МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет технології виробництва і переробки продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології

Кафедра переробки продукції тваринництва та харчових технологій

ХАРЧОВА ХІМІЯ

Методичні рекомендації
для лабораторних занять для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти ОПП «Харчові технології» спеціальності 181 – «Харчові технології» денної та заочної форми навчання

МИКОЛАЇВ
2025

УДК 577.1:641
Х22

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету технології виробництва і переробки продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології Миколаївського національного аграрного університету від 15.10.2025 р., протокол № 2.

Укладачі:

А. В. Зюзько – кандидатка технічних наук, старша викладачка кафедри переробки продукції тваринництва та харчових технологій Миколаївського національного аграрного університету;

О. І. Петрова – кандидатка с.-г. наук, доцентка, завідувачка кафедри переробки продукції тваринництва та харчових технологій Миколаївського національного аграрного університету;

Н. П. Шевчук – доктор філософії, доцентка кафедри переробки продукції тваринництва та харчових технологій Миколаївського національного аграрного університету

Рецензенти:

Р. О. Трибрат – кандидат с.-г. наук, доцент, доцент кафедри переробки продукції тваринництва та харчових технологій Миколаївського національного аграрного університету;

Г. І. Калиниченко – канд. с.-г. наук, доцент, доцент кафедри технології виробництва продукції тваринництва Миколаївського національного аграрного університету.

© Зюзько А.В., Петрова О.І., Шевчук Н.П. 2025
©Миколаївський національний
аграрний університет, 2025

ЗМІСТ

Лабораторна робота № 1. Методи визначення масової частки вологи в харчових продуктах 4

Лабораторна робота № 2. Методи розділення білків в залежності від їх функціональних властивостей 23

Лабораторна робота № 3. Методи визначення масової частки азотистих речовин в харчових продуктах 52

Лабораторна робота № 4. Методи дослідження фізико-хімічних характеристик харчових жирів 68

Лабораторна робота № 5. Методи визначення масової частки жиру в харчових продуктах 90

Лабораторна робота № 6. Методи визначення масової частки сахарози у хлібобулочних виробах 104

Лабораторна робота № 7. Методи визначення масової частки лактози вмолоці 124

Лабораторна робота № 8. Методи визначення масової частки аскорбінової кислоти в харчових продуктах та сировині 134

Список використаної літератури 94

Лабораторна робота № 1
Методи визначення масової частки вологи в харчових продуктах

Мета роботи*:* засвоїти теоретичні основи визначення масової частки вологи в харчових продуктах та опанувати методику визначення масової частки вологи висушуванням до постійної маси, прискореним та експресним методами у сипких продуктах; визначити масову частку вологи прискореним методом висушування у сушильній шафі СЕШ – 3; порівняти результати досліджень з вимогами стандарту та зробити висновок про відповідність харчових продуктів та сировини вимогам нормативної документації.

Теоретичні відомості

Вода є важливою складовою харчових продуктів. Вона міститься в рослинних і тваринних продуктах як клітинний і позаклітинний компонент, як диспергувальне середовище і розчинник, що зумовлює консистенцію і структуру харчових продуктів, впливає на їх зовнішній вигляд, смак та стійкість продуктів в процесі зберігання. Кількість вологи в продукті визначає його енергетичну цінність, оскільки чим більше в ньому міститься води, тим менше корисних сухих речовин (білків, жирів, вуглеводів та ін.) в одиниці маси. З вмістом води тісно пов'язана стійкість продукту під час зберігання та його транспортабельність, а також придатність до подальшої переробки, так як надлишок вологи сприяє перебігу ферментативних і хімічних реакцій, активізує діяльність мікроорганізмів, в тому числі таких, які призводять до псування продукту, зокрема його пліснявіння. В зв'язку з цим вміст вологи в продукті визначає умови та строки його зберігання.

ПОКАЗНИКИ ВМІСТУ ВОДИ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Вміст вологи у матеріалі характеризується показником *масової частки вологи W* – це виражене у відсотках відношення різниці мас зразка продукту до і після висушування до маси зразка до висушування

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%$$

де m_1 – маса наважки до висушування, г; m_2 – маса наважки після висушування, г.

Масова частка вологи в харчових продуктах змінюється в широких межах, %:

м'ясо.....	*65…75%*	*молоко.....*	*87…88%*
часник.....	*65%*	*огірки.....*	*90%*
хліб.....	*35…50%*	*мед.....*	*20%*
фрукти, овочі.....	*65…95%*	*маргарин.....*	*16…17%*
борошно.....	*12…15%*	*кава у зернах.....*	*5%*
сухе молоко.....	*4%*	*цукор-пісок.....*	*0,14…0,15%*
пиво, соки.....	*87…90%*	*олія.....*	*0,1%*
сир твердий.....	*37%*	*вершкове масло.....*	*16…20%*
сир м'який.....	*65…80%*		

Вміст вологи у готових виробах впливає на вихід продукції. Зі збільшенням кількості вологи вихід виробів зростає. Особливо цей фактор необхідно

враховувати на хлібопекарських підприємствах, тому що збільшення масової частки вологи борошна на 1 % знижує вихід хліба на 1,5…2 %, а підвищення вологості м’якушки хліба на 1 % призводить до підвищення його виходу на 2…3 %.

Враховуючи важливість цього показника, відповідні стандарти (ДСТУ) та технічні умови (ТУ) встановлюють норми вмісту вологи, а також методи її визначення, що робить обов’язковим знаходження цього показника під час контролю якості сировини та готових виробів.

СТАН ВОДИ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Загальна вологість продукту вказує на кількість вологи в ньому, але не характеризує її причетність до хімічних, біохімічних і мікробіологічних змін в продукті. У забезпеченні його стійкості під час зберігання важливу роль відіграє співвідношення вільної і зв'язаної вологи.

З*в'язана волога* – це асоційована вода, міцно зв'язана з різними компонентами – білками, ліпідами і вуглеводами за рахунок хімічних і фізичних зв'язків. Така вода існує поблизу розчиненої речовини й інших неводних компонентів, має зменшену молекулярну рухливість та інші властивості, що відрізняються від усієї маси води в тій же системі, і не замерзає за температури -40ºС.

Вільна волога – це волога, яка не зв'язана полімером і доступна для перебігу біохімічних, хімічних і мікробіологічних реакцій.

Наприклад, за вологості зерна 15...20% зв'язана вода складає 10...15%. За більшої вологості з'являється вільна волога, що сприяє посиленню біохімічних процесів (наприклад, проростанню зерна).

Плоди і овочі мають вологість 75...95%. В основному, це вільна вода, проте приблизно 5% вологи утримується клітинними колоїдами в міцно зв'язаному стані. Тому овочі і плоди легко висушити до 10...12%, але висушування до нижчої вологості вимагає застосування спеціальних методів.

Більша частина води в продукті може бути перетворена на лід за температури -5°С, а вся – за температури -50ºС і нижче. Проте певна частка міцно зв'язаної вологи не замерзає навіть за температури -60ºС.

Зрозуміло, що на видалення вільної і зв’язаної вологи затрати енергії будуть різні.

Вільна вода слабко зв'язана з сухими речовинами, легко видаляється з продукту під час висушування (t ~ 100º С), віджимання, пресування, замерзає за 0ºС. Різновидом вільної води є *гігроскопічна*, поглинена продуктами з повітря. Продукти, що мають здатність поглинати або віддавати вологу, називаються *гігроскопічними* (цукор, цукристі кондитерські вироби, крупа, борошно, крохмаль, сушені плоди й овочі).

Зв'язана вода міцно утримується сухими речовинами і погано видаляється навіть випаровуванням (t > 300ºС). Зв'язана вода знаходиться в мікрокапілярах, адсорбується внутрішньоклітинними системами і утримується колоїдами білків і вуглеводів. До зв'язаної води відноситься також *кристалізаційна* вода. Наприклад, вода, що входить до складу кристалів лимонної кислоти і глюкози ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$). Таку воду можна видалити з продукту в результаті термічного

розкладання деяких речовин за підвищених температур. Зв'язана вода має інший показник заломлення, має нижчу температуру замерзання, густину, не засвоюється мікроорганізмами і позитивно впливає на збереження продукту.

Вода зв'язана може переходити у воду вільну і навпаки. Наприклад, під час розмерзання м'яса, риби, свіжих плодів і овочів частина зв'язаної води переходить у вільну, що призводить до псування продуктів під дією мікроорганізмів. Під час замішування тіста, варіння макаронних виробів вільна вода поглинається білками і перетворюється на зв'язану колоїдними системами воду.

Поділ на зв’язану і незв’язану воду є умовним, так як майже вся вода, що міститься в харчовому продукті знаходиться у зв’язаній формі, але утримується тканинами з різною силою. Так, за класифікацією П.А. Ребіндера (для колоїдних капілярно-пористих тіл), в основу якої покладена природа та енергія хімічного зв’язку форми зв’язку вологи з сухими речовинами поділяються на три групи: хімічна, фізико-хімічна і фізико-механічна.

1. *Хімічна форма зв'язку* – молекули води входять до складу речовин в точному кількісному співвідношенні. Для видалення її потрібно інтенсивну обробку теплом, що призводить до руйнування структури матеріалу(зв'язана вода).

2. *Фізико-хімічна форма зв'язку* – адсорбційна й осмотична. Адсорбційно-зв'язана вода утримується силами Ван-дер-Ваальса поверхневих молекул колоїдних речовин (білків і вуглеводів) на межі поділу тверде тіло-вода. Наприклад, в зернових культурах за їх вологості менше 14% вода знаходиться в зв'язаному стані. З підвищенням вологості 14,5-15,5% з'являється вільна вода. Подальше поглинання води зумовлюється силами осмосу і дифузії. Така вода називається осмотично поглиненою або структурною. Вона не так міцно зв'язана, характеризує стадію набрякання (вільна вода).

3. *Фізико-механічна форма зв'язку* характерна для води, що заповнює капіляри, великі пори і порожнини в тілах. Капілярами вода утримується з більшою силою (зв'язана вода). Волога, що утримується силами зчеплення, зв'язана з матеріалом найслабкіше і може бути видалена механічним шляхом (вільна вода).

Стан води в харчових продуктах, її причетність до хімічних та біологічних змін характеризується таким показником як *активність води*.

Активність води a_w – це відношення тиску пари води над продуктом (P_w) до тиску пари води над чистою водою (P_0) за тієї ж температури:

$$a_w = \frac{P_w}{P_0} = \frac{\text{ВВП}}{100},$$

де – ВВП відносна вологість продукту в стані рівноваги, коли продукт не сприймає вологу і не віддає її в атмосферу.

Показник активності води (таблиця 1.1) краще характеризує вплив вологи на псування продукту ніж просто значення вмісту вологи. За величиною a_w розрізняють:

– продукти з високою вологістю $a_w = 1,0...0,9$;
– продукти з проміжною активністю $a_w = 0,9...0,6$;
– продукти з низькою активністю $a_w = 0,6...0,0$.

Таблиця 1.1 – Активність води (a_w) в харчових продуктах

Продукт	Вологість, %	a_w	Продукт	Вологість, %	a_w
Фрукти	90-95	0,97	Борошно	16-19	0,80
Яйця	70-80	0,97	Мед	10-15	0,75
М'ясо	60-70	0,97	Карамель	7-8	0,65
Сир	40	0,92-0,96	Печиво	6-9	0,60
Джем	30-35	0,82-0,94	Шоколад	5-7	0,40
Хліб	40-50	0,95	Цукор	0-0,15	0,10
Кекс	20-28	0,83			

Вода в продуктах харчування її вміст та активність є найважливішими чинниками, що впливають на стійкість продуктів під час зберігання. Так, в продуктах з *низькою вологістю* можуть відбуватися процеси окиснення жирів, неферментативне потемніння, втрата водорозчинних речовин, ферментативне псування; *в продуктах з проміжною вологістю* – ті ж процеси, а також процеси за участі мікроорганізмів; *в продуктах з високою вологістю* – вирішальна роль належить процесам за участі мікроорганізмів.

Більшість бактерій розмножується за $a_w = 0,85...0,95$; цвілі – за $a_w = 0,6...0,8$; дріжджів – $a_w = 0,8...0,9$.

Активність води має велике значення і для текстури продуктів. Наприклад, в сухих продуктах (сухе молоко, крекери і т.п.) максимальне значення a_w повинно бути 0,35...0,5. Для продуктів з м’якою текстурою, що не повинні хрумтіти значення a_w мають бути більшими.

В країнах Євросоюзу показник активності води є обов’язковим під час проведення експертизи цілого ряду харчових продуктів.

МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ МАСОВОЇ ЧАСТКИ ВОЛОГИ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Методи визначення вологи поділяються на дві групи: *прямі і непрямі* (рисунок 1.1). *Прямі методи* засновані на розділенні матеріалу на суху речовину і воду, використовуючи тепло, безводні розчинники і хімічні реактиви. *Непрямі методи* ґрунтуються на вимірюванні зміни фізичних величин і властивостей, функціонально пов'язаних з вологістю матеріалів.

До *прямих методів* відноситься: *відгонка* – дистиляція води з наважки із застосуванням органічних рідин, що мають високі температури кипіння з наступним визначенням об’єму перегнаної води; *хімічні* – взаємодія води з яким-небудь реагентом; *теплофізичні* – засновані на випаровуванні води з наважки аналізованого матеріалу. Прямі методи громіздкі, складні, потребують великих затрат часу та праці, непридатні для оперативного контролю.

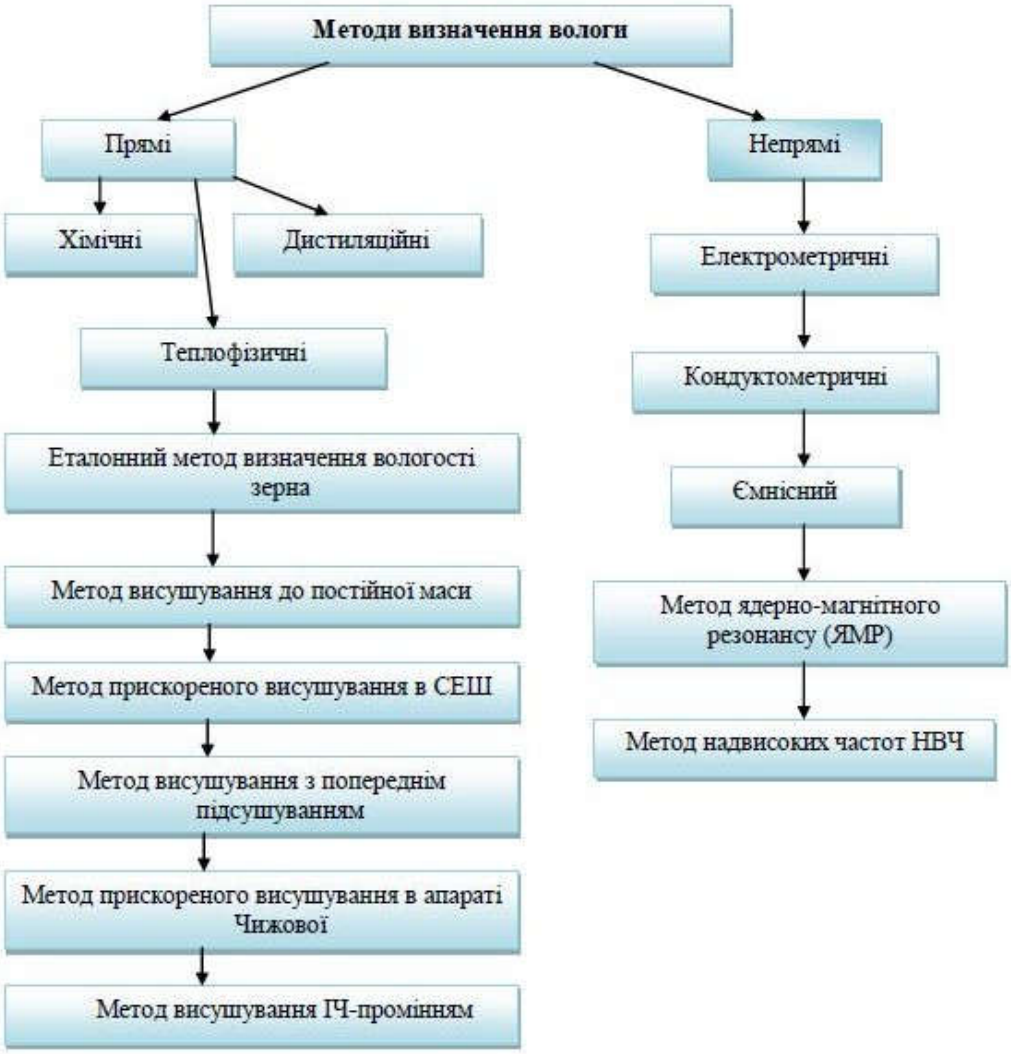


Рисунок 1.1 – Методи визначення масової частки вологи в харчових продуктах

Дистиляційні методи засновані на відгоні гігроскопічної води з узятої наважки продукту і визначенні її кількості. Воду з аналізованого зразка відганяють разом із органічним розчинником, що не змішується з водою і не реагує хімічно з досліджуваною речовиною. Найчастіше використовують бензин, з якого відігнані легкі фракції, що киплять до 95ºС. Рідше застосовують бензол ($Т_{кип}$ = 80,2ºС), толуол ($Т_{кип}$ = 110,8ºС), ксилол ($Т_{кип}$ = 138ºС) та ін.

Наважку заливають в колбі органічною рідиною. Під час змішуванні води з вказаними органічними речовинами виходять азеотропні суміші. Температура кипіння суміші є нижчою за температуру кипіння компонентів: води ($Т_{кип}$ = 100º С) з толуолом – +88ºС, води з ксилолом – +92ºС. Відгін води закінчується за 10...20 хвилин. Відігнану воду з частиною органічного розчинника збирають в приймальній посудині для розділення рідин, що не змішуються і визначають кількість відігнаної води. Перевага методу – знижується можливість розкладання органічних речовин, і органічна рідина оберігає висушений матеріал від окислення. Метод застосовують для визначення вологи в прянощах і приправах.

Дистиляційні методи поділяються на дві групи: прямого визначення і відкритої дистиляції.

За *методом прямого визначення* суміш пари води і рідини, що не

змішуються з нею, конденсують, дистилят збирають в градуювальний приймач, де проходить розшарування його на 2 шари, і за межею розділу двох рідин визначають об'єм води, відігнаний з узятого матеріалу наважки. Вимоги до органічної речовини: не змішується з водою і хімічно інертна по відношенню до речовин, що входять до складу аналізованої речовини. Температура кипіння органічної рідини має бути більше температури кипіння води.

За методом відкритої дистиляції А.Г. Кульмана вологість матеріалу визначають за спадом маси після нагрівання аналізованого матеріалу в середовищі висококиплячих речовин, маса яких за нагрівання не змінюється. Використовуються рослинні і вазелінові олії, парафін. Метод заснований на нагріванні наважки досліджуваного продукту зі зневодненою рослинною олією за температури 160...170°С впродовж декількох хвилин. Втрата маси, що відбувається при цьому, приймається за вологість.

Визначення ведеться таким чином: в металевий тигель, абсолютно чистий і сухий, вносять 20...22 см^3 рослинної олії (чи бавовняного, парафіну, сало-масла), вкладають в тигель термометр-паличку і зважують на технохімічних вагах з точністю до 0,01 г (тара). Після цього в тигель вносять 5 г досліджуваної речовини, заздалегідь підготовленої для аналізу і знову зважують. За різницею між першим і другим зважуваннями знаходять точну величину узятої наважки.

Перемішують вміст тигля термометром, поміщають тигель на розігріту піщану баню і нагрівають з таким розрахунком, щоб вміст тигля нагрівся до 165° впродовж 4...5 хвилин, після чого за цієї температури витримують тигель впродовж 3...5 хв., в залежності від досліджуваного об'єкта. Під час нагрівання коливання температури вмісту тигля допускається в межах ± 5°С.

Потім знімають тигель з вогню, дають йому трохи охолонути, після чого дно тигля занурюють у холодну воду і охолоджують до кімнатної температури (18...20°). Обтерши до суху тигель, його зважують.

Кількість вологи в досліджуваній речовині знаходять за формулою:

$$W = \frac{(a-b)\times 100}{g}$$

де – a – маса тигля з олією, термометром і наважкою до нагрівання, г; b – маса тигля з олією, термометром і наважкою після нагрівання, г; g – маса наважки, г.

Після кожного визначення вміст тигля зливають в суху склянку з притертою пробкою; коли залишків збереться достатня кількість, вміст склянки підігрівають до 80...100°С (на водяній бані) і фільтрують олію. Цю зневоднену олію можна використати для подальших визначень.

Ці методи доцільно використовувати для визначення масової частки вологи в харчових продуктах, які містять багато жиру, летких речовин, вуглеводів, здатних до карамелізації (наприклад, прянощі, риба копчена і солона, морські водорості, сухофрукти та ін.).

Хімічні методи засновані на здатності деяких реагентів (лужних металів, карбіду кальцію та ін.) вступати в хімічну взаємодію з водою. Кількість води знаходять за еквівалентним обсягом газу (водню, ацетилену), що виділився під час реакції. Проте через трудомісткість й інші причин ці методи не отримали застосування.

Використовується *титриметричний метод К. Фішера*, в основу якого покладена відкрита Бунзеном реакція йоду з водою у присутності діоксиду сірки.

Титрування за модифікованим методом Карла Фішера. Окисно-відновна реакція йоду і діоксиду сірки перебігає у присутності води:

$$J_2+SO_2+2H_2O\rightarrow 2HJ+H_2SO_4.$$

Кислотні продукти, що накопичуються в середовищі, перетворюють цю реакцію на оборотну:

$$2HJ+H_2SO_4 \rightarrow J_2+H_2SO_3+H_2O,$$

що утруднює визначення кінця реакції. Для зв'язування кислотних продуктів і усунення оборотності реакції готують розчини йоду і діоксиду сірки в органічній основі.

Використання спеціально підібраних органічних реагентів дозволяє досягти повного витягання води з харчового продукту. Вміст вологи в продукті розраховується за кількістю йоду, що витратили на титрування. Метод відрізняється високою точністю і стабільністю результатів (у тому числі за дуже низького вмісту вологи) і швидкістю проведення аналізу.

Реактив Фішера є розчином I_2 і SO_2 в піридині і метанолі. Отримують його розчиненням сублімованого йоду в суміші безводного піридину і абсолютного метанолу. Розчин охолоджують льодом і додають рідкий або газоподібний діоксид сірки (співвідношення SO_2 : I_2 = 1:1.3). Реактив взаємодіє з водою за схемою:

$$PySO_2 + CH_3OH \leftrightarrow PyH^+–CH_3SO_3^- \; PyH^+–CH_3SO_3^- + Py\cdot I_2 + H_2O + Py \rightarrow 2(PyH^+\cdot I^-) + PyH^+\cdot CH_3SO_4^-$$

Піридин необхідний для зв'язування кислих продуктів реакції і створення оптимального pH в інтервалі 5...8.

Використовують різні модифікації реактиву. Так, замість піридину застосовують діетаноламін або імідазол, замість йоду і піридину – суміш ацетату натрію з йодидом калію або натрію (так званий ацетатний реактив Фішера), замість метанолу – метил або етилцелюлоза.

За допомогою реактиву Фішера визначають вміст води (не менше 5 (6...10%) не лише в продуктах харчування, але і в нафті, лаках, фарбах, лікарських засобах та ін. Реактив непридатний для визначення вологості окисників і відновників, що реагують з його компонентами з поглинанням або виділенням води або йоду.

Найпоширенішим серед *прямих методів є метод визначення масової частки вологи за сухим залишком*, тобто коли кількість вологи встановлюють за різницею у масі наважки до та після сушіння. Існує багато модифікацій цього методу (рисунок 1.1), які відрізняються тривалістю та температурою нагрівання наважки цілого чи подрібненого зразку, а також ступенем його подрібнення. Можливі випадки, коли продукт із надмірним вмістом вологи перед висушуванням піддають попередньому підсушуванню. Для прискорення висушування, а також для висушування речовин, що легко розкладаються за температури вище 100ºС, процес проводять за пониженого тиску, що дає

можливість знизити температуру. Для в'язких продуктів (меляса, цукровий сироп та ін.) висушування утруднюється за рахунок утворення на його поверхні твердої скоринки. Для полегшення і прискорення процесу висушування в використовують наповнювачі (на 1 г в'язкого продукту беруть 25 г наповнювача), в результаті змішування з якими в'язкі продукти стають пухкими. В якості наповнювачів використовують прожарений кварцовий або звичайний річковий пісок. Інколи для висушування в'язких рідин використовують ролики із фільтрувального паперу. Однак ці методи мають недоліки, так як у випадку їх використання визначається не справжня масова частка вологи, а її умовна величина, що залежить від прийнятого методу визначення.

Явища, що відбуваються в об'єкті під час висушування, особливо в харчових продуктах, є дуже складними. Під дією теплоти видаляється волога та одночасно деяка кількість сухих речовин внаслідок розкладання органічних речовин під дією високої температури. Поряд з цим в об'єкті, що висушується можуть відбуватися окиснювальні і гідролітичні процеси, внаслідок чого збільшується його маса.

Процес висушування залежить від стану вологи в дослідному матеріалі, яка може бути вільною або зв'язаною з матеріалом різними видами зв'язків:

– хімічним – видалити таку вологу можна лише руйнуванням продукту шляхом прожарювання або хімічної дії;

– фізико-хімічним (адсорбційним, осмотичним, структурним) – видалити вологу можна висушуванням об'єкта, причому легше видаляється осмотична волога (волога набухання), ніж адсорбційна (утримується силовим полем молекул);

– механічним (волога макро-, мікрокапілярів, а також волога на поверхні) – видаляється найлегше під час висушування.

Методи визначення масової частки вологи висушуванням є найбільш поширеними та універсальними. Їх недоліком є те, що дуже важко видалити всю воду з харчового продукту, особливо колоїдно-зв'язану.

Серед цих методів слід виділити наступні два методи: *висушування до постійної маси* за температури 100…105 °С та *прискорене висушування* за підвищених температур (130…160 °С). Перший метод дає найбільш точні результати, оскільки висушування відбувається необмежений час, на відміну від прискореного способу, а до повного видалення вологи. Однак він досить тривалий та трудомісткий, тому під час контролю виробництва використовують ряд прискорених методів.

Прискореними методами визначають масову частку вологи в зерні (ДСТУ 13586.5-93), крохмалі (ГОСТ 7699-78 та ГОСТ 7697-82), макаронних виробах (ГОСТ 14849-69) і т.д. Для кожного продукту в залежності від фізико-хімічних властивостей підібрані своя температура висушування та тривалість процесу. Найчастіше тривалість висушування складає 50 хв. Прискорення висушування робить ці методи більш умовними, так як розкладання речовин за високої температури відбувається більш енергійно. Крім цього, застосування

прискореного методу висушування до об'єктів з підвищеною вологістю, наприклад до хліба, дає явно занижені результати через недосушування продукту. На результати аналізу впливають також коливання температури, тривалість висушування, конструктивні особливості сушильної шафи, розміри та форма бюкси.

Метод висушування до постійної маси (у сушильній шафі СЕШ за t=105ºС). Наважку об'єкту дослідження масою 3...10 г зважують на аналітичних вагах з точністю до 0,001 г, в заздалегідь висушені, охолоджені в ексикаторі і зважені бюкси, заввишки не більше 30 мм, діаметром 45 мм. Об'єкт зважують в закритих бюксах. Бюкси відкривають і поміщають в сушильну шафу або вакуум-сушильну шафу за можливості ближче до термометра. У сушильній шафі наважку висушують за температури 100...105°С, а у вакуум-сушильній – за температури 100°С (тиск підтримують ≈ 700 мм рт.ст.). Висушування в обох випадках починають за температури 50°С і, поступово підвищуючи температуру, досягають 100...105°С приблизно через 30 хв. Через 1,5...3 год бюксу зважують перший раз. Заздалегідь її охолоджують в ексикаторі над концентрованою сірчаною кислотою або прожареним хлористим кальцієм. Потім відкривають бюкси і знову поміщають їх в сушильну шафу. Подальші зважування роблять через 1 год. Висушування і зважування повторюють до тих пір, поки різниця в масі не досягне 0,001 г. Зазвичай тривалість висушування складає 3...5 год вміст вологи обчислюють за формулою:

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m},$$

де - W – вміст вологи в об'єкті %; m – маса бюкса, г; m_1 – маса бюкса з наважкою до висушування, г; m_2 – маса бюкса з наважкою після висушування, г.

Метод прискореного висушування в СЕШ (температура підвищується до 130ºС, менш тривалий спосіб).

Двохетапне висушування. Оскільки харчові продукти представляють, у більшості випадків, біоколоїди і погано піддаються висушуванню, то для тих з продуктів, які особливо багаті вологою (фрукти, овочі, хліб, м'ясо та ін.), рекомендується вести висушування в два етапи: спочатку взяту наважку (10...20 г) розрізають на тонкі шматки і висушують за кімнатної температури (інколи в сушильній шафі) до повітряно-сухого стану, оберігаючи наважку від можливих забруднень. Пробу потім зважують, після чого невелику наважку (3...5 г) подрібнюють і досушують в шафі до постійної ваги за температури 105ºС.

Метод висушування в приладі К. Н. Чижової (висушування матеріалу здійснюється шляхом передачі тепла від щільно прилеглих до нього плит, що нагріваються електрикою, зазвичай за температури ~ 160ºС протягом ~ 3 хв.).

Метод висушування ІЧ-променями. ІЧ-промені – електромагнітне випромінювання, що випромінюється нагрітими тілами, тому ІЧ-промені називаються тепловими променями. Вода здатна майже повністю

поглинати усі теплові промені (95...96%), що падають на неї, швидко нагріваючись і випаровуючись. Метод заснований на високій здатності вологих матеріалів поглинати потужний тепловий потік ІЧ-випромінювання, час висушування значно скорочується (25 хв.). Метод використовується в приладах- вологомірах – сушильна камера , яка з'єднана з вагами. Шкала ваг градуйована так, що показує пониження маси наважки за рахунок випареної води.

Ліофільне висушування. В основу методу покладене випаровування (сублімація) льоду без проміжного утворення води. Метод застосовують для продуктів, що міцно утримують воду (речовини, багаті білками, полісахаридами та ін.) Висушування ведеться у вакуумі, але за умови попереднього заморожування узятої для аналізу проби. Досліджуваний продукт шаром завтовшки не більше 10 мм піддається заморожуванню в посудині за допомогою вугільного ангідриду. Потім посудину швидко переносять в ексикатор, помістивши посудину на пробку для зменшення теплопровідності. За допомогою насосу створюють в ексикаторі вакуум. Випаровування води можна прискорити, якщо заморожений матеріал опромінювати сильним світлом. Висушування закінчується приблизно за 4 години, якщо заморожений шар має товщину 1...2 мм; шар завтовшки 10 мм слід висушувати впродовж 24 годин. Іноді для видалення залишкової вологи зразок висушують у вакуум- ексикаторі над P_2O_5. Вміст вологи обчислюється за зміною маси.

На відміну від прямих, непрямі методи дозволяють швидко отримувати інформацію про масову частку вологи у матеріалі та автоматизувати процес вимірювання масової частки вологи. В непрямих методах визначається не сама волога в дослідному об'єкті, а показник, функціонально пов'язаний з масовою часткою вологи матеріалу.

До *непрямих методів* відносяться:

– *фізичні* – визначення масової частки сухих речовин за величиною відносної густини чи рефрактометрично;

– *електричні* – визначення масової частки вологи за електропровідністю або електричною проникність

Серед непрямих методів практичне застосування в харчовій промисловості отримали електрохімічні методи, в яких вимірюють електропровідність і діелектричну проникністю.

Кондуктометричний метод заснований на залежності електричного опору матеріалу від ступеня його вологості: чим більше вологості, тим менше питомий опір матеріалу і тим більше його електропровідність. Ступінь дисоціації молекул органічних речовин дуже низький, тому в сухому стані вони є діелектриками, що погано проводять електричний струм. У випадку зволоження матеріалу його електропровідність збільшується (рисунок 1.2) за рахунок розчинення у воді мінеральних солей, що містяться в матеріалі, здатних майже повністю дисоціювати на іони, які є гарними провідниками електричного струму.

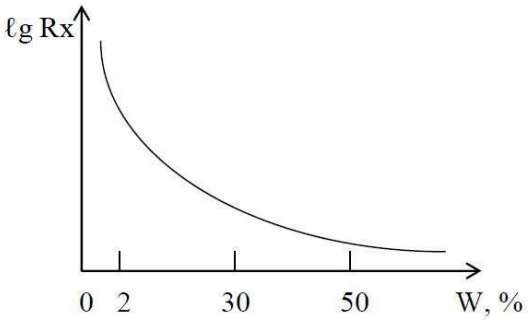


Рисунок 1.2 – Залежність електропровідності матеріалу (Rx) від масової частки вологи (W)

В результаті цього питомий опір матеріалу зменшується на 12...18 порядків. Метод застосовується за низької та середньої вологості матеріалу (~ до 18...20%). Незначне збільшення вологості призводить до значного зменшення опору (крива круто падає).

У лабораторному контролі використовують вологоміри, що працюють за принципом вимірювання електропровідності.

Ємнісний метод заснований на залежності величини діелектричної проникності (ДП; ε) матеріалу від вмісту в ньому води. ε=81, ДП сухої речовини ~ 3...5, отже підвищення вологості призводить до збільшення ДП.

Метод надвисоких частот (НВЧ) заснований на поглинанні водою енергії, що збуджується генератором НВЧ-випромінювання.

*Рефрактометричний метод***.** Принцип методу заснований на зміні показника заломлення розчинів в залежності від кількості розчинених в них сухих речовин. Цим методом визначають кількість води в сиропах, соках, настоях та ін.).

ВИЗНАЧЕННЯ СПІВВІДНОШЕННЯ ВІЛЬНОЇ І ЗВ'ЯЗАНОЇ ВОЛОГИ

Диференціальна скануюча калориметрія. Якщо зразок охолодити до температури менше 0ºС, то вільна волога замерзне, зв'язана – ні. За нагрівання замороженого зразка в калориметрі можна виміряти тепло, що поглинулось під час танення льоду. Незамерзаюча вода визначається як різниця між загальною і замерзаючою водою.

*Термогравіметричний метод***.** Метод заснований на визначенні швидкості висушування. У контрольованих умовах межа між ділянкою постійної швидкості висушування і ділянкою, де ця швидкість знижується, характеризує зв'язану вологу.

*Діелектричні вимірювання***.** Метод заснований на тому, що за 0ºС значення діелектричної проникності води і льоду є приблизно однаковими. Але якщо частина вологи зв'язана, то її діелектричні властивості повинні сильно відрізнятися від діелектричних властивостей об'ємної води і льоду.

*Вимірювання теплоємності***.** Теплоємність води більша, ніж теплоємність льоду, оскільки з підвищенням температури у воді відбувається розрив водневих зв'язків. Цю властивість використовують для вивчення рухливості молекул води. Значення теплоємності води в залежності від її вмісту в полімерах дає відомості про кількість зв'язаної води. Якщо за низьких концентрацій вода специфічно зв'язана, то її внесок в теплоємність є незначним.

У ділянці високих значень вологості теплоємність в основному визначає вільна волога, внесок якої в теплоємність приблизно в 2 рази більше, ніж льоду.

ЯМР. Метод полягає у вивченні рухливості води в нерухомій матриці. За наявності вільної і зв'язаної вологи отримують дві лінії в спектрі ЯМР замість однієї для об'ємної води.

На рисунку 1.3 показані прилади для визначення зв’язаної води в харчових продуктах за допомогою описаних вище методів.

а

б

в

г

д

Рисунок 1.3. Лабораторне обладнання для визначення зв’язаної води у харчових продуктах: а – диференціальний скануючий калориметр DSK; б – термографічний аналізатор; в – прилад для діелектричних вимірювань; г – калориметр; д – прилад для ЯМР- спектроскопії

Експериментальна частина

1.3.1 Визначення масової частки вологи в харчових продуктах та сировині

Прилади, обладнання (рисунок 1.4), **матеріали:** технічні ваги, ексикатор, зразок продукту, лопатка або шпатель, бюкси алюмінієві, сушильна шафа СЕШ-3М, годинник, термометр.

а

б

в

г д е

Рисунок 1.4 – Лабораторне обладнання для визначення масової частки вологості у харчових продуктах: а – ваги другого (з дискретністю 0,0001 г) та четвертого (з дискретністю 0,01 г) класу; б – ексикатор[1]; в – сушильна шафа СЕШ-ЗМЕ[2]; г – шпатель; д – алюмінієві бюкси[3]; е – щипці тигельні

ПІДГОТОВКА ПРОБ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

Підготовка проб харчових продуктів до проведення вимірювань. Відбір і підготовка проб до аналізу проводиться згідно діючих стандартів для хліба і хлібобулочних виробів – ГОСТ 5667-65, для печива – ГОСТ 5904-82.

Проби хлібобулочних виробів, вагові і штучні, масою понад 500 г. розрізають навпіл по ширині і від однієї половини відрізають шматочок масою близько 70 г, з якого зрізують скоринку і підскоринковий шар завтовшки близько 1 см. Якщо для аналізу береться частина виробу, то з підвітряного боку зрізують шматочок завтовшки 0,5 см, від нього відокремлюють шматочок масою близько 70 г, зрізують скоринку і підскоринковий шар. Вироби масою 200...500 г готують аналогічно.

Із поштучних виробів масою до 200 г зрізують скоринку, підскоринковий шар, видаляють включення (повидло, варення і т. п.) і швидко подрібнюють. М'якушку хліба подрібнюють ножем, за великої кількості проб рекомендовано використовувати механічний мікроподрібнювач.

Печиво подрібнюється на тертушці, сир кисломолочний ретельно розтирається у порцеляновій ступці.

---

[1] Ексика́тор – посудина, в якій підтримується певна вологість повітря (зазвичай близька до нуля), виготовлена із товстого скла. Поверхня з'єднання з кришкою змазується спеціальною змазкою для досягнення герметичності. Ексикатор використовується для повільного висушування за кімнатної температури, для зберігання гігроскопічних сполук, у гравіметрії

(щоб не допустити насичення вологою із повітря речовин, що досліджуються.

[2] Сушильна шафа СЕШ-3М Призначена для сушіння зерна, зернопродуктів, насіння бобових і олійних культур, а також інших речовин при визначенні вологості. Принцип дії СЕШ- ЗМ заснований на рівномірному висушуванні проби за допомогою повітряного потоку, (повітряно-тепловий метод), створюваного відцентровим вентилятором і нагрівальними елементами, і обертового столу з пробами. Технічні характеристики: максимальний допустимий нагрів сушильної камери, 150˚С; робоча температура сушильної камери для попереднього просушування 105˚С, для сушки — 130˚С; середня тривалість розігрівання шафи відповідно10 і 15 хв; місткість обертового столу, 10 шт алюмінієвих бюкс.

[3] Бюкси алюмінієві – ємкості для зберігання та проведення досліджень.

Визначення масової частки вологи методом висушування до постійної маси (арбітражний метод)

Для аналізу необхідна бюкса попередньо висушена до постійної маси (порожню або зі скляною паличкою і піском) , для цього бюксу *зважують* з точністю до 0,0002 г та *висушують* у сушильній шафі за *100…105°С* до постійної маси.

У попередньо зважену бюксу поміщають подрібнену наважку досліджуваного продукту масою 3…5 г та висушують у сушильній шафі за 100…105°*С*. У процесі висушування бюксу з наважкою *періодично зважують* (після попереднього охолодження в ексикаторі протягом 15…20 хв.). Перше зважування проводять *після 2…4 год.* висушування, кожне повторне зважування – *через 1 год.*, а під кінець аналізу – *через кожні 30 хв.* Під час зважування бюкси з наважкою кришка повинна бути закрита, висушують об'єкт з відкритою кришкою.

Масу досліджуваної наважки, що висушують, вважають постійною тоді, коли різниця між двома останніми зважуваннями не перевищує 0,001 г. За кінцевий результат приймають середнє арифметичне 2…3-х паралельних визначень. Розбіжність між паралельними визначеннями за цим методом повинна бути в межах 1 %. Розрахунки здійснюють з точністюдо 0,01 %.

Визначення масової частки вологи прискореним методом висушування

У дві попередньо висушені і зважені *бюкси* беруть *наважки* дослідного зразка масою по *5 г.* Зважують з відхиленням ± 0,01 г. Бюкси з наважками розміщують в сушильній шафі, температура якої 140…145 °С, кришки бюкс повинні бути відкритими та підкладені під дно. Температура під час цього швидко знижується (нижче 130 °С). Протягом 10…15 хв. її доводять до *130°С* та за цієї температури продовжують *висушувати* протягом *40 хв.* (відхилення температури не повинно перевищувати ±2°С). Потім бюкси тигельними щипцями *виймають*, *накривають кришками*, *охолоджують* в ексикаторі протягом *20…30 хв.* та *зважують*. Масову частку вологи W, %, розраховують за формулою (1.4). Розбіжність між двома паралельними визначеннями не повинна перевищувати 0,5 %. Одержані результати заносять до таблиці 1.2.

Для прискорення висушування в'язких речовин (консерви, джем, повидло, мед та ін.) застосовують розпушувачі, що надають речовині велику поверхню і що перешкоджають утворенню на поверхні кірочки. В якості розпушувача використовують пісок: 10...12 г на одну пробу.

Пісок заздалегідь обробляють таким чином: просіюють через сито з діаметром отворів 1,5 мм і те що залишається на ситі діаметром 0,3 мм, промивають водою до тих пір, поки вода перестане каламутніти (відділення глинистих продуктів). Потім пісок заливають подвійним об'ємом розбавленої

соляної кислоти (1:1) і витримують протягом доби, періодично перемішуючи. Пісок знову промивають водою до нейтральної реакції промивних вод на лакмус, висушують за температури 150...160ºС до постійної маси.

Проведення випробування. У бюкс поміщають річковий або кварцовий пісок в кількості, що перевищує наважку продукту приблизно в 2...3 рази. Наважку висушують в СЕШ у відкритих бюксах за температури 103ºС впродовж 30 хв. Потім бюкс закривають кришкою, охолоджують в ексикаторі до кімнатної температури і зважують. У зважений бюкс з піском вносять наважку продукту і повторно зважують. До вмісту підливають етиловий спирт і поміщають бюкс на водяну баню (80...90ºС) і помішуючи паличкою, нагрівають до зникнення запаху етилового спирту. Потім пробу висушують впродовж 2 год в сушильній шафі за температури 103ºС, охолоджують в ексикаторі і зважують. Висушування продовжують до постійної маси. Результати двох останніх зважувань не повинні відрізнятися більш ніж на 0,1% маси наважки. Зважування проводять з похибкою не більше 0,001 р.

Таблиця 1.2 – Визначення масової частки вологи прискореним методом

Номер зразка	Номер бюкси	Маса бюкси, г			Маса наважки, г	Масова частка вологи в продукті, %	
		Порожньої, висушеної до постійної маси	З наважкою до висушування	З наважкою після висушування		Досліджуваний зразок	Норма за стандартом

На основі отриманих результатів роблять висновок про відповідність масової частки вологи в продукті вимогам стандарту.

Визначення масової частки вологи експрес-методом

Для швидкого видалення вологи використовують сушіння в інфрачервоних променях, які сприймаються не тільки поверхнею, але й проникають в продукт на глибину до 2…3 мм, що зумовлює його інтенсивне прогрівання. Одним з джерел інфрачервоних променів можуть бути нагріті металеві поверхні, які дають опромінення в діапазоні довжин хвиль 0,76…343 нм. На цьому принципі працює прилад Чижової (рисунок 1.5), що складається із двох масивних металевих плит (сплав алюмінію і чавуну) круглої форми, між якими розміщується тонкий шар матеріалу, що висушується. Плити з’єднані між собою шарніром і нагріваються електричними елементами, розміщеними зовні сторін приладу, що забезпечує швидке зневоднення продукту. Під час роботи відстань між плитами складає 2 мм, температура контролюється двома ртутними термометрами. Нагрівання плит може бути сильним і слабим. Сильне нагрівання використовується у випадку першопочаткового нагрівання, а слабке – для

підтримання необхідної температури (для перемикання режиму нагрівання є спеціальний перемикач). Контактний термометр забезпечує сталість заданої температури в межах ±1ºС.

Висушують об’єкт в пакетах трикутної (для приладу круглої форми) або прямокутної форми (для приладу прямокутної форми). Для приладів Чижової старого зразку паперові пакети необхідно виготовити самостійно. Для виготовлення пакетів прямокутної форми лист паперу (газетного) форматом 20×14 згинають навпіл, а відкриті з трьох боків краї пакету загинають на 1,5 см (рисунок 1.6). Розмір готових пакетів 8,5×11 см. Для виготовлення пакетів трикутної форми папір форматом15×15 см згинають по діагоналі і відкриті краї загинають на 1,5 см.

а б в

Рисунок 1.5 – Прилад Чижової а – схематичне зображення приладу (1 – металеві плити; 2 – термометри, вставлені в гільзу); б – цифровий прилад; в – сучасний аналог приладу

Для визначення масової частки вологи рослинної олії в паперовий пакет кладуть додатковий лист фільтрувального паперу розміром 11×24 см, зігнутий в три шари таким чином, щоб два шари помістились на нижній стороні пакету, а один шар – на верхній.

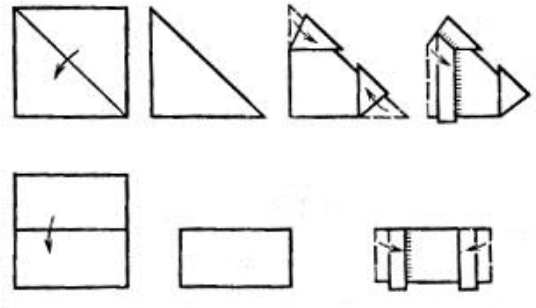


Рисунок 1.6 – Виготовлення паперових пакетів для приладу Чижової

Цифровий прилад Чижової та його сучасні модифікації обчислюють коефіцієнт вологості харчових продуктів і сировини, напівфабрикатів і використовується в лабораторних умовах підприємств харчової промисловості.

Зразок вимірюваного продукту випарюється шляхом зневоднення завдяки нагріву його до потрібної температури і обумовленого спочатку часу. Блок випарювання складається із двох нагрівальних плит з алюмінію, які мають електронагрівальний елемент і закриваються кришками. Точність висушування гарантується цифровим індикатором (0,1ºС в межах температури 1...199ºС). Максимальний час нагрівання блоку до заданої температури – 20 хв.; поверхова щілина між плитами блоку – до 0,1 мм.

Для визначення масової частки вологи в продукті за допомогою експрес методу попередньо виготовляють 2 паперові пакети, які просушують у приладі Чижової за температури 160 °С протягом 3 хв., охолоджують в ексикаторі 3 хв. та зважують. Далі їх розкривають та поміщають в них наважки борошна по 5 г кожна з відхиленням не більше 0,01 г (проводять два паралельних визначення). Пакети закривають та розміщують у приладі для висушування за температури

160 °С на 4 хв. (пресовані дріжджі на 7 хв., солод – на 10 хв.). Після висушування пакети охолоджують в ексикаторі, зважують і за різницею мас наважки до та після висушування розраховують масову частку вологи за формулою 1.4.

Розбіжність між двома паралельними визначеннями не повинна перевищувати 1 %.

Використання цього методу є ефективним у випадках оперативного контролю масової частки вологи в різних галузях харчової промисловості (хлібопекарської, макаронної, кондитерської, дріжджової, крохмалопатоковій та ін.).

Визначення масової частки вологи висушуванням за допомогою ваг-вологомірів ADS

Цей метод застосовують для швидкого та точного аналізу продукції на масову частку вологи у лабораторіях, в процесі виробництва для контролю якості продукції. Метод базується на висушуванні зразка інфрачервоними променями.

Ваги-вологоміри – це аналізатори вологості (рисунок 1.7), які поєднують в собі ваги з функцією вимірювання вологості. Використовуються такі аналізатори у випадках, коли необхідно швидко і точно виміряти наявність вологи в різноманітних матеріалах в лабораторних умовах і на виробництві. Вони складаються з лабораторних ваг 3 класу точності за ГОСТом і вбудованим над ними пристроєм для сушки (галогенові або інфрачервоні лампи). Це дає можливість використати вологомір як традиційні лабораторні ваги, а також як пристрій для визначення вмісту вологи у великій кількості різноманітних речовин і матеріалів, застосовуючи термогравіметричний метод.

Завдяки вагам можна визначити масу зразка матеріалу, який знаходиться на шальці. Сушарка зчитує результати вимірів ваги; здійснює процес сушіння

зразка, вираховує та висвітлює на цифровому індикаторі кінцевий результат (вологість матеріалу).

Рисунок 1.7 – Ваги-вологоміри

Щоб виміряти вологість, зразок слід помістити на шальці одноразового використання, яка далі вкладається в камеру вагосушарки.

Зразок повинен наноситися рівномірним шаром 2…5 мм, що відповідає масі 5…15 г, залежно від виду досліджуваного зразка. Зразок слід викладати якнайшвидше, щоб він не втратив вологу. Спеціальні фільтри забезпечують рівномірне розташування рідини на шальці. У випадку аналізу твердих тіл фільтри запобігають згорянню зразків.

Перед початком процедури визначення масової частки вологи необхідно:

– встановити необхідні режими та параметри процесу сушіння (М);

– встановити на ваги порожню одноразову шальку;

– відтарувати ваги з порожньою одноразовою шалькою натисненням кнопки [T/ON];

– вийняти одноразову шальку та покласти на неї підготовлений зразок;

– поставити шальку зі зразком на вантажоприймальну триногу, закрити кришку сушарки та натиснути кнопку [О], при цьому на індикаторі висвітлюються значення пункту меню «Стан роботи ваг»;

– повторно натиснути кнопку [О] сушарки, на індикаторі висвічуються: номер режиму, час роботи, розраховане значення вологості, температура в сушильній камері;

– кінець процедури супроводжується звуковим сигналом та надписом

«Кінець» на індикаторі сушарки. Значення вологості, отримане на цей момент, запам’ятовується та зберігається до натискання кнопки [С] або до запуску наступної процедури сушіння;

роздрукування на принтері і виведення кінцевого звіту про параметри та результати процесу сушіння зразка на комп’ютері здійснюються після натискання кнопки [О].

Контрольні питання

1. Назвіть функції води в харчових продуктах
2. Яким показником характеризується вміст вологи в харчових продуктах?
3. Якими поняттями описують стан вологи в продуктах?
4. Дайте визначення поняттю «активність води».
5. Назвіть, які є форми зв'язку вологи в харчових продуктах.
6. Які є методи визначення масової частки вологи?
7. Перерахуйте переваги та недоліки прямих методів визначення масової частки вологи.
8. Від яких параметрів залежить режим висушування?
9. Назвіть основні методи визначення масової частки вологи висушуванням.
10. Які переваги та недоліки методів висушування?
11. Назвіть особливості прискореного методу висушування для в'язких продуктів.
12. Розкрийте суть експрес-методу визначення масової частки вологи в харчових продуктах.
13. Як визначається масова частка вологи за допомогою ваг-вологомірів?

Лабораторна робота № 2
Методи розділення білків в залежності від їх функціональних властивостей

Мета роботи: виділити білки пшениці, розчинні у воді, лугах, спиртах, розчинах солей; виділити з молока казеїн, водо- та солерозчинні білки; підтвердити наявність білка у виділених фракціях за допомогою якісної реакції на пептидний зв'язок з біуретовим реактивом.

Теоретичні відомості

Білки – це високомолекулярні азотовмісні органічні сполуки, молекули яких побудовані із залишків амінокислот, з'єднаних пептидним зв'язком.

КЛАСИФІКАЦІЯ БІЛКІВ

Відома велика кількість білків рослинного і тваринного походження, що відрізняються за своїм складом та біологічною роллю в організмі. Задовільної універсальної системи класифікації білків не існує. Є лише декілька загальновживаних систем класифікацій, що ґрунтуються на походженні, функціях, формі молекул, фізико-хімічних властивостях. Для систематизації та вивчення їх запропоновано декілька класифікацій:

1. *За походженням*: рослинні, тваринні, вірусні, бактеріальні; з позицій органів та клітинних органел: білки плазми, м'язові білки, білки молока, яєць, рибосомні білки, білки клітинного ядра і т.д.
2. *За функціями*: ферментативні, структурні, скорочувальні, транспортні, резервні та рецепторні.

До структурних білків належить *колаген* – основна складовою частина з'єднувальної тканини. Більшість його знаходиться в сухожиллях, зв'язках, шкірі, кістках, хрящах. Колаген є у всіх багатоклітинних організмах, крім рослин. Його молекула витримує навантаження, вага якого в десятки тисяч разів більша від ваги білкової молекули. Тобто ці молекули міцніші, ніж сталевий дріт. Під час кип'ятіння м'язової тканини (м'яса) частина пептидних зв'язків у колагені піддається гідролізу, утворюється суміш пептидів, що називається желатином. Тривалість приготування м'ясних страв визначається умовами руйнування волокон колагену. *Кератин* – входить до складу сполучної і покривної тканин, волосся, пір'я, рогів. *Еластин* – входить до складу еластичних тканин і виконує структурні функції. З нього побудовані внутрішні оболонки судин.

Скорочувальні білки. Найкраще вивчені скорочувальні комплекси м'язових клітин. Вони складаються з білків двох типів – актину і міозину.

Транспортні білки утворюють комплекси з речовинами, які вони транспортують між тканинами або через мембрану. До таких білків належать

дихальні білки, що переносять кисень. Дихальні білки поширені в багатьох живих організмах, починаючи від дріжджів і до вищих хребетних. В бульбочках бобових також знайдений дихальний білок. Всі вони зворотно приєднують молекули кисню (зв'язують його за високого вмісту в середовищі і віддають за пониженого). Дихальні білки містять йон Феруму, рідше Купруму (молюски і більшість членистоногих), який бере участь у зв'язуванні кисню. Гемоглобіни і міоглобіни містять йониFe^{2+} у складі небілкової частини – гему.

Захисні білки – антитіла відіграють важливу роль в захисті організму від чужорідних речовин і клітин. Антитіла – це імуноглобуліни, які виробляються клітинами імунної системи лімфоцитами і входять до складу сироватки крові та інших позаклітинних рідин, а також поверхні деяких клітин, наприклад, лімфоцитів. Організм виробляє антитіла на чужорідні білки, полісахариди, інші речовини, наприклад, нітрофенол, на ракові клітини, пилок рослин тощо. Антитіла проявляють високу специфічність до свого антигену.

3. *За будовою молекул*: глобулярні, (сферопротеїни), фібрилярні (склеропротеїни) та мембранні.

Фібрилярні білки – це білки, які утворені поліпептидними ланцюгами, що розташовані паралельно один одному уздовж однієї осі і утворюють довгі волокна (фібрили) або шар. Довжина молекул таких білків в декілька разів перевищує їх діаметр. Вони є нерозчинними у воді і розчинах солей. Фібрилярні білки – це велика група білків, що є основними структурними елементами сполучної тканини (колаген, кератин, еластин та ін.): білок волосся

– кератин, білок шовку – фіброїн, білок м'язів – міозин, білок крові – фібрин.

Глобулярні білки – це білки, в молекулах яких поліпептидні ланцюги щільно згорнуті в компактні кулясті структури (глобули). До глобулярних білків відносяться ферменти, антитіла, деякі гормони і інші білки, що виконують в клітках динамічні функції. Це альбуміни та глобуліни сироватки крові, білки молока, яєць, які мають форму кулі. Правильної форми глобули не бувають, найчастіше вони мають еліпсоїдну або овальну форму.

Між двома крайніми формами білків є велика кількість перехідних форм – від кулеподібної до веретеноподібної і волокнистої.

4. *За хімічним складом*: прості і складні.

Прості білки, які утворюють під час гідролізу тільки амінокислоти або їх похідні. *Складні білки* – мають білкову частину, що складається із залишків амінокислот, і небілкову, що може бути представлена йонами металів, ліпідами, вуглеводами, залишком фосфорної кислоти.

До простих білків належать:

– *альбуміни* дуже поширені в тваринних та рослинних організмах, є

основною частиною цитоплазми більшості клітин, складовою частиною крові, м'язів, молока, в крові вищих тварин і людей альбуміни складають більшу частину білків плазми; мають відносно малу молекулярну масу 60 кД; приймають участь у підтримці осмотичного тиску крові, транспортують у крові різні речовини (вітаміни, іони металів, гормони), виконують антитоксичну функцію;

– *глобуліни*, на відміну від альбумінів є більш грубо дисперсними, мають більшу молекулярну масу 160-180 кД; в організмі людини та тварин виконують роль антитіл;

– *гістони і протаміни* є основними білками ядра клітини і утворюють основну масу білкової частини нуклеопротеїдів; гістони стабілізують молекулу ДНК, підтримують унікальну структуру ДНК в ядрі, що є умовою для біосинтезу білку;

– *склеропротєїни* – білки опорних тканин (хрящів, кісток), вовни, волосся. Не розчинні у воді, слабких кислотах і лугах. колагени; еластини; кератин; фіброїн; проламіни і глютеніни (білки рослинного походження, містять велику кількість глютамінової кислоти і лізину).

Складні білки складаються з простого білку та небілкової частини. Їх класифікують за небілковою частиною:

– *нуклеопротеїди* – небілкова частина – нуклеїнові кислоти РНК та ДНК; білкова – протаміни та гістони;

– *хромопротеїди* в небілковій частині містять пігменти, до таких білків належать гемоглобін, міоглобін (білок м'язів), деякі ферменти каталази, пероксидази, цитохроми, а також хлорофіл);

– *фосфопротеїди* в небілковій частині мають залишок фосфорної кислоти: казеїн молока, вінелін (білок жовтка яєць), іхтулін (білок ікри риб);

– *ліпопротеїди* – небілкова (простетична) група – ліпід: ліпопротеїди (розчинні у воді), – протеоліпіди (жиророзчинні);

– *глікопротеїди* – небілкова частина – вуглеводи та їх похідні (гексуронова кислота, глікогенні амінокислоти). Група сполук, в яких білкова частина відносно слаба слабо зв'язана з вуглеводною називається мукопротеїдами (хондроітинсульфати, гіалуронові кислоти).

– *металопротеїди* – комплекси білків з важкими металами: феритин – кристалічний білок, розчинний у воді, містить до 20% Fe, є основною формою запасу заліза в організмі і синтезується в печінці, там він відкладається про запас; церулоплазмін містить 0,34% міді.

5. За розчинністю прості білки поділяють:

– *альбуміни* – розчинні у воді і сольових розчинах, нерозчинні в концентрованих розчинах солей, характеризуються високою гідрофільністю та

дисперсністю, мають кислі властивості (ізоелектрична точка (ІЕТ) ≈ 4,7); не мають особливостей щодо вмісту окремих амінокислот; входять до складу молока, яєць, зерна злакових та бобових культур;

– *глобуліни* – слаборозчинні у воді, добре розчинні в розчинах солей; під час їх вилучення (екстракції) із різноманітних об'єктів використовують 2...10%-ний розчин хлориду натрію; слабокислі або нейтральні білки (ІЕТ 6,0...7,0); до них належать лактоглобулін молока, фібриноген крові, більша частина білків насіння бобових – легумін гороху, фазеолін квасолі, гліцидин сої;

– *проламіни* – розчинні в 70...80%-ному етанолі, нерозчинні у воді і абсолютному етанолі, багаті аргініном (гліадин пшениці, гордеїн ячменю, зеїн кукурудзи, орозеїн рису);

– *глютеліни* – не розчиняються ні в сольових розчинах, ні в спирті, але екстрагуються гідроксидами лужних металів (0,2%-ним розчином) (ІЕТ 5...7) знаходяться, як правило, спільно з проламінами (глютенін пшениці);

– *гістони і протаміни* розчинні в сольових розчинах; мають яскраво виражені основні властивості через великий вміст аргініну (ІЕТ 10,5...13,5);

– *склеропротеїни* (протеноїди) – нерозчинні у воді і сольових розчинах, багаті гліцином, аланіном і проліном.

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

Завдяки унікальним функціональним властивостям білки знаходять своє застосування у виробництві харчових продуктів не тільки в якості поживної складової, а і як необхідний технологічний компонент, і як лікувально-профілактична добавка.

Функціональні властивості білків – це такі фізико-хімічні характеристики білків, що визначають їх поведінку під час переробки в харчові продукти і що забезпечують певну структуру, технологічні і споживчі властивості.

До найбільш важливих функціональних властивостей білків відносяться розчинність, водо- та жиросв'язувальна здатність, здатність стабілізувати дисперсні системи (емульсії, піни, суспензії), утворювати желе, плівкоутворювальна здатність, адгезійні і реологічні властивості (в'язкість, еластичність), здатність до текстурування.

Особливості функціональних властивостей білків зумовлюються специфічною послідовність амінокислотних залишків в поліпептидних ланцюгах, нерівномірним розташуванням гідрофобних і гідрофільних груп на поверхні білків, наявністю або відсутністю спіралізуючих ділянок, що в свою чергу впливає на наявність нековалентних взаємодій: *гідрофобних, електростатичних і водневих зв'язків*.

1. *Розчинність* є первинним показником оцінки функціональних властивостей білків, характеризується кількістю білка, що переходить в розчин і

визначається коефіцієнтом розчинного азоту (КРА) і коефіцієнтом диспергованості білка (КДБ). У першому випадку визначають кількість азоту (у відсотках від загального), що перейшов у розчин; в другому – кількість білка (у відсотках від загального змісту його в продукті), що перейшов в розчин.

Білки з високою гідрофобністю добре взаємодіють з ліпідами, з *високою гідрофільністю* добре взаємодіють з водою. Внесок електростатичних сил в розчинність білків залежить від pH середовища і присутності солей. За pH, що відповідає ІЕТ, білки мають найменшу розчинність, оскільки сумарний заряд на їх молекулах дорівнює нулю і частинки позбавлені здатності відштовхуватися за рахунок електростатичних взаємодій з молекулами розчинника. У кислому або лужному середовищі, навпаки, забезпечується взаємодія протилежно заряджених іонів розчинника (H^+ або OH^- відповідно) з поверхнями білкових часток, заряджених позитивно в кислому середовищі і негативно в лужному, а значить і перехід білків в розчин. У *кислому середовищі білок має позитивний заряд внаслідок пригнічення дисоціації карбоксильних (-COOH) груп*, в *лужній – негативний за рахунок пригнічення дисоціації основних (- NH_2) груп*.

Залежність розчинності білків від концентрації солей носить нелінійний характер. Під час додавання невеликих кількостей солей розчинність збільшується, оскільки іони перешкоджають електростатичній взаємодії бічних груп білка між собою. Високі концентрації солей, що знижують гідратацію поліпептидних ланцюгів, навпаки, посилюють гідрофобні білок-білкові взаємодії і призводять до випадання білка в осад (висолювання). Використання як розчинника води, розбавлених розчинів солей, лугів і водно-спиртових розчинів забезпечує перехід гетерогенних сумішей в розчин, відповідно, альбуміну, глобулінів, глютелінів і проламінів і отримання білкових фракцій, що розрізняються за амінокислотним складом, молекулярними масам і функціональними властивостями.

Водозв'язувальна здатність білків (або гідратація) характеризується адсорбцією води за участю гідрофільних залишків амінокислот. Білки здатні зв’язувати воду, тобто проявляють гідрофільні властивості. При цьому білки набухають, збільшуються їх маса і об’єм. Гідрофільність клейковиних білків – одна із ознак, що характеризує якість зерна і борошна. Цитоплазма клітини представляє собою стабілізовану суспензію із молекул білка. В процесі технологічної переробки сировини відбувається зв’язування води, продукти збільшуються в об’ємі – набухають.

Жирозв’язувальна – здатність білків характеризується адсорбцією жиру за рахунок гідрофобних залишків. За невисокої вологості гідрофільні групи, взаємодіючи з молекулами води, утворюють мономолекулярний шар, за високої – навколо глобул білка формується багатошарова структура з одночасним

проникненням води в западини і виступи. Загальна кількість води і жиру на поверхні досягає 0,2...0,4 г на 1 г білків.

Здатність білків утримувати жир і воду залежить не лише від особливостей амінокислотного складу і структури, але і від фракційного складу, способу обробки, pH середовища, температури і присутності вуглеводів, ліпідів і інших білків. Висока здатність білків утримувати воду в харчових продуктах (м'ясних, хлібобулочних і так далі) підвищує вихід останніх, подовжує терміни зберігання і покращує текстуру. Денатуровані білки мають знижену водозв'язувальну здатність, і їх застосування негативно позначається на якості хліба. Висока жироутримувальна здатність білків забезпечує ніжну і однорідну текстуру виробів, виключає відділення жиру, зморщування виробів, зменшує втрати під час варіння і смаження.

Жироемульгувальна властивості білка – утворення білком на поверхні крапель жиру (за рахунок гідрофобної взаємодії) тонкої плівки, яка притягує воду (за рахунок полярних груп) і протидіє злипанню жирових частинок. Присутність в одному білковому ланцюзі гідрофобних і гідрофільних угрупувань забезпечує розподіл молекул певним чином на межі поділу фаз вода-олія і вода-газ. Орієнтація гідрофільних груп білка до води, а гідрофобних – до олії на межі поділу фаз у вигляді міцного адсорбційного шару знижує поверхневий натяг в дисперсних системах і робить їх агрегативно стійкими і одночасно в'язкими. Найбільш поширеними є харчові емульсії "олія у воді" і "вода в олії", що називаються, відповідно, прямими і зворотними. Усі види емульсій з білком отримують механічним диспергуванням однієї рідини в іншій за допомогою мішалок, гомогенізаторів, що забезпечують деформацію дисперсійного середовища з утворенням дрібних часток. На основі жироемульгувальних властивостей рослинні і тваринні білки застосовуються у виробництві хлібобулочних, борошняних кондитерських виробів, низькокалорійного маргарину, майонезу, паст, м'ясних продуктів, а піноутворювальні властивості є основою виробництва збитих кондитерських виробів (бісквітів, десертів, кремів і т. д.).

Піноутворення пов’язане зі здатністю білків утворювати висококонцентровані системи рідина – газ, тверде тіло – газ у вигляді піни. Білки виконують функцію піноутворення в кондитерській промисловості (суфле, пастила), у випіканні хліба, у виробництві пива. Поверхня газових пухирців покриває рідка або тверда оболонка, що складається із білків. У випадку, коли ця оболонка стоншується газові пухирці лопаються, відбувається коалесценція або з’єднання пухирців, піна стає пухкою, менш стійкою.

Піни (дисперсні системи з газоподібною фазою і рідким або твердим середовищем) отримують механічним розподілом повітря в розчині білка

шляхом збивання або за рахунок закипання води, зниження тиску, забезпечення хімічних і мікробіологічних процесів у білкововмісних харчових системах. Так, білки клейковини утворюють піну в хлібному тісті під дією діоксиду вуглецю в ході бродіння, а в кондитерському – за рахунок хімічних розпушувачів під час виділення аміаку і діоксиду вуглецю. Піноутворювальні властивості білків характеризуються пінотворною здатністю і стабільністю піни. Перший показник вимірюється об'ємом піни, віднесеним до маси білку, другий – періодом її напіврозпаду, тобто часом, необхідним для руйнування половини об'єму піни. Обидва показники залежать від pH середовища, концентрації білку, солей, температури, присутності ліпідів, сахарози, харчових волокон, фракційного складу і будови білків. Стійкість структури піни є важливим фактором підвищення якості харчових продуктів, в том числі і пива.

Желеутворювальні властивості білків характеризуються здатністю їх колоїдного розчину із вільнодиспергованого стану переходити у зв'язанодисперсний (з утворенням систем, що мають властивості твердих тіл). Пружні властивості желе, що зумовлені утворенням просторової сітки взаємодіючих молекул білка, залежать від мінімальної його концентрації, за якої настає желеутворення (желе-точки), від pH, від присутності інших білків, солей, полісахаридів. Білок як желеутворювач повинен утворювати желе в широкому діапазоні pH, іонної сили, за мінімальної концентрації і з необхідними фізико-хімічними властивостями. До останніх відносяться міцність, твердість, еластичність, тиксотропія (здатність зворотно переходити в текучий стан за механічної обробки і знову утворювати нетекуче желе після зняття навантаження), температура розм'якшення і плавлення, ступінь набрякання, здатність до синерезису (відділення дисперсійного середовища із скороченням об'єму желе), сорбція барвників і ароматичних речовин і так далі. До подібного роду "універсальних" желеутворювачів відноситься желатин, що дозволяє в широких межах забезпечити регулювання хімічного складу і біологічну цінність харчових продуктів.

В'язко-еластично-пружні властивості. Характерною властивістю деяких харчових білків є низький рівень полярності функціональних груп. Молекули води, оточуючи частинки білків, відштовхуються, а молекули білків, навпаки, агрегуються з утворенням комплексів з притаманними їм властивостями (в'язкість, еластичність, пружність) реологій. Найбільш виражений комплекс таких властивостей мають білки пшеничної клейковини, хліби, що зумовлюють текстуру, і що створюють суцільну фазу у виробах з наповнювачами (зерно, висівки, родзинки). Пружність і еластичність білків зумовлена глютеніновою фракцією білків.

З метою забезпечення стабільності технологічного процесу, поліпшення

якості і розширення асортименту харчових виробів здійснюють регулювання функціональних властивостей. Функціональні властивості білків визначаються їх структурою. Наприклад, в'язкість і желеутворювальні властивості співвідносяться з розміром і формою молекул, а водозв'язувальна здатність, піноутворювальні й емульгувальні властивості корелюють з співвідношенням на поверхні полярних і гідрофобних груп. Усі чинники, які змінюють структуру білків, призводять і до регулювання (модифікації) їх властивостей.

Регулювання функціональних властивостей білків досягається зміною умов їх виділення, висушування, фізичним, фізико-хімічним впливом, ферментативною і хімічною модифікацією. Параметри обробки можуть змінювати амінокислотний і фракційний склад білків, спричиняти денатурацію, агрегацію або взаємодію з іншими компонентами (ліпідами, вуглеводами).

ЯКІСНЕ І КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІЛКІВ

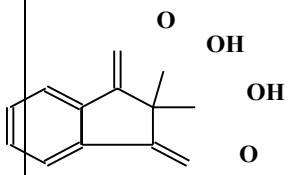
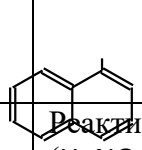
Присутність білків в харчових продуктах встановлюється за допомогою якісних реакцій, які умовно розділяють на дві групи : а) кольорові реакції; б) реакції осадження.

Серед першої групи розрізняють універсальні реакції (біуретова на пептидні зв'язки і нінгидринова на α-амінокислоти) і специфічні, зумовлені присутністю у білках залишків певних амінокислот. Так, ксантопротеїнова реакція свідчить про наявність у білках залишків ароматичних амінокислот, реакція Паулі – гістидину і Тирозину, Адамкевича і Вуазене – триптофану, нітропрусидна – цистеїну, а реакція Сакагучі – аргініну. За результатами специфічних реакцій орієнтовно можна зробити висновок про харчову цінність білків.

У другій групі реакцій білки осаджують дією солей, органічних розчинників, концентрованих кислот, лугів, іонів важких металів, температури і в ізоелектричній точці. Білки в розчиненому стані є вкрай нестійкими, тому під час додавання органічних розчинників (спирт, ацетон), концентрованих розчинів нейтральних солей лужних металів і дії фізичних факторів (нагрівання, опромінення, ультразвук) оболонка гідрату руйнується і білки випадають в осад.

Оскільки білкові речовини сировини (борошна, крупи, молока, м'яса), включаючи ферменти, часто є визначальними в забезпеченні якості харчових виробів, то для вивчення фізико-хімічних, біохімічних і фізіологічних властивостей цих сполук обов'язковою умовою є отримання білків в індивідуальному і, за можливістю, неденатурованому стані.

Таблиця 2.1 – Кольорові реакції на білки

Назва реакції	Реактив	Ділянка, яка реагує	Забарвлення
Біуретова	Біуретовий реактив (Cu^{2+} в лужному середовищі)	Пептидний зв'язок	Пурпурово-фіолетове
Нінгидринова	Нінгідрин 	Аміногрупи в α-положенні	Синьо-фіолетове
Ксантопротеїнова	HNO_3(конц.)	Тирозин, Фенілаланін, Триптофан, Гістидин	Жовте (+NaOH – померанчеве)
Фоля	Реактив Фоля $(CH_3COO)_2Pb$+NaOH	Цистеїн, Метіонін	Чорне
Адамкевича	Гліоксилова кислота конц. +H_2SO_4 (конц.)	Триптофан	Червоно-фіолетове кільце
Сакагучі	α-нафтол + гіпобромі т (NaClO) 	Аргінін	Померанчево-червоне
Мілона	Реактив Мілона ($HgNO_3$ + $Hg(NO_2)_2$ в HNO_3 розб. з домішками HNO_2)	Тирозин	Пурпурово-червоне

МЕТОДИ ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ БІЛКІВ

Загальну схему операцій з виділення білків можна представити так:

– подрібнення біологічного матеріалу (гомогенізація);
– екстрагування;
– відділення від низькомолекулярних сполук, тобто очищення білка;
– отримання білка в індивідуальному стані.

ПОДРІБНЕННЯ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

Руйнування клітинної структури здійснюється ретельним подрібненням матеріалу в гомогенізаторах, млинах (валкові або кульові млини), поперемінним заморожуванням і відтаванням, застосуванням ультразвукових високочастотних коливань (ультразвукові дезінтегратори), прес-методов з використанням високих тисків і методу "азотної бомби". У останньому випадку клітини насичуються азотом під тиском, який потім знижується і клітини руйнуються. Ефективність гомогенізації залежить не лише від способу руйнування клітинних структур, але й від виду аналізованого матеріалу. Тваринні клітини руйнуються відносно легко, особливо за відсутності судинної і сполучної тканини, тоді як рослинні і

мікробні – через присутність клітинних стінок – важко. У такому разі застосовують методи розтирання матеріалу з твердими речовинами (пісок, абразивний порошок) або обробку клітинних стінок лізоцимом або ферментними препаратами, що містять целюлазу, хітиназу і ліпазу. Гомогенізацію рекомендується проводити в холодних кімнатах або з використанням льоду. Класифікація методів руйнування (дезінтеграції) матеріалу, що використовуються в процесі виділення білків й інших сполук, наведена в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2 – Класифікація методів дезінтеграції матеріалів за їх природою

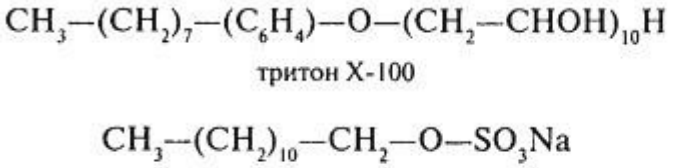
Фізичні		Хімічні	Ензиматичні	Біологічні
Механічні	Немеханічні			
Балістичні, екструзії, ультразвукові, газодекомпре-сорні, гідроударні, електрогідро-ударні, комбіновані	Осмотичний, заморожування, дегідратація, повільна газова декомпресія, фазові переходи за високих тисків	Дія лугів, кислот, солей, детергентів, хелатних агентів, органічних розчинників	Дія бактеріологіч-них, дріжджоліти ч-них, мікролітичних ферментів	Дія фагів, бактеріоцинів, плазмідоподібних чинників, інгібування синтезу клітинної оболонки, автоліз

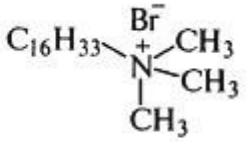
Екстракція білків може бути поєднана з гомогенізацією клітин і тканин або проведена окремо, якщо продукт заздалегідь подрібнений. Вибираючи різні екстрагенти і підбираючи режими екстракції (час, температура і тому подібне) можна вибірково перевести в розчин різні групи білків.

Так, наприклад, проводячи екстракцію водою, ми переводимо в розчин альбумін; глобуліни – солерозчинні білки, екстрагуються розчинами солей, наприклад, 5...10%-ним NaCl; проламіни – спирторозчинні білки, екстрагуються 60...80% етанолом, а глютеліни – розбавленим розчином лугів (0,1...0,2%); виділенню білків сприяє обробка детергентами: додецилсульфатом натрію (ДДС-Na), дезоксихолатом натрію, тритоном х-100, алкілглікозидами.

Більшість білків тваринних тканин є добре розчинними в 5...10%-них розчинах солей, тоді як для переведення в розчин білків зернових культур застосовують ширший набір розчинників. Для цього використовуються буферні системи зі значеннями pH від кислих до слаболужних (фосфатні, борат, цитратні, HCl), органічні розчинники і неіонні детергенти. Детергенти послабляють

гідрофобні білково-ліпідні і білок-білкові взаємодії, сприяють розриву цих зв'язків.





Розчинники підбираються з урахуванням розриву у білках певних типів зв'язків. Так, оцтова кислота послаблює іонні зв'язки, надаючи молекулі однойменних позитивних зарядів, сечовина – водневі і гідрофобні, саліцилат натрію і ДДС-Na – гідрофобні й іонні, а водні розчини спиртів – водневі і гідрофобні взаємодії. Органічні розчинники розривають білок-ліпідні зв'язки.

Відділення білків від низькомолекулярних сполук

Методи фракціонування і очищення від небілкових сполук засновані на відмінностях таких властивостей білків, як розмір молекул, розчинність, заряд і спорідненість до специфічних хімічних груп (таблиця 2.3, рисунок 2.1).

Таблиця2.3 – Методи фракціонування білків

Властивість в основі методу	Метод
Розділення білків за різною розчинністю	Осадження: ізоелектричне, розчинниками, солями
	Протитечійний розподіл
	Розподільна хроматографія
Відділення білків від низькомолекулярних домішок	Діаліз (метод мембранних сит)
Розділення білків за молекулярною масою	Гель-фільтрація (гель-хроматографія)
	Ультрацентрифугування
Розділення білків за зарядом	Іонообмінна хроматографія
	Електрофорез (електрофорез без носія, електрофорез на носії: диск-електрофорез, ізоелектричне фокусування, ізотахоелектрофорез, імуноелектрофорез)
Розділення білків за зарядом і молекулярною масою	Гель-електрофорез
	Ізоелектричне фокусування
Розділення білків за здатністю до специфічних взаємодій	Афінна хроматографія

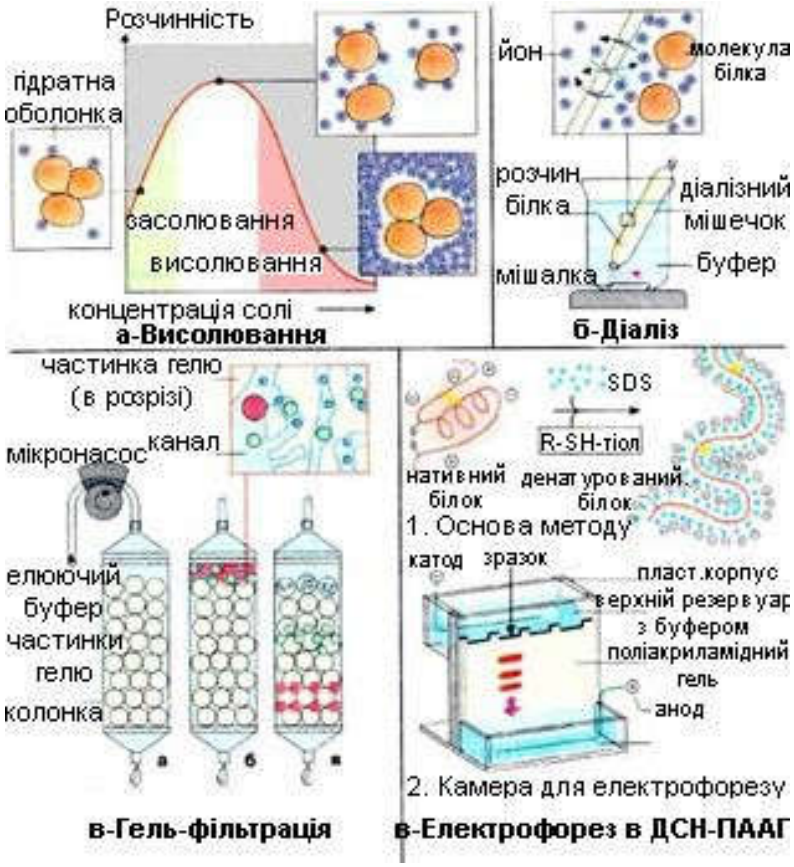


Рисунок 2.1 – Методи фракціонування і очищення білків

Розділення білків за різною розчинністю

Для виділення нативних білків (без зміни просторової структури) із біологічного розчину використовують такі методи як висолювання, осадження органічними розчинниками. У випадку використання цих методів білки позбавляються гідратної оболонки і випадають в осад.

Висолювання – осадження білків солями лужних і лужноземельних металів ($(NH_4)_2SO_4$, NH_4Cl, KCl, NaCl, Na_2SO_4, $MgSO_4$ та ін.). Висолювання зумовлюється дегідратацією макромолекул білка з одночасною нейтралізацією зарядів протилежно зарядженими іонами солі. Різні білки висолюються за різного насичення нейтральними солями і за різних значень pH розчину, що залежить від різниці в молекулярній масі, ступеня дисперсності білка, іонної сили осаджувача. Білки з найменшою розчинністю випадають в осад за невеликих концентрацій солей. При цьому первинна структура білка не порушується. Це грубий метод розділення білків на групи. Так, глобуліни, які мають більшу молекулярну масу порівняно з альбумінами, випадають в осад за напівнасичення, а альбуміни – за повного насичення розчину сульфатом амонію.

Осадження органічними розчинниками (спиртом, ацетоном та ін.) за низьких температур використовуються для щадного групового розділення білків. Основний механізм процесу: в міру зростання концентрації органічного розчинника знижується здатність води до сольватації заряджених гідрофільних молекул білка. Відбувається зниження розчинності білків, за якої починається агрегація і осадження. Важливим параметром, що впливає на осадження є розмір

молекули: чим більше молекула, тим нижчою є концентрація органічного розчинника, що спричиняє осадження білка. Розчинник, який використовується повинен повністю змішуватись з водою, не реагувати з білками і мати гарну осаджуючу дію. Однією із переваг фракціонування за допомогою органічних розчинників є те, що його можна проводити за температур нижче нуля, так як всі розчинники, що змішуються з водою, утворюють суміші, що замерзають за температури значно нижчої за 0ºС. Це є дуже важлива властивість, так як в процесі фракціонування необхідно підтримувати низьку температуру. Найбільш часто для осадження білків використовують ацетон. Він справляє меншу денатурувальну дію, ніж етанол, тому що за низьких температур необхідні дещо більш низькі його концентрації, аби отримати таке ж осадження, як і у випадку використання етанолу. Він також є більш летким, що дозволяє легко видаляти його із розчиненого осаду за зниженого тиску.

Крім цих методів використовують й інші методи осадження:

– осадження за допомогою трихлороцтової кислоти;

– осадження в ізоелектричній точці, шляхом зміни pH білкового екстракту;

– осадження шляхом теплової коагуляції та ін.

Відділення білків від низькомолекулярних домішок

Очищення білків від низькомолекулярних сполук (солей, цукрів, амінокислот) здійснюється методами діалізу, гель-фільтрації на сефадексі G-25, кристалізації, ультрафільтрації і за допомогою порожнистих волокон.

Діаліз (метод мембранних сит) базується на нездатності білків проходити через напівпроникну мембрану на відміну від низькомолекулярних речовин. Використовують діалізну мембрану, яка є полімером і має пори певної величини. Малі молекули (низькомолекулярні домішки) проходять через пори в мембрані, а крупні (білки) затримуються. Таким чином білки відмивають від низькомолекулярних домішок, наприклад, від солей після висолювання.

Під час діалізу використовують напівпроникні мембрани (целофан, колодійна плівка), через які білки не дифундують і залишаються усередині діалізного мішечка (рисунок 2.2). Дрібніші молекули проходять через пори діалізної мембрани і виходять в діалізат, так як в процесі дифузії молекули намагаються перейти в зону з більш низькою їх концентрацією. Замінюючи декілька разів водну фазу в діалізаті на дистильовану воду, можна знизити концентрацію низькомолекулярних сполук в розчині білка до скільки завгодно малої величини.

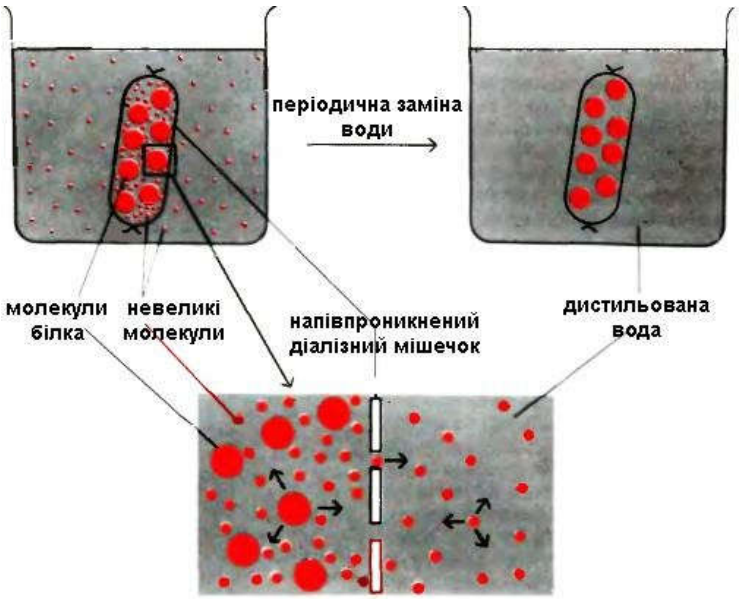


Рисунок 2.2 – Діаліз

Гель-фільтрація, або метод молекулярних сит. Гель-фільтрацію проводять на хроматографічних колонках, заповнених гранулами набряклого гелю (сефадекс) або іншими типами гелів (агарозних, полістиролових). Застосовуються також пористі скляні кульки і пористий кварц (порасил). Найбільшого поширення отримали декстранові гелі (сефадекс), що є продуктом поперечного зшивання полісахаридних ланцюжків декстрану. Зерна сефадексів різних номерів містять пори різних розмірів, в які можуть проникати білки з певною молекулярною масою. В залежності від розмірів пор випускають ряд марок сефадексів: G-200, G-100, G-75 та ін.

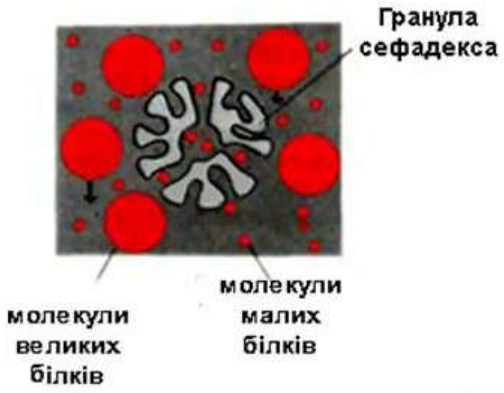


Рисунок 2.3 – Гранула сефадекса

У колонку вносять суміш білків (рисунок 2.4). Швидкість проходження білків через колонку, заповнену сефадексом, буде залежати від їхньої молекулярної маси: чим менша маса молекул білка, тим легше вони проникають всередину гранул сефадексу й довше там затримуються. Білки ж із більшою молекулярною масою не проникають через пори у гранули гелю, а тому вони

швидше виходять із колонки разом із розчинником, що знаходиться між гранулами. Оскільки ступінь дифузії у гранули гелю залежить від розмірів молекул, то елюція речовин із колонки відбувається в порядку зменшення їх молекулярної маси. У результаті білки розподіляються за молекулярною масою і можуть бути зібрані у вигляді окремих хроматографічних фракцій. Молекулярну масу досліджуваного білка визначають шляхом порівняння його об'єму елюювання з аналогічним параметром для білків-маркерів.

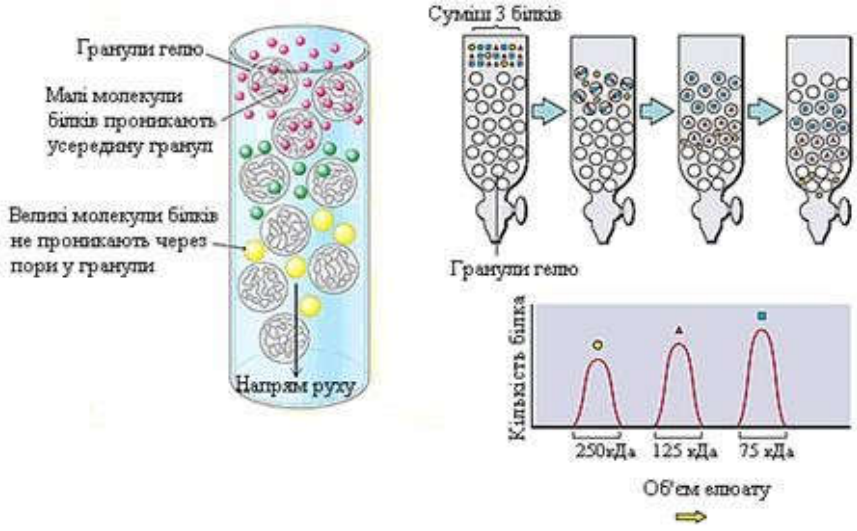


Рисунок 2.4 – Схема розділення білків методом гель-фільтрації

Ультрацентрифугування. Цей метод базується на різній швидкості седиментації (осадження) білкових молекул у розчині хімічно інертної речовини (сахарози або хлориду цезію). Для покращання роздільної здатності ультрацентрифуги використовують розчин із різним градієнтом густини, тобто концентрація розчину а отже і його густина збільшуються в напрямку від поверхні до дна центрифугувальної пробірки. Для створення градієнта використовують солі важких металів і розчини сахарози. У міру переміщення молекул білка в центробіжному полі вони розділяються за молекулярною масою: фракції важчих білків під час ультрацентрифугування розміщуються ближче до дна пробірки, легші білки – ближче до поверхні. При цьому утворюються межі білок-розчинник, які реєструють і розраховують швидкість їх переміщення. Метод широко застосовується для визначення молекулярних мас білків за константою седиментації (S), яка залежить від маси і форми білкових частинок:

$$S = v/(\omega^2 \times r),$$

де v – швидкість переміщення межі розчинник-білок, см/с; ω – кутова швидкість ротора, рад/с; r – відстань від центру ротора до середини чарунки з розчином білка, см.

Величина $S = 1 \times 10^{-13}$ с прийнята за одиницю і названа сведбергом (S) на честь Т. Сведберга, що уперше сконструював ультрацентрифугу в 1923 р.

Величина молекулярної маси М обчислюється за рівнянням Сведберга.

$$M = \frac{R \times S \times T}{D \times (1 - \bar{v} \times \rho)},$$

де R – універсальна газова стала, Дж/(моль×К); Т – абсолютна температура, К; S – константа седиментації; ρ – густина розчинника; ύ – парціальний питомий об'єм молекули білка; D – коефіцієнт дифузії.

Розділення білків за зарядом

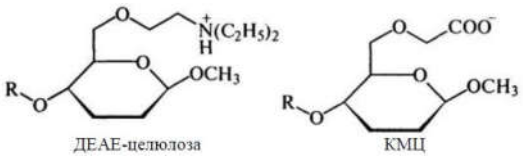
Для фракціонування білків в залежності від їх заряду широко використовують хроматографічні методи: адсорбційна, розподільна, іонообмінна, методи ізоелектричного фокусування, електрофоретичне розділення білків та ін.

Адсорбційна хроматографія ґрунтується на відмінностях в полярності білків, в залежності від якої вони вибірково адсорбуються на твердих фазах різноманітних типів. Застосування цих методів дозволяє отримати найбільший ступінь очищення білків. Найважливішими адсорбентами білків є іонообмінники і фосфат кальцію (гідроксилапатит).

У *розподільній хроматографії*, на відміну від адсорбційної, нерухомою фазою виступає водний шар, що утримується твердою фазою (силікагель, папір). Речовини, що розділяються, багаторазово розподіляються між водним шаром і фазою розчинника, що рухається, і з різною швидкістю переміщаються по довжині колонки або паперу. Розподільну хроматографію на папері часто використовують для аналізу пептидів й амінокислот. Адсорбентом служать нитки целюлози, а розчинником – суміш органічних розчинників, наприклад: бутиловий спирт-оцтова кислота-вода. Хроматограму проявляють, висушують і аналізують місцезнаходження компонентів, що розділяються, тим або іншим способом.

Методом іонообмінної хроматографії білки або амінокислоти розділяють на основі відмінностей в загальному заряді молекул (рисунок 2.5). Метод базується на зв'язуванні іонізованих груп білків із протилежно зарядженими групами іонообмінників (катіонообмінників чи аніонообмінників). Міцність зв'язування білка із смолою пропорційна заряду білка. Для розділення кислих і нейтральних білків використовують аніонообмінник, в якому використовуються аміни або органічними основи. Для розділення основних білків – катіонообмінник, що містить фенольні, сульфо- і карбоксильні групи.

Для розділення білків використовуються іонообмінники на основі целюлози (карбоксиметилцелюлоза (КМЦ) і діетиламіноетилцелюлоза (ДЕАЕ-целюлоза), декстранів і агароз, похідних полістиролу, що мають "пухку" структуру, завдяки якій білок може проникати всередину частинки іонообмінника.



У колонці разом з буферним розчином упаковують адсорбент (іонообмінник), на який в невеликий об'єм розчинника наносять досліджуваний зразок. Компоненти білкової суміші, що розділяється, зв’язуються із іонообмінником за допомогою електростатичних сил між зарядженими поверхнями білків і кластерами заряджених груп на іонообміннику.

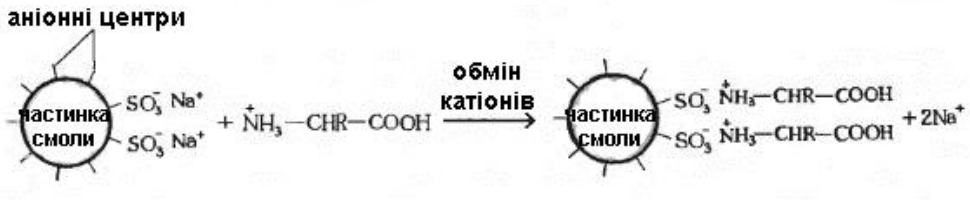


Рисунок 2.5 – Схема іонообмінної хроматографії

Білки, адсорбовані на іонообмінному полімері, можна змити буферним розчином із наростаючими концентраціями солі (як правило для цього використовують хлориди калію і натрію). Під час елюції іони натрію конкурують з позитивно зарядженими групами білків. Білки з меншим позитивним зарядом вимиваються з колонки першими, з великим зарядом – останніми. Крім того для вивільнення білка із іонообмінника (елюція) використовують і метод зміни pH буфера до величини, за якої зв’язування з адсорбентом послаблюється (для катіонообмінників використовують більш високі значення pH, а для аніонообмінників – більш низькі). Фракції білка збирають за допомогою автоматичного колектора фракцій.

Розділення білків за зарядом і молекулярною масою.

У хімії харчового білка застосовують різні види електрофоретичного розділення гель-електрофорез, імуноелектрофорез, ізотахофорез та ін.

Електрофорез (за дослідження електрофорезу А. Тизеліус був удостоєний Нобелівської премії з хімії) – метод розділення заряджених частинок в електричному полі. Принцип методів електрофоретичного розділення білкових сумішей полягає в здатності молекул пептидів і амінокислот, знаходячись в зарядженій формі у вигляді катіонів (+) або аніонів (-), пересуватися в електричному полі з певною швидкістю (рисунок 2.6). Крім того, молекули з близькими зарядами, але різними розмірами, відрізняються відношенням заряду до маси. Усі ці відмінності і зумовлюють високу роздільну здатність електрофоретичних методів.

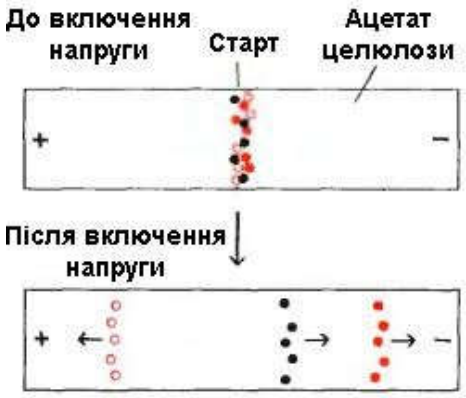
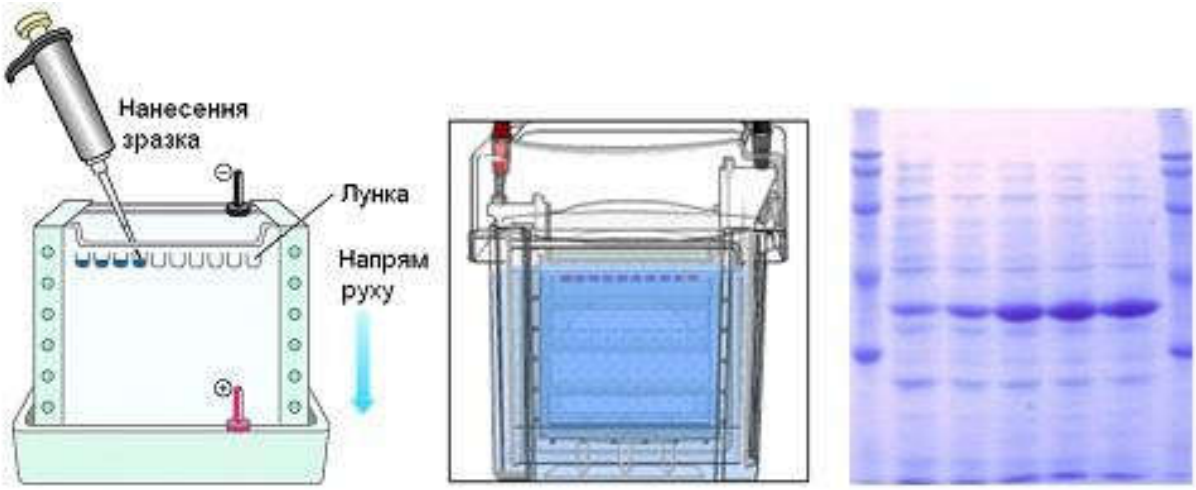


Рисунок 2.6 – Схема електрофоретичного розділення білків

Гель-електрофорез (рисунок 2.7). Цей метод базується на різній швидкості міграції білків і пептидів в електричному полі в залежності не лише від знака заряду, а й від молекулярної маси. Носіями для гель-електрофорезу можуть бути поліакриламідний гель, крохмальний гель, агароза та ін. Молекули, що розділяються, рухаються в гелі в залежності від їх розміру: ті з них, які мають великі розміри, будуть затримуватися при проходженні через пори гелю. Менші молекули зустрічатимуть менший опір і відповідно рухатимуться швидше. У результаті після проведення електрофорезу великі молекули знаходитимуться ближче до старту порівняно з меншими.

Поширеним методом фракціонування білків є *диск-електрофорез* (від англ., discontinuous – переривчастий) в ПААГ, під час якого використовується пара буферних розчинів з різними значеннями pH за присутності ДДС-Na і гелів різної пористості. Для виявлення білків гелі обробляють барвниками: амідовим чорним 10B, кумасі синім R-250. Інтенсивність забарвлення, а за нею і кількісний вміст білкових фракцій, визначають скануванням на денситометрі.

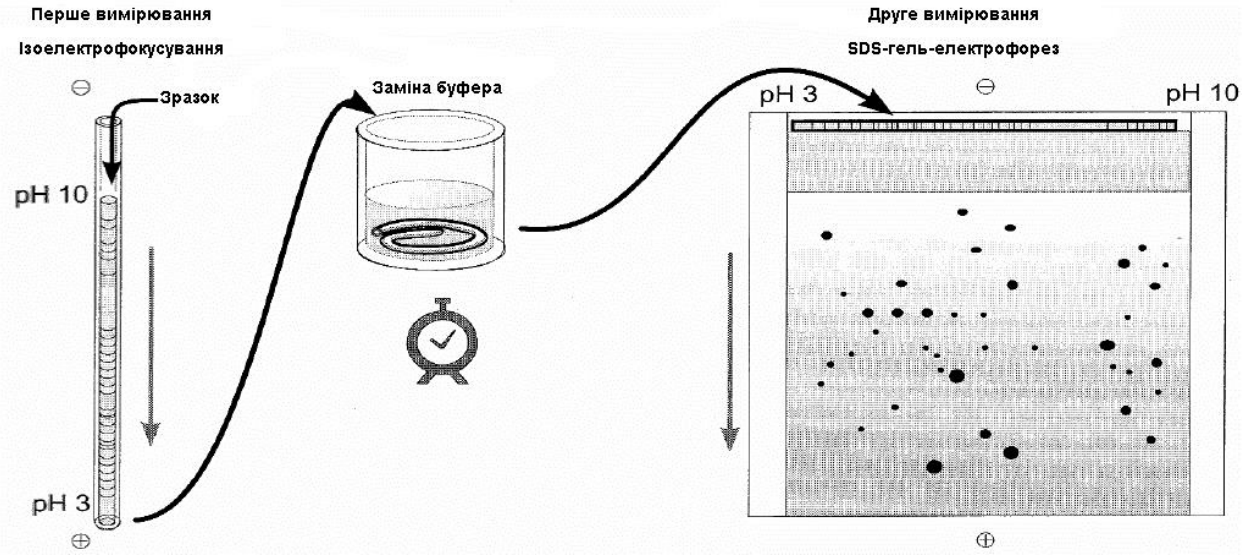


а *б* *в*

а – нанесення зразків у гель; б – камера для електрофорезу; в – електрофореграма білків

Рисунок 2.7 – Схема розділення білків методом гель-електрофорезу

Ізоелектричне фокусування (ІЕФ) (рисунок 2.8 а). Це один із найефективніших і найпоширеніших методів фракціонування та очищення білків. Цей метод дозволяє розділити білки, що відрізняються за ізоелектричною точкою лише на 0,01. Суміш білків, яку піддають розділенню, вносять у колонку або наносять на пластину, заповнену електропровідною рідиною.



а – схема ізоелектричного фокусування; б – схема гель-електрофорезу

Рисунок 2.8 – Схема двовимірного електрофорезу в ПААГ

Метод (ІЕФ) ґрунтується на розділенні білків, що мають різні ізоелектричні точки. ІЕФ здійснюється в процесі їх електрофоретичного розділення на колонці, по висоті якої створюється градієнт pH. Даний градієнт створюється за допомогою синтетичних сумішей поліамінополікарбонових кислот (амфолітів) під дією електричного поля. Білок рухається під дією електричного поля, доки не досягне тієї ділянки колонки, де pH дорівнює ізоелектричній точці даного білка. Сумарний електричний заряд білка стає рівним нулю; білок втрачає рухливість і концентрується в цій ділянці у вигляді вузької зони. Молекули різних білків будуть утворювати зони в тій або іншій частині колонки у відповідності до значень їх ізоелектричних точок. ІЕФ дозволяє розділяти білки, що відрізняються значеннями ізоелектричних точок на 0,02 одиниці.

Для електрофоретичного розділення білків і пептидів успішно застосовується *двовимірний електрофорез* в ПААГ (рисунок 2.8). Відповідно до цього методу суміш компонентів розділяють спочатку в стовпчиках гелю електрофорезом в горизонтальному напрямі, в результаті чого білки розділяються в залежності від величини заряду (рисунок 2.8 а). Потім розділення проводять в пластинах гелів у вертикальному напрямі (рисунок 2.8 б), під час цього процесу білки розділяються в залежності від молекулярної маси.

Виявлення білків після їх розділення ізоелектричним фокусуванням і гель-

електрофорезом здійснюють шляхом фарбуванням спеціальними барвниками з урахуванням того, що амфоліти здатні утворювати з білками комплекси.

Розділення білків гороху за допомогою двовимірного електрофорезу дало змогу отримати більше 150 різних компонентів.

Розділення білків з а здатністю до специфічних вз аємодій

Афінна хроматографія (або хроматографія за спорідненістю) ґрунтується на принципі вибіркового зв'язування білків із специфічними речовинами (лігандами), прикріпленими до носія. До носія (інертний полімер) ковалентно приєднують ліганд (глюкозу), іммобілізуючи останній (рисунок 2.9 (А)). Досліджувану білкову суміш наносять на колонку. Під час проходження розчину білків через колонку з полімером на колонці адсорбується лише специфічний для даного ліганду білок за рахунок комплементарного з’єднування білка з лігандом.

Білки, що не зв'язалися, видаляють відповідним буфером (рисунок 2.9 (Б)), а потрібний білок вимивають (елюють) розчином, що містить вільний ліганд в дуже високій концентрації (рисунок 2.9 (В, Г)). Часто в якості вільного ліганду використовують ліганд, що має вищу спорідненість до білка, ніж у фіксованого на полімері ліганду.

Цей високочутливий метод дозволяє виділити в чистому вигляді дуже малі кількості білка з клітинного екстракту, що містить сотні інших білків. Одним із варіантів цього методу є імуноафінна хроматографія: до частинок полімеру приєднують антитіла до певного білка, що забезпечує з дуже високою специфічністю затримку на колонці цього білка.

Гомогенність білку визначається на останньому етапі виділення і очищення із застосуванням щонайменше двох методів, що оцінюють ту або іншу фізико-хімічну властивість. Найбільш достовірними є ультрацентрифугування в градієнті густини, диск-електрофорез в ПААГ і розчинність.

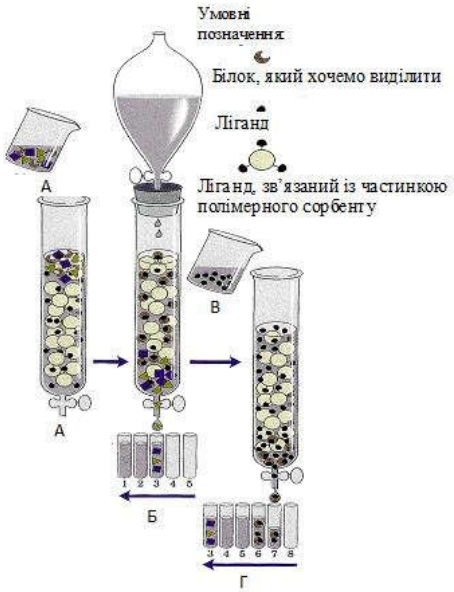


Рисунок 2.9 – Схема розділення білків методом афінної хроматографії

Для проведення очищення і фракціонування білків за допомогою вищеописаних методів існують сучасні прилади (рисунок 2.10)

а *б* *в*

а – прилад для рідинної хроматографії; б – препаративний хроматограф; в – прилад для одностороннього електрофорезу

Рисунок 2.10 – Прилади для очищення і фракціонування білків

Експериментальна частина

Розділення білків пшениці на окремі фракції в залежності від розчинності

Основну масу білків зерна становлять прості білки – це так звані запасні білки. Вони накопичуються в зерні, яке достигає, і є необхідними для живлення зародка на початкових етапах проростання. Найбільш повноцінними є білки зародка, в яких сприятливо збалансовані незамінні амінокислоти. Білок зародка наближається за своїм амінокислотним складом до білків тваринного походження.

Амінокислотний склад сумарних білків злакових культур визначається амінокислотним складом окремих фракцій, в основу класифікації яких покладений принцип розчинності. Під час послідовної обробки борошна або розмеленого зерна водою, 5...10%-ним розчином хлориду натрію, 60...80%-ним водним розчином спирту і 0,1...0,2%-ним розчином гідроксиду натрію екстрагуються білкові фракції, які відповідно названі *альбумінами, глобулінами, проламінами і глютелінами.* В таблиці 2.4 наводиться процентний вміст білкових фракцій в зернових культурах. До складу білків входять і так звані *склеропротеїни* (нерозчинні білки), що містяться в оболонках і периферійних шарах зерна. Особливістю білків даної фракції є міцне сполучення з лігніополісахаридним комплексом. Склеропротеїни виконують структурну функцію і є малодоступними для травлення. Поряд з білками в зерні міститься небілковий азот (0,7...12,9% від загального азоту), що включає вільні амінокислоти (50...60%), пептиди, нуклеотиди й ін. Кількість небілкового азоту змінюється в залежності від ступеня зрілості, вирівнюваності і проростання зерна.

Таблиця 2.3 – Вміст білкових фракцій в зерні злакових

Культура	Азот фракцій (в % від білкового азоту)				
	Альбуміни	Глобуліни	Проламіни	Глютеліни	Склеропротеїни
Пшениця м'яка	5,2	12,6	35,6	28,2	8,7
Жито	24,5	13,9	31,1	23,3	7,2
Ячмінь	6,4	7,5	41,6	26,6	17,9
Кукурудза	9,6	4,7	29,9	40,3	15,5
Овес	7,8	32,6	14,3	33,5	11,8
Гречка	21,7	42,6	U	12,3	23,3
Рис	11,2	4,8	4,4	63,2	16,4

Білки зернових нерівномірно розподілені між анатомічними частинами зерна. Значна кількість білка міститься в ендоспермі (65…75%) і значно менша – в алейроновому шарі (до 15,5%) і зародку (до 22%). Білки зародка і алейронового шару представлені в основному альбумінами і глобулінами, що виконують каталітичну функцію під час проростання зерна (ферменти), а білки ендосперму – альбумінами, глобулінами, проламінами і глютелінами.

Сумарний вміст білка в пшеничному зерні становить 11,4%. Найбільше в ньому мітиться проламінів і глютелінів, що утворюють клейковину. Проламін пшениці називають *гліадином*. Він найкраще розчиняється в 60% етанолі. Ізоелектрична точка відповідно pH=7,0. Амінокислотний склад гліадину відрізняється малим вмістом незамінних амінокислот – триптофану і лізину. Разом з тим багато глутамінової кислоти (46,6%) і проліну (17,0%). Глютелін пшениці називають *глютеніном*. За амінокислотним складом він відрізняється від гліадина, але також містить багато глутамінової кислоти.

Альбумін, що міститься в пшеничному зерні був названий *лейкозином*. Він містить головним чином у зародку. Цей білок легко денатурується і втрачає свою розчинність.

Важливою складовою зерна є клейковина. Вміст клейковини в зерні і борошні пшениці є важливим показником якості. Сира клейковина містить 66% води і 34% сухої речовини, яка в основному складається з білків. Від кількості і реологічних властивостей клейковини залежить здатність пшеничного борошна давати в процесі випічки пишний хліб з пружним, еластичним і пористим м'якушем.

Клейковина є складним білковим комплексом, що складається із двох фракцій – гліадинової і глютенінової в співвідношенні 1:1. Окремо ці фракції властивостями клейковини не володіють. Разом з тим гліадин лекго відділяється від глютеніну шляхом екстракції 60...70% етанолом. Це свідчить про те, що обидві фракції з'єднані нековалентними зв'язками.

В кількісному співвідношенні основними білками пшениці є дві фракції,

що здатні утворювати клейковину - гліадин (проламіни пшениці) та глютенін (глутеліни пшениці).

Прилади, обладнання, матеріали: скляна воронка, порцелянова ступка, товкачик, фільтрувальний папір, технічні ваги, годинник, центрифуга, конічна колба місткістю 150…200 $см^3$, пробірки, піпетка місткістю 1 $см^3$, циліндр місткістю 10 $см^3$, водяна баня, термометр, зразок борошна.

Реактиви: дистильована вода, 10 %-й та насичений розчини NaCl, сухий тонкоподрібнений порошок $(NH_4)_2SO_4$, 0,2 %-й розчин NaOH, 0,1 н[4] розчин CH_3COOH, біуретовий реактив[5].

Виділення білків пшениці, розчинних у воді.

Послідовність дій наведена на схемі (рисунок 2.11) 2 г пшеничного борошна розтирають у фарфоровій ступці з 10 $см^3$ дистильованої води. Отриману суміш залишають у спокої на 2…3 хв, потім відфільтровують.

Залишок борошна промивають два рази невеликими порціями дистильованої води та залишають для подальшого вилучення глобулінів пшениці. Отриманий фільтрат використовують під час дослідження розчинності альбумінів пшениці.

---

[4] Таке позначення розмірності молярної концентрації еквіваленту C_H, замість позначення "моль-екв/$дм^3$" буде використовуватись в даній методичці. Молярна концентрація еквіваленту – це кількість молів еквівалентів розчиненої речовини в 1 $дм^3$ розчину, моль·екв/$дм^3$.

[5] **Біуретовий реактив:** 15 $см^3$ 10 М розчину КОН та 25 г сегнетової солі, яку беруть з похибкою ± 0,01г, розчиняють приблизно в 900 $см^3$ дистильованої води в мірній колбі місткістю 1000 мл, повільно додають
під час постійного перемішування 30 $см^3$ 4 %-ного розчину $CuSO_4$, відміряних циліндром, та доводять об'єм колби до мітки дистильованою водою.

Інший спосіб приготування **біуретового реактиву**: В 500 $см^3$ води розчиняють 1,5 г сульфату міді ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) і 6,0 г змішаного тартрата натрію-калію ($NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$). За інтенсивного перемішування додають 300 $см^3$ 10%-ного розчину NaOH (вільного від карбонатів). Для запобігання утворення осаду оксиду купруму (I) можна додати також KJ (1 г). Об'єм суміші доводять водою до 1000 $см^3$; суміш зберігають в пластиковій пляшці.

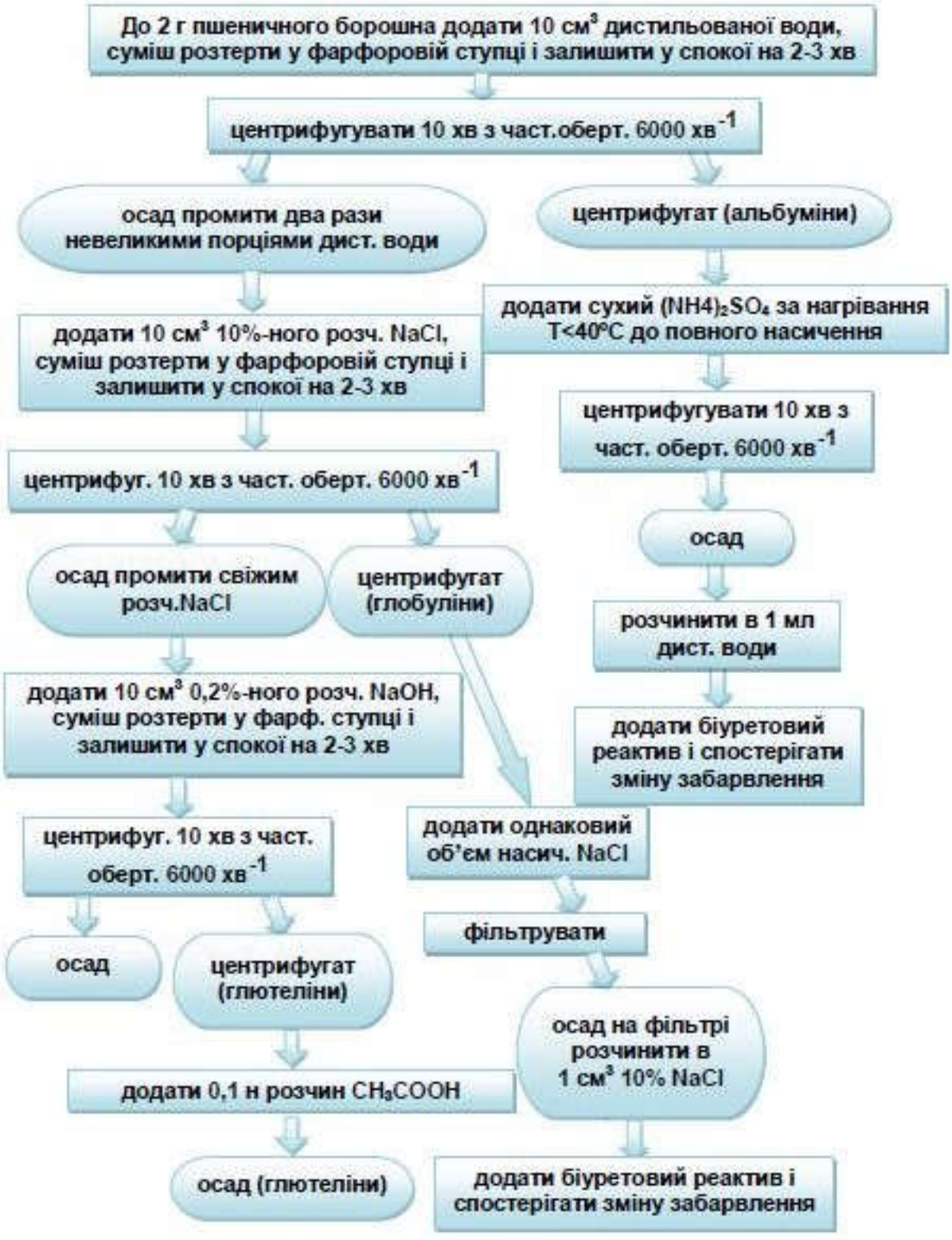


Рисунок 2.11 – Схема виділення розчинних у воді, розчинах солей і лугах білків пшениці

До фільтрату альбумінової фракції білків додають сухий тонкоподрібнений порошок сульфату амонію під час нагрівання (не вище 40°С) до повного насичення (до припинення розчинення сульфату амонію).

Осад, що випав у вигляді альбумінової фракції білків пшениці, відфільтровують. Осад на фільтрі розчиняють в 1 $см^3$ дистильованої води. В отриманому розчині підтверджують наявність білків, додавши до нього 1 $см^3$ біуретового реактиву.

Виділення білків пшениці, розчинних у солях

Промитий водою залишок борошна (після вилучення альбумінової фракції білків) розтирають у ступці з 10 $см^3$ 10%-ного розчину хлориду натрію, залишають у спокої на 2…3 хв. та відфільтровують. Залишок борошна промивають два рази невеликими порціями свіжого розчину хлориду натрію та залишають для подальших дослідів. Отриманий фільтрат використовують під час дослідження розчинності глобулінів пшениці.

До фільтрату додають однаковий об'єм насиченого розчину хлориду натрію, досягнувши таким чином напівнасичення. Осад, що випав у вигляді глобулінової фракції білків пшениці, відфільтровують. Осад розчиняють на фільтрі в 1 $см^3$ 10%-ного розчину хлориду натрію. Проводять реакцію з біуретовим реактивом.

Виділення білків пшениці, розчинних у лугах

Залишок борошна (після вилучення альбумінової та глобулінової фракцій білків) розтирають у фарфоровій ступці з 10 мл 0,2%-ним розчином гідроксиду натрію, залишають у спокої на 2…3 хв. та відфільтровують. До фільтрату додають по краплям 0,1 н розчин оцтової кислоти. Осад, що випав, являє собою глютенін (глутеліни пшениці). Послідовність виконання дій представлена на рисунку 2.11.

Виділення білкі в пшениці, розчинних у спиртах

У фарфоровій ступці розтирають 1 г пшеничного борошна з 5 $см^3$ 70%-ного етилового спирту. Отриману суспензію залишають у спокої та відфільтровують. До 3 $см^3$ фільтрату додають по краплям дистильовану воду до випадіння осаду. Отриманий осад являє собою гліадин (проламіни пшениці). Послідовність виконання дій представлена на рисунку 2.12.

Рисунок 2.12 – Схема виділення білків, розчинних у спиртах

Розділення білків молока на окремі фракції в залежності від розчинності

Вміст білків в молоці становить 2,9…3,5 %. Білки молока забезпечують нормальний розвиток організму та харчування дорослої людини. Вони відрізняються за будовою, фізико-хімічними властивостями та біологічними функціями. Білки молока можна поділити на дві групи: казеїн та сироваткові білки. На казеїн припадає приблизно 80% від загального вмісту азоту в молоці, а на сироваткові білки – приблизно 15%. До складу білків молока входять 18 амінокислот, 8 із яких є незамінними.

Казеїн відноситься до фосфопротеїдів та є сумішшю декількох фракцій, що відрізняються за хімічним складом та знаходяться у молоці у вигляді колоїдного розчину. Основною властивістю казеїну є здатність до коагуляції, за якої відбувається руйнування його колоїдного стану. Під час виробництва молочних продуктів коагуляцію казеїну проводять кислотами, сичужним ферментом та хлоридом кальцію.

Сироваткові білки відносяться до глобулярних білків, які на відміну від казеїну не здатні асоціювати та осаджуватися в ізоелектричній точці. Вони гетерогенні, мають важливі біологічні функції. Основну частину сироваткових білків складають β-лактоглобулін та α-лактоальбумін, що містяться у молоці в тонкодиспергованому стані.

β-Лактоглобулін – найважливіший білок в кількісному відношенні, термолабільний. Він бере участь у транспортуванні вітаміну А, переносить в кишковик макро- та мікроелементи, вітаміни, ліпіди. Теплова денатурація призводить до коагуляції агрегованого білка (він коагулює майже повністю за температури 85…100 °С) та утворення комплексів з казеїном.

α-Лактальбумін – гетерогенний білок, бере участь в синтезі лактози (є частиною лактозосинтезуючої системи). Потрапляє в молоко з кровоносної системи тварини. Він найбільш термостабільний з усіх сироваткових білків внаслідок присутності в ньому дисульфідних зв'язків. Під час охолодження та в присутності іонів кальцію α-лактальбумін здатен відновлювати нативну структуру на 80…90%.

Молочні альбуміни та глобуліни мають властивості білків відповідних груп: вони згортаються під час кип'ятіння та висолюються насиченим (альбуміни) і напівнасиченим (глобуліни) розчином сульфату амонію.

Завдяки значному вмісту незамінних амінокислот білки молока є повноцінними. Особливо багаті на незамінні амінокислоти сироваткові білки, в яких вміст таких дефіцитних амінокислот як лізин, триптофан, метіонін та треонін є найвищим. Білки молока мають високу засвоюваність (95...96 %). Небілкові азотисті сполуки містяться у молоці в незначних кількостях.

Прилади, обладнання, матеріали: скляна воронка, фільтрувальний папір, годинник, конічна колба місткістю 150…200 $см^3$, пробірки, піпетка місткістю 1 $см^3$, 2 $см^3$, 5 $см^3$, водяна баня, термометр, центрифуга.

Реактиви: молоко, дистильована вода, 1 %-ний розчин NaCl, сухий тонкоподрібнений порошок $(NH_4)_2SO_4$, розчин $(NH_4)_2SO_4$, сухий $NaHCO_3$, 1 %-ний розчин NaOH, 3 %-й розчин CH_3COOH, біуретовий реактив.

Виділення казеїну

В колбу об'ємом 100 $см^3$ наливають 5 $см^3$ молока та 5 $см^3$ дистильованої води (рисунок 2.13). Вміст колби ретельно перемішують та додають по краплям 1 $см^3$ 3 %-ного розчину оцтової кислоти. Отриману суміш знову перемішують та залишають у спокої на 5…10 хв. Осад казеїну відфільтровують. Отриманий фільтрат (сироватка), що містить сироваткові білки, нейтралізують, додавши сухий бікарбонат натрію до припинення виділення вуглекислого газу, та використовують для виділення білків молока, розчинних у солях.

Казеїн, що випав в осад, промивають на фільтрі водою та розчиняють в 2 $см^3$ 1 %-ного розчину їдкого натру. Присутність білку (казеїнату натрію) в отриманому фільтраті підтверджують за допомогою біуретової реакції. Для цього додають до фільтрату однаковий об'єм біуретового реактиву. Колір розчину повинен змінитися з блакитного на фіолетовий.

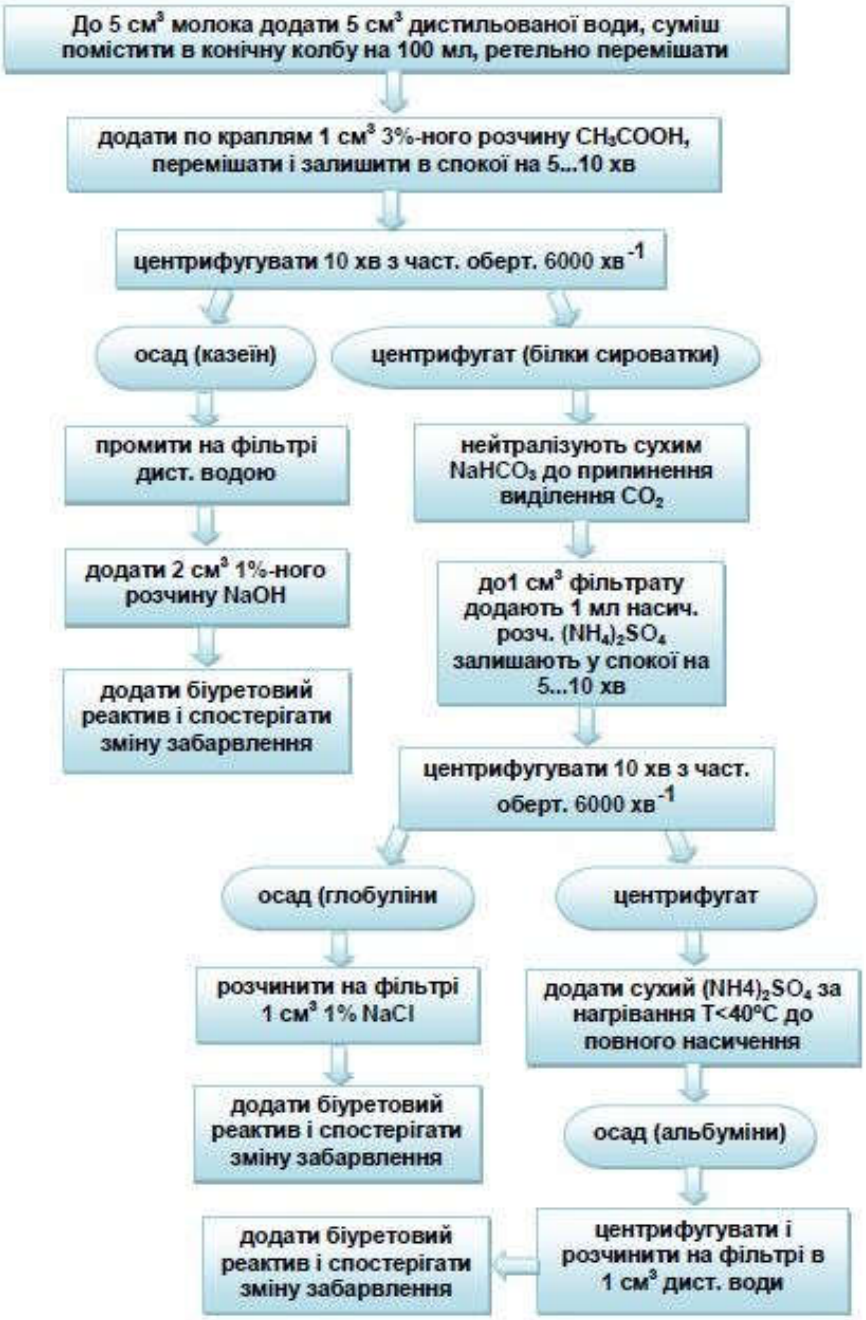


Рисунок 2.13 – Схема виділення білків молока:

Виділення білків молока, розчинних у солях

Послідовність виконання дій наведена на схемі рисунку 2.13. В пробірку вносять 1 см^3 фільтрату (після виділення казеїну), додають 1 см^3 насиченого розчину сульфату амонію (для досягнення напівнасичення). Осад глобулінів молока залишають у спокої на 5…10 хв., а потім відфільтровують. Фільтрат використовують для виділення водорозчинних білків молока. Глобуліни, що випали в осад, розчиняють на фільтрі в 1 см^3 1%-ного розчину хлориду натрію. З отриманим розчином глобулінової фракції білків (близько 1 см^3) проводять якісну реакцію на пептидний зв'язок, додавши 1 см^3 біуретового реактиву.

Виділення білків молока, розчинних у воді

Отриманий після вилучення глобулінів молока фільтрат насичують сухим порошком сульфату амонію, додаючи його під час перемішування. Розчин трохи підігрівають на водяній бані за температури не вище 40°С до припинення розчинення сульфату амонію. Осад, що випав, є альбуміновою фракцією білків молока. Альбуміни відфільтровують, отриманий осад розчиняють на фільтрі в 1 $см^3$ дистильованої води. Проводять якісну реакцію на білок. Послідовність виконання дій наведена на схемі рисунку 2.13.

Контрольні питання

1. На які види класифікують білки за походженням?
2. Які функції виконують білки в організмі людини?
3. Які є білки за будовою молекули?
4. Як класифікують білки за хімічним складом?
5. Як поділяють прості білки за розчинністю?
6. Дайте визначення терміну «функціональні властивості білків».
7. Назвіть основні функціональні властивості білків.
8. Охарактеризуйте водозв'язувальну властивість білків?
9. Поясніть жирозв'язувальну та жироемульгувальну властивість білків.
10. З чим пов'язана піноутворювальна здатність білків.
11. Охарактеризуйте желеутворювальну здатність білків.
12. Назвіть найважливіші якісні реакції на білок.
13. З яких етапів складається виділення і очищення білків?
14. Які є методи деструкції біологічного матеріалу перед його аналізом?
15. Які є методи відокремлення білків від низькомолекулярних сполук?
16. На яких властивостях ґрунтуються методи фракціонування білків?
17. Хроматографічні методи очищення та фракціонування білків.
18. Поясніть суть методу гель-фільтрації, електрофорезу.
19. Що таке афінна хроматографія? Де вона застосовується?
20. Охарактеризуйте білки зернових культур.
21. Методика виділення білків пшениці, розчинних у воді, солях, лугах та у спиртах.
22. Дайте характеристику білків молока. Методика виділення казеїну молока. Методика виділення білків молока, розчинних у солях та воді.

Лабораторна робота № 3
Методи визначення масової частки азотистих речовин в харчових продуктах

Мета роботи: теоретично розглянути метод Кьєльдаля для визначення загального азоту в харчових продуктах; визначити масову частку білка в харчовому продукті біуретовим і нефелометричним методами та порівняти з очікуваним вмістом білка – лабораторними або літературними даними; провести порівняльну оцінку методів визначення масової частки білкових речовин в харчовому продукті.

Теоретичні відомості

Харчова цінність продуктів значною мірою залежить від вмісту в них азотистих речовин, в основному, білків. Їх основне значення полягає в незамінності іншими компонентами їжі. Білки складають основу процесів життєдіяльності організму. Необхідність їх постійного оновлення лежить в основі обміну речовин. Дефіцит білка в харчовому раціоні знижує стійкість організму до інфекційних захворювань, порушує процеси кровотворення, обмін ліпідів, вітамінів та ін. У дітей у разі білкової недостатності уповільнюється ріст та розвиток розумових здібностей. Тривалий надлишок білка в харчуванні також негативно впливає на життєдіяльність організму, викликаючи надмірне збудження нервової системи, порушення обмінних процесів, перевантаження печінки та нирок.

В щоденному раціоні дорослої людини білки повинні складати приблизно 14 % загальної калорійності, поєднуючись в певному співвідношенні з іншими харчовими речовинами.

Рослинні білки засвоюються організмом не повністю в порівнянні з тваринними. Так, білки молока та яєць засвоюються на 96%, білки риби та м'яса – на 95%, білки хліба з борошна пшеничного I та II сортів – на 85%, білки картоплі, хліба з обойного борошна, бобових – на 70%. Враховуючи, що рослинні білки є менш повноцінними за вмістом незамінних амінокислот, ніж тваринні, споживання певної кількості тваринних білків є цілком необхідним. Для дорослої людини частка тваринних білків в середньому повинна складати 55 % від загальної кількості білка в раціоні.

Склад білків є непостійним. Зазвичай білки складаються з вуглецю (50...55%), кисню (25...30%), азоту (9...15%), сірки (0,5...2,5%). Під час аналізу продуктів харчування часто під словом "білок" мається на увазі кількість загального азоту, визначеного за методом Кьєльдаля, помножене на відповідний коефіцієнт перерахунку, вказаний в таблицях (в середньому – 6,25). Прийнятий він тому, що більшість білків містять 16% азоту (100:16 = 6,25). Для пшениці

отриманий коефіцієнт 5,7, оскільки її білки містять 17,5% азоту. Для жита, ячменю, вівса, насіння соняшнику також 5,7; сої – 5,8; кукурудзи – 6,25; молока – 6,38 і так далі.

ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА МЕТОДОМ КЬЄЛЬДАЛЯ

Метод Кьєльдаля – один з найбільш поширених методів аналізу. Він дає точні результати, але дуже трудомісткий та тривалий. Суть методу полягає в тому, що аналізований зразок окиснюють гарячою концентрованою сірчаною кислотою; в процесі окислення зв'язаний азот перетворюється на іон амонію. Потім розчин обробляють надлишком сильної основи, внаслідок чого виділяється аміак, який визначають різними методами: титриметричним або фотоколориметричним.

Найважливішою стадією в методі Кьєльдаля є окиснення сірчаною кислотою. Вуглець і водень, що містяться в зразку, перетворюються відповідно на вуглекислий газ і воду. Але ступінь перетворення азоту залежить від його стану в початковій сполуці. Якщо він є присутнім у вигляді аміду або аміну, як, наприклад, у білкових речовинах, перетворення його на іон амонію відбувається завжди майже повністю. Якщо ж азот є присутнім у високих ступенях окиснення, наприклад, у вигляді нітро-, азо- і азоксигруп, на стадії окислення зразка він перетворюється на молекулярний азот або оксиди азоту і не утримується сірчаною кислотою. Це призводить до заниження результатів, і щоб запобігти втратам, зразок піддають попередній обробці відновником (саліциловою кислотою або тіосульфатом натрію). За такої обробки азот переходить в сполуки з нижчими ступенями окиснення, з яких він легше перетворюється на іон амонію в результаті обробки сірчаною кислотою. Стадія окиснення є найбільш тривалою в методі Кьєльдаля – година і більше. Для прискорення намагаються підвищити температуру кипіння сірчаної кислоти а, отже, і температуру процесу окиснення, шляхом додавання нейтральної солі, наприклад, сульфату калію. Спроби прискорити стадію окислення введенням таких сильних окисників, як хлорна кислота, перманганат калію і пероксид водню, виявилися невдалими, оскільки іон амонію частково окиснюється до летких оксидів азоту.

Стадію окислення каталізують багато речовин: ртуть, мідь і селен – як в зв'язаному стані, так і в елементному. Головний ефект селену полягає в тому, що він скорочує час розкладання до утворення прозорого розчину, хоча утворення абсолютно прозорого розчину не завжди рівнозначне кількісному розкладанню речовини. Слід застосовувати незначну кількість селенового каталізатора, оскільки у випадку його збільшення зростає втрата азоту. Тривалість нагрівання теж не має бути занадто великою. Таким чином, кількість каталізатора і тривалість нагріву мають оптимум, який необхідно враховувати.

Послідовність реакцій під час визначення загального азоту за методом

Кьєльдаля:

1) до точно зваженої наважки аналізованої проби підливають сірчану кислоту (для видалення піни, що утворюється, додають шматочок парафіну);

2) колбу поміщають на плитку і нагрівають, під час цієї стадії відбуваються наступні реакції:

$$RCHNH_2COOH + H_2SO_4 \rightarrow CO_2 + SO_2 + H_2O + NH_3;$$

$$2NH_3 + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4;$$

3) після завершення окиснення (рідина стане світлою) вміст колби розбавляють водою і додають луг (30% NaOH) для виділення аміаку:

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \rightarrow 2NH_3 + Na_2SO_4 + 2H_2O;$$

4) аміак відганяють (часто з водяною парою) в колбу з розчином кислоти;

5) аміак поглинають надлишком 0,1 н розчину H_2SO_4 і титрують надлишок H_2SO_4 0,1 н розчином NaOH у присутності фенолфталеїну:

$$H_2SO_4 + NaOH \rightarrow Na_2SO_4 + H_2O;$$

6) розраховують вміст азоту в %.

За способом визначення кількості аміаку, що виділився, метод Кьєльдаля може мати титрометричне або фотометричне закінчення.

Титриметричне визначення азоту за методом Кьєльдаля. Існують два титриметричні способи визначення зібраного аміаку. У одному з них в приймач поміщають відому кількість стандартного розчину кислоти. Після закінчення відгону надлишок кислоти титрують стандартним розчином лугу. Інший зручний спосіб, що вимагає застосування тільки одного стандартного розчину, полягає в тому, що в приймач вводять деякий надлишок борної кислоти:

$$HBO_2 + NH_3 \rightarrow NH_4^+ + BO_2^-$$

Борат, що утворюється, кількість якого еквівалентна кількості аміаку, є досить сильною основою і його можна титрувати стандартним розчином HCl:

$$BO_2^- + H_3O^+ \rightarrow HBO_2 + H_2O.$$

Метод Кьєльдаля знайшов широке застосування у біохімії і аналізі харчових продуктів. Метод відносно простий, легко піддається автоматизації і добре відтворюється. Нині процедура визначення білка за методом Кьєльдаля стандартизована в міжнародному масштабі і випускається устаткування, що дозволяє швидко і точно визначати вміст загального азоту. Таке устаткування включає блок розкладання проб – дигестер; систему для видалення і нейтралізації парів; систему дистиляції – парові дистилятори; для визначення у відігнаній пробі амонійного азоту методом титрування використовується автоматичний титратор.

Дигестори (рисунок 3.1 а) призначені для мінералізації зразків в сірчаній кислоті і забезпечені потужними інфрачервоними нагрівальними елементами, максимальна температура процесу може досягати 450ºС, що значно скорочує час

на проведення реакції. Якісне виготовлення і правильне розміщення нагрівальних елементів забезпечують рівномірне нагрівання зразків за однаковими стадіями й ідентичність температур в усіх посудинах. Дигестери дозволяють одночасно розкладати до 12 проб різного об'єму.

До складу автоматизованої установки входить система для видалення і нейтралізації парів – *скрубер* (рисунок 3.1 б), що дає змогу експлуатувати прилад без витяжної шафи. Скрубер оснащений вакуумним насосом, який висмоктує гази з дигестерів і пропускає їх через розчин лугу. За рахунок взаємодії пари кислот з лугом відбувається нейтралізація і забезпечується повне очищення газів, що відходять.

Для відгону і поглинання аміаку після розкладання проб використовуються *парові дистилятори* (рисунок 3.1 в), вони є доповненням до дигестерів. Дистилятор має високу продуктивність – 3 кг водяної пари за годину, тому відгонка зразка відбувається за лічені хвилини.

Кінцевою стадією аналізу є визначення у відігнаній пробі амонійного азоту методом титрування, яку здійснюють за допомогою автоматичного титратора, який дозволяє повністю автоматизувати процес титрування і помітно покращити відновлюваність отриманих результатів аналізу.

а

б

в

г

а – дигестер; б – скрубер; в – парові дистилятори; г – автоматичний титратор

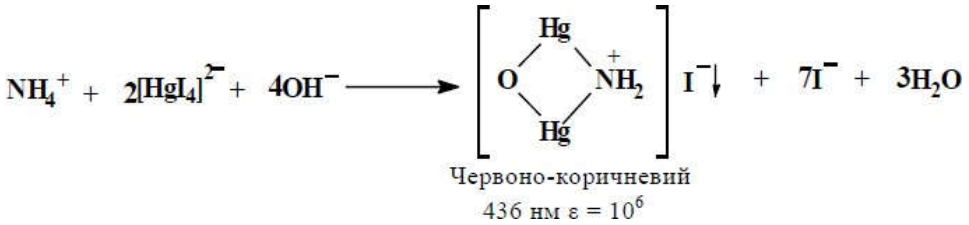
Рисунок 3.1 – Устаткування для автоматизованої системи методу Кьєльдаля

Існують такі системи дистиляції, які дають можливість не тільки відганяти аміак з парою але і визначати його кількість титриметрично, з використанням скляного електроду (рисунок 3.1 в). В таких системах дистиляція і титрування проводяться в автоматичному режимі і робота, як системи дистиляції, так і блоку розкладання контролюється мікропроцесором, а результати аналізу можуть реєструватися за допомогою персонального комп'ютера.

Слід зазначити, що вартість визначення вмісту білку за допомогою автоматизованої установки є високою.

Фотометричне визначення азоту за методом Кьєльдаля. Для прискорення визначення аміаку використовується його фотометричне визначення. Фотометрично аміак може бути визначений або за реакцією з реактивом Несслера, або за реакцією утворення індофенолу.

Під час визначення першим способом, до розчину, що містить іони амонію, додають реактив Несслера, що є лужним розчином $K_2[HgI_4]$. Продукт реакції забарвлений в червоно-коричневий колір (ε = 106). Оптичну густину отриманого розчину вимірюють за 436 нм. Концентрацію аміаку знаходять за калібрувальним графіком, побудованому за стандартними розчинами сульфату амонію.

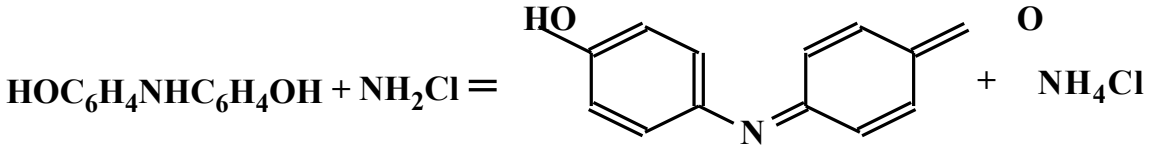


Червоно-коричневий
436 нм ε = 10^6

Визначення, яке ґрунтується на утворенні індофенолу, полягає в спільному окисненні фенолу і аміаку.

$NH_3 + NaOCl \rightarrow NH_2Cl + NaOH$ $C_6H_5OH + NH_2Cl + NaOH \rightarrow H_2NC_6H_4OH + NaCl$

$H_2NC_6H_4OH + C_6H_5OH + NH_2Cl \rightarrow HOC_6H_4NHC_6H_4OH + NH_4Cl$



$HOC_6H_4NHC_6H_4OH + NH_2Cl =$ + NH_4Cl

Отриманий індофенол забарвлює розчин в інтенсивно синій колір (λ = 620 нм, $\varepsilon = 4{,}5 \cdot 10^4$) за оптичною густиною якого і визначають вміст аміаку. Як окисники використовують NaClO, хлорну або бромисту воду, пероксид водню.

Варто нагадати, що методом Кьєльдаля визначають не чистий білок, а так званий "сирий протеїн", оскільки разом з азотом білка одночасно визначається азот й інших сполук: амінокислоти, аміди, алкалоїди (кофеїн та ін.), неорганічні азотовмісні сполуки. Вміст небілкових речовин може досягати 10%. Використання перевідного коефіцієнта під час розрахунку кількості білка в методі Кьєльдаля робить його дещо умовним. Проте, незважаючи на недоліки, метод Кьєльдаля є уніфікованим, він включений в ДСТУ, ГОСТи на багато харчових продуктів.

Є і інші методи визначення азоту, такі як Дюма, нейтронно-активаційний, фотоколориметричне визначення на приладі "Технікон".

Метод Дюма полягає в розкладанні органічної сполуки в атмосфері оксиду вуглецю до газоподібного стану з подальшим виміром об'єму азоту(N_2).

У нейтронно-активаційному методі атоми азоту аналізованого зразка бомбардуються нейтронами в ядерному реакторі з отриманням ізотопу ^{13}N. Вміст білка розраховується за кількістю гама-променів. Усі ці вище описані методи за точністю аналізу не поступаються методу Кьєльдаля, проте вони є досить дорогими.

КОЛОРИМЕТРИЧНІ ТА РЕФРАКТОМЕТРИЧНІ ВИМІРЮВАННЯ

З розвитком *фото- та спектрофотометрії* були розроблені методи кількісного визначення білка, які базуються на здатності білка утворювати кольорові сполуки з деякими реагентами. Серед них слід виділити *метод Лоурі*, *біуретовий метод*. У основі біуретового методу лежить біуретова реакція, в основі методу Лоурі – відновлення фосфоромолібденової кислоти Тирозином і триптофаном з одночасним перебігом біуретової реакції. За оптичною густиною з використанням калібрувальних графіків знаходять концентрацію білка в розчинах.

Визначення азоту на приладі "Технікон" теж здійснюється фотоколориметричним способом. Вимірюється інтенсивність синьо-блакитного забарвлення, що утворюється в процесі мінералізації зразка з лужним розчином фенолу і гіпохлориту.

Знаходять застосування також фізико-хімічні методи, в основу яких покладено специфічні властивості білків:

–утворення різних ступенів помутніння в залежності від концентрації білка в розчині сульфосаліцилової кислоти (*нефелометричний метод*);

–здатність білка адсорбувати деякі барвники (кумаси синій R-250, амідочорний та ін.) і заломлювати промені світла (*рефрактометричний метод*).

Такі фізико-хімічні методи можна віднести до прискорених. За відносно

невеликих затратах часу вони характеризуються достатньо високою точністю, простотою та швидкістю визначення.

Поширеним є метод інфрачервоної спектроскопії, в основі якого лежить поглинання білками світла з певною довжиною хвилі і вимірювання інтенсивності його відображення в спеціальних приладах-аналізаторах. Прилади калібрують за зразками (еталонам) з відомим вмістом білку, визначеним за методом Кьєльдаля.

Колориметрія (від лат. *color* – колір і грец. *μετρεω* – вимірюю) – метод хімічного аналізу, заснований на визначенні концентрації речовини за інтенсивністю забарвлення розчинів (більш точно – за поглинанням світла розчинами). Визначають інтенсивність забарвлення за допомогою приладів, наприклад колориметрів. Більш досконалі прилади – спектрофотометри – відрізняються можливістю дослідження оптичної густини в широкому діапазоні довжин хвиль видимого спектра, а також у ІЧ і УФ-діапазонах. Фотоколориметри – прилади для кількісного визначення концентрації речовини за поглинанням світла у видимій та ближній ультрафіолетовій ділянці спектра.

Фотометр фотоелектричний (фотоелектроколориметр) КФК-3 (рисунок 3.2 а) призначений для вимірювання коефіцієнтів пропускання і оптичної густини прозорих розчинів, а також для вимірювання швидкості зміни оптичної густини речовини і визначення концентрації речовини в розчинах. За допомогою колориметра вимірюються також коефіцієнти пропускання розсіювальних суспензій, емульсій і колоїдних розчинів у світлі, що проходить через них.

Нефелометрія и турбідиметрія (від грец. *nephele* – хмара, лат. *Turbidus* – мутний і грец. metreo – вимірюю), методи кількісного хімічного аналізу, що ґрунтуються на вимірюванні інтенсивності світла, що розсіюється досліджуваною дисперсною системою (суспензія або аерозоль) і яке пройшло через неї. Для турбідиметричних вимірювань можна використовувати практично будь-який фотоелектроколориметр або спектрофотометр (рисунок 3.2 б)

Нефелометр (від грец. *nephele* – хмара; *metreo* – вимірюю) – оптичний прилад (рисунок 3.2 в) для вимірювання ступеня мутності рідин і газів за інтенсивністю розсіювання ними світла. Дія нефелометра ґрунтується на зіставленні інтенсивності світла, розсіяного середовищем, з інтенсивністю розсіювання еталону (мутне скло та ін.). Нефелометри бувають візуальні і фотоелектричні. Використовуються у дослідженнях дисперсних систем (синоніми: гідронефелометр, спектрогідронефелометр турбідиметр, мутномір).

а

б

а – фотоелектроколориметр КФК-3; б – спектрофотометр настільний Unico

Рисунок 3.2 – Прилади для колориметричних і рефрактометричних вимірювань

Рефрактометрія – (від лат. *refractus* – заломлений і грец. *metreo* – вимірюю) метод дослідження речовин, що ґрунтується на визначенні показника заломлення (коефіцієнта рефракції) та деяких його функцій. *Рефрактометр* (рисунок 3.2 г) – прилад для вимірювання коефіцієнта заломлення прозорих матеріалів, тобто ступеня заломлення світла, що проходить через них. Коефіцієнт заломлення хімічного розчину змінюється в залежності від його складу.

Експериментальна частина

Визначення масової частки загального азоту в харчових продуктах методом Кьєльдаля (теоретично)

Прилади, обладнання, матеріали: сито з комірками розміром 0,8 мм, пробірка, зразок продукту, кільце з дроту, аналітичні ваги, колба Кьєльдаля, прилад Чижової, піпетка, спиртівка, водяна баня, циліндри місткістю 10 та 50 $см^3$, каталізатор, витяжна шафа, спеціальна насадка або скляна воронка діаметром 3…4 см, установка для відгонки аміаку[6] .

Реактиви: дистильована вода, концентрована H_2SO_4, 0,1 М розчин H_2SO_4 (або 2 %- ний розчин H_3BO_3), індикатор, 33 %-ний розчин NaOH, 0,1 М розчин NaOH.

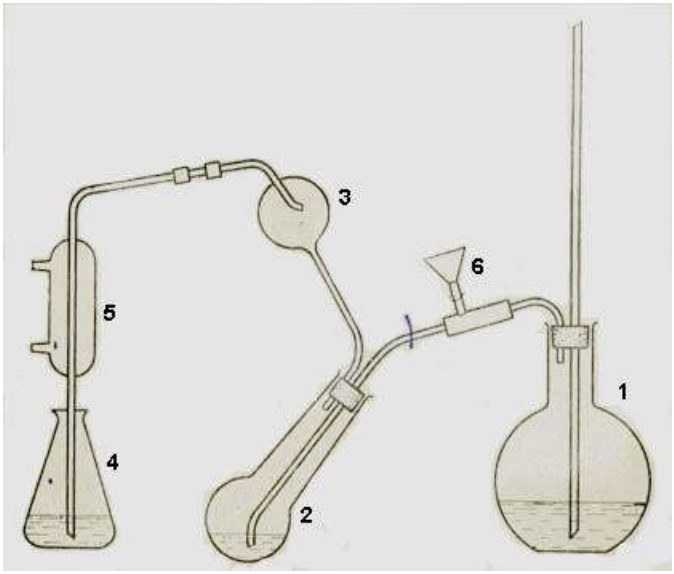
Детально методика проведення аналізу білка за методом Кьєльдаля описана в ГОСТі 26889-86 "Продукты пищевые и вкусовые. Общие указания по определению содержания азота методом Кьельдаля".

Наважка для аналізу повинна містити 20…40 мг азоту. Сипкий матеріал (зерно, солод) попередньо подрібнюють так, щоб помел проходив через сито з комірками розміром 0,8 мм.

Для аналізу борошна беруть наважку приблизно 1 г в суху пробірку та зважують з точністю до ±0,0002 г. Потім борошно пересипають в круглодонну колбу Кьєльдаля (V = 200 $см^3$) таким чином, щоб частинки борошна не потрапили на стінки горла колби (рисунок 3.3). Порожню пробірку зважують та

за різницею двох зважувань знаходять величину наважки. Аналіз проводять в двох паралельних пробах та водночас беруть дві наважки для визначення масової частки вологи.

В колбу Кьєльдаля (2) додають 1 г розтертої суміші, що складається із сульфату калію і сульфату купруму, взятих у співвідношенні 10:1, і 12 $см^3$ концентрованої сірчаної кислоти. Колбу нещільно закривають порожнинною скляною пробкою грушоподібної форми, під нахилом встановлюють у витяжній шафі на сітці над пальником і нагрівають спочатку на невеликому полум'ї (гази, що виділяються під час згорання, сильно спінюють масу і на початку нагрівання регулюють так, щоб маса не піднімалася в горло колби та не відбувався її викид), а потім більше інтенсивно, доки рідина не почне кипіти (дверцята витяжної шафи повинні бути закритими, а витяжка увімкнутою). Кип'ятіння продовжують до тих пір, доки вміст колби не стане прозорим, світло-зеленого кольору. Після цього кип'ятять ще 30 хв. Потім колбу охолоджують і обережно вливають в неї 30 $см^3$ води, знову охолоджують і приєднують до установки для відгону аміаку (рисунок 3.3).



1 – пароутворювач; 2 – колба Кьєльдаля; 3 – краплевловлювач; 4 – холодильник; 5 – приймач; 6 – крапельна воронка.

Рисунок 3.3 – Схема установки для визначення вмісту азоту методом Кьєльдаля.

Установка для відгону аміаку складається із пароутворювача (1), краплевловлювача (3) з відповідно вигнутими трубками, крапельної воронки (6), холодильника (4) довжиною 10...12 см і конічної колби-приймача на 150…250 $см^3$ (5).

[6] Установка для відгонки аміаку складається із колби місткістю 2 л, скляної трубки довжиною 1 м та діаметром 5…6 мм, воронки для лугу, трійника, гумової трубки з гвинтовим затискачем, воронки, скляних капілярів, краплевловлювача, холодильника, конічної колби місткістю 150…250 мл.

Колбу Кьєльдаля (2) закривають пробкою, що має два отвори. В один із них вставляють трубку, яка сполучена з крапельною воронкою і пароутворювачем, в другий – краплевловлювач. Краплевловлювач за допомогою зігнутих трубок з'єднують з холодильником, кінець якого занурений в конічну колбу-приймач, в яку із бюретки відміряють 25 см^3 0,1 М розчину сірчаної кислоти (або 25 см^3 2 %-ного розчину борної кислоти), додають 3…4 краплі індикатора та підставляють її під холодильник так, щоб кінець його трубки був занурений у розчин кислоти. У крапельну воронку наливають 30…45 см^3 30 %-ного розчину лугу. Потім кран крапельної воронки закривають. Коли прилад є зібраним і в холодильник запущена вода, починають нагрівати воду в пароутворювачі. Для рівномірного кипіння в пароутворювач кидають декілька капілярів, запаяних з одного боку. Через 15…20 хв. від початку перегонки аміаку приймальну колбу опускають так, щоб кінець холодильника був вище рівня рідини в колбі і продовжують відгін ще 5 хв. По закінченню перегонки кінець холодильника з промивалки обмивають водою, не виймаючи з колби та титрують надлишок H_2SO_4 0,1 н розчином NaOH до переходу забарвлення змішаного індикатора[7] в зелений колір. Титруванням визначається кількість сірчаної кислоти, що нейтралізувалась аміаком, який виділився під час відгонки. При цьому 1 см^3 0,1 н розчину гідроксиду натрію відповідає 1,4 г або 0,0014 мг азоту.

Вміст азоту X, % в перерахунку до сухої речовини розраховують за формулою

$$X = \frac{0{,}0014 \cdot (a-b) \cdot 100 \cdot 100}{(m_1 - m_2) \cdot (100 - W)} = \frac{14 \cdot (a-b)}{(m_1 - m_2) \cdot (100 - W)}, \qquad (3.1)$$

де a – кількість 0,1 М H_2SO_4, взята в приймальну колбу для відгонки, см^3; b – кількість 0,1 М NaOH, що пішла на титрування надлишку кислоти, см^3; m_1 – маса пробірки з наважкою, г; m_2 – маса порожньої пробірки (після висипання зразка в колбу Кьєльдаля), г; W – маса частка вологи в зразку, %.

У разі використання H_2BO_3 перегонка аміаку ведеться так само, але вміст приймальної колби титрують 0,1 М розчином H_2SO_4 до переходу зеленого забарвлення в червоно-фіолетове (в формулі b немає).

Результати аналізу виражають з точністю до 0,01 %, а розходження між двома паралельними дослідами не повинно перевищувати ±0,3 %.

Для перерахунку кількості азоту на суху речовину визначають масову частку вологи експресним методом.

[7] Найбільш широко використовують метиловий червоний або бромкрезоловий зелений. Можна також використовувати індикатор, відомий під назвою "Таширо"; в нього входить розчин метилового червоного, в який добавлений метиленовий блакитний. В такому випадку блакитний колір повинен бути взятим в такій пропорції, щоб отримати нейтральне сіре забарвлення за pH 5,5.

Кількість азоту перераховують на білок множенням отриманої величини на коефіцієнт 5,7 (для пшениці), порівнюють з очікуваним вмістом білка в продукті, встановлюють причини відхилення та його величину.

Визначення масової частки білкових речовин в харчових продуктах біуретовим методом

Специфічною реакцією на вміст білка є *біуретова реакція*, оскільки її *дають поліпептидні зв'язки*. Вона отримала свою назву від похідного сечовини – біурета, який утворює в лужному розчині мідного купоросу забарвлену комплексну сполуку. Інтенсивність забарвлення пропорційна вмісту пептидних зв'язків, а отже, і концентрації білка в розчині.

Біуретову реакцію дають всі білки, пептони та поліпептиди, починаючи з тетрапептидів.

Ця реакція тривалий час використовувалася як якісна реакція на білок. Далі вона стала застосовуватися для кількісного визначення білка в різних об'єктах. Біуретовий метод використовують в різних модифікаціях, які відрізняються умовами екстрагування білка, способами внесення біуретового реактиву та технікою колориметрування.

Нижче наведено біуретовий метод визначення масової частки білка в харчових продуктах модифікації Дженнінгса, експериментальна перевірка якого виявила ряд його переваг перед іншим модифікаціями.

Прилади, обладнання, матеріали: зразок продукту, аналітичні ваги, конічна колба місткістю 250…300 $см^3$, пробка, циліндр місткістю 2 $см^3$, піпетка місткістю 50 $см^3$, механічний струшувач, центрифуга, кювети з товщиною шару розчину 5 мм, фотоелектроколориметр, прилад Чижової.

Реактиви: зразок продукту, тетрахлорметан (CCl_4), біуретовий реактив.

Техніка визначення масової частки білкових речовин в харчових продуктах біуретовим методом

Зважують приблизно 1,5 г борошна з точністю до 0,001 г і переносять в суху конічну колбу на 250...300 $см^3$. Відмірюють циліндром, що має ціну поділки 0,1 $см^3$, під витяжкою 2 $см^3$ тетрахлорметану для вилучення жиру із зразка, додають піпеткою 100 мл біуретового реактиву. Закриту пробкою колбу струшують на механічному струшувачі протягом 60 хв. Потім витяжку центрифугують протягом 10 хв. за частоти обертання 4500 $хв^{-1}$. Прозорий центрифугат переносять в кювети фотоколориметра з товщиною шару розчину 5 мм. Вимірювання оптичної густини проводять за довжини хвилі $\lambda = 550$ нм. За величиною оптичної густини білкової витяжки визначають вміст білка в наважці (мг) за допомогою калібрувальної кривої. Розраховують масову частку білка (в %) в перерахунку на сухі речовини борошна.

Послідовність дій визначення масової частки білку в харчових продуктах

за допомогою біуретового методу наведена на рисунку 3.4.

Рисунок 3.4 – Схема визначення масової частки білків біуретовим методом

За величиною оптичної густини білкової витяжки визначають вміст білка в наважці (мг) за допомогою калібрувальної кривої (рисунок 3.4).

Розраховують масову частку білка у % на сухі речовини:

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 1000 \cdot (100 - W)},$$

де a – кількість білка у взятій наважці, мг; m – маса наважки харчового продукту, г; W – масова частка вологи в продукті, %.

Для побудови калібрувальної кривої (рисунок 3.5) підбирають зразки з різною масовою часткою білка в діапазоні, які зустрічаються в реальних умовах (від 8 до 20 %). Інтервал у вмісті білка зразків повинен знаходитися в межах не більше 1 %. Кількість зразків не повинна бути менше 10. Зі збільшенням їх числа точність визначень зростає.

Потім приведеним вище методом Дженнінгса визначають оптичну густину білкових витяжок всіх зразків.

Будуючи криву на осі абсцис відкладають величини оптичної густини, а на осі ординат – вміст білка в наважці в мг.

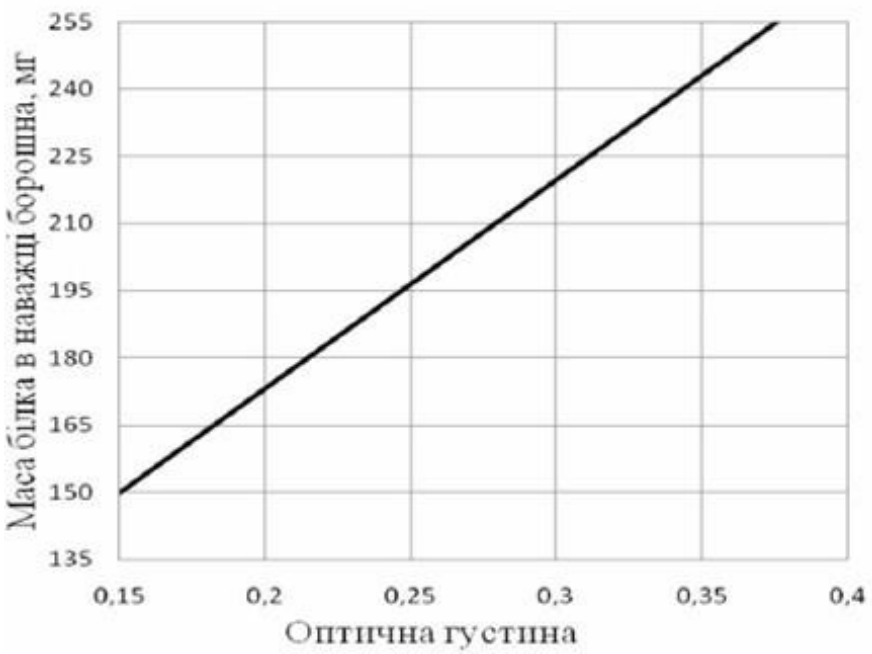


Рисунок 3.5. – Калібрувальна крива для визначення масової частки білка біуретовим методом

Таблиця 3.1 - Результати спостережень та розрахунків для визначення масової частки білка в харчовому продукті біуретовим методом

Показник	Результати досліду	
	Перший	Другий
Маса наважки, m_1, г		
Значення оптичної густини за відліком: – першим – другим – третім		
Середнє значення оптичної густини		
Вміст білка за калібрувальним графіком у наважці продукту, а, мг		
Вміст білка у продукті, X , %		
Масова частка вологи в продукті, W, %		
Вміст білка, % до сухої речовини		
Середнє значення, % до сухої речовини		

Для перерахунку вмісту білка на суху речовину продукту слід визначити масову частку вологи в ньому експресним методом. Дані оформлюють у вигляді таблиці (таблиця 3.1).

Середнє значення порівнюють з очікуваним вмістом білка в продукті, встановлюють причини розходжень та їх величину.

На основі отриманих результатів роблять висновок про відповідність масової частки білка в продукті вимогам стандарту.

Визначення масової частки білкових речовин в харчових продуктах нефелометричним методом

Метод ґрунтується на вимірюванні інтенсивності світлового потоку, розсіяного твердими або колоїдними частинками, що знаходяться в розчині в підвішеному стані. За інтенсивністю світлорозсіювання, що визначається нефелометром, судять про концентрацію досліджуваної речовини.

В даний час знаходять широке використання фотоелектричні нефелометри.

Розчини високомолекулярних сполук, наприклад розчини білків, здатні за певних умов в присутності деяких хімічних реагентів опалесціювати. Одним з таких реагентів є сульфосаліцилова кислота. Концентрація білка в цьому випадку може бути визначена за інтенсивністю опалесценції.

Продукти гідролізу білка – пептони, амінокислоти та інші азотовмісні речовини – не опалесціюють.

Експериментальною перевіркою встановлено, що нефелометричний метод з використанням сульфосаліцилової кислоти відрізняється швидкістю, високою точністю, простотою та стійкою кореляцією з методом Кьєльдаля.

Прилади, обладнання, матеріали: зразок продукту, аналітичні ваги, конічна колба місткістю 250…300 $см^3$, пробка, бюретка, механічний струшувач, центрифуга, піпетка, мірна колба місткістю 50 $см^3$, кювети з товщиною шару 5 мм, фотоелектричний нефелометр, прилад Чижової.

Реактиви: 0,05 М розчин NaOH, сульфосаліцилова кислота,

Техніка визначення масової частки білкових речовин в харчових продуктах нефелометричним методом

Приблизно 0,5 г досліджуваного борошна зважують з точністю до 0,001 г і переносять в суху конічну колбу на 250...300 $см^3$ з пробкою. В колбу додають із бюретки 50 $см^3$ 0,05 н розчину гідроксиду натрію. Закриту пробко колбу встановлюють на механічний струшувач і струшують протягом 15 хв. Потім витяжку центрифугують 10 хв. за частоти обертання 6000 $хв^{-1}$. Після чого 5 $см^3$ прозорого розчину центрифугату піпеткою переносять в мірну колбу на 50 $см^3$ і вміст колби доводять до мітки сульфосаліциловою кислотою.

У випадку проведення нефелометричного аналізу отримання правильних результатів значною мірою залежить від методики отримання суспензії, а саме від порядку змішування розчинів, швидкості перемішування. Тому після додавання сульфосаліцилової кислоти колбу швидко перевертають 2...3 рази (не більше), розчин наливають в кювету фотоколориметра з товщиною шару розчину 5 мм і вимірюють оптичну густину за довжини хвилі $\lambda = 550$ нм.

Заміри варто проводити зразу після додавання кислоти, так як частинки білка швидко агрегують.

Послідовність дій під час визначення масової частки білкових речовин

нефелометричним методом наведена на рисунку 3.6.

Масову частку білка визначають за калібрувальною кривою (рисунок 3.7). Побудову її проводять таким же чином, як і у випадку біуретового методу.

Рисунок 3.6 – Схема визначення масової частки білків нефелометричним методом

Масову частку білка визначають за калібрувальною кривою (рисунок 3.7). Побудову її ведуть так само, як і в біуретовому методі.

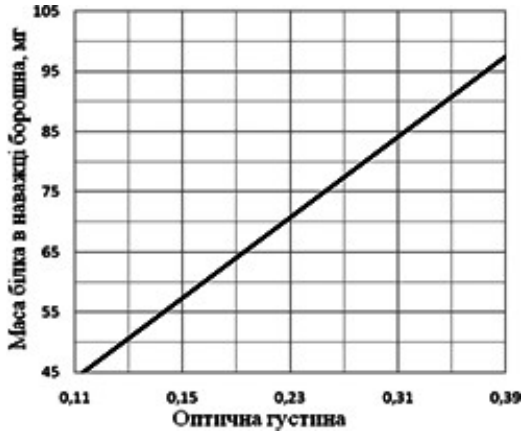


Рисунок 3.7 – Калібрувальна крива для визначення масової частки білка нефелометричним методом

Дані спостережень та розрахунків заносять до таблиці, яку оформляють аналогічно до таблиці 3.1.

Середнє значення одержаних результатів порівнюють з очікуваним вмістом білка, встановлюють причини та величину відхилення.

Контрольні питання

1. В чому полягає біологічна цінність білків?
2. Як впливає нестача та надлишок білків в раціоні людини на її здоров'я?
3. Які є кількісні методи визначення масової частки білка в харчових продуктах?
4. Охарактеризуйте метод визначення масової частки білків в продуктах методом Кьєльдаля за таким планом: етапи визначення, хімічні реакції, що лежать в основі процесів на цих етапах, необхідне обладнання та його призначення, лабораторний спосіб проведення аналізу методом Кьєльдаля.
5. Назвіть переваги та недоліки методу Кьєльдаля. Як здійснити перерахунок вмісту азоту на білки?
6. На чому ґрунтується біуретовий метод визначення масової частки білків в харчових продуктах?
7. У чому полягає техніка визначення масової частки білка біуретовим методом?
8. На чому ґрунтується нефелометричний метод визначення масової частки білкових речовин? Якою є послідовність визначення?

Лабораторна робота № 4
Методи дослідження фізико-хімічних характеристик харчових жирів

Мета роботи: визначити якість харчових жирів за кислотним та йодним числом; порівняти результати досліджень з вимогами нормативної документації; зробити висновок про стандартність досліджуваних жирів

Теоретичні відомості

КЛАСИФІКАЦІЯ, БУДОВА ТА ЗНАЧЕННЯ ЛІПІДІВ

Харчові жири – це продукти харчування, які одержують з жирових тканин рослинних та тваринних організмів. Жири відносять до найважливіших складових харчування. Жирові та жировмісні продукти є постійною складовою раціону людини.

В організм людини з продуктами харчування жири надходять, так званими, "видимими" (олія, вершкове масло, сало тощо) та "прихованими" (риба, м’ясо, молоко, яйця). Доросла людина повинна споживати приблизно 32 кг жиру на рік, половина якого має припадати на "видимий".

Роль жирів у харчуванні людини:

1) вони є *основним джерелом енергії* – 1 г жирів дає організму 37,7 кДж (середня норма енергії складає 11,7 кДж/добу). Енергетичні витрати людини забезпечуються за рахунок жирів приблизно на 33%;

2) жири, що входять до складу клітковых мембран – так звані, *структурні жири*, *беруть участь у пластичних процесах організму* – будові та оновленні всіх його тканин;

3) *резервні жири*, що відкладаються у спеціальних жирових клітинах є "запасним джерелом енергії" й використовуються організмом за нестачі їжі.

4) жири є *постачальниками біологічно-активних* речовин: незамінних поліненасичених кислот, різних форм вітаміну А (рибофлавіну), вітаміну Д (кальциферолу), вітаміну Е (токоферолу), фосфоліпідів, стеринів;

5) підшкірна жирова тканина оберігає організм людини від надмірної тепловіддачі (терморегуляторна функція); жири внутрішніх органів є своєрідними амортизаторами для них;

6) складові жирів сприяють виділенню жовчі, накопиченню білків в організмі;

Систематична нестача жирів у харчуванні скорочує життя, порушує діяльність нервової системи, знижує стійкість до різних захворювань. Водночас, *надлишок жирів* у харчуванні призводить до ожиріння, атеросклерозу, розвитку жовчнокам’яної хвороби, виникненню злоякісних новоутворень у молочних, статевих залозах, прямій кишці тощо.

Існують науково обґрунтовані і перевірені медичною практикою норми

споживання жирів у грамах для окремих груп населення залежно від віку, статі характеру праці тощо. Середня потреба дорослої людини у жирах складає 90 г на добу, причому у такому співвідношенні: 20...35% олії, 25% вершкового масла, 40...50% маргарину, кулінарних жирів.

Жирами називають групу харчових продуктів – рослинні олії, тваринні топлені жири, маргарин, вершкове масло, жири для кулінарії, кондитерської та хлібопекарної промисловості. Більш загальна й правильна назва жирів – ліпіди (від грец. – lipos – жир).

Ліпіди – це група органічних сполук, що хімічним складом є похідними жирних кислот, спиртів, альдегідів, побудованих за допомогою етерного, естерного, фосфороетерного та глікозидного зв'язків, спільними властивостями яких є нерозчинність у воді та здатність розчинятися в органічних розчинниках.

Класифікація ліпідів наведена на схемі рисунку 4.1.

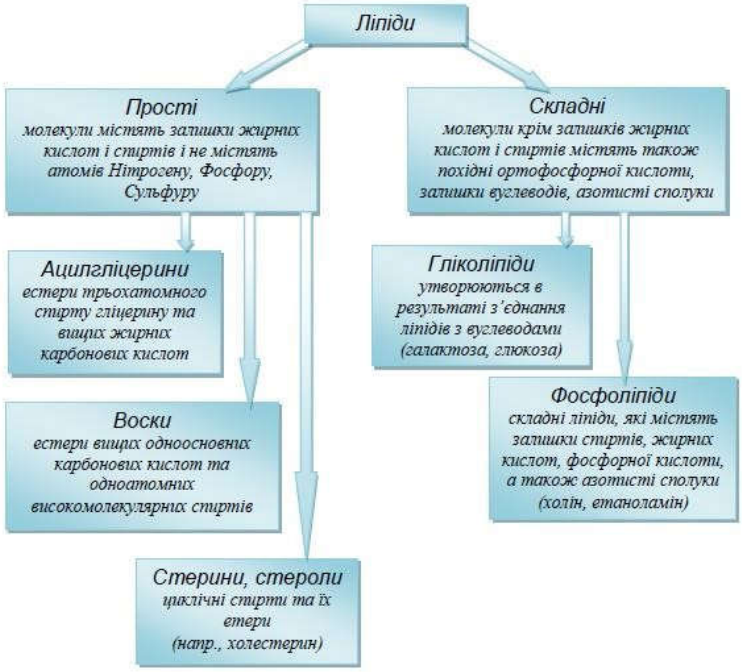


Рисунок 4.1 – Класифікація ліпідів

Ліпіди широко розповсюджені у природі, разом з білками і вуглеводами вони складають основну масу органічних речовин усіх живих організмів і є обов'язковим компонентом кожної клітини. У рослинах ліпіди накопичуються, головним чином, в насінні і плодах. Вегетативні частини рослин накопичують до 5% ліпідів, насіння – до 50%. Вміст ліпідів в тушці риб (осетрів) може досягати 20...25%, в оселедці – 10%, у наземних тварин воно сильно коливається: 33% – свинина, 9,8% – яловичина; у молоці оленя – 17...18%, кози – 5%, корови – 3,5...4,0% ліпідів, у м'ясі міститься від 1 до 50% ліпідів.

Серед гліцеридів розрізняють моно-, ді-, тригліцериди. Моно- і дігліцериди

у природі трапляються досить рідко. Основним компонентом харчових жирів є тригліцериди. Вони не мають смаку і запаху, безбарвні. До складу молекули тригліцеридів харчових жирів входять: гліцерин (близько 10%) і жирні кислоти з різною довжиною вуглецевого ланцюга та різним ступенем насиченості атомів вуглецю (насичені й ненасичені жирні кислоти). Жирні кислоти, які входять до складу ліпідів, містять, переважно, парну кількість атомів карбону, найчастіше – 16 або 18.

Кожний вид жиру має тригліцериди, до складу яких входить певний набір жирних кислот (таблиця 4.1). Тому різні види олій, тваринних топлених жирів мають постійні, притаманні тільки їм фізико-хімічні (температура топлення, твердість, здатність до окиснення), органолептичні (смак, запах, консистенція) показники, біологічну цінність та засвоюваність. Тобто жирокислотний склад тригліцеридів вирішальним чином впливає властивості жирів.

Таблиця 4.1 – Основні карбонові кислоти, що входять до складу природних олій і жирів

Кислота	Формула	Символ*
Насичені кислоти		
Лауринова	CH_3-$(CH_2)_{10}$ – COOH	C^0_{12}
Міристинова	CH_3-$(CH_2)_{12}$ – COOH	C^0_{14}
Пальмітинова	CH_3-$(CH_2)_{14}$ – COOH	C^0_{16}
Стеаринова	CH_3-$(CH_2)_{16}$ – COOH	C^0_{18}
Ненасичені кислоти		
Олеїнова	CH_3-$(CH_2)_7$-CH=CH-$(CH_2)_7$-COOH	C^1_{18} -9-цис
Ерукова	CH_3-$(CH_2)_7$-CH=CH-$(CH_2)_{11}$-COOH	C^1_{22} -13-цис
Лінолева	CH_3-$(CH_2)_4$-CH=CH-CH_2-CH=CH-$(CH_2)_7$-COOH	C^2_{18} -9-цис
Ліноленова	CH_3-$(CH_2$-CH=CH$)_3$-$(CH_2)_7$-COOH	C^3_{18} -9-цис,12-цис,15-цис
Арахідонова	CH_3-$(CH_2)_3$-(CH-CH=CH$)_4$-$(CH_2)_3$-COOH	C^4_{20} -5-цис, 8-цис
Оксикислоти		
Рициноленова	CH_3-$(CH_2)_5$-CHOH-CH_2-CH=CH-$(CH_2)_7$-COOH	C^1_{18} -9-цис, 12-ол

*Примітка. У символ входять число атомів вуглецю і кількість подвійних зв'язків між вуглецевими атомами в молекулі кислоти, номер першого ненасиченого атома вуглецю і конфігурація.

Так, до складу ацилгліцеринів тканинних жирів (яловичий, баранячий, свинячий, курячий, молочний) входять в основному жирні кислоти, що містять 16...18 вуглецевих атомів (пальмітинова, стеаринова, олеїнова, лінолева, ліноленова). У меншій кількості у складі ацилгліцеринів представлені жирні

кислоти, що містять від 2 до 14 або від 20 до 22 вуглецевих атомів. Ці одноосновні кислоти можуть бути насиченими і ненасиченими. У тваринних жирах міститься більше насичених кислот, в рослинних (ненасичених (олеїнової С 18:1, лінолевої С 18:2, ліноленової С 18:3, арахидонової С 20:4).

Важливе біологічне значення мають ті ненасичені жирні кислоти з 18 вуглецевими атомами.

Жирні кислоти насичені (масляна, капронова, пальмітинова, стеаринова тощо) використовуються організмом в цілому як енергетичний матеріал. Вони є твердими за консистенцією за температури 18°С, мають високу температуру плавлення (44...75°С). У більшості насичені жирні кислоти містяться в тваринних жирах (яловичому, баранячому).

Жирні кислоти ненасичені (олеїнова, ерукова, ліноленова тощо) містяться в основному у рослинних оліях, є рідкими за консистенцією, мають низьку температуру плавлення й, відповідно, легше засвоюються організмом людини, ніж насичені жирні кислоти.

Радикали ненасичених жирних кислот є хімічно активними. За місцем кратних зв’язків вони вступають в реакції приєднання, окиснення, полімеризації. Тому їх можна якісно виявити за допомогою бромної води (реакція приєднання), знебарвлення розчину перманганату калію (реакція окиснення).

Ненасичені кислоти мають різний ступінь ненасиченості (кількості подвійних зв'язків між атомами вуглецю): олеїнова – 1, ліноленова – 2, ліноленова – 3, арахідонова – 4 (рисунок 4.2). Кожна з перелічених кислот має різну здатність приєднувати кисень (окиснюватись).

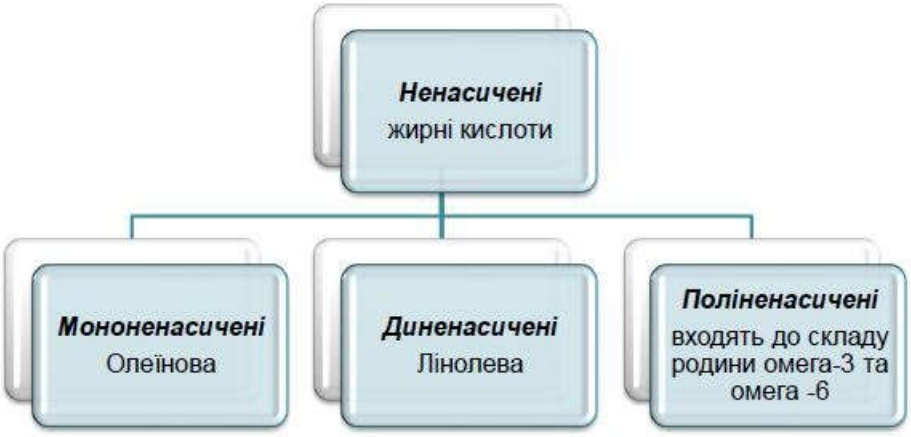


Рисунок 4.2 – Класифікація ненасичених жирних кислот

Чим більше в жирах ненасичених кислот, особливо з 3, 4, 5 подвійними зв'язками, тим жир швидше окислюється, тобто гіркне, осалюється. Тому під час зберігання жирів потрібно стежити, щоб вони не контактували з повітрям, залізом, міддю, цинком. Також необхідно дотримуватись встановлених нормативно-технічною документацією температурних режимів та термінів

зберігання жирів.

Особливе значення мають *поліненасичені жирні кислоти* – ліноленова, арахідонова, клупанодонова та інші, які не можуть синтезуватися в організмі людини і тому є незамінними, як є незамінними деякі амінокислоти та вітаміни. Олії порівняно з тваринними плавленими жирами вважаються біологічно цінніші, оскільки в них більшій вміст ненасичених жирних кислот, у т.ч. незамінних поліненасичених.

Позитивний вплив поліненасичених жирних кислот на функціонування організму людини проявляється в наступному:

– регулюють обмін холестерину: за недостатньому їх вмісті відбувається етерифікація холестерину з насиченими кислотами, що призводить до розвитку атеросклерозу. Ненасичені кислоти перетворюють холестерин у фолієві кислоти і виводять його з організму;

– регулюють розвиток організму: за їх недостатнього вмісту знижуються темпи росту організму і його стійкість до ультрафіолетового та радіактивного опромінення;

– підвищують еластичність кровоносних судин.

Але незважаючи на безперечну користь жирів для організму, існує небезпека його перевантаження жиромівмісними продуктами харчування, оскільки надлишок у харчуванні поліненасичених кислот призводить до виникнення захворювань нирок і печінки.

Надлишок у харчуванні насичених кислот призводить до порушення обміну жирів, збільшення рівня холестерину в крові, жовчнокам'яної хвороби, ожиріння.

Оптимальною в біологічному плані формулою збалансованості насичених і ненасичених жирних кислот (молекула ідеального жиру), є співвідношення 30%:70%. До жирів, які за жирнокислотним складом є наближеними до ідеальної формули, належать оливкова, арахісова олія, свинячий топлений жир.

РЕЧОВИНИ, СУПУТНІ ГЛІЦЕРИДАМ

Ліпоїдні речовини у складі жирів. Кількість і вміст речовин, супутніх гліцеридам (ліпоїдних речовин) є непостійними і залежать від якості жирової сировини, технології отримання та ступеню рафінації жирів.

У рослинних оліях на частку ліпоїдних речовин припадає 3...4% маси, в тваринних – у декілька разів менше. Виняток – жири морських тварин та риб, в яких вміст ліпоїдних речовин сягає десятків відсотків. До речовин, супутніх гліцеридам, належать фосфоліпіди, стерини, вільні жирні кислоти, барвникові речовини, вітаміни, воски.

Вільні жирні кислоти в ідеалі не повинні міститись у жирах. Їх наявність свідчить про те, що виготовлення тваринних жирів та їх зберігання відбувалися

з порушенням технологічних режимів. Показник, який кількісно характеризує наявність в жирах вільних жирних кислот – кислотне число. Воно нормується стандартами на всі види жирів і від нього залежать сорти тваринних топлених жирів.

Фосфоліпіди (фосфатиди) відіграють важливу роль в організмі людини. Входячи до складу клітинних мембран, вони справляють суттєвий вплив на проникність мембран і обмін речовин між клітинами. Основними фосфоліпідами є *лецитин* (до складу якого входить вітамінна сполука холін), а також *кефалін*. Лецитин необхідний для формування клітин і тканин організму, запобігає накопиченню холестерину, сприяє його виведенню, запобігає ожирінню печінки. Лецитин і кефалін є природними емульгаторами та антиокисниками.

Стерини – високомолекулярні спирти, які містяться в тканинах рослин і тварин. За походженням розрізняють:

– зоостерини – стерини тваринного походження (холестерин);

– фітостерини – стерини рослинного походження (ситостерин, стигмастерин);

– мікостерини – стерини грибного походження.

Стерини мають кристалічну будову, причому зоостерини й фітостерини різняться формою кристалів, що дозволяє ідентифікувати природу жиру (встановити його походження).

З тваринних стеринів важливе значення має *холестерин*. Він є нормальним структурним компонентом усіх клітин і тканин, бере участь в обміні жовчних кислот, синтезі низки гормонів, вітаміну Д (частина якого утворюється під впливом ультрафіолетових променів з того ж холестерину).

Нормальний вміст холестерину в крові становить 1,9...2,1 г/л. Підвищення його рівня до 2,6 г/л є дуже небезпечним – у людини виникає і розвивається атеросклероз, ускладненими наслідками якого є інфаркти, інсульти.

Нестача холестерину в крові (менше 1,5 г/л) викликає ураження наднирників, розростання щитовидної залози. Явна нестача холестерину виявляється у випадку цирозу, інфекційному гепатиті та інших захворюваннях печінки. Близько 80% холестерину утворюється в організмі у печінці та інших органах з насичених жирних кислот. Решта 20% надходить з їжею. Але відповідними дослідженнями встановлено чіткий зв’язок – чим більше холестерину надходить з їжею, тим меншу його кількість синтезує печінка й навпаки.

Склад харчових жирів, що входять до раціону людини може помітно впливати на рівень холестерину в організмі. Якщо в раціоні багато рослинних жирів (олій), то вміст холестерину знижується, якщо споживаються значною мірою тваринні жири, то концентрація холестерину в крові підвищується.

Чистий холестерин – перлинчасті пластинки, жирні на дотик. Він нерозчинний у воді, малорозчинний в органічних розчинниках. Температура плавлення холестерину становить 149°С.

Воски – це складні ефіри високомолекулярних карбонових кислот та одноосновних високомолекулярних спиртів (цетиловий, міристиловий, карнаубіловий і т.д.). За природою всі воски є хімічно інертними. Розрізняють рослинні та тваринні, тверді та м'які воски. Рослинний віск є складною сумішшю органічних сполу з великою масою, він вкриває листя та стебла рослин, зменшуючи випаровування води. Прикладом рослинного воску є карнаубський віск із восконосної пальми карнауби.

Воски тваринного походження:

– бджолиний;

– овечий: виділяється на шкіру та вовну овець і складає 5...10% від маси вовни, його видаляють розчинниками й отримують технічний *ланолін, а очищений* використовують як сировину для медичних і косметичних мазей, кремів тощо;

– жир кашалотів (*спермацетовий жир*) на 75% складається з воскоподібної речовини, з нього вилучають віск спермацет, який також є основою для виготовлення окремих видів медичних і косметичних мазей, кремів, а також мила.

Крім восків тваринного і рослинного походження виділяють віск викопного походження (озокерит), який не має жодного відношення до харчової промисловості.

Барвникові речовини містяться здебільшого у рослинних жирах, тваринні жири їх майже не містять. Ці речовини легко руйнуються, окинюючись під дією світла. Найбільш відомі барвникові речовини – це каротиноїди, хлорофіл, госсіпол.

Вітаміни жирів представлені групою жиророзчинних вітамінів А, Д, Е, К.

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЯКОСТІ ЖИРІВ

До фізико-хімічних показників якості жирів відносяться наступні: масова частка вологи та летких речовин, кислотне число, пероксидне число, йодне число, кількість антиоксидантів, температура застигання.

Процеси, що відбуваються в ліпідах під час їх зберігання та переробки, характеризуються так званими константами, або хімічними та фізичними числами жиру (мається на увазі витрата певних реагентів на реакції з жиром). Визначення цих констант дає змогу контролювати не тільки якість жирів та олій, але й в певній мірі їх натуральність, регулювати технологічні режими отримання продуктів. Найбільше значення мають такі числа: кислотне, омилення, йодне.

Кислотне числом – показник, що характеризує кількість вільних жирних

кислот, які містяться в жирі. *Кислотне число – це* кількість гідроксиду калію (в мг), витраченого на нейтралізацію вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру або олії.

Йодне число – показник, що характеризує ненасиченість жирних кислот, що входять до складу жиру. *Йодне число* – це маса йоду (у г), що приєднується до 100 г жиру. Існує декілька методів його визначення, що відрізняються, в основному, галогеновмісним реагентом.

Число омилення – показник, що характеризує загальну кількість вільних та зв'язаних жирних кислот (у складі естерів), що входять до складу досліджуваного жиру. *Число омилення* – це кількість міліграм 0, 1н розчину гідроксиду калію, необхідного для омилення гліцеридів і нейтралізацію кислот, що містяться в 1г жиру або олії. Омилення – це гідроліз жирів лугами, внаслідок чого утворюються гліцерин та солі жирних кислот – мила. Число омилення дорівнює сумі кислотного і естерного чисел.

Естерне число – показник, що характеризує вміст естерів у жирі. *Естерне число* – це кількість міліграмів гідроксиду калію, яка необхідна для омилення всіх естерів, що містяться в 1 г жиру. Естерне число дорівнює різниці між числом омилення і кислотним числом.

Пероксидне число – це кількість грамів йоду, яка виділилася з йодиду калію пероксидними сполуками, що містяться в 100 г жиру. Ця константа вказує на вміст пероксидних сполук у жирі, дозволяє виявити окислювальні процеси та наявність продуктів псування значно раніше, ніж це може бути встановлено органолептично.

Величини розглянутих констант для окремих жирів і олій, що не піддалися руйнуванню, коливаються в незначних межах і характеризують вид жиру і його якість (таблиця 4.2).

Таблиця 4.2 – Вміст жирних кислот(у %) і характеристики олій і жирів

Жири та олії	Вміст і склад жирних кислот			Характеристика		
	Насич.	Ненасич.	Основних	Темпер. застигання	Число омилення	Йодне число
Олії						
Соєва	14...20	75...86	C^{2}_{18} 46...65	-18	191...193	120...140
Бавовняне	22...30	75...76	C^{2}_{18} 45...56	2...4	191...198	101...116
Соняшникова	10...12	до 90	C^{2}_{18} 46...70	16...18	186...194	119...136
Рапсове	2...6	94...98	C^{1}_{18} 6...44	0...10	167...181	94...103
Оливкова	9...18	82...91	C^{1}_{18} 70...82	0...6	185...200	72...89
Кокосова	до 90	10	C^{0}_{12} 44...52 C^{0}_{14} 13...18	16...25	251...264	7...12

Пальмова	44...57	43...56	C^{0}_{16} 39...47 C^{2}_{18} 45...50	31...41	196...210	52...58
Пальмоядерна	79...83	17...21	C^{0}_{16} 10...19	19...24	240...257	15...20
Льняне	6...9	91...94	C^{1}_{18} 41...60	18...27	191...195	175...190
Тваринні жири						
Яловичий	45...60	43...52	C^{1}_{18} 24...29	30...38	190...200	32...47
Баранячий	52...62	38...48	C^{0}_{18} 25...31 C^{1}_{18} 36...42	32...45	192...198	31...46
Свинячий	33...49	48...64	C^{1}_{18} 25...32	22...32	193...200	46...66

БІОХІМІЧНІ І ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ЗМІНИ ЖИРІВ

В процесі переробки і зберігання жировмісних продуктів або виділених з них жирів відбуваються різноманітні перетворення їх під впливом біологічних, фізичних і хімічних чинників.

В результаті цих перетворень змінюється хімічний склад, погіршуються органолептичні показники і харчова цінність жирів, що може привести до їх псування.

Незалежно від технологічних режимів переробки і зберігання, а також виду жиру в них проходять однотипні зміни, що зводяться до гідролізу і окислення. Ці процеси відбуваються за схемою, представленою на рисунку 4.3.

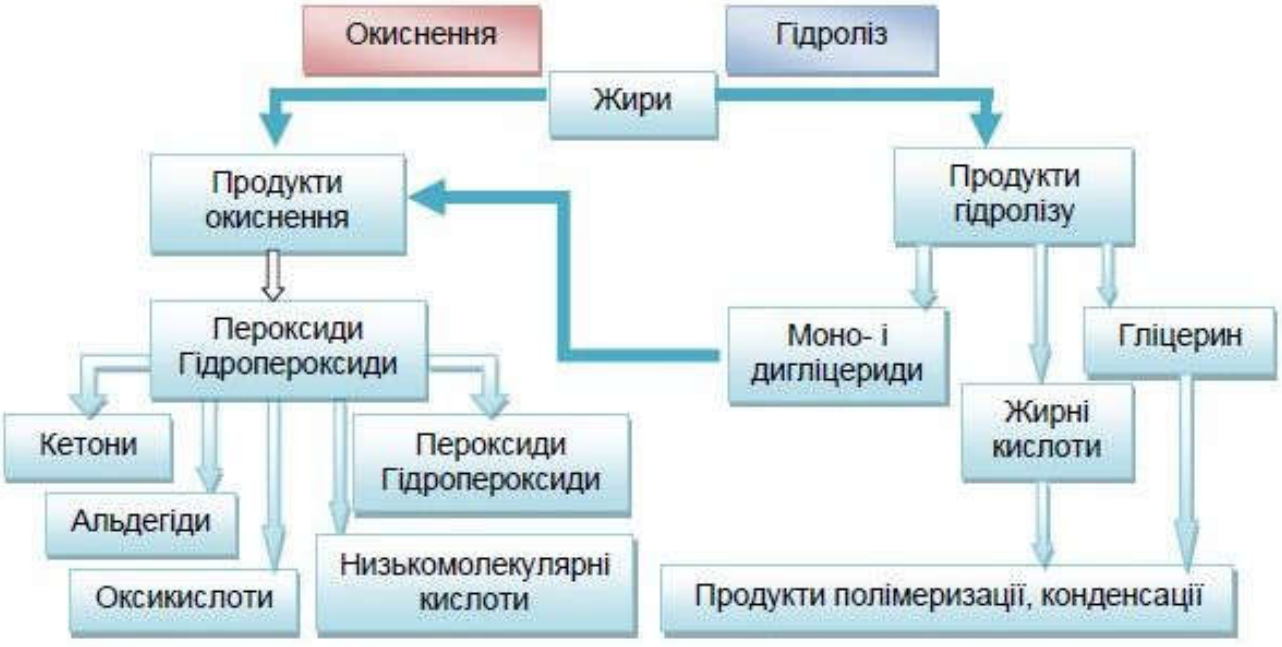


Рисунок 4.3 – Схема перетворення жирів

Переважання в жирі гідролітичного або окислювального процесу залежить від температури, наявності кисню, світла, води, тривалості нагрівання, присутності речовин, що прискорюють або уповільнюють ці процеси. Тому

основні способи теплової обробки жировмісних продуктів і жирів (варіння, смаження) розрізняються за ступенем і характером дії на жир. Під час варіння переважають гідролітичні процеси, а в процесі смаження – окиснювальні. У будь-якому випадку якість жиру оцінюють за кислотним, пероксидним, ацетиловим числами, вмістом альдегідів, кетонів та інших сполук.

Гідролітичне розщеплення жирів

Гідролітичне розщеплення жирів проходить за обов'язкової участі води і може бути як *ферментативним*, так і *неферментативним*. У тканинних жирах, жирі-сирці (внутрішній жир), жирі м'яса, плодів і овочів, жирі сирокопчених продуктів і т.п. під впливом тканинних ліпаз спостерігається гідроліз ацилгліцеринів, що супроводжується накопиченням жирних кислот і, як наслідок, підвищенням кислотного числа. Швидкість і глибина гідролізу жиру залежать від температури: процес ферментативного каталізу значно прискорюється за температури вище 20ºС; зниження температури уповільнює процес гідролізу, але навіть за -40ºС ферментативна активність ліпаз проявляється, але в слабкій мірі.

За несприятливих умов (волога, підвищена температура) може статися *гідролітичне псування жирів*, спричинене не лише дією ферментів, але і інших чинників: кислот, лугів, оксидів металів й інших неорганічних каталізаторів, а також ферментів мікроорганізмів.

Утворення в жирі за гідролітичного розпаду невеликої кількості високомолекулярних жирних кислот не викликає змін смаку і запаху продукту. Але якщо у складі тригліцеридів (молочний жир) є низькомолекулярні кислоти, то під час гідролізу можуть з'явитися капронова і масляна кислоти, що характеризуються неприємним запахом і специфічним смаком, які різко погіршують органолептичні властивості продукту.

У топлених жирах *автолітичного (ферментативного)* розщеплення жирів не спостерігається, оскільки в процесі витоплення за температури близько 60ºС ліпаза, що міститься в жировій тканині, інактивується. Гідролітичне псування топленого жиру відбувається за наявності вологи, в результаті обсіменіння мікрофлорою, неповній денатурації білків при витопленні жиру з жирової тканини або під впливом каталізаторів.

ОКИСЛЮВАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В ЖИРАХ

В процесі переробки і зберігання жирів можливе погіршення їх якості в результаті окиснювальних процесів, глибина і швидкість яких залежать від природних властивостей жиру, температури, наявності кисню і світла. Ці чинники можуть викликати *окислювальне псування жирів*.

Розрізняють *автоокиснення* і *термічне* окислення жирів. *Автоокиснення жирів* проходить за низьких температур у присутності газоподібного кисню.

Термічне окиснення відбувається за температури 140ºС...200ºС. Між термічним і автоокисненням є багато спільного, проте склад продуктів, що утворюються, дещо відрізняється.

Продукти, що утворюються за автоокиснення і термоокиснення поділяються на три групи:

1) продукти окиснювальної деструкції жирних кислот, в результаті якої утворюються речовини з укороченим ланцюгом;

2) продукти ізомеризації, а також окиснені ацилгліцерини, які містять ту ж кількість вуглецевих атомів, що і початкові ацилгліцерини, але відрізняються від останніх наявністю у вуглеводневих частинах молекул жирних кислот нових функціональних груп, що містять Оксиген.

3) продукти окиснення, що містять полімеризовані або конденсовані жирні кислоти, в яких можуть знаходитися і нові функціональні групи, що мають у своєму складі Оксиген.

Крім того, продукти окиснення поділяють на термостійкі і нетермостійкі.

Первинними продуктами окиснення є *пероксиди*, що активують окиснення інших молекул. Завдяки цьому реакція окиснення носить ланцюговий характер. Окисненню піддаються в першу чергу ненасичені жирні кислоти, але можуть окислюватися також і насичені кислоти з утворенням *гідропероксидів*. За глибокого окиснення жирів можливе утворення циклічних пероксидів та епоксидних сполук.

Вміст пероксидних сполук в жирі оцінюють за величиною пероксидного числа. Це досить чутливий показник, і за його значенням роблять висновок про початок і глибину окиснення жиру. У свіжому жирі пероксидів немає. На початкових стадіях окиснення впродовж деякого часу хімічні і органолептичні показники жиру майже не змінюються. Цей період, що має різну тривалість, називається індукційним. Після індукційного періоду жир починає псуватися. Виявити це можна за збільшенням пероксидного числа і зміною органолептичних властивостей жиру.

Наявність індукційного періоду пояснюється тим, що на початку процесу молекул з підвищеною кінетичною енергією (збуджених або вільних радикалів) дуже мало. Зумовлено це також змістом в жирі природних антиокисників: каротиноїдів, токоферолів, лецитинів, які активніше взаємодіють з вільними радикалами і з киснем повітря і тим самим перешкоджають окисленню жирів. Тривалість індукційного періоду залежить від концентрації антиокисників, природи жиру і умов переробки і зберігання. Тваринні жири, у складі яких менше ненасичених жирних кислот, є стійкішими, ніж рослинні.

Процес автоокиснення жирів значно прискорюється за наявності вологи, світла і каталізаторів. Такими каталізаторами можуть бути легкоокиснювальні

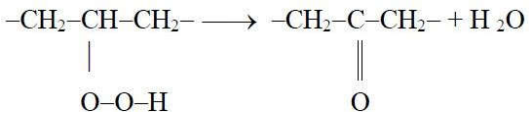
метали (оксиди або солі Феруму, Купруму, Плюмбуму, Стануму), а також органічні сполуки, що містять Ферум, білки, гемоглобін, цитохроми й інші.

Каталітична дія металів пов'язана з їх здатністю легко приєднувати або віддавати електрони, що призводить до утворення вільних радикалів з гідропероксидів жирних кислот. Активними каталізаторами є ферменти, головним чином ферменти мікроорганізмів. Тому забруднення жирів, особливо бактеріальне обсіменіння, прискорює процес окислення жирів.

Пероксиди і гідропероксиди є нестійкими сполуками тому відбувається їх розпад з утворенням вільних радикалів, наприклад, R□O□O□H □□ RO□ + □OH й інших. При цьому проходять подальші різноманітні реакції, в результаті яких накопичуються вторинні продукти: оксисполуки, альдегіди, кетони, низькомолекулярні кислоти й інші.

Під час окиснення жирів виявлений ряд альдегідів, що є продуктами розпаду ланцюга жирних кислот: ноніловий, азолаїновий, гептиловий, малоновий. Подальше перетворення низькомолекулярних альдегідів призводить до появи низькомолекулярних спиртів, жирних кислот і до нового розгалуження окислювального ланцюга.

Кетони, як і альдегіди, утворюються окислювальним шляхом в результаті подальших перетворень пероксидів, наприклад, в результаті їх дегідратації.



Припускають, що за присутності ферментів мікроорганізмів кетони можуть утворюватися за типом □-окиснення, тобто за участю води.

П с у в а н н я ж и р і в : з г і р к н е н н я т а о с а л ю в а н н я

За окиснення жирів втрачається природне забарвлення; специфічний смак і запах продукту; з'являється сторонній, іноді неприємний присмак, аромат; втрачається біологічна цінність.

Первинні продукти окислення – пероксиди – органолептично не можна виявити, проте, за їх вмістом можна зробити висновок про глибину псування жиру, придатність його для тривалого зберігання і споживання.

Вторинні продукти окислення погіршують органолептичні показники жиру. Розрізняють два основні види псування жиру – згіркнення і осалювання.

Згіркнення відбувається в результаті накопичення в жирах низькомолекулярних продуктів: альдегідів, кетонів, низькомолекулярних жирних кислот. В цьому випадку жир набуває згірклого смаку і різкого, неприємного запаху. Згіркнення жирів може відбуватися внаслідок хімічних і біохімічних процесів.

В процесі *хімічного згіркнення*, що відбувається в жирах під дією кисню

повітря, накопичуються вільні жирні кислоти, іноді низькомолекулярні, не властиві цьому жиру, збільшується пероксидне число, утворюються леткі карбонільні сполуки (альдегіди і кетони). Саме ці сполуки надають запах згірклості жиру.

В процесі *біохімічного згіркнення*, що відбувається за участі ферментів плісняви, утворюються кетокислоти і метилалкілкетони в результаті □-окиснення вільних жирних кислот, що утворюються під час гідролізу під впливом ліпаз. В результаті чого з кислот утворюється кетон, що містить на один атом вуглецю менше, ніж в початковій кислоті: з капронової – метилпропілкетон, каприновою – метилгептилкетон, лауриновою – метилнонілкетон і т.д. Кетонне згіркнення іноді називають "духмяним згіркненням" у зв'язку зі своєрідним запахом продуктів окиснювального псування.

Осалювання жирів супроводжується зникненням забарвлення, ущільненням жиру і появою сальної консистенції в результаті окислювальних змін жиру. Під час осалювання утворюється значна кількість оксисполук в результаті розпаду на світлі первинних органічних пероксидів і появи вільних

радикалів □ OH і $_2$HO□ за фотохімічної дії на жир. Радикали, що виникають взаємодіють з молекулами жирних кислот з утворенням оксикислот. Кількість їх визначають за ацетиловим числом, яке зростає зі збільшенням кількості оксигруп.

Оксикислоти, що утворилися, залучаються до процесу полімеризації, внаслідок чого утворюються високомолекулярні сполуки і жир набуває характерної сальної мазеподібної консистенції. Жир, що засалився, характеризується також специфічним неприємним запахом і смаком.

Зміна забарвлення жирів пов'язана з руйнуванням каротиноїдів, яке настає до початку окиснювальних змін. Жир, що знебарвлюється, інколи набуває зеленуватого забарвлення, змінюється його спектр поглинання. Ці зміни каротиноїдів дозволяють виявити окиснювальні зміни жирів на ранніх стадіях. Відбувається також і розпад токоферолів.

Найбільш інтенсивно окиснювальне псування відбувається за тривалого нагріванні жирів за високих температур 180°С...300°С. Таке нагрівання супроводжується зниженням вмісту ненасичених жирних кислот і накопиченням пероксидів, карбонільних сполук, летких кислот і продуктів сополімеризації.

ТЕРМІЧНЕ РОЗКЛАДАННЯ ЖИРІВ

За температури понад 200°С може статися термічне розкладання жиру з виділенням диму (піроліз). Температура, за якої починається виділення диму, називається температурою (або точкою) димоутворення, або піролізу. На величину цієї температури впливає вид жиру, вміст вільних жирних кислот, матеріал і розмір посуду, наявність металів й інші чинники. Наприклад,

збільшення у свинячому жирі вмісту вільних жирних кислот з 0,02 до 0,81% зменшує температуру піролізу з 221 до 150°С. Залізо і мідь каталізують піроліз жиру.

Продукти піролізу погіршують колір жиру під час смаження харчових продуктів. Потемніння жиру відбувається за рахунок забруднення його речовинами пірогенетичного розпаду, дрібних частинок, що утворюються в процесі обвуглювання, реакцій меланоїдиноутворення і карамелізації, а також накопичення темнозабарвлених продуктів окислення самого жиру.

Зміна запаху жиру за тривалого смаження продуктів викликана утворенням акролеїну. Карбонільні сполуки, що утворюються під час смаження, містять 3, 5, 7 атомів вуглецю, погіршують запах і смак жиру, а ті, що містять 4, 6, 10, 12 атомів вуглецю надають жиру приємний запах смаженого.

ЗМІНА БІОЛОГІЧНОЇ ЦІННОСТІ ЖИРУ

В результаті окиснення змінюються не лише органолептичні властивості жиру, але і знижується його харчова, у тому числі біологічна цінність. Це пов'язано з окисненням життєво необхідних ненасичених жирних кислот, а також з руйнуванням каротиноїдів, токоферолів, фосфатів і інших біологічно активних речовин. Крім того, первинні продукти окиснення, пероксиди справляють токсичну дію на організм. В той же час пероксиди в процесі різноманітних реакцій утворюють речовини, що містять карбоніли, а також полімерні сполуки, які погіршують засвоюваність жиру, знижуючи його біологічну цінність, а іноді мають канцерогенні властивості. Накопичення таких продуктів специфічного складу і будови відбувається найбільш інтенсивно за тривалого нагрівання жиру за високих температур – вище 180ºС.

Для запобігання окиснювальним процесам в жирах необхідно зменшити або виключити контакт жиру передусім з киснем повітря. Без доступу кисню навіть тривале нагрівання за 180ºС...190ºС не викликає помітних окислювальних змін жиру. Збільшенню контакту з повітрям сприяє нагрівання жиру тонким шаром, смаження продуктів пористої структури, сильне спінювання і перемішування жиру.

Для стабілізації фритюрних жирів застосовують кремнійорганічні рідини (поліметилсилоксани). Ці сполуки, утворюючи на поверхні жиру тонку плівку і пригнічуючи його спінювання, утруднюють взаємодію жиру з киснем.

Жир доцільно зберігати в герметичній тарі, у вакуумній упаковці або в атмосфері інертного газу за від’ємних температур. У жирах не повинно бути легкоокиснювальних металів (міді, заліза, марганцю), їх солей або органічних похідних сполук свинцю, олова і інших металів. Для уповільнення окислювальних процесів в жирах застосовують антиоксиданти.

ВИСИХАННЯ ЖИРІВ

Рідкі жири, намазані тонким шаром поводяться на повітрі по-різному: одні залишаються без зміни рідкими, інші, окиснюючись, поступово перетворюються на прозору смолоподібну еластичну плівку – ліноксин, нерозчинну в органічних розчинниках. Олії, що не утворюють плівку, називаються невисихаючими. Головною складовою частиною в таких оліях є гліцериди олеїнової кислоти (з одним подвійним зв'язком). Олії, що утворюють щільну плівку, називаються висихаючими. Головною складовою частиною в таких оліях є гліцериди ліноленової кислоти (з трьома подвійними зв'язками). Олії, що утворюють м'які плівки, називаються напіввисихаючими. Головною складовою частиною в таких оліях є гліцериди лінолевої кислоти (з двома подвійними зв'язками). Здатність деяких олій до висихання широко використовується в народному господарстві (лакофарбна промисловість). Для медицини, навпаки, представляють інтерес олії невисихаючі, оскільки вони використовуються для парентерального введення лікарських засобів.

Надійним способом виявлення висихаючості олій є визначення йодного числа, за яким можна легко встановити, до якої групи за ступенем висихаючості відноситься та або інша олія (таблиця 4.3).

Таблиця 4.3 – Значення йодного числа для олій з різною здатністю до висихання

Назва кислоти	Йодне число деяких олій
Невисихаючі олії(тип олеїнової кислоти)	
Оливкове	80-85
Арахісове	83-105
Мигдальне	93-102
Персикове	96-103
Касторове	81-90
Напіввисихаючі олії(тип лінолевої кислоти)	
Гірчичне	93-107
Кунжутне	103-112
Бавовняне	100-120
Соняшникове	119-144
Кукурудзяне	111-131
Висихаючі олії(тип ліноленової кислоти)	
Макове	131-143
Конопляне	140-175
Льняне	169-192

Олеїнова кислота має здатність під впливом азотистої кислоти переходити у свої стереоізомер – елаїдинову кислоту, яка за кімнатної температури має тверду консистенцію. Цю реакцією, відомою під назвою *елаїдинова проба*,

широко використовують для визначення типу олії: якщо проба позитивна, то досліджувана олія є невисихаючою (містить тригліцериди олеїнової кислоти).

Експериментальна частина

Визначення кислотного числа

Кислотне число – це кількість міліграмів гідроксиду калію або натрію, необхідна для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру:

$$RCOOH + KOH \rightarrow RCOOK + H_2O$$

Кількість вільних жирних кислот в жирі є непостійною та залежить від кількості жирової сировини, способу отримання жирів, тривалості та умов зберігання, інших факторів. Їх накопичення зумовлено гідролітичним розщепленням гліцеридів на дигліцериди, моногліцериди, гліцерин та жирні кислоти. Частково вільні жирні кислоти утворюються і внаслідок окиснювальних перетворень жиру на більш пізніх стадіях його окиснення.

Гранично допустимі норми кислотного числа окремих олій та жирів (мг/г жиру) наведено в табл. 4.1.

Таблиця 4.4 – Гранично допустимі норми кислотного числа окремих олій та жирів

Вид харчового жиру		Кислотне число, мг/г жиру
Соняшникова олія	рафінована	0,4
	нерафінована вищого сорту	1,5
	нерафінована I сорту	2,25
Соєва олія	рафінована	0,3
	гідратована I сорту	1,0
Кукурудзяна олія	рафінована	0,4
	нерафінована	5,0
Топлений харчовий жир (баранячий, яловичий, свинячий)	вищого сорту	1,2
	I сорту	2,2
Збірні жири (без покажчика сорту)		3,5

Кислотне число є одним з основних якісних показників, що характеризують ступінь свіжості жиру, та регламентується стандартами на всі види харчових жирів. У разі неправильного зберігання кількість вільних жирних кислот зростає і подальше їх окиснення призводить до появи дефектів смаку та запаху, а у разі більш глибоких процесів – до непридатності жиру для харчових цілей.

Визначення кислотного числа полягає в розчиненні певної маси рослинної олії в суміші розчинників з подальшою нейтралізацією вільних жирних кислот спиртовим розчином гідроксиду калію або натрію згідно з ГОСТ 5476-80 «Масла растительные. Метод определения кислотного числа».

Прилади, обладнання, матеріали: технічні ваги, конічна колба місткістю 150...200 см^3, бюретка місткістю 50 см^3, водяна баня.

Реактиви: 1 %-ний спиртовий розчин фенолфталеїну або тимолфталеїну, 0,1 М розчин КОН або NaOH, нейтральна суміш спирту та ефіру[8].

Техніка визначення – в конічну колбу, місткістю 150...200 см^3 відважують 3...5 г досліджуваної олії з точністю до 0,01 г, додають 50 см^3 нейтралізованої суміші етанолу й етилового ефіру (1:2) і збовтують вміст. Якщо олія не розчиниться, то колбу необхідно підігріти на водяній бані і охолодити до температури 15...20ºС. Додають 3...5 крапель 1% спиртового розчину фенолфталеїну і за постійного перемішування титрують пробу 0,1 н спиртовим розчином гідроксиду калію або натрію до появи слабо-малинового забарвлення, що не зникає протягом 30 с.

Послідовність дій під час визначення кислотного числа харчових жирів наведена на рисунку 4.4.

Кислотне число (мг/г олії) розраховують за формулою:

$$К.ч. = \frac{5{,}61 \cdot К \cdot V}{m},$$

де 5,61 – кількість NaOH або KOH, що міститься в 1 см^3 розчину концентрації 0,1 н. Цей множник є постійним незалежно від виду застосованого лугу; К – коефіцієнт поправки до 0,1 н розчину NaOH або KOH; V – об'єм 0,1 н NaOH або KOH, що використаний на нейтралізацію вільних жирних кислот в масі наважки жиру, см^3; m – маса взятої для аналізу наважки, г.

За кінцевий результат приймають середнє арифметичне двох паралельних визначень. Зробити висновок про якість жиру за кислотним числом

Дані спостережень та розрахунків записують у процесі виконання роботи в табл. 4.5.

Таблиця 4.5 – Результати спостережень та розрахунків для визначення кислотного числа жиру

Назва параметру	Значення
Маса порожньої колби, m_1, г	
Маса жиру з колбою, m_2, г	
Маса наважки жиру, m, г	
Об'єм 0,1 М розчину лугу, що витрачається на нейтралізацію вільних жирних кислот в харчовому жирі, V, см^3	
Коефіцієнт поправки до 0,1 н розчину лугу, К	
Титр 0,1 М розчину NaOH або KOH, мг/см^3	5,611
Кислотне число, Х, мг/г жиру	

[8] Нейтральна суміш спирту та ефіру готується так: суміш з двох частин діетилового ефіру та однієї частини етилового спирту нейтралізують 0,1 М розчином КОН або NaOH у присутності п'яти крапель фенолфталеїну (індикатор) до ледь помітної зміни забарвлення суміші.

Рисунок 4.4 – Схема визначення кислотного числа харчових жирів

Визначення йодного числа

Йодне число – це показник, що характеризує ненасиченість жирних кислот, які входять до складу жиру. Визначення йодного числа ґрунтується на здатності ненасичених жирних кислот приєднувати молекули галогену (хлор, бром, йод) в умовах, за яких ця реакція не супроводжується заміщенням водню на галоген. На кожен подвійний зв'язок витрачається одна молекула галогену. Таким чином йодне число залежить від кількості етиленових (подвійних) зв’язків в жирних кислотах: з їх збільшенням йодне число зростає.

Крім того, чим більше у жирі міститься ненасичених жирних кислот, тим також вищим є його йодне число. Рослинні олії внаслідок більшого вмісту ненасичених жирних кислот порівняно з тваринними жирами мають більш високі значення йодних чисел.

Під *йодним числом* розуміють кількість грамів йоду, що приєднується до 100 г жиру. Йодне число використовують для визначення виду харчового жиру, його здатності до висихання, розрахунку потрібної кількості водню для його гідрогенізації. За величиною йодного числа жирів та олій роблять висновок про їх здатність до різноманітних хімічних перетворень, оскільки ненасичені жирні кислоти можуть приєднувати кисень по місцю розриву подвійних зв’язків, що обумовлює процеси згіркнення та висихання жирів. У процесі окиснення жирів кількість ненасичених жирних кислот знижується і як наслідок зменшується йодне число. Зменшення йодного числа є показником псування жиру.

Йодне число для деяких жирів та олій наведено в таблиця 4.6.

Таблиця 4.6 – Йодне число для деяких рослинних олій і тваринних жирів

Вид харчового жиру		Йодне число, % I2
Олія:	соняшникова	125-145
	соєва	120-140
	гірчична	102-108
	бавовняна	102-117
	оливкова	75-85
	кукурудзяна	111-133
Жир	яловичий	32-47
	баранячий	35-40
Вершкове масло		30-50

Для визначення йодного числа олій та жирів використовують декілька методів, що відрізняються в основному галогеновмісним реагентом, та умовами проведення досліду. Найпоширенішими методами є метод Гюбля (із застосуванням йодно-ртутного розчину), Кауфмана, Війса, Гануса, Вобурна. Три перших з перерахованих методів є стандартизованими.

Стандартні методи визначення йодного числа мають порівняно високу точність, проте в о н и є неприйнятними у виробничих умовах внаслідок їх тривалості, необхідності складних токсичних та дефіцитних реактивів, високої кваліфікації виконуючого персоналу. В цьому відношенні є більш зручним *метод Маргошеса*, за яким визначення йодного числа здійснюється за допомогою надлишку спиртового розчину йоду (тому що повне насичення подвійних зв'язків відбувається лише тоді, коли кількість галоїду є на 50…60% вища за теоретичний).

Визначення йодного числа методом Маргошеса

За точністю отриманих результатів цей метод поступається стандартним методам. *Він ґрунтується* на реакції ненасиченої кислоти жиру з йоднуватою кислотою, що утворюється під час взаємодії йоду з великою кількістю води за рівнянням:

$$I_2 + H_2O \square HI + HIO$$

Реакція жиру з йоднуватою кислотою відбувається за наступною схемою:

$$CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_7COOH + HOI \rightarrow CH_3(CH_2)_7CHOH{-}CHI(CH_2)_7COOH$$

Надлишок йоду, що не приєднався, титрують тіосульфатом натрію за присутності індикатора крохмалю:

$$2Na_2S_2O_3 + I_2 \rightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6$$

Щоб дізнатися про кількість йоду, яка приєдналася до ненасичених жирних кислот досліджуваної олії, слід провести в аналогічних умовах контрольний

дослід (без наважки жиру). Різниця між кількістю 0,1 н розчину тіосульфату, використаного на титрування контрольної та дослідної проб, є показником кількості йоду, зв'язаного наважкою жиру.

Прилади, обладнання, матеріали: технічні та аналітичні ваги, колба з шліфованою пробкою місткістю 500 $см^3$, бюретка місткістю 25 $см^3$; піпетки місткістю 10, 15, 20 $см^3$, мірна колба місткістю 100 $см^3$, водяна баня, годинник.

Реактиви: 0,1 н розчин тіосульфату, 0,2 н розчин йоду (25 г йоду у 1000 $см^3$ 96%- ного спирту), етиловий спирт, 1%-ний розчин крохмалю, дистильована вода.

Техніка визначення – на попередньо зважене з точністю до 0,0002 г годинникове скло наносять декілька крапель (3...5) досліджуваного жиру і зважують. Опускають скло з жиром в хімічний стакан і додають стократну (за об'ємом кількість 96%-ного етанолу). Бажано, щоб маса жиру знаходилась в межах 0,2...0,3 г, тоді кількість спирту, що додається складе 20...30 $см^3$. Суміш підігрівають для кращого розчинення на водяній бані за температури 45...50ºС, закривши стакан годинниковим склом або чашкою Петрі і перемішуючи вміст круговими рухами до отримання однорідного розчину (до зникнення жирових кульок). Далі відмірюють із бюретки 20 $см^3$ спиртового розчину йоду (25 г кристалічного йоду в 1 л 96%-ного етанолу) і приливають циліндром 200 $см^3$ дистильованої води. Під час внесення води суміш постійно перемішують скляною паличкою, потім, закривши стакан, залишають у спокої на 5 хв., після чого відтитровують надлишок йоду, що не зв'язався з ненасиченими кислотами 0,1 н розчином $Na_2S_2O_3$ за присутності 1%-ного розчину крохмалю до зникнення синього забарвлення. Послідовність дій наведена на схемі рисунка 4.5. Паралельно проводять контрольний дослід (без жиру) зі збереженням всіх умов основного досліду. Йодне число (в г на 100 г жиру або в %) розраховують за формулою:

$$\text{Й.ч.} = \frac{(V - V_1) \cdot K \cdot 0{,}01269}{m} \times 100\%$$

де V – об'єм 0,1 н розчину Na2S2O3, витраченого на титрування в контрольному досліді $см^3$, V1 – об'єм 0,1 н розчину тіосульфату, що витрачається на титрування основного досліду, $см^3$; 0,01269 – кількість йоду, що відповідає 1 $см^3$ 0,1 н тіосульфату, г; К – поправковий коефіцієнт до 0,1 н розчину тіосульфату;т – маса наважки жиру, г.

Дані спостережень та розрахунків записують у процесі виконання роботи в таблиці 4.7 і роблять висновок про якість жиру за йодним числом.

Таблиця 4.7 – Результати спостережень та розрахунків для визначення йодного числа жиру

Назва параметру	Значення
Маса порожньої колби, m_1, г	
Маса жиру з колбою, m_2, г	
Маса наважки жиру, m, г	
Кількість 0,1 н розчину тіосульфату $Na_2S_2O_3$, що витрачається на титрування під час проведення контрольного досліду (без жиру), V, $см^3$	
Кількість 0,1 н розчину тіосульфату $Na_2S_2O_3$, що прореагувала з жиром, $см^3$	
Кількість 0,1 н розчину тіосульфату $Na_2S_2O_3$, що витрачається на титрування надлишку йоду після приєднання його до жиру, V_1, $см^3$	
Поправковий коефіцієнт до 0,1 н розчину тіосульфату $Na_2S_2O_3$, К	
Йодне число, Й.ч., % I_2	

Рисунок 4.5 – Схема визначення йодного числа жиру методом Маргошеса

Рефрактометричний метод визначення йодного числа

Цей метод дає змогу визначити йодне число за показником заломлення олії. Необхідною умовою для отримання відтворюваності результатів та їх кореляції з даними, отриманими за допомогою хімічних методів, є суворе дотримання температури під час заміру показника заломлення. Визначення показника заломлення здійснюють на рефрактометрі ИРФ-454Б2М (рисунок

4.6). Величину йодного числа (в г на 100 г жиру) обчислюють за формулою, в яку підставляють середню величину показника заломлення (n^{20}),

отриману для двох паралельних проб:

$$\text{Й. ч.} = \frac{(n_D^{20} - 1{,}4595) \cdot 100}{0{,}0118}$$

Рисунок 4.6 – Рефрактометр ИРФ-454Б2М

Контрольні питання

1. Яке значення жирів у харчуванні людини?
2. Дайте визначення ліпідам та назвіть їх класифікацію.
3. Яку будову мають ацилгліцерини?
4. Які жирні кислоти і якого складу входять переважно до складу тваринних жирів, а які – до складу рослинних?
5. Яке значення для організму людини поліненасичених жирних кислот? В яких продуктах вони містяться?
6. Назвіть речовини, що є супутніми гліцеридам.
7. Як класифікують харчові жири?
8. Назвіть основні фізико-хімічні показники жирів та дайте їм визначення.
9. Які біохімічні і фізико-хімічні зміни відбуваються в жирах під час їхнього зберігання?
10. Як і за яких умов відбувається гідролітичне розщеплення жирів? Які продукти при цьому утворюються?
11. Які окиснювальні процеси відбуваються в жирах?
12. Які є стадії псування жирів? Назвіть і охарактеризуйте їх.
13. Які процеси відбуваються під час термічного розкладання жирів?
14. Як класифікують олії за здатністю до висихання? Наведіть приклади.
15. За допомогою якого методу можна визначити кислотне число жирів?
16. На чому ґрунтуються методи визначення йодного числа? Назвіть основні стандартизовані методи визначення йодного числа. Які вони мають переваги та недоліки?
17. Опишіть техніку визначення йодного числа за допомогою методу Маргошеса.
18. Порядок визначення йодного числа прискореним рефрактометричним методом.

Лабораторна робота № 5
Методи визначення масової частки жиру в харчових продуктах

Мета роботи: теоретично розглянути хлороформний екстракційний метод для визначення масової частки жиру в харчових продуктах; визначити масову частку жиру в печиві та здобних виробах прискореним рефрактометричним методом; порівняти результати досліджень з даними таблиць хімічного складу харчових продуктів; зробити висновок про якість досліджуваних продуктів.

Теоретичні відомості

Як уже зазначалось вище жири відносяться до найважливіших складових харчування людини. За рахунок енергетичної цінності жирів, що входять до складу харчового раціону, організм людини покриває до 30% енергії, яка витрачається. Харчова цінність жирів визначається їх складом, засвоюваністю та наявністю в них так званої нежирової фракції – жиророзчинних вітамінів, фосфатидів, стеринів.

Перш ніж освоювати методи аналізу харчових продуктів на вміст жирів варто дізнатися, які жири використовуються в харчовій промисловості та їхні основні характеристики.

КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ХАРЧОВИХ ЖИРІВ

Жири класифікують за походженням та консистенцією за 18°С. За походженням: рослинні; тваринні; комбіновані.

За консистенцією:

– тваринні жири поділяють на рідкі – жири морських тварин та риб; тверді – вершкове масло, баранячий, яловичий, свинячий жири та жир сільськогосподарської птиці;

– рослинні жири поділяють на рідкі – соняшникова, оливкова, лляна, кукурудзяна олії; тверді – какао-масло, кокосова олія, пальмоядрова та пальмова олії (отримують з ядер плодів африканської та американської олійних пальм, відповідно, пресуванням та екстракцією);

– комбіновані жири поділяють на тверді – маргарин, кулінарні та кондитерські жири, рослинне сало; рідкі – хлібопекарний жир.

В залежності від призначення і використання перевагу надають або рідким, або твердим жирам. Тверді за кімнатної температурі жири є більш цінної сировиною у харчових виробництвах.

Тваринні жири поділяють на дві групи: жири наземних тварин та жири морських тварин і риб.

До складу жирів наземних тварин входять тригліцериди насичених жирних кислот (40...60% від загального вмісту жирних кислот), ненасичених кислот, а також (найчастіше) поліненасичена олеїнова кислота.

Жирнокислотний склад жирів морських тварин і риб є іншім – у ньому цілком переважають поліненасичені жирні кислоти (до 70...80%), які є важливими біологічно-активними речовинами.

СПОСОБИ МОДИФІКАЦІЇ ЖИРІВ

За допомогою певних модифікацій жирам можна надати властивостей, відмінних від їх природних властивостей – наприклад, змінити консистенцію, температуру плавлення.

Модифікувати жири можна шляхом фракційної кристалізації за різних температур; гідрогенізацією; переетерифікацією. Два останні способи відбуваються зі зміненням групового складу гліцеридів.

Так шляхом фракційної кристалізації за різних температур з яловичого або баранячого жирів отримують оле-ойль (олеопродукт), який використовується безпосередньо у їжу та у виготовленні маргарину.

Суть процесу фракційної кристалізації за різних температур полягає у тому, що відбувається поступове охолодження окремих фракцій витопленого жиру. По досягненні температури 30...32ºС тугоплавкі фракції жирів відокремлюють пресуванням від легкоплавких фракцій. До складу оле-ойля входять біля 45% ненасичених і приблизно 55% насичених жирних кислот. Він є легкозасвоюваним продуктом для організму людини.

Температура плавлення є важливим показником властивостей жирів: чим вона нижча, тим жир легше засвоюється людським організмом і володіє більш високими смаковими властивостями, оскільки не залишає салистого присмаку після вживання. Але дуже низька температура плавлення також не є зручною – вироби, виготовлені на такому жирі, гірше зберігаються і втрачають свій товарний вигляд за підвищення температури навколишнього середовища.

Тверді жири (тваринні) і рідкі жири є тригліцеридами, у складі перших переважають насичені жирні кислоти, у складі других – ненасичені, та перетворюючи ненасичені кислоти в насичені (гідрогенізація), можливо змінити консистенцію, температуру плавлення та інші властивості жирів.

Отриманий у такий спосіб твердий жир називають саломасом (він є основною сировиною для виробництва маргарину, комбінованих жирів, спеціальних жирів), а сам процес перетворення жиру з рідкого у твердий – гідрогенізацією.

Процес переетерифікації – це технологія одержання естерів (тригліцерідів) переміщенням залишків жирних кислот від молекул рідкого жиру до молекул твердого жиру, або переміщення таких залишків всередині молекули тригліцериду. Від такого переміщення утворюються змішані тригліцериди мазкої або твердої консистенцій. Переетиріфіковані жири виготовляють з сумішей саломасу та олії або суміші саломасу, олії та тваринних жирів. Залежно від рецептури, температура плавлення переетрифікованих жирів коливається у межах 17-35 ºС.

ТВАРИННІ ТОПЛЕНІ ЖИРИ

До групи "жирів тваринних топлених" належать жири наземних тварин. Найбільш широко використовують яловичий, свинячий, баранячий жири.

Сировиною для виробництва тваринних топлених жирів є жирова тканина (жир-сирець) та кістки великої рогатої худоби, свиней, овець, сільськогосподарської птиці. Якість жиру-сирцю залежить від вгодованості та віку тварини. Вихід жиру-сирцю коливається у межах 0,4-7% живої маси тварини.

Жир-сирець поділяють на дві групи:

– I група – підшкірний, навколонирковий, навколосерцевий, обрізки свіжого сала тощо (з цієї групи витоплюється більше жиру в/с);

– II група – жир шлунку, кишковий, жирові обрізки тощо.

Витоплення здійснюється на спеціальному обладнанні мокрим і сухим способами. *Мокрий спосіб* – сировина постійно контактує з водою або парою, внаслідок чого утворюються жир топлений, бульйон, шквара. Під час *сухого способу витоплювання* сировина контактує з нагрітою поверхнею апарату, внаслідок чого утворюються жир і шквара. Для одержання жиру з кісток, сировину сортують, промивають, подрібнюють і витоплюють з неї жир під впливом пари, тиску, струму високої частоти і т. п.

Одержані тваринні топлені жири відокремлюють від шквари, бульйону, вільних жирних кислот та ін. домішок відстоюванням, фільтруванням, сепаруванням, нейтралізацією. Деколи для збереження харчової цінності жирів і підвищення стійкості до зберігання, їх обробляють антиокислювачами.

На якість готового жиру впливає температура його витоплювання. Так, жири вищого сорту отримують за температури 65...70ºС. Друга фаза витоплювання за температури 75...95ºС дає жир I сорту. Залишковий жир зі шквари витоплюють в автоклавах при температурі майже 120ºС та тиску 0,20-0,22 МПа. Так отримують жири низької якості: збірний або технічний.

За біологічною цінністю тваринні топлені жири поступаються оліям. Це зумовлено меншим вмістом: поліненасичених жирних кислот; вітаміну Е; вітаміну А; відсутністю фосфоліпідів (лецитин); меншою засвоюваністю (73...65%, проти 95...98%-ної засвоюваності олій).

Серед тваринних топлених жирів найвищу біологічну цінність має свинячий жир, оскільки він містить більше незамінної лінолевої кислоти, вітаміну Е, має найнижчу температуру топлення й засвоюється на 96%. Свинячий жир – єдиний з усіх тваринних жирів є наближеним до "ідеальної формули жирів", збалансованість жирнокислотного складу у якій складає 70%:30% ненасичених та насичених кислот, відповідно. Найгірше засвоюється яловичий (84%) та баранячий (73%) жири. Температура плавлення яловичого

жиру – 40...51ºС, баранячого – 44...45ºС.

МАРГАРИН

Маргарин (франц. – "перлина") – спеціально виготовлений харчовий жир, подібний до вершкового масла за смаком, кольором, ароматом, консистенцією, структурою. Маргарин є високодисперсною емульсію жиру у водній фазі. Вміст жиру у маргарині сягає 82%, вологи – не більше 17%, вуглеводів – 1%, білка – 0,3%, засвоюваність 94-97%.

Маргарин широко використовують у хлібопекарському та кондитерському виробництві, а також безпосередньо в їжу як замінник вершкового масла. В маргарині жирокислотний склад і природні біологічно-активні речовини моделюються: маргарин збалансовують за жирно-кислотним складом, збагачують біологічно-активними речовинами, вітамінами А, Е, К, - каротином, фосфоліпідами.

Основною складовою частиною маргарину є саломас, отриманий в результаті гідрогенізації олії або переетрифікації жирів. Крім саломасу до рецептури маргарину входять: рідкі рослинні олії (соняшникова, кукурудзяна, соєва); переетерифіковані жири; тваринні жири (яловичий, свинячий, вершкове масло); молочні продукти (у т.ч. сухі, кисломолочні); сіль, цукор, лимонна кислота; барвники (найчастіше – -каротин); емульгатори, ароматизатори.

В залежності від використання маргарини поділяють на такі групи: бутербродні брускові; бутербродні м’які поліпшеної якості; столові; для промислової переробки та громадського харчування.

Маргарини для промислової переробки у роздрібно-торгівельну мережу не надходять, до них належать: маргарин для хлібопекарської промисловості; маргарин для кондитерської промисловості (кондитерський вершковий); маргарин кондитерський для пластинчастого тіста; маргарин безмолочний вищого та І-го сортів.

Серед фізико-хімічні показники якості маргаринів, які нормуються є масові частки жиру (60-82%), кухонної солі (0,2-0,7%), вологи та летких речовин (17-40%), кислотність (1,5-2,5), температуру топлення (27-35ºС). Обмежують кількість консервантів (бензойної кислоти – 0,1%; аскорбінової кислоти – 0,06%), важких металів та контролюють мікробіологічні показники (коліформи БГКП, сальмонели, дріжджі, цвілеві гриби тощо).

ЖИРИ КОНДИТЕРСЬКІ, ХЛІБОПЕКАРСЬКІ, КУЛІНАРНІ

Жири цієї групи – це безводна (без водно-молочної фази) суміш саломасу з рафінованими оліями, тваринними топленими, переетерифікованими жирами.

В залежності від призначення ці жири можуть містити такі добавки, як фосфатидний концентрат, барвники, ароматизатори, антиоксиданти, вітаміни.

Жири даної групи отримують так само як і маргарин, але без ретельного

емульгування – тому, що продукція являє собою, в основному, жирові суміші.

Кулінарні жири, на відміну від маргарину, містять менше вологи (до 0,3%), більше жирів (99,7%), менше біологічно-активних речовин (вітамінів, ненасичених жирних кислот). Температура плавлення цих жирів перебуває у межах 26...36ºС, засвоюваність – 96,5%. Використовують їх для смаження продуктів основним способом і у фритюрі.

Кондитерські жири:

– жир твердий кондитерський – переетерифікований жир з високою температурою плавлення – до 45ºС; цей жир використовують для виготовлення жирової глазурі;

– жир кондитерський для вафельних і прохолоджувальних начинок – містить 20...40% кокосової або пальмової олії і саломасу малої твердості; має пластичну консистенцію;

– жир кондитерський для цукерок і харчових концентратів з температурою плавлення 35...37ºС; має тверду консистенцію.

Жир рідкий для хлібопекарської промисловості – виготовляють з суміші олії і саломасу (87 х 13%) або тільки з переетерифікованого рослинного жиру.

Фізико-хімічні показники кондитерських жирів, що нормуються: масові частки жиру (не менше 99,7%), вологи та летких речовин (не більше 0,3%), кислотне число (0,4-0,8%), температура топлення (26...36ºС). Нормується також вміст антиоксидантів (якщо вони додаються) та пестицидів.

МАСОВА ЧАСТКА ЖИРУ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Рецептури виробів харчової промисловості містять різну кількість жирових продуктів. Тому визначення вмісту жиру входить до стандартів з оцінки якості продуктів.

Контроль за вмістом жиру в хлібобулочних та кондитерських виробах здійснюється двома методами: внутрішньовиробничий контроль, який здійснюється або шляхом контрольних зважувань жиру, що вноситься в тісто, або за аналізом тіста на вміст жиру прискореними методами аналізу, і контроль готових виробів шляхом визначення в них вмісту жиру методами, передбаченими ГОСТ 5668-68 «Хлеб и хлебобулочные изделия. Методы определения массовой доли жира». Для визначення масової частки жиру стандарт передбачає три метода: екстракційний з попереднім гідролізом наважки; екстракційно-ваговий і рефрактометричний.

Екстракційний метод з попереднім гідролізом наважки є арбітражним методом, він ґрунтуються на екстракції жиру хлороформом з наступним визначенням кількості сухого залишку, одержаного після відгонки розчинника та висушування наважки екстракту.

Прискорений екстракційно-ваговий метод ґрунтується на дії безводного

карбонату натрію (Na_2CO_3) на зразок, що аналізується, екстрагуванні жиру в спеціальній ступці – екстракторі за інтенсивного розтирання в органічному розчиннику (хлороформі) і фільтрації розчину під нагнітанням повітря. Масову частку жиру визначають зважуванням після видалення розчинника із певного об'єму отриманого розчину.

Ці методи є досить трудомісткими, складними в техніці виконання, а арбітражний метод є ще і тривалим. Цих недоліків позбавлений метод, що передбачений стандартом прискорений рефрактометричний метод.

Прискорений рефрактометричний метод ґрунтується на екстракції жиру бромнафталіном-α та визначенні коефіцієнтів заломлення розчинника і розчину жиру в цьому розчиннику. Цей метод дозволяє значно знизити трудомісткість та тривалість аналізу, і є таким, що пройшов апробацію в промисловості.

Отримані під час аналізу готових виробів дані про фактичний вміст жиру в перерахунку на сухі речовини порівнюють з нормами вмісту жиру, що передбачені стандартами або технічними умовами. Якщо в стандарті не нормується вміст жиру, то отримані шляхом лабораторного аналізу дані про вміст жиру в готових виробах (в перерахунку на сухі речовини (СР)) порівнюють з даними, отриманими розрахунковим шляхом (очікуваний вміст), виходячи із офіційно затвердженої рецептури. Приклад такого розрахунку для батонів нарізних із пшеничного борошна І ґатунку на основі їх рецептур наведений в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1 – Рецептура батонів нарізних із пшеничного борошна І ґатунку

Сировина	Закладання сировини, кг	Масова частка вологи	Вміст			
			Сухі речовини		Жир	
			%	кг	% на СР	кг
Борошно	100	14	86	86	–	–
Сіль	1,5	5,0	95	1,42	–	–
Дріжджі	1,0	75	25	0,25	–	–
Цукор	4,0	–	100	4,0	–	–
Маргарин	3,5	16	84	2,94	82,5	2,9
Всього СР	–	–	–	94,61	–	–

Так як до складу вершкового масла і маргарину входять приблизно 1,5% білку, мінеральних солей і вуглеводів, то вміст жиру $С_ж$ (у %) обчислюють за формулою: $С_ж = 100 – (СН_2О + 1,5)$.

Для солоного вершкового масла і маргарину вміст жиру $С_ж$ (у %) обчислюють за формулою: $С_ж = 100 – (СН_2О + CNaCl + 1,5)$.

Розрахункову (очікувану) кількість сировини за рецептурою (Х у % на СР) знаходять таким чином: $Х_{жиру} = 2,9·100/94,6 = 3,0$

Під час виконання роботи необхідно зробити розрахунок очікуваного вмісту жиру за наведеним зразком для аналізованого виду хлібобулочних виробів відповідно до його рецептури.

ЕКСТРАГУВАННЯ ЖИРІВ ІЗ ХАРЧОВОГО ПРОДУКТУ

Загальною властивістю ліпідів є їх нерозчинність у воді, але розчинність в органічних розчинниках – бензолі, бензені, петролейному етері, сірчаному етері, ацетоні, хлороформі, метиловому та етиловому спирті тощо. На цій властивості базуються майже всі методи кількісного визначення жиру. В якості розчинника найчастіше використовують етиловий (сірчаний) або петролейний етери. Під час екстрагування етером, крім жирів, одночасно з наважки продукту вилучається все, що розчиняється в етері. З жироподібних речовин вилучаються воски, стерини, вільні жирні кислоти та ін. Якщо ж етер є недостатньо чистим та містить домішки спирту, ацетону, вологи, то в нього можуть переходити речовини, що не відносяться до класу ліпідів – смоли, спирти, цукри, альдегіди, кетони. Якщо в наважці продукту містились ефірні масла, вони теж перейдуть у витяжку.

Речовини, що вилучаються за допомогою розчинника з наважки продукту, умовно називають сирим жиром. Оскільки склад сирого жиру в значній мірі залежить від чистоти розчинника, перед використанням розчинник очищують від води та спирту, а дослідний зразок обробляють холодною водою для вилучення цукрів та висушують.

Експериментальна частина

Підготовка зразка до аналізу. Відбирають проби за ГОСТ 5667-65, ГОСТ 7128-81 і ГОСТ 8494-73. Із лабораторного зразка, відібраного для загального аналізу, виділяють не менше 300 г продукту.

У виробах, у яких м’якуш відокремлений і легко відділяється від скоринки, наприклад булки, здоба (за виключенням виробів із пластинчастого тіста) аналізують лише м’якуш цих виробів. В решті виробах (бублики, сухарі і т. п.) аналізують весь зразок (зі скоринкою).

Із виробів видаляють всі включення (повидло, варення, родзинки і т. п.) і поверхневу відробку (посипку цукром, маком і т. д.), ретельно подрібнюють, перемішують і поміщають в банку з притертою пробкою.

У зразку визначають масову частку вологи (ГОСТ 21094-75) висушуванням в СЕШ за температури 130ºС протягом 40 хв.

Визначення масової частки жиру хлороформовим методом

Хлороформовий екстракційний метод є арбітражним та використовується у разі появи суперечностей в оцінці якості. Він базується на вилученні жиру з попередньо гідролізованої за допомогою соляної чи сірчаної кислот наважки виробу розчинником (хлороформу) та визначенні кількості жиру зважуванням після видалення розчинника з певного об’єму отриманого розчину.

Прилади, обладнання, матеріали: зразок продукту, аналітичні ваги, плоскодонна колба місткістю 300 см^3, піпетка місткістю 50 см^3, зворотній холодильник, водяна баня, пробка, центрифуга, гумова груша, воронка, ватний тампон, піпетка місткістю 20 см^3, мірна колба місткістю 100 см^3, ексикатор, прилад Чижової.

Реактиви: 1,5%-й розчин соляної кислоти або 5%-й розчин сірчаної кислоти, хлороформ.

Наважку продукту 10 г (у разі вмісту жиру у виробі більше 10 % наважка може бути зменшена до 5 г), зважену з похибкою до 0,01 г, вміщують в плоскодонну колбу місткістю приблизно 300 см^3, доливають 100 см^3 1,5%-ного розчину соляної кислоти (або 100 см^3 5%-ного розчину сірчаної кислоти), кип'ятять в колбі зі зворотнім холодильником на слабкому вогні 30 хв. Потім колбу охолоджують водою до кімнатної температури, доливають 50 см^3 хлороформу, щільно закривають пробкою, енергійно збовтують протягом 15 хв., далі її вміст виливають в центрифужні пробірки та центрифугують 2...3 хв. В пробірці утворюються три шари. Верхній (водний) шар видаляють піпеткою, оснащеною гумовою грушею, відбирають хлороформовий розчин жиру та фільтрують його у суху колбу через ватний тампон, вкладений у вузьку частину воронки, при цьому кінчик піпетки повинен торкатися вати. 20 см^3 фільтрату переливають в попередньо доведену до постійної маси та зважену з похибкою до 0,0002 г колбу місткістю приблизно 100 см^3. Для відмірювання можна використовувати бюретку, в яку заливають розчин. Користуючись бюреткою, її закривають ватною пробкою.

Відбір та фільтрування повинні проводитися протягом 2 хв. Хлороформ з колби відганяють на бані, використовуючи холодильник.

Залишок жиру висушують в колбі до постійної маси (звичайно 1…1,5 год) за температури 100…105°С, охолоджують в ексикаторі 20 хв. та зважують з тією ж похибкою.

Паралельно з визначенням жиру треба визначити масову частку вологи в продукті експресним методом на приладі ВНДІХП-ВЧ чи інших марок, щоб результати визначення обчислити в перерахунку на суху речовину.

Масову частку жиру в продукті, Х, % в перерахунку на суху речовини, розраховують за формулою

$$X = \frac{100 \cdot 100 \cdot 50 \cdot (m_1 - m_2)}{20 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де m_1 – маса колби з висушеним жиром, г; m_2 – маса порожньої колби, г; 50 – кількість розчинника, яку взяли для вилучення жиру, см^3; m – маса продукту, г; 20 – кількість фільтрату, яку взяли для визначення жиру, см^3; W – масова частка вологи в продукті, %.

Кінцевий результат представляє собою середнє арифметичне двох визначень. Розбіжність між результатами двох паралельних визначень в одній лабораторії не повинна перевищувати 0,5%, а розбіжність між результатами визначень однієї і тієї ж проби в різних лабораторіях не повинна перевищувати 1%.

Одержані результати аналізують, звертаючи увагу на величину допустимих відхилень між паралельними визначеннями та масову частку жиру за стандартом.

Визначення масової частки жиру рефрактометричним методом

Метод ґрунтується на вилученні жиру з наважки виробу відповідними розчинниками. Масову частку жиру у виробі визначають за різницею коефіцієнтів заломлення розчинника та розчину жиру в розчиннику.

Для визначення коефіцієнта заломлення можуть бути використані рефрактометри з граничним коефіцієнтом заломлення до 1,7 будь-якої системи, що придатні для визначення жиру. Точність методу залежить від коефіцієнту заломлення розчинника, що використовується: чим він більший, тим точніші результати визначення. ГОСТ передбачає використання в цьому методі наступних розчинників: бромнафталіну-α з коефіцієнтом заломлення приблизно 1,66 та хлорнафталіну-α з коефіцієнтом заломлення приблизно 1,63.

Прилади, обладнання, матеріали: зразок продукту, аналітичні ваги, фарфорова ступка або чашка з товкачиком, піпетка місткістю 2 $см^3$ або мікробюретка, гумова груша, складчастий фільтр, плоскодонна колба місткістю 250…300 $см^3$, рефрактометр ИРФ-454Б2М, чистий сухий пісок, в одяна баня, піпетка місткістю 1 $см^3$, безводний карбонат натрію.

Реактиви: бромнафталін-α або хлорнафталін-α; 80%-й розчин оцтової кислоти

Підготовка до аналізу.

1. Визначають коефіцієнт заломлення бромнафталіну-α за температури 20°С, наносячи 1…2 краплини розчинника на призму рефрактометра.

2. Визначають густину розчинника ρ, г/$см^3$, за 20°С пікнометром та розраховують за формулою. Зважують з похибкою не більше 0,0002 г. Відхилення між паралельними зважуваннями не повинно перевищувати 1 мг.

3. Калібрують піпетки (місткістю 2…5 $см^3$) за розчинником, відміряючи ними відповідний об’єм розчинника в склянку та зважуючи з похибкою не більше 0,002 г. Відхилення між паралельними зважуваннями не повинно перевищувати 0,0005 г.

З трьох зважувань беруть середнє арифметичне та розраховують об’єм піпетки V, $см^3$.

Техніка визначення – добре подрібнену наважку хлібобулочних виробів

масою приблизно 2 г зважують з точністю до 0,05 г і поміщують в маленьку ступку, додають 4 $см^3$ розчинника за допомогою калібрувальної піпетки з маленькою грушею або мікробюретки. Вміст енергійно розтирають протягом 3 хв, потім переносять із ступки на маленький складчастий фільтр. Перші 2...3 краплі фільтрату відкидають, а наступні 2...3 краплі переносять на призму рефрактометра і визначають коефіцієнт заломлення. Визначення коефіцієнта заломлення проводять за температури 20±0,2ºС або за будь-якої іншої температури, але тоді приводять показник заломлення розчину до температури 20ºС шляхом внесення поправки за таблицею 5.2. Відлік показника заломлення розчину жиру можна також проводити за будь-якої кімнатної температури без урахування поправки на температуру за умови одночасного визначення показника заломлення розчину за тієї ж температури. Послідовність виконання експерименту наведена на схемі рисунку 5.1.

!!! Роботи з монобромнафталіном необхідно проводити у витяжній шафі. Працюючи з рефрактометром, необхідно також стежити за чистотою й о г о призм.

Визначення коефіцієнта заломлення проводять за температури 20 ± 0,2°С або за будь-якої кімнатної температури, але тоді приводять показник заломлення розчину до температури 20°С шляхом внесення поправки за таблиці 5.2.

Відлік показника заломлення розчину жиру можна також проводити за будь-якої кімнатної температури без врахування поправки на температуру за умови одночасного визначення показника заломлення розчинника за тієї ж температури.

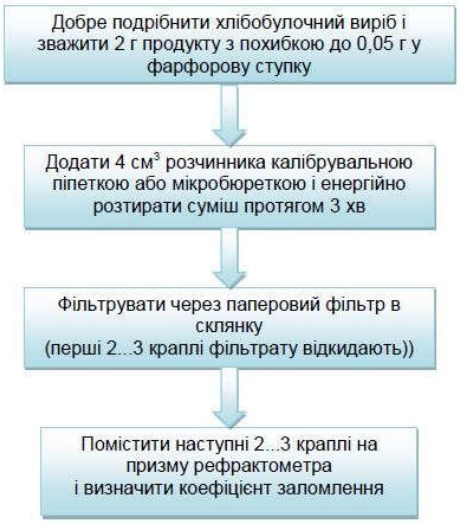


Рисунок 5.1 – Схема визначення масової частки жиру рефрактометричним методом

Бубликові і сухарні вироби, а також хлібобулочні вироби із борошна із

"міцною" клейковиною аналізують наступним чино: добре подрібнюють наважку масою приблизно 2 г і зважують з точністю до 0,05 г, поміщують в фарфорову ступку або чашку і, додавши приблизно 2 г чистого сухого піску і 2 см^3 оцтової кислоти (80%-ної), добре розтирають протягом 2 хв. і ставлять на киплячу водяну баню на 3 хв. Під час аналізу виробів із низькою вологістю (сухарі, сушки та ін.) перед додаванням піску подрібнену наважку змочують 1 см^3 води. Потім наважку охолоджують, додають точно 4...6 см^3 розчинника і знову розтирають протягом 3 хв., додають 2 г безводного карбонату натрію, перемішують, суміш переносять в складчастий фільтр і фільтрують в стаканчик, 2...3 краплі наносять на призму рефрактометра і визначають коефіцієнт заломлення. Послідовність виконання експерименту наведена на схемі рисунку 5.2.

Масову частку жиру X, % в перерахунку до сухої речовини, визначають за формулою 5.2.

$$X = \frac{V_р \cdot \rho_ж}{m} \cdot \left(\frac{П_р - П_{рж}}{П_{рж} - П_ж}\right) \cdot 100 \cdot \frac{100}{100 - W},$$

де V – об'єм розчинника, взятий для вилучення жиру, см^3; $\rho_ж$ – відносна густина жиру за температури 20°С, г/см^3; $П_р$ – коефіцієнт заломлення розчинника; $П_{рж}$ – коефіцієнт заломлення розчину жиру в розчиннику; $П_ж$ – коефіцієнт заломлення жиру; m – наважка аналізованого продукту, г; W – масова частка вологи в продукті, %.

Обчислюють з точністю до 0,1%. За кінцевий результат приймають середнє арифметичне трьох паралельних визначень, допустиме відхилення між якими не повинно перевищувати 0,5% в одній лабораторії та 1% в різних.

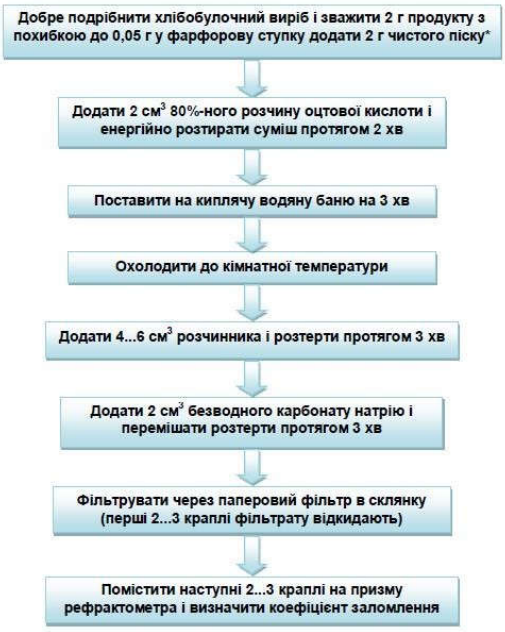


Рисунок 5.2 – Схема визначення масової частки жиру в бубликових і сухарних виробах

Таблиця 5.2 – Внесення поправки до температури 20°С

Температура, °С	Поправка	Температура, °С	Поправка	Температура, °С	Поправка	Температура, °С	Поправка	Температура, °С	Поправка
Відняти від:									
15,0	0,0022	16,0	0,0018	17,0	0,0013	18,0	0,0009	19,0	0,0004
1	0,0022	1	0,0017	1	0,0013	1	0,0008	1	0,0004
2	0,0021	2	0,0017	2	0,0012	2	0,0008	2	0,0004
3	0,0021	3	0,0016	3	0,0012	3	0,0007	3	0,0003
4	0,0020	4	0,0016	4	0,0011	4	0,0007	4	0,0003
5	0,0020	5	0,0016	5	0,0011	5	0,0007	5	0,0002
6	0,0019	6	0,0015	6	0,0011	6	0,0006	6	0,0002
7	0,0019	7	0,0015	7	0,0010	7	0,0006	7	0,0001
8	0,0018	8	0,0014	8	0,0010	8	0,0005	8	0,0001
9	0,0018	9	0,0014	9	0,0009	9	0,0005	9	0,0000
Додати до:									
20,0	0,0000	22,0	0,0009	24,0	0,0018	26,0	0,0026	28,0	0,0035
1	0,0000	1	0,0009	1	0,0018	1	0,0027	1	0,0036
2	0,0001	2	0,0010	2	0,0018	2	0,0027	2	0,0036
3	0,0001	3	0,0010	3	0,0019	3	0,0028	3	0,0037
4	0,0002	4	0,0011	4	0,0019	4	0,0028	4	0,0037
5	0,0002	5	0,0011	5	0,0020	5	0,0029	5	0,0037
6	0,0003	6	0,0011	6	0,0020	6	0,0029	6	0,0038
7	0,0003	7	0,0012	7	0,0021	7	0,0029	7	0,0038
8	0,0004	8	0,0012	8	0,0021	8	0,0030	8	0,0039
9	0,0004	9	0,0013	9	0,0022	9	0,0030	9	0,0040
21,0	0,0004	23,0	0,0013	25,0	0,0022	27,0	0,0031	29,0	0,0040
1	0,0005	1	0,0014	1	0,0022	1	0,0031	1	0,0040
2	0,0005	2	0,0014	2	0,0023	2	0,0032	2	0,0040
3	0,0006	3	0,0015	3	0,0023	3	0,0032	3	0,0041
4	0,0006	4	0,0015	4	0,0024	4	0,0033	4	0,0041
5	0,0007	5	0,0015	5	0,0024	5	0,0033	5	0,0042
6	0,0007	6	0,0016	6	0,0025	6	0,0034	6	0,0042
7	0,0007	7	0,0016	7	0,0025	7	0,0034	7	0,0043
8	0,0008	8	0,0017	8	0,0026	8	0,0034	8	0,0043
9	0,0008	9	0,0017	9	0,0026	9	0,0035	9	0,0044

Під час обчислення вмісту жиру користуються показниками заломлення та густини жирів, що вказані в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3 – Показники заломлення та густини деяких жирів*

Найменування жиру	Коефіцієнт заломлення	Густина, г/см^3
Кунжутна олія	1,4730	0,919
Соняшникова олія	1,4736	0,924
Коров'яче масло	1,4605	0,920
Маргарин	1,4690	0,928
Арахісова олія	1,4696	0,914
Гірчична олія	1,4769	0,918

*Примітки: 1) якщо в досліджуваному виробі знаходиться невідомий жир або суміш жирів поступають таким чином: 5...10 г подрібненого виробу заливають трикратною кількістю розчинника (хлороформ, тетрахлорметан ін.), збовтують протягом 15 хв., витяжку фільтрують в колбу, розчинник повністю відганяють, решту підсушують та визначають коефіцієнт заломлення жиру; 2)для суміші жирів або для невідомого жиру густину приймають рівною 0,925 г/см^3; 3) вся робота з органічними розчинниками повинна проводитися тільки у витяжній шафі.

Знайдена аналітичним шляхом масова частка жиру для більшості хлібобулочних виробів перевищує розрахункові дані, що обумовлено власним жиром борошна. Таке перевищення може бути різним для різних сортів та видів виробів, оскільки воно залежить від особливостей технологічного процесу, рецептури виробів та сорту борошна.

В бубликах та сухарях відхилення між розрахунковими та аналітичними даними за жиром менше внаслідок більш значних втрат його під час випікання.

Дані аналізу записують до таблицю 5.4. Зробити висновок про відповідність досліджуваних продуктів вимогам нормативної документації.

Таблиця 5.4 – Результати спостережень та розрахунків для визначення масової частки жиру рефрактометричним методом

Показник	Дані дослідів			
Маса чашки, г: з наважкою m_2 без наважки m_1				
Маса наважки m, г				
Об'єм розчинника $V_р$, см^3				
Відносна густина жиру $\rho_ж$				
Коефіцієнт заломлення: розчинника $П_р$ розчину жиру в розчиннику $П_{рж}$ жиру $П_ж$				
Масова частка жиру X, % до сухої речовини				
Масова частка жиру, % до сухої речовини, за нормативною документацією, не менше				

Контрольні питання

1. Наведіть класифікацію харчових жирів.
2. Які є способи модифікації харчових жирів?
3. Які є види топлених тваринних жирів? Як вони виготовляються?
4. Які складові маргарину? Назвіть його фізико-хімічні показники.
5. Який склад кондитерських, хлібопекарських та кулінарних жирів? Чим ці жири відрізняються від маргарину?
6. На чому базуються методи визначення масової частки жиру?
7. Які речовини використовують для екстрагування жиру з наважки продукту?
8. Як розчинник впливає на одержані результати під час визначення масової частки жиру?
9. Розкрийте поняття "сирий жир".
10. Назвіть відомі вам методи визначення масової частки жиру в харчових продуктах.
11. Принцип визначення масової частки жиру хлороформовим методом.
12. З якою метою кип’ятять наважку досліджуваного зразка з розведеною сірчаною кислотою перед екстракцією хлороформом?
13. Суть рефрактометричного методу визначення масової частки жиру.
14. Джерела похибок під час визначення масової частки жиру хлороформовим та рефрактометричним методами.
15. Фактори, що впливають на розбіжність між розрахунковими та аналітичними даними масової частки жиру у виробах.

Лабораторна робота № 6
Методи визначення масової частки сахарози у хлібобулочних виробах

Мета роботи: освоїти йодометричний метод визначення масової частки сахарози у хлібобулочних виробах; визначити вміст сахарози у дослідних зразках продукції та порівняти результати з теоретично розрахованими; зробити висновок щодо дотримання рецептури виробником

Теоретичні відомості

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВУГЛЕВОДІВ

Вуглеводи – це складні органічні речовини, що є полігідроксиальдегідами або полігідроксикетонами або утворюють ці речовини в результаті гідролізу.

Вуглеводи поділяють на три основні групи: моносахариди, олігосахариди і полісахариди (рисунок 6.1).

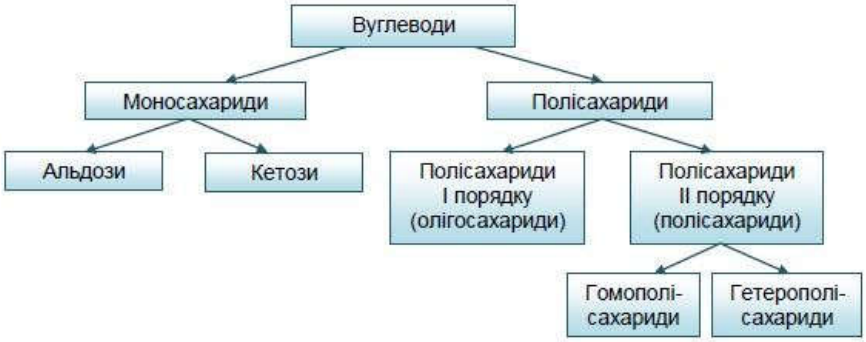


Рисунок 6.1 – Класифікація вуглеводів

МОНОСАХАРИДИ

Моносахариди зазвичай містять від 3 до 9 атомів вуглецю, причому найбільш поширеними є пентози і гексози. За функціональними групами вони поділяться на альдози і кетози.

Серед моносахаридів широко відомі глюкоза, фруктоза, галактоза, арабіноза, ксилоза і D- рибоза.

Глюкоза (виноградний цукор) у вільному стані міститься в ягодах і фруктах. З молекул глюкози побудовані крохмаль, глікоген, мальтоза; глюкоза є складовою частиною сахарози, лактози.

Фруктоза (плодовий цукор) міститься в чистому вигляді у бджолиному меді(до 37%), винограді(7,7%), яблуках(5,5%); є складовою частиною сахарози.

Галактоза – складова частина молочного цукру (лактози), яка міститься в молоці ссавців, рослинних тканинах, насінні.

Арабіноза міститься в хвойних рослинах, у буряковому жомі, входить до складу пектинових речовини, слизу, гуми (камедь), геміцелюлози.

Ксилоза (деревний цукор) міститься у бавовняному лушпинні, кукурудзяних початках. Ксилоза входить до складу пентозанів.

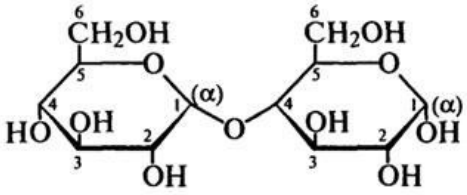
D-рибоза – універсальний компонент головних біологічно активних молекул, відповідальних за передачу спадкової інформації, – рбонуклеїнової (РНК) і дезоксирибонуклеїнової (ДНК) кислот; входить і до складу АТФ і АДФ, за допомогою яких у будь-якому живому організмі запасається і переноситься хімічна енергія.

ПОЛІСАХАРИДИ

Олігосахариди – це полісахариди 1-го порядку, молекули яких містять від 2 до 10 залишків моносахаридів, з'єднаних глікозидними зв'язками. Відповідно до цього розрізняють дисахариди, трисахариди і т. д.

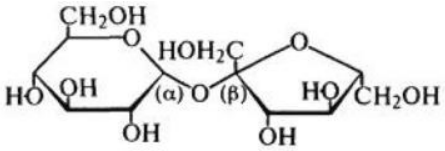
Дисахариди – складні цукри, кожна молекула яких в результаті гідролізу розпадається на дві молекули моносахаридів. Дисахариди, разом з полісахаридами, є одним з основних джерел вуглеводів в їжі людини і тварин. За будовою дисахариди є глікозидами, в яких дві молекули моносахаридів з'єднані глікозидним зв'язком.

До дисахаридів належать мальтоза, сахароза і лактоза. Мальтоза – α глюкопіранозил-(1,4)-α-глюкопіранозою, утворюється як проміжний продукт в результаті дії амілаз на крохмаль (або глікоген).



мальтоза

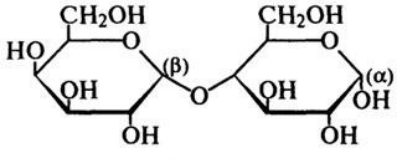
Сахароза – звичайний харчовий цукор. Молекула сахарози складається з одного залишку α-D-глюкози і одного залишку β-D-фруктози.



сахароза

На відміну від більшості дисахаридів, сахароза не має вільного напівацетального гідроксилу і не має відновних властивостей.

Дисахарид лактоза міститься тільки в молоці і складається з β-D- галактози і D-глюкози.



лактоза

Серед природних трисахаридів найбільш відомою є рафіноза, що містить

залишки фруктози, глюкози і галактози. Вона знаходиться в значних кількостях в цукровому буряку і у багатьох інших рослинах, зокрема у бобових. В цілому олігосахариди, присутні в рослинних тканинах.

Полісахариди ІІ-го порядку за загальними принципами будови поділяються на дві групи: гомополісахариди (складаються з однакових моносахаридних ланок) і гетерополісахариди (складаються із моносахаридних ланок різних типів).

За функціональним призначенням полісахариди поділяють на структурні і резервні. Важливим структурним полісахаридом є целюлоза, а головними резервними полісахаридами є глікоген і крохмаль (у тварин і рослин відповідно).

Крохмаль є комплексом двох гомополісахаридів: лінійного – амілози і розгалуженого – амілопектину, загальна формула яких $(C_6H_{10}O_5)_n$. Як правило, вміст амілози в крохмалі складає 10...30%, амілопектину 70...90%. Полісахариди крохмалю побудовані із залишків глюкози, з'єднаних в амілозі і в лінійних ланцюгах амілопектину α-1,4-зв'язками, а в точках галуження амілопектину міжланцюговими α-1,6-зв'язками. Крохмаль є головною складовою частиною їжі людини. Хліб, картопля, крупи, овочі – головний енергетичний ресурс її організму.

Глікоген – полісахарид, що міститься в тканинах тварин, близький за своєю будовою до амілопектину. Молекула глікогену, як і молекула амілопектину, побудована з сильно розгалужених ланцюжків (розгалуження через кожні 3...4 ланки) із загальною кількістю глюкозидних залишків 5...50 тис (з молекулярною масою 1...10 млн.).

Целюлоза (або клітковина) – найбільш поширений рослинний гомополісахарид. Целюлоза є полімером, що містить 600...900 залишків глюкози (середня молекулярна маса 1...1,5 млн.). У молекулі целюлози залишки глюкози з'єднані β-(1,4)-глікозидними зв'язками, що визначає лінійну структуру полімеру. Целюлоза не розщеплюється звичайними ферментами шлунково-кишкового тракту ссавців, а тільки під дією ферменту целюлази, що виділяється з кишкової флори травоїдних, розпадається на целодекстрини (олігоцеллсахариди) і целобіозу.

Пентозани – целюлозоподібні полісахариди, побудовані з ксилози, арабінози й інших пентоз. Особливо багаті пентозанами шкаралупа горіхів, соняшників, кукурудзяні початки, солома, жито.

Інулін – високомолекулярний вуглевод, розчинний у воді, осаджується з водних розчинів під час додавання спирту. В результаті гідролізу за допомогою кислот утворює фруктофуранозу і невелику кількість глюкопіранози. Міститься у великій кількості у бульбах земляної груші і жоржини, в коренях кульбаби, коксагизу і цикорію, в артишоках, в коренях, листі і стеблах каучуконосної

рослини гваюли (Parthenium argentatum).

Слиз і гумі (камедь) – група колоїдних полісахаридів, до яких належать розчинні у воді вуглеводи, що утворюють надзвичайно в'язкі і клейкі розчини. *Гумі* виділяються у вигляді напливів вишневими, сливовими або мигдалевими деревами в місцях ушкодження гілок і стволів. *Слиз* міститься у великій кількості в льняному насінні і в зерні жита. *Камеді* мають такі цінні властивості, як підвищена в'язкість, клейкість, здатність до набрякання і т. д.

Пектинові речовини, що містяться в рослинних соках і плодах, є гетерополісахаридами, побудовані із залишків галактуронової кислоти, з'єднаних α-(1,4)-глікозидними зв'язками. Карбоксильні групи галактуронової кислоти різною мірою естерифіковані метиловим спиртом. В рослинах пектинові речовини містяться у формі водорозчинного *пектину*, *протопектину*, а також у формі кальцієвих і магнієвих солей *пектинової кислоти*.

Протопектин – нерозчинна у воді складна хімічна сполука (у протопектині довгий ланцюг полігалактуронової кислоти з'єднаний з іншими речовинами: целюлозою, арабаном, галактаном і іншими поліозами, а також з білковими речовинами); молекулярна маса 20...30 тис;

Пектинові кислоти – це полігалактуронові кислоти, в незначній мірі естерифіковані залишками метанолу;

Пектин – майже повністю естерифікована пектинова кислотою; пектини є розчинними у воді, утворюють колоїдні розчини.

До *геміцелюлоз* відносяться різноманітні за хімічною структурою гетерополісахариди рослин: глюкоманани, галактоманани і ксилани, що містять у бічних ланцюгах арабінозу, глюкозу і т. д.

Глікозиди – продукти, що утворюються в результаті реакції етерифікації в кислому середовищі. Тільки дуже незначна кількість глікозидів зустрічається в харчуванні людини. Деякі глікозиди є сильними піноутворювачами і стабілізаторами, флавоноїдні глікозиди можуть надавати гіркого смаку і певного аромату і кольору харчовому продукту.

Левоглюкозан – глікозид, невелика кількість якого утворюється в умовах піролізу в процесі обжарювання і випічці борошняних виробів і нагріванні цукрів, цукрових сиропів за високої температури. Великі кількості цієї речовини в їжі є небажаними через гіркий смак.

Ціаногенні глікозиди – це сполуки, в результаті їх природної деградації утворюється синільна кислота; вони досить широко представлені в природі (насіння гіркого мигдалю, маніок, сорго, кісточки персиків, абрикосів та ін.).

ВУГЛЕВОДИ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Вуглеводи складають 3/4 сухої маси рослин і водоростей, вони містяться в зернових, фруктах, овочах і в інших продуктах.

Головними засвоюваними вуглеводами в харчуванні людини є крохмаль і сахароза. Крохмаль є головним енергетичним ресурсом людського організму. Джерела крохмалю – зернові, бобові, картопля. На частку крохмалю припадає приблизно 80% від усіх вуглеводів, що споживає людина.

Моносахариди і олігосахариди (у тому числі сахароза) міститься в зернових культурах у відносно невеликих кількостях (таблицю 6.1 і 6.2). Сахароза зазвичай потрапляє в людський організм з продуктами, в які вона додається (кондитерські вироби, напої, морозиво та ін.). Зважаючи на те, що сахароза значною мірою сприяє зростанню глюкози в крові, варто зазначити, що продукти з високим вмістом цукру (в першу чергу кондитерські вироби) є найменш цінними з усіх вуглеводних продуктів.

Доведено, що необхідно збільшувати в раціоні кількість харчових волокон, джерелом яких є житні і пшеничні висівки, овочі, фрукти. Хліб з цілісного зерна, з точки зору вмісту харчових волокон, набагато цінніший, ніж хліб з борошна вищих сортів, що не містять алейронового шару і зародка (таблиця 6.3).

Таблиця 6.1 – Вуглеводи зерна і продуктів його переробки (у %)

Продукт	Крохмаль	Цукри	Клітковина, геміцелюлоза та ін.	Всього
Пшениця	52...55	2...3	8...14	60...70
Борошно пшеничне	67...68	1,7...1,8	0,1...0,2	73...74
Макарони	62...69	1,7...4,6	0,1...0,2	72...75
Рис	55	3	4...10	63...64
Гречка	63...64	2	1...2	67...68
Кукурудза	57	2,5...3	6...10	67...70

Таблиця 6.2 – Цукри жита і пшениці (у %)

Цукри	Пшениця	Жито
Глюкоза	0,01...0,09	0,05
Фруктоза	0,02...0,09	0,06
Сахароза	0,19...0,57	0,41
Мальтоза	0,06...0,15	0,14
Інші олігосахариди	0,67...1,26	2,03

Таблиця 6.3 – Хімічний склад продуктів помелу пшениці (у % на суху речовину)

Продукт	Клітковина	Пентозани	Крохмаль
Зерно	2,5	6,4	53,0
Борошно вищого гатунту	0,1	1,6	80,1
Борошно I гатунку	0,2	1,8	77,8
Борошно II гатунку	0,5	3,4	72,5
Висівки	8,4	22,1	13,8

Вуглеводи плодів (таблицю 6.4) представлені в основному сахарозою, глюкозою і фруктозою, а також клітковиною і пектиновими речовинами (у чорній смородині – 1,1; у сливі – 0,9; у журавлині – 0,7; у шкірках цитрусових – 20...30; у шкірці яблук – 8...20% пектинових речовин).

Тваринні продукти містять значно менше засвоюваних вуглеводів, ніж рослинні. М'ясний і печінковий глікоген подібні за будовою до крохмального амілопектину і засвоюються так само як крохмаль.

Таблиця 6.4 – Вміст різних вуглеводів в плодах(у %)

Вид	Цукри			Пектинові речовини	Клітковина	Всього вуглеводів
	Сахароза	Глюкоза	Фруктоза			
Яблука*	3,0	3,8	8,1	1,1	0,6	11...17
Персики	6,3	5,1	4,4	0,6	1,0	17...18
Виноград	0,6...4,0	8...10	7...10	0,6	0,6	17...25
Лимони	0,9	0,6	0,6	1,1	0,5	3...4
Суниця	0,4	2,8	3,3	1,6	1,4	9...10

*Вміст крохмалю – 0,2%.

ОСНОВНІ ФУНКЦІЇ ВУГЛЕВОДІВ

Вуглеводи є основною складовою частиною харчового раціону людини, оскільки їх споживають приблизно в 4 рази більше, ніж жирів і білків. Вони виконують в організмі багато різноманітних функцій але головна з них – енергетична (рисунок 6.2). Упродовж життя людина в середньому споживає близько 14 т вуглеводів, у тому числі більше 2,5 т моно- і дисахарідів. За рахунок вуглеводів забезпечується близько 60% добового енергоспоживання, тоді як за рахунок білків і жирів разом узятих – тільки 40%

Рисунок 6.2 – Основні функції вуглеводів в людському організмі

Середня потреба у вуглеводах складає 350-500 г/добу. У випадку збільшення фізичного навантаження частка вуглеводів повинна зростати.

Вуглеводи потрібні для біосинтезу нуклеїнових кислот, замінних

амінокислот, як складова структурна частина клітин. Вони входять до складу гормонів, ферментів і секретів слизових залоз.

Регуляторна функція вуглеводів різноманітна. Вони протидіють накопиченню кетонових тіл під час окиснення жирів, регулюють обмін вуглеводів і діяльність центральної нервової системи. Важливу роль відіграють вуглеводи, виконуючи захисні функції. Так, глюкуронова кислота, з'єднуючись з деякими токсичними речовинами, утворює розчинні у воді нетоксичні складні ефіри, що легко видаляються з організму.

За харчовою цінністю вуглеводи поділять на *засвоювані* і *незасвоювані*. Засвоювані вуглеводи перетравлюються і метаболізуються в організмі людини. До них відносяться *глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза, мальтоза, α-глюканові полісахариди – крохмаль, декстрин і глікоген.* За нестачі цих вуглеводів в організмі з'являються слабкість, запаморочення, головний біль, відчуття голоду, сонливість, пітливість, тремтіння в руках.

Незасвоювані вуглеводи не розщеплюються ферментами, що секретуються в травному тракті людини. До незасвоюваних вуглеводів відносяться рафінозні олігосахариди і не-α-глюконові полісахариди – *целюлоза, геміцелюлоза, пектинові речовини, інулін, лігнін, камедь і слиз.* Незасвоювані позитивно впливають на функцію товстого кишечника, адсорбують солі важких металів, радіонукліди, зменшують інтоксикацію організму, регулюють рівень холестерину, глюкози і тригліцеридів в сироватці крові. Харчові волокна сприяють профілактиці ожиріння, атеросклерозу, цукрового діабету, виразкових хвороб шлунку і дванадцятипалої кишки, подагра та ін. Добова норма харчових волокон для дорослої людини – 25...30 г.

ФУНКЦІЇ ВУГЛЕВОДІВ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Гідрофільність

Гідрофільність – одна з найважливіших властивостей вуглеводів, що використовуються в отриманні харчових продуктів. Гідрофільність зумовлена наявністю численних ОН-груп. Вони взаємодіють з молекулою води за допомогою водневого зв'язку, призводячи таким чином до сольватації і/або до розчинення цукрів і багатьох їх полімерів. Ефект зв'язування води значною мірою залежить від структури цукру. Наприклад, фруктоза є значно більш гігроскопічною, ніж D-глюкоза, хоча вони мають і однакове число гідроксильних груп. За 100%-вої рівноважної відносної вологості повітря сахароза і мальтоза зв'язують однакову кількість води, в той же час лактоза є набагато менш гігроскопічною. Форми гідратів, що мають міцну кристалічну структуру, у меншій мірі здатні абсорбувати вологу.

Зв'язування ароматичних речовин

Для багатьох харчових продуктів, під час отримання яких

використовуються різні види висушування, вуглеводи є важливим компонентом, що сприяє збереженню кольору і летких ароматичних речовин. Суть цього процесу полягає в заміні взаємодії цукор-вода на взаємодію цукор- ароматична речовина:

Цукор-вода + ароматична речовина → цукор-ароматична речовина + вода

Леткі ароматичні речовини – це численна група карбонільних сполук (альдегіди, кетони), похідні карбонових кислот та ін.

Ефективними фіксаторами аромату і барвникових речовин є великі вуглеводні молекули, наприклад, гуміарабік. Утворюючи плівку навколо цих речовин, він перешкоджає абсорбції вологи і втраті її за рахунок випаровування і хімічного окиснення.

Утворення харчового аромату за теплової обробки

Продукти термічного розкладання цукрів включають піранові і фуранові сполуки, а також фуранони, лактони, етери. Наявність тих або інших ароматичних сполук надає кожному продукту властивого йому аромату.

Солодкість

Відчуття солодкості у роті під час споживання низькомолекулярних вуглеводів характеризує ще одну важливу їх функцію в харчових продуктах. У таблиці 6.5 наведена характеристика відносної солодкості різних вуглеводів в порівнянні з сахарозою (солодкість якої приймається за 100).

Таблиця 6.5 – Відносна солодкість (ВС) різних вуглеводів і деяких штучних підсолоджувачів

Цукор	ВС	Цукор або підсолоджувач	ВС
Сахароза	100	α- D- лактоза	16
β - D- фруктоза	180	β- D- лактоза	32
α - D- глюкоза	74	Ксилоза	40
β- D – глюкоза	82	Сорбіт	63
α - D- галактоза	32	Ксиліт	90
β - D- галактоза	21	Цикламати	500
α - D- маноза	32	Аспартам	180
β- D- маноза	Гірка	Сахарин	500

Утворення структури харчового продукту

Полісахариди виконують важливу функцію – утворення структури харчового продукту – м'якої, твердої, в'язкої, липкої і т. д.

Крохмаль є важливим компонентом харчових продуктів. Найбільш важливе значення для харчових продуктів мають такі властивості крохмалю: клейстеризація, в'язкість клейстеру, желеутворення. У харчовій промисловості знаходять широке застосування модифіковані крохмалі –

етерифіковані (монофосфатні, попереково-зшиті), окислені, модифіковані кислотою, заздалегідь клейстеризовані.

У виробництві харчових продуктів знаходить застосування мікрокристалічна целюлоза, для отримання якої використовують кислотний гідроліз целюлози; натрієва сіль карбоксиметилцелюлози використовується як загусник, стабілізатор емульсій та ін.

Метилцелюлозу отримують дією метилхлориду на целюлозу в лужному середовищі. Вона виконує функцію водоутримуючого і структурованого агента в харчових продуктах, пом'якшувача і стабілізатора емульсій та ін.

Пектин широко застосовується у виробництві харчових продуктів завдяки прекрасним желюючим властивостям (фруктові желе, джеми, інші кондитерські вироби).

ПЕРЕТВОРЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ, ЩО ВІДБУВАЮТЬСЯ ЗА ТЕХНОЛОГІЧНОЇ ПЕРЕРОБКИ СИРОВИНИ

При переробці і зберіганні харчової сировини і продуктів вуглеводи зазнають складних і різноманітних перетворень, в залежності від складу вуглеводного комплексу, температури і pH середовища, вологості, наявності ферментів, присутності в продуктах інших компонентів, що взаємодіють з вуглеводами (білків, ліпідів, органічних кислот та ін.).

Основними процесами, що відбуваються у вуглеводах за різних видів технологічної обробки і зберігання харчових продуктів, є наступні:

– кислотний і ферментативний гідроліз ди- і полісахаридів;
– реакції дегідратації вуглеводів;
– меланоїдиноутворення;
– карамелізація.

Гідроліз ди- і полісахаридів

Гідроліз ди- і полісахаридів – найбільш поширений процес, що відбувається в харчових продуктах за теплової і холодильної обробки, а також під час зберігання картоплі, плодів і овочів в замороженому і охолодженому стані.

В процесі нагрівання дисахариди (сахароза, мальтоза, лактоза) під дією кислот або у присутності ферментів розпадаються на моносахариди. Сахароза у водних розчинах під впливом кислот приєднує молекулу води і гідролізується на рівну кількість глюкози і фруктози, що обертають площину поляризації вліво, а не управо, як сахароза. Таке перетворення називається інверсією, а еквімолекулярна суміш глюкози і фруктози (інвертним цукром, який має солодший смак, ніж сахароза.

Полісахариди за нагрівання під дією кислот або у присутності ферментів також піддаються гідролізу з утворенням низькомолекулярних сполук, що

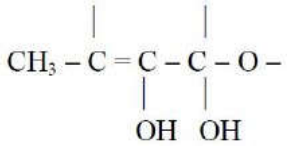
беруть участь в обмінних процесах.

З високомолекулярних полісахаридів істотним змінам піддаються крохмаль і пектинові речовини.

Меланоїдиноутворення

Під меланоїдиноутворенням (МУ або реакція Майяра) розуміють взаємодію відновлюючих цукрів (моносахариди і дисахариди), таких, що містяться в продукті і таких, що утворюються під час гідролізу більш складних вуглеводів з амінокислотами, пептидами і білками. При цьому утворюються темнозабарвлені продукти.

Загальною для структурних сполук, що утворюються в результаті реакції Майяра, є група



Сполуки, що містять цю групу, виявлені в обсмажених харчових продуктах (хліб, кава, какао, солод), в яких під впливом високих температур відбувається неферментативне потемніння (продукти потемніння – піразани).

Продукти реакції МУ по різному впливають на органолептичні властивості готових виробів: помітно покращують зовнішній вигляд смаженого або тушкованого м'яса, котлет, але погіршують смак, колір і запах м'ясних екстрактів, бульйонних кубиків й інших концентратів. Потемніння фруктових соків в процесі зберігання, зміна зовнішнього вигляду, смаку і запаху готових м'ясних продуктів також пов'язані з реакцією МУ.

За меланоїдиноутворення знижується харчова цінність одержуваних продуктів в результаті сполучення білків, вітамінів, амінокислот в комплексні сполуки.

Карамелізація

У харчовій промисловості особливе значення має карамелізація сахарози, глюкози і фруктози. Нагрівання моно- і дисахарів за температури 100°С і вище призводить до зміни їх хімічного складу, кольору, збільшення вмісту зредукованих речовин. Особливо чутливою до нагрівання є фруктоза, її карамелізація проходить в 6...7 разів швидше, ніж глюкози. Сахароза за нагрівання в ході технологічного процесу в слабокислому або нейтральному середовищі піддається частковій інверсії з утворенням глюкози і фруктози. Ці моносахариди піддаються подальшим перетворенням. Наприклад, від молекули глюкози можуть відщепитися молекули води (дегідратація), а продукти, що утворилися, з'єднатися один з одним або з молекулою сахарози. За подальшої дегідратації утворюється оксиметилфурфурол, в подальших перетвореннях якого руйнується вуглецевий скелет і накопичуються продукти деструкції –

мурашина і левулінова кислоти (рисунок 6.3).

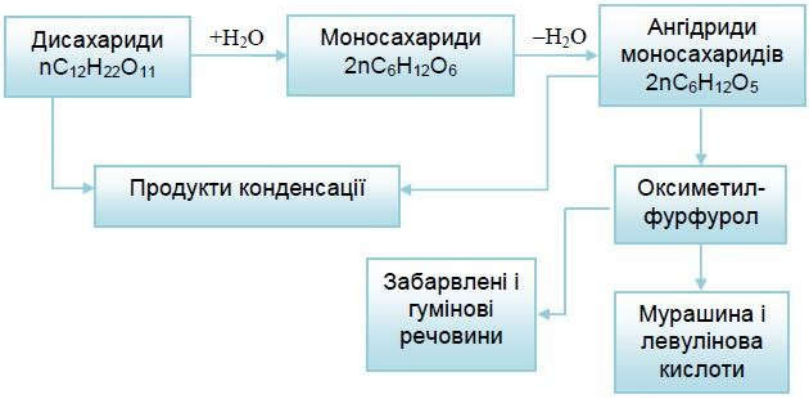


Рисунок 6.3 – Схема перетворення цукрів за нагрівання

У виготовленні кондитерських виробів, наприклад карамелі, температурним впливам піддаються висококонцентровані розчини цукрів (до 80%), тому основними продуктами карамелізації є ангідриди і продукти їх конденсації.

Процеси бродіння

Бродіння – це процес розщеплення моносахаридів в результаті дії мікроорганізмів. Бродіння за участі вуглеводів використовується у ряді харчових технологій: у приготуванні тіста для хліба, у виробництві пива, квасу, спирту, вина й інших продуктів. Розрізняють спиртове, молочнокисле, маслянокисле і лимоннокисле бродіння

МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Визначення масової частки моно- і олігосахаридів

Для визначення цих вуглеводів використовують їх відновлювальну здатність. Спочатку їх вилучають з харчових продуктів 80%-ним етиловим спиртом. Спиртові екстракти упарюють під вакуумом, розбавляють гарячою водою і фільтрують. В процесі аналізу продуктів, відносно багатих білками і фенольними сполуками, фільтрат додатково обробляють нейтральним розчином ацетату свинцю, надлишок якого видаляють сульфатом, фосфатом або оксалатом натрію. Осад фільтрують, а у фільтраті визначають відновлювальні (редукуючі) цукри з використанням гексаціаноферату (III) калію, Фелінгової рідини або йодометричним методом. Для визначення сахарози (разом з редукуючими цукрами) її необхідно заздалегідь гідролізувати.

Якісний і кількісний аналіз окремих цукрів проводять методами газорідинної, іонообмінної або рідинної хроматографії високого розділення. Кількісні визначення цукрів проводять також методом йонометрії з використанням ферментних електродів, що мають виключно високу селективність до певних цукрів.

Визначення масової частки засвоюваних полісахаридів

Визначення крохмалю засноване, як правило, на визначенні отриманої в ході гідролізу глюкози за допомогою хімічних методів або фізичних (за здатністю отриманих розчинів обертати площину поляризації). Для визначення крохмалю необхідно заздалегідь звільнитися від моно- і олігосахаридів екстракцією 80%-ним етанолом. Потім проводять виділення крохмалю з продукту будь-яким із відомих способів, наприклад, розчиненням спочатку в холодній, потім в гарячій воді. Після чого звільняються від білків шляхом обробки розчину фосфорно-вольфрамовою кислотою, ацетатом цинку, гексаціанофератом(III)калію або іншими білковими осаджувачами.

Визначення крохмалю проводять, як правило, шляхом визначення глюкози після ферментативного або кислотного гідролізу. Для розрахунку використовують відповідні коефіцієнти. Можна застосовувати метод поляриметрії.

Для визначення декстринів їх вилучають теплою (40°С) водою і осаджують 96%-ним етанолом, проводять гідроліз і визначають глюкозу. Для розрахунку використовують відповідні коефіцієнти. Можна використати метод спектрофотометрії, вимірюючи інтенсивність забарвлення йод-крохмального комплексу.

Визначення масової частки незасвоюваних полісахаридів

Загальний вміст харчових волокон (лігнін і незасвоювані вуглеводи) зазвичай визначають гравіметричним методом. Аналіз полягає у використанні фракціонування – спочатку розчиняють крохмаль і білки за допомогою ферментів, що імітують розщеплювання їх в шлунково-кишковому тракті людини (α-амілаза, пепсин, панкреатин), розчинні харчові волокна осаджують спиртом, фільтрують, осад зважують.

Визначення пектину ґрунтується на його вилучення (розчинного пектину і протопектину) з харчового продукту, осадженні і зважуванні. Для вилучення розчинного пектину застосовують екстракцію холодною водою з подальшим кип'ятінням. Для вилучення протопектину застосовують кип'ятіння з соляною кислотою після вилучення розчинного пектину. Для продуктів, багатих крохмалем, застосовують спеціальні прийоми його відділення. Для осадження пектину проводять реакцію з хлоридом кальцію. Окрім зважування можна визначати вміст кальцію в осаді комплексонометричним методом з трилоном Б і за цими даними розраховувати вміст пектину.

Визначення геміцелюлоз ґрунтується на визначенні відновлювальних цукрів, отриманих в результаті кислотного або лужного гідролізу. Геміцелюлози гідролізуються важче, ніж пектин, тому їх визначають після видалення пектинів. Для розрахунку використовуються відповідні коефіцієнти.

Метод визначення клітковини заснований на проведенні гідролізу легкорозчинних вуглеводів за відповідних умов і отримання негідролізованого залишку, який зважують.

Експериментальна частина

Визначення масової частки сахарози у хлібобулочних виробах йодометричним методом

В промисловості сахарозу отримують з цукрової тростини та цукрового буряку, що містять відповідно 12…15% та 15…22% даного вуглеводу. Часто сахарозу називають тростинним або буряковим цукром.

У виробництві кондитерських та хлібобулочних виробів може використовуватись як звичайний цукор, так і продукт його гідролізу, який називається інвертним цукром. Інверсія (гідроліз) сахарози може мати ферментативний та кислотний характер. Ферментативний гідроліз відбувається під дією ферменту β-фруктофуранозидази (сахараза), а кислотний – під дією кислот. Продуктом гідролізу сахарози є суміш глюкози та фруктози.

Перевагами використання інвертного цукру у харчовому виробництві є:

– зменшення витрат цукру, оскільки фруктоза в 1,8 разів солодша, ніж сахароза;

– підвищення засвоюваності вуглеводів (серед вуглеводів найкраще засвоюються моносахариди);

– збільшення терміну зберігання борошняних кондитерських та хлібобулочних виробів (редукуючі моносахариди добре зв'язують вологу та запобігають швидкому черствінню).

Масову частку сахарози у продуктах визначають з метою розрахунку їх енергетичної цінності, а також для перевірки правильності закладки сировини у виробництві солодких страв, хлібобулочних та кондитерських виробів.

Визначення масової частки цукру (ГОСТ 5672-68). Цей ГОСТ передбачає декілька методів визначення в хлібі і хлібобулочних виробах масової частки цукру: перманганатний (застосовується у разі виникнення суперечностей в оцінці якості – арбітраж), прискорений йодометричним і прискорений гарячого титрування.

Порядок проведення аналізу незалежно від методу визначення цукру складається із наступних основних стадій: приготування водної витяжки; гідроліз сахарози в отриманій витяжці і кількісне визначення цукру за його відновними властивостями.

Прилади, обладнання, матеріали: зразки хлібобулочних виробів, технічні ваги, воронка, мірні колби місткістю 100 см^3, 200 см^3, 250 см^3, конічна колба місткістю 250 см^3, піпетки місткістю 2 см^3, 5 см^3, 10 см^3, 20 см^3, 50 см^3, фільтрувальний папір, водяна баня, годинник, сушильна шафа СЕШ-3,

ексикатор, бюкси алюмінієві, термометр.

Реактиви: дистильована вода, 15 %-й розчин сульфату цинку, 4 %-й розчин гідроксиду натрію (або 5,6 %-й розчин гідроксиду калію), 20 %-й розчин соляної кислоти, індикатор метиловий червоний, 10%-ний розчин гідроксиду натрію, реактив Фелінга I[9] (6,925 %-ний розчин купрум(II)сульфату), реактив Фелінга II (34,6%-ний розчин сегнетової солі в 10%-ному NaOH), 30 %-ний розчин йодиду калію, 25%-й розчин сірчаної кислоти, 0,1 н розчин тіосульфату натрію, 1%-й розчин крохмалю.

Підготовка зразка до аналізу

Відбирають проби за ГОСТ 5667-65, ГОСТ 7128-81 і ГОСТ 8494-73.

Із лабораторного зразка, відібраного для загального аналізу, виділяють не менше 300 г продукту.

У виробах, у яких м'якуш відокремлений і легко відділяється від скоринки, наприклад булки, здоба (за виключенням виробів із пластинчастого тіста) аналізують лише м'якуш цих виробів. В решті виробах (бублики, сухарі і т. п.) аналізують весь зразок (зі скоринкою).

Із виробів видаляють всі включення (повидло, варення, родзинки і т. п.) і поверхневу відробку (посипку цукром, маком і т. д.), ретельно подрібнюють, перемішують і поміщають в банку з притертою пробкою.

У зразку визначають масову частку вологи (ГОСТ 21094-75) висушуванням в СЕШ за температури 130ºС протягом 40 хв.

Приготування водної витяжки.

Наважку продукту, зважену на технічних вагах з точністю до 0,05 г переносять в мірну колбу на 200 або 250 см^3. Наважку продукту беруть з таким розрахунком, що концентрація цукру в розчині була приблизно 0,5%. Для зручності розрахунку можна скористатися таблицею 6.6.

Таблиця 6.6 – Визначення маси наважки хлібобулочних виробі в залежності від очікуваного вмісту сахарози

Очікувана масова частка цукру (% до сухих речовин)	Маса м'якуша, що вноситься у мірну колбу місткістю, см^3	
	200	250
2…5	25	30
6…10	12,5	15
11…15	8	10
16…20	6	7

[9] Реактив Фелінга I: 7 г $CuSO_4$ в 100 см^3 дист. H_2O. Реактив Фелінга II: 37 г сегнетової солі і 10 г NaOH в 100 см^3 дист. H_2O.

Потім в колбу з наважкою наливають на 2/3 її місткості воду і витримують протягом 5 хв. за частого струшування для кращого вилучення цукру. Для осадження високомолекулярних сполук (нецукрів) в колбу наливають 10 $см^3$ 15%-ного розчину сульфату цинку і 10 $см^3$ 4%-ного розчину гідроксиду натрію (або 5,6%-ного гідроксиду калію), добре перемішують і дають відстоятись 15 хв. Рідину, що залишилась фільтрують через складчастий фільтр в суху колбу. Послідовність виконання досліду наведена на рисунку 6.4.

В отриманому фільтраті містяться як відновні цукри (редукуючі – глюкоза, мальтоза, фруктоза та ін.), так і невідновний – сахароза, яка в тісті, не встигає гідролізуватися β-фруктофуранозидазою дріжджів до відновних цукрів. Оскільки більшість існуючих методів дозволяє визначити вміст сахарози тільки після її гідролізу до редукуючих цукрів (інверсного цукру), то в отриманій витяжці необхідно перетворити цей дисахарид в інверсний цукор. В підсумку визначається сумарний вміст всіх цукрів (загальний цукор).

Рисунок 6.4 – Приготування водної витяжки

Гідроліз сахарози

В мірну колбу на 100 $см^3$ вносять піпеткою 50 $см^3$фільтрату і добавляють до нього 5 $см^3$ 20%-ного розчину соляної кислоти (для отримання в розчині 2%-ного кислого середовища). Колбу ставлять на нагріту водяну баню (до 70ºС) і витримують за цієї температури 8 хв. Потім швидко охолоджують до кімнатної температури і нейтралізують за інтенсивного перемішування 10%-ним розчином гідроксиду натрію або калію (допускається використання безводного карбонату або гідрокарбонату натрію) з індикатором метиловим червоним до появи жовто-малинового забарвлення. Так як в лужному середовищі моносахариди можуть розкладатися (особливо фруктоза), то нейтралізацію необхідно проводити повільно не допускаючи появи жовтого забарвлення. Після нейтралізації доводять об’єм рідини в колбі до мітки дистильованою водою і перемішують. Отриманий розчин використовують для визначення в ньому масової частки цукру. Послідовність виконання досліду наведена на рисунку 6.5.

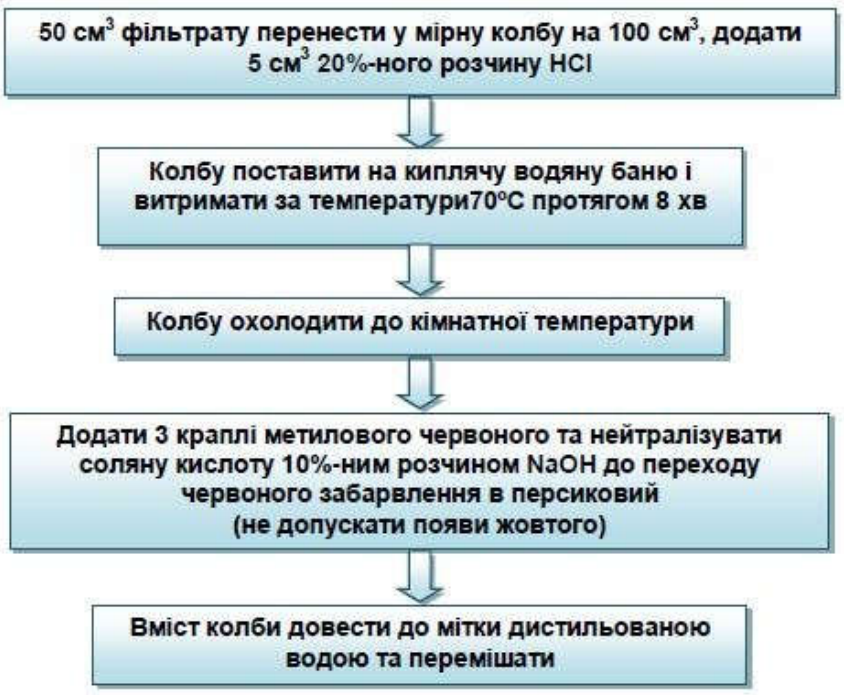


Рисунок 6.5 – Схема послідовності дій проведення гідролізу сахарози

Визначення масової частки цукру

Прискорений йодометричний метод визначення масової частки цукру (метод Шорля) відрізняється простотою, високою точністю визначення і можливістю визначення вмісту цукру в досить широких межах концентрації (від 0,3 до 88,2 мг в 30 см^3 розчину).

Принцип методу полягає в наступному. Під час кип'ятіння точної кількості рідини Фелінга з досліджуваним розчином, що містить відновні цукри, останні відновлюють йони двовалентного Купруму (Cu^{2+}) до купрум(I)оксиду за схемою

$$Cu^{2+} + 1\bar{e} \rightarrow Cu^{+}$$

Потім на двовалентну мідь, що залишилася, діють KI. В цьому разі іон йоду окиснюється, а двовалентна мідь відновлюється:

$$2Cu^{2+} + 2KJ \rightarrow 2Cu^{+} + J_2 + 2K^{+}$$

Молекулярний йод, що виділяється, титрують розчином тіосульфату натрію:

$$J_2 + 2S_2O_3^{2-} \rightarrow 2J + S_4O_6^{2-}.$$

Для визначення кількості двовалентного Купруму, що відновився цукром, проводять контрольний дослід, в якому замість досліджуваного розчину, що містить цукор, беруть дистильовану воду. Визначають кількість тіосульфату натрію, еквівалентну усій кількості двовалентного Купруму, що приймав участь у досліді. Для цього визначають різницю об'ємів тіосульфату натрію, витраченого на титрування I_2 в контрольному і досліджуваному розчині. За знайденою величиною (різницею двох об'ємів), вираженою в см^3 0,1 н розчину

тіосульфату натрію за таблицею 6.7 знаходять еквівалентну кількість цукру у певному об'ємі досліджуваного розчину.

Техніка визначення – в конічну колбу на 200...300 $см^3$ вносять піпеткою 30$см^3$ досліджуваного розчину і додають піпеткою бо з бюретки 10 $см^3$ 6,925%-ного розчину купрум(II)сульфату і 10 $см^3$ лужного розчину сегнетової солі (калій-натрій тартрат), доводять суміш протягом 2 хв. до кипіння, кип'ятять рівно 2 хв., швидко охолоджують до кімнатної температури, додають 3 г калій йодиду, розчиненого в 10 $см^3$ дистильованої води,10 $см^3$ 25%-ної сірчаної кислоти і відразу титрують 0,1 н розчином тіосульфату натрію до світло- жовтого забарвлення. Потім додають 2 $см^3$ індикатору (1%-ний розчин крохмалю) і продовжують титрувати до зникнення синього забарвлення. Аналогічно проводять контрольний дослід, в якому замість 30 $см^3$ досліджуваного розчину беруть таку ж кількість дистильованої води. Різницю між об'ємом витраченого на титрування $Na_2S_2O_3$ в контрольному досліді (V_1) і об'ємом в досліді з витяжкою цукру (V_2) множать на поправку до титру розчину тіосульфату натрію. За даною величиною визначають еквівалентну кількість $Na_2S_2O_3$, яка дорівнює еквівалентній кількості відновлених Cu^{2+}-йонів. Послідовність виконання досліду наведена на рисунку 6.6.

За таблицею 6.7 знаходять кількість мг сахарози у 30 $см^3$ досліджуваного розчину.

Таблиця 6.7 - Кількість мг сахарози, що міститься у 30 $см^3$ витяжки

Різниця об'ємів розч. $Na_2S_2O_3$ в контрольному та основному досліді	Вміст сахарози, мг									
	Десяті частки									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	0,0	0,3	0,6	0,9	1,2	1,6	1,9	2,2	2,5	2,8
1	3,1	3,4	3,7	4,0	4,3	4,7	5,0	5,3	5,6	5,9
2	6,2	6,5	6,8	7,1	7,4	7,8	8,1	8,4	8,7	9,0
3	9,3	9,6	9,0	10,2	10,5	10,9	11,2	11,5	11,8	12,1
4	12,4	12,7	13,0	13,4	13,7	14,0	14,3	14,6	15,0	15,3
5	15,6	15,9	16,2	16,6	16,9	17,2	17,5	17,8	18,2	18,5
6	18,8	19,1	19,4	19,8	20,1	20,4	20,7	21,0	21,4	21,7
7	22,0	22,3	22,6	23,0	23,3	23,6	23,9	24,2	24,6	24,9
8	25,2	25,5	25,8	26,2	26,5	26,8	27,1	27,4	27,8	28,1
9	28,4	28,7	29,0	29,4	29,7	30,0	30,4	30,7	31,0	31,3
10	31,7	32,0	32,3	32,7	33,0	33,3	33,7	34,0	34,3	34,6
11	35,0	35,3	35,6	36,0	36,3	36,6	37,0	37,3	37,6	37,9
12	38,3	38,6	28,9	39,3	39,6	39,9	40,3	40,6	40,9	41,2
13	41,6	41,9	42,2	42,6	42,9	43,2	43,6	43,9	44,2	44,5
14	44,9	45,2	45,5	45,9	46,2	46,5	46,9	47,2	47,5	47,8

15	48,2	48,5	48,8	49,2	49,5	49,8	50,2	50,5	50,8	51,2
16	51,6	51,9	52,2	52,6	52,9	53,3	53,6	54,0	54,3	54,7
17	55,1	55,4	55,8	56,1	56,5	56,9	57,2	57,6	57,9	58,3
18	58,7	59,0	59,4	59,7	60,1	60,5	60,8	61,2	61,5	61,8
19	62,3	62,6	63,0	63,3	63,9	64,1	64,4	64,8	65,1	65,5
20	65,9	66,3	66,6	67,0	67,4	67,8	68,1	68,5	68,9	69,2
21	69,6	70,0	70,3	70,7	71,1	71,5	71,8	72,2	72,6	72,9
22	73,3	73,7	74,1	77,4	74,8	75,2	75,6	76,0	76,3	76,7
23	77,1	77,5	77,9	78,2	78,6	79,0	79,4	79,8	80,1	80,5
24	80,9	81,3	81,7	82,0	82,4	82,8	83,2	83,6	83,9	84,3
25	84,7	85,1	85,5	85,9	86,3	86,7	87,0	87,4	87,8	88,2

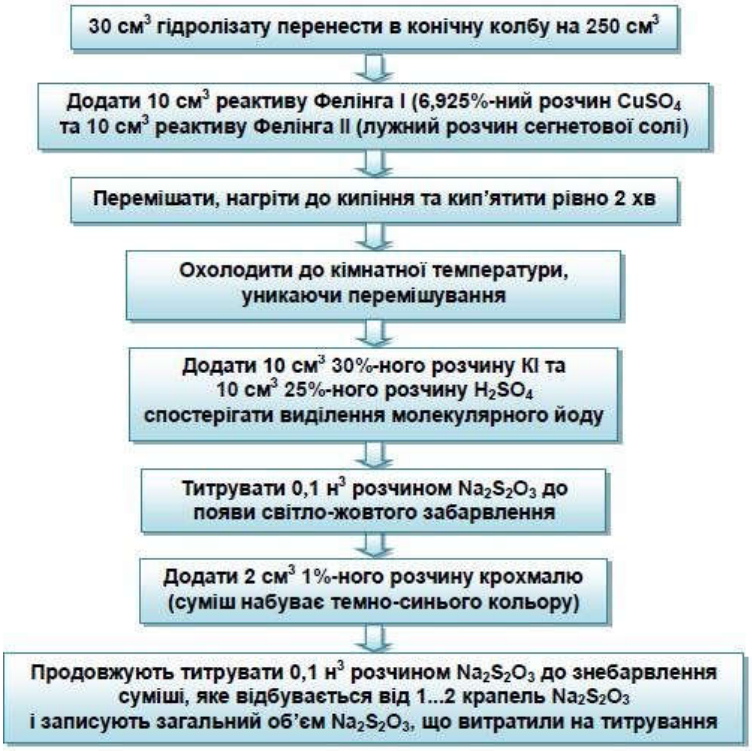


Рисунок 6.6 – Гідроліз сахарози

Масову частку сахарози у % до сухих речовин розраховують з формулою:

$$X = \frac{a \cdot V_к \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot V_р \cdot 50 \cdot 1000} \cdot \frac{100}{100 - W}$$

де a *– кількість сахарози у 30 см³ витяжки, мг;* $V_к$ *– об'єм мірної колби, взятої для приготування водної витяжки, см³, (200 або 250 см³);* m *– маса наважки продукту, г;* $V_р$ *– об'єм розчину гідролізату, який взяли на дослідження, см³, (30 см³);* 50 *– об'єм витяжки, взятий для гідролізу сахарози, см³;* 100 *– об'єм мірної колби, взятої для гідролізу сахарози, см³;* 1000 *– переведення міліграм сахарози у грами;* W *– масова частка вологи в досліджуваному продукті, %.*

Дані спостережень та розрахунків заносять до таблиці 6.8.

Таблиця 6.8 – Результати спостережень та розрахунків для визначення масової частки сахарози йодометричним методом

Назва параметру	Значення
Наважка продукту, m, г	
Об'єм мірної колби $V_к$, $см^3$	
Об'єм 0,1 н розчину $Na_2S_2O_3$, витраченого на титрування контрольного зразка, V_1 , $см^3$	
Об'єм 0,1 н розчину $Na_2S_2O_3$, витраченого на титрування основного досліду, V_2 , $см^3$	
Різниця об'ємів 0,1 н розчину $Na_2S_2O_3$ у контрольному та основному досліді, $V_1 – V_2$, $см^3$	
Кількість сахарози у 30 $см^3$ витяжки за таблицею, а, мг	
Масова частка сахарози в продукті, X,% до сухих речовин	

Результати досліджень зводять в загальну таблицю 6.9 та роблять висновок.

Таблиця 6.9 – Зведена таблиця для визначення масової частки сахарози у хлібобулочних виробах

Зразок продукту	Масова частка сахарози, %		
	Розрахункове значення	Експериментальне значення	Висновок про відповість кількості сахарози рецептурі

Контрольні питання

1. Дайте визначення вуглеводам. Як класифікують вуглеводи за будовою?
2. Які речовини належать до моносахаридів? В яких продуктах вони містяться?
3. Назвіть, які вуглеводи відносяться до олігосахаридів? На які групи вони поділяються?
4. Які фізіологічні функції виконують вуглеводи в організмі людини?
5. Які функції в організмі людини виконують засвоювані і незасвоювані вуглеводи?
6. Як впливає нестача та надлишок вуглеводів у раціоні на організм людини?
7. Які функції виконують вуглеводи в харчових продуктах?
8. Яких перетворень зазнають вуглеводи під час виробництва харчових продуктів і в яких реакціях вони беруть участь?
9. Що таке процес карамелізації?
10. Що називають процесом меланоїдиноутворення? Які чинники впливають на утворення меланоїдинових продуктів?

11. У яких харчових технологіях використовують гідроліз полісахаридів?

12. Які методи визначення вуглеводів ви знаєте?

13. В чому суть йодометричного методу визначення сахарози?

14. Чим зумовлені відновлювальні властивості моно- та дисахаридів? Чому сахароза не проявляє відновних властивостей?

15. З якою метою здійснюють гідроліз сахарози у промисловості та під час визначення масової частки цукру у продуктах?

16. Охарактеризуйте основні етапи визначення масової частки сахарози у хлібобулочних виробах.

17. З якою метою використовують сульфат цинку та гідроксид натрію під час приготування водної витяжки продукту?

18. Чому потрібно визначати вологість продукту під час йодометричного методу визначення сахарози?

Лабораторна робота № 7
Методи визначення масової частки лактози вмолоці

Мета роботи: ознайомитися з йодометричним та рефрактометричним методами визначення масової частки редукуючих цукрів у продуктах, зокрема лактози в молоці; визначити кількість лактози в дослідних зразках молока йодометричним та рефрактометричним методами; порівняти отримані дані з табличними та вказаними виробником на упаковці; зробити висновок щодо точності використаних методів для визначення масової частки лактози в молоці

Теоретичні відомості

ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ХАРЧОВА ЦІННІСТЬ МОЛОКА

Молоко і продукти, що з нього виробляються, завдяки високій поживності, смаковим якостям і гарній засвоюваності є одним із найважливіших джерел живлення. Вони входять в рецептури різноманітних хлібобулочних і кондитерських виробів і широко використовуються у виробництві харчових концентратів, продуктів дитячого і дієтичного харчування.

Молоко коров'яче – полідисперсна система, в якій вода є дисперсійним середовищем. У ній містяться цукор (лактоза) і неорганічні солі в розчиненому стані, білки – в колоїдному, ліпіди – у вигляді емульгованих кульок. Свіже молоко містить також гази 50...70% вуглекислого газу, 20...30% азоту і 5...10% кисню.

Молоко містить 87,5% води. Із 12,5% сухих речовин в середньому 3,5% припадає на жир, 3,2% - на білки, 0,04% – на небілкові азотисті основи, 4,7% – на лактозу, 0,7% – на мінеральні речовини. Крім перерахованих основних компонентів, в молоці містяться вітаміни, ферменти, пігменти (молоко містить вітаміни – B_1, B_2, B_6, B_{12}, PP, C, H, A, D, E; ферменти – природна та мікробна ліпаза, β-галактозидаза або лактаза; природні барвники – пігменти (каротин – забарвлює молоко та молочний жир в помаранчевий колір, рибофлавін або вітамін B_2 – зумовлює жовто-зелене забарвлення молочної сироватки)). Перші 2...2,5 год свіжовидоєне молоко має імунні властивості.

Хімічний склад молока залежить від породи тварин, їх віку, умов утримання, стадії лактації, інших чинників і може бути різним в різних географічних районах (середня смуга, степова зона, передгір'я і т. д.).

Вода в молоці знаходиться у вільному і зв’язаному станах. Більша частина води (84...84,5%) міститься у вільному стані, виконуючи функції розчинника для водорозчинних компонентів – молочного цукру, мінеральних речовин, вітамінів, кислот.

Серед *білків молока* розрізняють чотири фракції: казеїнову (85...87%), лактоальбумінову (11...13%), лактоглобулінову (1,5...1,7%) і протеазо-

пептонову (0,3...0,5%). Основний білок молока казеїн коагулює за pH 4,6...4,7. Білки, що залишаються після відділення казеїну називаються сироватковими.

Молочний жир складається з комплексу складних етерів гліцерину і монокарбонових жирних кислот, фосфоліпідів (лецитину, кефаліну та ін.), стеринів, жиророзчинних вітамінів та ін.

Вуглеводи в молоці представлені на 90% лактозою (молочним цукром) невеликою кількістю глюкози і галактози. Розрізняють α і β-форми лактози остання краще розчиняється у воді. У молоці лактоза міститься в основному (60%) в β-формі. Обидві форми лактози існують в динамічній рівновазі і за певної температури можуть переходити ода в одну.

Лактоза є основним вуглеводом молока. Вона позитивно впливає на організм людини: допомагає засвоєнню кальцію і фосфору їжі, поліпшує склад мікрофлори кишковика завдяки тому, що внаслідок бродіння лактози утворюється молочна кислота, яка подавляє розвиток гнилісних бактерій. Крім того, її компонент галактоза необхідна для побудови нервових і мозкових тканин людини.

Лактоза піддається бродінню після попереднього розщеплення лактазою (β-галактозідазою, яка виділяється молочнокислими бактеріями та деякими дріжджами) на її складові: глюкозу і галактозу.

Організм деяких людей не синтезує достатню кількість β-галактозидази, що порушує засвоєння лактози і призводить до розладів травлення після вживання молока. Лише в цьому разі допускається обмеження частки молочних продуктів у структурі харчування або їх повне виключення з раціону.

Здатність лактози зброджуватися під дією ферментів молочнокислих бактерій лактоза використовується у виробництві кисломолочних продуктів і водночас ця властивість є причиною швидкого псування молока під час зберігання.

Солодкість лактози в 5...6 разів менше сахарози, у вона є розчинною у воді. За тривалого нагрівання молока (вище 90°С) лактоза утворює з вільними азотистими сполуками меланоїдини, що надають молоку кремового відтінку, змінюється смак і знижується його біологічна цінність. Найбільш активно реакція мелаїдиноутворення між лактозою і амінокислотами відбувається під час стерилізації, згущенні і сушці молока.

У молоці міститься декілька *ферментів*: оксидоредуктаза (редуктаза, пероксидаза), гідролази (протеаза, лактаза, амілаза, ліпаза, фосфатаза та ін.) і трансферази. З молока виділені 20 ферментів, більша частина яких потрапляє в молоко з молочної залози. Інші ферменти утворюються в молоці в результаті дії мікрофлори. Редуктаза накопичується в молоці за рахунок розвитку бактерій, тому редуктазна проба використовується для оцінки бактерійною обсіменіння

молока.

Все молоко, що надходить на переробку і в торгівельну мережу, проходить пастерізацію. Середню пробу молока для аналізу відбирають у відповідності до ГОСТу 26809-86. Відділений середній зразок ретельно перемішують. Якщо на стінках пляшки, пробки, пакету залишаються вершки, то їх нагрівають на водяній бані до 30...40ºС, після чого знову перемішують молоко і знову охолоджують до 20ºС.

МЕТОДИ АНАЛІЗУ МОЛОКА

Масову частку лактози в молоці визначають хімічними або фізичними методами. До хімічних відносяться стандартні методи: йодометричний та перманганатометричний. Поляриметричний та рефрактометричний методи відносяться до фізичних методів.

Хімічні методи визначення лактози та інших редукуючих цукрів ґрунтуються на їх відновлювальних властивостях у випадку взаємодії з певним окисником. Так, молекула лактози яка побудована із моносахаридів глюкози та галактози містить один глікозидний гідроксил, тому вона у розчинах перебуває у двох таутомерних формах – циклічній і альдегідній, які зв’язані між собою рухомою рівновагою. У зв’язку з цим лактоза виявляє відновні властивості. Альдегідна група в її молекулі легко окиснюється в карбоксильну і лактоза перетворюється на лактобіонову кислоту. Присутність вільних альдегідних або кетонових груп у складі моно- та дисахаридів зумовлює відновні властивості вуглеводів в окисно-відновних реакціях. Вуглеводи, які в окисно-відновних реакціях можуть виступати відновниками, називаються редукуючими (відновлюючими) цукрами. Таким чином, лактоза є редукуючим дисахаридом.

Таким чином, під час хімічного аналізу, знаючи точну концентрацію розчину окисника, за допомогою індикаторів визначається його кількість, яка вступила в реакцію з розчином редукуючого цукру невідомої концентрації. За відомою кількістю розчину окисника розраховують масову частку вуглеводу в розчині та перераховують її на масу продукту.

Якщо ж одразу використати певну відому кількість розчину окисника в надлишку, то в подальшому визначається не кількість окисника, яка пішла на взаємодію з редукуючим цукром, а залишок окисника після реакції. В цьому випадку поряд з основним проводять так званий контрольний дослід, де замість розчину редукуючого цукру використовують дистильовану воду. Масова частка редукуючого цукру визначається порівнянням результатів контрольного та основного дослідів. Одним із таких способів визначення кількості лактози в молоці стандартом (ГОСТ 8764-73) передбачений йодометричний метод.

Для аналізу молока існують сучасні прилади (рисунок 7.1), які дають змогу визначити основні його параметри за короткий час (від 80 сек і до 2 хв.).

Аналізатор молока ультразвуковий Лактоскан 60 (рис.7.1 а) вимірює % вміст жиру, білку, лактози, сухого знежиреного молочного залишку (СОМО), кислотність, вміст води, густину, температуру молока і точку замерзання, провідність (для визначення солей, мийних та інгібувальних речовин).

Аналізатор молока Клевер-2М (рисунок 7.1 б) призначений для виміру масової частки жиру, білку лактози, мінеральних солей (золи) і густини в молоці і молочних продуктах у відповідності з методикою виконання вимірів, атестованою у встановленому порядку. Додатково аналізатор вимірює або розраховує на основі виміряних даних масову частку сухого молочного залишку, знежиреного молочного залишку, міра гомогенізації і точку замерзання молока, а також відображає температуру проби і розраховує кількість доданої води. Принцип дії аналізатора заснований на тому, що через зразок пропускають ультразвукові коливання і реєструють значення вихідних сигналів в залежності від значень вимірюваних параметрів молочного продукту.

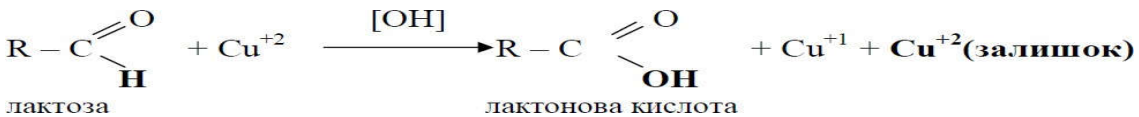
Аналізатор молока LactoStar (рисунок 7.1 в) визначає вміст жиру, білку, сухий знежирений молочний залишок (СОМО), мінеральні солі, точку замерзання. Це аналізатор з автоматичним промиванням і автоматичною установкою нульової точки, тобто щоденні процедури очищення, промивання і установки нуля здійснюються автоматично. LactoStar може містити в пам'яті 20 калібрувань для різних продуктів – різних типів молока, вершків і тому подібне. Можна швидко переходити від однієї калібрування до іншої, не перекалібровувавши прилад.

Аналізатор молока Bentley 150 (рисунок 7.1 г) – це компактний високоточний інструмент для аналізу молока і молочних продуктів, здійснює аналіз компонентів молока, включаючи жир, білок, лактозу, сухі речовини сухий знежирений залишок (СОМО) і воду. Продуктивність – 150 аналізів за годину. Має можливість аналізу не лише сирого молока але і пастеризованого, а також молочних продуктів (вершки, йогурт, сметана. Нині з використанням цього приладу розроблений новий Національний стандарт за визначенням жиру, білку, лактози, СОМО методом інфрачервоній спектрометрії.

Експериментальна частина

Визначення масової частки лактози в молоці йодометричним методом

Визначення масової частки лактози прискореним йодометричним методом. Принцип методу полягає в наступному. Під час взаємодії точної кількості рідини Фелінга (розчин $CuSO_4$) з досліджуваним розчином, що містить лактозу, остання відновлює двовалентний Купрум за схемою:



а

б

в

г

а – аналізатор молока ультразвуковий Лактоскан 60; б – аналізатор молока Клевер-2М; в – аналізатор молока LactoStar ; г – аналізатор молока Bentley 150

Рисунок 7.1 – Сучасні прилади для аналізу молока й молочних продуктів

На решту двовалентного Купруму діють розчином КІ (I_2 в КОН), в результаті чого йон Йоду окиснюється, а двовалентний Купрум відновлюється:

$2Cu^{2+}$(залишок) + 2KJ □ $2Cu^{+} + J_2 + 2K^{+}$

Молекулярний йод, який виділився титрують розчином тіосульфату натрію:

$$J_2 + 2S_2O_3^{2-} \square 2J + S^4O^{6^{2-}}.$$

Для визначення кількості Cu^{2+}-йонів, що відновився лактозою, проводять контрольний дослід, в якому замість досліджуваного розчину, що містить лактозу, беруть дистильовану воду. Визначають різницю об'ємів тіосульфату натрію, витраченого на титрування I_2 в контрольному і досліджуваному розчині. За знайденою різницею об'ємів роблять висновок про кількість відновлених лактозою Cu^{2+}-йонів, знайшовши еквівалентну кількість молів $Na_2S_2O_3$.

Під час йодометричного методу визначення лактози використовується велика кількість послідовних операцій, тому слід ретельно ознайомитися з ходом виконання роботи та уважно читати написи на склянках з реактивами перед їх використанням.

Прилади, обладнання, матеріали*:* молоко, технічні ваги, годинник, мірна колба місткістю 500 $см^3$, дистильована вода, бюретка, піпетки місткістю 5 $см^3$, 10 $см^3$, 25 $см^3$, 50 $см^3$, фільтрувальний папір, воронка, конічна колба

місткістю 250…300 см^3 , пробка, циліндр місткістю 10 см^3 ,

Реактиви: розчин Фелінга I[10], 1 н розчин гідроксиду калію (або натрію), 0,1 н розчин йоду, 0,1 н розчин гідроксиду калію (або натрію), 0,5 н розчин соляної кислоти, 0,1 н розчин тіосульфату натрію, 1%-ний розчин крохмалю.

Техніка визначення (послідовність дій наведена на схемі рисунку 7.2) – зважують наважку молока, масою 25 г з точністю до 0,01 г або відмірюють піпеткою 25 мл і розраховують масу множенням об'єму взятого молока на його густину. Молоко переносять в мірну колбу місткістю 500 см^3, додають дистильовану воду до половину об'єму, із бюреток відмірюють 10 см^3 розчину Фелінга I і 4см^3 1 н розчину КОН перемішують після додавання води і реактивів.

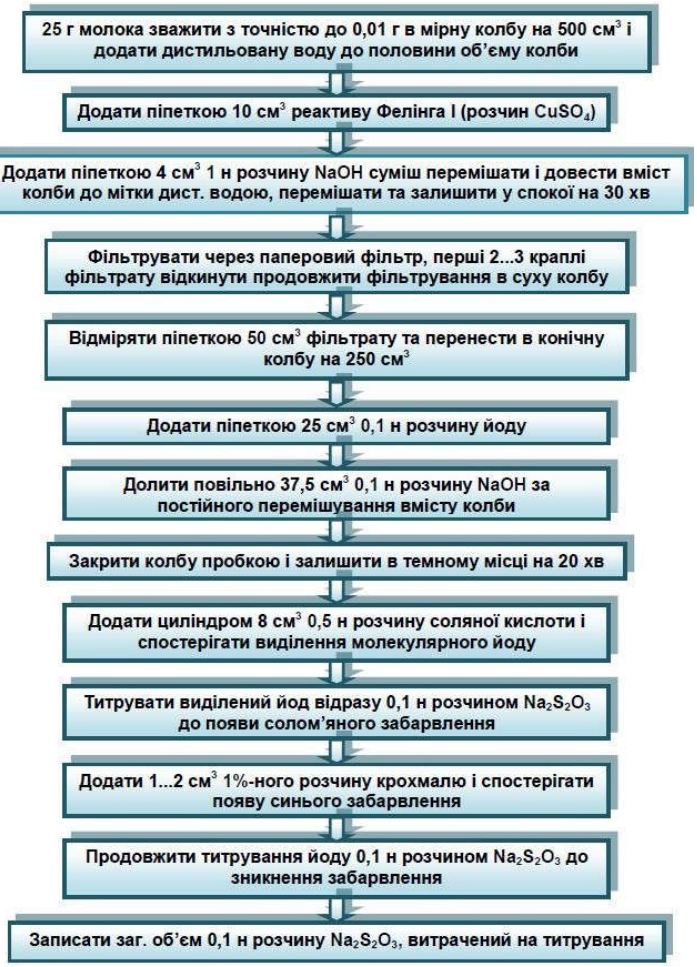


Рисунок 7.2 – Схема визначення масової частки лактози в молоці

Доводять вміст до мітки дистильованою водою, знову перемішують і залишають у спокої на 30 хв. Відстояну рідину фільтрують в суху колбу через складчастий паперовий фільтр. Перші порції фільтрату 10...20 см^3 видаляють. 50 см^3 фільтрату переносять піпеткою в конічну колбу місткістю 250...300 см^3 з притертою пробкою.

[10] Розчин Фелінга I: наважку перекристалізованого, що не містить Феруму, сульфату купруму масою 69,26 г розчиняють у дистильованій воді в мірній колбі місткістю 1 дм ^{3} , доводять об'єм до мітки та перемішують.

Додають із бюретки 25 см^3 0,1 н розчину йоду і повільно за постійного перемішування додають із бюретки 37,5 см^3 0,1 н розчину гідроксиду натрію. Закривають колбу пробкою і залишають її в темному місці на 20 хв. за температури 20ºС. Далі вносять циліндром 8 см^3 0,5 н розчину соляної кислоти і титрують йод, що виділився 0,1 н розчином тіосульфату натрію. Індикатор – 1%-ний розчин крохмалю – вносять під кінець титрування, коли забарвлення в реакційній колбі набуде солом'яного кольору. Титрування продовжують до моменту зникнення синього забарвлення. Паралельно проводять контрольний дослід, відмірюють в колбу 50 см^3 дистильованої води (замість фільтрату), і проводять експеримент в тій же послідовності і з тими ж реактивами, що і в основному досліді.

Масову частку лактози L (%) розраховують за формулою:

$$L = \frac{0{,}01801 \cdot (V_1 - V) \cdot 100 \cdot 0{,}97}{m},$$

де 0,01801 – кількість лактози, що відповідає 1 см^3 0,1 н розчину йоду, г; V_1 – кількість 0,1 н розчину $Na_2S_2O_3$, яку витратили на титрування йоду в контрольному досліді, см^3; V – кількість 0,1 н розчину $Na_2S_2O_3$, яку витратили на титрування надлишку йоду у фільтраті, см^3; 0,97 – поправка, встановлена емпірично; m – маса молока в 50 см^3 фільтрату, г.

Якщо на дослідження було взято точно 25 г молока, то масову частку лактози можна розрахувати спрощено за такою формулою:

$$L = 0{,}699 \cdot (V_1 - V)$$

Дані спостережень та розрахунків заносять до таблиці 7.1.

Таблиця 7.1 – Результати спостережень та розрахунків для визначення масової частки лактози в молоці йодометричним методом

Параметр	Значення
Кількість 0,1 н розчину $Na_2S_2O_3$, яку витратили на титрування йоду в контрольному досліді V_1, см^3	
Кількість 0,1 н розчину $Na_2S_2O_3$, яку витратили на титрування надлишку йоду в фільтраті V, см^3	
Маса молока в 50 см^3 фільтрату m, г	
Масова частка лактози в молоці, %	

Визначення масової частки лактози в молоці рефрактометричним методом

Рефрактометричний метод відрізняється простотою і швидкістю визначення, але поступається хімічним методам за точністю. У відповідності до цього методу про вміст лактози роблять висновок за величиною показника заломлення безбілкової фракції молока, отриманої осадженням білків розчином хлориду кальцію під час кип'ятіння і відділенням осаду фільтрацією. З таблиці

7.2 за показником заломлення сироватки визначаємо вміст лактози в молоці. Послідовність дій наведена на схемі рисунку 7.3.

Прилади, обладнання, матеріали: піпетка місткістю5 $см^3$, пробірка, годинник, водяна баня, фільтрувальний папір, воронка, рефрактометр ИРФ-454Б2М.

Реактиви: молоко, 4%-й розчин хлориду кальцію

Рисунок 7.3 – Схема визначення масової частки лактози в молоці рефрактометричним методом

Таблиця 7.2 – Залежність показника заломлення безбілкової фракції молока від вмісту лактози в молоці (%)

Показник заломлення	Масова частка лактози, %	Показник заломлення	Масова частка лактози, %
1,3390	3,01	1,3412	4,08
1,3391	3,06	1,3413	4,13
1,3392	3,11	1,3414	4,18
1,3393	3,16	1,3415	4,23
1,3394	3,21	1,3416	4,28
1,3395	3,26	1,3417	4,33
1,3396	3,31	1,3418	4,38
1,3397	3,36	1,3419	4,44
1,3398	3,42	1,3420	4,49
1,3399	3,47	1,3421	4,54
1,3400	3,52	1,3422	4,59

1,3401	3,57	1,3423	4,64
1,3402	3,62	1,3424	4,69
1,3403	3,67	1,3425	4,74
1,3404	3,70	1,3426	4,79
1,3405	3,72	1,3427	4,84
1,3406	3,77	1,3428	4,89
1,3407	3,82	1,3429	4,95
1,3408	3,87	1,3430	5,00
1,3409	3,93	1,3431	5,05
1,3410	3,98	1,3432	5,10
1,3411	4,03	1,3433	5,15
		1,3434	5,20

Дані спостережень та розрахунків заносять до таблиці 7.3.

Таблиця 7.3 – Результати спостережень та розрахунків для визначення масової частки лактози в молоці рефрактометричним методом

Назва параметру	Значення
Показник заломлення безбілкової фракції молока n_D^{20}	
Масова частка лактози в молоці, %	

Результати досліджень зводять в загальну таблицю 7.4 та роблять висновок.

Таблиця 7.4 – Зведена таблиця для визначення масової частки лактози в молоці

Зразок молока	Масова частка лактози, %			
	Йодометричним методом	Рефрактометричним методом	Табличне значення	Інформація виробника на упаковці

Контрольні питання

1. Які речовини входять до складу молока? Яке значення вони мають для організму?

2. Яку роль виконує лактоза в організмі людини та у виробництві молочних продуктів?

3. До якого класу вуглеводів відноситься лактоза? Наведіть приклади інших подібних речовин.

4. Яке молоко містить більше лактози: незбиране, пастеризоване чи пряжене? Чому?

5. З якого молока найкраще засвоюються білки: незбираного, пастеризованого чи пряженого? Чому?

6. Скільки лактози міститься в молоці та якими методами визначається її кількість?

7. Яка особливість лактози дає змогу визначити її кількість йодометричним методом?

8. Охарактеризуйте йодометричний метод визначення вмісту лактози в молоці.

9. Чому не використовуються перші 10…20 $см^3$ фільтрату під час визначення вмісту лактози йодометричним методом?

10. В чому полягає рефрактометричний метод визначення масової частки лактози в молоці? Вкажіть його переваги та недоліки.

Лабораторна робота № 8

Методи визначення масової частки аскорбінової кислоти в харчових продуктах та сировині

Мета роботи: освоїти титриметричний метод визначення вітаміну С в харчових продуктах; встановити кількість мг вітаміну С в 100 г досліджуваних зразків продуктів (свіжі овочі, фрукти, соки та напої); порівняти отримані значення з добовою потребою в аскорбіновій кислоті

Теоретичні відомості

КЛАСИФІКАЦІЯ ВІТАМІНІВ

Вітаміни – низькомолекулярні органічні сполуки різноманітної хімічної природи, що не синтезуються (чи такі, що синтезуються в недостатній кількості) в організмі людини і більшості тварин, які надходять з їжею і є необхідними для каталітичної активності ферментів, що визначають біохімічні і фізіологічні процеси в живому організмі. Вітаміни відносяться до незамінних мікрокомпонентів їжі, на відміну від макрокомпонентів – білків, ліпідів і вуглеводів.

Вітаміни поділяють на водо- і жиророзчинні.

До водорозчинних вітамінів відносять вітаміни С, групи В, РР і вітамін Н, до жиророзчинних - вітаміни А, D, Е і К.

Виділяють також групу вітаміноподібних сполук, до яких відносять біофлавоноїди (вітамін Р), холін, інозит, вітамін U, карнитин, оротова (вітамін B_{13}), пангамова (вітамін B_{15}) і параамінобензойна кислоти, вітамін F.

ЗАБЕЗПЕЧЕНІСТЬ ОРГАНІЗМУ ВІТАМІНАМИ

Потреба людини у вітамінах залежить від його віку, стану здоров'я, характеру діяльності, пори року, змісту в їжі основних макрокомпонентів живлення.

Розрізняють три ступеня забезпеченості організму вітамінами :

– авітаміноз – повна відсутність вітамінів;

– гіповітаміноз – нестача вітамінів, іноді відсутність якого-небудь одного або декількох вітамінів;

– гіпервітаміноз – надмірний вміст вітамінів.

Частіше трапляються випадки гіповітамінозу, особливо в зимовий і весняний періоди.

Причини, що ведуть до зниження вмісту вітамінів наступні :

– виробництво продуктів харчування, призначених для тривалого зберігання;

– схильність до продуктів що практично не містять вітамінів (наприклад, білий хліб, солодощі);

– незбалансоване харчування;
– зловживання дієтами;
– зловживання палінням і прийомом алкоголю;
– залежність від додаткових навантажень на роботі і в транспорті;
– збільшення числа стресових ситуацій.

Авітамінози є причиною серйозних захворювань, іноді зі смертельними наслідками.

Випадки гіпервітамінозу трапляються рідко, а потенційна токсичність надлишку в організмі жиророзчинних і водорозчинних вітамінів є різною. Жиророзчинні вітаміни здатні накопичуватися в жировій тканині організму. Їх підвищена кількість в результаті надмірного споживання окремих продуктів або додаткового прийому вітамінних препаратів може призвести до появи симптомів токсичної дії. Підвищений прийом водорозчинних вітамінів призводить зростання виділення надлишку з організму – в організмі вони не накопичуються. Проте за великого передозування і водорозчинні вітаміни можуть бути небезпечні для організму. Особливо це відноситься до ніацину (РР), за надлишку якого можливе ураження печінки, а передозування вітаміну B_6 супроводжується порушенням функцій нервової системи. Норми споживання вітамінів наводяться в нормативних документах, зокрема в такому документі як "Норми фізіологічних потреб населення України в основних харчових речовинах та енергії".

Вітаміни за своїм складом і спрямованістю дії значно відрізняються один від одного. Виділяють 13 вітамінів, які мають велике значення для збагачення продуктів харчування. У виробництві продуктів, природні вітаміни руйнуються, тому необхідно поповнювати їх кількість шляхом збагачення. У ряді країн існує спеціальне законодавство з застосування вітамінів для збагачення продуктів харчування.

Прийнято вважати, що необхідно вітамінізувати наступні групи продуктів харчування: борошно для хлібопекарської промисловості; шліфований рис для приготування відповідних виробів; продукти дитячого харчування; молочні продукти і маргарин.

ВПЛИВ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ ОБРОБКИ СПОСОБІВ ТА ТЕРМІНІВ ЗБЕРІГАННЯ НА ВІТАМІНИ

Умови і тривалість зберігання сировини, умови транспортування і переробки для кожного виду харчової продукції вносять свої особливості в процес біохімічних змін вітамінів.

Так, швидкість окиснення і втрати вітамінних властивостей *ретинолу (вітамін А)* і каротиноїдів, які знаходяться в жирах залежать від швидкості окислення жирів. Високою стабільністю характеризується вітамін А, розчинений в олії, такий, що міститься в сухому молоці, картопляних чіпсах. Каротин має

високу стійкість у безалкогольних напоях і концентрованих соках. Під час варіння продуктів у воді руйнування вітаміну. Молоко, що освітлюється денним світлом протягом 6 годин, втрачає до 10% вітаміну А. Вміст вітаміну А змінюється так само і під час висушування і стерилізації плодоовочевої продукції.

Тіамін (вітамін B_1) є нестійким в лужних розчинах, але зберігається в кислому середовищі навіть за нагрівання до 120ºС. Тіамін стійкий в продуктах, що містять агар, желатин і декстрин. Діоксид сірки повністю руйнує тіамін. Під час заморожуванні харчових продуктів ферменти тіаміназа і поліфенолоксидаза руйнують вітамін B_1. Нарізані або тонко подрібнені харчові продукти втрачають 20...70% вітаміну B_1.

Рибофлавін (вітамін B_2) в продуктах зустрічаються в зв'язаному і вільному стані. Він легко екстрагується під час миття продуктів, баланшируванні, але є відносно стійким до окиснення за низького значення pH. У кислому середовищі не руйнується навіть за температури 130ºС. Дуже чутливий до світла, особливо якщо знаходиться в молоці.

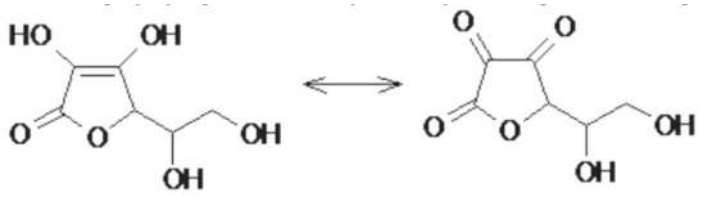
Фолієва кислота в харчових продуктах зустрічається в різних формах, у вигляді вільних і зв'язаних фолатів. У технологічному процесі переробки плодів, овочів і молока втрачається сумарно 70% вільних і 45% загальних фолоатів. При тому, що під час баланшируванні паром втрачається 10% фолатів, в процесі приготування їжі під тиском – 20%, під час варіння у відкритих котлах до 25...30%.

Піридоксин (вітамін B_6) в кислих і лужних середовищах стабільний. Основні втрати відбуваються під час розчинення у воді. В процесі приготування заморожених овочів втрати складають від 20...40%; під час варіння – 50%; у консервованому м'ясі активність втрачається на 40%, в консервованих овочах на 60...80%, в заморожених на 40...60%.

Аскорбінова кислота (вітамін С) легко екстрагується водою з харчової сировини. У тканинах руйнується шляхом окиснення під дією ферменту аскорбатоксидази, пероксидази, цитохромоксидазиы, поліфенолоксидази. Легко окислюється киснем повітря, у присутності слідів міді або заліза. Швидко руйнується у присутності вітаміну B_2. Від руйнування оберігає сульфірування. Теплова обробка призводить до зниження вмісту вітаміну С. Втрати за баланшируванння залежать від ступеня подрібнення сировини і кількості води, що додається. Кисень повітря швидко руйнує вітамін С, тому висушені на сонці овочі і фрукти не містять вітаміну С. У анаеробних умовах руйнування вітаміну С відбувається інтенсивно, особливо у присутності сахарози і фруктози, під час цього процесу утворюється фурфурол.

АСКОРБІНОВА КИСЛОТА (ВІТАМІН С)

Вітамін С (L-аскорбінова кислота (АК)) уперше був виділений з лимона. У хімічному відношенні є γ-лактоном 2,3-дегідро-4-гулоновой кислоти, легко переходить в окиснену форму – L-дегідроаскорбиновую кислоту (ДАК).



L-аскорбінова кислота L-дегідроаскорбінова кислота

Обидві форми є біологічно активними та присутні у харчових продуктах. Накопичення ДАК відбувається під час кулінарного оброблення та зберігання харчової сировини. Після тривалого теплового впливу та зберігання, співвідношення АК:ДАК у продуктах становить 1:1. У консервованих продуктах – 1 : 2.

Вітамін С бере участь у багатьох біохімічних окиснювально-відновних процесах в організмі, має антиоксидантну дію, сприяє регенерації і загоєнню тканин, підтримує стійкість організму до різних видів стресів; забезпечує нормальний імунологічний і гематологічний статус.

Усю необхідну кількість вітаміну С людина отримує з їжею. Основні його джерела – овочі, фрукти, ягоди: чорна смородина (70...400 мг/100г), плоди шипшини (до 1500 мг), червоний перець (100...300 мг), зелена цибуля (60 мг), капуста (30...50 мг), картопля (10...40 мг), петрушка (150 мг), лимон (40...50 мг) тощо. Молоко містить близько 1 мг вітаміну С на 100 г продукту.

Вітамін С не синтезується організмом людини та не відкладається, тому повинен постійно надходити з харчовими продуктами.

Для дорослих та дітей, що проживають в сприятливих кліматичних умовах, добова потреба в аскорбіновій кислоті становить 50…100 мг. Згідно "Норм фізіологічних потреб населення України в основних харчових речовинах та енергії" добова потреба в аскорбіновій кислоті становить:

для дітей віком від 3 місяці до 6 років…...	30...55 мг
для дітей віком від 7 до 13 років……..	60...75 мг
для дівчат віком від 14 до 17 років…….	75 мг
для юнаків віком від 14 до 17 років……	80 мг
для дорослих чоловіків……..	80 мг
для жінок…….	70 мг

Відсутність вітаміну С викликає хворобу, що називається цингою – одне з перших відомих захворювань, пов'язаних з дефіцитом вітамінів. Вітамін С є необхідним для синтезу колагену – білка, що формує основну тканину, яка утримує зуби в яснах, сприяє регенерації шкіри, забезпечує міцність кісток і т.д., від колагену залежить структура капілярів і правильне утворення сполучної

тканини.

В результаті припинення надходження вітаміну С в організм починається випадіння зубів, утворюються підшкірні гематоми, з'являється крихкість кісток. Відмовляють нирки і легені, може наступити смерть.

Гіповітаміноз спостерігається в зимово-весняний період. За нестачі вітаміну С спостерігається сонливість, втомлюваність, знижується опірність організму до застудних захворювань.

Високі дози вітаміну С можуть викликати появу каменів у нирках, порушувати функції підшлункової залози та знижувати синтез інсуліну.

Вітамін С використовується для збагачення соків, водорозчинних напоїв, сухих сніданків, молока, в якості хлібопекарського поліпшувача, для збереження кольору м'ясних продуктів спільно з нітратами і нітритом.

Зменшити втрати вітаміну С можна такими способами:

– подрібнення рослинної сировини слід здійснювати після попереднього бланшування (оброблення гарячою водою або паром). В результаті цього інактивується аскорбатоксидаза, втрати вітаміну С у подрібнених або очищених продуктах зменшуються;

– під час варіння продукти, що містять аскорбінову кислоту, слід занурювати в киплячу воду, оскільки вона містить менше кисню, ніж холодна; крім того, це скорочує тривалість теплового оброблення та доведення страви до готовності; ще менші втрати вітаміну спостерігаються під час варіння паром;

– вітамін С є стійким у кислому середовищі навіть під час кип'ятіння (якщо під час приготування салату в капусту додати лимонну або оцтову кислоту, то вітамін С зберігається краще).

Експериментальна частина

Підготовка середньої проби до аналізу вітамінів

Вітамінізовані кондитерські вироби (цукерки, пряники, печиво та ін.) беруть у кількості не менш 200 г, зважують, визначають масу одиниці виробу, подрібнюють і розтирають у ступці.

Середню пробу твердих жирів і масел у кількості не менш 200 г розплавляють у склянці на водяній бані за температури 45...50°С, перемішують, охолоджують і відбирають наважку для аналізу.

Середню пробу рідких жирів беруть після ретельного перемішування в скляну посудину в кількості 200 $см^3$.

Молоко досліджують у кількості не менш 200 $см^3$ після ретельного перемішування.

Тверді тканини й органи тварин для визначення ретинолу й кальциферолу відбирають у кількості не менш 200 г. Перед узяттям наважки пробу подрібнюють і перемішують у ступці.

Для підготовки проби яєць від 10 яєць відокремлюють жовтки, зважують для встановлення середньої маси жовтка, потім добре змішують їх, уникаючи збовтування, і відбирають пробу для аналізу.

Сухі плоди, овочі й трави в кількості не менш 50 г подрібнюють на лабораторному млині, м'ясорубці або ножицями й ретельно перемішують. Збирають у банку із притертою пробкою.

Свіжі трави беруть у кількості не менш 100 г, подрібнюють ножицями, перемішують у ступці й піддають аналізу.

Проби свіжих овочів і плодів вирізують ножем з нержавіючої сталі у формі сегментів.

Ягоди й дрібні соковиті плоди попередній обробці не піддаються.

Загальна маса проби, що надходить на аналіз, повинна бути не менш 200 г.

Консерви з розкритої банки переносять у ступку, подрібнюють на м'ясорубці і розмішують.

Готові блюда піддаються аналізу на вміст аскорбінової кислоти. Проби перших блюд зважують, переносять на дрібне волосяне сито або марлю й відокремлюють рідку частину від твердої. Далі визначають масу рідкої й твердої частин. Тверду частину розтирають у ступці до однорідної консистенції.

Визначення вітаміну в обох частинах здійснюється окремо. Пюре аналізують без поділу на рідку й тверду частини.

Проби других блюд досліджують так само як і тверду частину перших блюд. Треті блюда аналізують відповідно до їхнього стану: або як перші, або як другі.

Визначення вмісту вітаміну с в продуктах індофенольним методом

Згідно з ГОСТом 7047-55 методи визначення аскорбінової кислоти в харчових продуктах і готовій їжі поділяються на арбітражні й контрольні. Арбітражні методи застосовують у тих випадках, коли необхідна висока точність визначення, особливо в спірних ситуаціях. Контрольні методи застосовують на підприємствах і в лабораторіях, коли необхідно швидко провести визначення і при цьому допускається точність аналізу в межах ±10%. Для проведення масових аналізів готових блюд і консервів застосовують контрольний (спрощений) метод, точність якого для даних продуктів становить ±20 %.

Найчастіше використовують *індофенольний метод*. Суть методу полягає в тому, що під час титрування розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, що має синє забарвлення, аскорбіновою кислотою він відновлюється і переходить в безбарвну сполуку. Про закінчення реакції роблять висновок за забарвленням досліджуваного розчину в рожеве забарвлення. За кількістю індофенолу, що витратили на титрування, визначають вміст вітаміну С в продукті.

Існують різні модифікації цього методу в залежності від того, які речовини

використовують для вилучення аскорбінової кислоти. З цією метою використовують соляну, оцтову, трихлороцтову, метафосфорну, щавлеву кислоти (таблиця 8.1), а також тіосечовину, станум(II)хлорид, які підвищують стійкість виділеної аскорбінової кислоти, запобігають її окисненню і осаджують білки, які заважають визначенню вітаміну С.

Таблиця 8.1 – Характеристика агентів для екстракції

Агент для екстракції	Галузь застосування
2%-на соляна кислота	Газовані напої, сухі суміші для напоїв, компоти, перші вітамінізовані блюда без тривалого зберігання екстрактів
2%-на щавлева кислота	Ті ж самі, але можливе зберігання екстрактів протягом 4-5 годин.
3%-на трихлороцтова кислота	Для всіх видів харчових продуктів, окрім свіжих овочів та фруктів.
6%-на метафосфорна кислота*	Для всіх видів продуктів
Суміш оцтової та метафосфорної кислот	Те ж

Примітка*. Метафосфорну кислоту готують таким чином: 15 г метафосфорної кислоти розчиняють в 250 $см^3$ дистильованої води, додають 40 $см^3$ льодяної оцтової кислоти, доводять водою до об'єму 500 $см^3$, перемішують і фільтрують в склянку з притертою пробкою. Зберігають в холодильнику не більше 10 днів.

Витяжка аскорбінової кислоти, яка отримана за допомогою оцтової і соляної кислоти є найменш стійкою. Заміна цих реактивів розчином метафосфорної кислоти збільшує стабільність вітаміну С до декількох годин, а застосування щавлевої кислоти сприяє ще більшій стійкості аскорбінової кислоти в екстрактах, завдяки чому їх можна зберігати за необхідності протягом доби.

Прилади, обладнання, матеріали: зразок продукту, фарфорова ступка, піпетка місткістю 20 $см^3$, товкачик, мірна колба місткістю 100 $см^3$, фільтрувальний папір, конічна колба місткістю 250 $см^3$, хімічний стакан місткістю 50 $см^3$, мікропіпетка.

Реактиви: 0,001 моль-екв/$дм^3$ розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолят натрію; 1%- ний розчин соляної кислоти, 1%-ний розчин щавлевої кислоти

Приготування розчину індофенолу

Для приготування 0,001 моль-екв/$дм^3$ розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу фарби розчиняють 60 мг сухої фарби в мірній колбі на 200 $см^3$, додаючи 100...150 $см^3$ теплої дистильованої води і 4...5 крапель 0,01 моль-екв/$дм^3$ розчину гідроксиду натрію. Після сильного збовтування протягом 10 хв. доливають колбу водою до мітки і, перемішавши фільтрують через щільний фільтр в суху колбу. Титр розчину перевіряють щодня.

Підготовка зразка до аналізу

Підготовка зразка має важливе значення, вона повинна забезпечити найбільш повне виділення аскорбінової кислоти. Середню пробу попередньо подрібнюють і перемішують. Весь процес необхідно виконати як найшвидше, уникаючи контакту проби з металевими предметами. Грубе подрібнення здійснюють за допомогою ножа із нержавіючої або хромованої сталі, тонке – в гомогенізаторах або шляхом розтирання у фарфоровій ступці з відповідними наповнювачами[11]. Отримані екстракти відразу використовують для титрування.

Для приготування екстракту наважки проби масою від 5 до 50 г зважують з похибкою ±0,01 г. Масу наважки для різних продуктів беруть в залежності від вмісту в них вітаміну С з таким розрахунком, щоб у приготованій витяжці вміст аскорбінової кислоти склав 0,04...0,1 мг (таблиця 8.2).

Таблиця 8.2 – Величина наважки в залежності від продукту

Продукт	Величина наважки, г
Свіжі рослинні продукти	10...50
Соки та екстракти	1...50
Консерви	5...10
Плоди шипшини	10

[11] Для екстрагування вітаміну С з сухих продуктів наважки проби від 5 до 10 г розтирають в ступці з невеликими кількостями розчину для екстракції – кислоти або суміші кислот (не менше 1 $см^3$ розчину на 1 г проби) і піску, переносять в мірну колбу або мірний циліндр місткістю 100 $см^3$, змиваючи ступку і товкачик невеликими порціями розчину для екстракції до тих пір, поки об'єм не досягне мітки. Вміст витримують впродовж 10 хв, перемішують і фільтрують.

Для екстрагування вітаміну С з продуктів густої консистенції наважки проби від 5 до 50 г гомогенізують не більше 2 хв з невеликою кількістю розчину для екстракції (не менше 1 $см^3$ розчину на 1 г проби) і переносять в мірні колби або циліндр місткістю 100 $см^3$, змиваючи гомогенізатор невеликими порціями розчину для екстракції до тих пір, поки об'єм не досягне мітки. Вміст витримують впродовж 10 хв, перемішують і фільтрують.

Для екстрагування вітаміну С з рідких продуктів наважки проби від 5 до 50 г переносять в мірні колби або циліндр місткістю 100 $см^3$, змиваючи стінки склянки невеликими порціями розчину для екстракції до тих пір, поки об'єм не досягне мітки. Вміст витримують впродовж 10 хв перемішують і фільтрують.

Під час дослідження продуктів, що містять діоксид сірки ($S0_2$), наважки проби від 5 до 50 г обробляють в залежності від виду продукту, як вказано вище, переносять в мірні колби або циліндр місткістю 100 $см^3$, додають ацетон в об'ємі, рівному 1/3 частини маси наважки, перемішують доводять до мітки розчином для екстракції. Вміст витримують 10 хв знову перемішують і фільтрують.

Під час дослідження продуктів, що фасуються в металеву тару, наважки проби від 5 до 30 г обробляють в залежності від виду продукту, як вказано вище переносять в мірні колби або циліндр місткістю 100 $см^3$ за допомогою розчину для екстракції, доводять до об'єму 50 см; і перемішують. Після 10 хв додають 10 $см^3$ насиченого оцтовокислого натрію або 30 $см^3$ ацетатного буферного розчину, додають 10 $см^3$ розчину етилендіамінтетраоцтової кислоти або її солі, перемішують, доводять до мітки розчином для екстракції, знову перемішують і фільтрують.

Приготування екстракт у аскорбінової кислоти

Наважку досліджуваного матеріалу, взяту із похибкою ±0,01 г, заливають в ступці 20 см^3 1%-ного розчину соляної кислоти і розтирають до утворення гомогенної маси. Процес розтирання не повинен тривати більше 10 хв. Під час аналізу грубих тканих розтирання проводять за присутності 2...3 г добре промитого і прожареного кварцового піску або скляного піску. Отриману масу із ступки через скляну паличку і воронку зливають у мірну колбу на 100 см^3. Ступку споліскують декілька разів 1%-ним розчином щавлевої кислоти, який виливають в ту ж мірну колбу. Вміст доводять до мітки 1%-ним розчином щавлевої кислоти і закривають пробкою, сильно струшують і залишають стояти в спокої приблизно 5 хв. Потім вміст фільтрують через сухий фільтр в суху колбу. Послідовність виконання дій наведена на схемі рисунку 8.1.

Визначення кількості аскорбінової кислоти в екстракті

Для титрування із отриманого фільтрату піпеткою відбирають 10...20 см^3 і наливають в стакан на 50 см^3, після чого титрують із мікробюретки 0,001 моль-екв/дм^3 розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію до появи рожевого забарвлення, що не зникає протягом 0,5...1 хв. Тривалість титрування – не більше 2 хв. Фіксується кількість індофеноляту, яку витратили на титрування. Проводять два паралельних визначення (результати паралельних титрувань не повинні відрізнятись між собою більше ніж на 0,03 см^3) та приймають середнє значення за результат. Послідовність виконання дій наведена на схемі рисунку 8.1.

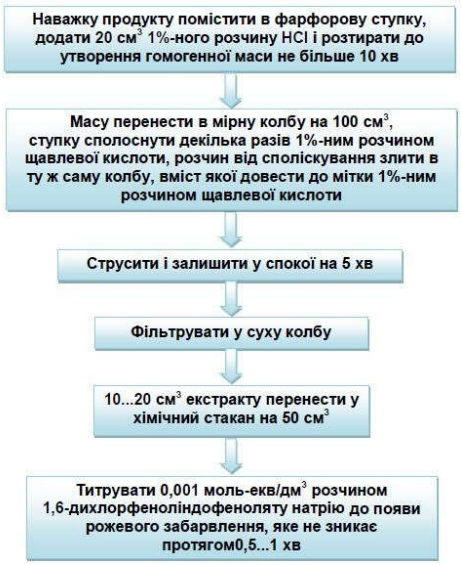


Рисунок 8.1 – Схема визначення масової частки аскорбінової кислоти індофенольним методом

Одночасно проводять контрольне титрування, де замість екстракту використовують таку ж кількість суміші 1%-ної соляної та 1%-ної щавлевої кислот у співвідношенні 1:5.

Вміст аскорбінової кислоти АК, мг/100 г продукту, розраховують за формулою:

$$АК = \frac{(А - В) \cdot 0{,}088 \cdot V \cdot 100}{V_1 \cdot m}$$

де А – кількість розчину індофеноляту, що витратили на титрування екстракту, см^3; В – кількість розчину індофеноляту, що витратили на титрування суміші кислот, см^3; 0,088 – кількість аскорбінової кислоти, що відповідає 1 см^3 0,001 моль-екв/дм^3 розчину 2,6-дихлорфеноліндофеноляту; V – об'єм мірної колби, в якій містилася наважка (100 см^3); V_1 – кількість екстракту, яку використали для титрування, см^3; m – маса продукту, яку взяли для екстракції аскорбінової кислоти, г.

Дані спостережень та розрахунків заносять до таблиці 8.3.

Таблиця 8.3 – Результати спостережень та розрахунків для визначення масової частки аскорбінової кислоти індофенольним методом

Назва параметру	Значення
Об'єм 0,001 моль-екв/дм^3 розчину 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію, що витратили на титрування контрольного зразка, В, см^3	
Об'єм 0,001 моль-екв/дм^3 розчину 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію, що витратили на титрування дослідного зразка, А , см^3	
Кількість мг аскорбінової кислоти в 100 г продукту	

Визначення вмісту вітаміну с в продуктах йодометричним методом

Метод ґрунтується на окисненні аскорбінової кислоти розчином йоду та визначенні надлишку йоду за допомогою тіосульфату натрію.

Під час прямого титрування аскорбінової кислоти розчином йоду відбувається наступна окисно-відновна реакція:

$$C_6H_8O_6 + J_2 \rightarrow C_6H_6O_6 + 2HJ$$

$$C_6H_8O_6 - 2e \rightarrow C_6H_6O_6 + 2H^+$$

$$J_2 + 2e \rightarrow 2J^-$$

Кількість наважки продукту та приготування витяжки вітаміну С проводиться аналогічно попередній роботі.

Прилади, обладнання, матеріали: фарфорова ступка, піпетки місткістю 1 см^3, 2 см^3, 10 см^3, 20 см^3, товкачик, мірна колба місткістю 100 см^3, фільтрувальний папір, конічна колба місткістю 100 см^3 та 250 см^3, бюретка.

Реактиви: зразок продукту, 1%-ний розчин Н С l , 1%-й розчин щавлевої кислоти, 6 моль-екв/дм^3 розчин H_2SO_4, 0,01 моль-екв/дм^3 розчин I_2, 0,01 моль-екв/дм^3 розчин $Na_2S_2O_3$, 1%-ний розчин крохмалю.

Для титрування із отриманого фільтрату піпеткою відбирають 10 см^3 і наливають в конічну колбу на 100 см^3, додають 4 см^3 6 моль-екв/дм^3 розчин H_2SO_4, перемішують, додають 20 см^3 0,01 моль-екв/дм^3 розчину йоду, після чого титрують із мікробюретки 0,01 моль-екв/дм^3 розчином $Na_2S_2O_3$ до появи світло-

жовтого забарвлення. Потім додають 1 см^3 індикатору (1%-ний розчин крохмалю) і продовжують титрувати до зникнення синього забарвлення. Послідовність виконання показана на схемі рисунку 8.2.

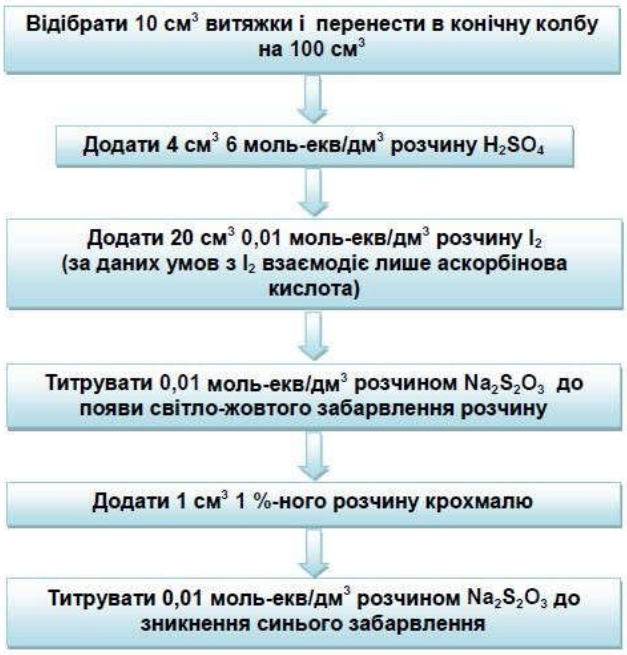


Рисунок 8.2 – Схема визначення масової частки аскорбінової кислоти йодометричним методом

Вміст аскорбінової кислоти АК, мг/100 г продукту,розраховують за формулою:

$$АК = \frac{(C_1 \cdot V_1 - C_2 \cdot V_2) \cdot M_{АК} \cdot V_к}{1000 \cdot V_в},$$

де C_1 – концентрація розчину йоду, моль/дм3; C_2 – концентрація розчину тіосульфату натрію, моль/дм3; V_1 – об'єм розчину йоду, яка вносилася, см^3; V_2 – об'єм розчину тіосульфату натрію, яку витратили на титрування надлишку йоду, см^3; $M_{АК}$ – молярна маса еквівалента аскорбінової кислоти, г/моль, $M_{АК}$ = 88 г/моль; $V_к$ – об'єм мірної колби, в якій готували витяжку, см^3, $V_к$ = 100 см^3; $V_в$ – кількість витяжки, яку взяли на титрування, см^3, $V_в$ = 10 см^3.

Дані спостережень та розрахунків заносять до таблиці 8.4.

Таблиця 8.4 – Результати спостережень та розрахунків для визначення масової частки аскорбінової кислоти йодометричнимметодом

Назва параметру	Значення
Об'єм 0,01 моль-екв/дм^3 розчину тіосульфату натрію, що витратили на титрування дослідної кількості витяжки аскорбінової кислоти,см^3	
Кількість мг аскорбінової кислоти в 100 г продукту	

Результати досліджень зводять в загальну таблицю 8.5 та роблять висновок.

Таблиця 8.5 – Зведена таблиця для визначення масової частки аскорбінової кислоти у харчових продуктах

Зразок продукту	Кількість аскорбінової кислоти, мг/100 г продукту			
	Табличне значення	експериментальне значення		% добової потреби
		Індофенольним методом	Йодометричним методом	

Контрольні питання

1. Наведіть класифікацію вітамінів. До якої групи вітамінів відноситься аскорбінова кислота?
2. Якою є добова потреба людини у вітаміні С. Фактори, якими ця потреба зумовлена.
3. Назвіть способи зменшення втрати аскорбінової кислоти під час зберігання сировини та в ході технологічних процесів з виготовлення харчових продуктів та приготування страв.
4. Де збережеться більша кількість вітаміну С – під час варіння картоплі у великій кількості води чи на пару? Чому?
5. Яку фізіологічну роль виконує аскорбінова кислота? Як впливає нестача та надлишок вітаміну С на організм людини.
6. Яким чином обирається маса наважки продукту для визначення аскорбінової кислоти?
7. Які особливості проведення екстракції аскорбінової кислоти з продуктів. Чим це зумовлено?
8. Охарактеризуйте індофенольний та йодометричний методи визначення вмісту аскорбінової кислоти в продуктах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Горяйнова Ю. А. Харчова хімія : навч. посіб. Кривий Ріг : ДонНУЕТ, 2020. 100 с. URL:http://elibrary.donnuet.edu.ua/2113/1/2020_Posibnyk_Goriainova_Kharchova%20khimiia.pdf.

2. Ластухін Ю. О. Хімія природних органічних сполук : навч. посіб. Л. : Нац. ун-т «Львів, політехніка»; Інтелект-Захід, 2005. 560 с.

3. Мороз І. А., Гулай О. І., Шемет В. Я. Харчова хімія : Навчальний посібник. Луцьк: ІВВ ЛНТУ, 2022. 236 с. URL:https://surl.lt/jcpmjr.

4. Пасальський Б. К. Хімія харчових продуктів : Навчальний посібник. К. : Київ. Держ.торг.-екон.ун-т, 2000. 196 с.

5. Продовольчі товари (лабораторний практикум) : навч. посіб./ Н. В. Притульська, Г. Б. Рудавська, В. А. Колтунов [та ін.]. К.: Київ. нац. торг.-екон. ун-т, 2007. 505 с.

6. Сегеда А. С. Аналітична хімія. Якісний аналіз : навч.-метод. посіб. Київ : ЦУЛ, 2002. 524 с.

7. Скоробогатий Я. П., Гузій А. В., Заверуха О. М. Харчова хімія : навчальний посібник. Львів : Новий Світ-2000, 2020. 514 с.

8. Харчова хімія : навч. посіб. / В. В. Євлаш, О. І. Торяник, В. О. Коваленко та ін. Харків : Світ Книг, 2022. 504 с.

9. Харчова хімія : нвчальний посібник. / Л. В. Дуленко та ін. Київ : Кондор, 2025. 248 с.

10. Хацевич О. М., Складанюк М. Б. Хімія та аналіз харчових продуктів: лабораторний практикум. Івано-Франківськ : Видавництво «Супрун В. П.», 2019. 105 с.

11. Хімія смаку, кольору і запаху: навч. посібник / уклад. : С. Д. Борук, В. В. Дійчук, М. М. Воробець та ін. Чернівці : Чернівецький нац. ун-т ім. Юрія Федьковича, 2020. 80 с.

НАВЧАЛЬНЕ ВИДАННЯ

ХАРЧОВА ХІМІЯ

Методичні рекомендації

Укладачі: **Зюзько** Алла Валентинівна
Петрова Олена Іванівна
Шевчук Наталя Петрівна

Формат 60×84 1/16 Ум. друк. арк. 2,38 .
Тираж 20 прим. Зам. №___

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Георгія Гонгадзе, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.