

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ

**ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧУВАННЯ ТА
ТОРГІВЛІ**

ХАРЧОВА ХІМІЯ

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

для виконання лабораторних робіт студентами
напряму підготовки 6.051701 «Харчові технології та інженерія»
піднапрям «Харчова інженерія»

Харків 2011

Затверджено кафедрою
загальної та харчової хімії
протокол № 14 від 6.04.11.

Схвалено науково-методичною
комісією НН ІХТБ ХДУХТ
протокол № 4 від 13.04.11.

Рецензент: д.т.н., проф. Пивоваров П.П.

ЗМІСТ

Передмова.....	4
Тема 1. Білки.....	5
Лабораторна робота 1.1. Методи оцінки якості білка та біологічної цінності харчових продуктів.....	5
Лабораторна робота 1.2. Визначення білка за методом Лоурі.....	9
Лабораторна робота 1.3. Фракціонування білків.....	11
Тема 2. Ліпіди.....	15
Лабораторна робота 2.1. Визначення групового складу ліпідів методом тонкошарової хроматографії (ТШХ).....	16
Лабораторна робота 2.2. Визначення кислотного числа.....	17
Лабораторна робота 2.3. Визначення перекісного числа.....	18
Тема 3. Вуглеводи.....	20
Лабораторна робота 3.1. Кислотний гідроліз крохмалю та ідентифікація продуктів гідролізу.....	20
Лабораторна робота 3.2. Вивчення комплексоутворюючої здатності пектинових речовин.....	22
Тема 4. Фенольні сполуки.....	27
Лабораторна робота 4.1. Визначення загальної антиоксидантної активності методом кулонометричного титрування.....	27
Тема 5. Харчові кислоти.....	30
Лабораторна робота 5.1. Визначення кислотності хліба.....	30
Лабораторна робота 5.2. Визначення кислотності молока.....	32
Тема 6. Вода та мінеральні речовини.....	34
Лабораторна робота 6.1. Визначення масової частки вологи прискореним методом висушування.....	35
Лабораторна робота 6.2. Визначення зольності.....	36
Лабораторна робота 6.3. Визначення вмісту гемового Феруму в харчових продуктах.....	37
Тема 7. Вітаміни.....	39
Лабораторна робота 7.1. Визначення аскорбінової кислоти (вітамін С).....	40
Список рекомендованої літератури.....	44

ПЕРЕДМОВА

Дисципліна «Харчова хімія» є однією з найважливіших, що входить до програми підготовки майбутніх фахівців в галузі харчових технологій та інженерії. Фахівці цієї галузі повинні володіти знаннями про хімічний склад харчових речовин, а також про хімічні та біохімічні перетворення, які відбуваються при виробництві та зберіганні продуктів харчування.

Дисципліна «Харчова хімія» об'єднує в собі фундаментальні навчальні дисципліни зі спеціальними. З одного боку, вона є складовою частиною хімії, а з іншого, – відіграє суттєву роль у професійній підготовці інженера-технолога з харчових технологій та інженерії, є підґрунтям для розуміння перебігу фізичних, хімічних, фізико-хімічних та біохімічних процесів, що мають місце в технології виробництва харчових продуктів. Теоретичні положення дисципліни є основою для розробки нових та удосконалення існуючих харчових технологій, дослідження складу та властивостей харчових систем.

У зв'язку з цим зростає роль лабораторного експерименту, який має за мету удосконалити та розвинути теоретичні знання студентів, одержані під час лекцій.

Відповідно до робочої програми з дисципліни, розроблені нами методичні вказівки включають сім основних тем теоретичного курсу: білки, ліпіди, вуглеводи, фенольні сполуки, харчові кислоти, вода та мінеральні речовини, вітаміни. Лабораторні роботи за цими темами включають методики, які традиційно використовуються для аналізу продуктів харчування, а також нові методики, удосконалені на кафедрі загальної та харчової хімії.

Під час складання методичних вказівок використовувались вітчизняні та зарубіжні літературні джерела. Усі роботи були апробовані авторами та обговорені на засіданнях кафедри загальної та харчової хімії.

Наприкінці кожної теми наведені контрольні питання, які дадуть студенту можливість найбільш ефективно засвоїти навчальний матеріал та розвинути навички самостійного мислення.

Тема1. БІЛКИ

Білки – високомолекулярні органічні сполуки, молекули яких побудовані з великої кількості залишків α -амінокислот. До складу білків входить в основному 20 різних α -амінокислот. Деякі α -амінокислоти входять до складу лише окремих білків, наприклад, гідроксипролін, орнітин та ін. Білки є як у тваринних (40-50 %), так у рослинних (20-30 % сухого залишку) організмах.

В організмі людини та тварин білки виконують різні функції. Вони входять до складу усіх органів і тканин організмів (селезінка, легені, м'язи, нирки, серце, печінка, головний мозок, кишки, шкіра, кістки, зуби та ін.). Білки беруть участь в утворенні структурної основи клітин та їх складових частин.

Усі ферменти, які синтезуються в організмах, також мають білкову природу. За участю ферментів у клітинах проходить багато різних хімічних реакцій, які забезпечують синтез і розпад різноманітних сполук із досить великою швидкістю при звичайній температурі й тиску. Зараз відомо близько двох тисяч білків, які ферментативно активні і більше 200 із них виділено в кристалічному стані.

Значна кількість гормонів є білками, поліпептидами або продуктами білкового обміну. Це, зокрема, гормони підшлункової залози інсулін, глюкагон та гіпофізу тиротропін, кортикотропін, окситоцин, вазопресин. Гормони регулюють обмін речовин, впливають на проникність клітинних мембран, регулюють активність ферментів, діють на процеси трансляції й транскрипції.

В організмах білки беруть участь у транспортуванні різних речовин. Так, наприклад, перенесення кисню до тканин здійснюється за допомогою білка - гемоглобіну. Він же переносить вуглекислий газ від тканин до легень. За участю білків у вигляді ліпопротеїдів переносяться до різних органів і тканин ліпіди і жиророзчинні вітаміни.

Білки забезпечують скорочення й розслаблення м'язів, а також роботу серця, легень, шлунку. Це відбувається за участю білків актину, міозину, тропоміозину та ін.

Білки, як вуглеводи й ліпіди, є важливим джерелом енергії для організму. При розщепленні 1 г білка виділяється приблизно 17,7 кДж енергії. За рахунок білків організм людини забезпечується енергією на 10-15 %.

Білки - основний компонент їжі поряд із вуглеводами та жирами. Добова потреба в повноцінному білку складає 80-90 г.

Лабораторна робота 1.1. Методи оцінки якості білка та біологічної цінності харчових продуктів

Білкові речовини становлять значну частину живих організмів. Вони наділені рядом специфічних функцій, тому є незамінними компонентами раціону їжі людини.

Речовини, які не синтезуються в організмі, але обов'язково необхідні для нього, називаються *незамінними* або *ессенціальними*. Речовини, що легко

утворюються і також необхідні для організму в певних кількостях, називаються *замінними*.

Людина відчуває потребу, як у загальній кількості білка, так і в певній кількості незамінних амінокислот. Вісім з 20 амінокислот (валін, лейцин, ізолейцин, треонін, метіонін, лізин, фенілаланін і триптофан) відносяться до незамінних, тобто вони не синтезуються в організмі людини й обов'язково повинні надходити з їжею. Гістидин і аргінін є обов'язковими компонентами для молодого зростаючого організму.

Відсутність в організмі повного набору незамінних амінокислот призводить до негативного азотистого балансу, порушенню швидкості синтезу білка, зупинці росту, порушенню діяльності органів і систем. При недостатці хоча б однієї з незамінних амінокислот в організмі спостерігається перевитрата білка для забезпечення в повному об'ємі фізіологічних потреб у незамінних амінокислотах. Надлишкові амінокислоти будуть неефективно витрачатися на енергетичні цілі або перетворюватися в запасні речовини (жир, глікоген).

Мета роботи: освоєння розрахункових методів оцінки якості білка, виходячи з його амінокислотного складу.

Методика виконання:

1. Розрахунок амінокислотного скору білка (АКС).

Розрахунок амінокислотного скору заснований на порівнянні амінокислотного складу білка харчових продуктів з амінокислотним складом еталонного («ідеального») білка. Еталонний білок відображає склад гіпотетичного білка який ідеально задовольняє фізіологічні потреби організму в незамінних амінокислотах. Амінокислотний склад такого білка запропонований Комітетом ФАО/ВООЗ в 1985 г і показує вміст кожної з незамінних амінокислот в 1 г білка (табл. 1.1).

Скор виражають безрозмірною величиною або у відсотках:

$$AKC = \frac{\text{мг АК в 1г білка}}{\text{мг АК в 1г еталона}} \times 100\% \quad (1.1)$$

Амінокислота, скор якої має найменше значення, називається *лімітуючою*. У продуктах з низькою біологічною цінністю лімітуючих амінокислот, зі скором менше 100% може бути декілька. У такому випадку мова йде про першу, другу і третю лімітуючу амінокислоти. Як лімітуючі амінокислоти часто виступають лізин, треонін, триптофан і сірковмісні амінокислоти (метіонін, цистеїн).

Білки злакових культур (пшениця, жито, овес, кукурудза) лімітовані по лізину, треоніну, деяких бобових культур - по метіоніну та цистеїну. Найбільш близькі до «ідеального» білку білки яйця, м'яса, молока.

Біологічна цінність (БЦ) білків у процесі теплового, механічного, ультразвукового або іншого видів обробки, а також транспортування та зберігання може знижуватися, особливо за рахунок взаємодії незамінних амінокислот, часто лізину, з іншими компонентами. При цьому утворюються недосту-

пні для переварювання в організмі людини сполуки. У той же час БЦ і АКС білків можуть бути підвищені шляхом складання сумішей продуктів або додавання відсутніх і лабільних незамінних амінокислот. Так, наприклад, поєднання білків пшениці та соєвих бобів при певних співвідношеннях забезпечує повноцінний набір амінокислот.

Таблиця 1.1. Амінокислотна шкала і добова потреба в незамінних амінокислотах у різному віці

Амінокислоти	Еталонний білок, мг/г білка	Діти 2...5 років	Діти 10...12 років	Підлітки	Дорослі
		мг/кг маси тіла в добу			
Ізолейцин	28	31	28	13	10
Лейцин	66	73	44	19	14
Лізин	58	64	44	16	14
Метіонін + цистеїн	25	27	22	17	13
Фенілаланін + тирозин	63	69	22	19	14
Треонін	34	37	28	9	7
Триптофан	11	12,5	9	5	3,5
Валін	35	38	25	13	10

2. Приклад розрахунку амінокислотного скору.

За даними амінокислотного складу розрахувати АКС суміші, що складається із пшеничного борошна й соєвого концентрату, взятих у співвідношенні 70:30.

З даних, наведених в табл. 1.2, видно, що в 100 г пшеничного борошна міститься 10,3 г білків та 311мг треоніну, отже, 1г білка пшеничного борошна буде містити $311/10,3=30,19$ мг треоніну.

Таблиця 1.2. Масова частка білка і вміст незамінних амінокислот у продуктах

Харчовий продукт	Білок, %	Незамінні амінокислоти , мг/100г									
		Іле	Лей	Ліз	Мет	Цис	Фен	Тир	Тре	Тр и	Вал
Молоко	3,2	189	283	261	83	26	175	184	153	50	191
Яловичина	21,6	939	1624	1742	588	310	904	800	875	273	1148
Кури	18,2	693	1412	1588	471	224	744	641	885	126	877
Тріска	16,0	700	1300	1500	500	200	800	600	900	210	900
Яйце (білок)	11,1	628	917	683	413	277	673	397	483	169	735
Картопля	2,0	86	128	135	26	97	98	90	97	28	122
Соя	34,9	1810	2670	2090	520	550	1610	1060	1390	450	2090
Борошно пшеничне	10,3	430	806	250	153	200	500	250	311	100	471
Борошно	10,7	400	690	360	150	210	600	290	320	130	520

житнє											
-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Продовження табл. 1.2

Крупа рисова	7,0	330	620	260	160	137	370	290	240	100	420
Крупа гречана	12,6	460	745	530	320	330	592	430	400	180	590

За даними табл. 1.3, 1 г білка соєвого концентрату містить 45мг треоніна, отже, 1 г суміші, що складається із пшеничного борошна і соєвого концентрату, взятих при співвідношенні 70:30, буде містити треоніну:

$$0,7 \times 30,19 / 1 + 0,3 \times 45 / 1 = 21,1 + 13,5 = 34,6 \text{ мг.}$$

В «ідеальному» білку міститься 34 мг/г треоніну, отже, АКС для треоніна, відповідно до формули (1.1), дорівнює $(34,6/34) \cdot 100\% = 100\%$

Таблиця 1.3 Амінокислотний склад білкових препаратів, мг/г білка

Білкові препарати	Ізолейцин	Лейцин	Лізин	Метіонин + цистеїн	Феніланін + тирозин	Треонін	Триптофан	Валін
Соєві:								
борошно	46	78	64	26	88	39	14	46
концентрат	48	79	64	28	89	45	16	50
ізолят	49	82	64	26	92	38	14	50
Білкове борошно з пшеничними висівками	37	84	62	54	94	42	12	48
Пшенична клейковина	31	66	19	42	84	25	10	37
Казеїн	59	91	93	27	85	39	5	77

Незамінною лімітуючою амінокислотою вважається та амінокислота, АКС якої найменший.

3. Одержавши контрольне завдання у викладача, розрахувати амінокислотний скор білків різних харчових продуктів, їхніх сумішей, композицій або об'єктів, що піддавались різним способам і факторам технологічної обробки або умовам зберігання.

4. Коефіцієнт утилізації і-НАК (K_i) – характеристика, що показує збалансованість незамінних амінокислот (НАК) стосовно еталонного білка. Розраховується за формулою 1.2:

$$K_i = \frac{AKC_{\min}}{AKC_i} \quad (1.2)$$

Коефіцієнт раціональності амінокислотного складу (R_c) показує збалансованість НАК щодо еталона і розраховується за формулою 1.3:

$$R_c = \frac{\sum_{i=1}^n A_i \cdot K_i}{\sum_{i=1}^n A_i}, \quad (1.3)$$

де K_i – коефіцієнт утилізації і-НАК; A_i – масова частка і-ої амінокислоти в г еталонного білка, мг/г.

Результати розрахунку показників амінокислотного складу, що показують якість харчового білка, оформляються у вигляді табл. 1.4, і робляться непрямі висновки про біологічну цінність того або іншого продукту.

Таблиця 1.4 Показники амінокислотного складу білків

Амінокислота	Вміст, мг/г білка		АКС, %	Лімітуюча АК		K_i	R_c
	еталонний	досліджуваний		перша	друга		
Ізолейцин							
Лейцин							
Лізин							
Метіонін + + цистеїн							
Фенілаланін + тирозин							
Треонін							
Триптофан							
Валін							

Лабораторна робота 1.2. Визначення білка за методом Лоурі

У дослідницькій практиці й практиці виробництва та контролю якості харчових продуктів необхідність кількісного визначення вмісту білка у великій кількості зразків виникає досить часто, і у зв'язку із цим використання чутливого колориметричного методу Лоурі є дуже зручним.

Визначення білка за методом Лоурі засновано на комбінації біуретового методу (утворення забарвленого комплексу пептидних зв'язків з міддю) і методу Фоліна (утворення забарвленого комплексу реактиву Фоліна з ароматичними амінокислотами).

Метод Лоурі має ряд переваг, у порівнянні із двома вищезгаданими методами. Комбінований метод Лоурі в 100 разів чутливіший біуретової реакції, і точність визначень мало залежить від складу білка. Метод простий і зручний для серійних аналізів.

Мета роботи: познайомитися з технікою визначення вмісту білка за методом Лоурі.

Обладнання і хімічний посуд: градуйовані пробірки, градуйовані піпетки, спектрофотометр, кювети для спектрофотометру.

Реактиви та матеріали:

A. 2% розчин Na_2CO_3 в 0,1 моль/дм³ NaOH ;

B. 0,5% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1 % розчині виннокислого натрію;

C. 50 мл A + 1 мл B (придатний протягом одного дня);

D. Розведений реактив Фоліна;

гемоглобін, альбумін або препарат іншого стандартного білка.

Методика виконання:

1. Приготування розчинів білка для калібрувального графіку.

З вихідного розчину методом розведення готують розчини з меншим вмістом білка по наведеній нижче схемі. Для цього умовно приймають концентрацію вихідного розчину білка за 100 одиниць:

Таблиця 1.5 Схема приготування калібрувальних розчинів

№ пробірки	Розчин	Одиниці білка
1	Вихідний розчин	100
2	7 см ³ розчину 1 + 3 см ³ води	70
3	5 см ³ розчину 1 + 5 см ³ води	50
4	5 см ³ розчину 2 + 5 см ³ води	35
5	5 см ³ розчину 3 + 5 см ³ води	25
6	2 см ³ розчину 5+8 см ³ води	5

2. Проведення аналізу.

0,8 см³ випробуваного розчину білка (50...500 мкг) і 4 см³ реактиву **C** перемішують і залишають на 10 хвилин при кімнатній температурі. Потім додають 0,4 см³ реактиву **D**, дуже швидко перемішують (протягом 1...2 секунд) і залишають на 30...40 хвилин при кімнатній температурі для розвитку забарвлення. Після закінчення зазначеного часу інтенсивність забарвлення комплексу, що утворився, вимірюють на фотоелектроколориметрі при червоному світлофільтрі або на спектрофотометрі при 760 нм. Вміст білка визначають за каліброваним графіком.

3. Побудова каліброваного графіка

У всіх приготовлених розчинах проводять визначення білка за методом Лоурі, зазначеним в методиці.

Як контроль використовують пробу, у якій замість розчину білка використовується дистильована вода.

Результати заносять у таблицю 1.6.

Таблиця 1.6 Результати визначення білка за методом Лоурі

Номер пробірки	Білок, ум. од.	Білок, мг/см ³	Оптична густина (<i>D</i>)
----------------	----------------	---------------------------	------------------------------

1	2	3	4	5	6

Для одержання надійних результатів роботу дублюють кілька підгруп з 2...3 студентів, користуючись тими самими розчинами білка, приготовленими для всієї групи.

За отриманим даними будують калібрувальний графік в координатах: «оптична густина – концентрація білка, мг/см³». При побудові графіка враховуються всі отримані в роботі результати. Калібрувальний графік використовується для визначення білка при виконанні інших робіт.

4. Після побудови калібрувального графіка кожна підгрупа визначає вміст білка в отриманому розчині.

Лабораторна робота 1.3. Фракціонування білків

Виділення білків з біологічного матеріалу починають із руйнування клітинної структури, у результаті чого білки переходять в екстрагуючий розчин. Для екстракції як правило використовують воду, буферні розчини, слабкий розчин луку. Вид екстрагента і умови екстрагування дозволяє перевести в розчин певні групи білків.

На наступному етапі проводять поділ білків, осаджуючи певні групи білків різними способами, які вибирають залежно від мети й особливостей об'єкта дослідження:

Відокремити білки від пептидів і амінокислот можна шляхом їхнього осадження «білковими осаджувачами», наприклад трихлороцтовою кислотою (ТХО). При цьому відбувається денатурація білків.

Термолабільні білки можна відокремити від термостабільних, використовуючи теплову обробку. Цей спосіб може застосовуватися в тих випадках, коли не потрібно зберігати нативну структуру білків або коли заздалегідь відомо термостабільність білка, що виділяється.

Білки в нативному стані можна перевести в осад при різній концентрації солі. Поступове збільшення її концентрації дає можливість одержати окремі білкові фракції, наприклад фракцію з ферментативною активністю, при цьому домогтися видалення значної частини баластних білків.

При сольовому фракціонуванні в білковій хімії часто використовують насичені розчини сульфату амонію, дія якого як осаджуючого агента дуже ефективна. Концентрацію сульфату амонію, при якій відбувається висалювання, виражають у відсотках насичення, приймаючи концентрацію насиченого розчину за 100%.

При розчиненні сульфату амонію міняється об'єм розчину, тому кількість солі, яку потрібно додати до даного об'єму рідини, не пропорційна необхідному відсотку насичення. Практично для розрахунку кількості сульфату амонію, необхідного для створення заданого ступеня насичення, користуються таблицями або номограмами.

Зміна рН білкового розчину дозволяє провести вибірне осадження білків (осадження в ізоелектричній точці). При цьому способі осадження зберіга-

ється нативна структура білків, як в осаді, так і в надосадковій рідині. Зміну рН білкового розчину варто проводити обережно, по можливості не використати сильні кислоти та луги.

Мета роботи: вибір оптимальних умов екстракції та осадження білків з різних об'єктів.

Обладнання і хімічний посуд: градуйовані пробірки, градуйовані піпетки, хімічні стакани, магнітна мішалка, хімічна лійка, фільтрувальний папір, спектрофотометр, кювети для спектрофотометру.

Реактиви та матеріали:

пшениця, горох, бульби картоплі, овес;
 0,1 моль/дм³ HCl;
 10 % розчин ТХО;
 Na₂CO₃;
 (NH₄)₂SO₄, насичений розчин;
 реактиви для визначення білка за методом Лоурі.

Методика виконання:

1. Підготовка досліджуваних розчинів.

Зерно та овес подрібнюють на лабораторному млині, бульби картоплі подрібнюють на тертці і віджимають сік.

Екстракцію білків із зернової сировини здійснюють водою або 0,35% розчином соди.

10 г здрібненого матеріалу екстрагують 150 см³ обраного екстрагента при інтенсивному перемішуванні на мішалці протягом 3 хвилин. Розчинені білки відокремлюють від осаду центрифугуванням. Надосадкову рідину використовують у дослідах по осадженню білків.

2. Осадження білків розчином ТХО.

У пробірки вносять розчини в кількостях, зазначених у табл. 1.7.

Вміст пробірок струшують і залишають на 20 хвилин для формування осаду. Якщо осад не формується, пробірки прогрівають на водяній бані при температурі 40°C. У надосадковій рідині після фільтрування визначають вміст білка за методом Лоурі. При необхідності випробуваній розчин розводять в 2 або 4 рази. Отримані результати вносять таблицю (див. табл. 1.7) і будують графік осадження білка наростаючими концентраціями ТХО. Визначають концентрацію ТХО, достатню для максимального осадження білків.

Таблиця 1.7 Дані для побудови графіка осадження білка розчином ТХО

№ з/п	Розчин білка, см ³	H ₂ O, см ³	ТХО, см ³	Кратність розведення вихідного розчину	Оптична густина (D)	Вміст білка, мг/см ³	
						у надосадковій рідині	в осаді
1	5	5	0				0
2	5	4	1				
3	5	3	2				
4	5	2	3				

5	5	0	5				
---	---	---	---	--	--	--	--

3. Осадження білків при зміні рН середовища.

У пробірки вносять розчини в кількостях, зазначених у табл. 1.8.

Таблиця 1.8. Дані для побудови графіка осадження білка при зміні рН середовища

№ з/п	Розчин білка, см ³	H ₂ O, см ³	0,1 моль/дм ³ HCl, см ³	Кратність розведення вихідного розчину	Оптична густина (D)	Вміст білка, мг/см ³
1	5	5	0			
2	5	3	2			
3	5	2	3			
4	5	1	4			
5	5	0	5			

У пробірки з розчином білка спочатку вносять задана кількість хлоридної кислоти, вміст пробірок струшують і залишають на 20 хвилин для формування осаду. Потім вносять необхідну кількість води для компенсації об'єму. Пробірки повторно струшують і вміст фільтрують через сухий фільтр. У фільтраті визначають білок за методом Лоурі. При необхідності фільтрат попередньо розводять водою в 5 або 10 разів. Отримані дані вносять у таблицю (табл. 1.8) і будують графік.

4. Осадження білків насиченим розчином (NH₄)₂SO₄.

У пробірки вносять розчини в кількостях, зазначених у табл. 1.9.

Таблиця 1.9 Дані для побудови графіка осадження білка розчином (NH₄)₂SO₄

№ з/п	Розчин білка, см ³	H ₂ O, см ³	(NH ₄) ₂ SO ₄ насич., см ³	Оптична густина, (D)	Вміст білка, мг/див ³	
					у надосадковій рідині	в осаді
1	5	5	0			0
2	5	4	1			
3	5	3	2			
4	5	2	3			
5	5	0	5			

Вміст пробірок струшують і залишають на 30 хвилин для формування осаду при температурі 2...4°C. У надосадковій рідині після фільтрування визначають вміст білка за методом Лоурі. При необхідності випробуваний розчин розводять в 2 або 4 рази.

Отримані результати вносять у таблицю (табл. 1.9) і по них будують графік осадження білка наростаючими концентраціями (NH₄)₂SO₄.

Контрольні питання

1. Що таке білки? Класифікація білків. Охарактеризуйте фізико-хімічні властивості білків.
2. Чим відрізняються процеси коагуляції та денатурації білків?
3. Чому білки випадають в осад в ізоелектричній точці?
4. Які речовини викликають денатурацію білків?
5. Які ви знаєте методи визначення білків?
6. Охарактеризуйте методи визначення біологічної цінності білків.
7. Які амінокислоти називаються незамінними? Назвіть їх.
8. У чому полягає суть методу Лоурі?
9. Наведіть алгоритм визначення білків за методом Лоурі.
10. За допомогою якого приладу визначається оптична густина розчину?

Тема 2. ЛІПІДИ

До ліпідів належать жири (жир - від грецьк. *lipos*) і жироподібні речовини. Вони об'єднують велику групу різних за хімічною природою речовин, які мають деякі спільні фізико-хімічні властивості, наприклад ліпіди нерозчинні у воді, а розчинні в органічних розчинниках (ефірі, бензині, бензолі, хлороформі).

Ліпіди мають велике значення в харчуванні людини. Так, жири є однією з важливих складових їжі людини та тварин. За походженням жири поділяють на тваринні й рослинні (олії). Тваринні жири добувають із жирових тканин різних тварин, із молока. В основному, це тверді жири (яловичий, баранячий, свиняче сало), але зустрічаються і рідкі (риб'ячий жир). Рідкі рослинні жири (олії) добувають із насіння, деяких плодів різних рослин (соняшникова, оливкова, конопляна тощо). Є також тверді рослинні жири, наприклад, кокосове масло, масло какао. Добова погрєба людини в жирах становить 80-100 г.

В організмі людини й тварин основна кількість ліпідів концентрується у підшкіровій жировій тканині, це так звані запасні ліпіди (гліцериди). У рослинах запасні ліпіди знаходяться, в основному, в насінні. У складі мембран клітин та клітинних структур знаходяться структурні ліпіди (фосфоліпіди). Це значно менша група ліпідів, які міцно зв'язані з білками та вуглеводами.

Ліпіди в організмі людини та тварин виконують різні функції. Так, жири є одним з основних джерел енергії живого організму. При окисненні 1 г жиру виділяється приблизно 39 кДж енергії, що значно більше, ніж при окисненні білків та вуглеводів. Жири захищають внутрішні органи від пошкодження, є добрими термоізоляторами. Фосфоліпіди є складовою частиною клітин та клітинних мембран і забезпечують їх вибіркєву проникність. Ліпіди беруть участь у численних метаболічних реакціях, які зумовлюють утворення інших речовин.

Молекули ліпідів побудовані з різних структурних компонентів до складу яких входять залишки спиртів, вищих карбонових кислот, а окремі групи ліпідів можуть містити залишки фосфорної кислоти, вуглеводів, азотистих основ, у зв'язку з чим єдина класифікація ліпідів відсутня. Відомі спрєби класифікувати ліпіди за хімічною будовою, за фізико-хімічними та фізіологічними властивостями. Найбільшого поширення набула спрєчена класифікація ліпідів за їх хімічним складом. За цією класифікацією ліпіди поділяють на дві групи - прості та складні. До простих ліпідів належать жири, воски, стериди, а до складних - фосфоліпіди, гліколіпіди.

Крім цього, в окрему групу виділяють речовини, які розчиняються в органічних розчинниках, але на відміну від простих та складних ліпідів не омилюються. До цієї групи належать вільні карбонові (жирні) кислоти, окремі жиророзчинні вітаміни, каротини тощо.

Лабораторна робота 2.1. Визначення групового складу ліпідів методом тонкошарової хроматографії (ТШХ)

Ліпіди, які складаються з різних груп, що екстрагуються розчинниками з харчового продукту, умовно називається сирим жиром. Сирий жир включає три-, ди- і моноацилгліцериди, вільні жирні кислоти, стерини, фосфоліпіди, жиророзчинні пігменти, жиророзчинні вітаміни, воски, вуглеводні та інші групи або фракції ліпідів. Для аналізу якісного і кількісного групового (фракційного) складу ліпідів часто застосовують метод тонкошарової хроматографії на пластинках «Силуфол».

Мета роботи: Виділення ліпідів методом екстракції з конкретного харчового об'єкта та аналіз групового складу ліпідів.

Обладнання і хімічний посуд: хімічні стакани, камера для хроматографії.

Реактиви та матеріали:

харчова сировина і харчові продукти;

гексан;

хлороформ;

диетиловий етер;

оцтова кислота крижана;

5 % розчин фосфорно-молібденової кислоти в етанолі;

хроматографічні пластинки «Силуфол».

Методика виконання:

1. Виділені з харчового об'єкта ліпіди розчиняють у хлороформі до одержання 2 % розчину.

2. Пластинки «Силуфол» попередньо забарвлюють фосфорно-молібденовою кислотою, опускаючи їх в 5 % розчин кислоти в етанолі, і потім висушують на повітрі.

3. На підготовлену пластину «Силуфол» за допомогою мікрошприца наносять 1 мкл (10^{-6}см^3) 2 % розчину ліпідів у хлороформі у вигляді суцільної вузької смуги довжиною до 7 мм на лінію старту. Лінію старту попередньо намічають на відстані 10 мм від нижнього і бічного країв пластини.

4. Поділ проводять у скляній камері із пришліфованою кришкою. Камеру заповнюють системою розчинників до висоти не більше 5 мм для того, щоб розчинник не доставав до стартової лінії пластини. Пластину з нанесеними зразками ліпідів поміщають у камеру, вертикально занурюючи в розділюючу суміш, і залишають у ній доти, поки висота підйому фронту розчинника не досягне відзначеної довжини розділового шляху. Розділовий шлях (відстань від лінії старту до лінії фронту розчинника) дорівнює для пластини «Силуфол» - 90 мм.

Поділ проводять у системі розчинників гексан - диетиловий етер - оцтова кислота в співвідношенні 80:20:1. Після закінчення хроматографічного поділу пластину виймають із камери і сушать у горизонтальному положенні до повного випаровування залишків розчинників.

5. Прояв пластин проводять у термостаті протягом 5...10 хвилин при температурі 60°C. Ідентифікацію фракцій проводять за допомогою стандартних речовин-свідків або за значенням R_f для даної системи розчинників.

Результати ідентифікації приводять у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 Ідентифікація групового складу ліпідів досліджуваних зразків

№	Групи ліпідів	Значення R_f			
		за літературними даними	досліджуваних зразків ліпідів		
			зразок 1	зразок 2	зразок 3
1	Полярні ліпіди (гліко- і фосфоліпіди)	На старті			
2	Моноацилгліцериди	0,02			
3	1,2-диацилгліцериди; 1,3-диацилгліцериди	0,13...0,21			
4	Вільні жирні кислоти	0,39			
5	Триацилгліцериди	0,60			
6	Етери стеринів, вуглеводні	0,94			

Лабораторна робота 2.2. Визначення кислотного числа

Кислотне число (КЧ) - кількість мг КОН, необхідне для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру. Кислотне число залежить від якості жиру, способу його одержання, умов зберігання та інших факторів. Кислотне число відноситься до регламентованих ДСТУ показників: для нерафінованих масел кислотне число допускається до 6 мг КОН.

Мета роботи: Познайомиться з методикою визначення кислотного числа як метода оцінки якості жиру.

Обладнання і хімічний посуд: конічні колби, мірні циліндри, бюретка.

Реактиви та матеріали:

зразки жирів і олій;

діетиловий етер;

96% етиловий спирт;

0,1 моль/дм³ спиртової розчин КОН;

1 % спиртової розчин фенолфталеїну.

Методика виконання:

1. У конічній колбі зважують 1...2 г зразка жиру з погрешністю не більше 0,01 г, доливають 20 см³ попередньо приготовленої нейтральної суміші діетилового етеру й 96% етилового спирту (2:1), перемішують до розчинення наважки зразка і доливають декілька крапель розчину фенолфталеїну.

2. Отриманий розчин при постійному перемішуванні титрують із бюретки 0,1 моль/дм³ спиртовим розчином КОН до слабо-рожевого забарвлення, стійкого протягом 30 с.

3. Кислотне число (мг КОН на 1 г жиру) обчислюють за формулою 4.1:

$$KЧ = \frac{5,611 \cdot V}{m}, \quad (4.1)$$

де 5,611 – титр 0,1 моль/дм³ розчину КОН, мг/см³; V – кількість см³ 0,1 моль/дм³ розчину КОН, витрачена на титрування; m – наважка зразка масла, г.

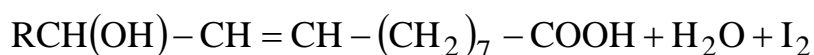
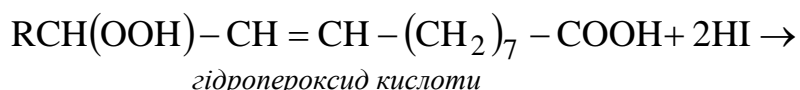
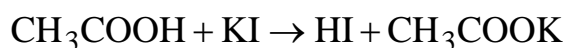
4. Визначення проводять у двох повтореннях. Розбіжність між двома паралельними визначеннями не більше 0,06 мг КОН.

Лабораторна робота 2.3. Визначення перекісного числа

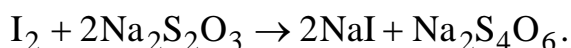
Перекісне число (ПЧ) – це показник, який характеризує кількість первинних продуктів окиснення ліпідів (гідроперекисей або перекисей). Перекісне число виражають у мілімолях активного кисню на 1000 г жиру, або у процентах йоду (кількість грамів йоду на 100 г жиру).

Мета роботи: Познайомиться з методикою визначення перекісного числа як методу оцінки якості жиру.

Метод заснований на реакції взаємодії активного пероксидного або гідропероксидного кисню з йодистоводновою кислотою при титруванні:



Вільний йод, що виділився, відтитровують тіосульфатом натрію:



Метод призначений для визначення первинних продуктів окислювання жирів і олій - пероксидних і гідропероксидних сполук.

Обладнання і хімічний посуд: конічні колби, мірні циліндри, градуйовані піпетки, бюретка.

Реактиви та матеріали:

зразки жирів і олій;

хлороформ х.ч.;

крижана оцтова кислота;

50 % водний свіжоприготовлений калій йодид;

0,01 моль/дм³ розчин натрій тіосульфату;

1 % свіжоприготовлений розчин крохмалю.

Методика виконання:

1. У конічну колбу із пришліфованою кришкою зважують із точністю до третього десяткового знака 1 г досліджуваної олії (жиру). Додають у колбу 10 см³ хлороформу. Після розчинення жиру приливають 15 см³ крижаної оцтової кислоти та 1 см³ 50% розчину КІ. Колбу витримують 20 хвилин без доступу світла. Потім у колбу додають 75 см³ дистильованої води і 5...6 крапель 1% розчину крохмального клейстеру. Виділений йод титрують 0,01 моль/дм³ розчином натрію тіосульфату. Паралельно з основним визначенням проводять контрольне визначення.

2. Перекисне число в процентах йоду обчислюють за формулою 6.1:

$$ПЧ = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,00127 \cdot 100}{m}, \quad (6.1)$$

де V_1 , – кількість 0,01 моль/дм³ розчину натрію тіосульфату, що пішла на титрування в основному досліді, см³; V_2 – кількість 0,01 моль/дм³ розчину натрію тіосульфату, що пішла на титрування в контрольному досліді, см³; 0,00127 – кількість йоду, еквівалентне 1 см³ 0,01 моль/дм³ розчину натрію тіосульфату; m – маса досліджуваного зразка олії або жиру, г; 100 – коефіцієнт, що враховує перерахування результату виміру в на 100 г жиру.

3. Перерахунок перекисного числа, що виражене в процентах йоду на перекисне число в ммоль/кг 1/2O₂ відбувається по формулі 6.2:

$$ПЧ_1 = ПЧ \cdot 78,7, \quad (6.2)$$

де $ПЧ_1$ – перекисне число в ммоль/кг 1/2O₂.

4. Роблять висновок про якість досліджуваного жиру.

Контрольні питання

1. Які речовини називаються ліпідами? Наведіть класифікацію ліпідів.
2. Чим відрізняються ліпіди, що омилюються від ліпідів, що не омилюються?
3. Що таке жири та олії?
4. Які існують характеристики якості жирів та олій?
5. Які існують методи аналізу та визначення жирів та олій?
6. Що таке кислотне число? Наведіть методику його визначення
7. Що таке перекисне число? Наведіть методику його визначення
8. Що таке йодне число? Наведіть методику його визначення
9. Що таке число омилення? Наведіть методику його визначення
10. Який метод аналітичної хімії використовується під час визначення кислотного та перикисного чисел?

3. ВУГЛЕВОДИ

Термін «вуглеводи» був запропонований (у 1844 р. К. Шмідтом) у зв'язку з тим, що більшості з них відповідає формула $C_n(H_2O)_m$. Але зараз відомо, що до вуглеводів належать сполуки, які не відповідають наведеній формулі.

Характерною ознакою вуглеводів є те, що вони містять не менше двох гідроксильних груп і карбонільну (альдегідну або кетонну) групу.

Залежно від складу, будови та властивостей вуглеводи поділяють на три групи: моноцукриди, олігоцукриди та поліцукриди.

Моноцукриди мають склад $C_nH_{2n}O_n$ і не гідролізують з утворенням простіших сполук. Олігоцукриди містять від двох до десяти залишків моноцукридів, які сполучені глікозидними зв'язками. Поліцукриди містять велику кількість моноцукридних залишків і характеризуються великою молекулярною масою.

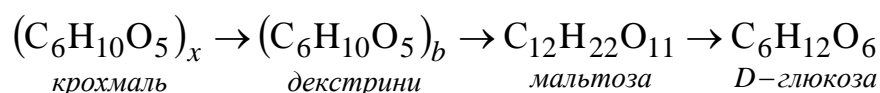
В основному, вуглеводи містяться в рослинних організмах, де відбувається їх фотосинтез. Так, рослинні організми містять приблизно 80 %, а тваринні - 2 % вуглеводів від сухої маси.

В організмах вуглеводи виконують ряд специфічних функцій. Вони є джерелом енергії. З проміжних продуктів їх окиснення синтезується багато інших органічних сполук. Вуглеводи входять до складу нуклеїнових кислот, складних білків, ферментів тощо.

Вуглеводи мають велике значення в харчуванні людини. Вони є однією з важливих складових їжі людини. Добова потреба людини у вуглеводах становить 450-500 г.

Лабораторна робота 3.1. Кислотний гідроліз крохмалю та ідентифікація продуктів гідролізу

При нагріванні крохмалю з розведеними кислотами відбувається його гідроліз за наступною схемою:



Мета роботи: на прикладі кислотного гідролізу крохмалю вивчити процес послідовної деполімеризації гомополісахариду. За допомогою хроматографічного аналізу ідентифікувати продукти гідролізу і визначити їхній відносний вміст.

Обладнання і хімічний посуд: хімічні стакани, камера для хроматографії, градуйовані пробірки, хроматографічний мікрошприц.

Реактиви та матеріали:

крохмальний клейстер (1,5 г крохмалю в 25 см³);

10 % розчин сульфатної кислоти;

0,1 моль/дм³ розчин йоду в КІ;

пластинки «Силуфол» для тонкошарової хроматографії;

розділяюча система розчинників: н-бутанол – крижана оцтова кислота – дистильована вода в співвідношенні 60:15:25;

реагент для проявлення пластинок: суміш н-бутанола (60 см³) – дистильованої води (25 см³) – крижаної оцтової кислоти (15 см³) – фосфорної кислоти (10 см³) – аніліну (1 см³) – дифеніламіну (2 г).

Методика виконання:

1. У мірну пробірку поміщають 2 см³ крохмального клейстеру і 6 краплин розчину сульфатної кислоти. Вміст пробірки струшують і ставлять у склянку місткістю 50 см³ з киплячою водою.

2. Кожні 2 хвилини відбирають піпеткою краплю розчину і переносять у пробірку з розчином йоду. Для цього попередньо в 8 пробірок поміщають по одній краплі розчину йоду і 5 краплин води. Послідовні проби виявляють поступову зміну забарвлення при реакції з йодом (синю, синьо-фіолетову, червоно-фіолетову, червоно-жовтогарячу, жовтогарячу та жовту).

3. Гідроліз крохмалю закінчують, коли крохмальний клейстер не буде давати кольорової реакції з йодом. Відзначають загальну тривалість гідролізу. Відомо, що крохмаль із йодом дає синє забарвлення. Декстрини, залежно від величини ланцюжка, забарвлюються йодом у фіолетові, червоні та жовтогарячі кольори. Мальтоза і глюкоза не змінюють забарвлення йоду.

4. По закінченні гідролізу проводять аналіз реакційної суміші методом тонкошарової хроматографії (ТШХ).

На підготовлену пластинку «Силуфол» за допомогою хроматографічного мікрошприца наносять 1 мкл гідролізату у вигляді суцільної смуги довжиною 2...7 мм, відступаючи від бічного і нижнього країв пластинки на відстань 10 мм. Пластинку вертикально вставляють у хроматографічну камеру, що заповнена розділяючою сумішшю до висоти 5 мм. Склад поділяючої суміші: н-бутанол – крижана оцтова кислота – дистильована вода в співвідношенні 60:15:25.

5. Пластинку витримують у камері доти, поки висота підйому фронту висхідного розчинника не досягне відзначеної довжини розділового шляху. Розділовий шлях (відстань від лінії старту до лінії розчинника) дорівнює 90 мм.

6. По закінченні хроматографічного поділу пластику виймають із камери і сушать за кімнатної температури у витяжній шафі до повного випаровування залишків розчинників.

7. Потім поділ повторюють у тій же системі розчинників. Висушені пластинки занурюють у реагент, що представляє собою наступну суміш: н-бутанол – дистильована вода – оцтова кислота – фосфорна кислота – анілін – дифеніламін у кількісному співвідношенні: 60 см³:25 см³:15 см³:10 см³:1 см³:2 г. Пластинки знову висушують і проявляють у термостаті за температури 120°C протягом 5 хвилин.

8. Ідентифікацію продуктів гідролізу проводять за допомогою свідків і за значеннями R_f (см. табл. 3.1).

Таблиця. 3.1. Результати хроматографічного аналізу продуктів кислотного гідролізу крохмалю

№ з/п	Назва компонента суміші	R_f	Колір плями	Відносний зміст компонента, %
1	Декстрини			
2	Мальтоза	0,25	Сіро-блакитний	
3	D-глюкоза	0,36	Маслиново-сірий	
4	D-фруктоза	0,37	Червоний	
5	D-ксилоза	0,45	Зелений	
6	Лактоза	0,2	Маслиново-сірий	
7	Сахароза	0,28	Коричневий	

9. По закінченні дослідження роблять висновок про тривалість процесу до зникнення контрольного забарвлення йоду, фактичний вміст гідролізної суміші і відносний вміст компонентів.

Лабораторна робота 3.2. Вивчення комплексоутворюючої здатності пектинових речовин

Важлива роль пектину в харчуванні людини пов'язана з його здатністю зв'язувати іони важких металів і виводити їх з організму (оскільки пектин не засвоюється організмом людини).

Здатність пектинових молекул зв'язувати полівалентні катіони збільшується при підвищенні вмісту і ступеня дисоціації вільних карбоксильних груп у молекулі (низькоетерифікований пектини в кислому середовищі) і не однакова стосовно катіонів різних металів.

До числа важких металів, які можуть забруднювати харчові продукти, відноситься Купрум. Зв'язування Купруму в реакції комплексоутворення з пектином лежить в основі профілактики можливих наслідків її попадання в організм людини.

Мета роботи: визначення комплексоутворюючої здатності пектинів стосовно Купруму в порівнянні з нейтральними полісахаридами та білком.

Обладнання і хімічний посуд: градуйовані пробірки, градуйовані піпетки, хімічні стакани, магнітна мішалка, хімічна лійка, фільтрувальний папір, спектрофотометр, кювети для спектрофотометру.

Реактиви та матеріали:

амоніак 5 % розчин;
 пектин низькоетерифікований 0,5 % розчин;
 купрум сульфат 1,0 % і 4,0 % розчини;
 крохмаль 1,0 % розчин;
 вода дистильована.

Методика виконання:

1. В основі визначення комплексоутворюючої здатності досліджуваної речовини стосовно Купруму лежить фотоколориметричне визначення остан-

ньої у формі купрум амонікату, що має інтенсивне синє забарвлення з максимумом поглинання при 620 нм і утворюється при додаванні надлишку амоніаку до розчину, що містить купрум сульфат за реакцією:



2. Побудова калібрувального графіка.

З 1,0% вихідного розчину купрум сульфату готують розчини з меншою концентрацією за схемою:

Таблиця 3.2. Схема приготування розчинів для калібрувального графіка

№	Розчин	Концентрації купрум сульфату, мг/см ³
1	Вихідний розчин	10
2	7 см ³ + 3 см ³ води	7
3	5 см ³ + 5 см ³ води	5
4	3 см ³ + 7 см ³ води	3
5	1 см ³ + 9 см ³ води	1

Вміст пробірок перемішують і проводять реакцію утворення купрум амонікату. Для цього відбирають 2 см³ випробуваного розчину, додають 2 см³ розчину амоніаку й 2 см³ води. Пробірки струшують і вимірюють інтенсивність забарвлення, що утворилося, на ФЕК при 750 нм. Отримані дані записують у таблицю (табл. 3.3) і будують калібрувальний графік. Робота з побудови графіка дублюється 2...3 рази. При цьому використовуються ті ж розчини купрум сульфату.

Таблиця 3.3. Дані для побудови калібрувального графіка

Номер пробірки	CuSO ₄ . мг/см ³	Оптична густина (<i>D</i>)

3. Визначення здатності пектину зв'язувати іони Купруму.

У ряд пробірок вносять випробувані розчини в кількостях, зазначених у табл. 3.4.

Вміст пробірок перемішують. Осад, що утворився в них, відокремлюють фільтруванням. З фільтрату відбирають 2 см³, додають 2 см³ розчину амоніаку й 2 см³ води. Вимірюють на фотоелектроколориметрі при 750 нм оптичну густина кожного зразка. Результати вимірів вносять у табл. 3.4.

По калібрувальному графіку визначають кількість Купруму, що залишилась в розчині. Розраховують кількість зв'язаного пектином Купруму та будують графік залежності від концентрації пектину.

Таблиця 3.4 Результати виміру оптичної густини розчинів

№	CuSO ₄ 4,0 %, см ³	Пектин, 0,5%, см ³	Вода, см ³	Оптична густина (D)	Кількість Ку- пруму в роз- чині, мг	Кількість зв'я- занго Купру- му, мг
1	1	0	4,0			
2	1	0,5	3,5			
3	1	1,0	3,0			
4	1	2,0	2,0			
5	1	3,0	1,0			

4. Визначення здатності білка зв'язувати іони Купруму.

У ряд пробірок вносять випробувані розчини в кількостях, зазначених у табл. 3.5.

Таблиця 3.5 Результати виміру оптичної густини розчинів

№ з/п	CuSO ₄ , 4,0%, см ³	Білок, 0,5%, см ³	Вода, см ³	Оптична гус- тина (D)	Кількість Купруму в розчи- ні, мг	Кількість зв'язаного Купруму, мг
1	1	0	4,0			
2	1	0,5	3,5			
3	1	1,0	3,0			
4	1	2,0	2,0			
5	1	3,0	1,0			

Вміст пробірок перемішують і фільтрують. З фільтрату відбирають 2 см³, додають 2 см³ розчину амоніаку й 2 см³ води. Вимірюють на фотоелектроколориметрі при 750 нм оптичну густина кожного зразка. Результати вимірів вносять у табл. 3.5.

По калібрувальному графіку визначають кількість Купруму, що залишилась в розчині. Розраховують кількість зв'язаного білком Купруму та будують графік залежності від концентрації білку.

5. Визначення здатності суміші білка і пектину зв'язувати іони Купруму.

У ряд пробірок вносять випробувані розчини в кількостях, зазначених у табл. 3.6.

Вміст пробірок фільтрують і для кожного фільтрату по інтенсивності забарвлення купрум амоніаку вимірюють оптичну густина. Результати вимірів вносять у табл. 3.6. За допомогою калібрувального графіка розраховують кількість зв'язаного Купруму та будують графік залежності від концентрації зв'язуючої речовини.

Таблиця 3.6 Результати виміру оптичної густини розчинів

№ з/п	CuSO ₄ , 4,0 %, см ³	Пектин. 0,5%, см ³	Білок, 0,5%, см ³	Вода, см ³	Оптична густина (D)	Кількість Купруму в розчині, мг	Кількість зв'язаного Купруму, мг
1	1,0	1,0	0	3,0			
2	1,0	1,0	0,5	2,5			
3	1,0	1,0,	1,0	2,0			
4	1,0	1,0	1,5	1,5			
5	1,0	1,0	2,0	1,0			
6	1,0	0,0	1,0	3,0			
7	1,0	0,5	1,0	2,5			
8	1,0	1,0	1,0	2,0			
9	1,0	2,0	1,0	1,0			
10	1,0	3,0	1,0	0,0			
11	1,0	0,0	0,0	4,0			

6. Здатність крохмалю зв'язувати іони Купруму.

У ряд пробірок вносять випробувані розчини в кількостях, зазначених у табл. 3.7.

Таблиця 3.7 Результати виміру оптичної густини розчинів

№ з/п	CuSO ₄ , 4,0%, см ³	Крохмаль 1 %, см ³	Вода, см ³	Оптична густина (D)	Кількість Купруму в розчині, мг	Кількість зв'язаного Купруму, мг
1	1	0	4			
2	1	1	3			
3	1	2	2			
4	1	3	1			
5	1	4	0			

Вміст пробірок струшують, при необхідності фільтрують і у фільтратах визначають вміст іонів Купруму за прийнятою методикою. Будують графік залежності кількості зв'язаного Купруму від концентрації крохмалю.

7. На підставі отриманих результатів роблять висновок про здатність різних сполук взаємодіяти з іонами Купруму. Порівнюють зв'язувальну здатність пектину, білка і їхньої суміші.

Контрольні питання

1. Що таке вуглеводи? Наведіть класифікацію вуглеводів.
2. За допомогою якої реакції відрізняють редуруючі цукри від нередукуючих?
3. Наведіть схему гідролізу крохмалю.

4. Опишіть будову крохмального зерна.
5. Наведіть методи визначення вуглеводів та їх суть.
6. Які методи використовуються для визначення моно- та дисахаридів?
7. Що таке пектинові речовини, з яких мономерів вони побудовані?
8. Які методи використовується для визначення комплексоутворюючої здатності пектинових речовин?
9. Які методи використовується для кількісного визначення пектинових речовин?
10. За допомогою яких методів визначають фракційний склад вуглеводів?

4. ФЕНОЛЬНІ СПОЛУКИ

Фенольні сполуки – численний клас різноманітних органічних сполук, на які припадає 2-3% маси органічної речовини плодів і овочів. Відмітною особливістю цих сполук є шестичленне кільце бензолу з приєднаними до його атомів гідроксильними групами.

Залежно від будови молекули, фенольні сполуки класифікують на такі групи: мономерні фенольні сполуки, фенольні кислоти, кумарини та його похідні, флавоноїди, полімерні фенольні сполуки.

Фенольні сполуки характеризуються антиоксидантною активністю тобто захищають ліпіди біологічних мембран від передчасного старіння. Найбільш виражену активність мають кварцетин, рутин й інші флаваноїди.

Участь фенольних сполук у формуванні споживчих властивостей плодів і овочів обумовлена їх смаковими, ароматичними і фарбувальними властивостями.

Завдяки бактерицидним властивостям, здатності взаємодіяти із солями важких металів, вільними радикалами, алкалоїдами фенольні сполуки запобігають накопиченню шкідливих речовин в організмі людини. Крім того, фенольні сполуки використовують як протизапальний, жовчогінний, протиалергічний, судинорозширювальний засоби. Застосовують при виразковій хворобі шлунка, бронхіальній астмі, нирковій недостатності, при хворобах серця і судин.

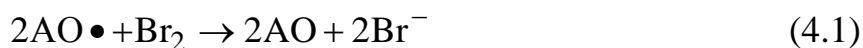
Багато фенольних сполук мають Р-вітамінну активність, зміцнюючи кровоносні судини, знижуючи тиск, сприяючи кращому засвоєнню аскорбінової кислоти, а завдяки антиоксидантній активності попереджають явища раннього склерозу і старіння.

При зберіганні та переробці плодів та овочів відбуваються кількісні й якісні зміни фенольних сполук. Кількість їх може зменшуватися за рахунок гідролізу і використання на дихання. В окремих випадках відбувається біосинтез поліфенолів. Можливі їх взаємні перетворення, наприклад, при гідролізі таніну утворюються фенолокислоти, а при конденсації катехінів – конденсуючи дубильні речовини.

При переробці фенольні речовини можуть піддаватися необоротному окисленню, викликаючи потемніння продукту, вступати у взаємодію з іонами важких металів. Одна з причин зміни кольору продуктів переробки – комплекси, що утворюються з Алюмінієм та Ферумом.

Лабораторна робота 4.1. Визначення загальної антиоксидантної активності методом кулонометричного титрування

Кулонометричний метод визначення загальної антиоксидантної активності засновано на здатності бром у реагувати з більшістю біологічно-активних речовин, що мають антиоксидантну активність за реакцією

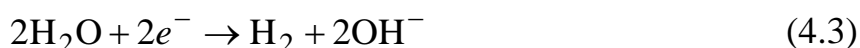


Молекулярний бром електрогенерується окисненням Бромід-іону на графітовому аноді за реакцією:



Для цього в аналізовану розчин додають Бромід-іон в кількості значно більшій ніж потрібно для протікання реакції (4.1). Це дозволяє підтримувати постійне значення потенціалу генеруючого аноду та виключає можливість протікання на ньому другорядних реакцій.

На катоді протікає наступний процес:



Визначення кінцевої точки титрування відбувається потенціометрично.

Мета роботи: визначення загальної антиоксидантної активності рослинної сировини.

Обладнання і хімічний посуд: електрохімічна комірка, графітові електроди, платиновий електрод, каломельний електрод, міліамперметр, джерело постійного току, рН-метр, магнітна мішалка, піпетки 5, 10, 20 см³; мірний циліндр на 25 см³.

Реактиви та матеріали:

екстракційний розчин рослинної сировини;

сульфатна кислота концентрована;

KBr 0,2 моль/дм³ розчин;

вода дистильована.

Методика виконання:

1. В хімічний стакан додаємо 250 см³ дистильованої води та 2,5 см³ концентрованої H₂SO₄. Стакан ставимо на магнітну мішалку, додаємо магніт та перемішуємо. Після цього додаємо 20 см³ KBr і знову перемішуємо. Доводимо дистильованою водою до позначки 300 см³. Приготованим розчином заповнюємо капіляр Лугіна, та занурюємо до нього графічний катод. Додаємо в стакан 5 см³ досліджуваного розчину.

2. Включаємо міліамперметр. Силу струму підтримуємо на рівні 1 мА.

3. Кожні 5 хвилин знімаємо показання рН-метру, та заносимо їх до таблиці 4.1. Як тільки значення φ почнуть зростати, час індикації зменшуємо до 1 хвилини. Після стабілізації рН знімаємо ще 5 значень кожні 5 хвилин та завершуємо експеримент.

Таблиця 4.1 Результати кулонометричного титрування

t, хв.				
φ, мВ				

4. За даними експерименту будемо графік залежності φ від часу та визначаємо час закінчення реакції (4.1).

5. Розраховуємо загальну антиоксидантну активність (Кл/100 г) речовини за формулою

$$\text{А.О.А.} = \frac{I \cdot t \cdot V_0 \cdot 100}{V_x \cdot m} \quad (4.4)$$

де I – сила струму, А; t – час електролізу, с; V_0 – об'єм розчину екстракту, см³; V_x – об'єм проби, см³; m – маса наважки сировини, г.

6. Після порівняння А.О.А. різних видів рослинної сировини, робимо висновок щодо антиоксидантних властивостей досліджуваних екстрактів.

Контрольні питання

1. Що таке фенольні сполуки?
2. Класифікація фенольних сполук.
3. Роль фенольних сполук в продуктах харчування.
4. Що таке антиоксиданти?
5. Що обумовлює антиоксидантну активність фенольних сполук?
6. Які існують методи визначення антиоксидантної активності рослинної сировини?
7. У чому суть визначення загальної антиоксидантної активності методом кулонометричного титрування?
8. Опишіть прилад, який використовується під час визначення загальної антиоксидантної активності методом кулонометричного титрування.
9. Яка роль антиоксидантів у харчуванні людини?
10. Назвіть основні природні антиоксиданти.

Тема 5. ХАРЧОВІ КИСЛОТИ

Серед органічних сполук, що проявляють кислотні властивості, найбільш важливими є карбонові кислоти (від лат. *acidum carbonicum* - вугільна кислота). Молекули цих сполук складаються з вуглеводневого залишку та карбоксильної групи ($-\text{COOH}$). Наприклад, оцтова кислота має будову: CH_3-COOH .

Слід відзначити, що оцтова кислота одна з найбільш відомих кислот ще зі стародавніх часів. Знання про карбонові кислоти значно розширилось у кінці XVIII ст. завдяки роботам К. Шеєле, який виділив у чистому вигляді щавлеву, яблучну, лимонну, молочну та деякі інші кислоти. Згодом (1811-1820 р.р.) Шеврель у жирах ідентифікував масляну, пальмітинову та стеаринову кислоти. Тому карбонові кислоти часто називають жирними кислотами.

Карбонові кислоти застосовуються в харчовій промисловості у виробництві продуктів харчування, безалкогольних напоїв тощо.

Оцтова, яблучна, молочна, лимонна кислоти, які застосовуються для харчових цілей, поширені в рослинних та тваринних організмах, у живих організмах вони беруть участь в обміні речовин.

Карбонові кислоти за характером вуглеводневих залишків поділяють на аліфатичні (насичені й ненасичені), ароматичні та гетероциклічні. За кількістю карбоксильних груп кислоти поділяють на одноосновні, двоосновні та багатоосновні.

Велике значення мають кислоти, молекули яких містять декілька функціональних груп, наприклад, карбоксильну та гідроксильну групу (гідроксикислоти), карбоксильну та аміногрупу (амінокислоти).

Лабораторна робота 5.1. Визначення кислотності хліба

Кислотність хліба визначають за стандартом і виражають у і градусах кислотності.

Об'єм (cm^3 , мл) розчину натрій гідроксиду з молярною концентрацією речовини еквівалента NaOH 0,1 моль/ dm^3 , що витрачається на нейтралізацію кислот, які містить м'якушка хліба масою 100 г, відповідає числу градусів кислотності хліба.

Мета роботи: визначити кислотність хліба.

Обладнання і хімічний посуд: конічна колба місткістю 400 cm^3 , скляна паличка з гумовим наконечником, мікробюретка, фільтрувальний папір, конічні колби ємністю близько 100 cm^3 , піпетка ємністю 10 cm^3 .

Реактиви та матеріали:

хліб або хлібний вироб;
 NaOH 0,1 моль/ dm^3 розчин;
вода дистильована;
фенолфталеїн.

Методика виконання:

1. Відбір проби виробу.

Для визначення кислотності хліба відбирають середню пробу хліба чи хлібного виробу. Для цього вирізають із середини виробу шматочок масою 70 г, зрізають скоринку і підскоринковий шар загальною товщиною близько 1 см, а м'якушку беруть на аналіз.

2. Взяття наважки хліба з точністю до $\pm 0,01$ г. Наважка хліба (чи хлібного виробу) 20,00 г.

3. Приготування витяжки кислот з хліба.

Наважку хліба поміщають у суху конічну колбу об'ємом близько 400 см³ (або пляшку з широкою шийкою) з добре підігнутою пробкою.

У мірну колбу об'ємом 200 см³ наливають до риски дистильованої води кімнатної температури і близько 50 см³ цієї води переливають у колбу (чи пляшку) з хлібом. Хліб швидко розтирають скляною паличкою з гумовим наконечником доти, поки утвориться однорідна маса без помітних шматочків нерозтертого хліба. В одержану однорідну масу з мірної колби виливають решту води. Колбу (чи пляшку) щільно закривають пробкою, вміст її енергійно збовтують протягом 2 хв і залишають стояти за кімнатної температури на 10 хв. Потім знову збовтують суміш протягом 2 хв і залишають її стояти ще 8 хв.

Рідину обережно декантують крізь густе сито або марлю (чи фільтрувальний папір) у сухий стакан.

4. Підготовка мікробюретки (бюретки) до титрування.

У мікробюрегку заливають стандартний розчин натрій гідроксиду.

5. Підготовка розчинів витяжки кислот до титрування.

У три конічні колби (ємністю близько 100 см³) для титрування переносять піпеткою по 10 см³ одержаного розчину витяжки кислот з хліба, додають по 1-2 краплі розчину фенолфталеїну і перемішують.

6. Проведення титрування.

Вміст кожної колби по черзі титрують з мікробюретки стандартним розчином натрій гідроксиду до одержування світло-рожевого забарвлення, яке не зникає при стоянні протягом 1 хв. Знаходять середній об'єм розчину натрій гідроксиду (NaOH), який витрачається на титрування аліквоти витяжки кислот.

7. Обчислення кислотності хліба – χ (хліба). Обчислення градусів кислотності ведуть за формулою:

$$\chi(\text{хліба}) = \frac{C(\text{NaOH}) \cdot \bar{V}(\text{NaOH}) \cdot 200 \cdot 5}{10} \quad (5.1)$$

де χ (хліба) - градуси кислотності хліба;

C (NaOH) - молярна концентрація речовини еквівалента натрій гідроксиду, моль/дм³;

$\bar{V}(\text{NaOH})$ - середній об'єм розчину натрій гідроксиду, який витрачено на титрування однієї аліквоти витяжки кислот, см³;

5 - коефіцієнт для перерахунку на наважку хліба 100 г;

200 - об'єм дистильованої води, який взято для обробки наважки, см³;
10 - об'єм рідини, який взято для одного титрування, см³.

Лабораторна робота 5.2. Визначення кислотності молока

Кислотність молока визначають у градусах кислотності. Під градусами кислотності розуміють об'єм (см³, мл) розчину лугу з молярною концентрацією речовини еквівалента 0,1000 моль/дм³, який треба затратити для нейтралізації кислот, що містяться в молоці об'ємом 100 см³.

Мета роботи: визначити кислотність молока.

Обладнання і хімічний посуд: бюретка, конічні колби ємністю близько 100 см³, піпетка ємністю 5 см³, мірна пробірка.

Реактиви та матеріали:

молоко;
NaOH 0,1 моль/дм³ розчин;
вода дистильована;
фенолфталеїн.

Методика виконання:

1. Підготовка бюретки до титрування.

Бюретку заповнюють стандартним водним розчином натрій гідроксиду.

2. Підготовки молока до титрування. У три конічні колби для титрування (об'ємом близько 100 см³) переносять піпеткою по 5 см³ досліджуваного молока, додають, відміривши мірною пробіркою, 10 см³ дистильованої води, 1-2 краплі спиртового розчину індикатора фенолфталеїну з масовою часткою речовини 1% і перемішують.

3. Проведення титрування.

Вміст кожної колби по черзі титрують розчином натрій гідроксиду до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 1 хв. Знаходять середній об'єм розчину натрій гідроксиду, який витрачається на титрування однієї аліквоти молока.

4. Обчислення кислотності молока.

Кислотність молока обчислюють за формулою:

$$\chi(\text{молока}) = \frac{C(\text{NaOH}) \cdot \bar{V}(\text{NaOH}) \cdot 100}{V(\text{молока}) \cdot 0,1} \quad (5.2)$$

де χ (молока) - градуси кислотності молока;

C (NaOH) - молярна концентрація речовини еквівалента натрій гідроксиду, моль/дм³;

$\bar{V}(\text{NaOH})$ - середній об'єм розчину натрій гідроксиду, який витрачено на титрування однієї аліквоти молока, см³;

0,1 - коефіцієнт для перерахунку на розчин натрій гідроксиду з молярною концентрацією речовини еквівалента NaOH 0,1 моль/дм³;

V (молока) - об'єм молока, взятого для одного титрування, см³;

100 - об'єм молока, на який треба розраховувати градуси кислотності, см³.

Молоко задовільної якості повинно мати кислотність у межах 16 - 19 градусів. За меншої кислотності молоко вважається залуженим або розведеним водою. Кислотність понад 19 градусів свідчить про те, що молоко скисає або кисле.

Контрольні питання

1. Які речовини називаються кислотами?
2. Поясніть електронну будову карбоксильної групи.
3. Класифікація карбонових кислот.
4. Які кислоти належать до харчових?
5. Поясніть роль кислот як інгредієнтів, що визначають харчову цінність продуктів.
6. Поясніть роль кислот як функціональних інгредієнтів, що визначають смак харчових продуктів.
7. Які існують методи визначення кислот в харчових продуктах?
8. Що таке титруєма кислотність? Як її визначають?
9. У чому суть методів визначення кислотності хліба та молока?
10. Як використовуються кислоти в харчовій промисловості?

Тема 6. ВОДА ТА МІНЕРАЛЬНІ РЕЧОВИНИ

Харчові продукти містять різну кількість води. У плодах та овочах її 70-95 %, у м'ясі – 52-78 %, у рибі – 55-85 %, у молоці – 88 %, у хлібі – 35-50%, у цукрі – 0,14%.

Кількість води у харчових продуктах впливає на їх якість, активність мікробіологічних і біохімічних процесів, термін зберігання.

З підвищенням масової частки води продукти, які швидко псуються, не можуть довго зберігатись без консервування. Так, м'ясо, риба швидко уражаються бактеріями, а плоди й овочі – пліснявими грибами. Зерно з високою вологістю при зберіганні скоро зігрівається, проростає, пліснявіє, тоді як сухе зерно зберігається роками. Також довго зберігається борошно, крупи, сухі плоди.

При контакті з водою продукти здатні її поглинати. Особливо інтенсивно поглинається вода продуктами, що містять неденатуровані білки, фосфати, пектинові та інші речовини, які при цьому переходять у колоїдний, желеподібний стан.

Властивості харчових продуктів залежать як від масової частки води в них, так і від форми зв'язку її з окремими компонентами. В залежності від цього розрізняють хімічно зв'язану, адсорбційно зв'язану, осмотично поглинену та капілярну воду.

Різні стани води у харчових продуктах пов'язані між собою, між ними не спостерігається чіткої межі. При переробці й зберіганні продуктів вода може переходити із однієї форми в іншу.

В організмі людини й тварин виявлено більше 70 хімічних елементів, для частини з них установлені їх функції.

Приблизно 98,7 % атомів різних елементів організму людини припадає на чотири елементи, які виділяють як основні. Це Гідроген, Оксиген, Карбон і Нітроген. З цих елементів побудовані основні хімічні сполуки живого організму – білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди та ін.

Другу групу складають макроелементи, частка атомів яких в організмі приблизно 1,3 %. Це – Натрій, Кальцій, Фосфор, Сульфур, Калій, Хлор, Магній.

Частка атомів інших елементів організму, які належать до групи мікроелементів, складає менше 0,001 % (Ферум, Купрум, Цинк, Манган, Кобальт, Йод, Флуор та ін.). Вони виявлені у складі білків, ферментів та інших біологічно активних речовин.

Лабораторна робота 6.1. Визначення масової частки вологи прискореним методом висушування

Одним з найбільш точних методів визначення вологи є арбітражний метод. Сутність методу полягає у висушуванні наважки харчового продукту до постійної маси за температури 95...100 °С, залежно від виду продукту. Метод точний, але трудомісткий і тривалий, тому під час визначення вмісту вологи часто використовують прискорений метод висушування за підвищених температур.

Мета роботи: визначити масову частку вологи в зразках харчових продуктів.

Обладнання і хімічний посуд: сушильна шафа, аналітичні терези, бюкси.

Реактиви та матеріали:

досліджувані харчові продукти.

Методика виконання:

1. У попередньо висушену до постійної маси та зважену бюксу поміщають наважку подрібненого зразка. Наважку беруть залежно від виду продукту згідно табл. 6.1.

2. Бюкси з наважками поміщають у сушильну шафу, розігрітий до 140...145 °С, кришки у бюксів повинні бути відкриті і підкладені під дно. Під час встановлення бокси температура швидко знижується до 125...127 °С. Протягом 10...15 хвилин її доводять до необхідної температури залежно від виду продукту (табл. 6.1) і цей момент враховують початком сушіння. Бюксу з наважкою витримують строго встановлений час для кожного виду продукту.

3. Масову частку вологи ω (%) розраховують за формулою:

$$\omega = \frac{(m - m_1)}{m} \times 100 \quad (6.1)$$

де m – маса зразка до висушування, г; m_1 – маса зразка після висушування, г.

Таблиця 6.1. Умови висушування різних видів харчових продуктів

Назва продукту	Наважка, г	Температура висушування, °С	Тривалість висушування, хв.
Зерно, борошно, крупи, хліб та хлібобулочні вироби, макаронні вироби	5±0,01	130±2	40
Кондитерські вироби та напівфабрикати:			
- печиво всіх видів, вафлі;	3±0,01	130±2	30
- пряники, кекси, рулети, східні солодоці;	3±0,01	130±2	40
- інші вироби.	3±0,01	130±2	50

Чай	3±0,01	120±2	60
М'ясні продукти	3±0,0002	150±2	60

Лабораторна робота 6.2. Визначення зольності

Визначення загального вмісту золи засновано на спалюванні матеріалу і наступному кількісному визначенні залишку.

Мета роботи: визначення кількості золи в харчовому продукті.

Обладнання і хімічний посуд: керамічні або металеві тиглі, електроплитка, муфельна піч, ексикатор з CaCl₂, аналітичні терези.

Реактиви та матеріали:

30% H₂O₂.

нитратна кислота (ρ =1,40).

Методика виконання:

1. В муфельній печі прожарюють тиглі до постійної маси.
2. В тиглі поміщають наважку 1,0...5,0 г здрібненого матеріалу (величина наважки залежить від вмісту золи). Потім кожену наважку змочують 1...2 см³ етилового спирту, тиглі ставлять на електроплитку у витяжній шафі й сірником запалюють змочені спиртом наважки. Після того як спирт вигорить, матеріал продовжують спалювати на електроплитці.

3. Коли тиглі перестануть димити і наважки обвугляться (приблизно 30 хвилин) у кожний тигель додають 5...8 краплин концентрованої нитратної кислоти або стільки ж краплин 30 % гідроген пероксиду або стільки ж краплин 10 % розчину NH₄NO₃. Тиглі ставлять у слабо нагрітий муфель (100°C) для випарювання окислювачів. Потім температуру муфеля поступово збільшують до червоного розжарювання, що відповідає 600...650 °C; за цієї температури озолювання продовжують ще 30...40 хвилин.

Отримана зола залежно від аналізованого матеріалу може мати різноманітні кольори та відтінки.

4. Після прожарювання тиглі виймають із муфеля і ставлять в ексикатор для охолодження, після чого зважують із точністю до 0,5 мг.

5. Процентний вміст золи $X_{золи}$ (%) розраховують за формулою:

$$X_{золи} = \frac{(m_1 - m)}{m_2} \times 100 \quad (6.2)$$

де m_1 – маса тигля з золою, г; m – маса тигля, г; m_2 – маса наважки продукту, г.

Розходження між результатами дослідів не повинно перевищувати 5%.

Лабораторна робота 6.3. Визначення вмісту гемового Феруму в харчових продуктах

Ферум – життєво важливий для людини елемент, який входить до складу гемоглобіну, міоглобіну. Він відіграє первинну роль в багатьох біохімічних реакціях, забезпечує зв'язування і вивільнення Оксигену. Найпоширенішою причиною виникнення дефіциту Феруму є недостатній вміст його в раціонах – основному джерелі Феруму. Оптимальним фізіологічним способом вирішення проблеми профілактики нестачі Феруму є широке впровадження збагачених цим елементом продуктів підвищеної біологічної цінності, що містять гемовий Ферум, оскільки саме ця форма Феруму найбільш фізіологічна і виявляє найменший негативний вплив у зв'язку з можливістю передозування.

В основу методу визначення вмісту гемового Феруму в харчових продуктах покладено гемоглобінціанідний метод визначення гемоглобіну крові з використанням стандартного набору „Гемоглобін-Агат”. Гемоглобін крові при взаємодії із калій гексаціаноферратом (III) (червоною кров'яною сіллю) окислюється в метгемоглобін (гемоглобін), здатний створювати з ацетонціангідрином сполуку гемоглобінціанід (ціанметгемоглобін), оптична густина якого при 540 нм пропорційна концентрації гемоглобіну в зразку крові.

Мета роботи: визначити вміст гемового Феруму в сировині і харчових продуктах, що містять гемовий Ферум.

Обладнання і хімічний посуд: спектрофотометр СФ-46, колба мірна 1000 см³, піпетки на 0,01, 0,02 см³, градуйовані пробірки, штатив для пробірок.

Реактиви та матеріали:

трансформуючий реактив (калій гексаціаноферрат (III) 200 мг, натрій карбонат 1,0 г).

АЦГ (ацетонціангідрин) 0,5 см³ – 3 ампули.

калібрувальний розчин гемоглобіну, 120 г/дм³, 2 см³.

Методика виконання:

1. Визначення проводиться на спектрофотометрі СФ-46. Всі вимірювання проводяться на одній ширині щілини, бажано мінімальній. В якості холостої проби використовується трансформуючий розчин.

2. Приготування калібрувального розчину.

До 5 см³ трансформуючого розчину додати 0,02 см³ стандартного розчину гемоглобіну.

3. Приготування розчину досліджуваного продукту.

200 мг досліджуваного продукту розчиняють в 3 см³ води протягом 20 хвилин, періодично перемішуючи.

4. Для приготування досліджуваного розчину до 5 см³ трансформуючого розчину додати 0,1 см³ розчину досліджуваного продукту.

5. Визначити оптичну густину калібрувального і досліджуваного розчинів при 750 і 540 нм.

Концентрацію гемового Феруму (г/кг) розраховують за формулою:

$$C = \frac{(D_{540} - D_{750})_{\text{досліджуваного розчину}}}{(D_{540} - D_{750})_{\text{калібрувального розчину}}} \times 1,35 \quad (6.3)$$

де D_{540} та D_{750} – оптична густина розчинів при 540 і 750 нм; 1,35 – розрахунковий коефіцієнт.

6. Роблять висновок щодо вмісту гемового Феруму в досліджуваному продукті.

Контрольні питання

1. Яка роль води у харчових продуктах та сировині?
2. Які існують форми зв'язку вологи в харчових продуктах?
3. Які існують методи визначення вологи?
4. Як визначається масова частка золи?
5. Яка функція води та мінеральних речовин в організмі?
6. Чим озолення відрізняється від висушування?
7. За якої мети під час озолення додають H_2O_2 ?
8. За якої температури ведеться висушування та озолення?
9. Які зміни відбуваються з мінеральними речовинами під час технологічної обробки?
10. Що таке активність води? Який зв'язок між стійкістю продукту під час зберігання і активністю води?

Тема 7. ВІТАМІНИ

Вітаміни – це органічні низькомолекулярні речовини, різні за хімічною природою та фізико-хімічними властивостями, які потрібні в невеликих кількостях для забезпечення життєдіяльності людини й тварин. Синтезуються вітаміни, в основному, в рослинних організмах, тому в організми людини та тварин вони повинні надходити з продуктами харчування.

При недостатньому надходженні вітамінів розвиваються захворювання, які мають назву гіпо- або авітамінозу, а при нестачі або відсутності кількох вітамінів – поліавітамінозу. Надмірне надходження вітамінів (особливо, жиророзчинних А і В) також негативно впливає на організм людини і призводить до гіпервітамінозу, який проявляється як гостре отруєння. Ознаками гіпервітамінозу є втрата апетиту, збудження нервової системи.

Перші дані про вітаміни були одержані у 1880 році М. І. Луніним. Він показав, що для нормального розвитку організму їжа, крім білків, вуглеводів та жирів, повинна містити ще якісь невідомі на той час речовини. Систематичні дослідження вітамінів розпочались на початку ХХ ст., після того як у 1911 р. польський дослідник К. Функ виділив із рисових висівок речовину, що запобігала розвитку поліневриту в піддослідних тварин. У складі цієї речовини було виявлено аміногрупу. Враховуючи важливість цієї речовини для життя К. Фугас дав їй назву «вітамін» (від лат. *vita* – життя та *amin* – амін).

Тепер відомо біля 30 вітамінів та вітаміноподібних речовин. Вітаміни в організмі виконують різні регуляторні функції, наприклад, регулюють обмін речовин, забезпечують нормальне функціонування деяких органів та систем організму тощо. До вітаміноподібних речовин належать сполуки, які синтезуються в організмі в недостатній кількості, або для яких крім регуляторних функцій характерні інші, наприклад, пластичні, енергетичні та ін.

Спочатку вітаміни позначали літерами латинського алфавіту (наприклад, А, В, С, В). Після встановлення будови та вивчення фізіологічної дії на організм для вітамінів почали застосовувати раціональні хімічні назви, наприклад, аскорбінова кислота, нікотинамід, ретинол тощо).

Застосовують вітаміни у харчовій промисловості для вітамінізації продуктів, у медицині й ветеринарії – для лікування та профілактики захворювань і підвищення продуктивності тварин. Добувають вітаміни шляхом хімічного (В₁, В₆, А, С) та мікробіологічного синтезу (В₂, В₁₂) або виділяють із природних джерел.

За фізіологічною дією вітаміни поділяють на групи: вітаміни, що підвищують загальну реактивність організму (В₁, В₂, РР, А, С), антигеморагічні (С, Р, К), антианемічні (В₁₂, В_с, С), антиінфекційні (А, С). За фізико-хімічними властивостями вітаміни поділяють на водорозчинні та жиророзчинні.

Лабораторна робота 7.1. Визначення аскорбінової кислоти (вітамін С)

Визначення вітаміну С в харчових продуктах засновано на визначенні безпосередньо аскорбінової кислоти (АК) без врахування окисленої форми вітаміну С – дегідроаскорбінової кислоти (ДАК).

Для цілей рутинного аналізу найбільш легко і доступно визначення методом візуального титрування з використанням кількісного окислювання аскорбінової кислоти розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію. Проте цей метод застосовується тільки для об'єктів дослідження, що дають світло-забарвлені екстракти. В інших випадках використовують метод потенціометричного титрування, спектрофотометричний та флюорометричний методи аналізу, які застосовні для будь-яких об'єктів дослідження.

Мета роботи: визначення вмісту аскорбінової кислоти в різних харчових продуктах.

Обладнання і хімічний посуд: конічні колби, мірні циліндри, градуйовані піпетки, бюретка, рН-мілівольтметр, мікробюретка, магнітна мішалка.

Реактиви та матеріали:

розчин 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію;
стандартний розчин аскорбінової кислоти 0,01 %;
трилон Б (ЕДТА);
щавлева кислота, 2 % розчин;
хлоридна кислота, 2 % розчин;
трихлороцтова кислота, 3 % розчин;
метафосфорна кислота, 6 % розчин.

Методика виконання:

1. Підготовка середньої проби до аналізу.

Підготовка проб до аналізу здійснюється безпосередньо перед аналізом. Виділення вітаміну необхідно здійснювати можливо швидше, без використання підвищеної температури, не на яскравому світлі і при мінімальному контакті зразка з киснем повітря.

Зі здрібненої та перемішаної проби беруть наважку не менш 0,5...1 г, зважену з похибкою $\pm 0,0001$ г. При розрахунку маси необхідної наважки можна користуватися наступною формулою 7.1:

$$m = \frac{10 \cdot V_{заг}}{V_{пр} \cdot B_{заявл}} \quad (7.1)$$

де m – наважка досліджуваного зразка, г; $V_{заг}$ – загальний об'єм екстракту, $см^3$; $V_{пр}$ – об'єм екстракту, узятото на титрування, $см^3$; $B_{заявл}$ – заявлений вміст аскорбінової кислоти в досліджуваному зразку, мг/100 г.

Наважку рідких проб (вітамінізовані соки, напої тощо) відбирають піпеткою. Наважку проб густої консистенції (сиropи, концентрати та ін.), що погано стікають із піпетки, беруть ваговим шляхом подібно твердим продуктам.

Потім у цих пробах визначають за загальними правилами густину для перерахування вмісту вітаміну на одиницю об'єму.

Визначення вітаміну С у зразках, що дають незабарвлені або слабо забарвлені екстракти

2. Визначення титру розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолята натрію.

До 1 см³ стандартного розчину аскорбінової кислоти додають 9 см³ обраного екстрагуючого розчину і титрують розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію до рожевого забарвлення, що не зникає протягом 15...20 с (V_m). У такий же спосіб титрують 10 см³ екстрагуючого розчину (V_k). Титр розчину, у мг вітаміну С, еквівалентних 1 см³ розчину 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію, обчислюють за формулою 7.2:

$$T = \frac{K}{V_m - V_k} \quad (7.2)$$

де K – кількість аскорбінової кислоти в 1 см³ стандартного розчину, мг.

3. Визначення вітаміну С у зразках, що дають незабарвлені або слабозабарвлені екстракти заснований на екстрагуванні аскорбінової кислоти або її солей розчином кислоти (хлоридною, щавлевою, трихлороцтовою, метафосфорною або сумішшю оцтової та метафосфорної) з наступним візуальним титруванням розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію до встановлення ясно-рожевого забарвлення.

Різні екстрагуючі розчини представлені в таблиці 7.1:

Таблиця 7.1 Екстрагуючі розчини для визначення аскорбінової кислоти

Екстрагуючий агент	Область застосування
2 % хлоридна кислота	Дражировані, таблетовані, капсульні, кристалічні форми БАД; збагачені продукти харчування. Без тривалого зберігання екстрактів. Крім продуктів з високим вмістом білка
2 % щавлева кислота	Те ж, але можливе зберігання екстрактів протягом 4...5 год.
3 % трихлороцтова кислота	Для всіх видів БАД і збагачених продуктів харчування, включаючи продукти з високим вмістом білка
Суміш оцтової та метафосфорної кислот	Те ж
6 % метафосфорна кислота	Те ж, можливе зберігання екстракту протягом 4...5 год.

Для приготування екстракту розраховану масу наважки зважують із похибкою $\pm 0,0001$ г. Потім гомогенізують її з невеликою кількістю вибраного екстрагуючого агента, після чого отриманий гомогенат кількісно переносять

у мірну колбу або мірний циліндр об'ємом $V_{заг}$, доводять до мітки екстрагуючим агентом, ретельно перемішують, настоюють 5...10 хв і фільтрують через складчастий фільтр або центрифугують. Для рідких харчових добавок необхідну кількість матеріалу відмірюють піпеткою і доводять до мітки екстрагуючим агентом у відповідній мірній колбі.

4. Для визначення аскорбінової кислоти 1...10 см³ екстракту із загальним вмістом аскорбінової кислоти близько 0,1 мг вносять піпеткою в конічну колбу місткістю 50 або 100 см³, доводять об'єм екстрагентом до 10 см³ і титрують розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію до слабо-рожевого забарвлення, що не зникає протягом 15...20 с. Аналогічно титрують рівний об'єм екстрагуючого агента (контроль на реактиви).

5. Обробка результатів вимірів.

Вміст аскорбінової кислоти (X), виражений в мг на 1 г харчового продукту обчислюють за формулою 7.3:

$$X = \frac{T \cdot (V_m - V_k) \cdot V_{заг}}{V_{пр} \cdot m} \quad (7.3)$$

де T – титр розчину 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію, мг/см³; V_m – об'єм розчину 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію, який пішов на титрування досліджуваного розчину, см³; V_k – об'єм розчину 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію, який пішов на контрольне випробування, см³; $V_{заг}$ – загальний об'єм екстракту, см³; $V_{пр}$ – об'єм екстракту, узятото на титрування, см³; m – наважка досліджуваного зразка.

Визначення вітаміну С у зразках, що дають забарвлені екстракти

6. Потенціометричне титрування.

У склянку об'ємом 50 см³ вносять піпеткою об'єм екстракту, що містить близько 0,1 мг аскорбінової кислоти (але не більше 25 см³), додають екстрагуючий розчин приблизно до об'єму 30 см³, занурюють електроди рН-мілівольтметра так, щоб при перемішуванні вони не торкалися магнітного стрижня мішалки.

Потім титрують потенціометрично з мікробюретки розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолята натрію. Розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолята натрію додають порціями по 0,1-0,2 см³ при постійному перемішуванні. Записують показання приладу в мілівольтах, що відповідає кожному доданому об'єму розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолята натрію.

Об'єм розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолята натрію, що відповідає точці еквівалентності встановлюють по максимальній різниці (стрижку) двох сусідніх показань приладу або по потенціометричній кривій залежності величини потенціалу в мілівольтах від об'єму розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолята натрію в см³.

Одночасно проводять контрольне випробування на вміст у продукті речовин, що редукують, так, як зазначено вище. Розчин титрують потенціометрично.

За результат титрування приймають середнє арифметичне результатів двох титрувань одного екстракту. При повторному титруванні в області передбачуваної точки еквівалентності розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолята натрію додають по 1-2 краплі.

7. Розрахунок вмісту аскорбінової кислоти проводять за формулою 7.3.

Контрольні питання

1. Як класифікують вітаміни?
2. Які вітаміни належать до водорозчинних, які до жиророзчинних?
3. Наведіть чинники, що зумовлюють руйнування вітамінів.
4. Які методи використовують для визначення вітаміну С в харчових продуктах?
5. У чому суть індофенольного методу визначення аскорбінової кислоти?
6. Як проводиться підготовка проби під час визначення вітаміну С?
7. Як відрізняється визначення вітаміну С в забарвлених екстрактах від незабарвлених?
8. Як визначають титр розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолята натрію?
9. У чому суть потенціометричного титрування?
10. Яке значення вітамінів в харчуванні людини?

Список рекомендованої літератури

1. Рогов, И. А. Химия пищи [Текст] / И. А. Рогов, Л. В. Антипова, Н. И. Дунченко – М.: Колос, 2007. – 835 с.
2. Пищевая химия [Текст] / А. П. Нечаев [и др.] – 2-е изд, перераб. и испр. – СПб.: ГИОРД, 2003. – 640 с.
3. Біологічна хімія [Текст] / Л. Ф. Павлоцька [та ін.] – Суми: Університетська книга, 2009. – 379 с.
4. Біологічна хімія [Текст] / Н. Г. Марінцова [та ін.] – Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2009. – 324 с.
5. Пасальський, Б. К. Хімія харчових продуктів [Текст] / Б. К. Пасальський : навч. посібник – К.: Київ. держ. торг.-екон. ун-т, 2000. – 196 с.
6. Скурихин, И. М. Все о пище с точки зрения химика [Текст] / И. М. Скурихин, А. П. Нечаев — М.: Высшая школа, 1991. — 287с.
7. Голубев, В. Н. Основы пищевой химии [Текст] / В.Н. Голубев — М.: Биоинформсервис, 1997. – 223 с.
8. Вода в полимерах [Текст] / Под ред. Роуланда. – М.: Мир, 1984. — 315 с.
9. Толстогузов, В. Б. Новые формы белковой пищи [Текст] / В. Б. Толстогузов – М.: Агропромиздат, 1987. – 303 с.
10. Бобровник, Л. Д. Углеводы в пищевой промышленности [Текст] / Л. Д. Бобровник, Г. А. Лезенко – К.: Урожай, 1991. – 112 с.
11. Хімія жирів [Текст] : підручник для студентів спец. 7.091705 «Технологія жирів і жирозамінників» / Б. Н. Тютюнников [та ін.]; за ред. Ф. Ф. Гладкого. – Х. : НТУ «ХПІ», 2002. – 449 с.

Навчальне видання

Укладачі:

ЄВЛАШ Вікторія Владленівна
ПЕСТІНА Ганна Олександрівна
ОТРОШКО Наталія Олександрівна
ГОРАЛЬЧУК Андрій Богданович

ХАРЧОВА ХІМІЯ

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
для виконання лабораторних робіт студентами
напряму підготовки 6.051701 «Харчові технології та інженерія»
піднапрям «Харчова інженерія»

Підп. до друку	Формат 60x84/16. Папір офсет. Друк. офс.
Обл.-вид. арк.	Умов. друк. арк. Тираж прим. Зам. №

Видавець та виготовлювач
Харківський державний університет харчування та торгівлі
вул. Клочківська, 333, Харків, 61051
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи
ДК №2319 від 19.10.2005 р.

