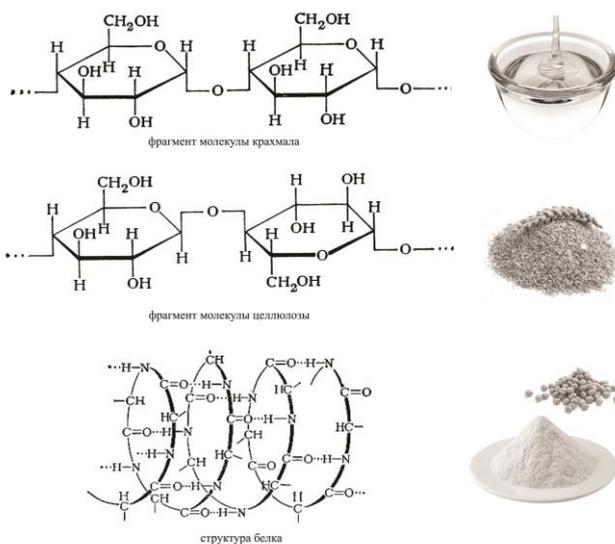


**Н. В. Баракова**

# **БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ СВОЙСТВ ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ**



Санкт-Петербург  
2020

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**УНИВЕРСИТЕТ ИТМО**

**Н. В. БАРАКОВА**

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ  
СВОЙСТВ ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ**

**Учебно-методическое пособие**

**РЕКОМЕНДОВАНО К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В УНИВЕРСИТЕТЕ ИТМО**  
по направлению подготовки 19.04.01  
в качестве учебно-методического пособия для реализации основных профессиональных  
образовательных программ высшего образования магистратуры

 **УНИВЕРСИТЕТ ИТМО**

**Санкт-Петербург  
2020**

УДК 663.5

Баракова Н.В. Биотехнологическая модификация свойств пищевого сырья: Учебно-методическое пособие для проведения лабораторных работ. – СПб.: Университет ИТМО, 2020. – 55 с.

Рецензент: Новоселов Александр Геннадьевич, доктор техн. наук, профессор факультета пищевых биотехнологий и инженерии, Университет ИТМО.

В пособии представлен лабораторный практикум по биотехнологической модификации свойств пищевого сырья. Проводится ферментативная модификация крахмала, белка, пищевых волокон. Выполняются расчеты сырья и ферментных препаратов. На основе модифицированного сырья готовятся продукты питания. Проводится анализ сырья, полуфабрикатов и готовой продукции. Даны контрольные вопросы для закрепления полученных знаний и навыков, приведены требования к оформлению отчетов, составляемых по результатам проведенной работы.

Предназначено к использованию по направлению подготовки 19.04.01 в качестве учебного пособия для реализации основных профессиональных программ высшего образования магистратуры



**Университет ИТМО** – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 в 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© *Университет ИТМО, 2020*

© Н.В. Баракова, 2020

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ КРАХМАЛА.....	5
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1. Получение и анализ крахмальной патоки... 5	5
1.1. Выбор и анализ сырья .....	5
1.2. Выбор и расчет ферментных препаратов .....	7
1.3. Получение крахмальной патоки.....	8
1.4. Анализ крахмальной патоки .....	10
1.5. Составление отчета по лабораторной работе 1 .....	20
ГЛАВА 2. ПРИМЕНЕНИЕ КРАХМАЛЬНОЙ ПАТОКИ В ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВАХ .....	22
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 2. Применение крахмальной патоки в бродительных производствах .....	22
2.1. Расчет сырья и приготовление инвертного сахарного сиропа.....	23
2.2. Выбор рецептуры, продуктовый расчет, приготовление и анализ плодово-ягодного вина .....	23
2.3. Приготовление и анализ ягодного сока.....	24
2.4. Расход сахарного сиропа и крахмальной патоки.....	26
2.5. Приготовление сбразживаемого сусла.....	27
2.6. Составление отчета по лабораторной работе 2 .....	30
ГЛАВА 3. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКА. 31	31
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3. Получение и анализ гидролизатов растительного белка.....	31
3.1. Выбор и анализ сырья .....	31
3.2. Выбор и расчет ферментных препаратов .....	32
3.3. Получение гидролизатов растительного белка .....	35
3.4. Анализ гидролизатов растительного белка.....	36
3.5. Составление отчета по лабораторной работе 3 .....	38
ГЛАВА 4. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПИЩЕВЫХ ВОЛОКОН. 39	39
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 4. Ферментативная модификация пшеничных отрубей .....	40
4.1. Выбор и анализ сырья .....	40
4.2. Выбор и расчет ферментных препаратов .....	41
4.3. Ферментативная модификация отрубей.....	41
4.4. Анализ модифицированных отрубей.....	42
4.5. Составление отчета по лабораторной работе 4 .....	43
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	44
ПРИЛОЖЕНИЕ .....	45

## ВВЕДЕНИЕ

Модификация – это преобразование, усовершенствование, видоизменение чего-либо с приобретением новых свойств. При модификации компонентов растительного сырья происходит изменение структуры и химического состава вещества, что позволяет создавать новые виды пищевых продуктов функционального назначения.

Для расширения возможностей использования крахмалов в различных отраслях промышленности необходимо производство их с особыми свойствами, отличающимися от обычного крахмала. По характеру изменений в процессе модификации структуры полисахаридов крахмалы подразделяются на две группы: расщепленные, образовавшиеся в результате расщепления полисахаридных цепей, и замещенные – как результат присоединения других радикалов или путем совместной полимеризации с другими высокомолекулярными соединениями. Подбором условий модификации получают крахмалы с заданными свойствами, которые используются в хлебопекарном и кондитерском производствах, при выработке высококачественной бумаги и различных тканей с повышенной износоустойчивостью, применяются в качестве стабилизаторов суспензий глины при бурении скважин для добычи нефти и газа.

Биотехнологические методы воздействия на растительный белок позволяют получать гидролизаты различного состава, обладающие определенными технологическими и функциональными свойствами. Они могут быть использованы при производстве широкого спектра продуктов питания общего, функционального и лечебно-профилактического назначения.

Пищевые волокна на сегодняшний день являются одним из самых востребованных и наиболее широко применяемых пищевых ингредиентов благодаря их многофункциональности. С одной стороны, пищевые волокна используются как технологические добавки, изменяющие структуру и химические свойства пищевых продуктов, с другой стороны, пищевые волокна являются прекрасными функциональными ингредиентами, которые способны оказывать благоприятное воздействие как на отдельные системы организма человека, так и на весь организм в целом.

Цель настоящего издания – ознакомить обучающихся с ферментативными способами модификации основных компонентов растительного сырья – крахмала, белков, клетчатки, освоить методы расчета ферментных препаратов, необходимых для проведения их модификации, освоить методы анализа нативного и модифицированного растительного сырья.

Данное учебно-методическое пособие предназначено для магистрантов, обучающихся по направлению подготовки 19.04.01 Биотехнология, а также для аспирантов, занимающихся разработкой новых рецептур и технологий функциональных продуктов питания.

## **ГЛАВА 1. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ КРАХМАЛА**

Молекулы крахмала являются весьма реакционноспособными соединениями; они активно взаимодействуют с ионами металлов, кислотами, поверхностно-активными и другими веществами. Это позволяет модифицировать молекулы крахмала, изменять их гидрофильные свойства, параметры клейстеризации и студнеобразования, а также реологические характеристики студней.

Способы модификации крахмала – химический, физический, ферментативный. В результате ферментативного гидролиза крахмала амилолитическими ферментами получают крахмальные патоки с различным содержанием глюкозы, мальтозы и декстринов. Классифицируют патоки в зависимости от их углеводного состава, который определяется по общему содержанию редуцирующих веществ.

### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1. ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ КРАХМАЛЬНОЙ ПАТОКИ**

Цель лабораторной работы: освоить методику приготовления и анализа крахмальной патоки.

Для этого необходимо:

- выбрать и проанализировать сырье;
- выбрать и рассчитать ферментные препараты для приготовления крахмальной патоки;
- приготовить суспензию крахмала и внести ферментные препараты;
- провести водно-тепловую и ферментативную обработку суспензии крахмала, получить осахаренное сусло;
- провести концентрирование осахаренного сусла на роторно-испарительной установке;
- выполнить анализ полученной крахмальной патоки.

#### **1.1. Выбор и анализ сырья**

Сырьем для получения крахмальных патонок является кукурузный крахмал (ГОСТ 32159–2013. Крахмал кукурузный. Общие технические условия), картофельный крахмал (ГОСТ Р 53876–2010. Крахмал картофельный. Технические условия) и пшеничный крахмал (ГОСТ 31935–2012. Крахмал пшеничный. Технические условия).

Физико-химические показатели крахмала должны соответствовать следующим требованиям: массовая доля влаги – не более 14–16%; массовая доля общей золы в пересчете на сухое вещество – не более 0,2–0,3%; кислотность – не более 20–25 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия молярной

концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (0,1 н) на нейтрализацию кислот и кислых солей, содержащихся в 100 г сухого вещества крахмала; массовая доля протеина в пересчете на сухое вещество – не более 0,3–1,0%; содержание диоксида кремния (SiO<sub>2</sub>) – не более 50 мг/кг; примеси других крахмалов – не допускаются; цветная реакция с йодом – для амилодекстринового крахмала от красной до красно-фиолетовой, для других крахмалов – не нормируется.

По гигиеническим требованиям к безопасности пищевой продукции крахмал должен содержать, не более: свинца – 0,5 мг/кг, мышьяка – 0,5 мг/кг, кадмия – 0,1 мг/кг, ртути – 0,02 мг/кг.

По микробиологическим показателям крахмал должен соответствовать следующим требованиям: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов – 250–500 КОЕ/г.

### **Определение массовой доли влаги**

Массовая доля влаги в крахмале определяется методом высушивания до постоянной массы (ГОСТ Р 55802–2013). Сущность метода заключается в высушивании пробы крахмала при температуре (105±2) °С.

На дно тщательно вымытого и просушенного эксикатора помещают осушитель – кальций хлористый технический. Пришлифованные края эксикатора смазывают тонким слоем вазелина.

Открытую бюксу для взвешивания вместе с крышкой помещают в сушильный шкаф, нагретый до температуры (105±2) °С, и выдерживают в течение одного часа. Бюксу закрывают крышкой перед каждым взвешиванием, помещают для охлаждения в эксикатор и выдерживают перед взвешиванием не менее 30 минут. Взвешивание проводят с записью результата до третьего десятичного знака.

В предварительно высушенную до постоянной массы и взвешенную бюксу помещают крахмал массой 3–4 г. Взвешивание проводят с точностью до ±0,001 г.

Открытую бюксу с пробой и крышку помещают в шкаф и сушат в течение 2 часов. Началом сушки считают момент достижения температуры (105±2) °С после внесения бюксы в шкаф.

По истечении 2 часов бюксу вынимают из шкафа, закрывают крышкой, ставят на 30 минут для охлаждения и взвешивают с записью результата до третьего десятичного знака.

Массовую долю влаги  $X$ , %, вычисляют по формуле

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

где  $m_1$  – масса бюксы с крахмалом до высушивания, г

$m_2$  – масса бюксы с крахмалом после высушивания, г

$m$  – масса бюксы, г

100 – множитель для пересчета массовой доли влаги в проценты.

Вычисления проводят до второго десятичного знака.

## 1.2. Выбор и расчет ферментных препаратов

Выбор ферментных препаратов проводится на основании технологической инструкции или сертификата, которые прилагаются к данным ферментным препаратам. При проведении данной лабораторной работы используются ферментные препараты компании «Эрбслё Гайзенхайм АГ», активность и оптимум действия которых приведены в Таблице 5 Приложения. Выбирая препараты, необходимо учитывать оптимум действия ферментов, входящих в их состав – температуру и рН среды.

Расход ферментных препаратов рассчитывается исходя из активности ферментного препарата и дозировки внесения фермента на 1 г условного крахмала сырья.

**Пример 1.** Рассчитать расход ферментного препарата для разжижения 50 г крахмала. Использовать ферментный препарат Дистицим БА-Т Специал.

Согласно Таблице 5, активность ферментного препарата составляет 950 ед. АС/мл. Доза внесения фермента – 2,0 ед. АС на 1 г крахмала.

Всего необходимо единиц АС

$$\frac{50\text{г} \cdot 2\text{едАС}}{1\text{г}} = 100\text{ед.АС}$$

В 1 мл ферментного препарата содержится 950 ед. АС. Для внесения 100 ед. АС необходимо

$$\frac{100\text{ед.АС} \cdot 1\text{мл}}{950\text{ед.АС}} = 0,001\text{мл ферментного препарата.}$$

При ферментативной обработке небольшого количества крахмала в лабораторных условиях требуется небольшое количество ферментного препарата, поэтому для удобства внесения следует предварительно разбавить препарат в дистиллированной воде. Если препарат разбавляется в  $n$ -е количество раз, то его активность снижается также в  $n$  раз, и тогда расчет ведется следующим образом:

1 мл ферментного препарата активностью 950 ед. АС/мл разбавляем в 20 раз (можно разбавлять в любое количество раз: 10, 20, 50, 100 и т.д.), то есть к 1 мл препарата добавляем 19 мл воды. В разведенном растворе ферментного препарата единиц активности будет

$$\frac{950\text{ед.АС} \cdot}{20} = 47,5 \text{ ед. АС.}$$

На 50 г крахмала необходимо внести 100 ед. АС. 1 мл разбавленного в 20 раз ферментного препарата содержит 47,5 ед. АС, следовательно, разбавленного ферментного препарата необходимо взять

$$\frac{100\text{ед.АС} \cdot 1\text{мл}}{47,5\text{ед.АС}} = 2,0\text{мл}.$$

**Пример 2.** Рассчитать расход ферментного препарата для разжижения 50 г крахмала.

Пусть согласно сертификату один грамм ферментного препарата содержит 75,5 КНУ\*. Плотность препарата – 1,250, следовательно, 75,5 КНУ содержится в 0,8 мл ферментного препарата, а в 1,0 мл – 94,38 КНУ.

1 КНУ гидролизует 5,26 г крахмала. Тогда для гидролиза 50 г крахмала потребуется

$$\frac{50}{5,26} = 9,52 \text{ КНУ.}$$

Так как в 1 мл ферментного препарата содержится 94,38 КНУ, для внесения 9,52 ед. необходимо

$$\frac{9,52}{94,38} = 0,1 \text{ мл ферментного препарата.}$$

Если препарат разбавляется в  $n$ -е количество раз, то его активность снижается также в  $n$  раз, и тогда расчет ведется следующим образом:

1 мл ферментного препарата с активностью 94,38 КНУ разбавляем, например, в 20 раз, тогда в разведенном ферментном препарате будет

$$\frac{94,38}{20} = 4,72 \text{ КНУ.}$$

Если на 50 г крахмала необходимо внести 9,52 КНУ, а в 1 мл разбавленного в 20 раз ферментного препарата содержится 4,72 КНУ, то разбавленного ферментного препарата необходимо взять

$$\frac{9,52}{4,72} = 2 \text{ мл.}$$

### 1.3. Получение крахмальной патоки

Крахмальная патока представляет собой продукт, вырабатываемый из крахмала путем гидролиза крахмала с применением кислот и/или амилитических ферментных препаратов. После гидролиза крахмала суспензии фильтруют, обесцвечивают и сгущают.

Для ферментативного гидролиза крахмала необходимо вносить ферментные препараты Дистицим БА-Т Специал, продуцент – *Bacillus licheniformis*, основной фермент –  $\alpha$ -амилаза, активность – 950 ед. АС/мл, диапазон действия – 30-110 °С, рН 4,0-8,0 и Дистицим АГ, продуцент – *Aspergillus niger*, основной фермент – глюкоамилаза, активность – 6500 ед. ГлС/мл, температура действия – 30-70 °С, рН – 3,0-7,0.

Гидролиз крахмала проводится по следующей схеме. Берется 50 г крахмала и 150 мл воды температурой 50 °С, вносится ферментный препарат Дистицим БА-Т Специал (доза внесения, например, 2 ед. АС на 1 г

---

\*КНУ (kilo Novo unit) – единица амилазной активности, определяемой по методике «Новозаймс». 1 КНУ  $\alpha$ -амилазы в оптимальных условиях гидролизует 5,26 г крахмала в течение часа. Если в сертификате ферментного препарата указано 120 КНУ, то он способен гидролизовать в 120 раз большее количество крахмала также в течение часа.

крахмала). Количество разбавленного 1:20 ферментного препарата составит 2,1 мл. Далее в крахмальную суспензию вносится разбавленный ферментный препарат, и замес выдерживается 30 минут при температуре 50 °С с постоянным перемешиванием. Затем температуру повышают до 80 °С и выдерживают суспензию при этой температуре в течение 2 часов.

Далее крахмальную суспензию охлаждают до 60 °С и вносят ферментный препарат Дистицим АГ для полного гидролиза крахмала. Количество разбавленного 1:20 ферментного препарата составит 0,3 мл. Осахаривание проводится 30 минут при температуре 60 °С. По окончании осахаривания проводится инактивация ферментов при температуре 90 °С в течение 5 минут. Полученное сусло охлаждают и центрифугируют на лабораторной центрифуге Rotanta-460 30 минут со скоростью вращения ротора 4600 мин<sup>-1</sup>. После центрифугирования и отстаивания осахаренного сусла декантируют\* и взвешивают жидкую фракцию и определяют массовую долю сухих веществ на рефрактометре Index Instruments PTR 46.

Далее из жидкой фракции осахаренного сусла выпаривают лишнюю часть жидкости, чтобы получить концентрированный раствор с содержанием сухих веществ 78%. Выпаривание воды проводится на роторном испарителе «Laboratory Varog» при температуре 60 °С и разрежении 0,08 МПа до получения густой сиропообразной массы. Расчет количества воды, которое необходимо выпарить, проводится на основании материального баланса сухих веществ в сусле до концентрирования на испарителе и после.

**Пример.** После центрифугирования осахаренного сусла и декантирования\* жидкой фракции с осадка получили 800 г сусла с содержанием сухих веществ 23%. Необходимо рассчитать, сколько воды следует выпарить, чтобы получить крахмальную патоку с массовой долей сухих веществ 78%.

В 100 г осахаренного сусла с массовой долей сухих веществ 23% содержится 23 г сухих веществ, тогда в 800 г осахаренного сусла с массовой долей сухих веществ 23% содержится

$$\frac{80 \cdot 23}{100} = 184 \text{ г сухих веществ.}$$

Если в 100 г крахмальной патоки содержится 78 г сухих веществ, то, чтобы в готовой патоке содержалось 184 г сухих веществ, ее масса должна составить

$$\frac{184 \cdot 100}{78} = 236 \text{ г.}$$

Количество воды, которое необходимо выпарить: 800 – 236 = 564 г.

---

\*Декантирование – механическое отделение твердой фазы дисперсной среды (суспензии) от жидкой путем сливания раствора с осадка.

#### 1.4. Анализ крахмальной патоки

Анализ крахмальной патоки проводится согласно ГОСТ Р 33917–2016. Патока крахмальная. Общие технические условия.

Основные физико-химические показатели патоки должны соответствовать требованиям и нормам, указанным в Таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Норма для патоки				
	Низкоосахаренной	Карамельной		Мальтозной	Высокоосахаренной
		Кислотной	Ферментативной		
Массовая доля сухих веществ, %	78				
Массовая доля редуцирующих веществ в сухом веществе (глюкозный эквивалент), %	26–35	36–44	36–44	38–70	45 и более
Водородный показатель (рН)	3,5–6,0				
Кислотность – расход 0,1 н NaOH на нейтрализацию (в пересчете на 100 г сухого вещества: • картофельного и других видов клубневого крахмала, см <sup>3</sup> , не более • кукурузного и других видов зернового крахмала, см <sup>3</sup> , не более	27		Не нормируется		
	15		Не нормируется		
Цвет йодной пробы	Не нормируется		Желтый разных оттенков		

#### Определение массовой доли сухих веществ рефрактометрическим методом (для всех видов патоки)

Сущность метода заключается в определении показателя преломления патоки и вычислении массовой доли сухого вещества. Метод применим при содержании сухого вещества 30–86%.

### *Приборы и реактивы*

Рефрактометр с диапазоном измерения показателя преломления от 1,2 до 1,7 и пределом допускаемой основной погрешности  $\pm 0,0001$ ; стаканы стеклянные вместимостью 100 см<sup>3</sup>; пипетка пластмассовая; бумага фильтровальная лабораторная; вода дистиллированная.

### *Проведение анализа*

Перед измерением проверяют исправность рефрактометра по дистиллированной воде.

С помощью пластиковой пипетки наносят небольшое количество (2–4 капли) патоки на измерительную призму рефрактометра и немедленно закрывают крышкой. Измеряют показатель преломления согласно инструкции по эксплуатации прибора. Проводят два параллельных определения.

### *Обработка результатов*

По показателю преломления определяют массовую долю сухого вещества, используя Таблицы 8–13 Приложения. За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений. Пересчет показателя преломления в массовую долю сухого вещества низкоосахаренной патоки проводят по Таблице 8 Приложения, карамельной патоки – по Таблице 9, мальтозной патоки – по Таблице 10, высокомальтозной патоки (мальтозы более 65%) – по Таблице 11, низкоосахаренной патоки (массовая доля редуцирующих веществ 45–80%) – по Таблице 12, высокоосахаренной патоки (массовая доля редуцирующих веществ более 80%) – по Таблице 13.

## **Определение массовой доли сухих редуцирующих веществ методом Лейна-Эйна (для всех видов патоки)**

Одним из основных показателей крахмальной патоки наряду с содержанием сухих веществ является присутствие редуцирующих веществ. Редуцирующими веществами крахмальной патоки называется часть сухих веществ, которая способна к реакции окисления солями поливалентных металлов. К такой реакции способны альдегидные и кетонные группы различных сахаров (глюкозы, фруктозы, мальтозы и т. д.)

Сахароза не содержит свободных карбонильных групп и не является редуцирующим сахаром.

Сущность метода заключается в сравнении восстанавливающей способности раствора патоки с восстанавливающей способностью глюкозы по смеси растворов Фелинга в присутствии индикатора метиленового синего.

### *Приборы и реактивы*

Весы лабораторные; электроплитка бытовая или газовая горелка; термометр технический с диапазоном измерения от 0 до 100 °С; секундо-

мер механический или электронный; мешалки лабораторные или магнитные; стаканы стеклянные вместимостью 50, 100 и 250 см<sup>3</sup>; колбы плоскодонные вместимостью 100 см<sup>3</sup>; щипцы металлические для зажима колбы; колбы мерные вместимостью 500 см<sup>3</sup>; воронки стеклянные лабораторные; пипетка вместимостью 25 см<sup>3</sup>; бюретка вместимостью 25 см<sup>3</sup>; цилиндры мерные вместимостью 100 см<sup>3</sup> и 250 см<sup>3</sup>; бумага фильтровальная; титратор автоматический.

Медь сернокислая; калий-натрий виннокислый; натрия гидроокись; D-глюкоза х.ч. или глюкоза кристаллическая гидратная перекристаллизованная; метиленовый синий 1% водный раствор; вода дистиллированная.

### *Приготовление растворов*

#### **Раствор Фелинга I**

В стеклянном стакане взвешивают перекристаллизованную сернокислую медь массой 34,64 г, растворяют в дистиллированной воде, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup>, тщательно перемешивают и при температуре раствора 20 °С доводят его объем дистиллированной водой до метки. Раствор Фелинга хранят в стеклянном флаконе не более 6 месяцев.

#### **Раствор Фелинга II**

В стеклянном стакане взвешивают виннокислый калий-натрий массой 173,00 г и растворяют в дистиллированной воде. Также взвешивают гидроокись натрия массой 50,00 г и отдельно растворяют в 100,00 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Оба раствора количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup>, тщательно перемешивают и при температуре смеси 20 °С доводят ее объем дистиллированной водой до метки. Раствор Фелинга хранят в полимерном флаконе не более 3 месяцев.

#### **Смесь растворов Фелинга**

Растворы Фелинга I и II соединяют в соотношении 1:1 и тщательно перемешивают. Смесь растворов Фелинга хранят в полимерном флаконе при комнатной температуре не более 1 недели.

#### **Стандартный раствор глюкозы**

В стеклянном стакане взвешивают химически чистую абсолютно сухую глюкозу массой 5,000 г, растворяют в дистиллированной воде, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup>, тщательно перемешивают и при температуре раствора 20 °С доводят его объем дистиллированной водой до метки. Раствор хранят при комнатной температуре не более 2 суток или в замороженном состоянии не более года.

### *Подготовка к проведению анализа*

Определение фактора растворов Фелинга.

Фактором растворов Фелинга называют число, соответствующее объему в кубических сантиметрах стандартного раствора глюкозы, затраченному на титрование 25 см<sup>3</sup> смеси растворов Фелинга.

#### *Предварительное титрование*

В плоскодонную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> пипеткой вносят 25 см<sup>3</sup> смеси растворов Фелинга, перемешивают, вносят несколько капель раствора индикатора метиленового синего. Затем раствор доводят до кипения на электрической плитке или на пламени газовой горелки, кипятят 2 минуты, вносят несколько капель раствора индикатора метиленового синего и из бюретки титруют при непрерывном перемешивании стандартным раствором глюкозы до перехода окраски индикатора из синей в бесцветную. Отмечают объем, пошедший на титрование.

#### *Окончательное титрование*

В плоскодонную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> пипеткой вносят 25 см<sup>3</sup> смеси растворов Фелинга и перемешивают. Смесь доводят до кипения на электрической плитке или на пламени газовой горелки, кипятят 2 минуты и из бюретки вносят стандартный раствор глюкозы в таком количестве, чтобы для окончательного дотитровывания оставалось 0,5 см<sup>3</sup> (по результатам предварительного титрования).

Содержимое колбы снова нагревают до кипения, постоянно перемешивая вращением колбы. Раствор кипятят 2 минуты, затем быстро добавляют 2–4 капли раствора метиленового синего, а из бюретки, установленной над колбой, быстро дотитровывают по каплям до перехода окраски индикатора из синей в бесцветную. Отмечают объем, пошедший на титрование. Титрование должно быть быстрым, чтобы кипение раствора в колбе составляло около 3 минут.

Титрование проводят три раза. Вычисляют среднеарифметическое значение объема, пошедшего на титрование. Это число является фактором растворов Фелинга. Фактор растворов Фелинга необходимо определять для каждой партии свежеприготовленного раствора.

#### *Проведение анализа*

В стеклянный стакан помещают навеску патоки, масса которой зависит от массовой доли редуцирующих веществ (Таблица 2).

Таблица 2.

**Зависимость массы навески от содержания сухих веществ в патоке**

Массовая доля сухих веществ, %	Масса навески, г
28–35	18–19
36–40	13–15
40–45	12–13
45–60	9–10
60–80	7–9
более 80	5–7

Навеску патоки растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды 50-60 °С и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup>. При температуре 20 °с доводят объем дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают.

В плоскодонную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> пипеткой приливают 25 см<sup>3</sup> смеси растворов Фелинга I и II, а в бюретку с боковым краном наливают раствор анализируемой патоки, используемый для титрования.

Титрование проводят так же, как при определении фактора растворов Фелинга. Проводят два параллельных определения.

*Обработка результатов*

Массовую долю редуцирующих веществ  $m_{p.в}$ , %, в пересчете на сухое вещество патоки вычисляют по формуле

$$m_{p.в} = \frac{\Phi m_{III} 100 \cdot 500}{500 m_H m_{с.в} V} \cdot 100 = \frac{\Phi m_{III} 100}{m_H m_{с.в} V} \cdot 100,$$

где  $\Phi$  – фактор растворов Фелинга, см<sup>3</sup>;

$m_{гл}$  – масса навески кристаллической глюкозы, г;

500 – объем раствора кристаллической глюкозы, см<sup>3</sup>;

$m_H$  – масса навески патоки, взятой для анализа, г;

500 – объем раствора анализируемой патоки, см<sup>3</sup>;

$m_{с.в}$  – массовая доля сухого вещества патоки, %;

$V$  – объем раствора анализируемой патоки, затраченный на титрование, см<sup>3</sup>;

100 – множитель для пересчета в проценты сухого вещества патоки.

По первому десятичному знаку полученного результата определяется показатель редуцирующих сахаров согласно Таблице 14 Приложения.

**Определение кислотности патоки**

Сущность метода заключается в нейтрализации кислот и кислых солей, содержащихся в 100 г сухого вещества патоки, раствором гидроокиси

натрия концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (0,1 н) в присутствии фенолфталеина или до рН 8,8.

#### *Проведение анализа*

В стеклянный стакан помещают патоку массой (50,0±0,2) г, затем цилиндром приливают 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды 40–60 °С и стеклянной палочкой размешивают навеску патоки до полного растворения.

Раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup> и при температуре раствора (20±1) °С доводят его объем до метки.

Пипеткой переносят 100 см<sup>3</sup> раствора в коническую колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup>, добавляют 3–5 капель раствора фенолфталеина и титруют раствором гидроокиси натрия концентрации 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (0,1 н) до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

Допускается применение автоматических титраторов с электродной системой потенциометрического титрования. В этом случае титрование проводят в соответствии с инструкцией прибора до рН 8,8.

Проводят два параллельных анализа.

#### *Обработка результатов*

Кислотность  $X_k$ , см<sup>3</sup> раствора гидроокиси натрия на 100 г сухого вещества патоки, вычисляют по формуле:

$$X_k = \frac{V \cdot K \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m_n \cdot m_{с.в.} \cdot 100} = \frac{V \cdot K \cdot 25000 \cdot 100}{m_n \cdot m_{с.в.} \cdot 100},$$

где  $V$  – объем 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (0,1 н) раствора гидроокиси натрия, затраченный на титрование, см<sup>3</sup>;

$K$  – поправочный коэффициент титра раствора гидроокиси натрия;

250 – вместимость мерной колбы, в которой приготавливается раствор патоки, см<sup>3</sup>;

100 – множитель пересчета на 100 г сухого вещества патоки;

100 – множитель пересчета в проценты сухого вещества патоки;

$m_n$  – масса навески патоки, взятая для приготовления анализируемого раствора, г;

$m_{с.в.}$  – массовая доля сухого вещества патоки, %;

100 – объем раствора патоки, взятый на титрование, см<sup>3</sup>.

Результаты измерений записываются до первого десятичного знака.

Предел повторяемости (сходимости)  $r$  – абсолютное значение разности между результатами двух измерений, полученными в условиях повторяемости при  $P = 95\%$  – не должен превышать 0,5 см<sup>3</sup>.

Предел воспроизводимости  $R$  – абсолютное значение разности между результатами двух измерений, полученными в условиях воспроизводимости при  $P = 95\%$  – не должен превышать 1,0 см<sup>3</sup>.

Граница абсолютной погрешности метода – ±0,5 см<sup>3</sup> при  $P = 95\%$ .

Результат анализа представляют в виде

$$X \pm \Delta \text{ при } P = 0,95,$$

где  $X$  – среднеарифметическое значение результатов двух измерений, выполненных в условиях повторяемости,  $\text{см}^3$ ;

$\Delta$  – границы абсолютной погрешности результата анализа при  $P = 0,95$ ,  $\text{см}^3$ .

## Определение водородного показателя

Сущность метода заключается в измерении активности ионов водорода ( $\text{pH} = -\lg[\text{H}^+]$ ).

### *Подготовка к проведению анализа*

Проводят калибровку рН-метра по буферным растворам согласно инструкции по эксплуатации прибора.

### *Проведение анализа*

Перед каждым анализом электроды тщательно промывают дистиллированной водой и удаляют с них капли воды фильтровальной бумагой.

В стеклянный или пластиковый химический стакан при помощи стеклянной палочки помещают патоку массой  $(50,0 \pm 0,2)$  г, приливают  $(50,0 \pm 0,2)$   $\text{см}^3$  дистиллированной воды температурой  $40\text{--}60$  °С и тщательно перемешивают до полного растворения патоки.

Раствор патоки охлаждают до температуры  $(20 \pm 2)$  °С, опускают в него электроды рН-метра и проводят измерение рН в соответствии с инструкцией к прибору. Показания прибора снимают до второго десятичного знака. Проводят два параллельных анализа.

### *Обработка результатов*

За окончательный результат определения показателя рН принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, округленное до первого десятичного знака.

Предел повторяемости (сходимости)  $r$  – абсолютное значение разности между результатами двух измерений, полученными в условиях повторяемости при  $P = 95\%$  – не должен превышать  $0,5 \text{ см}^3$ .

Предел воспроизводимости  $R$  – абсолютное значение разности между результатами двух измерений, полученными в условиях воспроизводимости при  $P = 95\%$  – не должен превышать  $1,0 \text{ см}^3$ .

Граница абсолютной погрешности метода –  $\pm 0,5 \text{ см}^3$  при  $P = 95\%$ .

Результат анализа представляют в виде

$$X \pm \Delta \text{ при } P = 0,95,$$

где  $X$  – среднеарифметическое значение результатов двух измерений рН, выполненных в условиях повторяемости;

$\Delta$  – границы абсолютной погрешности результата анализа при  $P = 0,95$ .

## Определение крахмала и декстринов в патоке методом йодной пробы

Йодная проба – тест, выявляющий во всех видах патоки, за исключением низкоосахаренной и карамельной кислотной, присутствие крахмала и декстринов (полимеры, содержащие более 45 гликозидных остатков).

### *Подготовка к проведению анализа*

Из фиксаля или по ГОСТ 25794.2 готовят 0,1 моль/дм<sup>3</sup> раствор йода, затем пятикратным разбавлением дистиллированной водой из него готовят 0,02 моль/дм<sup>3</sup> раствор йода.

0,02 моль/дм<sup>3</sup> раствор йода хранят при комнатной температуре в склянке темного стекла не более 2 суток.

### *Приборы и реактивы*

Весы лабораторные; термометр технический на 100 °С; криостат жидкостный, обеспечивающий охлаждение до 1–10 °С; стаканы стеклянные вместимостью 100 см<sup>3</sup>; колбы конические вместимостью 250 см<sup>3</sup>; пипетки; вода дистиллированная; калий йодистый ч.д.а.; йод кристаллический; стандарт-титры (фиксальны) йода 0,1 н; палочки стеклянные.

### *Ход работы*

В коническую колбу стеклянной палочкой помещают патоку массой (25,0±0,2) г, приливают (25,0±0,2) г нагретой до 50–60 °С дистиллированной воды и тщательно перемешивают до полного растворения патоки.

Раствор патоки охлаждают до (5±3) °С. При постоянном перемешивании добавляют по каплям 0,02 н раствор йода до появления слабой желтой окраски. Затем определяют температуру раствора и при необходимости охлаждают до (5±3) °С. Добавляют точно 1,0 см<sup>3</sup> 0,02 н раствора йода, перемешивают и немедленно оценивают визуально окраску раствора патоки.

Таблица 3

Окраска раствора	Наличие
Желтая	Декстрины отсутствуют
Оранжевая	Присутствуют следовые количества декстринов
Коричневая	Присутствуют декстрины
Пурпурная	Значительное количество декстринов
Зеленая	Присутствуют следы крахмала
Синяя	Присутствует крахмал
Серая или черная	Присутствует ретроградированный крахмал

## Определение цветности и мутности патоки фотометрическим методом

Сущность метода заключается в измерении значения оптической плотности фильтрованного и нефильтрованного раствора патоки относительно дистиллированной воды с последующим пересчетом в значение цвета и мутности.

### *Приготовление растворов*

#### *Приготовление суспензии формазина 1000 ЕВС*

В стеклянные стаканы помещают  $(1,000 \pm 0,001)$  г сернокислого гидразина и  $(10,000 \pm 0,001)$  г гексаметилентетрамина. Навески растворяют в небольшом объеме дистиллированной воды и количественно переносят в мерные колбы вместимостью  $100 \text{ см}^3$ . При температуре раствора  $(20 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$  доводят их объем дистиллированной водой до метки. Приготовленные растворы должны быть выдержаны при комнатной температуре не менее 4 часов.

Растворы гексаметилентетрамина и сернокислого гидразина смешивают в соотношении 1:1 в конической колбе и выдерживают не менее 24 часов в термостате при температуре  $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$ . Срок хранения суспензии формазина – не более 6 месяцев при комнатной температуре.

#### *Приготовление суспензии формазина 100 ЕВС*

Суспензию формазина 1000 ЕВС разбавляют в 10 раз. Для этого пипеткой переносят  $10 \text{ см}^3$  суспензии 1000 ЕВС в мерную колбу вместимостью  $100 \text{ см}^3$ , доводят до метки дистиллированной водой при температуре  $(20 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$  и тщательно перемешивают. Срок хранения суспензии – не более 14 суток при комнатной температуре.

#### *Приготовление градуировочных суспензий формазина*

Градуировочные суспензии формазина 100 ЕВС готовят соответствующим разбавлением суспензии. Для этого в мерные колбы вместимостью  $100 \text{ см}^3$  пипеткой переносят 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,8; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0;  $10 \text{ см}^3$  суспензии 100 ЕВС при температуре  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают. Полученные суспензии имеют значение мутности 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,8; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 10 ЕВС соответственно; их используют для градуировки фотометра или спектрофотометра. Срок хранения растворов – не более суток при комнатной температуре.

#### *Проведение градуировки фотометра или спектрофотометра*

Проводят измерение оптической плотности растворов 0,1–10,0 ЕВС при длине волны 560 нм по отношению к фильтрованной дистиллированной воде. Строят график зависимости значений оптической плотности от значений мутности. Допускается обработка результатов анализа методом

линейной регрессии с использованием соответствующего компьютерного программного обеспечения (например, Origin). В этом случае получают градуировочное уравнение:

$$M = b + c \cdot D_{560},$$

где  $M$  – мутность в единицах ЕВС;

$b$  и  $c$  – градуировочные коэффициенты;

$D_{560}$  – оптическая плотность суспензии формазина при длине волны 560 нм.

Полученный градуировочный график или градуировочное уравнение используют для определения мутности.

#### *Подготовка пробы*

В стеклянный стакан емкостью 250 см<sup>3</sup> помещают (20±0,01) г патоки и (180,00±0,01) г дистиллированной воды 40–50 °С, тщательно перемешивают до полного растворения патоки, раствор охлаждают до комнатной температуры. Этот раствор используют для определения мутности.

100 см<sup>3</sup> приготовленного раствора патоки фильтруют через мембранный фильтр. Этот раствор используют для определения цветности.

#### *Проведение анализа*

Устанавливают на фотометре или спектрофотометре светофильтр длиной волны 560 нм. Кювету сравнения прибора заполняют дистиллированной водой и устанавливают значение оптической плотности 0,000±0,010. Измерительную кювету прибора заполняют нефiltroванным раствором патоки и измеряют оптическую плотность согласно инструкции по эксплуатации прибора. Проводят два параллельных анализа.

Устанавливают на приборе светофильтр длиной волны 430 нм. Кювету сравнения прибора заполняют дистиллированной водой и устанавливают значение оптической плотности 0,000±0,010.

Измерительную кювету прибора заполняют фильтрованным раствором патоки и проводят измерение оптической плотности. Проводят два параллельных анализа.

#### *Обработка результатов*

Значение цветности  $C_1$  в единицах ЕВС вычисляют по формуле:

$$C_1 = 50 \cdot D_{430},$$

где 50 – множитель, учитывающий разбавление патоки и длину оптического пути кюветы;

$D_{430}$  – оптическая плотность фильтрованного раствора патоки при длине волны 430 нм.

По градуировочному графику или уравнению вычисляют значение мутности в единицах ЕВС, соответствующее измеренному значению оптической плотности нефiltroванного раствора при длине волны 560 нм. Ре-

зультат измерения записывают до третьего десятичного знака. За окончательный результат принимают среднееарифметическое значение результатов двух параллельных определений, округленное до второго десятичного знака.

Предел повторяемости (сходимости)  $r$  – абсолютное значение разности между результатами двух измерений, полученными в условиях повторяемости при  $P = 95\%$  – не должен превышать 0,10 ед. ЕВС.

Предел воспроизводимости  $R$  – абсолютное значение разности между результатами двух измерений, полученными в условиях воспроизводимости при  $P = 95\%$  – не должен превышать 0,20 ед. ЕВС.

Граница абсолютной погрешности метода –  $\pm 0,14$  ед. ЕВС при  $P = 95\%$ .

Результат анализа представляют в виде

$$X \pm \Delta \text{ при } P = 0,95,$$

где  $X$  – среднееарифметическое значение результатов двух измерений, выполненных в условиях повторяемости, ед. ЕВС;

$\Delta$  – значение границ абсолютной погрешности результата анализа при  $P = 0,95$ , ед. ЕВС.

### 1.5. Составление отчета по лабораторной работе 1

При составлении отчета по выполненной лабораторной работе необходимо указать название работы, цель, задачи, методы, с помощью которых решались поставленные задачи, и методы определения физико-химических показателей.

Указать марку использованного крахмала, основные физико-химические показатели.

Указать режимы приготовления патоки: гидромодуль, дозы внесения ферментных препаратов, температуру и время ферментативной обработки крахмальной суспензии, указать количество полученных сухих веществ.

Указать режимы сгущения крахмальной суспензии (центрифугирования и выпаривания).

Привести результаты анализа полученной крахмальной патоки и сделать выводы о проделанной работе.

Таблица 4

Наименование продукта	Показатели				
	Массовая доля сухих веществ, %	Массовая доля редуцирующих веществ, %	Водородный показатель (рН)	Кислотность – расход 0,1 н NaOH на нейтрализацию (в пересчете на 100 г сухого вещества), см <sup>3</sup>	Цвет йодной пробы

**Контрольные вопросы:**

1. Классификация крахмальных патонок.
2. Механизм действия  $\alpha$ -амилазы.
3. Механизм действия глюкоамилазы.
4. Как проводится расчет ферментных препаратов для гидролиза крахмала. Привести примеры.
5. Режим получения осахаренной суспензии крахмала.
6. Режимы центрифугирования и выпаривания осахаренного сусла.
7. Составление материального баланса сухих веществ при выпаривании осахаренного сусла. Привести примеры.
8. Основные показатели крахмальных патонок и методы их определения по ГОСТ 33917–2016.
9. Сущность метода определения редуцирующих веществ Лейна–Эйнона.
10. Как определяются сухие вещества в крахмальной патоке.
11. Сущность метода определения цветности крахмальной патоки.
12. В чем разница между определением мутности и цветности патоки при измерении этих показателей на фотометре в единицах ЕВС.

## **ГЛАВА 2. ПРИМЕНЕНИЕ КРАХМАЛЬНОЙ ПАТОКИ В ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВАХ**

В настоящее время в промышленно развитых странах свекловичный и тростниковый сахар все больше замещаются сахаристыми продуктами. Различают сиропы (патоки), полученные как продукты при производстве столового сахара из свеклы или сахарного тростника-сырца (черные патоки), и сиропы, полученные из крахмалсодержащего сырья. Все виды патоки находят широкое применение в народном хозяйстве – в пищевой промышленности, сельском хозяйстве.

Патоки, полученные при модификации крахмала (крахмальные патоки), применяются в хлебопекарной и кондитерской промышленности при производстве хлеба, карамельных конфет, пастилы, мармелада, халвы, ириса, печенья, тортов; в консервной промышленности – для приготовления варенья, повидла и джемов; при производстве мороженого и замороженных десертов. Широко используют патоку в бродильных производствах для производства пива. Использование патоки в пивоварении обеспечивает снижение себестоимости за счет частичной замены дорогого солода. При производстве водки патока применяется для смягчения вкуса.

Для проведения лабораторной работы по исследованию эффективности замены сахарного сиропа крахмальной патокой необходимо приготовить сахарный сироп, крахмальную патоку, выбрать рецептуру продукта, в который будут вноситься сахарный сироп и крахмальная патока, провести расчет по количеству вносимого в рецептуру сырья, провести приготовление продукта по выбранной рецептуре, сделать анализ органолептических и физико-химических показателей продукта, выполнить оценку полученных результатов.

### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 2.**

#### **Применение крахмальной патоки в бродильных производствах**

Цель лабораторной работы: исследовать эффективность замены сахарного сиропа крахмальной патокой.

Для этого необходимо:

- приготовить инвертный сахарный сироп;
- выбрать рецептуру продукта, в состав которой будет входить сахарный сироп;
- приготовить продукт, в рецептуре которого сахарный сироп будет заменен крахмальной патокой;
- провести анализ готового продукта.

## 2.1. Расчет сырья и приготовление инвертного сахарного сиропа

**Пример.** Необходимо приготовить 1 литр (1 дм<sup>3</sup>) инвертного сахарного сиропа концентрацией 65,8%.

*Решение*

По Таблице 14 Приложения определяем, что плотность сиропа концентрацией 65,8% равна 1,3239 кг/дм<sup>3</sup>. Согласно формуле соотношения объема и массы

$$V = \frac{m}{\rho}$$

где  $V$  – объем сахарного сиропа, дм<sup>3</sup>;

$m$  – масса сахарного сиропа, г;

$\rho$  – плотность сахарного сиропа массовой долей сахара 65,8 %, г/дм<sup>3</sup>, масса 1 литра такого сиропа составляет 1320 г.

Для приготовления 100 г сиропа концентрацией сахарозы 65,8% необходимо 65,8 г сахара, для приготовления 1320 г сахарного сиропа необходимо сахара

$$\frac{1320 \cdot 65,8}{100} = 865 \text{ г сахара}$$

Отсюда следует, что воды необходимо взять  $1320 - 865 = 454$  г воды.

При плотности воды, равной 1 кг/дм<sup>3</sup>, для приготовления 1 литра сахарного сиропа концентрацией 65,8% необходимо взять 454 мл воды.

Влажность товарного сахарного песка 0,15%.

На варку сиропа необходимо задать сахара 866,3 г, т.е.

$$865 + \frac{865 \cdot 0,15}{100} \text{ г.}$$

Воды с учетом потерь при варке на испарение (в среднем 10 %) понадобится 458,54 мл, т.е.

$$454 + \frac{454 \cdot 10}{100} \text{ мл.}$$

Лимонной кислоты для проведения инверсии сахарозы потребуется из расчета, что для инверсии 1 г сахарозы требуется 0,0075 г лимонной кислоты, следовательно, для инверсии 865 г сахарозы потребуется 6,5 г товарной лимонной кислоты с содержанием сухих веществ 90,7%.

## 2.2. Выбор рецептуры, продуктовый расчет, приготовление и анализ плодово-ягодного вина

Плодово-ягодные вина готовят путем спиртового брожения сока или мезги. Технологический процесс производства состоит из следующих стадий: мойка плодов (малину, землянику и т.п. перерабатывают без предва-

рительной мойки); измельчение с применением дробилок и других машин; извлечение сока.

С целью увеличения выхода сока в мезгу вносятся комплексные ферментные препараты для гидролиза клеточной стенки сырья. Дозы препаратов зависят от степени зрелости сырья и устанавливаются на основании пробных обработок в условиях лаборатории. Перед брожением полученный сок осветляют различными способами: осветление сока в стационарных емкостях (18–24 ч); осветление с помощью центрифуг; осветление с помощью бентонита (доза внесения 2–4 г/дм<sup>3</sup>), полиакриламида (доза внесения 10–15 г/дм<sup>3</sup>), желатина, ферментных препаратов. Брожение проводят на чистых культурах дрожжей или реактивированными сухими дрожжами. При брожении плодово-ягодного вина, в отличие от виноградного, из-за недостаточного накопления многими плодами и ягодами сахаров в зависимости от выпускаемого типа вина в сусло вводят либо сахар-песок, либо сироп с 70–80% сахара. При этом из 1 г сахарозы образуется 0,62 см<sup>3</sup> или 0,589 мг этилового спирта.

#### *Рецептура плодово-ягодного вина*

Необходимо получить плодово-ягодный виноматериал с 8–9% об. спирта, 0,2 г/100 см<sup>3</sup> сахара. Для этого необходимо, чтобы в сброживаемом сусле находилось редуцирующих веществ (сахаров) не менее 18%.

### **2.3. Приготовление и анализ ягодного сока**

Для приготовления плодово-ягодного виноматериала необходимо очищенную ягоду измельчить, отжать на ручном прессе, профильтровать и определить количество полученного сока в объемных единицах (см<sup>3</sup>, дм<sup>3</sup>), проанализировать сок на содержание сухих веществ и сахаров.

#### **Определение массовой доли растворимых сухих веществ**

В соках, виноматериалах, винах массовую концентрацию сухих веществ определяют рефрактометрическим методом.

#### **Определение содержания растворимых сухих веществ**

Метод основан на определении показателя преломления исследуемого сока и вычислении массовой доли растворимых сухих веществ в соке с помощью соответствующих таблиц.

### *Приборы*

Рефрактометр, шкала которого градуирована в единицах показателя преломления, с ценой деления не более 0,001 и пределом основной допускаемой погрешности  $\pm 0,0002$ .

### *Подготовка к определению*

Соки, не содержащие большого количества взвешенных частиц, непосредственно используют для испытания.

Соки, содержащие большое количество взвешенных частиц, и соки с мякотью центрифугируют или фильтруют через несколько слоев марли или слой ваты, или бумажный фильтр; первые порции фильтрата отбрасывают, а остальную часть используют для испытания.

Темноокрашенные соки разбавляют дистиллированной водой не более чем в два раза.

### *Техника определения*

Перед проведением каждого определения плоскость призмы очищают дистиллированной водой фильтровальной бумагой и сушат.

Небольшое количество (2–3 капли) исследуемого раствора помещают на рабочую призму рефрактометра и сразу же накрывают крышкой. Переводят прибор в режим определения показателя преломления с температурной коррекцией и считывают показания прибора. Проводят два параллельных определения.

Перевод найденных значений показателя преломления в значения массовой доли растворимых сухих веществ осуществляют по таблице 8 Приложения.

**Пример.** В соке определен показатель преломления 1,355. Согласно данным Таблицы 8, это соответствует содержанию растворимых сухих веществ 14,6 г/дм<sup>3</sup>.

## **Определение содержания сахаров**

Наиболее простой способ – расчетный. Определение сахаров расчетным способом дает возможность установить только их примерное содержание, поэтому этот метод применяется для предварительной оценки сырья по сахаристости. Для определения содержания сахаров в соке необходимо найденную рефрактометром величину содержания сухих растворимых веществ умножить на коэффициент, то есть сделать поправку на сахара. Для мякоти плодов яблок этот коэффициент равен 0,80; для мякоти ягод земляники – 0,68; малины – 0,58; вишни (без косточек) – 0,62.

**Пример.** В соке малины, отжатом из мякоти ягод малины, на рефрактометре было определено содержание сухих растворимых веществ 8,5%, в

соке мякоти яблук – 11,2%. Примерное содержание сахара в мякоти ягод малины и яблук будет соответственно  $8,5 \cdot 0,58 = 4,9\%$  и  $10,2 \cdot 0,8 = 8,2\%$ .

Содержание сахаров при оценке плодово-ягодного сырья можно установить также по плотности сока, определенной ареометром. Этот метод дает возможность сравнительно быстро установить количество сахаров, однако результат при этом получают приблизительный.

В цилиндр наливают примерно 200 мл осветленного сока и определяют его температуру. Затем осторожно опускают в цилиндр ареометр (денсиметр) так, чтобы он не касался стенок и находился от дна на расстоянии не менее 1 см. Отсчет показаний снимают для окрашенного сока по верхнему мениску, для светлого – по нижнему. Температура сока должна быть около 20 °С.

Содержание сахаров в соке ( $X$ ) рассчитывают по формуле ( $\text{г}/100 \text{ см}^3$ )

$$X = \frac{A}{5} \cdot 1,25,$$

где  $A$  – плотность сока по ареометру без стоящей впереди единицы и нулей,  $\text{г}/\text{см}^3$ ;

1,25 – коэффициент, учитывающий поправку на несахара.

5 – постоянный коэффициент для расчета.

**Пример.** Плотность яблочного сока по ареометру 1,048. Сахаристость будет равна  $48:5 \cdot 1,25 = 12,00 \text{ г}/100 \text{ см}^3$ .

## 2.4. Расход сахарного сиропа и крахмальной патоки

Чтобы сравнить действие двух различных сиропов – крахмальной патоки и сахарного сиропа, при проведении исследовательских работ необходимо проводить расчет количества вносимых сиропов относительно инвертного сахара.

**Пример.** Для проведения спиртового брожения было приготовлено 100 мл ягодного сока с содержанием сухих веществ содержанием сахара  $12 \text{ г}/100 \text{ см}^3$ . Необходимо рассчитать, какое количество сахарного сиропа с концентрацией инвертного сахара  $68,5 \text{ г}/100 \text{ см}^3$  и крахмальной патоки с содержанием редуцирующих веществ  $58 \text{ г}/100 \text{ см}^3$  необходимо внести в сок, чтобы концентрация сахара в сброживаемом соке стала равна  $18 \text{ г}/100 \text{ см}^3$ .

Решение этой задачи может быть выполнено с помощью мнемонической формулы, так называемой «звездочки». Для составления звездочки производят следующую запись:

$$\begin{array}{ccc} a_0 & & a_1 - a \\ & \searrow & \swarrow \\ & a & \\ & \swarrow & \searrow \\ a_1 & & a - a_0 \end{array}$$

$a$  – содержание сахара в сбраживаемом соке;

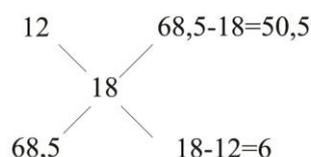
$a_0$  – содержание сахара в ягодном соке;

$a_1$  – содержание сахара в сахарном сиропе;

$a_1-a$  и  $a-a_0$  – количественные соотношения сока и сахарного сиропа или крахмальной патоки, при которых обеспечивается заданная сахаристость сбраживаемой смеси.

*Решение*

По заданным кондициям сахарного сиропа ягодного сока, согласно формуле, строим «звездочку»

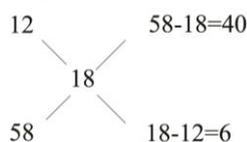


«Звездочка» показывает, что для получения сбраживаемого сока с концентрацией сахара 18 г/100 см<sup>3</sup> необходимо смешать 6 объемных частей сиропа с 50,5 объемными частями ягодного сока.

Следовательно, количество сахарного сиропа  $V_1$  с концентрацией сахара 68,5 г/100 см<sup>3</sup>, необходимое для внесения в сбраживаемое сусло, составит

$$V_1 = \frac{100 \cdot 6}{50,5} = 12,0 \text{ см}^3$$

По заданным кондициям крахмальной патоки и ягодного сока, согласно формуле, строим «звездочку»



«Звездочка» показывает, что для получения сбраживаемого сока с концентрацией сахара 18 г/100 см<sup>3</sup> необходимо смешать 6 объемных частей патоки с 40 объемными частями ягодного сока.

Следовательно, количество крахмальной патоки  $V_2$  с концентрацией редуцирующих веществ 58,0 г/100 см<sup>3</sup>, необходимое для внесения в сбраживаемое сусло, составит

$$V_1 = \frac{100 \cdot 6}{40,0} = 15,0 \text{ см}^3$$

## 2.5. Приготовление сбраживаемого сусла

После определения количества редуцирующих веществ (сбраживаемых углеводов) проводят расчет необходимого количества сахарного сусла и крахмальной патоки, вносят рассчитанное количество в колбы с гидроз-

твором, вносят реактивированные сухие дрожжи и ставят образцы на брожение.

### **Реактивация сухих спиртовых дрожжей**

Реактивацию сухих винных дрожжей провести на воде из расчета 1 г на 10 см<sup>3</sup> суслу в течение 10 минут при температуре 33–35 °С.

### **Сбраживание ягодного сока**

Брожение проводится при комнатной температуре в течение 7 дней. Эффективность замены сахарного сиропа крахмальной патокой оценивается по количеству выделившегося диоксида углерода и по количеству спирта, полученному в ходе брожения. Результаты лабораторной работы оформляются в виде Отчета.

### **Расчет диоксида углерода**

Выделявшийся в процессе брожения диоксид углерода определяли весовым методом по разности массы колбы (с гидрозатвором) до брожения и массы колбы (с гидрозатвором) после брожения.

### **Определение объемной доли этилового спирта**

Определение объемной доли этилового спирта проводится согласно ГОСТ 32095–2013. Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Метод определения объемной доли этилового спирта. Настоящий стандарт распространяется на алкогольную продукцию и сырье для ее производства (вина, виноматериалы, спиртные и слабоалкогольные напитки, винные, плодовые дистилляты) и устанавливает метод определения объемной доли этилового спирта.

#### *Принцип метода*

Метод основан на определении объемной доли этилового спирта продукта ареометром для спирта в дистилляте после предварительной перегонки.

Подготовка к определению. Продукт с повышенным содержанием двуокиси углерода предварительно освобождают от двуокиси углерода. Перед определением 250–300 см<sup>3</sup> продукта помещают в вакуумную колбу, встряхивают в течение 1-2 мин и одновременно в колбе создают вакуум с помощью насоса до исчезновения пены и появления больших пузырей, а затем переносят в мерную колбу.

Проведение определения. В приемную колбу вместимостью 200–250 см<sup>3</sup> отмеривают исследуемый продукт до метки при температуре 20 °С. Затем продукт переносят из мерной колбы в перегонную колбу. Мерную колбу ополаскивают 2–3 раза 10–15 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и сливают промывные воды в приемную колбу (для спиртных напитков не более 30 см<sup>3</sup>, для винных и плодовых дистиллятов – не более 13 см<sup>3</sup>). К продукту с рН менее 7 в перегонной колбе добавляют раствор гидроокиси натрия или калия молярной концентрацией 1 моль/дм<sup>3</sup> до получения нейтральной реакции, установленной по индикаторной бумаге, находящейся в перегонной колбе. Приемной колбой служит мерная колба, в которой отмеривали продукт. В мерную колбу наливают 10–15 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и погружают в нее узкий конец стеклянной трубки охлаждающего устройства для получения водяного затвора.

Приемную колбу помещают в воду температурой не более 8 °С и начинают перегонку. Во время перегонки дистиллят периодически перемешивают вращением колбы. Когда приемная колба наполняется примерно наполовину, конец стеклянной трубки охлаждающего устройства не должен быть погружен в дистиллят, а оставаться в приемной колбе свободным. Конец стеклянной трубки охлаждающего устройства ополаскивают 5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и продолжают перегонку без затвора. Когда приемная колба наполнится на  $\frac{4}{5}$  объема (для спиртных напитков на 5–6 см ниже метки, для винных и плодовых дистиллятов – на 4–5 см ниже метки), перегонку прекращают. Для продуктов с объемной долей этилового спирта более 25% время перегонки должно составлять 55–60 мин, для дистиллятов – 80–90 мин. Продукт в процессе перегонки нагревают равномерно. Приемную колбу после энергичного перемешивания вращением плотно закрывают пробкой и оставляют на 30 мин в термостате или водяной бане при температуре (20±2) °С и осторожно перемешивают круговыми движениями. Объемную долю этилового спирта в дистилляте определяют по ГОСТ 3639–79.

В неокрашенном совершенно прозрачном дистилляте объемную долю спирта определяют без перегонки.

#### *Обработка результатов*

Объемную долю этилового спирта в продукте определяют по Таблице 9 Приложения.

За окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных операций, выраженное до первого десятичного знака.

## 2.6. Составление отчета по лабораторной работе 2

При составлении отчета по выполненной лабораторной работе необходимо указать название работы, цель, задачи, методы, с помощью которых решались поставленные задачи, и методы определения физико-химических показателей.

Привести физико-химические показатели крахмальной патоки.

Привести физико-химические показатели сахарного сиропа.

Привести характеристику сырья для получения сбраживаемого сусле, описание процесса приготовления сбраживаемого сусле и его физико-химические показатели.

Привести штамм дрожжей и способ подготовки дрожжей к сбраживанию. Режимы сбраживания сусле.

Привести результаты процесса брожения: построить графики выделения диоксида углерода.

Сравнить результаты, полученные при сбраживании сусле с сахарным сиропом и сусле с крахмальной патокой.

### **Контрольные вопросы:**

1. Углеводный состав крахмальной патоки и сахарного сиропа.
2. Что такое инверсия сахарозы. Режимы приготовления инвертного сахарного сиропа.
3. Что такое бродильная активность спиртовых дрожжей, чем она определяется в данной лабораторной работе.
4. Основные показатели спиртового брожения.
5. Расчет количества сахарного сиропа и крахмальной патоки, вносимых в сбраживаемое сусле.
6. Показатели спиртового брожения.

### **ГЛАВА 3. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКА**

Проблема обеспечения человечества полноценным белком сохраняет свою актуальность. Пищевую ценность продуктов питания возможно осуществить путем внесения так называемых белковых гидролизатов. Белковыми гидролизатами называют продукты гидролитического расщепления белков, состоящие в основном из отдельных аминокислот, их натриевых солей и полипептидных остатков. Гидролиз белков возможно проводить с помощью щелочей, кислот и ферментов. Преимущество ферментной модификации заключается в ее специфичности и, соответственно, в отсутствии нежелательных побочных реакций. Недостаток заключается в том, что атаке того или иного фермента подвергаются лишь определенные аминокислотные последовательности в белковой молекуле и поэтому ферментативная реакция способна привести лишь к достаточно ограниченной модификации.

Методы ферментной модификации, в частности протеолитические методы гидролиза растительного белка, предназначены для изменения структурообразующих свойств пищевых продуктов, с одной стороны, и для увеличения усвояемости белка растительного происхождения, с другой, а также как улучшители вкуса и аромата.

В настоящее время гидролизированные белки широко используются в продуктах массового питания, ветеринарии и микробиологической промышленности. Их применяют также в качестве биологически активных добавок и специальных пищевых и кормовых ингредиентов. Они высоко ценятся в детской диетологии и в рационах животных, в первую очередь, в качестве компонентов стартерных кормов молодняка как основы питательных сред, для культивирования клеток ткани и бактерий, в качестве незаменимого компонента питательных сред для выращивания микроорганизмов и их защитных сред при последующем их высушивании.

Наиболее предпочтительным является ферментативный гидролиз.

#### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3.**

##### **Получение и анализ гидролизатов растительного белка**

Цель лабораторной работы: провести ферментативный гидролиз белка соевой муки и исследовать полученный гидролизат.

Для этого необходимо:

- проанализировать состав сырья – определить массовую долю влаги в сырье, содержание белка;
- выбрать и рассчитать ферментные препараты;

- приготовить суспензию измельченного сырья и воды, внести рассчитанное количество ферментных препаратов;
- провести водно-тепловую и ферментативную обработку суспензии;
- провести центрифугирование смеси, получить фильтрат и осадок;
- провести анализ фильтрата.

### **3.1. Выбор и анализ сырья**

В качестве сырья для получения гидролизатов растительного белка можно использовать сою, амарант, чечевицу, горох и т.д. На сегодняшний день соя – одна из важнейших продовольственных культур, выращиванию, переработке и исследованиям которой уделяется все больше внимания. Ни одна из других культур не имеет такого высокого содержания белков, липидов, витаминов и минеральных веществ. В соевом зерне также содержится ряд важных так называемых фитопитательных веществ, приносящих пользу здоровью человека. Медико-биологическими исследованиями отечественных и зарубежных ученых установлено только положительное влияние соевых продуктов на здоровье человека.

#### **Определение массовой доли влаги**

Влажность в сырье определяется аналогично методике, приведенной в разделе 1.1.

#### **Определение массовой доли растворимых белков методом Лоури**

Массовую долю белка в пищевых продуктах определяют различными методами. Наиболее точным является метод Къельдаля, который основан на сжигании органических веществ концентрированной серной кислотой при кипячении в присутствии катализатора. Содержание белка определяют по количеству азота. Этот метод длительный и трудоемкий и требует высокой квалификации работника.

В связи с этим применяют физико-химические методы количественного определения белка, в том числе фотоколориметрические. Колориметрические методы анализа отличаются быстротой определения и высокой чувствительностью, поэтому очень удобны при выполнении массовых анализов и определении малых количеств белка в растворе.

Метод Лоури основан на образовании окрашенных продуктов при взаимодействии реактива Фолина с щелочными растворами белков. Интенсивность окрашивания в основном зависит от аминокислотного состава и массовой доли белка в исследуемом продукте, измеряется на фотоэлектроколориметре или спектрофотометре.

Принцип действия фотометров основан на сравнении потока излучения  $\Phi_0$ , прошедшего через «холостую пробу» (растворитель или контрольный раствор, по отношению к которому производится измерение), и потока излучения  $\Phi$ , прошедшего через исследуемый раствор.

Потоки излучения  $\Phi_0$  и  $\Phi$  преобразуются фотоприемником в электрические сигналы, которые обрабатываются встроенной микроЭВМ и представляются на индикаторе в виде коэффициента пропускания, оптической плотности, скорости изменения оптической плотности, концентрации.

### *Цель работы*

Определить содержание растворимых белков в выбранном сырье.

### *Аппаратура, материалы и реактивы*

Фотометр фотоэлектрический КФК-3-01; кюветы; весы лабораторные; весы аналитические; механический встряхиватель; центрифуга лабораторная; пипетки на 1, 5, 10 и 100 см<sup>3</sup>; микропипетка; пробирки мерные на 10 см<sup>3</sup>; конические колбы вместимостью 250-300 см<sup>3</sup>, снабженные пробками; колбы мерные вместимостью 100 см<sup>3</sup>; дистиллированная вода; реактив Фолина, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 0,1 н раствор гидроксида натрия; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 1% раствор калия-натрия виннокислого; фильтровальная бумага; навеска продукта (соевой муки).

### *Приготовление реактивов*

**Стандартный реактив Фолина:** 100 г вольфрамата натрия и 25 г молибдата натрия вносят в круглодонную колбу вместимостью 2 дм<sup>3</sup> с пришлифованным обратным холодильником; добавляют 70 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, 50 см<sup>3</sup> 85% ортофосфорной кислоты плотностью 1,869 г/см<sup>3</sup> и 100 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты; смесь кипятят на слабом огне на асбестовой сетке в течение 10 часов (можно с перерывом), охлаждают, переносят в коническую колбу Эрленмейера; стенки колбы и холодильник ополаскивают 50 см<sup>3</sup> воды, затем туда же добавляют 150 г сульфата лития и 5 капель брома. Открытую колбу нагревают и кипятят под тягой на слабом огне 15–20 мин (раствор должен иметь желтую окраску). Если раствор зеленый, то обработку бромом повторяют. После охлаждения раствор доводят дистиллированной водой до 1 дм<sup>3</sup> и фильтруют через трубку Аллина, заполненную стеклянной ватой. Концентрацию кислоты проверяют титрованием разбавленного в десять раз реактива Фолина 0,1 н раствором NaOH по фенолфталеину. Приготовленный раствор хранят в склянке из темного стекла. Рабочий раствор Фолина готовят разведением основного раствора дистиллированной водой в два раза.

**Смешанный реактив:** 2% раствор Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> в 0,1 н растворе гидроксида натрия и 0,5% раствор CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O в 1%-ном растворе тартрата ка-

лия-натрия смешивают в соотношении объемов 50:1 в день проведения анализа (раствор годен в течение 1 дня).

#### *Подготовка пробы к анализу*

Взвешивают навеску продукта (соевой муки) массой  $(2,00 \pm 0,01)$  г и помещают в коническую колбу вместимостью 250–300 см<sup>3</sup>, снабженную пробкой. В колбу добавляют пипеткой 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, смесь хорошо перемешивают и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 60 мин. Затем суспензию центрифугируют в течение 7–10 минут при числе оборотов ротора 4600 мин<sup>-1</sup>. Водный экстракт белков осторожно сливают с осадка в пробирку и используют для анализа.

#### *Техника определения*

В пробирку отмеривают пипетками 0,5 см<sup>3</sup> белковой вытяжки, содержащей 50–500 мкг белка и 2,5 см<sup>3</sup> смешанного реактива, перемешивают в течение 10 минут и добавляют к ней 0,25 см<sup>3</sup> рабочего раствора Фолина. После 30 минут выдержки, необходимой для развития окраски, раствор переливают в кювету с толщиной слоя раствора 5 мм, определяют величину оптической плотности на фотоэлектроколориметре при длине волны 580 нм (содержание белка 50–500 мкг в 1 см<sup>3</sup>) или на спектрофотометре при длине волны 750 нм (содержание белка 10–15 мкг в 1 см<sup>3</sup>). По величине оптической плотности белковой вытяжки определяют массовую долю белка с помощью калибровочной кривой. Результат выражают в процентах на сухие вещества.

#### *Построение калибровочной кривой*

Для построения калибровочной кривой применяют белок, близкий по своей природе к исследуемому белку, приготавливая несколько растворов с точно известной массовой долей белка. Для этого в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды растворяют  $(100,0 \pm 0,1)$  мг чистого кристаллического альбумина. В 1 см<sup>3</sup> раствора содержится 1 мг белка. В девять пробирок с меткой на 10 см<sup>3</sup> отмеривают в возрастающих количествах приготовленный раствор белка: в первую – 1 см<sup>3</sup>, во вторую – 2 см<sup>3</sup> и так далее до 9 см<sup>3</sup>. Объем в пробирках доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Оптическую плотность полученных растворов белка определяют также, как и в описанном выше методе Лоури. При построении калибровочной кривой на оси абсцисс откладывают содержание белка в растворе (мг/см<sup>3</sup>), на оси ординат – величину оптической плотности.

Калибровочный график изображен на Графике 1 в Приложении.

#### *Обработка результатов*

Содержание белка в продукте рассчитывают по формуле

$$X = \frac{A \cdot V_{\text{общ}} \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot V_{\text{ан}} (100 \cdot W)}$$

где  $X$  – массовая доля растворимого белка в пересчете на сухие вещества, %;

$A$  – концентрация белка по калибровочной кривой, мг/см<sup>3</sup>;

$V_{\text{общ}}$  – общий объем вытяжки, см<sup>3</sup>;

$m$  – навеска продукта, г;

$V_{\text{ан}}$  – объем вытяжки для анализа, см<sup>3</sup>;

$W$  – массовая доля влаги в продукте, %.

Содержание белка в навеске продукта рассчитывается по формуле

$$M_1 = \frac{A \cdot 100}{1000}, \text{ г}$$

Массовая доля белка в продукте рассчитывается по формуле

$$M = \frac{M_1 \cdot 100}{m}, \%$$

### 3.2. Выбор и расчет ферментных препаратов

Расход ферментных препаратов рассчитывается исходя из активности ферментного препарата и дозировки внесения фермента. Для гидролиза белков соевой муки использовали ферментный препарат протеолитического действия Дистицим Протацид Экстра, содержащий протеазу.

**Пример 1.** Рассчитать расход ферментного препарата для гидролиза 50 г соевой муки.

Согласно сертификату, активность ферментного препарата составляет 320 ед. ПС/мл, доза внесения – 0,3 ед. ПС на 1 г муки.

Всего единиц ПС активности необходимо:

$$0,25 \text{ ед. ПС} \times 50 \text{ г} = 12,5 \text{ ед. ПС}$$

1 мл ферментного препарат с активностью 320 ед. ПС/мл разбавляем в 20 раз (можно разбавлять в любое количество раз – в 10, 20, 50, 100 и т.д.), то есть к 1 мл ферментного препарата добавляем 19 мл воды. В разведенном растворе ферментного препарата единиц активности будет

$$\frac{320 \text{ ед. ПС} \cdot 1}{20} = 16,0$$

В 1 мл разбавленного ферментного препарата Дистицим Протацид Экстра содержится 16 ед. ПС, тогда для внесения 12,5 ед. ПС необходимо внести ферментного препарата

$$\frac{12,5}{16} = 0,78 \text{ мл ферментного препарата}$$

### 3.3. Получение гидролизатов растительного белка

Для проведения экспериментов используют соевую, амарантовую или чечевичную муку. Муку смешивают с водой температуры 45 °С в соотношении 1:10, вносят рассчитанное количество ферментных препаратов и выдерживают замес в течение 2 часов при постоянном перемешивании. В качестве контроля используют водный экстракт из соевой муки. После окончания ферментативной обработки суспензию охлаждают до комнатной температуры и центрифугируют в течение 30 мин при числе оборотов ротора 4600 мин<sup>-1</sup>. После центрифугирования и отстаивания проводят декантирование жидкой фракции, взвешивают жидкую фракцию и определяют содержание в ней сухих веществ и α-аминного азота.

### 3.4. Анализ гидролизатов растительного белка

#### Определение массовой доли сухих веществ

Массовую долю сухих веществ в жидкой фракции белкового гидролизата определять рефрактометрическим методом.

##### *Принцип метода*

Метод основан на пропорциональной зависимости между показателем преломления суслу и содержанием в нем сухих веществ.

##### *Проведение определения*

На сухую поверхность измерительной призмы наносят 2–3 капли исследуемого суслу, закрывают камеру и проводят замер.

#### Определение аминного азота с нингидрином

Для исследования использовать жидкую фракцию белкового гидролизата. Определение содержания свободного азота аминокислот производится колориметрическим методом с нингидрином. Данный метод дает возможность определять аминокислоты и конечные аминокрупы пептидов и протеинов. Этот метод неспецифичен для белкового азота: аммиак и аммоний также дают цветную реакцию с нингидрином, а в некоторых видах зернового сырья присутствует аминобутановая (аминомасляная) кислота, которая не входит в состав белков, но тоже определяется.

**Красящий раствор** получают растворением в воде 100 г натрия фосфорнокислого двухзамещенного ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ), 60 г калия фосфорнокислого однозамещенного ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 5 г нингидрина и 3 г фруктозы с доведением объема до 1 дм<sup>3</sup>. Раствор с рН 6,6–6,8 можно хранить до 2 недель в холодном месте в темной колбе.

**Раствор разведения** готовят из 2 г йодата калия.  $KIO_3$  растворяют в  $600\text{ см}^3$  воды и добавляют  $400\text{ см}^3$  96% этанола.

**Стандартный раствор глицина** получают, растворяя 0,1072 г глицина в воде до  $100\text{ см}^3$ , и хранят его при температуре от 0 до  $4\text{ }^\circ\text{C}$ . Для анализов отбирают  $1\text{ см}^3$  этого раствора в мерную колбу на  $100\text{ см}^3$  и доводят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор содержит в  $1\text{ дм}^3$  2 мг аминного азота.

#### *Ход работы*

Образец суслу разбавляют в воде так, чтобы в  $1\text{ дм}^3$  содержалось от 1 до 3 мг аминного азота. Обычно  $1\text{ см}^3$  суслу разводят до  $100\text{ см}^3$  водой, берут  $2\text{ см}^3$  разведенного раствора в пробирку и добавляют  $1\text{ см}^3$  красящего раствора. Пробирку закрывают стеклянной пробкой, помещают в кипящую водяную баню точно на 16 минут и охлаждают в воде с температурой  $20\text{ }^\circ\text{C}$  в течение 10 минут. Затем добавляют  $5\text{ см}^3$  раствора разведения, перемешивают и измеряют оптическую плотность при длине волны 570 нм в 10 мм кювете (в нулевой кювете используют раствор, в котором вместо суслу отмерено  $2\text{ см}^3$  воды, а остальные реактивы присутствуют). Для каждого определения необходимо сделать три повторных опыта со стандартным глициновым раствором, используя  $2\text{ см}^3$  разбавленного раствора глицина.

Для суслу из темного солода устанавливают поправку, набирая в пробирку  $2\text{ см}^3$  разведенной пробы, добавляют  $1\text{ см}^3$  воды и  $6\text{ см}^3$  раствора разведения. Измеряют оптическую плотность при длине волны 570 нм и вычитают это значение из оптической плотности, полученной в опыте.

Рассчитывают содержание свободного аминного азота (FAN, мг/дм<sup>3</sup>) по формуле

$$\text{FAN} = \frac{A_1 \cdot 2d}{A_2},$$

где  $A_1$  – оптическая плотность опытного раствора при длине волны 570 нм в кювете толщиной 10 мм;

$A_2$  – оптическая плотность стандартного раствора в тех же условиях;

$d$  – коэффициент разведения (например, при разведении раствора объемом от 1 до  $50\text{ см}^3$  коэффициент разведения равен 50).

### **Определение массовой доли водорастворимого белка в твердой фракции гидролизата**

Содержание водорастворимого белка в твердой фракции определить по методике, приведенной в разделе 3.1.

### 3.5. Составление отчета по лабораторной работе 3

При составлении отчета по выполненной лабораторной работе необходимо указать название работы, цель, задачи, методы, с помощью которых решались поставленные задачи, и методы определения физико-химических показателей.

Привести характеристику используемого сырья, результаты определения влажности сырья и содержания водорастворимых белков.

Привести характеристику ферментных препаратов и режим ферментативного гидролиза белка.

Привести результаты содержания  $\alpha$ -аминного азота в контрольном и исследуемом образце.

Привести результаты содержания водорастворимого белка в твердом осадке.

Сравнить полученные результаты с количеством водорастворимого белка, содержащегося в исходном сырье.

#### **Контрольные вопросы:**

1. Структура растительного белка.
2. Механизм действия протеаз на растительный белок.
3. Заменяемые и незаменимые аминокислоты.
4. Как определяется общее содержание аминокислот в гидролизате.
5. Способы очистки белковых гидролизатов.
6. Режимы сушки.

## ГЛАВА 4. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПИЩЕВЫХ ВОЛОКОН

Пищевые волокна – это компоненты пищи, не перевариваемые пищеварительными ферментами организма человека, но перерабатываемые полезной микрофлорой кишечника. Пищевые волокна в настоящее время признаны необходимым компонентом питания.

Пищевые волокна содержатся в растительном сырье. Богатым источником пищевых волокон являются фрукты, овощи, неочищенный рис, хлеб, макароны из непросеянной муки, каши и хлопья для завтрака, орехи, семечки и отруби – побочный продукт мукомольного производства.

Наибольшее количество пищевых волокон содержится в отрубях. 100 г пшеничных отрубей содержит 45–55 г пищевых волокон, 100 г ржаной муки – 10,5 г, 100 г пшеничной муки – 3 г. Пшеничные отруби наполовину состоят из пищевых волокон: в них 30% гемицеллюлозы, около 10% целлюлозы, 3% лигнина и почти 2% пектина. Кукурузные отруби содержат протеин – 6%; клетчатку – 14,5%, крахмал – 2%. Овсяные отруби содержат протеин – 10%, клетчатку – 14,5%, крахмал – 21%. Спиртовая барда содержит протеин – 32–35%, клетчатку – 0,1–1,7%, крахмал – 0,3–0,5%.

Пищевые волокна обладают водоудерживающей и водосвязывающей способностью. Гидрофильность пищевых волокон определяет их способность связывать воду. Это свойство волокон позволяет им набухать в водных средах, увеличиваясь в объеме и стимулируя кишечную стенку, что может усиливать моторику кишечника и сокращать время транзита по желудочно-кишечному тракту.

Большинство пищевых волокон характеризует высокая водоудерживающая способность. В среднем один грамм пищевых волокон может связывать 3 мл воды, но это свойство выражено зависит от вида волокон.

Водорастворимые волокна (пектин, гемицеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, зостерин, каррагинан, камеди) в большей степени связывают воду, чем нерастворимые (целлюлоза, лигнин). Среди пектинов способность связывать и удерживать воду различается в 5–30 раз.

По способности удерживать воду все пищевые волокна можно разделить на три группы:

- Высокогидрофильные – микроцеллюлоза, гемицеллюлоза, пектин, камеди, альгинаты, каррагинан, зостерин, инулин, олигофруктоза, мукополисахариды;
- Умеренно гидрофильные – целлюлоза;
- Гидрофобные – лигнин.

Различия в гидрофильности разных видов пищевых волокон определяют конечную водоудерживающую способность пищевых продуктов. Несмотря на то, что водоудерживающая способность овощей существенно

выше, чем у пшеничных или ржаных отрубей, лучше для этой цели все же использовать отруби. 100 г пшеничных отрубей по величине водоудерживающей способности эквивалентны почти 290 г яблок, 390 г моркови или 1170 г огурцов. В то же время среди овощей и фруктов лидером по способности связывать воду является свекла (29,2 г воды/100 г), яблоки (20,2 г/100 г) и морковь (14,9 г/100 г).

## **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 4.**

### **Ферментативная модификация пшеничных отрубей**

Цель лабораторной работы: оценить влияние ферментных препаратов целлюлолитического действия на степень гидролиза целлюлозы и изменение водоудерживающей способности пищевых отрубей.

Для этого необходимо:

- выбрать и рассчитать ферментные препараты;
- провести ферментативную модификацию пищевых волокон;
- провести анализ модифицированных пищевых волокон.

#### **4.1. Выбор и анализ сырья**

Перед проведением эксперимента определить содержание клетчатки в пшеничных отрубях.

#### **Определение содержания клетчатки по Кюршнеру и Ганеку**

Данный метод основан на окислении, разрушении и растворении различных химических соединений, входящих в состав анализируемого продукта, смесью уксусной и азотной кислот. При этом клетчатка практически не растворяется, отфильтровывается и взвешивается.

*Приборы, материалы, реактивы*

Отруби, концентрированная азотная кислота, 80% уксусная кислота, 0,2 М спиртовой раствор NaOH, дистиллированная вода, эфир, спирт.

*Подготовка к проведению анализа*

Отруби в количестве (1,0000±0,0002) г переносят в колбу вместимостью 120 см<sup>3</sup>, осторожно добавляют смесь 3,6 см<sup>3</sup> азотной кислоты плотностью 1,4 и 36,4 см<sup>3</sup> 80% уксусной кислоты. Колбу нагревают на песчаной бане в течение часа, закрыв колбу обратным холодильником. Содержимое колбы фильтруют горячим через стеклянный фильтр №2, высушенный до постоянной массы при 105–108 °С и взвешенный. Осадок промывают

один-два раза горячим 0,2 М спиртовым раствором гидроксида натрия, несколько раз небольшим количеством дистиллированной воды и затем – 10 см<sup>3</sup> смеси спирта с эфиром (1:1).

#### *Обработка результатов*

Массовую долю влаги рассчитывают по формуле

$$\omega = \frac{m_1 \cdot 100}{m}$$

где  $m$  – масса продукта до высушивания, г;

$m_1$  – масса продукта после высушивания, г.

Тигли с чисто белым осадком сушат до постоянной массы при температуре 100–105 °С, охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

## **4.2. Выбор и расчет ферментных препаратов**

Ферментативная модификация клетчатки заключается в проведение ферментативного гидролиза ферментными препаратами целлюлолитического действия. Ферментативный гидролиз позволяет разрушить  $\beta$ -1,4-гликозидные связи. Характеристики ферментных препаратов, содержащих целлюлазу, различных фирм-производителей приведены в таблицах 5-7 в Приложении.

Расчет необходимого количества ферментных препаратов проводят исходя из следующих параметров: доза внесения фермента целлюлазы – ед. ЦдС/г сырья.

## **4.3. Ферментативная модификация отрубей**

К 20 г пшеничных отрубей добавляют 80 мл воды температурой 50 °С, раствором соляной кислоты доводят рН смеси до значения, при котором целлюлаза в данном ферментном препарате наиболее активна, вносят рассчитанное количество ферментных препаратов и выдерживают при температуре 50 °С в течение 2 часов.

Для определения эффективности ферментативной модификации отрубей ставится контрольный образец, в который не вносятся ферментные препараты.

По истечении 2 часов образцы, подвергнутые ферментативной модификации, и контрольный образец осветляют на центрифуге при числе оборотов ротора 6000 мин<sup>-1</sup> в течении 20 минут. Твердая фракция после отделения от жидкой высушивается в сушильном шкафу при температуре 105 °С до влажности 10%.

В жидкой фракции определяется содержание глюкозы – показатель степени гидролиза целлюлозы и  $\beta$ -глюкана.

Высушенная твердая фракция модифицированных и немодифицированных отрубей фотографируется под микроскопом, и оценивается степень изменения структуры отрубей.

#### 4.4. Анализ модифицированных отрубей

##### Определение структуры отрубей

Исследование структуры отрубей, ферментативная модификация которых не проводилась, и структуры модифицированных отрубей осуществляют с помощью микроскопа.

##### Метод определения содержания сахаров, основанный на окислении альдоз йодом

###### *Приборы, материалы и реактивы*

Конические колбы на 200 мл; мерная колба на 250 мл; мерные цилиндры на 10 мл; 0,1 н раствор йода; 0,1 н раствор тиосульфата натрия; 0,1 н раствор гидроксида натрия; 1 н раствор серной кислоты; 1% раствор крахмала.

###### *Подготовка к проведению анализа*

В мерную колбу на 250 мл пипеткой добавляют 10 мл суслу; объем колбы доводят до метки водой и перемешивают. В коническую колбу пипеткой вносят 50 мл раствора, 25 мл 0,1 н раствора йода и 3 мл 1 н раствора щелочи. Колбу закрывают пробкой, содержимое колбы перемешивают и ставят в темное место, чтобы избежать обратных фотохимических процессов. Через 15–20 минут к смеси добавляют 4,5 мл 1 н раствора соляной кислоты и титруют 0,1 н раствором тиосульфата натрия до светло-желтой окраски. Затем приливают несколько капель раствора крахмала и медленно, при энергичном взбалтывании, приливают раствор тиосульфата натрия до исчезновения синей окраски. Массу мальтозы, содержащуюся в 100 мл суслу, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot 0,0171 \cdot 100 \cdot n}{V_1},$$

где  $a$  – объем 0,1 н раствора йода, взятый на реакцию окисления, мл;

$b$  – объем 0,1 н раствора тиосульфата натрия, пошедший на титрование избытка йода, мл;

$n$  – коэффициент разведения суслу;

$V_1$  – объем раствора суслу, взятого на реакцию окисления, мл.

## **Определение водоудерживающей способности отрубей**

Для определения водоудерживающей способности модифицированных отрубей к 5 г немодифицированных и 5 г модифицированных отрубей добавляют 10 мл воды и выдерживают в течение 30 минут. Образцы центрифугируют при числе оборотов ротора  $6000 \text{ мин}^{-1}$  в течение 20 минут, замеряют количество жидкости, не впитанной отрубями, и влажность твердой фракции.

### **4.5. Составление отчета по лабораторной работе 4**

При составлении отчета по выполненной лабораторной работе необходимо указать название работы, цель, задачи, методы, с помощью которых решались поставленные задачи, и методы определения физико-химических показателей.

Привести характеристику пищевых отрубей, используемых в лабораторной работе. Указать, каким методом определяли и какое количество клетчатки содержится в сырье.

Привести характеристику ферментных препаратов, используемых для модификации пищевых волокон, описать процесс ферментативной модификации пищевых волокон.

Привести количество глюкозы, характеризующей степень ферментативного гидролиза целлюлозы и  $\beta$ -глюкана.

Сравнить водоудерживающую способность модифицированных и не модифицированных пищевых отрубей.

Сделать выводы о проведенной работе.

### **Контрольные вопросы**

1. Что такое пищевые волокна.
2. Роль пищевых волокон в продуктах питания.
3. Классификация и источники пищевых волокон.
4. Характеристика полисахаридов, входящих в состав пищевых волокон.
5. Классификация полисахаридов по способности удерживать воду.
6. Виды модификации пищевых волокон.
7. Для чего проводится модификация пищевых волокон.
8. Применение модифицированных пищевых волокон.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

### **Литература к лабораторным работам 1, 2**

1. Морфология крахмала и крахмалопродуктов: атлас/Н.В. Литвяк, Н.К. Юркштович, С.М. Бутрим, В.В. Москва. – Минск: Белорусская наука, 2013. – 217 с. – ISBN 978-985-08-1521-7.
2. Голыбин, В.А. Технология крахмала, крахмалопродуктов и глюкозно-фруктозных сиропов: учебное пособие/В.А. Голыбин, А.А. Ефремов. – Воронеж: ВГУИТ, 2013. – 140 с. – ISBN 978-5-89448-979-7.
3. Крысанов, Ю.В. Методическое указание по выполнению лабораторно-практического задания по дисциплине «Физиология и биохимия с/х растений» на тему «Гидролиз крахмала»: учебно-методическое пособие/Ю.В. Крысанов, З.Н. Тарова. – Воронеж: Мичуринский ГАУ, 2008. – 8 с.

### **Литература к лабораторной работе 3**

4. Бурова, Т.Е. Безопасность продовольственного сырья и продуктов питания: учебник/Т.Е. Бурова. – СПб: Лань, 2020. – 364 с. – ISBN 978-5-8114-3968-3.
5. Зинкевич, Е.П. Основы биохимии: лабораторный практикум/Е.П. Зинкевич, Т.В. Лобова, И.А. Еремина. – Кемерово: Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет), 2017. – 108 с. – ISBN 979-5-89289-118-8.
6. Совершенствование технологии ферментативного гидролиза соевого белка для расширения области применения в пищевых продуктах: дисс. ... канд. техн. наук: 05.18.07/Иванушкин Петр Александрович; [Место защиты: Моск. гос. ун-т пищевых пр-в (МГУПП)]. – М., 2011.

### **Литература к лабораторной работе 4**

7. Корячкина, С.Я. Функциональные пищевые ингредиенты и добавки для хлебобулочных и кондитерских изделий/С.Я. Корячкина, Т.В. Матвеева. – СПб: ГИОРД, 2013. – 528 с. – ISBN 978-5-98879-159-1.
8. Функциональное питание: учебное пособие/составители Э.Э. Сафонова, В.В. Бычикова, Е.П. Линич. – СПб: Лань, 2019. – 256 с. – ISBN 978-5-8114-3688-0.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 5.

### Характеристики ферментных препаратов фирмы «Эрбслё Гайзенхайм АГ»

Ферментные препараты, продуценты ферментов	Основной фермент	Активность, ед/мл	Активность в оптимальных условиях, ед/мл	Действие	t, °C	pH	Рекомендуемая дозировка, ед/г крахмала
Дистицим БА <i>Bacillus subtilis</i>	α-амилаза	2300	4400	разжижение	30–85	5,5–8,5	0,8–1,0
Дистицим БА-Т <i>B. licheniformis</i>	α-амилаза термостабильная	1600	4200	разжижение	30–110	5,5–8,0	0,5–0,6
Дистицим БА-Т Специал <i>B. licheniformis, stearothermophilus</i>	α-амилаза термостабильная кислотоустойчивая	950	4700	разжижение	30–110	5,5–8,0	0,2–0,3
Дистицим АГ <i>Aspergillus niger</i>	глюкоамилаза, α-амилаза	6500 250	33000	осахаривание	30–70	3,0–7,0	4,0–6,2
Глюкамил <i>Aspergillus niger</i>	глюкоамилаза, α-амилаза	5200 150	30000	осахаривание	30–70	3,0–7,0	4,0–6,2
Дистицим Протацид Экстра <i>Aspergillus niger</i>	протеаза кислая	320		гидролиз белка	15–70	2,0–6,0	0,3–0,5
Дистицим XL <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	β-глюканоаза термостабильная, ксиланаза	2200 1000		гидролиз β-глюкана, ксилана	30–90	3,5–6,0	0,04–0,11 0,02–0,05

Таблица 6.

### Характеристика ферментных препаратов фирмы «Новозаймс»

Ферментные препараты, продуцент ферментов	Фермент	Активность	Диапазон действия
Термамил SC, бактериальная	α-амилаза	600 ед. АС/см <sup>3</sup>	pH 3,0–7,0 30–70°C
БАН 480L, бактериальная	α-амилаза	3500 ед. АС/см <sup>3</sup>	pH 5,0–7,5 45–85°C
Фунгамил 800L, грибная	α-амилаза	6000 ед. АС/см <sup>3</sup>	pH 4,0–6,5 45–60°C

Таблица 7.

### Характеристика ферментных препаратов фирмы «Сиббиофарм»

Ферментные препараты, продуцент	Фермент	Активность	Диапазон действия	Оптimum действия
ЦеллоЛюкс-А <i>Trichoderma viride (reesei)</i>	ксиланаза глюканоаза целлюлаза	4500 ед. КС/см <sup>3</sup> 200 ед. β-ГЛС/см <sup>3</sup> 1750 ед. ЦС/см <sup>3</sup>	pH 3,0–7,0 30–70°C	pH 4,0–6,0 50–60°C

Таблица 8.

**Пересчет показателя преломления в массовую долю растворимого сухого  
вещества плодово-ягодного сока**

Показатель преломления	Содержание растворимых сухих веществ, г/дм <sup>3</sup>	Показатель преломления	Содержание растворимых сухих веществ, г/дм <sup>3</sup>
1,3478	10,0	1,3497	11,2
1,3480	10,1	1,3498	11,3
1,3481	10,2	1,3500	11,4
1,3483	10,3	1,3502	11,5
1,3485	10,4	1,3503	11,6
1,3486	10,5	1,3505	11,7
1,3488	10,6	1,3506	11,8
1,3489	10,7	1,3508	11,9
1,3491	10,8	1,3509	12,0
1,3492	10,9	1,3511	12,1
1,3494	11,0	1,3512	12,3
1,3495	11,1	1,3514	12,3
1,3516	12,4	1,3562	15,3
1,3517	12,5	1,3563	15,4
1,3519	12,6	1,3565	15,5
1,3520	12,7	1,3566	15,6
1,3522	12,8	1,3568	15,7
1,3523	12,9	1,3570	15,8
1,3525	13,0	1,3571	15,9
1,3527	13,1	1,3573	16,0
1,3530	13,2	1,3574	16,1
1,3531	13,3	1,3576	16,2
1,3533	13,4	1,3578	16,3
1,3535	13,5	1,3579	16,4
1,3536	13,6	1,3581	16,5
1,3538	13,7	1,3583	16,6
1,3536	13,8	1,3584	16,7
1,3538	13,9	1,3586	16,8
1,3539	14,0	1,3587	16,9
1,3541	14,1	1,3589	17,0
1,3542	14,2	1,3591	17,1
1,3544	14,3	1,3592	17,2
1,3546	14,4	1,3594	17,3
1,3549	14,5	1,3596	17,4
1,3550	14,6	1,3597	17,5
1,3552	14,7	1,3599	17,6
1,3554	14,8	1,3600	17,7
1,3555	14,9	1,3602	17,8
1,3557	15,0	1,3604	17,9
1,3558	15,1	1,3605	18,0
1,3560	15,2	1,3606	18,1

Таблица 9.

**Таблица для определения содержания спирта в водно-спиртовых растворах**

Относительная плотность	Содержание спирта, % об.	Показатель преломления	Содержание растворимых сухих веществ, г/дм <sup>3</sup>
0,9884	7,0	0,9867	8,4
0,9883	7,1	0,9866	8,5
0,9882	7,2	0,9864	8,6
0,9881	7,3	0,9863	8,7
0,9879	7,4	0,9862	8,8
0,9878	7,5	0,9861	8,9
0,9877	7,6	0,9859	9,0
0,9876	7,7	0,9858	9,1
0,9874	7,8	0,9857	9,2
0,9873	7,9	0,9856	9,3
0,9872	8,0	0,9855	9,4
0,9871	8,1	0,9854	9,5
0,9869	8,2	0,9852	9,6
0,9868	8,3	0,9851	9,7

Таблица 10.

**Пересчет показателя преломления в массовую долю сухого вещества низкосахаренной патоки**

Массовая доля сухого вещества, %	Показатель преломления при t = 20 °С	Показатель преломления при t = 45 °С
60,0	1,4468	1,4421
60,5	1,4480	1,4432
61,0	1,4492	1,4444
61,5	1,4504	1,4456
62,0	1,4516	1,4468
62,5	1,4528	1,4480
63,0	1,4540	1,4492
63,5	1,4553	1,4504
64,0	1,4565	1,4516
64,5	1,4577	1,4528
65,0	1,4589	1,4541
65,5	1,4602	1,4553
66,0	1,4614	1,4565
66,5	1,4627	1,4578
67,0	1,4639	1,4590
67,5	1,4652	1,4602
68,0	1,4664	1,4615
68,5	1,4677	1,4627
69,0	1,4690	1,4640
69,5	1,4702	1,4653
70,0	1,4715	1,4665

Продолжение Таблицы 10

Массовая доля сухого вещества, %	Показатель преломления при t = 20 °С	Показатель преломления при t = 45 °С
70,5	1,4728	1,4678
71,0	1,4741	1,4691
71,5	1,4754	1,4704
72,0	1,4767	1,4717
72,5	1,4780	1,4730
73,0	1,4793	1,4743
73,5	1,4806	1,4756
74,0	1,4819	1,4769
74,5	1,4833	1,4782
75,0	1,4846	1,4795
75,5	1,4859	1,4809
76,0	1,4873	1,4822
76,5	1,4886	1,4835
77,0	1,4900	1,4849
77,5	1,4913	1,4862
78,0	1,4927	1,4876
78,5	1,4940	1,4889

Таблица 11.

**Пересчет показателя преломления в массовую долю сухого вещества карамельной патоки**

Массовая доля сухого вещества, %	Показатель преломления при t = 20 °С	Показатель преломления при t = 45 °С
60,0	1,4460	1,4412
60,5	1,4472	1,4424
61,0	1,4484	1,4436
61,5	1,4495	1,4448
62,0	1,4507	1,4459
62,5	1,4519	1,4471
63,0	1,4531	1,4483
63,5	1,4543	1,4495
64,0	1,4556	1,4507
64,5	1,4568	1,4519
65,0	1,4580	1,4531
65,5	1,4592	1,4543
66,0	1,4604	1,4556
66,5	1,4617	1,4568
67,0	1,4629	1,4580
67,5	1,4642	1,4592
68,0	1,4654	1,4605
68,5	1,4667	1,4617
69,0	1,4679	1,4630
69,5	1,4692	1,4642

Продолжение Таблицы 11

Массовая доля сухого вещества, %	Показатель преломления при t = 20 °С	Показатель преломления при t = 45 °С
70,0	1,4704	1,4655
70,5	1,4717	1,4668
71,0	1,4730	1,4680
71,5	1,4743	1,4693
72,0	1,4756	1,4706
72,5	1,4769	1,4719
73,0	1,4782	1,4731
73,5	1,4795	1,4744
74,0	1,4808	1,4757
74,5	1,4821	1,4770
75,0	1,4834	1,4783
75,5	1,4847	1,4797
76,0	1,4860	1,4809
76,5	1,4874	1,4823
77,0	1,4887	1,4836
77,5	1,4901	1,4850
78,0	1,4914	1,4863
78,5	1,4928	1,4877

Таблица 12.

**Пересчет показателя преломления в массовую долю сухого вещества мальтозной патоки**

Массовая доля сухого вещества, %	Показатель преломления при t = 20 °С	Показатель преломления при t = 45 °С
60,0	1,4445	1,4398
61,0	1,4468	1,4421
62,0	1,4492	1,4444
63,0	1,4515	1,4467
64,0	1,4539	1,4491
65,0	1,4563	1,4514
66,0	1,4587	1,4538
67,0	1,4611	1,4562
68,0	1,4636	1,4587
69,0	1,4660	1,4611
70,0	1,4685	1,4636
71,0	1,4710	1,4661
72,0	1,4735	1,4686
73,0	1,4761	1,4711
74,0	1,4786	1,4736
75,0	1,4812	1,4762
76,0	1,4838	1,4788
77,0	1,4864	1,4813
78,0	1,4891	1,4840

Таблица 13.

**Пересчет показателя преломления в массовую долю сухого вещества  
высокомальтозной патоки (мальтозы более 65%)**

Массовая доля сухого вещества, %	Показатель преломления при t = 20 °С	Показатель преломления при t = 45 °С
60,0	1,4448	1,4400
61,0	1,4471	1,4423
62,0	1,4495	1,4447
63,0	1,4518	1,4470
64,0	1,4542	1,4494
65,0	1,4566	1,4517
66,0	1,4590	1,4541
67,0	1,4614	1,4565
68,0	1,4639	1,4590
69,0	1,4664	1,4614
70,0	1,4689	1,4639
71,0	1,4714	1,4664
72,0	1,4739	1,4689
73,0	1,4764	1,4714
74,0	1,4790	1,4740
75,0	1,4816	1,4766
76,0	1,4842	1,4791
77,0	1,4868	1,4818

Таблица 14.

**Пересчет показателя преломления в массовую долю сухого вещества  
высокоосахаренной патоки (массовая доля редуцирующих веществ 45–80 %)**

Массовая доля сухого вещества, %	Показатель преломления при t = 20 °С	Показатель преломления при t = 45 °С
60,0	1,4432	1,4385
61,0	1,4455	1,4408
62,0	1,4478	1,4431
63,0	1,4501	1,4454
64,0	1,4524	1,4477
65,0	1,4548	1,4500
66,0	1,4572	1,4524
67,0	1,4595	1,4548
68,0	1,4619	1,4572
69,0	1,4644	1,4596
70,0	1,4668	1,4620
71,0	1,4693	1,4644
72,0	1,4717	1,4669
73,0	1,4742	1,4694
74,0	1,4767	1,4719
75,0	1,4793	1,4744
76,0	1,4818	1,4769
77,0	1,4844	1,4795

Таблица 15.

**Таблица пересчета показателя преломления в массовую долю сухого вещества высокосахаренной патоки (массовая доля редуцирующих веществ более 80%)**

Массовая доля сухого вещества, %	Показатель преломления при t = 20 °С	Показатель преломления при t = 45 °С
60,0	1,4396	1,4350
61,0	1,4417	1,4372
62,0	1,4439	1,4393
63,0	1,4462	1,4415
64,0	1,4484	1,4438
65,0	1,4506	1,4460
66,0	1,4529	1,4482
67,0	1,4552	1,4505
68,0	1,4575	1,4528
69,0	1,4598	1,4551
70,0	1,4621	1,4574
71,0	1,4644	1,4597
72,0	1,4668	1,4621
73,0	1,4692	1,4644
74,0	1,4716	1,4668
75,0	1,4740	1,4692
76,0	1,4764	1,4716
77,0	1,4788	1,4740
78,0	1,4813	1,4765

Таблица 16.

**Зависимость массовой концентрации общего экстракта от показаний рефрактометра и относительной плотности водного раствора экстракта**

Показания рефрактометра, % (по сахарозе)	Массовая концентрация общ. экстракта, г/100 см <sup>3</sup>	Относительная плотность ( $d_{20}^{20}$ )	Показания рефрактометра, % (по сахарозе)	Массовая концентрация общ. экстракта, г/100 см <sup>3</sup>	Относительная плотность ( $d_{20}^{20}$ )
0,5	0,500	1,0019	7,0	7,180	1,0277
1,0	1,000	1,0039	7,5	7,709	1,0298
1,5	1,506	1,0058	8,0	8,239	1,0318
2,0	2,012	1,0078	8,5	8,771	1,0338
2,5	2,519	1,0098	9,0	9,306	1,0359
3,0	3,028	1,0117	9,5	9,832	1,0380
3,5	3,541	1,0137	10,0	10,381	1,0400
4,0	4,055	1,0157	10,5	10,922	1,0421
4,5	4,571	1,0177	11,0	11,465	1,0442
5,0	5,089	1,0197	11,5	12,010	1,0463
5,5	5,609	1,0217	12,0	12,558	1,0484
6,0	6,131	1,0237	12,5	13,106	1,0505
6,5	6,655	1,0257	13,0	13,658	1,0526

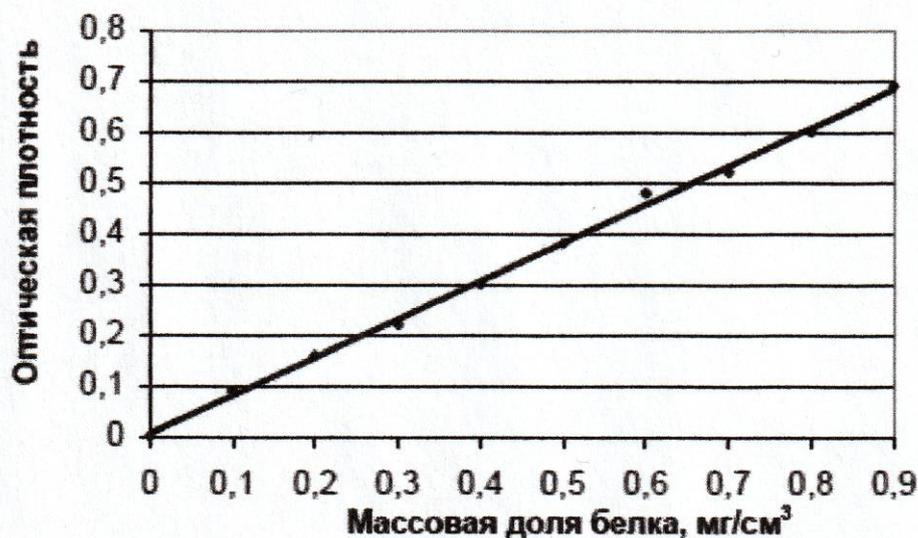
Продолжение Таблицы 16

Показания рефрактометра, % (по сахарозе)	Массовая концентрация общ. экстракта, г/100 см <sup>3</sup>	Относительная плотность ( $d_{20}^{20}$ )	Показания рефрактометра, % (по сахарозе)	Массовая концентрация общ. экстракта, г/100 см <sup>3</sup>	Относительная плотность ( $d_{20}^{20}$ )
13,5	14,213	1,0547	37,0	42,966	1,1635
14,0	14,769	1,0568	37,5	43,631	1,1660
14,5	15,327	1,0589	38,0	44,318	1,1685
15,0	15,887	1,0611	38,5	44,999	1,1711
15,5	16,449	1,0633	39,0	45,682	1,1736
16,0	17,016	1,0654	39,5	46,369	1,1762
16,5	17,583	1,0676	40,0	47,057	1,1787
17,0	18,152	1,0698	40,5	47,750	1,1713
17,5	18,724	1,0719	41,0	47,445	1,1839
18,0	19,299	1,0741	41,5	49,143	1,1865
18,5	19,875	1,0763	42,0	49,844	1,1891
19,0	20,455	1,0785	42,5	50,559	1,1917
19,5	21,035	1,0807	43,0	51,255	1,1943
20,0	21,619	1,0830	43,5	51,965	1,1970
20,5	22,205	1,0852	44,0	52,678	1,9960
21,0	22,794	1,0874	44,5	53,395	1,2023
21,5	23,385	1,0897	45,0	54,104	1,2049
22,0	23,978	1,0919	45,5	54,836	1,2076
22,5	24,574	1,0942	46,0	55,562	1,2102
23,0	25,172	1,0965	46,5	56,290	1,2129
23,5	25,772	1,0987	47,0	57,026	1,2156
24,0	26,375	1,1010	47,5	57,756	1,2184
24,5	26,981	1,1033	48,0	58,494	1,2211
25,0	27,589	1,1056	48,5	59,235	1,2238
25,5	28,199	1,1079	49,0	59,980	1,2265
26,0	28,813	1,1103	49,5	60,627	1,2293
26,5	29,428	1,1126	50,0	61,478	1,2320
27,0	30,046	1,1149	50,5	62,232	1,2348
27,5	30,667	1,1173	51,0	62,989	1,2376
28,0	31,290	1,1196	51,5	63,749	1,2403
28,5	31,916	1,1220	52,0	64,513	1,2431
29,0	32,545	1,1244	52,5	65,280	1,2459
29,5	33,176	1,1267	53,0	66,050	1,2487
30,0	33,779	1,1291	53,5	66,823	1,2516
30,5	34,456	1,1315	54,0	67,600	1,2544
31,0	35,085	1,1339	54,5	68,380	1,2572
31,5	35,726	1,1363	55,0	69,164	1,2601
34,0	38,978	1,1486	32,0	36,371	1,1388
34,5	39,634	1,1510	32,5	37,018	1,1412
35,0	40,295	1,1535	33,0	37,668	1,1436
35,5	40,947	1,1560	33,5	38,320	1,1461
36,0	41,621	1,1585	55,5	69,951	1,2629
36,5	42,293	1,1610	56,0	70,471	1,2658

Показания рефрактометра, % (по сахарозе)	Массовая концентрация общ. экстракта, г/100 см <sup>3</sup>	Относительная плотность ( $d_{20}^{20}$ )	Показания рефрактометра, % (по сахарозе)	Массовая концентрация общ. экстракта, г/100 см <sup>3</sup>	Относительная плотность ( $d_{20}^{20}$ )
56,5	71,529	1,2687	65,0	85,561	1,3190
57,0	72,332	1,2716	65,5	86,418	1,3221
57,5	73,132	1,2745	66,0	87,280	1,3252
58,0	73,936	1,2774	66,5	88,145	1,3282
58,5	74,744	1,2803	67,0	89,013	1,3313
59,0	75,555	1,2832	67,5	89,885	1,3344
59,5	76,369	1,2861	68,0	90,761	1,3375
60,0	77,187	1,2891	68,5	91,641	1,3406
60,5	78,008	1,2920	69,0	92,524	1,3417
61,0	78,733	1,2950	69,5	93,411	1,3468
61,5	79,662	1,2980	70,0	94,302	1,3500
62,0	80,494	1,3010	70,5	95,197	1,3531
62,5	81,329	1,3039	71,0	96,095	1,3563
63,0	82,168	1,3069	71,5	96,997	1,3594
63,5	83,011	1,3100	72,0	97,904	1,3626
64,0	83,858	1,3130	72,5	98,814	1,3658
64,5	84,708	1,3160	73,0	99,728	1,3690

График 1.

Калибровочный график для определения массовой доли белка по методу Лоури



Баракова Надежда Васильевна

**Биотехнологическая модификация свойств пищевого сырья**

**Учебно-методическое пособие**

В авторской редакции

Редакционно-издательский отдел Университета ИТМО

Зав. РИО

Н.Ф. Гусарова

Подписано к печати

Заказ №

Тираж

Отпечатано на ризографе

**Редакционно-издательский отдел**  
**Университета ИТМО**  
197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49