Министерство сельского хозяйства Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова»

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОДУКТОВ ИЗ СЫРЬЯ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Методические указания по выполнению лабораторных работ

Направление подготовки
35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции

Профиль подготовки
Технологии пищевых производств в АПК

Саратов 2018

Основы биотехнологии продуктов из сырья растительного и животного происхождения: методические указания по выполнению лабораторных работ для направления подготовки 35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции / Сост.: Е.А. Фауст, Т.С. Осина // ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2018. – 46 с.

Методические указания по выполнению лабораторных работ составлены в соответствии с программой дисциплины и предназначены для студентов направления подготовки 35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции, которые содержат краткое описание лабораторных методов биотехнологических процессов для получения продукции из растительного сырья, а также определения качественных показателей молока, кисломолочных продуктов, мяса и колбас. Направлены на формирование у обучающихся навыков проведения биохимического и микробиологического анализов продукции мясной и молочной промышленности, аналитического, биохимического и микробиологического анализов. Материал ориентирован на вопросы профессиональных компетенций будущих специалистов сельского хозяйства.

© ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ», 2018

ВВЕДЕНИЕ

Биотехнология – наука, которая на основе применения знаний в области микробиологии, биохимии, генетики, генной инженерии, иммунологии, химической технологии, приборостроения и машиностроения использует биологические объекты (микроорганизмы, клетки тканей животных и растений и др.) или молекулы (нуклеиновые кислоты, белки, ферменты и др.) для целей промышленного производства полезных для человека и животных веществ и продуктов.

Определенная технология конкретных операций и действий, их строгая последовательность являются гарантией выпуска продукции заданного количества и качества.

Увеличение производства экологически чистых продуктов животноводства необходимо для улучшения питания населения и поэтому является важнейшей социально-экономической задачей.

Биотехнология занимается выявлением физических, химических, биологических закономерностей с целью изучения и использования наиболее эффективных ресурсосберегающих производственных процессов.

Современные специалисты, работающие в агропромышленном комплексе должны профессионально и в совершенстве владеть методами биотехнологии и биоинженерии, уметь использовать их для увеличения производства сельскохозяйственной продукции, улучшения ее качества и достижения стабильности производства.

Задачей лабораторной практики является закрепление обучающимися разделов основного теоретического материала и ознакомление с методиками качественного анализа продуктов молочной и мясной промышленности.

Кроме общепринятых методов анализа, алгоритма практического выполнения лабораторных работ в пособие представлены теоретические и справочные материалы для интерпретации результатов анализов и их оценки.

В каждой теме предусмотрены: минимум теоретического материала, ход выполнения работы, перечень необходимого оборудования, пример расчета, форма записи и список литературы.

ТЕМА 1. ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАКВАСОК НА ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВНЫХ ЧАСТЕЙ МОЛОКА

Цель: сформировать навык проведения анализа молока и кисломолочных продуктов, освоить методы определения вязкости, буферной емкости молока и кисломолочных продуктов, влагоудерживающей способности сгустков кисломолочных продуктов.

Закваски молочнокислых бактерий приготавливают методом глубинной ферментации с последующим отделением клеточной массы и ее высушиванием. Хорошей питательной средой при этом является стерильное обезжиренное молоко с повышенным содержанием сухих веществ (до 16%). Для этого в закваски добавляют сухое молоко и 0,1% раствор лимоннокислого натрия. Засевной материал составляет 1% от объема среды. Размножение бактерий осуществляется без аэрации при температуре 30ºС в течении 12-16 ч для молочнокислых стрептококков и при 40ºС в течении 6 ч для молочнокислых палочек. Затем культуральную жидкость нейтрализуют 20% раствором гидроксида натрия до исходной кислотности стерильного молока. Жидкую закваску высушивают в распылительной сушилке при температуре поступающего воздуха 130-140ºС. В зоне распыления температура не должна превышать 48-50ºС. Остаточная влажность сухой закваски составляет 5-7%. При сушке в таких условиях выживают 18-33% стрептококков и 7-8% ацидофильных палочек.

Бактериальные закваски используют для приготовления концентрата, который имеет пастообразную консистенцию. В 1 г концентрата содержится 52-100 млрд. жизнеспособных молочнокислых палочек. Остаточная влажность его составляет 70-72%, оптимум pH 4,5-4,7. Концентрат хранят при 4-6ºС, добавляя 0,003% бромида калия. Для длительного хранения пастообразного концентрата его высушивают, замораживают или биомассу лиофилизируют с применением специальных защитных сред.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЯЗКОСТИ МОЛОКА И КЕФИРА

Вязкость жидкости можно определить различными методами – по измерению времени истечения определенного объема жидкости через капилляр, скорости свободного падения в продукте шарика известной массы и т.д. Для определения вязкости жидкостей имеются специальные приборы – вискозиметры (капиллярные, с падающим шариком, ротационные и др.). Простейшим аналогом капиллярного вискозиметра может служить пипетка, имеющая определенный объем выходного отверстия.

Для определения вязкости молока пипеткой отмеривают 100 мл свежего молока, помещают конец пипетки в колбу или стакан, снимают с верхнего отверстия указательный палец, включают секундомер и дают продукту вытечь. Отмечают продолжительность истечения молока из пипетки.

Аналогичным образом измеряют вязкость кефира. Кефир хорошей консистенции вытекает из пипетки не менее чем за 30 сек., удовлетворительной консистенции за 20 сек.

Исследуемый материал: свежее молоко, простокваша, кефир

Оборудование

1. Бюретки.
2. Пипетка емкостью 100 мл с диаметром выходного отверстия 5 мм.
3. Секундомер.
4. Колбы или стаканы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛАГОУДЕРЖИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ СГУСТКОВ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Влагоудерживающую способность сгустка, образующегося под влиянием молочнокислых культур или заквасок, определяют с помощью центрифуг. Предварительно устанавливают

фактор разделения, который зависит от скорости вращения (n) и радиуса ротора (расстояние от оси вращения центрифуги до поверхности центрифугируемого образца, R). Иными словами, следует установить радиус ротора имеющейся центрифуги и выбрать необходимую частоту вращения (табл. 1).

Таблица 1

Радиус и скорость вращения центрифуги

R, м	n, об/ мин	R, м	n, об/ мин
0,05	4 200	0,17	2 300
0,10	3 000	0,18 – 0,19	2 200
0,11	2 800	0,20 – 0,21	2 100
0,12	2 700	0,22 – 0,23	2 000
0,13	2 600	0,24 – 0,25	1 900
0,14	2 500	0,26 – 0,28	1 800
0,15 – 0,16	2 400	0,29 – 0,30	1 700

10 мл сгустка, полученного путем естественного сквашивания молока, вносят в пластмассовую пробирку и центрифугируют при установленной частоте вращения в течение 5 мин. После завершения центрифугирования в образце измеряют объем выделившейся сыворотки, декантируя ее в градуированную стеклянную пробирку или мензурку. По количеству выделившейся сыворотки судят о способности сгустков к влагоотдаче. Результаты выражают в мл сыворотки, полученной из 10 мл сгустка (мл/10 мл).

Сгустки культур и заквасок с влагоотдачей от 3,5 до 5,5 мл сыворотки рекомендуются для приготовления творога. Сгустки с влагоудерживающей способностью до 2,5 мл сыворотки пригодны для производства кисломолочных напитков и сметаны.

Исследуемый материал: свежее молоко, простокваша , кефир

Реактивы: 0,1 н и 1 н растворы гидроксида натрия, 1% спиртовой раствор фенолфталеина, 4% раствор хлорида кальция, 5% раствор фенола, 10 М раствор серной кислоты, концентрированная серная кислота, 2% раствор лактозы, 30% раствор ацетата цинка, 15% раствор гексацианоферрата (11) калия, универсальная индикаторная бумага.

Оборудование

1. Бюретки.
2. Пипетка емкостью 100 мл с диаметром выходного отверстия 5 мм.
3. Секундомер.
4. Колбы или стаканы.
5. Центрифуга.
6. Центрифужные пробирки.
7. Мерные пипетки или мензурки.
8. Рефрактометр.
9. Фотоэлектроколориметр.
10. Водяная баня.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУФЕРНОЙ ЕМКОСТИ МОЛОКА И КЕФИРА

Буферная емкость характеризует способность буферной системы противостоять изменению pH среды после добавления некоторого количества сильной кислоты или основания. Значение буферной емкости определяется количеством г-экв. сильной кислоты или щелочи, которое необходимо добавить к 1 л буферного раствора, чтобы изменить значение pH на единицу.

В пробирку отмеряют 1 мл свежего молока, добавляют 2 капли раствора фенолфталеина,

тщательно встряхивают. Затем содержимое пробирки оттитровывают 0,1н раствором гидроксида натрия до появления слабо-розового окрашивания. Это соответствует pH 9,0. Предварительно с помощью универсальной индикаторной бумаги определяют pH молока.

Пример расчета

На титрование 1 мл молока с pH 6,5 пошло 0,6 мл 0,1н раствора гидроксида натрия. Следовательно, буферная емкость будет равна:

$X =$ г-экв. / $pH_2 - pH_1$

$X = 0,6 \times 0,1 \ / \ 9,0 - 6,5 = 0,024$ г-экв.

Аналогичным образом измеряется буферная емкость кисломолочных продуктов (кефира).

Исследуемый материал: свежее молоко.

Реактивы: 0,1 н и 1 н растворы гидроксида натрия, 1% спиртовой раствор фенолфталеина, универсальная индикаторная бумага.

Оборудование

1. Бюретка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Блинов, В.А.* Биохимия с основами физической и коллоидной химии (методические указания) / В.А. Блинов, В.И. Латышев, Ю.В. Платонова, В.Р. Струговщиков. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2005. – с. 126.
2. *Блинов, В.А.* Общая биотехнология (методические указания) / В.А. Блинов, С.Н. Буршина. – Саратов: «Полиграфия Поволжья», 2004. – с. 10-11.

ТЕМА 2. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТНОСТИ МОЛОКА И КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Цель: сформировать навык проведения анализа молока и кисломолочных продуктов, освоить методы определения титруемой и активной кислотности кисломолочных продуктов.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРУЕМОЙ КИСЛОТНОСТИ МОЛОКА И КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Титруемую кислотность молока в нашей стране выражают в градусах Тернера (^{0}Т). Градусы Тернера показывают количество мл 0,1н раствора гидроксида натрия, необходимое для нейтрализации 100 мл разбавленного в два раза водой молока. Определение кислотности заключается в нейтрализации (титровании) кислых солей, белков, свободных аминокислот, органических кислот и других кислых соединений молока раствором щелочи в присутствии индикатора фенолфталеина.

Ход анализа.

В коническую колбу вместимостью 150-200 мл отмеривают пипеткой 10 мл молока, прибавляют 20 мл дистиллированной воды и 3 капли фенолфталеина. Смесь тщательно перемешивают и титруют 0,1н раствором гидроксида натрия до слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1мин. Титруемую кислотность молока в градусах Тернера рассчитывают, умножая на 10 объем щелочи, пошедший на нейтрализацию 10 мл молока. Расхождение между параллельными определениями не должно быть выше 1^0Т. Свежее молоко коровы имеет 16-18^{0}Т, отстоявшееся – 20-22^{0}Т, не свернувшееся, но свертывающееся при кипячении – 24-27^{0}Т. Ход анализа при определении титруемой кислотности кисломолочных продуктов в основном аналогичен предыдущему. Отличие заключается лишь в подготовке проб. Так, кефир предварительно выдерживают на кипящей водяной бане для удаления углекислого газа.

Исследуемый материал: свежее молоко, простокваша, кефир.

Реактивы: 0,1н и 1н растворы гидроксида натрия, 1% спиртовой раствор фенолфталеина.

Оборудование

1. Колбы или стаканы.
2. Мерные пипетки или мензурки.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОЙ КИСЛОТНОСТИ МОЛОКА И КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Для измерения активной кислотности применяют разные методы: приближенный – с помощью индикаторов, и более точный – потенциометрический метод с использованием специальных приборов (pH-метров, иономеров и др.). Определение pH молока на pH-метре заключается в измерении разности потенциалов между измерительным электродом и электродом сравнения, погруженным в пробу молока. В качестве измерительного или индикаторного электрода служит стеклянный электрод, в качестве электрода сравнения – хлорсеребряный. При погружении стеклянного электрода в исследуемую жидкость между поверхностью его чувствительной части и исследуемым раствором происходит обмен ионами натрия и водорода. В результате обмена возникает электродный потенциал, пропорциональный pH раствора (молока). Этот потенциал измеряют с помощью электрода сравнения, потенциал которого постоянен и не зависит от pH раствора.

pH-метр включают в сеть, прогревают в течение 10-15 мин и проверяют показания по стандартным буферным растворам. Затем стаканчик и электроды промывают дистиллированной водой. В стаканчик наливают 40 мл молока, простокваши или кефира и погружают в него электроды прибора. Температурный компенсатор устанавливают на температуру молока. После того, как стрелка остановится, считывают показания по шкале

прибора. Для перевода величины pH в градусы титруемой кислотности пользуются таблицами (прил.1,2).

Исследуемый материал: свежее молоко, простокваша, кефир.

Оборудование

3. Колбы или стаканы.
4. Мерные пипетки или мензурки.
5. pH-метр.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Блинов, В.А.* Биохимия с основами физической и коллоидной химии (методические указания) / В.А. Блинов, В.И. Латышев, Ю.В. Платонова, В.Р. Струговщиков. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2005. – с. 127-128.

2. *Блинов, В.А.* Общая биотехнология (методические указания) / В.А. Блинов, С.Н.Буршина. – Саратов: «Полиграфия поволжья», 2004. – с. 11-14.

ТЕМА 3. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПАСТЕРИЗАЦИИ

Цель: освоить способы борьбы с микробами-контаминантами и методы оценки эффективности пастеризации молока.

Важной проблемой в биотехнологии является борьба с микробами- контаминантами. Методы, применяемые для исключения попадания посторонней микрофлоры, основаны на задержке или уничтожении микроорганизмов. К способам, основанным на принципе задержки микроорганизмов, относят стерилизующую фильтрацию воздуха и жидкостей и герметизацию технологического оборудования и коммуникаций. Эти способы по своей сути являются физическими. К способам стерилизации, основанным на уничтожении микроорганизмов, относят термическую, химическую и радиационную стерилизацию, которые применяют для обеззараживания оборудования, коммуникаций, питательных сред и т.д.

В качестве стерилизующего агента при термической обработке обычно используют водяной пар, подаваемый под различным давлением и температурой. Химическую стерилизацию применяют для тех соединений, которые не выдерживают нагревания до 110-130^{0}С. В качестве агентов химической стерилизации используют формальдегид, оксид этилена, перекись водорода, щелочи, спирты, кислоты.

Сырое молоко подвергают различным режимам пастеризации. Предварительно определяют микробную обсемененность молока. Метод основан на восстановлении метиленового голубого окислительно-восстановительными ферментами, выделяемыми в молоко микроорганизмами. По продолжительности обесцвечивания метиленового голубого оценивают бактериальную обсемененность молока.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПАСТЕРИЗАЦИИ МОЛОКА

Ход анализа.

В пробирки наливают по 1 мл рабочего раствора метиленового голубого и по 20 мл исследуемого молока, закрывают резиновыми пробками и смешивают путем медленного трехкратного переворачивания пробирок. Пробирки помещают в термостат с температурой 37ºС. Момент установки пробирок в термостат считают началом опыта. Наблюдения за изменением окраски ведут через 40 мин, 2,5 и 3,5 ч с начала проведения анализа. Окончанием анализа считают момент обесцвечивания окраски молока. При этом остающийся небольшой кольцеобразный слой вверху (шириной не более 1 см) или небольшую окрашенную часть внизу пробирки (шириной не более 1 см) в расчет не принимают. Появление окрашивания молока в этих пробирках при встряхивании не учитывают.

В зависимости от продолжительности обесцвечивания молоко относят к одному из четырех классов, указанных в табл.2.

Таблица 2

Характеристика молока по классам

Класс молока	Продолжительность обесцвечивания, ч	Ориентировочное количество бактерий в 1 мл молока
Высший	Более 3,5	До 300 тыс.
I	3,5	От 300 тыс. до 500 тыс.
II	2,5	От 500 тыс. до 4 млн.
III	40 мин	От 4 млн. до 20 млн.

Для оценки эффективности пастеризации применяют пробы на пероксидазу и фосфатазу.

Проба на пероксидазу с йодистокалиевым крахмалом. Метод основан на разложении пероксида водорода ферментом микроорганизмов пероксидазой. Освобождающийся при

разложении пероксида водорода активный кислород окисляет йодид калия, освобождая йод, образующий с крахмалом соединение синего цвета.

В пробирки отмеривают 5 мл пастеризованного молока. Затем приливают 5 капель раствора йодистокалиевого крахмала и 5 капель 0,5% раствора перекиси водорода, перемешивают содержимое пробирок. Наличие пероксидазы определяют по изменению окраски.

При отсутствии пероксидазы в молоке цвет содержимого пробирки не изменится. При наличии пероксидазы содержимое пробирок приобретает темно-синюю окраску. Это свидетельствует о том, что молоко или не пастеризовали или пастеризовали при температуре ниже 80^0С. Не исключено также, что молоко смешивали с непастеризованными молочными продуктами.

Чувствительность метода высокая и позволяет обнаружить добавление не менее 5% непастеризованных молочных продуктов к пастеризованным.

Проба на фосфатазу по реакции с фенолфталеинфосфатом натрия. Метод основан на гидролизе фенолфталеинфосфата натрия ферментом микроорганизмов фосфатазой. Освобождающийся при гидролизе фенолфталеин в щелочной среде дает розовое окрашивание.

В пробирку отмеривают 2 мл пастеризованного молока и 1 мл раствора фенолфталеинфосфата натрия. Содержимое пробирки закрывают пробкой и взбалтывают. Затем пробирку помещают в термостат с температурой 40^0С и определяют окраску содержимого пробирки через 10 и 60 мин.

При отсутствии фосфатазы в молоке окраска содержимого пробирки не изменяется. При наличии фосфатазы содержимое пробирки приобретает окраску от светло-розовой до ярко-розовой. Следовательно, молоко не подвергалось пастеризации или подвергалось пастеризации при температуре ниже 63^0С, или оно было смешано с непастеризованным молоком.

Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление не менее 2% непастеризованного молока к пастеризованному.

Исследуемый материал: молоко.

Реактивы*:* раствор йодистокалиевого крахмала (к 100 мл 3% раствора крахмала прибавляют 3 г йодида калия), 0,5% раствор перекиси водорода, раствор метиленового голубого, раствор фенолфталеинфосфата натрия (0,1% раствор в аммиачной буферной смеси; аммиачную буферную смесь готовят смешиванием 80 мл 1 М раствора аммиака с 20 мл 1 М раствора хлорида аммония – pH 9,8), 6% раствор хлорамина, 6% раствор гипохлорита кальция, 96% спирт, ампициллин 400 мг/л.

Оборудование:

1. Термостат.
2. Чашки Петри.
3. Пробирки.
4. Пипетки.
5. Фильтровальная бумага.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Блинов В.А.* Общая биотехнология (методические указания) / В.А. Блинов, С.Н.Буршина. – Саратов: «Полиграфия поволжья», 2004. – с. 33-35.
2. *Иващенко С.В.* Методические указания и задания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Техническая микробиология» / С.В. Иващенко, В.В. Ситников. – Саратов: ИЦ «Наука», 2011. – с. 29-31.

ТЕМА 4. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЫРНЫХ ПРОДУКТОВ

Цель: сформировать навык проведения микробиологического анализы кисломолочных продуктов.

В кисломолочных продуктах определяют количество заквасочной микрофлоры. К ней относят: молочнокислую микрофлору, бифидобактерий и дрожжей.

Молочнокислая микрофлора используется для сквашивания молока, а также определяет диетические и лечебные свойства кисломолочных продуктов.

Бифидобактерии слабо сквашивают молоко и используются при производстве кисломолочных продуктов только в сочетании с молочнокислой микрофлорой. Основное их назначение усиливать диетические и лечебные свойства продукта.

Дрожжи вырабатывают небольшое количество этилового спирта, благоприятно действующего на перистальтику кишечника.

Лечебный эффект заквасочной микрофлоры проявляется при кишечных дисбактериозах, когда в кишечнике начинают преобладать гнилостные микроорганизмы. Заквасочная микрофлора хорошо приживается в кишечнике человека, продуцирует молочную кислоту и бактериоцины, угнетает рост гнилостной микрофлоры, а также образует витамины, незаменимые аминокислоты, нейтрализует токсины.

Количество заквасочной микрофлоры в продуктах резко сокращается при их длительном хранении, добавлении консервирующих веществ, термической обработке. Поэтому СанПиН для жидких кисломолочных продуктов предусматривает определение количества молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий.

Приблизительное количественное соотношение различных групп молочнокислых микроорганизмов (палочек и стрептококков) в продукте определяют микроскопией.

Точное определение количества молочнокислых микроорганизмов проводится бактериологическим методом, т.е. высевом продукта на селективные плотные питательные среды с последующим подсчетом выросших колоний.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Ход анализа.

Провести микроскопию кисломолочного продукта. На предметное стекло стерильной бактериальной петлей нанести кисломолочный продукт, распределить на площади около 1 $см^2$, подсушить на воздухе и фиксировать 10 мин в 96%-м растворе этилового спирта. Фиксированный и обезжиренный в спирте мазок подсушить на воздухе и окрашивать спиртоводным раствором метиленового голубого 3 мин, затем подсушить фильтровальной бумагой и микроскопировать под масляной иммерсионной системой. В тетради указать морфологию микроорганизмов (молочнокислые стрептококки или молочнокислые палочки) и приблизительное процентное соотношение их количеств. Количество молочнокислых стрептококков, как правило, на порядок превышает количество молочнокислых палочек.

Приготовить разведение исследуемого продукта в физиологическом растворе и сделать посев в селективную плотную питательную среду. Приготовить 4 пробирки с 9 мл физиологического раствора. Дозатором взять 1 мл продукта из упаковки и перенести в 1-ю пробирку с 9 мл стерильного физиологического раствора. Перемешать содержимое пробирки струей жидкости (разведение 10^{-1}). Перенести 1 мл содержимого из 1-й во 2-ю пробирку и перемешать (разведение 10^{-2}). Повторить перенос и перемешивание содержимого во всех последующих пробирках, получая разведения продукта 10^{-3} и 10^{-4}.

Перенести дозатором по 0,1 мл содержимого из 2-х последних пробирок на чашки Петри с лактобакагаром. Перенос необходимо начать с большего разведения (10^{-4}), а закончить меньшим разведением (10^{-3}), слегка приоткрывая чашки Петри. Распределить по поверхности питательной среды стерильным стеклянным шпателем. Шпатель

предварительно стерилизуют в горящем 96%-м этиловом спирте. Чашку с посевом подписывают, термостатируют при 37ºС 1-2 суток и изучают выросшие колонии.

Учет результатов бактериологического исследования жидких кисломолочных продуктов.

1. Определяется принадлежность выросших микробных колоний к молочнокислым микроорганизмам по внешнему виду.

Для молочнокислых стрептококков характерны: круглые, выпуклые, непрозрачные, среднего размера колонии с гладкой поверхностью и ровным краем.

Для молочнокислых палочек характерны: неправильной формы, плоские, прозрачные, среднего размера колонии с шероховатой поверхностью и изрезанным краем, т.е. звездообразные.

2. Проводится подсчет числа выросших колоний молочнокислых палочек и стрептококков.
3. Рассчитывается количество молочнокислых микроорганизмов в 1 г продукта.

Для этого количество выросших микробных колоний умножается на степень разведения продукта и на число 10 (т.к. на чашку Петри с лактобакагаром высевали 0,1 мл разведения).

4. Делаются выводы о соответствии каждого продукта требованиям СанПиН.

Жидкие кисломолочные продукты со сроком годности более 72 часов должны содержать 1×10^7 молочнокислых микроорганизмов на 1 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Карпунина, Л.В.* Микробиология и иммунология (учебно-методическое пособие для выполнения лабораторных работ) / Л.В. Карпунина, Е.А. Горельникова. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2012. – с. 54-55.

2. *Иващенко, С.В.* Методические указания и задания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Техническая микробиология» / С.В. Иващенко, В.В. Ситников. – Саратов: ИЦ «Наука», 2011. – с. 32-35.

ТЕМА 5. КАЧЕСТВЕННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА МЫШЦ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА МЯСА.

Цель: сформировать навык подготовки мяса и мясопродуктов к анализу и проведения их качественного анализа биохимическими методами.

Химический состав мяса зависит от вида, породы, упитанности, рациона и функционального состояния животного в момент убоя. Содержание основных веществ в мясе различных животных следующее: вода – 47,5-78,2%, белки – 14,5-20,8%, жиры – 3,5-37,3%, углеводы – 3,5-4%, минеральные вещества – 0,7-1,7%. Калорийность мяса 87-406 ккал на 100г продукта.

Микрофлора, попавшая на мясо, при повышенной влажности и температуре начинает бурно размножаться и вызывает его порчу. Мясо становится несвежим. Некоторые виды порчи развиваются только на поверхности: ослизнение, пигментация, свечение. Другие легко проникают внутрь: гниение, закисание, плесневение. Наиболее активными возбудителями порчи мяса являются палочковидные формы микробов.

Свежесть мяса определяют органолептическими методами (изучают цвет, консистенцию, запах мышечной ткани, состояние жира, прозрачность и аромат бульона), химическими методами (выявляют летучие жирные кислоты или продукты первичного распада белков), микроскопическим методом (изучают мазки-отпечатки) и бактериологическим анализом (высев продукта на плотные питательные среды).

Химические и микроскопические исследования проводят в спорных случаях, когда органолептические методы указывают на сомнительную свежесть мяса.

Для микроскопического исследования от мясной туши отбирают кусок мяса массой не менее 200 г, с которого делают не менее 6 мазков-отпечатков. При сомнительных результатах микроскопического метода мясо подвергается бактериологическому анализу.

ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСТРАКТА МЯСА ПО АНДРИЕВСКОМУ

Цель: сформировать навык приготовления экстракта мяса и метод определения процентной фильтруемости и прозрачности фильтрата мяса.

Ход анализа.

Берут 10 г мяса, по возможности, освобожденного от соединительной ткани и жира. Ножницами разрезают на 20-30 кусочков и помещают в коническую колбу, вместимостью 250 кубических см. Затем наливают в эту колбу 100 мл бидистиллированной воды и оставляют на 15 минут, все время потряхивая её. Через 15 минут экстракт фильтруется через однослойный бумажный фильтр в измерительный цилиндр в 100 $см^3$.

а) отмечают сколько $см^3$ экстракта проходит через фильтр в каждые 5 минут (% указывается измерительным цилиндром). Экстракт доброкачественного мяса фильтруется в первые 5 минут от 50% до 60% и больше и в 10 минут профильтровывается весь. Недоброкачественное мясо в зависимости от степени испорченности в первые 5-10 минут дает 25-30% фильтрата и для фильтрации всего экстракта обычно требуется более одного часа.

б) Фильтрат экстракта свежего мяса совершенно прозрачный розового цвета. Фильтрат экстракта загнившего мяса в зависимости от степени разложения имеет опалесценцию той или иной степени, мутный цвет от бледно-розового с беловатым оттенком до серо-зеленого.

Материал исследования: мясо.

Реактивы: бидистиллированная вода.

Оборудование

1. Ножницы.

2. Коническая колба на 250 мл.
3. Измерительный цилиндр на 100 мл.
4. Бумажный фильтр.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕАКЦИИ СРЕДЫ ФИЛЬТРАТА МЯСА ПОСРЕДСТВОМ ЛАКМУСОВОЙ БУМАЖКИ И РН-МЕТРА

Ход анализа.

В пробирку наливают 3-4 мл фильтрата мяса, помещают в него универсальную индикаторную бумага и по изменившейся окраске индикаторной бумаги в сравнении со стандартной шкалой определяют pH.

В стеклянный стаканчик наливают 30-40 мл фильтрата мяса, помещают в него электроды pH-метра и по шкале определяют pH.

Материал исследования: мясной экстракт.

Оборудование

1. Индикаторная универсальная бумага.
2. Пробирки.
3. Стеклянный стаканчике на 50 мл.
4. pH-метр.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВЕЖЕСТИ МЯСА

Ход анализа.

1. **Реакция на аммиак.** В пробирку наливают 1 мь реактива Несслера и затем приливают 10 капель экстракта мяса. В экстракте испорченного мяса появляется желтоватый и желто-коричневый цвет с аналогичного цвета осадком. В пробирке с экстрактом доброкачественного мяса никаких изменений в цвете нет. Имеется цвет реактива.

2. **Проба на глобулины** (ставится только с мясом крупного рогатого скота). В пробирку наливают 2 мл фильтрата мяса и прибавляют 2-3 капли 1% водного раствора уксусной кислоты. Все пробирки с пробами ставятся на 2-3 минуты в водяную баню, при 75-80ºС. Пробирки с экстрактом испорченного мяса выпадает хлопчатый осадок и муть становится интенсивнее. Экстракт доброкачественного мяса, после подогрева становится ещё прозрачнее.

3. **Проба с медным купоросом.** В пробирку наливают 2-3 мл экстракта мяса и к нему прибавляют 5-6 капель медного купороса. Экстракт недоброкачественного мяса дает муть и осадок. В экстракте доброкачественного мяса никакого изменения не наблюдается.

Материал исследования: экстракт мяса.

Реактивы: реактив Несслера, 1% уксусная кислота, 1% перекиси водорода, 10% раствор сульфата меди.

Оборудование

1. Пробирки.
2. Пипетки.
3. Водяная баня.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Блинов, В.А.* Биохимия с основами физической и коллоидной химии (методические указания) / В.А. Блинов, В.И. Латышев, Ю.В. Платонова, В.Р. Струговщиков. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2005. – с. 123-124.

2. *Блинов, В.А.* Биохимия (методические указания к лабораторным работам) / В.А. Блинов, С.Н. Буршина, Е.Н. Зеленцова. – Саратов: Саратовский источник, 2005. – с.41-42.

ТЕМА 6. БИОХИМИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ. АНАЛИЗ КАЧЕСТВА КОЛБАС.

Цель: сформировать навык определения пероксидазы, каталазы, молочной кислоты, креатинина и карнозина в мышцах.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРОКСИДАЗЫ МЫШЦ

Ход анализа.

В пробирку наливают 2 мл экстракта мяса, затем прибавляют 5 капель 0,2% спиртового раствора бензидина и 2 капли 1% раствора H_2O_2, приготовленного ex tempore. Все это взбалтывают. Экстракт свежего мяса дает синий цвет спустя 20 с - 1 мин с последующим побурением среды.

Материал исследования: экстракт мяса.

Реактивы: 1% раствор H_2O_2; 0,2% спиртовой раствор бензидина.

Оборудование

1. Пробирки.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАТАЛАЗЫ МЫШЦ

Для определения каталазы в две пробирки берут по 1 мл водного экстракта мышц. Одну пробирку нагревают до кипения, охлаждают, затем в обе пробирки добавляют 3-5 капель раствора перекиси водорода. В одной из пробирок появляются пузырьки кислорода.

Материал исследования: экстракт мяса.

Реактивы: 1% раствор H_2O_2.

Оборудование

2. Пробирки.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ, КРЕАТИНИНА И КАРНОЗИНА

В пробирку налить 5-8- мл водного экстракта мышц, подкислить до слабокислой реакции по лакмусу, раствор прокипятить, осадок белка удалить фильтрованием. Полученный фильтрат используют для проведения реакций.

Для открытия *молочной кислоты* нижнюю часть пробирки заполнить реактивом, который готовят добавлением к 3 мл 2%-го раствора фенола нескольких капель 2%-го раствора хлорного железа до появления фиолетовой окраски. Затем в пробирку прилить исследуемый экстракт. Окраска меняется из фиолетовой на желтую в присутствии молочной кислоты.

Для открытия *креатинина* пользуются реакцией с пикриновой кислотой. К 1 мл исследуемого фильтрата добавить 3 капли насыщенного раствора пикриновой кислоты и подщелочить раствором едкого натра. Через несколько минут появляется оранжево-красная окраска. Нагревание ускоряет реакцию.

Для открытия *карнозина* (β-аланилгистидин) пользуются реакцией с диазобензолсульфокислотой.

К 1 мл исследуемого экстракта из мышц добавить 1 мл диазореактива. Смешать и добавить 10%-й раствор $NaHCO_3$ до четкой щелочной реакции, при этом появляется красное окрашивание.

Материал исследования: экстракт мяса.

Реактивы: 2%-го раствор фенола, 2%-го раствор хлорного железа, насыщенный раствор пикриновой кислоты, раствор едкого натра, 10%-й раствор $NaHCO_3$, диазореактив.

Оборудование

1. Пробирки.
2. Держатель для пробирок.
3. Газовые горелки

АНАЛИЗ КАЧЕСТВА КОЛБАС

Цель: сформировать навык проведения бактериологического анализа колбас.

С мясным фаршем в вареные колбасы попадает большое количество микробов, после тепловой обработки жизнеспособными остаются бактериальные споры и незначительное число вегетативных форм микроорганизмов. Они вызывают порчу продукта. Кроме гнилостных бактерий сюда могут попадать возбудители пищевых токсикоинфекций (сальмонелла, токсигенная кишечная палочка, бацилла цереус, клостридия перфрингенс) и пищевых бактериальных токсикозов (золотистый стафилококк).

Бактериологический анализ вареных колбас проводят в следующих случаях:

1. Для профилактического контроля не реже одного раза в 10 дней.
2. По требованию контролирующих организаций.
3. При использовании недоброкачественного сырья.
4. При нарушении температурного или санитарно-гигиенического режима производства.
5. При сомнительной свежести продукта.

На первом этапе подвергают внешнему осмотру 10% всего количества продукции от партии.

От колбасных изделий более 2 кг отбирают 2 единицы продукции в оболочке или 3 единицы без оболочки для всех видов исследований (органолептического, химического и бактериологического).

От колбасных изделий менее 2 кг отбирают по 2 единицы продукции в оболочке или по 3 единицы без оболочки для каждого вида исследований, т.е. 6-9 единиц продукции.

Отбор проб для бактериологического анализа проводят в первую очередь при помощи стерильного ножа. От каждой единицы массой более 2 кг отбирают разовую пробу длиной 15 см от конца батона. Из двух точечных проб составляют одну общую, которую отправляют в лабораторию в стерильной посуде или пакете с сопроводительным документом.

Пробы хранят до момента исследования при температуре 4-8ºС не более 4-х часов.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВАРЕНЫХ КОЛБАС

Ход анализа.

В тетради указать название, производителя, срок годности вареной колбасы. Поверхность колбасы протереть горящим ватным тампоном, смоченным в спирте. Стерильными ножницами и пинцетом отобрать точечную пробу колбасы массой 1 г.

Приготовить испытуемую взвесь продукта. Для этого в стерильной керамической ступке растереть 1 г колбасы с небольшим количеством стерильного песка, пипеткой добавить 10 мл стерильного физиологического раствора, перемешать и оставить на 1 мин в покое для оседания песка, накрыв ступку стерильной бумагой. Таким образом, получили разведение продукта 1:10.

Определить общее количество бактерий в 1 г продукта. Перенести дозатором 0,1 мл жидкого содержимого из ступки на чашку Петри с МПА. Распределить по поверхности питательной среды стерильным стеклянным шпателем, слегка приоткрывая чашку Петри. Шпатель предварительно стерилизуют в горящем 96%-м этиловом спирте. Чашку с посевом подписывают, термостатируют при 37ºС 1-2 суток и подсчитывают выросшие колонии.

Рассчитывается количество бактерий в 1 г продукта. Для этого количество выросших микробных колоний умножается на степень разведения продукта – 10^1 и на число 10 (т.к. на чашку Петри с МПА высевали 0,1 мл разведения). Делаются выводы о соответствии каждого продукта требованиям СанПиН. Результаты исследований заносятся в тетрадь.

СанПиН допускает наличие в 1 грамме вареных колбас высшего и первого сортов 1×10^3 бактерий, а в 1 г колбас второго сорта – $2{,}5\times10^3$ бактерий.

Материал исследования: 2 вида вареной колбасы;

Реактивы: МПА, 1 флакон с 50 мл стерильного физиологического раствора; стерильный песок в банке; 96% раствор спирта для обработки упаковки; 96% раствор этилового спирта для обработки шпателя.

Оборудование

1. 2 чашки Петри с МПА.
2. 2 стерильные керамические ступки с пестиками на 100-200 мл.
3. 2 стерильные пипетки по 10 мл.
4. 2 дозатора на 0,1 мл.
5. Стерильные наконечники к дозаторам.
6. Поднос.
7. 2 штатива для пробирок.
8. 2 пинцета.
9. 2 ножниц.
10. 2 стеклянных шпателя.
11. 2 резиновые груши.
12. Маркеры.
13. Листки стерильной бумаги для взвешивания проб колбасы.
14. Газовые горелки.
15. Электрические весы на 0,01-100г.
16. Термостат на 37ºС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

2. *Блинов, В.А.* Биохимия с основами физической и коллоидной химии (методические указания) / В.А. Блинов, В.И. Латышев, Ю.В. Платонова, В.Р. Струговщиков. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2005. – с. 98-100.

2. *Блинов, В.А.* Биохимия (методические указания к лабораторным работам) / В.А. Блинов, С.Н. Буршина, Е.Н. Зеленцова. – Саратов: Саратовский источник, 2005. – с.43

ТЕМА 7. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РЫБЫ

Цель: сформировать навык микробиологического анализа рыбы.

Качество свежей, охлажденной и мороженой рыбы и морских беспозвоночных контролируют визуально при поступлении их на рыбообрабатывающее предприятие и ежедневно.

Если доброкачественность рыбного сырья вызывает сомнение, то для объективной оценки проводят исследование мазков-отпечатков. Для этого кожу рыбы посередине спины или ближе к голове освобождают от чешуи и прижигают раскаленным скальпелем, затем стерильным скальпелем вырезают кусочки мяса рыбы площадью около 1,5 кв. см и толщиной 1,5 - 2,0 мм. Кусочком мяса делают отпечаток на стерильном предметном стекле. Отпечаток мышечной ткани фиксируют, проводя 3 раза над пламенем горелки, окрашивают любым красителем и просматривают под микроскопом не менее 10 полей зрения (увеличение х 900). В поле зрения микроскопа в мазке-отпечатке ткани рыбы, пригодной к употреблению, должно содержаться не более 10 клеток микроорганизмов (микро- и диплококков).

При стойкой повышенной обсемененности готовой продукции для выявления источника обсеменения проводят микробиологический анализ сырья. Контроль включает определение в сырье количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. По требованию заказчика и эпидпоказаниям дополнительно определяют наличие бактерий группы кишечных палочек, золотистых стафилококков, сальмонелл и парагемолитических вибрионов.

Материал исследования: два куска рыбы массой 100 г, хранившихся при 37ºС 6 часов и 24 часа соответственно.

Реактивы: набор реактивов и оборудование для окраски по Грамму, иммерсионное масло, толуол.

Оборудование

1. Поднос.
2. Металлические шпатели.
3. Ножницы.
4. Пинцеты.
5. Предметные стекла.
6. Салфетки для протирания объективов.
7. Газовые горелки.
8. Световые микроскопы с масляными иммерсионными системами.
9. Настольные лампы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иващенко С.В. Методические указания и задания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Техническая микробиология» / С.В. Иващенко, В.В. Ситников. – Саратов: ИЦ «Наука», 2011. – с. 39-41.

2. Карпунина, Л.В. Учебно-методическое пособие для выполнения лабораторных работ «Микробиология и иммунология» / Л.В. Карпунина, Е.А. Горельникова. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2012. – с.22-24.

ТЕМА 8. КАЧЕСТВО ПИЩЕВОГО ПРОДУКТА

Цель: сформировать навык проведения качественного анализа мяса микроскопическим методом.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД ОЦЕНКИ СВЕЖЕСТИ МЯСА

Ход анализа.

Определить свежесть мяса микроскопическим методом. Для этого поверхность исследуемых мышц стерилизовать раскаленным шпателем, вырезать стерильными ножницами из мяса кусочек величиной 2,0×1,5×2,5 см, взять его пинцетом и приложить местом разреза к предметным стеклам.

Полученные препараты подсушить на воздухе, фиксировать в пламени горелки, окрасить препараты метиленовым синим, промыть водой, подсушить фильтрвальной бумагой и микроскопировать под масляной иммерсионной системой. На одном предметном стекле исследовать несколько полей зрения. Найти среднее количество микробов в одном поле зрения.

Оценку результата микроскопии провести в соответствии со следующими положениями:

- в свежем мясе до 10 микробов в одном поле зрения;
- в мясе сомнительной свежести не более 30 микробов;
- в несвежем мясе более 30 микробов. Такое мясо бракуют.

Материал исследования: два куска мясной вырезки массой 200 г, хранившихся при 37ºС 6 часов и 24 часа соответственно.

Реактивы: набор реактивов и оборудование для окраски по Грамму, иммерсионное масло, толуол.

Оборудование

1. Поднос.
2. Металлические шпатели.
3. Ножницы.
4. Пинцеты.
5. Предметные стекла.
6. Салфетки для протирания объективов.
7. Газовые горелки.
8. Световые микроскопы с масляными иммерсионными системами.
9. Настольные лампы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Иващенко С.В.* Методические указания и задания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Техническая микробиология» / С.В. Иващенко, В.В. Ситников. – Саратов: ИЦ «Наука», 2011. – с. 37-38.

2. *Карпунина, Л.В.* Учебно-методическое пособие для выполнения лабораторных работ «Микробиология и иммунология» / Л.В. Карпунина, Е.А. Горельникова. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2012. – с.11-14.

ТЕМА 9. МИКРООРГАНИЗМЫ В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Цель: ознакомиться с микроорганизмами в биотехнологии; изучить свойства дрожжей.

Дрожжи (Saccharomycetaceae) – микроскопические одноклеточные бесхлорофилльные растительные организмы, принадлежащие к классу грибов. Их относят к классу аскомицетов или сумчатых грибов и подклассу протоаскомицетов. Размножаются почкованием или делением. Клетки дрожжей имеют отчетливо выраженную оболочку и не образуют истинного мицелия. Типичные сахаромицеты образуют внутри своих клеток споры (аскоспоры), в результате чего клетки превращаются в спороносодержащие сумки (аски).

Большинство дрожжей особенно хорошо размножаются на кислых средах (pH 5,4–5,8) при температуре 25-28^{0}С. В качестве источников углерода они используют сахара, органические кислоты (уксусная, молочная и др.), этиловый спирт и глицерин.

Дрожжи, наряду с бактериями, применяют для получения молочнокислых продуктов (кефир, кумыс, айран и пр.), используют в хлебопечении, виноделии, пивоварении, спиртовом, глицериновом производстве, в медицине и т.д.

Химический состав дрожжей находится в зависимости от вида, расы гриба, состава питательной среды, условий культивирования и ряда других факторов. Прессованные дрожжи в среднем содержат 73-75% воды и 27-25% сухих веществ (табл.1).

Таблица 1

Химический состав дрожжей (в % сухого вещества)

Виды Состав	Пекарские, раса «М»	Пивные	Кормовые торула	Кормовые миноторула
Белковые вещества	44 - 46	51 - 58	51 - 55	47 – 53
Ж и р	1,5-2,5	2,0-3,0	1,7-2,7	2,6-3,0
Углеводы	30 – 40	25 – 30	22 - 33	27 – 40
З о л а	6,9-10,0	8,1-9,1	8,1-11,1	7,8-10,9

Дрожжи весьма богаты различными витаминами, особенно группы В (табл.2).

Таблица 2

Содержание в дрожжах витаминов (в мг на 1 г сухого вещества)

Витамины	Хлебопекарные	Пивные	Кормовые
Тиамин	24 - 39	60 - 125	5 - 38
Рибофлавин	21 - 80	21 - 80	21 - 80
Витамин РР	150 - 830	150 - 830	150 - 830
Пиридоксин	25 – 40	25 - 40	---
Фолиевая кислота	19 - 36	19 - 22	10 – 15
Пантотеновая кислота	200 - 280	42 - 200	40 - 140

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Ход работы

1.1. Определение влажности дрожжей

Для определения влажности предварительно заготавливают пакеты из квадратных листов (длина стороны 16 см) пористой непроклееной бумаги. Листы сгибают пополам в виде треугольника, края у пакетов загибают на расстоянии 1 см от края. Пакеты предварительно высушивают в термостате до постоянной массы и хранят в эксикаторе.

На чашку технических весов помещают предварительно высушенный и взвешенный пакет, вносят в него 1-3 г прессованных дрожжей и быстро распределяют навеску шпателем по поверхности пакета. Аналогичным способом подготавливают второй пакет.

Затем оба пакета помещают в сушильный шкаф с температурой 160^0С. Пакеты сушат не менее 5 мин. Высушенные до постоянной массы пакеты с дрожжами охлаждают в эксикаторе в течение 3-4 мин и взвешивают.

Влажность дрожжей рассчитывают по формуле (в %):

$W = M_1 - M_2 / M \cdot 100$

M_1 - масса навески с пакетом до высушивания, г

M_2 - масса навески с пакетом после высушивания, г

M - масса навески, взятая для высушивания, г

Расхождения между параллельными определениями не должны превышать 0,3 %.

1.2. Определение стойкости дрожжей

Пачку дрожжей массой 0,5–1,0 кг охлаждают до 4^0С. Затем её помещают в термостат при температуре 35^0С и выдерживают до полного размягчения бруска. Время, прошедшее с момента помещения дрожжей в термостат и до их полного размягчения характеризует стойкость дрожжей и выражается в часах. В норме стойкость дрожжей должна быть не менее 48 ч.

1.3. Определение содержания золы в дрожжах

В предварительно прокаленный и взвешенный фарфоровый тигель помещают около 3 г дрожжей (точная навеска). Навеску обливают 1-2 мл концентрированной серной кислоты, размешивают оплавленной стеклянной палочкой, вытирают её кусочком обеззоленного фильтра, который затем помещают в тигель. Тигель осторожно нагревают на слабом пламени газовой горелки под тягой. Когда содержимое тигля перестанет пенится и выделение паров прекратится, проводят окончательное сжигание и прокаливание содержимого тигля до постоянной массы в муфельной печи при слабом калении.Сжигание считается законченным, когда вся масса превратится в белый порошок, не содержащий черных частиц несгоревшего вещества. Затем тигель переносят в эксикатор, охлаждают и взвешивают.

Пример:

- масса пустого прокаленного тигля 17,9632 г ;
- масса тигля с навеской дрожжей 20,9306 г;
- масса тигля с золой 18,2204 г.

Следовательно, навеска дрожжей составляет 2,9674 г, а масса золы - 0,2572 г. Исходя из этих данных, рассчитывают содержимое золы. Оно равно: $0,2572 \cdot 100 / 2,9674 = 8,67$ %.

1.4. Определение кислотности дрожжей

Навеску дрожжей (10 г) помещают в фарфоровую ступку и растирают её пестиком, постепенно доливая воду (всего 50 мл). В полученную суспензию добавляют 3-5 капель фенолфталеина и титруют смесь 0,1н раствором гидроксида натрия до появления слабого розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Кислотность дрожжей, в пересчете на уксусную кислоту (в мг на 100 г дрожжей), вычисляют по формуле:

$X = V \cdot 6 \cdot K \cdot 10$

где X - кислотность дрожжей в пересчете на уксусную кислоту

V - количество 0,1 н раствора щелочи, пошедшее на титрование, мл

6 - количество уксусной кислоты, эквивалентное 1 мл 0,1н раствора щелочи, мг

К - поправочный коэффициент 0,1 н раствора гидроксида натрия

10 - переводной коэффициент

Обязательно проводят два параллельных определения и вычисляют среднюю величину с точностью до десятой. Согласно ГОСТа кислотность 100 г дрожжей в день выработки заводом и в пересчете на уксусную кислоту, должна быть, не более 120. Кислотность 100 г дрожжей через 12 суток хранения или транспортирования при температуре 0–4^{0}С - не должна превышать 360.

1.5. Определение в дрожжах массовой доли белков методом формолового титрования

Метод заключается в блокировке свободных аминогрупп белков внесенным нейтрализованным формалином (формолом). Свободные карбоксильные группы белков затем нейтрализуются щелочью. Количество щелочи, пошедшее на титрование карбоксильных групп, косвенно отражает массовую долю белков.

10 г дрожжей разводят в 90 мл дистиллированной воды и титруют в присутствии фенолфталеина 0,1н раствором гидроксида натрия до появления слабой розовой окраски. Затем вносят 5 мл 40% нейтрализованного формалина и вновь проводят титрование 0,1н раствором гидроксида натрия до не исчезающей слабой розовой окраски. Количество щелочи, пошедшее на второе титрование (при первом титровании оно расходуется на нейтрализацию веществ, обусловливающих кислотность дрожжей), умножают на коэффициент 0,959 и получают массовую долю белков в дрожжах.

1.6. Определение подъемной силы и осмоустойчивости дрожжей

1 способ. На технических весах отвешивают 5 г дрожжей, 280 г муки, цилиндром отмеривают 160 мл 2,5% раствора хлорида натрия. Приготавливают тесто и формируют его в виде батона, который помещают в металлическую форму, предварительно нагретую в термостате при температуре 35^{0}С и смазанную растительным маслом. Форма должна иметь на продольном и поперечном разрезах сечение в виде трапеции и быть следующих размеров (в см): верхние основания 14,3 и 9,2, нижние – 12,6 и 8,5, высота – 8,5.

На длинные борта стандартной формы навешивают металлическую перекладину, входящую в форму на глубину 1,5 см. Форму с тестом помещают в термостат (35^{0}С) и замечают время. Второе время замечают, когда тесто поднимется до нижнего края перекладины.

Разность во времени (мин) характеризует скорость подъема, или подъемную силу дрожжей. В норме подъемная сила прессованных дрожжей равна не более 75 мин.

Принимая во внимание только первый подъем теста, можно определить способность дрожжей к сбраживанию глюкозы, фруктозы и сахарозы, поскольку они содержатся в муке и обнаруживаются в тесте с момента его замеса. Мальтоза образуется в тесте значительно позже – через 90–120 мин после замеса. В связи с этим способность дрожжей к сбраживанию мальтозы теста может быть установлена лишь при последующих подъемах.

2 способ: На технических весах отвешивают 10 г дрожжей и 10-12 г муки. Дрожжи помещают в фарфоровую чашку и тщательно перемешивают с мукой и водой до образования теста.

Полученное тесто разделяют пополам и скатывают в шарики. В стакан наливают воду с температурой 32^{0}С. Два шарика одновременно опускают в стакан с водой, который помещают в термостат (32^{0}С). Отмечают время с момента опускания шариков и до момента всплывания их на поверхность. Находят среднее арифметическое двух параллельных определений.

Кроме подъемной силы большое значение имеет осмоустойчивость дрожжей. Этот показатель определяется по разнице между подъемной силой дрожжей в тесте без поваренной соли и в тесте с повышенным ее содержанием – до 3,5%. Осмоустойчивость прессованных дрожжей высокого качества не должна превышать 20 мин.

Исследуемый материал: дрожжи хлебопекарные прессованные.

Реактивы: мука, поваренная соль, 1% спиртовой раствор фенолфталеина, 0,1н раствор гидроксида натрия, концентрированная серная кислота, 40% раствор нейтрализованного формалина.

Оборудование: бумажные пакеты, ступки, пестики, бюретка, технические весы, стаканы, фарфоровые тигли, термостат, муфельная печь.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Блинов В.А. Общая биотехнология: методические указания к лабораторным работам / В.А. Блинов, С.Н. Буршина. – Саратов: ФГОУ ВПО Саратовский ГАУ, 2004. – С. 4-10.

ТЕМА 10. АНАЛИЗ ТЕСТА

Цель: ознакомиться с анализом теста, изучить свойства дрожжей.

Определение температуры теста

Для измерения температуры погружают технический термометр в тесто на 2-3 мин и снимают показания с точностью до 1 С.

Определение массовой доли влаги в тесте

Влага определяется экспрессным методом путем высушивания во влагомере навески теста массой 5 г в течение 5 мин при температуре 160 С. Рекомендуется проводить высушивание в пакетике из кальки или пергамента.

Определение объемной массы теста

В мерный цилиндр на 100-200 $см^3$ с широким горлышком наливают воду примерно на половину, замечают объем V1. Погружают в него шарик теста определенной массы т, замечают при этом объем жидкости V2. Важно при формовании шарика теста его не сминать и не уплотнять. Объемную массу теста ρ, г/$см^3$, рассчитывают по формуле:

т=V1 V2

где т — масса навески теста, г; V1 и V2, — соответственно объем жидкости до и после погружения шарика теста в цилиндр, $см^3$.

Проводят три параллельных измерения, за окончательный результат принимают среднее арифметическое.

Определения количества и качества клейковины в тесте

Для характеристики свойств теста отмывают клейковину из 50 г теста. Определяют выход сырой клейковины, массовую долю влаги, растяжимость и упругость.

Определение структурно-механических свойств теста

Структурно-механические (реологические) свойства теста определяются на пенетрометре Labor, исходя из глубины погружения конуса в исследуемое тесто.

Предельное напряжение сдвига неразрушенной структуры (пластическая прочность) в Па рассчитывается по формуле (3):

где К – константа конуса (при =60 К=2,1); m – масса, действующая на конус, кг; h – глубина погружения конуса, м.

Определение толщины пласта теста

Толщина раскатанного пласта определяется с помощью штангенциркуля с точностью до 1 мм.

Определение органолептических показателей

При оценке показателей теста обращают внимание на его цвет, аромат, характер поверхности, консистенцию, состояние жирового компонента.

Исследуемый материал: тесто.

Оборудование: технический термометр, влагомер, пакеты кальки или пергамента, мерный цилиндр, пенетрометр Labor, штангенциркуль.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иващенко С.В. Методические указания и задания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Техническая микробиология» / С.В. Иващенко, В.В. Ситников. – Саратов: ИЦ «Наука», 2011. – с. 39-41.

ТЕМА 11. АНАЛИЗ ГОТОВЫХ КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Цель: ознакомиться с анализом готовых кондитерских изделий, на примере печенья.

Качество готовых изделий регламентируется соответствующими стандартами. Оценку качества производят как по органолептическим показателям (вкус, запах, цвет, форма, состояние поверхности, вид в изломе), так и по объективным физико-химическим показателям (массовая доля сахара, жира, влажность, щелочность, намокаемость, зольность).

Определение массовой доли влаги

Влажность готовых изделий определяют высушиванием на влагомере типа Чижовой навески измельченного продукта массой 5 г (в бумажном пакетике) в течение 3 мин при температуре 160 С°. За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных измерений.

Определение щелочности

Показатель щелочности характеризует содержание в продукте щелочи, выраженное в градусах. Градус щелочности выражают количеством $см^3$ 1 н кислоты, идущей на нейтрализацию щелочи в 100 г вещества. 25 г измельченной пробы помещают в коническую колбу вместимостью 500 $см^3$ (или в молочную бутылку), приливают 250 $см^3$ дистиллированной воды, закрывают крышкой и интенсивно взбалтывают. Оставляют настаиваться на 30 мин, при этом каждые 10 мин содержимое взбалтывают. По истечению 30 мин содержимое колбы фильтруют через вату или марлю, сложенную в 2 слоя, в сухую колбу. Из колбы отбирают 50 $см^3$ фильтрата и переносят в другую сухую колбу, добавляют 2-3 капли индикатора бромтимолового синего и титруют из бюретки 0,1 н раствором соляной кислоты до появления

ясно выраженного желтого окрашивания.

Щелочность Z в град определяем по формуле:

где V объем раствора соляной кислоты пошедшей на титрование, $см^3$; V1 объем воды, взятой для растворения навески, $см^3$; V2 объем фильтрата, $см^3$; m масса навески, г; 10 коэффициент переведения 0,1 н раствора в 1 н раствор; К поправка к титру кислоты (К=1).

Щелочность изделий должна быть не более 2 град.

Определение намокаемости

Качество печенья в значительной степени зависит от способности поглощать воду.

Прибор для определения намокаемости представляет собой трехсекционную камеру из металлической сетки размером 93 80 60 мм. В каждую секцию клетки помещают по 1 шт. печенья, взвешивают на технических весах. Клетку опускают в сосуд с водой температурой 20 С°, выдерживают 2 мин (галеты и крекер 4 мин). Клетку вынимают из воды и держат 30 с в наклонном положении, затем ее вытирают с внешней стороны фильтровальной бумагой и взвешивают.

Отношение массы намокшего изделия к массе сухого характеризует степень его намокаемости. Намокаемость изделия X, %, вычисляют по формуле:

где m масса камеры с намокшим изделием, г; m1 масса пустой

камеры (после погружения в воду и вытирания внешней стороны), г;

m2 масса камеры с сухим изделием, г.

Массу камеры определяют до одного десятого знака, значение намокаемости округляют до целых. Опыт повторяют три раза, расхождение параллельных определений намокаемости должно быть не более 5 %.

Определение плотности печенья

Определение плотности заключается в определении массы и объема печенья. С этой целью изделие покрывают слоем парафина и взвешивают в воде и в воздухе. По изменению массы печенья определяют его объем. В зависимости от плотности можно дать характеристику пористости печенья.15

Определение массовой доли сахара

Определение содержания общего сахара проводится с помощью перманганатного, феррицианидного (титрометрического или колориметрического) методов.

Определение массовой доли жира

Содержание жира определяют одним из принятых для анализа мучных кондитерских изделий методов – рефрактометрическим или методом экстракции с предварительным гидролизом.

Исследуемый материал: печенье.

Реактивы: 0,1н раствор щелочи, 1 н раствор кислоты, дистиллированная вода.

Оборудование: технический термометр, влагомер, бумажные пакетики, коническая колба объемом 500 м^3, вата или марля.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скуратовская О.Д. Контроль качества продукции физико-химическими методами. 2. Мучные кондитерские изделия. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ДеЛи принт, 2003. – 128 с

2. Сергачева Е.С., Андреев А.Н. Технология мучных кондитерских изделий. Лабораторные работы: Учеб.-метод. пособие. СПб.: НИУ ИТ-

МО; ИХиБТ, 2013. 62 с.

ТЕМА 12. БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЕРМЕНТОВ

Цель: ознакомиться с активностью ферментов.

Определение пектолитической активности ферментов

Пектины являются главной составной частью межклеточного вещества, цементирующего растительные клетки в ткани. Их химический состав у разных видов растений различен. Это сложные полисахариды, состоящие из частиц галактуроновой кислоты, соединенных в длинные цепочки.

Разложение пектиновых веществ представляет собой усложненный тип маслянокислого брожения, протекающий с участием пектолитических ферментов. В естественных условиях пектолитические ферменты фитопатогенных микроорганизмов помогают им поражать растения, вызывая нарушение целостности растительных тканей. Вместе с тем, эти ферменты, получаемые при культивировании плесневых грибов, используются в некоторых отраслях агропромышленного комплекса: для осветления вин, соков, мацерации лубоволокнистых растений, в кормлении животных.

Материал исследования: льняная соломка, свежие яблоки, ферментные препараты пектаваморин и пектофоетидин.

Реактивы: мел, раствор Люголя, раствор сернистого ангидрида или метабисульфата калия (в нем содержится в легкоотделяемой форме 55-57% сернистого ангидрида).

Оборудование: водяная баня, термостат, микроскоп, предметные и покровные стекла, широкие пробирки, терка, трехлитровые банки с крышками, фильтры, воронки, марля, мерные цилиндры.

Ход работы

В природных условиях пектиновое брожение имеет большое значение в разложении растительных остатков. В народном хозяйстве оно используется для отделения от корковой паренхимы и древесных частей стебля растений лубянистых волокон, идущих на изготовление ниток. Для этих целей применяется водяная и росяная мочка прядильных культур – льна, джута и др.

Для изучения пектолитической активности ферментов из льняной (или конопляной) соломки приготавливают снопики и перевязывают их ниткой. длина снопика должна быть в пределах 5-6 см. Снопик опускают в широкую, длинную пробирку, заливают водопроводной водой и кипятят 1-2 мин. Воду сливают, снопик заливают новой порцией воды и снова кипятят 1-2 мин.

После кипячения воду сливают, а снопик снова заливают водой, на ¾ объема пробирки. Добавляют небольшое количество мела (1%). Содержимое пробирки вновь кипятят. При кипячении погибает содержащаяся на растениях и в воде микрофлора и удаляются из растений экстрактивные вещества, мешающие брожению пектина.

После кипячения в снопик пинцетом вставляют соломку не кипяченого льна для «заражения». Пробирки закрывают ватной пробкой и помещают в термостат с температурой 25-30^{0}С на 6-7 суток.

Уже в первые сутки на поверхности жидкости появляются пузырьки газа и образуется пена. Это так называемое пенное брожение, обусловленное сбраживанием моносахаридов под действием молочнокислых бактерий и кишечной палочки. Через 4-5 дней начинают размножаться Cl.pektinoforum, а затем более кислотоустойчивые Cl.felsinium. Под действием ферментов этих микроорганизмов пектиновые вещества паренхимы коры расщепляются. Процесс заканчивается через 1,5-2,0 недели. При этом снопики тонут на дно пробирки.

После окончания брожения снопики вынимают из пробирки, разрезают нитки и берут одну или несколько соломинок для исследования. Из соломинок отжимают на предметное

стекло небольшое количество жидкости. К капле жидкости надо добавить каплю раствора Люголя, покрыть предметным стеклом и исследовать под микроскопом. Возбудители брожения пектиновых веществ будут окрашены йодом в синий цвет.

Степень разрушения пектиновых веществ легко установить после высушивания снопиков по легкости отделения целлюлозных волокон от высушенного стебля.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скуратовская О.Д. Контроль качества продукции физико-химическими методами. 2. Мучные кондитерские изделия. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ДеЛи принт, 2003. – 128 с

2. Сергачева Е.С., Андреев А.Н. Технология мучных кондитерских изделий. Лабораторные работы: Учеб.-метод. пособие. СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. 62 с.

ТЕМА 13. СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ И АНАЛИЗ ЕГО ПРОДУКТОВ

Цель: ознакомиться с активностью ферментов.

Спиртовое брожение лежит в основе получения этилового спирта, кормовых и пищевых дрожжей, пивоварения и виноделия. Возбудителями спиртового брожения могут быть дрожжи - сахаромицеты, некоторые мицелиальные грибы и бактерии. Среди названных организмов дрожжи занимают ведущее место, а получение с их помощью этанола относят к разряду наикрупнейших в мире.

В дрожжах содержится комплекс ферментов, под действием которого глюкоза, фруктоза и некоторые другие сахара превращаются в спирт и углекислый газ;

$C_6H_{12}O_6$ ------> $2CO_2$ + $2CH_3CH_2OH$

глюкоза этанол

Исследуемый материал: дрожжи.

Реактивы: 2% раствор глюкозы, 1% раствор виннокаменной кислоты, 10% раствор гидроксида натрия, концентрированная серная кислота, 30% уксусная кислота, 5% раствор йода в йодистом калии.

Оборудование: ступка, пестик, аппарат для брожения, термостат, пробирки, пипетки, воронки, бумажные фильтры, стакан, индикаторная бумага.

Ход работы

3 г дрожжей растирают в фарфоровой ступке с 10 мл 2% раствора глюкозы. Содержимое ступки переносят в стакан с носиком, добавляют еще 60 мл раствора глюкозы и по каплям 1% раствор виннокаменной кислоты до кислой реакции (определяют по индикаторной бумаге).

Содержимое стакана переносят в прибор для брожения, причем заполнять прибор жидкостью нужно таким образом, чтобы запаянное колено трубки было заполнено, а в открытом колене имелось некоторое количество жидкости. Прибор ставят в термостат при 37°С, периодически наблюдают за образованием углекислого газа. Когда газ заполнит 1/4 - 1/2 закрытого колена, прибор вынимают из термостата и осторожно прибавляют в широкое колено 10% раствор гидроксида натрия почти до края. Отверстие закрывают большим пальцем, и прибор несколько раз переворачивают. Углекислый газ реагирует с гидроксидом натрия с образованием соды, что приводит к созданию вакуума.

Качественные реакции на этиловый спирт:

- образование этилового спирта в процессе брожения легко доказывается по появлению йодоформа, который образуется при реакции этилового спирта с раствором йода в йодистом калии в присутствии щелочи:

$C_2H_5OH + 6NaOH + 4J_2$ -------> $CHJ_3 + HCOONa + 5NaJ + 5H_2O$

Для этого из прибора отфильтровывают в пробирку несколько мл жидкости, к ней добавляют 2-3 капли раствора йода и по каплям 10% раствор гидроксида натрия до обесцвечивания окраски йода. Появляется запах йодоформа.

- образование этилацетата: нагревают 2 мл фильтрата с равным объемом уксусной кислоты и серной кислоты. Ощущается запах этилацетата (характерный запах свежих яблок).

$C_2H_5OH + CH_3COOH$ —> $CH_3COOC_2H_5 + H_2O$

Общая биотехнология. Стр. 100-102

Определение содержания примесей в этиловом спирте

В качестве примесей в этиловом спирте могут быть продукты его окисления (ацетальдегид и уксусная кислота), продукты дегидратации (непредельные соединения,

обладающие восстановительной способностью), остатки продуктов сырья и полупродуктов синтеза. Например, если этиловый спирт был получен в результате брожения сахаристых веществ, в нем может быть примесь сивушных масел (смесь высших спиртов - бутилового и изоамилового), в гидролизном спирте, полученном из древесных опилок, может быть примесь метилового спирта, который очень ядовит. В качестве примеси в этиловом спирте могут быть дубильные вещества, если он хранился в дубовых бочках и т.д.

Исследуемый материал: спирт этиловый.

Реактивы: метанол, 1% раствор перманганата калия, концентрированная серная кислота, насыщенный раствор щавелевой кислоты, фуксинсернистый реактив, анилин, концентрированная соляная кислота, натронная известь, индикатор бромтимоловый синий, 0,05 н и 0,1 н растворы гидроксида натрия, 1% раствор салицилового альдегида.

Оборудование: колбы с обратным холодильником, пробирки с притертыми пробками, пробирки для проведения химических реакций, пипетки, бюретки, колбы на 50 мл.

Ход работы

1. Определение содержания примесей альдегидов. Содержание альдегидов в этиловом спирте определяют колориметрическим методом путем сравнения окрасок растворов, полученных после реакции с фуксинсернистым реактивом.

В одну пробирку для колориметрирования из бесцветного прозрачного стекла вносят 10 мл 50% спирта, в другую - 10 мл стандартного раствора уксусного альдегида (50% этанол с известной концентрацией альдегида). В каждую пробирку добавляют по 2 мл фуксинсернистого реактива, пробирки закрывают пробками и взбалтывают. Через 20 мин сравнивают окраску растворов визуально, на белом фоне.

Образующаяся при реакции окраска, полученная с исследуемым спиртом, не должна быть интенсивнее окраски, полученной со стандартным раствором уксусного альдегида. Это свидетельствует о том, что альдегиды в спирте содержатся в норме.

2. Определение содержания сивушных масел. Сивушные масла представляют собой сложные многокомпонентные системы. Основными их компонентами являются изоамиловый и изобутиловый спирты. Поэтому при их анализе смесь этих спиртов используется в качестве типовых растворов.

В две колбы вместимостью 50 мл отмеривают: в одну 5 мл исследуемого спирта, в другую - 5 мл типового раствора (смесь спирта и известной концентрации примесей). В каждую колбу прибавляют по 0,2 мл 1% раствора салицилового альдегида и по 10 мл концентрированной серной кислоты. Содержимое колб энергично перемешивают. Через 20 мин сравнивают окраски растворов, визуально на белом фоне. Спирт считается кондиционным, если его окраска слабее или одинаковая по интенсивности с окраской типового раствора, содержащего допустимое ГОСТом количество примесей.

3. Определение содержания метилового спирта. Анализ основан на реакции окисления метанола до формальдегида перманганатом калия в кислой среде.

В две пробирки отмеривают: в одну 0,1 мл испытуемого спирта, в другую - 0,1 мл типового раствора метанола. При испытании ректифицированного спирта первого сорта и высшей очистки применяют типовой раствор с содержанием 0,05% метанола по объему. В каждую пробирку прибавляют по 5 мл 1% раствора перманганата калия и 0,4 мл серной кислоты, разбавленной в 2 раза водой. Закрывают пробирки пробками и перемешивают. Через 2 мин в каждую пробирку прибавляют по 1 мл насыщенного раствора щавелевой кислоты. Когда жидкость приобретет светло-желтую окраску, в пробирки приливают по 1 мл серной кислоты и после обесцвечивания раствора прибавляют по 5 мл фуксинсернистого реактива. Содержимое пробирок перемешивают. Через 35 мин сравнивают окраску испытуемого спирта и типовых растворов. Спирт считается выдержавшим пробу на метанол, если окраска его будет слабее или одинакова с окраской типовых растворов.

При малом содержании метанола в спирте указанное определение может быть недостаточно чувствительным, поэтому при анализе берут по 0,2 мл используемого спирта и

типового раствора и дальнейшее определение ведут так же, как описано выше.

Повысить чувствительность метода можно увеличением продолжительности реакции до 60 мин. Важно, чтобы время реакции исследуемого спирта и типового раствора было строго одинаковым. Необходимо также точно соблюдать условия анализа.

4. Определение содержания фурфурола. Определение основано на способности фурфурола окрашивать гидрохлорид анилина в красный цвет.

В пробирку наливают 10 капель анилина и 3 капли концентрированной соляной кислоты. Добавляют 10 мл испытуемого спирта и перемешивают. Если в течение 10 мин раствор остается бесцветным, считается, что спирт выдержал испытание. Появление красного окрашивания указывает на наличие фурфурола.

5. Определение примесей кислот. Кислотность спирта обусловлена, главным образом, наличием свободной уксусной кислоты. Определение количества кислоты в спирте основано на титровании гидроксидом натрия с образованием соответствующих солей.

В коническую колбу на 500 мл с притертым шариковым холодильником помещают 100 мл испытуемого спирта, 100 мл дистиллированной воды и кипятят в течение 15 мин. После этого смесь охлаждают до комнатной температуры. Верхнюю часть холодильника закрыта трубкой с периодически обновляемой натронной известью. Колбу с жидкостью снимают с холодильника, добавляют в нее 10 капель раствора бромтимолового синего и титруют 0,05 н раствором гидроксида натрия до появления неисчезающей при взбалтывании в течение 1-2 мин голубой окраски.

Содержание кислот ($С_к$) в пересчете на уксусную (в мг/л) в безводном спирте вычисляют по уравнению:

$С_к = 3 \cdot 10 \cdot 100 / С_с$, где

3 - количество уксусной кислоты, соответствующее 1 мл 0,05 н раствора гидроксида натрия, мг;

10 - коэффициент пересчета на 1 л спирта;

100 - коэффициент пересчета на безводный спирт;

$С_с$ - крепость исследуемого спирта, % об.;

V -количество 0,05 н раствора гидроксида натрия, пошедшего на титрование 100 мл испытуемого спирта, мл.

6.Определение содержания примесей сложных эфиров. В спирте в качестве примесей содержится, главным образом, уксусноэтиловый эфир. Поэтому результаты анализов дают в пересчете на уксусноэтиловый эфир. Определение основано на их омылении гидроксидом натрия с образованием соответствующей соли уксусной кислоты и этилового спирта.

После определения содержания кислот к нейтрализованному спирту прибавляют 10 мл 0,1 н раствора гидроксида натрия. Смесь кипятят в колбе с обратным холодильником в течение 1 ч. После охлаждения до комнатной температуры при закрытой верхней части холодильника трубкой с периодически обновляемой натронной известью, колбу отсоединяют. К содержимому колбы приливают 10 мл 0,1 н раствора серной кислоты. Избыток кислоты оттитровывают 0,05 н раствором гидроксида натрия.

Содержание эфиров ($С_{эф}$) в 1 л безводного спирта вычисляют в мг по формуле:

$$С_{эф} = [K(10 + V/2)-10] \quad \frac{8{,}8 \times 10 \times 100}{С_с}$$,где

К- поправочный коэффициент на титр раствора гидроксида натрия;

10 - коэффициент пересчета на 1 л спирта;

V - количество 0,05 н раствора гидроксида натрия, пошедшего на титрование избытка кислоты, мл;

8,8 - количество уксусноэтилового эфира, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора гидроксида натрия,

100 - коэффициент пересчета на безводный спирт;

$С_с$- крепость исследуемого спирта, % об.

При установлении поправки коэффициента к титру 0,1 н раствора гидроксида натрия используют 0,1 н раствор серной кислоты. Для его определения в колбу вносят по 10 мл 0,1 н раствора серной кислоты и 0,1 н раствора гидроксида натрия. Избыток кислоты оттитровывают 0,05н раствором гидроксида натрия.

Поправочный коэффициент (К) к 0,1н раствору гидроксида натрия вычисляют по формуле:

$$К = \frac{10}{10 + v/2}$$,где

10 - количество 0,1 н раствора гидроксида натрия и серной кислоты, мл;

v/2 - количество 0,05 н раствора гидроксида натрия, пошедшего на титрование избытка кислоты, мл. Раствор гидроксида натрия следует готовить с поправочным коэффициентом 0,97 – 0,99.

Уксуснокислое брожение и анализ его продуктов

Сырьем для получения уксусной кислоты могут быть сахарные и фруктовые сиропы, вина, ягоды и другие аналогичные продукты. Поскольку уксуснокислые бактерии не превращают углеводы непосредственно в уксусную кислоту, исходное сырье должно подвергнуться спиртовому брожению. При получении уксуса в производственных условиях необходимо контролировать температуру и подачу воздуха, чтобы избежать заметной потери спирта и уксусной кислоты за счет их сгорания (полного окисления) до углекислого газа и воды. Питательные вещества (кроме спирта) и уксусной смеси будут влиять на жизнеспособность ацетобактерий. Готовый уксус осветляют фильтрованием и разливают в стеклянные емкости.

Материал исследования: свежие яблоки.

Реактивы: сахар, дрожжи, этанол, серная кислота, 5% хлорид железа (Ш).

Оборудование: стеклянные банки, марля, индикаторная бумага.

Ход работы

Яблоки натирают на крупной терке. К 400 г кашицы прибавляют 0,5 л кипяченой воды. Помещают в стеклянную банку, прибавляют 50 г сахара (или меда) и 5 г дрожжей (можно 10 г сухого черного хлеба). Сосуд с этой смесью хранят открытым при температуре 20-30°С в течение 10 дней, помешивая 2-3 раза в день деревянной ложкой. Кашицу отцеживают через марлю, помещают в другую банку. Выдерживают 40-60 дней. За это время брожение прекращается и жидкость просветляется. Уксус готов к употреблению.

Наличие образовавшегося уксуса можно обнаружить по специфическому запаху уксусной кислоты, кислой реакции среды (по индикаторной бумаге), а также с помощью специфических, качественных реакций на уксусную кислоту:

а) нагревают 2 мл отфильтрованного уксуса с равным объемом концентрированной серной кислоты и 0,5 мл этанола. Ощущается запах этилацетата (запах свежих яблок);

б) к 2 мл отфильтрованного уксуса прибавляют по каплям 5% раствор хлорида железа (Ш). Появляется красно-бурое окрашивание, исчезающее при прибавлении разведенных минеральных кислот (например, серной).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скуратовская О.Д. Контроль качества продукции физико-химическими методами. 2. Мучные кондитерские изделия. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ДеЛи принт, 2003. – 128 с

2. Сергачева Е.С., Андреев А.Н. Технология мучных кондитерских изделий. Лабораторные работы: Учеб.-метод. пособие. СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. 62 с.

ТЕМА 14. СЫРЬЕ И МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ НАПИТКОВ

В плодоводческих хозяйствах значительную часть урожая составляет нестандартная продукция - плоды с ушибами, вмятинами, надколами, сильно загрязненная. Внедрение современных способов переработки может дать готовую продукцию высокого качества. Организация переработки сырья в районах его сбора позволяет использовать дополнительные сырьевые ресурсы в результате снижения потерь при транспортировке.

В числе современных технологий переработки плодовой продукции с целью получения соков - применение различных ферментных препаратов, повышающих сокоотдачу перерабатываемого сырья. Обработка ферментными препаратами основана на воздействии пектолитических ферментов на пектиновые вещества, цементирующие отдельные клетки растительной ткани между собой и входящие в состав внешних оболочек клеток. При этом повреждаются белковые мембраны, снижается вязкость сока, облегчается и ускоряется процесс прессования и увеличивается выход продукта (на 5-20%). Наиболее перспективно применение ферментов, действующих на клеточные структуры, удерживающие жидкости. Для производства плодово-ягодных соков особенно важны гидролитические ферменты, к которым можно отнести пектиназы. Пектолитические ферменты используются в консервной промышленности для обработки мезги и соков плодов с высоким содержанием пектина. С этой целью употребляются препараты промышленного производства из Aspergillus foetidus (пектофоетидин) и A. awamory (пектоаваморин). Ферментные препараты имеют вид зернистого порошка светло-коричневого или темно-коричневого цвета, представляют собой очищенную и высушенную культуральную жидкость, полученную в результате выращивания гриба-продуцента пектиназ.

Эти ферменты способствуют увеличению выхода сока за счет мацерирования клеточных стенок и гидролиза пектина. Применение ферментов позволяет повысить выход виноградного сока на 3,5-6,0%, а из таких труднодобываемых плодов, как слива, алыча, абрикосы, персики - на 25-30%. Ферментные препараты пектиназ (П1 Ох и ПОх) применяются в количестве 0,01-0,1% к массе перерабатываемого сырья.

Технологическая схема практически не претерпевает изменений. Добавляется этап инкубирования мезги с определенным значением кислотности в присутствии ферментного препарата. При температуре 40-45°С и pH среды 4,5 время обработки составляет 1,5-3 часа.

Соки, обработанные пектолитическими ферментами, быстрее осветляются, лучше фильтруются и легче подвергаются концентрированию, так как пектиновые вещества гидролизованы и не образуют при вакуум-упаривании коллоидов, мешающих приготовлению сиропов.

Основным ограничением для использования пектолитических ферментов при получении соков из плодов и вин является накопление в растворе в результате действия пектинэстераз-метилового спирта. Его содержание может достигнуть критических величин, если объект содержит значительное количество пектина, например, при обработке яблочных и персиковых выжимок. Однако это несущественно, если такие соки производятся для переработки на вино.

Цель работы: Изучить биотехнологические методы получения сока с использованием ферментов

Задание: Провести осветление сливового сока с использованием пектолитического фермента (П1 Ох и ПОх)

Оборудование: химическая посуда, лабораторные весы, электрическая соковыжималка

Ход работы

Отжать сок из плодов сливы с помощью соковыжималки

1. Контрольный вариант.

Сливовый сок 500 мл наливают в химический стакан, пектолитический фермент не добавляют.

2. Вариант. Сливовый сок наливают в химический стакан, добавляют пектолитический препарат (П1 Ох и ПОх) добавляют в виде суспензии в количестве 0,01 % к массе сока из расчета стандартной активности препарата 9 ед/г по пектиназе. Для получения суспензии препарат заливают объемом сока в соотношении 1: 10, нагретого до 40-- 45 °С, и настаивают 1 ч для активирования ферментов. Полученную суспензию вносят в сок и выдерживают 1-2 ч при 40--45 °С.

3. Вариант. Сливовый сок наливают в химический стакан, добавляют пектолитический препарат (П1 Ох и ПОх) добавляют в виде суспензии в количестве 0,02 % к массе сока. Готовят раствор аналогично второму варианту.

4. Вариант. Сливовый сок наливают в химический стакан, добавляют пектолитический препарат (П1 Ох и ПОх) добавляют в виде суспензии в количестве 0,03 % к массе сока. Готовят раствор аналогично второму варианту.

Образцы сока по вариантам опыта сравнить по степени осветления.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скуратовская О.Д. Контроль качества продукции физико-химическими методами. 2. Мучные кондитерские изделия. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ДеЛи принт, 2003. – 128 с

2. Сергачева Е.С., Андреев А.Н. Технология мучных кондитерских изделий. Лабораторные работы: Учеб.-метод. пособие. СПб.: НИУ ИТ-

МО; ИХиБТ, 2013. 62 с.

ТЕМА 15. БИОТЕХНОЛОГИЯ КОНСЕРВИРОВАНИЯ ОГУРЦОВ С ПРИМЕНЕНИЕМ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

В молочной сыворотке много витаминов, минералов, белка и всего 0,2% жира. На 94% сыворотка состоит из воды. Остальные 6% - жизненно важные субстанции: лактоза, содержание которой в сухом веществе - более 70%, оптимальные по аминокислотному составу белки, полный набор витаминов группы В, кальций и магний, пробиотические бактерии.

Молочная сыворотка очищает кожу, дает легкий лифтинг. Исходя из состава сыворотки, она должна обладать защитным и регенерирующим воздействием на кожу. Помимо этого, она является ингредиентом, безопасность которого проверена столетиями.

Цель работы: Изучить биотехнологические методы консервирования огурцов с использованием молочной сыворотки

Задание: Законсервировать огурцы с применением молочной сыворотки

Оборудование: химическая посуда, лабораторные весы, молочная сыворотка, стеклянные банки, зонтики укропа, кусочки корня хрена и листья черной смородины

Ход работы

Огурцы хорошо вымыть, плотно уложить в подготовленные стеклянные трехлитровые банки вперемешку с зонтиками укропа, кусочками корня хрена и листьями черной смородины, вишни и дуба. Под самую крышку положить лист хрена. После этого залить свежей молочной сывороткой и закатать. Хранить в погребе. Огурцы получаются малосольные. Для приготовления рассола следует взять 1,5 л свежей молочной сыворотки (именно столько надо на трехлитровую байку) и 3 ч. л. с верхом соли.

Способы экстракции

Экстракция извлечение продукта из твердого (твердо-жидкофазная) или жидкого (жидко-жидкофазная) образца. К твердо-жидкофазной экстракции относится обливание образца водой с целью извлечения из него растворимых веществ, например солей металлов из руд, подвергнутых бактериальной обработке, или растворимых продуктов из массы субстрата (соломы и т.д.) при твердофазном культивировании. Применяют органические растворители, например, при экстракции клеточной массы ацетоном, переводящим в раствор ряд липидных и белковых компонентов.

Жидко-жидкофазная экстракция – добавление органических растворителей для извлечения из культуральной жидкости антибиотиков, витаминов, каратиноидов, липидов, некоторых гидрофобных белков. Витамин В12 экстрагируют фенолом и его производными (крезол, другие алкилфенолы, галогениды). Используют бензиловый спирт, особенно в щелочных условиях. Фосфолипиды извлекают путем экстракции хлороформом.

Полностью избежать нагревания, губительного для многих ценных веществ, позволяют методы холодовой экстракции (криоэкстракции). Она как бы нивелирует различие между твердым субстратом и культуральной жидкостью, поскольку и то и другое находится в замороженном состоянии. Криоэкстракция осуществляется растворителями, кипящими при низких температурах и находящимися при комнатной температуре в газообразном состоянии. Криоэкстракция может использоваться в комбинации с криоконсервацией клеток. Урожай клеток длительное время хранится без потери свойств в условиях глубокого замораживания.

Экстракция (с лат. extractio - извлечение) представляет собой процесс

распределения вещества между двумя несмешивающимися жидкими фазами (жидкофазная экстракция) или между жидкостью и твердым сорбентом (твердофазная экстракция). Экстракция также используется для извлечения примесей из газов. Настоящее учебное пособие посвящено вопросам экстракции примесей из воды. По агрегатному

состоянию вещества, посредством которого извлекают примеси из матрицы, экстракцию классифицируют на твердофазную (ТФЭ) и жидкостно-жидкостную (ЖЖЭ). По количеству используемого для извлечения примесей сорбента/экстрагента экстракционные методы подразделяют на традиционную экстракцию (макроэкстракцию) и микроэкстракцию.

Твердофазная экстракция (solid-phase extraction – SPE).

Твердофазная экстракция основана на равновесном распределении примесей между водной фазой и твердым поглотителем (сорбентом). Сорбент, концентрирующий вещества на своей поверхности, называется адсорбентом.

Сорбент, растворяющий в своем объеме компоненты жидких смесей, называется абсорбентом. Вещество, удерживаемое сорбентом, называется сорбатом. Для извлечения и концентрирования органических веществ используют следующие группы сорбентов:

• активированный угол и различные модифицированные материалы на основе углерода (Карбоксен, Карбовакс, углеродные нанотрубки);

• неорганические сорбенты (силикагель, оксид алюминия и др.);

• силикагели на основе полимерных материалов (полидиметилсилоксана, полистирола и др.).

Энергия взаимодействия сорбента с аналитом достаточно велика, что позволяет эффективно извлекать примеси из воды. Однако это явление одновременно является и негативным фактором, т.к. затрудняет десорбцию (удаление) примесей с сорбента. Особенно остра эта проблема при извлечении веществ с высоким молекулярным весом. Неполная десорбция приводит к следующим негативным последствиям:

1. Занижение результатов анализа.

2. Завышение результатов анализа. В этом случае сигнал примеси предыдущего анализа суммируется с сигналом от примесей текущего анализа (эффект «памяти» сорбента).

Используют два типа десорбции:

1. Термодесорбция. Этот подход основан на быстром нагреве патрона с сорбентом в потоке чистого инертного газа. Примеси, удаленные таким образом с 6 сорбента, поступают с потоком газа в систему дозирования хроматографа. Такой способ десорбции используют для определения относительно летучих и термостабильных веществ.

2. Использование растворителей. В этом случае используют кипячение патрона с сорбентом в аппарате Сокслета. Существенным недостатком такого подхода является длительность десорбции, которая может составлять нескольких часов, а в ряде случаев и нескольких суток. Столь длительное кипячение может не только увеличивает время анализа, но и может приводить к разрушению аналита.

В последнее время получила развитие десорбция растворителем под действием ультразвука и микроволнового излучения.

Микротвердофазная экстракция (solid phase micro-extraction – SPME).

Использование микроколичеств сорбента привело к созданию микротвердофазной экстракции (МТФЭ). Как правило, МТФЭ осуществляется с помощью фибера, заполненного сорбентом. Диаметр фибера – от 1□2 мм до нескольких микрон, длина – от нескольких сантиметров до нескольких миллиметров. Стадию десорбции совмещают со стадией дозирования, т.к. десорбция примесей происходит непосредственно в испарителе газового хроматографа. Для удобства проведения пробоподготовки иногда фибер с сорбентом помещают в игле шприца для дозирования пробы. Существенными 7 недостатками МТФЭ являются неполная десорбция и дороговизна ее осуществления, т.к. используемые фиберы, как правило, являются одноразовыми. Неполная десорбция, влияние фона сорбента, сложность и дороговизна инструментального оформления ограничивают применение твердофазной экстракции. Более привлекательной для проведения пробоподготовки образцов воды является жидкофазная экстракция.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скуратовская О.Д. Контроль качества продукции физико-химическими методами. 2. Мучные кондитерские изделия. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ДеЛи принт, 2003. – 128 с

2. Сергачева Е.С., Андреев А.Н. Технология мучных кондитерских изделий. Лабораторные работы: Учеб.-метод. пособие. СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. 62 с.

ТЕМА 16. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Цель: выявления генетически модифицированных организмов (ГМО) растительного происхождения в пищевых продуктах и продовольственном сырье

Сущность метода

Метод выявления ГМО растительного происхождения в пищевых продуктах и продовольственном сырье с помощью тест-систем производства ЗАО "Синтол" основан на использовании полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени.

Метод ПЦР в реальном времени основан на детектировании сигнала флуоресценции, позволяющем наблюдать процесс накопления продукта в процессе реакции. Сигнал флуоресценции нарастает пропорционально увеличению количества продукта амплификации в исследуемом образце. Момент заметного увеличения сигнала и отрыв его от базовой линии, так называемый пороговый цикл, зависит от исходного количества ДНК-мишени. Чем больше количество ДНК в образце, тем раньше наблюдается начало роста сигнала флуоресценции и тем меньше пороговый цикл.

Этапы определения ГМО

Качественное и количественное определение ГМО в пищевых продуктах растительного происхождения с помощью тест-систем производства ЗАО "Синтол" состоит из следующих этапов:

- выделение ДНК из исследуемого образца,
- проведение ПЦР в реальном времени,
- анализ полученных данных с помощью программного обеспечения прибора,
- обработка результатов с помощью программы Excel и документирование.

Схема проведения анализа представлена в Прилож. 2.

Оборудование

Этап выделения ДНК из исследуемого материала

5.1.1.1. ПЦР-бокс (например, БАВ-ПЦР "Ламинар-С" фирмы "Ламинарные системы", Россия) или отдельный стол, освещаемый УФ-лампой.

5.1.1.2. Термостат для пробирок типа "Эппендорф" на 25 - 100 °С (например, "Циклотемп-501", фирмы СТМ-Ц, Россия).

5.1.1.3. Микроцентрифуга для пробирок со скоростью вращения 10000 - 16000 об./мин. (до 12000 g) (например, "Циклотемп-201", фирмы СТМ-Ц, Россия).

5.1.1.4. Микроцентрифуга-встряхиватель со скоростью вращения не менее 3500 об./мин. (до 2500 g) и со сменными роторами для пробирок на 1,5 и на 0,2 мл (например, "Циклотемп-901", фирмы СТМ-Ц, Россия).

5.1.1.5. Отдельный набор автоматических пипеток переменного объема 2 - 20, 20 - 200, 100 - 1000 мкл (например, фирмы "BIOHIT", Финляндия).

5.1.1.6. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 200 мкл и до 1000 мкл (например, фирмы "Axygen", США).

5.1.1.7. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся микропробирки на 1,5 мл типа "Эппендорф" (например, фирмы "Sarstedt", Германия).

5.1.1.8. Штативы для микропробирок на 1,5 мл (например, фирмы "Хеликон", Россия).

5.1.1.9. Холодильник с отделениями на 2 - 8 °С и на (-18) - (-20) °С. ГОСТ 26678.

5.1.1.10. Весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г. ГОСТ 24404.

5.1.1.11. Пинцеты медицинские. ГОСТ 21241-89.

5.1.1.12. Ножницы медицинские.

5.1.1.13. Скальпели хирургические.

5.1.1.14. Ступки фарфоровые с пестиком.

Этап амплификации ДНК (метод ПЦР-РВ) и анализ результатов

5.1.2.1. Прибор для ПЦР в реальном времени (например, "АНК-32", ИАнП РАН, Россия).

5.1.2.2. ПЦР-бокс или отдельный стол, освещаемый УФ-лампой (например, БАВ-ПЦР "Ламинар-С" фирмы "Ламинарные системы", Россия).

5.1.2.3. Микроцентрифуга-встряхиватель со скоростью вращения не менее 3500 об./мин. (до 2500 g) и со сменными роторами для пробирок на 1,5 и на 0,2 мл (например, "Циклотемп-901", фирмы СТМ-Ц, Россия).

5.1.2.4. Автоматическая пипетка переменного объема 0,5 - 10 мкл (например, фирмы "BIOHIT", Финляндия).

5.1.2.5. Штативы для микропробирок на 0,2 мл (например, фирмы "Хеликон", Россия).

5.1.2.6. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 10 мкл (например, фирмы "Axygen", США).

5.1.2.7. Холодильник с отделениями на 2 - 8 °С и на (-18) - (-20) °С. ГОСТ 26678.

Допускается использование аналогичного оборудования, не уступающего по характеристикам указанному выше.

Реактивы

5.2.1. "Тест-система для обнаружения ДНК ГМО (35S-промотор, NOS-терминатор)" имеет следующий состав:

- "Набор реактивов для выделения ДНК из растительного сырья и пищевых продуктов" с помощью ионного детергента цетилтриметиламмония бромида (CTAB). Включает деионизованную воду - 1 флакон 20 мл, экстракционный буфер - 1 пробирка 25 мл, протеиназу К - 1 пробирка 0,230 мл, хлороформ - 1 флакон 70 мл, осаждающий буфер А - 1 пробирка 45 мл, солевой раствор - 1 флакон 20 мл, осаждающий буфер Б - 1 пробирка 35 мл, промывочный буфер - 1 пробирка 30 мл, ТЕ буфер - 1 пробирка 5 мл. Все реагенты готовы к использованию. Комплект рассчитан на выделение ДНК из 40 образцов, включая контрольные образцы.

- Комплект "Амплификация ДНК. 35S-промотор, NOS-терминатор с ВПК" - 96 пробирок, содержащих 0,025 мл готовой ПЦР-смеси, закрытой 0,020 мл минерального масла.

- Положительный контрольный образец ДНК ГМО, с концентрацией фрагмента 35S-промотора и NOS-терминатора менее 100 копий/мкл, 1 пробирка 0,05 мл.

5.2.2. "Тест-система для определения процентного содержания ДНК ГМ сои Roundup Ready линии GTS 40-3-2" имеет следующий состав:

- "Набор реактивов для выделения ДНК из растительного сырья и пищевых продуктов" (см. п. 5.2.1).

- Комплект "Амплификация ДНК. ГМ соя GTS 40-3-2", 96 пробирок, содержащих 0,025 мл готовой ПЦР-смеси, закрытой 0,020 мл минерального масла.

- Калибровочные образцы, содержащие 0,5; 1,0; 2,0 и 5,0% ГМ сои GTS 40-3-2, 4 пробирки по 0,05 мл.

5.2.3. "Тест-система для определения процентного содержания ДНК ГМ кукурузы линии MON 810" имеет следующий состав:

- "Набор реактивов для выделения ДНК из растительного сырья и пищевых продуктов" (см. п. 5.2.1).

- Комплект "Амплификация ДНК. ГМ кукуруза MON 810" - 96 пробирок, содержащих 0,025 мл готовой ПЦР-смеси, закрытой 0,020 мл минерального масла.

- Калибровочные образцы, содержащие 0,5; 1,0; 2,0 и 5,0% ГМ кукурузы MON 810, 4 пробирки по 0,05 мл.

Качественное определение ГМО

Реактивы поставляются в готовом виде в пробирках для ПЦР объемом 0,2 мл и требуют только внесения образца ДНК.

2.1. Взять необходимое количество пробирок с реакционной смесью из "Тест-системы

для обнаружения ДНК ГМО (35S-промотор, NOS-терминатор)" из расчета 2 x N + 4, где N - количество анализируемых образцов. Не допускать размораживания и повторного замораживания оставшихся пробирок со смесью.

2.2. После размораживания реакционной смеси, центрифугировать пробирки 30 - 60 с (скорость вращения ротора более 4000 об./мин. или 2500g). Для этого воспользоваться либо ротором для пробирок 0,2 мл, либо адаптерами к стандартному ротору для пробирок 2,0 мл.

2.3. Маркировать пробирки. Для приборов, производящих измерение через крышку пробирки, маркировку наносить на стенку пробирки; для приборов, производящих измерение через стенку пробирки, - на крышку.

2.4. Положительный контрольный образец (ПКО) ДНК ГМО, отрицательный контроль выделения (ОКО) и исследуемые образцы разморозить, перемешать на встряхивателе и центрифугировать.

2.5. Внести в пробирки с реакционной смесью под масло по 2 мкл отрицательного контроля выделения, исследуемых образцов и, в последнюю очередь, положительного контрольного образца ДНК ГМ растения в двух повторах, используя наконечники с аэрозольным барьером, перемешать многократным пипетированием (5 - 10 раз) и плотно закрыть крышку. Следить, чтобы в смеси не оставалось пузырьков воздуха. При образовании пузырьков центрифугировать пробирки 3 - 5 с.

2.6. Поместить пробирки в амплификатор в порядке, приведенном в табл. 1.

Таблица 1

ПОРЯДОК ИССЛЕДОВАНИЯ ОБРАЗЦОВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ КАЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

N лунки	Тип образца
1	ПКО
2	ПКО
3	ОКО
4	ОКО
5	Исследуемый образец 1
6	Исследуемый образец 1
7	Исследуемый образец 2
8	Исследуемый образец 2
9	Исследуемый образец 3
10	Исследуемый образец 3
...	...

2.7. Задать программу амплификации (табл. 2), выбрать соответствующие каналы детекции (табл. 3) и запустить прибор в соответствии с инструкцией.

Таблица 2

ПРОГРАММА АМПЛИФИКАЦИИ

N ступени	Температура	Время	Количество циклов	Оптика
1	95 °C	10 мин.	1	
2	95 °C	20 с	50	
	60 °C	50 с		Включена
3	25 °C	Хранение		

Таблица 3

КАНАЛЫ ДЕТЕКЦИИ

Реакция	Краситель	Длина волны поглощения/ испускания	Подходящие для измерения каналы прибора
NOS-терминатор	FAM	494/518	FAM, SYBR Green I
35S-промотор	ROX	580/605	ROX, Tx. Red
ВПК	Cy5	635/670	Cy5

2.8. После окончания реакции отработанные пробирки утилизировать в соответствии с рекомендациями по организации ПЦР лаборатории.

2.9. С помощью программного обеспечения прибора для ПЦР-РВ произвести расчет и сохранение значений пороговых циклов C , кинетических
t
кривых проведенной реакции для трех красителей - FAM (NOS-терминатор), ROX (35S-промотор) и Cy5 (ВПК).

ПРОГРАММА АМПЛИФИКАЦИИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ГМ КУКУРУЗЫ MON 810

N ступени	Температура	Время	Количество циклов	Оптика
1	95 °C	10 мин.	1	
2	95 °C	20 с	50	

	60 °C	50 с		Включена
3	25 °C	Хранение		

Таблица 8

КАНАЛЫ ДЕТЕКЦИИ

Реакция	Краситель	Длина волны поглощения/ испускания	Подходящие для измерения каналы прибора
Соя/кукуруза	R6G	520/550	R6G, JOE, HEX, TET
ГМ вставка	FAM или ROX	490/520	FAM, SYBR Green I
		580/605	ROX, Tx. Red

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Соотношение между pH и титруемой кислотностью молока

Титруемая кислотность, ^{0}T	Колебания pH	Среднее значение pH
16	6,75 – 6,72	6,73
17	6,72 - 6,67	6,69
18	6,66 – 6,61	6,64
19	6,60 – 6,65	6,58
20	6,54 – 6,49	6,52
21	6,48 – 6,44	6,46
22	6,43 – 6,39	6,41

Приложение 2

Усредненные соотношения между pH и титруемой кислотностью кисломолочных напитков

Титруемая кислотность, ^{0}T	Значение pH	
	кефира	простокваши
50	5,38	5,30
60	5,14	5,00
70	4,94	4,73
75	4,85	4,60
80	4,76	4,47
85	4,68	4,37
90	4,60	4,28
95	4,54	4,21
100	4,48	4,14
105	4,42	4,08
110	4,36	4,02
115	4,31	3,98
120	4,26	3,94

Приложение 3

Концентрация лактозы и объем разведения

О б ъ е м , мл		Концентрация лактозы, мкг/мл
реактив А	дистиллированная вода	
1	99	20
2	98	40
3	97	60
4	96	80
5	95	100
10	90	200
15	85	300
20	80	400
25	75	500
30	70	600
35	65	700
40	60	800

Приложение 4

Зависимость массовой доли лактозы от показателя преломления молочной сыворотки

Показатель преломления	Содержание лактозы, %	Показатель преломления	Содержание лактозы, %	Показатель преломления	Содержание лактозы, %
1,3390	3,01	1,3405	3,77	1,3420	4,52
1,3391	3,06	1,3406	3,82	1,3421	4,57
1,3392	3,11	1,3407	3,87	1,3422	4,62
1,3393	3,16	1,3408	3,92	1,3423	4,67
1,3394	3,21	1,3409	3,97	1,3424	4,72
1,3395	3,26	1,3410	4,02	1,3425	4,77
1,3396	3,31	1,3411	4,07	1,3426	4,82
1,3397	3,36	1,3412	4,12	1,3427	4,87
1,3398	3,42	1,3413	4,17	1,3428	4,92
1,3399	3,47	1,3414	4,22	1,3429	4,97
1,3400	3,52	1,3415	4,27	1,3430	5,02
1,3401	3,57	1,3416	4,32	1,3431	5,07
1,3402	3,62	1,3417	4,37	1,3432	5,12
1,3403	3,67	1,3418	4,42	1,3433	5,17
1,3404	3,72	1,3419	4,47	1,3434	5,22

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Блинов, В.А.* Биохимия с основами физической и коллоидной химии (методические указания) / В.А. Блинов, В.И. Латышев, Ю.В. Платонова, В.Р. Струговщиков. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2005. – 140 с.
2. *Блинов, В.А.* Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии) / В.А. Блинов; ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ». – Саратов: СГАУ, 2003. – 196 с.
3. *Блинов, В.А.* Молоко и молочные продукты / В.А. Блинов. – Саратов: Гарнитура Тамс, 2008. – 111с.
4. *Блинов, В.А.* Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 2. / В.А. Блинов; ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ». – Саратов: СГАУ, 2004. – 144 с.
5. *Блинов В.А.* Общая биотехнология (методические указания) / В.А. Блинов, С.Н.Буршина. – Саратов: «Полиграфия поволжья», 2004. – 106 с.
6. *Вострилов А.В.* Основы переработки молока и экспертиза качества молочных продуктов / А.В. Вострилов, И.Н. Семенов, К.К. Полянский – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2010. – 496с.
7. *Иващенко С.В.* Методические указания и задания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Техническая микробиология» / С.В. Иващенко, В.В. Ситников. – Саратов: ИЦ «Наука», 2011. – 46 с.
8. *Никульнико,в В.С.* Биотехнология продукции животноводства / В.С. Никульников, В.К. Кретинин. – М.: Колос, 2007. – 544с.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение 3
Тема 1. Влияние бактериальных заквасок на изменение составных частей молока 4
Тема 2. Методы определения кислотности молока и кисломолочных продуктов 7
Тема 3. Методы оценки эффективности пастеризации 9
Тема 4. Микробиологический анализ сырных продуктов 11
Тема 5. Качественное исследование химического состава мышц. Определение качества мяса 13
Тема 6. Биохимия мышечной ткани. Анализ качества колбас 15
Тема 7. Микробиологические методы исследования рыбы 18
Тема 8. Качество пищевого продукта 19
Тема 9. Микроорганизмы в биотехнологической промышленности 20
Тема 10. Анализ теста 24
Тема 11. Анализ готовых кондитерских изделий 25
Тема 12. Биотехнология получения кондитерских изделий с применением ферментов 27
Тема 13. Спиртовое брожение и анализ его продуктов 29
Тема 14. Сырье и материалы для изготовления напитков 33
Тема 15. Биотехнология консервирования огурцов с применением молочной сыворотки 35
Тема 16. Определение генетически модифицированных организмов растительного происхождения в пищевых продуктах 38
Приложения 43
Библиографический список 45
Содержание 46