

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ  
ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ФАКУЛЬТЕТ ТЕХНОЛОГИИ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ  
КАФЕДРА ТЕХНОЛОГИИ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

# **БИОТЕХНОЛОГИЯ КОЛБАСНОГО ПРОИЗВОДСТВА**

Методические указания к лабораторным работам

ЧАСТЬ 2

РПК  
«Политехник»  
Волгоград  
2009

Рецензент:

---

Печатается по решению редакционно-издательского совета  
Волгоградского государственного технического университета.

**БИОТЕХНОЛОГИЯ КОЛБАСНЫХ ИЗДЕЛИЙ. В 2 ч. Ч. 2:** методические указания к лабораторным работам / Сост.: И.Ф. Горлов, В.Е. Древин, О.П. Серова, С.В. Шинкарева, С.Е. Божкова; Волгоград. гос. техн. ун-т. – Волгоград, 2009. – 28 с.

Методические указания к лабораторным работам содержат описание лабораторных работ, выполняемых по дисциплине «Биотехнология колбасного производства» и рекомендации студентам для подготовки и их выполнения.

Предназначены для студентов 5 курса, обучающихся по специальности 260301 – Технология мяса и мясных продуктов.

Рис. 2. Табл. 4. Библиогр.: 6 назв.

© Волгоградский  
государственный  
технический  
университет, 2009

## Оглавление

Введение .....	4
Лабораторная работа №1 Определение степени кулинарной готовности вареных колбасных изделий .....	5
Лабораторная работа №2 Определение фенолов в копченых колбасных изделиях .....	10
Лабораторная работа №3 Определение нитритов и нитратов, аммиака, сероводорода в колбасных изделиях.....	16
Лабораторная работа №4 Количественное определение целлюлозы в колбасных изделиях с растительными добавками .....	21
Библиографический список .....	27

## Введение

Настоящие методические указания включают 8 лабораторных работ по дисциплине «Биотехнология колбасного производства». Каждая работа предполагает получение студентом допуска к выполнению лабораторной работы; выполнение задания; оформление протокола; защиту лабораторной работы.

Дисциплина «Биотехнология колбасного производства» относится к циклу специальных дисциплин и является основополагающей при подготовке инженеров-технологов по специальности 260301 - «Технология мяса и мясных продуктов».

Целью выполнения лабораторных работ является изучение методов определения химического состава и свойств мясного сырья и вспомогательных материалов; физико-химических, биохимических изменений, происходящих в сырье под влиянием различных факторов при производстве колбасных изделий.

Выполнение лабораторных работ базируется на знаниях и умениях, полученных студентами при изучении естественно научных, общепрофессиональных и специальных дисциплин, таких, как органическая химия, физическая и коллоидная химии, биохимия, химия пищи, анатомия и гистология сельскохозяйственных животных и др.

Лабораторная работа №1 предполагает определение степени кулинарной готовности вареных колбасных изделий. В лабораторной работе №2 представлены методические указания по определению содержания суммарных фенолов в колбасных изделиях. Лабораторная работа №3 посвящена определению содержания нитритов и нитратов в колбасных изделиях, а так же выявлению признаков порчи исследуемой продукции. Лабораторная работа №4 направлена на изучение определения содержания целлюлозы (клетчатки) в мясорастительных колбасных изделиях.

**Лабораторная работа №1**  
**Определение степени кулинарной готовности**  
**вареных колбасных изделий**

**Цель работы**

Освоить методы определения степени кулинарной готовности вареных колбасных изделий

**Приборы и материалы**

Колбасные изделия; весы лабораторные с наибольшим пределом взвешивания 200 г, потенциометр, фотоэлектроколориметр, водяная баня, воронки, колбы мерные вместимостью 500 и 1000 мл, пипетки, колбы, пробирки, палочки стеклянные, бумага фильтровальная, груша резиновая, кислота лимонная, цитрат натрия 5-водный, свежеприготовленный раствор динатриевой соли фенил-фосфорной кислоты концентрацией 2 г/л, растворы трихлоруксусной кислоты концентрацией 50 и 200 г/л, раствор гидроксида натрия молярной концентрацией 0,5 моль/л, вода дистиллированная, фенол, толуол, вольфрамат натрия 2-водный, молибдат натрия, сульфат лития 1-водный, концентрированная ортофосфорная кислота, концентрированная соляная кислота, бром

**Теоретическая часть**

Принятые режимы тепловой обработки вареных колбас и мясных продуктов предусматривают инактивацию тканевых ферментов. В случае разногласий в оценке кулинарной готовности вареных продуктов прибегают к использованию методов, позволяющих определить остаточную активность ферментов.

Арбитражный метод основан на фотометрическом определении в продукте интенсивности развивающейся окраски, зависящей от остаточной активности кислой фосфатазы, выраженной массовой долей фенола.

## **Порядок проведения работы**

### **1 Приготовление реактивов**

*Цитратный буфер (pH 6,5):* 13,88 г цитрата натрия и 0,588 г лимонной кислоты растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1 л, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают, затем добавляют 1 мл толуола. Раствор хранят в холодильнике при  $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$  не более 12 сут.

*Стандартный раствор фенола:* взвешивают 2 г фенола (с точностью до третьего десятичного знака), растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 л, доводят объем дистиллированной водой до метки и перемешивают. Отбирают пипеткой с помощью резиновой груши 5 мл раствора в колбу вместимостью 500 мл, добавляют около 300 мл дистиллированной воды, вносят 25 г кристаллической трихлоруксусной кислоты. После растворения содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Полученный раствор содержит 20 мкг фенола в 1 мл.

*Реактив Фолина:* 100 г вольфрамата натрия и 25 г молибдата натрия вносят в круглодонную колбу вместимостью 2 л с пришлифованным обратным холодильником, добавляют 700 мл дистиллированной воды, 50 мл 85% раствора ортофосфорной кислоты и 100 мл концентрированной соляной кислоты; смесь кипятят на слабом огне на асбестовой сетке в течение 10 ч, охлаждают, переносят в колбу Эрленмейера, стенки колбы и холодильник ополаскивают 50 мл воды, затем туда же добавляют 150 г сульфата лития и 5 капель брома. Открытую колбу нагревают и содержимое кипятят на слабом огне в течение 15—20 мин под тягой, чтобы удалить пары брома (раствор должен иметь желтую окраску, если раствор зеленый, то обработку бромом повторяют). После охлаждения объем раствора доводят дистиллированной водой до 1 л и фильтруют через трубку Аллина, заполненную стекловатой. Концентрацию кислоты проверяют титрованием разбавленного в десять раз реактива Фолина раствором гид-

роксида натрия молярной концентрацией 0,1 моль/л по фенолфталеину. Приготовленный раствор хранят в склянке из темного стекла.

## **2 Подготовка проб**

Пробы вареных колбас, сосисок, сарделек освобождают от оболочки и шпика, дважды измельчают на мясорубке, тщательно перемешивают, помещают в стеклянную или пластмассовую банку с крышкой и хранят при температуре  $(4 \pm 2)$  °С до окончания анализа.

## **3 Порядок проведения анализа**

От каждой пробы отбирают две навески по 1 г, взвешенные с точностью до 0,001 г, переносят в две пробирки, одна из которых является опытной, а вторая - контрольной.

В пробирки вносят по 10 мл цитратного буфера рН 6,5, тщательно перемешивают стеклянной палочкой и настаивают в течение 20 мин при комнатной температуре, периодически перемешивая.

В контрольную пробирку добавляют 5 мл раствора трихлоруксусной кислоты концентрацией 200 г/л, перемешивают и добавляют 5 мл раствора динатриевой соли фенолфосфорной кислоты концентрацией 2 г/л, выдерживают в течение 10 мин и фильтруют. В опытную пробирку вносят 5 мл раствора динатриевой соли фенолфосфорной кислоты концентрацией 2 г/л. Пробирку помещают в водяную баню при температуре  $(39 \pm 1)$ °С на 1 ч, затем добавляют 5 мл раствора трихлоруксусной кислоты концентрацией 200 г/л, выдерживают 10 мин и фильтруют.

Для проведения цветной реакции из контрольной и опытной проб отбирают по 2,5 мл безбелкового фильтрата. В каждую пробирку добавляют 5 мл раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 0,5 моль/л, перемешивают, выдерживают 10 мин, добавляют 1,5 мл реактива Фолина, разбавленного дистиллированной водой в соотношении 1:2, смесь вновь перемешивают. Через 30 мин измеряют оптическую плотность растворов по отношению к раствору трихлоруксусной кислоты на фотоэлектроколо-

риметре при длине волны  $\lambda=600$  нм в кювете с расстоянием между рабочими гранями 10 мм. Содержание фенола определяют по калибровочному графику.

#### 4 Построение калибровочного графика

В пробирки вносят следующие объемы стандартного раствора фенола: 0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 мл, что соответствует массе фенола: 0; 5; 10; 20; 30; 40 мкг. Объем в каждой пробирке доводят до 2,5 мл, добавляя соответствующий объем раствора трихлоруксусной кислоты концентрацией 50 г/л (2,5; 2,25; 2,0; 1,5; 1,0; 0,5 мл) и перемешивая. В каждую пробирку вливают 5 мл раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 0,5 моль/л, перемешивают, выдерживают 10 мин и добавляют 1,5 мл реактива Фолина, разбавленного дистиллированной водой в соотношении 1 : 2. Смесь вновь перемешивают. Через 30 мин измеряют оптическую плотность растворов по отношению к раствору трихлоруксусной кислоты на фотоэлектроколориметре при  $\lambda = 600$  нм в кювете с расстоянием между рабочими гранями 10 мм. По полученным средним данным трех стандартных растворов на миллиметровой бумаге размером 20 x 20 см строят калибровочный график, откладывая на оси абсцисс содержание фенола (мкг в 1 мл окрашенного раствора), а на оси ординат - значение соответствующей оптической плотности D. Калибровочный график должен проходить через начало координат. Пример калибровочного графика приведен на рисунке 1.

Массовую долю фенола (%) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100 \cdot 20}{m \cdot 2,5 \cdot 10^6}, \quad (1)$$

где  $m_1$  и  $m_2$  - масса фенола соответственно в опытной и контрольной пробирках, найденная по калибровочному графику, мкг; 20 - разведение, мл;  $m$  - масса анализируемой пробы, г; 2,5 - объем фильтрата, отобранный для цветной реакции, мл;  $10^6$  - коэффициент пересчета в граммы.

Вычисления проводят до четвертого десятичного знака.

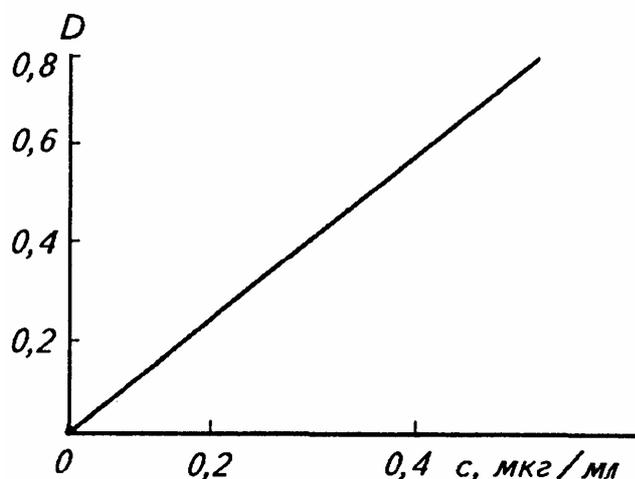


Рисунок 1 - Калибровочный график для определения массовой доли фенола с помощью фотоэлектроколориметра

### Оформление результатов

Результаты экспериментальных работ по анализу эффективности тепловой обработки вареных мясных продуктов оформить в виде таблицы 1.

Таблица 1 – Результаты определения содержания фенола

Образец	Массовая доля фенола, %	
	фактическая	по нормативной документации

Полученные данные студенты сравнивают с нормативными показателями для каждого вида продукции, самостоятельно делают выводы и формулируют заключение.

### Контрольные вопросы

1. Что такое кулинарная готовность продуктов?
2. Принципы определения кулинарной готовности колбасных изделий.
3. Сущность метода определения содержания фенола в вареных колбасных изделиях?
4. Факторы, влияющие на содержание фенола в вареных колбасных изделиях.
5. Режимы тепловой обработки вареных колбасных изделий.

## **Лабораторная работа №2**

### **Определение фенолов в копченых колбасных изделиях**

#### **Цель работы**

Освоить методы качественного и количественного определения суммарных фенолов в колбасных и копченых изделиях

#### **Приборы и материалы**

Копченые колбасные изделия различного группового ассортимента или копчености, 50% раствор ацетона, 0,5% раствор тетрабората натрия, 2% раствор 4-аминоантипирина, 8% раствор гексацианоферрата калия (II), гваякол, 20% раствор персульфата аммония, 1% раствор карбоната натрия, проявитель, фильтровальная бумага, дистиллированная вода, фотоэлектроколориметр, гомогенизатор, мерные колбы, мерный цилиндр, пипетки, пробирки, коническая колба вместимостью 250 мл, стеклянная палочка, бумажный фильтр «синяя лента», весы технические, гидроксид натрия и его водный раствор (0,1 моль/л), серная кислота и ее 25% раствор, сульфат цинка и его 0,45 % водный раствор, нитрит натрия и его свежеприготовленный 0,5% водный раствор, гидроксид аммония и его 10% раствор, стандартный водный раствор фенола (1 мг/мл)

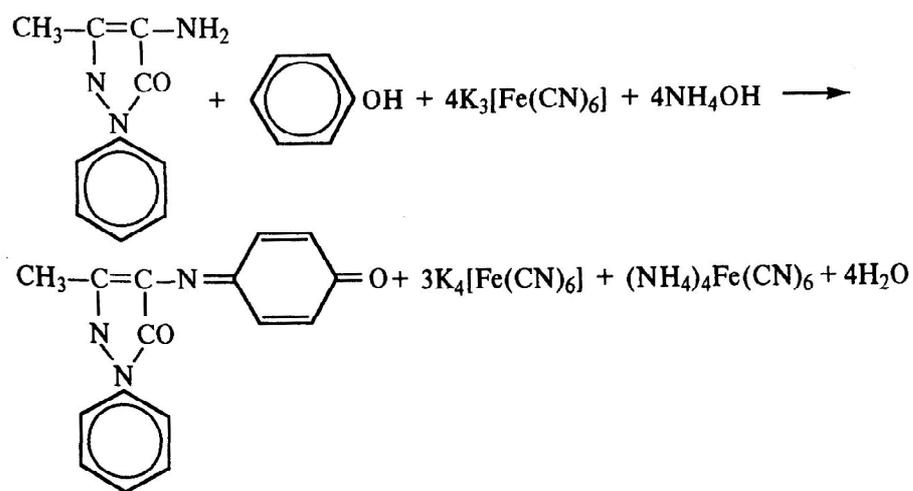
#### **Теоретическая часть**

Фенольные соединения обладают токсическим и даже канцерогенным действием, в связи с чем количество их в пищевых продуктах должно быть сведено до минимума. Для гарантии экологической чистоты пищевых продуктов необходимо строго контролировать содержание фенолов. При копчении фенолы сначала интенсивно накапливаются в поверхностном слое. В дальнейшем проникновение их в колбасу значительно замедляется. Одновременно происходит диффузия фенольных компонентов дыма во внутренние слои колбасы. На последней стадии копчения и сушки количество фенольных соединений в поверхностном слое уменьшается почти на-

половину и заметно возрастает во всех внутренних слоях колбасного батона. Фронт проникновения фенольных соединений внутрь колбасного батона связан с химическим составом сырья и технологическими режимами производства копченых изделий и характеризует качество копчения. Например, фенолы хорошо растворяются в жире. В жировой ткани их в 1,5 раза больше, чем в мышечной. В процессе холодного копчения в копченостях накапливается в среднем 15 мг % (9-24 мг %) фенолов.

При изучении вопроса о скорости и характере проникновения фенолов в колбасные изделия используют метод отпечатков, который основан на развитии качественной реакции фенолов в присутствии карбоната натрия и специального проявителя. Количественное определение фенолов в колбасных изделиях проводят одним из колориметрических методов.

Суммарное определение содержания фенолов основано на измерении оптической плотности окрашенного раствора, цвет которого возникает в результате качественной реакции:



Другой метод суммарного определения содержания фенола основан на получении нитрозосоединений при взаимодействии фенола с нитритом натрия. В результате реакции нитрозосоединение образует с избытком аммиака продукт, окрашенный в желтый цвет, который затем колориметрируют.

## **Порядок проведения работы**

### **1 Подготовка проб**

Образцы продуктов (не менее 500 г) дважды измельчают на мясорубке.

Перед определением фенолов в копченых изделиях проводят органолептическую оценку продуктов. При этом осматривают поверхность колбасного батона, отмечают вид колбасной оболочки, групповой ассортимент и наименование колбасы. Путем визуальной оценки устанавливают цвет, состояние поверхности на разрезе, запах и вкус. Данные фиксируют в таблице результатов.

### **2 Определение границ проникновения фенолов**

#### **2.1 Приготовление реактивов и материалов**

*Фильтровальная бумага.* Фильтровальную бумагу погружают на 20-30 с в 1% раствор  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , после чего ее сушат на воздухе.

*Проявитель.* 1 г 4-аминоантипирина растворяют в 50 мл раствора этанола (96 об. %).

#### **2.2 Порядок проведения анализа**

Бумагу опрыскивают из пульверизатора проявителем и плотно прижимают к срезу колбасного батона. Полученный со среза копченой колбасы отпечаток проникших фенолов должен быть видимым и отличаться по цвету от фона предварительно подготовленной фильтровальной бумаги. Спустя 20-30 с бумагу отделяют от поверхности среза колбасы и опрыскивают 20% раствором персульфата аммония. Через 2 мин на бумаге образуется отчетливый, окрашенный в розовый цвет отпечаток границ проникновения фенолов. Отпечаток зарисовывают, измеряют с точностью до 0,1 мм границы проникновения или аккуратно вырезают ножницами и вносят в таблицу результатов.

### **3 Количественное определение фенолов в колбасных изделиях**

#### **3.1 Колориметрический метод на основе цветной реакции с 4-аминоантипирином и гексацианоферратом калия (II)**

Навески измельченных колбас массой 3-5 г помещают в малый сосуд гомогенизатора, заливают 50% раствором ацетона в соотношении 1:4 (по объему) и гомогенизируют 5 мин, а затем фильтруют. К 5 мл прозрачного раствора добавляют 20 мл 0,5% раствора тетрабората натрия, 0,5 мл 2% раствора 4-аминоантипирина и 0,25 мл 8% раствора гексацианоферрата калия (II). Все реагенты перемешивают и по истечении 15 мин измеряют оптическую плотность (интенсивность окраски) на фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Параллельно готовят контрольную пробу, в которой вместо исследуемого фильтрата используют 5 мл 50% раствора ацетона.

Содержание суммарных фенолов (мг/100г) вычисляют по формуле

$$X = \frac{B \cdot 100 \cdot A}{V \cdot m}, \quad (2)$$

где В - объем ацетонового экстракта, мл; 100 - коэффициент пересчета на 100 г продукта; А - содержание фенолов в 5 мл окрашенного раствора, определенное по калибровочному графику; V - объем фильтрата, взятый для анализа, мл; m - масса навески продукта, г.

Для проведения расчетов готовят растворы гваякола в диапазоне концентраций от 1 до 100 мкг/мл и строят график зависимости оптической плотности (D) от концентрации гваякола.

#### **3.2 Колориметрический метод, основанный на получении нитрозосоединений при взаимодействии фенола с нитритом натрия**

В коническую колбу помещают 15 г копченой колбасы, добавляют 50 мл дистиллированной воды, закрывают пробкой и в течение 15 мин. Содержимое конической колбы фильтруют в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят дистиллированной водой до метки. Для осаждения белков

10 мл полученного раствора переносят в колориметрическую пробирку, добавляют пипеткой 4 мл 0,45% раствора  $ZnSO_4$ , 1 мл раствора  $NaOH$  молярной концентрацией 0,1 моль/л и выдерживают 5 мин на водяной бане при температуре кипения, после чего раствор фильтруют. В колориметрическую пробирку помещают 5 мл фильтрата, добавляют 0,25 мл 25% раствора  $H_2SO_4$  и 2,5 мл 0,5% раствора  $NaNO_2$ . Содержимое пробирки нагревают в течение 5 мин на водяной бане, охлаждают и добавляют 5 мл 10% раствора  $NH_4OH$ . Оптическую плотность окрашенного в желтый цвет раствора измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волны 400 нм в кювете с толщиной рабочего слоя 3 см. Содержание фенола в пробе определяют по калибровочному графику, построенному по стандартным растворам фенола.

*Построение калибровочного графика.* В четыре мерные колбы вместимостью 50 мл отмеряют пипеткой 2,5; 5,0; 7,5 и 10 мл стандартного раствора фенола ( $c = 1$  мг/мл) и доводят дистиллированной водой до метки. В четыре колориметрические пробирки помещают по 5 мл фенола, добавляют 1 мл раствора  $NaOH$  с молярной концентрацией 0,1 моль/л, 25% раствора  $H_2SO_4$  и 2,5 см<sup>3</sup>  $5 \cdot 10^{-5}$  % раствора  $NaNO_2$ . Содержимое пробирок перемешивают стеклянной палочкой, нагревают на водяной бане при температуре кипения, охлаждают и добавляют в каждую пробирку 5 мл раствора 10% раствора  $NH_4OH$ . Растворы тщательно перемешивают и через 15 мин измеряют оптическую плотность окрашенных в желтый цвет растворов в кюветах с толщиной рабочего слоя 3 см при длине волны 400 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий все компоненты, кроме фенола. Каждое измерение выполняют три раза. По результатам измерений строят калибровочный график  $D = f(c)$ .

Содержание фенолов (мг %) рассчитывают по формуле:

$$X = c \cdot 50 / m \cdot 100, \quad (3)$$

где  $c$  - концентрация фенолов в водной вытяжке, найденная по калибровочному графику, мг/мл; 50 - объем водной вытяжки, мл;  $m$  - масса навески продукта, г.

### Оформление результатов

Полученные результаты сводят в таблицу 2. На основании полученных результатов студенты формулируют выводы по работе с учетом отмеченных органолептических показателей и количественного содержания фенольной фракции в мясных продуктах.

Таблица 2 – Определение содержания фенолов в копченых продуктах

Групповой ассортимент продуктов	Органолептические показатели				Суммарное содержание фенолов, мг/100г	Границы проникновения фенолов (отпечатки)
	Цвет	Запах	Вкус	Вид оболочки, состояние и окраска поверхности		
Полукопченые						
Варенокопченые						
Сырокопченые						

### Контрольные вопросы

1. Причины наличия фенолов в копченых мясных продуктах?
2. Ассортимент копченых мясных продуктов и требования к их безопасности.
3. Проведение операции «копчение» при производстве колбасных изделий (виды копчения, режимы, вспомогательные материалы).
4. Методика проведения органолептической оценки копченых колбасных изделий.
5. Как можно определить границы проникновения фенолов в копченых мясных продуктах?
6. В чем суть методов количественного определения фенолов? Каковы разновидности методов?

## **Лабораторная работа №3**

### **Определение нитритов и нитратов, аммиака, сероводорода в колбасных изделиях**

#### **Цель работы**

Освоить ионометрический метод определения нитратов и нитритов в колбасных изделиях, а также проверить свежесть продуктов посредством определения наличия аммиака и сероводорода, по результатам исследований дать санитарно-гигиеническую оценку продуктам

#### **Приборы и материалы**

Колбасные изделия, иономер или нитратомер, ионоселективный электрод на  $\text{NO}_3$ -ионы, хлорсеребряный электрод сравнения, весы технические и аналитические, конические колбы, химические стаканы, мерный цилиндр, мерная колба, пипетки, фильтровальная бумага, вата, нитрат калия ч.д.а., 0,45% водный раствор сульфата цинка, водный раствор сульфата калия (1 моль/л), водный раствор гидроксида натрия (0,1 моль/л), 8% водный раствор персульфата аммония, соляная кислота, серный эфир ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$ ), 96° этиловый спирт, уксуснокислый свинец, едкий натр.

#### **Теоретическая часть**

Среди перечня токсических и вредных веществ, обнаруживаемых в сырье и продуктах, большое практическое значение имеет определение нитрат- и нитрит-ионов, источниками которых служат корма животных и собственно нитрит, добавляемый для имитации цвета при производстве мясных продуктов.

Проблема производства экологически чистых продуктов питания связана с реализацией инструментальных методов контроля вредных веществ, имеющих достаточную точность и экспрессность. Существующие фотоколориметрические, хроматографические, спектрофотометрические и химические методы определения нитратов и нитритов не отвечают в пол-

ной мере требованиям и условиям производственных лабораторий. Методики имеют ряд недостатков: длительность, использование токсичных и дефицитных реактивов, дорогостоящей аппаратуры, определенный уровень требований к квалификации оператора для выполнения работ и т. д. По сравнению с перечисленными ионоселективный метод определения нитрат- и нитрит-ионов имеет ряд достоинств, связанных с малой продолжительностью, точностью и простотой определения, а также компактностью приборов.

Наличие аммиака в колбасных изделиях указывает на несвежесть продукта. Гипохлоритнатриевая и реакция Нesslerа для определения в колбасе аммиака неприемлемы потому, что в фарш добавляют нитрит натрия, которая дает положительную реакцию на аммиак. Поэтому в колбасных изделиях аммиак определяют по методу Эбера.

Наличие сероводорода в мясных изделиях свидетельствует об их некачественности в результате бактериального разложения белка.

## **Порядок проведения работы**

### **1 Подготовка проб**

С колбасных изделий снимают оболочку, дважды пропускают через мясорубку, полученный фарш перемешивают.

### **2 Определение нитратов и нитритов ионометрическим методом**

С целью определения рабочего диапазона концентраций нитрат-ионов предварительно строят калибровочный график.

#### **2.1 Построение калибровочного графика**

Навеску нитрата калия массой 10,1 г растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1 л, доводят содержимое колбы водой до метки. Получают раствор нитрата калия молярной концентрацией  $10^{-1}$  моль/л ( $pNO_3 = 1$ ). Методом последовательного разбавления из полученного раствора готовят серию стандартных растворов нитрата калия концентрацией  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  и  $10^{-5}$  моль/л ( $pNO_3$  равны соответственно 2, 3, 4 и

5). В пять химических стаканов отбирают по 50 мл стандартных растворов нитрата калия, в каждый стакан добавляют по 1 мл раствора сульфата калия. Погрузив электроды в стаканы, в каждом растворе регистрируют ЭДС элемента, составленного из нитратселективного и хлорсеребряного электродов. Перед началом измерений электроды промывают несколько раз дистиллированной водой. Измерения выполняют, переходя от разбавленных растворов к концентрированным. По полученным измерениям строят калибровочный график в координатах  $E=f(pNO_3)$ , откладывая по оси ординат значения  $E$  (мВ), по оси абсцисс - соответствующие значения  $pNO_3$ .

## **2.2 Порядок проведения анализа**

Для определения нитрат-ионов в коническую колбу вместимостью 250 мл помещают навеску продукта массой 10-20 г, взятую с точностью 0,01 г, добавляют 100 мл дистиллированной воды (подогретой до 50-60 °С) и экстрагируют в течение 30 мин при непрерывном перемешивании. Содержимое колбы охлаждают и фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу. В полученном мутном растворе осаждают белки. Для этого добавляют к фильтрату 2,5 мл раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 0,1 моль/л и 10 мл 0,45 % раствора сульфата цинка, нагревают 5 мин на водяной бане при температуре кипения, охлаждают колбу и полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр. Фильтрат и промывные воды после промывания осадка белков на фильтре собирают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки раствором сульфата калия (1 моль/л). В прозрачном фильтрате измеряют ЭДС, по величине которой на калибровочном графике находят начальное содержание нитрат-ионов в растворе.

Для определения нитрит-ионов их окисляют персульфатом аммония до нитратов. К 25 мл фильтрата добавляют 0,5 мл 8% раствора персульфата аммония, энергично перемешивают и через 5 мин измеряют ЭДС, по величине которой находят концентрацию нитрат-ионов после окисления нит-

рит-ионов, используя калибровочный график. Разность между найденным суммарным содержанием нитрат-ионов и начальной концентрацией нитрат-ионов равна концентрации нитрит-ионов, содержащихся в исследуемом растворе.

Содержание нитрат-ионов (мг %) в мясе и мясных продуктах находят по формуле:

$$X_1 = \frac{62 \cdot c \cdot 100}{m} \cdot 100, \quad (4)$$

где 62 - молярная масса эквивалента нитрат-ионов, г/моль;  $c$  - концентрация нитрат-ионов до окисления, найденная по калибровочному графику, моль/л; 100 - объем фильтрата, мл;  $m$  - навеска измельченного мяса, г.

Содержание нитрит-ионов (мг %) в мясе и мясных продуктах находят по формуле

$$X_2 = \frac{46 \cdot (c_1 - c) \cdot 100}{m} \cdot 100, \quad (5)$$

где 46 - молярная масса эквивалента нитрит-ионов, г/моль;  $c_1$  - концентрация нитрат-ионов после окисления, найденная по калибровочному графику, моль/л; 100-объем фильтрата, мл.

### **3 Определение аммиака**

#### **3.1 Приготовление реактива**

1 часть соляной кислоты, 1 часть серного эфира ( $C_2H_5OC_2H_5$ ) и 3 части 96° этилового спирта смешивают и хранят в сосуде с притертой пробкой в темном месте.

#### **3.2 Порядок проведения анализа**

В широкую пробирку наливают 1 мл реактива, встряхивают, чтобы увлажнить стенки и опускают на стеклянном крючке, вделанном в пробку, кусочек испытуемого мяса. При наличии в мясе аммиака последний выделяется и соединяется с испаряющимся из реактива хлором, вокруг мяса образуется белое или беловато-голубое облачко хлористого аммиака.

#### 4 Определение сероводорода

20 г измельченной колбасы помещают в коническую колбу емкостью 100 мл, в нее наливают 50 мл дистиллированной воды, закрывают ватной пробкой, в которую вкручена полоска фильтровальной бумаги, смоченная раствором и высушенная (4 г уксуснокислого свинца растворяют в 100 мл дистиллированной воды с 30 г едкого натрия до растворения образовавшегося осадка). Содержимое колбочки подогревают в течение 10-15 мин. При наличии сероводорода бумажка желтеет, потом буреет, появляется ясно выраженный металлический блеск.

#### Оформление результатов

Результаты оформляют в виде таблицы 3 и на основании полученных результатов делают выводы по работе.

Таблица 3 – Результаты определения нитрит- и нитрат-ионов, аммиака и сероводорода в колбасных изделиях

Наименование продукта	Содержание нитрат-ионов, мг %		Содержание нитрит-ионов, мг %		Наличие	
	фактически	допустимый уровень	фактически	допустимый уровень	аммиака	сероводорода

#### Контрольные вопросы

1. Перечислите токсические вещества, которые могут быть обнаружены в колбасных изделиях.
2. Какова роль нитритов и нитратов в технологии колбасных изделий?
3. Суть ионометрического метода определения нитрит- и нитрат-ионов?
4. Какими фотометрическими методами определяют нитрит- и нитрат-ионы? На чем они основаны?
5. Какими нормативными документами утверждается допустимое значение содержания нитритов и нитратов в колбасных изделиях?
6. Принципы определения свежести колбасных изделий по наличию аммиака и сероводорода.

## **Лабораторная работа №4**

### **Количественное определение целлюлозы в колбасных изделиях с растительными добавками**

#### **Цель работы**

Приобрести практический навык определения целлюлозы в комбинированных мясных продуктах и растительных материалах

#### **Приборы и материалы**

Мясорастительные колбасные изделия, раствор гидроксида натрия (0,1 моль/л), раствор уксусной кислоты (1 моль/л), раствор хлорида кальция (2 моль/л), кристаллическая трихлоруксусная кислота, этанол ректификованный, смесь четырех объемов этанола с одним объемом азотной кислоты (относительной плотностью 1,4); эфир серный; эфир этиловый, 1,25% и 5% растворы гидроксида натрия или калия, 1,25% раствор серной кислоты, 10 % раствор соляной кислоты, мелкое толченое стекло, стеклянные пипетки, водяная баня, фильтры бумажные, колбы, пробирки, пипетки, стаканы, колбы Эрленмейера, электрическая плита, водоструйный насос, стеклянная воронка, весы лабораторные, сушильный шкаф

#### **Теоретическая часть**

Массовую долю целлюлозы определяют термогравиметрическим методом в двух вариантах.

Первый из них (вариант А. И. Ермакова) основан на окислении и растворении различных веществ, сопутствующих клетчатке, обработанных азотной кислотой в этаноле и водным раствором щелочи. Отличается простотой, скоростью выполнения и достаточной точностью.

Сущность второго (вариант И. С. Лурье) состоит в удалении кислото- и щелочерастворимых веществ и количественном определении остатка, который условно принимается за сырую клетчатку. Последняя содержит часть лигнина, гемицеллюлоз и пентозаны. В этом методе на результат

анализа влияют многие факторы, поэтому для получения воспроизводимых результатов следует строго придерживаться описания метода.

## **Порядок проведения работы**

### **1 Определение целлюлозы в модификации А. И. Ермакова**

#### **1.1 Подготовка проб**

При определении клетчатки в колбы вместимостью 200-300 мл взвешивают по 1-3 г измельченного мясорастительного продукта. Массу навески изменяют в зависимости от содержания в исследуемом материале целлюлозы. Если в мясорастительном продукте массовая доля клетчатки 10-20 %, то берут навеску от 1,5 до 2 г, 40-50 % - от 1 до 1,3 г, менее 10 % - от 2,5 до 3 г.

#### **1.2 Порядок проведения анализа**

К навеске добавляют по 50 мл смеси этанола и азотной кислоты, колбы соединяют с обратным холодильником на резиновой пробке и помещают на водяную баню при температуре кипения на 1 ч. Колбы в воду не погружают, кипение должно быть равномерным. По окончании нагревания дают осесть осадку, раствор декантируют на стеклянный фильтр, на поверхность которого насыпают 1-2 см<sup>3</sup> мелкого толченого стекла и отсасывают. Фильтр вместе со стеклом перед фильтрованием предварительно просушивают. Жидкость декантируют очень осторожно, чтобы не взмутить осадка.

К осадку, оставшемуся в колбе, прибавляют еще 50 мл смеси этанола с кислотой и вновь нагревают в течение 30 мин. После вторичной декантации через тот же стеклянный фильтр осадок в колбе промывают маленькими порциями этанола (96 об.%). Затем к промытому осадку в колбе прибавляют 50 мл 1,25% гидроксида натрия и смесь нагревают на плитке.

Щелочной раствор вместе с осадком переносят на стеклянный фильтр, отсасывают и дважды промывают 10-15 мл горячей дистиллированной водой и 1-2 раза этанолом (96 об.%).

Фильтрацию следует вести в горячем состоянии, иначе образуются очень вязкие растворы. При замедлении фильтрации перемешивают стеклянный слой. Необходимо предотвращать просасывание воздуха через осадок, поэтому на фильтре всегда должен быть слой жидкости. Как только вся жидкость прошла через фильтр, отсасывание тотчас же прекращают.

С целью наиболее полного удаления лигнина при обработке навески исследуемого материала к азотной кислоте добавляют 80 % раствор уксусной кислоты и кристаллическую трихлоруксусную кислоту.

Стеклянный фильтр с чистой белой клетчаткой сушат до постоянной массы при 105°C (обычно в течение 2 ч). Для ускорения сушки осадок после промывания этанолом рекомендуется промыть еще серным эфиром. Массовую долю целлюлозы (%) определяют по формуле:

$$X = \frac{m_1 - m_0}{m} \cdot 100, \quad (6)$$

где  $m_1$  — масса сухого фильтра со стеклом и осадком целлюлозы, г;  $m_0$  — масса сухого фильтра со стеклом, г;  $m$  — масса навески объекта исследования, г.

## **2 Определение целлюлозы в модификации И. С. Лурье**

### **2.1 Подготовка проб**

При определении массовой доли сырой клетчатки навеску мясорастительного препарата массой 2-3 г берут с точностью  $\pm 0,01$  г и помещают в стакан вместимостью 500 мл, на котором отмечен уровень 200 мл.

### **2.2 Порядок проведения анализа**

В стакан с пробой помещают 200 мл 1,25 % раствора серной кислоты ставят на плитку и содержимое доводят до кипения. Суспензию кипятят при постоянном перемешивании стеклянной палочкой в течение 30 мин. По мере выкипания жидкости уровень в стакане поддерживают приблизительно постоянным, периодически добавляя кипящую дистиллированную

воду. Затем суспензии дают отстояться. Далее, собрав установку (рисунок 2), с помощью водоструйного насоса отсасывают еще горячую жидкость.

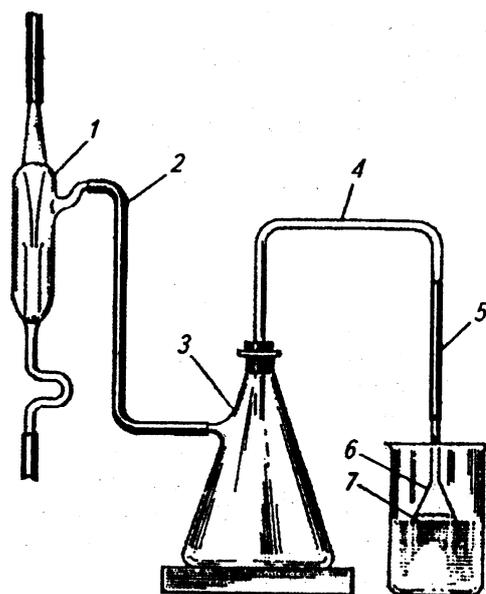


Рисунок 2 - Установка для определения массовой доли клетчатки

Стеклянную воронку 6 диаметром около 5 см обтягивают шелковой сеткой 7 и наклеивают на нее смоченный в горячей воде кружок фильтровальной бумаги, равный диаметру воронки. Изогнутой стеклянной трубкой 4 и толстостенной резиновой трубкой 5 воронку соединяют с колбой 3 для фильтрования, которую, в свою очередь, присоединяют к водоструйному насосу 1 толстостенной резиновой трубкой 2. Как только фильтр плотно пристанет к шелковой сетке, воронку переворачивают фильтром вниз и осторожно вводят в стакан до соприкосновения с поверхностью горячей жидкости.

Жидкость отсасывают до тех пор, пока ее высота над осадком не будет равна примерно 10 мм. После этого пинцетом снимают фильтр с воронки, переносят его на внутреннюю стенку стакана и струей горячей дистиллированной воды промывают фильтр и стенки стакана от приставших к ним частиц осадка.

Удалив из стакана промытый фильтр, в стакан до метки наливают горячую дистиллированную воду, размешивают в ней осадок, дают отстояться и отсасывают воду через фильтр еще раз. Операцию отмывания горячей дистиллированной водой повторяют еще три раза, каждый раз меняя фильтр.

В стакан с промытым осадком отмеривают 50 мл 5% раствора гидроксида натрия или калия, доливают кипящей дистиллированной водой до метки и кипятят в течение 30 мин. Затем жидкость над осадком отсасывают и промывают еще два раза дистиллированной водой. После последнего отсасывания воды осадок переносят с помощью дистиллированной воды, подкисленной 2-3 каплями раствора соляной кислоты, на высушенный при температуре 100-105°C и взвешенный фильтр.

Осадок на фильтре промывают последовательно дистиллированной водой, этанолом и эфиром до тех пор, пока фильтрат не станет бесцветным. Фильтр с осадком высушивают в предварительно взвешенном бюксе в сушильном шкафу при температуре 100-105 °С до постоянной массы.

Массовую долю целлюлозы (клетчатки) рассчитывают по формуле:

$$K = m_1 \cdot 100 / m, \quad (7)$$

где  $K$  – содержание целлюлозы (клетчатки), %;  $m_1$  - масса остатка на фильтре, г;  $m$  - масса навески объекта исследования, г.

### **Оформление результатов**

Полученные экспериментальные и расчетные данные рекомендуется представить в виде таблицы 4.

Таблица 4 –Определение целлюлозы в мясорастительных продуктах

Образец	Используемый метод	Массовая доля целлюлозы, %

Затем студентам необходимо сформулировать выводы по работе.

### **Контрольные вопросы**

1. Назовите полисахариды, перспективные для применения в технологии мясных продуктов общего и специального назначения в качестве функциональных и физиологически активных добавок?
2. Привести примеры комбинированных мясных продуктов, мясорастительных препаратов?
3. Нормируется ли содержание целлюлозы в мясорастительных продуктах?
4. Какие Вы знаете методы определения целлюлозы? В чем их сущность?
5. На чем они основаны различия модификаций метода определения целлюлозы? Их преимущества и недостатки.

## Библиографический список

1. Антипова, Л.В. Методы исследования мяса и мясных продуктов/ Л.В. Антипова, И.А. Глотова, И.А. Рогов (гриф МО РФ). – М.: Колос, 2001. – 576 с.
2. Антипова, Л.В. Прикладная биотехнология: УИРС по специальности 270900 / Л.В. Антипова, И.А. Глотова, А.И. Жаринов (гриф УМО). – СПб.: ГИОРД 2003. – 288 с.
3. Журавская, Н.К. Исследование и контроль качества мяса и мясопродуктов. / Н.К. Журавская, Л.Т. Алехина, Л.М. Отряшенкова. – М: Агропромиздат, 1985. – 296 с.
4. Рогов, И.А. Общая технология мяса и мясопродуктов. / И.А. Рогов, А.Г. Забашта, Г.П. Казюлин. - М.: Колос, 2000. – 367 с.
5. Рогов, И.А. Пищевая биотехнология: Книга 1/ И.А. Рогов, Л.В. Антипова, Г.П. Шуваева (гриф МО РФ). – М.: КолосС, 2004. – 440 с.
6. Технология мяса и мясопродуктов. / Л.Т. Алехина, А.С. Большаков, В.Г. Боресков (и др.), под ред. И. А. Рогов. - М.: Агропромиздат, 1988. – 576 с.

Составители: Иван Фёдорович Горлов  
Валерий Евгеньевич Древин  
Ольга Петровна Серова  
Светлана Валерьевна Шинкарева  
Светлана Евгеньевна Божкова

## **БИОТЕХНОЛОГИЯ КОЛБАСНОГО ПРОИЗВОДСТВА**

Методические указания к лабораторным работам  
ЧАСТЬ 2

Темплан 2009 г., поз. № \_\_\_\_\_

Подписано в печать \_\_\_\_\_. Формат 60x84 1/16.  
Бумага газетная. Печать офсетная. Усл.печ.л. \_\_\_\_\_.  
Уч.-изд.л. \_\_\_\_\_. Тираж 50 экз. Заказ \_\_\_\_\_. Бесплатно.

Волгоградский государственный технический университет.  
400131 Волгоград, просп. им. В.И. Ленина, 28.  
РПК «Политехник» Волгоградского государственного технического университета.  
400131 Волгоград, ул. Советская, 35.