

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені В. Н. КАРАЗІНА

БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ СПОЛУКИ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Методичні вказівки
до лабораторних робіт для здобувачів вищої освіти другого
(магістерського) рівня денної форми здобуття освіти за
спеціальністю 015 «Професійна освіта (Аграрне виробництво,
переробка сільськогосподарської продукції та харчові технології)»

Електронний ресурс

Харків – 2025

УДК 664.6 584.19

Б 63

Рецензенти:

Євлаш В. В. – доктор технічних наук, професор, зав. кафедри хімії, біохімії, мікробіології та гігієни харчування Державного біотехнологічного університету;

Литвин О. О. – доктор фізико-математичних наук, професор, в.о. зав. кафедри харчових технологій легкої промисловості і дизайну Навчально-наукового інституту «Українська інженерно-педагогічна академія» Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.

*Затверджено до розміщення в мережі Інтернет рішенням Науково-методичної ради
Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна
(протокол № 8 від 28 березня 2025 року)*

Біологічно активні сполуки в харчових продуктах : методичні вказівки до лабораторних робіт для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня денної форми здобуття освіти за спеціальністю 015 «Професійна освіта (Аграрне виробництво, переробка сільськогосподарської продукції та харчові технології)» [Електронний ресурс] / укладачі І. В. Цихановська, О.В. Александров. – Харків : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2025. – (PDF 23 с.)

Методичні вказівки для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня денної форми здобуття освіти за спеціальністю 015 «Професійна освіта (Аграрне виробництво, переробка сільськогосподарської продукції та харчові технології)» містять рекомендації щодо виконання лабораторних робіт. Рекомендації складено відповідно до програми дисципліни «Біологічно активні сполуки в харчових продуктах», яка викладається магістрам 1 курсу спеціальності 015 «Професійна освіта (Аграрне виробництво, переробка сільськогосподарської продукції та харчові технології)» ХНУ імені В. Н. Каразіна. Методичні вказівки допоможуть здобувачам вищої освіти засвоїти теоретичний курс і набути практичних навичок.

УДК 664.6 584.19

© Харківський національний
університет імені В. Н. Каразіна, 2025
© Цихановська І. В., Александров О. В.,
уклад., 2025

ЗМІСТ

| | |
|---|----|
| Лабораторна робота № 1. «Визначення вмісту жиру у харчових продуктах»..... | 4 |
| Лабораторна робота № 2. «Дослідження ферментів. Дія, активність.»... | 8 |
| Лабораторна робота № 3. «Дослідження рослинної сировини, яка містить біологічно активні водорозчинні вітаміни»..... | 11 |
| Література..... | 22 |

Лабораторна робота № 1

«Визначення вмісту жиру у харчових продуктах»

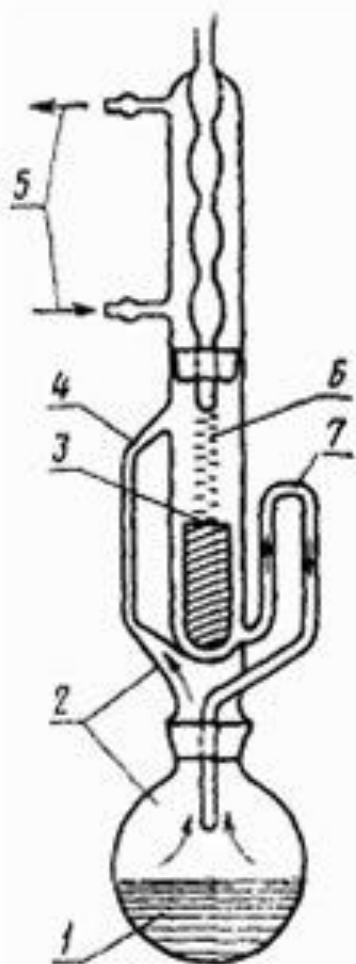
Мета: ознайомитися з визначенням вмісту жиру у харчових продуктах різними методами

План роботи

- 1.1. Визначення вмісту жиру у харчових продуктах методом Сокслета.
- 1.2. Визначення вмісту жиру у харчових продуктах методом Вейбула-Бернтропа
- 1.3. Визначення вмісту жиру у харчових продуктах рефрактометричним методом

1.1. Визначення вмісту жиру у харчових продуктах методом Сокслета

Більшість методів визначення вмісту жирів в харчових продуктах ґрунтується на процесі екстракції. **Екстракцією** називається метод добування речовини з розчину, або з твердого тіла, заснований на його переважній розчинності в іншому розчиннику – **екстрагенті**. Екстракція дозволяє використовуючи органічні розчинники екстрагувати (витягати) жири з різних харчових продуктів, які знаходяться у твердому стані. Метод ґрунтується на екстрагуванні жиру органічними розчинниками в апараті Сокслета.



Апарат Сокслета. 1 – колба з розчинником; 2 – напрям руху пари розчинника; 3 – гільза з досліджуванним матеріалом; 4 – трубка подачі пари розчинника; 5 – отвори зворотного холодильника; 6 – рух сконденсованого розчинника; 7 – сифонна трубка.

Екстрактор Сокслета встановлюють на круглодонну колбу і приєднують до його верхньої частини зворотний холодильник. Всі складові апарату виконані з хімічно і термічно стійкого лабораторного скла. У колбу наливається розчинник (екстрагент) (1) Розчинник обирається в залежності від того, які речовини треба екстрагувати. Головне, щоб екстрагент розчиняв витягуванні речовини, не зачіпаючи домішки, мав малу в'язкість і мав гарну

здатність дифундувати.

У центральній циліндричній частині екстрактора Сокслета є резервуар, в який вставляється «гільза» (3) з екстрагованих речовин, виконана з пористого матеріалу. Після складання апарату Сокслета починається нагрів колби до тих пір, поки розчинник не почне випаровуватися (2 - висхідний пар розчинника). Пари, проходячи через скляну трубку (4) в обхід «гільзи»,

потрапляють в холодильник (5 - охолоджуюча вода), де конденсуються і стікають (6) в резервуар з речовиною. Резервуар буде наповнюватися краплями екстрагенту до тих пір, поки «гільза» не переповниться і рівень рідини не досягне нижнього краю трубки сифона, після чого розчинник з деяким вмістом екстракту зіллється (7) назад в колбу, де знову випарується. Таким чином, в приладі Сокслета проводиться безперервна екстракція, причому з використанням невеликого об'єму екстрагенту. Ефективність процесу підвищується за рахунок нагріву «гільзи» парами розчинника.

Після завершення екстрагування розчинник відганяється методом звичайної прямої перегонки.

ХІД РОБОТИ

1. Приблизно 50 г досліджуваного продукту (смажене насіння, горіхи тощо) ретельно подрібнюють у кавомолці.

2. У попередньо зважений мішечок з бавовняної тканини поміщають 60-70 г подрібненого продукту. Фіксують його масу.

3. Мішечок закріплюють на зворотному холодильнику.

4. Збирають апарат Сокслету на водяній бані, помістивши у круглодонну колбу декілька кип'ятильників.

5. Заливають в екстракційну ємність гексан до тих пір, поки він не почне переліватися через сифонну трубку. У цей момент додатково доливають ще приблизно 50 мл розчинника. Загальний об'єм розчинника становить приблизно 150 см³.

6. Встановлюють зворотний холодильник, опускаючи мішечок з матеріалом в екстракційну ємність. Мішечок повинен вільно входити у екстракційну ємність.

7. Пускають воду у холодильник.

8. Починають нагрівання, встановивши терморегулятор електроплитки у максимальне положення.

9. Слідкують за перебігом процесу. Рахують кількість циклів екстракції.

10. Екстракцію проводять не менш 3 годин слідкуючи за рівням води у водяній бані. При нестачі розчинника к колбу додають 20-30мл.

11. Після останнього зливу розчинника з екстрактору виключають нагрів, у баню негайно доливають велику кількість холодної води для припинення кипіння розчинника.

12. Після охолодження розбирають екстрактор.

13. На колбу встановлюють насадку Вюрца, під'єднують низхідний холодильник та приймач.

14. Пускають воду у холодильник.

15. Починають нагрівання, встановивши терморегулятор електроплитки у максимальне положення.

16. Перегонку припиняють коли закінчується кипіння розчину у колбі.

17. Отриманий жир переносять у попередньо зважений стаканчик.

18. Тричі промивають колбу невеликими порціями гексану, збираючи промивні води у стаканчик з жиром.

19. Стаканчик з жиром нагрівають у витяжній шафі на водяній бані до

припинення виділення пухирців розчиннику.

20. Отриманий жир висушують у сушильній шафі протягом 1 години.

21. Охолоджують стаканчик в ексікаторі та зважують.

22. Вміст жиру розраховують за формулою (1.1):

$$X = \frac{m_{\text{ж}}}{m_{\text{п}}} \times 100 \quad (1.1)$$

де: $m_{\text{ж}}$ – отримана маса жиру;

$m_{\text{п}}$ – маса продукту, яка була взята для аналізу;

23. Отримані результати заносять до таблиці:

| продукт | $m_{\text{п}}$, г | $m_{\text{ж}}$, г | % |
|------------------------------|--------------------|--------------------|---|
| ядра волоських горіхів | | | |
| очищене насіння соняшника | | | |

1.2. Визначення вмісту жиру у харчових продуктах методом Вейбула-Бернтропа

Метод Вейбула-Бернтропа застосовується при виникненні розбіжностей в оцінці якості продукту.

Суть методу полягає в обробці зразку соляною кислотою, додаванні спирту і подальшої екстракції жиру з кислотно-спиртової суміші гексаном, або діетиловим ефіром, випаровуванні розчинників і зважуванні залишку.

ХІД РОБОТИ

1. Досліджуваний матеріал (сир, ковбаса, м'ясо, сало тощо) ретельно подрібнюють за допомогою мілкої терки, або ножа.

2. У колби з притертими пробками відвішують наважки подрібненого матеріалу ~ 2 г. Масу кожної проби фіксують, результати заносять у таблицю.

3. У кожну колбу додають по 10 см³ концентрованої хлоридної кислоти.

4. Колби встановлюють у гарячу водяну баню і витримують у неї 25 хвилин, періодично перемішуючи їхній вміст. Матеріал при цьому повністю розчиняється, а розчин набуває темного забарвлення.

5. Колби виймають з бані та охолоджують.

6. У кожну колбу додають по 10 см³ етилового спирту і перемішують.

7. У кожну колбу додають по 20 см³ гексану, закривають пробками.

8. Вміст колб струшують протягом 10 хвилин.

9. Дають розчинам розшаруватися.

10. Зважують стаканчики на 100 см³ по кількості проб, фіксують масу кожного.

У роботі запропонована наступна методика розподілу розшарованих рідин.

11. Відбирають верхній шар розчинника за допомогою медичного шприца. Спочатку відбирають чистий розчинник не наближуючись голкою до межі розшарування. Розчин переносять у відповідний стаканчик. Після того,

як верхнього шару залишиться небагато, до шприца засмоктується суміш нижнього та залишків верхнього шару. Видавлюють зі шприца темну рідину, яка знаходиться у нижній частині шприца.

12. Знов заливають вміст кожної колби 20 см³ розчинника та повторюють усі процедури, збираючи екстракт у відповідні стаканчики.

13. В такий же спосіб проводять третю екстракцію.

14. Стаканчики встановлюють у водяну баню (у витяжній шафі) та упарюють до повного випаровування розчинника. Кінець випаровування встановлюють по завершенню кипіння розчинника.

15. Стаканчики достають з бані, витирають їх поверхню та зважують. Результати заносять до таблиці.

16. Масу жиру обчислюють як різницю отриманої маси стаканчику та маси порожнього стаканчику.

17. Вміст жиру у сирому продукті розраховують за формулою (1.2):

$$X = \frac{m_{\text{ж}}}{m_{\text{п}}} \times 100 \quad (1.2)$$

де: $m_{\text{ж}}$ – отримана маса жиру;

$m_{\text{п}}$ – маса продукту, яка була взята для аналізу.

18. Результати розрахунків заносять до таблиці

| продукт | $m_{\text{п}}$, г | $m_{\text{ж}}$, г | % |
|---------|--------------------|--------------------|---|
| | | | |

1.3. Визначення вмісту жиру у харчових продуктах рефрактометричним методом

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

ХІД РОБОТИ

1. У стаканчиках на 50 см³ ваговим методом готують розчини рафінованої соняшникової олії у гексані за наступною схемою:

| № | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-----------|---|-----|-----|-----|-----|---|
| олія, г | 0 | 0,2 | 0,4 | 0,6 | 0,8 | 1 |
| гексан, г | 1 | 0,8 | 0,6 | 0,4 | 0,2 | 0 |

Фактично взяті маси заносять до таблиці.

2. По черзі, починаючи з проби з найменшим вмістом олії виміряють показник заломлення усіх сумішів, поміщуючи їх на призму рефрактометра таким чином, щоб уся призма була вкрита розчином.

Після кожного вимірювання призму ретельно протирають сухою ватою.

3. Розраховують фактичний відсотковий вміст олії за формулою (1.3):

$$\% = \frac{m_{\text{о}}}{m_{\text{о}} + m_{\text{г}}} \times 100 \quad (1.3)$$

де: $m_{\text{о}}$ – маса олії;

$m_{\text{г}}$ – маса гексану.

4. Отримані результати заносять до таблиці:

| № | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-----------|---|---|---|---|---|---|
| m_0 , г | | | | | | |
| $m_г$, г | | | | | | |
| % мас. | | | | | | |
| n | | | | | | |

4. За отриманими даними будують калібрувальний графік у координатах $n=f(\%)$ (залежність показника заломлення від вмісту олії).

Контрольні запитання

1. Наведіть формулу розрахунку фактичного відсоткового вмісту олії у жировмісному харчовому продукті відповідно рефрактометричного метода.
2. Наведіть формулу розрахунку вмісту жиру у харчовому продукті відповідно метода Вейбула-Бернтропа.
3. Наведіть формулу розрахунку вмісту жиру у харчовому продукті відповідно метода Сокслета.
4. Вкажіть назву фізико-хімічного процесу, на якому ґрунтується більшість методів визначення вмісту жирів в харчових продуктах.
5. Дайте визначення поняттям «екстракція», «екстрагент».

Лабораторна робота № 2 “Дослідження ферментів. Дія, активність”

Мета: 1. Ознайомлення з загальною характеристикою, класифікацією та дією ферментів

План:

- 2.1. Загальна характеристика та класифікація ферментів
- 2.2. Дослідження дії та активності ферментів

2.1. Загальна характеристика та класифікація ферментів

Ферменти (ензими) – біологічні каталізатори білкової природи, що синтезуються у живому організмі, значно прискорюють реакції клітинного метаболізму та характеризуються складними механізмами регуляції власної дії.

Основними рисами, що відрізняють ферменти від звичайних каталізаторів є надзвичайне прискорення швидкості реакцій (до 1-10 млрд. каталітичних актів за секунду - супероксиддисмутаза), дія за м'яких умов живого організму, майже 100% ефективність та продуктивність каталізу, специфічність лише до певних видів субстрату (іноді до єдиного – **абсолютна специфічність**), наявність **ланцюжків або комплексів** з декількох ферментів, що приймають участь у **послідовному каталізі** реакцій певного біохімічного шляху, **складні механізми регуляції активності**

ферментів.

Ферменти, як білкові сполуки, є **особливо чутливими до умов середовища** – кожен з ферментів характеризується певними чітко визначеними **оптимами температури, рН, йонної сили** – параметрами, за яких активність ферменту є оптимальною.

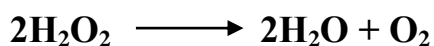
Виділяють **шість основних класів ферментів** – **оксидоредуктази** (каталіз окисно-відновних реакцій), **трансферази** (міжмолекулярне перенесення груп), **гідролази** (гідролітичне розщеплення субстратів), **ліази** (не гідролітичне розщеплення, приєднання або від'єднання груп за місцем подвійного зв'язку), **ізомерази** (внутрішньомолекулярне перенесення груп), **лігази** (утворення ковалентних зв'язків – синтез речовин з використанням енергії нуклеозидфосфатів).

2.2. Дослідження дії та активності ферментів

Дослід 1. Дія каталази.

Принцип методу.

Каталаза прискорює реакцію розщеплення пероксиду гідрогену на H_2O і O_2 :



У цій реакції одна молекула пероксиду гідрогену окиснюється і є донором електронів, а друга відновлюється і є акцептором електронів.

Матеріали та реактиви: Препарат каталази з картоплі, свіжоприготований розчин H_2O_2 (3%-й).

Обладнання: Пробірки, крапельниці, піпетки.

Хід роботи.

В дві пробірки наливають по 5 мл розчину пероксиду гідрогену. В одну з них додають 1 мл препарату каталази.

Очікуваний результат.

У пробірці з каталазою внаслідок утворення молекулярного кисню з'являється велика кількість бульбашок. У пробірці без каталази бульбашки газу не утворюються.

Дослід 2. Дія тирозинази.

Принцип методу.

Тирозиназа каталізує перетворення тирозину в меланін (пігмент чорного кольору). Проміжні продукти забарвлені в червоний колір.

Матеріали та реактиви: Препарат тирозинази (10 г подрібненої картоплі розтирають у ступці з 30 мл води й фільтрують крізь два шари марлі), насичений розчин тирозину.

Обладнання: Фарфорова ступка з товкачиком, пробірки, піпетки, водяна баня, термостат (40°C).

Хід роботи.

У дві пробірки (досліджувана проба та контроль) наливають по 1 мл препарату тирозинази. Вміст контрольної пробірки кип'ятять 3 хв і охолоджують. Потім у кожен пробірку додають по 0,5 мл насиченого

розчину тирозину й ставлять у термостат за температури 40°C. Кожні 5 хв пробірки струшують.

Очікуваний результат.

У пробірці з активною тирозиназою рідина поступово забарвлюється у рожевий, бурий і червоний кольори. У контрольній пробірці зміни кольору вмісту не спостерігається.

Заняття № 2. Визначення активності ферментів.

Дослід 1. Визначення активності каталази за методом Баха.

Принцип методу.

Метод ґрунтується на визначенні кількості пероксиду гідрогену, що залишилася після дії на нього каталази, титруванням розчином KMnO_4 у кислому середовищі. Ця реакція відбувається за рівнянням:



Матеріали та реактиви: Препарат каталази – 20 г картоплі, нарізаної на шматки, розтирають у фарфоровій ступці з невеликою кількістю кварцового піску, настоюють у 100 мл води протягом 30 хв і фільтрують, 10%-й розчин H_2SO_4 , 0,1 %-й розчин H_2O_2 на фосфатному буфері, рН 7,0 (35,0 мл 0,2 моль/л Na_2HPO_4 і 13,6 мл 0,2 моль/л NaH_2PO_4), 0,002 моль/л розчин KMnO_4 .

Обладнання: Колби об'ємом 100 мл, піпетки, бюретки, термостат.

Хід роботи.

В дві колби наливають по 5 мл препарату каталази, в одну з них (контрольна проба) додають 3 мл розчину H_2SO_4 . Потім в обидві колби вносять по 10 мл розчину пероксиду гідрогену та ставлять у термостат за температури 37°C. Через 30 хв у другу колбу (досліджувана проба) додають 3 мл H_2SO_4 і титрують вміст обох колб (спочатку контрольної) розчином KMnO_4 до появи стійкого рожевого забарвлення від надлишку KMnO_4 .

Обробка результатів.

Зазначимо, що 1 мл 0,002 моль/л розчину KMnO_4 відповідає 1,7 мг H_2O_2 . Активність каталази визначають за кількістю H_2O_2 , що розклався, і розраховують за формулою (2.1):

$$C = (B - A) f Q, \quad (2.1)$$

де:

$(B - A)$ – різниця результатів титрування контрольного та досліджуваного зразків 0,002 моль/л розчином KMnO_4 , мл,

f – коефіцієнт поправки на титр 0,002 моль/л розчину KMnO_4 ,

Q – кількість пероксиду гідрогену (1,7 мг), яка відповідає 1 мл 0,002 моль/л KMnO_4 .

Контрольні запитання

1. Дайте визначення поняттю «ферменти (ензими)»
2. Вкажіть основні риси, що відрізняють ферменти від звичайних каталізаторів.

3. Назвіть шість основних класів ферментів.
4. Вкажіть три основних параметри (умов середовища), за яких визначається оптимальна активність ферменту.
5. Вкажіть – чи прискорює або пригнічує фермент каталаза реакцію розщеплення пероксиду гідрогену на H_2O і O_2 ?

Лабораторна робота № 3 **«Дослідження рослинної сировини, яка містить біологічно активні водорозчинні вітаміни»**

Мета: Провести якісне та кількісне визначення водорозчинних вітамінів.

План роботи

- 3.1. Теоретична частина
- 3.2. Експериментальна частина

3.1. Теоретична частина

Вітаміни – органічні біологічно-активні сполуки, що не синтезуються у організмі більшості ссавців та людини, але є критично необхідними для нормальної життєдіяльності організму. Тому вітаміни обов'язково повинні бути присутні в раціоні у певних, як правило, незначних, кількостях.

Водорозчинні вітаміни – група органічних сполук різної структури, які розчиняються у воді, сюди належать вітаміни групи В – В₁ (тіамін), В₂ (рибофлавін), В₅ (пантотенова кислота), В₆ (піридоксаль), В₇ (фолієва кислота), В₁₂ (кобаламін); також до цієї групи належать вітаміни РР (нікотинова кислота та нікотинамід), С (аскорбінова кислота), Н (біотин).

Кількісне визначення вітамінів має специфічну особливість.

По-перше, вітаміни є різними за хімічною природою сполуками, і методи їх кількісного визначення дуже різноманітні;

по-друге, у досліджуваних об'єктах вони, як правило, містяться в малих кількостях, тому ці методи повинні мати високу точність;

по-третє, досліджувані об'єкти, до яких належать харчові продукти, мають багатий хімічний склад, і виникає необхідність здійснювати глибоке очищення вітамінів або використовувати суворо специфічні методи кількісного визначення вітаміну в певному об'єкті.

Усі методи кількісного визначення вітамінів можна розподілити на **три групи**: хімічні, фізико-хімічні та біологічні.

Хімічні методи застосовують у тому випадку, коли вітамін у досліджуваному об'єкті міститься у великій кількості та коли він має яскраво виражену специфічну хімічну властивість. Однак і в цьому випадку не

виключають необхідність ґрунтового очищення вітаміну від супутніх домішок.

Класичним прикладом визначення вітамінів хімічним методом є аскорбінова кислота. У харчових продуктах (овочах, фруктах, ягодах) вона, як правило, міститься в концентраціях, які на порядок і більше перевищують уміст інших вітамінів, а як хімічна речовина має яскраво виражену здатність до окиснення.

Основні етапи визначення аскорбінової кислоти такі:

1) отримання матеріалу; 2) його збереження; 3) екстрагування аскорбінової кислоти зі зразка; 4) очищення отриманого екстракту від домішок, що перешкоджають визначенню аскорбінової кислоти; 5) визначення кількості аскорбінової кислоти.

Фізико-хімічні методи здебільшого засновані на утворенні забарвлених сполук з вітамінами, концентрацію яких визначають методами фотометрії. Ці методи застосовують переважно для дослідження чистих препаратів. У простих за складом середовищах, що містять домішки, вітаміни відокремлюють методом хроматографії. У харчових продуктах вітаміни містяться в незначних кількостях, тому фізико-хімічні методи визначення є непридатними. Для кількісного визначення вітамінів використовують поглинання в УФ-ділянці спектра сонячного випромінювання (вітаміни В₂, Е), газорідну хроматографію (пантотенова кислота), флуориметричні методи (фолієва кислота, вітаміни В₂, В₁₂, К).

Біологічні методи ґрунтуються на тому, що за допомогою використання спеціально складених раціонів у тварин спричиняють вітамінну недостатність і виявляють дозу вітаміну, яка усуває явище авітамінозу. Проведення таких досліджень трудомістке й тривале, проте воно дає змогу кількісно визначити вітаміни в складних за структурою об'єктах, у тому числі й у харчових продуктах.

Мікробіологічні методи широко використовують для кількісного визначення в харчових продуктах водорозчинних вітамінів – В₁, В₂, В₆, В₁₂, пантотенової й фолієвої кислот, а також біотину. Вони ґрунтуються на тому, що для деяких мікроорганізмів вітаміни є незамінними чинниками росту. При цьому в межах певної концентрації вітамінів спостерігають лінійну залежність між швидкістю росту, розмноженням мікроорганізмів і вмістом вітаміну в культуральному середовищі.

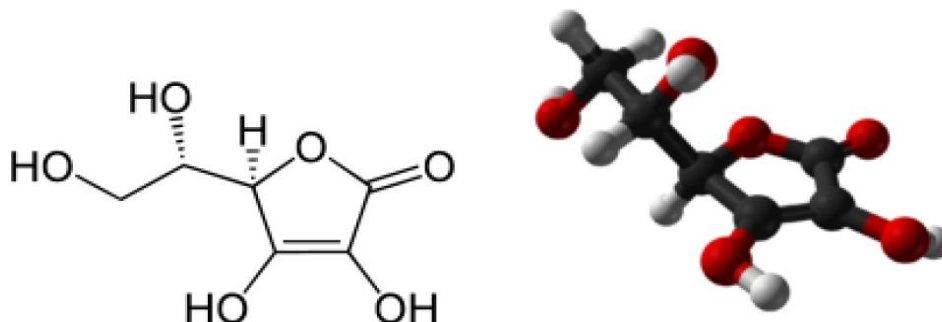
Для кількісного визначення вітаміну В₁₂ широко використовують ферментативні методи. Вони мають високу чутливість і дають змогу виявити низькі концентрації цього вітаміну. У цих методах використовують ферменти діолдегідрогенази, гліцеролдегідрогеназу. У ході реакцій до надлишку ферменту додають коферментні форми вітаміну В₁₂. Швидкість реакції перебуває в пропорційній залежності від кількості доданого вітаміну.

Крім структуроподібних є ще речовини, переважно біологічного походження, які, впливаючи на вітаміни, частково або повністю позбавляють їх біологічної активності. До них належать, наприклад, фермент тіаміназа, що

руйнує молекулу тіаміну; аскорбатоксидаза, що окиснює аскорбінову кислоту; білок авідин, який зв'язує й інактивує біотин тощо.

Вітамін С

Хімічна будова та біологічні джерела. За хімічною будовою вітамін С є γ -лактоном 2,3-дигідро – L-гулонової кислоти. Емпірична назва вітаміну – аскорбінова кислота вказує на його профілактичну дію щодо цинги, або скорбуту – специфічного патологічного процесу, спричиненого екзогенною недостатністю вітаміну.



Біологічні властивості та механізм дії. Біологічна дія вітаміну С переважно пов'язана з гідроксилюванням біомолекул в ході таких біохімічних перетворень;

- Біосинтезу колагену;
- Біосинтезу дофаміну, норадреналіну та адреналіну (етапи гідроксилювання в циклі та бічному кільці катехоламінів);
- Біосинтезу стероїдів (численні реакції гідроксилювання на етапах утворення холестерину та біологічно активних стероїдних гормонів);
- Біосинтезу серотоніну (реакція гідроксилювання триптофану);
- Катаболізму тирозину (через стадію утворення гомогентизинової кислоти).

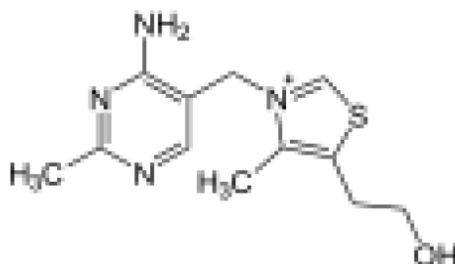
Джерела та добова потреба Вітамін С міститься у більшості продуктів харчування, особливо рослинного походження. Досить багаті на цей вітамін свіжі овочі, ягоди, цитрусові, чорна смородина, гілки хвої, болгарський перець тощо. Недостатність у вітаміні С розвивається як правило, за умов нераціональної дієти (відсутність свіжих рослинних продуктів) або неправильного приготування страв. Особливо шкідливою для вмісту L-АК є термічна обробка продуктів в умовах високої температури, наявності кисню та металів (нагрівання продуктів у металевому посуді). Добова потреба в L-аскорбіновій кислоті становить 50-70мг.

Вітамін В1

Хімічна будова. Вітамін В1 - тіамін ще називають вітаміном «оптимізму». Вітамін В1 був вперше синтезований у Судзукі в 1910 році.

Джерела та добова потреба. Вітамін В₁ необхідний для нормального протікання у людей процесів росту та розвитку, допомагає підтримувати нормальну роботу серця, нервової та травної системи, відіграє важливу роль

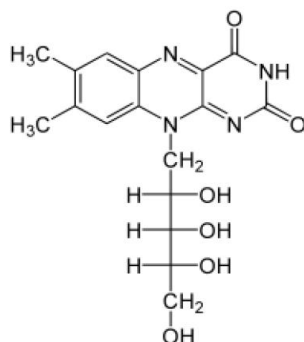
в процесах метаболізму вуглеводів та жирів в організмі. Є водорозчинним речовиною, не запасється організмом і не має токсичної дії.



Його запаси повинні поповнюватися щодень. Добова норма для дорослої людини становить 1,1 – 1,4мг. Вітамін В₁ в невеликих кількостях міститься в різних продуктах. Найбільше він міститься в сушених пивних дріжджах, в м'ясі (свинині, баранині, волловому) птиці, горіхах, бобових.

Вітамін В₂

Хімічна будова. Вітамін В₂ – рибофлавін в основі хімічної будови містить гетероциклічну сполуку ізоалоксазин (поєднання бензольного, піразинового та піримідинового кілець), до якої в положенні 9 приєднаний п'ятитомний спирт рибітол.

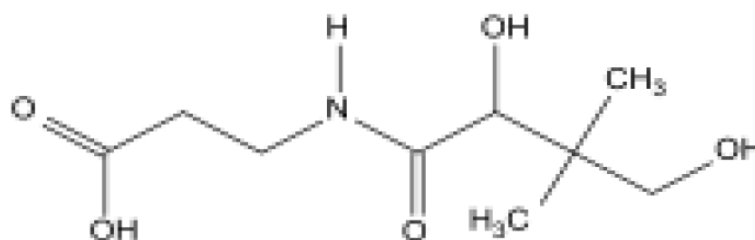


Біологічні властивості та механізм дії. Рибофлавін добре розчинний у воді, стійкий у кислих розчинах, але легко руйнується в нейтральних та лужних розчинах. Вітамін В₂ чутливий до видимого та УФ-опромінення та досить легко підлягає зворотному відновленню, приєднуючи водень на місці подвійних зв'язків, перетворюючись на безбарвну лейкоформу. Ця здатність рибофлавіну лежить в основі його біологічної дії..

Джерела та добова потреба Рибофлавін міститься у всіх рослинних та тваринних клітинах, але лиш деякі продукти харчування багаті на цей вітамін. Найвища концентрація спостерігається у дріжджах, печінці. Але найбільш поширеними джерелами вітаміну в раціоні людини – молоко та молочні продукти, м'ясо, яйці, овочі, зелень, зерна злаків. Необхідно враховувати, що рибофлавін із продуктів тваринного походження засвоюється набагато краще ніж із рослинної їжі. Так, наприклад, в коров'ячому, козячому молоці не менше 90% рибофлавіна знаходиться у вільній формі, а в більшості інших джерел у зв'язаному стані разом із білками. Добова потреба людини у вітаміні В₂ становить 1,7мг.

Вітамін В₅

Хімічна будова. Вітамін В₅ – пантотенова кислота за хімічною структурою є сполукою, утвореною з масляної кислоти, яка в альфа- і гамма-положеннях містить ОН-групи, а в бета-положенні – дві СН₃-групи, з'єднану амідним зв'язком із бета- аланіном.

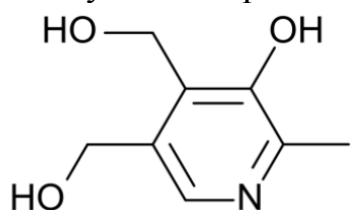


Значення пантотенової кислоти пояснюється участю 2-х коферментів у багатьох каталітичних процесах, зокрема таких, як окиснення жирних кислот, кетокислот, біосинтез жирних кислот, холестерину, стероїдних гормонів, кетонних тіл, ацетилхоліну. Саме за участь коферменту А в багатьох процесах обміну вуглеводів, жирів і білків його називають основним коферментом у клітинах.

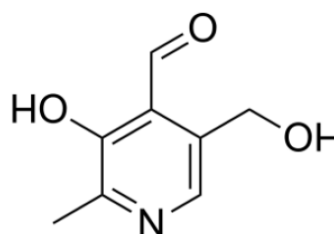
Джерела та добова потреба. Джерелом пантотенової кислоти для людини є кишкові мікроорганізми і продукти харчування. Найбільше її міститься в баранячій печінці та печінці великої рогатої худоби, курячих яйцях, молоці, м'ясі, стручкових тощо. Добова потреба у вітаміні В₅ для дорослої людини становить приблизно 10 мг.

Вітамін В₆

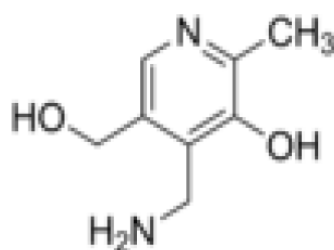
Хімічна будова. Вітамін В₆ - піридоксин, піридоксаль, піридоксамін синтезується в організмі кишковою мікрофлорою.



піридоксин,



піридоксаль,



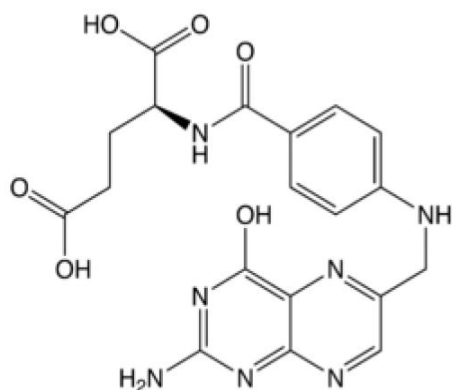
піридоксамін

Джерела та добова потреба. У їжі людини зустрічаються піридоксин, піридоксаль і піридоксамін, а також їх фосфати. У людському організмі будь-яка з цих речовин перетворюється на піридоксальфосфат. Вітамін В₆ (піридоксин, піридоксаль, піридоксамін) міститься в багатьох продуктах. Особливо багато його міститься в зернових паростках, у волоських горіхах і фундуку, в шпинаті, картоплі, моркві, кольоровій і білокачанній капусті,

помідорах, полуниці, черешні, апельсинах і лимонах. Також він міститься в м'ясних і молочних продуктах, рибі, яйцях, крупах і бобах.

Вітамін В₉

Хімічна будова Вітамін В₉ – фолієва кислота включає декілька біоактивних речовин: параамінбензойну кислоту, глутамінову кислоту, які входять в хімічну будову вітаміну. Похідні фолієвої кислоти, саму фолієву кислоту та споріднені сполуки називають фолатами.

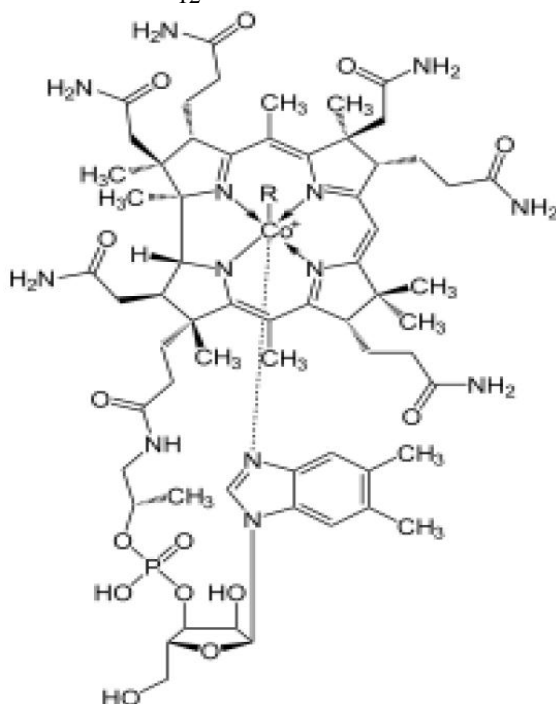


Вітамін В₉ при нагріванні руйнується до 50-90% вітаміну В₉. Фолієва кислота бере участь у синтезі амінокислот, нуклеїнових кислот, піримідинів, пуринів, обміні холіну. У поєднанні з вітаміном В₁₂ (ціанокобаламіном) стимулює процес кровотворення.

Джерела та добова потреба Потреба в цьому вітаміні росте зі збільшенням вмісту вітаміну В₁₂. Добова потреба В₉ становить 0,2 мг.

Вітамін В₁₂

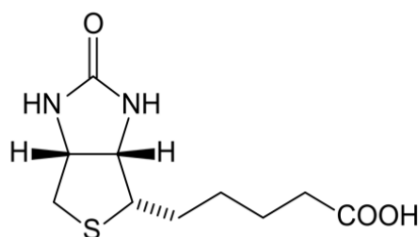
Хімічна будова Вітамін В₁₂ – кобаламін



Джерела та добова потреба. Джерела вітаміну В₁₂ – печінка, м'ясо, риба, морепродукти, молочні та кисломолочні продукти, яйця, і т.д. Найбільші джерела вітаміну В₁₂ – яловича і теляча печінка. Її рекомендовано вводити в раціон хоча б один раз на тиждень тушковану або смажену з цибулею, додаючи до неї салат. Мінімальна денна норма становить 3 мкг на добу.

Вітамін В₇ (Н)

Хімічна будова. Біотин – вітамін Н або В₇ – С₁₀Н₁₆О₃Н₂С – водорозчинний вітамін групи В. Молекула біотину складається з тетрагідроімідазольного і тетрагідротіофенового кільця, в тетрагідротіофеновом кільці один з атомів водню заміщений на валеріанову кислоту.

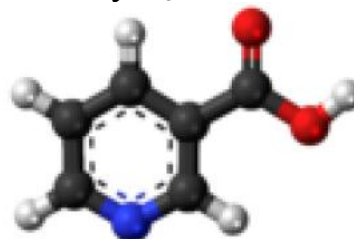
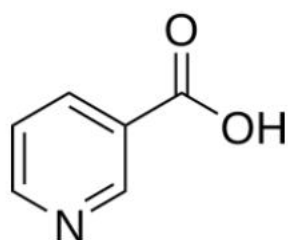


Входить до складу ферментів, що регулюють білковий і жировий обмін, має високу активність. Бере участь в синтезі глюкокінази — ферменту, що регулює обмін цукрів. Бере участь в синтезі пуринових нуклеотидів. Є джерелом сірки, яка бере участь у синтезі колагену.

Джерела та добова потреба. У малих кількостях біотин міститься у всіх продуктах, але більше всього цього вітаміну міститься в печінці, нирках, дріжджах, бобових (соє), цвітній капусті, горіхах (арахіс). У меншій мірі він міститься в помідорах, шпинаті, яйцях (не сирих), в грибах. Здорова мікрофлора кишківника синтезує біотин в достатній для організму кількості. Тому вживання продуктів, що нормалізують мікрофлору кишківника (молочнокислі продукти, квашена капуста) надає хоча і непрямий, але значний внесок у забезпечення потреби організму в біотині.

Вітаміни РР

Хімічна будова Вітаміни РР – нікотинова кислота або ніацин малорозчинний у воді, але добре розчинний у водних розчинах лугів. Вітамін РР необхідний для багатьох реакцій окислення у живих клітинах, в організмі людини перебуває у вигляді аміду нікотинової кислоти. Нікотинова кислота, нікотинамід та ніацин являють собою різні хімічні сполуки, однак вони є єдиними ланцюгом біохімічного перетворення вітаміну в організмі. Відтак у більшості випадків їх називають, як синоніми вітаміну В₃



Джерела та добова потреба. Добова потреба у вітаміні РР становить 18мг. Насамперед необхідно вказати які продукти харчування містять найбільше цього вітаміну. Горіхи: кедрові горішки, кеш'ю, фісташки, арахіс містять найбільше цього вітаміну. Такі продукти як кальмари, як телятина, м'ясо курки, кролика, риба кета, сардина, ставрида, лосось теж містять великий відсоток вітаміну РР.

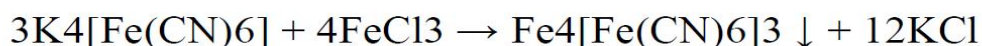
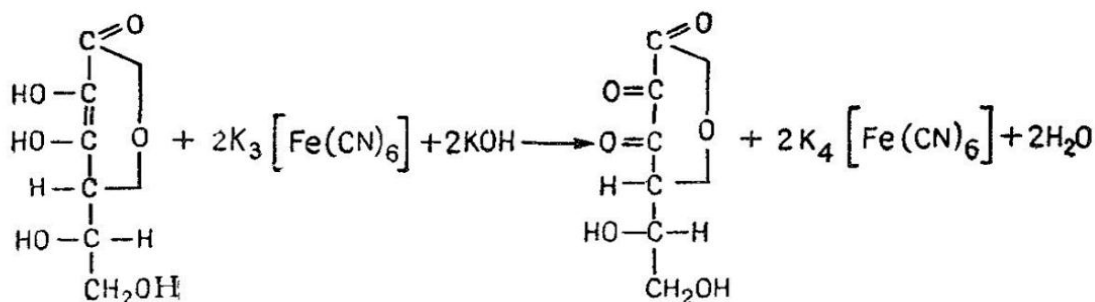
3.2. Експериментальна частина

Дослід 1. Виявлення вітаміну С в фруктових чи овочевих соках за допомогою калій (III) гексаціаноферату.

Реактиви: 5% розчину гідроксиду калію; 10% розчину калій (III) гексаціаноферату; 10% розчину соляної кислоти; 10% розчину ферум (III) хлориду.

Хід роботи: У пробірку наливають 1 мл досліджуваного соку, додають по декілька крапель 5% розчину гідроксиду калію та 10% розчину калій (III) гексаціаноферату та перемішують. Потім додають 2-3 краплі 10% розчину соляної кислоти (для підкислення) 1-2 краплі 10% розчину ферум (III) хлориду.

Спостерігають випадення синього осаду берлінської лазурі. Паралельно проводять контрольні досліді проводять з розчином вітаміну С та дистильованою водою. З розчином вітаміну С синій осад берлінської блакиті з'являється, а з водою ні.



Дослід №2. Відновлення метиленової синьки аскорбіною кислотою.

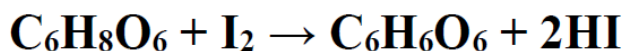
Принцип методу. Аскорбінова кислота здатна відновлювати метиленовий синій, який переходить при цьому у безколірну лейкосполуку.

Реактиви: 0,01 % розчину метиленової синьки; 10% карбонату натрію; дистильована вода.

Хід роботи: У дві пробірки додають по одній краплі 0,01 % розчину метиленової синьки і 10% розчину Na_2CO_3 . В першу пробірку додають 1мл соку картоплі (капусти), а в другу – стільки ж дистильованої води. Пробірки одночасно нагрівають. У пробірці із соком картоплі рідина знебарвлюється. **Зробити висновок. Пояснити отриманий результат.** Якщо потім пробірки збовтати при доступі повітря, то знов появиться синій колір.

Дослід №3. Кількісний вміст аскорбінової кислоти у фруктових соках.

Принцип методу. Визначити аскорбінову кислоту за допомогою лугу неможливо, тому що в різних подових соках окрім аскорбінової кислоти, є ще багато інших кислот: лимонна, яблучна, винна та інші. І вирізнити одну кислоту від іншої за допомогою лугу неможливо. Але в аскорбінової кислоти є властивість, якої нема в інших кислот, – це швидка реакція з йодом:



1 моль аскорбінової кислоти (176 г) реагує з 1 моль I₂ (254 г). під час реакції аскорбінова кислота перетворюється дегідроаскорбінову кислоту. Якщо будь – який відновник (в нашому випадку аскорбінову кислоту) титрувати йодом в присутності крохмалю, то після закінчення титрування надлишкова крапля йоду викличе синій колір, який не зникатиме.

Реактиви: 5% спиртовий розчин йоду; Крохмаль; Дистильована вода

Хід роботи. 5мл 5% -го спиртового розчину аптечної настоянки йоду влийте в мірну колбу на 100мл та розведіть дистильованою водою до мітки. Визначте нормальність отриманого розчину. Далі приготуйте розчин крохмалю. Для цього розведіть 1г його в невеликій кількості холодної води і вилийте в 200мл киплячої води і прокип'ятіть ще одну хвилину.

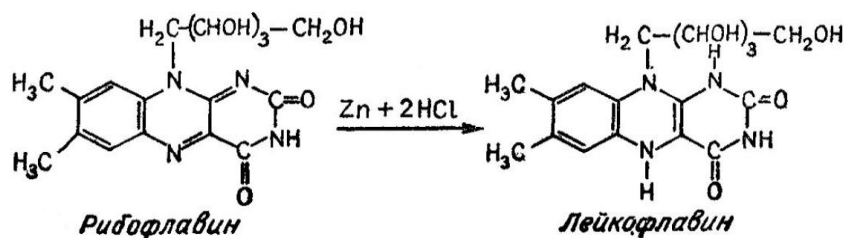
Приготуйте контрольний розчин аскорбінової кислоти. Для цього 0,5г кислоти розчиніть в 500мл води. Необхідно відібрати 5мл розчину кислоти, додати 2-3мл розчину крохмалю і титрувати розчином йоду до появи синього забарвлення. Визначте концентрацію аскорбінової кислоти в утвореному розчині. Далі приготуйте соки з яблука, апельсина, лимона та ківі. Відберіть по 5мл соку і титруйте розчином йоду в присутності розчину крохмалю до появи синього забарвлення. Розрахуйте вміст аскорбінової кислоти в соках.

Дослід №4. Виявлення вітаміну В₂ в фруктових чи овочевих соках.

Принцип методу якісної реакції на вітамін В₂ зумовлений його здатністю перебувати в окисненій або відновленій формі. При переході з відновленої форми рибофлавіну в окиснену спостерігається зміна забарвлення розчину від жовтого (рибофлавін) до червоного (родофлавін) і в подальшому – безбарвного (лейкофлавін).

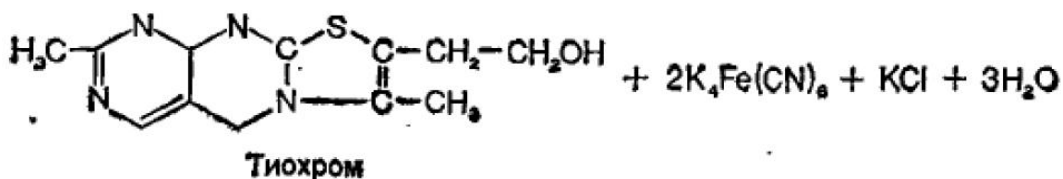
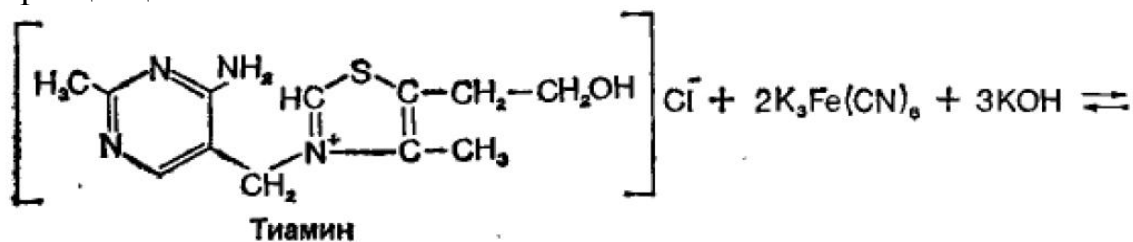
Реактиви: Хлоридна кислота концентрована; Цинк металічний

Хід роботи: У пробірку наливають 1 мл досліджуваного соку (жовтого чи жовтогарячого кольору), додають 0,5 мл концентрованої HCl, а також невеликий шматочок металічного цинку. Спостерігають зміну забарвлення розчину. Контрольний дослід проводять з розчином вітаміну В₂.



Дослід №5. Якісна реакція на вітамін В₁ (тіамін)

Принцип методу. Вітамін В₁ у лужному середовищі під дією гексаціаноферату(III) калію окислюється в тіохром - пігмент жовтого кольору, який у ізобутиловому спирті зумовлює інтенсивно синю флуоресценцію.



Реактиви: Розчин тіаміну (5 мкг у 1 мл – одна ампула), 1 %-й розчин $K_3[Fe(CN)_6]$, 30 %-й розчин NaOH, ізобутиловий спирт.

Обладнання: Джерело ультрафіолетового випромінювання (флуороскоп), штатив із пробірками, піпетки.

Хід роботи.

До 1 мл розчину вітаміну В₁, додають 2 мл суміші (1 мл розчину $K_3[Fe(CN)_6]$, і 1 мл розчину NaOH), інтенсивно перемішують і залишають на 3 хв. Потім додають 5 мл ізобутилового спирту та інтенсивно струшують протягом 2 хв.

Очікуваний результат. Інтенсивна синя флуоресценція отриманого розчину, видима під флуороскопом (в ультрафіолетовому промінні).

Дослід №6 Визначення наявності тіаміну в молоці

Реактиви: 1%-й розчин сульфанілової кислоти, 5%-й розчин нітрату натрію, 10%-й розчин гідрокарбонату натрію, 5%-й розчин гексаціаноферату (III) калію, 30% -й розчин луку, ізобутиловий спирт.

Хід роботи. До діазореактиву, який складається із 5 крапель розчину сульфанілової кислоти і 5 крапель розчину нітрату натрію додають, добавляють 1мл молока і 7 крапель розчину гідрокарбонату натрію. Спостерігайте зміну кольору розчину (на межі двох розчинів появляється кільце оранжевого кольору). Зробіть висновок про присутність тіаміну в молоці.

Дослід №7. Якісна реакція на вітамін В₆.

Принцип методу. Вітамін В₆ при взаємодії з розчином хлориду феруму (III) утворює комплексну сіль феноляту заліза червоного кольору.

Реактиви: 1% р-н $FeCl_3$; Вітамін В₆

Хід роботи. На скло нанесіть скляною паличкою 1 краплю вітаміну В₆ та 1 краплю 1%-го розчину $FeCl_3$ і перемішують. Появляється червоне забарвлення.

Аналогічно проробіть дослід із соком лимону, апельсину та білокачанної капусти. Чи появиться червоне забарвлення в цих соках і про що це свідчить.

Дослід №8. Кількісне визначення вітаміну Р (рутину) у чаї за методом Левенталя

Принцип методу. Метод ґрунтується на здатності рутину окиснюватися перманганатом калію. Індикатором є індигокармін, який вступає в реакцію з KMnO_4 після того, як окисниться весь рутин. Встановлено, що 1 мл 0,02 моль/л розчину перманганату калію окиснює 6,4 мкг рутину.

Реактиви: Чай або готовий екстракт, 0,01 моль/л – розчин перманганату калію, розчин індигокарміну.

Хід роботи.

Чай (100 мг) заливають 50 мл гарячої дистильованої води й кип'ятять протягом 5 хв. Одержаний екстракт охолоджують, відбирають 10 мл і переносять у колбу або склянку, куди наливають ще 10 мл дистильованої води та п'ять крапель індигокарміну (з'являється синє забарвлення). Рідину у колбі титрують розчином KMnO_4 , інтенсивно помішуючи, до появи стійкого жовтого забарвлення.

Обробка результатів.

Різниця кількості розчину KMnO_4 , витраченого на титрування дослідної проби – це об'єм 0,01 моль/л розчину KMnO_4 , який потрібен для окиснення рутину. Для підрахунку вмісту вітаміну Р, мкг, використовують формулу (3.1):

$$x = \frac{AV_1k}{V_2P}, \quad (3.1)$$

де k – стандартний коефіцієнт титрування,

A – кількість 0,01 моль/л розчину KMnO_4 , використана для титрування, мл, V_1 – об'єм, у якому розчинена проба для аналізу, мл, V_2 – об'єм розчину, взятого для титрування, мл, P – кількість сухої речовини, г, взятої для аналізу

Контрольні запитання

1. Дайте визначення поняттю «вітаміни»
2. Дайте визначення поняттю «водорозчинні вітаміни».
3. Назвіть три групи кількісного визначення вітамінів.
4. Вкажіть основні етапи визначення аскорбінової кислоти.
5. На якій властивості вітамінів засновані фізико-хімічні методи їх аналізу?

ЛІТЕРАТУРА

1. Сімахіна Г.О., Стеценко Н.О., Науменко Н.В. Біологічно активні речовини в харчових технологіях: підруч. Київ: НУХТ, 2016. 455 с.
2. Тележенко, Л.М. Біологічно активні речовини фруктів та овочів та їх збереження при переробці [Текст]/Л.М. Тележенко, О.Т. Безусів. – Одеса: Optimum, 2004. – 268 с.
3. Павлоцька Л.Ф., Дуденко Н.В., Цихановська І.В., Александров О.В., Лазарева Т.А., Коваленко В.О., Скуріхіна Л.А., Євлаш В.В. Нутриціологія: навчальний посібник. – Харків: Світ Книг. – 2013.– 560 с.
4. Павлоцька Л.Ф., Дуденко Н.В., Цихановська І.В., Александров О.В., Скуріхіна Л.А., Євлаш В.В., Аксьонова О.Ф. Нутриціологія: підручник. – Харків: Світ Книг. – 2020.– 527 с.; іл.
5. Сімахіна Г. О., Українець А. І. Інноваційні технології та продукти. Оздоровче харчування. Київ: НУХТ, 2010. 296 с.
6. Капрельянц, Л. В. Лікувально-профілактичні властивості харчових продуктів та основи дієтології [Текст] : підручник / Капрельянц Л. В., Петросьянц А. П. – Одеса : Друк, 2011. – 269 с.
7. Мікроелементи та здоров'я. / Методичний посібник для роботи в лабораторії / [укл. О. О. Коновалова, Г. П. Андрейко]. – Х. – ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2012. – 40 с.
8. Конспект лекцій з курсу «Біологічно активні сполуки» [Електронний ресурс]: для студентів спец. 181 «Харчові технології» (освітня програма «Технологічна експертиза та безпека харчової продукції») ден. та заоч. форми навчання / Уклад. Л. С. Гураль. – Одеса: ОНАХТ, 2020. – Електрон. текст. дані: 176 с.
9. Капрельянц Л.В. Функціональні продукти / Л.В. Капрельянц, К.Г. Іоргачова. – Одеса: Друк, 2013. – 312 с.
10. Воробець М.М., Кобаса І.М., Сачко А.В. Методи контролю якості харчових продуктів. Ч. 1. : метод. рекомендації до лаб. робіт. – Чернівці: Чернівецький нац. ун-т, 2019.– 32 с.
11. Домарецький О.І., Златев А.Я. Екологія харчових продуктів. – К.: “Здоров'я”, 2016. – 180 с.
12. Скоробагатий Я.П. Фізико-хімічні методи аналізу. – Львів: Каменяр, 2013. – 164 с.

Електронне навчальне видання комбінованого використання
Можна використовувати в локальному та мережному режимі

Цихановська Ірина Василівна
Александров Олександр Валентинович

БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ СПОЛУКИ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Методичні вказівки
до лабораторних робіт для здобувачів вищої освіти другого (магістерського)
рівня денної форми здобуття освіти за спеціальністю 015 «Професійна освіта
(Аграрне виробництво, переробка сільськогосподарської продукції
та харчові технології)»

В авторській редакції

Підписано до розміщення 28.03.2025. Гарнітура Times New Roman.
Ум. друк. арк. 1,0. Обсяг 2,087 Мб. Зам. № 151/25.

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,
61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3367 від 13.01.2009
Видавництво ХНУ імені В. Н. Каразіна