

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени Р.Е. Алексеева»

Кафедра «Биотехнология, физическая и аналитическая химия»

ПИЩЕВАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

Методические указания к лабораторным занятиям
по дисциплине «Пищевая биотехнология»
для студентов, обучающихся по направлению
«Биотехнология» дневной формы обучения

Часть 2

Нижний Новгород 2013

Составители: О.В. Кузина, Е.В. Скоробогатова

УДК 576(076.5)

Теоретические основы биотехнологии: Методические указания к лабораторным занятиям по дисциплине «Пищевая биотехнология» для студентов, обучающихся по направлению «Биотехнология» дневной формы обучения. Ч. 2 / НГТУ; сост.: О.В. Кузина, Е.В. Скоробогатова – Н. Новгород, 2013.– 34 с.

Лабораторный практикум включает выполнение студентами биотехнологических процессов, расчет их материального баланса и контроль качества сырья и готовых продуктов с использованием органолептических, бактериоскопических, химических и биохимических методов анализа.

Редактор Э.Б. Абросимова

Подписано в печ. Формат 60x84 1/16. Бумага газетная.
Печать офсетная. Печ. л. 2 . Уч.-изд. л. 1,5. Тираж 300 экз. Заказ .

Нижегородский государственный технический университет. Типография НГТУ. 603600, Н. Новгород, ул. Минина, 24.

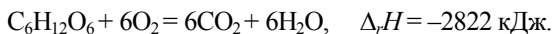
© Нижегородский государственный
технический университет, 2013

ПРЕВРАЩЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ СОЕДИНЕНИЙ УГЛЕРОДА. СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ И ЕГО ВОЗБУДИТЕЛИ

Органические вещества, попадающие ежегодно в почву в виде остатков растений, трупов животных, отмерших микроорганизмов, проходят сложный путь биохимических превращений, подвергаясь в конечном итоге минерализации. Процесс минерализации органических веществ происходит под влиянием различных групп микроорганизмов, в зависимости от состава органического вещества. Выделяющийся при этом углекислый газ частично используется почвенными автотрофными и хемосинтезирующими микроорганизмами, а большая его часть поступает в атмосферу.

Из соединений углерода наиболее легко и быстро подвергаются минерализации углеводы — сахара и крахмал, значительно труднее — пектин, клетчатка, лигнин и жиры.

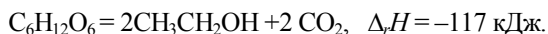
Скорость распада органических веществ зависит от условий аэрации. В аэробных условиях органические углеродосодержащие соединения окисляются полностью с образованием конечных продуктов — углекислого газа и воды:



В анаэробных условиях, при недостатке кислорода, разложение углеводов происходит по типу брожения. В этом случае образуются различные промежуточные продукты — спирты (этиловый, бутиловый и др.), органические кислоты (молочная, масляная, уксусная, янтарная, пропионовая и др.) и газообразные вещества — водород, углекислый газ и др. Количество тепловой энергии, выделяемой в этом процессе, значительно меньше, чем при аэробном окислении.

Брожения, осуществляемые микроорганизмами, имеют большое значение не только в природе, но и в практической деятельности человека. Они составляют основу пивоварения, виноделия, квашения овощей, силосования, переработки молока в кисломолочные продукты, мочки волокнистых растений. При производстве хлеба дрожжи исполняют роль биологических разрыхлителей теста. Выделяющийся при брожении CO_2 увеличивает объем теста, при этом оно становится пористым.

При спиртовом брожении микроорганизмы превращают углеводы (моно- и дисахариды) в этиловый спирт и CO_2 :



К возбудителям спиртового брожения относятся дрожжи, преимущественно рода *Saccharomyces*, некоторые виды бактерий (*Sarcina ventriculi*) и отдельные представители плесневых грибов (*Mucor*, *Fusarium*). Практическое значение имеют только дрожжи. Представителями культурных дрожжей являются *Saccharomyces ellipsoides* и *Saccharomyces cerevisia*. В природе дрожжи встречаются на поверхности растений, плодов, ягод, зерна, в почве, воздухе. Это одноклеточные неподвижные организмы диаметром 8—10 мкм. Форма клетки их — округлая или удлинённая. Содержат хорошо заметное под микроскопом ядро. В клетках дрожжей встречаются различные включения: капли жира и волютина, сильно преломляющие свет, гликоген, зерна белковых веществ.

Дрожжи размножаются обычно бесполом путем — почкованием, реже делением, но могут размножаться и спорами. Споры образуются у них без предварительного слияния половых клеток или после полового процесса.

Дрожжи являются факультативными анаэробами. При обильном доступе воздуха они осуществляют окисление углеводов, то есть от брожения пере-

ключаются на процесс дыхания. В этом случае увеличивается коэффициент использования углеводов, а клетки усиленно размножаются. Поэтому для получения большой массы дрожжей питательную среду, в которой они развиваются, аэрируют. Наоборот, при производстве спирта процесс ведется в анаэробных условиях.

Лучше всего дрожжи развиваются в кислой или слабокислой среде (рН 4—6) и являются устойчивыми к высоким концентрациям сахара (до 70%) и спирта (до 14%).

Дрожжи подвергают процессу брожения моно- и дисахариды. Каждый вид способен ассимилировать определенный набор дисахаридов. Сначала под влиянием ферментов дрожжевой клетки сложные сахара распадаются на моносахариды. Пентозы используются ограниченным числом видов дрожжей. Полисахариды (крахмал) и декстрины перед брожением необходимо осахаривать с помощью солода, а древесину, содержащую клетчатку, предварительно гидролизовать химическим способом.

В качестве источника азота дрожжи используют белки, пептоны, аминокислоты, а также аммонийные соли.

Развиваются дрожжи в относительно широком температурном диапазоне от 3—5° до 38—40 °С.

Цель работы: *провести процесс брожения сахарозы под действием дрожжей, определить количества продуктов процесса – этилового спирта и углекислого газа весовым методом, установить интенсивность брожения, исследовать под микроскопом клетки дрожжей, провести качественные реакции на спирт и определить его количество оксидиметрическим методом.*

Постановка опыта спиртового брожения

Для изучения спиртового брожения пользуются синтетической средой следующего состава: сахараза — 150 г, пептон — 5 г, K_2HPO_4 — 3 г, вода дистиллированная — 1000 мл.

В колбу объемом 250—300 мл наливают 100 мл среды и вносят туда кусочки прессованных дрожжей (около 0,5 г). После этого колбу закрывают каучуковой пробкой, в которую вставлен затвор Мейссля (рис. 1).

В опыте создаются благоприятные и селективные условия для дрожжей, препятствующие развитию других микроорганизмов: 1) высокая концентрация сахара, 2) слегка кислая среда за счет K_2HPO_4 (рН 5), 3) анаэробные условия, 4) накопление при брожении спирта.

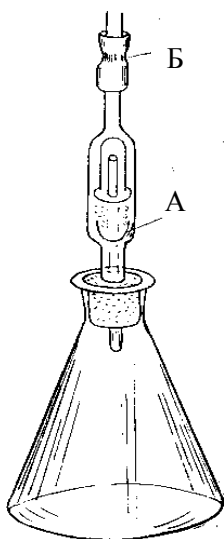


Рис. 1. Прибор для спиртового брожения с затвором Мейссля (А) и клапаном Бунзена (Б)

Затвор легко пропускает выделяющийся при брожении CO_2 , но задерживает водяные пары. Это достигается тем, что газообразные продукты проходят в этом затворе через слой концентрированной серной кислоты. На затвор надевается резиновая трубка со стеклянной палочкой на конце и продольным разрезом в боковой стенке (клапан Бунзена). Этот клапан также пропускает выделяющийся углекислый газ из колбы, но предотвращает контакт серной кислоты с наружным влажным воздухом. Колбу взвешивают на технических весах и ставят в термостат при $26 \pm 2^\circ\text{C}$ на 6—7 дней.

Обнаружение продуктов брожения и определение их количеств

а) определение количества CO_2

Углекислый газ, образующийся при брожении, определяют по разности веса колбы при постановке опыта и после его окончания. Конец брожения устанавливают по прекращению газообразования.



$$180 = 92 + 88$$

Из этого уравнения видно, что на долю углекислоты приходится почти 50% сброженного сахара. В опыте среда содержит 15 г сахара. Из этого количества может выделиться около 7—7,5 г CO_2 .

б) расчет количеств образовавшегося спирта и сахара, подвергнутого брожению

Из уравнения спиртового брожения следует, что из одного моля глюкозы (180 г) образуется 2 моля этилового спирта (92 г) и 2 моля углекислого газа (88 г). На основании этих соотношений и известного количества выделившейся углекислоты можно вычислить массу образовавшегося спирта и массу сахарозы, подвергнутой брожению.

Например, если CO_2 образовалось 6 г, тогда из пропорции (1) следует, что масса спирта равна 6,3 г, а из пропорции (2) – масса сахарозы, равная 2,3 г.

(1)

$$92 \text{ г } (C_2H_5OH) \text{ — } 88 \text{ г } (CO_2)$$

$$\underline{X(C_2H_5OH) \text{ — } 6 \text{ г } (CO_2)}$$

$$X = \frac{92 \times 6}{88} = 6,3 \text{ г}$$

(2)

$$180 \text{ г } (C_6H_{12}O_6) \text{ — } 88 \text{ г } (CO_2)$$

$$\underline{Y(C_6H_{12}O_6) \text{ — } 6 \text{ г } (CO_2)}$$

$$Y = \frac{180 \times 6}{88} = 12,3 \text{ г}$$

в) определение интенсивности брожения

Под интенсивностью брожения понимают количество переработанного сахара в процентах от исходного за определенный промежуток времени. Если 100 мл среды содержало 15 г сахара, то 12,3 г переработанного сахара в результате брожения составят 82 %, то есть интенсивность брожения равна 82%.

г) проведение качественных реакций для обнаружения этилового спирта

Образующийся при брожении этиловый спирт обнаруживают с помощью перегонки его из культуральной жидкости. После взвешивания колбы с бродильной массой и определения CO_2 культуральную жидкость переносят в плоскодонную круглую колбу емкостью 700—800 мл, которую ставят в электрическую водяную баню. Чтобы жидкость не вспенивалась при нагревании, к ней прибавляют немного танина (можно и без добавления). Колбу соединяют с холодильником Либиха и начинают нагревание и перегонку части жидкости. Интересно получить несколько последовательных фракций, поэтому используют 3—4 приемные колбы, в каждую из которых набирают примерно по 10—15 мл перегнанного раствора спирта и воды.

Пробы из разных партий наносят на фарфоровую пластину и зажигают. Порции из первых фракций горят интенсивнее, так как они содержат больше спирта, чем последующие. Поэтому первые две—три фракции используют также для проведения другой качественной реакции на этиловый спирт – иодоформной пробы.

Для выполнения этой реакции к 3—5 мл раствора прибавляют около 0,1 г металлического иода и смесь перемешивают до полного его растворения. Затем прибавляют 0,5 г NaOH и эту смесь нагревают на водяной бане при 60—70°C до полного обесцвечивания раствора. При охлаждении выпадает желтый кристаллический осадок иодоформа (CH_3I) с характерным запахом:



Осадок отфильтровывают через небольшой фильтр и кристаллы наблюдают под микроскопом. Кристаллы имеют форму звездочек и снежинок.

д) микроскопическое наблюдение дрожжей

Каплю бродящей жидкости наносят стеклянной палочкой на предметное стекло, закрывают покровным стеклом и микроскопируют с воздушной или иммерсионной системой объектива. При микроскопировании препарата в раздавленной капле конденсор следует немного опустить. В препарате нужно поискать клетки в стадии почкования и зарисовать их (рис. 2).

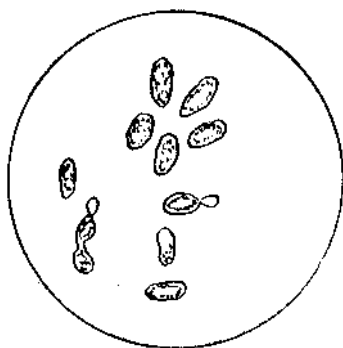
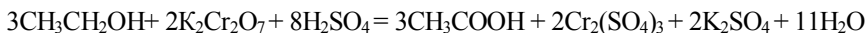


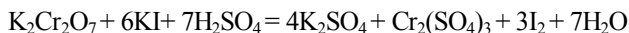
Рис. 2. Дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) в стадии почкования

Количественное определение спирта оксидиметрическим методом

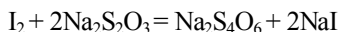
Основа метода аналогична количественному определению спирта в кефире и кумысе (работа № 3, Ч.1) – окисление этилового спирта избытком бихромата калия в кислой среде:



Однако, в отличие от предыдущей методики, в данном случае избыток бихромата калия определяют иодометрическим методом – на основе реакции $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ с избытком иодида калия в кислой среде:



Выделяемое эквивалентное количество иода далее титруют раствором тиосульфата натрия точно известной концентрации:



Ход определения

Определение спирта проводят в культуральной жидкости, освобожденной от клеток фильтрацией. Фильтрат культуральной жидкости, полученной в аэробных условиях роста микроорганизмов, используют непосредственно для анализа, а в варианте работы в анаэробных условиях фильтрат разбавляют дистиллированной водой в мерной колбе в 5 раз.

Затем готовят окислительную смесь, для чего в коническую колбу вместимостью 200 мл наливают 25 мл 1,0 н. раствора бихромата калия и осторожно при непрерывном взбалтывании по стенке приливают 10 мл концентрированной серной кислоты. Готовят три порции смеси – одну для контрольного опыта с известным содержанием спирта, а две другие для окисления двух параллельных проб продукта. Реакция идет с выделением теплоты, поэтому только после остывания смеси в одну из колб добавляют по каплям 10 мл 1% раствора спирта (контрольная проба), а в две другие – по 10 мл фильтрата культуральной жидкости.

Колбы накрывают стеклом и нагревают 10 мин, не допуская кипения. Окраска растворов за это время меняется от оранжевой до грязно-бурой. Потом содержимое колб количественно переносят в мерные колбы на 100 мл (несколько раз споласкивая конические колбы дистиллированной водой и не допуская потерь). Растворы в мерных колбах доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Затем из них отбирают пробы по 20 мл, которые помещают в конические колбы на 200 мл. К каждой из проб добавляют по 15 мл раствора 10 % иодида калия. Колбы закрывают пробками и ставят в

темное место. Через 10 мин каждый раствор титруют 0,1 н. раствором тиосульфата натрия. При титровании бурый раствор постепенно светлеет, принимая желто-зеленую окраску. После этого в него добавляют 1 мл 1% раствора крахмала и продолжают титровать до тех пор, когда темно-синий раствор станет прозрачным и приобретет зеленый оттенок.

Формулу для расчета содержания этанола в культуральной жидкости можно получить исходя из следующих соображений.

Напоминаем, что 1 г-экв. этанола в реакции с бихроматом калия равен его $1/4$ г-моля или 11,5 г (см. работу №3 Ч.1). Поэтому 1 мл 1н. $K_2Cr_2O_7$ окисляет 11,5 мг этанола, а использованные в опыте 25 мл такого раствора $K_2Cr_2O_7$, могли бы окислить 287,5 мг спирта. Бихромат калия заведомо взят в избытке по отношению к этанолу. Это избыточное количество эквивалентно иоду, получаемому в реакции с иодидом калия и равно

$$(0,1 \cdot V \cdot 5) \text{ мг-экв,}$$

где V – объем 0,1 н. тиосульфата натрия, израсходованного на титрование пробы, 5 – коэффициент, учитывающий, что проба для анализа после реакции окисления этанола составляла $1/5$ часть от общей массы реакционной смеси (из общего объема 100 мл на титрование взято 20 мл).

С другой стороны, это количество также эквивалентно этанолу, которого не достает в анализируемом растворе. С учетом того, что 1 мл 0,1 н. тиосульфата соответствует 1,15 мг этанола, недостающая масса спирта будет равна $(1,15 \cdot V \cdot 5)$ мг.

Таким образом, массу спирта (m) в 10 мл разбавленной культуральной жидкости можно рассчитать по формуле

$$m = (287,5 - 1,15 \cdot V \cdot 5) \text{ (мг).}$$

Концентрация спирта (q , г/л) в культуральной жидкости, полученной непосредственно после брожения в анаэробных условиях роста микроорганизмов с учетом разведения (разбавлена перед анализом в 5 раз), равна

$$q = (287,5 - 1,15 \cdot V \cdot 5) \cdot 5 \cdot 100 / 1000 \text{ (г/л)}.$$

Из двух параллельных опытов определите среднее значение концентрации спирта в культуральной жидкости ($q_{\text{ср}}$), среднее отклонение от него, $\Delta q_{\text{ср}} = [|q_{\text{ср}1} - q_1| + |q_{\text{ср}2} - q_2|] / 2$, и ошибку определения среднего значения, %.

Точность методики оцените также по результату контрольного опыта, сравнив его с известным значением концентрации исходного раствора спирта (1%). При этом учтите, что перед анализом раствор не разбавляли, поэтому расчет концентрации надо вести по формуле

$$q = (287,5 - 1,15 \cdot V \cdot 5) / 10 \text{ (г/л)}.$$

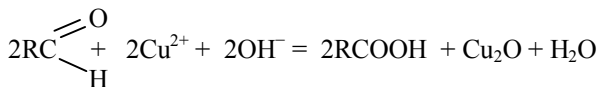
Оборудование и реактивы

Электроплитка, технические весы, колбы плоскодонные объемом 100-300 мл с затвором Мейссля и клапаном Бунзена, мерные колбы объемом 25, 100 мл, конические колбы на 300 мл, пипетки, воронки, бумажные фильтры, пробирки, бюретки, круглодонная перегонная колба объемом 500 мл, холодильник Либиха, приемная колба на 100 мл, питательная среда с сахарозой, дрожжи, кристаллический иод, 10% раствор иодистого калия, 1% раствор крахмала, NaOH, 1,0 н. раствор бихромата калия, 0,1 н. раствор тиосульфата натрия, концентрированная серная кислота (плотность 1,84).

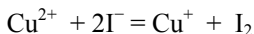
Лабораторная работа №2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КРАХМАЛА В КОЛБАСЕ

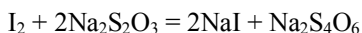
Метод основан на окислении альдегидных групп моносахаридов, образующихся при гидролизе крахмала в кислой среде. В качестве окислительного агента используют ион двухвалентной меди в жидкости Фелинга (подробно о составе жидкости Фелинга см. работу №1. Ч.1).



Реакцию окисления моносахаридов крахмала проводят при избытке ионов двухвалентной меди жидкости Фелинга, с которым затем проводят окислительно-восстановительную реакцию с иодидом калия в кислой среде:



Выделившийся иод титруют 0,1 н. раствором тиосульфата натрия:



Ход определения

Навеску 20 г колбасного фарша с точностью до 0,01г помещают в коническую колбу на 250 мл и туда же приливают небольшими порциями 80 мл концентрированной соляной кислоты (для гидролиза крахмала) при постоянном помешивании. Колбу с содержимым присоединяют к воздушному холодильнику, ставят на горелку, подложив асбестовую сетку, и кипятят в течение 15 мин, периодически помешивая содержимое колбы.

Затем содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры холодной водой и количественно переносят в мерную колбу на 250 мл, доводя объем до метки дистиллированной водой (попавший в колбу жир должен находиться над меткой).

После перемешивания содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр. 25 мл фильтрата вносят пипеткой в мерную колбу на 50 мл, добавляют 1 – 2 капли 1% раствора фенолфталеина и нейтрализуют 20% раствором едкого натрия (из бюретки) до появления от одной капли красноватой окраски. Тотчас же добавляют в колбу по каплям 10% раствор соляной кислоты до исчезновения окраски и еще 2 – 3 капли для установления слабокислой реакции.

Для осаждения белков к полученному раствору пипеткой добавляют 1,5 мл 15% раствора желтой кровяной соли $K_4[Fe(CN)_6]$ и 1,5 мл 30% раствора сульфата цинка. Содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры, доводят объем до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр.

В мерную колбу на 100 мл вносят пипеткой 10 мл прозрачного фильтрата и 20 мл жидкости Фелинга. Содержимое перемешивают легким взбалтыванием, ставят колбу на плитку и кипятят ровно 15 мин (считая от момента закипания). После кипячения колбу охлаждают в холодной воде, доводят объем жидкости до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают и оставляют на 15 мин для оседания выпавшей закиси меди.

В коническую колбу вместимостью 100–150 мл вносят пипеткой 20 мл отстоявшейся жидкости, добавляют 10 мл 30% раствора иодида калия, а затем 10 мл 25% раствора серной кислоты. Коричневый от выделившегося иода раствор быстро титруют 0,1 н. раствором $Na_2S_2O_3$ до слабо желтой окраски. После этого к смеси добавляют 1 мл 1% раствора крахмала и продолжают титрование медленно до полного исчезновения синей окраски раствора.

Для контрольного титрования в мерную колбу на 100 мл вносят 10 мл дистиллированной воды и 20 мл жидкости Фелинга. Затем повторяют все операции, как для опытной пробы.

По полученным данным рассчитывают количество миллилитров раствора тиосульфата натрия (M), пошедшее на титрование иода, выделенного из реакции KI с избытком ионов двухвалентной меди:

$$M = \frac{K(V - V_1)100}{20},$$

где K – поправочный коэффициент $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; V – количество 0,1 н. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, израсходованного на титрование контрольного раствора, мл; V_1 – количество 0,1 н. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, израсходованного на титрование исследуемого раствора, мл; 100 – разбавление гидролизата после кипячения, мл; 20 – количество раствора, взятого для титрования, мл.

Исходя из величины M , по табл. 1 находят содержание крахмала (a , г), соответствующее количеству мл 0,1 н. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Таблица 1

M Количество тиосульфата, мл	a Содержание крахмала, мг	M Количество тиосульфата, мл	a Содержание крахмала, мг
1	2,8	11	32,3
2	5,6	12	35,4
3	8,4	13	38,6
4	11,3	14	41,8
5	14,2	15	45,0
6	17,1	16	48,3
7	20,1	17	51,6
8	23,1	18	54,9
9	26,1	19	58,2
10	29,2	20	61,6

Количество крахмала в колбасе, X %, рассчитывают по формуле

$$X = \frac{a(250 - 2)50 \cdot 100}{g \cdot 25 \cdot 10} = a \cdot 248,$$

где g – навеска продукта, г; $(250 - 2)$ – объем гидролизата с поправкой на объем осадка, мл;

Определить количества крахмала в различных колбасах.

Оборудование и реактивы

Электроплитка, технические весы, скальпель, часовые стекла, мерные колбы объемом 50, 100, 250 мл, конические колбы на 300 мл, воздушный холодильник, пипетки, воронки, бумажные фильтры, пробирки,

бюретки, концентрированная соляная кислота, 10% раствор соляной кислоты, 30% раствор иодистого калия, 1% раствор крахмала, 0,1 н. раствор тиосульфата, 25% раствор серной кислоты, 30% раствор сульфата цинка, 15% раствор желтой кровяной соли, жидкость Фелинга, 1% раствор фенолфталина, 20% раствор гидроксида натрия.

Лабораторная работа № 3

ПОСОЛ МЯСА

Посол как способ консервирования мяса и мясопродуктов широко распространен в мясной промышленности. После посола продукт направляют либо на реализацию, либо на дальнейшую обработку – варку, запекание, копчение, сушку.

Ассортимент и название продукции подразделяют в зависимости от вида скота, способов посола, характера термической обработки и наименования части туш (окорок, корейка, грудинка, филей, шейка и т.д.). Беконную свинину, посоленную в виде полутуш, называют беконом. Беконом называют и бескостную грудинку. Соленые изделия вырабатывают с костью (окорока, корейка) и без нее (рулеты, ветчина в форме).

В зависимости от дальнейшего назначения продукции и условий производства применяют различные варианты технологической обработки сырья, поэтому готовую продукцию разделяют на следующие группы:

- сырокопченые изделия, предназначенные для длительного хранения;
- варено-соленые изделия, предназначенные для быстрой реализации (не более 2 – 3 суток хранения);
- варено-копченые изделия (срок хранения до 3 месяцев);

- сухие копчености с содержанием влаги не более 45 % (продолжительность хранения до 1 года).

Классическими методами являются сухой посол – нанесение посолочной смеси на поверхность мяса; мокрый – погружение мяса в раствор посолочных веществ (рассол) и смешанный – сочетание сухого и мокрого посола.

При любом методе посола массообмен между посолочными веществами и водорастворимыми составными частями продукта происходит в системе рассол-мясо (ткань). При сухом методе вначале, вследствие гигроскопичности соли, за счет влаги сырья образуется рассол.

Посол является сложной совокупностью различных по своей природе процессов: массообмена, изменения белковых и других веществ мяса, изменения влажности, влагосвязывающей способности мяса, изменения массы, изменения микроструктуры продукта, вкусо- и ароматообразования, стабилизации окраски продукта.

Движущей силой процесса посола является разность концентрации соли в системе рассол-продукт. Но скорость посола зависит от ряда технологических факторов. Эти факторы можно рассматривать как внешние относительно обрабатываемой ткани (концентрация рассола, скорость его циркуляции, температура рассола) или внутренние, присущие мясной ткани (химический состав, морфология ткани, температура продукта, предварительная обработка ткани). Кроме того, имеет значение форма, толщина, масса мясopодуKтов. Одним из путей интенсификации посола может быть использование электростимуляции мышечной ткани, механических методов обработки (тумблирование, массажирование); физических методов (вакуумирование); комбинированных методов (вибромассирование, циклическое массажирование), которое находят все большее распространение в мяс-

ной промышленности. Электростимуляция парных полутуш позволяет сократить продолжительность созревания говядины с 14 – 21 до 5 – 7 суток. Повышение нежности под действием электростимуляции происходит за счет физической деструкции мышечных волокон, которая способствует интенсификации процесса посола мяса. Тумблирование и массажирование мясного сырья позволяют увеличить скорость равномерного распределения посолочных веществ в мясе и сократить длительность процесса посола, улучшить качество продуктов, увеличить их выход. Такая обработка позволяет снизить бактериальную обсемененность продуктов и увеличить срок их хранения, улучшить санитарно-гигиенические условия производства.

Консервирующее действие поваренной соли основано на ее способности задерживать развитие гнилостных бактерий. При концентрации соли в рассоле 10 – 15 % задерживается развитие большинства гнилостных микробов, при концентрации соли в растворе 20 – 25 % уничтожаются (при продолжительном посоле) и болезнетворные бактерии. Но поваренная соль не обладает полным бактерицидным действием. Обычно консервирующее действие соли объясняется явлением плазмолиза, т.е. обезвоживанием клеток микроорганизмов вследствие осмоса.

Сухой посол

При сухом посоле мясопродукты натирают солью, а затем мясопродукты укладывают в тару или в штабели, пересыпая каждый ряд солью.

При сухом посоле ткани обезвоживаются. Основным недостатком сухого посола является неравномерное распределение соли в продукте, и он получается сильно соленым и жестким. Поэтому сухим способом в основном солят продукты, содержащие большое количество жировой ткани

(шпик, грудной бекон). В этом случае недостатки сухого посола менее ощутимы. Кроме того, сухой посол применяют, когда главной целью является консервирование продукта для длительного хранения (до одного года).

Мокрый посол

Посол мясопродуктов в рассоле позволяет получить готовый продукт с более равномерным распределением соли, причем можно получить с отдельным содержанием соли, применяют рассолы различной концентрации. Недостаток мокрого посола в том, что после посола мясопродукты имеют высокую влажность и не пригодны к длительному хранению без рассола.

При мокром посоле мясопродукты укладывают в тару (чаны, бочки) и заливают рассолом (плотность 1,170 – 1,205 г/см³). Для ускорения проникновения и распределения посолочных ингредиентов 5–12% рассола от массы сырья вводят в мышечную ткань и через кровеносную систему продукта шприцами. Введение рассола через кровеносную систему имеет преимущества – это гигиеничность, быстрота, сохранение целостности мышечной ткани и равномерное распределение соли.

После описанной процедуры продукт заливают рассолом. Количество заливочного рассола в зависимости от вида продукции и способа посола колеблется от 50 до 150 % от массы продукта. При мокром посоле получают привес продукта и тем больше, чем меньше концентрация рассола.

Смешанный посол

В промышленности смешанный способ посола широко распространен при производстве свинокопченностей и солонины (из говядины и баранины). Вначале часть рассола в продукты вводят шприцем и натирают их посолочной смесью, а затем выдерживают в штабелях, то есть проводят

сухой посол. Во время выдержки продукт один раз перекладывают для равномерности просаливания. После этого мясoproductы заливают рассолом. По окончании посола продукт размещают для стекания влаги. После этого продукт вымачивают для удаления части соли из внешних его слоев. Длительность вымачивания зависит от продолжительности посола. Затем мясoproductы подсушивают. При смешанном посоле качество продуктов выше по сравнению с качеством продуктов, получаемых при сухом и мокром посоле.

Цель работы: *провести посолы мяса сухим, мокрым и смешанным способами, сделать сравнительную оценку изменений массы мяса при разных способах посола, рассчитать массовый баланс сухого посола.*

Работа выполняется фронтально тремя группами студентов по 2 – 4 человека. Первая группа студентов проводит сухой посол, вторая – мокрый, третья – смешанный посол при комнатной температуре. Все группы определяют содержание сухих веществ и влаги в мясе.

Порядок выполнения работы

Студенты каждой группы проводят *жиловку мяса*, то есть тщательно отделяют от мяса включения жировой и соединительной ткани. Все группы студентов определяют содержание сухих веществ в мясе высушиванием, как описано в методике на стр. 25.

Для проведения посола студенты каждой из групп отрезают от куска мяса по три примерно равных куска, размером около 6 x 3 см и толщиной 20 мм, каждый из них взвешивают на предварительно взвешенном часовом стекле. Данные заносят в табл. 1.

Таблица 1

Данные опытов до посола мяса

№ опыта	Масса часового стекла, г	Масса стекла с мясом, г	Масса мяса, г	Содержание сухих веществ, г
1				
2				
3				
Среднее				

Далее первая группа студентов отвешивает на часовом стекле 16 г соли, обваливает в ней куски мяса, помещает их в предварительно взвешенный кристаллизатор и пересыпает оставшейся солью. Мясо выдерживают при комнатной температуре в течение часа.

Вторая и третья группы готовят рассол плотностью 1,17 – 1,20 г/см³ в количестве 250 мл. Концентрацию раствора, соответствующую этой плотности, определяют по табл. 2. Плотность полученного рассола проверяют с помощью ареометра.

Вторая группа студентов помещает предварительно взвешенные три куска мяса в кристаллизатор, заливают их 250 мл раствора и выдерживают в течение 1 часа при комнатной температуре.

Таблица 2

Концентрация и плотность растворов поваренной соли при температурах 0 и 20 °С

Концентрация, %	Плотность (г/см ³) при температуре, °С	
	0	20
20	1,142	1,133
21	1,150	1,141
22	1,158	1,149
23	1,167	1,157
24	1,175	1,163
25	1,183	1,168
26	1,192	1,173

Студенты третьей группы взвешивают на часовом стекле 15 г соли, обваливают в ней куски мяса, помещают их мясо в кристаллизатор, пересыпают оставшейся солью, заливают 250 мл рассола и выдерживают при комнатной температуре в течение 1 часа. По окончании посола дают стечь рассолу.

Студенты 1 и 3 групп, кроме того, отделяют от куска мяса стеклянной палочкой или шпателем кристаллы нерастворившейся соли, осторожно обсушивают мясо фильтровальной бумагой и взвешивают каждый кусок на том же часовом стекле, на котором взвешивали их до посола. Данные записывают в табл. 3.

Таблица 3

Изменение массы мяса при посоле

N опыта	Масса мяса до посола, г (из табл. 1)	Масса мяса после посола, г	Изменение массы мяса	
			г	%
1				
2				
3				
Среднее				

Студенты 2-й группы определяют плотность рассола после посола с помощью ареометра, а по табл. 2 – концентрацию соли в рассоле. Данные изменения концентрации записывают в табл. 4.

Таблица 4

Изменение концентрации рассола при мокром посоле

Концентрация рассола, %		Изменение концентрации, %	
до посола C_1	после посола C_2	$C_1 - C_2$	$\frac{C_1 - C_2}{C_1} 100$

Первая группа студентов определяет массовый баланс сухого посола. Для этого взвешивают кристаллизатор с образовавшимся рассолом и

оставшейся солью и рассчитывают массу рассола и соли, затем сливают рассол в предварительно взвешенный стакан и определяют массу рассола. Полученные данные записывают в табл. 5.

Таблица 5

Масса препаратов, приборов и посуды (сухой посол), г

Кристаллизатор	Мясо	Кристаллизатор с мясом и солью	Рассол и соль	Стакан	Стакан с рассолом	Рассол	Соль

В посоленном мясе все группы определяют содержание сухих веществ. Вычисляют изменение концентрации соли в мясе при посоле. Полученные данные записывают в табл. 6.

Таблица 6

Изменение концентрации соли в мясе при посоле

N опыта	Содержание сухих веществ в мясе до посола, % <i>A</i>	Содержание сухих веществ в мясе после посола, % <i>B</i>	Изменение концентрации соли в мясе, % $\frac{B - A}{A} 100$
1			
2			
Среднее			

Баланс сухого посола. Масса соленого мяса, выраженная в процентах от массы свежего мяса, называется выходом готовой продукции, а разницу в массе между свежим и соленным мясом, выраженную в процентах от массы свежего мяса, называют потерями ($P, \%$) при посоле и определяют по формуле

$$P = \frac{G_1 - G_2}{G_1} 100,$$

где G_1 – масса свежего мяса, G_2 – масса соленого мяса в г.

Массу соли в рассоле находят по формуле

$$g_3 = ag_4,$$

где g_4 – масса рассола, г, $a = 0,16$ – эмпирический коэффициент концентрации рассола при 20°C .

Количество соли, проникшее в мясо, определяют по формуле

$$g = G_c - [(g_1 - g_2) + g_3],$$

где G_c – масса соли, взятой для посола мяса, г, g_1 – масса нерастворившейся соли, г, g_2 – масса примесей в соли, г, g_3 – масса соли в рассоле, г.

Массовый баланс проверяют по формуле

$$G_1 + G_c = G_2 + g_1 + g_3 + g.$$

По окончании просаливания мяса его масса может увеличиться и достигнуть не только начальной массы, но и превысить ее. Такое изменение массы характерно для слабо – и средне пригодного мяса. Концентрация соли в тканевом соке не превышает 18 – 20 %.

Итогом этой части лабораторной работы является сопоставление и анализ опытных данных, полученных всеми группами студентов, которые вносят в обобщенную табл. 7.

Таблица 7

Влияние способа посола на изменения в мясе и рассоле

Способ посола	Изменение массы мяса (из таблицы 3), %	Изменение концентрации соли в мясе (из таблицы 6), %	Изменение концентрации рассола (из таблицы 4), % для мокрого посола
Сухой			
Мокрый			
Смешанный			

Определение содержания сухих веществ и влаги в мясе

Открытый бюкс и крышку от него сушат в сушильном шкафу при температуре $103\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 30 мин. Затем бюкс закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе до комнатной температуры и взвешивают. Навеску продукта ($\approx 1-3$ г) вносят в этот бюкс, взвешивают, помещают в сушильный шкаф и с открытой крышкой бюкса мясо сушат при температуре $103\pm 2^\circ\text{C}$ в течение одного часа. После охлаждения системы в эксикаторе ее вновь взвешивают. Операцию повторяют до получения постоянной массы. Результаты двух последовательных взвешиваний не должны отличаться более чем на 0,1 % массы навески. Взвешивание проводят на весах с погрешностью не более 0,001 г.

Содержание влаги (W_0) в процентах по формуле

$$W_0 = \frac{(m_1 - m_2)100}{m_1 - m_0},$$

где m_0 – масса бюкса, г; m_1 – масса бюкса с навеской до сушки, г; m_2 – масса бюкса с навеской после высушивания, г.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое двух параллельных определений.

Расхождение между результатами параллельных определений не должно превышать 0,5 %. Окончательный результат вычисляют с погрешностью до 0,1 %.

По результатам работы всех трех групп делают вывод о влиянии способа посола на изменение массы мяса и концентрации соли в мясе и рассоле. Анализируют массовый баланс сухого посола.

Приборы и посуда

Весы технические, шкаф сушильный, электрический с терморегулятором, ареометр, эксикатор, стекло часовое, цилиндр на 50-100 мл, стакан мерный, стеклянные бюксы, палочка стеклянная, нож, скальпель.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВЕЖЕСТИ МЯСА
ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИМИ, БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКИМ
И БИОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ АНАЛИЗА**

Органолептические анализы

Сначала определяют внешний вид, консистенцию, запах мяса и состояние жира. По результатам испытаний делают заключение о свежести мяса или субпродуктов в соответствии с характерными признаками, предусмотренными в таблице.

Таблица

Наименование показателя	Характерный признак мяса или субпродуктов		
	свежих	сомнительной свежести	не свежих
Внешний вид и цвет поверхности туши	Имеет корочку подсыхания бледно-розового или бледно-красного цвета; у размороженных туш красного цвета; жир мягкий, частично окрашен в ярко-красный цвет	Местами увлажнена, слегка липкая, потемневшая	Сильно подсохшая, покрытая слизью серовато-коричневого цвета или плесени
Мышцы на разрезе	Слегка влажные, не оставляют влажного пятна на фильтровальной бумаге; цвет, свойственный данному виду мяса: для говядины – от светло-красного до темно-красного, для свинины – от светло-розового до красного, для баранины – от красного до красно-вишневого, для ягнятины – розовый	Влажные, оставляют влажное пятно на фильтровальной бумаге, слегка липкие, темно-красного цвета. Для размороженного мяса – с поверхности разреза стекает мясной сок, слегка мутноватый	Влажные, оставляют влажное пятно на фильтровальной бумаге, липкие, красно-коричневого цвета. Для размороженного мяса – с поверхности разреза стекает мутный мясной сок

Консистенция	На разрезе мясо плотное, упругое; образующаяся при надавливании пальцем ямка быстро выравнивается	На разрезе мясо менее плотное и менее упругое; образующаяся при надавливании пальцем ямка выравнивается медленно (в течение 1 мин), жир мягкий, у размороженного мяса слегка разрыхлен	На разрезе мясо дряблое; образующаяся при надавливании пальцем ямка не выравнивается, жир мягкий, у размороженного мяса рыхлый, осадившийся
Запах	Специфический, свойственный каждому виду свежего мяса	Слегка кисловатый или с оттенком затхлости	Кислый или затхлый, или слабо гнилостный
Состояние жира	Говяжьего – имеет белый, желтоватый или желтый цвет; консистенция твердая, при раздавливании крошится; свиного – имеет белый цвет, консистенция плотная. Жир не должен иметь запаха осаливания	Имеет сероватоматовый оттенок, слегка липнет к пальцам; может иметь легкий запах осаливания	Имеет сероватоматовый оттенок, при раздавливании мажется. Свиной жир может быть покрыт небольшим количеством плесени. Запах прогорклый
Состояние сухожилий	Сухожилия упругие, плотные, поверхность суставов гладкая, блестящая. У размороженного мяса сухожилия мягкие, рыхлые, окрашены в ярко-красный цвет	Сухожилия менее плотные, матово-белого цвета. Суставные поверхности слегка покрыты слизью	Сухожилия размягчены, сероватого цвета. Суставные поверхности покрыты слизью

Осматривать мясо следует при естественном освещении и желательно при температуре воздуха 15 - 20°C. Запах мяса хорошо улавливается с помощью горячего ножа. Для этого чистый нагретый в кипящей воде нож втыкают в толщу мяса до кости, вынимают и сейчас же определяют его запах. Следует учитывать, что в испорченном замороженном мясе опреде-

лить запах не всегда представляется возможным, поэтому нужно отрезать кусок и оттаять его; процесс порчи можно обнаружить по запаху, облив его кипятком.

Бактериоскопия

Для бактериоскопического исследования из поверхностного и глубокого слоев мяса берут пробы и делают их мазки-отпечатки на предметных стеклах. Для получения пробы из поверхностного слоя стерильными ножницами вырезают кусочек мяса весом в 0,5 – 1 г и прикладывают его срезанной стороной к предварительно профламбированному предметному стеклу. Для получения препарата из глубокого слоя поверхность мяса прижигают шпателем, а затем стерильным скальпелем делают разрез и вырезают из глубины его кусочек, который прикладывают к предметному стеклу. Свежее мясо плохо прилипает к стеклу, а мясо сомнительное и тем более несвежее дает ясно видимый след, особенно хорошо заметный после окраски. Приготовленные мазки-отпечатки подсушивают сначала на воздухе, а потом осторожно над пламенем горелки и окрашивают их по Граму. Для этого на стекло с высушенным отпечатком накладывают фильтровальную бумагу, наливают на нее раствор карболового генцианвиолета и выдерживают 2 мин. Затем фильтровальную бумагу снимают, сливают краску и, не промывая препарата, наливают на него раствор Люголя. Препарат выдерживают 2 мин и обесцвечивают в течение 10 – 20 с 95 % спиртом. После этого препарат докрашивают раствором фуксина 1– 2 мин, промывают и подсушивают. При микроскопировании грамположительные микробы будут темно-фиолетово цвета, грамотрицательные – розово-красные.

В мазке из доброкачественного мяса микробы отсутствуют или обнаруживаются лишь единичные кокки и отдельные палочковидные микробы,

остатков ткани нет. В мазках-отпечатках из мяса подозрительной свежести в поле зрения микроскопа будет 20 – 30 кокков и несколько палочек, количество которых может увеличиваться в зависимости от степени гнилостного процесса в мясе. Если гниение было продолжительным, то на мазке-отпечатке будет очень много палочек и почти не видно кокков.

Биохимические анализы

Анализы водного экстракта мяса

Приготовление экстракта. 10 г мышечной ткани без жира и сухожилий разрезают ножницами на 40 – 50 кусочков и настаивают в 100 мл дистиллированной воды в течение 15 мин при трехкратном встряхивании (через каждые 5 мин). Полученный экстракт фильтруют через гладкий бумажный фильтр, после этого фильтрат готов к исследованию.

Бензидиновая проба. В числе ферментов мяса имеется пероксидаза, которая катализирует окисление бензидина перекисью водорода, в результате чего появляется голубовато-зеленая окраска.

В пробирку наливают 2 мл фильтрата, прибавляют 5 капель спиртового раствора бензидина и после встряхивания содержимого добавляют 2 капли 1 % раствора перекиси водорода.

Фильтрат свежего мяса мгновенно приобретает сине-зеленый цвет, недоброкачественного мяса – через 1 мин, сомнительного – через 2 – 3 мин и фильтрат негодного мяса не окрашивается.

Проба на продукты разложения белков. Эта проба основана на осаждении продуктов разложения белков солью тяжелого металла. В пробирку наливают 2 мл фильтрата и 5 капель 10 % раствора медного купороса. Фильтрат недоброкачественного мяса дает муть и осадок, доброкачественного – остается без изменений.

Обнаружение продуктов распада белков в мясном бульоне

Присутствие в бульоне продуктов распада белков мяса устанавливается качественной реакцией с 5 % раствором сернокислой меди. В бульоне, полученном из свежего мяса, при добавлении сульфата меди не наблюдается никаких изменений или образуется лишь слабая муть. В бульоне из несвежего мяса появляются хлопья или студенистый осадок голубоватого либо зеленоватого цвета. Появление в бульоне хлопьев обусловлено взаимодействием между ионами меди и первичными продуктами распада белков, образование окрашенного осадка – взаимодействием с продуктами более глубокого распада белков.

Ход определения

20 г мясного фарша помещают в коническую колбу на 150 – 200 мл и заливают 60 мл дистиллированной воды. Содержимое колбы тщательно перемешивают, колбу закрывают часовым стеклом и ставят в кипящую водяную баню на 10 мин. Полученный горячий бульон фильтруют через плотный слой ваты (толщиной не менее 0,5 см) в пробирку, помещенную в стакан с холодной водой. Если после фильтрации в бульоне остаются хлопья, то его дополнительно фильтруют через фильтровальную бумагу.

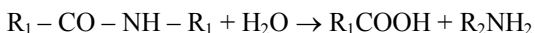
В другую пробирку наливают 2 мл бульона и добавляют к нему 3 капли 5 % раствора серноокислой меди. Пробирку встряхивают 2 – 3 раза и через 5 мин отмечают результат реакции.

Определение содержания в мясе аминокислотного азота

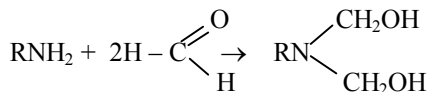
Процесс гнилостного распада белков сопровождается сначала разрушением пептидных связей белковых молекул. В результате этого увеличивается количество свободных карбоксильных групп. Одновременно происходит дезаминирование аминокислот, сопровождающееся накоплением соединений аммиака. Соответственно в мясе возрастает количество азота аминокислот и аммиака (аминокислотного азота), которое может служить одним из показателей глубины гнилостного разложения белков мяса.

Метод определения аминокислотного азота основан на связывании аминокислот и аммиака формальдегидом и последующим анализом содержания карбоксильных групп, количество которых эквивалентно азоту аминокислот и азоту аммиака. Уравнения реакций представлены ниже.

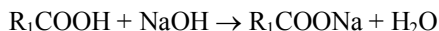
1. Гидролитический распад белков



2. Связывание аминокислот формальдегидом



3. Определение карбоксильных групп титрованием щелочью



Ход определения

К 5 г измельченного мяса, взвешенного на технических весах, добавляют 20 мл дистиллированной воды и настаивают в течение 15 мин. Затем вытяжку фильтруют через фильтровальную бумагу.

Отбирают 10 мл полученной вытяжки в коническую колбу, добавляют 50 мл дистиллированной воды и 3 капли 1 % спиртового раствора фенолфталеина. Содержимое колбы нейтрализуют 0,1 % раствором едкого натра до слабо-розового окрашивания. Затем в колбу добавляют 10 мл продажного формалина, нейтрализованного по фенолфталеину до слабо-розовой окраски. В результате освобождения карбоксильных групп смесь становится кислой и розовый цвет индикатора исчезает. После этого содержимое колбы снова титруют 0,1 % раствором едкого натрия до слабо-розовой окраски.

Так как 1 мл 0,1 % раствора едкого натрия эквивалентен 1,4 мг азота, то количество миллилитров 0,1 % раствора щелочи, пошедшей на второе титрование, умножают на 1,4 и получают количество аминоаммиачного азота в 10 мл фильтрата мясной вытяжки.

В доброкачественном мясе аминоаммиачного азота содержится 1,28 мг, в мясе сомнительной свежести – 1,27 – 1,68 мг, в несвежем мясе – 1,89 и более.

Определение концентрации водородных ионов

Мышечная ткань только что убитого животного имеет значение рН 7,1 – 7,2, затем этот показатель быстро снижается (примерно через 18 – 24 ч) и в созревшем мясе доходит до значений 5,6 – 5,8. Величина рН зависит от содержания углеводов в мышцах в момент убоя животного.

При возникновении процесса гниения рН постепенно возрастает. Таким образом, по концентрации водородных ионов в комплексе с другими показателями можно определить степень свежести мяса.

В фильтрате, полученном из свежего мяса здорового животного, рН достигает 5,8 – 6,3; сомнительной свежести – 6,4 – 6,6. В мясе, непригодном в пищу, рН будет выше 6,6.

Качественная реакция на историю получения мяса (формольная проба)

Эта проба позволяет определить, получено мясо от убоя здорового или больного животного. Навеску мяса, освобожденного от жира и соединительной ткани, массой 10 г помещают в ступку, тщательно измельчают ножницами, прибавляют 10 мл физиологического раствора и 10 капель 0,1 % раствора едкого натрия. Мясо растирают пестиком. Полученную кашу переносят шпателем в колбу и нагревают до кипения для осаждения белков. Колбу охлаждают водопроводной водой, после чего содержимое ее нейтрализуют добавлением 5 капель 5 % раствора щавелевой кислоты и через фильтровальную бумагу фильтруют в пробирку. Если вытяжка окажется мутной, то ее вторично фильтруют и центрифугируют.

2 мл полученной вытяжки наливают в пробирку и к ней добавляют 1 мл нейтрального формалина. Если фильтрат остается прозрачным или слегка мутнеет, мясо считается полученным от убоя здорового животного; если фильтрат превращается в плотный сгусток или в нем образуются хлопья, мясо получено от убоя больного животного или убитого в состоянии агонии.

Мясо считается доброкачественным, если органолептические показатели соответствуют свежему мясу; в мазках-отпечатках не обнаружено микрофлоры или имеются единичные экземпляры ее и нет остатков разложившейся ткани; при добавлении в бульон сернокислой меди он сохраняет прозрачность, содержание аминокислотного азота составляет до 1,26 мг; реакция на пероксидазу положительная.

К сомнительному по свежести относится мясо при наличии небольших органолептических изменений (суставные поверхности слегка покрыты слизью); в мазках-отпечатках находятся в поле зрения 20 – 30 микробов (среднее число), заметны следы распада тканей; при добавлении в бульон сернокислой меди образуются хлопья; содержание аминокислотного азота составляет от 1,27 до 1,68 мг, реакция на пероксидазу протекает с большой задержкой или отрицательная.

Мясо не пригодно в пищу при неудовлетворительных органолептических показателях (наличие слизи, дряблая консистенция, запах закисания или резко затхлый запах в глубоких слоях мускулатуры); в мазках-отпечатках почти все поле зрения усеяно микробами с преобладанием палочковых форм; в бульоне при добавлении сернокислой меди образуется желеобразный осадок; аминокислотного азота более 1,68 мг; реакция на пероксидазу отрицательная.

При pH 6,8 и выше отрицательной реакции на пероксидазу и положительной формальной реакции мясо считается полученным от большого животного или убитого в состоянии агонии.

Оборудование и реактивы

Куски свежего и испорченного в различной степени мяса, предметные стекла, микроскопы, набор красок по окрашиванию по Граму, прибор для определения pH, технические весы, электроплитки, водяная баня, фарфоровые ступки, скальпели, пинцеты, спиртовки, пробирки, колбы, мерные пипетки, воронки, цилиндры мерные, химические стаканы, 5 % раствор сульфата меди, 10 % раствор сульфата меди, 0,2 % спиртовой раствор бензидина, 1 % спиртовой раствор фенолфталеина, нейтральный формалин, 0,1 % раствор едкого натрия, физиологический раствор, 6 % раствор щавелевой кислоты.