

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ**

**КЫРГЫЗСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ им. И.РАЗЗАКОВА**

**Кафедра «Технологии производства продуктов питания»**

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ  
ПО ФИЗИКЕ И ХИМИИ МОЛОКА  
Часть 2**

для студентов высших учебных заведений

**Бишкек-2010**

«Рассмотрено»  
на заседании кафедры  
«ТППП»  
Прот. № 6 от 09.02.2010 г.

«Одобрено»  
Методической комиссией  
технологического факультета  
Прот. № 8 от 12.10.2010 г.

УДК.: 577.12.663/664(076.5)

Составители: МУСУЛЬМАНОВА М.М., ГОРШЕНИНА Г.В.

Лабораторный практикум по физике и химии молока. Часть 2. Для студентов высших учебных заведений / КГТУ им. И.Раззакова: сост. М.М.Мусульманова, Г.В.Горшенина. – Б.: ИЦ «Текник», 2010. – 23 с.

Приведены краткие теоретические сведения и методика проведения лабораторных работ по курсу «Физика и химия молока», направленных на освоение методов исследования состава и свойств основных компонентов молока.

Практикум предназначен для студентов 3 курса дневной и 4 курса дистантной формы обучения специальности 552.403.02 «Технология молока и молочных продуктов».

Табл.: 4, библиогр. назв.: 11.

Рецензент д.х.н., профессор Баткибекова М.Б.

### Лабораторная работа 3

#### Тема: БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ, ПРОТЕКАЮЩИЕ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

##### Цель работы:

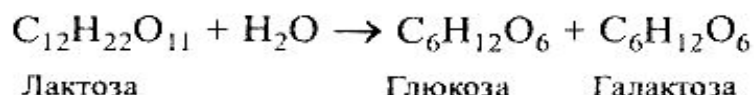
1. Изучить процессы молочнокислого и спиртового брожения лактозы.

**Материальное оснащение:** молоко обезжиренное; сыворотка; пипетки вместимостью 20 см<sup>3</sup>; стаканчики; стекло; 1Н раствор NaOH; раствор фенолфталеина; кобальт сернокислый; дистиллированная вода; конические колбы; термостат; электроплита; BaCl<sub>2</sub>; NaOH; ZnSO<sub>4</sub>; пикнометр вместимостью от 25 до 50 см<sup>3</sup>; аналитические весы; колба для перегонки вместимостью 250 см<sup>3</sup>; 0,5 Н раствор NaOH; бумага лакмусовая.

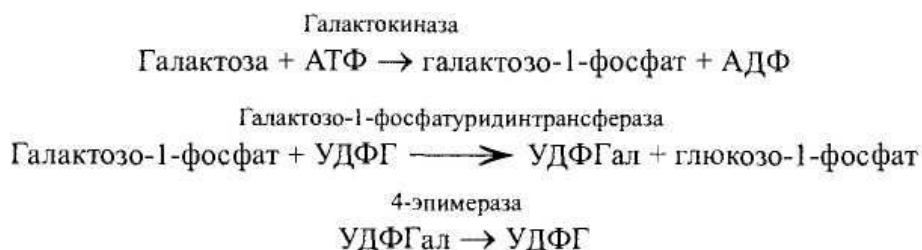
##### Краткие теоретические сведения

Основным биохимическим процессом при производстве кисломолочных продуктов, заквасок, сыра является брожение молочного сахара (лактозы). Существует несколько типов брожения лактозы, которые отличаются видом микроорганизмов, вызывающих это брожение, а также составом конечных продуктов: молочнокислое, пропионовокислое, уксуснокислое, маслянокислое, спиртовое.

Начальным этапом всех видов брожения является расщепление лактозы на глюкозу и галактозу под действием лактазы (β-галактозидазы), выделяемой молочнокислыми бактериями (лактобактериями):



Образующаяся глюкоза подвергается брожению, а галактоза включается в процесс брожения только после ряда превращений, а именно при участии уридиндифосфатглюкозы (УДФГ) она переходит в глюкозо-1-фосфат, который проходит процесс изомеризации с образованием глюкозо-6-фосфата, включающегося в схему брожения глюкозы.



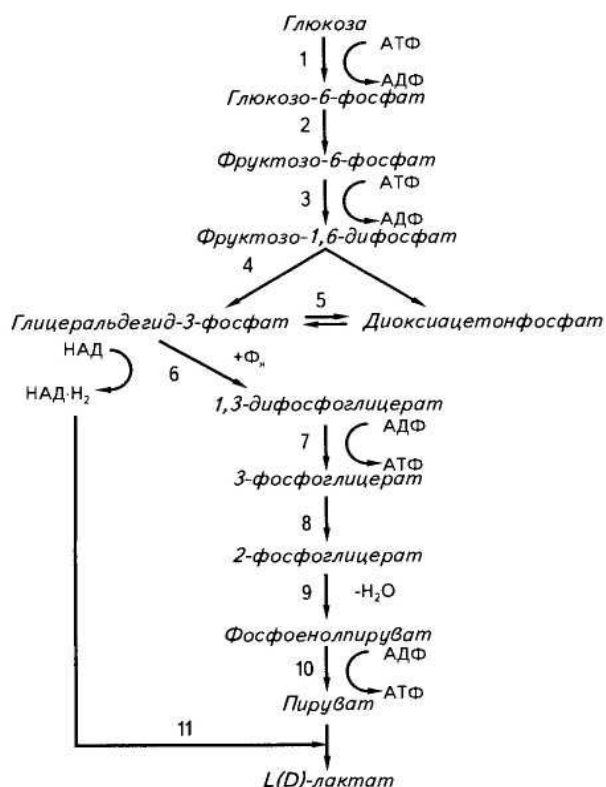
Все типы брожения до образования пировиноградной кислоты протекают с получением одних и тех же промежуточных продуктов и по одному и тому же гликолитическому пути – пути Эмбдена-Мейергофа. В дальнейшем в зависимости от применяемой микрофлоры и условий среды пировиноградная кислота превращается в различные конечные продукты брожения, такие как молочная, пропионовая, уксусная, масляная кислоты, спирт и другие соединения.

## Молочнокислое брожение

Молочнокислое брожение вызывается молочнокислыми бактериями или лактобактериями – наиболее важной группой микроорганизмов для молочной промышленности.

Различают гомоферментативное и гетероферментативное молочнокислое брожение. В первом случае из молочного сахара образуется до 90 % молочной кислоты и 10 % побочных продуктов, таких как летучие кислоты, диацетил, ацетоин и др. Во втором – образуется 50 % молочной кислоты и этиловый спирт, а также углекислый газ, летучие кислоты и др.

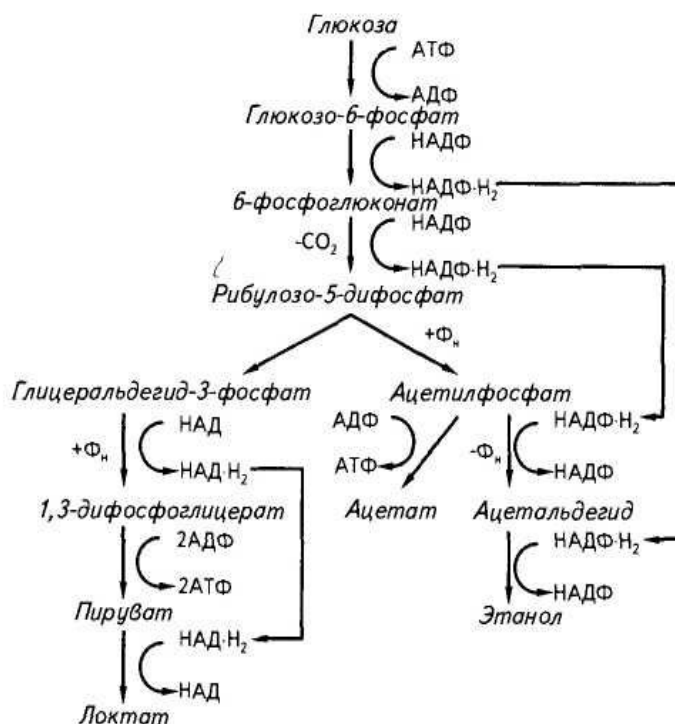
**Гомоферментативное молочнокислое брожение**, как правило, вызвано гомоферментативной микрофлорой: молочнокислыми стрептококками или лактококками (*L. lactis* ssp *lactis*, *L. lactis* ssp *cremoris*, *Str. thermophilus* и др.) и молочнокислыми палочками (*Lbm.delbrueckii* ssp *bulgaricum*, *Lbm. acidophilum*, *Lbm. casei* и др.). В результате воздействия ферментов, выделяемых этой микрофлорой, глюкоза, а затем и галактоза проходят гликолитический путь расщепления Эмбдена-Мейергофа с образованием пировиноградной кислоты ( $\text{CH}_3\text{COCOON}$ , пируват), которая под действием фермента лактатдегидрогеназы (11 – в приведенной ниже схеме) восстанавливается до молочной кислоты ( $\text{CH}_3\text{CHONCOON}$ ). Роль восстановителя выполняет НАД·Н<sub>2</sub>, образовавшийся в реакции окисления 3-фосфоглицеринового альдегида.



**Схема гликолитического пути расщепления глюкозы лактобактериями:**  
1 - гексокиназа; 2 - глюкозофосфатизомераза; 3 - фосфофруктокиназа; 4 - альдолаза; 5 - триозофосфатизомераза; 6 - глицеральдегидфосфатдегидрогеназа; 7 - фосфоглицераткиназа; 8 - фосфоглицеромутаза; 9 - енолаза; 10 - пируваткиназа; 11 – лактатдегидрогеназа

В зависимости от условий среды (рН, температуры, наличия CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> и др.) при гомоферментативном молочнокислом брожении кроме молочной кислоты в качестве побочных продуктов в небольших количествах образуются летучие и нелетучие органические кислоты, спирты, глицерин, ацетоин, диацетил, бутиленгликоль, и др. соединения, придающие специфический аромат кисломолочным продуктам.

**Гетероферментативное молочнокислое брожение** проходит по пентозофосфатному пути (гексофосфоглюконатному или гексозомонофосфатному) под действием гетероферментативной (ароматобразующей) микрофлоры, включающей лейконостоки (*Leuc. citrovorum*, *Leuc. dextransicum*, *Leuc. lactis*, *Leuc. cremoris*), молочнокислые стрептококки (*L. lactis* ssp *diacetylactis*, *L. lactis* ssp *acetoinicus*) и молочнокислые палочки (бета-бактерии). Эта микрофлора не имеет ключевого фермента альдолазы для расщепления фруктозо-1,6-дифосфата на две молекулы триозофосфата, поэтому и не способна провести брожение по гликолитическому пути.



**Схема пентозофосфатного пути расщепления глюкозы гетероферментативными молочнокислыми бактериями**

Суммарно процесс гетероферментативного молочнокислого брожения можно представить следующим образом:



Бифидобактерии (*B. bifidum*) сбраживают глюкозу по фруктозо-6-фосфатному пути (вместо глюкозо-6-фосфата образуется фруктозо-6-фосфат). В результате образуются молочная и уксусная кислоты, при этом последней в 1,5 раза больше чем молочной.

## Порядок выполнения работы

В качестве микроорганизма – продуцента молочной кислоты в настоящей лабораторной работе предлагается использовать следующие виды лактобактерий, обладающих высокой кислотообразующей способностью: *Lbm.delbrueckii ssp bulgaricum*, *L. acidophilum*, *L. casei*, *L. lactic ssp lactic*, а так же смеси культур этих микроорганизмов и кефирную закваску.

В качестве питательной среды для получения молочной кислоты методом микробного синтеза используют любые виды молочного сырья (обезжиренное молоко, пахта, сыворотка).

Молочное сырье пастеризуют при температуре 80-85°C в течение 20 сек и охлаждают до температуры заквашивания. Для заквашивания используют температурные режимы, соответствующие виду внесенной закваски.

Затем в коническую колбу на 500 см<sup>3</sup> вносят 250 см<sup>3</sup> подготовленного молочного сырья, добавляют закваску из расчета 0,5 % от массы сырья. Образец перемешивают и помещают в термостат при заданной температуре для осуществления процесса брожения.

В процессе брожения контролируют изменение кислотности.

Сбраживание продолжают в течение заданного преподавателем времени.

В процессе брожения оценивают динамику накопления молочной кислоты в образцах. Для этого определяют концентрацию молочной кислоты в пробе сразу после внесения закваски, а также через каждый час культивирования микроорганизма-продуцента. Концентрацию молочной кислоты в образце определяют по титруемой кислотности.

*Определение титруемой кислотности* (косвенный метод оценки).

Для этого 10 см<sup>3</sup> сыворотки титруют 0,1 Н NaOH в присутствии индикатора фенолфталеина до слабо-розового окрашивания. Для расчета количества молочной кислоты (%) учитывают, что 1°Т эквивалентен 0,009% молочной кислоты.

Результаты вносят в таблицу 1.

Таблица 1

Время сквашивания, ч	0	1	2	3	4	и т. д.
Титруемая кислотность, °Т						
Количество молочной кислоты, %						

По результатам таблицы строят графические зависимости интенсивности микробного синтеза от условий культивирования и вида микроорганизма-продуцента:

1. зависимость содержания молочной кислоты в образце от температуры культивирования.

На основании анализа данной зависимости определяется оптимальная температура культивирования для разных продуцентов.

2. зависимость содержания молочной кислоты в образце от продолжительности культивирования при оптимальной температуре для разных продуцентов.

Таблица 2.

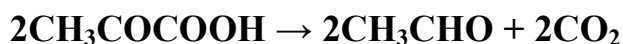
Время сквашивания, ч	0	1	2	3	4	и т. д.
Титруемая кислотность, °Т						
Оптимальная температура, °С						

На основании анализа данной зависимости делается выбор наиболее эффективного продуцента.

### ***Спиртовое брожение***

Спиртовое брожение протекает в процессе производства кумыса, кефира, курунги, ацидофильно-дрожжевого молока и других кисломолочных продуктов под воздействием дрожжей *Sacch. cartilaginosus*, *Sacch. fragilis*, *Sacch. cerevisiae*.

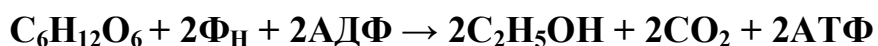
Как указывалось ранее, первая стадия всех типов брожения протекает одинаково, т.е. глюкоза сбраживается по гликолитическому пути с образованием пировиноградной кислоты – основного промежуточного продукта. Затем пировиноградная кислота декарбоксилируется под действием пируватдекарбоксилазы, содержащейся в клетках дрожжей, с образованием  $\text{CO}_2$  и уксусного альдегида.



Уксусный альдегид под воздействием восстановленной формы НАД (НАД·Н<sub>2</sub>), которая образовалась при окислении 3-фосфоглицеринового альдегида, восстанавливается в этанол:



Суммарная химическая реакция процесса спиртового брожения:



При спиртовом брожении образуются также небольшие количества уксусной, пропионовой, янтарной кислот и изобутилового, пропилового спиртов, глицерина, ацетона, диацетила и др.

### **Порядок выполнения работы**

В качестве возбудителя спиртового брожения в настоящей лабораторной работе предлагается использовать кефирную закваску.

В качестве питательной среды для получения молочной кислоты и спирта методом микробного синтеза могут быть использованы любые виды молочной сыворотки (подсырная, творожная, казеиновая). Кислую сыворотку предварительно нейтрализуют.

Молочную сыворотку пастеризуют при температуре 70-75°С в течение 1 ч и охлаждают до температуры заквашивания. Для заквашивания используют температурный режим от 20°С до 23°С.

Затем в коническую колбу на 250 см<sup>3</sup> вносят 100 см<sup>3</sup> подготовленной молочной сыворотки. Туда же добавляют подготовленный посевной материал в

количестве 10% от массы сыворотки. Образец помещают в термостат при заданной температуре для осуществления процесса брожения.

В процессе брожения контролируют изменение кислотности. При достижении кислотности 65-70°Т проводят нейтрализацию суслу до кислотности 10-12°Т путем внесения CaCO<sub>3</sub>.

Количество вносимого CaCO<sub>3</sub> определяют исходя из расчета, что для нейтрализации каждых 18 частей молочной кислоты необходимо 10 частей химически чистого мела (1°Т эквивалентен 0,009 % молочной кислоты).

Сбраживание продолжают в течение заданного преподавателем времени.

В процессе брожения оценивают динамику накопления молочной кислоты и спирта в образцах. Для этого определяют концентрацию молочной кислоты в пробе сразу после внесения закваски, через каждый час культивирования микроорганизма-продуцента и через 24 ч культивирования (в образце, приготовленном заранее лаборантом).

Концентрацию молочной кислоты в образце определяют двумя способами.

**Определение титруемой кислотности** (косвенный метод оценки).

Для этого 10 см<sup>3</sup> сыворотки титруют 0,1 Н NaOH в присутствии индикатора фенолфталеина до слабозащелочного окрашивания. Для расчета количества молочной кислоты (%) учитывают, что 1° Т эквивалентен 0,009% молочной кислоты.

**Фотоколориметрический метод определения** содержания молочной кислоты (по Пиккерингу и Клеггу).

В колбу 250-300 см<sup>3</sup> вносят 1 г образца, приливают 24 см<sup>3</sup> воды и из бюретки – по 5 см<sup>3</sup> BaCl<sub>2</sub>, NaOH, ZnSO<sub>4</sub>. Для контроля эти реактивы в той же последовательности добавляют к 25 см<sup>3</sup> воды. Реактивы вводят очень быстро, обязательно перемешивая после добавления каждого из них не менее 30 сек. Контрольный и исследуемый образцы фильтруют через двойной бумажный сетчатый фильтр. В мерные цилиндры на 100см<sup>3</sup> вносят фильтрат и по 0,5 см<sup>3</sup> 1%-го раствора FeCl<sub>2</sub>, доливают до объема 100 см<sup>3</sup> водой.

Колориметрируют на ФЭКе со светофильтром № 2 в кювете на 10 см<sup>3</sup>.

Показание оптической плотности по калибровочному графику соответствует процентному содержанию молочной кислоты.

Для построения графика готовят растворы кислоты различной концентрации (1, 10, 20, 30, 40, 50 мг в 10см<sup>3</sup>). Колориметрируют подвергнутые осаждению и неосажденные растворы. Поправочный коэффициент, учитывающий потери молочной кислоты с осадком, составляет +0,11 по оптической плотности или +0,007 в пересчете на молочную кислоту.

Результаты вносят в таблицу 3.

Таблица 3.

Время сквашивания, ч	0	1	2	3	4	и т. д.
Титруемая кислотность, °Т						
Количество молочной кислоты, %						
Количество спирта, %						
Оптимальная температура, °С						



По результатам таблицы строят графические зависимости интенсивности микробного синтеза от условий культивирования:

- зависимость содержания молочной кислоты и спирта в образце от продолжительности культивирования при оптимальной температуре.

**Метод определения содержания спирта.** Пикнометр сначала тщательно промывают слабым спиртовым раствором, затем высушивают при температуре 100-150°C, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. При помощи пипетки во взвешенный заранее пикнометр приливают воду до уровня немного выше метки, после чего подвешивают его посредством тонкой нитки к стеклянной палочке, положенной на кольцо штатива, и опускают в стакан с водой, которая должна быть на одном уровне с водой в пикнометре. Воду в стакане необходимо постоянно поддерживать при температуре 20°C, для этого стакан с водой помещают в другой стеклянный сосуд с водой.

Через 40 мин устанавливают мениск пикнометра с помощью фильтровальной бумаги или трубки с оттянутым капилляром точно по метке и закрывают пробкой. Затем вынимают пикнометр из стакана, тщательно обтирают и взвешивают.

«Водное число» пикнометра ( $P_w$ ) вычисляют по формуле:

$$P_w = g_2 - g_1,$$

где  $g_1$  - масса пустого пикнометра с пробкой, г;

$g_2$  - масса пикнометра с водой и пробкой, г.

100 г продукта отвешивают в колбе для перегонки с точностью до 0,1 г, затем нейтрализуют раствор NaOH до нейтральной или слабо-щелочной реакции (по лакмусовой бумажке), после чего помещают в колбу несколько стеклянных капилляров и закрывают ее пробкой.

Колбу для перегонки соединяют с холодильником и медленно проводят перегонку при умеренном нагревании. В качестве приемника применяют мерную колбу вместимостью в 100 см<sup>3</sup>. Отгонку прекращают после заполнения колбы на  $\frac{2}{3}$  объема.

В случае получения не вполне чистого отгона, его переносят количественно в чистую колбу для перегонки и доводят объем перегона водой до 100 см<sup>3</sup>. Проводят вторичную перегонку, как указано выше.

По окончании перегонки в мерную колбу с отгоном доливают воду до метки и тщательно перемешивают.

При помощи пипетки во взвешенный заранее пикнометр приливают отгон до уровня немного выше метки, после чего подвешивают его посредством тонкой нитки к стеклянной палочке, положенной на кольцо штатива, и опускают в стакан с водой, которая должна быть на одном уровне с водой в пикнометре. Воду в стакане необходимо постоянно поддерживать при температуре 20°C, для этого стакан с водой помещают в другой стеклянный сосуд с водой.

Через 40 мин устанавливают мениск пикнометра с помощью фильтровальной бумаги или трубки с оттянутым капилляром точно по метке и закрывают пробкой. Затем вынимают пикнометр из стакана, тщательно обтирают и взвешивают.

Относительную массу раствора отгона вычисляют по формуле:

$$d = g_3 - g_1 / P_w$$

где  $g_1$  - масса пустого пикнометра с пробкой, г;

$g_3$  - масса пикнометра с раствором отгона, г;

$P_w$  - «водное число» пикнометра.

Содержание спирта в 100 см<sup>3</sup> отгона находят по таблице 4:

Таблица 4

Относительная масса водно-спиртовой смеси	Спирт в 100 см <sup>3</sup> водно-спиртовой смеси, г	Относительная масса водно-спиртовой смеси	Спирт в 100 см <sup>3</sup> водно-спиртовой смеси, г	Относительная масса водно-спиртовой смеси	Спирт в 100 см <sup>3</sup> водно-спиртовой смеси, г
1,0000	0,00				
0,9999	05	0,9969	1,66	0,9939	3,33
8	10	8	71	8	38
7	16	7	77	7	44
6	21	6	82	6	50
5	26	5	88	5	56
4	32	4	93	4	61
3	37	3	98	3	67
2	42	2	2,04	2	73
1	48	1	09	1	78
0	53	0	15	0	84
9989	59	9959	20	0,9929	90
8	64	8	26	8	96
7	69	7	32	7	4,02
6	74	6	37	6	08
5	80	5	43	5	14
4	85	4	48	4	20
3	90	3	54	3	26
2	96	2	59	2	31
1	1,01	1	65	1	37
0	06	0	70	0	43
9979	12	9949	76	9919	49
8	17	8	82	8	55
7	23	7	87	7	61
6	28	6	93	6	67
5	34	5	98	5	73
4	39	4	3,04	4	79
3	44	3	10	3	85
2	50	2	16	2	91
1	55	1	21	1	97

0	60	0	27	0	5,03
---	----	---	----	---	------

Найденная величина будет равна количеству граммов спирта в 100 г продукта.

### Контрольные вопросы

1. Основные физико-химические процессы, протекающие при производстве кисломолочных продуктов.
2. Факторы, влияющие на процессы коагуляции белков молока, формирование структуры и консистенции геля, вкуса и запаха молочных продуктов.
3. Виды брожения молочного сахара, химизм этого процесса, возбудители различных видов брожения.

### Лабораторная работа 4

#### Тема: ВЫДЕЛЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ КАЗЕИНА

##### Цели работы:

1. Изучить механизм процесса кислотной коагуляции казеина в изоэлектрической точке и определить массу образующегося белка.
2. Изучить механизм процесса сычужной коагуляции казеина.

**Материальное оснащение:** колбы конические вместимостью 100 и 200 см<sup>3</sup>; цилиндр мерный вместимостью 100 см<sup>3</sup>; бюретка вместимостью 25 см<sup>3</sup>; мерная пипетка вместимостью 50 см<sup>3</sup>; воронка; бумажный фильтр; 40 %-й водный раствор CaCl<sub>2</sub>; сычужный фермент; закваска; молоко; вискозиметр; прибор для определения коэффициента растекаемости; миллиметровка; стекло.

##### Кислотная коагуляция. Краткие теоретические сведения

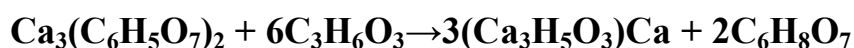
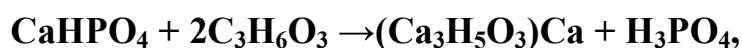
При сбраживании молочного сахара молочнокислыми бактериями, под воздействием образующейся молочной кислоты происходит кислотная коагуляция белков молока. Кислотная коагуляция казеина лежит в основе получения структурированного молочного сгустка при производстве диетических кисломолочных продуктов.

При гомоферментативном молочнокислом брожении из 1 моль лактозы образуется 4 моля молочной кислоты (342 г молочного сахара сбраживаются до 360 г молочной кислоты). Предел накопления молочной кислоты зависит от вида применяемой закваски, температуры сквашивания и других технологических факторов. Молочнокислые палочки имеют более высокий предел накопления молочной кислоты (до 140-250°Т), а лактококки – более низкий (90-130°Т).

**Сущность кислотной коагуляции.** В казеине молока карбоксильные группы дикарбоновых аминокислот и гидроксильные группы фосфорной кислоты преобладают над аминными группами. Поэтому казеин молока имеет выраженные кислые свойства и поверхность его глобул несет отрицательный электрический заряд.

Процесс кислотной коагуляции условно делят на четыре стадии. На первой стадии (индукционный период) происходит образование молочной кислоты, при диссоциации которой накапливаются ионы  $H^+$ . Постепенно при понижении рН ионы водорода  $H^+$  подавляют диссоциацию свободных карбоксильных групп и кислотных групп фосфорной кислоты казеиновых мицелл. Ионы  $H^+$  при накоплении связывают электроразряженные группы аминокислот  $COO^-$ , которые переходят в  $COOH$ , а также группы  $PO_4^{3-}$ , которые переходят в  $H_2PO_4^-$ . В результате уменьшается отрицательный заряд на поверхности казеиновых глобул. Кроме того, под действием молочной кислоты от казеинаткальцийфосфатного комплекса отщепляется фосфат кальция и органический кальций, которые переходят в плазму молока. В результате этого происходят конформационные изменения макромолекул казеина, их дестабилизация и диспергирование. Увеличение дисперсности частиц казеина, сопровождаемое повышением вязкости, наблюдается до достижения величины рН 6,0. По-видимому, это связано с увеличением упаковки макромолекулярных цепей и дезагрегации казеиновых частиц. Последнее вызвано изменением их электростатического взаимодействия в результате изменения рН в сторону изоэлектрической точки (ИТ).

Кроме того, молочная кислота, как более сильная, вытесняет фосфорную и лимонную кислоты в солях, образуя более растворимые лактаты.



В результате нарушаются солевое равновесие и буферная система молока, а также изменяются его физические свойства. Переход кальция в более растворимые лактаты способствует повышению его усвояемости организмом человека при употреблении кисломолочных продуктов по сравнению с молоком.

На второй стадии с накоплением ионов  $H^+$  рН постепенно понижается и приближается к изоэлектрической точке. При этом происходят дальнейшая нейтрализация отрицательных зарядов мицелл казеина и снижение степени их гидратации. С точки, соответствующей рН 6,14, начинается увеличение размера белковых частиц. Эта точка означает начало возникновения новых связей между молекулами казеина. Молекулы казеина при столкновении образуют нерастворимые в воде агрегаты и нити, но параллельно этому наблюдается и их распад. По мере приближения к ИТ глобулы казеина претерпевают конформационные изменения, становятся менее устойчивыми и менее растворимыми, теряют гидратную оболочку. Процесс агрегирования субмицелл казеина начинает преобладать над дезагрегацией (с рН 5,2-5,3), затем наступает период массовой агрегации частиц казеина. Стадия массовой явной коагуляции казеина называется флокуляцией, при этом резко повышается вязкость до геле-точки при рН 4,76-4,85 (Л.А.Забодалова).

Эту стадию сменяет третья стадия – гелеобразование или стадия метастабильного равновесия. В изоэлектрической точке казеина при рН 4,6-4,7 молекулы казеина обладают наименьшей растворимостью, его частицы теряют устойчивость и необратимо коагулируют. Коагулированные частицы объединя-

ются, уплотняются, образуют нити. Происходит формирование пространственной структуры молочного сгустка из сложных белок-жировых решеток, образованных мицеллами и жировыми шариками. В петли решеток захватывается дисперсионная среда с компонентами молока. Сгусток уплотняется. Повышение содержания белка в молоке способствует образованию более прочного сгустка (Р. Раманаускас). Повышение температуры сквашивания значительно сокращает индукционный период.

Состав закваски и ее количество в большой степени влияют на интенсивность формирования сгустка и его реологические свойства. Количество закваски влияет на кислотность молока в начале свертывания. При повышении его кислотности до 28°Т увеличивается интенсивность агрегирования белковых мицелл и сокращается продолжительность индукционного периода и процесса гелеобразования в целом (Л. А. Забодалова). Использование штаммов с интенсивным кислотообразованием также сокращает индукционный период и процесс свертывания молока, улучшаются реологические характеристики сгустков. *Str. thermophilus* в большей степени повышает вязкость сгустка, влагоудерживающую способность и тиксотропные свойства структуры в сравнении с культурами *L. lactic ssp lactis* и *L. lactic ssp. cremoris* (Н. С. Королева).

На четвертой стадии происходят старение сгустка, его ослабление, понижение структурно-механических свойств, синерезис с выделением сыворотки.

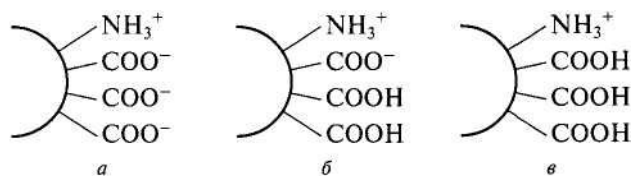
В процессе кислотной коагуляции неденатурированные сывороточные белки не коагулируют и во время синерезиса удаляются вместе с сывороткой. Если применяются высокие температуры пастеризации молока (до 95°С), то сывороточные белки денатурируют (от 20 до 34%) в виде взвеси и участвуют в образовании пространственной структуры молочного сгустка. При денатурации сывороточных белков нарушаются их внутримолекулярные связи, глобулы разворачиваются. После денатурации за счет межмолекулярных связей белковые частицы агрегируют, теряют сольватный слой, в результате чего легче укрупняются и коагулируют. Процесс коагуляции сывороточных белков стимулирует молочная кислота и ее  $H^+$  ионы, которые снижают отрицательную электростатическую зарядность поверхности белковых глобул, смещая диссоциацию к изоэлектрической точке (рН 4,4-4,6 для лактальбуминовой фракции), способствуя укрупнению части и их коагуляции, которая охватывает более 50% сывороточных белков.

Формирование кислотных сгустков происходит за счет слабых гидрофобных, водородных и, в меньшей степени, ионных связей, придающих сгусткам вязкостные, тиксотропные свойства, но низкие прочность, упругость и способность к синерезису.

Обобщая вышесказанное, можно сделать вывод, что в основе получения казеина лежит кислотная коагуляция белков молока в изоэлектрической точке (рН = 4,6-4,7). Механизм кислотной коагуляции заключается в том, что при подкислении молока происходит постепенная нейтрализация отрицательных групп (карбоксильных и фосфатных) казеина и удаление из состава казеиновых мицелл коллоидного фосфата кальция. При рН 4,9 частицы теряют весь коллоидный фосфат кальция и происходит полное разрушение мицеллярной структу-

ры. Дальнейшее понижение рН раствора до ИТ приводит к нейтрализации казеиновых частиц и снижению степени их гидратации. Изoeлектрическое состояние сопровождается конформационными изменениями полипептидных цепей макромолекул казеина внутри субмицелл, а это приводит к частичной гидрофобизации их поверхности и образованию нерастворимых в водной среде агрегатов. Дальнейшее объединение субмицелл за счет гидрофобных, водородных и, в меньшей степени, ионных связей приводит к образованию геля.

**Примечание.** Следует помнить, что казеин осаждается только в изoeлектрической точке (ИТ). Так, при недостатке кислоты мицеллы имеют отрицательный заряд и, следовательно, гидратированы, что препятствует их осаждению. Избыток кислоты приводит к перезарядке частиц казеина, их гидратации и повторному растворению. Характер поверхности казеиновых частиц при рН выше (а), ниже (в) и в ИТ (б) представлен на рисунке:



### Порядок выполнения работы

Казеин молока обладает кислыми свойствами, поэтому способен взаимодействовать со щелочью. В связи с чем, массовую долю казеина можно определить по разнице объемов щелочи, пошедшей на нейтрализацию молока и бесказеиновой сыворотки.

**1 этап.** В коническую колбу вносят 20 см<sup>3</sup> молока и 80 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (20°C). Содержимое колбы перемешивают и титруют раствором серной кислоты 0,05 моль/дм<sup>3</sup> при постоянном помешивании до выпадения казеина в осадок большими хлопьями, используя при этом индикаторную бумажку до наступления значения рН = 4,6-4,7. Объем раствора серной кислоты (V<sub>к</sub>), пошедшей на осаждение казеина, записывают.

Через 3-5 мин после образования осадка казеина жидкость фильтруют через сухой складчатый фильтр в коническую колбу вместимостью 200 см<sup>3</sup>. Далее 50 см<sup>3</sup> фильтрата пипеткой переносят в коническую колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, добавляют 3-5 капель 1%-ного раствора фенолфталеина и титруют раствором гидроксида натрия 0,1 моль/дм<sup>3</sup> до слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 с. Объем щелочи (V) пошедшей на титрование, записывают.

**2 этап.** В коническую колбу вносят 20 см<sup>3</sup> молока, 80 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и столько же серной кислоты (0,05 моль/дм<sup>3</sup>), сколько потребовалось на осаждение казеина на первом этапе, добавляют 3-5 капель 1%-ного раствора фенолфталеина, перемешивают и титруют раствором гидроксида натрия так же, как выше. Объем раствора щелочи (V<sub>2</sub>), пошедшей на титрование, записывают.

Вначале по приведенной ниже формуле рассчитывают объем щелочи ( $X$ ), который пошел на титрование всего раствора (молоко + вода + кислота):

$$X = \frac{(100 + V_k) \cdot V_1}{50} \text{ (см}^3\text{)},$$

где  $V_k$  – объем раствора серной кислоты, израсходованной на осаждение казеина, см<sup>3</sup>;  
 $V_1$ , – объем раствора гидроксида натрия, израсходованного на титрование 50 см<sup>3</sup> фильтрата, см<sup>3</sup>;  
50 – исходный объем раствора, см<sup>3</sup>.

Затем рассчитывают массовую долю казеина  $K$  (в %) по формуле:

$$K = \frac{(V_2 - X) \cdot 0,1131 \cdot 100}{m} = (V_2 - X) \cdot 0,5655,$$

где  $V_2$  – объем раствора гидроксида натрия, израсходованного на титрование на втором этапе работы, см<sup>3</sup>;  
 $X$  – рассчитанный объем раствора гидроксида натрия, израсходованного на титрование на первом этапе, см<sup>3</sup>;  
0,1131 – масса казеина, соответствующая 1 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, г;  
 $m$  – объем молока, взятого на исследование, см<sup>3</sup> ( $t = 20$  см<sup>3</sup>).

### **Сычужное свертывание молока. Краткие теоретические сведения**

Получение сычужного сгустка является одним из самых сложных процессов в биотехнологии сыроделия, в основе которого лежит энзиматическое превращение казеина в параказеин, из которого формируется пространственная структура сгустка. Параказеин образуется вследствие потери казеином коллоидной устойчивости, вызванной гидролитическим действием реннина или других молокосвертывающих ферментов.

Классическим молокосвертывающим препаратом является сычужный порошок, получаемый из слизистой оболочки четвертого отделения желудка (сычуга) подсосных телят и ягнят. Кроме него применяют пепсины и ферментные препараты, являющиеся смесью различных молокосвертывающих ферментов животного происхождения. Также используют молокосвертывающие ферменты микробного происхождения, но они не являются равноценной заменой сычужного порошка, поскольку отличаются большей протеолитической активностью.

Механизм расщепления казеина во время сычужного свертывания до конца не выявлен, хотя этому вопросу посвящено много исследовательских работ. Интенсивная научная дискуссия по этому вопросу продолжается. В настоящее время наиболее распространены две теории: фосфоамидазная (П. Ф. Дьяченко) и гидролитическая (Ничман, Але, Гаринье). Согласно первой из них происходит разрыв одной из двух связей остатков фосфорной кислоты с казеином, а именно фосфоамидной связи. В параказеине освобождаются щелочные гуанидиновые группы аргинина и гидроксильные группы фосфорной кислоты. На

второй стадии гидроксильные группы фосфорной кислоты связывают ионы кальция и создают «кальциевые мостики» между мицеллами параказеина, образуется сгусток.

Авторы гидролитической теории считают, что под действием молокосвертывающего фермента происходит разрыв пептидной цепи  $\kappa$ -казеина между фенилаланином и метионином ( $\text{Phe}_{105} - \text{Met}_{106}$ ). От мицеллы казеина отщепляется гликомакропептид. Вследствие этого  $\kappa$ -казеин превращается в пара- $\kappa$ -казеин и теряет свою способность обеспечить коллоидную устойчивость казеиновых мицелл.

Параллельно с биохимическим превращением казеинового комплекса в результате гидролитического действия молокосвертывающих ферментов проходят физико-химические изменения. В самом начале процесса наблюдается индукционный период, во время которого образование пространственной структуры сгустка еще не наблюдается.

Обнаружена двухстадийность изменения молекулярной массы и среднего диаметра комплекса казеина во время индукционного периода (Р. И. Раманаускас). В начале индукционного периода происходит увеличение дисперсности казеинового комплекса, а во второй ее части начинается нарастание средневзвешенного диаметра казеиновых частиц. Увеличение дисперсности в начальной стадии индукционного периода обусловлено начавшимся процессом разрушения внутренней упорядоченности элементов казеиновых частиц, сопровождающимся их дезагрегацией. Это связывают с высокой термодинамической устойчивостью казеиновых мицелл. Одновременно с вышеуказанным процессом возникают новые связи между молекулами и, следовательно, отдельными частицами. Скорость агрегации увеличивается и становится равной скорости дезагрегации в момент, соответствующий максимальной дисперсности. Это происходит в средней части индукционного периода. Затем скорость агрегации превосходит скорость дезагрегации, и дисперсность частиц начинается уменьшаться. Когда она достигает такого уровня, который был бы в исходном молоке до добавления реннина, индукционный период заканчивается. Таким образом, во время этого периода параллельно с гидролизом имеют место сложные процессы изменения дисперсных структур. Индукционный период заканчивается в точке **К** (рис.4.1).

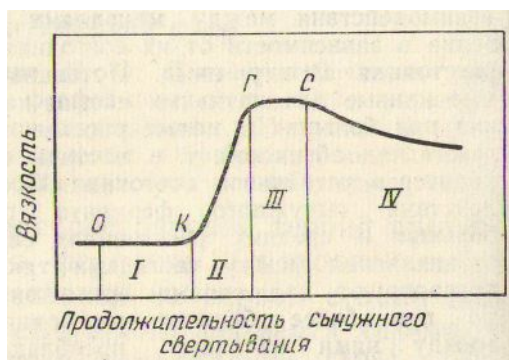


Рисунок 4.1. Реограмма процесса сычужного свертывания молока (по Табачникову)



Кривая изменения вязкости, полученная ротационным вискозиметром, имеет s-образный вид. Она показывает, что после завершения индукционного периода продолжается формирование структуры с нарастающей скоростью. В начале происходит агрегация отдельных параказеиновых частиц, т.е. так называемая флокуляция – стадия II. Далее следует стадия формирования трехмерной пространственной структуры. В конце свертывания (точка Г) образовавшийся сгусток представляет собой высший уровень организации структуры. Модуль эластичности у него меньше модуля упругости. Поэтому сычужный сгусток следует считать эластичной системой. В течение стадии III вязкость остается постоянной, после чего начинается разрушение структуры с падением вязкости после точки С (синерезис).

Изменение вязкости ( $\eta$ ) во время формирования сгустка может быть представлено уравнением:

$$\ln \frac{\eta - \eta_1}{\eta_2 - \eta_1} = K \sqrt{t} + \ln \frac{\eta_0}{\eta_2 - \eta_1},$$

где  $K$  - эффективный коэффициент скорости процесса,  $\text{с}^{-0,5}$ ;  $\eta_1$  - минимальная вязкость в начале процесса,  $\text{Па}\cdot\text{с}$ ;  $\eta_2$  - максимальная вязкость в конце процесса,  $\text{Па}\cdot\text{с}$ ;  $\eta_0$  - величина нарастания вязкости после завершения индукционного периода до начала ее интенсивного увеличения,  $\text{Па}\cdot\text{с}$ .

Продолжительность свертывания и реологические показатели сгустка зависят от концентрации казеина и солей кальция в молоке, его кислотности и температуры свертывания. При низком содержании белка получается непрочный сгусток, и при его обработке увеличиваются потери белка и жира с сывороткой. Добавление солей кальция и повышение кислотности в допустимых пределах повышают прочность и эластичность сгустка. Это положительно влияет на синерезис, выход продукта и его консистенцию.

Сычужное свертывание следует рассматривать как результат параллельно протекающих процессов химического изменения казеина и формирования пространственной структуры сгустка.

### **Порядок выполнения работы**

Молоко (массой около 600 г) пастеризуют при температуре 70-72°C с выдержкой 20-25 с. Затем вносят  $\text{CaCl}_2$  в виде 40 %-ного водного раствора (прозрачного, бесцветного) в количестве 10-40, иногда 60 г безводной соли на каждые 100 кг молока. После чего вносят закваску, количество которой зависит от вида вырабатываемого сыра, степени зрелости молока, активности закваски и составляет 0,5-2,5 % массы нормализованного молока.

На скорость свертывания молока сычужным ферментом влияют рН среды и концентрация солей кальция.

Оптимальное значение рН равно 6,0-6,4. При добавлении солей кальция ускоряется коагуляция, но до определенного предела; при избытке соли процесс тормозится.

Сычужный фермент (доза – 1 г фермента стандартной активности на каждые 100 кг молока) вносят в молоко в виде 2,5 %-ного водного раствора при тщательном перемешивании, которое продолжается ещё 3-5 мин. Затем подготовленное молоко разливают равными порциями в 6-8 колбочек или стаканчиков, которые помещают в термостат с температурой, указанной преподавателем, и оставляют в покое. С интервалом в 5 мин вынимают по одной колбе (стакану) и определяют изменение реологических характеристик молока в динамике вплоть до образования сычужного сгустка. За формированием сгустка можно наблюдать по изменению вязкости молока (с помощью различных вискозиметров), а также косвенно.

Косвенным показателем изменения реологических показателей казеиновых сгустков является так называемый «коэффициент растекаемости» – условная единица, представляющая собой отношение диаметра трубки ( $d_0$ ) к среднему диаметру пятна ( $d_1$ ), образуемого на гладкой поверхности (например, стекле) определенным объемом исследуемой пробы, вытекающей из этой трубки:

$$K_p = d_0/d_1$$

На основании полученных данных строят реограмму процесса сычужного свертывания молока, т.е. график изменения вязкости (или коэффициента растекаемости) в зависимости от продолжительности свертывания молока. Проводят сравнительный анализ полученных данных с известными литературными.

### **Контрольные вопросы**

1. Сущность кислотной коагуляции казеина.
2. Что происходит с неденатурированными сывороточными белками в процессе кислотного свертывания молока.
3. Изменение казеина во время сычужного свертывания.
4. Факторы, влияющие на продолжительность сычужного свертывания молока и реологические показатели сгустка.

### **Лабораторная работа 5**

#### **Тема: ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ОСАЖДЕНИЯ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ**

##### **Цели работы:**

1. Изучить и освоить методы выделения сывороточных белков.
2. Провести сравнительную характеристику практических данных с теоретическими показателями.

**Материальное оснащение:** сыворотка молочная; весы; электроплита; посуда; соляная кислота; 10%-й раствор едкого натра.

## Краткие теоретические сведения

Рациональное использование молочной сыворотки – одна из важнейших проблем предприятий молочной отрасли. Наиболее эффективным способом переработки сыворотки является ее глубокое фракционирование путем максимально полного выделения отдельных компонентов и использование их на пищевые цели.

Имеющаяся проблема дефицита натурального сырья может быть решена за счет максимального использования вторичных продуктов переработки молока, из которых наиболее ценным является сыворотка.

Молочная сыворотка, которая многие годы считалась проблемным вторичным продуктом, не имеющим какой-либо коммерческой стоимости, в настоящее время широко перерабатывается и используется в различных видах пищевой продукции. Ассортимент продуктов питания из нее и на ее основе превышает по экспертной оценке 3000 наименований, который постоянно расширяется.

Наиболее часто сыворотка используется по следующим направлениям:

- производство пищевых продуктов и кормов для сельскохозяйственных животных;
- получение концентратов – сыворотки сгущенной, концентрированной, сухой;
- производство продукции с выделенными или концентрированными компонентами сыворотки – сывороточными белками, молочным жиром, молочным сахаром;
- производство продукции (в большинстве случаев хлебобулочной) с применением ферментации сыворотки молочнокислыми микроорганизмами и дрожжами, сбраживающими лактозу;
- производство продукции с концентратами сывороточными, сывороточно-белковыми, сывороточно-жировыми, сывороточно-кислотными – для детского, диетического питания, для спортсменов, беременных женщин и кормящих матерей;
- производство напитков, концентратов напитков, йогуртов, желе, пудингов, кремов творожных, десертов, мороженого из натуральной сыворотки или на ее основе.

В молочную сыворотку переходит примерно 50 % сухих веществ молока и до двухсот различных соединений, таких как: лактоза, сывороточные белки, небольшое количество молочного жира, витамины (А, С, Е, никотиновая кислота, холин, биотин, полный набор витаминов группы В), микроэлементы (кальций, магний), пробиотические культуры.

Основная ценность данного вторичного продукта молочной промышленности в сывороточных белках, которые по биологической ценности приближены к «идеальному белку».

**Сывороточные белки (СБ)** – это полноценные белки, содержащие сбалансированный состав незаменимых аминокислот. Биологическая ценность белков молочной сыворотки очень высока – 112% по отношению к стандарту. Эти соединения участвуют в процессе кроветворения и в синтезе белков печени, об-

ладают противоопухолевым действием.

После осаждения казеина из обезжиренного молока кислотой в сыворотке остается от 0,5 до 0,8 % белков (от 15 до 22 % всех белков), которые называют сывороточными. Главными из них являются  $\beta$ -лактоглобулин,  $\alpha$ -лактальбумин, альбумин сыворотки крови, иммуноглобулины и компоненты протеозо-пептонной фракции.

**$\beta$ -Лактоглобулин.** На долю  $\beta$ -лактоглобулина приходится около половины всех сывороточных белков (или от 7 до 12 % общего количества белков молока). В последние годы стала известна его первичная структура и пять генетических вариантов, один из которых содержит углеводы. В молоке белок находится в виде димера, состоящего из двух полипептидных цепей с молекулярной массой около 18000 каждая. При нагревании молока до температуры выше 30°C  $\beta$ -лактоглобулин распадается на мономеры, которые при дальнейшем нагревании агрегируют за счет образования дисульфидных связей.

Денатурированный в процессе пастеризации  $\beta$ -лактоглобулин образует комплексы с  $\kappa$ -казеином мицелл казеина и осаждается вместе с ними при кислотной и сычужной коагуляции казеина. Образование комплекса  $\beta$ -лактоглобулин- $\kappa$ -казеин значительно ухудшает атаку  $\kappa$ -казеина сычужным ферментом и снижает термоустойчивость мицелл казеина.

Биологическая роль  $\beta$ -лактоглобулина пока не выяснена.  $\beta$ -лактоглобулин в нативном состоянии обладает свойством связывать катионы, анионы, липидные соединения и т. д. В кислой среде желудка он устойчив к действию пепсина и химозина и, по-видимому, расщепляется лишь в кишечнике трипсином и химотрипсином. Одной из его функций может быть транспортирование в кишечник важных для растущего организма кислотонеустойчивых веществ. Как известно, определенные типы глобулинов в крови осуществляют транспорт ионов металлов, липидов, витаминов и других соединений.

**$\alpha$ -Лактальбумин.** В сывороточных белках  $\alpha$ -лактальбумин занимает второе место после  $\beta$ -лактоглобулина (его содержание составляет от 2 до 5 % общего количества белков молока).  $\alpha$ -Лактальбумин является гетерогенным белком. Он содержит главный компонент, имеющий два генетических варианта (молекулярная масса около 14000), а также минорные компоненты, некоторые из которых являются гликопротеидами. В молоке  $\alpha$ -лактальбумин тонко диспергирован (размер частиц от 15 до 20 нм). Он не коагулирует в изоэлектрической точке (при pH 4,2-4,5) в силу своей большой гидратированности, не свертывается под действием сычужного фермента, термостабилен. Повышенная устойчивость  $\alpha$ -лактальбумина к нагреванию обусловлена наличием в его молекуле большого количества дисульфидных связей. Открытием последних лет является расшифровка биологической роли  $\alpha$ -лактальбумина. Выяснено, что он является специфическим белком, необходимым для синтеза лактозы из УДФ-галактозы и глюкозы.

Важнейшим технологическим свойством сывороточных белков является их термолабильность. Это свойство также лежит в основе наиболее часто используемых способов осаждения СБ из молочной сыворотки.

**Тепловой метод.** Порог денатурации сывороточных белков находится в

пределах 50-65°C; видимая коагуляция отмечается при 70-80°C; оптимум соответствует 90-95°C.

Эффективность выделения белка из подсырной сыворотки при этом способе составляет 20-34 %.

Максимум тепловой коагуляции белков творожной сыворотки лежит в зоне 90-100°C (оптимум 93°C).

**Кислотный метод.** Для усиления тепловой денатурации в подсырную сыворотку необходимо ввести реагенты, сдвигающие реакцию среды в кислую сторону. Оптимальным значением активной кислотности при подкислении сыворотки считается рН 4,4-4,6, что соответствует титруемой кислотности 30-35°Т и совпадает с изоэлектрической точкой СБ.

Для подкисления используют соляную кислоту, допустимо применение кислой сыворотки и молочной кислоты.

**Кисотно-щелочной метод.** Дополнительное выделение белкового осадка из предварительно очищенной кислотным способом сыворотки можно осуществить в результате ее раскисления. Физическая граница раскисления сыворотки находится около рН 7,0, при этом выделяется 50-55% азотистых соединений, снижается мутность до 0,003.

Сыворотка, имеющая исходную кислотность ниже 35°Т и рН выше 4,6, подлежит подкислению и раскислению.

Для раскисления наиболее целесообразным является 10 %-ный раствор едкого натра.

**Мембранные методы обработки,** в частности ультрафильтрация, являются наиболее эффективным способом выделения сывороточных белков в нативном состоянии из сыворотки и обезжиренного молока.

### Порядок выполнения работы

1. В начале занятия представить предварительный отчет, включающий в себя: тему и цель работы; материальное оснащение; краткие сведения; методику исследования сырья и продукта; способы осаждения сывороточных белков.

2. Подготовить инвентарь к работе.

3. Определить качество сырья (по массовой доле жира, массовой доле белка и титруемой кислотности).

4. В зависимости от вида сыворотки подготовить и провести осаждение сывороточных белков.

*Подсырная сыворотка:*

Нагрев до температуры 92,5-94,5°C, подкисление до рН 4,5-4,6 (кислотность 35°Т) с выдержкой 5 мин; раскисление до рН 6,25-7 (кислотность 10-15°Т) с выдержкой 15 мин.

*Творожная сыворотка:*

Нагрев до температуры 93°C, раскисление до рН 6,0-6,5 (кислотность 15°Т) с выдержкой 10-15 мин.

5. Дать физико-химическую и органолептическую оценку выделенных белков.

6. Сделать заключение по результатам данной работы.

## Контрольные вопросы

1. Состав и свойства молочной сыворотки.
2. Состав и свойства сывороточных белков.
3. Способы выделения сывороточных белков и их сравнительная характеристика.

## Литература

1. Твердохлеб Г.В., Раманаускас Р.И. Химия и физика молока и молочных продуктов. – М.: ДеЛи принт, 2006. – 360 с.
2. Лабораторный практикум по химии и физике молока / О.В.Охрименко, К.К.Горбатова, А.В.Охрименко. – Спб.: ГИОРД, 2005. – 256 с.
3. Технология молока и молочных продуктов. Учебное пособие для студентов высших учебных заведений / М.Б. Баткибекова, М.М. Мусульманова, Б.Б. Стамбекова. – Б.: ИЦ «АРХИ», 2005. – 312 с.
4. Крусь Г.Н., Шалыгина А.М., Волокитина З.В. Методы исследования молока и молочных продуктов/ Под общ. редакцией А.М.Шалыгиной. – М.: КолосС, 2002.- 368 с.
5. Научно-технические основы биотехнологии молочных продуктов нового поколения. Учеб. пособие /А.Г. Храмцов, Б.М. Синельников, И.А. Евдокимов, В.В. Костина, С.А. Рябцева. – Ставрополь: СевКавГТУ, 2002. – 118 с.
6. Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 344 с.
7. [<http://www.milkbranch.ru/publ/view/121.html>].
- 8.[http://ecology.ostu.ru/index.php?option=com\\_content&task=view&id=90&Itemid=51](http://ecology.ostu.ru/index.php?option=com_content&task=view&id=90&Itemid=51)
9. [<http://www.dobmaster.ru/36.html>].
10. <http://www.goodsmatrix.ru/articles/402.html>.
11. [http://window.edu.ru/window\\_catalog/pdf2txt?p\\_id=1399&p\\_page=3](http://window.edu.ru/window_catalog/pdf2txt?p_id=1399&p_page=3).

Лабораторный практикум по физике и химии молока. Часть 2  
Для студентов высших учебных заведений

Составители: *Мусульманова М.М., Горшенина Г.В.*

---

Тех. редактор *Субанбердиева Н.Е.*

---

Подписано к печати 18.01.2011 г. Формат бумаги 60x84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бумага офс. Печать офс. Объем 1,5 п.л. Тираж 50 экз. Заказ 11. Цена 21,4 сом.

---

Бишкек, ул. Сухомлинова, 20. ИЦ “Текник” КГТУ им. И.Раззакова, т.: 54-29-43  
e-mail: [beknur@mail.ru](mailto:beknur@mail.ru)

