

Food



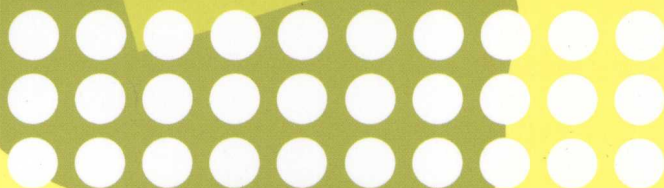
普通高等教育“十二五”规划教材

教育部高等学校轻工与食品学科教学指导委员会推荐教材



食品科学与工程专业 实验及工厂实习 指导书

卢晓黎 主编



化学工业出版社

普通高等教育“十二五”规划教材
教育部高等学校轻工与食品学科教学指导委员会推荐教材

食品科学与工程专业 实验及工厂实习指导书

卢晓黎 主编



化学工业出版社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

食品科学与工程专业实验及工厂实习指导书/卢晓黎
主编. —北京: 化学工业出版社, 2010.7
普通高等教育“十二五”规划教材
教育部高等学校轻工与食品学科教学指导委员会推
荐教材
ISBN 978-7-122-08751-5

I. 食… II. 卢… III. ①食品工业-基础科学-高等
学校-教学参考资料②食品工程学-高等学校-教学参考
资料 IV. TS201

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 101796 号

责任编辑: 赵玉清
责任校对: 蒋 宇

文字编辑: 张春娥
装帧设计: 尹琳琳

出版发行: 化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 装: 大厂聚鑫印刷有限责任公司
787mm×1092mm 1/16 印张 13½ 字数 339 千字 2010 年 8 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888(传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 25.00 元

版权所有 违者必究

前 言

本书是教育部高等学校轻工与食品学科教学指导委员会确定的国家规划推荐教材。全书依据 2009 年该委员会制定的食品科学与工程专业标准精神,结合食品科学与工程专业办学特点及对实验、实习的基本要求编写,可作为食品科学与工程专业实践性教学环节的综合性教材。

食品科学与工程技术的快速发展对本专业的学生从知识结构、专业综合能力、工程技术及专业特长等方面提出了更加全面的要求,同时对实践性教学环节也设定了更高的标准。其目的是培养既具备食品科学与工程领域的基本知识和基本技能,又能够从事食品或相关产品的科学研究、技术开发、工程设计、生产管理、品质控制、产品销售、检验检疫以及教育教学等方面工作的食品工程技术人才。本书就是为适应这一新的专业目标培养要求而编写的。

在本书的编写中,特别重视从实验室实验能力的掌握,到食品工厂生产实习的锻炼这一实践教学过程各个环节的内在联系,注重实验技术新方法、食品检测新标准、工厂设计新规范等内容的介绍与应用。本书共包括食品学实验方法篇、食品工艺学实验篇、食品工程学实习篇三部分。

食品学实验方法篇罗列了食品组织结构、食品的物理性质、食品的化学性质、食品成分分析、食品微生物学以及食品感官检验等多种专业实验所具备的方法,重点介绍常规实验方法,同时又阐述了上述学科现代前沿领域的实验技术;食品工艺学实验篇则在食品分类的基础上,对不同类型的典型食品制作,从原辅材料品质鉴别、实验原理及设备、产品制作的关键技术及影响因素、产品质量评价等方面进行了系统阐述;食品工程学实习篇是实践性教学环节的重要组成部分,是将学生所学专业通过食品工厂实习,建立理论联系实际以及获得生产实践知识的重要阶段,本篇通过食品产业的分类及食品工厂的特点、食品工厂工艺设计和工厂设计实习等内容,较为翔实地介绍了食品工厂实习的内容与方法。希望这些内容能为读者呈现一个关联食品科学与工程专业实践性教学环节的全貌。通过实验与实习,读者可以了解专业及行业特点,掌握专业工程技术的知识和方法。

本书由四川大学卢晓黎任主编,贾利蓉、吕远平任副主编。第 1 篇由贾利蓉、吴正云撰稿;第 2 篇由吕远平、赵志峰撰稿;第 3 篇由卢晓黎撰稿,全书的统稿和审定由卢晓黎完成。研究生涂雪令、吕芬、王蒙蒙参加了本书的编写、绘图等工作,在此表示衷心的感谢。

由于编者水平所限,书中难免有不足之处,恳请读者及同行批评指正。

编者

2010 年 5 月于成都

目 录

第 1 篇 食品学实验方法

1 食品组织结构研究实验方法	2	3.1.2 水	26
1.1 食品的组织结构	2	3.1.3 碳水化合物	26
1.1.1 概述	2	3.1.4 脂类	27
1.1.2 肉的组织结构	2	3.1.5 蛋白质	27
1.1.3 蛋的组织结构	3	3.1.6 酶	27
1.1.4 乳的组织结构	3	3.1.7 食品风味物质	28
1.1.5 粮油类原料的组织结构	3	3.2 实验方法	28
1.1.6 果蔬类原料的组织结构	3	3.2.1 食品水分活度的测定	28
1.1.7 食用菌的组织结构	4	3.2.2 pH 值的测定	29
1.2 实验方法	4	3.2.3 淀粉糊化度和老化度的测定	30
1.2.1 概述	4	3.2.4 油脂过氧化值的测定	31
1.2.2 非切片法	5	3.2.5 油脂酸价的测定	32
1.2.3 石蜡切片法	5	3.2.6 蛋白质持水力的测定	33
1.2.4 冰冻切片法	6	3.2.7 蛋白质乳化性的测定	33
1.2.5 超薄切片法	7	3.2.8 蛋白质发泡性的测定	34
1.2.6 电子显微镜技术	9	3.2.9 淀粉酶的测定	35
2 食品物理性质测定实验方法	10	3.2.10 脂肪酶的测定	36
2.1 食品的物理性质	10	3.2.11 蛋白酶的测定	37
2.1.1 食品的力学性质	10	4 食品成分分析实验方法	39
2.1.2 食品的热学性质	10	4.1 食品成分分析内容	39
2.1.3 食品的色彩与光学性质	10	4.1.1 食品中的营养成分	39
2.1.4 食品的电学性质	11	4.1.2 食品添加剂	40
2.2 实验方法	11	4.1.3 食品中的有害物质	40
2.2.1 质构的测定	11	4.2 实验方法	40
2.2.2 黏度的测定	13	4.2.1 水分的测定	40
2.2.3 相对密度的测定	15	4.2.2 总酸度的测定	42
2.2.4 旋光度的测定	16	4.2.3 脂类的测定	43
2.2.5 折射率的测定	18	4.2.4 蛋白质的测定	44
2.2.6 色度与色差的测定	19	4.2.5 还原糖的测定	46
2.2.7 电导率的测定	22	4.2.6 总糖的测定	47
2.2.8 热分析技术	23	4.2.7 淀粉的测定	48
3 食品化学性质研究实验方法	26	4.2.8 粗纤维的测定	49
3.1 食品的化学性质	26	4.2.9 水溶性维生素(维生素 C)的测定	50
3.1.1 概述	26		

4.2.10 脂溶性维生素(维生素 A)的测定	51	5.1.4 非细胞生物	62
4.2.11 灰分的测定	53	5.2 实验方法	62
4.2.12 矿物元素的测定	53	5.2.1 食品中细菌总数的测定	62
4.2.13 食品着色剂的检测	55	5.2.2 大肠菌群检验	63
4.2.14 有机氯农药残留的检测	57	5.2.3 肉毒梭菌及肉毒毒素的检验	66
4.2.15 有机磷农药残留的检测	57	5.2.4 沙门菌属的检验	67
4.2.16 黄曲霉毒素 B ₁ 的检测	58	5.2.5 志贺菌属的检验	70
5 食品微生物研究实验方法	61	5.2.6 金黄色葡萄球菌的检验	72
5.1 食品微生物的分类及性质	61	5.2.7 食品中霉菌和酵母菌的计数	72
5.1.1 概述	61	6 实验报告的撰写	74
5.1.2 原核微生物	61	6.1 报告撰写的准备	74
5.1.3 真核微生物	61	6.2 实验报告的格式及要点	74
		6.3 实验报告的文字表述与图表表述	75

第 2 篇 食品工艺学实验

7 烘焙食品工艺实验	78	7.4.2 海绵蛋糕制作	86
7.1 实验原料及品质鉴别	78	7.4.3 韧性饼干制作	87
7.1.1 面粉	78	8 果蔬制品工艺实验	91
7.1.2 糖	78	8.1 实验原料及品质鉴别	91
7.1.3 油脂	79	8.1.1 蔬菜	91
7.1.4 乳制品	79	8.1.2 水果	91
7.1.5 蛋制品	79	8.2 果蔬制品实验原理	91
7.1.6 酵母	80	8.2.1 果蔬变色及防止原理	91
7.2 烘焙食品实验原理	80	8.2.2 抽空处理原理	92
7.2.1 面团调制机理	80	8.2.3 橘子去囊衣原理	92
7.2.2 面团发酵机理	80	8.2.4 蔬菜腌制原理	93
7.2.3 面包烘焙机理	81	8.2.5 果酱凝胶形成原理	93
7.2.4 蛋糕膨松机理	81	8.3 果蔬制品实验设备	94
7.2.5 蛋糕烘焙机理	81	8.3.1 夹层锅	94
7.2.6 面团辊轧原理	82	8.3.2 夹套式蒸发器	94
7.2.7 饼干成形原理	82	8.3.3 常压连续杀菌机	94
7.2.8 饼干烘焙原理	82	8.4 果蔬制品制作	94
7.3 烘焙食品实验设备	82	8.4.1 糖水橘子罐头制作	94
7.3.1 和面机	82	8.4.2 榨菜制作	97
7.3.2 面包成形机	82	8.4.3 苹果果酱制作	99
7.3.3 箱式烤炉	82	9 乳制品工艺实验	102
7.3.4 面团揉圆机	83	9.1 实验原料及品质鉴别	102
7.3.5 打蛋机	83	9.1.1 乳类	102
7.3.6 摇摆式饼干成形机	83	9.1.2 发酵剂	102
7.3.7 面团(馅料)分块机	83	9.2 乳制品实验原理	102
7.3.8 汤发箱	83	9.2.1 酸乳发酵原理	102
7.4 烘焙食品制作	83	9.2.2 稀奶油分离原理	102
7.4.1 普通甜面包制作	83	9.2.3 稀奶油发酵原理	103

9.2.4 奶油压炼原理	103	11.4 饮料制作	124
9.3 乳制品实验设备	103	11.4.1 豆乳制作	124
9.3.1 均质机	103	11.4.2 苹果汁制作	125
9.3.2 发酵罐	103	11.4.3 茶饮料制作	127
9.4 乳制品制作	104	12 发酵酒类工艺实验	129
9.4.1 酸乳制作	104	12.1 实验原料及品质鉴别	129
9.4.2 调味酸乳制作	106	12.1.1 酿造白酒常用原料	129
9.4.3 酸性奶油制作	106	12.1.2 酿酒葡萄	129
10 肉及鱼制品工艺实验	109	12.1.3 酿造黄酒所用原料	129
10.1 实验原料及品质鉴别	109	12.2 发酵酒类实验原理	130
10.1.1 肉	109	12.2.1 酒精发酵机理	130
10.1.2 鱼	110	12.2.2 葡萄酒的酿造原理	130
10.1.3 调味料	110	12.2.3 黄酒的酿造原理	131
10.1.4 香辛料	111	12.3 发酵酒类实验设备	131
10.1.5 添加剂	111	12.3.1 粉碎机	131
10.2 肉及鱼制品实验原理	112	12.3.2 甑桶	132
10.2.1 腌制的作用及原理	112	12.3.3 葡萄破碎去梗机	132
10.2.2 斩拌的原理	112	12.3.4 果汁分离机	132
10.2.3 亚硝酸盐的发色作用机理	112	12.3.5 连续式压榨机	132
10.2.4 鱼糜及其制品弹性的形成 机理	112	12.3.6 发酵设备	132
10.3 肉及鱼制品实验设备	113	12.4 发酵酒制作	132
10.3.1 斩拌机	113	12.4.1 浓香型大曲酒制作	132
10.3.2 绞肉机	113	12.4.2 干红葡萄酒制作	134
10.3.3 采肉机	114	12.4.3 干型黄酒制作	136
10.3.4 擂溃机	114	13 调味品工艺实验	138
10.4 肉及鱼制品制作	114	13.1 实验原料及品质鉴别	138
10.4.1 中式火腿制作	114	13.1.1 制酱油的蛋白质原料	138
10.4.2 午餐肉罐头制作	118	13.1.2 制酱油的淀粉质原料	138
10.4.3 鱼丸制作	120	13.1.3 制豆腐乳原料	139
11 饮料工艺实验	122	13.2 调味品实验原理	139
11.1 实验原料及品质鉴别	122	13.2.1 酱油的发酵原理	139
11.1.1 豆类原料	122	13.2.2 腐乳风味的形成机理	140
11.1.2 水果原料	122	13.3 调味品实验设备	141
11.1.3 蔬菜原料	122	13.3.1 磨浆机	141
11.1.4 茶叶原料	122	13.3.2 圆盘制曲机	141
11.2 饮料实验原理	122	13.3.3 制酪机	141
11.2.1 豆浆真空脱腥原理	122	13.4 调味品制作	141
11.2.2 磨浆原理	123	13.4.1 酱油制作	141
11.2.3 高压均质原理	123	13.4.2 豆腐乳制作	146
11.3 饮料实验设备	123	13.4.3 豆酱制作	149
11.3.1 粉碎机	123	14 食品工艺学实验报告的撰写	152
11.3.2 离心分离机	123	14.1 报告撰写的准备	152
11.3.3 膜分离设备	123	14.2 实验报告的格式及要点	152
		14.3 实验报告的文字表述与图表表述	153

第3篇 食品工程学实习

15 食品工厂实习概论	156	17.1.1 总平面规划内容	175
15.1 食品产业的分类及特点	156	17.1.2 总平面规划要求	176
15.1.1 食品产业的分类	156	17.2 工厂生产车间的设计	178
15.1.2 食品产业的特点	157	17.2.1 生产车间设计内容	178
15.1.3 选择实习工厂的原则	158	17.2.2 生产车间的设计原则及要求	178
15.2 食品工厂实习的目的及内容	160	17.2.3 生产车间的设计实例	184
15.2.1 实习工厂的产品结构	160	17.3 工厂供水排水设计	184
15.2.2 生产工艺技术及生产装备	161	17.3.1 供水排水设计的原则及要求	184
15.2.3 实习工厂的设计概况	161	17.3.2 食品工厂的污水处理	186
15.2.4 生产卫生防范措施	162	17.4 车间空调与空气净化	187
15.2.5 产品检验及产品开发	164	17.4.1 车间通风与空气调节	187
15.2.6 实习工厂的管理模式	165	17.4.2 生产车间空气净化系统	189
15.2.7 实习工厂营销战略	166	17.5 食品工厂的物流设计	193
16 食品工厂工艺实习	167	17.5.1 物流系统	193
16.1 产品方案及班产量	167	17.5.2 仓储及运输和搬运	193
16.1.1 产品方案及班产量	167	17.6 工厂其他公共系统设计	195
16.1.2 季节性因素对产量的影响	167	17.6.1 供电系统	195
16.2 生产工艺流程	168	17.6.2 制冷系统	196
16.2.1 生产工艺流程	168	17.7 工厂辅助设施的设计	197
16.2.2 工艺特点及关键技术	168	17.7.1 检验与技术中心	197
16.3 物料与能源	170	17.7.2 机修车间	198
16.3.1 物料投入产出及储备量	170	17.7.3 行政办公与生活设施	199
16.3.2 生产用水量及用汽量	170	18 食品工厂实习报告的撰写	201
16.4 生产设备	171	18.1 实习报告的撰写概述	201
16.4.1 生产设备的作用及选择	171	18.1.1 报告撰写方法及步骤	201
16.4.2 生产设备的先进性和可靠性	172	18.1.2 报告的格式及表述方法	202
16.5 工厂人员	173	18.2 生产工艺实习报告撰写要点举例	204
16.5.1 工厂人员划分	173	18.2.1 乳制品加工厂实习报告	204
16.5.2 工厂员工定员	173	18.2.2 粮油加工厂实习报告	204
17 食品工厂设计实习	175	18.2.3 肉类加工厂实习报告	204
17.1 工厂总平面规划	175	18.2.4 饮料生产厂实习报告	205

参考文献	206
-------------------	-----

的微生物生长繁殖。时间因素：食品中细菌繁殖一般以每克食品含菌数在10⁶~10⁷个/克为食品腐败的临界值。食品中细菌繁殖速度与温度、湿度、pH值、营养成分等因素有关。在食品中细菌繁殖速度与温度的关系可用Q₁₀表示。Q₁₀是指温度每升高10℃，细菌繁殖速度的增加倍数。Q₁₀值一般在2~3之间。在食品中细菌繁殖速度与pH值的关系可用pH_{0.5}表示。pH_{0.5}是指细菌繁殖速度降低一半时的pH值。pH_{0.5}值一般在4~6之间。在食品中细菌繁殖速度与营养成分的关系可用C_{0.5}表示。C_{0.5}是指细菌繁殖速度降低一半时的营养成分。C_{0.5}值因细菌种类和营养成分而异。

第1篇 食品学实验方法

在食品科学与工程专业课程体系中，与食品化学、食品物性学、食品分析检验及食品微生物学等课程所对应的专业实验课程是专业基础课程的重要组成部分，是学生通过实际操作加深理解和掌握专业基础课程知识不可缺少的环节。为了有助于学生综合实验技能的提高和科研创新能力的培养，本篇把食品科学与工程专业基础实验课程中所涉及的各种实验方法加以归纳总结，内容主要包括食品组织结构、物理性质与化学性质的测定或研究方法，食品成分分析以及食品微生物检验，在重点阐述常规实验方法的基础上，同时又注意了对现代实验技术的介绍。

1 食品组织结构研究实验方法

1.1 食品的组织结构

1.1.1 概述

食品的组织结构是食品科学的一个重要研究内容。众所周知,物质宏观上所表现的物理性质和化学性质是由其内部的微观结构所决定的,很多食品加工现象以及食品自身品质的变化可以通过研究食品的微观结构加以阐述,并得到一些有用的信息以指导生产。随着食品工业的迅速发展与食品科学研究领域的不断拓展,对于食品组织结构的研究日益受到人们的重视并逐步成为一个热点领域。此外,近代物理学、化学、计算机图像处理技术、微电子技术、光电技术等迅猛发展,使得组织切片技术及光学显微镜、扫描电镜、透射电镜、原子力显微镜等仪器设备日臻完善,为食品组织结构的研究工作得以顺利实施提供了有力保障。

人们通常所称的食品是一个非常广泛的概念和复杂的物质体系。从食品加工的角度来看,食品既包括食品原料,又包括半成品与成品。从食品的组成来看,可分为食品原料与添加剂的复杂混合物,以及具有细胞结构的生物体。从食品的形态来看,又可分为液态食品、凝胶状食品、细胞状食品、纤维状食品以及多孔状食品等。下面主要介绍食品原料的组织结构。

1.1.2 肉的组织结构

肉是肌肉组织、结缔组织、脂肪组织和骨骼组织等多种组织的综合物。肌肉组织是肉的主要组成部分,其基本构成单位是肌细胞,又叫肌纤维,呈长线状,不分支,两端逐渐尖细。肌纤维直径为 $10\sim 100\mu\text{m}$,长为 $1\sim 40\text{mm}$,最长可达 100mm 。肌纤维的细胞膜又称肌膜,由蛋白质和脂质组成,具有很好的韧性,因而可承受肌纤维的伸长和收缩。一个肌纤维含有 $1000\sim 2000$ 根肌原纤维。肌原纤维是肌纤维独有的细胞器,是肌肉的伸缩装置,呈细长的圆筒状结构,直径 $1\sim 2\mu\text{m}$,其长轴与肌纤维的长轴相平行并浸润于肌浆中。肌原纤维又由肌丝组成,肌丝分为粗丝和细丝,两者均平行整齐地排列于整个肌原纤维中。肌纤维的细胞质称为肌浆,填充于肌原纤维间和核的周围,是细胞内的胶体物质。

结缔组织是机体的保护组织,并使机体有一定的韧性和伸缩能力。其分布于动物体内各个部位,将不同部分联结和固定在一起。结缔组织是由少量的细胞和大量的细胞外基质及纤维构成。细胞外纤维主要包含胶原纤维、弹性纤维和网状纤维,可以构成致密的结缔组织,也可以构成松软的网状结缔组织。

脂肪组织主要是由退化的疏松结缔组织和大量脂肪细胞积聚而成。脂肪与肉的风味、质构有很重要的关系,例如肌肉的内肌鞘和外肌鞘部位蓄积脂肪时,可使结缔组织失去弹性,肌束易于分离且易咀嚼;当肌肉中有大量脂肪交错其间时,可防止水分蒸发,使肉质柔软,增加了肉的风味。

骨骼是家禽躯体的框架和支柱,在结构上可分为骨膜、骨质和骨髓三部分。骨骼在胴体中所占比例的大小是影响胴体质量和等级的重要因素之一。

肌肉的基本构造单位是肌纤维,每 $50\sim 150$ 条肌纤维聚集成束,称为初级肌束,外有一

层结缔组织，称为肌束膜；数十条初级肌束集结在一起并由较厚的结缔组织包围形成二级肌束；二级肌束再集结形成肌肉块，外面包有一层较厚的结缔组织称为肌外膜。血管、神经通过三层膜穿行其中，伸入到肌纤维的表面，此外还有脂肪沉积于其中，使肌肉断面呈现大理石样纹理。

1.1.3 蛋的组织结构

蛋主要包括蛋壳、蛋壳膜、蛋白、蛋黄四个部分，此外还有系带、蛋黄膜、气室、胚胎等结构。蛋壳及蛋壳膜大约占全蛋质量的12%~13%，蛋白占55%~56%，蛋黄占32%~35%。蛋壳表面有一层不定形可溶性胶体，称为外蛋壳膜，其成分是黏蛋白，具有防止微生物侵入、保护蛋的作用。蛋壳内膜及蛋白膜合称壳下膜，两层膜在蛋的钝端分离形成气室。蛋白位于蛋白膜的内层，系透明的半流动体，并以不同浓度分层分布于蛋内：最外层（稀薄层）占全蛋白的20%~55%；中间层（浓厚层）又可分为次层和再次层，次层是较浓厚的蛋白层，再次层是浓厚蛋白层，整个中间层占全蛋的27%~57%；最内层又称稀薄层，占全蛋的11%~30%。蛋黄与蛋白均属胶体体系，两者之间由蛋黄膜隔离开。蛋黄膜是一层细微而紧密的薄膜，其厚度为16 μ m，具有收缩和膨胀的能力，可保护蛋黄不向蛋白中扩散。在蛋黄两边各有一条浓厚的带状物，称为系带，其作用为固定蛋黄。蛋黄表面有一个2~3mm的白点，称为胚珠。胚珠的下部到蛋黄的中心有一细长近似白色的部分，称为蛋黄芯。整个蛋黄由黄色蛋黄与白色蛋黄交替组成。

1.1.4 乳的组织结构

乳是哺乳动物分娩后由乳腺分泌的一种白色或微黄色的不透明液体。它是一种复杂的分散体系，由脂肪球、酪蛋白胶粒、乳清蛋白、脂蛋白颗粒、矿物质组分、体细胞及乳清等物质组成。水是乳中的分散介质，乳糖、水溶性盐类、水溶性维生素等呈分子或离子状态溶解于水中，微粒直径不到1nm，即以真溶液形态存在。乳清蛋白呈大分子态分散于乳中，其微粒直径约为15~50nm，形成典型的高分子溶液。酪蛋白在乳中形成酪蛋白酸钙-磷酸钙复合体胶粒，胶粒直径约为30~800nm，一般被列入胶体悬浮液的范畴。乳脂肪以脂肪球的形式分散于乳中形成乳浊液，脂肪球直径约为100~10000nm。

1.1.5 粮油类原料的组织结构

粮油类原料主要是指田间栽培的各种粮食作物所产生的果实和种子，如禾谷类、豆类和油料类。大多数禾谷类、豆类和油料类原料的基本结构是一致的，一般都由皮层、胚、胚乳三个主要部分组成。皮层包括果皮和种皮，包裹在胚和胚乳的外部。果皮由子房壁发育而成，一般分为外果皮、中果皮和内果皮三层。种皮由珠被发育而成，包括内种皮和外种皮。禾谷类粮粒的种皮极薄，而各种豆类的种皮一般都很发达。胚是种子生命活动最旺盛的部分，由受精卵发育而成，其结构都由胚芽、胚茎、胚根和子叶四部分组成。胚乳最外层贴近种皮的部分叫糊粉层，由于含有较多的蛋白质又称蛋白质层。豆类与部分油料作物的种子，在发育过程中胚乳被胚吸收，成为双子叶无胚乳的种子，如花生、芝麻等；禾谷类粮粒是单子叶有胚乳的种子，如稻谷、小麦、玉米等，胚乳较为发达。

1.1.6 果蔬类原料的组织结构

果蔬类食物原料大多来源于被子植物的各个器官，例如根、茎、叶、花、果实、种子，形态结构上差异很大，但多属于由薄皮细胞等组织构成的器官及其衍生转变物，通常根据它们的功能和结构不同分为分生组织和成熟组织。分生组织有细胞分裂的能力，可分为原生组织、初分生组织和次分生组织。成熟组织可分为保护组织、薄壁组织、输导组织、机械组织和分泌组织。

果蔬细胞的个体很小,一般直径在 $10\sim 100\mu\text{m}$,由细胞壁、原生质体和液泡等构成。细胞壁分初生壁和次生壁,初生壁是细胞生长期间形成的组织结构,厚度大致为 $1\sim 3\text{nm}$,由纤维素中的微纤丝、果胶质、糖蛋白等物质构成,果胶质和糖蛋白起到交联微纤丝的作用,形成网状结构。果胶质使细胞壁具有很好的伸缩性,使细胞壁随着细胞的生长而扩大。次生壁是细胞停止生长,初生壁不再扩大时,在某些起着支撑作用或输导作用的细胞壁上形成的堆积增厚部分。次生壁主要由纤维素组成,而且排列致密,有一定的方向性,果胶质极少,且不含糖蛋白等物质,因此,次生壁的机械强度很高,伸缩性很小。细胞壁外层是中间层,主要成分是果胶质,其作用是黏结细胞。随着果蔬的成熟,果蔬中释放出果胶酶,果胶酶能够溶解果胶质,使细胞与细胞分离,导致果蔬变软。

1.1.7 食用菌的组织结构

食用菌的组织结构可分为菌丝体和子实体两大部分。菌丝体为食用菌的营养体,是指生长在段木、枯枝落叶或堆肥、粪草等基质中的大量丝状物。营养菌丝广布于基质之中,不断从中吸收养分,供其生长和发育。营养菌丝一部分可伸展到空气中变成气生菌丝,在一定季节或发育阶段,气生菌丝进一步扭结形成子实体,营养菌丝的其余部分仍在基质内维持其营养体的形态和功能。子实体也叫繁殖体,可以产生有性孢子,是食用菌的繁殖器官,也是食用部分,称为菇、蕈或耳,通常所说的食用菌一般是指食用菌的子实体。子实体的形态丰富多样,有伞状、贝壳状、舌状、头状、毛刷状、碗状、耳状等。食用菌中最常见的是伞菌,其子实体像一把小伞,可分为菌盖、子实层体、菌柄、菌环、菌托等部分。

在显微镜下观察,食用菌的菌丝都有横隔膜,由横隔膜将菌丝隔成单核、双核或多核的多细胞构造。每一细胞均由细胞壁、细胞质、细胞核以及线粒体、内质网、液泡、核糖体等细胞器组成。细胞壁是菌丝细胞的外层结构,对细胞具有保护和支持作用。菌丝细胞壁的骨架物质主要由壳多糖微纤维构成,此外还有氨基糖、蛋白质、甘露糖和葡萄糖等。横隔膜是由细胞内壁向内延伸而成,在电镜下可看到膜上有一个孔,在相邻两个菌丝细胞之间,可以发生细胞质的流通。食用菌的细胞核比一般高等动植物的细胞核小($1\sim 5\mu\text{m}$),具有核膜、核仁、核质等结构。

1.2 实验方法

1.2.1 概述

大多数食品的组织结构无法用肉眼进行辨别,需将组织部分或全部制成切片,再借助光学显微镜、电子显微镜或其他新型显微镜观察。在近代组织学和细胞学的研究中,虽然已经应用了组织化学、电子显微镜等新方法和仪器,但显微制片仍然是最基本的技术。显微制片是生物科学及医学科学研究观察细胞、组织的生理、病理形态变化的常用方法。它是将待观察的材料制成极薄的片子,再用不同的染色方法显示细胞和组织的形态以及某些化学成分含量的变化。显微制片的方法很多,大致可以归纳为两大类,即非切片法和切片法。非切片法是不用切片机、不经切片处理而制成切片的方法。切片法是利用化学试剂将组织固定、脱水、透明后,再利用石蜡、火棉胶等支持物质渗透进组织内部,使组织保持一定的硬度并包埋成块,依靠切片机将包埋好的组织块切成薄片,最后根据需要进行染色得到切片的方法。切片法是生物显微制片技术中最常用和最主要的方法,其中又以石蜡切片法最为重要。

近代物理学、化学及生物学等学科的发展,为显微制片提供了丰富的知识和条件,使制片方法不断更新。近年来食品科学家也将这些制片技术应用于食品科学与工程研究领域,但

目前尚未形成系统的、专门适用于各类食品的制片方法,笔者归纳了一些在生物学中应用较为广泛的方法,其中一些方法已被食品科学家所借鉴,期望能起到抛砖引玉的作用。

1.2.2 非切片法

非切片法具有操作简单快速,组织各组成部分不被切断、能保持原有状态等优点,但不能清晰地显示各组织之间的相互关系,更无法显示组织和细胞之间的微细结构,故应用范围较窄,多用于生物的形态观察,在食品科学研究领域应用较少。非切片法的种类较多,可根据试样性质以及观察目的不同,选择适当的处理方法。

(1) 涂片法 将试样直接涂在载玻片上,再经固定、脱水、染色等程序制成标本。适用于液体或半流动性的材料,例如乳、血液、微生物等。

(2) 铺片法 取待观察动植物组织,用尖镊子撕去一层表皮,迅速平铺在载玻片上。主要用于动植物组织的表皮层观察。

(3) 磨片法 将不脱钙的骨组织,经过反复研磨制成切片的方法称为骨磨片。主要用于含有钙盐等矿物质成分的坚硬材料,如脊椎动物的牙齿、坚骨,软体动物的甲壳、珊瑚虫的骨骼等。

(4) 压碎法 将一些幼嫩、柔软的材料置于载玻片上,用小解剖刀将其分散,加染料一滴,再盖上盖玻片,用拇指垂直用力挤压,使组织散成薄片,再进行观察,如对植物根尖观察染色体、通过花粉粒观察发育阶段等。在压碎标本时,由于组织受到压迫,某些组成部分的正常关系位置可能有所变动。

(5) 分离法 采用一定方法消除细胞间质,使细胞分离开来,再经染色后制成切片,主要用于研究组织或器官里的单个细胞或纤维的形状。又分为浸渍分离法和撕碎法。前者利用化学药品使细胞间质溶解,细胞自动分离,取出单个细胞经染色、脱水、透明等处理制成切片。后者是试样经固定或浸渍到一定程度后,用解剖针在解剖镜下撕开的方法,观察单个神经纤维即可用此方法制片。

1.2.3 石蜡切片法

(1) 原理 活的细胞或组织多为无色透明,组织间和细胞内各种结构之间均缺乏反差,在一般光学显微镜下不易清楚区别出来;此外,组织离开机体后会很快死亡和产生组织腐败,失去原有正常结构。而组织经固定、石蜡包埋、切片及染色等步骤,通过光学显微镜或电子显微镜能清晰辨认其形态结构。石蜡切片是组织学常规制片技术中应用最为广泛的方法。

(2) 试剂与仪器 FAA 固定液:福尔马林(甲醛水)5mL,70%的酒精5mL,冰醋酸5mL。

粘帖剂(豪普特):明胶(砂状)0.5~1.0g,蒸馏水100mL,防腐剂石炭酸(或麝香草酚)2g或少许甘油15mL。

石蜡切片机,展片台,包埋纸盒,染色缸等。

(3) 操作方法

① 取材与固定 将样品用刀片切取约1.5cm×1.5cm×0.3cm,放入广口瓶,将FAA固定液倒入盛有样品的广口瓶中,固定时间为24h以上。

② 脱水 依次用70%、80%、90%、95%酒精(中间换一次)脱水各1h,纯酒精(中间换一次)1h。

③ 透明 置于等量纯酒精及二甲苯中1h,二甲苯(中间换一次)中1h。

④ 透蜡 将样品连同二甲苯一起倒入小瓷杯中,然后轻轻倒入熔解的石蜡(熔点52~

54℃), 石蜡在二甲苯的上层凝固起来。此时可将小瓷杯放在 59℃ 的温箱中, 使石蜡徐徐溶解到饱和为止, 约需 1h。倒去含有二甲苯的石蜡, 以后每隔 1h 左右换已溶解的石蜡一次, 共换两次即可进行包埋。

⑤ 包埋 将纸盒放在已经加热的温台上, 从温箱中取出盛放石蜡的蜡杯, 倒入包埋用的纸盒中, 取出存放样品的蜡杯, 迅速轻轻地用温镊子夹取样品平放于纸盒底部, 再用温镊子轻轻拨动样品, 使之排列整齐; 轻轻将纸盒两侧的把手提起, 慢慢地平放在面盆或水槽中的水面上, 待纸盒内石蜡的表面凝固, 即可将纸盒向一侧倾斜, 使冷水从一边浸入纸盒, 并立即使它沉入水中, 使盒中包埋块迅速凝固。待石蜡完全凝固 (约 30min) 后即可取出备用。

⑥ 切片 把包埋好的蜡块用刀片修切成正方形或长方形, 注意勿太靠近组织, 蜡块两边必须切成平行的直线, 以免切下的蜡条弯曲。取小木块, 用蜡铲加上热石蜡, 再熔化蜡块底面, 粘于小木块上, 冷却后装在切片机上进行切片。开启切片机总开关, 连续摇动手轮, 形成连续蜡带。一般切片厚度约为 8~12 μm 。

⑦ 贴片 取一片清洁的载玻片, 加一滴粘贴剂于玻片中央, 然后用洗净的手指加以涂抹成均匀薄层。加 1~2 滴蒸馏水于已涂粘贴剂的载玻片上, 用小镊子夹取预先用刀片割开的蜡带, 放在水面上。将蜡片光亮平整的一面贴于载玻片上, 并使之处于稍偏玻片的一端, 另一端便于粘贴标签。把载玻片置于预先加热的展片台上, 蜡片因受热伸展摊平。待水分干了之后, 将吹风机调至中档, 稍微吹一下玻片以除去气泡。

⑧ 染色 染色方法根据样品的性质确定, 这里介绍番红-固绿对染法。切片在二甲苯中脱蜡约 30min, 等量纯酒精二甲苯中脱蜡约 3min, 经纯酒精以及 95%、90%、80%、70% 各级酒精浸渍处理各 3min, 蒸馏水浸渍处理 3min, 再用 1% 番红水溶液染色 2h 左右, 用水洗去多余染液, 70%、80%、90%、95% 各级酒精中脱水 5min, 用 1% 的固绿 (用 95% 的酒精配制) 染色 1min, 用 95% 酒精清洗一下, 纯酒精脱水 3min, 等量纯酒精二甲苯混合液中脱水 3min, 二甲苯中脱水 3min, 中性树胶封藏。

(4) 注意事项

① 使用透明剂时, 要随时盖紧盖子, 以免空气中的水分进入; 更换每级透明剂, 动作要迅速, 一方面为了不使样品干涸, 另一方面能避免吸收湿气。

② 在透明过程中, 如果样品周围出现白色雾状, 说明样品中的水未被脱净, 应放回纯酒精中重新脱水, 然后再透明。

③ 透蜡时尽量保持在较低温度中进行, 以石蜡不凝固为度; 透蜡温度要恒定, 不可忽高忽低; 操作要迅速, 力求在最短的时间内完成石蜡透入过程, 以免引起组织变硬、变脆、收缩等。

1.2.4 冰冻切片法

(1) 原理 利用物理降温的方法将新鲜的组织冷冻使其产生一定的硬度以利于切片。通常将切片机固定放置在可以控温的冷箱内, 由控制台分别调控冷箱和冻台中组织材料的温度, 由于低温恒冷箱切片机使切片刀、组织材料以及切片和贴片的操作都保持在恒定的冷却环境中, 切片时不受外界温度 and 环境影响, 因此可以达到更好的切片效果。冰冻切片的种类较多, 有低温恒冷箱冰冻切片法、二氧化碳冰冻切片法以及甲醇循环制冷冰冻切片法等。下面介绍低温恒冷箱冰冻切片法。

(2) 试剂与仪器

苏木精染色液 (Harris): 先用 200mL 蒸馏水加热溶解 15g 硫酸铝钾, 用 10mL 无水乙

醇溶解 1g 苏木精,再倒入已溶解的硫酸铝钾溶液中,煮沸 1min 后,稍冷却,慢慢加入红色氧化汞 0.5g,继续加热至染液变为紫红色,用纱布盖瓶口,使用前用滤纸过滤后每 100mL 加冰醋酸 5mL。

水溶性伊红染色液:先将 0.5~1g 水溶性伊红加入 100mL 蒸馏水中,用玻璃棒将伊红搅起泡沫后过滤,每 100mL 加冰醋酸 1 滴。

盐酸酒精分化液:浓盐酸 0.5~1mL 与 75%酒精 99mL 混合。

恒温冰冻切片机。

(3) 操作方法

① 取材 未固定的组织取材时不能太大太厚,厚者冰冻费时,大者难以切完整,一般为 24mm×24mm×2mm。

② 包埋 取出组织支承器,放平摆好组织,周边滴上包埋剂,速放于冷冻台上;小组织的应先取一支承器,滴上包埋剂让其冷冻,形成一个小台后,再放上细小组织,滴上包埋剂。

③ 冰冻 冷冻箱中温度的高低主要根据不同的组织而定,例如,未经固定的组织,温度为-15~-10℃左右,带脂肪的组织为-25℃左右,若含大量的脂肪时则应调至-30℃。

④ 切片 将冷冻好的组织块,夹紧于切片机支承器上,启动粗进退键,转动旋钮,将组织修平。根据不同的组织调好厚度后切片,原则上细胞密集的薄切,纤维多细胞稀的可稍微厚切,厚度一般为 5~10μm。

⑤ 贴片 将切片附贴在载玻片上。

⑥ 固定 冰冻切片附贴于载玻片后,立即放入恒冷箱中的固定液(95%酒精 95mL 和冰醋酸 5mL 的混合液)中,固定 1min,水洗后即可染色。

⑦ 染色 苏木精染色 1~2min,自来水洗 30s。1%盐酸酒精分化 20s,自来水洗 20s。再于稀氨水中返蓝 30s,自来水洗 20s。伊红染色 20s~1min,自来水洗 10s。

⑧ 脱水 分别用 85%、90%、95%酒精脱水 20s、30s、1min,再用纯酒精依次脱水 1min、2min。

⑨ 透明 用二甲苯依次透明 1min、2min、2min 后,中性树胶或加拿大树胶封片。

(4) 注意事项

① 制作冰冻切片,关键在于防卷板的调节上,应准确地将其调至适当位置,使切出的切片能顺利通过刀与防卷板间的通道,平整地躺在持刀器的铁板上。此外,防卷板及切片刀和持刀架上的板块应保持干净,如果有残余的包埋剂粘于刀或板上,将会破坏甚至撕裂切片,使切片不能完整切出。

② 切片时如果发现冰冻过度,可将冰冻的组织连同支承器取出来,在室温停留片刻,再行切片,此外也可调高冰冻点。

③ 用于附贴切片的载玻片,不能存放于冷冻处,于室温存放即可。因为当附贴切片时,从室温中取出的载玻片与冷冻箱中的切片存在温度差,当温度较高的载玻片附贴上温度较低的切片时,由于两种物质间温度的差别,当它们碰撞在一起时,分子彼此间发生转移而产生了一种吸附力,使切片与载玻片牢固地附贴在一起。

1.2.5 超薄切片法

(1) 原理 超薄切片是指把物体切成厚度小于 0.1μm 以下的薄片。超薄切片技术是为透射电子显微镜观察提供薄样品的专门技术,是生物学中研究细胞、组织超微结构最常用的技术,也是生物学中其他电子显微镜技术,如电镜放射自显影、电镜细胞化学以及免疫电镜

等的关键性技术之一。超薄切片技术在生物学的发展过程中占据重要地位,目前各种细胞、组织的超微结构知识几乎都由它提供。

超薄切片是利用超薄切片机进行切片。超薄切片机是一种贵重的精密仪器,根据不同的进刀系统分为热膨胀式和机械进刀式两类。热膨胀式超薄切片机是利用金属杆热胀冷缩产生长度变化的原理来进刀进行切片的,样品杆在电热丝的加热下稳定并极其缓慢地伸长,样品在样品杆的带动下通过锋利的刀刃,并削下样品突出刀刃的部分。电流越大,样品杆膨胀越迅速,切片就越厚,反之越薄。机械进刀式的超薄切片机是以微动螺旋和微动杠杆来提供微小进刀,它操作方便,而且可以切出较大面积的切片。

(2) 试剂与仪器

2.5%戊二醛固定液:将25mL 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.2)和5mL25%戊二醛混合,用双蒸水定容到50mL,在通风橱中操作,配制好的固定液保存在4℃冰箱中。

2%四氧化锇固定液:将装有0.5g四氧化锇的安瓿与棕色磨口瓶一起泡酸1~2天,充分冲水洗净酸液,并用双蒸水冲洗几次;将安瓿放在干净的滤纸上,用硅碳圆盘划几道划痕,再用双蒸水冲洗干净;棕色磨口瓶中加入25mL双蒸水,把安瓿放入棕色磨口瓶内,用干净的粗玻棒在划痕处把安瓿击碎,盖上瓶塞,封闭瓶口;将棕色磨口瓶于4℃放置1~2天,待四氧化锇完全溶解即可使用。

醋酸铀染色液:在25mL试剂瓶中加入20mL50%乙醇,加入约2g醋酸铀,充分混合,室温静置一天后使用。

柠檬酸铅染色液:称量0.01g的柠檬酸铅,加入5mL容量瓶中,用去二氧化碳的双蒸水定容,用力摇荡直至溶液呈乳白色,且无明显沉淀时,加入1~2滴去二氧化碳的10mol/L氢氧化钠,溶液变澄清,密封置于4℃冰箱中。

超薄切片机等。

(3) 操作方法

① 取材 一般样品块的大小不超过0.5mm³。

② 前固定 加入2.5%戊二醛固定液进行前固定,并置于4℃冰箱中保存2h以上。

③ 冲洗 用pH7.2的磷酸盐缓冲液冲洗3次,每次10min。

④ 后固定 用2%四氧化锇固定1~2h。

⑤ 冲洗 同步骤③。

⑥ 脱水 分别用浓度为50%、70%、80%、90%、100%的乙醇进行脱水,每次10~15min,其中100%乙醇脱水2次,其他浓度各1次。也可用丙酮进行梯度脱水。

⑦ 置换 以纯乙醇:纯丙酮=1:1溶液、纯丙酮各置换1次,每次10min。

⑧ 浸透和包埋 分别用纯丙酮与环氧树脂包埋剂浸透1h和2h,放置10h。再将样品置于恒温培养箱中,于35℃、45℃、60℃分别聚合17h、24h、17h。

⑨ 修块 将包埋块安装在特制的夹具上,在显微镜下用单刃刀片修整,去除表面的包埋剂,并做记号以便定位。

⑩ 切片 用超薄切片机进行切片,切片厚度一般为50~70nm。超薄切片的步骤包括安装包埋块、安装玻璃刀、调节刀与组织块的距离、调节水槽液面高度与灯光位置、调节加热电流及切片速度、切片,最后将切片捞在有支持膜的载网上。

⑪ 染色 用醋酸铀、柠檬酸铅在25℃下分别对样品染色15~20min,用双蒸水冲洗干净后即可进行透射电镜观察。

(4) 注意事项

① 在脱水过程中应不时振动样品使它们与脱水剂充分混合，也可以使用特制的旋转或振荡器，更换液体时动作要迅速，注意不要让样品干燥，否则样品内易产生小气泡，使包埋剂难以渗入。更换液体后容器的盖子必须盖紧，防止脱水剂从空气中吸水。

② 超薄切片过程中，切片成功与否，对刀很关键，所以对刀时，要仔细和耐心；切片速度也是影响切片质量的因素之一，通常使用2mm/s的切片速度，稍硬的样品可使用较慢的速度（1mm/s或更慢），但非常硬的样品，如骨骼，需要较快的速度（10mm/s或更快）。

1.2.6 电子显微镜技术

电子显微镜是以短波长的电子束为照明源，用电磁透镜成像，并与特定的机械装置、电子和高真空技术相结合所构成的现代化大型精密电子光学仪器。与光学显微镜相比，电子显微镜用电子束代替了可见光，用电磁透镜代替了光学透镜，并使用荧光屏将肉眼不可见的电子束成像。电子显微镜具有较高的放大倍率，其最大放大倍率超过300万倍，而光学显微镜约为2000倍。电子显微镜的分辨率极高，一般可达0.2nm左右，有的甚至高达0.07nm，比光学显微镜提高了1000倍以上。电子显微镜按结构和用途可分为透射式电子显微镜（简称透射电镜）、扫描式电子显微镜（简称扫描电镜）、反射式电子显微镜和发射式电子显微镜等。食品微观组织结构研究中常用的有透射电镜和扫描电镜等。

（1）透射电镜技术（TEM）透射电镜以短波长的入射电子束与样品作用后产生的透射电子（主要是散射电子）为信号，通过电磁透镜将其聚焦成像，并经过多级放大后，在荧光屏上显示出反映结构信息的电子图像。透射电镜的特点是分辨率高，可达0.1~0.2nm，放大倍数为几万到几十万倍。由于电子易散射或被物体吸收，故穿透力低，必须制备更薄的超薄切片（通常为50~100nm）。电子束投射到样品时，可随组织构成成分的密度不同而发生相应的电子发射，如电子束投射到质量大的结构时，电子被散射的较多，投射到荧光屏上的电子少而呈暗像，电子照片上则呈黑色，称电子密度高；反之，则称为电子密度低。透射电镜的图像为二维结构平面图像，常用于观察那些用普通显微镜所不能分辨的细微物质结构，适用于样品内部超微结构及样品外部形态的观察，也可进行纳米样品粒径大小的测定。

（2）扫描电镜技术（SEM）扫描电镜是用极狭窄的电子束在样品表面扫描，使样品产生二次电子发射，将产生的二次电子用特制的探测器收集，形成电信号运送到显像管，在荧光屏上显示物体表面的立体构象。扫描电镜样品制作时，可不作超薄切片，通常用戊二醛和锇酸等固定样品，经脱水和临界点干燥后，作金属镀膜处理或导电处理，以提高样品二次电子发射率及耐受电子轰击的能力，实现高分辨观察。扫描电镜能观察大而厚的组织表面结构，样品图像层次丰富，富有立体感，可以广泛应用于生物、非生物样品的表面及其断面立体形貌的观察，也能与X射线衍射仪或电子能谱仪相结合，构成电子微探针，用于物质成分分析。