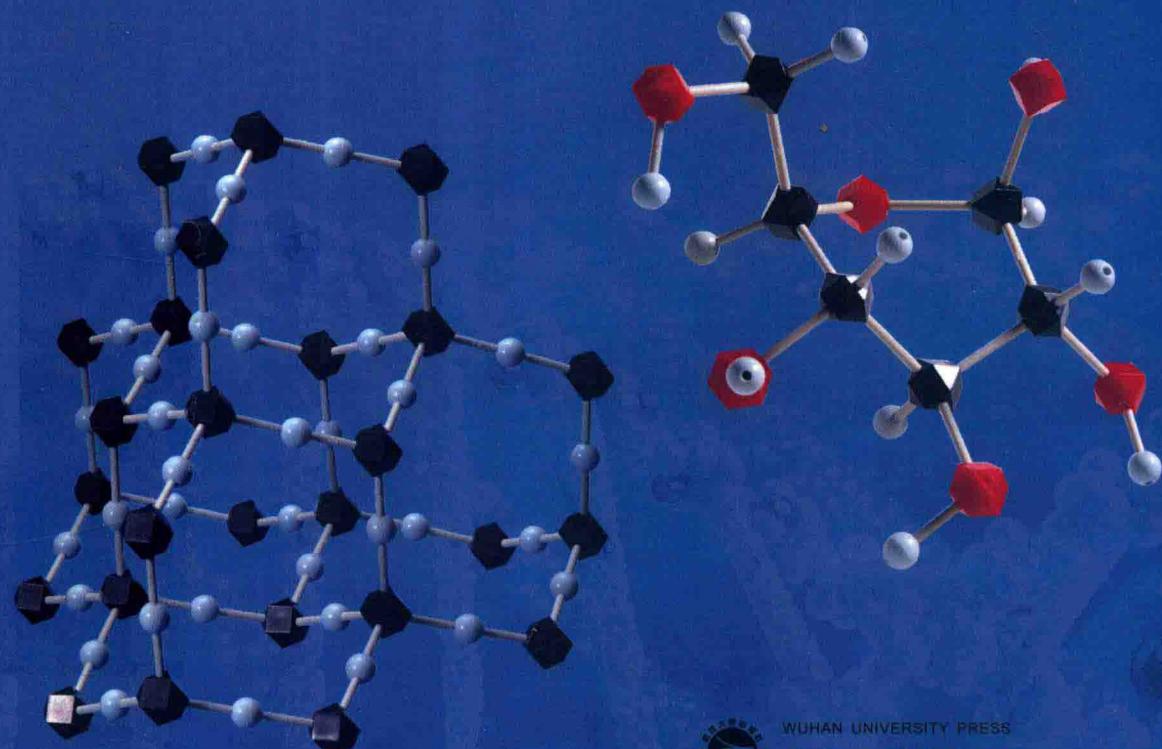


食品生物化学

实训教程

主编 蔡 利



WUHAN UNIVERSITY PRESS

武汉大学出版社

食品生物化学实训教程

主编 蔡利

副主编 清源 王雪波 罗晓妙 高一凡



WUHAN UNIVERSITY PRESS

武汉大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

食品生物化学实训教程/蔡利主编. —武汉:武汉大学出版社,2016.12

ISBN 978-7-307-18874-7

I. 食… II. 蔡… III. 食品化学—生物化学—高等学校—教材
IV. TS201.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 288742 号

责任编辑:刘小娟

责任校对:王小倩

装帧设计:张希玉

出版发行:武汉大学出版社 (430072 武昌 珞珈山)

(电子邮件:whu_publish@163.com 网址:www.stmpress.cn)

印刷:虎彩印艺股份有限公司

开本:787×1092 1/16 印张:11.75 字数:273 千字

版次:2016 年 12 月第 1 版 2016 年 12 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-307-18874-7 定价:31.00 元

版权所有,不得翻印;凡购买我社的图书,如有质量问题,请与当地图书销售部门联系调换。

前　　言

食品生物化学实训是一门应用型专业基础课程,要求将食品生物化学基础知识与实验、生活、生产实际紧密联系。但传统的教学方法,往往将理论知识和实训分离,使得学生对知识的具体应用产生了很多困惑,无法将两者紧密地结合在一起。

本书取材广泛,整体融合,在实际教学体系基础上,突破原食品生物化学实验的固有模式,按知识点循序渐进,将理论知识有效融入实训原理,以具体的实训项目为内容,将食品生物化学课堂教学与实训有机结合,实现“教、学、实训”一体化,以达到理论联系实训的目的。

本书由蔡利担任主编,清源、王雪波、罗晓妙、高一凡担任副主编,具体编写分工为:蔡利(模块一、模块二、模块三、模块四)、清源(模块八和模块十)、王雪波(模块五和模块九)、高一凡(模块六和模块七)。罗晓妙负责全书统稿和审核工作。同时,感谢张忠、巩发永、史碧波和吕海华等同志在编写过程中给出的宝贵意见,以及对本书的支持。

由于编者水平有限,书中难免会出现编写错误,请读者批评指正。

编　　者

2016年10月

目 录

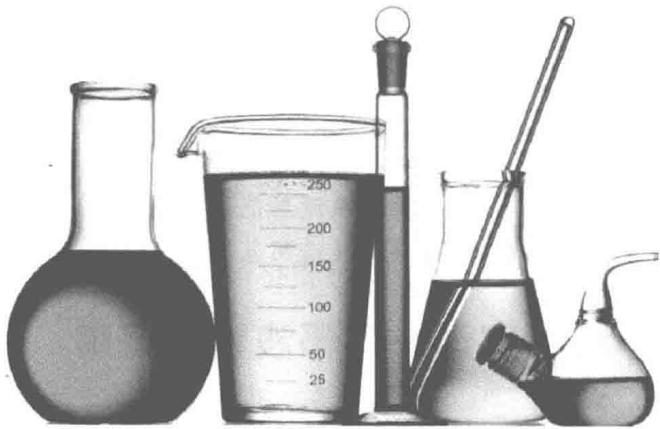
第一篇 基础技能

模块一 玻璃仪器的使用	(2)
实训一 移液管的使用	(2)
实训二 滴定管的使用	(3)
实训三 容量瓶的使用	(4)
模块二 常用仪器的使用	(7)
实训一 电子天平的使用	(7)
实训二 恒温鼓风干燥箱的使用	(8)
实训三 紫外-可见分光光度计的使用	(10)

第二篇 食品生物化学实训

模块三 水	(14)
实训一 食品中水分含量的测定——干燥法	(28)
实训二 食品中水分含量的测定——蒸馏法	(29)
实训三 食品中水分含量的测定——卡尔·费休法	(31)
实训四 食品中水分活度的测定——康威氏皿扩散法	(32)
实训五 食品中水分活度的测定——水分活度测定仪法	(33)
实训六 食品中水分活度的测定——溶剂萃取法	(34)
模块四 糖类	(36)
实训一 食品中还原糖与总糖含量的测定——斐林试剂比色法	(45)
实训二 食品中还原糖与总糖含量的测定——蒽酮比色法	(46)
实训三 食品中还原糖与总糖含量的测定——碱性铜盐法	(47)
实训四 食品中还原糖与总糖含量的测定——铁氰化钾法	(49)
实训五 食品中蔗糖含量的测定	(50)
实训六 粉丝制备和感官评价	(52)
模块五 脂类	(54)
实训一 食品中脂肪含量的测定——索氏提取法	(64)
实训二 食品中脂肪含量的测定——酸水解法	(65)
实训三 食品中脂肪皂化价的测定	(66)
实训四 食品中脂肪酸价的测定	(67)
实训五 食品中脂肪过氧化值的测定	(69)
实训六 食品中脂肪碘值的测定	(70)

模块六 蛋白质	(72)
实训一 食品中氨基酸含量的测定——甲醛滴定法	(94)
实训二 食品中氨基酸含量的测定——茚三酮比色法	(95)
实训三 食品中蛋白质含量的测定——微量凯氏定氮法	(97)
实训四 食品中蛋白质含量的测定——考马斯亮蓝法	(98)
实训五 食品中蛋白质含量的测定——紫外光吸收法	(99)
实训六 食品中蛋白质含量的测定——双缩脲法	(101)
实训七 氨基酸的层析——纸层析	(102)
实训八 氨基酸的层析——薄层层析	(103)
实训九 蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳	(105)
模块七 酶	(107)
实训一 食品中多酚氧化酶活力的测定——比色法	(117)
实训二 食品中淀粉酶活力的测定	(118)
实训三 食品中蛋白酶活力的测定——福林-酚法	(120)
实训四 脲酶米氏常数的简易测定	(121)
实训五 酶的催化作用验证	(122)
实训六 酶催化影响因素的验证	(124)
模块八 核酸	(127)
实训一 食品中 RNA 的提取——稀碱法	(136)
实训二 食品中 RNA 的提取——浓盐法	(137)
实训三 核酸碱基的分离——纸层析法	(138)
实训四 DNA 琼脂糖凝胶电泳	(139)
实训五 核酸的纯度及含量测定	(140)
模块九 维生素	(143)
实训一 食品中维生素 C 含量的测定——靛酚滴定法	(156)
实训二 食品中维生素 C 含量的测定——荧光法	(157)
实训三 食品中维生素 A 含量的测定——三氯化锑法	(159)
实训四 食品中维生素 A 含量的测定——荧光法	(160)
模块十 物质代谢	(162)
实训一 食品发酵过程中中间产物的鉴定	(171)
实训二 脂肪酸的 β -氧化	(173)
实训三 丙酮酸含量的测定	(174)
实训四 肌糖原酵解作用	(175)
实训五 转氨基作用	(177)
参考文献	(179)



第一篇 基 础 技 能

模块一 玻璃仪器的使用



目标与要求

- ①了解移液管、滴定管和容量瓶的种类,以及清洗和保存方法。
- ②熟练掌握移液管、滴定管和容量瓶的使用方法、操作要点及适用范围。



重点与难点

重点:移液管的使用方法、操作要点及适用范围。

难点:滴定管的使用方法、操作要点及适用范围。

实训一 移液管的使用

一、实训目的

- ①熟悉移液管的清洗及保存方法。
- ②熟练掌握移液管的使用方法、操作要点及适用范围。

二、实训内容

1. 移液管的规格型号

1mL、2mL、5mL、10mL、25mL、50mL 等。

2. 移液管的作用

定量取用待测液体。

3. 移液管的使用步骤

①使用前正确选取合适的移液管。

②移液管的清洗。在使用移液管前,首先用清水将其清洗干净,再用待测液体润洗三次。

润洗方法:用手的大拇指和中指捏住移液管上部,将下口插入待测液体内 10~20mm 深,不宜过深或过浅,过深管外壁沾过多的液体,而过浅则易吸空。用洗耳球接在上口,慢慢吸入管容量 1/3 左右的试样液,用食指按住管口,取出横持,并慢慢旋转移液管且接触刻度线以上的位置,然后将液体从管下口放出。此操作重复三次以达到润洗的效果。

润洗的作用:用试液置换管内壁上的水分,不影响移液后液体的浓度。

③吸取液体。吸取试液至刻度线上 5mm 左右,食指按住管上口,提出液面,用滤纸擦掉管外壁的试液,管身垂直,视线水平,慢慢放出液体直至凹液面与刻度线相切为止。

④放出液体。移液管保持垂直,管下端紧靠承接容器内壁(如果承接容器是锥形瓶,

应使锥形瓶倾斜 30°),缓慢放出液体,当液面下降至管尖端处时,管尖端接触瓶内壁约15s后,再移去移液管。

三、实训考核标准

项目	实训内容	考核标准	得分
1	移液管的规格型号	规格型号选择正确(20分)	
2	移液管的清洗	1. 用清水清洗干净(20分) 2. 润洗(20分)	
3	吸取液体,放出液体	1. 操作正确(20分) 2. 操作熟练(20分)	

四、实训结果

考核结果:共分为五级。90分及90分以上为优秀,80~89分为良好,70~79分为中等,60~69分为及格,60分以下为不及格。

五、注意事项

- ①选取移液管时,选取规格与所需移取液体尽量一致的移液管,移取液体的体积不可叠加,需一次完成。
- ②移液管取出液面后,需要擦掉外壁管的液体。
- ③润洗时,润洗液一定要加到刻度线以上。
- ④定量时,视线水平,凹液面与刻度线相切。
- ⑤残留在末端的液体切勿用外力使其流出,在校准时已考虑末端保留液体的体积。

实训二 滴定管的使用

一、实训目的

- ①熟悉滴定管的清洗及保存方法。
- ②熟练掌握滴定管的使用方法、操作要点及适用范围。

二、实训内容

1. 滴定管的规格型号

滴定管分酸式滴定管和碱式滴定管两种,两种滴定管一般都有25mL和50mL两种规格,有白色和棕色两类。

2. 滴定管的作用

在滴定反应中,准确地加入到达反应终点所需的体积。

3. 滴定管的使用步骤

- ①在使用滴定管之前正确选用酸式滴定管或碱式滴定管。前者用于量取酸性液体及

强氧化性溶液,后者用于量取碱性液体。

- ②检漏。
- ③清洗。清洗时先用蒸馏水清洗干净,再用标准液润洗三次。
- ④排气。加入液体并排除尖嘴的空气。
- ⑤滴定。在滴定时先快后慢,在接近终点时逐滴加入。
- ⑥读数。在使用滴定管滴定前要读一次数 V_1 ,滴定完成时再读一次数 V_2 ,而滴定结果为($V_2 - V_1$)。

三、实训考核标准

项目	实训内容	考核标准	得分
1	滴定管的规格型号	1. 规格型号选择正确(15分) 2. 滴定管种类的选择(15分)	
2	检漏	正确操作检漏步骤(20分)	
3	清洗	1. 用蒸馏水清洗干净(15分) 2. 用标准液润洗三次(15分)	
4	滴定、读数	1. 在滴定时先快后慢,在接近终点时逐滴加入(10分) 2. 正确读数(10分)	

四、实训结果

考核结果:共分为五级。90分及90分以上为优秀,80~89分为良好,70~79分为中等,60~69分为及格,60分以下为不及格。

五、注意事项

- ①滴定管尖端在滴定时不得有气泡。快速放液,可赶走酸式滴定管中的气泡;微微倾斜尖嘴玻璃管,并用手指挤压玻璃球,可赶走碱式滴定管中的气泡。
- ②读数时需要读两次,第一次读数时必须先调整液面在0刻度或0刻度以下。
- ③读数时,视线、刻度、液面的凹面最低点在同一水平线上。
- ④酸式滴定管不得盛装碱性溶液,而碱性滴定管不得盛装酸性溶液及强氧化性溶液(如高锰酸钾溶液、双氧水等)。

实训三 容量瓶的使用

一、实训目的

- ①熟悉容量瓶的清洗及保存方法。
- ②熟练掌握容量瓶的使用方法、操作要点及适用范围。

二、实训内容

1. 容量瓶的规格型号

实验室常用的容量瓶有 25mL、50mL、100mL、250 mL、500mL 等。

2. 容量瓶的作用

能准确地配制一定物质的量浓度的溶液。

3. 容量瓶的使用步骤

①检漏。根据需要选择适当容积的容量瓶，并检查容量瓶是否漏液。

②清洗。容量瓶用蒸馏水洗干净并倒置使其干燥。

③配制溶液。容量瓶是在特定温度下定容特定体积的玻璃仪器。由于温度对液体体积的影响，因此在装进容量瓶之前应当使用烧杯进行溶液配制且使溶液温度大致等于室温。

④定容。将配制好的液体倒进容量瓶，并多次清洗盛装配制溶液的容器，清洗液一并倒进容量瓶。当加水至刻度线下 2~3cm 后，改用胶头滴管滴加，视线平视刻度线，加水至凹液面与刻度线相切。

⑤摇匀溶液。定容后，盖上瓶塞用掌心顶住瓶塞，另一只手托住瓶底，注意不要用手掌握住瓶身，以免体温与液体温度不同影响体积的变化，从而影响容积的准确性。随后将容量瓶倒转，使气泡上升到顶，此时可将瓶振荡数次。然后倒转过来，仍使气泡上升到顶，再振荡数次。如此反复，使之混合均匀。

三、实训考核标准

项目	实训内容	考核标准	得分
1	容量瓶的规格型号	规格型号选择正确(15 分)	
2	检漏	正确操作检漏步骤(15 分)	
3	清洗	1. 用蒸馏水清洗干净(15 分) 2. 倒置使其干燥(15 分)	
4	配制溶液	使用烧杯进行溶液配制且使溶液温度大致等于室温(15 分)	
5	定容	视线平视刻度线，加水至凹液面与刻度线相切(15 分)	
6	摇匀溶液	操作正确(10 分)	

四、实训结果

考核结果：共分为五级。90 分及 90 分以上为优秀，80~89 分为良好，70~79 分为中等，60~69 分为及格，60 分以下为不及格。

五、注意事项

- ①在使用新容量瓶配制溶液前,必须在使用前进行校准,校准合格后方可使用。
- ②在混合溶液时,不应在容量瓶里溶解溶质,应将溶质在烧杯里溶解后转移到容量瓶里。
- ③容量瓶只能用于配制溶液,不能长时间或长期储存溶液,因为溶液可能会对瓶体造成腐蚀(尤其是碱性溶液),从而使容量瓶的精度受到影响。
- ④容量瓶用完后应及时洗涤干净并使之干燥。

模块二 常用仪器的使用

目标与要求

- ①了解电子天平、恒温鼓风干燥箱、紫外-可见分光光度计的种类。
- ②熟悉电子天平、恒温鼓风干燥箱、紫外-可见分光光度计的原理。
- ③掌握电子天平、恒温鼓风干燥箱、紫外-可见分光光度计的使用方法、操作要点及适用范围。

重点与难点

重点：电子天平和恒温鼓风干燥箱的使用方法。

难点：紫外-可见分光光度计的使用方法。

实训一 电子天平的使用

一、实训目的

- ①了解电子天平的分类。
- ②熟练掌握电子天平的使用方法、操作要点及适用范围。

二、实训内容

1. 电子天平的分类

按照电子天平的精度，电子天平可分为超微量电子天平、微量电子天平、半微量电子天平、常量电子天平、分析天平和精密电子天平。

2. 电子天平的使用步骤

①安装。电子天平是高精度的称量仪器，安装时选择稳固、平坦，且避免阳光直射、受热和湿度大的地方；避免安装在空气直接流通的通道上。

②调水平。电子天平开机前，应观察其后部水平仪内的水泡是否位于圆环的中央，若不位于中央，应通过电子天平的地脚螺栓调节，左旋升高，右旋下降。

③预热。电子天平在初次接通电源或长时间断电后开机时，至少需要 30min 的预热时间。因此，实验室电子天平在通常情况下，不要经常切断电源。

④校准。以 JA1203 型电子天平为例。按下 ON/OFF 键，接通显示器；等待仪器自检，当显示器显示零时，自检过程结束。轻按 CAL 键，当显示器出现 CAL-时，即松手，显示器就出现 CAL-100，其中“100”为闪烁码，表示校准砝码需用 100g 的标准砝码。此时就把准备好的 100g 校准砝码放到秤盘上，显示器即出现“---”等待状态，经较长时间后显

示器显示 100.000g,拿去校准砝码,显示器应显示 0.000g,若显示的不是 0.000g,则再清零,并重复以上校准操作。

⑤称量。放置称量纸,按显示屏两侧的 Tare 键去皮,待显示器显示零时,在称量纸上加所要称量的试剂称量。称量完毕,按 ON/OFF 键,关断显示器。

三、实训考核标准

项目	实训内容	考核标准	得分
1	电子天平种类的选择	种类选择正确(15 分)	
2	安装	1. 安装时选择稳固、平坦的桌面(10 分) 2. 避免安装在阳光直射、受热和湿度大的地方,以及空气直接流通的通道上(10 分)	
3	调水平	操作正确(15 分)	
4	预热	至少需要 30min 的预热时间(15 分)	
5	校准	操作正确(15 分)	
6	称量	放置称量纸,调零(20 分)	

四、实训结果

考核结果:共分为五级。90 分及 90 分以上为优秀,80~89 分为良好,70~79 分为中等,60~69 分为及格,60 分以下为不及格。

五、注意事项

①天平砝码不要放置在空调下的边台上。搬动过的电子天平必须重新校正好水平,并对天平的计量性能作全面检查无误后才可使用。

②称取吸湿性、挥发性或腐蚀性物品时,应用称量瓶盖紧后称量,且尽量快速完成,注意不要将被称物(特别是腐蚀性物品)洒落在秤盘或底板上;称量完毕,将被称物及时带离天平,并做好称量室的卫生。

③同一个实验应使用同一台电子天平进行称量,以免因称量而产生误差。

实训二 恒温鼓风干燥箱的使用

一、实训目的

①了解恒温鼓风干燥箱的种类。

②熟练掌握恒温鼓风干燥箱的使用方法、操作要点及适用范围。

二、实训内容

以 HG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱为例。

1. 使用环境要求

温度:5~40℃。

相对湿度:小于等于 85%RH。

电源电压:AC220V±10%,50Hz。

周围无强烈震动及腐蚀性气体影响。

2. 抽真空调试

将箱门关上并将门拉手旋紧到位,关闭放气阀(使橡皮塞上的孔与放气阀上的孔扭偏90°),开启真空阀(逆时针旋转90°),第一次使用可能真空阀开关较紧,可用力旋转。

用随机配件真空连接管(内径φ16mm,壁厚10mm)将真空干燥箱抽气管(外径φ16mm)和真空泵(2XZ-2型,进气口外径φ16mm)连接牢固(6090型及6210型已连接好)。接通真空泵电源,开始抽气,当真空表指示值达到-0.1MPa时,先关闭真空阀后关闭真空泵电源,以防止真空泵机油倒流到工作室(6090型及6210型无真空阀,可直接关闭面板上真空泵电源),此时箱内处于真空状态。

3. 真空箱调试

在真空度调试完毕后,可作如下操作:打开真空箱电源,此时电源指示灯应亮(6090型及6210型应再分别打开控温仪开关),控温仪通电自检,PV屏显示工作室测量温度,SV屏显示出厂时设定的温度。控温仪上AT及HEAT等灯应亮,表示仪表进入加温的工作状态。

4. 修改设定温度

按一下控温仪的功能键(SET);PV屏显示SP字符后,可用箭头按钮进行设定温度的修改(6090型与6210型对2个及3个仪表应分别设定修改,以下类同)。

修改完毕后,再按一下SET键,PV屏显示ST字符,设定定时时间。如不使用定时功能,则仍然让其ST=0。再按一下SET键,使PV屏显示工作室温度,SV屏显示新的设定温度。仪表AT及HEAT灯亮,此时仪表重新进入加温的工作状态。

当工作室温度接近设定温度时,HEAT灯忽亮忽暗,表示加热进入PID调节阶段,仪表测量温度有时高于设定温度,有时低于设定温度,均属正常现象。当测量温度接近或等于设定温度后,再待1~2h后工作室进入恒温状态,物品进入干燥阶段。

所需温度较低时,可采用二次设定方式,如所需工作温度为70℃,第一次先设定为60℃,等温度过冲开始回落后,第二次设定为70℃,这样可降低甚至杜绝温度过冲现象,尽快进入恒温状态。

当物品干燥完毕后,关上电源,如果要加速降温,则打开放气阀使真空度为0,待5min左右后再打开箱门。

若工作室干燥物的湿度较大,产生的水气会影响真空泵的性能,建议在干燥箱和真空泵之间,串入一个干燥/过滤器。按需配一个外形尺寸为φ120mm×300mm,接口外径为φ16mm的干燥器。

若在干燥物品的过程中,需要加入氮气等惰性气体,应增配一个进气阀。

注意:①若真空泵正常且符合技术要求,不能抽真空,则打开箱门使用产品附件中的扳手将箱体上的门扣向里拧一圈,重新关门。②此真空干燥箱不能作为电热干燥箱使用,

因工作室不在真空状态,测量温度与工作室实际温度误差极大。

三、实训考核标准

项目	实训内容	考核标准	得分
1	恒温鼓风干燥箱的原理	了解恒温鼓风干燥箱的原理(25分)	
2	使用环境要求	选择正确的环境(25分)	
3	抽空空调试	操作步骤正确(25分)	
4	真空箱调试	操作步骤正确(25分)	

四、实训结果

考核结果:共分为五级。90分及90分以上为优秀,80~89分为良好,70~79分为中等,60~69分为及格,60分以下为不及格。

五、注意事项

- ①真空箱外壳必须有效接地,以保证使用安全。
- ②真空箱应在相对湿度小于等于85%RH,周围无腐蚀性气体、无强烈震动源及强电磁场存在的环境中使用。
- ③真空箱工作室无防爆、防腐蚀等处理,不得放易燃、易爆、易产生腐蚀性气体的物品进行干燥。
- ④真空泵不能长时间工作,因此当真空度达到干燥物品要求时,应先关闭真空阀,再关闭真空泵电源,待真空度小于干燥物品要求时,再打开真空阀及真空泵电源,继续抽真空,这样可延长真空泵使用寿命。
- ⑤干燥的物品如潮湿,则在真空箱与真空泵之间最好加入过滤器,防止潮湿气体进入真空泵,造成真空泵故障。
- ⑥干燥的物品如干燥后变得质量轻、体积小(为小颗粒状),应在工作室抽真空口加隔阻网,以防干燥物吸入而损坏真空泵(或电磁阀)。
- ⑦真空箱经多次使用后,会产生不能抽真空的现象,此时应更换门封条或调整箱体上的门扣伸出距离来解决。当真空箱干燥温度高于200℃时,会产生慢漏气现象(6050型、6050B型、6051型、6053型除外),此时拆开箱体背后盖板,用内六角扳手拧松加热器底座,调换密封圈或拧紧加热器底座来解决。

实训三 紫外-可见分光光度计的使用

一、实训目的

- ①掌握紫外-可见分光光度计的原理。

②熟练掌握紫外-可见分光光度计的使用方法、操作要点及适用范围。

二、实训内容

1. 紫外-可见分光光度计的作用原理

紫外-可见分光光度计采用一个可以产生特定波长的光源，通过系列分光装置，从而产生特定波长的光源，光线透过测试的样品后，部分光线被吸收，得到该样品对该特定波长的吸光值。样品的吸光值与样品的浓度成正比，由此可计算出样品的浓度。

2. 紫外-可见分光光度计的使用步骤

以 7200 型紫外-可见分光光度计为例。

①通电，仪器自检，自检结束后预热 20min。

②用 MODE 键设置测试方式为透射比(T)和吸光度(A)。已知标准浓度值方式(C)和已知标准样品斜率方式(F)。

③用波长选择旋钮设置分析所需的波长。

④将校具黑体置于光路中，在 T 方式下按下%T 键进行自动校正，此时仪器显示为 0.000。

⑤将参比样品推(拉)入光路中，按 0A/100%T 键调 0A/100%T，直至显示器显示的 BLA 为 100.0%T 或 0.000A 后，则表示校正完毕。

⑥样品检测。将参比样品溶液和被测样品溶液分别倒入比色皿中，打开样品室盖，将盛有溶液的比色皿分别插入比色皿槽中，盖上样品室盖。一般情况下，参比样品放在第一个槽位中。仪器所附的比色皿，其透射比是经过配对测试的，未经配对处理的比色皿将影响样品的测试精度。比色皿透光部分表面不能有指印、溶液痕迹，被测溶液中不能有气泡、悬浮物，否则将影响样品测试的精度。

⑦结果显示。将被测样品推(拉)入光路，当仪器显示器显示出 100.0%T 或 0.000A 后，便分别得到被测样品的透射比或吸光度值。

⑧浓度计算。

$$T = \frac{I}{I_0}$$

$$A = KCL = -\lg \frac{I}{I_0}$$

式中 I, I_0 ——入射光及通过样品后的透射光强度；

A ——吸光度；

C ——样品浓度；

L ——液层厚度，即盛放溶液的比色皿的透光厚度；

K ——光被吸收的比例系数；

T ——透射比，即透射光强度与入射光强度之比。