

 普通高等院校规划教材

» 食品生物 化学实验

SHIPIN SHENGWU
HUAXUE SHIYAN

主 编 ○ 李玉奇 赵慧君 孙永林

普通高等院校规划教材

食品生物化学实验

主 编 李玉奇 赵慧君 孙永林

西南交通大学出版社

· 成 都 ·

图书在版编目 (C I P) 数据

食品生物化学实验 / 李玉奇, 赵慧君, 孙永林主编
— 成都: 西南交通大学出版社, 2018.9
普通高等院校规划教材
ISBN 978-7-5643-6455-7

I. ①食… II. ①李… ②赵… ③孙… III. ①食品化学 - 生物化学 - 化学实验 - 高等学校 - 教材 IV.
①TS201.2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 226441 号

普通高等院校规划教材

食品生物化学实验

主编 李玉奇 赵慧君 孙永林

责任编辑	牛 君
封面设计	何东琳设计工作室
出版发行	西南交通大学出版社 (四川省成都市二环路北一段 111 号 西南交通大学创新大厦 21 楼)
发行部电话	028-87600564 028-87600533
邮政编码	610031
网 址	http://www.xnjdcbs.com
印 刷	四川森林印务有限责任公司
成品尺寸	170 mm × 230 mm
印 张	13.75
字 数	246 千
版 次	2018 年 9 月第 1 版
印 次	2018 年 9 月第 1 次
书 号	ISBN 978-7-5643-6455-7
定 价	36.00 元

课件咨询电话: 028-87600533

图书如有印装质量问题 本社负责退换

版权所有 盗版必究 举报电话: 028-87600562

PREFACE

前 言

“食品生物化学”是食品专业的一门重要的专业基础课,它是一门实验性、实践性很强的课程。“食品生物化学实验”是食品类专业必修的基础实验课程。它不仅是食品生物化学课程教学的重要组成部分,而且在培养学生分析和解决问题的能力、严谨的科学态度和独立工作能力方面,有着不可替代的作用。食品生物化学实验课程不仅能培养学生基本操作、动手实践、独立设计实验和理论联系实际等能力,而且能使學生加深对糖类、脂类、蛋白质、核酸及酶类等相关理论知识的理解,同时,对后续专业课的学习和科研能力的培养产生重要的影响。

随着教学改革和对食品类专业学生动手能力的重视,大多数高校在食品专业培养方案中把“食品生物化学实验”设立为一门独立的课程,以扭转部分教师和学生实验教学不够重视,偏颇认为食品生物化学实验只是食品生物化学理论课的附属部分、实验课教学处于从属地位的现状。目前,全国高校中开设食品类专业的有 200 多所,专业理论教学的教材选择比较集中,但实践性教材由于地域特点和实验教学平台建设有很大差别,很难有一本符合大多数高校要求的教材。

本教材共分 4 章,共计 57 个实验。第一章介绍了食品生物化学实验须知,根据在实验教学过程中存在的问题,着重对实验室规则、实验记录、实验报告的书写、实验要求及食品生物化学实验课评分标准进行了说明,目的是对学生上课、实验基本操作、实验记录及实验报告书写等进行规范。第二章介绍了生物分子测定实验,详细介绍了食品原料(包括植物源类、动物源类及微生物源类等)生理生化的各种具体实验过程,内容包括糖类、脂类、氨基酸及蛋白质(酶)类、核酸类、酶类、维生素类等的生化测定。第三章介绍了物质代谢与生物氧化实验。第四章是综合实验,着重培养学生的综合分析能力和创新能力。

本教材由湖北文理学院李玉奇负责全书的统稿及校对工作,并编写实验须知及实验 6~12、22~57;湖北文理学院赵慧君编写实验 1~5;湖北文理学院孙永林编写实验 13~21。在本书编写及出版过程中,湖北文理学院李欢

欢参与部分文字整理工作，并得到湖北文理学院教务处的支持和帮助。西南交通大学出版社为本书的出版提供了极好的建议，付出了很大的努力。在此谨向他们表示真诚的感谢。

本教材通俗易懂，可操作性强，可作为高等院校、专科院校、职业技术学校相关专业学生、教师的实验教材和参考书，也可作为从事相关领域科学研究人员和企业技术人员的学习参考资料。

编者在本书编写过程中力求严谨和正确，但是限于学识水平与能力，书中难免存在错误和欠妥之处，恳请读者不吝批评指正，以使本书日趋完善。

编 者

2018年9月

CONTENTS

目 录

第一章 食品生物化学实验须知	001
第二章 生物分子测定实验	005
第一节 糖类实验	006
实验 1 糖的颜色反应	006
实验 2 糖的还原性鉴定	010
实验 3 总糖和还原糖的测定 (3, 5-二硝基水杨酸比色法)	013
实验 4 总糖含量的测定 (蒽酮比色法)	018
实验 5 葡萄糖含量的测定 (苯酚-硫酸法)	021
第二节 脂类实验	024
实验 6 脂肪的组成	024
实验 7 卵磷脂的提取、纯化与鉴定	027
实验 8 粗脂肪的测定 (索氏提取法)	030
实验 9 碘价的测定	034
实验 10 皂化值的测定	037
实验 11 油脂酸价的测定	040
实验 12 油脂过氧化值的测定	044
第三节 氨基酸及蛋白质类实验	047
实验 13 氨基酸纸层析法	047
实验 14 离子交换柱层析法分离氨基酸	051
实验 15 蛋白质的颜色反应	054
实验 16 蛋白质的沉淀反应及变性反应	057
实验 17 蛋白质的两性反应和等电点测定	061
实验 18 蛋白质含量测定 (紫外分光光度法)	064
实验 19 蛋白质含量测定 (微量凯氏定氮法)	068
实验 20 蛋白质含量测定 (福林-酚试剂法)	073
实验 21 蛋白质含量测定 (双缩脲法)	077

实验 22	蛋白质含量测定 (考马斯亮蓝染色法)	080
实验 23	凝胶层析法分离纯化蛋白质	083
实验 24	SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质的相对 分子质量	086
实验 25	蛋白质印迹免疫技术	091
第四节	核酸类实验	094
实验 26	细菌 DNA 的提取	094
实验 27	CTAB 法提取植物叶片 DNA	098
实验 28	动物肉制品 DNA 的提取	101
实验 29	琼脂糖凝胶电泳检测 DNA	103
实验 30	核酸的定量测定 (紫外分光光度法)	108
实验 31	核酸的定量测定 (定磷法)	111
第五节	酶类实验	114
实验 32	淀粉酶活性的测定	114
实验 33	果胶酶活性的测定 (比色法)	119
实验 34	果胶酶活性的测定 (碘液滴定法)	124
实验 35	胰蛋白酶活性的测定	128
实验 36	过氧化氢酶活性的测定	130
实验 37	过氧化物酶活性的测定	133
实验 38	多酚氧化酶活性的测定	137
实验 39	脂氧合酶活性的测定	140
实验 40	木瓜蛋白酶的提取及其活性测定	144
第六节	维生素类实验	148
实验 41	维生素 C 含量的测定 (2,6-二氯酚靛酚滴定法)	148
实验 42	维生素 C 含量的测定 (磷钼酸法)	152
实验 43	胡萝卜素的定量测定	155
实验 44	叶绿素含量的测定 (分光光度法)	158
实验 45	单宁含量的测定 (比色法)	162
实验 46	单宁含量的测定 (EDTA 配合滴定法)	165
实验 47	单宁含量的测定 (高锰酸钾法)	168

第三章	物质代谢与生物氧化实验	171
实验 48	脂肪酸的 β -氧化	172
实验 49	生物组织中丙酮酸含量的测定	177
实验 50	味精中谷氨酸钠的测定（甲醛滴定法）	180
第四章	综合实验	183
实验 51	蔗糖酶的提取与部分纯化	184
实验 52	DEAE-纤维素层析纯化蔗糖酶	188
实验 53	蔗糖酶活性及蛋白质浓度的测定	191
实验 54	蔗糖酶纯度测定	196
实验 55	蔗糖酶 K_m 值测定及脲的抑制作用	198
实验 56	果蔬中原花色素的提取、纯化与测定	202
实验 57	果胶的提取与果胶含量的测定	207
参考文献		212

第一章



食品生物化学 实验须知

一、实验室规则

(1) 实验课应提前 10 min 到实验室, 在签到本上签到。不旷课, 不迟到, 不早退, 应自觉遵守课堂纪律。

(2) 使用仪器、药品、试剂和各种物品应按正确的操作规程进行, 注意节约。应特别注意保持药品和试剂的纯净, 严防混杂污染。

(3) 实验台、试剂药品架应保持整洁, 仪器、药品摆放整齐。实验完毕, 未使用完的药品、试剂放归原处, 并排列整齐, 仪器洗净倒置放好, 实验台面抹拭干净, 经教师验收仪器后, 方可离开实验室。

(4) 使用和洗涤仪器时, 应小心谨慎, 防止损坏仪器。使用精密仪器时, 应严格遵守操作规程, 发现故障应立即报告教师, 不要自己动手检修。

(5) 在实验过程中要听从教师的指导, 严肃认真地按操作规程进行实验, 并简要、准确地将实验结果和数据记录在实验记录本上。课后写出实验报告, 由课代表收齐交给教师。

(6) 仪器损坏时, 应如实向教师报告, 认真填写损坏仪器登记表。

(7) 每次实验课安排同学轮流值日, 值日生要负责当天实验室的卫生和安全检查。

二、实验记录

(1) 实验前, 每位同学应备好一本食品生物化学实验记录本, 认真对实验内容进行预习, 并将实验名称、实验目的、实验原理、实验内容和步骤等简明扼要写在记录本上。

(2) 实验中使用的药品及试剂名称、纯度、配制浓度, 以及使用的仪器名称、型号、厂家等都要记录清楚。实验过程中观察到的现象、测定数据与计算结果, 应及时直接记在记录本上, 绝对不可以随意记在单片纸上。原始记录必须准确、简练、清楚。以便在食品生物化学实验报告中进行分析讨论时作为必要的参考依据。

(3) 每次实验都应做好实验过程和实验各种数据的记录; 要求字迹清楚, 切不可潦草; 不要随意撕页和涂改; 要用钢笔或圆珠笔做记录, 若文字或数据有误, 应在其上画两横线, 并把正确的填上。

(4) 实验测定的数据, 如质量、体积、各种仪器读数等, 都应准确记录,

并根据仪器的精确度准确记录有效数字。

(5) 每一个实验结果至少要重复观测两次以上, 当符合实验要求并确知仪器工作正常后, 再写在记录本上。因为实验记录上的每一个数字, 反映每一次的测量结果, 所以重复观测时即使数据完全相同也应如实记录下来。

(5) 如果发现记录的结果有怀疑、遗漏、丢失等问题, 都应重做实验。如果将不可靠的结果当作正确的记录, 在实验工作中可能造成难以估计的损失。因此, 在实验过程中要一丝不苟, 培养严谨的实验态度和务实的工作作风。

三、实验报告的书写

实验结束后, 应及时整理、分析和总结实验结果, 写出实验报告。实验报告是本次实验的总结, 通过实验报告的书写, 对实验过程中得出的一些实验现象、数据和结果进行分析总结, 可以进一步加深对所做实验的全面理解, 同时也学习分析与处理各种实验数据的方法, 培养研究分析的能力。

(1) 标题

标题应包括实验名称、实验时间、实验室名称、实验组号、实验者及同组者姓名、实验室条件。

(2) 实验目的

明确实验要学习、掌握的主要内容。

(3) 实验原理

简要叙述实验的基本原理和方法, 不要完全照抄实验指导书。

(4) 材料与试剂

写明实验所用的实验材料名称或来源(所取部位); 列出主要的实验试剂名称、浓度或配制方法。

(5) 实验仪器

写明实验所需主要器材、仪器。

(6) 实验内容

写出实际的实验操作过程, 食品生物化学实验的关键环节一定要写清楚, 不要完全照搬实验指导书上的内容。操作步骤(或方法)可以采用流程图的方式或自行设计的表格来表达, 表述需准确无误, 以便让自己或他人能够重复验证。

(7) 实验结果

将实验中观察到的现象、测定的数据进行整理、计算、分析, 得出相应

的结论。建议尽量使用图表法来表示实验结果,这样可以使实验结果清楚了。

(8) 讨论

在食品生物化学实验中出现问题或结果中产生异常现象和数据时,需从实验原理、过程、操作方法、仪器、试剂,以及数据处理正确与否等方面进行全面分析讨论,并提出合理判断和见解;可以列出实验操作过程中应注意的事项;也可以对整个食品生物化学实验设计提出改进意见,包括对思考题的探讨等;最后可总结本次实验的收获和不足等。

四、实验要求

(1) 食品生物化学实验课前要充分预习,明确本次实验目的、原理、器材和试剂、操作步骤及注意事项等。每大组实验人数 20~30 人,2 人一小组。

(2) 实验试剂的配制,现场由教师指导,学生操作完成。学生在试剂配制过程中,掌握试剂配制的基本步骤、基本方法和注意事项。实验过程中应认真按实验步骤和教师的提示操作,不要盲目地随意动手。

(3) 实验室所有设备都应按照说明书使用,器皿要小心使用,按规范要求操作,如量筒、量杯、容量瓶、移液器、pH 计、电子天平、分光光度计、离心机、电泳仪、PCR 仪等。

(4) 每次实验完毕小组成员务必将本实验台及地面收拾整洁,器皿摆放整齐有序。

(5) 以实事求是、严谨的科学态度如实记录实验结果、现象和数据,认真分析,得出客观的结论。

(6) 及时写好食品生物化学实验报告并按时上交。

五、食品生物化学实验课评分标准

实验预习情况 (10%)

实验操作情况 (30%)

实验报告情况 (20%)

实验考试成绩 (40%)

第二章



生物分子测定实验

第一节 糖类实验

实验 1 糖的颜色反应



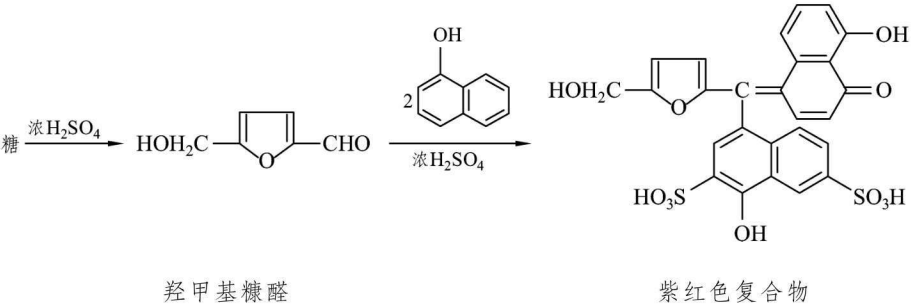
【实验目的】

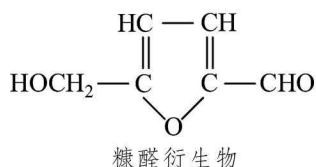
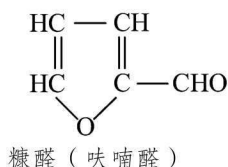
- (1) 了解糖类某些颜色反应的原理。
- (2) 学习应用糖的颜色反应鉴别糖类的方法。

一、 α -萘酚反应（Molisch 反应）

【实验原理】

糖在浓无机酸（硫酸、盐酸）作用下，脱水生成糠醛及糠醛衍生物，后者能与 α -萘酚反应生成紫红色物质（化学方程式及糠醛、糠醛衍生物的结构如下）。因为糠醛及糠醛衍生物对此反应均呈阳性，故此反应不是糖类的特异反应。





【实验试剂】

(1) 莫氏 (Molisch) 试剂:

即 5% α -萘酚的酒精溶液。称取 α -萘酚 5 g, 溶于 95% 酒精中, 并定容至 100 mL, 贮于棕色瓶内。临用前配制。

(2) 1% 葡萄糖溶液:

称取 1 g 葡萄糖, 溶于适量蒸馏水中, 并稀释定容至 100 mL。

(3) 1% 果糖溶液:

称取 1 g 果糖, 溶于适量蒸馏水中, 并稀释定容至 100 mL。

(4) 1% 蔗糖溶液:

称取 1 g 蔗糖, 溶于适量蒸馏水中, 并稀释定容至 100 mL。

(5) 1% 淀粉溶液:

称取 1 g 淀粉, 溶于适量蒸馏水中, 并稀释定容至 100 mL。

(6) 0.1% 糠醛溶液:

称取 0.1 g 糠醛, 溶于适量蒸馏水中, 并稀释定容至 100 mL。

(7) 浓硫酸。

【实验仪器】

电子天平、试管、试管架、滴管、容量瓶 (100 mL)、烧杯、玻璃棒。

【实验内容】

取 5 支试管, 分别加入 1% 葡萄糖溶液、1% 果糖溶液、1% 蔗糖溶液、1% 淀粉溶液、0.1% 糠醛溶液各 1 mL。再向 5 支试管中各加入 2 滴莫氏试剂, 充分混合。斜置试管, 沿管壁慢慢加入浓硫酸约 1 mL, 慢慢立起试管, 切勿摇动。浓硫酸在试液下形成两层。在两液分界处有紫红色环出现。观察、记录各管颜色, 并记录入表 2-1。

【实验结果】

根据观察到的现象进行解释。

表 2-1 糖类与 α -萘酚的颜色反应实验

试剂	现象	解释现象
1%葡萄糖溶液		
1%果糖溶液		
1%蔗糖溶液		
1%淀粉溶液		
0.1%糠醛溶液		

二、间苯二酚反应（Seliwanoff 反应）

【实验原理】

在酸作用下，酮糖脱水生成羟甲基糠醛，后者再与间苯二酚作用生成红色物质。此反应是酮糖的特异反应。醛糖在同样条件下显色反应缓慢，只有在糖浓度较高或煮沸时间较长时，才呈微弱的阳性反应。在实验条件下蔗糖有可能水解而呈阳性反应。

【实验试剂】

- (1) 塞氏（Seliwanoff）试剂：
即 0.05%间苯二酚-盐酸。称取间苯二酚 0.05 g 溶于 30 mL 浓盐酸中，再用蒸馏水稀释定容至 100 mL。
- (2) 1%葡萄糖溶液：
称取 1 g 葡萄糖，溶于适量蒸馏水中，并稀释定容至 100 mL。
- (3) 1%果糖溶液：
称取 1 g 果糖，溶于适量蒸馏水中，并稀释定容至 100 mL。
- (4) 1%蔗糖溶液：
称取 1 g 蔗糖，溶于适量蒸馏水中，并稀释定容至 100 mL。

【实验仪器】

电子天平、容量瓶（100 mL）、试管、试管架、滴管、水浴锅、烧瓶、玻璃棒。

【实验内容】

取 3 支试管，分别加入 1%葡萄糖溶液、1%果糖溶液、1%蔗糖溶液各 0.5 mL。再向各管中分别加入塞氏试剂 5 mL，混匀。将 3 支试管同时放入沸水浴中，注意观察、记录各管颜色的变化及变化时间，并记录入表 2-2。

【实验结果】

表 2-2 糖类与间苯二酚的颜色反应实验

试剂	颜色变化	变化时间	解释现象
1%葡萄糖溶液			
1%果糖溶液			
1%蔗糖溶液			

【思考题】

- （1）可用何种颜色反应鉴别酮糖的存在？
- （2） α -萘酚反应的原理是什么？

【注意事项】

- （1）试管中加入各种糖后，做好标记，并按顺序放到水浴锅中。
- （2）实验过程中，要仔细观察溶液的颜色变化情况。