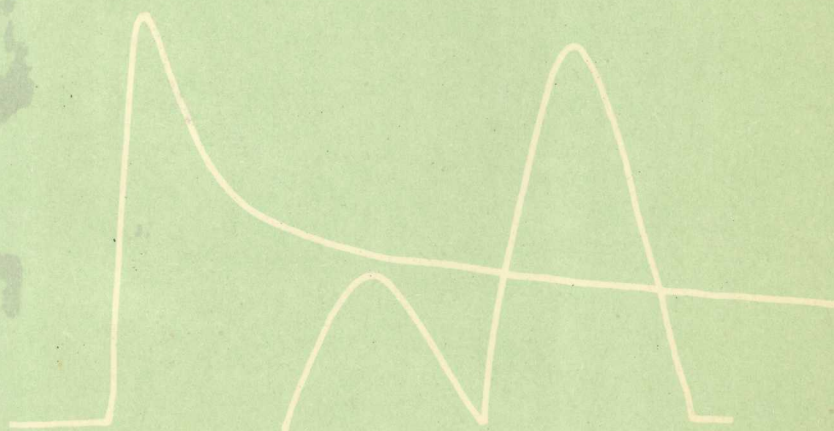


粮食与食品 生化实验指导

主编 郑铁松 龚院生



河南医科大学出版社

粮食与食品生化实验指导

主 编 郑铁松 龚院生
副主编 王章存 汪宝忠
任顺成 卢艳杰

河南医科大学出版社

• 郑 州 •

(豫)新登字第 11 号

粮食与食品生化实验指导

主 编 郑铁松 龚院生

责任编辑 吕全军

责任监制 何 勃

河南医科大学出版社出版发行

(郑州市大学路 40 号 邮编 450052 电话 0371—6988300)

河南省地质矿产厅印刷厂印刷

787×1092 毫米 16 开 9.5 印张 225 千字

1996 年 8 月第 1 版 1996 年 8 月第 1 次印刷

印数:1—3 000 册

ISBN 7-81048-093-6/R·91

定价:12.90 元

内 容 简 介

全书共分两部分：第一部分编写了糖、脂、蛋白质和核酸等的定性定量分析以及酶、果胶、蛋白质等生物大分子的分离、纯化共 60 个实验。这些实验内容既包括了滴定、旋光、分光光度等一般生化实验技术的训练，也包括层析、电泳等高级生化技术的训练；既包括凯氏定氮等经典性生化实验，也包括溶菌酶的提取等实用性很强的实验。同时，还适当选编了一些谷物品质分析及食品加工工艺方面的实验。因此，可适应多层次的需要。第二部分为附录，包括生化实验常用数据表及粮食、食品的常用数据表。

读者对象：本书既可作为粮食院校、轻工院校、农牧院校有关专业本科生、专科生的生化实验教材，也可供相关专业研究生、教师、科技工作者、化验员等参考。

前 言

“生物化学”是食品、粮食、发酵、贮藏等专业的必修课程,但适合这些专业使用的正式实验教材却极少。为此,我们在总结了郑州粮食学院、郑州轻工业学院等院校实验教学的基础上,编写了这本《粮食与食品生化实验指导》。

生化实验教学是生物化学教学的重要组成部分。它与理论教学既有联系,又是一个相对独立的组成部分,有其自身的规律和系统。编写时我们注重使学生对生化实验有一个比较系统和完整的概念,注重基本技能和动手能力的训练,有利于科学思维的提高。同时,还考虑到其适用面和实用性。

本书内容有:糖、脂等生化成分的定性、定量分析;酶、果胶、蛋白质等生物大分子的分离、提纯;谷物品质检验等。还包括生化实验常用数据表。可供粮食院校、轻工院校、农牧院校有关专业的本科生、专科生、中专生的生化实验教学使用,也可供相关专业研究生、教师、科技工作者及工厂化验员等参考。

由于我们的水平有限,在编写过程中,疏漏或错误之处在所难免,希望广大读者提出宝贵意见,以使本书进一步完善和提高。

在编写过程中,郑州粮食学院的周瑞芳教授曾给予了悉心指导,审阅了部分初稿并提出了宝贵意见,同时还得到郑州轻工业学院张平之教授、郑州粮食学院钟洁明教授的大力支持和指导。郑州粮食学院董声蓉同志也给予了大力协助,在此一并感谢。

编 者

1996年5月20日

目 录

实验 1 糖的呈色反应	(3)
实验 2 粮食中还原糖含量的测定——铁氰化钾定量试样法	(4)
实验 3 食物中总糖含量的测定——费林试剂法	(7)
实验 4 粗淀粉含量的测定——1%盐酸旋光法	(9)
实验 5 粗淀粉含量的测定——乙酸-氯化钙旋光法	(11)
实验 6 比色法测定谷物中直链淀粉和支链淀粉含量	(12)
实验 7 粗脂肪含量的测定——索氏提取法	(14)
实验 8 油脂酸值的测定	(16)
实验 9 脂肪酸值的测定	(17)
实验 10 油脂酸败检测及过氧化值的测定	(19)
实验 11 油脂碘值的测定	(21)
实验 12 蛋白质及氨基酸的颜色反应	(23)
实验 13 蛋白质的沉淀及变性作用	(27)
实验 14 氨基酸的纸上层析	(29)
✓ 实验 15 甲醛滴定法测定氨基酸	(31)
实验 16 谷物中赖氨酸含量测定	(33)
实验 17 谷氨酸含量测定——Warburg 测压法	(35)
✓ 实验 18 蛋白质含量的测定——微量凯氏定氮法	(39)
实验 19 蛋白氮和非蛋白氮测定	(44)
✓ 实验 20 蛋白质含量的测定——双缩脲试剂法	(45)
实验 21 蛋白质含量的测定——福林酚试剂法	(46)
✓ 实验 22 蛋白质分子量的测定——SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法	(48)
实验 23 蛋白质分子量的测定——凝胶层析法	(51)
实验 24 蛋白质等电点的测定	(54)
实验 25 人血清的醋酸纤维薄膜电泳	(56)
实验 26 某些维生素的定性实验	(59)
实验 27 抗坏血酸的定量测定	(63)
实验 28 维生素 B ₂ 的定量测定	(65)
实验 29 某些酶的定性实验	(66)
实验 30 酶的专一性实验	(68)
实验 31 谷物籽粒中淀粉酶活力的测定	(70)
实验 32 小麦萌发前后淀粉酶活力比较	(72)

实验 33 谷物中脱支酶活力的测定	(74)
实验 34 小麦及面粉中脂肪氧化酶活力的测定	(76)
实验 35 蛋白酶活力的测定	(77)
实验 36 大豆及豆制品脲酶活力测定	(80)
实验 37 大豆胰蛋白酶抑制剂活性测定	(81)
实验 38 果胶的提取	(83)
实验 39 大豆磷脂的提取与鉴定	(85)
实验 40 酪蛋白的制备	(86)
实验 41 酵母核糖核酸(RNA)的提取及组分鉴定	(88)
实验 42 麦芽中 α - β 淀粉酶的提取及鉴定	(90)
实验 43 溶菌酶的提纯结晶及活力测定	(92)
实验 44 超氧化物歧化酶(SOD)的分离纯化	(96)
实验 45 直链淀粉与支链淀粉的分离及纯度鉴定	(100)
实验 46 粮油籽粒中蛋白质组分的分离纯化及含量测定	(103)
实验 47 核酸的定量测定——定磷法	(104)
实验 48 核糖核酸的定量测定——苔黑酚法	(107)
实验 49 发酵过程中无机磷的利用	(109)
实验 50 湿面筋含量的测定——手洗法	(111)
实验 51 方便面糊化程度的测定	(112)
实验 52 淀粉及谷物糊化温度与糊化特性的测定	(114)
实验 53 小麦面团粉质特性的测定	(115)
实验 54 小麦面团拉伸特性的测定	(119)
实验 55 面包的制作	(122)
实验 56 蛋糕的制作	(123)
实验 57 饼干的制作	(124)
实验 58 酥层糕点的制作	(125)
实验 59 豆奶的制作	(126)
实验 60 水分含量的测定	(128)
附录 1 生化实验规则	(129)
附录 2 实验记录及实验报告的书写	(130)
附录 3 化学试剂的分级与保存	(131)
附录 4 常用酸碱稀释表	(133)
附录 5 标准溶液的配制与标定	(133)
附录 6 常用缓冲溶液的配制	(137)
附录 7 洗液的配制与使用	(142)
附录 8 其他常用附表	(143)

实验1 糖的呈色反应

【目的要求】

1. 掌握糖的几种呈色反应及现象。
2. 了解不同糖的不同显色并予以鉴别。

【原理】

1. α -萘酚反应(Molisch 反应)

糖经浓硫酸或浓盐酸脱水生成糠醛衍生物,后者能与 α -萘酚作用生成紫色物质。

2. 间苯二酚反应(Seliwanoff 反应)

酮糖在浓硫酸或浓盐酸的作用下脱水生成羟甲基糠醛,后者可与间苯二酚结合而显红色,有时还可能出现棕色沉淀,此沉淀溶于乙醇中呈鲜红色。

蔗糖被酸水解后因其产物中有果糖,而呈阳性反应。葡萄糖、麦芽糖亦可呈阳性反应,但反应比酮糖慢得多。

【试剂及仪器】

(一)试剂

1. α -萘酚试剂:称取 α -萘酚 2g 溶于 95%乙醇中,然后用该浓度的乙醇稀释到 100ml,临用时现配制。

2. 2%葡萄糖溶液。

3. 2%蔗糖溶液。

4. 1%淀粉溶液:将 1g 可溶性淀粉加少量蒸馏水调成稀糊状,然后将此稀糊状溶液缓缓加入沸蒸馏水中,并不停地搅拌,最后用沸蒸馏水稀释到 100ml。

5. 浓硫酸。

6. 间苯二酚盐酸试剂:称取 0.05g 间苯二酚于 100ml 盐酸中, $H_2O : HCl = 2 : 1$ V/V, 用时现配。

7. 2%果糖溶液。

(二)仪器

试管及试管架、滴管、水浴锅、电炉。

【操作方法】

(一) α -萘酚反应

取 4 支试管分别加入 2%葡萄糖溶液、2%蔗糖溶液、1%淀粉溶液和蒸馏水各 1ml,然后再各加入 α -萘酚试剂 2 滴(不要滴在管壁上),混匀。将试管倾斜,沿管壁慢慢滴入浓硫酸约 1.5ml,硫酸层沉于试管底部与糖液分成两层,静置几分钟后两液面间出现紫色环。

(二)间苯二酚反应

在 3 支试管中分别加入 2%果糖溶液、葡萄糖溶液和蔗糖溶液 0.5ml,再各加间苯二酚盐酸试剂 2.5ml,混匀。并将 3 支试管放入沸水浴中,注意观察各试管颜色的变化及出现颜

色的先后顺序。

【说明】

戊糖经脱水生成糠醛与间苯二酚缩合亦可呈现颜色反应,但不是红色,而是绿色或蓝色。

【思考题】

如何用化学方法鉴别葡萄糖、果糖和蔗糖?

实验2 粮食中还原糖的测定 ——铁氰化钾定量试样法

【目的要求】

1. 了解还原糖测定的基本原理。
2. 掌握铁氰化钾法测定糖的操作及应用。

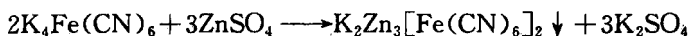
【原理】

在碱性介质中,一定量的过量铁氰化钾可将还原糖氧化成酸类物质。铁氰化钾被还原成亚铁氰化钾,反应体系中剩余的铁氰化钾可用碘量法进行测定。为避免生成的亚铁氰化钾干扰反应,可用硫酸锌使之生成络合物沉淀。

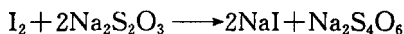
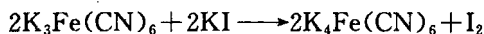


还原糖

糖酸



白色沉淀



在上述反应中试样的还原糖含量多时,剩余的铁氰化钾就少,析出的游离碘也少,则滴定时消耗的硫代硫酸钠的量也少。由此可见,还原糖含量与硫代硫酸钠溶液用量成反比关系。但这种关系还不能完全根据反应式进行计算,而只能根据氧化还原糖时所用去的一定浓度的铁氰比钾溶液的毫升数查经验数据表求得。

【试剂、仪器及实验材料】

(一)试剂

1. 95%乙醇。
2. 0.5%淀粉溶液。

3. 酸性缓冲液: 3ml 冰乙酸, 6.8g 乙酸钠(或 4.1g 无水乙酸钠)与 4.5ml 比重 1.84 的浓硫酸混合, 然后用蒸馏水稀释至 1 000ml。

4. 12% 钨酸钠溶液: 12g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 用蒸馏水溶解后, 稀释至 100ml。

5. 0.1mol/L 铁氰化钾溶液: 32.9g 铁氰化钾和 44g 无水碳酸钠溶于蒸馏水中, 并稀释至 1 000ml 装入棕色试剂瓶内, 存于暗处。

6. 乙酸盐溶液: 70g 氯化钾与 40g 硫酸锌溶于 750ml 蒸馏水中, 加入 200ml 冰乙酸, 再用蒸馏水稀释至 1 000ml。

7. 10% 碘化钾溶液: 10g 碘化钾溶于 100ml 蒸馏水中, 加入 1 滴饱和氢氧化钠溶液, 装入棕色试剂瓶, 存于暗处。

8. 0.1mol/L 硫代硫酸钠溶液: 25g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 和 3.8g 硼砂($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)溶于 1 000ml 煮沸过刚冷却的蒸馏水中, 8~10 天后再次标定。

(二) 仪器

移液管(10ml, 5ml, 2ml)、量筒(50ml, 25ml, 10ml)、微量滴定管(5ml, 10ml)、锥形瓶(100ml, 150ml)、水浴锅。

(三) 实验材料

谷物样品。

【操作方法】

(一) 制备提取液

准确称取 5.675g 粉碎试样(过 40 目筛)置于 100ml 锥形瓶中, 将锥形瓶倾斜以使全部样品集中瓶底一侧。并用 95% 乙醇 5ml 润湿, 再加入 50ml 酸性缓冲液, 振摇使成悬浮液。立即加 2ml 12% 钨酸钠溶液, 振荡 5 分钟, 立刻过滤, 弃去最初 8~10 滴, 剩余的为还原糖提取液, 收集于干燥洁净的锥形瓶中。

(二) 还原糖的测定

准确吸取 5ml 提取液放入 100ml 锥形瓶中, 加 10ml 0.1mol/L 铁氰化钾溶液, 混匀, 在沸水浴中准确加热 20 分钟, 然后立即在流水中冷却, 加入 25ml 乙酸盐溶液和 5ml 碘化钾溶液, 混匀。用 0.1mol/L 硫代硫酸钠溶液滴定成淡黄色, 再加入 0.5% 淀粉溶液 1ml, 继续滴定至蓝色完全消失为止。记下用去的硫代硫酸钠溶液的体积(V_1)。

用 5ml 蒸馏水代替提取液做空白试验, 其余操作与测定样品相同, 记下用去的硫代硫酸钠的体积(V_2)。

样品和空白均需做平行试验 2~3 份。

【结果计算】

先求氧化还原糖所用 0.1mol/L 铁氰化钾溶液的毫升数(V)。

$$V = (V_2 - V_1)K$$

式中: K 为 0.1mol/L 硫代硫酸钠溶液的校正系数。

按 V 值查表 2-1 找出试样中所含还原糖的百分数。如在两数之间, 可按插入法求得。

$$\text{还原糖(占干物质)\%} = \frac{\text{还原糖}\%}{1 - \text{水分}\%} \times 100$$

表 2-1 0.1mol/L 铁氰化钾溶液用量与还原糖含量数据对照表

0.1mol/L 铁氰化 钾溶液用量(ml)	还原糖 含量(%)	0.1mol/L 铁氰化 钾溶液用量(ml)	还原糖 含量(%)	0.1mol/L 铁氰化 钾溶液用量(ml)	还原糖 含量(%)
0.10	0.05	3.30	1.66	6.50	3.67
0.20	0.10	3.40	1.71	6.60	3.70
0.30	0.15	3.50	1.76	6.70	3.79
0.40	0.20	3.60	1.82	6.80	3.85
0.50	0.25	3.70	1.88	6.90	3.92
0.60	0.31	3.80	1.95	7.00	3.98
0.70	0.36	3.90	2.01	7.10	4.06
0.80	0.41	4.00	2.07	7.20	4.12
0.90	0.46	4.10	2.13	7.30	4.18
1.00	0.51	4.20	2.18	7.40	4.25
1.10	0.56	4.30	2.25	7.50	4.31
1.20	0.60	4.40	2.31	7.60	4.38
1.30	0.65	4.50	2.37	7.70	4.45
1.40	0.71	4.60	2.44	7.80	4.51
1.50	0.76	4.70	2.51	7.90	4.58
1.60	0.80	4.80	2.57	8.00	4.65
1.70	0.85	4.90	2.64	8.10	4.72
1.80	0.90	5.00	2.70	8.20	4.78
1.90	0.96	5.10	2.76	8.30	4.85
2.00	1.01	5.20	2.82	8.40	4.92
2.10	1.06	5.30	2.88	8.50	4.99
2.20	1.11	5.40	2.95	8.60	5.05
2.30	1.16	5.50	3.02	8.70	5.12
2.40	1.21	5.60	3.08	8.80	5.19
2.50	1.26	5.70	3.15	8.90	5.27
2.60	1.30	5.80	3.22	9.00	5.34
2.70	1.35	5.90	3.23	9.10	5.42
2.80	1.40	6.00	3.34	9.20	5.50
2.90	1.45	6.10	3.41	9.30	5.58
3.00	1.51	6.20	3.47	9.40	5.68
3.10	1.56	6.30	3.53	9.50	5.78
3.20	1.61	6.40	3.60	9.60	5.88

【说明】

1. 本方法适合于粮食样品中小分子可溶性还原糖含量的测定。
2. 实验结果不是根据测定时所用反应式及试剂的用量直接计算的,而是通过查经验数

据表而得。查表时所用铁氰化钾的体积要用校正系数 K 换算, K 值与实际测定时硫代硫酸钠的准确浓度有关。

3. 成熟的谷物中还原糖含量很低。

【思考题】

1. 硫代硫酸钠的校正系数 K 如何而来?
2. 能否在滴定开始时就加入淀粉指示剂? 为什么?

实验 3 食物中总糖含量的测定 ——斐林试剂法

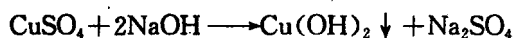
【目的要求】

1. 掌握斐林试剂法测定糖的原理和方法。
2. 正确掌握滴定管的使用方法和热滴定的终点。

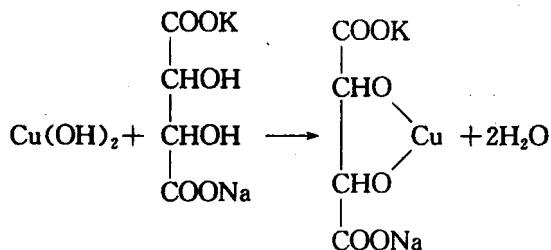
【原理】

糖类经盐酸水解后可以全部转变为单糖。还原糖在碱性溶液中可将 Ag^+ 、 Hg^+ 、 Cu^{2+} 等金属离子还原, 而糖本身则被氧化成各种羟酸。此特性常用于糖的定性和定量测定。

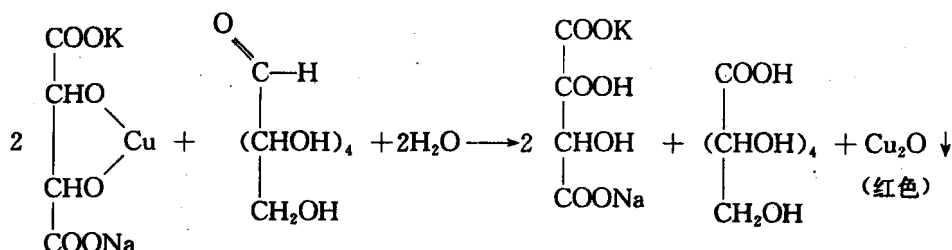
本实验采用斐林试剂热滴定法。氧化剂是斐林试剂, 由甲、乙两种溶液组成: 试剂甲为硫酸铜、次甲基蓝; 试剂乙为氢氧化钠、酒石酸钾钠和亚铁氰化钾。甲、乙两液混合后, 硫酸铜与氢氧化钠反应生成蓝色氢氧化铜沉淀。



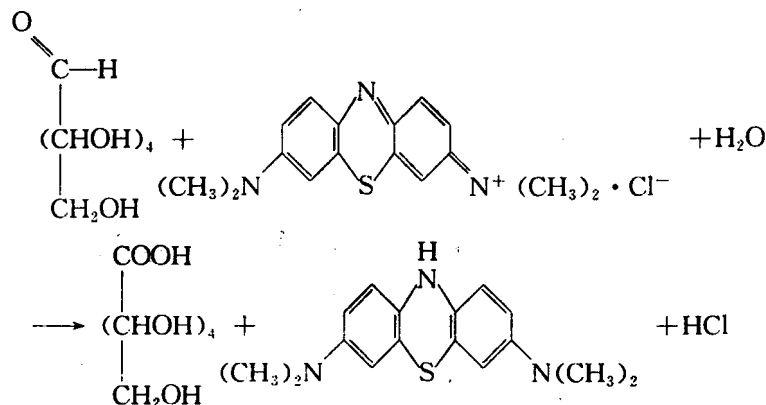
氢氧化铜在酒石酸钾钠存在时呈溶解状态, 生成深蓝色的酒石酸钾钠铜。



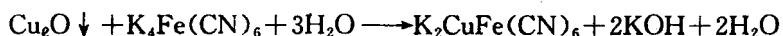
酒石酸钾钠铜与还原糖共热时, 二价铜离子即被还原成一价的氧化亚铜红色沉淀。



斐林试剂中二价铜的还原力比次甲基蓝强,因此,所滴入的标准葡萄糖溶液首先使二价铜还原。只有当二价铜被还原完毕后,才能使次甲基蓝还原为无色。测定中以此作为滴定终点。



由于次甲基蓝遇空气即氧化变蓝色,故整个测定过程必须在隔绝空气的情况下进行,加热保持沸腾,使水蒸气不断逸出,可以防止空气的干扰。但是还不能改善在反应中产生红色或黄色的氧化亚铜沉淀,干扰终点的辨别。为此,一方面提高碱性,增加铜盐的溶解度;另一方面加入亚铁氰化钾使生成的氧化亚铜和亚铁氰化钾形成可溶性化合物而不再析出,使终点敏锐可见。其反应为:



【试剂及仪器】

(一)试剂

1. 斐林试剂

a. 斐林(试剂)甲液:称取 15g 硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)和 0.05g 次甲基蓝,溶于 1 000ml 水中。

b. 斐林(试剂)乙液:称取 50g 酒石酸钾钠,54g 氢氧化钠和 4g 亚铁氰化钾溶于 1 000ml 水中。

2. 标准葡萄糖溶液:称取葡萄糖(预先在 105°C 烘干,恒重)1g,用少量蒸馏水溶解后加入 8ml 浓盐酸(防止微生物生长),再用蒸馏水定容至 1 000ml。

3. 6mol/L 盐酸溶液。

4. 10%氢氧化钠。

5. 85%乙醇。

6. 酚酞指示剂。

(二)仪器

酸式滴定管(25ml)、带塞锥形瓶(250ml)、容量瓶(100ml)、三角烧瓶(125ml)、吸量管(5ml,10ml)及吸量管架、电炉(800W 或 1 000W)、铁架台、石棉网。

【操作方法】

1. 空白测定:准确吸取斐林试剂甲、乙液各 5ml,置于 125ml 三角烧瓶中,加水 10ml 振荡均匀后,放入玻璃珠两粒。从滴定管中一次加入一定量的标准葡萄糖溶液,将三角烧瓶置

电炉上加热,使其2分钟内沸腾。沸腾30秒后,立即以每4~5秒1滴的速度继续滴入标准葡萄糖液直至蓝色消失,溶液呈浅黄色,即为终点。记录消耗标准葡萄糖液总体积(V_1)。至少应做三份平行测定,取其平均值,即为测定空白时耗用的标准葡萄糖液的毫升数(V_1)。

整个滴定过程必须在沸腾状态下快速进行,一般应在3分钟内完成。因此,除控制滴定速度外,滴定前需加入一部分标准葡萄糖溶液,加入溶液的数量,应在正式滴定前的预备滴定试验时确定。

2. 总糖的测定:准确称取样品1g,全部移入250ml带塞锥形瓶中,加6mol/L盐酸10ml、蒸馏水15ml混匀,然后盖住瓶口,置沸水中煮沸半小时,沸腾结束后,立即置流水中冷却,然后于样品中加入酚酞指示剂1滴,用10%氢氧化钠中和至溶液呈微红色。若水解液本身颜色较深,可用精密pH试纸测试,使溶液pH约为7。样液调至中性后,过滤,滤液用100ml容量瓶接收,用水充分洗涤残渣,然后用蒸馏水定容至刻度。摇匀,为测定总糖的样品液。

准确吸取样品液5ml放于125ml锥形瓶内,加入斐林试剂甲、乙液各5ml,混匀,放入玻璃珠2粒。然后从滴定管中加入一定量的标准葡萄糖溶液,将锥形瓶置于电炉上加热,使其2分钟内沸腾。沸腾结束后,立即继续用标准葡萄糖溶液趁沸在电炉上滴定至蓝色消失,溶液呈浅黄色,即为终点。记录消耗标准葡萄糖溶液总体积(V_2)。同样做三份平行测定,取其平均值。

【结果计算】

$$\text{总糖}(\%) = \frac{(V_1 - V_2) \times \text{标准葡萄糖溶液浓度}(\text{g/ml}) \times \text{稀释倍数}}{\text{称取样品}(\text{g})} \times 100$$

式中: V_1 :为测定空白时耗用的标准葡萄糖溶液的体积(ml)。

V_2 :为测定总糖时耗用的标准葡萄糖溶液的体积(ml)。

【思考题】

1. 总糖包括哪些化合物?
2. 在本实验中为什么要设计空白测定?

实验4 粗淀粉含量的测定——1%盐酸旋光法

【目的要求】

1. 掌握旋光仪的操作使用。
2. 了解旋光法测粗淀粉的基本原理。

【原理】

在加热及稀盐酸的作用下,淀粉水解并转入盐酸溶液中。在一定的水解条件下,不同谷物淀粉的比旋光度是不同的。其 $[\alpha]_D^{20}$ 在171~195之间,因此可用旋光法测定粗淀粉的含量。

【试剂、仪器及实验材料】

(一)试剂

1. 1% 盐酸溶液: 将 23.3ml 比重为 1.19 的盐酸用蒸馏水稀释至 1 000ml, 标定后的浓度为 $0.274 \pm 0.001 \text{ mol/L}$ 。

2. 30% 硫酸锌溶液。

3. 15% 亚铁氰化钾溶液。

(二) 仪器

旋光仪、水浴锅、容量瓶(100ml)、锥形瓶(100ml)、分析天平(感量 0.01g)、烧杯。

(三) 实验材料

谷物原料。

【操作方法】

1. 称取粉碎过 40 目筛的样品 2.50g(精确至 0.01g)放入 200ml 烧杯中, 沿器壁缓慢加入 50ml 1% 盐酸溶液, 并轻轻摇动使全部样品湿润, 然后将烧杯放入沸水浴中。在 3 分钟内使其沸腾, 准确沸腾 15 分钟, 立即取出, 迅速冷却至室温。

2. 先加 1ml 30% 硫酸锌溶液, 充分混匀后, 再加入 1ml 亚铁氰化钾溶液, 摇匀, 并全部转移至 100ml 容量瓶中, 用少量蒸馏水将锥形瓶冲洗几次。若泡沫过多, 加几滴无水乙醇消泡, 用蒸馏水定容至刻度。混匀后过滤, 弃去初始滤液 15ml, 收集其余滤液充分混匀后进行旋光测定。

【结果计算】

$$\text{淀粉含量}(\%) = \frac{\alpha \times 100}{[\alpha]_D^{20} \cdot L \cdot W} \times 100$$

式中: α : 测得的旋光度。

$[\alpha]_D^{20}$: 淀粉的比旋光度(见表 4-1)。

L: 旋光管长度(dm)。

W: 样品重量(g)。

表 4-1 不同粮食淀粉的比旋光度

品种	$[\alpha]_D^{20}$	品种	$[\alpha]_D^{20}$
小麦	182.7	马铃薯	195.4
黑麦	184.0	小米	171.4
大麦	181.5	荞麦	179.5
水稻	185.9	燕麦	181.3
玉米	184.6		

【说明】

1. 实验中, 沸水浴要准备足量的水。用定时钟准确记时。

2. 提前打开旋光仪, 使其进入稳定工作状态。

【思考题】

样品加盐酸处理时, 煮沸时间少于或多于 15 分钟会对测定结果产生什么影响?

实验 5 粗淀粉含量的测定

——乙酸-氯化钙旋光法

【目的要求】

1. 熟悉旋光仪的操作使用。
2. 掌握旋光法测定淀粉含量的原理和应用。

【原理】

淀粉在一定的 pH 条件下加热可轻度水解,并可均匀分散在以氯化钙为分散介质的溶液中,形成具有旋光性的水解产物,而其旋光度的大小与淀粉浓度呈正比。

【试剂与仪器】

(一)试剂

1. 氯化钙-乙酸溶液:500g 氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)溶于 600ml 蒸馏水中,过滤至澄清为止,用波美比重计在 20℃ 条件下调比重至 1.3 ± 0.02 ,滴加冰乙酸调 pH 至 2.3 左右(每 1 000ml 溶液约加冰乙酸 2ml),再用酸度计准确调 pH 至 2.3。

2. 30%硫酸锌溶液。

3. 15%亚铁氰化钾溶液。

(二)仪器

容量瓶(100ml)、锥形瓶(150ml)、吸量管(5ml,10ml)、中速定性滤纸:(15~18cm)、分析天平(感量 0.001g)、电热恒温甘油浴锅。

【操作方法】

准确称取粉碎过 60 目筛的样品 2.5g 放入 250ml 烧杯中,先用 10ml 乙酸-氯化钙溶液润湿样品,充分摇匀,加速分散,再沿瓶壁加入 50ml 乙酸-氯化钙溶液。轻轻摇匀,勿使颗粒粘附在瓶壁上,加盖表面皿,置于恒温 $119 \pm 1^\circ\text{C}$ 甘油浴中,使其 5 分钟内达到恒温。再继续加热 25 分钟,取出后立即放入冰槽中。

将水解液全部转移至 100ml 容量瓶中,并用蒸馏水冲洗烧杯 3 次,加 1ml 30%硫酸锌溶液,摇匀,使蛋白质沉淀。再加 1ml 15%亚铁氰化钾溶液,除去剩余硫酸锌的干扰。若有气泡可加几滴无水乙醇消除,然后用蒸馏水定容至刻度,最后用中速滤纸过滤,弃去最初的约 12ml 滤液。

用空白液(乙酸-氯化钙溶液:蒸馏水=6:4)调旋光仪零点,再将滤液装满旋光管,在 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 条件下进行测定,取两次读数平均值。

【结果计算】

$$\text{粗淀粉}(\%) = \frac{\alpha \times 100}{L \times W \times 203 \times (1 - \text{水分}\%)} \times 100$$

式中: α :实际测得的旋光度。

L:旋光管长度(dm)。

W: 样品重量(g)。

203: 淀粉的比旋光度。

【思考题】

过滤时为什么要弃去最初的滤液? 这样会不会影响测定结果?

实验 6 比色法测定谷物中直链和支链淀粉含量

【目的要求】

1. 练习光度计和旋光仪的使用操作。
2. 了解直链淀粉含量测定方法的原理。

【原理】

碘与直链淀粉反应呈纯蓝色, 与支链淀粉反应则随支链淀粉的分支程度而显紫红色到红褐色。碘与淀粉样品反应则随直链与支链淀粉含量不同, 而呈现不同程度蓝紫色。因此可用比色法在 620nm 处测定样品中直链淀粉和支链淀粉的含量。

由于不同粮种的淀粉中所含的直链淀粉和支链淀粉分子大小都不相同, 光学性质差异较大, 所以制作标准曲线时应该用相应粮种中提取的直链淀粉纯品作标准。

【试剂、实验材料与仪器】

(一) 试剂

1. 0.5mol/L 氢氧化钾溶液。
2. 0.1mol/L 盐酸溶液。
3. 碘试剂: 将 2g 碘化钾溶于少量蒸馏水中, 再加 0.2g 碘, 溶解后, 转入 100ml 容量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度。

(二) 实验材料

谷物样品。

(三) 仪器

容量瓶(100ml, 50ml)、吸量管(10ml, 5ml, 1ml)、旋光仪、分光光度计。

【操作方法】

1. 制作直链与支链淀粉混合标准曲线: 准确称取直链和支链淀粉各 50mg 分别放入大试管中, 加几滴无水乙醇湿润样品, 再加 10ml 0.5mol/L 氢氧化钾溶液, 摇匀。然后放入沸水浴中煮沸约 15 分钟, 完全分散后取出冷却。再全部转移到 100ml 容量瓶中, 并用蒸馏水冲洗试管多次, 洗涤液一并倒入 100ml 容量瓶中, 最后用蒸馏水定容至刻度。其中直链淀粉与支链淀粉的浓度分别为 0.5mg/ml。

取 50ml 容量瓶 8 个, 分别按表 6-1 顺序添加各种溶液。