

# 食品化学与 分析实验指导

(试用)

食品科学技术学院食品化学教研室编

# 目 录

实验一	水分的测定(烘重量法)	1
实验二	食品水分活度的测定(直接测定法)	2
实验三	食品水分活度( $A_w$ )的测定(水分活度仪测定法)	4
实验四	粗灰分的测定(干式灰化法)	6
实验五	总酸的测定(滴定法)	7
实验六	还原糖的测定	8
实验七	淀粉含量的测定	11
实验八	淀粉含量的测定(碘量法)	12
实验九	麦拉德反应初始阶段的测定	14
实验十	果胶的提取和果酱的制备	15
实验十一	淀粉糊化及酶法制备淀粉糖浆及其葡萄糖值的测定	16
实验十二	豆类淀粉和薯类淀粉的老化(粉丝的制备与质量感官评价)	19
实验十三	粗脂肪的测定(索氏抽提法)	20
实验十四	脂肪氧化、过氧化值及酸价的测定(滴定法)	22
实验十五	大豆中油脂和蛋白质的分离	24
实验十六	蛋白质的盐析和透析	25
实验十七	蛋白质的功能性质(一)	26
实验十八	蛋白质的功能性质(二)	28
实验十九	粗蛋白质的测定(微量凯氏定氮法)	29
实验二十	可溶性蛋白质的测定(考马斯亮蓝 G-250 法)	31
实验二十一	茚三酮法测定氨基酸总量	32
实验二十二	维生素 C 含量的测定(2,6-二氯酚靛酚法)	34
实验二十三	维生素 C 含量的测定(紫外快速测定法)	36
实验二十四	总抗坏血酸含量的测定(荧光法)	38
实验二十五	从番茄中提取番茄红素和 $\beta$ -胡萝卜素	40
实验二十六	$\beta$ -胡萝卜素含量的测定(HPLC 法)	42
实验二十七	类黄酮含量的测定(HPLC 法)	43
实验二十八	绿色果蔬分离叶绿素及其含量测定	44
实验二十九	水果皮颜色和淀粉白度的测量(测色色差计的使用)	46
实验三十	食品感官质量评价	48

## 实验一 水分的测定（烘重量法）

### 一、原理

常用的果蔬新鲜原料含水量的测定，是将称重后的果蔬置于烘箱中烘去水分，其失重为水分重量。在烘干过程中，果蔬中的结合水，在 100℃ 以下不易烘干，若在 105℃ 以上，样品中一些有机物质（如脂肪）是易氧化使干重增加，而果蔬中的糖分，在 100℃ 上下则易分解，也可使测定产生误差，故烘干温度先为 60-70℃，至接近全干时再改用 100-105℃ 干燥。

### 二、材料、仪器与试剂

- （一）材料：苹果、梨、黄瓜、番茄等。
- （二）仪器：烘箱或真空干燥箱、分析天平、称量瓶、干燥器。
- （三）试剂：氯化钙、变色硅胶

### 三、操作步骤

（一）常压干燥法：取分析样品，果实可除去果核，蔬菜可除去非食用部分，洗净切碎，混匀待用。取称量瓶，放入烘箱中以 100-105℃ 烘干（至恒重），置干燥器中冷却，然后精确称量。取分析样品 5-10g 放入称量瓶中精确称重，然后将称量瓶放入烘箱中，先在 60-70℃ 烘 2-3h 至样品变脆，再以 100-105℃ 烘 2h。取出后置有吸湿剂变色硅胶或干燥氯化钙的干燥器中，冷却后称重，再一次继续烘 0.5-1h。冷却称重，直至两次重量差不超过 0.4mg 为止。

（二）减压干燥法：适用于在 100-105℃ 容易分解的食品，如味精类、糖类、含脂肪高的食品类。

在已知重量的称量瓶内称取样品 5-10g，置真空干燥箱中，将真空干燥箱的温度调至 60-70℃，真空度调至 79980Pa，加热干燥样品至恒重。

### 四、计算

$$\text{水分}(\%) = \frac{(a-b) \times 100}{W}$$

式中：a——干燥前样品重+称量瓶重（g）

b——干燥后样品重+称量瓶重（g）

W——样品重量（g）

## 五、注意事项

(一) 在测定干燥粘稠度大、水分也多，不容易干燥的样品，如乳制品、含糖高的糕点、肉与肉制品等时，可将其放在内含有 10-20g 海砂和一根玻璃棒的已知恒重的蒸发皿中，在砂浴上不断搅拌，使之干燥，然后放入 100-105℃烘箱中，烘至恒重。

(二) 样品如加热至 100℃引起分解，应改为减压干燥法或干燥器内干燥至恒重。

(三) 根据样品种类不同，第一次干燥时间可适当延长，如乳制品、糕点类、含糖高的食品等。

## 实验二 食品水分活度的测定 ——直接测定法

### 一、引言

食品的水分活度除了用仪器直接测定，从仪表上读出水分活度外，还可采用座标内插法来测定。这种方法并不需要特殊的仪器装置，可将一系列已知水分活度的标准溶液与仪器试样一起放入密闭的容器中，在恒温下放置一段时间，测定食品试样重量的增减，根据增减值绘出曲线图，从图上查出食品重量不变值，这个不变值就是该食品试样的水分活度  $A_w$ 。

### 二、实验材料、试剂和仪器

苹果块，饼干。

标准饱和盐溶液，其标准饱和溶液的  $A_w$  值如下表：

标准试剂	$A_w$	标准试剂	$A_w$
LiCl	0.11	NaBr · 2H <sub>2</sub> O	0.58
CH <sub>3</sub> COOK	0.23	NaCl	0.75
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.33	KBr	0.83
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.43	BaCl <sub>2</sub>	0.90
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.52	Pb(NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	0.97

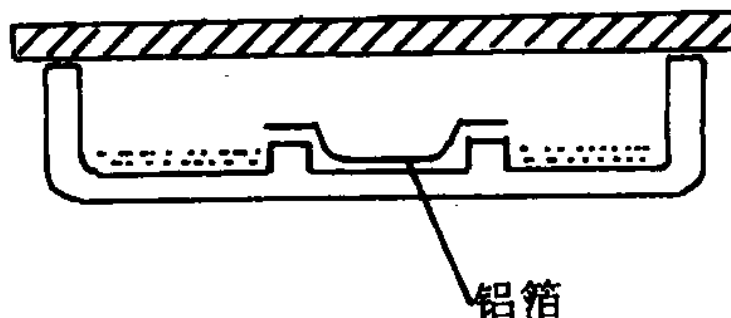


图 2.1 康维容器

### 三、 实验步骤

(1) 在康维容器的外室放置标准盐饱和溶液，在内室的铝箔皿中加入 1g 左右的食品试样，试样先用分析天平称重，准确至 mg 数，记录初读数。

(2) 在玻璃盖涂上真空脂密封，放入恒温箱在 25℃ 保持 2 小时，准确称试样重，以后每半小时称一次，至恒重为止，算出试样的增减重量。

(3) 若试样的  $A_w$  值大于标准试剂，则试样减重；反之，若试样的  $A_w$  比标准试剂小，则试样重量增加。因此要选择 3 种以上标准盐溶液与试样一起分别进行试验，得出试样与各种标准盐溶液平衡时重量的增减数。

(4) 在坐标纸上以每克食品试样增减的毫克数为纵座标，以水分活度  $A_w$  为横座标作图，在图 2.2 中的 A 点是试样  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  标准饱和溶液平衡后重量减少 20.2mg/g 试样，B 点是试样与  $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  标准饱和溶液平衡后失重 5.2mg/g 试样，而这三种标准饱和溶液的  $A_w$  分别为 0.33、0.52 和 0.75。把这三点连成一线，与横座标相交于 D 点，D 点即为该试样的水分活度  $A_w$  为 0.60。

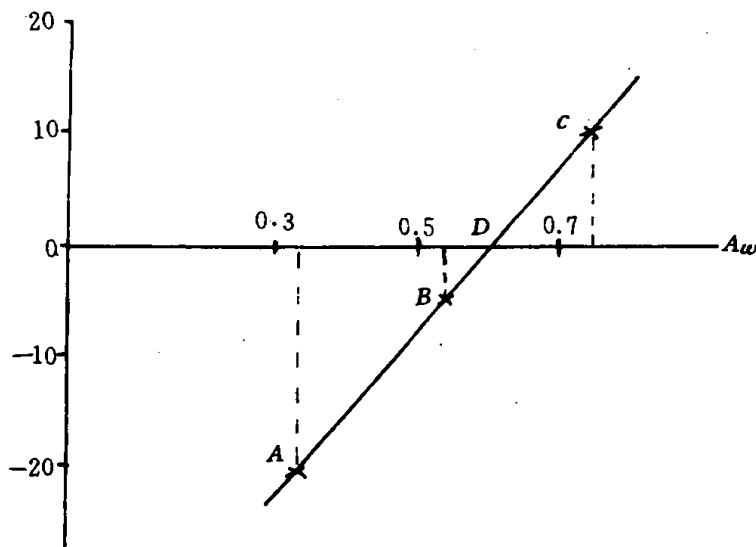


图 2.2 试样重量的增减与水分活度的关系

### 四、 注意事项

- (1) 注意试样称重的精确度，否则会造成测定误差。
- (2) 对试样的  $A_w$  值的范围预先有一个估计，以便正确地选用标准盐饱和溶液。

- (3) 若食品试样中含有酒精一类的易溶于水又具有挥发性的物质时，则难以准确测定其  $A_w$  值。

## 实验三 食品水分活度 ( $A_w$ ) 的测定

### —— 水分活度仪测定法

#### 一、 引言

食品中的水是以自由态、水合态、胶体吸润态、表面吸附态等状态存在的。不同状态的水可分为两类：由氢键结合力联系着的水称为结合水；以毛细管力系着的水称为自由水。自由水能被微生物所利用，结合水则不能。食品中含水量，不能说明这些水是否都能被微生物所利用，对食品的生产 and 保藏均缺乏科学的指导作用；而水分活度则反映食品与水的亲和能力大小，表示食品中所含的水分作为生物化学反应和微生物生长的可用价值。

水分活度近似地表示为在某一温度下溶液中水蒸汽分压与纯水蒸汽压之比值。拉乌尔定律 (Raoult's Law) 指出，当溶质溶于水，水分子与溶质分子变成定向关系从而减少水分子从液相进入汽相的逸度，使溶液的蒸汽压降低，稀溶液蒸汽压降低度与溶质的摩尔分数成正比。水分活度也可用平衡时大气的相对湿度 (ERH) 来计算。故水分活度 ( $A_w$ ) 可用下式表示：

$$A_w = \frac{p}{P_o} = \frac{n_o}{n_l + n_o} = \frac{ERH}{100}$$

式中： $P$ —样品中水的分压；

$P_o$ —相同温度下纯水的蒸汽压；

$n_o$ —水的摩尔数；

$n_l$ —溶液的摩尔数；

ERH—样品周围大气的平衡相对湿度 (%)。

水分活度测定仪主要是在一定温度下利用仪器装置中的湿敏元件，根据食品中水蒸汽压力的变化，从仪器表头上读出指针所示的水分活度。本实验要求掌握利用水分活度测定仪测定食品水分活度的方法和了解食品中水分存在的状态。

#### 二、 实验材料、试剂和仪器

苹果块，市售蜜饯，面包，饼干。

氯化钡饱和溶液。

SJN5021 型水分活度测定仪 (无锡江宁机械厂)。

#### 三、 实验步骤 (当所用的水分活度测定仪不同时，按照仪器说明书进行操作)

(1) 将等量的纯水及捣碎的样品(约 2g)迅速放入测试盒,拧紧盖子密封,并通过转接电缆插入“纯水”及“样品”插孔。固体样品应碾碎成米粒大小,并摊平在盒底。

(2) 把稳压电源输出插头插入“外接电源”插孔(如果不外接电源,则可使用直流电),打开电源开关,预热 15 分钟,如果显示屏上出现“E”,表示溢出,按“清零”按钮。

(3) 调节“校正 II”电位器,使显示为  $100.00 \pm 0.05$ 。

(4) 按下“活度”开关,调节“校正 I”电位器,使显示为  $1.000 \pm 0.001$ 。

(5) 等测试盒内平衡半小时后(若室温低于  $25^{\circ}\text{C}$ ,则需平衡 50 分钟),按下相应的“样品测定”开关,即可读出样品的水分活度( $A_w$ )值(读数时,取小数点后面三位数)。

(6) 测量相对湿度时,将“活度”开关复位,然后按相应的“样品测定”开关,显示的数值即为所测空间的相对湿度。

(7) 关机,清洗并吹干测试盒,放入干燥剂,盖上盖子,拧紧密封。

#### 四、 注意事项

(1) 在测定前,仪器一般用标准溶液进行校正。下面是几种常用盐饱和溶液在  $25^{\circ}\text{C}$  时水分活度的理论值(如果不符,要更换湿敏元件)。

氯化钡 ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.901
溴化钾 (KBr)	0.842
氯化钾 (KCl)	0.807
氯化钠 (NaCl)	0.752
硝酸钠 ( $\text{NaNO}_3$ )	0.737

(2) 环境不同,应对标准值进行修正。

温度 $^{\circ}\text{C}$	校正数	温度 $^{\circ}\text{C}$	校正数
15	-0.010	21	+0.002
16	-0.008	22	+0.004
17	-0.006	23	+0.006
18	-0.004	24	+0.008
19	-0.002	25	+0.010
20	$\pm 0.00$		

(3) 测定时切勿使湿敏元件沾上样品盒内样品。

(4) 本仪器应避免测量含二氧化硫、氨气、酸和碱等腐蚀性样品。

(5) 每次测量时间不应超过一小时。

## 实验四 粗灰分的测定 (干式灰化法)

### 一、 原理

将食物样品灼烧，使其中的有机物氧化成  $\text{CO}_2$ ， $\text{H}_2\text{O}$  及 N，S 的氧化物挥发掉，无机盐类转变成金属氧化物残留下来，这部分残留物就是灰分。由于有机物燃烧不完全，有残余的碳存在，故称之为粗灰分。除去残余碳后，称之为真灰分。

通过灼烧的手段分解食品样品的方法，称为干灰化法。

### 二、 材料与仪器

(一) 材料：水果、蔬菜、其它加工食品。

(二) 仪器：瓷坩埚、长柄坩埚钳、干燥器、马福炉、分析天平。

### 三、 操作步骤

将洗净的瓷坩埚放入马福炉中，在  $500-600^\circ\text{C}$  灼烧 0.5h，冷却至  $200^\circ\text{C}$  后，用坩埚钳将其取出，放入干燥器中冷却到室温后，精确称重  $W_0$ 。

取固体样品 2-5g，或液体样品 5-10g，放入坩埚中，称重  $W_1$ ，然后在电炉上加热使样品碳化至无烟。易发泡的含糖、淀粉、蛋白质等较多的样品，可预先在样品中滴加几滴纯植物油。

液体样品先在水浴上蒸干，再放电炉上加热，直至碳化。

将坩埚移至马福炉中，在  $525^\circ\text{C} \pm 25^\circ\text{C}$  下灼烧灰化至碳微粒消失，样品呈灰白色止，冷却至  $200^\circ\text{C}$  后，用坩埚钳取出坩埚，放入干燥器中冷却至室温。精确称重。再灼烧 1h，冷却、称重，两次称重相差不超过 0.5mg 为恒重  $W_2$ 。

### 四、 计算

$$\text{粗灰分}\% = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

式中： $W_0$ ——坩埚重量 (g)

$W_1$ ——坩埚和样品重量 (g)

$W_2$ ——坩埚和粗灰分重量 (g)



## 五、 注意事项

- (一) 坩埚在使用前应先用稀盐酸煮沸 1h，洗净，烘干后再使用。
- (二) 灼烧温度过高或升温太快，会引起钠、钾的氯化物挥发损失，而且钠、钾的磷酸盐和硅酸盐也易熔融而把碳粒包藏起来不易烧尽。

## 实验五 总酸的测定 (滴定法)

### 一、原理

果汁具有酸性反应，这些反应取决于游离态的酸以及酸式盐存在的数量。总酸度包括未解离酸的浓度和已解离酸的浓度。酸的浓度以摩尔浓度表示时，称为总酸度。含量用滴定法测定。果蔬中含有各种有机酸，主要有苹果酸、柠檬酸、酒石酸、草酸……。果蔬种类不同，含有机酸的种类和数量也不同，食品中酸的测定是根据酸碱中和的原理，即用标定的氢氧化钠溶液进行滴定。

### 二、材料、仪器与试剂

- (一) 材料：桃、杏、苹果、蔬菜等
- (二) 仪器：碱式滴定管（20ml）、容量瓶（100ml）、移液管（10ml）、烧杯（100ml）、研钵或组织捣碎机、天平、漏斗、滤纸等。
- (三) 试剂

1. 0.1mol/L 氢氧化钠：称 4.0g 氢氧化钠定容至 1000ml，然后用 0.1mol/L 邻苯二甲酸氢钾标定，若浓度太高可酌情稀释。

2. 1%酚酞指示剂：称 1.0g 酚酞，加入 100ml 50%的乙醇溶解。

### 三、操作步骤

准确称取混合均匀磨碎的样品 10.0g（或吸 10.0ml 样品液），转移到 100ml 容量瓶中，加蒸馏水至刻度、摇匀。用滤纸过滤，准确吸取滤液 20ml 放入 100ml 三角瓶中，加入 1%酚酞 2 滴，用标定的氢氧化钠滴定至初显粉色在 0.5min 内不褪色为终点，记下氢氧化钠用量，重复三次，取平均值。

### 四、计算

$$\text{总酸度 (\%)} = \frac{V}{W} \times \frac{C \times N \times \text{折算系数}}{V_1} \times 100$$

式中：V——样品稀释总体积（ml）

$V_1$ ——滴定时取样液体积

C——消耗氢氧化钠标准液毫升数

N——氢氧化钠标准液摩尔浓度

W——样品重量 (g)

折算系数：即不同有机酸的毫摩尔质量 (g/mmol)，食品中的总酸度往往根据所含酸的不同，而取其中一种主要有机酸计量。食品中常见的有机酸以及其毫摩尔质量折算系数如下：

苹果酸——0.067 (苹果、梨、桃、杏、李子、番茄、莴苣)

醋酸——0.060 (蔬菜罐头)

酒石酸——0.075 (葡萄)

柠檬酸——0.070 (柑橘类)

乳酸——0.090 (鱼、肉罐头、牛奶)

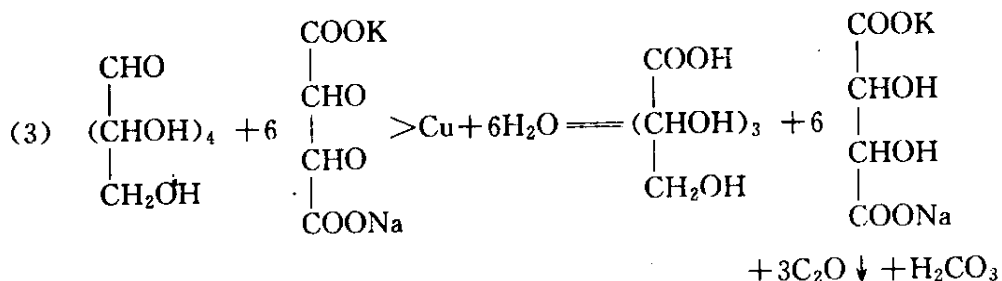
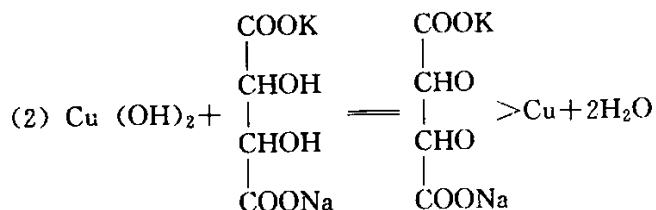
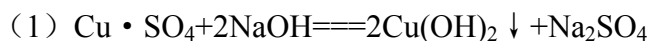
## 实验六 还原糖的测定

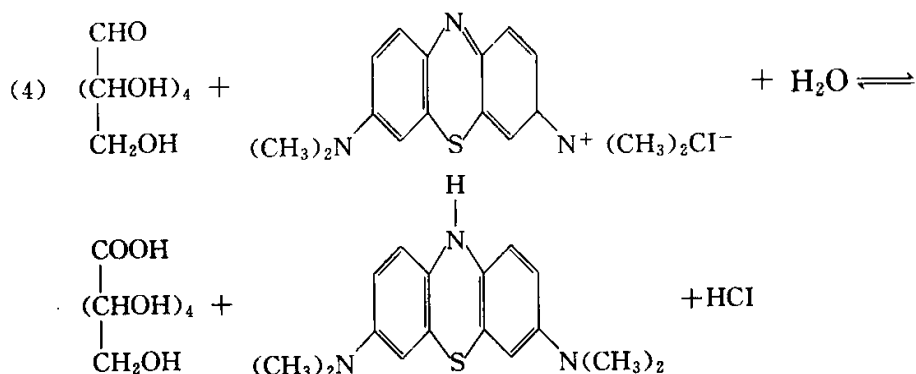
### 一、引言

还原糖是指具有还原性的糖类。在糖类中，分子中含有游离醛基或酮基的单糖和含有游离潜醛基的双糖都具有还原性。葡萄糖分子中含有游离醛基、果糖分子中含有游离酮基，乳糖和麦芽糖分子中含有游离的潜醛基，故它们都是还原糖。其他双糖（如蔗糖）、三糖乃至多糖（如糊精、淀粉等），其本身不具还原性，属于非还原性糖，但都可以通过水解而生成相应的还原性单糖，测定水解液的还原糖含量就可以求得样品中相应糖类的含量。因此，还原糖的测定是一般糖类定量的基础。

### 二、原理

将一定量的碱性酒石酸铜甲、乙液等量混合，立即生成天蓝色的氢氧化铜沉淀，这种沉淀很快与酒石酸钾钠反应，生成深蓝色的可溶性酒石酸钾钠铜络合物。在加热条件下，以次甲基蓝作为指示剂，用样液滴定，样液中的还原糖与酒石酸钾钠铜反应，生成红色的氧化亚铜沉淀，待二价铜全部被还原后，稍过量的还原糖把次甲基蓝还原，溶液由蓝色变为无色，即为滴定终点。根据样液消耗量可计算出还原糖含量。各步反应式（以葡萄糖为例）如下：





从上述反应式可知，1mol 葡萄糖可以将 6mol  $\text{Cu}^{+2}$  还原为  $\text{Cu}^+$ 。实际上两者之间的反应并非那么简单。实验结果表明，1mol 葡萄糖只能还原 5mol 多点的  $\text{Cu}^{+2}$ ，且随反应条件而变化。因此，不能根据上述反应式直接计算出还原糖含量，而是用已知浓度的葡萄糖标准溶液标定的方法，或利用通过实验编制出的还原糖检索表来计算。在测定过程中要严格遵守标定或制表时所规定的操作条件，如热源强度（电炉功率）、锥形瓶规格、加热时间、滴定速度等。

### 三、试剂

1. 碱性酒石酸铜甲液：称取 15g 硫酸铜 ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 及 0.05g 次甲基蓝，溶于水中并稀释到 1000ml。

2. 碱性酒石酸铜乙液：称取 50g 酒石酸钾钠及 75g 氢氧化钠，溶于水中，再加入 4g 亚铁氰化钾，完全溶解后，用水稀释至 1000ml，贮存于橡皮塞玻璃瓶中。

3. 乙酸锌溶液：称取 21.9 乙酸锌 ( $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )，加 3ml 冰醋酸，加水溶解并稀释到 100ml。

4. 10.6%亚铁氰化钾溶液：称取 10.6g 亚铁氰化钾 [ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ]，溶于水中，稀释至 100ml。

5. 0.1%葡萄糖标准溶液：准确称取 1.0000g 经过 98-100℃干燥至恒重的无水葡萄糖，加水溶解后移入 1000ml 容量瓶中，加入 5ml 盐酸（防止微生物生长），用水稀释到 1000ml。

### 四、测定方法

#### 1. 样品处理

取适量样品，按本章第二节中的原则对样品进行提取，提取液移入 250ml 容量瓶中，慢慢加入 5ml 乙酸锌溶液和 5ml 亚铁氰化钾溶液，加水至刻度，摇匀后静置 30 分钟。用干燥滤纸过滤，弃初滤液，收集滤液备用。

## 2.碱性酒石酸铜溶液的标定

准确称取碱性酒石酸铜甲液和乙液各 5ml,置于 250ml 锥形瓶中,加水 10ml,加玻璃珠 3 粒。从滴定管滴加约 9ml 葡萄糖标准溶液,加热使其在 2 分钟内沸腾,准确沸腾 30 秒钟,趁热以每 2 秒 1 滴的速度继续滴加葡萄糖标准溶液,直至溶液蓝色刚好褪去为终点。记录消耗葡萄糖溶液的总体积。平行操作 3 次,取其平均值,按下式计算。

$$F=c \times V$$

式中: F——10ml 碱性酒石酸铜溶液相当于葡萄糖的质量, mg;

c——葡萄糖标准溶液的浓度, mg/ml;

V——标定时消耗葡萄糖标准溶液的体积, ml。

## 3.样品溶液预测

吸取碱性酒石酸铜甲液及乙液各 5.00ml,置于 250ml 锥形瓶中,加水 10ml,加玻璃珠 3 粒,加热使其在 2 分钟内至沸,准确沸腾 30 秒钟,趁热以先快后慢的速度从滴定管中滴加样品溶液,滴定时要始终保持溶液呈沸腾状态。待溶液蓝色变浅时,以每 2 秒 1 滴的速度滴定,直至溶液蓝色刚好褪去为终点。记录样品液消耗的体积。

## 4.样品溶液测定

称取碱性酒石酸铜甲液及乙液各 5.00ml,置于 250ml 锥形瓶中,加玻璃珠 3 粒,从滴定管中加入比预测时样品溶液消耗总体积少 1ml 的样品溶液,加热使其在 2 分钟内沸腾,准确沸腾 30 秒钟,趁热以每 2 秒 1 滴的速度继续滴加样液,直至蓝色刚好褪去为终点。记录消耗样品溶液的体积。同法平行操作 3 份,取平均值。

## 五、结果计算

$$\text{还原糖 (以葡萄糖计}\%) = \frac{F}{m \times \frac{V}{250} \times 1000} \times 100$$

式中: m——样品质量, g;

F——10ml 碱性酒石酸铜溶液相当于葡萄糖的质量, mg;

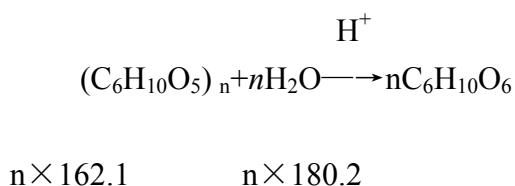
V——测定时平均消耗样品溶液的体积, ml;

250——样品溶液的体积, ml。

## 实验七 淀粉含量的测定

### 一、原理

淀粉测定可先除去样品中的脂肪及其中的可溶性糖、再在一定酸度下，将淀粉水解为具有还原性的葡萄糖。通过对还原糖含量的测定，乘上一换算系数 0.9，即为淀粉含量，反应式如下：



根据反应公式，淀粉与葡萄糖之比为：

162.1 : 180.12 = 0.9 : 1, 162.1 ÷ 180.12 = 0.9 即 0.9g 淀粉水解后可得 1g 葡萄糖。淀粉水解后可得 1g 葡萄糖。

### 二、材料、仪器与试剂

(一) 材料：马铃薯、苹果、葡萄等。

(二) 仪器：滴定管(15ml)、移液管(5ml)、烧杯、三角瓶(150ml)、容量瓶(500ml,250ml,100ml)、漏斗、研钵、酒精灯、铁架台、滴定管夹、水浴锅、分析天平。

(三) 试剂：硫酸铜、酒石酸钾钠、氢氧化钠、盐酸、次甲基蓝、醋酸铅、硫酸钠、酚酞。

1. 菲林试剂甲：称取硫酸铜 34.639g 加入蒸馏水溶解后，置于 500ml 容量瓶中，加水稀释到刻度，混匀。

2. 菲林试剂乙：称取酒石酸钾钠 173g 及氢氧化钠 50g，加蒸馏水溶解后置于 500ml 容量瓶中，加水稀释到刻度，混匀，过滤后待用。

3. 蔗糖标准液的配制：用分析天平准确称取 1g 蔗糖，溶解后移入 250ml 容量瓶中定容，混匀后吸取 50ml 放入 100ml 容量瓶中，加 2.5ml 12mol/L HCl，在沸水中煮 10min，取出迅速用冷水冲洗冷却至室温，加 1%酚酞 2-3 滴，加 6mol/L NaOH 中和至微红，定容，混匀，用此标准液滴定菲林试剂，求出标准蔗糖液 1ml 中蔗糖含量。

### 三、操作步骤

(一) 样品处理：称去皮切碎的苹果肉 2g，置研钵中磨成匀浆，用蒸馏水冲

洗转移入 100ml 容量瓶中，加 2.5ml 12mol/L HCl 在沸水浴中煮 10min，取出冷却，此时样品中的蔗糖水解成还原糖。对含蛋白质较多的样品，可滴加 10%Pb(Ac)<sub>2</sub> 到溶液不再产生白色絮状沉淀时为止，加饱和 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 除去多余的铅离子，然后加 1%酚酞 2-3 滴，加 6mol/L NaOH 中和至微红，定容到 100ml，摇匀后过滤待测。

(二) 测定：吸取 5ml 菲林试剂甲和 5ml 菲林试剂乙，放入 150ml 的三角瓶中。加入 1-2 滴次甲基蓝，置酒精灯上加热至沸腾，用竹制试管夹夹住三角瓶，边摇动边滴定，真至样品提取液将菲林试剂滴定至上清液变为无色（同时出现红棕色的氧化亚铜沉淀）记录下样品滴定用量的毫升数，重复一次，求两次读数的平均值为样品滴定用量。

#### 四、计算

$$\text{淀粉}(\%) = \frac{\text{标准蔗糖 1ml 中含糖量} \times \text{滴定用量 (样品液)}}{\text{样品重量} \times 10^3} \times \text{稀释倍数} \times 100 \times 0.9$$

#### 五、注意事项

(一) 如样品含糖量高时需适当加大稀释倍数。

(二) 掌握滴定终点标准时，需用白色做背景，便于观察溶液从蓝色转变为无色，且必须在沸腾时观察，否则易氧化成蓝色不易判别终点。

(三) 总糖的测定亦可用此法，但需用 HCl 将多糖水解，转化成还原糖并适当稀释后测定。

(四) 样品中含有可溶性糖时，可先用乙醇溶解除去可溶性糖再测淀粉含量。

## 实验八 淀粉含量的测定 (碘量法)

### 一、原理

淀粉是食品中主要的组成部分，也是植物种子中重要的贮藏性多糖。由于淀粉颗粒可与碘生成深蓝色的络合物，故可根据生成络合物颜色的深浅，用分光光度计测定消光度而计算出淀粉的含量。

### 二、材料、仪器与试剂

(一) 材料：马铃薯、栗子、山药等。

(二) 仪器：分光光度计、小台秤、分析天平、烧杯（100ml）、研钵、容量瓶（100ml）、洗瓶、漏斗、滤纸、具塞刻度试管（15ml）、恒温水浴、移

液管（1ml, 2ml）。

### （三）试剂

1. 碘液：称取 20.00g 碘化钾，加 50ml 蒸馏水溶解，再用小台秤迅速称取碘 2.0g，置烧杯中，将溶解的 KI 溶液倒入其中，用玻棒搅拌，直到碘完全溶解，若碘不能完全溶解时，可再加少许固体碘化钾即能溶解，碘液贮存在棕色小滴瓶中待用，用时稀释 50 倍。

2. 乙醚。

3. 10%乙醇。

## 三、操作步骤

（一）标准曲线的制作：用分析天平准确称取 1.000g 精制马铃薯淀粉，加入 5.0ml 蒸馏水制成匀浆，逐渐倒入 90ml 左右沸腾的蒸馏水中，边倒边搅拌，即得澄清透明的糊化淀粉溶液，置 100ml 容量瓶中，用少量蒸馏水冲洗烧杯。定容，此淀粉溶液浓度为 10mg/ml（A 液）。吸取 A 液 2.0ml 置 100ml 容量瓶，定容，此时淀粉浓度为 200 $\mu$ g/ml（B 液）。取具塞刻度试管 8 支，按下表加入淀粉及碘液，再加蒸馏水使每支试管溶液补足到 10ml，摇匀，待蓝色溶液稳定 10min 后，用分光光度计于 660nm 波长处测其消光值。以消光值为纵坐标，已知淀粉溶液的浓度为横坐标绘制标准曲线。

试 管 编 号	1	2	3	4	5	6	7	8
标准淀粉溶液 [(200 $\mu$ g/ml)ml]	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0
碘液 (ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
蒸馏水 (ml)	9.8	9.3	8.8	8.3	7.8	7.3	6.8	5.8
淀粉含量 ( $\mu$ g/ml)	0	100	200	300	400	500	600	800

（二）样品处理：马铃薯洗净，去皮，用擦子擦成碎丝，迅速称取马铃薯碎丝 300g，置研钵中磨成匀浆。将匀浆转移到漏斗中，用乙醚 50ml 分 5 次洗涤，再用 10%乙醇洗涤 3 次，以除去样品中的色素，可溶性糖及其它非淀粉物质，然后将滤纸上的残留物转移到 100ml 烧杯中，用蒸馏水分次将滤纸上的残留物全部洗入烧杯，将烧杯置沸水浴中边搅拌边加热，直到淀粉全部糊化成澄清透明。将此糊化淀粉转移到 100ml 容量瓶中，定容，混匀（C 液）。

（三）测定：吸取 C 液 2.0ml，置 100ml 容量瓶中，用蒸馏水定容，混匀。准确吸取 2ml 样品溶液（吸取量依样品中淀粉浓度而变），置 15ml 具塞刻度试管，加入碘液 0.2ml，直至溶液呈现透明蓝色，用蒸馏水补足到 10ml，混匀，静置 10min，于 660nm 波长处测定消光值。由标准曲线查出样品中淀粉含量(g/100g 鲜重)。

## 四、计算

$$G (\text{g}/100\text{g 鲜重}) = \frac{A}{W \times 10^6} \times \text{稀释倍数} \times 100$$

式中：G——样品淀粉含量(g/100g 鲜重)

A——从标准曲线查得的样品淀粉含量 (μg/ml)

W——样品重 (g)

## 五、注意事项

(一) 若样品含淀粉浓度高时，加碘液后会出现极深的蓝色而无法比色时，就须将溶液重新稀释后再进行测定。

(二) 若样品含淀粉量太少时，加碘液后不呈现蓝色，可适当加大样品用量。

## 实验九 麦拉德反应初始阶段的测定

### 一、原理

麦拉德反应即蛋白质、氨基酸或胺与碳水化合物之间的相互作用。麦拉德反应开始，以无紫外吸收的无色溶液为特征。随着反应不断进行，还原力逐渐增强，溶液变成黄色，在近紫外区吸收增大，同时还有少量糖脱水变成 5-羟甲基糖醛 (HMF)，以及发生键断裂形成二羰基化合物和色素的初产物，最后生成类黑精色素。本实验利用模拟实验：即葡萄糖与甘氨酸在一定 pH 缓冲液中加热反应，一定时间后测定 HMF 的含量和在波长为 285nm 处的紫外消光值。

HMF 的测定方法是根据 HMF 与对一氨基甲苯和巴比妥酸在酸性条件下的呈色反应。此反应常温下生成最大吸收波长的 550nm 的紫红色。因不受糖的影响，所以可直接测定。这种呈色物对光、氧气不稳定，操作时要注意。

### 二、仪器与试剂

(一) 仪器：分光光度计、水浴锅、试管等。

(二) 试剂

1. 巴比妥酸溶液：称取巴比妥酸 500mg，加约 70ml 水，在水浴加热使其溶解，冷却后转移入 100ml 容量瓶中，定容。

2. 对一氨基甲苯溶液：称取对一氨基甲苯 10.0g，加 50ml 异丙醇在水浴上慢慢加热使之溶解，冷却后移入 100ml 容量瓶中，加冰醋酸 10ml，然后用异丙醇定容。溶液置于暗处保存 24 小时后使用。保存 4-5 天后，如呈色度增加，应重新配制。

3. 1mol/L 葡萄糖溶液。



4. 0.1mol/L 甘氨酸溶液。

### 三、操作步骤

(一) 取 5 支试管，分别加入 5ml 1.0mol/L 葡萄糖溶液和 0.1mol/L 赖氨酸溶液，编号为 A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>。A<sub>2</sub>A<sub>4</sub> 调 pH 到 9.0, A<sub>5</sub> 加亚硫酸钠溶液。5 支试管置于 90℃ 水浴锅内并记时，反应 1h, 取 A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>5</sub> 管，冷却后测定它们的 258nm 紫外吸收和 HNF 值。

(二) HMF 的测定：A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>5</sub> 各取 2.0ml 于三支试管中，加对一氨基甲苯溶液 5ml。然后分别加入巴比妥酸溶液 1ml, 另取一支试管加 A<sub>1</sub> 液 2ml 和 5ml 对一氨基甲苯溶液，但不加巴比妥酸液而加 1ml 水，将试管充分振动。试剂的添加要连续进行，在 1-2min 内加完，以加水的试管作参比，测定在 550nm 处吸光度，通过吸光度比较 A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>5</sub> 中 HMF 的含量可看出麦拉德反应与哪些因素有关。

(三) A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub> 两试管继续加热反应，直到看出有深颜色为止，记下出现颜色的时间。

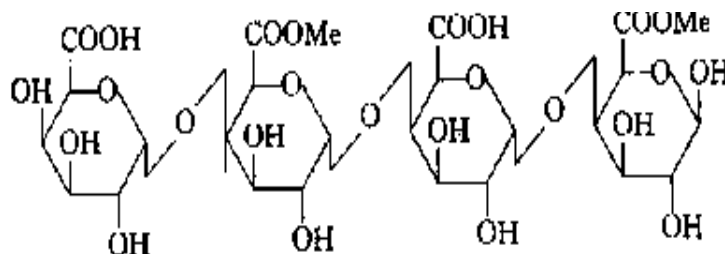
### 四、注意事项

HMF 显色后会很快褪色，比色时一定要快。

## 实验十 果胶的提取和果酱的制备

### 一、引言

果胶广泛存在于水果和蔬菜中，如苹果含量为 0.7~1.5% (以湿品计)，在蔬菜中以南瓜含量最多，为 7~17%。果胶的基本结构是以  $\alpha$ -1, 4 甙键连结的聚半乳糖醛酸，其中部分羧基被甲酯化，其余的羧基与钾、钠、钙离子结合成盐，其结构式如下：



在果蔬中，尤其是在未成熟的水果和皮中，果胶多数以原果胶存在，原果胶是以金属离子桥（特别是钙离子）与多聚半乳糖醛酸中的游离羧基相结合。原果胶不溶于水，故用酸水解，生成可溶性的果胶，再进行脱色、沉淀、干燥，即为

商品果胶，从柑桔皮中提取的果胶是高酯化度的果胶，酯化度在 70%以上。在食品工业中常利用果胶来制作果酱、果冻和糖果，在汁液类食品中用作增稠剂、乳化剂等。

## 二、实验材料和试剂

桔皮（新鲜）

0.25% $\text{HCl}$ ，95%乙醇，蔗糖，柠檬酸。

## 三、实验步骤

### （一）果胶的提取

1.原料预处理：称取新鲜柑桔皮 20g（干品为 8g）用清水洗净后，放入 250ml 烧杯中加 120ml 水，加热至 90℃保持 5-10 分钟，使酶失活。用水冲洗后切成 3-5mm 大小的颗粒，用 50℃左右的热水漂洗，直至水为无色、果皮无异味为止。每次漂洗必须把果皮用尼龙布挤干，再进行下一次漂洗。

2.酸水解提取：将预处理过的果皮粒放入烧杯中，加入约 0.25%的盐酸 60ml，以浸没果皮为度，pH 值调整在 2.0 至 2.5 之间，加热至 90℃煮 45 分钟，趁热用尼龙布（100 目）或四层纱布过滤。

3.脱色：在滤液中加入 0.5~1.0%的活性炭于 80℃加热 20 分钟进行脱色和除异味，趁热抽滤，如抽滤困难可加入 2~4%的硅藻土作助滤剂。如果柑桔皮漂洗干净，提取液为清彻透明，则不用脱色。

4.沉淀：待提取液冷却后，用稀氨水调节至 pH3~4，在不断搅拌下加入 95%乙醇，加入乙醇的量约为原体积的 1.3 倍，使酒精浓度达 50%~60%（可用酒精计测定），静置 10 分钟。

5.过滤、洗涤、烘干：用尼龙布过滤，果胶用 95%乙醇洗涤二次，再在 60-70℃烘干。

### （二）柠檬味果酱的制取

1.将果胶 0.2g（干品）浸泡于 20ml 水中，软化后在搅拌下慢慢加热至果胶全部溶化。

2.加入柠檬酸 0.1g、柠檬酸钠 0.1g 和蔗糖 20g，在搅拌下加热至沸，继续熬煮 5 分钟，冷却后即成果酱。

## 实验十一 淀粉糊化及酶法制备淀粉糖浆及其葡萄糖值的测定

### 一、引言

淀粉是由几百至几千个葡萄糖链节构成的天然高分子化合物，一般含直链淀

粉 20~30%，支链淀粉 70~80%。可用酶法、酸法和酸酶法使淀粉水解成糊精、低聚糖和葡萄糖。淀粉糖浆或称液体葡萄糖（DE38-42），主要成分是葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖和糊精，是一种粘稠液体，甜味温和，极易为人体直接吸收，在饼干，糖果生产上广为应用。

将淀粉悬浮液加热到 55-80℃时，会使淀粉颗粒之间的氢键作用力减弱，并迅速进行不可逆溶胀，淀粉粒因吸水，体积膨胀数十倍，继续加热使淀粉胶束全部崩溃，淀粉分子形成单分子，并为水包围，形成具有粘性的糊状液体，这一现象称淀粉糊化。糊化淀粉容易被酶水解。

双酶法水解淀粉制淀粉糖浆，是先以  $\alpha$ -淀粉酶使淀粉中的  $\alpha$ -1, 4 甙键水解生成小分子糊精、低聚糖和少量葡萄糖，然后再用糖化酶将糊精、低聚糖中的  $\alpha$ -1, 6 甙键和  $\alpha$ -1, 4 甙键切断，最后生成葡萄糖。

淀粉糖浆的分析方法是根据国家标准 GB12099-89，采用莱恩——艾农滴定法测定淀粉水解产品的还原力（RP）和葡萄糖值（DE），例如 DE 值为 42，表示淀粉糖浆中含 42%的葡萄糖。

本实验的目的：

- （1）通过实验，了解淀粉糊化及酶法制备淀粉糖浆的基本原理。
- （2）掌握淀粉双酶法制备淀粉糖浆的实验方法，以及酶的使用。
- （3）熟悉淀粉水解产品的葡萄糖值测定方法。

## 二、实验材料、试剂与仪器

玉米淀粉，木薯淀粉，甘薯淀粉。

液化型  $\alpha$ -淀粉酶（酶活力 6000 单位/g），糖化酶（酶活力为 4-5 万单位/g），费林溶液 A、B，亚甲基兰指示剂，D-葡萄糖标准溶液，10%NaOH，5%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>，5%CaCl<sub>2</sub>。

400ml 烧杯，250ml 圆底烧瓶，容量瓶（100ml, 500ml, 100），移液管（1ml, 5ml, 25ml），25ml 酸滴定管，250ml 碘量瓶，秒表，搅拌器，恒温水浴锅。

## 三、实验步骤

### （一）淀粉糖浆的制备

100g 淀粉置于 400ml 烧杯中，加水 200ml，搅拌均匀，配成淀粉浆，用 5% 碳酸钠调节 pH $\approx$ 6.2-6.3，加入 2ml 5%CaCl<sub>2</sub> 溶液，于 90-95℃水浴上加热，并不断搅拌，淀粉浆由开始糊化直到完全成糊。加入液化型  $\alpha$ -淀粉酶 60mg，不断搅拌使其液化。并使温度保持在 70-80℃搅拌 20 分钟，（取样分析 DE 值）。然后将烧杯移至电炉（隔石棉网）加热到 95℃至沸，灭活 10 分钟。过滤，滤液冷却至 55℃，加入糖化酶 200mg，调节 pH $\approx$ 4.5，于 60-65℃恒温水浴中糖化 3-4 小时，（3 小时取样分析控制 DE $\approx$ 42）即为淀粉糖浆。若要得浓浆，可以进一步浓缩。

### （二）DE 值的测定

按国标 GB12099-80 方法测定。

#### 1.混合费林溶液的标定

①吸取 25ml 混合费林试剂于烧瓶中，加入 18ml D-葡萄糖标准溶液（0.600g 无水 D-葡萄糖加水配成 100ml 溶液），振荡后迅速升温，控制在 2 分钟±15 秒时间范围内沸腾，保持蒸汽充满烧瓶，以防空气进入，沸腾持续 2 分钟后，加入 1ml 亚甲基蓝指示剂，用 D-葡萄糖标准溶液滴定至蓝色消失，记下耗用的体积数。

②调整 D-葡萄糖初加量为 0.3ml，其余步骤同上，但滴定过程要在 1 分钟内完成，整个沸腾的时间不超过 3 分钟，记下耗用体积数  $V_1$ 。

③第三次滴定时，为达到时间上的要求，可调整 D-葡萄糖的初加量，其余步骤同上。终体积数应在 19-21ml 之间，计算二次滴定的平均体积的耗用数  $V_1$ 。

2. 样品的制备：样品应混合均匀装入一个密封容器内，在容器内搅动，若表面有凝结，则应除去表面凝结部分。

3. 样品的测定：吸取 25ml 混合费林试剂于烧瓶中，滴加 10ml 配好的样品，加热使溶液在 2 分钟±15 秒内沸腾，并保持瓶内充满蒸汽，加 1ml 亚甲基蓝指示剂，再滴定至蓝色消失。如果在样品液未加入任何指示剂时蓝色已消失，那么就要降低样品液的浓度，重新滴定。但耗用的体积  $V_1$  应不大于 25ml。

样品大约还原力（ARP）的计算公式：

$$\text{ARP} = \frac{F \times 100 \times 50}{V_1 \times m_0} = \frac{300 \times V_1}{V_1 \times m_0}$$

式中：ARP 为样品大约还原力，g/100g

F 为  $0.6 \times V_1 / 100 = 0.006 \times V_1$

$m_0$  为 500ml 样品液中样品质量，g

所以，样品的克数可如下计算：

$$m_0 = \frac{300}{\text{ARP}}$$

称取  $m_0$ g 的样品，精确至 1mg，样品中还原糖含量在 2.85-3.15g 之间，重复标准样品的滴定，记下样品液的体积耗用数  $V_2$ ， $V_2$  应在 19-21ml 之间，否则调整样品浓度。

$$\text{样品还原力 RP} = \frac{300 \times V_1}{V_2 \times m}$$

式中： $V_1$  为标准样品的体积耗用数，ml

$V_2$  为样品体积耗用数，ml

$m$  为 500ml 样品液中样品重量，g

$$\text{DE} = \frac{\text{RP} \times 100}{\text{DMC}}$$

式中：DE 为样品葡萄糖值，g/100g

RP 为样品的还原力，g

DMC 为样品的干物质含量，%

#### 四、思考题

(1) 为什么在测定 DE 值的整个滴定过程中，要保持沸腾，蒸汽始终充满烧瓶？

(2) 当 D-葡萄糖标准溶液的体积耗用数不在 19-21ml 这一范围内时，应采取哪些措施加以调整？

## 实验十二 豆类淀粉和薯类淀粉的老化 ——粉丝的制备与质量感官评价

### 一、引言

淀粉加入适量水，加热搅拌糊化成淀粉糊（ $\alpha$ -淀粉），冷却或冷冻后，会变得不透明甚至凝结而沉淀，这种现象称为淀粉的老化。将淀粉拌水制成糊状物，用悬垂法或挤出法成型，然后在沸水中煮沸片刻，令其糊化，捞出水冷（老化），干燥即得粉丝。粉丝的生产就是利用淀粉老化这一特性。至今，对粉丝的物性测定暂无标准方法，也尚无统一的质量标准，一般是采用感官的方法评价粉丝外观，诸如颜色、气味、光泽、透明度、粗细度、咬劲、及耐煮性等。消费者要求粉丝晶莹洁白、透明光亮、耐煮有筋道，价格低廉。如我国著名的“龙口粉丝”。

### 二、实验材料和仪器

绿豆粉或马铃薯和甘薯淀粉（1：1）或玉米和绿豆淀粉（7：3）。

7-9mm 孔径的多孔容器或分析筛。

### 三、实验步骤

#### （一）粉丝制备

将 10g 绿豆粉加入适量开水使用其糊化，然后再加 90g 生绿豆淀粉，搅拌均匀至无块，不沾手，再用底部有 7-9mm 孔径的多孔容器（或分析筛）将淀粉糊状物漏入沸水锅中，煮沸 3 分钟，使其糊化，捞出水冷 10 分钟（或捞出置于-20

℃冰箱中冷冻处理)。再捞出置于搪瓷盘中，于烘箱中干燥，即得粉丝。

#### (二) 粉丝质量感官评价

将实验制得的粉丝，任意选出 5 个产品，编号为 1, 2, 3, 4, 5，用加权平均法对 5 个产品进行感官质量评价，填于表 6-1 中，计算排列名次。

项目 得分 样品	颜色 10 分	气味 10 分	光泽 10 分	透明度 20 分	粗细度 10 分	咬劲 20 分	耐煮性 20 分	评价 100 分
1								
2								
3								
4								
5								

评价地点：

评价姓名：

#### 四、思考题：

(1) 通过本实验，你认为可以采取哪些措施提高粉丝的质量？（从咬劲、耐煮性、透明度三个方面加以分析）

(2) 通过本实验，再结合食品化学的知识，请谈谈木薯淀粉的老化机理，以及在制备粉丝的过程中该如何充分利用其老化的特性？

## 实验十三 粗脂肪的测定 (索氏抽提法)

### 一、原理

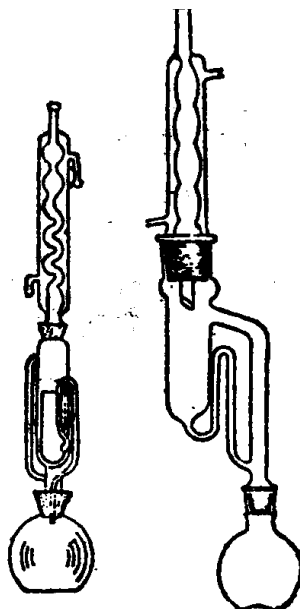
脂肪的测定可用有机溶剂提取样品中的脂肪，蒸发溶剂后得到的剩余物称为脂肪，除脂肪外，还含有色素、蜡质、挥发油、磷脂等，所以又称粗脂肪，在大多数食品中，这些杂质含量极少，可以忽略。

### 二、材料、仪器与试剂

(一) 材料：谷物、豆类等。

(二) 仪器：索氏提取器（如图）、烧瓶（150ml）、恒温水浴。

(三) 试剂：(1) 无水乙醚；(2) 海砂。



索氏提取器

### 三、操作步骤

精确称取充分研碎的干燥样品 2.00-5.00g，在 105℃烘箱中烘干，置于已称重的滤纸筒内（半固体或液体样品取 5.0-10.0g 于蒸发皿中，加入海砂 20g，于水浴上蒸干，在 100-150℃烘干，研细，全部移入滤纸筒内，蒸发皿及附有样品的玻璃棒用蘸有乙醚的棉花擦净，棉花也放进滤纸筒内。将滤纸筒封好后小心放入索氏提取器的提取筒内，应使滤纸筒高度低于虹吸管上端弯曲部位。连接已恒重的蒸发表瓶。加入无水乙醚至烧瓶中，乙醚量为瓶的 2/3 体积，于水浴上加热，乙醚开始回流后，仔细调整水浴温度，使虹吸回流速度控制在 8-12 次/h，一般抽提 6-12h。（如乙醚挥发过多，可从冷凝管上端补充）。取下接收瓶。回收乙醚至瓶内剩 1-2ml 时，在水浴上蒸干，再于 100-105℃干燥 40-60min，取出于干燥器中冷却 30min，称提取瓶及内容物的重量，所增加的重量即脂肪的重量。

### 四、计算

$$\text{粗脂肪}\% = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100$$

式中：W——样品重 (g)

$W_0$ ——接收瓶重 (g)

$W_1$ ——接收瓶和脂肪重 (g)

## 五、注意事项

1. 向滤纸筒内填装样品及回流提取过程中都不应外漏，否则重做。
2. 应用无水乙醚，并在通风柜中进行蒸干，实验室内禁止明火与吸烟。

# 实验十四 脂肪氧化、过氧化值及酸价的测定（滴定法）

## 一、原理

脂肪氧化的初级产物是氢过氧化物 ROOH, 因此通过测定脂肪中氢过氧化物的量, 可以评价脂肪的氧化程度。同时脂肪氧化的初级产物 ROOH 可进一步分解, 产生小分子的醛、酮、酸等, 因此酸价也是评价脂肪变质程度的一个重要指标。本实验通过油脂在不同条件下贮藏, 并定期测定其过氧化值和酸价, 了解影响油脂氧化的主要因素。与空白和添加抗氧化剂的油样品进行比较, 观察抗氧化剂的性能。

实验中过氧化值的测定采用碘量法, 即在酸性条件下, 脂肪中的过氧化值与过量的 KI 反应生成  $I_2$ , 用  $Na_2S_2O_3$  滴定生成的  $I_2$ , 求出每千克油中所含过氧化物的毫摩尔数, 称为脂肪的过氧化值 (POV)。

酸价的测定是利用酸碱中和反应, 测出脂肪中游离酸的含量。油脂的酸价以中和 1 克脂肪中游离酸所需消耗的氢氧化钾的毫克数表示。

## 二、材料、仪器与试剂

(一) 材料: 油脂。

(二) 仪器: 小广口瓶 (40ml) 6 个, 应保证规格一致, 并干燥。恒温箱 (控温  $60^{\circ}C$ )。

(三) 试剂:

1. 丁基羟基甲苯 (BHT)。
2.  $0.01mol/L Na_2S_2O_3$ : 用标定的  $0.1mol/L Na_2S_2O_3$  稀释而成。
3. 氯仿-冰乙酸混合液: 取氯仿 40ml 加冰乙酸 60ml, 混匀。
4. 饱和碘化钾溶液: 取碘化钾 10g, 加水 5ml, 贮于棕色瓶中, 如发现溶液变黄, 应重新配制。
5.  $0.5\%$  淀粉指示剂: 500mg 淀粉加少量冷水调匀, 再加一定量沸水 (最后体积约为 100ml)。



6. 0.1mol/L 氢氧化钾（或氢氧化钠）标准溶液。
7. 中性乙醚—95%乙醇（2：1）混合溶剂：临用前用 0.1mol/L 碱液滴定至中性。
8. 1%酚酞乙醇溶液。

### 三、操作步骤

（一）油脂的氧化：在干燥的小烧杯中，将 120g 油分为二等分，向其中一份中加入 0.012g BHT，两份油脂作同样程度的搅拌至加入的 BHT 完全溶解。向三个广口瓶中各装入 20g 未添加 BHT 的油脂，另三个中各装入 20g 已添加 BHT 的油脂，按下表所列编号存放，一星期后测定过氧化值和酸价。

室温光照	1	未添加 BHT 的油脂
	2	添加 BHT 的油脂
室温避光	3	未添加 BHT 的油脂
	4	添加 BHT 的油脂
60℃	5	未添加 BHT 的油脂
	6	添加 BHT 的油脂

（二）过氧化值的测定：称取 2g（准至 0.01g 油脂置于干燥的 250ml 碘量瓶底部，加入 20ml 氯仿—冰乙酸混合液，轻轻摇动使油溶解，加入 1ml 饱和碘化钾溶液，摇匀，加塞，置暗处放置 5min。取出立即加水 50ml，充分摇匀，用 0.01mol/L  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  滴定至水层呈淡黄，加入 1ml 淀粉指示剂，继续滴定至蓝色消失，记下体积 V。

（三）酸价的测定：称取油脂 4g（准确至 0.01g）于 250ml 的锥形瓶中，加入中性乙醚—乙醇混合液 50ml，小心旋转摇动烧瓶使试样溶解，加三滴酚酞指示剂，用 0.1mol/L 碱液滴定至出现微红色在 30s 不消失，记下消耗碱液毫升数（V）。

### 四、计算

（一）过氧化值（POV）

$$\text{POV} = \frac{N \times V \times 1000}{W} \quad (\text{mmol/kg 油})$$

式中：N—— $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  溶液摩尔浓度（mol/L）

V——消耗  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  溶液体积（ml）

W——称取油脂重量 (g)

## (二) 酸价

$$\text{酸价 (mg KOH/g 油)} = \frac{N \times V \times 56.1}{W}$$

式中: N——氢氧化钾的摩尔浓度

V——消耗氢氧化钾溶液的体积 (ml)

56.1——氢氧化钾的毫摩尔

W——称取油脂重量 (g)

## 五、注意事项

(一) 本实验需在两个单元时间进行, 第一次做操作步骤之一, 并熟悉过氧化值、酸价测定方法, 测定实验油脂的起始过氧化值和酸价。

(二) 气温低时, 第二次的实验可在油脂贮放两星期后进行。

(三) 滴定过氧化值时, 应充分摇匀溶液, 以保证  $I_2$  被萃取至水相中。

# 实验十五 大豆中油脂和蛋白质的分离

## 一、引言

大豆营养丰富, 干大豆含脂肪 12.1-20.2%, 蛋白质 36-37%, 淀粉 36-47% 以及其它营养成分。由于乙醚和石油醚等有机溶剂可以溶解脂肪而对蛋白质和淀粉几乎不溶, 故可用溶剂法分离大豆中的脂肪与蛋白质。抽提脂肪后的固体豆渣中主要含蛋白质和淀粉、纤维素等。利用蛋白质可溶于酸和碱的两性性质, 可以调节 pH 值远离蛋白质的等电点使之溶解, 过滤。滤液再调节 pH 值至蛋白质等电点附近, 蛋白质即析出。

## 二、实验材料和试剂

大豆。

石油醚 (60-90℃), 1M NaOH, 1M HCl。

## 三、实验步骤

将大豆用水浸 6 小时, 捣碎 (捣碎时加少量水), 抽干, 滤饼置入烘箱中,

在 80℃ 以下烘干备用。

取大豆干粉 40g，放入脂肪抽提器内，加入沸程为 60-90℃ 的石油醚，加热抽提 4 小时，倾出（或滤出）石油醚提取液。

将石油醚提取液置减压蒸馏瓶中，先常压后减压蒸出石油醚，蒸馏瓶内残液即为粗豆油。

提取脂肪后的豆渣放入烧杯中，加水 200ml，用 1M NaOH 调节 pH 值至 8-9，然后加热至 60-70℃ 并保温半小时，此期间不时搅拌。用 4 层涤纶薄布趁热过滤，滤液置冷，用 1M 盐酸调节 pH 值到 4.3-4.5（大豆蛋白的等电点），待沉淀完全抽滤，烘干即得大豆蛋白。

## 实验十六 蛋白质的盐析和透析

### 一、引言

在蛋白质溶液中加入一定浓度的中性盐，蛋白质即从溶液中沉淀析出，这种作用称为盐析。盐析法常用的盐类有硫酸铵、硫酸钠等。

蛋白质用盐析法沉淀分离后，需脱盐才能获得纯品，脱盐最常用的方法为透析法。蛋白质在溶液中因其胶体质点直径较大，不能透过半透膜，而无机盐及其它低分子物质可以透过，故利用透析法可以把经盐析法所得的蛋白质提纯，即把蛋白质溶液装入透析袋内，将袋口用线扎紧，然后把它放进蒸馏水或缓冲液中，蛋白质分子量大，不能透过透析袋而被保留在袋内，通过不断更换袋外蒸馏水或缓冲液，直至袋内盐分透析完为止。透析常需较长时间，宜在低温下进行。

### 二、实验材料和试剂

10%鸡蛋白溶液：选新鲜鸡蛋轻轻在蛋壳上击破一小洞，让蛋清从小孔流出，然后按一份鸡蛋清，加 9 份 0.9%氯化钠溶液的比例稀释。

含鸡蛋清的氯化钠蛋白溶液：取鸡蛋一个除去蛋黄取蛋白，加 320ml 蒸馏水和 100ml 饱和氯化钠溶液，通过数层纱布过滤，取滤液。

饱和硫酸铵溶液，硫酸铵晶体，1%硝酸银溶液，1%硫酸铜溶液，10%氢氧化钠溶液，5%火棉胶溶液。

### 三、实验步骤

#### （一）蛋白质盐析

取 10%鸡蛋白溶液 5ml 于试管中，加入等量饱和硫酸铵溶液，微微摇动试管，使溶液混合后静置数分钟，蛋白即析出，如无沉淀可再加少许饱和硫酸铵溶液，观察蛋白质的析出。

取少量沉淀混合物，加水稀释，观察沉淀是否会再溶解，另取剩余的混合物，加入过量的硫酸铵粉末，使其成为硫酸铵的饱和溶液，观察沉淀的产生。

## （二）蛋白质的透析

透析袋的制备：取 5%火棉胶溶液 5ml，加入洁净而干燥的小三角瓶中，徐徐转动，使其沿瓶壁流匀，干后，用指甲或小刀刮开瓶口的薄膜，轻轻拉开，再用自来水将薄膜与瓶壁冲开，即可作为本实验所用的透析袋，将其保存在水中，用时取出。

注入含鸡蛋清的氯化钠蛋白溶液 5ml 于上述自制透析袋中，将袋的开口端用线扎紧，然后悬挂在盛有蒸馏水的烧杯中，使其开口端位于水面之上。经过 10 分钟后，自烧杯中取出 1ml 溶液于试管中，加 1%硝酸银溶液一滴，如有白色氯化银沉淀生成，即证明蒸馏水中有  $\text{Cl}^-$  存在。再自烧杯中取出 1ml 溶液于另一试管中，加入 1ml 10%的氢氧化钠溶液，然后滴加 1-2 滴 1%的硫酸铜溶液进行双缩脲反应，观察有无蓝紫色出现。

每隔 20 分钟更换蒸馏水一次，经过数小时，则可观察到火棉胶袋内出现轻微混浊，此即为蛋白质沉淀。继续透析至蒸馏水中不再生成氯化银沉淀为止。

实验报告记录透析完毕所需的时间。

# 实验十七 蛋白质的功能性质（一）

## 一、引言

蛋白质的功能性质一般是指能使蛋白质成为人们所需要的食品特征而具有的物理化学性质，即对食品的加工、贮藏、销售过程中发生作用的那些性质，这些性质对食品的质量及风味起着重要的作用。蛋白质的功能性质与蛋白质在食品体系中的用途有着十分密切的关系，是开发和有效利用蛋白质资源的重要依据。

蛋白质的功能性质可分为水化性质，表面性质、蛋白质—蛋白质相互作用的有关性质三个主要类型，主要包括有吸水性、溶解性、保水性、分散性、粘度和粘着性、乳化性、起泡性、凝胶作用等。

本实验以卵蛋白、大豆蛋白为代表，通过一些定性试验了解它们的主要功能性质。

## 二、实验材料和试剂

蛋清蛋白；

2%蛋清蛋白溶液：取 2g 蛋清加 98g 蒸馏水稀释，过滤取清液；

卵黄蛋白：鸡蛋除蛋清后剩下的蛋黄捣碎。

分离大豆蛋白粉；

1M 盐酸；1M 氢氧化钠；饱和氯化钠溶液；饱和硫酸铵溶液；酒石酸；硫酸铵；氯化钠； $\delta$ -葡萄糖酸内酯；氯化钙饱和溶液；水溶性红色素；明胶。

### 三、实验步骤

#### （一）蛋白质的水溶性

（1）在 50ml 的小烧杯中加入 0.5ml 蛋清蛋白，加入 5ml 水，摇匀，观察其水溶性，有无沉淀产生。在溶液中逐滴加入饱和氯化钠溶液，摇匀，得到澄清的蛋白质的氯化钠溶液。

取上述蛋白质的氯化钠溶液 3ml，加入 3ml 饱和的硫酸铵溶液，观察球蛋白的沉淀析出，再加入粉末硫酸铵至饱和，摇匀，观察清蛋白从溶液中析出，解释蛋清蛋白质在水中及氯化钠溶液中的溶解度以及蛋白质沉淀的原因。

（2）在四个试管中各加入 0.1-0.2g 大豆分离蛋白粉，分别加入 5ml 水，5ml 饱和食盐水，5ml 1M 的氢氧化钠溶液，5ml,1M 的盐酸溶液，摇匀，在温水浴中温热片刻，观察大豆蛋白在不同溶液中的溶解度。在第一、第二支试管中加入饱和硫酸铵溶液 3ml，析出大豆球蛋白沉淀。第三、四支试管中分别用 1M 盐酸及 1M 氢氧化钠中和至 pH 4-4.5，观察沉淀的生成，解释大豆蛋白的溶解性以及 pH 值对大豆蛋白溶解性的影响。

#### （二）蛋白质的乳化性

（1）取 5g 卵黄蛋白加入 250ml 的烧杯中，加入 95ml 水，0.5g 氯化钠，用电动搅拌器搅匀后，在不断搅拌下滴加植物油 10ml，滴加完后，强烈搅拌 5 分钟使其分散成均匀的乳状液，静置 10 分钟，待泡沫大部分消除后，取出 10ml，加入少量水溶性红色素染色，不断搅拌直至染色均匀，取一滴乳状液在显微镜下仔细观察，被染色部分为水相，未被染色部分为油相，根据显微镜下观察所得到的染料分布，确定该乳状液是属于水包油型还是油包水型。

（2）配制 5%的大豆分离蛋白溶液 100ml，加 0.5g 氯化钠，在水浴上温热搅拌均匀，同上法加 10ml 植物油进行乳化。静止 10 分钟后，观察其乳状液的稳定性，同样在显微镜下观察乳状液的类型。

#### （三）蛋白质的起泡性

（1）在三个 250ml 的烧杯中各加入 2%的蛋清蛋白溶液 50ml，一份用电动搅拌器连续搅拌 1-2 分钟；一份用玻棒不断搅打 1-2 分钟；另一份用玻管不断鼓入空气泡 1-2 分钟，观察泡沫的生成，估计泡沫的多少及泡沫稳定时间的长短。评价不同的搅打方式对蛋白质起泡性的影响。

（2）取二个 250ml 的烧杯各加入 2%的蛋清蛋白溶液 50ml，一份放入冷水或冰箱中冷至 10℃，一份保持常温（30<sup>0</sup>-35℃），同时以相同的方式搅打 1-2 分钟，观察泡沫产生的数量及泡沫稳定性有何不同。

(3) 取三个 250ml 烧杯各加入 2% 蛋清蛋白溶液 50ml，其中一份加入酒石酸 0.5g，一份加入氯化钠 0.1g，以相同的方式搅拌 1-2 分钟，观察泡沫产生的多少及泡沫稳定性有何不同。

用 2% 的大豆蛋白溶液进行以上的同样实验，比较蛋清蛋白与大豆蛋白的起泡性。

#### (四) 蛋白质的凝胶作用

(1) 在试管中取 1ml 蛋清蛋白，加 1ml 水和几滴饱和食盐水至溶解澄清，放入沸水浴中，加热片刻观察凝胶的形成。

(2) 在 100ml 烧杯中加入 2g 大豆分离蛋白粉，40ml 水，在沸水浴中加热不断搅拌均匀，稍冷，将其分成二份，一份加入 5 滴饱和氯化钙，另一份加入 0.1-0.2g  $\delta$ -葡萄糖酸内酯，放置温水浴中数分钟，观察凝胶的生成。

(3) 在试管中加入 0.5g 明胶，5ml 水，水浴中温热溶解形成粘稠溶液，冷后，观察凝胶的生成。

解释在不同情况下凝胶形成的原因。

## 实验十八 蛋白质的功能性质 (二)

### 一、引言

各种蛋白质具有不同的功能性质，如牛奶中的酪蛋白具有凝乳性，在酸、热、酶（凝乳酶）的作用下会沉淀，用来制造奶酪。酪蛋白还能加强冷冻食品的稳定性和耐冻性，使冷冻食品在低温下不会变得酥脆。面粉中的谷蛋白（面筋）具有粘弹性，在面包、蛋糕发酵过程中，蛋白质形成立体的网状结构，能保住气体，使体积膨胀，在烘烤过程中蛋白质凝固是面包成型的因素之一。肌肉蛋白的持水性与味道、嫩度及颜色有密切的关系。鲜肉糜的重要功能特性是保水性，脂肪粘合性和乳化性。在食品的配制中。选择哪一种蛋白质，原则上是根据它们的功能性质。

通过本实验可以定性地了解上述几种蛋白质的功能性质。

### 二、实验原料、试剂和仪器

面粉、牛奶、瘦肉；  
乳酸溶液，焦磷酸钠；  
绞肉机。

### 三、实验步骤

#### (一) 酪蛋白的凝乳性

在小烧杯中加入 15ml 牛奶，逐滴滴加 50% 的乳酸溶液，观察酪蛋白沉淀的

形成，当牛奶溶液达到  $\text{pH}=4.6$  时（酪蛋白的等电点），观察酪蛋白沉淀的量是否增多。

#### （二）面粉中谷蛋白的粘弹性

分别将 20g 高筋面粉和低筋面粉加 9ml 水揉成面团，将面团不断在水中洗揉，直至没有淀粉洗出为止，观察面筋的粘弹性，并分别称重，比较高筋粉和低筋粉中湿面筋的含量。

#### （三）肌肉蛋白质的持水性

将新鲜瘦猪肉在搅肉机中搅成肉糜，取 10g 肉糜三份，分别加入 2ml 水，4ml 水以及 4ml 含有 20mg 焦磷酸钠（或三聚磷酸钠）的水溶液，顺一个方向搅拌 2 分钟，放置半小时以上，观察三份肉糜的持水性、粘着性。蒸熟后再观察其胶凝性。

### 四、思考题

- （1）牛奶败坏为何出现沉淀？沉淀是什么？
- （2）在面制品的加工中如何选择使用高筋粉和低筋粉？
- （3）为什么加入焦磷酸钠会增加肉的持水性？

## 实验十九 粗蛋白质的测定 （微量凯氏定氮法）

### 一、原理

食品及其原料中蛋白质含量的高低往往为检查其质量的一个重要指标。蛋白质测定常采用微量凯氏定氮法，其原理是将样品与硫酸共同加热消化，使蛋白质分解，其中的氮氧化成氨，氨与硫酸化合成硫酸铵，然后在碱性条件下蒸馏使氨游离，用硼酸吸收，生成四硼酸铵盐，以标准盐酸滴定。凯氏定氮法所测得的为试样中的总氮量，它除蛋白质的氮外，还包括氨基酸、酰胺、核酸中的氮，换算成的蛋白质称为粗蛋白质。

### 二、材料、仪器与试剂

- （一）材料：各种食品。
- （二）仪器：凯氏定氮瓶（100ml）、消化用电炉、容量瓶（100ml）、微量凯氏蒸馏器、三角瓶（125ml）、滴定管（25ml）、移液管。
- （三）试剂：浓硫酸、硫酸铜、硫酸钾、40%氢氧化钠、4%硼酸溶液、0.1mol/L 盐酸溶液。

0.2mol/L 盐酸的标定：准确称取 0.1g 无水碳酸钠（烘干 2h）三份，各放入 250ml 三角瓶中，加 50ml 蒸馏水溶解，并加入 2 滴甲基橙指示剂，用 0.02mol/L 盐酸滴定至橙色。

$$N_{\text{HCl}} = \frac{W}{\frac{M}{2} \times V} \times 1000$$

式中：W——无水碳酸钠重（g）  
M——无水碳酸钠摩尔数  
V——消耗盐酸溶液的体积（ml）

溴甲酚绿—甲基红混合指示剂：取 0.2% 甲基红乙醇（95%）溶液 1 份和 0.2% 溴甲酚绿乙醇（95%）溶液 5 份临用时混合。

### 三、操作步骤

（一）样品消化：准确称取样品 1.0-5.0g（干样 0.1-0.3g），置 100ml 凯氏烧瓶中，干样先加 1ml 蒸馏水使之湿润，加 5ml 浓硫酸（比重 1.84），摇匀，分两次各加入 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2ml，摇匀，待剧烈反应结束后，在消化电炉上加热消化，先用小火加热，待泡沫减少后再将火力加强，至其中固体物消失，成为基本透明溶液，冷却后，再每次加入 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2ml，共三次，消化至溶液完全清亮，再煮 10min 以完全赶走 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，冷却后全部转移至 100ml 容量瓶中，定容，备用。

（二）蒸馏：于 100ml 三角瓶中加入 5.0ml 2% 硼酸溶液，并加入数滴溴甲酚绿—甲基红混合指示剂，置于凯氏蒸馏装置的冷凝管下端，使管口浸入硼酸溶液内。煮沸蒸气发生器中的蒸馏水，吸取 5-10ml 样品消化液注入蒸馏室中，并以 20ml 蒸馏水洗涤，再加 20ml 40% 氢氧化钠溶液，提起玻璃塞使氢氧化钠流入蒸馏室中，立即将玻璃塞盖紧，并加水于盖处以防止漏气。然后开始蒸馏。待流出液为 250ml 时，此时氨已全部进入硼酸溶液。停止加热前应先使流出液面离开冷凝管管口，并用少许蒸馏水冲洗管口下端。将三角瓶移开蒸馏设备，准备滴定。

（三）滴定：于上述硼酸溶液中加入 2 滴溴甲酚绿—甲基红指示剂，用 0.02mol/L 盐酸标准溶液滴定至灰色后，再加 1-2 滴盐酸溶液使之呈红色为止。然后按下列公式，根据消耗的酸量即可计算出样品中蛋白质含量。

### 四、计算

$$\text{粗蛋白质}\% = (V_1 - V_2) \times N \times 0.014 \times \frac{1}{W} \times 100 \times 6.25$$



式中： $V_1$ ——样品滴定时消耗 0.02mol/L 盐酸量 (ml)  
 $V_2$ ——试剂空白滴定时消耗 0.02mol/L 盐酸量 (ml)  
 $N$ ——盐酸溶液的摩尔浓度  
 $W$ ——样品重 (g)  
0.014——氮的毫摩尔  
6.25——氮与蛋白质的换算系数

## 实验二十 可溶性蛋白质的测定 (考马斯亮蓝 G-250 法)

### 一、原理

考马斯亮蓝 G-250 以两种不同颜色存在即红色与蓝色,当染色剂与蛋白质结合时,红色就转变为蓝色。这种蛋白质染色剂复合物有较高的消光系数。因此,用这种方法测定蛋白质含量灵敏度比较高,染色剂和蛋白质的结合过程迅速,大约 2min,而且蛋白质—染色剂复合物能在溶液中保持稳定 1h 之久。

### 二、材料、仪器与试剂

(一) 材料: 绿豆芽、马铃薯。

(二) 仪器: 分光光度计, 分析天平, 容量瓶、移液管、具塞刻度试管。

(三) 试剂

1. 考马斯亮蓝 G-250 蛋白试剂: 称取 100mg 考马斯亮蓝 G-250, 溶于 50ml 90%乙醇中, 加入 85%正磷酸 100ml, 最后加蒸馏水至 1000ml, 此溶液可在常温下放置一个月。

2. 蛋白质标准液: 称取 100mg 牛血清蛋白, 溶于 100ml 蒸馏水中, 制成 100 $\mu$ g/ml 贮备液。再按下表比例配制成每毫升分别含 200,400,600,800,1000 $\mu$ g 蛋白标准液及每毫升分别含 20,40,60,80,100 $\mu$ g 蛋白的标准液。

表 1

蛋白浓度 ( $\mu$ g/ml)	200	400	600	800	1000
加贮备液 (ml)	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0
加蒸馏水 (ml)	1.6	1.2	0.8	0.4	0

表 2

蛋白浓度 (μg/ml)	20	40	60	80	100
加贮备液 (ml)	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
加蒸馏水 (ml)	9.8	9.6	9.4	9.2	9.0

### 三、操作步骤

#### (一) 标准曲线的制作

1. 100~1000μg/ml 蛋白标准曲线: 准确吸取含有 200, 400, 600, 800, 1000μg 的牛血清蛋白标准液 0.1ml, 分别放入 10ml 刻度试管中, 加入 5.0ml 考马斯亮蓝 G-250 蛋白试剂, 将溶液混匀, 2min 后在 595nm 处测其消光值, 空白以蒸馏水代替标准液, 其它操作同上。

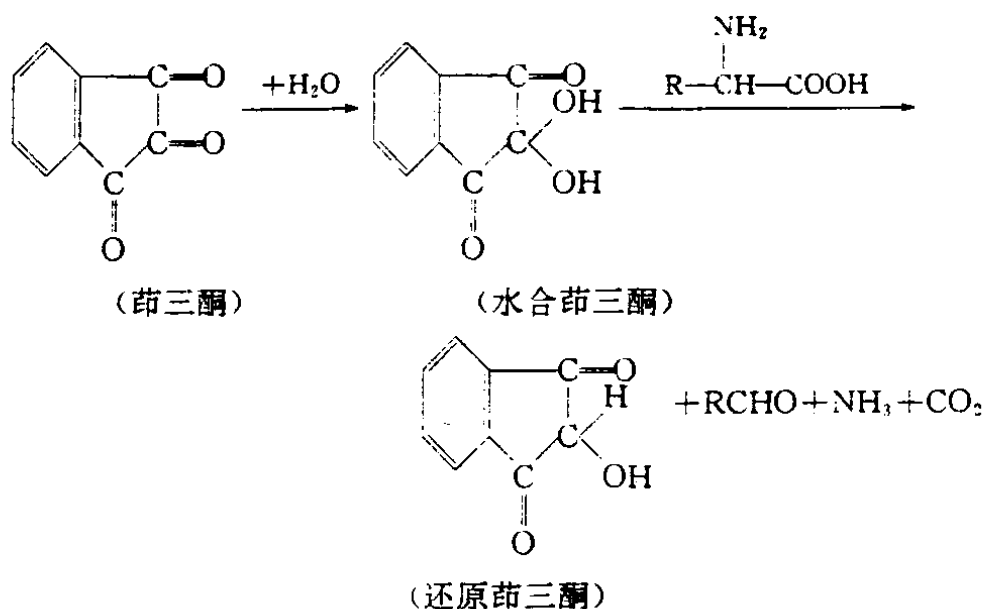
2. 0~100μg/ml 蛋白标准曲线: 准确吸取 0.5ml 含 20,40,60,80,100μg 牛血清蛋白标准液, 分别放入 10ml 具塞刻度试管中, 加入 5.0ml 考马斯亮蓝 G-250 蛋白试剂, 其它操作同上。以消光值为纵坐标, 蛋白含量为横坐标, 作标准曲线。

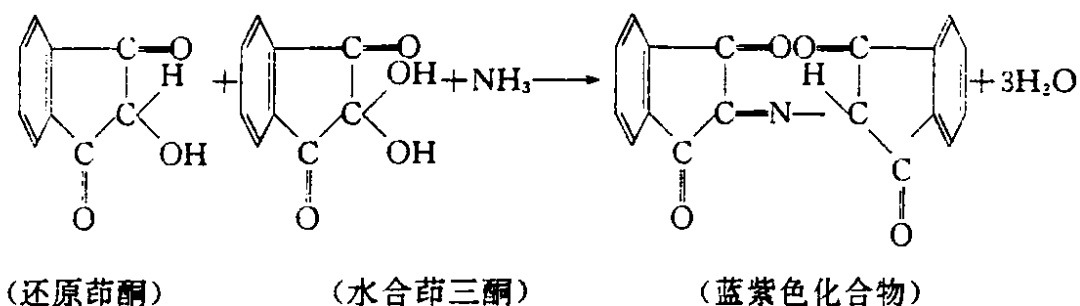
(二) 样品中蛋白质浓度的测定: 样品中蛋白质浓度的测定除加入标准溶液作为样品液外, 其余操作完全相同, 通过标准曲线即可查得每毫升溶液中蛋白质的含量。

## 实验二十一 茚三酮法测定氨基酸总量

### 一、原理

氨基酸在碱性溶液中能与茚三酮作用, 生成蓝色化合物 (除脯氨酸外均有此反应), 可用吸光光度法测定。反应式如下:





该蓝紫色化合物的颜色深浅与氨基酸含量成正比，其最大吸收波长为 570nm，故据此可以测定样品中氨基酸含量。

## 二、主要仪器

分光光度计

## 三、试剂

1. 2%茛三酮溶液：称取茛三酮 1g 于盛有 35ml 热水的烧杯中使其溶解，加入 40mg 氯化亚锡 ( $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )，搅拌过滤（作防腐剂）。滤液置冷暗处过夜，加水至 50ml，摇匀备用。

2. pH8.04 磷酸缓冲溶液：准确称取磷酸二氢钾 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 4.5350g 于烧杯中，用少量蒸馏水溶解后，定量转入 500ml 容量瓶中，用水稀释至标线，摇匀备用。

准确称取磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 11.9380g 于烧杯中，用少量蒸馏水溶解后，定量转入 500ml 容量瓶中，用水稀释至标线，摇匀备用。

取上述配好的磷酸二氢钾溶液 10.0ml 与 190ml 磷酸氢二钠溶液混合均匀即为 pH8.04 的磷酸缓冲溶液。

3. 氨基酸标准溶液：准确称取干燥的氨基酸（如异亮氨酸）0.2000g 于烧杯中，先用少量水溶解后，定量转入 100ml 容量瓶中，用水稀释至标线，摇匀。准确吸取此液 10.0ml 于 100ml 容量瓶中，加水至标线，摇匀。此为 200  $\mu\text{g/ml}$  氨基酸标准溶液。

## 四、操作方法

### 1. 标准曲线绘制

准确吸取 200  $\mu\text{g/ml}$  的氨基酸标准溶液 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0ml（相当于 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600  $\mu\text{g}$  氨基酸），分别置于 25ml 容量瓶或比色管中，各加水补充至容积为 4.0ml，然后加入茛三酮和磷酸缓冲溶液各

1ml，混合均匀，于水浴上加热 15min，取出迅速冷至室温，加水至标线，摇匀。静置 15min 后，在 5570nm 波长下，以试剂空白为参比液测定其余各溶液的吸光度 A。以氨基酸的微克数为横坐标，吸光度 A 为纵坐标，绘制标准曲线。

## 2. 样品的测定

吸取澄清的样品溶液 1-4ml，按标准曲线制作步骤，在相同条件下测定吸光度 A 值，用测得的 A 值在标准曲线上即可查得对应的氨基酸微克数。

## 五、结果计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{g}/100\text{g}) = \frac{C}{m \times 1000} \times 100$$

式中 c——从标准曲线上查得的氨基酸的  $\mu\text{g}$  数；  
m——测定的样品溶液相当于样品的质量，g。

## 六、说明及注意事项

1. 通常采用样品处理方法为：准确称取粉碎样品 5-10g 或吸取液体样品 5-10ml，置于烧杯中，加入 50ml 蒸馏水和 5g 左右活性炭，加热煮沸，过滤，用 30-40ml 热水洗涤活性炭，收集滤液于 100ml 容量瓶中，加水至标线，摇匀备测。

2. 茛三酮受阳光、空气、温度、湿度等影响而被氧化呈淡红色或深红色，使用前须进行纯化，方法如下：

取 10g 茛三酮溶于 40ml 热水中，加入 1g 活性炭，摇动 1min，静置 30min，过滤。将滤液放入冰箱中过夜，即出现蓝色结晶，过滤，用 2ml 冷水洗涤结晶，置干燥器中干燥，装瓶备用。

## 实验二十二 维生素 C 含量的测定 (2,6-二氯酚靛酚法)

### 一、原理

抗坏血酸分子中存在烯醇式结构  $\left( \begin{array}{c} \text{—C=C—} \\ | \quad | \\ \text{O} \quad \text{OH} \end{array} \right)$ ，因而具有很强的还原性，氧化失去两个氢原子而转变成脱氢抗坏血酸。其余 2,6-二氯酚靛酚钠盐 ( $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{O}_2\text{NC}_{12}\text{Na}$ ) 染料氧化抗坏血酸而其本身被还原为无色的衍生物，可作为

维生素 C 含量测定的滴定剂和指示剂。

在酸性溶液中氧化型 2,6—二氯酚靛酚呈红色，在中性或碱性溶液中呈蓝色。因此，当用 2,6—二氯酚靛酚滴定含有抗坏血酸的酸性溶液时，在抗坏血酸尚未全部被氧化时，滴下的 2,6—二氯酚靛酚立即被还原为无色，抗坏血酸全部被氧化时，则滴下的 2,6—二氯酚靛酚溶液呈红色。所以，在测定过程中当溶液从无色转变成微红色时，表示抗坏血酸全部被氧化，此时即为滴定终点。根据滴定消耗染料标准溶液的体积，可以计算出被测定样品中抗坏血酸的含量。

## 二、材料、仪器与试剂

(一) 材料：水果或蔬菜。

(二) 仪器：三角瓶（50ml）、研钵、移液管（10ml）、漏斗、滤纸、容量瓶（100ml）、微量滴定管（5ml）、分析天平、离心机。

(三) 试剂

1. 标准抗坏血酸溶液：精确称取抗坏血酸 100mg，用适量 2%草酸溶液溶解后移入 500ml 容量瓶中，并以 2%草酸溶液定容，振摇混匀，1ml 含 0.2mg 抗坏血酸。

2. 0.02% 2,6—二氯酚靛酚溶液：称取 2,6—二氯酚靛酚钠盐 50mg 溶于 200ml 含 52mg 碳酸氢钠热水中。冷后加水稀释至 250ml，过滤后装入棕色瓶于冰箱中保存，临用前按下法标定：取 5ml 标准抗坏血酸溶液于三角瓶中，加 5ml 2%草酸，用 2,6—二氯酚靛酚溶液滴定至微红色，15s，不褪色即为终点，并计算出每 1ml 染料溶液相当的抗坏血酸毫克数。

## 三、操作步骤

(一) 称取捣碎的果蔬样品 20g，放在研钵中，加 2%草酸溶液少许研碎，再转入 200ml 容量瓶中，加 2%草酸稀释至刻度，过滤备用。如果滤液有颜色，可用白陶土脱色。

(二) 吸取样品滤液 10ml 于烧杯中，用已标定的 2,6—二氯酚靛酚溶液滴定至出现微红色，且 15s 不褪色为止，记下染料用量。同时，以 10ml 2%草酸溶液作为空白按同上进行滴定，作三个重复。

## 四、计算

$$W = \frac{(Y - Y_1) \times A}{B} \times \frac{b}{a} \times 100 (\text{mg}/100\text{g})$$

式中：W——100g 样品中含有的抗坏血酸毫克数

$Y_1$ ——空白滴定消耗的染料毫升数

Y——样品滴定消耗的染料毫升数

A——1ml 染料溶液相当于抗坏血酸的毫克数

B——滴定时吸取的样品溶液毫升数（10ml）

b——样品定容毫升数

a——样品的克数

## 五、注意事项

- a) 标准抗血酸溶液临时配制。
- b) 2, 6—二氯酚靛酚染料不稳定，每周重新配制，临用前标定。
- c) 抗坏血酸溶液很不稳定，易氧化，故操作过程要迅速，夏季应置于冰浴中研磨。

## 实验二十三 维生素 C 含量的测定 (紫外快速测定法)

### 一、原理

维生素 C 的 2, 6—二氯酚靛酚容量法，操作步骤较繁琐，而且受其它还原性物质、样品色素颜色和测定时间的影响。紫外快速测定法，是根据维生素 C 具有对紫外产生吸收和对碱不稳定的特性，于 243nm 处测定样品液与碱处理样品液两者消光值之差，通过查标准曲线，即可计算样品中维生素 C 的含量。

### 二、材料、仪器与试剂

(一) 材料：各种水果蔬菜、果汁及饮料。

(二) 仪器：紫外分光光度计、离心机、分析天平、容量瓶（10ml, 25ml）、移液管（0.5ml, 1.0ml）、吸管、研钵。

(三) 试剂

1. 10%盐酸：取浓盐酸 133ml，加水稀释至 500ml。

2. 1%盐酸：取浓盐酸 22ml，加水稀释至 100ml。

3. 1mol/L 氢氧化钠溶液：称取 40gNaOH，加蒸馏水，不断搅拌至溶解，然后定容至 1000ml。

### 三、操作步骤

(一) 标准曲线的制作

1. 抗坏血酸标准溶液的配制：用分析天平准确称取抗坏血酸 10mg，加 2ml

10%盐酸，加蒸馏水定容至 100ml，混匀。此抗坏血酸溶液的浓度为 100ug/ml。

2. 取带塞刻度试管 8 支并编号，分别按表内所规定的量加入抗坏血酸标准溶液和蒸馏水。

	1	2	3	4	5	6	7	8
标准抗坏血酸溶液加入体积 (ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.8	1.0
蒸馏水加入体积 (ml)	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.2	9.0
总体积 (ml)	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
抗坏血酸溶液浓度 (ug/ml)	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	8.0	10.0

3. 消光值的测定：以蒸馏水为空的，在 243nm 处测定标准系列抗坏血酸溶液的消光值，以抗坏血酸的含量 (ug) 为横坐标，以相应的消光值为纵坐标作标准曲线。

#### (二) 样品的测定

1. 样品的提取：将果蔬样品洗净、擦干、切碎、混匀。称取 5.00g 于研钵中，加入 2-5ml 1%盐酸，匀浆，转移到 25ml 容量瓶中，稀释至刻度。若提取液澄清透明，则可直接取样测定，若有浑浊现象，可通过离心 (1 0000g, 10min) 来消除。

2. 样品的测定：取 0.1-0.2ml 提取液，放入盛有 0.2-0.4ml 10%盐酸的 10ml 容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度后摇匀。以蒸馏水为空白，在 243nm 处测定其消光值。

3. 待测碱处理液的制备：分别吸取 0.1-0.2ml 提取液，2ml 蒸馏水和 0.6-0.8ml 1mol/L 氢氧化钠溶液依次放入 10ml 容量瓶中，混匀，15min 后加入 0.6-0.8ml 10% 盐酸，混匀，并定容至刻度。以蒸馏水为空白。在 243nm 处测定其消光值。

4. 由待测样品与待测碱处理样品的消光值之差和标准曲线，即可计算出样品中维生素 C 的含量。

5. 也可直接以待测碱处理液为空白，测出待测液的消光值，通过查标准曲线，计算出样品的维生素 C 的含量。

#### 四、计算

$$Vc \text{ 的含量 } (\mu g/g) = \frac{\mu \times V_{\text{总}}}{V_1 \times W_{\text{总}}}$$

式中：μ——从标准曲线上查得的抗坏血酸的含量 (μg)

$V_1$ ——测消光值时吸取样品溶液的体积 (ml)

$V_{\text{总}}$ ——样品定容体积 (ml)

$W_{\text{总}}$ ——称样重量 (g)

## 实验二十四 总抗坏血酸含量的测定 (荧光法)

### 一、原理

样品中的还原性抗坏血酸经活性碳处理氧化为脱氢抗坏血酸，然后与邻苯二胺反应生成有荧光的喹喔啉 (Quinoxaline)。荧光的强度与脱氢抗坏血酸的浓度成正比。测定时应用荧光计的激发波长为 350nm，发射波长为 430nm。

食物中的有些成分如丙酮酸与邻苯二胺也能形成荧光物质而造成干扰。脱氢抗坏血酸与硼酸形成复合物后就不能与邻苯二胺产生荧光物质。利用上述反应特点，可在样品中先加入硼酸，然后再加入邻苯二胺，即可作为空白来校正干扰物质所产生的荧光。此法具有较强的专一性。

### 二、材料、仪器与试剂

(一) 材料：各种新鲜水果、蔬菜。

(二) 仪器：荧光分光光度计、具塞三角瓶 (100ml)、容量瓶、具塞试管。

(三) 试剂

1. 偏磷酸—醋酸溶液：称取 15g 偏磷酸 ( $\text{HPO}_3$ ) 溶于 40ml 冰醋酸中，加蒸馏水定容至 500ml。

2. 偏磷酸—醋酸—硫酸溶液：称取 30g 偏磷酸，溶于 80ml 冰醋酸中，加入 0.06mol/L 硫酸定容至 1000ml。

3. 50%醋酸钠溶液。

4. 硼酸—醋酸钠溶液：3.0g 硼酸溶于 100ml 50%醋酸钠溶液中，用前配制。

5. 邻苯二胺溶液：20mg 邻苯二胺溶于 100ml 水中，用前配制。

6. 抗坏血酸标准溶液：准确称取 50mg 抗坏血酸，用偏磷酸—醋酸溶液溶解并定容至 50ml 抗坏血酸，用偏磷酸—醋酸溶液溶解并定容至 50ml，其含量为 1mg/ml。吸取 5ml，置 50ml 容量瓶中，加入偏磷酸—醋酸溶液定容，其含量为  $100 \mu\text{g/ml}$ 。临用前配制。

7. 百里酚蓝指示剂：称取 0.100g 百里酚蓝，溶于 10.75ml 0.02mol/L 氢氧化钠中，加水至 200ml。(变色范围：pH2 时显红色，pH2.8 时显黄色，pH4 以上显蓝色)。

8. 0.02mol/L 氢氧化钠溶液。

9. 10%盐酸溶液。

10. 活性炭的加工处理，取 100g 活性炭溶于 500ml 10%的盐酸中，加热至沸腾，过滤，用蒸馏水洗涤至无氯离子为止 (以亚铁氰化钾检查)。



### 三、操作步骤

(一) 样品处理：称取样品 3.00-5.00g 置研钵中，加入适量的偏磷酸—醋酸溶液，研磨成匀浆，过滤至 100ml 容量瓶中，用少量偏磷酸—醋酸液洗涤研钵及滤纸数次，加入 1 滴百里酚蓝指示剂，如溶液变黄或蓝色，加偏磷酸—醋酸—硫酸至溶液变红色，再用偏磷酸—醋酸定容至刻度。取 2 个 100ml 三角瓶，各加入 1g 活性炭，分别加入 50ml 抗坏血酸应用液（100 μ g/ml）和 50ml 样品提取液，剧烈振荡 3min，过滤。

(二) 样品测定：取四个 100ml 容量瓶，分别标为“标准”、“标准空白”、“样品”、“样品空白”，各加入上述滤液 5ml，然后向“标准空白”和“样品空白”中各加入 5ml 硼酸—醋酸钠溶液，15min 后加水定容。向“标准”和“样品”中各加入 5ml 醋酸钠溶液，用水定容。取四支试管，分别加入上述四种溶液 2ml，在避光或暗室中，立即向各管加入 5ml 邻苯二胺，摇匀后放置 35min。

调节荧光计激发波长为 350nm，荧光波长为 430nm，记录各管读数。

### 四、计算

$$\text{总抗坏血酸 (mg/100g)} = \frac{\text{“样品”读数} - \text{“样品空白”读数}}{\text{“标准”读数} - \text{“标准空白”读数}} \times C \times \frac{V}{W} \times 100$$

式中：C——抗坏血酸标准液浓度（mg/100g）

V——提取液的体积（ml）

W——样品重量（g）

100——折合成 100g 样品

### 五、注意事项

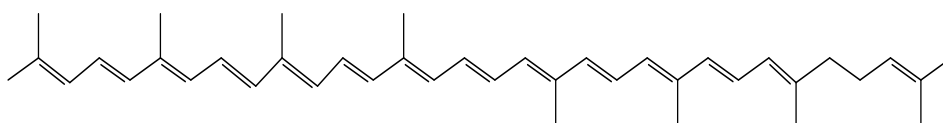
(一) 邻苯二胺加入后，如不避光会影响结果。

(二) 样品提取液中抗坏血酸浓度为 100 μ g/ml 左右，应根据此浓度酌情取样。

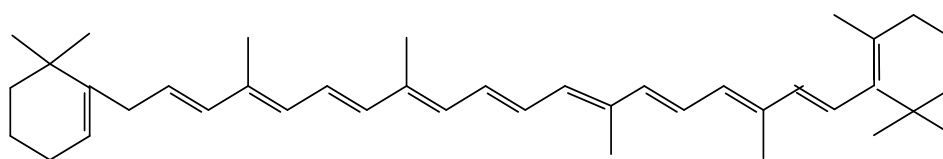
## 实验二十五 从番茄中提取番茄红素和β-胡萝卜素

### 一、引言

番茄中含有番茄红素和少量的β-胡萝卜素，二者均属于类胡萝卜素。其结构式如下：



番茄红素 Lycopene



β-胡萝卜素 β-carotene

类胡萝卜素为多烯类色素，不溶于水而溶于脂溶性有机溶剂。本实验先用乙醇将番茄中的水脱去，再用二氯甲烷萃取类胡萝卜素。因为二氯甲烷不与水混溶，故只有除去水分后才能有效地从组织中萃取出类胡萝卜素。根据番茄红素与β-胡萝卜素极性的差别，用柱层析可以将它们分离。分离效果可以用薄层层析进行检验。

### 二、实验材料和试剂

新鲜番茄（或番茄酱）。

95%乙醇；二氯甲烷；石油醚（60<sup>0</sup>-90<sup>0</sup>℃）；氯仿；中性或酸性氧化铝（柱层析用）；环己烷；硅胶G；饱和氯化钠溶液；无水硫酸钠。

### 三、实验步骤

（一）原料处理与色素提取

称取新鲜番茄浆 20g 于 100ml 圆底烧瓶中，加 95%乙醇 40ml，摇匀，装上回

流冷凝管，在水浴上加热回流 5 分钟，趁热抽滤，只将溶液倾出，残渣留在瓶内，加入 30ml 二氯甲烷，水浴上加热回流 5 分钟，冷却，将上层溶液倾出抽滤，固体仍保留在烧瓶内，再加 10ml 二氯甲烷重复萃取一次。合并乙醇和两次二氯甲烷提取液，倒入分液漏斗中，加 5ml 饱和氯化钠溶液（有利分层），振摇，静置分层。分出橙黄色有机相，使其流经一个在颈部塞有疏松棉花且在棉花上铺一层 1cm 厚的无水硫酸钠的三角漏斗，以除去微量水份。将此溶液储存于干燥的有塞子的锥形瓶中。层析之前，将此溶液在通风橱中用热水浴蒸发至干。

## （二）柱层析分离

取一支长 15cm 左右内径为 1-1.2cm 的层析柱，柱内装有用石油醚调制的氧化铝。将粗制的类胡萝卜素溶解于 4ml 苯中，用滴管在氧化铝表面附近沿柱壁缓缓加入柱中（留 1-2 滴供以后的薄层层析用），打开活塞，至有色物料在柱顶刚流干时即关闭活塞。用滴管取几毫升石油醚，沿柱壁洗下色素，并通过放出溶剂至柱顶刚流干，从而使色素吸附在柱上。然后加大量的石油醚洗脱。黄色的  $\beta$ -胡萝卜素在柱中移动较快，红色的番茄红素移动较慢。收集洗脱液至黄色的  $\beta$ -胡萝卜素从柱上完全除去，然后用极性较大的氯仿作洗脱剂洗脱番茄红素（注意更换接收瓶）。将收集到的两个部分在通风橱内用热水浴蒸发至干。将样品分别溶于尽可能少的二氯甲烷中，尽快进行薄层层析。

## （三）薄层层析检验

在用硅胶 G 铺成的薄板上距离底边约 1cm 处，分别用毛细管点上三个样品，中间点为未分离的混合物，两边分别点上分离得到的  $\beta$ -胡萝卜素和番茄红素。可以多次点样，即点完一次，待溶剂挥发后再在原来的位置上点样。但要注意，必须在同一位置上点，而且样品斑点尽量小。点样时毛细管只要轻轻接触板面即可，切不可划破硅胶层。样品之间的距离为 1-1.5cm。将此板放入装有环己烷作展开剂的层析缸中，盖上盖子。切勿让展开剂浸没样品斑点。待溶剂展开至 10cm 左右时，取出层析板。因斑点会氧化而迅速消失，故要用铅笔立即圈出。计算不同样品的  $R_f$  值，比较不同样品  $R_f$  值大小的原因以及分离效果。

$$R_f = \frac{\text{溶质最高浓度中心至原点中心的距离}}{\text{溶剂前沿至原点中心的距离}}$$

## 四、注意

- 1 新鲜番茄浆的制备：将新鲜番茄洗净，用捣碎机捣碎或用市售的番茄酱。
- 2 氧化铝层析柱的装填方法：将层析柱垂直固定于铁架上，铺上一层薄薄的石英砂，关闭活塞。称取 15g 氧化铝置于 50ml 锥形瓶中，加入 15ml 石油醚（顺序不能反）边加边搅，且不断旋摇直至成均匀浆液（稠厚但能流动），向柱内加

入溶剂（石油醚）至半满，然后开启活塞让溶剂以每秒一滴的速度流入小锥形瓶中，摇动浆液，不断地逐渐倾入正在流出溶剂的柱子中，不断用木棒或带橡皮管的玻璃棒轻轻敲击柱身，使顶部成水面，将收集到的溶剂在柱内反复循环几次，以保证沉降完全和装紧柱。整个过程不能让柱流干。待溶剂刚好放至柱顶刚变干时即可上样。

3 硅胶 G 薄层板的制备。将 4g 硅胶 G 置于一小烧杯中，加入 8ml 蒸馏水不断搅拌至浆糊状，倾倒在洗净的玻板上（18×6cm），流平，或用涂布器铺板，并轻轻敲打均匀，在室温放置半小时凉干，然后移入烘箱，缓慢升温至 105-110℃恒温活化半小时，取出放入干燥器中备用。

## 实验二十六 $\beta$ -胡萝卜素含量的测定 (HPLC 法)

### 一、原理

$\beta$ -胡萝卜素为脂溶性维生素 A 的前体，存在各种动植物体中，所以可直接用有机溶剂提取后进行检测。利用反相色谱法分析。

### 二、材料、仪器与试剂

(一) 材料：胡萝卜、绿色蔬菜等。

(二) 仪器：高效液相色谱仪、记录仪或积分仪、分析天平、组织捣碎机、研钵、抽滤瓶、布氏漏斗、分液漏斗（250ml 2 个）、容量瓶(100ml)、漏斗、移液管（2ml）小试管、滤纸等。

(三) 试剂：正己烷、甲醇、无水硫酸钠、乙酸乙酯、BHT（叔丁基羟基甲苯）（以上均为分析纯试剂）、氮气。

20%氢氧化钾的甲醇溶液：称 20g 氢氧化钾溶于 100ml 甲醇溶液中。

$\beta$ -胡萝卜素标准液：准确称取标样 5.000mg，乙酸乙酯溶解并定容 50ml。冰箱中保存，上机前再稀释 50 倍。

### 三、操作步骤

(一) 样品处理：取样品的可食部分洗净切碎，置组织捣碎机中捣碎成浆状，于天平上称 5-10g 样品，放入研钵中，同时加少量甲醇、己烷研磨，然后倒入布氏漏斗抽滤，并不断用甲醇、己烷冲洗研钵及残渣，直至残渣为白色。将含有样品的溶液倒入事先装有 50ml 己烷的分液漏斗中，用蒸馏水冲洗抽滤瓶 2-3 次，洗液并入分液漏斗，振摇分液漏斗后静止分层，将下层溶液放入装有 30ml 正己烷的另一分液漏斗中，向第一分液漏斗中加 10ml 20%氢氧化钾的甲醇溶液，振摇后分层，上层为黄色溶液。将下层放入另一分液漏斗中，处理同上。合并二次

正己烷提取液，用蒸馏水洗至中性，pH 试纸测试为 6 左右，然后用无水硫酸钠脱水，提取液转移到 100ml 棕色容量瓶中，加 0.1gBHT，并用正己烷冲洗分液漏斗数次，最后定容至刻度。

上机前取 1-2ml 提取液于小试管中，氮气吹干，用 1.0ml 乙酸乙酯溶解后上机。

(二) 色谱条件：色谱柱： $\mu$ -Bondapak C-18(300×3.9mm)；流动相：100% 甲醇；流速：1.2ml/min；检测器：可见光 450nm；衰减：0.08AT；纸速：0.4cm/min；柱温：室温；进样量：20  $\mu$ l。

#### 四、计算

根据标准样品的保留时间定性，根据标准的峰高或峰面积与样品峰的比较而定量。

#### 五、注意事项

$\beta$ -胡萝卜素遇光和氧都会迅速破坏，所以样品应避光保存，所有标准  $\beta$ -胡萝卜素必须临时配制。

## 实验二十七 类黄酮含量的测定 (HPLC 法)

### 一、原理

含有黄酮的样品经有机溶剂回流提取后，直接注入反相化学键合体系，按其碳数多少由少到多从柱中流出，经紫外检测器测定而与标准比较定性、定量。

### 二、材料、仪器与试剂

(一) 材料：葡萄、山楂、柑橘、青椒、杏等。

(二) 仪器：高效液相色谱仪、紫外检测器、记录仪或积分仪、磁力加热搅拌器、天平、冷凝管(400mm)、容量瓶(250ml)、标准口三角瓶(250ml)、微孔滤膜(0.45  $\mu$ m)、滤纸。

(三) 试剂：甲醇、磷酸(均为分析纯)，黄酮标样(包括芦丁、橘皮苷、牡荆鼠李糖甙，金丝桃甙、槲皮素等)。

称一定量的标准样品溶于甲醇中，使最后上机浓度为 0.1mg/ml。

### 三、操作步骤

(一) 样品处理：根据被测样品黄酮的含量，称 10-20g 样品于研钵中研磨呈浆状，用 100-150ml 甲醇转称到三角瓶中，接上冷凝管于磁力加热搅拌器上加热回流 1h(加热温度以甲醇沸腾为准)，冷却到室温后定容至 250ml，滤纸过滤。

因类黄酮是略带黄色的水溶性物质，所以回流后若溶液呈黄色，证明含量分析合适，若色浅或无色，则需要定容后取一定量进行浓缩。最后经微孔滤膜（0.45 μm）过滤后，上机分析。

#### （二）色谱条件

色谱柱：μ-Bondapak C-18（300×3.9mm）；流动相：60%甲醇，用磷酸调pH3-4；流速：1.2ml/min；检测器：紫外 254nm；灵敏度：0.1AUFS；纸速：0.5cm/min；柱温：室温；进样量：10 μl。

### 四、计算

根据类黄酮标准的保留时间定性，根据标准的峰高或峰面积确定样品中黄酮的含量。

### 五、注意事项

类黄酮对热、氧、适中酸度相对稳定，但遇光迅速破坏，故在实验操作时应避免强光直射或在半暗室中进行。

## 实验二十八 绿色果蔬分离叶绿素及其含量测定

### 一、引言

叶绿素存在于果蔬、竹叶等绿色植物中。叶绿素在植物细胞中与蛋白质结合成叶绿体，当细胞死亡后，叶绿素即游离出来，游离叶绿素很不稳定，对光或热较敏感；在酸性条件下生成绿褐色脱镁叶绿素，加热可使反应加速；在稀碱液中可水解为叶绿酸盐（鲜绿色）、叶绿醇和甲醇。高等植物中叶绿素有 a、b 两种，二者都易溶于乙醇、乙醚、丙酮和氯仿中。

叶绿素的含量测定方法多种，其中有：

- （1）原子吸收光谱法：测定镁含量，可以间接算出叶绿素含量。
- （2）分光光度法：测定叶绿素提取液的最大吸收波长的光密度，然后通过公式计算获得叶绿素含量数据。此法快速、简便。其原理如下：

叶绿素 a、叶绿素 b 对 645nm 和 663nm 波长的光有吸收高峰，且两吸收曲线相交于 652nm 处。因此，测定提取液在 645nm、663nm、652nm 波长下的光密度，并根据经验公式计算，可分别得到叶绿素含量数据。

$$\text{叶绿素 a 含量} = [12.7(D_{663}) - 2.69(D_{645})] \times \frac{V}{1000 \times W} \text{ (mg/g 鲜重)}$$

$$\text{叶绿素 b 含量} = [22.9(D_{645}) - 4.68(D_{663})] \times \frac{V}{1000 \times W} \text{ (mg/g 鲜重)}$$

$$\text{总叶绿素 a 含量} = [20.0(D_{645}) + 8.02(D_{663})] \times \frac{V}{1000 \times W} \text{ (mg/g 鲜重)}$$

如果只要求测定总叶绿素含量，则只需测定一定浓度提取液在 652nm 波长的光密度。其总叶绿素含量按下式计算：

$$\text{总叶绿素} = \frac{D_{652}}{34.5} \times \frac{V}{1000 \times W} \text{ (mg/g 鲜重)}$$

D——表示在所指定波长下，叶绿素提取液的光密度读数；

V——为叶绿素丙酮提取液的最终体积（ml）；

W——为所用果蔬组织鲜重（g）。

## 二、实验材料、试剂与仪器

绿叶青菜，黄瓜，玻璃砂。

丙酮。

分光光度计

## 三、实验步骤

### （一）叶绿素提取及含量测定

均匀称取青菜样品 5g 于研钵中，加入少许玻璃砂（约 0.5-1g），充分研磨后倒入 100ml 容量瓶中，然后用丙酮分几次洗涤研钵并倒入容量瓶中，用丙酮定容至 100ml。充分振摇后，用滤纸过滤。取滤液用分光光度计分别于 645nm、663nm 和 652nm 波长下，测定其光密度。以 95%丙酮作空白对照实验。将测定记录数据列表，按照公式分别计算青菜组织中叶绿素 a、b 和总叶绿素含量。

### （二）叶绿素在酸碱介质中稳定性实验

分别取 10ml 叶绿素提取液，滴加 0.1M 盐酸和 0.1M NaOH 溶液，观察提取液的颜色变化情况，并记录下颜色变化时的 pH 值。

#### 四、注意事项

(1) 所计算出的叶绿素含量单位为 mg/g 鲜重。这一单位有时太小，使用不方便，可乘于 1 000 倍，变为  $\mu\text{g/g}$  鲜重为单位。

(2) 在提取叶绿素中，最终的丙酮液浓度为 95%，因所用材料为菠菜等青菜，含水量极高。5g 样品可视作 5g 水，故研磨后定容至 100ml，丙酮液浓度为 95%。

(3) 若以黄瓜为材料，因叶绿素只存在于黄瓜皮中，取样是用锋利剖刀在黄瓜平整部分轻轻地将绿色表皮削下，然后称取 0.5g 样品研磨，加水 5ml 充分研磨，然后用丙酮洗涤，定容至 100ml，为 95%丙酮提取液。

(4) 使用分光光度计调零时，必须用 95%丙酮。

#### 五、思考题

1 测定叶绿素含量实验中，使用分光光度计应注意哪些问题？

2 叶绿素在酸碱介质中稳定性如何？

3 试说明日常生活中炒青菜时，若加水熬煮时间过长，或加锅盖或加醋，所炒青菜容易变黄的原因？你认为应该如何才能炒出一盘保持鲜绿可口的青菜

## 实验二十九 水果皮颜色和淀粉白度的测量 ——测色色差计的使用

### 一、实验目的：

1.通过水果皮颜色和淀粉白度的测量，了解自动测色色差计的构造，功能和工作原理。

2.通过本实验，掌握一种先进的测色方法。

### 二、实验材料与仪器

柑桔（不同成熟度）三种，香蕉（不同成熟度）三种，淀粉（不同白度）三种。

TC-P II G 全自动测色色差计。

### 三、实验步骤

（一）样品制备

1.在柑桔皮上用小刀划出一个直径大于 25mm 的圆形样品，然后用滤纸把样品上的汁吸干，以免测色时污染仪器。把三种柑桔样品标号为 1#、2#、3#，留



待测色用。

2.方法同(1),在香蕉皮上剪出样品,把三种样品标号为4#、5#、6#,留待测色用。

3.把三种不同白度的淀粉分别装在三个样品盒中,标号为7#、8#、9#,留待测色用。

## (二) 色差计的使用

1.开机:联接电源,按下 **POWER** 开关,指示灯亮,表明仪器已有电源输入,同时 **ZERO** 开关灯闪烁。

2.预热仪器通电后,要预热一小时,使光源和光电探测器稳定。预热时,必须探测器放在工作白板上(注意不能放标准白板,否则标准值改变,测色不准)

3.测定准备:在仪器预热的同时,可作以下测定准备工作:

① 将标准白板的  $X_{10}$ 、 $Y_{10}$ 、 $Z_{10}$  值与数码器设定值核对无误。

② 放好打印纸,注意纸的正反方向,否则打印不出数值。

4.调零:经预热一小时后,开始调零。测反射色时,将探测器部分放在黑筒上,几秒钟后按 **ZERO** 开关,约1秒后, **ZERO** 开关灯由闪烁到灯灭,此时 **ACC** 灯闪烁,表示调零结束,数据自动输入到微机系统(若测透射色,调零时,将不透光纸板或胶皮放在固定架中,其余步骤同上)。

5.调标准白板:将探测器部分放在标准白板上,按 **ACC** 开关,一会儿灯灭,而 **MEASU** 灯闪烁,此时调标准白板完成,数据自动输入微机系统。(测反射色时,数码器中 X、Y、Z 设定值应和标准白板给出的  $X_{10}$ 、 $Y_{10}$ 、 $Z_{10}$  一致;测透射色时,数码器中 X、Y、Z 设定如下:  $X=94.83$ ,  $Y=100.00$ ,  $Z=107.381$ 。)

## (三) 样品的测色实验

1.将标准白板放在探测器部件下,几秒钟后,按 **MEASU** 开关,灯固定发光,几秒后,打印机开始工作,并打出 **STANDARD** (标准) 标号及标准白板的颜色参量值,打印机工作结束后灯灭。

2.取下标准白板,将待测样品 1#放好,几秒后,按 **MEASU** 开关,此时指示灯亮,一会儿打印机就打出编号 No.001 的第一个待测样品的各个参量值,2#、3#重复该步骤即可。

3.4#、5#、6#重复步骤(2)即可得出 No.004, No.005, No.006 的各个参量值。

4.测定粉白度值时,只要把样品盒对准探测器的孔,重复步骤(2),即可打出 No.007-009 的各个参量值。

## 5.关机

当一批样品测色结束后,关上 **POWER** 开关,指示灯灭,切断电源,收好标准白板、工作白板、黑筒等,待仪器冷却到室温,盖上黑布罩。

## 四、注意事项

1.预热量,必须把探测器放在工作白板上,而不能放标准白板,否则必将使

标准值改变，提高测量误差。

2.放打印纸时，要注意正、反方向。

3.每次测量时，必须严格按照操作步骤，依序操作，否则，不但测量不准，而且容易损坏仪器。

4.当测粉末样品时（如淀粉），必须把样品装在样品盒中填满，并且表面要刮平，否则，因表面凹凸不平，将使测量值不准。

5.当样品量多时，为了使测量值准确，使用半小时后，要求重新调零，调标准白板。（先按 RESET 复位开关，再重复色差计使用步骤中的（4）、（5），唯一不同的是，按下 **ACC** 后，**MEASU** 不再闪烁，此时调白已完成了，可继续进行测量工作。）

6.工作时千万不能关掉 **POWER** 开关或输入电源，否则仪器需重新预热一小时，不预热，则测色不准。

7.由于 TC-P II G 全自动测色色差计是精密、贵重的仪器，使用时，要十分注意环境的清洁，不要让仪器或部件粘上污物。

## 五、思考题

（1）TC-P II G 全自动测色色差计的先进性表现在哪些方面？

（2）TC-P II G 全自动测色色差计在测淀粉白度时，应注意哪些问题？

（3）测色时，白度、黄度、变黄度如何表示，其数值大小的表示意义如何？

# 实验三十 食品感官质量评价

## 一、引言

食品感官质量（即感官标准），是食品使用质量标准不可缺少的一部分。它是人的感觉器官（视觉、嗅觉、味觉及触觉）作为分析工具，对食品的外观、颜色、柔软度、气味、滋味以及包装等进行综合评价，即感官检查。常用感官评定方法有：1) 两点比较法；2) 三点比较法；3) 一——二比较法；4) 顺序比较法；5) 一对比较法；6) 加权平均法；7) 模糊数学法。

目前常用加权平均法。但是由于评审人员自身条件不尽相同，比如嗜好、情绪、经验、生理条件等的不同，所评定的分数结果离散度较大，很难获得比较一致的结果。用一个平均数，很难准确地表示某一指标应得的分数，使结果存在误差。采用模糊关系的方法来处理评定的结果，由于综合地考虑所有的因素，可以

获得一个综合的比较客观的结果。模糊数学模型能编成计算机程序，只要输入评比分数，就能由计算机完成，最后打印出评判结果。

感官评定的质量指标标准，往往是一些“亦此亦彼”的，难以量化的模糊元素。如滋味指标标准有：好吃，不好吃，特有风味等；香气标准有：原有香气、清香、浓郁等模糊标准，采用模糊数学方法，可以使这些模糊信息，经过数学处理后，产生数值信息，从而获得较客观的质量评价结果。

通过本实验掌握用加权平均法和初步掌握模糊数学法评价食品的感官质量。

## 二、实验材料

四种啤酒或饮料，茶叶。

## 三、实验步骤

1.根据所给的样品和部标（或企业标准）质量标准，进行感官检验和评定。用文字描述质量合格标准，填于表中。

2.用加权平均法，对所给四种样品进行质量评价，填于表中计算，进行各项排列。

3.用模糊数学法和所给的表格，对茶叶样品进行品评和数学处理，计算，进行质量评价。

## 四、实验结果与讨论

比较不同数字处理的结果，讨论其准确性。

1. 啤酒的评分项目和评分标准（加权平均法）见表1和表2。

**表1 啤酒评分表**

编号	项目	色	透明	泡沫	香	味	评语	备注
	最高评分	100 占总分 10%	100 占总分 10%	100 占总分 20%	100 占总分 20%	100 占总分 40%		
	酒名							
1								
2								
3								
4								

评酒地点

评酒员单位、姓名

表 2 啤酒评分标准表

项目	标 准	最高得分
色	鲜明、协调，具有黄色（黑啤酒为深褐色）	100
透明	澄清、澈亮、无沉淀、无悬浮物、无失光现象。	100
泡沫	细腻、洁白、均匀、沫层三厘米以上，持以三分钟以上。	100
香	明显的酒花、麦芽香气，有清快感，无杂臭及异臭。	100
味	纯正、愉快、清香、酒花苦、香适当、后味杀口、清快、余香、无异味、有独特风格。	100

总分=色得分×10%+透明得分×10%+泡沫得分×20%+香得分×20%+味得分×40%

(2) 模糊数学法对茶叶评级

设茶叶评定权重集为 X,

$X=\{\text{外形 (20 分), 香气与滋味 (60 分), 水色 (10 分), 叶底 (10 分)}\}$

评语论域为 V,

$$V = \begin{cases} \text{一级} & \text{二级} & \text{三级} & \text{四级} & \text{五级} \\ (90-100 \text{ 分}) & (81-90 \text{ 分}) & (71-80 \text{ 分}) & (61-70 \text{ 分}) & (51-60 \text{ 分}) \end{cases}$$

例如：一批花茶经十位审评人员审评，各项指标的分数经加权平均法分别为：

外形 83 分，香气与滋味 81 分，水色 82 分，叶底 80 分。

按加权评分法，该批花茶总分应为：

$$(80 \times 20) + (81 \times 60) + (82 \times 10) + (80 \times 10)$$

---


$$4 \times 10$$

$$=81.4 \text{ (分)}$$

该批花茶总评为二级。

采用模糊数学方法处理，为计算方便，仍按十位审评人员对花茶各项指标的给分，情况列表如下：

分数 指标	71-75	76-80	81-85	86-90	
外形	2 (人)	3 (人)	4 (人)	1 (人)	
香气与滋味	0	4	5	1	
水色	2	4	4	0	
叶底	1	4	5	0	

由上表得到模糊关系矩阵 R:

$$R = \begin{pmatrix} 0.2 & 0.3 & 0.4 & 0.1 \\ 0.0 & 0.4 & 0.5 & 0.1 \\ 0.2 & 0.4 & 0.4 & 0.0 \\ 0.1 & 0.4 & 0.5 & 0.0 \end{pmatrix}$$

$$\underline{Y} = \underline{X} \cdot R = (0.2, 0.6, 0.1, 0.1)$$

$$\begin{pmatrix} 0.2 & 0.3 & 0.4 & 0.1 \\ 1.0 & 0.4 & 0.5 & 0.1 \\ 0.2 & 0.4 & 0.4 & 0.0 \\ 0.1 & 0.4 & 0.5 & 0.0 \end{pmatrix}$$

Zadch operator 先小后大准则处理：

$$\begin{aligned} Y_1 &= (0.2 \wedge 0.2) \vee (0.6 \wedge 0) \vee \times (0.1 \wedge 0.2) \vee (0.1 \wedge 0.1) \\ &= 0.2 \vee 0 \vee 0.1 \vee 0.1 = 0.2 \end{aligned}$$

同理得到  $y_2$ 、 $y_3$ 、 $y_4$ 、分别为 0.4, .05, .01。

$$\therefore \underline{Y} = (0.2, 0.4, 0.5, 0.1)。$$

满足归一化后得：

$$\underline{Y} = (0.17, 0.33, 0.42, 0.08)$$

得到此模糊关系综合评判结果的峰值为 0.42，与原假设相比，得出的结论：该批花茶的综合结果为 81-85 分，因此，应为二级花茶。