

《食品化学》实验指导书

编者：刘邻渭

西北农林科技大学食品科学与工程学院

二〇〇九年五月

实验一、果胶的提取和果冻的制备

一、引言

果胶广泛存在于水果和蔬菜中，如干橘皮约含 10-15%，苹果（以湿品计）中含量为 0.7-1.5%，在蔬菜中以南瓜含量最多，7-17%。

果胶的基本结构是以 α -1, 4 甙键连接的聚半乳糖醛酸，其中部分羧基被甲酯化，其余的羧基与钾、钠、铵离子结合成盐。

在果蔬中，尤其是未成熟的水果和皮中，果胶多数以原果胶存在，原果胶以金属离子桥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。从柑橘皮中提取的果胶是高酯化度的果胶。酯化度在 70%以上。在食品工业中常用来制作果酱、果冻和糖果，在汁液类食品中作增稠剂、乳化剂。

二、实验材料和试剂

柑橘皮、苹果皮等，市售果胶。

0.25% HCL，95%乙醇、蔗糖、柠檬酸。

天平、烘箱、抽滤机、电炉、玻璃器皿。

三、实验步骤

1. 果胶的提取

(1) 原料预处理：称取新鲜柑橘皮 10g 用清水洗净后，放入 250 毫升容量瓶中，加水 120 毫升，加热至 90℃ 保持 5-10 分钟，使酶失去活力。用水冲洗后切成 3-5 毫米的颗粒，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，在进行下一次的漂洗

(2) 酸水解萃取：将预处理过的果皮粒放入烧杯中，加约为 0.1% 的盐酸溶液 60 毫升，以浸没果皮为宜，pH 调节至 2.0-2.5 之间，加热至 90℃ 煮 20 分钟趁热用尼龙布或四层纱布过滤。

(3) 脱色：在滤液中加入 0.5—1% 的活性炭于 80℃ 加热 10 分钟进行脱色和除异味，趁热抽滤，如抽滤困难可加入 2—4g 硅藻土作为助滤剂。如果柑橘皮漂洗干净萃取液为清澈透明则不用脱色。

(4) 沉淀：待萃取液冷却后用稀氨水调节 pH3-4。在不断搅拌下加入 95% 乙醇溶液，加入乙醇的量约为原体积的 1.3 倍，使酒精浓度达到 50%-65%。

(5) 用尼龙布过滤、洗涤、再次过滤、60℃ 烘干、包装即为产品。滤液可用蒸馏法收回乙

醇。

2. 果冻的制备

(1) 将果胶 0.2 g 浸泡于 20 毫升水中，软化后在搅拌下慢慢加热至果胶全部溶解

(2) 加入柠檬酸 0.1 克、柠檬酸钠 0.1 克和 20 克蔗糖，在搅拌下加热至沸腾，继续熬煮 5 分钟，冷却后即成果冻。

(3) 同时将市售果胶以 (1) 和 (2) 相同步骤制成果冻。

(4) 比较两种果胶形成凝胶态的速度和形成果冻的颜色、透明度、弹性和强度的相对大小。

注意：

1、如果能在试验操作的的第一步清洗时彻底除去可溶性色素和不良风味，就可不必进行第三步的脱色和去除异味，这是因为果胶在第二部转入溶液后，溶液的粘度很大，活性炭的脱色和脱臭效力不已很好发挥，而且过滤困难。

2、果冻从制作后的冷却开始到完全形成稳定的胶冻需要较长时间，通常可在两小时内观察到凝胶态基本形成，但如比较果冻的弹性和强度，通常可在制作的第二天来进行。

实验二、从牛奶中分离乳脂、酪蛋白和乳糖

一、引言

牛奶约含有 3% 乳脂，经离心就可上浮，撇出乳脂层可加工奶油，剩余的即脱脂乳，可用于分离酪蛋白和乳糖。牛奶中主要的蛋白质是酪蛋白，含量约为 35g/l。酪蛋白在乳中是以酪蛋白酸钙-磷酸钙复合体胶粒存在，胶粒直径约为 20~800 纳米，平均为 100 纳米。在酸或凝乳酶的作用下酪蛋白会沉淀，加工后可制得干酪或干酪素。本实验利用加酸，当达到酪蛋白等电点 $\text{pH}=4.7$ 时，酪蛋白沉淀。脱脂乳中除去酪蛋白后剩下的液体为乳清，在乳清中含有乳白蛋白和乳球蛋白，还有溶解状态的乳糖，乳中糖类的 99.8% 以上是乳糖，可通过浓缩、结晶制取乳糖。

二、实验材料和试剂

鲜牛奶

10% 醋酸，95% 乙醇，乙醚，碳酸钙，5% 醋酸铅溶液，10% 氯化钠，0.5% 碳酸钠，0.1mol/L 氢氧化钠，0.2% 盐酸，饱和氢氧化钙溶液，米伦试剂。

米伦试剂的配制：将汞 100g 溶于 140ml (密度 1.42) 的浓硝酸中(在通风橱内进行)。然后加两倍量的蒸馏水稀释。

三、实验步骤

1. 从牛奶中分离乳脂及转变为奶油

取 50 mL 新鲜牛奶，于普通生化离心机上 3500rpm 离心 5 分钟，取出离心管后，小心将乳脂层与脱脂乳分离，将乳脂层冻结，然后回放到室温下，将要重新融化前，快速搅动使脂肪球膜破裂以及脂肪球膜蛋白变性，倾出释放出的少量水后，继续搅动形成油包水式的奶油。称量后计算得率。

2. 从牛奶中分离酪蛋白

将脱脂乳在恒温水浴中加热至 40°C ，边轻轻搅拌边慢慢加入 10% 醋酸溶液，使牛奶 $\text{pH} = 4.7$ ，放置冷却、澄清后，用尼龙布过滤或直接用玻璃棒挑出酪蛋白粗品。滤液（乳清）留作乳糖的分离。将酪蛋白粗品转入另一烧杯，加 20ml 蒸馏水，用玻棒充分搅拌，洗涤除去其中的水溶性杂质（如乳清蛋白，乳糖以及残留的缓冲溶液），离心后弃去上层液，加 15ml 乙醇，洗涤除去其中的磷脂，离心后弃去上层液，加 15ml 乙醚洗涤除去其中的脂肪，离心后弃去上层液，待酪蛋白充分干燥后称量其重量，并计算酪蛋白的得率。

3. 从牛奶中分离乳糖

在除去酪蛋白的乳清中，加入 5g CaCO_3 粉末，搅拌均匀后加热至沸。加 CaCO_3 的目的另一方面是中和溶液的酸性，防止加热时乳糖水解，另一方面又能使乳白蛋白沉淀。过滤除去沉

淀，在滤液中加入 1~2 粒沸石，加热浓缩至 10ml，加入 20ml 95%乙醇（注意离开火焰）和少量活性炭，搅拌均匀后在水浴上加热至沸腾，趁热过滤，滤液必须澄清。加塞放置过夜，乳糖结晶析出，抽滤，用 95%乙醇洗涤产品。充分干燥后称量其重量，并计算乳糖的得率。

4. 酸沉酪蛋白和其可溶性的初步鉴定

(1) 溶解性测定

取试管 6 支，分别加入水、10%氯化钠、0.5%碳酸钠、0.1mol/L 氢氧化钠、0.2%盐酸及饱和氢氧化钙溶液各 2ml。于每管中加入少量酪蛋白。不断摇荡，观察记录各管中的酪蛋白溶解难易。

(2) 米伦反应（含酪氨酸的蛋白的定性鉴定反应）

取酪蛋白少许，放置于试管中。加入 1ml 蒸馏水，再加入米伦试剂 10 滴，振摇，并徐徐加热。观察其颜色变化。

(3) 含硫（胱氨酸、半胱氨酸和蛋氨酸）测定

取少量酪蛋白溶于 1ml 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液中，再加入 1-3 滴 5%醋酸铅，加热煮沸，溶液变为黑色。

注意：

(1) 生奶油中脂肪球膜包裹着乳脂，脂肪球膜蛋白还结合者一定水分，所以生奶油总体可看作是水包油的体系。只有将脂肪球膜破坏，才能使乳脂释放出来，只有使脂肪球膜蛋白质发生变性，才能将其持有和结合的水分放出来。脂和水都游离出后，二者才好分离，倾倒出大部分水后，继续搅拌下，残余的水和大量的脂就会形成均匀的油包水分散系。这就是奶油。当奶油中的类胡萝卜素较多时，奶油呈黄色，称为黄油。本实验中，脂肪球膜破坏和蛋白质变性都主要依靠搅拌产生的剪切力及与器壁的摩擦作用完成的。将生奶油先冷冻，主要目的是使脂肪处于结晶态，然后，再将融化前的那刻搅拌，这时水已转为液态脂肪球膜相对柔软，因此固体的脂肪与脂肪球膜共存的体系再搅拌中会产生最大的剪切力和摩擦力，这样就会较快的完成从生奶油向奶油的转化。所以，试验中的冷冻步骤必需在普通冰箱中冻实（约需 1.5 以上），拿出后，不能等到融化时再搅拌，必须在表面稍有融化时就立即搅动。

(2) 本实验的酪蛋白鉴定主要依据酪蛋白含有较多酪氨酸残基和含硫氨基酸残基，但是许多蛋白质都具有这些残基，所以这两个鉴别反应都是阳性还远远不足以说明被检物是酪蛋白。这里只是一种练习，说明有许多定性反应可以帮助蛋白质分离过程中简单判断分离的目标物是否可能正在被一步步分到。多使用几个鉴别反应，这种判断就越准。如果要求很有把握的测定一种未知蛋白是否是酪蛋白，则应该采用其他方法。例如，可以采用标准酪蛋白和

未知蛋白同时做 SDS-电泳，就可相当有把握的回答未知蛋白是否就是酪蛋白。

(3) 乳清蛋白在本实验中被丢弃，但现代技术已将其成功分离，它在食品中具有广泛的应用。

实验三、卵磷脂的提取、纯化、鉴定和应用

一、引言

卵磷脂是甘油磷脂的一种，由磷酸、脂肪酸、甘油和胆碱组成。卵磷脂广泛存在于动植物中，在植物种子和动物的脑、神经组织、肝脏、肾上腺以及红细胞中含量最多；其中蛋黄中含量最丰富，高达 8—10%，因而得名。

卵磷脂可溶于乙醚、乙醇等因而可以利用这些溶剂进行提取。本实验以乙醚作为溶剂提取生蛋黄中的卵磷脂。通常粗提取液中含有中性脂肪和卵磷脂，两者浓缩后通过离心进行分离，下层为卵磷脂。

新提取的卵磷脂为白色蜡状物，遇空气可氧化成为黄褐色，这是由于其中不饱和脂肪酸被氧化所致。

卵磷脂的胆碱基在碱性条件下可以分解为三甲胺，三甲胺有特殊的鱼腥味，可以此鉴别之。

卵磷脂在食品工业中广泛应用作乳化剂，抗氧化剂，营养添加剂。

卵黄脂质中甘油化合物 62.5%、磷脂质 32.8%、固醇 4.9%，并有微量甾脂质。磷脂质是一种天然可食用、可消化的界面活性剂，广被应用于人造乳酪、巧克力、蛋黄酱、霜饰乃至药品、化妆品等。又由于卵磷脂含多种不饱和脂肪酸，在动物体内卵磷脂与胆固醇在鹼作用下，不饱和脂肪酸转移到胆固醇较易溶解，而易於经血液循环转移到肝脏，形成胆酸、胆汁而排泄，遂被认卵磷脂可能具有降低血液中胆固醇，而对高血压、血管疾病、动脉硬化、血栓、心脏病等具预防功用。

二、实验材料和仪器

鸡蛋、花生油。

乙醚、10%NaOH、5%氯化铝的 90%乙醇溶液。

磁搅拌器，离心机。

三、实验步骤

1. 卵磷脂的提取

取 15g 生鸡蛋黄，于 150ml 三角锥瓶中加入 40ml 乙醚，放入磁搅拌器，室温下搅拌提取 15min。然后静置 30min，上层液用带棉花塞的漏斗过滤，往残渣中再加入 15ml 乙醚，搅拌提取 5min。第二次提取液通过过滤后，与第一次提取液合并倒入离心管，2000 转离心 5min，

上层液倒入小烧杯，于 60℃ 热水浴中蒸去乙醚，约可得 5g 粗提取物。粗提取物进行离心（3000r/min），十分钟后，下层为粗提卵磷脂，约得 2.5-2.8g。第一次进行 3. 和 4. 试验。

2. 卵磷脂的初步纯化

剩余粗提卵磷脂中加入 20ml 95% 乙醇，搅拌溶解后，2000 转离心 5min，将上清液转入另一干净烧杯，75℃ 水浴中挥去大部分乙醇，加入 5ml 5% 氯化铝的 90% 乙醇溶液，于水浴上加热至 75℃ 并充分搅匀后，观察有无沉淀析出，如有沉淀，将沉淀溶于乙醚中，过滤，滤液真空干燥或冷冻干燥得到无水的产物，计算得率，取出少许第二次进行 3. 和 4. 试验；如无沉淀析出，向溶液中加入 10ml 石油醚，充分震荡后，2000 转离心 5min，小心弃去石油醚层，给下层剩余物中加入 10ml 水，振摇后，2000 转离心 5min，除去水层，所得悬浮状卵磷脂可以通过真空或冷冻干燥得到无水的产物。计算得率，第三次进行 3. 和 4. 试验。

3. 卵磷脂的鉴定

取以上提取物约 0.1g，于试管内加入 10% NaOH 溶液 2ml，水浴加热数分钟，嗅之是否有鱼腥味，以确定是否卵磷脂。

4. 乳化作用

两支试管中各加入 3-5ml 水，一只加卵磷脂少许，溶解后滴加 5 滴花生油。另一只也滴入 5 滴花生油，加塞极力振荡试管，使花生油分散。观察比较两只试管内的乳化状态。

注意：

食用卵磷脂可以含有一定量无害杂质，所以，如果提取的卵磷脂仅为食用，有时就不必进行纯化。这时就可直接将卵磷脂粗提物通过真空或冷冻干燥得到无水的产物。在这种干燥条件下，残留的乙醚也被进一步除去。

本实验对卵磷脂的纯化采用的并不是最先进的办法，所以只是达到了相对纯化，之所以采用这种方法是因为它简单。更好的方法，如层析法等可查阅相关资料。

实验四 多酚氧化酶活性的测定

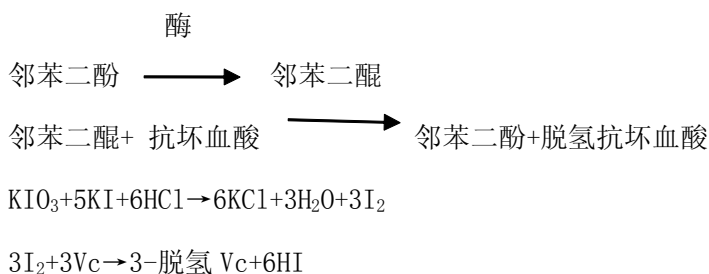
一、引言

食品的褐变主要分为酶促褐变和非酶褐变，多酚氧化酶是引起果蔬褐变的主要酶之一，学习它的活性测定对于果蔬加工采取合理的护色措施具有指导意义。多酚氧化酶的活性测定有多种方法，出于一般实验室的条件相对不是很先进，本试验选用了一种较简单的方法，但这种方法仍然可以训练学生掌握测定酶活性的基本要点和技能。

二、原理

邻苯二酚在多酚氧化酶催化下受 O_2 作用生成邻苯二醌，邻苯二醌能够被抗坏血酸还原，如抗坏血酸充足，少量邻苯二醌可反复不断地发生氧化还原。由于该酶最适 pH 为 6，因此这一过程在 pH6 时最快。

把分析对象配成 pH6 左右的样液，在抗坏血酸和邻苯二酚存在时，于 20°C 下振荡 2min，这时抗坏血酸被氧化。精确的经过 2min 后加入偏磷酸以终止反应。用碘量法（以碘酸钾为基准试剂）进行滴定，测得剩余的抗坏血酸。由得到的数据求出被氧化的抗坏血酸量，并计算出酶活性，并以 1g 分析物质 1min 内氧化抗坏血酸的微克分子数表示之。所有上述过程的主要反应式如下：



三、材料和设备

苹果；马铃薯。

研钵；烧杯；50 毫升量瓶；250 毫升三角瓶；秒表；滴定管；温度计。

四、试剂

1. 0.2 邻苯二酚溶液：用粗天平称 0.2 克邻苯二酚，溶解于蒸馏水，稀释到 100 毫升，（准备用的前 1-2 天配制）。贮于棕色玻璃瓶中，放在冷凉处。

2. 0.01N 碘酸钾溶液：用分析天平精确称取 0.3566 克 KIO_3 予先在 102°C 烘 2 小时，在干燥皿中冷却备用），用蒸馏水溶解于 1 升的容量瓶中，加 5 毫升 1N 的 NaOH 溶液（此时加碱是为了使 KIO_3 和 KI 在该试剂中暂不反应）和 2 克 KI，溶解，用蒸馏水稀释到刻度，混匀，

保存于棕色瓶中。

3. pH6.4 的磷酸缓冲液，称取 KH_2PO_4 盐 5.44 克溶解到无碳酸的水中，加 10 毫升 1N 的 NaOH 溶液，用无碳酸的水稀释至 200 毫升，保存于磨口玻璃瓶中。

4. 0.04N 抗坏血酸溶液：用粗天平称取 0.35 克抗坏血酸溶解到蒸馏水中，用水稀释至 100 毫升，混匀。溶液只能用一天。

5. 5%的偏磷酸溶液：50 克偏磷酸（经验式 HPO_3 ）溶解到蒸馏水中，稀释至 1 升后混匀，保存于磨口玻璃瓶中。

6. 0.5%可溶性淀粉。

五、操作程序

称 1 克新鲜的植物材料，加蒸馏水于瓷研钵中研细，转移到 50 毫升容量瓶，混匀。充分振荡勿使沉淀下沉，吸 10 毫升这种悬浮液，倒入 250 毫升三角瓶中。加入 1 毫升 pH6.4 的磷酸缓冲液，再加入 5 毫升 0.4N 的抗坏血酸溶液，混匀。加入 5 毫升 0.2%的邻苯二酚溶液，同时开始计时并充分振荡。为使空气中的氧气不断进入溶液一直要均匀地振荡 2 分钟。经精确作用 2 分钟后，加入 5 毫升 5%的偏磷酸溶液以停止反应。（整个实验都应在 20℃进行。即反各种试剂样液都预先放到 20℃环境中，做时也在 20℃环境下做，加入偏磷酸量还可根据自己的摸索而定）。加入 1 毫升 0.5%的淀粉溶液，用 0.01N 碘酸钾溶液滴定坑坏血酸的剩余物，直至兰色不消失为止。

同时进行对照滴定。为此吸取 10 毫升悬浮液注入另一只三角瓶中，加 5 毫升偏磷酸，再加入 1 毫升 pH6.4 磷酸缓冲液，5 毫升 0.4N 抗坏血酸，再加淀粉液，也用 0.01N KIO_3 溶液滴定。六、计算多酚氧化酶活性

$$A = \frac{50 \times 5(a-b)}{10 \times n \times 2} = \frac{12.5(a-b)}{n}$$

式中：A——多酚氧化酶活性（1 克分析物质，20℃下，1min 氧化抗坏血酸的微克分子数）；

50——分析材料悬浮液的总体积；(ml)；

n——分析材料的重量 (g)；

10——测定酶活性所取的悬浮液体积 (ml)；

2——反应时间 (min)；

a——用于滴定对照的 0.01 KIO_3 溶液体积 (ml)；

b——用于样品滴定的 0.01 KIO_3 溶液体积 (ml)；

5——0.01N 抗坏血酸溶液每 ml 换算为微克分子数抗坏血酸的系数($\frac{0.00088}{0.000176}$)。

1、