

揭阳职业技术学院

化学工程系课程教案

2025-2026 学年第一学期

专业课程：分析检测综合实训一

专业班级：分析检验技术 241、242

241 (3+证书)

任课教师：李海彬

计划学时：36

揭阳职业技术学院化工系

2025 年 8 月

实训一 食品中蛋白质含量的检测--考马斯亮蓝法

实训项目教学设计

项目名称	食品中蛋白质含量的检测--考马斯亮蓝法	项目编号	1
隶属课程	分析检测综合实训一		
教学目的	1 掌握食品（食用菌）中蛋白质的检测原理与方法 2 掌握紫外可见分光光度计的工作原理与使用方法 3 掌握样品的消化原理和方法		
思政目标	培养严谨科学、实事求是的科学思维。		
教学学时	6 学时		
教学设计	技能点	训练要求与标准	训练方法
	检验原理	考马斯亮蓝 G-250 在稀酸溶液中与蛋白质结合后变为蓝色,其最大吸收波长由 465nm 变成 595nm,其蓝色蛋白质染料复合物在波长 595nm 处的吸光度与蛋白质含量成正比。	教师讲授
	标准蛋白质原溶液制备	训练检测分析中标准溶液的配制方法	教师讲授并示范,学生实践操作
	样品溶液制备	训练检测分析中样品溶液的配制方法	教师讲授并示范,学生实践操作
	标准曲线制作	训练检测分析中标准曲线的绘制和标准曲线回归方程的构建	教师讲授,学生根据检测结果制作
	样品检测	训练检测分析中对样品的检测与计算	教师讲授,学生根据检测结果计算
	实验报告的书写	能正确编制报告,内容完整、书写正确、清晰。	
考核方法	实践考核		
考核标准	1、 实践操作（50 分）； 2、 实训报告（40 分）； 3、 实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10 分）。		
分组要求	分组实验		
场地要求	基础化学实验室		
设备仪器	紫外可见分光光度计、离心机、水浴锅等		

实训一 食品中蛋白质含量的检测--考马斯亮蓝法

1 实验目的

- 1.1 掌握食品（食用菌）中蛋白质的检测原理与方法
- 1.2 掌握紫外可见分光光度计的工作原理与使用方法
- 1.3 掌握样品的消化原理和方法

2 实验原理：

考马斯亮蓝 G-250 在稀酸溶液中与蛋白质结合后变为蓝色，其最大吸收波长由 465nm 变成 595nm，其蓝色蛋白质染料复合物在波长 595nm 处的吸光度与蛋白质含量成正比。

注：考马斯亮蓝 G-250 存在着红色和蓝色 2 种不同的着色形式。蛋白质分子具有酰胺基结构，其和蛋白质通过分子间范德华键结合，染料与蛋白质结合后颜色由红色形式转变成蓝色形式，最大吸收波长由 465nm 变成 595nm，通过测定波长 595nm 处光吸收的增加量可知与其结合蛋白质的量，3-5min 呈最大光吸收，可稳定 1 小时以上。

3 试剂与材料

3.1 试剂材料

样品，牛血清白蛋白，考马斯亮蓝 G-250，95%vol 乙醇，磷酸，氢氧化钠。

3.2 仪器与设备

紫外可见分光光度计：波长范围：190nm-900nm。

离心机：转速不低于 4000r/min。

具塞离心管：15ml。

天平：感量 0.0001g 和 0.001g。

恒温水浴锅、粉碎机。

器材设备（每小组所需的量，共分 3 小组，每组成 5 人）：

烧杯（500ml 3 个，100ml 3 个，）容量瓶（1000ml 3 个，100ml 6 个，），试剂瓶（1000ml 3 个（棕色），500ml 6 个，100ml 3 个），量筒（100ml 3 个，），粉碎机 1 台，水浴锅 3 台，快速滤纸 1 包，漏斗 3 个，15ml 带盖离心管 210 支，15ml 离心机 1 台，洗瓶 3 个，可调节移液枪（1.00mL 和 0.2ml 各 1 支）+枪头（1.00mL 和 0.2ml 各 1 袋），10ml 移液管 6 支，紫外分光光度计 3 台，试管架若干。玻璃

比色皿 3 对。

4 实验方法与步骤

4.1 考马斯亮蓝溶液制备

- (1) 称取 100.00mg 考马斯亮蓝 G-250 溶于 50ml 95% 的乙醇中。
- (2) 加入 100ml 85% 的磷酸。
- (3) 加水定容至 1000ml。
- (4) 滤纸过滤后，于棕色试剂瓶中常温避光保存（1 个月）。最终试剂中含 0.1g/L 考马斯蓝 G-250，47g/L 乙醇，85g/L 磷酸。

4.2 标准蛋白质原溶液制备

取 0.05g 结晶牛血清白蛋白，用 50ml 蒸馏水配制成 1mg/ml 标准原溶液，转存于 100ml 试剂瓶中。

4.3 样品溶液制备

- (1) 样品 60℃ 干燥处理，粉碎，干燥保存。
- (2) 取样品 0.300g 放入 15ml 离心管内。作空白对照。
- (3) 加入 6ml 蒸馏水，摇匀。
- (4) 加 4mol/L 的氢氧化钠溶液 2ml，摇匀。
- (5) 50℃ 水浴 1h，过程每 10 分钟剧烈振荡一次。
- (6) 消化完成后经 6000r/min 离心 5min，吸取 1ml 上清液，加 29ml 蒸馏水，混匀。（稀释 30 倍）

4.4 标准曲线制作

(1) 取 8 支试管，依次编号 0-8，分别加入 0、0.2ml、0.4ml、0.6ml、0.8ml、1.0ml、1.2ml、1.4ml、1.6ml 的 1mg/ml 标准蛋白质原溶液，补水至 2.0ml 配制标准蛋白溶液。

(2) 另取 8 支试管，依次编号 0-8（与上一步编号对应），分别加入 0.1ml 上述标准蛋白溶液。

(3) 各加入 5ml 考马斯亮蓝溶液，充分振荡混合，静置 5min。

(4) 于波长 595nm 处，以 0 号管为空白，测定各管的吸光度值。

(5) 以标准蛋白质浓度 (X) 为横坐标，吸光度值 (Y) 为纵坐标绘制标准曲线。

考马斯亮蓝法标准曲线操作步骤

试管编号	0	1	2	3	4	5	6	7	8
蛋白质浓度 (mg/ml)	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08
标准蛋白溶液 (ml)	0.1								
考马斯亮蓝试剂 (ml)	5								
摇匀, 静置 (min)	5								
OD _{595nm}									

4.5 样品蛋白质含量测定

- (1) 取样品溶液 0.1ml 于试管中, 另取 1 管加 0.1ml 蒸馏水作为空白对照。
- (2) 各加入 5ml 考马斯亮蓝试剂, 充分混合, 放置 10min。
- (3) 以试剂空白为对照, 波长 595nm 测定吸光度值。同时做 3 个重复。

样品测定操作步骤

样品	重复 1	重复 2	重复 3	空白 1	空白 2	空白 3
样品/空白溶液 (ml)	0.1					
考马斯亮蓝试剂 (ml)	5					
摇匀, 静置 (min)	5					
OD _{595nm}						

5 蛋白含量计算

5.1 标准曲线回归方程

以标准蛋白质浓度 (X) 为横坐标, 吸光度值 (Y) 为纵坐标绘制标准曲线图, 并构建标准曲线回归方程。

5.2 样品蛋白质含量的计算

根据标准曲线回归方程和样品吸光度值计算出样品中蛋白质的含量, 注意稀释位数。

实训二 食品中粗多糖含量的检测

实训项目教学设计

项目名称	食品中粗多糖含量的检测	项目编号	2
隶属课程	分析检测综合实训一		
教学目的	1 掌握食品（食用菌）中粗多糖的检测原理与方法 2 掌握紫外可见分光光度计的工作原理与使用方法 3 掌握食品粗多糖的提取原理和方法		
思政目标	培养求真务实的工匠精神。		
教学学时	6 学时		
教学设计	技能点	训练要求与标准	训练方法
	检验原理	多糖在硫酸作用下，先水解成单糖，并迅速脱水生成糖醛衍生物，与苯酚反应生成橙黄色溶液，在可见光 490nm 处有特征吸收，与标准系列比较定量。	教师讲授
	标准葡萄糖原溶液制备	训练检测分析中标准溶液的配制方法	教师讲授并示范，学生实践操作
	样品溶液制备	训练检测分析中样品溶液的配制方法	教师讲授并示范，学生实践操作
	标准曲线制作	训练检测分析中标准曲线的绘制和标准曲线回归方程的构建	教师讲授，学生根据检测结果制作
	样品检测	训练检测分析中对样品的检测与计算	教师讲授，学生根据检测结果计算
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。	
考核方法	实践考核		
考核标准	4、 实践操作（50分）； 5、 实训报告（40分）； 6、 实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10分）。		
分组要求	分组实验		
场地要求	基础化学实验室		
设备仪器	紫外可见分光光度计、超声波提取仪、离心机、水浴锅等		

实训二 食品中粗多糖含量的检测

1 实验目的

- 1.1 掌握食品（食用菌）中粗多糖的检测原理与方法
- 1.2 掌握紫外可见分光光度计的工作原理与使用方法
- 1.3 掌握食品粗多糖的提取原理和方法

2 实验原理：

多糖在硫酸作用下，先水解成单糖，并迅速脱水生成糖醛衍生物，与苯酚反应生成橙黄色溶液，在可见光 490nm 处有特征吸收，与标准系列比较定量。

3 试剂与材料

3.1 试剂材料

食用菌干品、蒸馏水、硫酸、无水乙醇、苯酚（免蒸馏）、无水乙醇、葡萄糖。

3.2 仪器与设备

可见分光光度计、超声波提取器、离心机、圆底烧瓶、空气冷凝管、水浴锅等。

4. 实验方法与步骤

4.1 试剂准备

4.1.1 80%乙醇溶液的制备

4.1.2 80%苯酚溶液的制备

称取 80g 苯酚于 100 mL 烧杯中，加水溶解，定容至 100 mL 后转至棕色瓶中，置 4℃ 冰箱中避光贮存。

4.1.3. 5%苯酚溶液的制备

吸取 5 mL 的 80%苯酚溶液，溶于 75 mL 水中，混匀，现用现配。

4.1.4 0.1mg/ml 标准葡萄糖溶液的制备

称取 0.1000g 无水葡萄糖（105℃ 烘干恒重）于 100 mL 烧杯中，加水溶解，定容至 1 000mL，置 4℃ 冰箱中贮存。

4.2 样品多糖的提取

1. 样品经粉碎处理，过 20 目 (0.9mm) 孔径筛。
2. 称取 1.0g 的样品，精确到 0.001g，置于 50 mL 具塞离心管内。
3. 向离心管中加 5 mL 水浸润，后再加 20ml 的无水乙醇。
4. 使用涡旋振荡器振摇，使混合均匀，置超声提取器中超声提取 45 min，80℃。
5. 提取结束后，于 4000r/min 离心 10 min，弃去上清液。
6. 不溶物用 10 mL 的 80%乙醇溶液洗涤、离心，弃去上清液。
7. 用水将上述不溶物转移入圆底烧瓶，加入 50 mL 蒸馏水，装上磨口的空气冷凝管，于沸水浴中提取 1h。
8. 冷却至室温，过滤，得上清液。
9. 将上清液转移至 100 mL 容量瓶中，残渣洗涤 2 次-3 次，洗涤液转至容量瓶中，加水定容，配制成菌体含量为 10mg/ml 的样品液。

4.3 标准曲线的制定

1. 分别吸取 0、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL 的标准葡萄糖溶液 (0.1 mg/ml) 置 20 ml 具塞玻璃试管中，用蒸馏水补至 1.0 mL。
2. 向试液中加入 1.0 ml 的 5%苯酚溶液，混均，然后快速加入 5.0 mL 硫酸(与液面垂直加入，勿接触试管壁，以便与反应液充分混合)，混均，静置 10 min。
3. 然后将试管放置于 30℃水浴中反应 20 min。
4. 反应完成后，吸适量液体于比色皿中，用分光光度计 (可见光) 490 nm 光检测各标准液吸光度。
5. 以葡萄糖质量浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，制定标准曲线。

标准葡萄糖曲线

吸取量	1.0ml	0.8ml	0.6ml	0.4ml	0.2ml	0.0ml
浓度	0.1mg/ml	0.08mg/ml	0.06mg/ml	0.04mg/ml	0.02mg/ml	0mg/ml
吸光度 (490nm)						

4.4 样品多糖的测定

1. 吸取 2.00 mL 样品溶液于 20 mL 具塞试管中。同时做空白试验，用蒸馏水代替样品溶液。

2. 向试液中加入 2.0 mL 的 5% 苯酚溶液，充分混均，然后快速加入 10.0 mL 硫酸(与液面垂直加入，勿接触试管壁，以便与反应液充分混合)，混均，静置 10 min。

3. 然后将试管放置于 30℃ 水浴中反应 20 min。

4. 反应完成后，吸适量液体于比色皿中，用 490 nm 光检测各样品液吸光度。

_____粗多糖检测结果

浓度	重复 1	重复 2	重复 3	空白 1	空白 2	空白 3
吸光度 (490nm)						

5 粗多糖含量计算

5.1 标准曲线回归方程

以标准葡萄糖浓度 (X) 为横坐标，吸光度值 (Y) 为纵坐标绘制标准曲线图，并构建标准曲线回归方程。

5.2 样品粗多糖含量的计算

根据标准曲线回归方程和样品吸光度值计算出样品中粗多糖的含量。

实训三 食品中脂肪含量的检测—酸水解法

实训项目教学设计

项目名称	食品中脂肪含量的检测—酸水解法	项目编号	3
隶属课程	分析检测综合实训一		
教学目的	1 掌握食品（食用菌）中脂肪的检测原理与方法 2 掌握食品酸水解处理原理与使用方法		
思政目标	培养认识问题、分析问题和解决问题的科学思维。		
教学学时	6 学时		
教学设计	技能点	训练要求与标准	训练方法
	实验原理	食品中结合态脂肪用强酸使其游离出来并溶于有机溶剂，用无水乙醚或石油醚提取，除去溶剂即得游离态和结合态脂肪的总含量。	教师讲授
	样品酸水解	样品酸水解彻底	教师讲授并示范，学生实践操作
	脂肪抽提	脂肪抽提完成	
	有机溶剂回收	熟练使用旋转蒸发仪	
	产品干燥	充分干燥	
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。	
考核方法	实践考核		
考核标准	7、实践操作（50分）； 8、实训报告（40分）； 9、实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10分）。		
分组要求	分组实验		
场地要求	基础化学实验室		
设备仪器	旋转蒸发仪、水浴锅等		

实训三 食品中脂肪含量的检测—酸水解法

1 实训目的

- 1.1 掌握食品中脂肪含量的检测原理与方法。
- 1.2 掌握食品酸水解处理原理与使用方法。

2 实训原理

食品中的结合态脂肪必须用强酸使其游离出来,游离出的脂肪易溶于有机溶剂。试样经盐酸水解后用无水乙醚或石油醚提取,除去溶剂即得游离态和结合态脂肪的总含量。

3 试剂与材料

3.1 试剂材料

乙醚或石油醚(沸程为30-60℃),乙醇,水,盐酸,样品(食用菌干品)等。

3.2 仪器与设备

100mL具塞量筒,磨口球形瓶,旋转蒸发仪,干燥器、干燥剂等

4 实验方法与步骤

4.1 试剂准备

1:1 盐酸: 盐酸缓慢加入等量水中

饱和 NaCl 溶液: 水中溶解度 35.9g (室温)

4.2 样品酸水解

1) 称取约 5g 粉碎样品,置于 50mL 试管内;

2) 加入 8mL 水,混匀;

3) 后再加 10mL 盐酸,混匀,;

4) 将试管放入 80℃ 水浴中,每隔 10min 用玻棒搅拌 1 次,至试样消化完全(约 40-50min)。

4.3 抽提

1) 向水解管中加入 10mL 乙醇,混合。

2) 冷却后将混合物移入 100mL 具塞量筒中, 以 25mL 石油醚分数次洗试管, 一并倒入量筒中。

3) 加塞振摇 1min, 小心开塞, 放出气体, 再塞好, 静置 12min;

4) 用石油醚冲洗塞及量筒口附着的脂肪, 静置 10-20min;

5) 吸取上清液于已恒重的磨口球形瓶内;

6) 继续加 5mL 石油醚于具塞量筒内, 振摇, 静置后, 将上层石油醚吸出, 放入上一步的磨口球形瓶内得抽提液。

4.4 石油醚回收与产品称量

1) 将装有抽提液石油醚的磨口球形瓶接于旋转蒸发仪, 回收石油醚。

2) 当瓶内溶剂剩余 1-2mL 时在水浴上蒸干;

3) 将蒸干后球形瓶于 $100^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥 1h,

4) 放干燥器内冷却 0.5h 后称量。

5 结果计算

试样中脂肪的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{m_1 - m_0}{m_2} \times 100$$

式中:

X —— 试样中脂肪的含量, 单位为克每百克 (g/100g);

m_1 —— 恒重后接收瓶和脂肪的含量, 单位为克 (g);

m_0 —— 接收瓶的质量, 单位为克 (g);

m_2 —— 试样的质量, 单位为克 (g);

100 —— 换算系数。

实训四 化妆品自由基（DPPH）清除能力的检测

实训项目教学设计

项目名称	化妆品自由基（DPPH）清除能力的检测		项目编号	4
隶属课程	分析检测综合实训一			
教学目的	1 掌握对化妆品自由基（DPPH）清除能力的检测检测原理与方法 2 掌握紫外可见分光光度计的工作原理与使用方法 3 掌握样品的预处理原理和方法			
思政目标	培养科学、唯物、马克思主义的世界观。			
教学学时	6 学时			
教学设计	技能点	训练要求与标准		训练方法
	检测原理	1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼（简称 DPPH）是一种稳定的自由基，其乙醇溶液呈深紫色，在 517nm 附近有强吸收。当有自由基清除剂存在时，由于与其单电子配对而使 DPPH 乙醇溶液光吸收减弱。DPPH 乙醇溶液褪色程度与其接受的电子数呈线性关系。		教师讲授
	DPPH 乙醇溶液	训练检测分析中溶液溶剂的配制方法		教师讲授并示范，学生实践操作
	样品溶液制备	训练检测分析中样品溶液的配制方法		
	标准曲线制作	训练检测分析中标准曲线的绘制和标准曲线回归方程的构建		教师讲授，学生根据检测结果制作
	样品检测	训练检测分析中对样品的检测与计算		
实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。			
考核方法	实践考核			
考核标准	实践操作（50 分）； 实训报告（40 分）； 实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10 分）。			
分组要求	分组实验			
场地要求	基础化学实验室			
设备仪器	紫外可见分光光度计等			

实训四 化妆品自由基（DPPH）清除能力的检测

1 实验目的

掌握对化妆品自由基（DPPH）清除能力的检测技能。

2 实验原理

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（简称 DPPH）是一种稳定的自由基，其乙醇溶液呈深紫色，在 517nm 附近有强吸收。当有自由基清除剂存在时，由于与其单电子配对而使 DPPH 乙醇溶液光吸收减弱。DPPH 乙醇溶液褪色程度与其接受的电子数呈线性关系，由此可评价试验样品清除自由基的能力，即抗氧化活性的大小。

3 试剂与材料

3.1 试剂材料

乙醇，1,1-二苯基-2-三硝基苯肼，维生素 E/维生素 C（分析纯）

3.2 仪器与设备

可见分光光度计，可调节移液枪：1.00mL；

4. 实验方法与步骤

4.1 试剂准备

4.1.1 95%乙醇的制备

4.1.2 0.12mg/mL DPPH 乙醇溶液的制备

称取 12 mg 的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼于 250mL 烧杯中，加入 80mL 95%乙醇，用玻棒搅拌至溶解，于 100ml 容量瓶定容。

4.2 阳性对照物的制备

阳性对照物维生素 E 用 95%乙醇溶解和稀释，维生素 C 用去离子水溶解和稀释。浓度为 1.00mg/ml。使用时稀释成：0.08mg/mL、0.04mg/mL、0.02mg/mL、0.01mg/mL 系列浓度梯度用以验证试验系统。

4.3 样品溶液的制备

水溶性样品用水稀释为多级浓度样品，油溶性样品用 95%乙醇稀释为多级浓度样品。

4.4 样品检测

4.4.1 参照表 1，使用 10mL 试管设立样品管（T）、样品本底（T0）、DPPH 管

(C) 和溶剂本底 (C₀), 每一样品的每个受试浓度的样品管 (T) 需设立 3 支平行管, 同时 DPPH 管 (C) 也需设立 3 支平行管。

4.4.2 在样品管 (T) 和样品本底 (T₀) 中各加入 1mL 相同浓度的样品溶液。

4.4.3 在所有试管中 (T、T₀、C、C₀) 补充溶剂, 水溶性样品用水, 油性样品用 95%乙醇, 补足 3mL, 混匀。

4.4.4 在样品管 (T) 和 DPPH 管 (C) 中加入 DPPH 乙醇溶液 1mL, 样品本底 (T₀) 和溶剂本底 (C₀) 用 95%乙醇代替, 轻轻摇匀, 室温下静置 5 分钟。

4.4.5 将各支反应溶液移入 1cm 玻璃比色皿中, 在 517nm 处测定吸光值。

表 1 样品加液要求

	T-样品管	T ₀ -样品本底	C-DPPH 管	C ₀ -溶剂本底
样品溶液 (mL)	1	1	—	—
水或 95%乙醇溶剂 (mL)	2	2	3	3
DPPH 乙醇溶液 (mL)	1	—	1	—
95%乙醇 (mL)	—	1	—	1
平行次数	3/样	1/样	3/试验	1/试验

6 结果计算

计算 DPPH 自由基清除率:

$$\text{清除率 (\%)} = \left(1 - \frac{T - T_0}{C - C_0}\right) \times 100\%$$

式中:

T—样品管吸光值, 即样品与 DPPH 反应后溶液吸光值;

T₀—样品本底吸光值;

C—DPPH 管吸光值 3 次平均值, 即未加样品时 DPPH 溶液吸光值;

C₀—溶剂本底吸光值。

7. 试验有效性验证

每批次实验都需要加入阳性对照的测试, 阳性对照维生素 E 的 IC₅₀ (达到 50%清除效果时对应的样品受试浓度) 应在 0.02mg/mL-0.06mg/mL, 则认为试验系统有效。

根据公式 (1) 计算样品在各受试浓度下的自由基清除率, 同时统计各组平行管间清除率间的标准差 (Standard Deviation, SD), SD 值须 ≤ 3%, 则认为试

验平行性有效。

8. 结果报告

样品在某一受试浓度下的对 DPPH 自由基的清除率应表述为：清除率平均值 ± 清除率间的标准差 (SD)。

对于样品清除自由基活性的表述，不应脱离受试浓度而言。

在进行样品间清除自由基活性的比较时，可绘制样品受试浓度与 DPPH 自由基清除率的浓度反应关系曲线，应用拟合公式 ($R^2 \geq 0.9$) 计算各样品的 IC₅₀，样品 IC₅₀ 越小代表活性越强。

实训五 饮料中山梨酸钾含量的检测

实训项目教学设计

项目名称	饮料中山梨酸钾含量的检测		项目编号	5
隶属课程	分析检测综合实训一			
教学目的	1 掌握食品中山梨酸钾含量的检测原理与方法 2 掌握紫外可见分光光度计的工作原理与使用方法 3 掌握样品的预处理原理和方法			
思政目标	培养人与自然和谐共生的可持续发展理念。			
教学学时	6 学时			
教学设计	技能点	训练要求与标准		训练方法
	检测原理	样品经盐酸酸化后,用乙醚(或氯仿)提取并浓缩山梨酸钾,然后用乙醇或水定溶,检测 252nm 波长的吸光值。		教师讲授
	1:1 盐酸	训练检测分析中溶液溶剂的配制方法		教师讲授并示范,学生实践操作
	样品溶液制备	训练检测分析中样品溶液的配制方法		
	标准曲线制作	训练检测分析中标准曲线的绘制和标准曲线回归方程的构建		教师讲授,学生根据检测结果制作
	样品检测	训练检测分析中对样品的检测与计算		
	实验报告的书写	能正确编制报告,内容完整、书写正确、清晰。		
考核方法	实践考核			
考核标准	实践操作(50分); 实训报告(40分); 实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯(10分)。			
分组要求	分组实验			
场地要求	基础化学实验室			
设备仪器	紫外可见分光光度计等			

实验五 饮料中山梨酸钾含量的检测

1 实训目的

- 1.1 掌握食品中山梨酸钾含量的检测原理与方法
- 1.2 掌握紫外可见分光光度计的工作原理与使用方法
- 1.3 掌握样品的预处理原理和方法

2 实训原理

样品经盐酸酸化后,用乙醚(或氯仿)提取并浓缩山梨酸钾,然后用乙醇或水定溶,检测 252nm 波长的吸光值。

易溶于水,溶于丙二醇和乙醇

3 试剂与材料

3.1 试剂材料

乙醚(或氯仿),乙醇,水,盐酸,山梨酸钾,样品(饮料或酱油)等。

3.2 仪器与设备

紫外可见分光光度计,石英比色皿,分液漏斗,可调节移液枪,水浴锅等

4. 实验方法与步骤

4.1 试剂准备

1:1 盐酸:盐酸缓慢加入等量水中

饱和 NaCl 溶液:水中溶解度 35.9g(室温)

4.2 样品处理(萃取)

- 1) 取样品 5mL 于分液漏斗中
- 2) 加入 20mL 饱和 NaCl 溶液(加入 NaCl 是为了增加电解质,提高萃取率),混均
- 3) 加入 10mL 体积比为 1:1 盐酸,混均
- 4) 加入 25mL 乙醚(或氯仿)充分振荡 10 min,静置 30min(能有效分层即可)
- 5) 取上层有机相于小烧杯/比色管/玻璃试管中
- 6) 再加入 25mL 乙醚(或氯仿)进行第二次萃取

7) 合并两次乙醚（或氯仿）萃取溶液，水浴加热使乙醚（或氯仿）挥发

8) 加适量水或乙醇进行溶解（定容），得样品液

4.3 山梨酸钾标准溶液

配制 4mg/mL 的山梨酸钾标准溶液：称 100mg 山梨酸钾，置于小烧杯中，用适量蒸馏水使其溶解，待完全溶解后，转入 25mL 容量瓶中，用蒸馏水定容。

4.4 山梨酸钾标准曲线的绘制

4.4.1 山梨酸钾标准溶液最大浓度的确定

取适量山梨酸钾标准溶液作适量稀释，检测 252nm 吸光值，吸光值为 1 的浓度为最大浓度。

4.4.2 山梨酸钾标准工作液检测

在最大浓度以内稀释成 5 个梯度浓度标准工作液，检测 252nm 吸光值。

4.5 样品检测

样品液作适当稀释处理，检测 252nm 吸光值（吸光值在 0.2-0.8 之间）。

5 结果计算

5.1 标准曲线绘制

根据山梨酸钾标准工作液检测结果，以吸光值为 Y 轴，山梨酸钾浓度为 X 轴绘制标准曲线图和回归方程。

5.2 浓度计算

根据回归方程和样品吸光值，计算样品中山梨酸钾浓度。

实训六 食品和化妆品中细菌总数的测

实训项目教学设计

项目名称	食品和化妆品中细菌总数的测定	项目编号	6
隶属课程	分析检测综合实训一		
教学目的	1. 进一步建立无菌操作概念 2. 巩固和掌握无菌操作技术 3. 掌握仪器和化妆品中细菌总数的测定技术		
思政目标	培养环保、健康、绿色、低碳的生活理念。		
教学学时	3 学时		
教学设计	技能点	训练要求与标准	训练方法
	细菌菌落总数测定的原理	一定条件下（卵磷脂、吐温 80 营养琼脂上，于 27℃ 培养 48h）生长的一群嗜中温的需氧及兼性厌氧的细菌总数。	教师讲授
	样品的稀释	训练在无菌条件下利用玻璃吸管稀释样品至一系列浓度的方法	教师讲授并示范，由学生具体操作
	倾注法	掌握在无菌条件下进行样品与培养基倾注混匀的方法	教师讲授并示范，由学生具体操作
	菌落总数的计算方法	掌握菌落总数的计数原则	教师讲授，学生根据实验结果编制实训报告
	实验数据的记录及结果处理，实训总结		对学生操作过程中出现的不规范操作进行强调并纠正，总结各项技能点的掌握要点
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。	
考核方法	过程考核：操作（80 分）+ 报告（20 分）		
考核标准	10、 无菌操作：倒平板（30 分），倾注技术（20 分），涂布技术（20 分） 11、 实训报告（20 分）； 12、 实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10 分）。		
分组要求	4 人 1 组		
场地要求	微生物室		
设备仪器	酒精灯、涂布棒、灭菌培养基和培养皿，超净工作台		

实训六 食品和化妆品中细菌总数的测定

一、实训目的：

1. 进一步建立无菌操作概念
2. 巩固和掌握无菌操作技术
3. 掌握食品和化妆品中细菌总数的测定技术
4. 掌握食品和化妆品样品的制备技术

二、实训材料：

无菌培养基、无菌培养皿、无菌水、涂布棒、无菌吸管、检测样品、无菌生理盐水、无菌石蜡、无菌吐温 80、无菌玻璃珠。

所需物资（每小组所需的量，共分 3 小组，每组约 5 人）

卵磷脂吐温 80 营养琼脂培养基，氯化钠，液体石蜡，吐温 80

三、实训步骤：

1. 操作环境消毒

75%酒精表面消毒

2. 样品的制备

此部分空白，让学生提前完成

P140-141

2.1 液体样品的制备

2.2 半固体状样品的制备

3. 样品稀释

用 1ml 无菌移液管从样品中吸取 1ml，吹入 9ml 无菌水中，吹吸二次，使溶液充分混匀，制成浓度为 10^{-1} 的溶液；反复重复此操作，制成 10^{-1} 、 10^{-2} 两个浓度的溶液。

3. 空白平板制作

在酒精灯附近向每个平板倒入约 20ml 培养基，平板待凝固。

4. 倾注倒平板

分别从原液、 10^{-1} 、 10^{-2} 三个浓度的试管中各吸取 1ml 溶液吹入无菌培养皿中，共 3 个平板，迅速倒入已溶解并冷却至 46°C 左右的培养基中，每个平板倒入约 20ml 培养基，进行混匀，以上各步骤均需在酒精灯附近进行无菌操作。

5. 培养

所有平板倒置于 37℃，培养 48 小时左右，取出计数，并计算菌落总数。

四、思考题：

1. 根据你的菌落计数结果，计算出每 ml 或每 g 样品中所含的细菌总数？

四、记录与总结（本次实训结果记录、实训完成情况、实训过程中出现问题、自我解决问题的记录、所吸取经验、心得体会及建议等）