



中华人民共和国国家标准

GB/T 22492—2008

大豆肽粉

Soy peptides powder

2008-11-04 发布

2009-01-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的附录 A、附录 B 为规范性附录。

本标准由国家粮食局提出。

本标准由全国粮油标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：武汉工业学院、武汉天天好生物制品有限公司、临沂山松生物制品有限公司、临沂出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：刘大川、陈栋梁、刘嵬、莫朝晖、张立峰、陈建中、杨西江。

大豆肽粉

1 范围

本标准规定了大豆肽粉的术语和定义、质量要求和卫生要求、检验方法、检验规则、标签标识以及包装、储存和运输要求。

本标准适用于以大豆粕或大豆蛋白等为原料,生产的食用大豆肽粉商品。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 5009.1 食品卫生检验方法 理化部分 总则

GB/T 5009.3 食品中水分的测定

GB/T 5009.4 食品中灰分的测定

GB/T 5009.5 食品中蛋白质的测定

GB/T 5009.6 食品中脂肪的测定

GB/T 5009.117 食用豆粕卫生标准的分析方法

GB/T 5492 粮油检验 粮食、油料的色泽、气味、口味鉴定

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

GB 7718 预包装食品标签通则

GB/T 12096 淀粉细度测定方法

GB 16740 保健(功能)食品通用标准

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

大豆肽粉 **soy peptides powder**

以大豆粕或大豆蛋白等为主要原料,用酶解或微生物发酵法生产的,相对分子质量在 5 000 以下,主要成分为肽的粉末状物质。

3.2

肽含量 **the content of soy peptides**

肽占试样的质量分数。

3.3

脲酶(尿素酶)活性 **urease activity**

脲酶(尿素酶)将尿素分解为氨和二氧化碳或碳酸铵的能力。

4 质量要求和卫生要求

4.1 感官要求

大豆肽粉感官指标见表 1。

表 1 大豆肽粉感官要求

项 目	质量要求
细 度	100% 通过孔径为 0.250 mm 的筛
颜 色	白色、淡黄色、黄色
滋味与气味	具有本产品特有的滋味与气味,无其他异味
杂 质	无肉眼可见的外来物质

4.2 理化指标及分级指标

大豆肽粉理化指标及分级指标见表 2。

表 2 大豆肽粉理化指标

项 目	质 量 指 标		
	一级	二级	三级
粗蛋白质(以干基计,N×6.25)/%	≥90.0	≥85.0	≥80.0
肽含量(以干基计)/%	≥80.0	≥70.0	≥55.0
≥80%肽段的相对分子质量	≤2 000	≤5 000	
灰分(以干基计)/%	≤6.5	≤8.0	
水分/%	≤7.0		
粗脂肪(干基)/%	≤1.0		
脲酶(尿素酶)活性	阴性		

4.3 卫生要求

4.3.1 按 GB 16740 及国家有关标准和规定执行。

4.3.2 植物检疫按国家有关标准和规定执行。

5 检验方法

- 5.1 采样:按 GB/T 5009.1 要求执行。
- 5.2 颜色、气味和滋味检验:按 GB/T 5492 执行。闻气味时,同时尝其滋味。
- 5.3 细度检验:按 GB/T 12096 执行。
- 5.4 粗蛋白质检验:按 GB/T 5009.5 执行。
- 5.5 肽相对分子质量分布检验:按附录 A 执行。
- 5.6 肽含量检验:按附录 B 执行。
- 5.7 水分检验:按 GB/T 5009.3 执行。
- 5.8 灰分检验:按 GB/T 5009.4 执行。
- 5.9 粗脂肪检验:按 GB/T 5009.6 执行。
- 5.10 脲酶检验:按 GB/T 5009.117 执行。

6 检验规则

6.1 检验批

同一批原料、同一班次生产的同一规格的产品为一批。

6.2 出厂检验

- 6.2.1 应逐批检验,并出具检验报告。检验合格,方可出厂。
- 6.2.2 除肽相对分子质量分布项目外,按 4.1 和 4.2 的规定检验。

6.3 型式检验

遇有下列情况之一时,应按第4章规定的全部项目进行型式检验:

- 新产品投产时;
- 连续生产的每半年至少进行一次;
- 当原料、设备、工艺有较大变化时有可能影响质量时;
- 国家质量监督检验机构提出时。

6.4 判定规则

6.4.1 产品未标注质量等级的,或有一项质量指标不符合本标准规定的按不合格判定。

6.4.2 质量指标应符合本标准的等级规定,有一项不符合应判定为下一个等级。不符合最低等级的,判定为不合格产品。

6.4.3 检验结果不符合4.1和4.2要求时,可在原批次产品中加倍抽样复检一次,判定以复检结果为准。若仍有项目不合格时,即判定该批为不合格产品。不合格产品不能供人食用。

7 标签标识

7.1 应符合GB 7718的规定。

7.2 采用转基因大豆生产加工的大豆肽粉应按国家有关规定标识。

7.3 应注明产品原料的生产国名。

8 包装、储存和运输

8.1 包装

材料应符合相应的食品卫生要求,包装容器应大小合适,且确保产品在贮藏和运输过程中,保持干燥和不受污染。

8.2 储存

应储存在通风、干燥、清洁的地方,严禁与有异味、有毒物品一同存放。

8.3 运输

运输工具要清洁,防晒、防雨、防潮。不得与有毒、有异味的物品混运。

附 录 A

(规范性附录)

肽相对分子质量分布的测定方法

A.1 原理

采用高效凝胶过滤色谱法测定。即以多孔性填料为固定相,依据样品组分相对分子质量大小的差别进行分离,在肽键的紫外吸收波长 220 nm 条件下检测,使用凝胶色谱法测定相对分子质量分布的专用数据处理软件(即 GPC 软件),对色谱图及其数据进行处理,计算得到大豆肽的相对分子质量大小及分布范围。

A.2 试剂

实验用水应符合 GB/T 6682 中二级用水的规格,使用试剂除特殊规定外,均为分析纯。

A.2.1 乙腈

色谱纯。

A.2.2 三氟乙酸

色谱纯。

A.2.3 相对分子质量分布校正曲线所用标准品

A.2.3.1 胰岛素。

A.2.3.2 杆菌肽。

A.2.3.3 甘氨酸-甘氨酸-酪氨酸-精氨酸。

A.2.3.4 甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸。

A.3 仪器和设备

A.3.1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器和含有 GPC 数据处理软件的色谱工作站或积分仪。

A.3.2 流动相真空抽滤脱气装置。

A.3.3 电子天平:分度值 0.000 1 g。

A.4 操作步骤

A.4.1 色谱条件与系统适应性实验(参考条件)

A.4.1.1 色谱柱:TSKgelG2000_{swXL} 300 mm×7.8 mm(内径)或性能与此相近的同类型其他适用于测定蛋白质和肽的凝胶柱。

A.4.1.2 流动相:乙腈+水+三氟乙酸=20+80+0.1。

A.4.1.3 检测波长:220 nm。

A.4.1.4 流速:0.5 mL/min。

A.4.1.5 检测时间:30 min。

A.4.1.6 进样体积:20 μL。

A.4.1.7 柱温:室温。

A.4.1.8 为使色谱系统符合检测要求,规定在上述色谱条件下,凝胶色谱柱效即理论塔板数(N)按三肽标准品(甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸)峰计算不低于 10 000。

A.4.2 相对分子质量标准曲线制作

分别用流动相配制成质量浓度为 1 mg/mL 的上述不同相对分子质量肽标准品溶液,按一定比例混

合后,用孔径 $0.2\ \mu\text{m}\sim 0.5\ \mu\text{m}$ 有机相膜过滤后进样,得到标准品的色谱图。以相对分子质量的对数对保留时间作图或作线性回归得到相对分子质量校正曲线及其方程。

A.4.3 样品处理

准确称取样品 10 mg 于 10 mL 容量瓶中,加入少许流动相,超声振荡 10 min,使样品充分溶解混匀,加流动相稀释至刻度,用孔径 $0.2\ \mu\text{m}\sim 0.5\ \mu\text{m}$ 有机相膜过滤,滤液按 A.4.1 的色谱条件进行分析。

A.5 相对分子质量分布的计算

将 A.4.3 制备的样品溶液在 A.4.1 色谱条件下分析后,用 GPC 数据处理软件,将样品的色谱数据代入校正曲线 A.4.2 中进行计算,即可得到样品的相对分子质量及其分布范围。用峰面积归一法可计算得到不同肽段相对分子质量的分布情况,按式(A.1)进行计算:

$$X = \frac{A}{A_{\text{总}}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (\text{A.1})$$

式中:

X ——试样中某相对分子质量肽段所占总肽段的质量分数, %;

A ——某相对分子质量肽段的峰面积;

$A_{\text{总}}$ ——各相对分子质量肽段的峰面积之和, $A_{\text{总}} = \sum_{i=1}^n A_i$ (其中 n 表示样品相对分子质量段数)。

计算结果保留小数点后一位。

A.6 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过两次测定结果算术平均值的 15%。

附 录 B
(规范性附录)
肽含量的测定方法

B.1 原理

高分子蛋白质在酸性条件下易被沉淀,相对分子质量较小的蛋白质水解物(酸溶蛋白质)可溶于酸性溶液(其中包含肽及游离氨基酸)。样品经酸化后,滤液中的酸溶蛋白质含量减去游离氨基酸含量即为肽含量。

B.2 试剂

实验用水应符合 GB/T 6682 中二级用水的规格,使用试剂除特殊规定外,均为分析纯。

B.2.1 三氯乙酸:150 g/L。

B.2.2 硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)。

B.2.3 硫酸钾。

B.2.4 硫酸:密度为 1.841 9 g/L。

B.2.5 硼酸溶液:20 g/L。

B.2.6 氢氧化钠溶液:400 g/L。

B.2.7 盐酸:优级纯。

B.2.8 硫酸标准滴定溶液 [$c(1/2 \text{H}_2\text{SO}_4) = 0.050 0 \text{ mol/L}$] 或盐酸标准滴定溶液 [$c(\text{HCl}) = 0.050 0 \text{ mol/L}$]。

B.2.9 混合指示液:1 份 1 g/L 甲基红乙醇溶液与 5 份 1 g/L 溴甲酚绿乙醇溶液临用时混合。或 2 份 1 g/L 甲基红乙醇溶液与 1 份 1 g/L 亚甲基蓝乙醇溶液临用时混合。

B.2.10 混合氨基酸标准液:0.002 5 mol/L。

B.2.11 pH2.2 的柠檬酸钠缓冲液:称取 19.6 g 柠檬酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),加入 16.5 mL 浓盐酸并加水稀释到 1 000 mL,用浓盐酸或 500 g/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 2.2。

B.2.12 pH3.3 的柠檬酸钠缓冲液:称取 19.6 g 柠檬酸钠,加入 12 mL 浓盐酸并加水稀释到 1 000 mL,用浓盐酸或 500 g/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 3.3。

B.2.13 pH4.0 的柠檬酸钠缓冲液:称取 19.6 g 柠檬酸钠,加入 9 mL 浓盐酸并加水稀释到 1 000 mL,用浓盐酸或 500 g/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 4.0。

B.2.14 pH6.4 的柠檬酸钠缓冲液:称取 19.6 g 柠檬酸钠和 46.8 g 氯化钠(优级纯),加水溶解并稀释到 1 000 mL,用浓盐酸或 500 g/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 6.4。

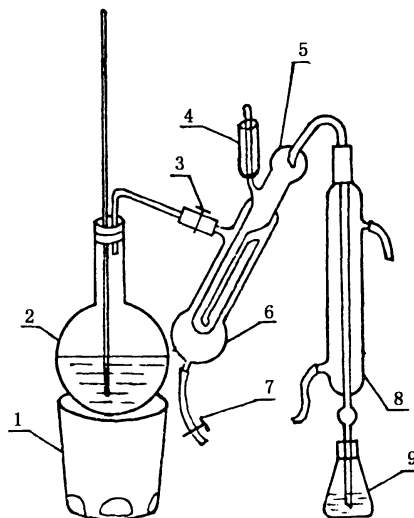
B.2.15 pH5.2 的乙酸锂溶液:称取氢氧化锂($\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$)168 g,加入冰乙酸(优级纯)279 mL,加水稀释到 1 000 mL,用浓盐酸或 500 g/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 5.2。

B.2.16 茚三酮溶液:取 150 mL 二甲基亚砷($\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$)和 50 mL 乙酸锂溶液,加入 4 g 水合茚三酮($\text{C}_9\text{H}_4\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)和 0.12 g 还原茚三酮($\text{C}_{18}\text{H}_{10}\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)搅拌至完全溶解。

B.3 仪器与设备

B.3.1 氨基酸自动分析仪。

B.3.2 定氮蒸馏装置如图 B.1 所示。



- 1——电炉；
- 2——水蒸气发生器(2 L 平底烧瓶)；
- 3——螺旋夹；
- 4——小漏斗及棒状玻塞；
- 5——反应室；
- 6——反应室外层；
- 7——橡皮管及螺旋夹；
- 8——冷凝管；
- 9——蒸馏液接收瓶。

图 B.1 定氮蒸馏装置

B.4 操作步骤

B.4.1 酸溶蛋白质含量的测定

B.4.1.1 准确称取样品 1.000 g(精确至 0.001 g),加入 15% 三氯乙酸(TCA)溶液溶解并定容至 50 mL,混匀并静置 5 min,过滤,去除初滤液,滤液作为备用液。

B.4.1.2 吸取 10.00 mL~25.00 mL 滤液,移入干燥的 100 mL 或 500 mL 定氮瓶中,加入 0.2 g 硫酸铜,6 g 硫酸钾及 20 mL 硫酸,稍摇匀后于瓶口放一小漏斗,将瓶以 45°角斜支于有小孔的石棉网上。小心加热,待内容物全部碳化,泡沫完全停止后,加强火力,并保持瓶内液体微沸,至液体呈蓝绿色澄清透明后,再继续加热 0.5 h~1 h。取下放冷,小心加 20 mL 水。放冷后,移入 100 mL 容量瓶中,并用少量水洗定氮瓶,洗液并入容量瓶中,再加水至刻度,混匀备用。同时做试剂空白试验。

B.4.1.3 测定:按图 B.1 装好定氮蒸馏装置,于水蒸气发生瓶内装水至三分之二处,加入数粒玻璃珠,加甲基红指示液数滴及数毫升硫酸,以保持水呈酸性,用调压器控制,加热煮沸水蒸气发生瓶内的水。

B.4.1.4 向接收瓶内加入 10 mL 硼酸溶液(20 g/L)及 1 滴~2 滴混合指示液,并使冷凝管的下端插入液面下,准确吸取 10 mL 试样处理液由小漏斗流入反应室,并以 10 mL 水洗涤小烧杯使流入反应室,立即将玻塞盖紧,并加水于小玻杯以防漏气。夹紧螺旋夹,开始蒸馏。蒸馏 5 min。移动接收瓶,使液面离开冷凝管下端,再蒸馏 1 min。然后用少量水冲洗冷凝管下端外部。取下接收瓶,滴加指示剂,以硫酸或盐酸标准滴定溶液(0.05 mol/L)滴定至灰色或蓝紫色为终点。同时准确吸取 10 mL 试剂空白消化液按同样步骤操作。

B.4.1.5 试样中蛋白质的含量按式(B.1)进行计算。

$$X_1 = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 0.014\ 0}{m \times 10/100} \times F \times 100 \quad \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

X_1 ——试样中蛋白质的含量,单位为克每百克(g/100 g);

V_1 ——试样消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——试剂空白消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积,单位为毫升(mL);

c ——硫酸或盐酸标准滴定溶液浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

0.014 0——1.0 mL 硫酸[$c(1/2\ H_2SO_4)=0.050\ 0\ \text{mol/L}$]或盐酸[$c(HCl)=0.050\ 0\ \text{mol/L}$]标准滴定溶液相当的氮的质量,单位为克(g);

m ——试样的质量或体积,单位为克或毫升(g 或 mL);

F ——氮换算为蛋白质的系数,取 6.25。

计算结果保留三位有效数字。

B.4.1.6 重复性:在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过两次测定结果算术平均值的 10%。

B.4.2 游离氨基酸含量的测定

B.4.2.1 准确称取样品(使试样游离氨基酸含量在 10 mg~20 mg 范围内),用 pH 为 2.2 的缓冲液溶解,定容至 50 mL,供仪器测定用。

B.4.2.2 准确吸取 0.200 mL 混合氨基酸标准溶液,用 pH2.2 的缓冲液稀释到 5 mL,此标准稀释液浓度为 5.00 nmol/50 μ L,作为上机测定用的氨基酸标准,用氨基酸自动分析仪以外标法测定试样测定液的氨基酸含量。

B.4.2.3 结果按式(B.2)计算:

$$X_2 = \frac{c \times \frac{1}{50} \times F \times V \times M}{m \times 10^9} \times 100 \quad \dots\dots\dots (B.2)$$

式中:

X_2 ——试样氨基酸的含量,单位为克每百克(g/100 g);

c ——试样测定液中氨基酸含量,单位为纳摩尔每 50 微升(nmol/50 μ L);

F ——试样稀释倍数;

V ——试样定容体积,单位为毫升(mL);

M ——氨基酸相对分子质量;

m ——试样质量,单位为克(g);

$\frac{1}{50}$ ——折算成每毫升试样测定的氨基酸含量,单位为微摩尔每升(μ mol/L);

10^9 ——将试样含量由纳克(ng)折算成克(g)的系数。

十六种氨基酸相对分子质量:天冬氨酸:133.1;苏氨酸:119.1;丝氨酸:105.1;谷氨酸:147.1;脯氨酸:115.1;甘氨酸:75.1;丙氨酸:89.1;缬氨酸:117.2;蛋氨酸:149.2;异亮氨酸:131.2;亮氨酸:131.2;酪氨酸:181.2;苯丙氨酸:165.2;组氨酸:155.2;赖氨酸:146.2;精氨酸:174.2。

计算结果表示为:试样氨基酸含量在 1.00 g/100 g 以下,保留两位有效数字;含量在 1.00 g/100 g 以上,保留三位有效数字。

B.4.2.4 精密度:在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 12%。

B.4.2.5 氨基酸分析仪得到的色谱图见图 B.2。各种氨基酸的出峰顺序和保留时间见表 B.1。

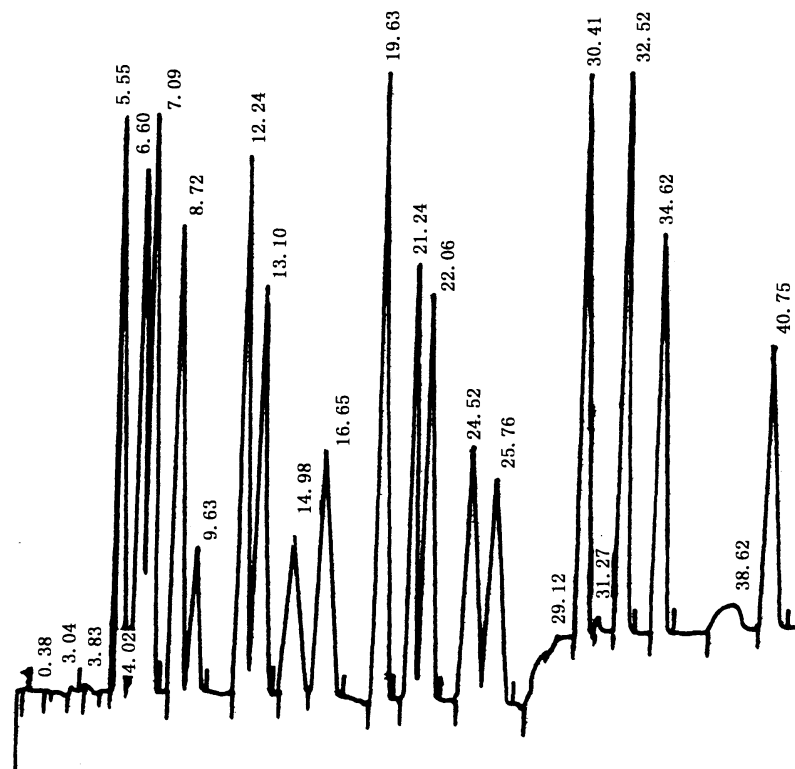


图 B.2 氨基酸分析仪色谱图

表 B.1 氨基酸出峰顺序和保留时间

出峰顺序		保留时间/min	出峰顺序		保留时间/min
1	天冬氨酸	5.55	9	蛋氨酸	19.63
2	苏氨酸	6.60	10	异亮氨酸	21.24
3	丝氨酸	7.09	11	亮氨酸	22.06
4	谷氨酸	8.72	12	酪氨酸	24.52
5	脯氨酸	9.63	13	苯丙氨酸	25.76
6	甘氨酸	12.24	14	组氨酸	30.41
7	丙氨酸	13.10	15	赖氨酸	32.57
8	缬氨酸	16.65	16	精氨酸	40.75

B.5 结果计算

试样中多肽含量按式(B.3)计算:

$$X = X_1 - X_2 \quad \dots\dots\dots (B.3)$$

式中:

X ——试样中多肽的含量,单位为克每百克(g/100 g);

X_1 ——试样中酸溶蛋白质的含量,单位为克每百克(g/100 g);

X_2 ——试样中游离氨基酸的含量,单位为克每百克(g/100 g)。

B.6 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过两次测定结果算术平均值的12%。