

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1205—2006

大豆水溶性蛋白含量的测定

Method for determination of water soluble protein in soybean

2006-12-06 发布

2007-02-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位：农业部油料及制品质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人：张文、李培武、丁小霞、姜俊、甘冬生、谢立华。

大豆水溶性蛋白含量的测定

1 范围

本标准规定了大豆中水溶性蛋白含量的测定方法。

本标准适用于大豆中水溶性蛋白含量的测定。

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,其随后的所有修改单(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 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

3 方法原理

用水提取大豆中的水溶性蛋白,硫酸使含氮物转化成为硫酸铵,加强碱蒸馏使氨逸出,用硼酸吸收后,用标准盐酸滴定计算含氮量,乘以换算系数计算出大豆中水溶性蛋白的含量。

4 试剂

除非另有说明,在分析中仅使用确认的分析纯试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。

4.1 硫酸(H_2SO_4)。

4.2 盐酸(HCl)。

4.3 20 g/L 硼酸溶液:称取 100 g 硼酸(H_3BO_4)溶于 5 000 mL 水中。

4.4 400 g/L 氢氧化钠溶液:称取 2 000 g 氢氧化钠(NaOH)溶于 5 000 mL 水中。

4.5 盐酸标准溶液[$c(HCl) = 0.1 \text{ mol/L}$]:量取 8.3 mL 盐酸,溶于 1 000 mL 水中。

标定:精密称取经 $270^\circ\text{C} \sim 300^\circ\text{C}$ 干燥恒重过的基准碳酸钠约 0.15 g,加水 50 mL 溶解,加甲基红—溴甲酚绿混合指示剂 10 滴,用本液滴定到溶液由绿色变为紫红色。煮沸 2 min,冷却至室温,继续滴定到溶液由绿色变为暗紫色,同时做空白试验。

盐酸标准溶液的浓度按式(1)计算:

$$c = \frac{m}{(V_1 - V_2) \times 0.0530} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

m ——无水碳酸钠的质量,单位为克(g);

V_1 ——盐酸溶液用量,单位为毫升(mL);

V_2 ——空白试验盐酸溶液用量,单位为毫升(mL);

0.053 0 —— Na_2CO_3 的毫克当量。

4.6 混合指示剂。

1.0 g/L 甲基红乙醇溶液:称取 0.1 g 甲基红溶于 100 mL 乙醇中;5.0 g/L 溴甲酚绿乙醇溶液:称取 0.5 g 溴甲酚绿溶于 100 mL 乙醇中;两溶液等体积混合,在阴凉处保存期为 3 个月。

4.7 混合催化剂[$\zeta(CuSO_4 + K_2SO_4) = 10 + 100$]:称取 10 g 硫酸铜($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)和 100 g 硫酸钾

(K_2SO_4),混匀,研磨,过 $\phi 0.42$ mm筛。

5 仪器设备

5.1 采用凯氏定氮法为原理的各类型半自动、全自动蛋白质测定仪,或常量直接蒸馏式或半微量水蒸气蒸馏式凯氏蒸馏装置。

5.2 分析天平,感量 0.001 g。

5.3 粉碎机。

5.4 可控温往复式摇床,频率 150 次/min,全振幅 60 mm, $(20\pm 2)^\circ C$ 温度可控。

5.5 消煮炉。

5.6 离心机。

5.7 快速滤纸。

6 操作步骤

6.1 扦样

按 GB 5491 扦取大豆样品。

6.2 试样制备

粉碎机粉碎样品,过 $\phi 0.25$ mm筛。

6.3 提取

6.3.1 称取粉碎试样 5 g,精确至 0.01 g,于 50 mL离心管中。

6.3.2 吸取 50 mL $20^\circ C$ 蒸馏水于离心管中,振摇使试样不结块,均匀分散。

6.3.3 将离心管固定于摇床,温度控制在 $(20\pm 2)^\circ C$,振荡 60 min。

6.3.4 取下离心管,以 $2\ 000$ r/min离心 10 min。

6.3.5 取出离心管,将上清液倒入 250 mL容量瓶中。

6.3.6 向离心管残渣中重新加入 50 mL $20^\circ C$ 蒸馏水,同前再振荡 60 min,离心 10 min,将上清液倒入

6.3.5容量瓶中。

6.3.7 重复6.3.6操作 2 次,将提取液全部收集倒入6.3.5容量瓶中,加蒸馏水定容至 250 mL。

6.4 消化

6.4.1 将容量瓶中溶液混合均匀后,快速滤纸过滤至 250 mL锥形瓶中,弃去最初的 10 mL~ 15 mL滤液。准确吸取 10 mL提取液于 500 mL蒸馏管中,加入 2 g~ 3 g混合催化剂、 10 mL硫酸,充分混匀。

6.4.2 将蒸馏管置于通风橱中加热消化。开始用 $100^\circ C$ 低温加热 0.5 h,至黑泡沫消失,控制瓶中泡沫不超过瓶管的 $2/3$,然后再升温至 $400^\circ C$ ~ $430^\circ C$,加热 1.5 h,至消化液呈透明的蓝绿色时,继续加热 0.5 h。

6.5 蒸馏、滴定

待消化液冷至室温,上机蒸馏、滴定;或采用常量直接蒸馏式或半微量水蒸气蒸馏式凯氏蒸馏装置蒸馏、滴定。

6.6 仪器参考条件

设定硼酸吸收滴定模式,加 20 mL水、 70 mL氢氧化钠溶液,加 50 mL硼酸溶液,蒸馏滴定总时间 220 s, 150 s后开始滴定,输入滴定标准盐酸溶液浓度。

7 结果计算

水溶性蛋白含量用质量分数 w 表示,单位以百分数(%)计,按式(2)计算:

$$w = (V_1 - V_0) \times c \times 0.014\ 0 \times 6.25 \times \frac{10}{250} \times \frac{10\ 000}{m(100 - X)} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

V_1 ——滴定样品消化液所耗盐酸标准溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_0 ——滴定空白消化液所耗盐酸标准溶液的体积,单位为毫升(mL);

c ——盐酸标准溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

m ——试样的质量,单位为克(g);

X ——试样水分含量,单位为百分数(%);

0.014 0——氮的毫克当量数;

6.25——大豆含氮量换算成蛋白质系数。

计算结果保留到小数点后一位。

8 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应超过算术平均值的 2%。