



中华人民共和国国家标准

GB/T 35809—2018

林业生物质原料分析方法 蛋白质含量测定

Method for analysis of forestry biomass—
Determination of protein content

2018-02-06 发布

2018-09-01 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家林业局提出。

本标准由全国林业生物质材料标准化技术委员会(SAC/TC 416)归口。

本标准起草单位:北京林业大学、济南海能仪器股份有限公司、廊坊华日家具股份有限公司、山东理工大学、山东绿森塑木复合材料有限公司、浙江省林业科学院、厦门标普标准化服务有限公司、中国林业科学院木材工业研究所。

本标准主要起草人:任学勇、常建民、陈凤义、贺亮、王志刚、刘丰祥、刘毅、张扬、张柏林、赵宏飞、易维明、蔡红珍、郭京雷、许金飞、范东斌。

林业生物质原料分析方法

蛋白质含量测定

1 范围

本标准规定了测定林业生物质原料中蛋白质含量的方法、试剂与材料、仪器与设备、分析步骤以及结果表述等。

本标准适用于木材、竹材、藤材、树皮、树叶、果壳等林业生物质原料。

本标准采用凯氏定氮法和杜马斯燃烧法等两种方法,前者是测定蛋白质含量的经典方法,适用于各种林业生物质原料;后者是一种快速测定蛋白质含量的高效方法,在批量快速检测林业生物质原料时推荐使用。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 30366—2013 生物质术语

3 术语和定义

GB/T 30366—2013 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

林业生物质 forestry biomass

林业生产和加工过程中产生的生物质,主要包括林产品(如木材、竹材、藤材等)、林业剩余物(如枝丫、锯末、木屑、梢头、板皮和截头、果壳和果核等采伐剩余物和加工剩余物、造纸废弃物以及废弃木材)、能源林等。

[GB/T 30366—2013,定义 2.1.3]

4 凯氏定氮法

4.1 原理

林业生物质原料中的蛋白质在催化加热条件下被分解,产生的氨气与硫酸结合生成硫酸铵,碱化蒸馏使氨游离,用硼酸吸收后以硫酸或盐酸标准滴定溶液滴定,根据酸的消耗量确定氮含量后乘以氮换算为蛋白质的系数,即可得到原料中蛋白质的含量。

4.2 试剂与材料

本标准方法中所用试剂均为分析纯(另有规定的除外),水为蒸馏水或者去离子水。

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

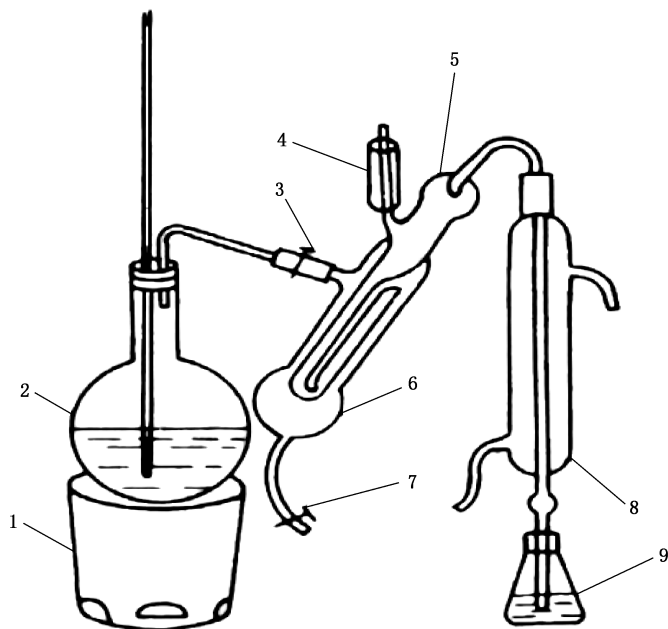
4.2.2 硫酸钾(K_2SO_4)。

4.2.3 硫酸(H_2SO_4):密度为 1.84 g/L。

- 4.2.4 硼酸(H_3BO_3)。
- 4.2.5 甲基红指示剂($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$)。
- 4.2.6 溴甲酚绿指示剂($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$)。
- 4.2.7 亚甲基蓝指示剂($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)。
- 4.2.8 氢氧化钠(NaOH)。
- 4.2.9 95%乙醇($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)。
- 4.2.10 硼酸溶液(20 g/L):称取 20 g 硼酸,加水溶解后并稀释至 1 000 mL。
- 4.2.11 氢氧化钠溶液(400 g/L):称取 40 g 氢氧化钠加水溶解后,放冷,并稀释至 100 mL。
- 4.2.12 硫酸标准滴定溶液(0.050 0 mol/L)或盐酸标准滴定溶液(0.050 0 mol/L)。
- 4.2.13 甲基红乙醇溶液(1 g/L):称取 0.1 g 甲基红,溶于 95%乙醇,用 95%乙醇稀释至 100 mL。
- 4.2.14 溴甲酚绿乙醇溶液(1 g/L):称取 0.1 g 溴甲酚绿,溶于 95%乙醇,用 95%乙醇稀释至 100 mL。
- 4.2.15 混合指示液:1 份甲基红乙醇溶液(4.2.13)与 5 份溴甲酚绿乙醇溶液(4.2.14)临用时混合。

4.3 仪器与设备

- 4.3.1 天平:测量精度为 0.000 1 g。
- 4.3.2 定氮蒸馏装置:如图 1 所示。
- 4.3.3 自动凯氏定氮仪。



说明:

- | | | |
|--------------------|---------------|-------------|
| 1——电炉; | 4——小玻璃杯及棒状胶塞; | 7——橡皮管及螺旋夹; |
| 2——水蒸气发生器(2 L 烧瓶); | 5——反应室; | 8——冷凝管; |
| 3——螺旋夹; | 6——反应室外层; | 9——蒸馏液接受瓶。 |

图 1 定氮蒸馏装置图

4.4 分析步骤

4.4.1 手动凯氏定氮法

4.4.1.1 试样处理:首先将生物质材料粉碎至 40 目以上的颗粒,干燥至水分绝干状态。称取充分混匀的固体试样 1 g~2 g,精确至 0.000 1 g,移入干燥的 250 mL 定氮瓶(硝化瓶)中,加入 0.2 g 硫酸铜(4.2.1)、6 g 硫酸钾(4.2.2)及 20 mL 硫酸(4.2.3),轻摇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,待内容物全部炭化,泡沫完全停止后,加强火力,并保持瓶内液体微沸,至液体呈蓝绿色并澄清透明后,再继续加热 0.5 h~1 h。取下放冷,小心加入 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。

4.4.1.2 测定:按图 1 装好定氮蒸馏装置,向水蒸气发生器内装水至 2/3 处,加入数粒玻璃珠,加甲基红乙醇溶液(4.2.13)数滴及数毫升硫酸(4.2.3),以保持水呈酸性,加热煮沸水蒸气发生器内的水并保持沸腾。向接收瓶内加入 10.0 mL 硼酸溶液(4.2.10)及 1~2 滴混合指示液(4.2.15),并使冷凝管的下端插入液面下,根据试样中氮含量,准确吸取 2.0 mL~10.0 mL 试样处理液由小玻杯注入反应室,以 10 mL 水洗涤小玻杯并使之流入反应室内,随后塞紧棒状玻塞。将 10.0 mL 氢氧化钠溶液(4.2.11)倒入小玻杯,提起玻塞使其缓缓流入反应室,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 10 min 后移动蒸馏液接收瓶,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,取下蒸馏液接收瓶。以硫酸或盐酸标准滴定溶液(4.2.12)滴定至终点,其中 1 份甲基红乙醇溶液(4.2.13)与 5 份溴甲酚绿乙醇溶液(4.2.14)指示剂所配成的混合指示液颜色由酒红色变成绿色, pH5.1。同时作试剂空白。

4.4.2 自动凯氏定氮仪法

将生物质材料粉碎至 40 目以上的颗粒,干燥至水分绝干状态。称取试样 1 g~2 g,精确至 0.000 1 g。按照仪器说明书的要求进行检测。

4.5 结果的计算

试样中蛋白质的含量按式(1)进行计算。

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 0.0140}{m \times V_3 / 100} \times 6.25 \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中蛋白质的含量,单位为克每百克(g/100 g);
- V_1 —— 试液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);
- V_3 —— 吸取消化液的体积,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[$c(1/2 \text{H}_2\text{SO}_4) = 1.000 \text{ mol/L}$]或盐酸[$c(\text{HCl}) = 1.000 \text{ mol/L}$]标准滴定溶液相当的氮的质量,单位为克(g);
- m —— 试样的绝干质量,单位为克(g);
- 6.25 —— 氮含量换算为蛋白质含量的转换系数。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,当蛋白质含量大于或等于 1 g/100 g 时,结果保留三位有效数字;蛋白质含量小于 1 g/100 g 时,结果保留两位有效数字。

4.6 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 10%。

5 杜马斯燃烧法

5.1 原理

林业生物质原料试样在 900 °C~1 200 °C 高温下燃烧产生混合气体,其中的碳、硫等干扰气体和盐类被吸收管吸收,氮氧化物被全部还原成氮气,形成的氮气气流通过热导检测仪(TCD)进行检测,根据所测定到的氮含量乘以氮换算为蛋白质的系数,即得到原料中蛋白质的含量。

5.2 仪器和设备

5.2.1 杜马斯定氮仪。

5.2.2 天平:测量精度为 0.000 1 g。

5.3 分析步骤

称取 0.1 g~1 g 充分混匀的试样(精确至 0.000 1 g),用锡箔包裹后制约样品盘上。试样进入燃烧反应炉(900 ℃~1 200 ℃)后,在高纯氧(99.99%)中充分燃烧。燃烧过程中产生混合气体,其中的碳、硫等干扰气体和盐类被吸收管吸收,氮氧化物被全部还原成氮气,形成的氮气气流通过热导检测仪(TCD)进行检测,燃烧炉中的产物(NO_x)被载气(氦气或 CO_2 , 99.99%)运送至还原炉(800 ℃)中,经还原生成氮气后检测其含量。

5.4 结果的计算

试样中蛋白质的含量按式(2)进行计算。

$$X = C \times 6.25 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X ——试样中蛋白质的含量,单位为克每百克(g/100 g);

C ——试样中氮的含量,单位为克每百克(g/100 g);

6.25——氮含量换算为蛋白质含量的转换系数。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,当蛋白质含量大于或等于 1 g/100 g 时,结果保留三位有效数字;蛋白质含量小于 1 g/100 g 时,结果保留两位有效数字。

5.5 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 10%。

6 试验报告

试验报告应包括如下项目:

- a) 注明所使用的标准,包括标准名称和标准号;
- b) 注明试验方法,凯氏定氮法或杜马斯燃烧法;
- c) 试样的详细说明,包括名称、种类、尺寸、数量、取样信息等;
- d) 试验结果及必要的说明;
- e) 试验中观察到的任何异常现象;
- f) 本标准或引用标准中未规定的但会影响结果的任何操作;
- g) 试验人员、日期。
