



中华人民共和国国家标准

GB/T 46117—2025

粮油检验 大豆水溶性蛋白质含量的测定

Inspection of grain and oils—Determination of water-soluble protein in soya bean

2025-08-29 发布

2026-03-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家粮食和物资储备局提出。

本文件由全国粮油标准化技术委员会(SAC/TC 270)归口。

本文件起草单位：南京财经大学、中储粮镇江质检中心有限公司、黑龙江省粮食质量安全监测和技术中心、中储粮成都储藏研究院有限公司、江苏省粮油质量监测中心、中粮东海粮油工业(张家港)有限公司、防城港澳加粮油工业有限公司。

本文件主要起草人：袁建、周洲、季澜洋、张榴萍、邢常瑞、杨超、贾继荣、董华、秦静雯、李远新、张慧。

粮油检验 大豆水溶性蛋白质含量的测定

1 范围

本文件描述了大豆水溶性蛋白质含量测定的原理,规定了试剂和材料、仪器和设备、分析步骤、结果计算和精密度。

本文件适用于大豆中水溶性蛋白质含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备
- GB/T 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

用水提取大豆中的水溶性蛋白质,含氮化合物在催化加热条件下被分解,产生的氨与硫酸结合生成硫酸铵,加碱蒸馏使氨逸出,用硼酸吸收后以硫酸或盐酸标准滴定溶液滴定,根据酸的消耗量计算含氮量,再乘以换算系数,计算出大豆中水溶性蛋白质的含量。

5 试剂和材料

除非另有说明,本文件所用试剂均为分析纯。

5.1 试剂

- 5.1.1 五水硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)。
- 5.1.2 硫酸钾(K_2SO_4)。
- 5.1.3 硫酸(H_2SO_4)。
- 5.1.4 盐酸(HCl)。
- 5.1.5 硼酸(H_3BO_3)。
- 5.1.6 甲基红($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$)。
- 5.1.7 溴甲酚绿($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$)。
- 5.1.8 氢氧化钠(NaOH)。

5.1.9 95%(体积分数)乙醇($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)。

5.1.10 GB/T 6682 规定的三级水。

5.2 试剂配制

5.2.1 硼酸溶液(20 g/L):称取 20 g 硼酸(5.1.5),加水(5.1.10)溶解后稀释至 1 000 mL。

5.2.2 氢氧化钠溶液(400 g/L):称取 40 g 氢氧化钠(5.1.8)加水(5.1.10)溶解后,放冷,稀释至 100 mL。

5.2.3 硫酸标准滴定溶液 $c(1/2\text{H}_2\text{SO}_4)$ 0.050 0 mol/L 或盐酸标准滴定溶液 $c(\text{HCl})$ 0.050 0 mol/L:按 GB/T 601 配制。

5.2.4 甲基红乙醇溶液(1 g/L):称取 0.1 g 甲基红(5.1.6),溶于 95%乙醇(5.1.9),用 95%乙醇(5.1.9)稀释至 100 mL。

5.2.5 溴甲酚绿乙醇溶液(5 g/L):称取 0.5 g 溴甲酚绿(5.1.7),溶于 95%乙醇(5.1.9),用 95%乙醇(5.1.9)稀释至 100 mL。

5.2.6 甲基红-溴甲酚绿混合指示剂:1 份甲基红乙醇溶液(5.2.4)与 1 份溴甲酚绿乙醇溶液(5.2.5)临用时混匀。

6 仪器和设备

6.1 分析天平:分度值 0.1 g 和 0.001 g。

6.2 粉碎机:锤式粉碎磨。

6.3 试验筛:筛孔直径 0.25 mm。

6.4 可控温往复摇床:频率、温度可控制。

6.5 定氮瓶:100 mL、250 mL。

6.6 消化炉。

6.7 离心机:转速 4 000 r/min,可放置 50 mL 离心管。

6.8 半自动凯氏定氮仪、全自动蛋白质测定仪,或半微量水蒸气蒸馏式凯氏蒸馏装置。

6.9 吸量管:容量 10 mL、50 mL。

7 分析步骤

7.1 扦样、分样

按 GB/T 5491 扦取、分取大豆样品。

7.2 试样制备

取混合均匀的样品 80 g~100 g,用粉碎机(6.2)粉碎,粉碎后样品一次通过试验筛(6.3)的应达 90%以上,粉碎样品(筛上、筛下的全部筛分范围的样品)经充分混匀后装入磨口瓶中,盖上瓶盖密封备用。

7.3 水溶性蛋白质提取

称取粉碎试样 1 g(精确到 0.001 g)于 50 mL 离心管中,用吸量管(6.9)吸取 40.00 mL 蒸馏水于离心管中,振摇使样品充分分散。将离心管固定于可控温往复摇床(6.4)上,温度控制在 $35\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$,振荡频率 100 r/min,振荡 2 h。取下离心管,用离心机(6.7)以 3 000 r/min 的速度离心 10 min,取出离心管中上清液备用。

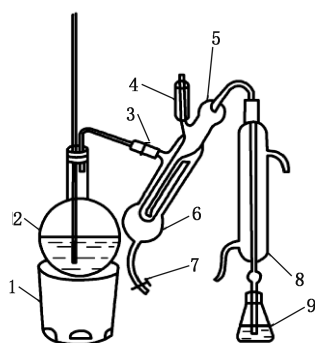
7.4 凯氏定氮法

7.4.1 消化

用吸量管(6.9)准确吸取上清液(7.3)10.00 mL于100 mL或250 mL定氮瓶(6.5)中,加入0.4 g 五水硫酸铜(5.1.1)、6.0 g 硫酸钾(5.1.2)及12 mL 硫酸(5.1.3),充分混合。在瓶口放一小漏斗,将瓶以45 °C 斜支于电炉上,于通风橱中加热消化。初始低温加热,控制瓶中泡沫不超过瓶管的2/3。待泡沫减少和烟雾变白后,再提高温度保持微沸加热至消化液呈透明的蓝绿色时,继续加热0.5 h。取下定氮瓶冷却至室温,小心加入20 mL 水,放冷后,移入100 mL 容量瓶中,并用少量水洗涤定氮瓶,洗涤液并入容量瓶中,再加水至刻度,混匀备用。

7.4.2 蒸馏吸收

按图1所示连接好定氮蒸馏装置,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(5.2.4)数滴及数毫升硫酸(5.1.3),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。



标引序号说明:

- 1——电炉;
- 2——水蒸气发生器;
- 3——螺旋夹;
- 4——小玻璃杯及棒状玻塞;
- 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1 半微量水蒸气蒸馏式凯氏蒸馏装置示意图

向接收瓶内加入10.0 mL 硼酸溶液(5.2.1)及1滴~2滴混合指示剂(5.2.6),并使冷凝管的下端插入液面下,准确吸取10.00 mL 试样处理液(7.4.1)由小玻璃杯注入反应室,以10 mL 水洗涤小玻璃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(5.2.2)倒入小玻璃杯,提起玻塞使其缓缓流入反应室,立即将玻塞盖紧,并水封。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。

7.4.3 滴定

以硫酸或盐酸标准滴定溶液(5.2.3)滴定蒸馏吸收液至浅灰红色。

7.4.4 空白试验

以10.00 mL 蒸馏水代替上清液(7.3)10.00 mL,按7.4.1~7.4.3进行空白试验。

7.5 自动凯氏定氮法

准确吸取上清液(7.3)10.00 mL于消化管中,再加入0.4 g五水硫酸铜(5.1.1)、6 g硫酸钾(5.1.2)及20 mL硫酸(5.1.3)于消化炉(6.6)进行消化。当消化炉温度达到420℃之后,继续消化1 h,此时消化管中的液体呈绿色透明状,取出冷却后加入50 mL水,于自动凯氏定氮仪(使用前加入氢氧化钠溶液,盐酸或硫酸标准溶液以及含有混合指示剂的硼酸溶液)上实现自动加液、蒸馏、滴定和记录滴定数据的过程。

8 结果计算

大豆水溶性蛋白质含量按式(1)计算。

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \times c \times 0.0140 \times 6.25}{m \times (100 - w)} \times \frac{V_2}{V_3} \times \frac{V_4}{V_5} \times 10\,000 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 每100 g干基试样中水溶性蛋白质的含量,单位为克每百克(g/100 g);
- V_1 —— 滴定样品液消耗硫酸或盐酸体积,单位为毫升(mL);
- V_0 —— 滴定空白液消耗硫酸或盐酸体积,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);
- 6.25 —— 大豆含氮量换算成蛋白质系数;
- V_2 —— 总提取液的体积,单位为毫升(mL);
- V_4 —— 总消化液的体积,单位为毫升(mL);
- m —— 试样质量,单位为克(g);
- w —— 试样水分百分率,%;
- V_3 —— 吸收提取液进行消化的体积,单位为毫升(mL);
- V_5 —— 蒸馏时所取消化液的体积,单位为毫升(mL)。

计算结果保留到小数点后一位。

9 精密度

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过其算术平均值的5%。

