食物中蛋白质的快速测定

海 洪

(桂林工学院材料工程系 541004)

摘 要 根据蛋白质消化后在碱性条件下与纳氏试剂显色, 提出了一种快速测定食品中蛋白质的消化—分光光度法, 结果表明有色物质的最大吸收波长为 410 nm, 摩尔吸光系数为 $5.14 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$, 线性范围为 0~30 mg/L, 变异系数为 0.86%, 与凯氏定氮法比较无显著性差异。

关键词 分光光度法; 蛋白质; 纳氏试剂

分类号 O657.32; Q503*

测定蛋白质的方法比较多^[1-3], 各有特点。本文对常规应用的凯氏定氮法进行改进, 将消化后的食品样品与纳氏试剂显色^[4], 通过比色法测定铵离子, 根据其含氮量和蛋白质换算系数, 计算出蛋白质的含量。

1 实验部分

1.1 主要试剂及仪器

纳氏试剂: 称取 5 g KI, 溶于 5 mL 无氨水中, 分次加入少量 HgCl_2 溶液, 不断搅拌至微有朱红沉淀为止。冷却后, 加入 KOH 溶液, 充分冷却, 加水稀释至 100 mL。静置 1 天, 将上清液储于棕色瓶内, 盖紧胶皮塞, 有效期为 1 个月。

铵离子标准溶液: 精确称取 1.179 9 g 于 105 °C 干燥 2 h 的硫酸铵。用少量蒸馏水溶解后移至 250 mL 容量瓶中, 稀释至刻度。此溶液含“N”即为 1 g/L。以此为储备液, 临用时稀释为 0.1 g/L 的溶液。

50% 酒石酸钾钠溶液; 10% 氢氧化钠溶液; 分析纯硫酸; 硫酸钾; 硫酸铜。

722 型光栅分光光度计 (上海第三分析仪器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品消化处理 准确称取一定量固体样品, 移入干燥的 100 mL 定氮瓶中, 加入 0.2 g 硫酸铜, 3 g 硫酸钾及 20 mL 硫酸, 加热消化至液体呈蓝绿色澄清透明后, 再加热 0.5 h。冷却后, 小心加 20 mL 水并移入 100 mL 容量瓶中, 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。

1.2.2 比色测定 吸取一定量样品消化液或铵标准液于 50 mL 容量瓶中, 加蒸馏水约一半处。滴加 10% 氢氧化钠调至中性, 加入 50% 酒石酸钾钠 1 mL 掩蔽, 摇匀。3 min 后加入 1 mL

* 1998-11-20 收稿, 1999-01-28 改回。

作者简介: 海洪, 男, 1966 年出生, 讲师, 生物化学专业。

纳氏试剂,加水稀释至刻度,显色 15 min,于 410 nm 波长处测定吸光度。试剂空白作参比。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱

取一定浓度的氨标准液按实验方法显色,在不同波长下测定吸光度。图 1 表明在 410 nm 波长处有最大吸收。

2.2 显色剂用量的影响

当显色剂用量在 0.7~1.5 mL 之间,吸光度变化比较平缓;用量为 2.0~3.5 mL 时,吸光度基本不变化,因此本实验选用 2 mL 为显色剂的最佳用量。

2.3 显色时间的影响

取一定浓度的氨标准液按实验方法显色,放置不同时间,测定吸光度。结果表明,在 10~100 min 内吸光度值较稳定,对体系影响很小。

2.4 标准曲线

取一系列硫酸铵标准溶液按实验方法操作,绘制标准曲线。图 2 表明硫酸铵标准溶液浓度在 0~30 mg/L 范围内符合 Beer 定律。摩尔吸光系数为 $5.14 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。

2.5 共存离子的影响与消除

以加入干扰离子溶液的吸光度和未加入干扰物质溶液的吸光度比较,相对误差 $\leq \pm 5\%$ 时,样品中 Cu^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} 的影响可加 1 mL 50% 酒石酸钾钠来掩蔽。

3 样品分析

3.1 样品测定

对同一奶粉样品(雀巢奶粉)按实验方法进行平行测定,蛋白质含量(w)分别为:25.80%,26.29%,25.94%,26.44%,26.37%,26.15%;平均值为 26.15%,变异系数 0.86%。

3.2 与凯氏法测定结果比较

用上法实验与凯氏定氮法作比较,对 8 种样品进行测定,结果见表 1。2 种方法测定结果用统计配对比较 $t=1.450$,而 $t_{0.05}(7)=2.365$,故 $p>0.05$ 。因此,光度法测定蛋白质的含量与凯氏定氮法测得结果无显著性差异,且操作简便,分析时间短,具有普及应用性。

图 1 吸收曲线

Fig. 1 The spectral curves

图 2 标准曲线

Fig. 2 The standard concentration curves

表 1 方法的准确性

Table 1 Comparison with the standard method w (蛋白质) / %

样品名称	比色法	凯氏法
牛肉	22.5	21.9
花生	22.0	21.8
黄豆	20.7	20.2
奶粉	26.1	26.3
麦乳精	15.5	16.0
豆奶粉	16.4	17.1
方便面	16.0	15.7
大米	8.35	8.16

参 考 文 献

1 中华人民共和国国家标准. 食品卫生标准检验方法——理化部分. 北京: 中国标准出版社, 1986. 20

- 2 张乃谦, 刘莫新. 蛋白质含量快速测定. 中国调味品 1994, (5): 24~25
- 3 Samanesh Mukherjee. Rapid volumetric determination of protein in milk. Science and Culture, 1984, (6): 221
- 4 中国医学科学院卫生研究所. 生活饮用水水质检验方法. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 134~136

RAPID DETERMINATION OF PROTEIN IN FOOD

Hai Hong

(Department of Material Engineering, Guilin Institute of Technology)

Abstract The method to determine protein in food by degrade which react with Noysh⁻ reagent in basic solution is studied. The results show that the maximum absorbing wavelength of the colour matter is 410 nm, the molar absorptivity is 5.14×10^4 L/ (mol. cm), the concentration of standard solution with Beer's law is between 0~30 mg/L and the coefficient of variation is 0.86 percent. The method is not apparently different in comparison with classical method.

Key words spectrophotometry; protein; Noysh⁻ reagent

大理石实现“自动生长”

英国最近宣布研制出一种新方法, 可通过让古老的大理石雕塑品自己“长出”新的部件而对其进行修复。新方法原理与通过促进皮肤生长而帮助烧伤患者痊愈有些类似。

英国《泰晤士报》3月6日报道, 新方法由英国拉夫伯勒大学科学家和有关博物馆研究人员联合研制成功。研究人员发现, 将石灰水、大理石晶体和水的混合物喷至待修复大理石雕塑品表面后, 混合物能被雕塑吸收, 并且在二氧化碳气体作用下, 可在雕塑上形成晶体。这些晶体成分与大理石原件在化学组成上几乎没有差别, 可产生细微的“焊接”效应而对雕塑进行修复。

根据这一原理, 科学家发现的具体修复过程为: 首先向大理石原件喷洒一种有机溶液, 然后使其在室温下置于二氧化碳气体中变干, 这一过程重复五次。随后是喷洒碳酸钙悬浮液, 该溶液同样在室温下置于二氧化碳气体环境中变干, 并反复喷洒五次。在喷洒酸钙悬浮液后, 紧接着重喷洒有机溶液。最后是向雕塑表面均匀地喷洒硬脂酸溶液层, 硬脂酸层能防止水直接渗入雕塑内部, 同时能保证雕塑通过“呼出”水气而变干。

据报道, 新方法除了可用于复原雕塑缺失或风化降解的部分外, 还可弥合雕塑内的裂痕, 甚至用于制造雕塑的完整复制品。

自然界中大理石的形成往往需要漫长时间, 但新方法通过晶体快速生长手段, 在短时间内即可制造出以假乱真的大理石替代品。

摘自1999年3月12日《科学时报》