SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3926—2014

出口乳、蛋、豆类食品中蛋白质含量的测定 考马斯亮蓝法

Determination of protein content in dairy foods, egg foods and soy foods for export—Coomassie brilliant blue method

2014-04-09 发布　　2014-11-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局　发布

前　言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国镇江出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：赵云霞、李平、周洪斌、朱金连、吴小华、王祖翔、孙莉、余杨、沈波、万荣、王慧。

出口乳、蛋、豆类食品中蛋白质含量的测定 考马斯亮蓝法

1 范围

本标准规定了出口乳、蛋、豆类食品中蛋白质含量的考马斯亮蓝测定方法。

本标准适用于乳、蛋、豆类食品中蛋白质含量的测定。

2 方法提要

考马斯亮蓝 G-250 在稀酸溶液中与蛋白质结合后变为蓝色，其最大吸收波长从 465 nm 变为 595 nm，其蓝色蛋白质染料复合物在 595 nm 波长下的吸光度与蛋白质含量成正比。

3 试剂和材料

除另有规定外，试剂均为分析纯，水为蒸馏水。

3.1 乙醇(95%)。

3.2 磷酸(98%)。

3.3 考马斯亮蓝 G-250。

3.4 考马斯亮蓝 G-250 溶液：称取约 100 mg 考马斯亮蓝 G-250，溶于 50 mL 95%的乙醇后，再加入 100 mL 85%的磷酸，用水稀释至 1 L，滤纸过滤。

3.5 标准物质：牛血清白蛋白(BSA)，纯度大于等于 99.0%。

3.6 牛血清白蛋白(BSA)标准溶液：精确称取牛血清白蛋白 50 mg，加水溶解并定容至 500 mL，配制成 0.1 mg/mL 的蛋白质标准溶液。

4 仪器和设备

4.1 紫外可见分光光度计：波长范围：190 nm～900 nm。

4.2 天平：感量 0.000 1 g 和 0.001 g。

4.3 超声波清洗器。

4.4 离心机：转速不低于 4 000 r/min。

4.5 具塞离心管：10 mL。

4.6 食物粉碎机。

5 测定步骤

5.1 样品处理

5.1.1 液体试样

称取混匀试样 1 g(精确至 0.001 g)于 100 mL 容量瓶，用水定容至刻度。取部分溶液于 4 000 r/min 离

心 15 min，上清液为试样待测液。

5.1.2 固体、半固体试样

称取粉碎匀浆后的试样 1 g(精确至 0.001 g)，用 80 mL 水洗入 100 mL 容量瓶，超声提取 15 min。用水定容至刻度，取部分溶液于 4 000 r/min 离心 15 min，上清液为试样待测液。

5.2 测定

5.2.1 标准曲线的绘制

分别吸取蛋白质标准溶液 0.0 mL，0.03 mL，0.06 mL，0.12 mL，0.24 mL，0.48 mL，0.72 mL，0.84 mL，0.96 mL 于 10 mL 的比色管中(以上各管蛋白质含量分别为 0，0.003，0.006，0.012，0.024，0.048，0.072，0.084，0.096 mg)，分别加入蒸馏水 1.0 mL，0.97 mL，0.94 mL，0.88 mL，0.76 mL，0.52 mL，0.28 mL，0.16 mL，0.04 mL，再分别加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 溶液，振荡混匀，静置 2 min。用 1 cm 比色池以试剂空白为参比液或调零点，用分光光度计于波长 595 nm 处测定吸光度(应在出现蓝色 2 min～1 h 内完成)，以吸光度为纵坐标、标准蛋白质浓度(mg/mL)为横坐标绘制标准曲线。

5.2.2 试样测定

吸取 0.5 mL 试样待测液(根据样品中蛋白质含量，可适当调节待测液体积)，置于 10 mL 比色管中，加 0.5 mL 蒸馏水，再加 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 溶液，振荡混匀，静置 2 min。用 1 cm 比色池以试剂空白为参比液或调零点，用分光光度计于波长 595 nm 处测定吸光度(应在出现蓝色 2 min～1 h 内完成)，根据标准曲线计算出样品中蛋白质含量。

6 结果计算和表述

按(1)式计算试样中蛋白质的含量。

$$X = \frac{(c - c_0) \times V}{m \times 1\,000} \times 100 \qquad \cdots\cdots(1)$$

式中：

X ——试样中蛋白质的含量，单位为克每百克(g/100 g)；

c ——从标准工作曲线得到的蛋白质浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

c_0 ——空白试验中蛋白质浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

V ——最终样液的定容体积，单位为毫升(mL)；

m ——测试所用试样质量，单位为克(g)。

计算结果保留到小数点后两位。

7 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%。