

前 言

本标准仅对 GB 5413—85 中 A.3 章“半微量凯氏定氮法”的文本格式进行了修改,内容未做改动。

本系列标准从实施之日起,代替 GB 5413—85。

本标准由中国轻工总会提出。

本标准由全国乳品标准化中心归口。

本标准负责起草单位:国家乳制品质量监督检验中心。

本标准参加起草单位:卫生部食品卫生监督检验所、浙江省轻工业研究所、哈尔滨森永乳品有限公司、雀巢(中国)投资服务有限公司。

本标准主要起草人:王芸、黄敏、李玉贤。

婴幼儿配方食品和乳粉
蛋白质的测定

GB/T 5413.1—1997

代替 GB 5413—85

Milk powder and formula foods for infant and young children
—Determination of protein

1 范围

本标准规定了蛋白质的测定方法。

本标准适用于婴幼儿配方食品和乳粉中蛋白质的测定。

2 方法提要

在加热时,硫酸分解成亚硫酸酐、水和氧。有机物被氧化为二氧化碳和水,而蛋白质的氨态氮与过量硫酸反应转变为硫酸铵,硫酸铵在碱性溶液中进行蒸馏。将蒸馏出来的氨用硼酸吸收,再用酸标准溶液滴定。

3 试剂

所有试剂,如未注明规格,均指分析纯;所有实验用水,如未注明其他要求,均指三级水。

3.1 浓硫酸。

3.2 硫酸钾。

3.3 硫酸铜。

3.4 过氧化氢溶液:体积分数为 30%。

3.5 硼酸溶液: $c(\text{H}_3\text{BO}_3)$ 为 30g/L。取 30 g 硼酸,溶解在 1L 水中。

3.6 甲基红-溴甲酚绿混合指示剂:用体积分数为 95%的乙醇,将溴甲酚绿及甲基红分别配成 1g/L 的乙醇溶液,使用时按 1g/L 溴甲酚绿:1g/L 甲基红为 5:1 的比例混合。

3.7 硫酸标准溶液: $c(\text{H}^+)$ 为 0.0500mol/L。取 3mL 浓硫酸加到 15mL 水中,冷却后洗入 1000mL 容量瓶中,定容。

3.8 氢氧化钠溶液,质量比为 400/1000。称取 400g 氢氧化钠,用 1000mL 水溶解,待冷却后移入试剂瓶中。

4 仪器

常用实验室仪器及:

4.1 凯氏烧瓶:500mL 或 250mL。

4.2 定氮蒸汽蒸馏器。

4.3 滴定管:25mL。

4.4 三角烧瓶:250mL。

国家技术监督局 1997-05-28 批准

1998-09-01 实施

5 操作步骤

5.1 样品的制备

将样品全部移入约两倍于样品体积的洁净干燥容器中,立即盖紧容器,反复旋转振荡,使样品彻底混合均匀。

5.2 测定

5.2.1 称取样品 2g,精确至 0.2mg,放入凯氏烧瓶(4.1)中,加入 10g 硫酸钾(3.2)和 1g 硫酸铜(3.3),量取 20mL 浓硫酸(3.1),徐徐加入凯氏烧瓶中,混合。

注

1 加入样品及试剂时,避免粘附在瓶颈上。

2 加入硫酸钾的作用:提高硫酸的沸点(338℃),增进反应速度。10g 硫酸钾将沸点提高到 400℃,但过多的硫酸钾会造成沸点太高,生成的硫酸氢铵在 513℃会分解。

3 加入硫酸铜的作用:作催化剂,使氧化作用加速。

5.2.2 凯氏烧瓶的瓶口放一小漏斗,用微火加热(小心瓶内泡沫冲出而影响结果),当瓶内发泡停止,稍加大火力。同时,可分数次加入 10mL 过氧化氢溶液(3.4)(但必须将烧瓶冷却数分钟以后加入)。当烧瓶内容物的颜色逐渐转化成透明的淡绿色时,继续消化 0.5~1h(若凯氏烧瓶壁粘有碳化粒时,进行摇动或待瓶中内容物冷却数分钟后,用过氧化氢溶液冲下,继续消化至呈透明为止)。然后取下并使之冷却。

5.2.3 将澄清的消化液小心移入 100mL 容量瓶中,以水洗三次凯氏烧瓶,洗涤液并入上述容量瓶中,冷却后稀释至刻度并摇匀。

5.2.4 吸取 25mL 消化液于定氮蒸馏器中,在冷凝器的下端放置一个盛有 50mL 硼酸溶液(3.5)、3 滴甲基红-溴甲酚绿混合指示剂(3.6)的 250mL 锥形瓶,使冷凝器下端的玻璃管在液面以下。将 25mL 氢氧化钠溶液慢慢地加入蒸馏瓶中(溶液应呈强碱性),迅速将塞子塞好,然后通入蒸汽进行蒸馏,蒸至液面达 150mL 时,提出冷凝器下端的玻璃管,用蒸馏水冲洗冷凝管下端,将洗液一并聚集于硼酸溶液中,让玻璃管靠在锥形瓶的瓶壁,出液口在 200mL 刻度线以上,继续蒸馏,蒸至液位达 200mL。

注:蒸馏时要注意蒸馏情况,避免瓶中的液体发泡冲出,进入接受瓶。火力太弱,蒸馏瓶内压力减低,则接受瓶内液体会倒流,造成实验失败。

5.2.5 用硫酸标准溶液(3.7)滴定至溶液出现酒红色为止,记录所用硫酸标准溶液的体积。同时进行空白试验,并在结果中加以校正。

6 分析结果的表述

$$\text{样品中蛋白质含量(g/100g)} = \frac{(V - V_0) \times c(\text{H}^+) \times 2 \times 0.014 \times F}{m \times \frac{25}{100}} \times 100 \dots\dots(1)$$

式中: V ——滴定时消耗硫酸标准溶液的体积,mL;

V_0 ——空白试验消耗硫酸标准溶液的体积,mL;

$c(\text{H}^+)$ ——硫酸标准溶液中 H^+ 的浓度,mol/L;

m ——样品的质量,g;

0.014——氮原子的摩尔质量,kg/mol;

F ——氮换算为蛋白质的系数。乳粉为 6.38,纯谷物类(配方)食品为 5.90,含乳婴幼儿谷物(配方)食品为 6.25。

注:空白实验仅不加入样品,操作步骤与样品相同。

7 允许差

同一样品的两次测定值之差不得超过平均值的 1.5%。
