

ICS 67.220

X 66

备案号

Q B

中华人民共和国轻工行业标准

QB/T XXX—20XX

代替SB/T 10320—1999

熟料 N 性蛋白的测定

Determination of N-protein in steamed material

(征求意见稿)

20XX-0X-0X 发布

20XX-0X-0X 实施

XXXXXXXXXX 发布

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。

本文件代替SB/T 10320-1999《熟料N型蛋白试验》。与SB/T 10320-1999相比，除编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 修改了标准名称；
- 修改了标准适用范围；
- 增加了原理；
- 修改了试剂和材料；
- 修改了仪器和设备；
- 修改了分析步骤；
- 新增了结果判定。

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。

本文件由中国调味品协会提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- SB/T 10320-1999，ZB X 66033-87。

熟料 N 性蛋白的测定

1 范围

本文件规定了酱油及黄豆酱半成品熟料N性蛋白的测定方法。

本文件适用于酱油及黄豆酱半成品熟料N性蛋白的测定。其中第二法适用于熟料N性蛋白和熟料消化率同时测定。

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 5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定

SB/T 10317 蛋白酶活力测定法

SB/T 10319 熟料消化率测定法

3 原理

将蛋白质原料用酶液消化，未变性的蛋白质不能被酶液消化经加热会产生沉淀，通过加热是否产生沉淀，用来判定样品中存在 N 性蛋白的情况。N 性蛋白可衡量原料中蛋白质蒸熟程度，评判蒸料的质量。

第一法

4 试剂和材料

除非另有规定，本方法中所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

4.1 试剂

4.1.1 无水乙醇。

4.1.2 二水合磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

4.1.3 十二水合磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)。

4.1.4 氯化钠 (NaCl)。

4.2 试剂配制

4.2.1 50%乙醇溶液

取无水乙醇 50mL 和 50mL 水混合均匀备用。

4.2.2 pH7.2 磷酸盐缓冲溶液

甲液：取磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 31.2g，用水定容至 1000mL。

乙液：取磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 71.63g，用水定容至 1000mL。

取甲液 28mL，乙液 72mL 混合即成 pH7.2 的磷酸盐缓冲液。

4.2.3 酶液（种曲浸出液）制备

称取约20g新鲜种曲，放入锥形瓶中，加20mL50%乙醇溶液，加180mL水搅拌均匀，置于40℃水浴中浸泡1h，摇动数次，用慢速滤纸过滤或离心机(1500r/min~2000r/min)分离5min。取滤液或上清液蛋白酶活力在

100U/mL以上，全氮含量须在0.06%以下（蛋白酶活力和全氮分别按照SB/T 10317、GB 5009.5测定）。如不在此范围内，则须加以调节。

酶液不必每次都在测定前进行制备。可一次制备好，调整好酶活力范围以后置冰箱中备用，保存期不宜超过三天。

5 仪器和设备

- 5.1 高速组织捣碎机。
- 5.2 恒温水浴锅。
- 5.3 离心机。
- 5.4 浊度仪。
- 5.5 天平（感量 1g，0.1mg）。
- 5.6 测定酶活力、全氮所用仪器分别按 SB/T 10317、GB 5009.5 规定。

6 分析步骤及结果判定

6.1 熟料浆制备

取100g熟料放入高速组织捣碎机中，加水300mL。盖好盖子，合上开关，捣搅1min后停机，将飞溅在容器壁上的熟料颗粒用药匙刮下，再继续开机捣碎2min，使熟料捣成均匀的料浆。停机、开盖，将料浆倒入烧杯内。用四层湿纱布盖好备用。

6.2 水解

称取熟料浆（6.1）6g（精确至0.0002g）于150mL锥形瓶中，再加入酶液75mL，氯化钠20g，pH7.2磷酸盐缓冲液20mL摇匀，在瓶口塞上橡皮塞后，置于恒温水浴锅中，45℃保温24h（或48h），保温过程中水浴锅中的水位一定要超过样品的高度并振摇数次。

6.3 过滤

水解结束后，过滤或离心分离（2000r/min，10min）。取清液在沸水浴中加热至90℃，立刻在冷水中冷却至室温，再过滤或用离心机离心分离（2000r/min，10min），滤液备用。

6.4 比色

吸取上述滤液 2mL 于试管中，再加入水 10mL，把试管置于沸水浴中加热 5min，沸水浴时水必须处于沸腾状态，如果样品量大，可分批次进行加热；立刻在冷水中冷却至室温。

6.5 定性判定结果

试管中出现混浊或沉淀，N 性为阳性；反之，N 性蛋白为阴性。

6.6 定量判定结果

若要定量分析，可将 6.4 中的试液用浊度仪测定浊度，记为 n_1 ，并用未煮沸的上清液做空白对照，记为 n_0 。

N性（以浊度计）以 X 计算，数值以NTU表示，按式（1）进行计算：

$$X = n_1 - n_0 \dots \dots \dots (1)$$

X ——试样的N性（以浊度计），单位为NTU；

n_1 ——试样浊度值，单位为NTU；

n_0 ——空白浊度值，单位为NTU；

结果保留两位有效数字。

7 精密度

定量判定时，当浊度范围（NTU）在 2-10 时，在重复性条件下获得的两次测定结果的绝对差值不超过 1NTU；当浊度范围（NTU）在 10-100 时，在重复性条件下获得的两次测定结果的绝对差值不超过 5NTU。

第二法

8 试剂与材料

同第 4 章。

9 仪器和设备

同第 5 章。

10 分析步骤

10.1 熟料浆制备

同 6.1。

10.2 水解

精确称取熟料浆 6g 左右（精确至 0.0002g）于 150mL 锥形瓶内，加入 75mL 酶液，再加入 pH7.2 缓冲液 20mL 摇匀，在瓶口塞上橡皮塞后，置于水浴锅中，55℃保持 2h 取出，拔下塞子，放在已煮沸的沸水浴中再煮沸 10min。取出冷却。

10.3 加盐

水解结束后，在锥形瓶中加入氯化钠 20g，摇匀，使氯化钠溶解。冷却后定容至 100mL，过滤或离心分离（2000r/min，10min）后。水解液可用于按 SB/T 10319 进行消化率的同时测定。

10.4 过滤

把余下的约一半水解液振摇 20min，再过滤或离心分离（2000r/min，10min）。取清液在沸水浴中加热至 90℃，再用冷水急速冷却至室温，再过滤或离心机离心分离（2000r/min，10min）。

10.5 比色

吸取第二次过滤或离心的清液 2mL 于试管中，再加入水 10mL，置试管于沸水浴中加热 5min，立刻在冷水中急速冷却至室温。

10.6 定性判定结果

同 6.5。

10.7 定量判定结果

同 6.6。

11 精密度

同第 7 章。
