

# 探究不用比例混合催化剂及酸对大豆分离蛋白的影响

## 一、背景

大豆分离蛋白（SPI）是食品工业重要植物蛋白原料，其核心价值在于高蛋白质含量。该指标直接决定产品品质等级、功能特性及营养价值，是市场监管与营养标签合规的关键。因此，准确测定 SPI 中蛋白质含量至关重要。依据《GB 5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》规定，采用凯氏定氮法测定总氮量并换算为蛋白质含量，是保障结果准确性、可靠性和标准化的基础方法。精确检测对控制原料质量、优化生产及确保产品竞争力意义重大。

## 二、仪器与试剂

### 2.1、仪器

K1160+K1124 全自动凯氏定氮仪、SH520 自动消解仪、分析天平等。

### 2.2、试剂

试剂：甲基红、溴甲酚绿、硼酸、氢氧化钠、定氮片（4g/片， $K_2SO_4:CuSO_4 \cdot 5H_2O=9:1$ ）、定氮片（3.2g/片， $K_2SO_4:CuSO_4 \cdot 5H_2O=15:1$ ）、浓硫酸。

试液：硼酸溶液(20g/L):称取 20g 硼酸,加水溶解后并稀释至 1000mL;

氢氧化钠溶液(400g/L):称取 40g 氢氧化钠加水溶解后,放冷,并稀释至 100mL;

甲基红溶液(1g/L):称取 100mg 甲基红溶于 95%乙醇,用 95%乙醇稀释至 100mL;

溴甲酚绿溶液(1g/L):称取 100mg 溴甲酚绿溶于 95%乙醇,用 95%乙醇稀释至 100mL;

甲基红-溴甲酚绿溶液:将甲基红试液与溴甲酚绿试液按照体积比为 1:5 进行混合。

### 2.3、样品

大豆分离蛋白-1、大豆分离蛋白-2、大豆分离蛋白-3。

## 三、实验方案

### 3.1 样品称量

准确称取大豆分离蛋白样品 0.2g（精确至 0.0001g），并转移至洁净的消化管中。

### 3.2 消解

向空白消化管中加入不同比例的定氮片及浓硫酸，具体比例见表一，消解程序见表二。

表一 定氮片与浓硫酸加入量

方案	样品称样量/g	混合催化剂加入量/g	$K_2SO_4:CuSO_4 \cdot 5H_2O$	浓硫酸/mL
方案一	0.2	3.2	15:1	8
方案二	0.2	3.2		10

方案三	0.2	3.2		12
方案四	0.2	4.0	9:1	8
方案五	0.2	4.0		10
方案六	0.2	4.0		12
方案七	0.2	6.4	15:1	10
方案八	0.2	6.4		12
方案九	0.2	6.4		15
方案十	0.2	6.4		20
方案十一	0.2	8.0	9:1	20

表二 消解程序

阶段	温度/℃	保温时间/min
1	420	60

### 3.3 蒸馏与滴定

待消解程序完成，消化管冷却并无酸雾后，上凯氏定氮仪检测定氮仪参数设置如下表。

表三 K1160 全自动凯氏定氮仪参数设置、

滴定酸/ (H <sup>+</sup> ) mol/L	硼酸	氢氧化钠	稀释水	蒸馏时间	蛋白转换系数	蒸汽流量	备注
0.1036/0.1058	30mL	45mL	40mL	5min	6.25	100%	8/10/12mL 硫酸
	30mL	75mL	40mL	5min	6.25	100%	15/20mL 硫酸

## 四、测试结果

根据表一方案，选取 3 号样品进行方案探索，具体数据见表四。

表四 3 号样品蛋白质含量表

方案	蛋白质含量均值/%	精密度/%
方案一	89.99	0.37
方案二	89.67	0.59
方案三	89.73	0.58
方案四	90.59	0.78
方案五	89.34	0.34
方案六	88.93	0.66
方案七	90.41	0.68
方案八	90.40	0.19
方案九	90.06	0.31
方案十	90.09	0.38
方案十一	89.78	0.74

注:1.全文精密度均为:在重复条件下获得的独立测定结果的极差与平均值的比值。

2.全文蛋白质含量均采用干基计算。

根据3号样品的测试数据得到方案二、方案三、方案四、方案七及方案八的测试结果符合选取标准,故对1号及2号样品进行测试,具体数据见表五及表六:

**表五** 1号样品蛋白质含量测定结果

方案	蛋白质含量均值/%	精密度/%
方案二	87.95	0.75
方案三	87.90	0.43
方案四	89.86	0.49
方案七	90.22	0.46
方案八	89.93	0.65

**表六** 2号样品蛋白质含量测定结果

方案	蛋白质含量均值/%	精密度/%
方案二	89.90	1.03
方案三	90.04	0.54
方案四	90.30	2.11
方案七	90.72	1.11
方案八	90.98	0.76

根据1号、2号及3号样品测试数据,可以发现方案七及方案八表现相对优异,故对方案七及方案八进行重现性测试,具体数据见表七:

**表七** 方案七及方案八重现性数据

方案 样品	方案七		方案八	
	蛋白质含量均值/%	精密度/%	蛋白质含量均值/%	精密度/%
1号样品	90.17	0.42	89.59	1.77
2号样品	91.21	0.71	90.62	0.80
3号样品	90.62	0.81	90.62	0.81

蛋白质含量计算公式:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 0.0140}{m} \times F \times 100$$

式中: X—样品中蛋白质的含量,单位为克每百克(g/100g);

$V_1$ —试液消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积,单位为毫升(mL);

$V_2$ —试剂空白消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积,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);

0.0140—氮转换系数

m—试样的质量,单位为克(g);

F—氮换算为蛋白质的系数;

100—换算系数。

## 五、结论

由结果可知,当加入 6.4g 混合催化剂,10mL 硫酸时测试结果优异,实验成本低,测试结果精密度均符合相关国标要求。

## 六、注意事项

6.1 当样品脂肪或淀粉含量高的样品,建议采用方案八,增加酸的用量。

6.2 根据样品蛋白质含量可以适当增减取样量。

## 六、参考文献

[1] 《GB 5009.5-2025 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》