

## 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1678—2008

### 乳与乳制品中蛋白质的测定 双缩脲比色法

Determination of protein in milk and dairy products  
Biuret spectrophotometry method

2008-10-20 发布

2008-10-20 实施



中华人民共和国农业部 发布

## 前 言

本标准由中华人民共和国农业部畜牧业司提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：中国农业大学，农业部奶及奶制品质量监督检验测试中心（北京），农业部食品质量监督检验测试中心（上海），农业部乳品质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人：侯彩云、王加启、刘凤岩、韩奕奕、魏宏阳、刘莹、王旭、牛巍、安瑜、芮闯、孙建平、陈婧。

本标准为首次发布。



# 乳与乳制品中蛋白质的测定

## 双缩脲比色法

### 1 范围

本标准规定了测定乳与乳制品中蛋白质含量的方法。

本标准适用于乳与乳制品中蛋白质含量的测定。

本方法检出限为  $5 \times 10^{-5}$  g/100 g。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 原理

利用三氯乙酸沉淀样品中的蛋白质,将沉淀物与双缩脲试剂进行显色,通过分光光度计测定显色液的吸光度值,采用外标法定量,计算样品中蛋白质含量。

### 4 试剂与材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂和符合 GB/T 6682 的二级水。

4.1 四氯化碳。

4.2 酪蛋白标准品(纯度 $\geq 99\%$ )。

4.3 10 mol/L 氢氧化钾溶液:准确称取 560 g 氢氧化钾,加水溶解并定容至 1 L。

4.4 250 g/L 酒石酸钾钠溶液:准确称取 250 g 酒石酸钾钠,加水溶解并定容至 1 L。

4.5 40 g/L 硫酸铜溶液:准确称取 40 g 硫酸铜,加水溶解并定容至 1 L。

4.6 150 g/L 三氯乙酸溶液:准确称取 150 g 三氯乙酸,加水溶解并定容至 1 L。

4.7 双缩脲试剂:将 10 mol/L 氢氧化钾溶液 10 mL 和 250 g/L 酒石酸钾钠溶液 20 mL 加到约 800 mL 蒸馏水中,剧烈搅拌,同时慢慢加入 40 g/L 硫酸铜溶液 30 mL,定容至 1 000 mL。

### 5 仪器和设备

5.1 天平,感量 $\pm 0.0001$  g。

5.2 高速冷冻离心机。

5.3 分光光度计。

5.4 超声波清洗器。

### 6 测定步骤

#### 6.1 标准曲线的制备

取 6 支试管,按表 1 加入酪蛋白标准品和双缩脲试剂,充分混匀。

表 1 标准曲线的制作

管 号	0	1	2	3	4	5
酪蛋白标准品,mg	0	10	20	30	40	50
双缩脲试剂,mL	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
蛋白质浓度,mg/mL	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5

6.2 样品前处理

6.2.1 固体试样

准确称取 0.2 g 试样,置于 50 mL 离心管中,加入 5 mL 水。

6.2.2 液体试样

准确称取 1.5 g 试样,置于 50 mL 离心管中。

6.2.3 沉淀和过滤

加入 150 g/L 的三氯乙酸溶液 5 mL,静置 10 min 使蛋白充分沉淀,在 10 000 r/min 下离心 10 min,倾去上清液,经 95%乙醇 10 mL 洗涤。向沉淀中加入四氯化碳 2 mL 和双缩脲试剂 20 mL,置于超声波清洗器中震荡均匀,使蛋白溶解,静置显色 10 min,在 10 000 r/min 下离心 20 min,取上层清液,待测。

6.3 蛋白质含量的测定

在 6.1 制备的标准溶液中,以 0 管调零,540 nm 下测定各标准溶液的吸光度值,以吸光度值为纵坐标,以表 1 中的蛋白质浓度为横坐标,绘制标准曲线。同时测定 6.2.3 提取的蛋白液的吸光度值,并根据标准曲线的线性回归方程读取制备样品的蛋白浓度  $c$ 。

7 结果计算

试样中蛋白质含量以质量分数  $m$  计,数值以克每百克(g/100 g)表示,结果按式(1)计算:

$$m = \frac{2c}{m_0} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$m$ ——100 g 奶粉中蛋白质的含量,单位为克每百克(g/100 g);

$m_0$ ——取样量,单位为克(g);

$c$ ——试液中蛋白浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL)。

注:测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。