

大豆水溶性蛋白质

快速测定方法的研究

鲁秀恒¹, 鲁金昌²

(1. 吉林粮食高等专科学校食品系, 吉林长春 130062; 2. 广西玉林师范学院化学与生物系, 广西玉林 537000)

摘要 大豆水溶性蛋白质在室温下能与偶氮胭脂红 B 在酸性介质中迅速结合生成复合物, 其最大吸收波长为 580nm, 比 ABX 红移了 60nm。本文初步研究了 ABX 与大豆水溶性蛋白质反应的最佳条件, 并在此基础上建立了一个快速测定大豆水溶性蛋白质的新方法。在 580nm 处大豆水溶性蛋白的浓度至少在 10~180mg/L 范围内与吸光度成正比。该方法简便、快速, 所得结果与凯氏法测定结果基本一致。

关键词 大豆, 水溶性蛋白质, 偶氮胭脂红 B, 快速测定

Abstract: In the acidic medium, azocarmine B (ABX) can bind rapidly with protein at room temperature forming a complex, which has a maximum absorption wavelength at 580nm, and exhibits a bathochromic shift of 60nm compared with the maximum absorption wavelength of ABX. The optimum reaction of soluble proteins in soybeans was developed based on this binding reaction. The absorbance of the binding system at 580nm is proportional to the concentration of soluble proteins in soybeans in the range of 10mg/L ~ 180mg/L. The method is simple, rapid and the results were coincident with the Kjeldahl method.

Key words: soybean; soluble protein; azocarmine B; rapid determination

中图分类号: TS210.7 文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2006)06-0177-02

大豆约含有 40% 的蛋白质, 其中水溶性蛋白质约占总蛋白质含量的 80% 左右。大豆除制取油脂外, 另一个最大用途就是加工后做成各种豆制品及功能食品, 大豆制品的功能特性主要由蛋白质决定, 被利用的主要是水溶性蛋白质, 大豆蛋白饮料也要求水溶性好。因此, 水溶性蛋白质含量和氮溶解指数 (NSI) 就成为大豆制品加工中的主要技术指标, 检测技术理所当然地成为加工中的首要问题。目前国

内对大豆水溶性蛋白质的测定经提取后主要采用经典的凯氏定氮法^[1], 此法操作繁杂、费时费力。本文参考有关文献^[2], 用一种生物染色剂偶氮胭脂红 B 与大豆水溶性蛋白质反应生成一红色复合物, 并依此反应初步建立了一个测定大豆水溶性蛋白质的光度分析新方法。本方法快速、简便、准确, 与凯氏法相符程度较好, 为测定大豆水溶性蛋白质提供了可行性手段。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

0.005g/L 偶氮胭脂红 B 水溶液, 2.0mol/L 硫酸溶液。

721 型分光光度计。

1.2 实验方法

在 50mL 比色管中, 依次加入 2.0mL 0.005g/L 的 ABX 溶液、1.0mL 2.0mol/L 的硫酸溶液和适量的大豆水溶性蛋白提取液, 以试剂空白为参比, 用 1cm 比色皿于 580nm 处测定吸光度。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱与最大吸收波长的选择

在 0.04mol/L 的硫酸介质中, 分别以水和试剂空白为参比绘制了 ABX 与 ABX-大豆水溶性蛋白反应体系的吸收曲线, 如图 1 所示。由图 1 可见, 在此酸度下大豆水溶性蛋白质的加入使 ABX 的最大吸收波长由 520nm 红移到了 580nm, 说明 ABX 与大豆水溶性蛋白质发生了结合反应。

2.2 反应条件的选择

2.2.1 酸度的选择 大豆水溶性蛋白质与 ABX 的结合要在较强的酸性下才能完成^[2], 实验分别选用 0.04mol/L 的硫酸 1.0、3.0、5.0、7.0、9.0 mL。结果表明 (见图 2), 硫酸的浓度在 0.04~0.36mol/L 之间对反应体系的吸光度均无影响, 实验选用 0.04mol/L。

收稿日期: 2006-02-06

作者简介: 鲁秀恒 (1953-), 女, 副教授, 一直从事粮油食品分析的教学和研究工作。

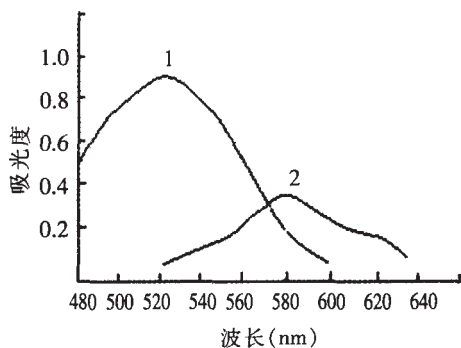


图1 ABX 以水作参比(1)和 ABX-大豆水溶蛋白体系以 ABX 作参比(2)的吸收光谱

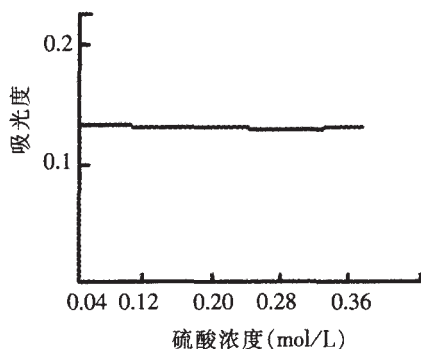


图2 硫酸浓度对吸光度的影响

2.2.2 ABX 浓度和取样量的选择 ABX 的浓度不仅影响反应体系的灵敏度,同时还影响体系对大豆水溶性蛋白的线性范围^[2],结合大豆水溶性蛋白的含量范围(16%~30%左右),根据国标提取方法中的稀释倍数和测定时的取样量及吸光度最大的原则,实验选用 2.0mL ABX 显色剂,取样量 1.0~2.0mL,使得该方法的线性范围在 10~180mg/L 之间,以满足大豆水溶性蛋白的测定需要。

2.3 反应时间、温度和稳定性

实验表明,该反应在室温下均能在 5min 内完成,且吸光度至少在 30min 内保持不变。

2.4 精密度实验

取一份大豆水溶性蛋白提取液,用该方法平行测定 5 次,结果见表 1。

表1 精密度实验

实验号	A	S	RSD(%)
1	0.223	0.0036	1.64
2	0.220		
3	0.217		
4	0.218		
5	0.218		

表1 数据表明,该法的精密度较好,标准偏差为

0.0036,相对标准偏差为 1.64%。

2.5 样品测定

2.5.1 建立回归直线方程 吸取已知准确含量的大豆水溶性蛋白提取液 0.0、0.3、0.5、1.0、1.5、2.0mL,按实验方法测定其吸光度,根据所得结果计算出水溶性蛋白提取液的浓度(mg/mL)和吸光度 A 之间的回归方程为 $A=0.0076+1.1675C$ 。同时,对回归方程进行相关性检验,计算相关系数的检验统计量 $r=0.9902$,查检验相关系数的临界值表,在置信度为 99.9%,自由度 $f=n-2=6-2=4$ 时的 $r_{0.99,4}=0.9741$,因 $r>r_{0.99,4}$,所以该法的吸光度 A 与大豆水溶性蛋白质的浓度之间存在着很好的线性关系。

2.5.2 实际样品测定 取三个大豆样品,按国标法^[1]提取后,用该方法测定其吸光度 A,用回归方程计算出水溶性蛋白质浓度,根据国标方法中的稀释倍数和取样量,计算出水溶性蛋白质的百分含量,同时,用凯氏法测定其水溶性蛋白质含量,所得结果一并列入表 2 中。

表2 样品快速法和凯氏法测定结果比较

样品号	快速法水溶蛋白含量(%)	凯氏法水溶蛋白含量(%)	回收率(%)
1	24.88	24.70	106
2	22.65	23.04	97
3	16.91	16.58	101

由表 2 可看出,用本方法测得的结果与国标凯氏法基本一致,但与其相比,具有简单、快速、操作简便的优点。

3 结论

本文采用新的显色剂 ABX 建立了一种新的快速测定大豆水溶性蛋白质的光度法,该方法所用仪器设备简单,故可节省资金;所需试剂较少,只需 ABX 和硫酸两种,便宜易得,故可减少分析成本;所需试剂无毒,对分析人员无伤害,故安全可靠;操作简便,不需特殊技术,只需普通分光光度计,一般操作人员均可;结果较准确,为大豆加工业的例行分析提供了可行性,符合我国粮油食品快速分析的发展方向。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家标准. 大豆水溶性蛋白质测定方法[S].GB/T 5511-1985.
- [2] 曹秋娥.偶氮胭脂红 B 与血清蛋白质相互作用的光度法研究及其分析应用[J].分析化学,2002,30(2):222~226.

实用 · 核心 · 权威 · 领先