



中华人民共和国国家标准

GB/T 8622—2006
代替 GB/T 8622—1988

饲料用大豆制品中尿素酶活性的测定

Determination of urease activity in soya bean products for feeds

2006-06-09 发布

2006-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准为 GB/T 8622—1988《大豆制品中尿素酶活性测定方法》的修订版。

本标准与 GB/T 8622—1988 的主要差异如下：

- 改变了尿素缓冲液中磷酸盐的用量；
- 细化了测定过程中的计时步骤；
- 改变了冲洗试管内容物的蒸馏水体积；
- 增加了用指示剂作为终点的判定；
- 增加了试验结果的保留位数，定为小数点后两位；
- 扩大了 ≤ 0.2 活性单位样品两次试验的允许差，相对相差 $\leq 20\%$ 。

本标准自实施之日起，代替 GB/T 8622—1988。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准负责起草单位：国家饲料质量监督检验中心（北京）。

本标准主要起草人：马东霞、左江湾、范志影。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 8622—1988。

饲料用大豆制品中尿素酶活性的测定

1 范围

本标准规定了大豆制品及其副产品中尿素酶活性的测定。

本标准适用于大豆、由大豆制得的产品和副产品中尿素酶活性的测定。此方法可了解大豆制品的湿热处理程度。

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 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(neq ISO 3696)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

大豆制品中尿素酶活性 urease activity soya bean products

在 $30^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 和 pH7 的情况下，每克大豆制品每分钟分解尿素所释放的氨基氮的质量。

注：以尿素酶活性单位每克(U/g)表示。

4 原理

将粉碎的大豆制品与中性尿素缓冲溶液混合，在 $30^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 下精确保温 30 min，尿素酶催化尿素水解产生氨的反应。用过量盐酸中和所产生的氨，再用氢氧化钠标准溶液回滴。

5 仪器设备

5.1 粉碎机：粉碎时应不生强热。

5.2 样品筛：孔径 200 μm 。

5.3 分析天平：感量 0.1 mg。

5.4 恒温水浴：可控温 $30^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。

5.5 计时器。

5.6 酸度计：精度 0.02，附有磁力搅拌器和滴定装置。

5.7 实验室常用玻璃仪器。

6 试剂和溶液

试剂为分析纯，水应符合 GB/T 6682 的规定。

6.1 尿素缓冲溶液(pH7.0 $\pm$ 0.1)

称取 8.95 g 磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)，3.40 g 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)溶于水并稀释至 1 000 mL，再将 30 g 尿素溶在此缓冲液中，有效期 1 个月。

6.2 盐酸溶液[$c(\text{HCl})=0.1\text{ mol/L}$]

移取 8.3 mL 盐酸,用水稀释至 1 000 mL。

6.3 氢氧化钠溶液[$c(\text{NaOH})=0.1\text{ mol/L}$]

称取 4 g 氢氧化钠溶于水并稀释至 1 000 mL,按 GB/T 601 规定的方法配制和标定。

6.4 甲基红、溴甲酚绿混合乙醇溶液

称取 0.1 g 甲基红,溶于 95%乙醇并稀释至 100 mL,再称取 0.5 g 溴甲酚绿,溶于 95%乙醇并稀释至 100 mL,两种溶液等体积混合,储存于棕色瓶中。

7 试样的制备

用粉碎机(5.1)将具有代表性的样品粉碎,使之全部通过样品筛(5.2)。对特殊样品(水分或挥发物含量较高而无法粉碎的样品)应先在实验室温度下进行预干燥,再进行粉碎,当计算结果时应将干燥失重计算在内。

8 测定步骤

称取约 0.2 g 制备好的试样(第 7 章),精确至 0.1 mg,于玻璃试管中(如活性很高可称 0.05 g 试样),加入 10 mL 尿素缓冲液(6.1),立即盖好试管盖剧烈振摇后,将试管马上置于 $30^{\circ}\text{C}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴(5.4)中,计时保持 $30\text{ min}\pm 10\text{ s}$ 。要求每个试样加入尿素缓冲液的时间间隔保持一致。停止反应时再以相同的时间间隔加入 10 mL 盐酸溶液(6.2),振摇后迅速冷却至 20°C 。将试管内容物全部转入小烧杯中,用 20 mL 水冲洗试管数次,以氢氧化钠标准溶液(6.3)用酸度计(5.6)滴定至 pH4.70。如果选择用指示剂,则将试管内容物全部转入 250 mL 锥形瓶中加入 8 滴~10 滴混合指示剂(6.4),以氢氧化钠标准溶液(6.3)滴定至溶液呈蓝绿色。

另取试管作空白试验。称取约 0.2 g 制备好的试样(第 7 章)精确至 0.1 mg,于玻璃试管中(如活性很高可称 0.05 g 试样),加入 10 mL 盐酸溶液(6.2),振摇后再加入 10 mL 尿素缓冲液(6.1),立即盖好试管盖剧烈振摇,将试管马上置于 $30^{\circ}\text{C}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴(5.4)中,计时保持 $30\text{ min}\pm 10\text{ s}$ 。停止反应时将试管迅速冷却至 20°C 。将试管内容物全部转入小烧杯中,用 20 mL 水冲洗试管数次,以氢氧化钠标准溶液(6.3)用酸度计(5.6)滴定至 pH4.70。如果选择用指示剂,则将试管内容物全部转入 250 mL 锥形瓶中加入 8 滴~10 滴混合指示剂(6.4),以氢氧化钠标准溶液(6.3)滴定至溶液呈蓝绿色。

9 结果计算

9.1 大豆制品中尿素酶活性 X ,以尿素酶活性单位每克(U/g)表示,按式(1)计算。若试样经粉碎前的预干燥处理后,则按式(2)计算:

$$X = \frac{14 \times c(V_0 - V)}{30 \times m} \dots\dots\dots(1)$$

$$X = \frac{14 \times c(V_0 - V)}{30 \times m} \times (1 - S) \dots\dots\dots(2)$$

式中:

- X ——试样的尿素酶活性,单位为活性单位每克(U/g);
- c ——氢氧化钠标准滴定溶液浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- V_0 ——空白消耗氢氧化钠标准滴定溶液体积,单位为毫升(mL);
- V ——试样消耗氢氧化钠标准滴定溶液体积,单位为毫升(mL);
- 14——氮的摩尔质量, $M(\text{N}_2)=14\text{ g/mol}$;
- 30——反应时间,单位为分钟(min);
- m ——试样质量,单位为克(g);

S——预干燥时试样失重的质量分数, %。

计算结果表示到小数点后两位。

9.2 重复性:同一分析人员用相同分析方法,同时或连续两次测定活性 ≤ 0.2 时结果之差不超过平均值的 20%,活性 > 0.2 时结果之差不超过平均值的 10%,结果以算术平均值表示。
