



中华人民共和国国家标准

GB 5499—85

粮食、油料检验带壳油料纯仁率检验法

Inspection of grain and oilseeds Methods for
determination of pure kernel yield of unhulled
oilseeds

1985-11-02 发布

1986-07-01 实施

国家技术监督局 发布

中华人民共和国国家标准

粮食、油料检验带壳油料纯仁率检验法

GB 5499—85

Inspection of grain and oilseeds Methods for determination of pure kernel yield of unhulled oilseeds

1 适用范围

本标准适用于测定谷物中维生素B₁的含量。

2 测定原理

维生素B₁（即硫胺素C₁₂H₁₇ON₄SCl·HCl）在碱性条件下被铁氰化钾氧化成荧光色素——硫色素，硫色素在正丁醇中的荧光强度与样品中维生素B₁的含量成正比，依此进行维生素B₁的定量测定。

3 仪器、设备

常用试验室仪器，特别是：

3.1 容量瓶：100mL，25mL；

3.2 吸附分离柱（见图1）；

3.3 反应瓶（见图2）；

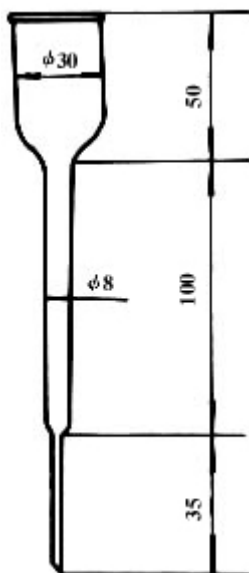


图 1

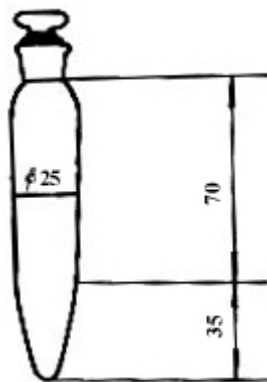


图 2

3.4 注射器，20mL；

3.5 电热恒温水浴；

3.6 电热恒温箱；

3.7 荧光分光光度计。

4 试剂

全部试剂除有说明外，均为分析纯。所用的水应是蒸馏水。

4.1 盐酸（GB 622—77），0.1mol/L溶液，将8.5mL盐酸用水稀释至1000mL。

4.2 硫酸（GB 625—77），0.05mol/L溶液。将2.8mL浓硫酸加入水中，稀释至1000mL。

4.3 乙酸钠，2.5mol/L水溶液。205g无水乙酸钠（GB 694—81）或345g结晶乙酸钠（GB 693—77）溶于水，稀释至1000mL。

4.4 淀粉酶（可选用Takadiastase，或接近其活性的其他磷酸酯酶），60g/L悬浮液：用2.5mol/L乙酸钠溶液（4.3）悬浮6g淀粉酶制剂，稀释至100mL。

4.5 氯化钾（GB 646—77），250g/L水溶液。

4.6 酸性氯化钾溶液：将8.5mL浓盐酸加入250g/L氯化钾溶液（4.5）中，并稀释至1000mL。

4.7 氢氧化钠（GB 629—81），150g/L水溶液。

4.8 铁氰化钾（GB 644—77），10g/L水溶液。

4.9 碱性铁氰化钾溶液：10g/L铁氰化钾溶液（4.8）与150g/L氢氧化钠溶液（4.7）按1：14容积比配制。现用现配。

4.10 冰乙酸（GB 676—78），30mL/L水溶液。

4.11 人造沸石（Q/HG 12—445—63，60~80目）：使用前必需活化，方法如下：

将适量人造沸石置于大烧杯中，加入十倍其容积的3%热乙酸溶液（4.10），用玻棒均匀搅动10min，使沸石在乙酸溶液中悬浮，待沸石沉降后，弃去上层乙酸液。重复上述操作一次。换用五倍其容积的热氯化钾溶液（4.5）搅动清洗两次，每次15min。再用热乙酸溶液（4.10）洗10min。最后用热蒸馏水煮沸浮石至无氯离子（用10g/L硝酸银水溶液检验）。用布氏漏斗抽滤，烘干，贮于磨口瓶中备用。

使用前，检查沸石对硫胺素标准溶液的回收率，如达不到92%，需重新活化沸石。

4.12 硫胺素标准溶液

4.12.1 硫胺素贮备液 I：盐酸硫胺素（Q/HG 22—1527—74），于五氧化二磷干燥器中干燥24h，称取0.0500g，溶解于25%（V/V）乙醇水溶液中并定容至500mL，盛于棕色瓶中低温保存。

该溶液每毫升含0.1mg硫胺素。

4.12.2 硫胺素贮备液 II：取硫胺素贮备液 I（4.12.1）10mL用25%乙醇液定容至100mL，盛于棕色瓶中低温保存。

该溶液每毫升中含10μg硫胺素。

4.12.3 硫胺素标准工作液：取贮备液 II（4.12.2）2mL，与75mL盐酸溶液（4.1）和5mL乙酸钠溶液（4.3）混合，用水定容至100mL。现用现配。

该溶液每毫升中含0.2μg硫胺素。

4.13 硫酸奎宁（Q/HG 22—797—68）

4.13.1 硫酸奎宁贮备液：称取硫酸奎宁0.1000g，用0.05mol/L硫酸（4.2）溶解并定容至1000mL，贮于棕色瓶中低温保存。若溶液混浊则需重新配制。

该溶液每毫升中含0.1mg硫酸奎宁。

4.13.2 硫酸奎宁工作液：取贮备液（4.13.1）3mL，用0.05mol/L硫酸定容至1000mL，盛于棕色瓶中，低温保存。

该溶液每毫升中含0.3μg硫酸奎宁。

4.14 正丁醇（HG 3—76），其荧光强度不超过硫酸奎宁工作液的4%，否则需用全玻璃蒸馏器重新蒸馏，取114~118℃馏份。

4.15 无水硫酸钠（HG 3—123—76）

5 试样的选取和制备

5.1 选取有代表性的谷物样品（带壳籽粒需脱壳），拣净杂质，按四分法缩减取样。

5.2 将谷物样品在60~65℃烘干后粉碎，过60目筛，装入磨口瓶中备用。

6 测定步骤

6.1 称样：称取试样2.500g（约含硫胺素4~20μg），置于100mL容量瓶中。

同时称样，按GB 3523—83《谷类、油料作物种子水分测定法》测定试样水分含量。

6.2 提取

6.2.1 水解：将0.1mol/L盐酸（4.1）75mL加入试样瓶（6.1）中，经沸水浴加热30min，开始加热的5~10min内不时摇动容量瓶，以防结块。

6.2.2 酶解：冷却容量瓶至50℃以下，加5mL淀粉酶悬浮液（4.4），摇匀。该试液的pH约4.2~4.5。将容量瓶于45~50℃恒温箱中保温3h，取出冷却，用水定容。

6.2.3 过滤：将试液通过滤纸过滤弃去最初的5mL滤液，再收集滤液于100mL锥形瓶中。

6.3 提纯

6.3.1 制备吸附柱：取1g活化人造沸石（4.11）置于50mL小烧杯中，加3%乙酸溶液浸泡。将脱脂棉置于吸附柱底部，用玻棒轻压。然后将乙酸浸泡的沸石全部洗入柱中（避免吸附柱脱水）。再用约10mL近沸的水洗柱，重复两次。

6.3.2 吸25mL提取液（6.2.3），慢慢加入制备好的吸附柱中（样液通过沸石的速度以1mL/min为宜），弃去滤液。用近沸的水洗吸附柱三次，每次约10mL，弃去洗液。

6.3.3 用25mL热酸性氯化钾（4.6）分三次连续加入吸附柱，收集洗脱液于25mL容量瓶中，冷却后定容，混匀。

6.3.4 同时用25mL硫胺素标准工作液（4.12.3），重复6.3.1至6.3.3操作，作为外标。

6.4 氧化与萃取（以下操作避免紫外光照射）

6.4.1 于两只反应管中各吸入5mL洗脱液（6.3.3），记作A、B。

6.4.2 向A管加3mL碱性铁氰化钾溶液（4.9），向B管加3mL氢氧化钠溶液（4.7），略摇，各加入15mL正

丁醇，用力摇90s静置分层。

6.4.3 用注射器吸去下层水相。往各反应管加入约2g无水硫酸钠（4.15），旋摇，待测。

6.4.4 同时将作为外标的洗脱液（6.3.4）按6.4.1至6.4.3操作，两只反应管相应地记作C、D。

6.5 测定

6.5.1 用硫酸奎宁工作液（4.13.2）调整荧光仪，使其稳定于一定数值，作为仪器工作的固定条件。

6.5.2 于激发波长365nm，发射波长435nm处测定各反应管中萃取液〔（6.4.3）和（6.4.4）〕的荧光强度。

7 测定结果的计算

7.1 计算公式

$$\text{硫胺素} (\mu\text{g/g, 干基}) = (T - T_B) / (S - S_B) \times C \times \{V / [W (1 - X)]\}$$

式中：T——A管试液的荧光强度；

T_B ——B管试液空白的荧光强度；

S——C管标准溶液的荧光强度；

S_B ——D管标准溶液空白的荧光强度；

C——硫胺素标准工作液浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

V——提取液总容积，mL；

W——试样质量，g；

X——试样的水分百分率，%。

7.2 平行测定的结果用算术平均值表示，保留小数后二位，第三位按GB 1.1—81《标准化工作导则 编写标准的一般规定》中附录C数字修约规则取舍。

7.3 平行测定的相对差不得超过5%。
