

杜马斯燃烧法测定牛奶中的蛋白质含量

徐丽*, 翟丽娜, 刘亚楠, 张力

(山东出入境检验检疫局, 青岛 266001)

摘要: **目的** 通过对杜马斯燃烧法和凯氏定氮法测定牛奶中的蛋白质含量的比较, 建立杜马斯燃烧法测定牛奶中蛋白质的方法。 **方法** 杜马斯燃烧法检测条件: 称样量 100 mg, 通氧量 80 mL/min, 通氧时间 80 s; **结果** 选用合适的燃烧条件用杜马斯燃烧法可以准确测定牛奶中的蛋白质含量。 **结论** 此方法具有结果准确、精密度高、易于操作的优点, 适用于大批量牛奶样品的检测。

关键词: 牛奶; 蛋白质含量; 杜马斯燃烧法; 凯氏定氮法

Determination of the protein content in milk by Dumas combustion method

XU Li*, ZHAI Li-Na, Liu Ya-Nan, ZHANG Li

(Shandong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266001, China)

ABSTRACT: Objective To establish the Dumas combustion method to determine the protein in milk. **Methods** The conditions of Dumas combustion method were as following: sample volume of 100 mg, oxygen content of 80 mL/min, and maintaining at 80 s. **Results** The method with suitable combustion conditions could accurately determine protein content in milk. **Conclusion** This method has the advantages of accuracy, high precision, easy operation, and suitable for mass milk samples determination.

KEY WORDS: milk; protein content; Dumas combustion method; Kjeldahl determination

蛋白质作为生命的物质基础, 参与生物体内的生命活动过程。蛋白质有其自身固有的特点, 它的基本化学组成主要是碳、氢、氧、氮 4 种元素, 有些蛋白质还含有硫、磷、铁等元素, 这些元素按一定结构组成氨基酸, 氨基酸是蛋白质的组成单位, 自然界中的氨基酸有 20 多种, 这 20 多种氨基酸以不同数目和不同顺序连接构成种类繁多、千差万别的蛋白质, 发挥各自不同的生理功能^[1]。人体体质量的 16.5% 是蛋白质, 当蛋白质缺乏时, 成人会肌肉萎缩、免疫力下降、贫血, 严重者将产生水肿^[2]。而对于儿童, 蛋白质缺乏将严重影响身体发育和智力发育, 造成血浆蛋白质含量减少和渗透压下降, 生长发育停滞;

肌肉松弛, 毛发颜色变浅、易脱落; 继而出现水肿, 严重时可能出现“大头婴儿”^[3]。因此, 准确测定食品中的蛋白质含量是营养学的核心内容之一, 测定食品中蛋白质的含量, 了解食品的质量, 为合理配膳提供数据, 保证不同人群对蛋白质的需要, 掌握食品的营养价值和品质的变化, 以达到合理利用食品资源^[4]。目前测定食品中蛋白质的方法主要有: 凯氏法、燃烧法^[5]。其中凯氏法为传统方法, 100 多年前就被应用于测定各类物质的含氮量。但是凯氏法存在测定时间较长, 需要使用各类危险化学品试剂、易产生环境污染等不足。而近年来发展的杜马斯燃烧法由于其测定时间短、自动化程度高、环境友好等优

*通讯作者: 徐丽, 助理工程师, 主要研究方向为食品检测。Email: sdxuli@sina.com.cn

*Corresponding author: XU Li, Assistant Engineer, Shandong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266001, China. Email: sdxuli@sina.com.cn

势,在蛋白质测定领域发展迅猛,并且已成为了AOAC的官方测定方法(AOAC 992.15和AOAC 990.03)^[6,7]。

杜马斯燃烧法原理是:样品在纯氧环境中高温燃烧,其杂质被还原剂吸收,释放出的氮气由热导检测仪进行检测,得到总氮含量结果,乘以相应的转换系数则为蛋白质含量。基于此原理,杜马斯燃烧法能够在4~6 min内准确地测定出样品的总氮含量进而计算出样品蛋白质含量^[8-12]。GB 5009.5—2010 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定增加燃烧法作为第三法用于蛋白质含量在10 g/100 g以上的粮食、豆类、奶粉、米粉、蛋白质粉等固体试样的测定,对于液体样品却没有说明。目前国内关于杜马斯燃烧法测定食品中蛋白质含量的文章较少,对其测定结果的分析、实验条件的选择等因素亦无相关文献。特别是对于液体样品,无相关资料和标准。GB 5009.6-2010、AOAC 992.15和AOAC 990.03分别针对固体样品、肉与肉制品、及动物饲料。本实验对于蛋白质含量在10%以下的牛奶样品用杜马斯燃烧法与凯氏定氮法进行比较,研究用杜马斯燃烧法测定蛋白质的燃烧条件选择和可行性。

1 材料和方法

1.1 仪器和设备

德国Elementar Rapid N CUBE氮分析仪,FOSS凯氏定氮仪Kjeltec 2300,FOSS消化炉,天门冬氨酸(基准物质),锡囊,混合催化剂(FOSS);硫酸(国药,分析纯,98%,无氮);40%的氢氧化钠溶液(国药);1%的硼酸接收液(国药,含溴甲酚绿和甲基红指示剂);标定好的0.1 mol/L盐酸标准溶液(国药)。

1.2 试验方法

1.2.1 杜马斯燃烧法

开启Rapid N CUBE蛋白质分析仪升至预定温度,打开载气和氧气,称取充分混匀的牛奶100 mg(精确至0.01 mg)于锡囊中,用封口器封口后置于自动进样盘中测定蛋白质含量,同时以天门冬氨酸为基准物质修正测定结果。

1.2.2 凯氏定氮法

称取充分混匀的试样1 g(精确至0.0001 g,约相当于30~40 mg氮)移入消化管中,向消化管中加入两粒混合催化剂及10 mL硫酸,滴入1~3滴辛醇防止起

泡。放置于消化炉上,415 °C消化1 h,至液体呈蓝绿色并澄清透明,取下放冷。开启凯氏定氮仪,以硼酸溶液为吸收液,向消化管中加蒸馏水及氢氧化钠溶液,开始蒸馏,馏出液用盐酸溶液滴定。同时做空白试验。

2 结果与讨论

2.1 称样量的选择

牛奶样品一般蛋白质含量在3%左右,若称样量过小,不具有代表性,影响检测结果的准确性。若称样量过大,则样品无法在燃烧管中燃烧完全,会导致检测结果降低,另外燃烧产生的水汽会对仪器造成损耗,经过多次试验,最终选择称样量为100 mg。

2.2 燃烧条件的选择

燃烧管、二级燃烧管、还原管的温度分别为960 °C、800 °C和815 °C,在通氧量与时间选择上,如通氧量不足,样品不能充分燃烧,会导致结果偏小,未燃尽的残留物会影响下一样品的检测结果。如通氧量过大,过量的氧进入还原管氧化还原铜,会降低还原管的使用寿命。本实验的通氧条件选择为80 mL/min,80 s。

2.3 两种方法结果比较

表1中列举了所选取的牛奶样品的测定结果。选择显著性水平 $\alpha=0.05$,则统计量方差比为: $F_1=0.014^2/0.0069^2=4.12$, $F_2=0.0133^2/0.0069^2=3.72$,查F分布临界值表, $F_{0.05/2}(5,5)=7.15$, $F < F_{0.05/2}(5,5)$,所以杜马斯燃烧法明显的优于凯氏定氮法。这与凯氏法步骤繁琐,可能存在较大的随机误差有关,而杜马斯燃烧法步骤简单,不存在样品损失,具有很高的精确度。

3 结论

凯氏定氮法测定样品蛋白时使用了强酸高温进行消化,消化时间长,不适用于大量样品的检测。同时由于步骤繁琐,该方法在很大程度上受到检测人员的影响,存在较大的随机误差。采用杜马斯燃烧法,前处理简单,检测时间短,可自动进样,能够进行连续大批量检测,节省时间、人力,适用于乳品企业和检测机构对大量样品的检测。综上所述,采用称样量100 mg,通氧量80 mL/min,通氧时间80 s的检测条件,杜马斯燃烧法可以对牛奶中的蛋白质含量进行准确的检测。

表 1 杜马斯燃烧法和凯氏定氮法测定蛋白质含量结果
Table 1 Dumas combustion method and determination of kjeldahl determination results in protein

样品名称	杜马斯燃烧法			凯氏定氮法			差值
	检测结果 (%)	平均值	RSD	检测结果 (%)	平均值	RSD	
全脂纯牛奶	3.65	3.62	0.69	3.54	3.53	1.40	0.09
	3.63			3.52			
	3.64			3.61			
	3.62			3.55			
	3.58			3.51			
	3.61			3.46			
脱脂纯牛奶	3.22	3.23	0.69	3.15	3.13	1.33	0.10
	3.20			3.19			
	3.25			3.10			
	3.26			3.11			
	3.22			3.08			
	3.24			3.16			

参考文献

- [1] 顾家山, 刘丽, 汪丰云, 等. 蛋白质的研究历程与诺贝尔科学奖[J]. 大学化学, 2013, 28(1): 79-84.
Gu JS, Liu L, Wang FY, et al. Study on the process of protein and Nobel Science Award [J]. Univ Chem, 2013, 28(1): 79-84.
- [2] 方亚敏, 冯蓓健, 杨滨. 食品中蛋白质两种测定方法比较[J]. 上海预防医学杂志, 2009, 31(8): 381-382.
Fang YM, Feng BJ, Yang B. Two methods for determining the protein in food [J]. Shanghai J Preve Med, 2009, 31(8): 381-382.
- [3] 李庆天. 劣质奶粉与婴儿严重蛋白质缺乏症[J]. 食品科学, 2004, 25(5): 220.
Li QT. Inferior milk powder and infant severe protein deficiency [J]. Food Sci, 2004, 25(5): 220.
- [4] 石艳静. 食品中蛋白质测定方法及样品消化过程的改进[J]. 职业与健康, 2008, 24: 22-23.
Shi YJ. Improved method of sample digestion process and determination of protein in food [J]. Occup Health, 2008, 24: 22-23.
- [5] 范志影, 刘庆生, 张萍. 用凯氏法和杜马斯法测定植物样品中的全氮[J]. 现代科学仪器, 2007, 1: 46-47.
Fan ZY, Liu QS, Zhang P. Determination of total nitrogen in plant samples using the Kjeldahl and Dumas method [J]. Mod Sci Instrum, 2007, 1: 46-47.
- [6] AOAC Official Method 992.15 Crude protein in meat and meat products including Pet Foods [S].
- [7] AOAC Official Method 990.03 Protein (crude) in animal feed combustion method [S].
- [8] Waston ME, Galliber TL. Comparison of Dumas and Kjeldahl method with automatic analyzers on agricultural samples under routine rapid analysis conditions [J]. Commun Soil Sci Plant Ana, 2001, 32: 2007-2019.
- [9] 赵玉富, 咸伟碛. 杜马斯燃烧法快速测定蛋白质含量[J]. 黑龙江科技信息, 2013, 17: 2-3.
Zhao YF, Xian WD. Rapid determination of protein content in Dumas combustion method [J]. Heilongjiang Sci Technol Inf, 2013, 17: 2-3.
- [10] 杨雪娇, 陈晨, 曾玉龙, 等. 杜马斯燃烧法测定食品中总氮含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2011, 2(4): 183-187
Yang XJ, Chen C, Ceng YL, et al. Determination of nitrogen content in foodstuffs by dumas combustion method [J]. J Food Saf Qual, 2011, 2(4): 183-187
- [11] 郭望山, 孟庆翔. 杜马斯燃烧法与凯氏法测定饲料含氮量的比较研究[J]. 畜牧兽医报, 2006, 37(5): 464-468.
Guo WS, Meng QX. A comparative study of Dumas combustion method and the Kjeldahl determination of nitrogen content in feedstuffs [J]. Anim Husb Vet Rep, 2006, 37(5): 464-468.
- [12] 郭晓旭, 郭望山, 任丽萍, 等. 饲料中硝态氮对燃烧法与凯氏法总氮含量测定结果的影响[J]. 动物生产, 2008, 44(21): 49-52.
Guo XX, Guo WS, Ren LP, et al. Nitrate nitrogen in the feed of combustion method and kjeldahl method the results of determination of total nitrogen content [J]. Anim Prod, 2008, 44(21): 49-52.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



徐 丽, 助理工程师, 主要研究方向食品检测工作。
E-mail: sdxuli@sina.com.cn