

杜马斯燃烧法测定食品中总氮含量

杨雪娇, 陈 晨, 曾玉龙, 黄 伟
(东莞出入境检验检疫局 东莞 523072)

摘 要: 以各类食品为试验材料, 分析了各种参数对杜马斯燃烧法测定含氮量结果的影响, 并对比了杜马斯法和凯氏法的测定结果。结果表明, 当通氧量为 110 ~ 200 min/mL, 反应炉温度设定 900 ℃ 以上, 样品量在 100 ~ 150 mg 时, 测定结果理想。大部分食品样品杜马斯和凯氏法无显著性差别。但杜马斯法结果 RSD 较凯氏法稍大。另改进前处理方法, 杜马斯法还可以用于测定液体食品中的氮含量, 结果准确。

关键词: 食品; 含氮量; 杜马斯燃烧法; 凯氏定氮法

中图分类号: S816.17 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 550.1030

Determination of Nitrogen content in foodstuffs
by Dumas combustion method

Yang Xuejiao, Chen Chen, Zeng Yulong, Huang Wei
(Dongguan Entry-Exit inspection and Quarantine Bureau, Dongguan 523072, China)

Abstract: This study was conducted to evaluate the effect of different parameter on the result of nitrogen content determinated by Dumas combustion method, based on the different kind of foodstuffs. The results showed that the satisfied result was obtained when the flow of O₂ was 110 ~ 200 min/mL, furnace temperature was above 900 ℃, and the sample mass was between 100 ~ 150 mg. For most of foodstuffs, there was no significant difference on the Dumas combustion method and Kjeldahl method, expect the RSD was higher by Dumas method. And exact result was obtained on liquid foodstuffs by Dumas method, by improved dealing method.

Key words: foodstuffs; nitrogen content; Dumas combustion method; Kjeldahl method

1 引 言

蛋白质是由多肽键组成的生物大分子, 是衡量食品中营养价值的一个重要指标, 是生命的物质基础。人体体重的 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^[1]。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”^[2]。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。我国目前测定食品中蛋白质的方法主要有: 凯氏法、燃烧法。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, 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、环境友好等优势, 在蛋白质测定领域发展迅猛, 并且已经成为了 AOAC 的官方测定方法 (AOAC 992.15 和 AOAC 990.03)^[3-6]。

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 (TCD) 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。

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。本实验主要研究了食品样品中仪器参数条件的影响,称样量的影响,以及不同种类固体样品和不同含氮量液体样品的结果。为杜马斯燃烧法在食品领域中的应用提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 材料

2.2 仪器与试剂

德国氮分析仪 (Rapid N, Elementar, Germany);瑞典凯氏定氮仪 (Kjeldahl 2300, Foss Tecator, Sweden);高纯氧 (>99. 99%)。

2.3 测定方法

2.3.1 燃烧法:称取一定量的样品于锡箔中,并挤出空气,样品落入燃烧反应炉后,在一定通氧量的燃烧炉中燃烧,直至氧剩余含量达到12%时反应停止。燃烧炉中的氮氧化物经还原炉还原成氮并除去水后,进入 TCD 检测器,得出样品中的氮的含量。

2.3.2 凯氏法:称取一定量的样品于消化管内,加入硫酸铜催化剂,12 mL 浓硫酸,在 450 ℃ 下消化 1 h,直至得到澄清透明的消化液。将消化液送入凯氏定氮仪进行检测,以硼酸-溴甲酚绿-甲基红为吸收指示剂,0. 1 mol/L 盐酸为标准滴定溶液,当滴定缸颜色变至浅红色为反应终点,根据标准溶液酸的消耗量可计算得出样品中氮的含量。

3 结果与讨论

3.1 燃烧法实验条件的影响

3.1.1 通氧量的影响

设定仪器条件:反应炉温度 960 ℃,次反应

炉温度为 800 ℃,还原管温度为 815 ℃。分别称取 100 mg 黄豆、奶粉和米粉,改变反应炉中的通氧量,结果如表 1 所示。

表 1 通氧量对总氮结果的影响

Table 1 Effect of flow of O₂ on the result of total N

温度/℃	含氮量/%		
	黄豆	奶粉	米粉
850	4. 98	1. 89	0. 9
880	5. 03	2. 1	0. 88
890	4. 92	2. 25	1. 02
900	5. 57	2. 5	1. 27
930	5. 52	2. 47	1. 25
960	5. 48	2. 5	1. 3
1 000	5. 51	2. 55	1. 27
1 100	5. 58	2. 69	1. 34

由表 1 可见,通氧量对总氮结果有较大影响。当通氧量为 50 ~ 100 min/mL 时,各类食品样品的结果呈现明显上升趋势;当通氧量为 110 ~ 250 min/mL 时,总氮结果基本稳定,未随着通氧量的增加而加大,不同类型的含氮量的食品均呈现此趋势。这主要是因为氧气在本实验中为氧化剂,如通氧量小,则反应炉中样品燃烧难以完全,样品中的氮无法完全释放,转化为氮氧化物,导致总氮结果偏小。只有当有足够的通氧量 (≥110 min/mL 时),反应才能完全,TCD 检测器获得准确的样品中含氮量的数据。另外,通过表 1 结果还可以看出,当通氧量 ≥200 min/mL 时,通氧量对不同含氮量的样品结果已无影响,而太大的通氧量将导致反应时间过长,还原管消耗过大,寿命缩短。因此,在测定食品样品时,通氧量为 110 ~ 200 min/mL 是适合的。

3.1.2 反应炉温度的影响

设定仪器条件:通氧量为 120 min/mL,次反应炉温度为 800 ℃,还原管温度为 815 ℃。分别称取 100 mg 黄豆、奶粉和米粉,改变反应炉的温度,结果如表 2 所示。

由表 2 可见,反应炉温度对总氮结果有较大影响。当反应炉温度为 850 ~ 900 ℃ 时,各类食品样品的结果呈现明显上升趋势,表明反应不完全;当反应炉温度达到 900 ℃ 以上时,总氮结果

基本稳定,不随着反应炉温度的增加而加大,不同类型和含氮量的食品皆呈现此趋势。这主要是因为氧气在本实验中为氧化剂,如通氧量小,则反应炉中样品燃烧难以完全,样品中的氮无法完全释放,转化为氮氧化物,导致总氮结果偏小。但反应炉温度过高时,将导致设备内部氧化严重,寿命缩短。

表 2 反应炉温度对总氮结果的影响
Table 2 Effect of reaction temperature of furnace on the result of total N

温度/℃	含氮量/%		
	黄豆	奶粉	米粉
850	4.98	1.89	0.90
880	5.03	2.10	0.88
890	4.92	2.25	1.02
900	5.57	2.50	1.27
930	5.52	2.47	1.25
960	5.48	2.50	1.30
1000	5.51	2.55	1.27
1100	5.58	2.69	1.34

3.1.1 称样量的影响

定氮仪的条件设置为通氧量 250 mL/min,反应炉温度为 960 ℃,次反应炉温度为 800 ℃,还原管温度为 815 ℃,称取不同重量的黄豆、奶粉、米粉等食品样品进行测定,结果如表 3 所示。

由表 3 可见,在有充分氧气、反应炉温度足够高的条件下,称样量在 50 ~ 250 mg 时,样品结果

基本一致,不存在显著性差异,这说明在一定范围内称样量对总氮测定结果影响不大;称样量 > 200 mg 时,总氮结果有所降低,其原因是:样品量过大时,在反应炉内难以短时间内完全反应,导致内部的部分样品不能完全氧化,所以总氮结果偏低。同时样品量大时,对还原管和反应炉的负担过大,易导致还原剂的消耗过大,造成试剂耗材过多,不利于实验的连续进行。而如果称样量 < 50 mg,则天平的误差会导致总氮结果不确定度增大,结果稍有减少。因此,食品样品检测时,氮含量皆称样量为 100 ~ 150 mg 为宜。

表 3 称样量对总氮结果的影响
Table 3 Effect of the mass of sample on the result of total N

称样量 (mg)	含氮量/%		
	黄豆	奶粉	米粉
50	5.79	2.69	1.31
100	5.74	2.77	1.30
150	5.57	2.59	1.24
200	5.53	2.61	1.27
250	5.43	2.47	1.25

3.2 样品中氮含量及形态对结果的影响

3.2.1 固体样品

选取样品中含氮量不同的样品,按照固定的反应条件进行测定,与凯氏法进行比较,结果如表 4 所示。

表 4 不同种类固体样品杜马斯法和凯氏法的含氮量比较
Table 4 Compare of Nitrogen content by Dumas and Kjledahl method in different kind of solid foodstuffs

样品种类	杜马斯法		凯氏法	
	3 次含氮量平均值/%	RSD	3 次含氮量平均值/%	RSD
黄豆	5.74	4.2	5.80	0.80
奶粉	2.77	6.5	2.53	0.98
米粉	1.30	3.5	1.12	1.0
饼干	0.91	7.4	0.93	1.2
添加了亚硝酸盐的蔬菜罐头	0.21	8.8	0.05	1.1

由表 4 可见,对于各类食品样品,杜马斯法测定的结果与凯氏法的结果基本一致,数据稍

高,但 CV 值皆 < 10%。有文献指出测定饲料中的含氮量时,杜马斯的结果与凯氏法有显著差异,主要是由于部分硝态氮的影响^[7-8]。但是由于食品与饲料成分不同,大量硝态氮的存在会对人体产生健康影响,所以各类食品卫生指标中都有硝酸盐、亚硝酸盐、氰化物等的限量。由表 4 可见,虽然认为添加了亚硝酸盐的罐头中两种方法的差异较大,但是对于常规食品,杜马斯和凯氏法并不存在显著差异。另外,由于燃烧法测定的是总氮,而空气中的氮气含量占 70%,在制备样品时,如果锡囊中的空气未挤空,则可能导致结果的差异。这可能也是杜马斯法相对凯氏法样品 RSD 高,重复性较差的主要原因。

3.2.2 液体样品含氮量的测定

液体样品测定时需制作成液体锡囊,有文献报道,采用杜马斯燃烧法仅能够测定固体样品的含氮量。为验证仪器测定液体时的准确度,将已知含氮量的奶粉(蛋白质含量为 16.44%)调配成不同浓度的液态奶,采用液体锡囊进行测定,结果如表 5 所示。

表 5 杜马斯法检验不同含氮量液体样品的结果
Table 5 Result of Nitrogen content of different liquid foodstuffs by Dumas method

奶粉 + 水比例 (重量比)	杜马斯燃烧法蛋白质含量/%		理论蛋白质 含量/%
1 + 4	2.99	3.07	3.29
1 + 6	2.38	2.63	2.35
1 + 9	1.77	1.73	1.64
1 + 14	1.22	1.39	1.10
1 + 19	0.94	0.91	0.82
1 + 24	0.88	0.62	0.66
1 + 39	0.53	0.55	0.41
1 + 49	0.36	0.40	0.33

由表 5 结果可知,不同稀释比例的奶粉溶液中的蛋白质含量有较好的线性关系。杜马斯燃烧法获得的含氮量与奶粉溶液中理论蛋白质的含量接近, CV 值 < 15%。这表明杜马斯燃烧法在测定液体样品时,结果准确可靠,精密度符合要求。

4 结 论

杜马斯燃烧法测定食品样品时,结果与通氧量、还原管温度、样品质量等密切相关。当仪器通氧量为 110 ~ 200 min/mL,反应炉温度设定 900 ℃ 以上,样品称样量在 100 ~ 150 mg 时,测定结果理想。同时比对了多种固体样品和不同蛋白质含量的液体样品,结果大部分固体食品样品杜马斯和凯氏法无显著性差别,但杜马斯法结果 RSD 较凯氏法稍大。对于液体样品杜马斯法通过锡囊来测定,不同蛋白质浓度的结果与理论值十分接近,表明杜马斯法亦可十分方便地用于液体样品的检测。

参考文献

[1] 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 Y M, FENG B J, YANG B. The comparison of two protein detection methods in food[J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine, 2009,31(8): 381-382.
[2] 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 Q T. The relationship between fake milk powder and serious hypoproteinosi s of baby [J]. Food Science, 2004, 25(5): 220.
[3] 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 ZH Y, LIU Q SH, ZHANG P. Comparison of the Kjeldahl method and the Dumas method for total Nitrogen determination in grasses [J]. Modern Scientific Instruments, 2007(1):46-47.
[4] AOAC official method 992.15 crude protein in meat and meat products including pet foods[S].
[5] AOAC official method 990.03 protein (crude) in animal feed combustion method[S].
[6] WASTON M E, GALLIBER T L. Comparison of Dumas and Kjeldahl method with automatic analyzers on agricultural samples under routine rapid analysis conditions[J]. Commum Soil Sci Plant Ana, 2001, 32: 2007-2019.

[7] 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]. 畜牧兽医学报,2006,37(5),464-468.

GUO W SH, MENG Q X. Comparison of Kjeldahl and Dumas combustion methods for determination of Nitrogen content in feedstuffs[J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2006,37(5),464-468.

[9] 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 X X, GUO W SH, REN L P, et al. Effect of

Nitrate Nitrogen on the Nitrogen content determined by combustion and Kjeldahl methods in some feed-stuffs [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2008,44(21):49-52.

作者简介

杨雪娇(1976-),女,硕士研究生,主要从事食品理化检验。

YangXuejiao(1976-), male, master degree, mainly engaged in physical and chemical inspection in food.