

基于有机元素分析的粉状食品中 蛋白质含量的测定

钟虹敏*, 张 华, 孙玉明

(大连理工大学化工与环境生命学部化学分析测试中心, 大连 116024)

摘要: **目的** 建立基于有机元素分析的粉状食品中蛋白质含量的测定方法。**方法** 采用 VarioEL III 型元素分析仪对 16 种粉状食品中蛋白质含量进行测定, 并与传统经典蛋白质测定方法——凯氏定氮法进行比较。**结果** 元素分析法可准确测定样品中蛋白质含量, 方法重复性和准确度均很好, 与凯氏定氮法相比, 测定结果相近, 并且具有相当的测量精度, 且有操作简单、无需复杂样品前处理、无溶剂和污染、样品需求量少、分析速度快、自动化程度高等优点。**结论** 元素分析法可作为凯氏定氮法的替代和补充方法, 用于粉状食品中蛋白质含量的测定。

关键词: 元素分析法; 粉状食品; 蛋白质含量

Determination of protein content in powder food based on organic elemental analysis

ZHONG Hong-Min*, ZHANG Hua, SUN Yu-Ming

(Chemistry & Analysis Research Center, Faculty of Chemical, Environment and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of protein content in food based on elemental analysis. **Methods** Protein contents of 16 kinds of powder food were determined by both elemental analysis and Kjeldahl's method. Results based on two different methods were compared. **Results** The elemental analysis method could determine the protein content correctly, with good repeatability and accuracy, achieving comparable results to Kjeldahl's method. The elemental analysis method showed more advantages such as little need of sample amount, simple experimental operation, high detecting efficiency and automaticity. **Conclusion** The elemental analysis method can be used to replace Kjeldahl's method for the determination of protein content in powder food.

KEY WORDS: elemental analysis; powder food; protein content

蛋白质含量是乳粉等粉状食品的最重要营养指标之一。由于蛋白质是非常复杂的有机化合物, 目前尚无直接测定方法, 其检测多采用凯氏定氮法^[1,2], 其基本原理是: 在催化剂作用下, 用硫酸破坏有机物,

使含氮物转化成硫酸铵。加入强碱进行蒸馏使氨逸出, 用硼酸吸收后, 再用酸滴定, 测出氮含量, 将结果乘以换算系数 6.25, 计算出粗蛋白含量。另外, 也有研究人员用紫外分光光度法、考马斯亮蓝法、双缩脲法、

*通讯作者: 钟虹敏, 工程师, 主要研究方向为元素分析测试。 E-mail: zhmin0303@yahoo.com.cn

*Corresponding author: ZHONG Hong-Min, Engineer, Chemistry & Analysis Research Center, Faculty of Chemical, Environment and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, No.2 Linggong Road, Ganjingzi District, Dalian 116024, China. E-mail: zhmin0303@yahoo.com.cn

Folin-酚法、等电点沉淀法等^[3-6]来进行乳粉中蛋白质含量的测定。在这些测定方法中,就方法的准确性和精密度以及应用程度而言,国际经典测定方法——凯氏定氮法为首选,该法也是相关专业人员必须掌握的经典测试方法之一。但是凯氏定氮法检测步骤繁琐、样品前处理时间较长、对溶剂消耗量较大而且会产生大量的环境污染物。虽然目前已有半自动或全自动凯氏定氮仪问世^[7,8],但是这种自动化设备价格比较昂贵,普及性不好,且溶剂消耗量大,易造成环境污染。

有机元素分析法是鉴定有机物中存在元素和测定其含量的分析方法,主要用于测定C、H、N、S、O等元素的含量。元素分析法可直接测出样品中N元素的含量,这与凯氏定氮法可直接测定氮元素含量的目标相同。因此,有机元素分析法可用于乳粉中蛋白质含量的测定。本文采用元素分析法对多种粉状样品中的蛋白质含量进行测定,并与凯氏定氮法进行比较,为蛋白质含量测定提供一种新的参考方法。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

粉状食品(采购市面上16种含乳粉类食品,见表1);氮气、氧气(纯度均为99.999%);元素分析标准物质:乙酰苯胺(N: 10.36%, C: 71.09%, H: 6.71%)。

凯氏定氮法测试使用试剂均为分析纯试剂,包括95%乙醇、浓硫酸、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 K_2SO_4 、 H_3BO_3 、NaOH、甲基红指示剂、溴甲酚绿指示剂、亚甲基蓝指示剂等。以上试剂按照参考文献[2]方法配制相应浓度的溶液供测试使用。

1.2 仪器设备

元素分析仪(VarioEL III型,德国Elementar公司);天平(UMX5型,瑞士Mettler-Toledo公司);凯氏定氮装置^[2]。

1.3 测试方法

1.3.1 元素分析测试方法

该法是将样品在高温下,在燃烧管中与高纯氧气接触燃烧,使被测N元素的化合物转化为 NO_x ,然后经自然铜的还原和杂质(如卤素)去除过程, NO_x 被转化为 N_2 ,最后经热导检测器进行检测,仪器自动分析,计算,给出待测样品中N元素的质量百分含量。再根据测得的样品含氮量百分数,乘以换算系数6.25,就可得到样品的粗蛋白含量。

测试步骤:(1)仪器开机,检漏,升温至设定温度(炉1:950℃,炉2:500℃);(2)先空白实验,次数以C、N峰面积小于100,H峰面积小于1000为准,再用标准物乙酰苯胺做三次条件化测试,然后用标准物乙酰苯胺测得日校正因子,重复三次,取平均值;(3)用微量电子天平精确称取样品2mg左右,用锡纸包好压实分批次送入元素分析仪的自动进样器中,每个样品做2~3次(结果取平均值),仪器自动监测,分析,计算,打印出测定结果。每25个数据重做三次标准物,重测日校正因子;(4)降温,关软件,关气,关主机。

1.3.2 凯氏定氮测定方法

精确称取待测样品1.0g(精确至0.001g),转移到100mL定氮瓶中,依次加入0.2g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、6g K_2SO_4 及20mL浓硫酸,轻微振荡后,在瓶口放一小漏斗,定氮瓶以45°角斜置于石棉网上,缓慢加热至样品混合物全部炭化,然后快速加热,至液体呈蓝绿色并澄清透明后,再继续加热1h。冷却至室温,加入20mL水,移入100mL容量瓶中,并用水洗涤定氮瓶2次,洗液并入容量瓶中,加水定容至刻度。

根据参考文献[2]提供的方法,安装好定氮蒸馏装置,在水蒸气发生器内装水至2/3处,并往水中加5mL浓硫酸及数滴甲基红乙醇溶液以保持体系呈酸性,同时加入沸石以防止爆沸,加热煮沸水蒸气发生器内的水并保持沸腾。

在接收瓶内装入10.0mL H_3BO_3 溶液及2滴混合指示液,保持冷凝管的下端在液面之下,根据待测样品中蛋白大致含量,准确吸取2.0~10.0mL样品处理溶液注入反应室,然后缓慢加入10.0mL NaOH溶液(400g/L)于反应室,立即盖紧玻璃塞,并加水于小玻璃杯以防止漏气。夹紧螺旋夹,开始蒸馏。蒸馏10min后移动馏分接收瓶,液面离开冷凝管下端后再蒸馏1min。最后用少量水洗涤冷凝管下端外部,取走馏分接收瓶。以硫酸标准滴定溶液滴定收集到的馏分至终点(混合指示剂颜色由紫红色变成灰色为滴定终点,pH 5.4)。同时进行试剂空白实验。

2 结果与讨论

2.1 元素分析法的原理

元素分析法的原理属于燃烧法,即样品在高温下的氧气环境中经催化氧化使其燃烧分解,燃烧生成气体中的非检测气体被去除(如挥发性的卤素气

体), 根据模式的不同, 被检测的不同组分气体通过特殊吸附柱吸附解吸分离, 再经过热导检测器对相应的气体进行检测, 然后, 再传入与元素分析仪相连的计算机上, 根据内存中标准物质的校正曲线, 自动计算转化为待测样品中不同元素的质量百分含量。对于蛋白质含量测定, 则是根据测得的样品中含氮量百分数, 乘以换算系数 6.25, 即可得到相应的粗蛋白含量。

2.2 测定结果

采用元素分析法对 16 种粉状食品中的蛋白质含量进行测定。该方法无需样品前处理, 测定操作简单, 样品用量小, 只需直接称取约 2 mg 样品即可直接上机测试, 完成蛋白质含量的测定。相对于凯氏定氮法, 元素分析法不需要长时间的催化蒸馏, 测定效率高且环境友好。测定结果见表 1 所示。从表中数据可以看出, 测定值与产品标识含量吻合, 符合蛋白质测定要求。因此, 从测定结果的准确性方面来看, 元素分析法十分适合用于食品中蛋白值含量测定。

2.3 方法重复性实验

被测样品均重复测定三次, 三次平行数据的相对标准偏差(RSD)均小于 2.25%(表 1), 结果表明元素分析法测定 N 含量具有很好的重复性。

2.4 与凯氏定氮法比较

为了进一步验证元素分析方法的准确性和可行性, 采用凯氏定氮法对以上 16 种食品的蛋白含量进行测定。测定结果见表 2。元素分析法和凯氏定氮法的结果比较显示, 两种方法均能准确测定乳粉中蛋白质含量, 测量值相对误差的绝对值大都小于 5%。对于蛋白质含量很低的样品(如 10 号样品), 元素分析法与凯氏定氮法测定结果均与标识含量相差很大, 这是由于在样品本身蛋白质含量很低时, 测定方法的偏差较大, 已达不到测定要求。对于某些样品(如 1, 2, 3, 8, 9 号等), 凯氏定氮法测定结果更接近标识含量; 而对于另外一些样品(如 4, 6, 7, 12, 13 号等), 元素分析法测得值更接近标识含量。由此可见, 元素分析法与凯氏定氮法结果类似, 可达到蛋白质含量测定的要求。

3 结论

使用元素分析法对各类粉状食品的蛋白质含量进行测定, 表现出很好的准确性和测定精确度, 三次平行数据的相对标准偏差(RSD)都小于 2.25%。元素分析能快速准确地测定食品中氮元素含量, 具有测定速度快、精密度好、方法重复性好、样品需求量少、

表 1 元素分析法测定多种粉状食品中蛋白质含量($n=3$)

Table 1 Determination of protein contents in different powder food samples by elemental analysis method ($n=3$)

样品编号	样品名	标识含量(g/100 g)	元素分析测得 N 含量(%)	RSD/%	元素分析法测得蛋白质含量(g/100g) ^a
1	伊利学生营养奶粉	18	2.718 ± 0.017	0.64	16.99
2	完达山较大婴儿配方奶粉	16	2.426 ± 0.027	1.09	15.16
3	雀巢全脂甜奶粉	19.6	3.011 ± 0.025	0.82	18.82
4	雀巢高蛋白配方奶米粉	15	2.431 ± 0.034	1.39	15.19
5	亨氏婴儿营养米粉	5.38	1.048 ± 0.011	1.03	6.55
6	亨氏牛肉番茄营养米粉	13	2.110 ± 0.008	0.39	13.19
7	西麦黑芝麻核桃粉	6.7	1.063 ± 0.024	2.24	6.64
8	金惟他核桃粉	6	1.017 ± 0.012	1.19	6.36
9	桂格即食燕麦片	12	1.964 ± 0.044	2.25	12.28
10	力乐多纯正藕粉	0.2	0 ± 0	0	0
11	维维他型豆奶粉	16.8	2.598 ± 0.025	0.98	16.24
12	黑牛高钙豆奶粉	15	2.328 ± 0.026	1.13	14.55
13	万基蛋白质粉	84.2	12.84 ± 0.057	0.44	80.25
14	纽崔莱蛋白质粉	80	12.89 ± 0.074	0.57	80.56
15	汤臣倍健蛋白质粉	80	12.56 ± 0.097	0.77	78.5
16	汤臣倍健蛋白质粉(儿童型)	66.6	11.13 ± 0.064	0.57	69.56

注: ^a 蛋白质含量为 N 含量×6.25 计算得到

表2 元素分析法与凯氏定氮法测定蛋白质含量的比较

Table 2 Comparison of elemental analysis and Kjeldahl method for the determination of protein contents

样品编号	样品名	标识含量(g/100 g)	元素分析法测得	元素分析法测得	凯氏定氮法测得	凯氏定氮法测得
			蛋白质含量 (g/100g)	值与标识值相对 误差(%)	蛋白质含量 (g/100g)	值与标识值相对 误差(%)
1	伊利学生营养奶粉	18.0	16.99	-5.61	18.48	2.67
2	完达山较大婴儿配方奶粉	16.0	15.16	-5.25	16.73	4.56
3	雀巢全脂甜奶粉	19.6	18.82	-3.98	19.82	1.12
4	雀巢高蛋白配方奶米粉	15.0	15.19	1.27	15.77	5.13
5	亨氏婴儿营养米粉	5.38	6.55	22.63 ^a	8.06	49.81 ^a
6	亨氏牛肉番茄营养米粉	13.0	13.19	1.46	13.86	6.62
7	西麦黑芝麻核桃粉	6.7	6.64	-0.90	8.92	33.13
8	金惟他核桃粉	6.0	6.36	6.00	6.15	2.50
9	桂格即食燕麦片	12.0	12.28	2.33	12.11	0.92
10	力乐多纯正藕粉	0.2	0.00	-100.00	1.18	490.00
11	维维他型豆奶粉	16.8	16.24	-3.33	17.06	1.55
12	黑牛高钙豆奶粉	15.0	14.55	-3.00	15.93	6.20
13	万基蛋白质粉	84.2	80.25	-4.69	78.94	-6.25
14	纽崔莱蛋白质粉	80.0	80.56	0.70	81.26	1.58
15	汤臣倍健蛋白质粉	80.0	78.50	-1.88	78.84	-1.45
16	汤臣倍健蛋白质粉(儿童型)	66.6	69.56	4.44	70.04	5.17

注：^a 按照标识值为 5.38 g/100 g 计算

无需样品前处理等优点。同时本方法不需要使用具有腐蚀性的分析试剂和溶液，不存在对环境的污染。元素分析法可作为凯氏定氮法的替代和补充方法，应用于乳粉等食品中蛋白质的测定。

参考文献

- [1] 周晓琳, 田国宾. 乳粉中蛋白质含量测定条件的探讨[J]. 化学分析计量, 2005, 14(2): 52-53.
Zhou XL, Tian GB. Discussion on the determination conditions of protein in milk powder [J]. Chem Anal Meter, 2005, 14(2): 52-53.
- [2] GB 5009.5-2010 食品中蛋白质的测定[S].
GB 5009.5-2010 Determination of protein in foods [S].
- [3] 张爱武. 食品中蛋白质测定方法的研究进展[J]. 农产品加工(学刊), 2008, 1: 80-82.
Zhang AW. Advance of research on determination of protein in food [J]. Acad Period Farm Prod Process, 2008, 1: 80-82.
- [4] 李宁. 几种蛋白质测定方法的比较[J]. 山西农业大学学报, 2006, 26(2): 132-134.
Li N. The comparison on various methods for determining different proteins [J]. J Shanxi Agric Univ, 2006, 26(2): 132-134.
- [5] 于凤鸣. 蛋粉中蛋白质含量测定方法的比较[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1998, 12(4): 23-25.

- Yu FM. Comparison of methods in determination protein contents of egg powder [J]. J Hebei Agrotech Teach Coll, 1998, 12(4): 23-25.
- [6] 姬玉梅. 三种小麦蛋白质测定方法的比较[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(12): 2533-2535.
Ji YM. Comparison of 3 determining methods towards protein in wheat [J]. Hubei Agric Sci, 2011, 50(12): 2533-2535.
- [7] 王丹红, 周黎榕, 傅弘毅, 等. 采用模块式消化、全自动凯氏定氮仪测定食品中蛋白质[J]. 福建分析测试, 2004, 13(2): 1949-1951.
Wang DH, Zhou LR, Fu HY, et al. Determination of protein in foodstuffs by using block digestion and kjeltec auto analyzer [J]. Fujian Anal Test, 2004, 13(2): 1949-1951.
- [8] 黄晓荣, 曹承富, 杜世州, 等. 全自动定氮仪测定小麦籽粒蛋白质[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(19): 8823-8824.
Huang XR, Cao CF, Du SZ, et al. Determination of protein in wheat grains by fully automatic azotometer [J]. J Anhui Agric Sci, 2009, 37(19): 8823-8824.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



钟虹敏, 工程师, 主要研究方向为元素分析测试。

E-mail: zhmin0303@yahoo.com.cn