

凯氏定氮法测定肉与肉制品中的挥发性盐基氮

1 前言

挥发性盐基氮指动物性食品由于酶和细菌的作用，在腐败过程中，使蛋白质分解而产生氨以及胺类等碱性含氮物质。此类物质具有挥发性，其含量越高，表明氨基酸被破坏的越多，特别是蛋氨酸和酪氨酸，因此营养价值大受影响。本实验参照《GB 5009.228-2016 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》及《GB/T 32141-2015 饲料中挥发性盐基氮的测定》，结合全自动凯氏定氮仪的特点给出了具体的测试方案。

2 仪器与试剂

2.1 仪器

K1160 全自动凯氏定氮仪，粉碎机。

2.2 试剂

氧化镁（分析纯，需在马弗炉 550℃，烘 2h），20g/L 硼酸溶液，溴甲酚绿-甲基红混合指示剂，40%氢氧化钠，0.01mol/L 硫酸标准滴定液。

3 实验方法

3.1 样品制备

3.1.1 食品样品

鲜(冻)肉去除皮、脂肪、骨、筋腱，取瘦肉部分，鲜(冻)海产品和水产品去除外壳、皮、头部、内脏、骨刺，取可食部分，绞碎搅匀。制成品直接绞碎搅匀。肉糜、肉粉、肉松、鱼

粉、鱼松、液体样品可直接使用。皮蛋(松花蛋)、咸蛋等腌制蛋去蛋壳、去蛋膜，按蛋：水=2：1的比例加入水，用搅拌机绞碎搅匀成匀浆。鲜(冻)样品称取试样 20g，肉粉、肉松、鱼粉、鱼松等干制品称取试样 10g，精确至 0.001g，液体样品吸取 10.0mL 或 25.0mL，置于具塞锥形瓶中，准确加入 100.0mL 水，不时振摇，试样在样液中分散均匀，浸渍 30min 后过滤。皮蛋、咸蛋样品称取蛋匀浆 15g(计算含量时,蛋匀浆的质量乘以 2/3 即为试样质量)，精确至 0.001g，置于具塞锥形瓶中，准确加入 100.0 mL 三氯乙酸溶液，用力充分振摇 1min，静置 15min 待蛋白质沉淀后过滤。滤液应及时使用，不能及时使用的滤液置冰箱内 0℃~4℃冷藏备用。对于蛋白质胶质多、粘性大、不容易过滤的特殊样品，可使用三氯乙酸溶液替代水进行实验。

3.1.2 饲料样品

按照 GB/T 14699.1 抽取有代表性的饲料样品，用四分法缩减取样。按照 GB/T 20195 制备试样，粉碎，全部通过 0.42mm 试验筛，混匀，装入密闭容器中备用。

称取试样约 5g (精确至 0.1mg) 于锥形瓶中，加入高氯酸溶液 (0.6mol/L) 40mL，振摇 30min，将试样及试样浸提液完全转移至 50mL 容量瓶，并用高氯酸溶液 (0.6mol/L) 定容，摇匀；取约 30mL 试样浸提液于 50mL 离心管中，离心 (3500r/min)，取上清液于 2℃-6℃条件下贮存，可保存 24h。

3.2 测试

准确移取 10mL 滤液或上清液加入消化管内，加入 1.0g 氧化镁，进行蒸馏测试，定氮仪参数设置如表。

表 1 定氮仪参数设置

| | | | |
|------|------|-------|-------------|
| 蒸馏时间 | 7min | 稀释水 | 0mL |
| 蒸汽流量 | 80% | 碱 | 0mL |
| 硼酸 | 25mL | 滴定酸浓度 | 0.0101mol/L |

4 结果与讨论

4.1 实验结果

表 2 肉类盐基氮测试结果

| 样品名称 | 取样量 g | 盐基氮 X mg/100g | 平均值 mg/100g | RSD % |
|------|----------|------------------|----------------|----------|
| 猪肉 | 20.041 | 11.41 | 11.41 | 0.395 |
| | | 11.45 | | |
| | | 11.36 | | |

4.2 计算公式

$$X = \frac{14.01 \times C \times (V_1 - V_0)}{m \times V/V} \times 100$$

式中： X—试样中挥发性盐基氮的含量,单位为毫克每百克(mg/100g);

V_1 —测定用样液消耗硫酸标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_0 —空白消耗硫酸标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V' —试样提取液分取体积的体积,单位为毫升(mL);

V —试样提取液定容体积的体积,单位为毫升(mL);

C —硫酸标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

14.01—与 1.0mL 硫酸[$c_{(H^+)}=1.000\text{mol/L}$]标准滴定溶液相当的氮的质量,单位为克每摩尔(g/mol);

m —试样质量,单位为克(g)或试样体积,单位为(mL);

100—计算结果换算为毫克每百克(mg/100g)的换算系数.

4.3 结论

测定值符合国标《GB/T9959.2-2008 分割鲜、冻猪瘦肉》中挥发性盐基氮值 $\leq 15\text{mg}/100\text{g}$ 的理化指标, RSD 小于 0.5%, 且符合《GB/T 5009.228-2016 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》中要求的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%的要求。

参考文献

[1]GB/T 5009.228-2016 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定[S].

[2]GB/T9959.2-2008 分割鲜、冻猪瘦肉[S].

[3]GB/T 32141-2015 饲料中挥发性盐基氮的测定[S].

[4]GB/T 14699.1-2005 饲料 采样[S].

[5]GB/T 20195-2006 动物饲料 试样的制备[S].

注意事项

- 1) 禁止测试未过滤的样品，否则会导致肉的碎屑残留在仪器内部，难以清洗，对仪器造成损坏。
- 2) 测试完毕后，应在消化管内加入 100mL 左右蒸馏水放置在仪器上进行空蒸以对仪器进行清洗。
- 3) 本实验蒸汽流量采用 80%，应在样品测试之前将蒸汽流量调整为 80%。