

脱脂乳粉与乳清粉等乳制品中蛋白质含量的测定-杜马斯定氮仪与凯氏定氮仪数据对比

一、前言

蛋白质含量是评价乳制品品质特征与营养构成的核心指标之一，准确可靠的测定方法对于乳品行业的质量控制与产品研发具有重要意义。目前，应用于蛋白质测定的主流技术主要包括凯氏定氮法与杜马斯燃烧法两类。

凯氏定氮法作为经典的湿化学分析方法，经过长期实践验证，其测定结果稳定可靠，广泛适用于各类乳制品基质的蛋白质检测，是行业内普遍采用的传统检测手段。杜马斯燃烧法作为一种现代的元素分析法，其原理是在高温富氧条件下将样品完全燃烧，释放出的氮氧化物经还原后转化为氮气（ N_2 ），通过检测氮气流直接计算总氮含量。该方法优势在于其无需复杂的化学预处理，具有快速、环保（不使用有害化学试剂）、自动化程度高等特点。

本方案参考《GB 5009.5-2025 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》标准，对脱脂乳粉、脱盐乳清粉等样品进行蛋白质含量测定，通过平行比对杜马斯定氮仪与凯氏定氮仪的测定数据，客观呈现两种方法在实际样品测试中的结果一致性。本方案旨在为乳品企业及相关检测机构提供全面的技术参考，便于用户根据自身的实验室条件、样品批量、检测需求等因素，灵活选择适合的蛋白质测定解决方案。

二、仪器与试剂

2.1 仪器

K1160 全自动凯氏定氮仪、SH420F 石墨消解仪、D200 杜马斯定氮仪和分析天平等。

2.2 试剂

甲基红、溴甲酚绿、硼酸、氢氧化钠、无水硫酸钾、五水合硫酸铜、浓硫酸、天冬氨酸。

2.3 样品

脱脂乳粉、脱盐乳清粉、浓缩乳清蛋白粉和乳清蛋白粉。

三、实验方案

3.1 凯氏定氮法

3.1.1 试剂配制

(1) 甲基红溶液 (1g/L): 称取 100mg 甲基红溶于 95%乙醇, 用 95%乙醇稀释至 100mL。

(2) 溴甲酚绿溶液 (1g/L): 称取 100mg 溴甲酚绿溶于 95%乙醇, 用 95%乙醇稀释至 100mL。

(3) 甲基红-溴甲酚绿溶液: 将甲基红试液与溴甲酚绿试液按照体积比为 1:5 进行混合。

(4) 硼酸溶液 (20g/L): 称取 100g 硼酸, 加水溶解后并稀释至 5L。按照 100:1 的比例向 5L 硼酸溶液中加入 50mL 甲基红-溴甲酚绿试液并搅拌均匀。

(5) 氢氧化钠溶液 (400g/L): 称取 2000g 氢氧化钠加水溶解后, 冷却, 并稀释至 5L。

3.1.2 样品称量

用无氮称量纸准确称取 0.1-0.3g (精确至 0.01mg) 左右的样品于洁净的消化管中, 称量纸也一并放入消化管中, 对应空白消化管中也需加入一张称量纸。

3.1.3 消解

向样品空白及样品消化管中加入 1 个催化剂片 (五水硫酸铜: 硫酸钾为 1:15) 和 10mL 浓硫酸后上机消解, 消解程序如表一:

表一 SH420F 石墨消解仪消解程序设置

阶段	温度梯度/°C	保温时间/min
1	420	90

3.1.4 蒸馏与滴定

待消解程序完成, 消化管冷却并无酸雾后, 上凯氏定氮仪检测, 定氮仪参数设置如表二:

表二 K1160 全自动凯氏定氮仪试验参数设置

滴定液/ (H ⁺) mol/L	硼酸/mL	氢氧化钠/mL	稀释水/mL	蒸馏时间/min	蛋白转换系数
0.1070	30	40	40	5	6.38

3.2 杜马斯燃烧法 (D200 杜马斯定氮仪)

3.2.1 样品称量

称取 100-250mg 的样品，精确至 0.01mg，将样品包裹在锡箔纸中，并将锡箔纸团成紧密的样品球，放入样品盒中备用。

3.2.2 上机测试

将样品置于样品盘中，设置好仪器参数，开始测试。测试方法参数设置如表三。

表三 D200 杜马斯定氮仪方法参数设置

方法名称	50mg 天冬氨酸	100mg 天冬氨酸	200mg 天冬氨酸	250mg 天冬氨酸
通氧时间	70s	80s	90s	90s
氧气流量	130mL/min	150mL/min	180mL/min	195mL/min
断氧阈值	0%	0%	0%	0%
自动归零	150s	140s	130s	130s
峰值预期	130s	130s	130s	130s
积分重启	0s	0s	0s	0s

注：测试前需使用天冬氨酸标准品进行日常系数校准，建议称取与样品上机总氮量基本一致的天冬氨酸进行日常系数校准。另外，建议依据样品的实际称样量，选择对应称样量的天冬氨酸标准方法进行测试即可。

四、测试结果

4.1 样品中的氮及蛋白质含量-D200 杜马斯定氮仪测试结果如表四所示：

表四 K1160 全自动凯氏定氮仪测定样品中的氮及蛋白质含量

样品名称	取样量/g	滴定体积/mL	氮含量/%	蛋白质含量/%	平均值/%	精密度/%
脱盐乳清粉	0.2999	3.9732	1.9544	12.469	12.482	0.20
	0.3003	3.9865	1.9584	12.495		
	0.3006	3.9873	1.9566	12.483		
乳清粉	0.3055	3.9583	1.9115	12.195	12.214	0.40
	0.3009	3.9152	1.9192	12.244		
	0.3000	3.8903	1.9125	12.202		
脱脂乳粉	0.2019	6.7970	4.9981	31.888	31.765	0.83
	0.2012	6.7506	4.9814	31.781		
	0.2012	6.7174	4.9570	31.626		
浓缩乳清蛋白	0.1017	7.6205	11.1388	71.066	71.476	1.03
	0.1007	7.6246	11.2544	71.803		
	0.1012	7.6387	11.2163	71.560		

4.2 样品中的氮及蛋白质含量-K1160 全自动凯氏定氮仪测试结果如表五所示：

表五 D200 杜马斯定氮仪测定样品中的氮及蛋白质含量

样品名称	取样量/mg	氮含量/%	蛋白质含量/%	平均值/%	精密度/%
脱盐乳清粉	250.200	2.019	12.881	12.756	1.50
	250.160	1.989	12.690		
	250.290	1.990	12.696		
乳清粉	249.940	1.974	12.594	12.590	1.72
	250.180	1.956	12.479		
	250.000	1.990	12.696		
脱脂乳粉	200.280	5.097	32.519	32.470	0.24
	200.020	5.085	32.442		
	199.960	5.086	32.449		
浓缩乳清蛋白	100.030	11.356	72.451	72.373	0.22
	100.180	11.331	72.292		
	100.070	11.344	72.375		

4.3 杜马斯定氮仪与凯氏定氮仪测试结果数据对比如表六所示：

表六 凯氏定氮仪与杜马斯定氮仪测试结果对比

样品名称	杜马斯定氮仪-蛋白质含量/%	凯氏定氮仪-蛋白质含量/%
脱盐乳清粉	12.756	12.482
乳清粉	12.590	12.214
脱脂乳粉	32.470	31.765
浓缩乳清蛋白	72.373	71.476

五、结论

实验结果表明，两种仪器的测定结果呈现良好的一致性。从技术特点来看，凯氏定氮法作为经典的蛋白质测定方法，经过长期实践验证，具有广泛的适用性和良好的稳定性；杜马斯定氮法具有无需化学前处理、环保、可大批量连续测试等优势。测试者可结合测试需求灵活选择相关方法。

综上所述，杜马斯定氮仪与凯氏定氮仪均可准确、可靠地应用于脱脂乳粉、乳清粉等乳制品中蛋白质含量的测定。实验室或企业用户可根据自身的样品批量、检测效率需求、人员配置及实验室条件等因素，灵活选择适宜的蛋白质测定解决方案。

六、参考标准

[1] 《GB 5009.5-2025 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》