

凯氏定氮法检测脱脂奶粉中蛋白质的含量

胡思刚, 刘革伟, 赵文庆

(河南省沃尔玛饮料有限公司, 河南济源 454650)

摘要: 脱脂奶粉与浓硫酸、硫酸铜、硫酸钾一同加热硝化, 反应生成 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 其在碱性条件下蒸馏, 释放出 NH_3 , 用硼酸吸收后, 再以盐酸标准溶液滴定, 计算出蛋白质含量。

关键词: 凯氏定氮法; 蛋白质; 消化; 蒸馏

中图分类号: TS201.3

文献标识码: B

0 前言

测定脱脂奶粉中蛋白质的含量, 对掌握其营养价值和品质的变化, 保障人体健康, 合理配料, 为乳制品深加工提供数据十分重要, 此外, 蛋白质分解产物对乳制品的色、香、味都有一定作用^[1], 所以测定具有深远意义。

1 试剂和仪器

1.1 试剂

浓硫酸、硫酸铜、硫酸钾、2% 硼酸溶液、40% 氢氧化钠溶液、甲基红-溴甲酚绿混合指示剂 (5 份 0.1% 溴甲酚绿乙醇溶液与 1 份 0.1% 甲基红乙醇溶液混合均匀)、盐酸标准溶液。

试剂配制用水为无氨蒸馏水。

1.2 仪器

分析天平、凯氏烧瓶、锥形瓶、凯氏定氮蒸馏器、容量瓶、电子万用炉。

2 试验方法

2.1 硝化

称取 1g 新西兰脱脂奶粉样品, 称准至 0.0001g, 置 500ml 凯氏烧瓶中, 加入 6.0g 硫酸钾、0.2g 硫酸铜, 小心移入浓硫酸 20ml, 轻轻摇匀, 在瓶口放入一小玻璃漏斗, 并将其以 45 度角斜支于带有小孔的石棉网上方, 开启电炉小火加热, 待内容物全部炭化, 泡沫停止产生后, 将瓶放在电炉

上, 稍加大火力, 保持瓶内液体微沸, 至液体变蓝色透明后, 继续加热 30min^[2], 冷却, 缓慢加入 20ml 蒸馏水, 再放冷至 20℃, 移入 100ml 容量瓶并定容至刻度。

2.2 连接蒸馏装置

于 1000ml 锥形瓶中加入 900ml 水, 沿内壁加入 3~4ml 浓硫酸, 8~10 粒沸石, 滴加 3 滴 0.1% 甲基红指示液, 使水呈红色, 配备的安全管长 1.6m, 直径 12mm, 嵌入橡皮塞, 塞紧瓶口, 蒸汽玻璃导管通过橡皮管与凯氏定氮蒸馏器连接, 冷凝管下端插入 100ml 接收瓶液面以下 (100ml 接收瓶预先装入 10ml 2% 硼酸吸收液及混合指示剂 2~3 滴), 检查各连接处密封状况, 防止漏气。

2.3 蒸馏

准确移取 10ml 样品硝化液, 从凯氏定氮蒸馏器进样口加入反应室, 取 10ml 水洗涤进样口入内, 用玻璃塞塞紧进样口, 向进样室内移入 10ml 40% 氢氧化钠溶液^[3], 加入 900ml 蒸馏水至微沸, 缓缓旋开玻璃塞, 使碱液流入反应室, 立即关闭玻璃塞, 并加水密封, 待反应室内硝化液完全沸腾, 注意控制火力大小, 从硼酸吸收液开始变蓝计时, 蒸馏 5min, 移动接收瓶, 使冷凝管下端离开液面, 再蒸馏 1min, 然后用少量水冲洗其下端外部至净^[4], 洗液入接收瓶, 用 1.1018mol/L 盐酸溶液滴至灰红色, 同时作一试剂空白试验。

2.4 计算公式

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 0.01}{M \times \frac{10}{100}} \times F \times 100$$

[收稿日期] 2005-08-05

[作者简介] 胡思刚 (1973-) 男, 助理工程师。

X —样品中蛋白质含量 (%)

V_1 —样品液消耗标准盐酸液体积 (ml)

V_2 —试剂空白消耗标准盐酸液体积 (ml)

C —盐酸标准液浓度 (mol/L)

0.014—1mol/L 盐的标准液 1ml 相当于氮的克数

M —样品的质量

F —氮换算系数 (6.38)

2.5 结果 (见表 1)

表 1 样品重复 4 次检测结果

次序	X	$M(g)$	$V_1(ml)$	$V_2(ml)$
(1)	34.38	2.0322	0.73	0.02
(2)	34.38	2.3472	0.84	
(3)	34.44	2.2286	0.80	
(4)	34.43	2.0579	0.74	

3 方法与讨论

3.1 硝化时应和缓加热, 主要有三个方面原因: 一是避免粘附在凯氏烧瓶内壁上的含氮化合物在无硫酸存在的情况下未硝化完全而造成氮的损失; 二是样品中脂肪、糖较多, 硝化过程中易产生大量泡沫上浮外溢; 三是便于充分利用冷凝酸液将附在瓶内壁上的固体残渣洗下并促进其硝化。

3.2 加入的硫酸钾与硫酸反应生成硫酸氢钾可提高硝化液温度, 一般纯硫酸沸点在 340℃左右, 而添加硫酸钾可使温度升高到 400℃以上, 但硫酸钾加入量不宜太大, 否则硝化温度过高, 引起已生成的铵盐发生热分解放出氨而造成损失^[4], 加入的硫酸铜除起催化剂作用外, 还可指示硝化终点到达以及蒸馏时作为碱性反应指示剂 (例如加碱量不足或浓度不够则硝化液只呈蓝色而无 $Cu(OH)_2$ 沉淀出现)。

3.3 蒸馏过程中电炉热力保持和缓, 热力过大, 反应室内样液沸腾剧烈在没有反应完全情况下溅入接收瓶, 使结果偏低; 热力不足, 外界大气压力大于反应室内层及外层的压力, 样品液被压出至反应室外层, 同样使结果偏低, 最终蒸馏是否完全, 可用精密 pH 试纸测试冷凝管口冷凝液确定, 如呈中性, 蒸馏结束。

3.4 冷凝水流速保持稳定有力, 否则吸收液温度

2005 中国著名品牌 200 强食品饮料类名单

由爱国华人商会世界著名企业联盟、美中经贸投资总商会、全球华人品牌推选科学研究院、全球华人名牌网等机构联合推选的 2005 年度中国著名品牌 200 强 2005 年 10 月 31 日在北京人民大会堂揭晓。

入选的中国著名品牌是从港、澳、台、大陆四地一千多个知名品牌中按照国际品牌评价体系推选出来的。

入选 2005 年度中国著名品牌 200 的企业, 应邀出席 11 月 28 日至 30 日在澳门举行的 2005 世界著名品牌大会暨第二届全球华人竞争力品牌大会。

双汇、雨润、康师傅、李锦记四家食品类企业以及娃哈哈、椰树、银鹭、汇源四家饮料类企业光荣上榜!

(摘自 2005-11-1 中国食品科技网)

过高 ($\geq 40^\circ\text{C}$), 影响硼酸吸收氨的效果, 给结果带来不必要的误差。

参考文献

- [1] 刘兴友. 食品理化检验学[M]. 北京: 北京农业大学出版社.
- [2] 黄来发. 蛋白饮料加工工艺与配方[M]. 北京: 中国轻工业出版社.
- [3] 吴谋成. 食品分析与感官评定[M]. 北京: 中国农业出版社.
- [4] 大连轻工业学院等八大院校. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社.

Determination of proteins in defatted milk powder by Micro-Kjeldahl

HU Si-gang, LIU Ge-wei, ZHAO Wen-qing

(Henan Walmart Beverage Co., Ltd., Jiyuan 454650, Henan, China)

Abstract: Defatted milk powder was heated and nitrified together with thick sulfuric acid, copper sulfate and potassium sulfate to give $(NH_4)_2SO_4$, which was distilled under the alkaline condition to release HN_3 , which was in turn absorbed with boric acid and then titrated with hydrochloric acid standard solution to give the contents of proteins through calculation.

Key words: Micro-Kjeldahl; protein; digestion; distillation