

D200 杜马斯定氮仪测定雪糕(低蛋白)中蛋白质含量

一、前言

新版国标《GB 5009.5-2025 食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》将燃烧法（第三法）适用范围扩展：明确适用于"蛋白质含量 $<10\%$ 的食品"，彻底覆盖雪糕、冰淇淋等冷冻饮品。说明使用杜马斯燃烧法测定雪糕、冰淇淋等低蛋白含量样品中的蛋白质含量与凯氏定氮法一样符合国标要求。

与凯氏定氮法相比，杜马斯燃烧法无需化学试剂，安全环保；无需复杂前处理；可大批量连续自动做样，无人值守；并且大批量测试效率高。这些特点使得杜马斯定氮法相比于凯氏定氮法更适用于生产企业测定雪糕中的蛋白质含量。

然而使用杜马斯燃烧法检测雪糕中的蛋白质含量面临独特挑战：

- 1、低蛋白基质：蛋白质含量普遍 $<3\%$ （远低于牛奶和奶粉），要求高精度检测；
- 2、样品均一性难题：脂肪上浮与冰晶析出导致固液分离，取样时需保证充分样品混匀来保障取样代表性。

因此本方案旨在使用 D200 杜马斯定氮仪开发适用于雪糕样品中蛋白质含量的测定方案，并比与凯氏定氮法的结果进行比对，以展现杜马斯定氮法测定雪糕中蛋白质含量的准确性和精密度。

二、仪器与试剂

2.1 仪器

仪器：D200 杜马斯定氮仪、K1160 全自动凯氏定氮仪、SH520 自动消解仪、十万分之一分析天平；

2.2 试剂

试剂：氧气（纯度 > 99.999 %）、二氧化碳气（纯度 > 99.999 %）、线状氧化铜、线状铜、铂催化剂、刚玉球、再生剂、银丝、L-天冬氨酸标准品（纯度 > 99 %）、混合催化剂（4g，五水硫酸铜：硫酸钾=1:9）、浓硫酸；

2.3 样品

样品：雪糕样品。

三、凯氏定氮法及杜马斯定氮法测试方案

3.1 样品前处理

将雪糕样品置于常温下解冻，对于含有提子、威化筒、巧克力等配料的雪糕而言，需将雪糕样品置于破壁机中充分搅拌混匀后待测。

3.2 凯氏定氮法

3.2.1 称样

使用 1mL 注射器吸取均匀的雪糕样品，用减重法移取雪糕样品 1g（精确至 0.1mg）左右，并转移至洁净的消化管中。

3.2.2 样品消解

向消化管中加入一片混合催化剂（4g，五水硫酸铜：硫酸钾=1:9）和 10mL 浓硫酸，设置消解程序（SH520 自动消解仪）如表一：

表一 消解程序

阶段	温度梯度/°C	保温时间/min	备注
1	220	10	排废罩可以取下用于除水
2	420	90	-
3	冷却	-	-

3.2.3 蒸馏

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

滴定酸浓度/ (H+) mol/L	硼酸 /mL	氢氧化钠 /mL	稀释水 /mL	蒸馏时间 /min	蛋白系数折 算系数	蒸汽流量 /%
0.1088	25	40	50	5	6.25	100

3.3 杜马斯燃烧法

3.3.1 样品称量

使用滴管准确吸取 400mg 样品于锡杯（6×16mm）中，精确至 0.01mg，使用镊子封紧锡杯口，并尽量排尽空气，或使用封口机封口。过程中避免样品泄露，放入样品盒中备用。

3.3.2 上机测试

将样品置于样品盘中，根据样品重量选择相应方法，开始测试。测试方法参数如表三：

表三 D200 杜马斯定氮仪方法参数设置

方法名称	400mg 雪糕样品
通氧时间	90s
氧气流量	210mL/min
断氧阈值	0%
自动归零	130 s
峰值预期	130 s
积分重启延迟	0 s

四、实验结果

4.1 K1160 全自动凯氏定氮仪连续三次测定雪糕样品中的蛋白质含量如表四所示：

表四 K1160 全自动凯氏定氮仪连续三次测定雪糕样品中的蛋白质含量

次数	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/%	蛋白质含量
第一次	伊利心情 (1.6g/70g)	1.0594	3.1879	0.4516	2.8228	2.8561	1.80	2.00 g/70g
		1.1204	3.4292	0.4599	2.8741			
		1.0893	3.3322	0.4594	2.8714			
	玉米香 (1.1g/65g)	1.0433	2.4431	0.3499	2.1867	2.1795	0.64	1.42 g/65g
		1.0140	2.3610	0.3476	2.1728			
		1.0118	2.3627	0.3487	2.1791			
	巧乐兹 (1.1g/70g)	1.0341	2.3710	0.3424	2.1398	2.1356	0.37	1.49 g/70g
		1.0109	2.3104	0.3411	2.1318			
		1.0578	2.4191	0.3416	2.1351			
	奶提子 (0.6g/65g)	1.3495	1.7366	0.1907	1.1921	1.1948	0.67	0.78 g/65g
		1.3403	1.7250	0.1907	1.1921			
		1.3866	1.7946	0.1920	1.2001			
第二次	伊利心情 (1.6g/70g)	1.1042	3.3670	0.4580	2.8626	2.8555	0.72	2.00 g/70g
		1.1090	3.3803	0.4579	2.8617			
		1.1169	3.3811	0.4547	2.8421			
	玉米香 (1.1g/65g)	1.0638	2.4440	0.3433	2.1454	2.1259	3.21	1.38 g/65g
		1.0779	2.4813	0.3440	2.1502			
		1.0184	2.2740	0.3331	2.0821			
	巧乐兹 (1.1g/70g)	1.0670	2.4373	0.3413	2.1329	2.1338	0.51	1.49 g/70g
		1.0865	2.4887	0.3424	2.1397			
		1.0268	2.3428	0.3406	2.1288			
	奶提子 (0.6g/65g)	1.3573	1.7341	0.1894	1.1835	1.1892	0.95	0.77 g/65g
		1.3425	1.7316	0.1912	1.1948			
		1.3453	1.7274	0.1903	1.1893			

次数	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/%	蛋白质含量
第三次	伊利心情 (1.6g/70g)	1.1445	3.5055	0.4603	2.8770	2.8734	0.26	2.01 g/70g
		1.1378	3.4814	0.4598	2.8738			
		1.1057	3.3794	0.4591	2.8694			
	玉米香 (1.1g/65g)	1.0546	2.4174	0.3424	2.1401	2.1486	1.26	1.40 g/65g
		1.0554	2.4183	0.3423	2.1392			
		1.0367	2.4058	0.3466	2.1664			
	巧乐兹 (1.1g/70g)	1.1270	2.5775	0.3421	2.1378	2.1377	0.34	1.50 g/70g
		1.1050	2.5236	0.3414	2.1339			
		1.1016	2.5244	0.3426	2.1412			
	奶提子 (0.6g/65g)	1.3873	1.7963	0.1921	1.2006	1.1962	0.93	0.78 g/65g
		1.4294	1.8460	0.1917	1.1984			
		1.3770	1.7673	0.1903	1.1896			

4.2 D200 杜马斯定氮仪连续三次测定雪糕样品中的蛋白质含量如表五所示：

表五 D200 杜马斯定氮仪连续三次测定雪糕样品中的蛋白质含量

次数	样品名称	取样量/mg	氮含量/%	蛋白质含量/%	平均值/%	精密度/%	蛋白质含量
第一次	伊利心情 (1.6g/70g)	402.75	0.491	3.069	3.096	2.62	2.2 g/70g
		407.28	0.491	3.069			
		400.00	0.504	3.150			
	玉米香 (1.1g/65g)	397.53	0.357	2.231	2.277	4.39	1.5 g/65g
		409.77	0.373	2.331			
		409.62	0.363	2.269			
	巧乐兹 (1.1g/70g)	410.80	0.364	2.275	2.269	0.55	1.6 g/70g
		411.13	0.362	2.263			
		412.43	0.363	2.269			
	奶提子 (0.6g/65g)	416.79	0.200	1.250	1.267	4.93	0.8 g/65g
		410.10	0.199	1.244			
		401.51	0.209	1.306			

次数	样品名称	取样量/mg	氮含量/%	蛋白质含量/%	平均值/%	精密度/%	蛋白质含量
第二次	伊利心情 (1.6g/70g)	407.85	0.509	3.181	3.096	5.05	2.2 g/70g
		400.06	0.484	3.025			
		405.57	0.493	3.081			
	玉米香 (1.1g/65g)	400.23	0.365	2.281	2.290	4.37	1.5 g/65g
		407.72	0.375	2.344			
		397.51	0.359	2.244			
	巧乐兹 (1.1g/70g)	395.74	0.375	2.344	2.342	0.27	1.6 g/70g
		394.72	0.374	2.338			
		398.95	0.375	2.344			
	奶提子 (0.6g/65g)	403.00	0.219	1.369	1.363	0.92	0.9 g/65g
		401.20	0.217	1.356			
		404.88	0.218	1.363			
第三次	伊利心情 (1.6g/70g)	407.01	0.514	3.213	3.185	3.73	2.2 g/70g
		408.67	0.498	3.113			
		401.12	0.517	3.231			
	玉米香 (1.1g/65g)	413.94	0.365	2.281	2.242	2.79	1.5 g/65g
		399.67	0.355	2.219			
		403.11	0.356	2.225			
	巧乐兹 (1.1g/70g)	413.29	0.374	2.338	2.333	0.54	1.6 g/70g
		401.2	0.372	2.325			
		397.25	0.374	2.338			
	奶提子 (0.6g/65g)	407.03	0.215	1.344	1.342	0.47	0.9 g/65g
		398.32	0.214	1.338			
		402.48	0.215	1.344			

注：表四与表五中精密度的计算公式如下：

$$\text{精密度} = \frac{\text{蛋白质含量最大值} - \text{蛋白质含量最小值}}{\text{三次结果的平均值}} \times 100\%$$

4.3 K1160 全自动凯氏定氮仪与 D200 杜马斯定氮仪测定结果比对

两款仪器连续三次测试雪糕样品中蛋白质含量的重现性比对如表六所示：

表六 两款仪器连续三次测得雪糕样品中蛋白质含量的重现性比对

次数	杜马斯定氮法			凯氏定氮法	
	样品名称	蛋白质含量	RSD/%	蛋白质含量	RSD/%
第一次	伊利心情 (1.6g/70g)	2.2 g/70g	1.65	2.0 g/70g	0.36
第二次		2.2 g/70g		2.0 g/70g	
第三次		2.2 g/70g		2.0 g/70g	
第一次	玉米香 (1.1g/65g)	1.5 g/65g	1.10	1.4 g/65g	1.25
第二次		1.5 g/65g		1.4 g/65g	
第三次		1.5 g/65g		1.4 g/65g	
第一次	巧乐兹 (1.1g/70g)	1.6 g/70g	1.72	1.5 g/70g	0.09
第二次		1.6 g/70g		1.5 g/70g	
第三次		1.6 g/70g		1.5 g/70g	
第一次	奶提子 (0.6g/65g)	0.8 g/65g	3.81	0.8 g/65g	0.31
第二次		0.9 g/65g		0.8 g/65g	
第三次		0.9 g/65g		0.8 g/65g	

五、注意事项

- 1、在样品制备阶段需保证样品充分混匀以提高测试结果的平行性。
- 2、在杜马斯燃烧法称量阶段，由于取样量较小，因此对于容易固液分离的样品而言，需每次取样前再次混匀样品，以保证取样的均匀性。
- 3、经实际测试雪糕样品得出以下经验，D200 杜马斯定氮仪的灰分管的维护周期为 50 次，一级干燥管的维护周期为 300 次。

六、实验结论

- 1、使用杜马斯燃烧法和凯氏定氮法测得雪糕样品中蛋白质含量结果的精密度均小于 10%，符合《GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中对于精密度的要求。

2、D200 杜马斯定氮仪测试雪糕中蛋白质含量均略高于 K1160 全自动凯氏定氮仪测试雪糕中的蛋白质含量，这与两种方法的测试原理有关，且两种方法的测试结果均高于雪糕外包装营养标签中蛋白质含量的标示值。

3、凯氏定氮法测试雪糕中蛋白质含量的平行性和重现性均优于杜马斯燃烧法。值得注意的是，提高样品均匀性有助于提高杜马斯燃烧法测试结果的平行性。

4、当连续测试样品时，杜马斯燃烧法在测样时间上相比于凯氏定氮法而言更有优势，且操作过程中更绿色环保。

参考文献

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