

大豆蛋白胨中氮含量的测定

——杜马斯燃烧法与凯氏定氮法的比对研究

一、前言

大豆蛋白胨是以大豆豆粕等为原料，经酶解或酸解等工艺精制而成的、富含小分子多肽和氨基酸的混合物。作为一种优质的有机氮源，它因其营养丰富、易于吸收的特点，成为微生物发酵培养基的核心关键组分，被广泛应用于生物制药、抗生素生产、疫苗开发、酶制剂合成、益生菌培养及生命科学研究等领域。其质量直接关系到微生物的生长密度、代谢活性和目标产物的产率，是保障下游生物制品成功生产与批次间一致性的“生命线”。

对于大豆蛋白胨生产企业（如生化试剂公司）及终端用户（如生物制药厂、发酵企业）而言，精准测定大豆蛋白胨中的氮含量，是产品质量控制、分级定标、工艺优化的核心依据。也是确保培养基效能、保证发酵工艺重现性、降低生产风险的前提，具有至关重要的价值。

然而，传统的凯氏定氮法作为经典的蛋白质测定方法，在应对大规模质控需求时，暴露出实验繁琐、耗时漫长（数小时/样品）、使用危险化学品（浓硫酸、浓碱等）及操作人员风险高等局限性，难以满足现代生物产业对高效、环保、安全分析的迫切需求。

本方案使用的 D200 杜马斯定氮仪，依据经典杜马斯燃烧原理，为大豆蛋白胨的氮含量分析提供了革命性的解决方案。该方法具备快速（3-5 分钟完成测试）、精准、安全环保（无需危险化学品）及自动化程度高等显著优势，能够显著提升检测效率，降低实验室运营成本与安全风险，助力企业建立更高效、更可靠的质量控制体系，为生物技术产业的稳健发展提供坚实的技术保障。

二、仪器与试剂

2.1 仪器

仪器：D200 杜马斯定氮仪、K11000 全自动凯氏定氮仪、SH420F 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、氢氧化钠溶液（400g/L）、硼酸溶液（20g/L）、硫酸标准滴定溶液（ $[c(1/2H_2SO_4)]=0.1mol/L$ ）；

2.3 样品

大豆蛋白胨。

三、杜马斯定氮法及凯氏定氮法测试方案

3.1 杜马斯燃烧法

3.1.1 样品称量

样品称量使用的是十万分之一的天平，以 mg 为单位进行称量。

称取固体样品 100mg（精确至 0.01mg）左右样品，包裹在锡箔纸中，并将锡箔纸团成紧密的样品球，放入样品盒备用。

3.1.2 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。测试方法参数如表一：

表一 D200 杜马斯定氮仪方法参数设置

方法名称	100mg 样品
通氧时间	80s
氧气流量	150mL/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

3.2 凯氏定氮法

3.2.1 取样

称取固体样品 0.3g 左右，精确至 0.1mg，使用称量纸包裹样品，一同放入消化管中。最后向样品空白消化管及样品消化管中均加入一片定氮片和 10 mL 浓硫酸。

注：为保证样品及样品空白消解内容的一致性，需要向样品空白消化管中加入一张称量纸，随样品一起消解。

3.2.2 样品消解

使用 SH420 消解仪对样品进行消解，消解完成后，溶液呈现澄清透明的蓝绿色。消解程序参见表二：

表二 消解程序

阶段	温度梯度/°C	保温时间/min
1	220	10
2	300	10
3	360	10
4	420	90
5	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三：

表三 K1100 全自动凯氏定氮仪试验参数设置

滴定酸 (H ⁺) mol/L	硼酸/mL	氢氧化钠/mL	稀释水/mL	蒸馏时间/min	蒸汽流量%
0.1014	20	40	50	5	100

四、实验结果

4.1 D200 杜马斯定氮仪测试大豆蛋白胨中氮含量如表四所示：

表四 D200 杜马斯定氮仪测试大豆蛋白胨中的氮含量

样品名称	称样量 (mg)	N 含量(g/100g)	平均值 (g/100g)	精密度(%)
样品 1 蛋白胨	100.43	11.55	11.55	0.18
	100.64	11.57		
	100.23	11.55		
样品 2 蛋白胨	101.12	8.26	8.27	0.13
	100.76	8.27		
	100.77	8.27		
样品 3 蛋白胨	100.74	15.02	15.03	0.11
	100.30	15.02		
	100.64	15.04		

4.2 K1100 全自动凯氏定氮仪测定大豆蛋白胨中的氮含量如表五所示：

表五 K1100 全自动凯氏定氮仪测定大豆蛋白胨中的氮含量

样品名称	称样量 (g)	滴定体积(mL)	氮含量 (g/100g)	平均值 (g/100g)	精密度(%)
样品 1 蛋白胨	0.3012	24.4720	11.47	11.47	0.67
	0.3008	24.5151	11.51		
	0.3010	24.3675	11.43		
样品 2 蛋白胨	0.3007	17.5415	8.22	8.21	0.60
	0.3019	17.6385	8.23		
	0.3009	17.4768	8.18		
样品 3 蛋白胨	0.3017	32.0112	15.00	14.91	1.04
	0.3005	31.5559	14.85		
	0.3010	31.6646	14.87		

注：表四与表五中精密度的计算公式如下：

$$\text{精密度} = \frac{\text{氮含量最大值} - \text{氮含量最小值}}{\text{平行结果的平均值}} \times 100\%$$

4.3 D200 杜马斯定氮仪与 K1100 全自动凯氏定氮仪测定结果比对

两款仪器测试大豆蛋白脲样品中氮含量的比对如表六所示：

表六 两款仪器测试大豆蛋白脲样品中氮含量的比对

样品名称	杜马斯定氮法		凯氏定氮法	
	氮含量 (g/100g)	精密度/%	氮含量 (g/100g)	精密度/%
样品 1 蛋白脲	11.55	0.18	11.47	0.67
样品 2 蛋白脲	8.27	0.13	8.21	0.60
样品 3 蛋白脲	15.03	0.11	14.91	1.04

五、实验结论

1、杜马斯燃烧法测试大豆蛋白脲中氮含量与凯氏定氮法（仲裁法）测试大豆蛋白脲中氮含量结果十分接近，将凯氮的结果与杜马斯的结果相除，得到两者的比例系数 KN/DN 均在 0.992~0.993 范围内。

2、使用杜马斯燃烧法和凯氏定氮法测得大豆蛋白脲样品中氮含量结果的精密度均小于 10%，且就结果看，杜马斯燃烧法测试大豆蛋白脲的精密度甚至优于凯氏定氮法的结果精密度。

3、与凯氏定氮法相比，杜马斯燃烧法无需任何危险化学试剂（如浓硫酸、氢氧化钠），从根本上杜绝了化学废液的处理难题，操作更加安全环保；无需复杂的消解、蒸馏等前处理步骤，极大地简化了工作流程；支持大批量样品连续自动检测、无人值守，将单样检测时间从数小时缩短至 3-5 分钟，大批量测试效率极高。这些特点使得杜马斯定氮法尤其适用于生产型企业对检测效率、操作安全及成本控制有高要求的应用场景。

4、本方案提供大豆蛋白脲的即用型测试参数，包括精确的取样量建议和优化的仪器方法，相关企业在测试大豆蛋白脲时可直接使用杜马斯燃烧法进行样品测试。确保用户能够快速、顺利地获得准确可靠的测定结果。