

养乐多中蛋白质含量的测定

——杜马斯燃烧法与凯氏定氮法的比对研究

一、前言

养乐多作为一类广受欢迎的活菌型乳饮料，其蛋白质含量是衡量产品营养价值、履行营养标签声明及进行生产过程质量控制的核心指标。对此项指标进行准确测定，不仅是乳制品生产企业进行原料验收、工艺监控与成品出厂检验的常规需求，也是市场监管机构、第三方检测实验室及科研单位实施监督抽检、认证评价与产品研发的重要工作内容。

食品中蛋白质含量的经典测定方法是凯氏定氮法，但其操作流程复杂、耗时较长且涉及危险化学品。相比之下，杜马斯燃烧法凭借其分析速度快、自动化程度高、无需使用强酸强碱、环境友好等优势，正成为重要的替代技术。尤其值得注意的是，2025年3月27日发布并于同年9月16日实施的《GB 5009.5-2025 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》，已正式将杜马斯燃烧法（第三法）的适用范围明确涵盖各类食品，为其在乳饮料等领域的应用提供了权威标准依据。

然而，将杜马斯法成功应用于养乐多这类特定产品的检测，需克服其液体基质与低氮（蛋白质）含量带来的双重挑战。这具体涉及液体样品取样方式及取样量、适用于低浓度范围的标准曲线建立，以及进样载体（如滤纸、锡杯）自身空白的准确扣除等关键操作难点。

为此，本方案针对上述问题，开发了一套适用于养乐多中氮及蛋白质测定的杜马斯法定量分析流程。方案详细阐述了从样品称量、标准曲线绘制、空白校正、仪器方法优化的全过程，并与凯氏定氮法结果进行了严谨比对，以验证其准确性与可靠性。本方案旨在为相关单位应用新国标方法提供一份具体、可靠的技术参考，其建立的原则与方法亦可扩展应用于其他同类型乳饮料中氮及蛋白质的测定。

二、杜马斯定氮仪测试方案

2.1 仪器与试剂

仪器：D200 杜马斯定氮仪、十万分之一分析天平；

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 %）、锡箔纸（40×40mm，用于固体样品称量）、锡杯（8×20mm，用于液体样品称量）、定量滤纸（吸附剂）；

样品：养乐多。

2.2 样品前处理

养乐多样品充分混匀后取样。

2.3 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。

用巴氏滴管吸取 380~390mg 样品至锡杯（8×20mm）中，精确至 0.01mg，并记录重量。用镊子或锡杯封口器将锡杯口压紧密封，并放入样品盒中待测。

2.4 仪器校准

称取天冬氨酸标准物质，质量分别为 1mg、5mg、10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、50mg、75mg、100mg，以 TCD 检测器测量的峰面积和标准物质中的绝对氮含量为坐标绘制校正曲线。

2.5 上机测试

空白测试：用空白锡杯进行空白测试，测试完成后，选择“计算空白值”

仪器校正：用锡杯称取 30mg 天冬氨酸用于日常系数校正。

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。测试方法参数表一所示：

表一：杜马斯定氮仪测试方法

方法名称	通氧时间	氧气流	断氧阈值	自动归零	峰值预期	积分重 启延时	蛋白质换 算系数
30mg 天冬氨酸	70s	130 mL/min	0%	150s	130s	0s	—
400mg 养乐多	90s	210 mL/min	0%	130s	130s	0s	6.38

2.6 养乐多样品密度测试及质量浓度换算

使用 10mL 大肚移液管准确移取均质的溶液，完全转移至干净的烧杯中。使用分析天平准确记录转移至烧杯中的溶液质量，精确至 0.1mg。溶液的密度计算公式如下：

$$\rho = \frac{m}{10.00}$$

式中：

ρ ：溶液密度，单位为 g/mL；

m ：分析天平称量的 10.00mL 液体的准确质量，单位为 g；

10.00：移取液体的体积，单位为 mL。

经测试，养乐多（室温下）的密度如表二所示：

表二：养乐多（室温下）的密度

样品名称	V(mL)	m(g)	密度 (g/mL)	平均值(g/mL)
养乐多	10.00	10.6882	1.06882	1.06863
	10.00	10.6836	1.06836	
	10.00	10.6871	1.06871	

养乐多样品含量 ρ （N）以质量浓度（g/100mL）表示，按以下公式计算：

$$\rho(N) = \omega\rho$$

ω ——样品中总氮的质量分数，%；

ρ ——液体样品的密度，单位为克每毫升（g/mL）。

三、凯氏定氮法

按照《GB 5009.5-2025 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》等标准测试养乐多样品中的氮及蛋白质含量。

四、结果及讨论

4.1 养乐多称量载体的选择

4.1.1 定量滤纸及锡杯（样品空白）峰面积测试

经 D200 杜马斯定氮仪测试，250mg 定量滤纸和锡杯的峰面积如表三所示：

表三：杜马斯定氮仪测试 250mg 定量滤纸和锡杯的峰面积

样品名称	峰面积	峰面积绝对差值
定量滤纸	2950	678
	2601	
	2272	
锡杯	189	51
	151	
	138	

如表三所示，相比于定量滤纸而言，锡杯引入的空白值更稳定。

4.1.2 使用定量滤纸作为吸附剂的测试结果

使用定量滤纸作为吸附剂，经 D200 杜马斯定氮仪分析检测，养乐多样品中蛋白质含量如表四所示：

表四：使用定量滤纸作为吸附剂称取养乐多的测试结果

样品名称	取样量(mg)	氮含量(%)	蛋白质含量(g/100mL)	平均值(g/100mL)	精密度(%)
养乐多	505.90	0.243	1.657	1.635	6.25
	506.62	0.244	1.664		
	514.77	0.229	1.561		
	516.90	0.242	1.650		
	515.07	0.241	1.643		
	510.20	0.240	1.636		

4.1.3 使用锡杯作为样品载体的测试结果

使用锡杯取样，经 D200 杜马斯定氮仪分析检测，养乐多样品中蛋白质含量如表五所示：

表五：使用锡杯作为载体称取养乐多的测试结果

样品名称	取样量(mg)	氮含量(%)	蛋白质含量(g/100mL)	平均值(g/100mL)	精密度(%)
养乐多	398.92	0.201	1.370	1.357	1.99
	398.10	0.198	1.350		
	398.24	0.200	1.364		
	400.41	0.197	1.343		
	396.06	0.199	1.357		

通过对比表四和表五可知，使用锡杯称取养乐多进行测试的结果精密度更小，这主要是由于相比于定量滤纸而言，锡杯引入的空白值更稳定，因此使用锡杯更适用于低含量液体样品的取样测试，减少载体空白对低含量样品的影响。

4.2 D200 杜马斯定氮仪测试养乐多中蛋白质含量

使用 D200 杜马斯定氮仪连续三天测试养乐多所得数据如表六所示，三次测试结果汇总如表七所示：

表六：D200 杜马斯定氮仪连续三天测试养乐多中蛋白质含量结果

测试批次	样品名称	取样量(mg)	氮含量(%)	蛋白质含量(g/100mL)	平均值(g/100mL)	精密度%
第一天	养乐多	398.92	0.201	1.370	1.357	1.99
		398.10	0.198	1.350		
		398.24	0.200	1.364		
		400.41	0.197	1.343		
		396.06	0.199	1.357		
第二天		414.36	0.241	1.643	1.693	4.02
		402.71	0.250	1.704		
		399.30	0.251	1.711		
		415.33	0.251	1.711		
		399.78	0.249	1.698		
		394.64	0.248	1.691		

测试批次	样品名称	取样量(mg)	氮含量(%)	蛋白质含量(g/100mL)	平均值(g/100mL)	精密度(%)
第三天		391.91	0.228	1.554	1.535	3.06
		395.42	0.226	1.541		
		394.50	0.226	1.541		
		392.78	0.225	1.534		
		388.51	0.221	1.507		

表七：D200 杜马斯定氮仪连续三天测试养乐多中蛋白质含量汇总

测试批次	蛋白质含量平均值(g/100mL)	绝对差值(g/100mL)
第一天	1.357	0.336
第二天	1.693	
第三天	1.535	

如表六和表七所示，单一批次内测试结果的精密度均小于 10%。就再现性而言，三个批次平均蛋白质含量的绝对差值为 0.336%。

4.3 K1160 全自动凯氏定氮仪测试养乐多中蛋白质含量

经 K1160 全自动凯氏定氮仪测试养乐多中蛋白质含量如表八所示：

表八：K1160 全自动凯氏定氮仪测试养乐多中蛋白质含量结果

样品名称	取样量(g)	空白体积(mL)	滴定体积(mL)	氮含量(%)	蛋白质含量(g/100mL)	平均值(g/100mL)	精密度(%)
养乐多	10.0605	0.0141	12.4371	0.1856	1.2653	1.2626	0.063
	10.0250		12.3915	0.1856	1.2651		
	9.9947		12.2779	0.1844	1.2573		

备注：表四、五、六和表八中蛋白质含量(g/100mL) = 氮含量(%) × $\rho_{\text{养乐多}}$ × 6.38

4.4 杜马斯定氮仪与凯氏定氮仪测试结果比对

杜马斯定氮仪与凯氏定氮仪测试养乐多中蛋白质含量结果对比如表九所示：

表九：杜马斯定氮仪与凯氏定氮仪测试养乐多中蛋白质含量结果对比表

方法	平均氮含量(%)	两种方法的绝对差值(%)
杜马斯定氮法	0.224	0.04
凯氏定氮法	0.1852	

五、实验注意事项 0.2252、0.2485、0.199

使用杜马斯定氮仪测试养乐多中蛋白质含量时需要注意以下几点：

- 由于 400mg 取样量较大，为保证进样顺利，建议配置 40 位样品盘进行测试。
- 由于 400mg 取样量较大，为保证进样顺利，建议配置大口径的氧枪块。
- 建议选择适用于低含量样品测试的标准曲线进行仪器校准。

六、结论

本研究通过对比杜马斯燃烧法与凯氏定氮法，对养乐多中蛋白质含量进行测定，旨在为乳饮料行业提供高效、准确的检测方法参考。研究基于新国标《GB 5009.5-2025 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》，重点优化了杜马斯法的前处理流程，针对养乐多低蛋白、液态基质的特性，采用锡杯代替滤纸作为载体，显著提高了检测的精密度。其中，经过 D200 杜马斯定氮仪与 K1160 凯氏定氮仪测试，养乐多中的蛋白质含量分别为 1.528 g/100mL 和 1.2626 g/100mL。基于 D200 杜马斯定氮仪的测试数据，其重复性表现良好：单批次内测试结果的精密度均小于 10%，符合《GB 5009.5-2025 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》对于精密度的要求；再现性方面，三批次间平均蛋白质含量的绝对差值为 0.336%。此外，两种仪器对养乐多样品氮含量的测试结果绝对差值为 0.04%。实验结果表明，杜马斯法操作简便、自动化程度高、环保性强，适用于批量快速检测。本研究为乳饮料中蛋白质的快速测定提供了可行的技术路径。

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].