

豆粕中氮及蛋白质含量的测定

——杜马斯燃烧法与凯氏定氮法的比对研究

一、前言

豆粕作为大豆油脂加工后的主要副产品，富含蛋白质，是饲料、食品及养殖行业的核心原料之一。其氮及蛋白质含量的精准测定，直接关系到产品质量控制、配方优化、营养价值评估及贸易定价的公平性。该检测需求广泛涉及饲料加工企业、油脂生产企业、质量检验机构及农业科研单位。目前，行业内主要参照《GB/T 6432-2018 饲料中粗蛋白的测定》等标准，采用经典的凯氏定氮法。该方法虽结果可靠，但流程冗长，涉及危险化学品，存在操作安全与环保处理压力。

相比之下，基于《NY/T 2007-2011 谷类、豆类粗蛋白质含量的测定 杜马斯燃烧法》的现代检测技术，凭借其快速（仅需 3-5 分钟）、自动化、无需使用有害化学试剂、安全环保等显著优势，正成为提升检测效率与实验室现代化水平的重要方向。为验证并推广该方法在豆粕这一重要基质中的应用，本研究选用典型豆粕样品，依据标准方法，采用多台 D200 杜马斯定氮仪与 K1160 全自动凯氏定氮仪开展了系统性比对分析。

实验数据表明：杜马斯燃烧法与凯氏定氮法测定豆粕氮含量的结果高度一致，氮含量绝对差值在 0.087%至 0.112%范围内，比例系数（KN/DN）稳定在 0.984~0.987 之间，且杜马斯法表现出良好的重复性与重现性。通过测定样品中硝态氮含量，进一步探讨了差异来源。本方案不仅提供了经过验证的即用型测试参数与完整流程，更以详实数据证明，杜马斯燃烧法在确保结果准确可靠的前提下，能够显著提升检测效率、降低安全风险、实现绿色检测，是豆粕蛋白质含量测定中极具推广价值的优选方案。

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、紫外分光光度计、万分之一分析天平、十万分之一分析天平。

2.2 试剂

杜马斯燃烧法所需试剂：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。

杜马斯燃烧法所需标准品：L-天冬氨酸标准品（纯度 > 99 %）。

凯氏定氮法所需试剂：混合催化剂（4g/片，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 $[c(1/2H_2SO_4)]=0.1mol/L$ 。

硝态氮含量测定所需试剂：过氧化氢溶液、硝酸钾（优级纯）。

2.3 样品

豆粕。

三、杜马斯定氮法及凯氏定氮法测试方案

3.1 样品前处理

3.1.1 取样

取样应具有代表性，取样量应不少于 20g，带壳种子需挑拣干净脱壳。

3.1.2 样品充分混匀

为保证取样均匀，粉碎过筛前需将样品充分混匀。

3.1.3 粉碎与过筛

①称取 $\geq 20g$ 样品，保水磨粉碎后过 20 目筛（孔径 0.9mm），未通过筛网的颗粒需重新研磨至全部过筛。②取部分 20 目筛后样品过 40 目筛（孔径 0.45mm），未通过颗粒重新研磨至全部过筛。

3.2 杜马斯燃烧法

3.2.1 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。

称取豆粕样品 400mg（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。

3.2.2 上机测试

仪器校正：称取 300mg 天冬氨酸标准品进行仪器日常系数校正。

将标准品和样品置于样品盘中，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	300mg 天冬氨酸	400mg 豆粕
通氧时间	90s	100s
氧气流量	210mL/min	300mL/min
断氧阈值	0%	0%
自动归零	130 s	130 s
峰值预期	130 s	130 s
积分重启延迟	0 s	0 s
蛋白质换算系数	—	6.25

3.3 凯氏定氮法

3.3.1 取样

称取固体样品 0.5g，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 10mL 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。

3.3.2 样品消解

使用 SH520 自动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	420	90
2	冷却	-

3.3.3 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 K1160 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%
0.1	25	30	40	5	100

四、豆粕样品中硝态氮含量的测定

4.1 样品前处理

准确称取烘干后的植物样品 0.5g 置于消化管中，加入 6mL 浓硫酸，混匀浸润放置过夜。在消解仪上慢慢加热至开始冒白烟，控温稍冷（约 1min），逐滴加入 20 滴 H₂O₂ 溶液，继续加热微沸几分钟，再放冷，滴加 H₂O₂ 数滴，以此反复多次，直至消煮液完全清亮为止，最后一次应微沸 15min，以除尽剩余 H₂O₂，冷却后加入无氨水 10mL，移入 50mL 容量瓶中，定容。

4.2 标准曲线的绘制

硝酸钾标准储备液 (ρ (N) =10mg/L)：称取 0.0722g 硝酸钾溶于适量水中，并定容至 1000mL。

分别吸取硝酸钾标准溶液 0,1,2,3,4,5,6,10mL 于 50mL 比色管中，各加入 1mL 空白消煮液，加水定容至 50mL 并摇匀，使用 1cm 石英比色皿在紫外分光光度计上测试 210nm 处的吸光度。并绘制吸光

度和浓度的标准曲线。

4.3 样品中硝态氮含量的测定

吸取 5mL 消煮液于 50mL 比色管中，用无氨水稀释至刻度，摇匀，在波长 210nm 处，用 1cm 石英比色皿，以无氨水作参比，在紫外分光光度计进行硝态氮测定。

五、实验结果

5.1 D200 杜马斯定氮仪测试豆粕中氮及蛋白质含量

三台 D200 杜马斯定氮仪测试豆粕中氮及蛋白质含量如表四所示：

表四 三台 D200 杜马斯定氮仪测试豆粕中氮及蛋白质含量

设备 编号	样品 名称	取样量 (mg)	氮含量 (%)	重复性 精密度 (%)	重复性限 r	氮含量 平均值 (%)	重现性 精密度 (%)	重现性限 R	蛋白质含量 (%)	蛋白质含量平均值 (%)	RSD (%)
1	豆粕 601	399.95	6.882	0.079	0.082	6.876	0.053	0.076	43.013	42.975	0.42
		400.16	6.829						42.681		
		400.12	6.904						43.150		
		400.10	6.863						42.894		
		400.16	6.908						43.175		
		399.96	6.870						42.938		
2		400.00	6.844	0.051	0.056	6.859			42.775	42.871	0.29
		399.91	6.871						42.944		
		400.16	6.866						42.913		
		300.18	6.826						42.663		
		399.78	6.877						42.981		
		400.18	6.872						42.950		
3		399.89	6.804	0.041	0.048	6.823			42.525	42.642	0.25
		399.70	6.827						42.669		
		399.78	6.845						42.781		
		399.74	6.840						42.750		
		399.93	6.811						42.569		
		399.77	6.809						42.556		
1	豆粕 605	400.19	6.932	0.129	0.145	6.867	0.038	0.061	43.325	42.916	0.76
		400.17	6.905						43.156		
		399.91	6.837						42.731		
		399.94	6.803						42.519		
		399.96	6.824						42.650		
		400.01	6.898						43.113		

2		399.72	6.856	0.020	0.020	6.867		42.850	42.917	0.10
		400.15	6.870					42.938		
		400.02	6.876					42.975		
		400.23	6.870					42.938		
		400.17	6.861					42.881		
		400.18	6.867					42.919		
3		400.24	6.814	0.027	0.025	6.829		42.588	42.681	0.13
		399.92	6.841					42.756		
		399.82	6.826					42.663		
		399.83	6.831					42.694		
		399.79	6.831					42.694		
		399.75	6.831					42.694		

备注：《NY/T 2007-2011 谷类、豆类粗蛋白质含量的测定 杜马斯燃烧法》中提到，对于重复性而言，两次测定结果的绝对差值大于重复性限 r 值的情况不超过 5%；对于重现性而言，两次测定结果的绝对差值大于再现性限 R 值的情况不超过 5%。其中重复性限 r 值和再现性限 R 值的计算公式如下：

$$r = 2.8S_r$$

$$R = 2.8S_R$$

式中： S_r ——重复性标准偏差；

S_R ——再现性标准偏差。

如表四所示，编号 1、2、3 D200 杜马斯定氮仪连续六次测试豆粕 601 样品和编号 1、2 D200 杜马斯定氮仪连续六次测定豆粕 605 样品的氮含量绝对差值均 $\leq$ 相应的重复性限 r ，编号 3 D200 杜马斯定氮仪连续六次测定豆粕 605 样品的氮含量绝对差值略高于相应的重复性限 r ；三台 D200 杜马斯定氮仪测试同一豆粕样品的氮含量平均值的绝对差值均小于相应的重现性 R 值。证明 D200 杜马斯定氮仪在测试豆粕样品上表现出良好的测试效果。

5.2 K1160 全自动凯氏定氮仪测试豆粕中氮及蛋白质含量

三台 K1160 全自动凯氏定氮仪测试豆粕中氮及蛋白质含量如表五所示：

表五 三台 K1160 全自动凯氏定氮仪测试豆粕中氮及蛋白质含量

设备 编号	样品 名称	取样量 (g)	空白体积 (mL)	滴定体积 (mL)	氮含量 (%)	重复性 精密度 (%)	重复性 限 r	氮含量 平均值 (%)	重现性 精密度 (%)	重现性 限 R	蛋白质 含量 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	豆粕 601	0.5046	0.0398	23.3433	6.7500	0.061	0.063	6.786	0.038	0.054	42.1874	42.4151	0.33
		0.5039		23.3815	6.7704						42.3152		
		0.5044		23.5440	6.8108						42.5676		
		0.5072		23.5979	6.7887						42.4297		
		0.5086		23.7149	6.8037						42.5230		
		0.5015		23.3541	6.7949						42.4678		
2		0.5027	0.0894	23.3145	6.7527	0.140	0.159	6.764			42.2044	42.2764	0.84
		0.503		23.6113	6.8349						42.7182		
		0.504		23.6407	6.8299						42.6867		
		0.5063		23.472	6.7501						42.1884		
		0.5012		23.1418	6.7225						42.0159		
		0.5011		23.0432	6.6951						41.8445		
3		0.5	0.0491	23.1264	6.7460	0.072	0.072	6.748			42.1622	42.1746	0.38
		0.5007		23.1478	6.7428						42.1423		
		0.5003		23.2023	6.7641						42.2755		
		0.501		23.071	6.7163						41.9771		
		0.4999		23.0669	6.7299						42.0619		
		0.5012		23.3279	6.7886						42.4285		
1	豆粕 605	0.5009	0.0199	22.922	6.6827	0.064	0.057	6.716	0.070	0.110	41.7670	41.9779	0.30
		0.5005		23.0332	6.7205						42.0033		
		0.5016		23.1733	6.7466						42.1663		
		0.5029		23.1352	6.7181						41.9881		
		0.5023		23.0962	6.7148						41.9674		
		0.5032		23.1418	6.7160						41.9751		
2		0.5057	0.0844	23.5137	6.7717	0.060	0.068	6.787			42.3229	42.4184	0.36
		0.5052		23.532	6.7837						42.3979		
		0.5019		23.529	6.8274						42.6712		
		0.5028		23.3643	6.7673						42.2956		
		0.5028		23.3643	6.7673						42.2956		
		0.5041		23.5523	6.8044						42.5272		
3		0.5004	0.0491	22.9223	6.6809	0.172	0.182	6.722			41.7559	42.0099	0.97
		0.5003		22.9422	6.6881						41.8006		
		0.4999		22.9595	6.6985						41.8657		

	0.5006	23.5214	6.8532							42.8325		
	0.4999	22.9686	6.7012							41.8823		
	0.5005	23.0181	6.7076							41.9224		

备注：《NY/T 2007-2011 谷类、豆类粗蛋白质含量的测定 杜马斯燃烧法》中提到，对于重复性而言，两次测定结果的绝对差值大于重复性限 r 值的情况不超过 5%；对于重现性而言，两次测定结果的绝对差值大于再现性限 R 值的情况不超过 5%。其中重复性限 r 值和再现性限 R 值的计算公式如下：

$$r = 2.8S_r$$

$$R = 2.8S_R$$

式中： S_r ——重复性标准偏差；

S_R ——再现性标准偏差。

如表五所示，编号 1、2、3 K1160 全自动凯氏定氮仪连续六次测试豆粕 601 样品和编号 2、3 K1160 全自动凯氏定氮仪连续六次测试豆粕 605 样品中氮含量绝对差值均≤相应的重复性限 r ，编号 1 K1160 全自动凯氏定氮仪连续六次测试豆粕 605 样品中氮含量绝对差值略高于相应的重复性限 r ；三台 K1160 全自动凯氏定氮仪测试同一豆粕样品的氮含量平均值的绝对差值均小于相应的重现性 R 值。证明 K1160 全自动凯氏定氮仪在测试豆粕样品上也表现出良好的测试效果。

表四和表五中的蛋白质含量均为湿基含量，如果要获得样品的干基蛋白质含量，可对样品进行水分含量测定，并将水分值带入公式即可获得样品的干基蛋白质含量。

5.3 D200 杜马斯定氮仪与 K1160 全自动凯氏定氮仪测定结果比对

两款仪器测试豆粕样品中氮含量的比对如表六所示：

表六 两款仪器测试豆粕样品中氮含量的比对表

设备编号	杜马斯定氮法				凯氏定氮法			绝对差值 (%)	KN/DN
	样品名称	氮含量 (DN,g/100g)	重复性精密度 (%)	重现性精密度 (%)	氮含量 (KN,g/100g)	重复性精密度 (%)	重现性精密度 (%)		
1	豆粕	6.876	0.079	0.053	6.7864	0.061	0.038	0.087	0.987
2	601	6.859	0.051		6.7642	0.140			

3		6.823	0.041		6.7479	0.072			
1	豆粕 605	6.866	0.129	0.038	6.7164	0.064	0.07	0.112	0.984
2		6.867	0.020		6.7869	0.060			
3		6.829	0.027		6.7216	0.172			

5.4 豆粕 601 中的硝态氮含量

经紫外分光光度法测定豆粕 601 中的硝态氮含量如表七所示：

表七 紫外分光光度法测定豆粕 601 中的硝态氮含量

样品	取样量(g)	吸光度	含量 (N) (mg/mL)	硝态氮含量(%)	平均值(%)
豆粕 601	0.5108	0.789	0.0013	0.1284	0.1305
	0.5132	0.819	0.0014	0.1325	

由表七可知，豆粕 601 样品中含有少量的硝态氮，且硝态氮含量与杜马斯燃烧法和凯氏定氮法测试结果的绝对差值比较接近，说明样品中的硝态氮是造成两种方法数据差异的原因之一，但可能并非是唯一影响因素。

六、注意事项

- 1、样品的均匀程度和粉碎程度直接影响测试结果的平行性，因此建议对样品进行充分研磨。
- 2、全天连续测试时，建议上午和下午进行两次“仪器日常系数校正”。
- 3、按照本方案进行测试时，灰分管的维护周期为 60 次，即每测 60 个样品需要清理一次灰分管里的灰分。

七、实验结论

- 1、杜马斯燃烧法测试豆粕 601 和豆粕 605 中氮与蛋白质含量均略高于凯氏定氮法，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 0.984~0.987 范围内。这与相应的文件测试结论保持一致。
- 2、通过测试豆粕 601 中的硝态氮含量可以说明豆粕中存在的硝态氮是造成杜马斯燃烧法和凯氏定氮法结果差异的原因之一，但可能并非唯一印象因素。
- 3、使用杜马斯燃烧法和凯氏定氮法测得豆粕 601 样品中氮含量结果的重复性精密度和重现性精密度

均小于相应的重复性限 r 值和现性限 R 值。使用杜马斯燃烧法和凯氏定氮法测得豆粕 605 样品中氮含量时，均有个别重复性精密度略高于相应的重复性限 r 值，这可能与豆粕 605 样品基质有一定关系。就结果看，杜马斯燃烧法与凯氏定氮法的结果精密度在同一水平。

4、与凯氏定氮法相比，杜马斯燃烧法无需任何危险化学品试剂（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。

5、本方案提供豆粕样品的即用型测试参数，包括精确的取样量建议和优化的仪器方法，相关企业在测试豆粕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。

参考文献

- [1] NY/T 2007-2011 谷类、豆类粗蛋白质含量的测定 杜马斯燃烧法 [S].
- [2] 郭望山, 孟庆翔. 杜马斯燃烧法与凯氏法测定饲料含氮量的比较研究[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(5): 464-468.
- [3] 吕伟仙, 葛滢, 吴建之, 等. 植物中硝态氮、氨态氮、总氮测定方法的比较研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(2): 204-206.
- [4] HJ 636-2012 水质总氮的测定碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法 [S].