

## 实验技术与方法

## 甲醛值滴定法快速测定牛奶中蛋白质含量

田志梅

(河北省衡水市疾病预防控制中心,河北 衡水 053000)

**摘要:**目的 建立牛奶中蛋白质的快速检验方法 - 甲醛值滴定法。方法 利用氨基酸的两性特性,加入甲醛溶液并用标准碱溶液滴定,通过测定牛奶中蛋白质的游离氨基酸含量,计算求得牛奶中蛋白质含量。结果 牛奶中蛋白质含量与游离氨基酸含量呈良好的正相关,  $RSD\%$  2.63 ~ 3.40,本法与国标法两种方法测定结果的绝对差值与其算术平均值之比小于 5%,测定时间由约 3 h 缩短为 3 ~ 5 min。结论 本方法有效地解决了非蛋白质类的含氮物质对牛奶中蛋白质测定结果的干扰问题,适用于牛奶与奶粉中蛋白质的快速定量检验。

**关键词:**乳;蛋白质类;甲醛;滴定分析法

## Determination of Protein Content in Milk by Formaldehyde Value Titration

TIAN Zhi-mei

(Hengshui Municipal Center for Disease Control and Prevention, Hebei Hengshui 053000, China)

**Abstract:** **Objective** To determine protein content in milk by formaldehyde value titration. **Method** Using amphoteric property of amino acids, the formaldehyde solution was added into milk sample, and then the sample was titrated by standard alkali. The protein content in milk was calculated by determining free amino acids of it. **Results** There was a good correlation between protein content in milk and free amino acids. The  $RSD$  was 2.63% ~ 3.40%. Compared with the national standard method, the ratios of absolute difference to its arithmetic average of two methods were all below 5%. The determining time was 3 ~ 5 min, and less than 3 h of national standard method. **Conclusion** The method could effectively resolve the interference problems of nitrogen substances which belong to non-protein kinds, and apply to rapid quantitative test of protein in milk and milk powder.

**Key word:** Milk; Proteins; Formaldehyde; Titrimetry

牛奶是一种营养丰富而全面的理想食品,是人体所需蛋白质的重要来源,蛋白质是牛奶中的主要营养指标。我国现行国家标准方法<sup>[1]</sup>是以食品中的含氮量为依据测定蛋白质含量,测得的结果不完全是蛋白质,还包括一些非蛋白质类的含氮物质,如尿素氮、游离氨氮、无机氨盐等;国标 GB/T 5009.5—2003 食品中蛋白质的测定<sup>[1]</sup>规定的凯氏定氮法、可见分光光度法完成一个样品的测定,需要 3 h 以上,不能满足快速测定的需要,更难以解决牛奶中蛋白质的掺伪检验难题。本文参考文献资料<sup>[2]</sup>研究并建立了牛奶中蛋白质的快速检验方法 - 甲醛值滴定法,测定牛奶蛋白质中游离氨基酸含量,计算求得牛奶中蛋白质含量。本方法准确、简便、快速并有效地解决了非蛋白质类的含氮物质对牛奶与奶制品中蛋白质测定结果的干扰问题,为整顿乳品市场,保证食品安全提供技术支持。

## 1 材料与方法

## 1.1 方法原理

牛奶中蛋白质含量与游离氨基酸含量呈良好的正相关。氨基酸为两性电解质,在接近中性的水溶液中,全部解离为双极离子。当甲醛溶液加入后,与中性的游离氨基酸中非解离型氨基反应,生成单羟甲基和二羟甲基诱导体,使氨基酸失去氨基特性,游离的羧基(-COOH)可以用标准碱溶液滴定,根据碱溶液的消耗量得出游离氨基酸含量,乘以经验常数计算出蛋白质的含量。

## 1.2 仪器与试剂

**仪器** 碱式滴定装置。样品 3 个品牌的成品纯牛奶和 1 个企业的鲜原料牛奶。

**试剂** 饱和草酸钾溶液:330 g/L;酚酞指示液:5 g/L,用乙醇溶液配制;氢氧化钠标准溶液 [ $c(\text{NaOH}) = 0.1 \text{ mol/L}$ ];氢氧化钠标准滴定溶液 [ $c(\text{NaOH}) = 0.05 \text{ mol/L}$ ];中性甲醛水溶液。

## 1.3 测定方法

准确吸取奶样 10.0 ml 于三角瓶中,加入 0.5 ml

作者简介:田志梅 女 副主任技师

饱和草酸钾溶液和 0.5 ml 酚酞指示液,约 2 min 后用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定至粉红色。然后加入 2 ml 中性甲醛溶液,再用 0.05 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液滴定至粉红色,记录滴定消耗的 0.05 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数。

1.4 结果表述

牛奶中蛋白质的含量

$$X(\text{g}/100 \text{ ml}) = \frac{C \times V_1 \times 0.014 \times 6.38 \times \frac{100}{5.006}}{V} \times 100$$

式中: C—氢氧化钠标准滴定溶液的浓度,单位为 mol/L; V<sub>1</sub>—加入中性甲醛溶液后,滴定试样消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为 ml; 0.014—

ml 1 mol/L 氢氧化钠标准溶液相当于氮的克数; 6.38—氮换算为蛋白质的系数; 100/5.006—经验常数,由本方法实测值与国标法(凯氏定氮)测定值相比较计算得出; V—样品的体积,ml 成品。计算结果保留三位有效数字。

2 结果与讨论

2.1 方法的精密度及准确度 取 4 种纯牛奶(经确证没有添加非蛋白质类的含氮物质),按本方法操作,平行测定 7 次,并和国标法《食品中蛋白质的测定》GB/T 5009.5—2003 测定结果比较,见表 1。

表 1 精密度及准确度试验

(n=7)

试样	甲醛值法			国标法			差值 (g/100 ml)
	$\bar{x}$ (g/100 ml)	s(g/100 ml)	RSD (%)	$\bar{x}$ (g/100 ml)	s(g/100 ml)	RSD (%)	
成品纯牛奶	3.14	0.092 1	2.93	3.10	0.143 5	4.63	+0.04
原料鲜牛奶	2.98	0.141 4	3.40	3.01	0.162 8	5.41	-0.03
成品纯牛奶	3.25	0.085 6	2.63	3.29	0.133 6	4.06	-0.04
成品纯牛奶	3.22	0.089 7	2.88	3.18	0.132 0	4.15	+0.04

试验结果表明,甲醛值法测定 4 种样品的相对标准偏差均小于 5%,方法的精密度良好;甲醛值法测定生鲜牛乳与市售纯牛乳中蛋白质的含量经与现行国家标准方法<sup>[1]</sup>对照,结果与国标法一致。国标 GB/T 5009.5—2003 规定,食品中蛋白质的测定方法的精密度,在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对值不得超过算术平均值的 5%,本方法的精密度 RSD % 2.63 ~ 3.40,国标法的精密度 RSD % 4.06 ~ 5.41;本法与国标法两种方法测定结果的绝对差值与其算术平均值之比小于 5%。

2.2 掺伪样品对照试验 分别在 10 ml 纯牛奶(经确证没有添加非蛋白质类的含氮物质)中掺入 0.05 g 尿素、0.1 g 氯化铵、0.1 g 碳酸铵,用甲醛值法和国标法分别测定蛋白质含量,结果见表 2。

表 2 掺伪样品对照试验

(n=3)

试样	甲醛值法 $\bar{x}$ (g/100 ml)	国标法 $\bar{x}$ (g/100 ml)
纯牛奶	3.11	3.06
纯牛奶 + 0.05 g 尿素	3.12	4.59
纯牛奶 + 0.1 g 氯化铵	3.14	4.72
纯牛奶 + 0.1 g 碳酸铵	3.10	4.16

试验结果表明,现行国标方法不能排除非蛋白氮对测定结果的影响,而甲醛值法有效地解决了非蛋白氮干扰问题,适用于牛奶与奶粉中重要的营养指标蛋白质的快速定量检验。

2.3 本方法与现行的国标方法(凯氏定氮法)相比,牛奶中蛋白质的测定时间缩短为 3 ~ 5 min,提高工作效率约 50 倍,适用于牛奶中蛋白质的快速定量检验。

2.4 加入草酸钾可以使其与乳中的钙生成不溶性稳定化合物,消除钙离子的影响,有利于终点的判断。

(志谢 本文得到衡水市疾病预防控制中心主任技师张永顺的指导,特此致谢!)

参考文献

[1] GB/T 5009.5—2003,食品卫生检验方法 理化部分(一);食品中蛋白质的测定[S].  
 [2] GB/T 12143.2-1989,果蔬汁饮料中氨基态氮测定方法 甲醛值法[S].

[收稿日期:2007-12-24]

中图分类号:R15;O655.2;TS252.2 文献标识码:B

文章编号:1004-8456(2008)03-0244-02