

植物和食品全氮含量测定方法的改进和优化

付宇新^{1,2}, 胡燕¹, 王莉¹, 贺义昌¹, 曹冰¹, 王召滢¹, 华小菊¹, 曾凡新¹

(1. 江西省林业科学院, 江西南昌 330013; 2. 江西农业大学林学院, 江西南昌 330045)

摘要 [目的] 为了减少化学废液排放, 降低检测成本, 提高检测效率, 对测定植物、食品全氮或蛋白质含量的标准方法提出改进和优化。[方法] 选择国家标准物质辽宁大米和芹菜作为检测样品, 采用减少称样量、硫酸、加速剂及蒸馏试剂量的改进方法和现行植物食品全氮测定标准方法进行试验, 并对结果进行比较。[结果] 使用改进方法测定样品中全氮含量, 其结果的 RSD 值小于 5%, 与标准物质指定值的相对误差均小于 5%, 说明改进优化后的测定方法的精密度及准确性符合检测分析的要求。[结论] 该方法减少了试剂药品的试验用量, 尤其是浓硫酸的使用量, 降低了检测成本, 效率有所提升, 对环境污染减少, 适合植物、食品全氮或蛋白质的测定, 可以推广使用。

关键词 全氮; 蛋白质; 凯氏定氮; 植物; 食品; 测定方法; 改进优化

中图分类号 TS 207.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)04-0198-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.04.053



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Improvement and Optimization of the Determination Method of Total Nitrogen in Plants and Food

FU Yu-xin^{1,2}, HU Yan¹, WANG Li¹ et al (1. Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang, Jiangxi 330013; 2. College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, Jiangxi 330045)

Abstract [Objective] In order to reduce the discharge of chemical waste liquid, reduce the cost of detection and improve the efficiency of detection, the improvement and optimization of the standard method for the determination of total nitrogen or protein content in plants and food were proposed. [Method] The national standard substances Liaoning rice and celery were selected as the test samples, and the improved method of reducing the sample amount, sulfuric acid, accelerant and distillation reagent, and the current standard method of determination of total nitrogen in plant food were used for the test, and the results were compared. [Result] The improved method was used to determine the total nitrogen content in the sample. The RSD value of the result was less than 5%, and the relative error with the standard material value was less than 5%, indicating that the precision and accuracy of the improved and optimized determination method met the requirements of detection and analysis. [Conclusion] The method reduces the test dosage of reagents and drugs, especially the use of concentrated sulfuric acid, reduces the detection cost, improves efficiency, reduces environmental pollution. It is suitable for the determination of total nitrogen or protein in plants and food, and can be popularized and used.

Key words Total nitrogen; Protein; Kjeldahl nitrogen; Plant; Food; Determination method; Improvement and optimization

氮是植物生长发育过程中必不可少的大量营养元素, 是构成蛋白质、核酸、叶绿素及各种酶等的重要成分, 一般占植物组织干物重的 0.3%~5.0%, 它直接影响到植物生长发育、产量和品质^[1-2]。及时掌握植物的全氮或蛋白质含量, 在生产经营和科学研究上有着非常重要的意义^[3-6]。因此, 植物或食品样品中氮含量的测定成为营养分析和评价中最重要的项目之一。

目前, 关于氮含量测定的方法主要有蒸馏法^[7-10]、分光光度法和燃烧法等^[11-17], 其中凯氏定氮法是目前各实验室测定样品氮或蛋白质含量最主要的方法。该方法是丹麦人开道尔 1883 年研究蛋白质时提出来的, 主要原理是用浓硫酸消煮, 借助催化剂加速有机质的分解, 使有机氮转化为无机态的铵态氮, 最后用标准酸滴定蒸馏出的氨^[8]。我国现行有效的 GB 5009.5—2016、LY/T 1228—2015、NY/T 2017—2011 等标准方法选择采用凯氏定氮法作为第一法或主要方法, 但这些标准方法都有不同的适用范围, 针对的样品类型有所不同。在 GB 5009.5—2016 标准方法中, 试样处理过程对于硫酸、硫酸铜和硫酸钾的消耗大, 不仅增加检测成本, 而且由于试剂药品的消耗多, 必定对环境造成一定程度的影响^[17]。因此, 该研究通过试验, 对植物或食品凯氏定氮法的氮含量

测定方法进行改进和优化, 尝试减少称样量, 减少硫酸、硫酸铜、硫酸钾及蒸馏反应试剂的加入量, 以缩短消解时间, 减少化学废液产生, 提高检测效率, 以期探寻更为高效、准确、低污染测定植物和食品氮或蛋白质含量的测定方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料 国家标准物质芹菜 GBW10048 (GSB-26)、辽宁大米 GBW10043 (GSB-21), 生物成分分析标准物质, 中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所。

1.2 仪器与试剂 全自动凯氏定氮仪 (瑞士步琪, K-360); 自动电位滴定仪 (瑞士万通, 877); 电子天平 (梅特勒, ME104E); 石墨消解仪 (济南精锐, JKXZ10-20B)。硫酸、硼酸、氢氧化钠等购自南昌华科化玻生物仪器有限公司; 去离子水为实验室纯水仪自制。

1.3 试验方法

1.3.1 试验原理。 样品中的含氮有机化合物在加速剂的催化加热下被分解, 产生的氨与硫酸结合生成硫酸铵。碱性蒸馏使氨游离, 用硼酸吸收后以硫酸或盐酸标准滴定溶液滴定, 根据酸的消耗量计算氮含量, 即为样品中全氮的含量。

1.3.2 试验处理。

1.3.2.1 方法一(改进方法)。 分别精确称取 0.1~0.2 g (精确至 0.000 1 g) 的标准物质芹菜 (GSB-26) 和辽宁大米 (GSB-21), 加入开氏消解管中。每个消解管内加入加速剂 (混合加速剂配制: 硫酸钾 100 g、硫酸铜 10 g, 研磨成粉, 混合均匀)

基金项目 江西省林业科学院重大科技项目 (2018512101)。

作者简介 付宇新 (1983—), 男, 湖北黄冈人, 助理研究员, 硕士, 从事森林培育研究。

收稿日期 2020-08-04; 修回日期 2020-08-18

2 g,缓慢加入浓硫酸 5 mL。放入石墨消解仪中,按照设定消解程序(表 1)进行消解,消解完全后,取出,待冷却至室温后,上机备测。

表 1 消解参数设置
Table 1 Digestion parameter settings

阶段 Program	温度 Temperature// $^{\circ}\text{C}$	保持时间 Holding time//min
1	220	20
2	380	20
3	420	80

1.3.2.2 方法二(国标方法)。参考《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》GB 5009.5—2016 中第一法自动凯氏定氮法的分析方法,分别精确称取 0.1~0.2 g(精确至 0.000 1 g)的标准物质芹菜(GSB-26)和辽宁大米(GSB-21),加入开氏消解管中。每个消解管内加入加速剂(硫酸钾 6 g、硫酸铜 0.4 g),缓慢加入浓硫酸 20 mL。放入石墨消解仪中,按照设定消解程序(表 1)进行消解,消解完全后,取出,待冷却至室温后,上机备测。

1.3.3 全氮测定。参考《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》GB 5009.5—2016 中第一法自动凯氏定氮法的分析方法,全自动凯氏定氮仪参数设置为氢氧化钠溶液 70 mL、纯水 10 mL、硼酸溶液 50 mL,蒸馏时间 5 min。

2 结果与分析

2.1 试验方法的精密度和准确度分析 选择芹菜和辽宁大

米 2 种高氮含量的国家标准物质作为代表性样品进行研究,采用上述方法一(改进方法)和方法二(国标方法)分别试验 4 次,测定结果见表 2~3。

通过减少硫酸和加速剂使用量进行样品全氮消解,即方法一,并进行全自动凯氏定氮结合全自动电位滴定分析,辽宁大米和芹菜的检测结果分别为 1.23%、2.63%(以质量分数计),而用国家食品安全标准 GB 5009.8—2016 的凯氏定氮法,即方法二,检测结果分别为 1.22%和 2.68%。从两者的检测结果来看,方法一和方法二测定结果基本一致。在 2 种方法处理下,每组试验数据结果的相对标准偏差均小于 5%,说明 2 种方法的精密度均良好。

每组试验获得的辽宁大米和芹菜样品全氮含量与国家标准物质证书认定值进行相对误差的计算,辽宁大米的全氮含量与标准物质认定值之间的相对误差分别是 3.59%(方法一)和 4.76%(方法二),芹菜的分别为 1.33%和 3.08%,方法一所测的数据结果相对误差均小于方法二所测得的数据结果,可见改进后的样品处理方法稍好于国家食品标准方法。同时它们的相对误差均在 5%以下,由此可以说明 2 种方法的检测准确性较高,满足检测分析的质量要求。

以上结果表明,在植物和食品中全氮或蛋白质含量检测工作中,针对全氮或蛋白质含量较高的样品或一般样品,通过减少称样量和硫酸用量的处理方法,或者在不改变称样量的前提下,减少硫酸使用量,均能获得准确的检测结果,证明这样的改进和优化是可行的。

表 2 辽宁大米全氮含量测定结果

Table 2 Determination results of total nitrogen content of Liaoning rice

方法 Method	称样量 Sample weight//g	全氮含量 Total nitrogen content//%	平均值 Mean value %	标准物质认定值 Certified reference value//%	RSD %	相对误差 Relative error//%
方法一 Method 1	0.156 2	1.24	1.23	1.28	0.64	3.59
	0.171 8	1.23				
	0.139 7	1.22				
	0.114 5	1.24				
方法二 Method 2	0.254 3	1.19	1.22	1.28	1.58	4.76
	0.115 7	1.23				
	0.109 2	1.23				
	0.120 9	1.23				

表 3 芹菜全氮含量测定结果

Table 3 Determination results of total nitrogen content of celery

方法 Method	称样量 Sample weight//g	全氮含量 Total nitrogen content//%	平均值 Mean value %	标准物质认定值 Certified reference value//%	RSD %	相对误差 Relative error//%
方法一 Method 1	0.054 4	2.67	2.63	2.60	1.17	1.33
	0.139 6	2.63				
	0.144 8	2.63				
	0.240 4	2.60				
方法二 Method 2	0.232 9	2.67	2.68	2.60	0.85	3.08
	0.183 8	2.67				
	0.122 5	2.71				
	0.099 2	2.66				

2.2 2种方法试剂和耗时比较 方法一和方法二对样品的前处理过程是相同的,不同的是所加试剂药品用量。对2种方法的试剂和耗时进行比较,结果发现(表4),方法一即改进优化方法,试样处理仅需要加5 mL硫酸、2.0 g加速剂(硫酸铜和硫酸钾);而方法二即国标方法,则需要加入20 mL硫酸、6.4 g加速剂,其硫酸用量是方法一的4倍,加速剂用量也相差3倍。目前,对样品氮含量测定的消解仪以20孔为主,那么完成一批(以20支消解管算)试验则可以直接减少硫酸用量300 mL,减少加速剂(硫酸钾和硫酸铜)用量88.0 g。通过比较可以明显看出,改进方法后,极大减少了硫酸和加速剂的使用量,降低了检测成本。同时,方法一蒸馏检测过程,氢氧化钠溶液使用量是40 mL/支消解管和硼酸溶液的用量

是30 mL/支消解管,均比方法二减少近50%,如果按照每批试验使用20支消解管计算,则可以减少氢氧化钠溶液和硼酸溶液分别为600和400 mL,能够有效减少化学废液的产生和排放,一定程度上可以减少对环境的污染。

试样消解处理时间上进行比较,方法一每批样品(以20支消解管)所需时间是150 min,比方法二缩短了30 min。而上机测试时间,方法一比方法二节省1 min左右,这主要是由于酸量减少,最终蒸馏液中游离的 NH_4^+/H^+ 增大,能够迅速进入中和滴定阶段,缩短了到达滴定电位等电点时间,快速获得结果。整体上来看,方法一在检测效率上会有一些的提升,不仅减少了能源和水的消耗,而且有效地降低了人员劳动强度。

表4 2种方法的试剂和耗时比较

Table 4 Comparison of reagents and time-consuming of the two methods

方法 Method	氢氧化钠 Sodium hydroxide mL	硼酸 Boric acid mL	纯水 Pure water mL	硫酸 Sulfuric acid mL	加速剂 (硫酸钾和硫酸铜) Accelerators (potassium sulfate and copper sulfate) g	称样量 (根据实际样品) Sample weight (according to actual sample) // g	平均每批样前处理时间 Average pre-processing time per batch // min	凯氏定氮仪上机测试时间(一支消解管) Test time of Kjeldahl nitrogen analyzer (one digestion tube) // min
方法一 Method 1	40	30	10	5	2.0	0.1~0.2	150	4
方法二 Method 2	70	50	10	20	6.4	0.1~0.2	180	5
方法一可节省试剂和时间 (以20支消解管每批次计算) Method 1 can save reagent and time (in terms of 20 digestion tubes per batch)	600	400	—	300	88.0	—	—	1

3 结论与讨论

目前,检测土壤、植物和食品中全氮或蛋白质含量时,一般采用凯氏定氮法,即通过加入加速剂和硫酸消解后进行滴定的方法。国内根据凯氏定氮法制定了GB 5009.5—2016、LY/T 1228—2015、NY/T 2017—2011等标准方法,这些标准方法适用范围虽然不同,但全氮含量测定均涉及消解、蒸馏和滴定等关键分析步骤。针对植物和食品类样品测定全氮或蛋白质含量,可以通过减少称样量、减少硫酸和加速剂的使用量,且优化样品前处理过程,缩短试验时间,降低劳动强度,达到检测结果的准确性。通过这样的方法改进和优化,进而实现硫酸使用量的极大减少,加上优化消解测试程序后,缩短整个分析测试时间,不仅降低了试验成本,节约时间和能耗,而且减少试剂药品的使用量,从而有效减少对环境的污染。

参考文献

[1] 戴建军,王洪亮,程岩.测定植物样品全氮含量的两种方法比较[J].东北农业大学学报,2000,31(1):36-38.
 [2] 王慧.半微量蒸馏法测定植物的全氮含量[J].现代农业科技,2012(22):226.
 [3] 蔡宏亮.冷水胁迫下施氮量对水稻氮代谢和氮素利用率的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2016.
 [4] 上官周平,李世清.旱地作物氮素营养生理生态[M].北京:科学出版

社,2004.
 [5] 陈雅君,闫庆伟,张璐,等.氮素与植物生长相关研究进展[J].东北农业大学学报,2013,44(4):144-148.
 [6] 刘惠娟,梁建萍,李传宝.黄芪饲草的品质评价[J].山西农业科学,2016,44(3):306-309,317.
 [7] SHARIFI M,ZEBARTH B J,BURTON D L,et al.Sodium hydroxide direct distillation:A method for estimating total nitrogen in soil [J].Communications in soil science and plant analysis,2009,40(15/16):2505-2520.
 [8] 鲍士旦.土壤农化分析[M].3版.北京:中国农业出版社,2000.
 [9] 李阳.复混肥料中总氮含量测定方法的改进[J].浙江农业科学,2014,55(11):1751-1752.
 [10] WOJCIECHOWSKI K L, BARBANO D M.Modification of the Kjeldahl noncasein nitrogen method to include bovine milk concentrates and milks from other species[J].Journal of dairy science,2015,98(11):7510-7526.
 [11] 彭建平,曾淦宁,周燕,等.海藻总氮含量测定方法研究[J].海洋环境科学,2009,28(S1):72-75.
 [12] 林青,徐瑛.水中总氮测定分析方法的改进[J].分析测试学报,2000,19(3):63-65.
 [13] 张丰如,何江.微波消解-紫外分光光度法测定水中总氮[J].分析测试学报,2006,25(3):112-114.
 [14] 张英利,许安民,尚浩博,等.连续流动分析仪测定土壤硝态氮和有效磷的试验及改进[J].中国土壤与肥料,2008(2):77-80.
 [15] 吴晓荣,叶祥盛,赵竹青.流动注射法与凯氏定氮法测定土壤全氮的比较[J].华中农业大学学报,2009,28(5):560-563.
 [16] MARCÓ A,RUBIO R,COMPANÓ R,et al.Comparison of the Kjeldahl method and a combustion method for total nitrogen determination in animal feed [J].Talanta,2002,57(5):1019-1026.
 [17] 范志影,刘庆生,张萍.用凯氏法和杜马斯法测定植物样品中的全氮[J].现代科学仪器,2007(1):46-47.