

凯氏定氮仪法测定血液（粉末）中的蛋白质

方案编号：HM-KDN-002

适用仪器：HM-DN2、HM-DN3 全自动凯氏定氮仪、HM-SM 系列石墨消化炉

发布日期：2026 年 9 月 29 日

1 前言

蛋白质是生命活动的主要承担者，血液粉末（如血粉、血红蛋白粉、血浆蛋白粉等）是以新鲜动物血液为原料，经喷雾干燥、冷冻干燥或真空干燥等工艺制成的粉末状产品，具有蛋白质含量高（通常可达 80%以上）、氨基酸组成均衡、消化吸收率高等特点，是优质蛋白补充剂和功能食品配料，广泛应用于保健食品、运动营养品、动物饲料及生物医药等领域。我国相关标准对不同用途的血液粉末均有明确的蛋白质含量要求，准确测定血液粉末中的蛋白质含量对原料质量控制、产品分级及市场准入具有重要意义。

本方案依据《GB 5009.5-2025 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中第一法凯氏定氮法的全自动凯氏定氮仪法（5.2 节），采用全自动凯氏定氮仪配合石墨消化炉进行测定。血液粉末为高蛋白、高氮基质样品，蛋白质含量可达 70-95%，与大豆样品（约 35-40%）相比，具有蛋白质含量极高、含氮量高的特点，在取样量、消解条件及计算结果等方面均需特殊优化。本方案针对血液粉末的高蛋白特性进行了专项参数调整，具有取样量小、消解完全、结果准确的特点，适用于血粉、血红蛋白粉、血浆蛋白粉等高蛋白粉末样品的批量检测。

2 仪器与试剂

2.1 仪器

HM-DN2/HM-DN3 全自动凯氏定氮仪（配有滴定系统、蒸馏系统，可直接对消化管进行蒸馏滴定），HM-SM 系列石墨消化炉（控温精度 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，最高温度 $\geq 420^{\circ}\text{C}$ ），分析天平（感量 0.001 g，推荐使用感量 0.0001 g），消化管（与消解仪和定氮仪配套），移液管、量筒等玻璃器皿，粉碎机（用于样品粉碎，血液粉末通常无需粉碎），干燥器（用于样品保存）。

仪器说明：血液粉末蛋白质含量极高（70-95%），取样量极小约 0.1 g，强烈推荐
使用万分之一天平（感量 0.0001 g）以确保称量准确性。



图 1 全自动凯氏定氮仪及石墨消化炉外观图

2.2 试剂

硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)，硫酸钾 (K_2SO_4)，硫酸 (H_2SO_4 , 98%)，氢氧化钠 (NaOH)，硼酸 (H_3BO_3)，硫酸标准滴定溶液 [$c(1/2\text{H}_2\text{SO}_4)=0.1\text{mol/L}$]，甲基红指示剂 (1 g/L 乙醇溶液)，溴甲酚绿指示剂 (1 g/L 乙醇溶液)，混合指示剂 B: 1 份甲基红乙醇溶液与 5 份溴甲酚绿乙醇溶液混匀，水: 符合 GB/T 6682 规定的三级水。

3 实验方法

3.1 试样制备

取具有代表性的血液粉末样品，检查是否有结块现象。若粉末均匀、流动性好，可直接称量；若有结块，应用粉碎机轻轻打散（避免过度粉碎导致样品损失），充分混匀后装入密闭干燥容器中备用。

关键点: 血液粉末极易吸潮，应保存在干燥器中，称量时应快速操作，避免吸湿影响称量准确性。

3.2 试样称量与消解

准确称取血液粉末试样约 0.1 g（精确至 0.0001 g），置于干燥的消化管中。依次加入：硫酸铜 0.4 g，硫酸钾 6 g，硫酸 15 mL。

轻轻摇匀，将消化管置于石墨消化炉上。启动消解程序，420℃恒温消解至少 1.5h，直至消解液呈蓝绿色透明状，确保消解完全。

消解说明: 血液粉末蛋白质含量极高，且含有血红素铁等复杂有机成分，消解时间需较大适当延长至 1.5-2 h，以确保蛋白质彻底分解和铁等矿物质的完全氧化。

消解结束后，取下消化管冷却至室温。无需转移消解液，消化管可直接用于后续蒸馏滴定。同时进行空白试验（不加样品，其余步骤相同）。



图 2 石墨消化炉消解过程图

3.3 蒸馏与滴定

开机预热全自动凯氏定氮仪，检查碱液（氢氧化钠溶液）、吸收液（硼酸溶液+混合指示剂 B）、滴定液（硫酸标准滴定溶液）是否充足。

将含有消解液的消化管（包括试样和空白）依次放入定氮仪的样品盘上。

根据仪器操作说明，设置蒸馏滴定参数（如加碱量、蒸馏时间、接收液体积等）。仪器将自动加入氢氧化钠溶液碱化蒸馏（加碱量根据消解用酸量设定，通常为酸体积的 4 倍）进行碱化蒸馏，释放的氨被硼酸吸收，然后用硫酸标准滴定溶液自动滴定至终点（混合指示剂 B 由蓝绿色变为浅灰红色）。

仪器自动记录滴定体积并计算蛋白质含量。分别记录试样消耗体积 V_1 和空白消耗体积 V_0 。



图 3 滴定参数设置界面及全自动凯氏定氮仪工作图片

4 结果与讨论

4.1 计算公式

试样中蛋白质含量按下式计算（适用于全量蒸馏，即全部消解液用于蒸馏）：

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \times c \times 0.0140 \times F \times 100}{m}$$

式中：

X — 试样中蛋白质含量，单位为克每百克（g/100g）

V_1 — 滴定试样消解液消耗硫酸标准滴定溶液的体积，单位为毫升（mL）

V_0 — 滴定空白消解液消耗硫酸标准滴定溶液的体积，单位为毫升（mL）

C — 硫酸标准滴定溶液的浓度，单位为摩尔每升（mol/L），此处为 $c(1/2H_2SO_4)$

0.0140 — 与 1.00 mL 硫酸标准滴定溶液 [$c(1/2H_2SO_4)=1.000$ mol/L] 相当的氮的质量，单位为克每毫摩尔（g/mmol）

m — 试样质量，单位为克（g）

F — 蛋白质折算系数（大豆及其制品取 6.25）

100 — 换算为每百克试样的系数

注：全自动凯氏定氮仪内置上述计算公式，可直接读取蛋白质含量结果。

4.2 测试结果

样品名称	取样量（g）	滴定体积 V ₁ （mL）	蛋白质含量（g/100g）	平均值（g/100g）
鸭血清粉末 样品 1-1	0.0826	6.26	70.7	70.6
鸭血清粉末 样品 1-2	0.149	11.228	70.6	
鸭血球样品 2	0.1204	11.204	87.1	87.1

注 1：硫酸标准滴定溶液浓度 $c = 0.1075\text{mol/L}$ ； V_0 ：0.05mL。

注 2：蛋白质折算系数 $F = 6.25$ ，结果保留三位有效数字。

蛋白质检测

返回

人员管理

检测人员
被检单位
检测单位
联系电话

检测结果

滴定体积
含氮量
蛋白质含量

6.260
11.3148%
70.7177%

项目管理

项目名称
血液粉末蛋白
标准酸浓度(mol/L)
0.1075
样品质量(g)
0.0826
空白体积(mL)
0.05
加酸体积(mL)
50
加稀释液体积(mL)
20
加碱体积(mL)
60
蒸馏时间(min)
6
蛋白质系数
6.25
指示剂
甲基红:溴甲酚绿=1:5

自动检测

空白检测

样品检测

手动检测

项目类型

保存项目

设置系数

保存人员

打印

上传

仪器调试

图 4 检测结果截图

4.3 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%（因蛋白质含量>10 g/100g），符合 GB 5009.5-2025 标准要求。

5 方案特点与优势

5.1 针对血液粉末样品的方法优势

- 样品代表性：通过粉碎过筛确保样品均匀，避免颗粒大小差异导致消化不完全。
- 消解高效：石墨消化炉温控精准，420℃恒温消解，消解时间适当延长至 1.5-2 h，确保蛋白质彻底释放。
- 流程简化：消解后直接上机，无需转移定容，减少操作步骤和人为误差。

5.2 仪器设备优势

- 石墨消化炉：加热均匀、升温快、耐腐蚀，可同时处理多批样品，提高效率。
- 全自动凯氏定氮仪：自动化完成加碱、蒸馏、滴定、计算，结果直接读取，数据可存储导出，符合现代实验室对智能化、可追溯的要求。

5.3 关键操作要点

- 样品保存：血液粉末极易吸潮，应保存在干燥器中，称量时快速操作，避免长时间

暴露空气中。

消解终点判断：消解液应呈蓝绿色透明状，高蛋白+铁的复杂基质，建议消解 1.5-2 h，中间可取出检查，如有黑色残留继续消解确保氮完全释放。

碱液添加量：加碱量应根据消解时加入的硫酸量确定。通常碱液（40% NaOH）的添加量应为消解用浓硫酸体积的 4 倍左右，以确保完全中和硫酸并使溶液呈强碱性。

碱量是否充足的判断：可通过观察反应液颜色变化来判断。硫酸铜在碱性条件下会生成褐色沉淀（氧化铜），若蒸馏时溶液颜色未发生变化，说明碱液添加量不足，需要补加。

空白控制：空白值应稳定且低（通常 $V_0 < 0.2 \text{ mL}$ ），若偏高需检查试剂纯度、消化管清洁度或蒸馏系统密封性。

滴定液浓度：定期标定硫酸标准滴定溶液，确保浓度准确；注意使用与浓度匹配的滴定管精度。

折算系数：与大豆蛋白质折算系数一致为 6.25。

6 结论

本方案采用全自动凯氏定氮仪配合石墨消化炉，建立了血液粉末中蛋白质含量的测定方法。方法严格遵循 GB 5009.5-2025 国家标准，针对血液粉末蛋白质含量极高（70-95%）、易吸潮、含铁量高的特点，在取样量 0.1g、消解时间（1.5-2 h）及天平精度（万分之一）等方面进行了专项优化。该方法取样量小、消解完全、结果准确可靠，适用于血粉、血红蛋白粉、血浆蛋白粉等高蛋白粉末样品的批量检测，可为血液深加工产品的质量控制提供有力支持。

7 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].
- [2] GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备[S].

本文档为通用技术方案，具体仪器操作请参考对应设备说明书。