饲料分析中粗蛋白检测的误差分析*

李晓华

摘要：本文通过选取预混料、全价料、豆粕、菜籽粕、鱼粉五种实验材料，对五种样品进行粗蛋白检测，对在饲料的粗蛋白检测中容易产生的误差，进行了分析。

关键词：粗蛋白；误差；分析
中图分类号：S816.17 文献标识码：B 文章编号：1003－871X(2000)03－0074－03

随着近年来养殖业的大规模兴起，饲料质量成为影响养殖专业户们经济效益的一个主要因素。而粗蛋白常是检验饲料质量的一个重要营养指标。在粗蛋白检测中，常用微量凯氏定氮法进行检测。我们在对近百个样品进行检测的过程中发现，在操作中存在着诸多影响因素，极易产生误差，本文就此作出了较全面的分析。

1 方法

饲料分析中，常进行粗蛋白检测的饲料主要有预混料、全价料、豆粕、菜籽粕和鱼粉。其方法常用凯氏定氮法。它的原理是利用蛋白质的共性——都含有氮。通过测量含氮量，从而测定出蛋白质的含量。其步骤可分为以下三步：

1.1 消化

有机含氮物与浓硫酸混合加热消化，使前者全部分解，其中含有的碳氧化成 CO_2 逸散，所含的氮生成为 NH_3，并与 H_2SO_4 化合成 $(NH_4)_2SO_4$，残留于消化液中，反应式如下：

$$有机物 + H_2SO_4 \longrightarrow CO_2\uparrow + (NH_4)_2SO_4 + H_2PO_4 + SO_2\uparrow$$

上述有机含氮物质反应进行很慢，消化往往需费很长时间，为了加速反应，常加催化剂——硫酸铜 0.4 克＋硫酸钾 6 克，两者混合使用起着加速氧化，促进有机物分解的作用。

1.2 蒸馏

消化所得到的 $(NH_4)_2SO_4$ 与浓 NaOH 作用，分解出 NH_4OH，用水蒸汽将 NH_3 蒸到一定量，一定浓度，至含有批示剂的 H_3BO_4 溶液中，H_3BO_4 吸收 NH_3 后，溶液中 H^+ 浓度降低，指示剂变色，反应式如下：

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \longrightarrow 2NH_4OH + Na_2SO_4$$

$$NH_4OH \longrightarrow NH_3\uparrow + H_2O$$

$$NH_3 + H_3BO_4 \longrightarrow (NH_4)H_2BO_4$$

1.3 滴定

用标准无机酸滴定，使 H_3BO_4 吸收液恢复到原来 H^+ 浓度，最后根据所用标准酸的当量数计算出特测物中的总氮量。反应式如下：

$$(NH_4)H_2BO_4 + HCl \longrightarrow NH_4Cl + H_3BO_4$$

2 误差分析

凯氏定氮法是食品工业、饲料分析、种子品质鉴定及生化研究测定含氮量经常使用的较为精确的方法。笔者在经过多次粗蛋白检测的过程中发现，尽管微量凯氏定氮法步骤简单，精确度高，但在操作过程中存在诸多的影响因素，极易产生误差。

2.1 样品粉碎度对粗蛋白测定的影响

在粗蛋白检测中，要求被测样品粉碎至 40 目，粉碎必须完全，如果被测样品只取部分进行粉碎，检测结果将出现偏差，以下是在样品完全粉碎和部分粉碎情况下所取得的数据，对照如下：

* 收稿日期：2000—03—20

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

被测样品 \ Pr值	完全粉碎	部分粉碎
全价料	23.38%	25.64%
菜籽粕	34.56%	36.03%
豆粕	43.37%	45.28%
鱼粉	50.44%	53.27%

从以上数据可以看出，如果被测样品粉碎不完全，测定结果，粗蛋白的含量偏高。

2.2 消化对粗蛋白测定的影响

消化是粗蛋白测定的第一个主要步骤。消化的程度和时间以及火力控制对测定结果起着关键的作用。

2.2.1 在消化过程中，要严格控制火力的大小和消化时间，刚开始消化时，应用小火力加热，使定氮烧瓶内的反应物碳化变黑，同时产生大量泡沫。此时的火力要控制在能使烧瓶内的黑色反应物沸腾，但又不会冲到瓶颈。待20分钟左右泡沫消失，蒸汽和SO_2均匀放出时，可稍微加大火力15－20分钟，消化液变绿后，为了加速完成消化，可以再加大火力。如果消化过程中不控制火力的大小，一开始就大火加热，就会使反应液往瓶口上冲，上升到烧瓶颈部，使反应物粘在瓶颈，影响样品的测定结果。

2.2.2 消化时间的长短控制也很重要，消化时间太短，待测物消化不彻底，会造成测定结果偏低；消化时间过长，会使消化生成的NH_3挥发走，也会引起测定结果偏低。笔者经过近百个样品测试，发现各种被测样品的消化时间大致如下：

被测样品	消化时间(消化液变绿后)
预混料	2.0hr
全价料	2.0hr
菜籽粕	2.5hr
豆粕	2.5hr
鱼粉	3.0hr

2.3 空白试验对粗蛋白检测的影响

在粗蛋白检测中，空白实验对误差的消除也起着至关重要的作用，根据公式：

$$P_t\% = \frac{(V_2 - V_1) \times C \times 0.04 \times 6.25}{m \times V/V_0} \times 10$$

(其中，V_1表示空白试验时，滴定空白溶液所需的HCl标准液消耗体积)

空白试验时的HCl标准液滴定数值直接影响到粗蛋白的含量，所以，为了减少误差，空白试验应力求精确，最好在蒸馏待测样品前进行。

2.4 蒸馏对粗蛋白检测的影响

2.4.1 凯氏定氮法蒸馏过程中，要求整套装置呈密闭状态，所以在蒸馏前应检查定氮仪各连接处是否玻璃管与玻璃管对接吻合，外套橡皮管大小是否合适，以免产生轻微泄漏而不易察觉，从而影响检测结果。

2.4.2 在使用凯氏定氮仪蒸馏的过程中，开关的掌握也很重要。凯氏蒸馏装置中有三个开关：一个在蒸汽发生器与贮液瓶及反应管之间(A开关)；一个是储液瓶下端的一个开关(B开关)；一个在反应管上端加样品的漏斗与反应管之间(C开关)。在加样时，打开C开关的同时，既要关上A开关，使蒸汽无法通到反应室，也要打开B开关。如果不关闭A开关，蒸汽通到反应室会使反应液在加入反应室的同时，温度就上升，反应液中产生的

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

NH_3 就会在加样过程中从 C 开关溢出，导致结果严重偏低，而 B 开关如果在加样时关闭，就会使样品一加入反应室，就倒吸到贮液瓶中，使蒸馏无法进行。在样品加完后，要及时关闭 B 开关和 C 开关，同时打开 A 开关，才能使蒸馏顺利进行。

2.4.3 在蒸馏过程中还应注意，在每次定容后的试样分解液吸取一定量进行蒸馏前，一定要将冷却后定容好的分解液充分摇匀，要使分解液中的沉淀（催化剂）被摇至均匀悬浮在分解液中为止。如果未摇匀或摇得不均匀，同一个样品的两个平行样，测出的结果偏差非常大，如下表：

	HCl 标准液滴定 ml 数	Pr 值	相对误差(%)
未摇匀	V_1 = 4.24ml V_2 = 4.58ml	52.25% 56.57%	7.94
摇　匀	V_1 = 4.24ml V_2 = 4.25ml	52.25% 52.38%	0.25

2.5 滴定对粗蛋白检测的影响

由于普通酸式滴定管管口较大，一滴的量多，为 0.08ml，在滴定 H_3BO_4 吸收液由蓝绿到灰红的终点过程中，极易滴定过量，过量后，继续滴加 HCl 标准液，H_3BO_4 吸收液的颜色变化并不明显，我们用同样两瓶 H_3BO_4 吸收液作对比，其中一瓶滴定过量，结果发现，其终点颜色和滴定精确的终点颜色差别不大，由此说明，在滴定过程中若用普通酸式滴定管滴定，很容易造成滴定过量。同样一组平行样，其滴定所用的 HCl 标准液量偏差较大。如下表：

滴定管	所用 HCl 标准液量 (ml)	Pr 值(%)	相对误差(%)
普通酸式滴定管	V_1 = 4.12 V_2 = 4.36	44.12 44.72	1.36
微量滴定管(2ml)	V_1 = 4.12 V_2 = 4.13	44.12 44.22	0.23

此外，在滴定中，因为不同操作者对滴定终点颜色变化的判断会有差别，滴定过程中颜色变化的不同会引起滴定结果的半滴至一滴之差，而半滴之差就会引起测定结果达 1% 以上的偏差。

参考文献：

1、沈　同，王镜岩．生物化学[M]．北京：人民教育出版社，1980，4.

2、夏玉宁，朱　丹．饲料质量分析检验[M]．北京：化学工业出版社，1994.

3、袁玉莉．生物化学实验[M]．北京：高等教育出版社，1979，5.

4、蔡城武．生物物质常用化学分析法[M]．北京：科学出版社，1982.

5、宓怀风．生物化学[M]．天津：南开大学出版社，1990，6.

6、李建武．生物化学[M]．北京：北京大学出版社，1990，3.

7、杨　胜．饲料分析及饲料质量检测技术[M]．北京：北京农业大学出版社，1993，1.

The error analysis in the forage crude protein test

Li Xiao-hua

Abstract: This paper analyses the errors in the forage crude protein test, which is based on the samples of the fine experimental materials such as gunk, complete feed, bean dregs, rapeseed dregs and fesh protein concentrate.

Keywords: crude Protein; error; analysis

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net