

快速滴定法测定原料乳蛋白质的条件控制

张丹¹,夏杨毅^{1,2,3},张斌斌¹,尚永彪^{1,2,3,*}

(1.西南大学食品科学学院,重庆 400715;

2.农业部农产品贮藏保鲜质量安全评估实验室(重庆),重庆 400715;

3.重庆市特色食品工程技术研究中心,重庆 400715)

摘要:目的:实验快速滴定法直接测定原料奶中蛋白质含量的可行性及掺杂物对该法的干扰程度,为原料奶验收和大批量样品检测提供快速有效的测定方法。方法:分别对快速滴定法的测定条件、操作步骤、终点判定进行反复实验,采用干燥法和凯氏定氮法对结果准确性进行验证。结果:样品取样量为1.00mL,用1.00mL 0.1mol/L盐酸控制酸度时,采用2次滴定法,消耗4.50mL 0.2% SDS,得到理想结果;与凯氏定氮法和仪器法所得结果相比,无显著差异($p>0.05$)。以凯氏定氮法为标准,得到两种方法之间的数量关系,即消耗1.00mL 0.2% SDS相当于含蛋白质 7.53×10^{-3} g。一定浓度范围内的非蛋白氮掺杂物对快速滴定法测定原料奶中蛋白质的含量也无明显影响。结论:本法操作简便、结果准确,可满足原料奶验收、大批样品测定和实时掌控牛奶品质状况的要求,在奶业生产领域具有非常明显的推广应用价值。**关键词:**快速滴定法,十二烷基硫酸钠(SDS),牛奶,蛋白质,三聚氰胺,尿素

The condition control for determination of protein in raw milk by rapid titration

ZHANG Dan¹, XIA Yang-yi^{1,2,3}, ZHANG Bin-bin¹, SHANG Yong-biao^{1,2,3,*}

(1.College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2.Quality and Safety Risk Assessment Laboratory of Products Preservation (Chongqing), Ministry of Agriculture, Chongqing 400715, China;

3.Chongqing Special Food Programme and Technology Research Center, Chongqing 400715, China)

Abstract: Objective: To test the feasibility that the direct determination of protein content in raw milk by rapid titration and the interference degree of adulteration to this method, which can provide a quick and effective way to accept the raw milk and test a large number of sample. Methods: To research the determination condition, operation steps, and the endpoint determination of rapid titration by trial and error, using the dry method and the Kjeldahl method to verify the accuracy of the results. Results: Results showed in the process of titration, 1.00mL sample, with 1.00mL 0.1mol/L HCl to control acidity, consumed 4.50mL 0.2% SDS, the ideal results were obtained by second titration. Compared with Kjeldahl determination and TNM-1 instrument method, the results had no significant difference ($p>0.05$). On the basis of kjeldahl determination, quantitative relationship between the two methods was obtained, namely costing 1.00mL 0.2% SDS was equivalent to 7.53×10^{-3} g protein. A certain concentration range of non-protein nitrogen dopant had no obvious effect on the determination of raw milk protein. Conclusion: The operation of this method was simple, the result was accurate, and it could meet the acceptance of raw milk, a large number of samples of milk quality measurement and real-time control the milk quality, with a very significant application value in dairy production.

Key words: rapid titration; sodium dodecyl sulfate (SDS); milk; protein; melamine; urea

中图分类号: TS252.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)20-0072-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.20.007

生产实践中,牛奶的重大安全问题常发生在原料奶上^[1],如用三聚氰胺等各种非蛋白氮掺杂物冒充

蛋白质^[2-3]。由于原料奶在验收时主要进行感官和物理指标测试^[4-5],蛋白质因凯氏定氮法的繁琐操作和耗时而不能常检测,即使检测,凯氏定氮法也不能发现这类非蛋白氮异物,在掺假鉴别中,不能独立发挥作用,在大批量样品、原料奶验收及生产贮运环节频度很高的实时检测中也不适合采用。因此,国内外学者对于乳制品中蛋白质的快速测定和原料奶的快速验

收稿日期: 2014-02-11

作者简介: 张丹(1990-),女,硕士研究生,研究方向:食品微生物。

* 通讯作者: 尚永彪(1964-),男,博士,教授,研究方向:农产品加工。

基金项目: (国家)公益性行业(农业)科研专项(201303144)。

收进行研究^[6-7],以期提出有效的快速测定方法。秦立虎等^[8]依据氨基酸与甲醛溶液在碱性条件下的化学反应而导致牛奶电化学特性发生变化,提出直接电位测定法,该法较准确,但线性测定范围较小,蛋白质含量为2.4%~3.0%。冯旭东等^[9]研究开发出一种蛋白质快速检测仪,测定结果相对误差<5%。但这几种检测方法需要特定的仪器或试剂,因此离原料奶验收时简单、快速的要求还有一定距离。郝俊等^[10]研究的快速滴定法能快速测定奶和豆浆中蛋白质的含量,并得出了各类奶的校正系数(K),但操作环节、终点判断不明确,可操作性不强,也未研究当非蛋白氮掺杂物存在时该方法的可行性及准确性。本实验以郝俊等^[10]的研究结果为基础,对实验条件分别进行研究,对各操作环节进行反复测试,对准确性进行验证以及对掺假物的存在是否影响滴定结果进行了研究,以期为原料奶验收和大批样品检测提供快速有效的测定方法。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

鲜奶 未添加任何物质的,购于江北区个体农户奶牛自养场;98%浓硫酸、硫酸钾、五水硫酸铜、95%乙醇、硼酸、氢氧化钠、盐酸、甲基红-溴甲酚绿混合指示剂、三聚氰胺、尿素、十二烷基硫酸钠 均为分析纯,成都科龙化工试剂厂。

TOC-V总有机碳分析仪(配有TNM-1总氮分析仪) 岛津公司;KjelFlexk-360半微量凯氏定氮仪 瑞士BuCHI公司;pHS-3C智能酸度计 深圳富哲仪器有限公司;DHG-9070A电热恒温鼓风干燥箱 上海齐欣科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液的配制 2% SDS溶液:准确称取2.000g预先在硅胶干燥器中放置24h以上的SDS,再用蒸馏水溶解并定容至1000mL容量瓶中。

1.2.2 快速滴定法的确定

1.2.2.1 最适取样量的确定 准确吸取鲜奶样品1.00mL于锥形瓶中,加水稀释至25mL,再加入0.1mol/L的HCl溶液1.00mL,观察现象并测定pH,若出现絮块,则取样量有误;反之,则用SDS溶液滴定,直至样品中的蛋白质析出完全(絮凝物明显且溶液上清液澄清)。按上述方法,取2.00mL鲜奶样品,分别加水稀释至25mL和50mL,其他步骤相同,记录数据和现象,选出最佳取样量^[10-11]。

1.2.2.2 最适加酸量的确定 准确吸取鲜奶样品1.00mL分别置于6只250mL锥形瓶中,加水稀释至25mL,分别加入0.1mol/L的HCl溶液0.50、0.60、0.70、0.80、0.90、1.00mL依次进行实验,缓慢混合均匀后,观察现象并测定pH,若溶液出现絮片,则加酸量有误;反之,则用SDS溶液滴定并观察现象,选出最适加酸量。

1.2.3 快速滴定法的可靠性验证 将快速滴定法与凯氏定氮法、TNM-1仪器法所得的结果进行比较,评价快速滴定法的可靠性。

1.2.3.1 凯氏定氮法测定鲜奶中蛋白质的含量 鲜奶中蛋白质含量的测定按照GB 5009.5-2010《食品

中蛋白质的测定》^[12]的方法进行。

1.2.3.2 TNM-1仪器法测定鲜奶中蛋白质的含量 按1.2.3.1得到的鲜奶消化液样品,同时配制稀释10倍和100倍的消化液样品待测,记录TNM-1定氮仪测定结果,选出最佳稀释倍数。

1.2.3.3 快速滴定法测定鲜奶中蛋白质的含量 准确吸取牛奶样品1.00mL于250mL锥形瓶中,加水稀释至25mL,加入0.1mol/L盐酸1.00mL,轻轻摇匀后,采用2次滴定法进行滴定,用0.2% SDS溶液滴定,当锥形瓶中样液整体出现细小絮片且中间絮片明显增大时,停止滴定,等待几分钟(在等待过程中,适时的轻轻旋转锥形瓶,使SDS和蛋白质更好结合)并观察现象。若上清液仍现乳白色,则再慢慢适量滴加SDS溶液,直至凝块量不再增加且上清液乳白色变澄清时停止滴定。准确记录下此时的SDS溶液的消耗量^[10,13]。计算:

$$\text{蛋白质含量 (g/100mL)} = \frac{\text{SDS溶液消耗量 (mL)}}{\text{牛奶取样量 (mL)}} \times$$

K×100

式中,K为校正系数^[10]。K值的求得需要用同一样品,是以凯氏定氮法和快速滴定法两种方法各平行测定6次的结果之比。

1.2.4 采用干燥法检验快速滴定法 准确吸取50.0mL鲜奶样品于250mL烧杯中,再加入0.500g尿素和50.0mL水(使配制奶中的蛋白质含量为3%左右,且尿素浓度为5.0g/L)。按照快速滴定法进行滴定,到达终点后进行抽滤(所用滤纸烘干至恒重,并准确称量),再将滤纸包裹的絮凝物放置在40℃恒温箱中干燥至恒重,记录下数据。同样的方法对未添加任何物质的鲜奶样品进行滴定、抽滤、干燥、称重,记录下数据,对比两次测定的结果。

1.2.5 含氮掺杂物对快速滴定法测定结果的影响

1.2.5.1 不同浓度三聚氰胺对测定结果的影响 经前期实验摸索,设置鲜奶中三聚氰胺浓度为4.0、3.0、2.0、1.0、0.5g/L,按照上述快速滴定法进行蛋白质含量的测定,确定三聚氰胺对测定结果的干扰程度。

1.2.5.2 不同浓度尿素对测定结果的影响 参照并适当调整袁炳秋等^[14]的尿素浓度设置。鲜奶中尿素添加量为200.0、100.0、50.0、20.0、5.0g/L,按照上述快速滴定法进行蛋白质含量的测定,确定尿素对测定结果的干扰程度。

1.2.6 数据处理与分析 若无特别说明,所有实验成功后重复测定3次,所得实验数据均为平行测定3~6次的结果,用Excel 2003对所得数据进行统计分析,用SPSS 17.0进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 快速滴定法的确定

2.1.1 最适取样量的确定 由表1可知,取样量为2.0mL时,不论稀释体积为25mL或50mL,当加入0.1mol/L盐酸1.0mL后,溶液都会立即出现絮凝物,稍等片刻,絮凝物增大,最后絮凝物凝聚生长进而沉降,使实验不能继续进行。主要是因为加入盐酸后溶液pH为4.8左右,达到酪蛋白的等电点,这时酪蛋白在溶液中的溶解度最低,所以直接析出^[15];当取样量

为1.0mL时,稀释体积为25mL,加入1.0mL 0.1mol/L盐酸后未出现絮凝物,又参考郝俊等^[10]的研究结果,确定最适取样量为1.0mL。

2.1.2 最适加酸量的确定 根据大量实验证明,0.1mol/L HCl溶液的添加量<0.50mL时,消耗大量的SDS溶液也未见明显絮凝物产生,滴定结果不理想。可能是因为加入的HCl溶液太少,以至于蛋白质的氢键没有打开,仍比较稳定,SDS不易和蛋白质结合而产生絮状沉淀^[10];当加入HCl溶液的量在0.50~0.70mL范围内时,样液的pH为4.0~4.6,因为靠近酪蛋白的等电点,样品出现不同程度的絮凝物,使实验不能继续进行;以上数据表明,加酸量为0.80~1.00mL时,加入1.00mL的HCl溶液最后滴定效果最理想,所以采用快速滴定法,0.1mol/L的HCl溶液的最适取用量为1.00mL。

2.2 K值的确定

由表3可知, $\bar{K}=7.53 \times 10^{-3} \text{g/mL}$,这与郝俊等^[10]测

得的奶粉的K值($K=7.86 \times 10^{-3} \text{g/mL}$)相近,但由于SDS的纯度不同,因此SDS溶液的消耗量差异较大。郝俊等^[10]经实验得出不同产地的奶粉K值基本相同,因此,在生产实践中,同一类奶只需测得一个K值供后期的实时检测,但需保证SDS的纯度一致。

2.3 验证快速滴定法的可靠性

2.3.1 快速滴定法测定牛奶中蛋白质的含量 用快速滴定法对储藏在2~6℃下的原料奶进行蛋白质含量测定,平行实验6次,结果见表4。快速滴定法测定的目标是牛奶中的蛋白质,在酸性介质中,当SDS溶液慢慢滴入处理后的牛奶样品中时,可溶性蛋白质会因为表面电荷被破坏而突然析出,小絮片在一定时间内凝聚,体积增大而沉淀下来^[10]。蛋白质析出是一个絮凝的过程,为使蛋白质全部析出,被滴定后的样品需静置几分钟后再观察现象并继续2次滴定,SDS溶液的消耗量与牛奶中蛋白质含量成正相关。

表1 快速滴定法最适取样量的实验研究

Table 1 The experimental research on sample volume of rapid titration

取样量(mL)	稀释后体积(mL)	HCl(mL)	pH	现象	原因
1	25	1.00	3.22	未出现絮片,可进行下一步骤	未到等电点
2	25	1.00	4.79	加酸立即出现絮凝物,随后增大	等电点附近,使蛋白质直接析出
2	50	1.00	4.76		

表2 快速滴定法最适加酸量的实验研究

Table 2 The experimental research on acid amount of rapid titration

加酸量(mL)	pH ₁	1次滴加SDS的体积(mL)	pH ₂	现象1	继续滴加SDS后的体积(mL)	pH ₃	现象2
0.50	4.60	\	\	加酸后直接出现不同程度的絮凝物	\	\	\
0.60	4.40	\	\		\	\	\
0.70	4.00	\	\		\	\	\
0.80	3.66	3.70	4.15	样液整体出现细小絮片且中间	4.50	4.21	絮凝物细小,溶液浑浊
0.90	3.45	3.70	3.68	絮片明显增大时停止滴定,等待几分钟,凝块沉降,但上清液仍	4.50	3.82	絮凝物细小,溶液较澄清
1.00	3.25	3.70	3.42	尚现乳白色时	4.50	3.59	絮凝物明显且大块,上清液澄清

注:“\”表示样品按照一定的处理后,出现了相应特定的现象,因而不再进行后面的操作。

表3 K值的确定

Table 3 The determination of K value

样品	1	2	3	4	5	6	\bar{X}
凯氏定氮法每毫升样品蛋白质含量(100g)	3.31	3.35	3.30	3.57	3.39	3.35	3.38
本法每毫升样品SDS溶液消耗量(mL)	4.39	4.50	4.45	4.64	4.52	4.45	4.49
$K \times 10^{-3} (\text{g/mL})$	7.54	7.46	7.42	7.69	7.54	7.50	7.53

表4 快速滴定法测定牛奶中蛋白质含量

Table 4 Determination of protein content in milk by rapid titration

平行次数	加HCl后的pH ₁	1次滴加SDS的体积(mL)	pH ₂	现象1	继续滴加SDS至(mL)	pH ₃	现象2	蛋白质含量(%)
1	3.21	3.70	3.43	样液整体出现细小絮片且中间絮片明显增大时停止滴定;等待几分钟,凝块沉降,但上清液仍尚现乳白色时	4.48	3.44	絮凝物明显且大块,上清液澄清,终点理想	3.36
2	3.23	3.70	3.43		4.50	3.49		3.38
3	3.22	3.70	3.45		4.52	3.47		3.39
4	3.21	3.70	3.40		4.46	3.44		3.35
5	3.20	3.70	3.43		4.50	3.45		3.38
6	3.21	3.70	3.46		4.54	3.47		3.38

2.3.2 三种方法测定结果比较 经过大量实验, TNM-1仪器法测定蛋白质含量的最佳稀释倍数为10倍, 三种方法测定结果见表5。经统计学处理, 快速滴定法与凯氏定氮法结果相比, 平均相对误差为0.59%, $p=0.965$; 快速滴定法与TNM-1仪器法结果比较, 平均相对误差为0, $p=0.998$; 因此, 快速滴定法测定结果与凯氏定氮法和TNM-1仪器法测定结果无显著差异($p>0.05$)。

2.4 干燥法检验快速滴定法

样品1是未添加任何物质的鲜奶, 吸取1.00mL测定; 样品2是取50.0mL鲜奶、0.500g尿素和50.0mL水混匀(使配制奶中的蛋白质含量为3%左右, 尿素浓度为5.0g/L)的奶样, 即样品1是样品2中蛋白质含量的2倍。

样品1中, 烘干的絮凝物质量为0.082g/mL, 可见其中不仅含有蛋白质, 因为酪蛋白常与钙盐结合, 且絮凝物可能还包裹着脂肪等成分一起沉降下来, 但样品1产生的絮凝物烘干后的质量是样品2质量的2倍左右, 与滴定前样品中蛋白质含量的倍数一致, 证明快速滴定法较准确, 且可初步判断尿素等掺假物在一定浓度下对其影响较小; 样品2在滴定过程中产生的絮凝物明显少于样品1(只是正常奶絮凝物的1/2), 因此, 若不良商家向牛奶中添加含氮物质, 且保证牛奶中蛋白质含量为正常值3%左右时, 那么用快速滴定法就能轻易发现该絮凝物量明显少于正常量, 就能初步判断牛奶不纯或掺假。

2.5 含氮掺杂物对快速滴定法测定结果的影响

2.5.1 不同浓度的三聚氰胺对牛奶中蛋白质含量测

定结果的影响 SDS和蛋白质结合产生絮凝物不是迅速激烈的进行, 而是一个相对较慢的过程, 因此滴定需要分阶段进行, 即采用分段滴定法, 但全程耗时也不到10min。在本实验中研究掺假物对实验结果的影响时, 参考国标及掺假事件设置三聚氰胺浓度, 并规定SDS溶液的用量为滴定未添加任何物质的鲜奶样品时的平均值4.50mL, 以此观察不同浓度掺假物对滴定结果的干扰程度。美国食品药品监督管理局(FDA)推荐的每日最高耐受量为0.5mg/kg^[17], 国际食品法典委员会(CAC)最新规定液态奶中三聚氰胺的最高限量值为0.15mg/kg^[18], 而本实验结果表明: 当三聚氰胺浓度 ≤ 3.00 g/L时, 用快速滴定法可得到理想终点, 由此表明当有三聚氰胺共存时对滴定过程和结果的干扰程度较小, 但最后絮凝物比正常样品细小、悬浮絮片多, 根据此现象, 也可初步判断牛奶中可能存在问题。当添加量 > 3.00 g/L时, SDS溶液的用量反而减少, 可能是由于溶液酸度改变, 使其更易形成絮凝物。因为处于等电点的蛋白质, 其分子上的正负电荷并不是完全由蛋白质本身正电基团和负电基团所贡献, 蛋白质不仅同 H^+ 结合, 而且也溶液中的其他离子结合, 结合的阴离子越多, 等电点pH愈向低值移动^[16, 19]。

2.5.2 不同浓度的尿素对牛奶中蛋白质含量测定的影响 尿素是蛋白质的代谢产物, 有资料报道鲜奶中尿素含量 < 620 mg/L是正常的, 不会对人体健康造成危害^[20]。根据大量实验及魏峰等^[21]的研究设置尿素的浓度梯度, 采用快速滴定法滴定, 结果表明, 当尿素的添加量 ≤ 200.00 g/L时, 滴定终点较理想, 与未添

表5 凯氏定氮法、TNM-1仪器法和快速滴定法蛋白质含量测定结果比较(%)

Table 5 The results comparison of protein content among Kjeldahl determination, TNM-1 instrument method and rapid titration(%)

平行次数	1	2	3	4	5	6	平均值	平均相对误差(%)	显著性p值
凯氏定氮法	3.25	3.35	3.30	3.68	3.39	3.35	3.39	0.59	0.965
TNM-1仪器法	3.33	3.38	3.40	3.32	3.40	3.39	3.37	0	0.998
快速滴定法	3.36	3.38	3.39	3.35	3.38	3.38	3.37	\	\

表6 干燥法检验快速滴定法的准确性

Table 6 The veracity of the accuracy of rapid titration by drying method

样品	样品1			样品2		
平行次数	1	2	3	1	2	3
滤纸质量(g)	0.525	0.526	0.528	0.529	0.528	0.527
滤纸和絮凝物总质量(g)	0.605	0.606	0.614	0.561	0.563	0.566
絮凝物质量(g)	0.080	0.080	0.086	0.039	0.039	0.042
絮凝物平均值(g)	0.082			0.040		

表7 不同浓度的三聚氰胺对测定结果的影响

Table 7 The influence of different concentrations of melamine on determination results

三聚氰胺浓度(g/L)	加HCl后的pH ₁	1次滴加SDS的体积(mL)	pH ₂	现象1	继续滴加SDS至(mL)	pH ₃	现象2
0.50	3.16	3.70	3.21	样液整体出现细小絮片且中间絮片明显增大时停止滴定; 等待几分钟, 凝块沉降, 但上清液尚现乳白色	4.50	3.58	悬浮絮片多且细小, 上清液较澄清, 终点较理想
1.00	3.18	3.70	3.35		4.50	3.53	
2.00	3.29	3.70	3.61		4.50	3.66	
3.00	3.55	3.70	4.00		4.50	4.03	
4.00	3.76	3.70	4.00		\	\	

(下转第90页)

用[J]. 食品工业科技, 2012, 33(11): 324-329.

[10] 冯娟, 任小林, 田建文, 等. 不同产地富士苹果品质分析与比较[J]. 食品工业科技, 2013, 34(14): 108-112.

[11] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1989: 55-58.

[12] A Abdul-Hamid, Y S Luan. Functional properties of dietary fiber prepared from defatted rice bran[J]. Food Chemistry, 2000

(68): 15-19.

[13] 邴伟章. 改善蛋白质营养性和功能性的方法[J]. 食品科学, 1991(12): 13-16.

[14] 梅长林, 范金城. 数据分析方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 113-120.

[15] 梁晓佳, 周菊玲. 核桃品质的综合评价[J]. 数学的实践与认识, 2013, 43(1): 10-13.

(上接第75页)

表8 不同浓度的尿素对测定结果的影响

Table 8 The influence of different concentrations of urea on determination results

尿素浓度 (g/L)	加HCl后的pH ₁	1次滴加SDS的 体积(mL)	pH ₂	现象1	继续滴加SDS至 (mL)	pH ₃	现象2
5.0	3.10	3.70	3.29		4.50	3.32	
20.0	3.08	3.70	3.26	样液整体出现细小絮片且中间絮片明显增大时停止滴定; 等待几分钟, 凝块沉降, 但上清液尚现乳白色时	4.50	3.29	悬浮絮片多且细小, 上清液较澄清, 终点较理想
50.0	3.06	3.70	3.24		4.50	3.30	
100.0	3.02	3.70	3.19		4.50	3.24	
200.0	3.02	3.70	3.15		4.50	3.17	

加任何物质的鲜奶的滴定结果相近, 表明当有尿素共存时对滴定过程和结果的干扰程度较小, 当尿素浓度>200.00g/L时, SDS溶液的用量明显减少, 可初步判断牛奶存在问题, 当浓度>500.00g/L时, 牛奶变成浅绿色, 凭肉眼就能看出牛奶的变化。

3 结论

快速滴定法测定牛奶中蛋白质时, 样品的取样量为1.00mL, 0.1mol/L盐酸加入量为1.00mL较为合理有效, 采用2次滴定法能得到理想滴定结果。与凯氏定氮法和TNM-1仪器法测定结果对比无显著差异($p>0.05$); 干燥法的实验结果再次验证快速滴定法的准确性。一定浓度范围内, 含氮掺杂物也不干扰牛奶中蛋白质的测定。

快速滴定法全程耗时约10min, 操作简单, 所需试剂种类少, 较传统的凯氏定氮法节约时间, 较TNM-1仪器法节约成本, 且有助于发现含氮掺杂物, 对于大量原料奶的验收和在生产过程中适时掌握牛奶的品质特别适用。

参考文献

- [1] 顾佳升. “三聚氰胺”之后, 牛奶如何防范新的掺假?[J]. 中国食品卫生杂志, 2008(6): 481-483.
- [2] 邓会玲, 万宇平, 贾芳芳, 等. 乳品掺假快速检测的研究进展[J]. 乳品科学与技术, 2011, 34(6): 284-287.
- [3] 宋思远, 李巧玲, 刘英华, 等. 乳及乳制品中蛋白质检测技术的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(5): 279-282.
- [4] 王鹏. GB/T 6914-86生鲜牛乳收购标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1986.
- [5] 张蓉蓉. 乳品企业原料乳的验收与质量控制[J]. 中国乳业, 2006(7): 45-47.
- [6] Xing H B, Wu Y G, Zhan S S, et al. A rapid colorimetric detection of melamine in raw milk by unmodified gold nanoparticles[J]. Food Analytical Methods, 2013(6): 1441-1447.
- [7] Wang Q, Simon A H, Sun Y M, et al. Development of a

fluorescence polarization immunoassay for the detection of melamine in milk and milk powder[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, 399: 2275-2284.

[8] 秦立虎, 寇云娟, 任江红, 等. 用直接电位法测定牛奶中蛋白质含量的实验研究[J]. 中国奶牛, 2006(10): 34-36.

[9] 冯旭东, 安卫东, 丁毅, 等. 蛋白质快速检测仪测定乳及乳制品中蛋白质[J]. 分析化学, 2011, 39(10): 1496-1500.

[10] 郝俊, 于开锋, 余世明. 奶类、奶粉盒豆浆中蛋白质的快速滴定法[J]. 食品科学, 1991(3): 46-47.

[11] 刁有祥, 刘兴友. 食品理化检验学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008: 14-17.

[12] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.5-2010食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.

[13] Samarresh M. Rapid volumetric determination of protein in milk[J]. Science and Culture, 1981(6): 221.

[14] 袁炳秋, 吕媛, 马钰. 尿素、氯化铵、碳酸铵对牛奶样品微量凯氏定氮法的干扰[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2010, 33(1): 66-71.

[15] 阙健全. 食品化学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002: 159-173.

[16] 陶慰孙. 蛋白质分子基础[M]. 北京: 高等教育出版社, 1981: 21-23, 247.

[17] Ümmihan T Y, Zehra Y. Determination of melamine by differential pulse polarography/application to milk and milk powder[J]. Food Analytical Methods, 2012(5): 119-125.

[18] World Health Organization. UN strengthens regulations on melamine, seafood, melons, dried figs and labeling[R]. Roman: WHO, 2012.

[19] 杨光, 王加启, 卜登攀, 等. 乳及乳制品蛋白质掺假检测研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(9): 306-312.

[20] 杜彦山, 张志国, 贾云虹, 等. 牛奶中尿素含量的测定[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(10): 90-92.

[21] 魏峰, 马振山, 贾中辉. 牛奶中掺入尿素的两种快速检测方法[J]. 食品工程, 2006(1): 58-60.