

凯氏定氮仪测定重组Ⅲ型胶原蛋白敷料贴、凝胶敷料、液体敷料的蛋白质含量

一、前言

重组Ⅲ型胶原蛋白是通过生物工程技术将人体胶原蛋白的 mRNA 逆转录成 cDNA 并嫁接至载体上，再利用转录酶表达成原始蛋白，经过高密度发酵、分离、复性、纯化、酶切工艺成产的一种高分子生物蛋白。Ⅲ型胶原蛋白主要存在于婴儿皮肤或血管内膜、肠道，与皮肤损伤修复和修复质量密切相关，因此该类医药用品对改善皮肤质量、促进皮肤创伤修复具有重要作用。重组Ⅲ型胶原蛋白的有效含量直接决定了基于其研发的医药用品的效果。本方案给出了利用凯氏定氮法测定重组Ⅲ型胶原蛋白敷料贴、凝胶敷料、液体敷料的蛋白质含量的方法。

二、仪器与试剂

2.1、仪器

K1100F 全自动凯氏定氮仪，SH520 电热消解仪，分析天平等。

2.2、试剂

硫酸（分析纯），20g/L 硼酸溶液，溴甲酚绿-甲基红混合指示剂，400g/L 氢氧化钠溶液，混合催化剂（3gK₂SO₄、0.2gCuSO₄），0.1mol/L 硫酸标准滴定液

三、实验方法

3.1、样品制备

凝胶敷料、液体敷料：用 5ml 针管抽取样品，利用减重称量法称取烘干后混合均匀的样品 3.0g（精确至 0.1mg）加入消化管，再加入混合催化剂 3.2g，沿消化管壁加入浓硫酸 10mL。

敷料贴：将敷料贴中的液体组分挤出，收集于试管中，后操作方法与凝胶敷料、液体敷料相同。

3.2、消解

将加完样品和试剂的消化管放置于消解仪上，盖好排废罩，设定消解仪参数如表 1 所示：

表 1 消解参数设置

阶段	温度	保温
1	200℃	30min
2	280℃	20min
3	420℃	60min

3.3、测试

消解完成后，待消化管冷却至室温后取下备用。检查定氮仪各试剂是否充足，同时做仪器空白，待仪器空白稳定后，可将消解好的样品上机测试。定氮仪参数设置如表 2 所示：

表 2 定氮仪参数设置

硼酸	稀释水	碱液	蒸馏时间	蒸汽流量	蛋白系数	滴定酸浓度
20mL	40mL	30mL	5min	100%	6.25	0.1115mol/L

四、结果与讨论

4.1、实验结果

实验选取的重组Ⅲ型胶原蛋白敷料贴、液体敷料、凝胶敷料经消解、蒸馏、滴定，得到实验结果如表 3 所示：

表 3 蛋白质含量测试结果

样品名称	样品重量/g	氮含量/%	蛋白质含量/%	平均值/%	RSD/%
重组Ⅲ型胶原蛋白凝胶敷料	3.0525	0.0186	0.1170	0.1177	0.78
	3.0720	0.0189	0.1183		
重组Ⅲ型胶原蛋白液体敷料	3.0425	0.0230	0.1435	0.1437	0.20
	3.0536	0.0230	0.1439		
重组Ⅲ型胶原蛋白敷料贴	3.0523	0.0183	0.1141	0.1142	0.12

	3.0542	0.0183	0.1143		
--	--------	--------	--------	--	--

4.2、结论

本次测试的重组III型胶原蛋白液体敷料、凝胶敷料、敷料贴的蛋白质含量及 RSD 值如表 3 所示，三种样品的 RSD 分别为 0.78%、0.20%、0.12%，结果平行性良好。

五、注意事项

对于液体或水分含量较多的凝胶样品，直接升温至 420℃ 消解会造成样品的暴沸，导致样品损失和安全隐患。因此，应先设置较低温度（200℃ 左右）赶出水分，再逐步升温至 420℃ 消解。

海能技术
海能技术
海能技术
海能技术
海能技术
海能技术