

凯氏定氮仪测定冻干粉蛋白质含量（半微量法）

一、前言

冻干粉是采用冷冻干燥机的真空冷冻干燥法预先将药液里面的水分冻结，然后在真空无菌的环境下将药液里面被冻结的水分升华，从而得到冷冻干燥而成。简而言之，在低温环境下抽干药液里面的水份，保留其原有的药物作用。本实验参照《中国药典》使用凯氏定氮法对冻干粉中的蛋白质含量进行测定。

二、仪器与试剂

2.1、仪器

K1160 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（K₂SO₄、CuSO₄），0.01mol/L 硫酸标准滴定液

三、实验方法

3.1、样品制备

称取样品 10mg（精确至 0.1mg）加入消化管，再加入混合催化剂（0.3g 硫酸钾，30%硫酸铜 5 滴），沿消化管壁加入浓硫酸 2mL。

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 | 420℃ | 60min |
| 2 | 冷却 | 20min |

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 |
|------|------|------|------|------|------|-------------|
| 10mL | 20mL | 10mL | 5min | 100% | 5.07 | 0.0100mol/L |

四、结果与讨论

4.1、实验结果

实验选取的冻干粉样品经消解、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 | 氮含量 | 蛋白质含量 | 平均值 | RSD |
|------|--------|---------|---------|---------|-------|
| 冻干粉 | 8.89mg | 17.709% | 89.785% | 89.492% | 0.40% |
| | 8.97mg | 17.572% | 89.090% | | |
| | 8.86mg | 17.673% | 89.602% | | |

4.2、结论

本次测试的冻干粉的蛋白质含量为 89.492%、RSD 值为 0.40%，结果重复性良好。

五、注意事项

5.1、该类样品蛋白质含量较高且称样量较小，称量误差对结果的影响较大。

5.2、样品密度较低，称量后送入消化管易产生静电吸附。使用玻璃棒将样品送入消化管底部，加入硫酸时使用硫酸冲洗玻璃棒，此过程可能会引入一定的误差。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 附录 0704 氮测定法 第二法 (半微量法)