

## 凯氏定氮仪测定白葡萄球菌粉中的蛋白质含量

### 1 前言

白葡萄球菌粉是经现代生物工程技术深层培养、精制而成的。为黄褐色粉末；有似干酵母臭，无味。由非致病性表皮葡萄球菌（白色葡萄球菌）液体培养而得的灭活干燥菌体制成。本品及相关制剂作为止咳药，适用于慢性支气管炎等呼吸道疾病引起的咳嗽、痰多。本实验参照《中国药典 2020 年版 第四部 0731 蛋白质含量测定 第一法 凯氏定氮法》对白葡萄球菌粉中的蛋白质含量进行测定。

### 2 仪器与试剂

#### 2.1 仪器

K1160 全自动凯氏定氮仪，分析天平。

#### 2.2 试剂

20g/L 硼酸溶液，溴甲酚绿-甲基红混合指示剂，400g/L 氢氧化钠，0.02mol/L 硫酸或盐酸标准滴定液。

### 3 实验方法

#### 3.1 样品制备

非蛋白氮供试品溶液的制备：精密量取供试品适量（2020 版药典中规定如供试品为冻干制剂或固体粉末时，应复溶后量取，且蛋白质含量不高于 0.2g。由于本样品复溶困难，即称取 0.3~0.4g 样品。），置 20mL 容量瓶中，加水 10mL，10% 钨酸钠溶液 2mL，0.33mol/L 硫酸溶液 2mL，加水至刻度，摇匀，静置 30 分钟，过滤，弃去初滤液（约 3~5mL），取续滤液作为非蛋白氮供试溶液。

### 3.2 取样

总氮供试品称取 0.05g( 2020 版药典中规定如供试品为冻干制剂或固体粉末时 ,应用 0.9% 氯化钠溶液定量稀释成每 1mL 中含氮量约 1mg 的溶液 ,然后量取 1mL 进行测定。由于本样品复溶困难 ,即称取 0.05g 样品。 ),非蛋白氮供试品量取 2mL 非蛋白氮溶液加入消化管中 ,各加入 3g 硫酸钾与 0.2 硫酸铜水 ,再沿瓶壁滴加硫酸 10ml。

### 3.3 消解

#### 设定消解参数

表 1 消解参数设置

阶段	温度/°C	保持/min
1	250	30
2	420	60

备注 : 第一阶段不盖排废罩 , 排出水分。

### 3.4 测试

定氮仪参数设置如下表。

表 2 定氮仪参数设置

硼酸	稀释水	碱液	蒸馏量	蒸汽流量	蛋白系数	滴定酸浓度
20mL	50mL	40mL	5min	100%	6.25	0.0200mol/L

## 4 结果与讨论

### 4.1 实验结果

表 3 白葡萄球菌粉中的蛋白质含量测试结果

样品名称		取样质量 g	氮含量%	平均值	蛋白质含量%	
白葡萄 球菌粉	总氮	0.04759	6.489	6.518	29.556	
		0.04760	6.546			
	非蛋白 氮	0.3474	1.812	1.789		
			1.759			

### 4.2 结论

测试结果显示本次测试的白葡萄球菌粉中的蛋白质含量为 29.556%。

## 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 0731 蛋白质含量测定 第一法凯氏定氮法

## 注意事项

- 1 ) 该样品为粉末样品 , 因此依据药典在样品制备时应制备成合适浓度的溶液进行测试 , 如样品复溶困难可直接称取相应重量样品进行测试。
- 2 ) 本实验中蛋白质含量= ( 总氮含量-非蛋白氮含量 ) \*6.25。