

## 凯氏定氮仪测定水蛭的蛋白质含量

### 一、前言

水蛭(蚂蝗)是地球上比较古老的低等动物。水蛭唾液中含有的多种活性物质正受到各国科学家的广泛重视，其中水蛭素是重要的活性成分之一。水蛭素是已知最有效的天然抗凝剂，其作用优于肝素，具有抗凝血、溶解血栓的作用，即中医所说的活血化瘀作用。因其干制品本身含有较高的蛋白质等营养成分，水蛭也作为原料添加到饲料之中。本实验参照《GB/T 6432 饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法》使用凯氏定氮法对水蛭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（6gK<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.4gCuSO<sub>4</sub>），0.1mol/L 硫酸标准滴定液

### 三、实验方法

#### 3.1、样品制备

称取粉碎并混合均匀的样品 0.3g（精确至 0.1mg）加入消化管，再加入混合催化剂 6.4g（6gK<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.4gCuSO<sub>4</sub>），沿消化管壁加入浓硫酸 12mL。

#### 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℃	90min
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
20mL	50mL	50mL	5min	100%	6.25	0.1000mol/L

## 四、结果与讨论

### 4.1、实验结果

实验选取的水蛭样品经消解、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
水蛭	0.2975g	6.742%	42.135%	42.262%	0.33%
	0.3064g	6.786%	42.414%		
	0.3073g	6.758%	42.238%		

### 4.2、结论

本次测试的水蛭的蛋白质含量为 42.262%、RSD 值为 0.33%，结果平行性良好。

## 五、注意事项

若使用 SH220F 和 SH420F 石墨消解炉消解样品，可按照下表中升温曲线进行消解。

阶段	温度	保温
1	200℃	20min
2	420℃	120min

## 参考文献

[1] GB/T 6432 饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法[S].