

凯氏定氮仪测定重组人源胶原蛋白中蛋白质含量

一、前言

重组人源胶原蛋白是基于人体皮肤Ⅲ型胶原蛋白的原始基因序列，选择水溶性强、生物活性高的部分进行拼接重组得到的重组蛋白序列的产物，在医用材料、化妆品、食品保健领域具有很大的应用潜力。重组人源胶原蛋白通常与凝胶混合制成高粘度制剂，或通过浓缩的方式制成固体浓缩蛋白，需通过测定其蛋白含量以检验制剂的有效添加量，是其质量检验的重要环节。本方案基于《GB5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》，给出了利用凯氏定氮法测定其蛋白质含量的方法。

二、仪器与试剂

2.1、仪器

K1100 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（3g K_2SO_4 、0.2g $CuSO_4$ ），0.1mol/L 硫酸标准滴定液。

三、实验方法

3.1、样品制备

准确称取样品 1.0g 左右（精确至 0.1mg）后加入消化管（可使用称量纸包裹，一并放入消化管），加入混合催化剂（3g 硫酸钾，0.2g 硫酸铜），加入硫酸 10mL。

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°C	60min
2	冷却	30min

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%	5.5975	0.1155mol/L

四、结果与讨论

4.1、实验结果

实验选取的重组人源胶原蛋白样品经消解、蒸馏、滴定，得到实验结果如表 3 所示：

表 3 重组人源胶原蛋白蛋白含量测试结果

样品	称样量/g	空白体积/mL	滴定体积/mL	氮含量/%	蛋白质含量/%	均值/%	RSD
重组 人源胶原蛋白	0.1128	0.0840	11.9605	17.025	95.298	95.241	0.32%
	0.1178		12.4416	16.963	94.950		
	0.1106		11.7015	16.985	95.074		
	0.1190		12.6585	17.087	95.642		

4.2、结论

本次测试的重组人源胶原蛋白样品的蛋白含量为 95.241%，RSD 为 0.32%，结果平行性良好。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典：三部[s]. 北京：中国医药科技出版社，2020：0704 氮测定法