

凯氏定氮仪测定人血白蛋白标样的蛋白质含量

一、前言

人血白蛋白是适用于临床急救的一种药品。人血白蛋白属于球蛋白的一种,可以有效维持机体渗透压,可以帮助维持和修复机体和细胞的正常功能,并能平衡激素分泌和免疫系统功能。本实验参照《中国药典》使用凯氏定氮法对人血白蛋白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, 硫酸钾, 硫酸铜, 0.33mol/L 硫酸溶液, 10%钨酸钠, 0.01mol/L 硫酸标准滴定液

三、实验方法

3.1、样品制备

总氮, 移取样品 1mL 于 25mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度。取稀释后的样品 1mL 至消化管中。加入 0.3g 硫酸钾, 5 滴 30%硫酸铜, 加入硫酸 2ml。

非蛋白氮, 移取样品 0.5mL, 加水 15.5mL 稀释, 再加入 2mL10%钨酸钠, 2mL0.33mol/L 硫酸溶液, 终体积 20mL, 摇匀, 静置 30min。过滤, 收集续滤液(弃去初 5 滴)。取 5mL 滤液于消化管中, 加入 0.3g 硫酸钾, 5 滴 30%硫酸铜, 加入硫酸 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	200°C	20min
2	420°C	50min
3	冷却	20min

备注：第 1 阶段不盖排废罩

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	10mL	5min	100%	6.25	0.01000mol/L

四、结果与讨论

4.1、实验结果

实验选取的人血白蛋白样品经消解、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	测试项目	稀释倍数	取样体积 mL	氮含量 (原液) g/L	蛋白质 (已减去非蛋白氮) g/L	平均值 g/L
空白	/	/	/	/	/	0.2621
人血白蛋白标样 (204.03± 2.90)	非蛋白氮	40	5	0.3844	/	0.3880
				0.3915	/	
	总氮	25	1	33.2206	205.21	205.09
				33.1374	204.69	
				33.1854	204.99	
				33.2625	205.47	

4.2、结论

本次测试的人血白蛋白的蛋白质含量为 205.09g/L，且结果重复性良好。

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°C	20min
2	420°C	60min

备注：第 1 阶段不盖排废罩

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

蛋白质测定法