

凯氏定氮仪测定海藻糖中的氮含量

一、前言

海藻糖作为一种天然双糖，因其独特的稳定性和保护特性，在生物医药、疫苗保护剂、高端化妆品及食品工业中发挥着不可替代的作用。其纯度及杂质控制直接影响产品的安全性与功效，其中氮含量是评价海藻糖原料质量的关键指标之一。非蛋白含氮杂质（如氨基酸、核酸残留或发酵副产物）的存在可能影响海藻糖的稳定性及终端产品的合规性，因此建立精准、高效的氮含量测定方法至关重要。《中国药典》2025 版新增“海藻糖氮含量的测定”方法，明确采用凯氏定氮法作为标准检测技术。

本方案参照《中国药典 2025 版 海藻糖中氮含量的测定》，使用凯氏定氮仪测定海藻糖中的氮含量，为海藻糖生产商与质检机构提供标准化的分析流程，助力产品质量提升与行业规范化发展。

二、仪器与试剂

2.1、仪器

K1160 全自动凯氏定氮仪、SH520 自动消解仪、分析天平等。

2.2、试剂

甲基红、溴甲酚绿、硼酸、氢氧化钠、无水硫酸钾、五水合硫酸铜、浓硫酸。

2.3、样品

海藻糖。

三、实验方案

3.1、试剂配制

- (1) 甲基红溶液 (1g/L)：称取 100mg 甲基红溶于 95%乙醇，用 95%乙醇稀释至 100mL。
- (2) 溴甲酚绿溶液 (1g/L)：称取 100mg 溴甲酚绿溶于 95%乙醇，用 95%乙醇稀释至 100mL。
- (3) 甲基红-溴甲酚绿溶液：将甲基红试液与溴甲酚绿试液按照体积比为 1:5 进行混合。

(4) 硼酸溶液 (20g/L) :称取 100g 硼酸, 加水溶解后并稀释至 5L。按照 100:1 的比例向 5L 硼酸溶液中加入 50mL 甲基红-溴甲酚绿试液并搅拌均匀。

(5) 氢氧化钠溶液 (40g/L) :称取 200g 氢氧化钠加水溶解后, 冷却, 并稀释至 5L。

3.2、样品称量

准确称取 5g 左右的海藻糖样品并置于干净的消化管中。

3.3、消解

向样品消化管中加入 0.4g 硫酸铜、6g 硫酸钾和 30mL 浓硫酸, 空白管则加入 0.4g 硫酸铜、6g 硫酸钾和 15mL 浓硫酸, 随后上机消解, 消解程序如表二:

表二 SH520 自动消解仪消解程序设置

阶段	温度梯度/°C	保温时间/min
1	150	40
2	260	40
3	300	60
4	420	150

注: 样品管中加入催化剂后可先加入 10mL 浓硫酸, 轻轻摇晃消化管使样品尽可能分散, 随后加入剩余浓硫酸轻晃使样品尽可能浸没其中。

3.4 蒸馏与滴定

待消解程序完成, 消化管冷却并无酸雾后, 使用 K1160 全自动凯氏定氮仪进行检测, 定氮仪参数设置如表三:

表三 K1160 全自动凯氏定氮仪试验参数设置

滴定液/ (H ⁺) mol/L	硼酸/mL	氢氧化钠/mL	稀释水/mL	蒸馏时间/min	蒸汽流量/%
0.01044	25	60	40	5	100

四、注意事项

- ①由于空白管未加入样品，消解过程中耗酸量较少，故建议空白管中加入 15mL 浓硫酸，确保消解结束后空白管与样品管硫酸量基本一致，以减少氢氧化钠加入量不同带来的实验误差。
- ②消解前样品管中加入浓硫酸后，轻晃消化管以促进样品浸没于溶液中且尽可能分散。

五、测试结果

样品经消解和上机测试，海藻糖样品中氮含量如表一所示：

表一 样品氮含量表

样品名称	称样量/g	空白体积/mL	滴定体积/mL	氮含量/%	氮含量/ppm	均值/ppm	绝对差值/ppm
海藻糖	5.0564	0.7348	0.8451	0.0003	3.1883	3.5794	1.55
	5.0209		0.8973	0.0005	4.7304		
	5.0256		0.8442	0.0003	3.1817		
	5.0108		0.8451	0.0003	3.2173		

六、结论

测试结果表明，K1160 全自动凯氏定氮仪可用于海藻糖样品中氮含量的测定。

七、参考标准

[1] 《中国药典 2025 版 海藻糖氮含量的测定》