

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.01.020

凯氏定氮法测定羊胎素胶囊的总氮量

邹 丽

(四川省食品药品检验检测院, 四川 成都 611731)

摘要:目的 建立羊胎素胶囊中总氮量的常量凯氏定氮法。方法 以总氮量作为含量测定的指标成分,采用凯氏定氮法测定3批羊胎素胶囊中总氮量。结果 羊胎素取样量在0.119 54~1.084 31 g范围内与总氮量线性关系良好($r=0.999\ 2$),平均加样回收率为99.35%, RSD 为1.30%($n=6$)。结论 所建立的方法结果准确、重复性好,适用于羊胎素胶囊中总氮量的测定。

关键词:羊胎素;总氮量;凯氏定氮法

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)01-0065-03

Determination of Total Nitrogen Content in Sheep Placenta Extract Capsule by Kjeldahl Method

ZOU Li

(Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu, Sichuan, China 611731)

Abstract: Objective To establish a Kjeldahl method for the determination of total nitrogen content in the Sheep Placenta Extract Capsule. **Methods** The total nitrogen content was used as the index of the content determination, and the total nitrogen content in 3 batches of Sheep Placenta Extract Capsule was measured by the Kjeldahl method. **Results** Linearity was obtained in the range of 0.119 54~1.084 31 g($r=0.999\ 2$). The average recovery rate of Sheep Placenta Extract Capsule was 99.35% ($RSD=1.30\%$, $n=6$). **Conclusion** This method is accurate and reproducible, which is suitable for the total nitrogen content determination in the of Sheep Placenta Extract Capsule.

Key words: Sheep Placenta Extract; total nitrogen content; Kjeldahl method

羊胎素胶囊为自制保健品,由绵羊及山羊的胎盘采用现代生物技术提取加辅料制成,富含卵磷脂、核黄素、抗坏血酸、蛋白质、红细胞生成素、多肽及氨基酸等多种有效成分,具有促进皮肤细胞生长、补血固本、抗衰老、增活力、提高人体器官免疫力的作用,功效主要有增强免疫^[1]、抗氧化^[2]、延缓衰老^[3]、预防和治疗骨质疏松症^[4]及抗辐射、抗肿瘤^[5]。目前,其质量控制中仅有关于氨基酸和微量元素含量的测定^[6-7],对总氮的含量测定鲜有报道,不能全面反映羊胎素的成分活性。为了全面控制羊胎素的质量,本研究选择了总氮量作为含量测定的指标成分,并采用凯氏定氮法测定羊胎素总氮量。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

DK98-1型电热水浴锅(天津泰斯特仪器有限公司);KQ3200E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,40 kHz,80 W);500 mL凯氏烧瓶;漏斗;石棉网;冷凝管;滴定管;氮气球,远红外可控调温电炉(成都市聚荣电器厂BP1810C型自动双重纯水蒸馏器(郑州长城科工贸有限公司);BP211D型Sartorius电子天平(十万分之一,德国赛多利斯股份公司)。

1.2 试剂

茚三酮、基准无水碳酸钠硫酸钾、硫酸铜(化学纯,

成都化学试剂厂);硫酸、氢氧化钠、无砷锌、硼酸、甲基红、溴甲酚绿等试剂均为分析纯;蒸馏水(自制);羊胎素胶囊(自制,批号分别为20170805,20170806,20170807)。

2 方法与结果

2.1 理化鉴别

取本品内容物0.4 g,加水10 mL,浸泡1 h,超声处理30 min,滤过,取滤液2 mL,加茚三酮试液2~3滴,摇匀,沸水浴加热5 min,显蓝色或蓝紫色。

2.2 含量测定

2.2.1 溶液制备

参照2015年版《中国药典(四部)》通则0704氮测定法项下第一法(常量法)^[8]操作。0.05 mol/L硫酸滴定液:精密量取硫酸2.7 mL,缓缓注入适量水中,冷却至室温,加水稀释至1 000 mL,摇匀,得质量浓度为0.050 7 mol/L的硫酸滴定液。40%氢氧化钠溶液:称取氢氧化钠400 g,加水溶解并稀释至1 000 mL,即得。2%硼酸溶液:称取硼酸20 g,加水溶解并稀释至1 000 mL,即得。甲基红-溴甲酚绿混合指示液:取0.1%甲基红的乙醇溶液20 mL,加0.2%溴甲酚绿的乙醇溶液30 mL,摇匀,即得。

2.2.2 消解

取10粒羊胎素胶囊内容物(批号为20170805),混匀,用滤纸称取约0.4 g,精密称定,连同滤纸置干燥的

500 mL 凯氏烧瓶中;依次加入硫酸钾 10 g 和硫酸铜粉末 0.5 g,再沿瓶壁缓缓加入浓硫酸 20 mL;在凯氏烧瓶口放一小漏斗并使凯氏烧瓶成 45°倾斜放置,用调温电炉缓缓加热,使溶液的温度保持在沸点以下,等泡沸停止,调至强热至沸腾,待溶液成澄清绿色后,除另有规定外,继续加热 30 min,放冷。

2.2.3 蒸馏

沿瓶壁缓缓加水 250 mL,轻轻振摇,混匀,放冷,加 40% 氢氧化钠溶液 75 mL,注意沿瓶壁流至瓶底,自成一液层,加锌粒数粒,用氮气球将凯氏烧瓶与冷凝管连接;另取 2% 硼酸溶液 50 mL,置 500 mL 锥形瓶中,加甲基红-溴甲酚绿混合指示液 10 滴;将冷凝管的下端插入硼酸溶液的液面下,轻轻摆动凯氏烧瓶,使溶液混合均匀,加热蒸馏,至接收液总体积约为 250 mL 时,将冷凝管尖端提出液面,使蒸气冲洗约 1 min,用水淋洗尖端后停止蒸馏。

2.2.4 滴定

馏出液用硫酸滴定液(浓度为 0.050 7 mol/L)滴定至溶液由蓝绿色变为灰紫色,即为滴定终点。用空白试验校正(不加样品,只加试剂,重复上述操作)。每 1 mL 硫酸滴定液(浓度为 0.05 mol/L)相当于 0.401 mg 的氮。

2.2.5 计算

根据中国药品检验标准操作规程氮测定法^[9]测定。总氮量(mg/g) = $[(V_1 - V_2) \times C / 0.05 \times 1.401] / M$ 。其中, V_1 为滴定时消耗硫酸滴定液的体积(mL), V_2 为空白试验中消耗硫酸滴定液的体积(mL), C 为硫酸滴定液的浓度(mol/L), M 为供试品取样量(g)。

2.2.6 方法学考察

专属性考察:取羊胎素胶囊的阴性对照样品(仅含空白辅料),按总氮量测定方法进行测定,结果阴性对照样品无干扰。

线性关系考察:取羊胎素胶囊(批号为 20170805)的内容物适量,按总氮量测定方法测定,以取样量为(X)横坐标、总氮量为(Y)纵坐标绘制标准曲线,得线性方程 $Y = 176.58X - 2.8476$, $r = 0.9992$ ($n = 6$)。结果表明,羊胎素胶囊取样量在 0.119 54 ~ 1.084 31 g 范围内与总氮量线性关系良好。

重复性试验:取羊胎素胶囊(批号为 20170807)的内容物 5 份,每份约 0.4 g,精密称定,按总氮量测定方法测定,计算总氮量。结果羊胎素胶囊平均总氮量为 73.05 mg/g, RSD 为 0.65% ($n = 5$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取羊胎素胶囊(批号为 20170805,含氮量为 70.93 mg/g)的内容物共 5 份,每份约 0.2 g,精密称定,分别置干燥的 500 mL 凯氏烧瓶中,再依次精

密加硫酸铵 0.165 g,按上述试验步骤操作,测定含氮总量,计算回收率。结果见表 1。

表 1 硫酸铵加样回收试验结果($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.211 64	36.44	34.98	70.95	98.67	99.35	1.30
0.208 85	35.96	34.98	71.02	100.23		
0.212 56	36.59	34.98	70.68	97.46		
0.210 73	36.26	34.98	70.86	98.91		
0.209 28	36.03	34.98	71.41	101.14		
0.204 32	35.18	34.98	70.04	99.66		

2.2.7 样品含量测定

取 3 批羊胎素胶囊内容物各 20 粒,按批号混匀,分别取约 0.4 g,精密称定,按上述方法测定含量(平行测定 2 份)。结果见表 2。

表 2 3 批样品总氮量测定结果(mg/g, $n = 2$)

批号	总氮量		
	1	2	$\bar{X}$
20170805	70.84	71.01	70.93
20170806	78.80	78.16	78.48
20170807	73.21	73.69	73.45

3 讨论

凯氏定氮法的原理是将含氮有机物在硫酸及催化剂的作用下,经分解后的有机氮转化为硫酸铵,故加样回收试验的对照物质为硫酸铵。在试验过程中,应注意样品放入凯氏烧瓶中时应避免使其粘附在瓶颈部;消解过程中应均匀转动凯氏烧瓶,避免该样品未消解完全而造成氮损失;保证蒸馏中不能停止加热,防止液体倒吸。

经查阅相关文献,常见的总氮量测定方法不多。严志强等^[10]采用紫外分光光度法测定了茶薪菇中总氮的含量,但该方法对分析试验环境、玻璃器皿的洁净度等因素要求较高。韦锋等^[11]采用了分散非红外法测定了水中的总氮量,但该方法仅适用于测定水样中的总氮量。王键等^[12]采用了近红外光谱分析法测定了复合肥的总氮量。刘丰奎等^[13]采用的是气相分子吸收光谱法测定水溶肥中的总氮量。这 2 种方法的分析速度快,效率高,但常用于化肥和水质中总氮量的测定,其成本高,在食品与药品中罕有使用。

目前,测定食品及药品中总氮量常用方法仍为凯氏定氮法,操作过程虽烦琐,但对总氮量的测定成本低、普适性较强、应用范围广。特别是近几年来,凯氏定氮法对硝基、偶氮、杂环等类化合物也可得到准确的结果,能用于所有动植物样品的分析^[14-17],迄今仍作为《中国药典》法定的标准检验方法。