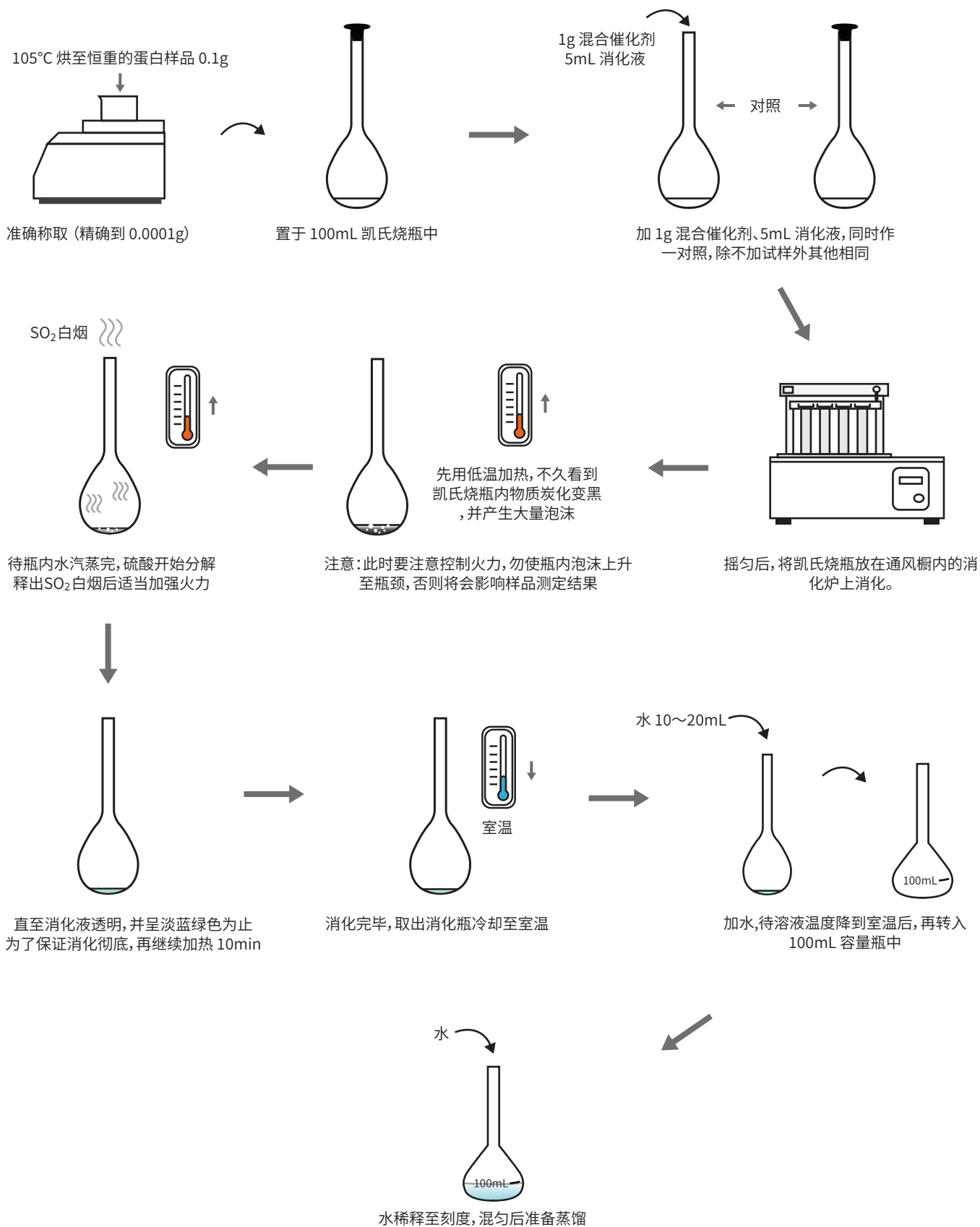


微量凯氏定氮法测定蛋白质含量

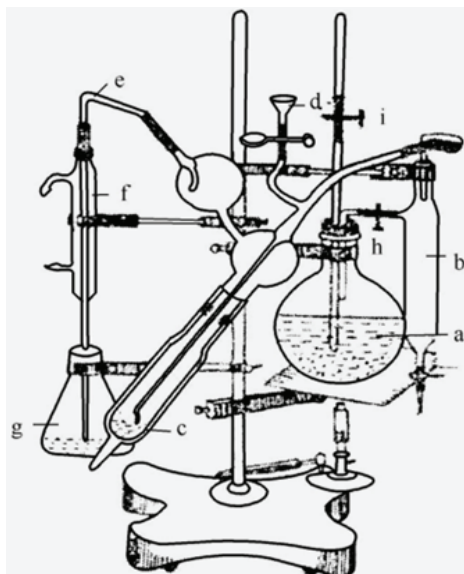
实验步骤

1 消化



2 蒸馏

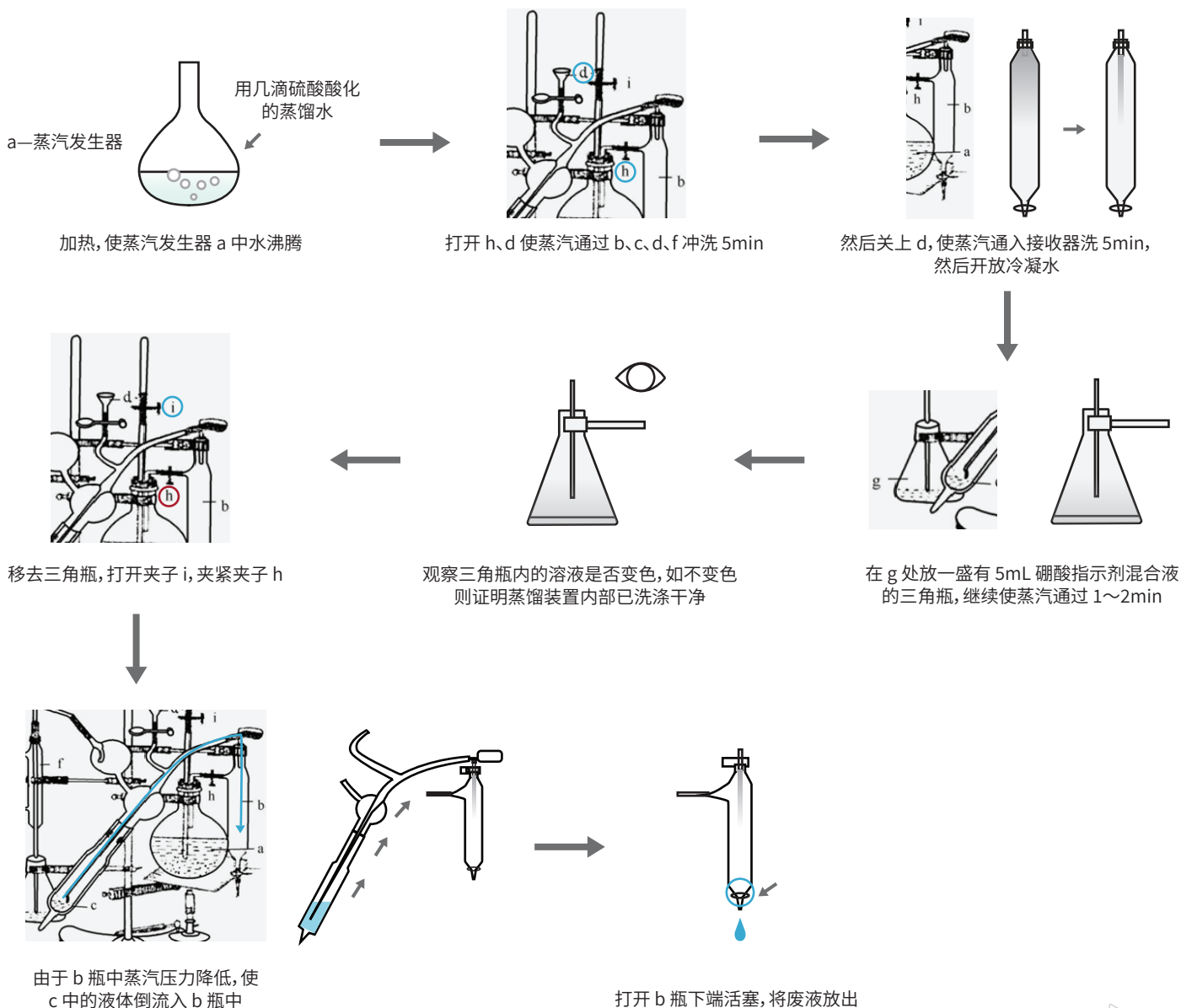
(1) 凯氏定氮蒸馏仪(图 1)的洗涤



○ 打开
○ 关闭

图 1 凯氏定氮蒸馏装置

a—蒸汽发生器 b—蒸汽收集器 c—反应室 d—漏斗 e—玻璃管 f—冷凝管 g—吸收瓶 h—铁夹 i—铁夹



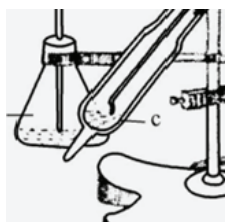
(2) 标准样品练习

为了熟练蒸馏操作,可先用标准 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液试验3~5次。

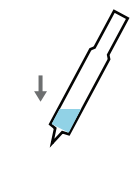


取3个100mL三角瓶,
各加5mL 硼酸指示剂混合液,用表面皿覆盖备用。

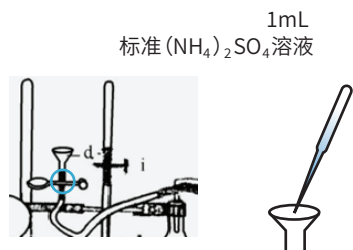
① 加样



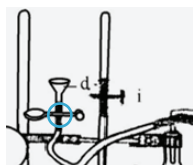
加样前反应室c内液体应尽量减少,
以免降低碱的浓度使氨蒸馏得不完全。



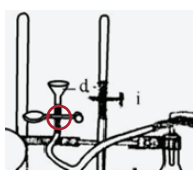
将1个盛有硼酸指示剂混合液的三角瓶放在冷凝管下
将瓶倾斜,使冷凝管下端浸在液体内



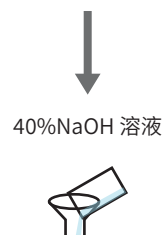
打开漏斗d夹子,
小心地加到漏斗下方,使其流入反应室c



再轻轻打开夹子,使一半蒸馏水流入
反应室,一半留在漏斗中作水封



尚未完全流入时,将夹子夹紧,向漏
斗中加入约5mL蒸馏水



用量筒量取40%NaOH溶液10mL
放入漏斗d,轻轻开启夹子使之流入
反应室

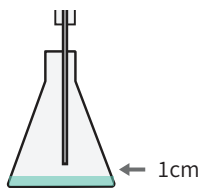
② 蒸馏

在进行上述加样操作时,蒸汽不能停,加样完毕,开始蒸馏

自变色起计时,蒸馏3~5min



此时三角瓶内硼酸指示剂混合液由
紫色变成鲜绿色



移开三角瓶,使硼酸液离开冷凝管口约1cm,
用少量蒸馏水洗冷凝管下口外面



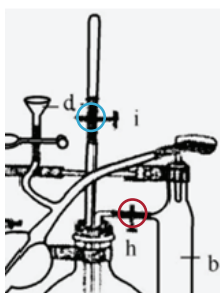
继续蒸馏1min



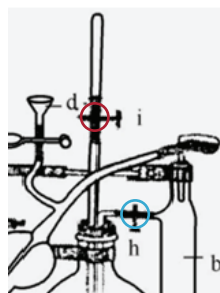
移开三角瓶,
用表面皿覆盖瓶口

③ 排废液及洗涤

蒸馏完毕后,继续加热蒸汽烧瓶



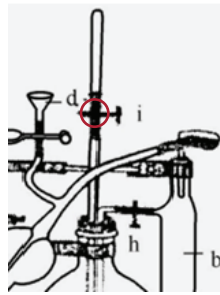
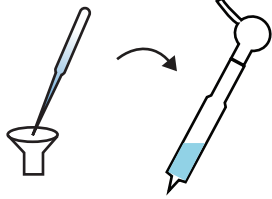
待反应室外壳烫手时,打开
夹子i,夹紧夹子h,使反应
室内内容物倒吸入b瓶中并
放出



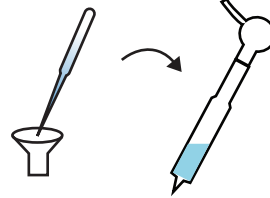
排完反应室废液后,打开夹子h,
夹紧夹子i



20mL 蒸馏水



从漏斗 d 加入 20mL 蒸馏水，
放入反应室，继续加热紧夹子 i



反复洗 2~3 次



重复排废液操作，将反应室内洗涤液排出，反复洗 2~3 次，
直至用硼酸指示剂混合液检查合格为止
再做下次蒸馏



蒸馏 3~5 次

按以上操作，用标准 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液蒸馏 3~5 次，分别以 0.0100mol/L HCl 标准溶液滴定，
计算直到实验数值与实际浓度误差不超过 0.1% 时，方可正式进行样品和空白的蒸馏。

(3) 样品及空白蒸馏



练习操作相同

取 5mL 消化好的样品或空白稀释液进行蒸馏，
其余与标准 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液练习操作相同。

3 滴定

0.0100mol/L HCl 标准溶液



用 0.0100mol/L HCl 标准溶液
滴定三角瓶中的吸收液

直至硼酸指示剂混合液由绿色变回淡紫色，
即为滴定终点。

4 计算

$$\text{粗蛋白质含量}(\%) = \frac{(V - V_0) \times c \times 14 \times 6.25}{m \times 1000 \times 5/100} \times 100$$

标准 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 含量 (mg 氮/mL) = $V \times c \times 14$

式中：

V —— 滴定试样时消耗 HCl 标准溶液体积，mL；

V₀ —— 滴定空白时消耗 HCl 标准溶液体积，mL；

c —— HCl 标准溶液的浓度，mol/L；

14 —— 消耗 1mL，1mol/L HCl 标准溶液相当于氮的质量，mg；

m —— 称量样品的质量，g；

6.25 —— 氮换算成蛋白质的系数；

1000 —— mg 换算成 g 的系数。

