

蛋白窒素定量法

トリクロロ酢酸を加えて加熱し、沈殿する蛋白に含まれる窒素量をマイクロケルダール法によって測定し、検体等の蛋白窒素含有量を定量する方法である。

適否の判定は、各条の規定による。

1 試液及び試薬

1.1 50w/v%トリクロロ酢酸試液

トリクロロ酢酸 500g に水を加えて溶かし、1,000mL とする。

1.2 5 w/v%トリクロロ酢酸試液

1.1 を水で 10 倍に希釈する。

1.3 1 mol/L 水酸化ナトリウム試液

水酸化ナトリウム 4.0g に水を加えて溶かし、100mL とする。

1.4 分解剤

硫酸カリウム 100g 及び硫酸銅()五水和物 10g の混合物を粉末とする。

1.5 30w/v%水酸化ナトリウム試液

水酸化ナトリウム 300g に水を加えて溶かし、1,000mL とする。

1.6 指示薬

ブロモクレゾールグリーン 0.15g 及びメチルレッド 0.1g を 90vol%エタノールに溶かし、200mL とする。

1.7 ホウ酸試液

ホウ酸 40g に水を加えて溶かし、1,000mL とする。

1.8 0.005mol/L 硫酸（容量分析用標準液）

1,000mL 中に硫酸 0.4904g を含む。

0.05mol/L 硫酸の調製

硫酸 3 mL に水を加え 1,000mL とし、次の標定を行う。

0.05mol/L 硫酸の標定

炭酸ナトリウムを 500 ~ 650 で 40 ~ 50 分間加熱した後、デシケーター（シリカゲル）で放冷し、その約 0.08g を精密に量り、水 30mL を加えて溶かし、メチルレッド試薬 3 滴を加え、調製した硫酸で滴定し、規定度係数を計算する。ただし、滴定の終点は、液を注意して煮沸し、ゆるく栓をして冷却するとき、持続する橙色ないし橙赤色を呈するときとする。

0.05mol/L 硫酸 1 mL = 5.299mgNa₂CO₃

0.005mol/L 硫酸の調製

用時、0.05mol/L 硫酸に水を加えて正確に 10 倍容量とする。

2 試験方法

蛋白窒素量として 10 ~ 200 μg に対応する検体等を正確に採り、その 10 分の 1 容の 50w/v%トリクロロ酢酸試液を加え、沸騰浴中で 15 分間加熱した後、常温まで冷却する。医薬品各条のうち抗毒素、血清については、沸騰浴中で 15 分間の加熱を省き、代わりに適当な温度で 15 分間保温するものとする。その後、遠心し、沈さに 5 w/v%トリクロロ酢酸の適当量を加えて遠心洗浄後、沈さを少量の 1 mol/L 水酸化ナトリウム試液で溶解し、試料とする。

分解フラスコに分解剤約 70mg 及び試料を入れ、更に硫酸 1 mL をフラスコの内壁に沿って加える。約 5 時間加熱分解し、液が青色透明となりフラスコ内壁に炭化物を認めなくなったとき、加熱をやめる。分解のとき、必要があれば、過酸化水素（30）を分解フラスコに加えてもよい。放冷後、水約 5 mL を加えて冷却し、あらかじめ水蒸気を通して洗った蒸留フラスコに水で洗い込む。さらに 30w/v%水酸化ナトリウム試液 6 mL を蒸留フラスコに入れる。

受器にホウ酸試液 5 mL 及び指示薬数滴を入れ、冷却器の下端をこの液に浸す。

蒸留フラスコに水蒸気を通し、留液 70 ~ 80mL を得るまで蒸留する。冷却器の下端を液面から離し、少量の水でその部分を洗い、0.005mol/L 硫酸で滴定する。滴定の終末点は、緑色が微灰青色を経て微灰赤紫色に変わるときとする。水で空試験をし、補正する。

0.005mol/L 硫酸 1 mL = 140.07 μ g N