

流动注射法测定青贮饲料中的氨态氮

范志影¹, 陈金辉², 肖靖泽², 赵萍²

(1. 中国农业科学院饲料研究所, 北京 100081; 2 北京吉天仪器有限公司, 北京 100016)

摘要:采用流动注射分析法测定青贮饲料中的氨态氮。方法的检出限为 $1.99 \mu\text{g/L}$; 线性范围为 $10 \sim 5000 \mu\text{g/L}$, 相关系数 $r = 0.999$; 其相对标准偏差为 1.03% ; 实际样品的加标回收率为 $96\% \sim 108\%$; 样品测定频率为 30 样/h 。本方法操作简便、灵敏度较高、线性范围宽、精密度高, 对于大量饲料样品的测定结果令人满意。
关键词:流动注射; 氨态氮; 青贮饲料

中图分类号: S816.17 文献标识码: A 文章编号: 1008-0864(2008)S2-0098-03

Determination of Ammonia-N in Silage by Flow Injection Analysis

FAN Zhi-ying¹, CHEN Jin-hui², XIAO Jing-ze², ZHAO Ping²

(1. Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081;

2. Beijing Titan Instruments Co., Ltd, Beijing 100016, China)

Abstract: Ammonia-N in silage was determined by flow injection analysis. The detection limit was $1.99 \mu\text{g/L}$, correlation coefficient r was more than 0.999 , the RSD was 1.03% and the reclaim ratio was $96\% \sim 108\%$. The method has the characteristics of simplicity, sensitivity and good correlation. It is suitable to be used for determination of ammonia-N in silage with large quantity of samples.

Key words: ammonia-N; flow injection analysis; silage

青贮饲料中氨态氮与总氮的比值是评估青贮蛋白质破坏程度的重要指标。氨态氮的测定方法通常有半微量蒸馏法和比色法。半微量蒸馏法是在 1% 氧化镁提供的弱碱条件下蒸馏出氨, 由于在制备青贮萃取液时, 会向萃取液中加入了少量硫酸以固定容易挥发的氨态氮, 样品溶液中硫酸的存在使得氧化镁提供的弱碱环境不可靠, 因此, 此法不适于青贮中氨态氮含量的测定。流动注射光度法是一种现代湿化学分析法, 常用于工业实验室的复杂化学反应自动分析, 可以分析大部分类型的液体样品, 如水、土壤提取液、饮料或化合物等。流动注射光度法用于水中氨态氮的检测已有相关报道^[1-3]。本研究探讨了采用流动注射光度法测定青贮饲料萃取液中的氨态氮含量。待测溶液中的氨离子经氯化生成一氯胺, 一氯胺与水杨酸盐反应生成 5-氨基水杨酸盐, 然后经过氧化和氧化偶合反应生成绿色的络合物, 通过在 660 nm 处测定其吸光度, 吸光度与溶液中氨态氮

的浓度成正比。用该法测定青贮饲料中氨态氮, 准确度和精密度高, 样品和试剂用量少, 分析速度快, 结果令人满意。

1 材料与方 法

1.1 仪器

FA-6000 全自动流动注射分析仪 (北京吉天仪器有限公司), ARUS 艾科浦超纯水器 (重庆颐洋企业发展有限公司), BS124S 分析天平 (北京塞多利斯仪器系统有限公司), KH5200 超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司)。

1.2 试剂制备

缓冲溶液 ($\text{pH} 5.2 \pm 0.1$): 33 g 酒石酸钾钠、 24 g 柠檬酸钠溶于去离子水中, 定容至 1 L 。水杨酸钠溶液 (80 g/L): 25 g 氢氧化钠、 80 g 水杨酸钠溶于去离子水中, 定容至 1 L 。亚硝基铁氰化钠

收稿日期: 2008-07-10; 修回日期: 2008-11-10

作者简介: 范志影, 助理研究员, 主要从事动物营养及饲料检测技术方面的研究。Tel: 010-82106052; Email: fanzhiying@mail

caas.net.cn

溶液 (5 g/L): 5 g亚硝基铁氰化钠用水溶解,定容至 1 L。二氯异氰尿酸钠溶液 (4 g/L): 4 g二氯异氰尿酸钠用水溶解,定容至 1 L。载流:去离子水。配制试剂所用的去离子水都经过纯水器处理,各种溶液和载流均需超声脱气。

1.3 仪器条件

泵速为 35 rpm,进样器吸取样品的时间为 60 s,显色时间为 80 s,加热温度 60 。在线测定氨态氮的流路如图 1 所示。

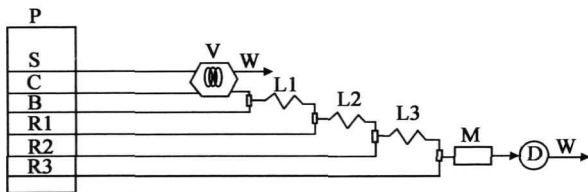


图 1 流动注射光度法测定氨态氮的流程

Fig 1 The chart of flow injection analysis of ammonia-N

R1:水杨酸钠溶液 Salicylic acid sodium salt solution; R2:亚硝基铁氰化钠溶液 Sodium nitroprusside solution; R3:二氯异氰尿酸钠溶液 Sodium dichloroisocyanurate solution; C:载流 Carrier; S:样品溶液 Sample; B:缓冲溶液 Buffer; W:废液 Waste; P:蠕动泵 Peristaltic pump; V:六通采样阀 Injection valve; L:混合环 Reaction coil; M:加热模块 Heat up module; D:检测器 Detector

1.4 标准溶液

氯化氨标准储备液 (100 mg/L):称取 0.3819 g氯化氨,用水溶解后定容至 1 000 mL,此标准溶液氮的含量为 100 mg/L。

用氯化氨标准储备液稀释,制成浓度为 20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 、500 $\mu\text{g/L}$ 、1 000 $\mu\text{g/L}$ 、2 000 $\mu\text{g/L}$ 和 5 000 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列溶液。

1.5 样品处理

取新鲜的青贮饲料 20 g于具塞三角瓶中,加入 200 mL去离子水,于 4 冰箱中浸提 24 h,用快速定量滤纸过滤,取滤液稀释 50 倍,为待测溶液。

2 结果与分析

2.1 工作曲线

根据系列标准溶液的测定,绘制氨态氮标准曲线,在 10 ~ 5 000 $\mu\text{g/L}$ 范围内成线性关系,其线性方程为: $y = 0.2895x - 9.513$,相关系数为

0.999 0。

2.2 检出限

FA-6000全自动流动注射分析仪关于检出限的测定是根据 EPA 计算检出限的方法来计算的。按照 EPA 关于检出限的定义,其公式为:

$$DL = t(n-1, \alpha=0.99) \times s$$

其中: $t(n-1, \alpha=0.99)$ 是当自由度为 $n-1$,置信度为 99%时,单边 t 检验的情况下决定标准偏差;当 $n=7$ 时 $t(n-1, \alpha=0.99) = 3.14$; s 为重复 n 次测量得到的标准偏差。

选取 20.0 $\mu\text{g/L}$ 的氨态氮标准溶液测量 7 次,进行方法检出限的测定,SD 为 0.247 1,根据上式方法计算,测得其检出限为 1.99 $\mu\text{g/L}$ 。

2.3 精密度

以 500 $\mu\text{g/L}$ 氨态氮标准溶液连续测定 7 次,其相对标准偏差 (RSD) 为 1.03%。

2.4 青贮饲料样品的测定

对 214 个饲料样品的萃取液稀释 50 倍后进行连续测定,在测定过程中间分别在第 100 个样品后和第 200 个样品后分别插入一个 500 $\mu\text{g/L}$ 的标准样品作为质控样,经测定其值分别为 496 $\mu\text{g/L}$ 和 499 $\mu\text{g/L}$,误差分别为 0.8% 和 0.2%,说明经过长时间的连续测定后,仪器仍然十分稳定可靠。

2.5 饲料样品加标回收率测定

随机选择 5 种饲料样品,加入 25 mg/L 的标准溶液,测定其加标前的浓度和加标后的浓度,计算加标回收率 (见表 1)。加标回收率在 96% ~ 108% 之间。

表 1 饲料样品加标回收率的测定

Table 1 Determination of reclaim ratio

样品 Sample No	浓度 (mg/L) Concentration (mg/L)	加标量 (mg/L) Adding concentration (mg/L)	加标后浓度 (mg/L) Total concentration (mg/L)	加标 回收率 (%) Reclaim ratio (%)
2	36.25	25	60.32	96.28
42	15.42	25	42.25	107.32
115	29.97	25	53.91	95.76
123	30.39	25	55.05	98.64
192	46.04	25	70.86	99.28

2.6 讨论

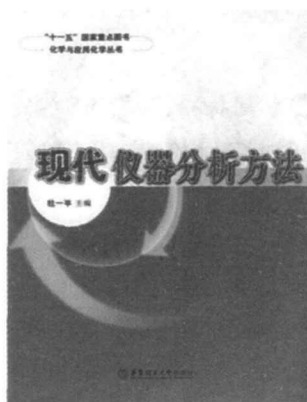
某些青贮饲料的萃取液有一定色度,直接用比色法测定会对结果产生干扰。而本法灵敏度较高,可以允许样品经过稀释 50倍或 100倍以后再进行测定,这样就大大降低了色度的影响,其色度的影响可忽略不计。本法的测定线性范围较宽,对于饲料这种氨态氮含量差别较大的样品十分适合。同时本法具有较好的精密度和准确度,分析

大量样品时有更好的应用价值。

参 考 文 献

- [1] 罗宏德,葛振平,尹杰,等. 流动注射-光度法测定地表水中挥发酸[J]. 理化检验-化学分册, 2007, 43(10): 841-843.
- [2] 刘芳,李俊. 流动注射法测定水中氨态氮[J]. 环境监测管理技术, 2001, 13(4): 33.
- [3] 汪小丰,王士相,王媛. 流动注射分析法测定生活饮用水及水源中的氨氮[J]. 江苏预防医学, 2004, 15(3): 72-73.

【新书推介】



《现代仪器分析方法》

杜一平 编 华东理工大学出版社

出版日期: 2008. 10

I S B N: 9787562824404

定 价: 49. 00元

开 本: 16开

页 数: 448页

自 1983年以来,朱明华先生编写出版了多种版本的《仪器分析》教材,已经成为《仪器分析》教材的经典之作。本书作者大多为朱先生的学生,曾经得到过先生的谆谆教诲。本书作为化学、化工及其相关专业本科生、研究生的教材,在继承朱先生主编的《仪器分析》基本内容和编写特点的基础上,充分考虑了本科生、研究生教育的特点,在教材编写的内容取材、深度和广度把握、基础知识和新技术搭配等方面做了一些改革和探索。

随着科学技术的飞速发展,仪器分析领域也取得了巨大的成就。很多传统的仪器分析方法都得到了改进和提高,同时也出现了一些新的仪器分析技术和方法。作为现代科学技术的“眼睛”,仪器分析方法在化学、化工及相关领域具有极其重要的地位,仪器分析方面的新技术和新方法对相关领域的科学研究也非常重要。研究生是各个专业科学研究的生力军,他们的研究工作往往处于学科研究的前沿,掌握好仪器分析这一重要工具,对研究生培养来说至关重要。因

此,研究生的教材必须要跟上仪器分析的发展,在保证掌握基础知识的前提下,还要体现分析化学学科最新发展的理论、技术和方法。本书根据分析化学及其相关学科的特点和最新发展动向,收录了各种重要的仪器分析方法,既涵盖了仪器分析的基本内容,如传统的色谱分析、光谱分析、电分析化学等,又加入了目前发展迅速、应用广泛的新技术和新方法,如表面分析技术、化学传感器、化学计量学等。同时在每章中还尽可能开辟一节专门介绍各种仪器分析领域的最新技术和前沿研究内容。

另外,本书面对的是化学、化工及其相关领域的广大读者群,他们一般并不把仪器分析方法作为研究对象,而是作为研究手段。因此本书特别强调方法的实用,学以致用。书中包含了很多有关仪器分析应用的内容,而且突出讲述了各种仪器分析方法中样品处理和制备的方法,期望读者能通过学习掌握基本的样品处理和制备方法,以便委托分析检测部门进行样品分析检测时获得更加准确可靠的数据。