

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1975—2010

水溶肥料 游离氨基酸含量的测定

Water-soluble fertilizers—
Determination of amino-acids content

2010-12-23 发布

2011-02-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准遵照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准是对 NY 1429—2007《含氨基酸水溶肥料》附录 A 的修订。

本版与原标准附录的主要差异是：

- 将原标准附录部分转变为本标准正文；
- 增加了氨基酸自动分析仪法的不同实验室间允许差；
- 增加了柱前衍生—液相色谱仪法的试验方法。

本标准自实施之日起，同时代替 NY 1429—2007 的附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位：国家化肥质量监督检验中心（北京）。

本标准主要起草人：刘蜜、张骏。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- NY 1429—2007《含氨基酸水溶肥料》附录 A。

水溶肥料 游离氨基酸含量的测定

1 范围

本标准规定了水溶肥料中游离氨基酸含量测定的氨基酸自动分析仪法和柱前衍生—液相色谱仪法的试验方法。

本标准适用于液体或固体水溶肥料中游离氨基酸含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

HG/T 2843 化肥产品 化学分析中常用标准滴定溶液、标准溶液、试剂溶液和指示剂溶液

NY/T 887 液体肥料 密度的测定

3 游离氨基酸含量的测定 氨基酸自动分析仪法(仲裁法)

3.1 原理

试样用磺基水杨酸沉淀蛋白质后,用 EDTA 络合金属元素释放氨基酸,氨基酸经分离柱分离后与茚三酮显色,测定天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸和精氨酸共 17 种氨基酸的含量,这些氨基酸含量的总和,即为游离氨基酸的含量。

3.2 试剂和材料

本标准中所用试剂、水和溶液的配制,在未注明规格和配制方法时,均应符合 HG/T 2843 的规定。

3.2.1 柠檬酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

3.2.2 盐酸。

3.2.3 盐酸溶液: $c(\text{HCl})=0.06 \text{ mol/L}$ 。

3.2.4 氢氧化钠溶液: $\rho(\text{NaOH})=500 \text{ g/L}$ 。

3.2.5 磺基水杨酸溶液: $\rho(\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{S} \cdot 2\text{H}_2\text{O})=50 \text{ g/L}$ 。

3.2.6 乙二胺四乙酸二钠溶液: $\rho(\text{EDTA}-\text{Na})=10 \text{ g/L}$ 。

3.2.7 柠檬酸钠缓冲液: $\text{pH } 2.2$ 。称取 19.6 g 柠檬酸钠(3.2.1),溶解后转入 1 000 mL 容量瓶中,加入 16.5 mL 盐酸(3.2.2),加水至刻度,混匀。必要时,可用盐酸(3.2.2)和氢氧化钠溶液(3.2.4)调节 pH 至 2.2。

3.2.8 混合氨基酸标准溶液,色谱纯。含天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸和精氨酸共 17 种氨基酸。

3.3 仪器

3.3.1 通常实验室仪器。

3.3.2 氨基酸自动分析仪。

3.3.3 离心机(10 000 r/min 以上)或 $0.45 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜及过滤器、注射器。

3.3.4 蒸干装置:试管浓缩仪或其他浓缩装置。

3.4 分析步骤

3.4.1 试样的制备

固体样品经多次缩分后,取出约 100 g,将其迅速研磨至全部通过 0.50 mm 孔径筛(如样品潮湿,可通过 1.00 mm 筛子),混合均匀,置于洁净、干燥容器中。液体样品经多次摇动后,迅速取出约 200 mL,置于洁净、干燥的容器中。

3.4.2 试样溶液的制备

称取试样 2 g~10 g(精确到 0.001 g),置于 250 mL 容量瓶中。充分溶解后,加水至刻度,混匀,放置过夜后吸取上清液(或过滤后吸取滤液)2 mL 于 10 mL 离心管或试管中,准确加入 2 mL 磺基水杨酸溶液(3.2.5),混匀,放置 1 h。准确加入 1 mL EDTA - Na 溶液(3.2.6)和 1 mL 盐酸溶液(3.2.3),混匀,离心 15 min(或用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤)。吸取上清液(或滤液)1 mL,蒸干。准确加入 1 mL~5 mL 的柠檬酸钠缓冲液(3.2.7)溶解,使氨基酸浓度处于仪器最佳检测范围内,供仪器测定用。

3.4.3 测定

按仪器说明书要求,使混合氨基酸标准溶液(3.2.8)浓度处于仪器最佳检测范围内,作为外标上机测定。

用外标法测定试样溶液中游离氨基酸的含量。

3.5 分析结果的表述

游离氨基酸含量 w 以质量分数(%)表示,按式(1)计算:

$$w = \sum_{i=1}^k \frac{n_i M_i D V_1 \times 10^3}{m V \times 10^9} \times 100 = \sum_{i=1}^k \frac{n_i M_i D V_1}{m V} \times 10^{-4} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- k ——氨基酸的种类数;
- n_i ——仪器进样体积 V 中第 i 种氨基酸的物质的量,单位为纳摩尔(nmol);
- M_i ——第 i 种氨基酸的摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol);
- D ——测定时试样溶液的稀释倍数;
- V_1 ——定容体积,单位为毫升(mL);
- 10^3 ——将毫升换算成微升的系数;
- m ——试料的质量,单位为克(g);
- V ——仪器进样体积,单位为微升(μL);
- 10^9 ——将克换算成纳克的系数。

取平行测定结果的算术平均值为测定结果,结果保留到小数点后一位。

3.6 允许差

平行测定结果的绝对差值应符合表 1 的要求。

表 1

游离氨基酸的质量分数, %	<10.0	10.0~20.0	>20.0
绝对差值, %	≤1.0	≤1.5	≤2.0

不同实验室测定结果的绝对差值应符合表 2 的要求。

表 2

游离氨基酸的质量分数, %	<10.0	10.0~20.0	>20.0
绝对差值, %	≤1.5	≤2.5	≤4.0

3.7 质量浓度的换算

液体肥料游离氨基酸含量 $\rho(\text{氨基酸})$ 以质量浓度(g/L)表示,按式(2)计算:

$$\rho(\text{氨基酸}) = 10w\rho \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

w ——试样中游离氨基酸的质量分数,单位为百分率(%);

ρ ——液体试样的密度,单位为克每毫升(g/mL)。

密度的测定按 NY/T 887 的规定执行。

结果保留至整数。

4 游离氨基酸含量的测定 柱前衍生—液相色谱仪法

4.1 原理

试样用磺基水杨酸沉淀蛋白质后,用 EDTA 络合金属元素释放氨基酸,氨基酸经化学衍生后由液相色谱仪分离并测定天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸和精氨酸共 17 种氨基酸的含量,这些氨基酸含量的总和,即为肥料中游离氨基酸的含量。

4.2 试剂和材料

本标准中所用试剂、水和溶液的配制,在未注明规格和配制方法时,均应符合 HG/T 2843 的规定。

4.2.1 磺基水杨酸溶液: $\rho(\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{S} \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = 50 \text{ g/L}$ 。

4.2.2 乙二胺四乙酸二钠溶液: $\rho(\text{EDTA} - \text{Na}) = 10 \text{ g/L}$ 。

4.2.3 混合氨基酸标准溶液,色谱纯。含天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸和精氨酸共 17 种氨基酸。

4.2.4 所选择的衍生方法要求的试剂。

4.3 仪器

4.3.1 通常实验室仪器。

4.3.2 离心机(10 000 r/min 以上)或 0.45 μm 的微孔滤膜及过滤器、注射器。

4.3.3 液相色谱仪,配有紫外检测器。

4.3.4 所选择的衍生方法要求的仪器设备。

4.4 分析步骤

4.4.1 试样的制备

固体样品经多次缩分后,取出约 100 g,将其迅速研磨至全部通过 0.50 mm 孔径筛(如样品潮湿,可通过 1.00 mm 筛子),混合均匀,置于洁净、干燥容器中。液体样品经多次摇动后,迅速取出约 100 mL,置于洁净、干燥的容器中。

4.4.2 试样溶液的制备

称取试样 1 g~5 g(精确到 0.001 g),置于 250 mL 容量瓶中,充分溶解后,加水至刻度,混匀。放置过夜后吸取上清液(或过滤后吸取滤液)2 mL 于 10 mL 离心管或试管中,准确加入 2 mL 磺基水杨酸溶液(4.2.1),混匀,放置 1 h。准确加入 1 mL EDTA - Na 溶液(4.2.2),混匀,离心 15 min(或用 0.45 μm 的滤膜过滤)。将上清液(或滤液)按仪器说明书和所选择的衍生方法的要求稀释至合适的氨基酸浓度及 pH 范围,衍生化后使其浓度处于仪器最佳检测范围内,供仪器测定用。

4.4.3 测定

按仪器说明书和所选择的衍生方法的要求,将混合氨基酸标准溶液(4.2.3)稀释至合适的氨基酸浓

度及 pH 范围,衍生化后使其浓度处于仪器最佳检测范围内,作为外标上机测定。

用外标法测定试样溶液中游离氨基酸含量。

4.5 分析结果的表述

游离氨基酸含量 w 以质量分数(%)表示,按式(3)计算:

$$w = \sum_{i=1}^k \frac{n_i M_i D V_1 \times 10^3}{m V \times 10^9} \times 100 = \sum_{i=1}^k \frac{n_i M_i D V_1}{m V} \times 10^{-4} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

k ——氨基酸的种类数;

n_i ——仪器进样体积 V 中第 i 种氨基酸的物质的量,单位为纳摩尔(nmol);

M_i ——第 i 种氨基酸的摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol);

D ——测定时试样溶液的稀释倍数;

V_1 ——定容体积,单位为毫升(mL);

10^3 ——将毫升换算成微升的系数;

m ——试料的质量,单位为克(g);

V ——仪器进样体积,单位为微升(μ L);

10^9 ——将克换算成纳克的系数。

取平行测定结果的算术平均值为测定结果,结果保留到小数点后一位。

4.6 允许差

平行测定结果的绝对差值应符合表 3 的要求。

表 3

游离氨基酸的质量分数, %	<10.0	10.0~20.0	>20.0
绝对差值, %	≤1.0	≤2.0	≤3.0

4.7 质量浓度的换算

液体肥料游离氨基酸含量 ρ (氨基酸),以质量浓度(g/L)表示,按式(4)计算:

$$\rho(\text{氨基酸}) = 10wp \dots\dots\dots (4)$$

式中:

w ——试样中游离氨基酸的质量分数,单位为百分率(%);

ρ ——液体试样的密度,单位为克每毫升(g/mL)。

密度的测定按 NY/T 887 的规定执行。

结果保留至整数。