团 体 标 准

T/XXX XXXX—XXXX

含氨基酸水溶肥料
游离氨基酸含量的测定—分光光度法

Water-soluble fertilizer containing amino-acids
Determination of free amino acid content—Spectrophotometry

(征求意见稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

广西肥料协会 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本标准由广西肥料协会提出并归口。

本标准起草单位：广西壮族自治区分析测试研究中心、广西乐土生物科技有限公司、广西垂青生物科技有限公司、广西壮族自治区产品质量检验研究院、广西壮族自治区地质矿产测试研究中心、广西西大检测有限公司。

本标准主要起草人：黄一帆、陆明光、韦晓社、陈桂鸾、吉日文、陈裕新、潘扬昌、贾虎成、刘辉庭、吕贵升、周权能、陆章权、卢一叶、李辉宁、陈海艳、梁鑫佳、裴根、李义芬、班雁华、邓艺萍、黄殿贵、陈小莉、邓多桓、滕丽娜、莫达松、陆云、陆银英、刘永强、陈海燕、唐小丽、许园园、陈艳、谭焱

含氨基酸水溶肥料

游离氨基酸含量的测定-分光光度法

1 范围

本标准规定了水溶肥料中游离氨基酸含量测定的分光光度法的试验方法。
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

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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断
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
NY/T	1975	水溶肥中 游离氨基酸含量的测定

3 原理

试样用活性炭吸附蛋白质和消除色素干扰，用EDTA络合金属元素释放氨基酸，氨基酸与茚三酮反应成蓝色物质，在一定浓度范围内，蓝色溶液的吸光度与氨基酸量成正比例关系，用分光光度法测定出总的氨基酸含量，然后再除以校正系数，最终得到游离氨基酸含量。

4 试剂和材料

本标准中所用的试剂、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。

- 4.1 盐酸溶液： $c(\text{HCl})=0.06\text{mol/L}$ 。移取 0.25mL 盐酸至 50mL 容量瓶中，用纯水定容，摇匀备用。
- 4.2 活性炭（分析纯）。
- 4.3 乙二胺四乙酸二钠溶液： $\rho(\text{EDTA-Na})=10\text{g/L}$ 。称取 0.5g 乙二胺四乙酸二钠至 50ml 容量瓶中，用纯水定容，摇匀备用。
- 4.4 乙酸-乙酸钠缓冲溶液：pH 约 5.4。
称取 13.6g 无水醋酸钠溶于 1000mL 水中，再加入 1.5mL 冰乙酸，搅拌均匀备用。
- 4.5 10%异丙醇溶液：称取25g异丙醇到250mL容量瓶中，用乙酸-乙酸钠缓冲溶液定容，摇匀备用。
- 4.6 3%茚三酮溶液：称取1.5g茚三酮指示剂至50mL容量瓶中，用10%异丙醇溶液定容，超声波震荡至完全溶解，摇匀备用（15天内用完）。
- 4.7 抗坏血酸溶液：称取0.02g抗坏血酸至25mL容量瓶中，用水定容，超声波震荡至完全溶解，摇匀备用（现配现用）。
- 4.8 氨基酸（亮氨酸）标准溶液的配制：准确称取12mg99%亮氨酸至50mL容量瓶中，用10%异丙醇溶解定容，超声波溶解后，摇匀备用。

5 仪器

- 5.1 通常实验室仪器。
- 5.2 紫外可见分光光度计。
- 5.3 具塞比色管：10mL。
- 5.4 玻璃比色皿：1cm。

6 分析步骤

6.1 试样的制备

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

6.2 试样溶液的制备

称取试样1g~5g（精确到0.001g），置于250mL容量瓶中，用水充分溶解后定容到刻度，摇匀后干过滤，弃去20mL初滤液。取约30mL滤液于小烧杯中，加入一勺（约2g）活性炭搅拌2min，静置5min后干过滤，再用0.45微米的微孔滤膜过滤滤液。准确移取0.50mL滤液于50mL容量瓶中，加入1.0mL EDTA-Na溶液（4.3）和1.0mL盐酸溶液（4.1），用乙酸-乙酸钠缓冲溶液定容，摇匀后干过滤，滤液备用待测。

6.3 标准曲线的绘制

空白溶液的制备：用移液管依次吸取2.00mL蒸馏水、1.00mL茚三酮溶液、0.50mL抗坏血酸溶液、1.50mL乙酸-乙酸钠缓冲溶液于具塞比色管中，在100℃的沸水中加热15min，取出冷却至室温，摇匀。

标准曲线的绘制：用移液管吸取1.00mL、2.00mL、3.00mL、4.00mL氨基酸标准溶液分别置于4个50mL容量瓶中，用10%异丙醇溶液定容，摇匀。分别用移液管依次吸取2.00mL上述溶液、1.00mL茚三酮溶液、0.50mL抗坏血酸溶液、1.50mL乙酸-乙酸钠缓冲溶液于具塞比色管中，在100℃的沸水中加热15min，取出冷却至室温，摇匀。以空白溶液为参比，于波长573nm处测定各吸光度。以氨基酸标准溶液的浓度为纵坐标，吸光度为横坐标绘制标准曲线。

6.4 样品的测定

分别用移液管依次吸取2.00mL试样溶液（6.2）、1.00mL茚三酮溶液、0.50mL抗坏血酸溶液、1.50mL乙酸-乙酸钠缓冲溶液于具塞比色管中，在100℃的沸水中加热15min，取出冷却至室温，摇匀。以空白溶液为参比，于波长573nm处测定样品溶液吸光度，在标准曲线上查得相应的游离氨基酸质量。

7 分析结果的表述

试样中游离氨基酸含量（ ω ）以其质量分数（%）表示，按式（1）计算：

$$\omega = \frac{C \times 10^{-6} \times \frac{V_1}{V_2}}{m \times f} \times 100 = \frac{C \times \frac{V_1}{V_2}}{m \times f \times 10^4}$$

式中：

ω ：游离氨基酸的质量分数，%；

C：测得试样吸光度在标准曲线上查得对应的以微克为单位的游离氨基酸质量；

V₁：样品稀释总体积，单位为毫升（mL）；

V₂：样品比色用体积，单位为毫升（mL）；

m：样品的质量，单位为克（g）；

f：不同原料或产品的矫正系数，（乐土富安含氨基酸水溶肥：f=1.5；酒精废液：f=1.4；糖蜜液：f=1.2；酸性氨基酸原粉：f=2.5；碱性氨基酸原粉：f=1.0）

8 允许差

平行测定结果的绝对值应符合表1的要求。

表1

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