

ICS 65.02
B40

团 体 标 准

T/NAIA 0004—2020

瘤胃液中氨态氮浓度的测定 碱性次氯酸钠-苯酚分光光度法

(征求意见稿)

2020-XX-XX 发布

2020-XX-XX 实施

宁夏化学分析测试协会 发布

前 言

本标准的编写格式符合 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分 标准的结构和编写》规定编写。

本标准由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本标准由宁夏大学、宁夏饲料工程技术研究中心、宁夏兽药饲料监察所、宁夏昊标检测服务研究院、宁夏化学分析测试协会起草。

本标准主要起草人：辛国省、刘辉、卜姣姣、燕翀、杨仪、丁园、高巧仙、武晓宏、谢荣国、张小飞、王京、佐婷婷。

本标准于 2020 年 XX 月 XX 日首次发布。

瘤胃液中氨态氮浓度的测定

碱性次氯酸钠-苯酚分光光度法

1 范围

本标准规定了瘤胃液中氨态氮浓度的碱性次氯酸钠-苯酚分光光度测定方法。

本标准适用于反刍动物瘤胃液中氨态氮浓度的测定。

本方法定量限：0.1mg/100mL。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过在本标准中的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

GB/T 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备

3 原理

在催化剂亚硝酸铁氰化钠存在下，氨与碱性次氯酸钠和酚反应生成蓝色吡啶酚。

4 试剂与材料

除另有说明外，所用试剂均为优级纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水

4.1 甲醇（分析纯）。

4.2 盐酸（分析纯）。

4.3 亚硝基铁氰化钠。

4.4 苯酚。

4.5 苯酚显色剂：称取 0.05g 亚硝基铁氰化钠（4.3），用 500mL 蒸馏水溶解；加入 10g 苯酚（4.4），混合，溶解；用蒸馏水定容到 1L，装入棕色试剂瓶，在 2-10℃ 保存。在避光条件下可保存 6 个月。

4.6 氢氧化钠。

4.7 磷酸氢二钠。

4.8 次氯酸钠。

4.9 碱性次氯酸钠试剂: 称取 5g 氢氧化钠(4.6), 用 650mL 左右的蒸馏水溶解; 加入 37.85g 磷酸氢二钠(4.7), 加热溶解; 冷却后, 加入 50mL 次氯酸钠(4.8), 混合, 用蒸馏水定容到 1L。用滤纸过滤, 在 2-10℃ 聚乙烯瓶中避光保存。可稳定 6 个月。

4.10 氯化铵(优级纯)。

4.11 氨态氮标准溶液(32mg/100mL):

称取 0.1005g 氯化铵(4.10), 用 80mL 蒸馏水溶解。用 2N 的盐酸将 pH 值调整到 2。用蒸馏水定容到 100mL。此溶液 32mg/100mL。测定前配制成 1、2、4、8、16 和 32mg/100mL 的标准溶液。

5 仪器和设备

5.1 分析天平: 感量 0.0001g。

5.2 旋涡混合仪。

5.3 紫外分光光度计。

5.4 pH 计。

5.5 玻璃试管。

5.6 容量瓶: 50mL、100mL、1000mL。

5.7 刻度吸管: 5mL、10mL、20mL。

5.8 烧杯: 500mL。

6 瘤胃液的采集、处理与保存

瘤胃液的采集在晨饲前进行, 方法一般有两种, 一种是通过瘤胃瘘管进行采集, 另一种是采用特定的胃管通过食道插入瘤胃进行采集。采集的瘤胃内容物, 用 60 目尼龙袋过滤, 取滤液 5mL, 加入预先加有 5mL 用冰水预冷的甲醇, 迅速混匀, 置于 -20℃ 冰柜中保存。

7 测定步骤

7.1 试样制备: 将瘤胃液充分混匀, 准确吸取 1mL 瘤胃液, 加入 1.5 mL 的离心管中, 4℃ 下 12000r/min 离心 15 min, 取上清液备用。

7.2 平行试验: 对同一试样进行平行试验测定。

7.3 空白试验: 随同试样进行空白试验。除不量取样品外, 均按瘤胃液样品步骤进行。

7.4 测定与显色: 吸取备用液(7.1) 80ul 加入到玻璃试管中, 加入 2.5 mL 苯酚显色剂, 混匀; 加入 2.0 mL 碱性次氯酸钠溶液, 混匀。在 37℃ 下水浴 10 min, 取出后室温下放置 10 min。于紫外分光光度计波长 650 nm 处, 以试剂空白为参比, 测量其吸光度。

7.5 标准曲线的绘制

准确移取氨态氮标准溶液 1、2、4、8、16 和 32mg/100mL 各 40ul，加入到预先标好的玻璃试管中，各管补加 40ul 甲醇(4.2)，混匀；加入 2.5 mL 苯酚显色剂，混匀；加入 2.0 mL 碱性次氯酸钠溶液，混匀。

在 37℃下水浴 10 min，取出后室温下放置 10 min。于紫外分光光度计波长 650 nm 处，以试剂空白为参比，测量其吸光度。以氨态氮浓度(mg/100mL)为横坐标，相应吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线，建立线性拟合回归方程。

8 分析结果的计算

按式(1)计算试样中的氨态氮浓度，其数值用 mg/100mL 表示。

$$C(\text{mg}/100\text{mL}) = (C_1 - C_0) \dots\dots\dots (1)$$

式中：C₀—空白试验查得的氨态氮浓度，单位为 mg/100mL；

C₁—标准曲线上查得的氨态氮浓度，单位为 mg/100mL。

9 允许差

在重复性条件下，完成两个平行测定的结果的相对偏差不大于 5%。
