

# 分光光度法测定饲料中铵盐的含量

陆 静<sup>1</sup>, 兰尊海<sup>1</sup>, 张跃红<sup>2</sup>, 向霞霞<sup>1</sup>, 吴亚宇<sup>1</sup>, 商 政<sup>3</sup>, 李 俊<sup>3\*</sup>

(1. 河南海瑞正检测技术有限公司, 郑州 450000; 2. 河南省鄱陵县畜牧局, 许昌 461200;  
3. 中国农业科学院饲料研究所, 北京 100081)

**摘 要:** **目的** 建立一种用纳氏试剂分光光度法测定饲料中铵盐含量的检测方法。**方法** 在碱性溶液中, 加热蒸馏使样品中的氨游离出来, 用盐酸溶液吸收, 碘离子和汞离子在此条件下, 会与氨反应生成红棕色络合物, 此物质在波长 400 nm 左右会有强烈的吸收。而吸光度在一定浓度范围内与样品溶液中氨含量成正比, 从而计算样品中铵盐的含量。**结果** 该方法中铵盐浓度在 0~2.0  $\mu\text{g/mL}$  范围内, 其吸光度和浓度呈良好的线性关系  $r^2 > 0.999$ , 平均回收率达到 90%~110%之间。**结论** 该方法操作简单快捷, 稳定性好, 可用于饲料中铵盐的测定。

**关键词:** 分光光度法; 饲料; 铵盐; 纳氏试剂

## Determination of ammonium salt in feed by spectrophotometry

LU Jing<sup>1</sup>, LAN Zun-Hai<sup>1</sup>, ZHANG Yue-Hong<sup>2</sup>, XIANG Xia-Xia<sup>1</sup>, WU Ya-Yu<sup>1</sup>,  
SHANG Zheng<sup>3</sup>, LI Jun<sup>3\*</sup>

(1. Henan Hai Rui Zheng Detection Technology Co. Ltd, Zhengzhou 450000, China; 2. Henan Yanling County Animal Husbandry Bureau, Xuchang 461200, China; 3. Feed Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of the ammonium salt in feed by spectrophotometry using the Nessler reagent. **Methods** The sample was placed in alkali solution, after heating up and, the solution was distilled so that ammonium was freed out of the sample. The freed ammonium was absorbed using hydrochloride solution. In such solution, iodide ions and mercury ions reacted with ammonium to produce reddish brown complex compound that absorbed lights powerfully with wavelengths around 400 nm. The absorbance was directly proportional to the ammonia content in the sample solution within a certain concentration range, so the content of ammonium salt in the sample could be calculated. **Results** The ammonium concentration of 0~2.0  $\mu\text{g/mL}$  supported a perfect linear relationship ( $r^2 > 0.999$ ) between the light absorbance and the ammonium concentration, ensuring a recovery rate at 90%~110%. **Conclusion** This method is simple, fast and stable, and can be used for the determination of ammonium salt in feed.

**KEY WORDS:** spectrophotometry; feed; ammonium salt; Nessler reagent

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1603400)

Fund: Supported by National Key R&D Program of China (2018YFC1603400)

\*通讯作者: 李俊, 博士, 研究员, 主要研究方向为饲料加工与质量安全。E-mail: lijun08@caas.cn

\*Corresponding author: LI Jun, Ph.D, Professor, Feed Research Institute Chinese Academy of Agricultural Sciences, 12 Zhongguancun South Street, Haidian District, Beijing 100081, China. E-mail: lijun08@caas.cn

## 1 引言

饲料是发展畜牧业的物质基础,饲料中所含的营养物质及有害物质直接影响畜禽产品的质量,进而影响人类的健康<sup>[1]</sup>。作为配合饲料的重要组成部分,蛋白质饲料原料在动物生长发育中发挥着重要作用<sup>[2]</sup>。蛋白饲料一般包含蛋白氮和非蛋白氮两种含氮物质,一部分非蛋白氮可以允许添加在反刍动物饲料中<sup>[3]</sup>。迄今为止,世界上可用于反刍动物非蛋白氮资源的含氮化合物已达20多种<sup>[4]</sup>,不同国家允许添加的非蛋白氮种类有所不同。我国允许使用的非蛋白氮主要有尿素、碳酸氢铵、硫酸铵、液氨、磷酸二氢铵、磷酸氢二铵、异丁叉二脲、磷酸脲、氯化铵、氨水,且只能使用于反刍动物中<sup>[5]</sup>。由于非蛋白氮含氮量较高,少量掺入就可以显著提高原料中粗蛋白的含量<sup>[6]</sup>,因此,掺假者会将非蛋白氮物质掺入饲料原料中以提高原料的粗蛋白质。薛霖莉等<sup>[1]</sup>采用纳氏试剂,对50份蛋白饲料样品中非蛋白氮进行定性检测,结果表明,鱼粉、肉骨粉、柠檬酸渣均有铵盐掺假现象。同时,部分饲料生产企业或养殖场户没有技术能力有效控制非蛋白氮的添加量,会造成动物中毒<sup>[7]</sup>。有国家标准规定,饲料用骨粉和肉骨粉中不应添加非蛋白含氮物质<sup>[8]</sup>。

目前测定饲料中铵盐的方法主要有 GB 34466-2017《饲料添加剂 L-赖氨酸盐酸盐》<sup>[9]</sup>产品标准规定的方法测定铵盐,该方法通过用蒸馏处理后样品与标准比色管目视比较来测定饲料铵盐的含量。2017年内蒙古自治区发布一个地方标准测定饲料中的铵盐含量<sup>[10]</sup>,该方法采用水提取后,取部分滤液进行蒸馏,最后用酸标准滴定溶液进行滴定。2015版兽药典<sup>[11]</sup>附录里对铵盐的检查采用蒸馏后与标准比色管目视比较测定铵盐的含量。除此以外,GB 5009.234《食品安全国家标准 食品中铵盐的测定》<sup>[12]</sup>采用蒸馏后滴定的方法测定铵盐,但是该方法主要适用于酱油中铵盐含量的测定,和饲料的基质相差较大。测定氨和铵离子的测试方法中纳氏试剂的应用较为广泛和流行,具有较好的选择性,较高的反应灵敏度,速度快,操作简单<sup>[13,14]</sup>。由于饲料中关于铵盐检测方法标准较少,各单位检验人员技术水平也有差异,因此,本文研究建立一种用纳氏试剂分光光度法测定饲料中铵盐含量的快速检测方法,以期为基础饲料检验人员提供新的检测参考。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器与材料

UV-2600 型紫外可见分光光度计(北京莱伯泰科仪器有限公司);BSA224S型分析天平[赛多利斯(上海)贸易有限公司];HCA-306 多功能蒸馏器(泰州市华晨仪器有限公司);

纳氏比色管(天津市天玻玻璃仪器有限公司)。

氧化镁、氯化铵(国药集团化学试剂有限公司);盐酸(烟台市双双化工有限公司);氢氧化钾、氢氧化钠(西陇化工股份有限公司);碘化钾、氯化汞(上海化学试剂采购部)等试剂均为分析纯;水为三级水。

豆粕、花生粕、DDGS、鱼粉、L-赖氨酸盐酸盐等饲料原料和饲料添加剂均为客户委托检验的样品。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 实验原理

在碱性溶液中,加热蒸馏使样品中的氨游离出来,用盐酸溶液吸收,碘离子和汞离子在此条件下,会与氨反应生成红棕色络合物,此物质在波长 400 nm 左右会有强烈的吸收。而吸光度在一定浓度范围内与样品溶液中氨含量成正比,从而计算样品中铵盐的含量。

#### 2.2.2 溶液制备

铵标准储备溶液(100 μg/mL):称取 0.2970 g 于 105~110 °C 干燥至恒重的氯化铵,溶于水中,将上述溶液移入 1000 mL 容量瓶中,稀释至刻度。临用时稀释 100 倍。

纳氏试剂:将 10 g 碘化钾溶于 10 mL 水中,边搅拌边慢慢加入氯化汞溶液(饱和水溶液),直至生成的红色沉淀不再溶解为止。加入 30 g 氢氧化钾并溶解,再加入氯化汞溶液(饱和水溶液)1 mL,加水至 200 mL。静置,取上层清液,贮存于棕色瓶中。

#### 2.2.3 样品前处理

称取试样 1~2 g(精确至 0.0001 g),置于蒸馏瓶中,加入 70 mL 水,1 g 氧化镁,进行蒸馏,用 5 mL 盐酸溶液(1:3,体积比)做吸收液,冷凝管下端应浸入此液中,馏出液收集至 40 mL 左右,停止蒸馏。将馏出液准确用水稀释至 50 mL,同时做空白。

#### 2.2.4 工作曲线的绘制

准确移取铵标准使用溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 50 mL 纳氏比色管中,加 2 mL 氢氧化钠溶液(100 g/L),20 mL 水摇匀,再加 1 mL 纳氏试剂,用水稀释至刻度,摇匀。放置 10 min 后,在波长 400 nm 下,以空白为参比测吸光度。

#### 2.2.5 试样的测定

准确移取 2 mL 样品溶液置于 50 mL 纳氏比色管中,下同 2.2.4 加 2 mL 氢氧化钠溶液等操作。

#### 2.2.6 结果计算

$$X = \frac{C \times V \times 50 \times f}{m \times V_1 \times 10^6} \times 100\%$$

式中:

X-试样中铵盐的含量,%;c-样品溶液的浓度,μg/mL;V-试样溶液体积,mL;50-显色体积,mL;f-稀释倍数;V<sub>1</sub>-试

样的移取体积, mL;  $m$ -样品的质量, g。

### 3 结果与分析

#### 3.1 反应时间的选择

按照本实验方法进行处理, 选择浓度为 0.6、1.2、2.0  $\mu\text{g/mL}$  的 3 组标准溶液( $n=3$ ), 分别在 5、10、30、50、80 min 等不同反应时间, 在波长 400 nm 处测其吸光度(见表 1)。从这几组数据可以看出, 样品溶液在 5~80 min 之间, 吸光度变化不大, 稳定性较好。根据经验综合考虑, 本文设计反应时间为 10 min。

表 1 不同反应时间的吸光度( $n=3$ )  
Table 1 Absorbance at different reaction time ( $n=3$ )

标准溶液/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	反应时间/min				
	5	10	30	50	80
0.6	0.197	0.193	0.193	0.197	0.192
1.2	0.389	0.383	0.382	0.392	0.383
2.0	0.569	0.563	0.564	0.576	0.561

#### 3.2 最佳检测波长的选择

平行取 3 份显色稳定的标准溶液, 在波长 370~500 nm 处进行吸光度扫描, 结果表明在波长 400 nm 附近有最大吸收(见图 1), 因此确定检测波长为 400 nm。

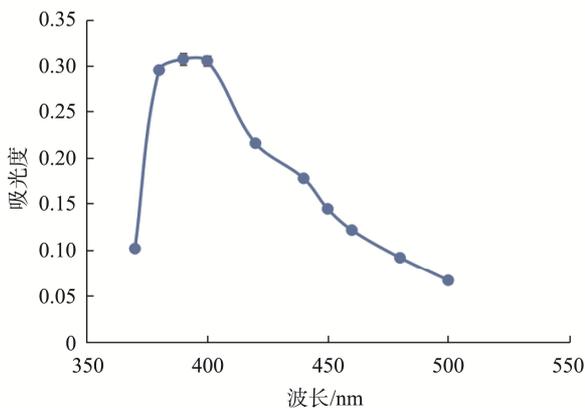


图 1 不同波长下的吸光度( $n=3$ )

Fig.1 Absorbance at different wavelengths ( $n=3$ )

#### 3.3 建立标准曲线

准确移取铵标准使用溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 50 mL 纳氏比色管中, 按照本法进行操作, 在波长 400 nm 下, 以空白为参比测吸光度, 以吸光度和浓度绘

制标准曲线, 求得回归方程为  $Y=0.2975X-0.005$ ,  $r^2=0.9992$ 。实验表明, 标准溶液浓度在 0~2.0  $\mu\text{g/mL}$  时, 吸光度和浓度呈良好的线性关系, 结果见图 2。

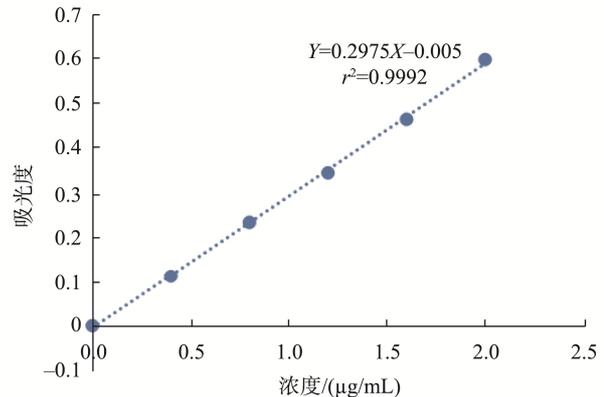


图 2 方法线性回归

Fig.2 The calibration curve of the method

#### 3.4 回收率和精密度

选择 3 种不同代表性的饲料原料(包括植物源性和动物源性)按照本方法进行加标回收和精密度实验( $n=3$ ), 回收率范围在 90%~110%之间, 相对标准偏差(RSD)均不大于 5.0%, 结果见表 2。

表 2 方法回收率及精密度( $n=3$ )  
Table 2 Method recoveries and precisions ( $n=3$ )

样品类别	加标量/ $\mu\text{g}$	平均回收率/%	RSD/%
豆粕	50.0	93.9	3.14
花生粕	50.0	98.2	1.34
鱼粉	50.0	106.2	1.89

#### 3.5 与国标方法进行比较

选取 L-赖氨酸盐酸盐饲料添加剂和玉米酒精糟及可溶物(distillers dried grains with soluble, DDGS)饲料原料按照 GB 34466-2017 和本方法同时进行测定。因 DDGS 中铵盐含量较高, 按照 GB 34466-2017 标准要求将样品溶液比色管与已知浓度的标准溶液比色管进行比较, 样品溶液比色管颜色明显深于标准溶液比色管, 无法判断铵盐含量。后又根据显色颜色把该样品进行稀释后再与标准溶液比色管进行比较, 初步判定铵盐含量。通过表 3 结果可以看出, 同时使用两种方法对 L-赖氨酸盐酸盐和 DDGS 两种样品进行检测, 检测结果基本吻合。

表 3 两种方法的检测结果  
Table 3 The results of the two methods

样品名称	GB 34466-2017		本方法	
	重复次数	含量/%	重复次数	含量/%
L-赖氨酸盐酸盐	1	< 0.04	1	0.027
	2	< 0.04	2	0.026
	3	< 0.04	3	0.024
DDGS	1	2 < X < 4*	1	3.307
	2	2 < X < 4*	2	3.195
	3	2 < X < 4*	3	3.259

注: \*因该方法是样品溶液比色管与已知浓度的标准溶液比色管进行比较, 样品按照标准方法进行前处理, 稀释 50 倍比标准溶液比色管颜色深, 稀释 100 倍比标准溶液比色管颜色浅, 故该结果处于 50~100 倍之间, 结果为区间值。

## 4 结 论

目前饲料中铵盐的检测方法较少, 很多饲料原料生产企业和饲料生产企业都是利用铵盐含量高低来评判蛋白类饲料原料和饲料添加剂的质量好坏。从利用本文检测方法检测实际样品的结果看, 赖氨酸盐酸盐饲料添加剂中铵盐含量一般  $\leq 0.04\%$ , 赖氨酸硫酸盐饲料添加剂中铵盐含量一般  $\leq 1.0\%$ , 谷氨酸渣、发酵蛋白原料、玉米副产物等蛋白类饲料原料中铵盐含量都有检出, 一般在  $0.04\% \sim 4.0\%$  之间, 有的赖氨酸渣原料中铵盐含量达到  $10\%$  左右。本文采用纳氏试剂分光光度法测定饲料中的铵盐, 操作简单, 快速准确, 回收率高, 只需要分光光度计就能得到饲料中铵盐的准确含量, 特别适合基层使用。由于饲料行业涉及的饲料原料和饲料添加剂品种繁多, 本文主要针对几种常用的蛋白类饲料原料和饲料添加剂进行了方法开发和验证, 在检测其他饲料原料和饲料添加剂时, 可以进一步优化纳氏试剂中各组分比例、添加量、反应时间等, 以提高检测准确度和精密度<sup>[15]</sup>。

## 参考文献

- [1] 薛霖莉, 李耀世. 饲料掺假原料中非蛋白氮的快速检测方法探讨[J]. 饲料广角, 2010, (10): 36-37.  
Xue LL, Li YS. Study on rapid detection method of non-protein nitrogen in feed adulteration materials [J]. Feed Wide Angle, 2010, (10): 36-37.
- [2] 冯秀燕. 浅析蛋白质饲料原料中非蛋白氮掺假现象及解决措施[J]. 饲料广角, 2013, (17): 24-25.  
Feng XY. Analysis of non-protein nitrogen adulteration in protein feed material and its solution [J]. Feed Wide Angle, 2013, (17): 24-25.
- [3] Isabela PC, De-Carvalho, John D, *et al.* Post-ruminal non-protein nitrogen supplementation as a strategy to improve fibre digestion and N efficiency in the ruminant [J]. J Animal Physiol Animal Nutr, 2020, 104(1): 64-75.
- [4] 赵洪涛, 王静华, 李建国. 反刍动物非蛋白氮营养研究进展[J]. 草食家畜, 2003, 12 (17): 36-38.  
Zhao HT, Wang JH, Li JG. Research progress of Ruminantia non-protein nitrogen nutrition [J]. Grass-Feed Livestock, 2003, 12(17): 36-38.
- [5] 饲料添加剂品种目录 农业部公告第 2045 号[EB/OL]. [2017-12-04]. [http://www.moa.gov.cn/nybg/2014/dyq/201712/t20171219\\_6104350.htm](http://www.moa.gov.cn/nybg/2014/dyq/201712/t20171219_6104350.htm)  
Catalogue of feed additives Ministry of Agriculture and Rural Affairs Bulletin No. 2045 [EB/OL]. [2017-12-04]. [http://www.moa.gov.cn/nybg/2014/dyq/201712/t20171219\\_6104350.htm](http://www.moa.gov.cn/nybg/2014/dyq/201712/t20171219_6104350.htm)
- [6] 曾俊, 苏俊黎. 非蛋白氮的概述和检测方法[J]. 饲料工业, 2002, 23(10): 37-39.  
Zeng J, Su JL. Overview and detection methods of non-protein Nitrogen [J]. Feed Ind, 2002, 23(10): 37-39.
- [7] 王桂英. 尿素及非蛋白氮中毒病[J]. 兽医导刊, 2011, (8): 31-32.  
Wang GY. Urea and non-protein nitrogen poisoning [J]. Veter Orient, 2011, (8): 31-32.
- [8] GB/T 20193-2006 饲料用骨粉及肉骨粉[S].  
GB/T 20193-2006 Bone meal, meat and bone meal for feedstuffs [S].
- [9] GB 34466-2017 饲料添加剂 L-赖氨酸盐酸盐[S].  
GB 34466-2017 Feed additive L-lysine monohydrochloride [S].
- [10] DB15/T 1080-2016 饲料中铵盐的测定[S].  
DB15/T 1080-2016 Determination of ammonium salt in feed [S].
- [11] 中华人民共和国兽药典 2015 版[S].  
Veterinary Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2015 edition [S].
- [12] GB 5009.234-2016 食品安全国家标准 食品中铵盐的测定[S].  
GB 5009.234-2016 National food safety standards-Determination of ammonium salt in food [S].
- [13] Ivanov VM, Figurovskaya VN, Barbalat YA, *et al.* Chromaticity characteristics of  $\text{NH}_2\text{Hg}_2\text{I}_3$  and  $\text{I}_2$ : Molecular iodine as a test form alternative to Nessler's reagent [J]. J Anal Chem, 2005, 60(7): 629-632.
- [14] Demutskaya LN, Kalinichenko IE. Photometric determination of ammonium nitrogen with the nessler reagent in drinking water after its chlorination [J]. J Water Chem Technol, 2010, 32(2): 90-94.
- [15] Yuen SH, Pollard AG. The determination of nitrogen in agricultural materials by the nessler reagent I.—preparation of the reagent [J]. J Sci Food Agric, 1952, 3(10): 441-447.

(责任编辑: 王 欣)

## 作者简介



陆 静, 工程师, 主要研究方向为饲料与食品检测技术。  
E-mail: lu-j888@163.com



李 俊, 博士, 研究员, 主要研究方向为饲料加工与质量安全。  
E-mail: lijun08@caas.cn

---

### “茶学研究”专题征稿函

茶叶源于中国, 与咖啡、可可并称为世界三大饮料。茶叶可鲜食, 也可以加工精制备用, 具有降压、提神等多种保健功能, 且含有多种有机化学成分和无机矿物元素。国内外对茶叶市场需求稳定增长, 我国的茶产业增长潜力巨大, 茶已成为社会生活中不可缺少的健康饮品和精神饮品。

鉴于此, 本刊特别策划了“茶学研究”专题, 主要围绕茶叶的贮藏保鲜、精深加工、品质评价、生物化学和功能性成分、香气成分分析、污染物分析检测、茶树生长代谢、茶叶资源的质量标准化等方面展开论述和研究, 综述及研究论文均可。

本刊主编吴永宁研究员、专题主编肖文军教授及编辑部全体成员特别邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。

本专题计划在 2020 年 7 月出版, 请在 2020 年 5 月 15 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

希望您能够通过各种途径宣传此专题, 并积极为本专题推荐稿件和约稿对象。

同时, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: [www.chinafoodj.com](http://www.chinafoodj.com)(注明茶学研究专题)

E-mail: [jfoodsq@126.com](mailto:jfoodsq@126.com)(注明茶学研究专题)

《食品安全质量检测学报》编辑部