## 植物全氮的测定（粗蛋白） —— H2SO4- H2O2消解，AA3连续流动分析仪测定

全氮 H2SO4- H2O2消解 德国SEAL流动分析仪Auto Analyzer3

**一、方法原理**

AA3型连续流动分析仪主要由采样器、泵、化学模块及数字比色计组成。采用空气片段连续流动分析技术，将样品和试剂在一个连续流动的系统中均匀混合，每个样品被均匀的气泡分割，以降低液体的扩散度及样品之间的交叉污染。连接的电脑装有操作软件（AACE），能进行自动分析的控制和计算。分析流程是标准溶液和样品通过采样器被蠕动泵吸出并流过整个系统，同时泵还连续不断地输送各个分析方法所需的试剂，并吸入空气将流体分割成片段，在同样条件下（包括时间、流动速度、温度、清洗比等），每个片段在混合圈中充分混合并发生反应生成有色化合物，通过检测器比色，最后将比色信号输入电脑，软件进行数据处理并生成报告。

AA3型连续流动分析仪测定全氮的化学原理是样品（消解液）中的铵态氮与水杨酸钠和次氯酸钠反应生成蓝色化合物，在660 nm波长处测定其吸收值，以硝普钠作为催化剂。此反应要求p H为12.8 ~ 13.1，NH4+-N测定范围为0 ~ 25mg·L-1。

**二、主要仪器**

AA3型连续流动分析仪、消煮炉、100 mL刻度消煮管。

**三、试剂**

1．缓冲溶液：分别称取35.8 g Na2HPO4·12 H2O，50 g酒石酸钾纳及一定量的NaOH（根据待测液的硫酸浓度确定）溶解于约600 mL蒸馏水中，定容至1000 mL，再加2 mL Brij-35混匀。

2．水杨酸钠：将40 g水杨酸钠溶于约600 mL蒸馏水中，加1 g硝普钠定容至1000 mL。

3．次氯酸钠：取3 mL含有效氯52.5 g的次氯酸钠溶液于60 mL蒸馏水中，定容至100 mL。

4.吸样器冲洗液：与待测液体积分数相同的硫酸溶液。

以上所用试剂均为分析纯。

**四、操作步骤**

1．消解：称取植物样品0.1××× g（应根据样品含氮量称取样品重量，使其定容至100 mL后，待测液含氮在30 μg·mL-1内）于100 mL消煮管中，加入5 mL浓硫酸，按照植物样品消解方法，加 H2O2消煮，同时做空白试验。消煮结束后，将消解液定容至100 mL。空白洗入50 mL量瓶中，定容至刻度备用。

2．标准曲线的配制：吸取上述空白溶液25 mL于50 mL容量瓶中，再分别给容量瓶中加入100 mg·L-1的NH4+-N标准溶液，配制成含NH4+-N分别为0、5、10、15、20、25 mg·L-1的标准系列。

3．测定：小心地用上清液润洗样品杯，然后再用上清液装杯。在样品托盘上先装入标准曲线杯（从大到小的顺序），再装样品杯，用AA3连续流动分析仪测定。

**五、结果计算**

植物样品全N含量（g·kg-1）=

式中：*ρ*(N)——待测液的质量浓度（μg·mL-1）；

100——测定体积（mL）；

10-3——将μg换解成mg；

m——样品质量（g）。

**粗蛋白的定义就是饲料样品中的氮含量乘以系数6.25。大多数蛋白质一般都含16%的氮，该[系数](https://baike.so.com/doc/5706426-5919145.html" \t "https://baike.so.com/doc/_blank)即由此推导而来。因此，将饲料中氮的百分含量乘以100÷16,或者说乘以6.25，就可算出粗蛋白含量。**

**参考文献**

Bran-LuBBe. Continous Flow Applications Total kjeldahe Nitrogen in acid Digests.