

◆分析与检测◆

聚氨锌尿素中氨基酸含量的间接测定方法研究

赵晶晶, 甘云青, 刘子善, 周庆英

(中海石油化学股份有限公司, 海南 东方 572600)

[摘要] 为解决聚氨锌尿素中氨基酸因与尿素发生化学反应而无法采用常规衍生化方法(如茚三酮分光光度法、高效液相色谱法)直接测定的技术难题,建立了一种基于换算系数的间接分析方法。该方法的核心在于通过测定原料(聚氨锌增效液)中氨基酸与总有机碳的质量分数,计算出氨基酸换算系数。进而,采用重铬酸钾分光光度法测定聚氨锌尿素产品中的有机碳含量,并以普通尿素作为空白对照,利用已得的换算系数间接计算出产品中的氨基酸含量。方法学验证结果表明:用于建立换算系数的两条标准曲线(茚三酮分光光度法与重铬酸钾分光光度法)线性关系良好,相关系数均达0.999 1;方法的检出限为0.001%,定量限为0.01%;对模拟样品进行6次平行测定,其相对标准偏差(RSD)为2.4%~5.2%,表明方法精密度良好;加标回收率在118%~126%。该方法准确、可靠,成功实现了对聚氨锌尿素中氨基酸含量的有效监控,为同类复杂基质中无法直接衍生化测定的氨基酸分析提供了新思路。

[关键词] 聚氨锌尿素;氨基酸;间接测定;换算系数;重铬酸钾分光光度法

[中图分类号] TQ440.72 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-4566(2026)04-0114-04

Indirect determination method of amino acid content in polyammonium zinc urea

ZHAO Jingjing, GAN Yunqing, LIU Zishan, ZHOU Qingying

(China Blue Chemical Co., Ltd., Dongfang 572600, China)

Abstract: In order to solve the technical problem that amino acids in polyammonium zinc urea can not be directly determined by conventional derivatization methods (such as indene ketone spectrophotometry and high-performance liquid chromatography) due to chemical reactions with urea, an indirect analysis method based on conversion coefficients is established. The core of this method is to calculate the amino acid conversion coefficient by measuring the mass fraction of amino acids and total organic carbon in the raw material (polyammonium zinc synergistic solution). Furthermore, the organic carbon content in the polyammonium zinc urea product is determined using potassium dichromate spectrophotometry method, and ordinary urea is used as a blank control to indirectly calculate the amino acid content in the product using the obtained conversion factor. The methodological validation results show that the two standard curves used to establish conversion coefficients has a good linear relationship, with correlation coefficients of 0.999 1 for both methods; The detection limit of the method is 0.001%, and the quantification limit is 0.01%; The relative standard deviation (RSD) of six parallel measurements of simulated samples ranges from 2.4% to 5.2%, indicating good precision of the method; The recovery rate of spiked samples ranges from 118% to 126%. This method is accurate and reliable, and has successfully achieved effective monitoring of the amino acid content in polyammonium zinc urea, providing a new approach for amino acid analysis in similar complex matrices that can not be directly derivatized and determined.

Key words: polyammonium zinc urea; amino acid; indirect measurement; conversion factor; potassium dichromate spectrophotometric method

0 引言

海洋石油富岛有限公司生产了一种新型低排放聚氨锌尿素,以氨和二氧化碳合成制得的尿液为原料,在尿液中添加聚氨锌增效剂,经加工处理后得

到聚氨锌尿素^[1]。聚氨锌尿素可以降低氨挥发,减轻氨对作物的危害,提高氮素利用率,延长尿素肥效,并具有改良土壤、培肥地力、补充和活化土壤微量元素的作用。为了降低氨挥发,聚氨锌尿素中

收稿日期:2025-03-25

作者简介:赵晶晶(1983—),女,满族,河北青龙人,高级工程师。

氨基酸的质量分数控制在 $\geq 0.06\%$ [1]。

目前国内氨基酸的分析方法主要有分光光度法和高效液相色谱法 [2-5]。分光光度法检测氨基酸主要利用生物茚三酮与氨基酸发生化学反应生成蓝紫色化合物,在一定波长处有吸收峰,根据吸收值即可得到氨基酸含量。高效液相色谱法采用柱后衍生化和柱前衍生化的方法,将没有荧光反应和紫外吸收的氨基酸转化为具有荧光发射和紫外吸收的物质后进行检测。由于聚氨锌增效剂中含有谷氨酸、谷氨酸的聚合物及其他有机物,在加工过程中谷氨酸的功能团—NH和尿素中的C=O发生反应,使聚氨锌尿素中的氨基酸不能发生衍生反应,无法采用分光光度法和高效液相色谱法进行检测。目前未看到聚氨锌尿素中氨基酸分析方法的文献,因此,须针对其特性建立一种聚氨锌尿素中氨基酸的分析方法。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

仪器:分光光度计, TU-1900, 上海析谱仪器有限公司;水浴恒温振荡器, SHY-2A (100 °C), 常州国宇仪器制造有限公司;烘箱, DHG-9030A型, 上海一恒科学仪器有限公司;电子分析天平, AL204型, 感量为0.000 1 g, 瑞士梅特勒-托利多公司。

试剂:谷氨酸 ($C_5H_9NO_4$, 质量分数不低于99%), 上海麦克林生化科技股份有限公司;葡萄糖, 优级纯, 上海麦克林生化科技股份有限公司;其他试剂均为分析纯, 实验用水为高纯水。

1.2 溶液配制

重铬酸钾溶液 ($c(1/6K_2Cr_2O_7) = 0.8 \text{ mol/L}$): 称取重铬酸钾 39.23 g, 溶于800 mL水中, 定容至1 L, 贮于试剂瓶中备用。

磷酸盐缓冲液 (pH 8.0): 称取十二水合磷酸氢二钠 ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$) 23.9 g, 加水溶解后转入1 L容量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 得到1/15 mol/L磷酸氢二钠溶液 (A溶液); 称取经110 °C烘干2 h的磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 9.08 g, 加水溶解后转入1 L容量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 得到1/15 mol/L的磷酸二氢钾溶液 (B溶液); 取A溶液95 mL和B溶液5 mL, 混匀, 该混合溶液pH为8.0。

茚三酮溶液 (质量分数2%): 称取水合茚三酮 (质量分数不低于99%) 2 g, 加入50 mL水和80 mg氯化亚锡 ($SnCl_2 \cdot 2H_2O$) 搅拌均匀。分次加少量水溶解, 放在暗处, 静置24 h, 过滤后加水定容

至100 mL。

谷氨酸标准溶液 ($\rho(C_5H_9NO_4) = 1 \text{ mg/mL}$): 称取谷氨酸 ($C_5H_9NO_4$, 纯度不低于99%) 1 g, 溶于水, 定容至1 L。

有机碳标准溶液 ($\rho(C) = 5 \text{ mg/mL}$): 称取葡萄糖 ($C_6H_{12}O_6$, 分析纯) 13.75 g, 溶于水, 定容至1 L。

谷氨酸系列标准工作液: 分别移取0、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00 mL谷氨酸标准溶液加水定容至50 mL, 摇匀。该系列标准工作液1 mL分别含有谷氨酸0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.12 mg。

1*模拟聚氨锌尿素: 称取1.5 g聚氨锌增效液原料和尿素50 g, 用70~80 mL水溶解, 转移至100 mL容量瓶中, 在烘箱中于105 °C恒温20 min后, 冷却至室温, 稀释至刻度。

2*模拟聚氨锌尿素: 称取3.0 g聚氨锌增效液原料和尿素50 g, 用70~80 mL水溶解, 转移至100 mL容量瓶中, 在烘箱中于105 °C恒温20 min后, 冷却至室温, 稀释至刻度。

模拟尿素: 称取尿素50 g, 用70~80 mL水溶解, 转移至100 mL容量瓶中, 在烘箱中于105 °C恒温20 min后, 冷却至室温, 稀释至刻度。

1.3 标准曲线的绘制

1.3.1 茚三酮分光光度法测氨基酸标准曲线

分别吸取1.00 mL谷氨酸系列标准工作液于一组比色管中。各加入pH 8.0的磷酸盐缓冲液0.50 mL和质量分数2%的茚三酮溶液0.50 mL, 在沸水浴中加热15 min, 冷却后加水定容至25 mL, 放置10 min后, 用1 cm比色皿, 在570 nm波长下, 以试剂空白为参比液测定吸光度A [6]。以谷氨酸的质量为纵坐标, 吸光度A为横坐标, 绘制标准曲线。

1.3.2 重铬酸钾分光光度法测有机碳标准曲线

分别吸取有机碳标准溶液0、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50 mL, 加入50 mL容量瓶中, 加水补至5.00 mL, 相应的含碳质量分别为0、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 mg。向试管中准确加入重铬酸钾溶液5.00 mL, 然后沿管壁缓慢加入浓硫酸8 mL, 避免溅出, 摇匀。将试管置于(100 ± 2) °C恒温箱中, 90 min后取出, 放入冷水中冷却至室温, 将试管内液体全部转移至50 mL容量瓶中, 定容, 摇匀。用1 cm比色皿, 在590 nm波长下, 以试剂空白为参比液测定吸光度A, 以有机碳的质量(mg)为纵坐标, 吸光度A为横坐标, 绘制标准曲线 [7]。

1.4 氨基酸换算系数的确定

1.4.1 原料中谷氨酸的质量分数

样品处理：准确称取聚氨锌增效液 0.25 g（精确到 0.000 1 g），加入 250 mL 容量瓶中，加水至近刻度，超声 5 min，稀释至刻度，摇匀。

样品测定：吸取稀释液 1.00 mL，按 1.3.1 节的步骤测定吸光度，在标准曲线上查得对应的氨基酸的质量。

谷氨酸的质量分数 w_1 按式（1）计算：

$$w_1 = \frac{250 \times 10^{-3} \times m_1}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中 m_1 ——由标准曲线查出的谷氨酸质量，mg；
 m ——聚氨锌增效液质量，g；
250——稀释倍数。

1.4.2 原料中有机碳的质量分数

样品处理：聚氨锌增效液原料摇匀后准确称取 2 g（精确到 0.000 1 g），加入 250 mL 容量瓶中，加水至近刻度，超声 5 min，稀释至刻度，摇匀。

样品测定：吸取定容后的稀释液 5.00 mL，按 1.3.2 节的步骤测定样品的吸光度 A ，在标准曲线上查得对应有机碳的质量。

原料中有机碳的质量分数 w_2 按式（2）计算：

$$w_2 = \frac{50 \times 10^{-3} \times m_2}{m} \times 100\% \quad (2)$$

式中 m_2 ——由标准曲线查出的有机碳质量，mg；
 m ——聚氨锌增效液质量，g；
50——稀释倍数。

1.4.3 氨基酸换算系数 ϕ

氨基酸换算系数 ϕ 按式（3）计算：

$$\phi = \frac{w_1}{w_2} \quad (3)$$

式中 w_1 ——聚氨锌增效液中谷氨酸的质量分数，%；
 w_2 ——聚氨锌增效液中有机碳的质量分数，%。

1.5 聚氨锌尿素中氨基酸含量的测定

称取聚氨锌尿素样品 2~6 g（精确至 0.000 2 g，以含有机碳 5~10 mg 为宜）于 50 mL 容量瓶中，加入 2.50 mL 水溶解，再准确加入 5.00 mL 重铬酸钾溶液，以下步骤同 1.3.2 节标准曲线制作，以尿素为参比测定试样的吸光度 A 。

聚氨锌尿素中氨基酸的质量分数 w 按式（4）计算：

$$w = \frac{\phi \times m_3 \times 10^{-3}}{m} \times 100\% \quad (4)$$

式中 m_3 ——由标准曲线查出的有机碳质量，mg；
 m ——聚氨锌尿素的质量，g；
 ϕ ——氨基酸换算系数。

1.6 精密度的测定

称取 1#模拟聚氨锌尿素 4 g 或 2#模拟聚氨锌尿

素 2 g，按照 1.5 节的方法，以模拟尿素为参比测定试样中氨基酸的含量，分别平行测定 6 次。

1.7 加标回收率的测定

称取聚氨锌增效液 10 g，分别加入不同量分析纯谷氨酸。称取加标前和加标后的聚氨锌原料各 1 g，分别与 50 g 尿素用 70~80 mL 水溶解，转移至 100 mL 容量瓶中，配制成聚氨锌尿素，以下步骤同 1.5 节，测定聚氨锌尿素中氨基酸的含量。

2 结果与讨论

2.1 线性方程、检出限及定量限

按照 1.3.1 节的方法绘制茚三酮分光光度法测氨基酸的标准曲线，线性方程为 $m_1=0.892\ 9A+0.023$ ，相关系数为 0.999 1。按照 1.3.2 节方法绘制重铬酸钾分光光度法测定有机碳的标准曲线，线性方程为 $m_2=24.038A-0.122\ 9$ ，相关系数为 0.999 1。对氨基酸质量分数为 0.01% 的聚氨锌尿素重复分析测定 10 次，吸光度的平均值为 0.079，标准偏差 (S) 为 0.002 6。检出限是指极限噪声标准偏差值 3 倍的浓度，为 0.001%，定量限为检出限的 10 倍，为 0.01%^[8-9]。

2.2 氨基酸换算系数的测定

由于聚氨锌尿素产品中氨基酸和尿素发生了反应，不能采用氨基酸衍生法测得产品中氨基酸的含量，假设原料聚氨锌增效液中氨基酸和有机物的百分比与在聚氨锌尿素产品中扣除尿素有机物空白后的氨基酸和有机物的百分比比值不变，即可通过分析聚氨锌尿素中有机物的含量继而求得聚氨锌尿素中氨基酸的含量。其中原材料聚氨锌增效液中氨基酸和有机物的百分比简称为氨基酸换算系数。为了求得聚氨锌尿素中氨基酸的含量需计算氨基酸换算系数。1#模拟聚氨锌尿素和 2#模拟聚氨锌尿素中使用的为同一原料，氨基酸换算系数 ϕ 为 0.75。

2.3 精密度

将 1#模拟聚氨锌尿素和 2#模拟聚氨锌尿素采用 1.5 节方法分别重复测定 6 次，测定结果见表 1。由表 1 可以看出，测定结果的相对标准偏差为 2.4%~5.2%，表明本方法精密度较高。

表 1 精密度实验结果

Table 1 Results of precision test

编号	w (氨基酸)测定值/%						w (氨基酸)平均值/%	相对标准偏差/%
	1	2	3	4	5	6		
1#	0.40	0.38	0.42	0.43	0.40	0.37	0.40	5.2
2#	0.72	0.76	0.71	0.75	0.73	0.72	0.73	2.4

2.4 加标回收实验

采用1.7节方法测定聚氨锌尿素 w (氨基酸)的加标回收率,实验结果列于表2。由表2可知,聚氨锌尿素 w (氨基酸)的加标回收率为118%~126%,表明该方法的准确度可满足分析要求^[6]。

表2 加标回收率实验结果

Table 2 Results of spike recovery test

w (氨基酸) 本底值/%	w (氨基酸) 加标量/%	w (氨基酸) 测得值/%	回收率/%
0.45	0.11	0.58	118
	0.19	0.69	126
	0.27	0.77	119

3 结论

由于原料中的谷氨酸在高温下与尿素发生了化学变化,聚氨锌尿素产品中的氨基酸不能发生衍生反应,不能直接测定。本方法以茚三酮分光光度法测得原料液中氨基酸的质量以及重铬酸钾分光光度法测得原料液中总有机物质量,通过计算原料中氨基酸换算系数,以尿素为空白,计算聚氨锌尿素产品中的氨基酸含量。该方法分析结果准确度高,可用于聚氨锌尿素中氨基酸含量的准确分析。

[参考文献]

[1] 海洋石油富岛有限公司.聚氨锌尿素:Q/HS HX-FD 0202—2019[S].东方:[出版者不详],2019.

[2] 庞新安,万英.AccQ.Tag柱前衍生反相高效液相色谱法测定果品中氨基酸含量[J].分析仪器,2007(4):32-35.
PANG X A, WAN Y. Determination of amino acids in fruits by

AccQ.Tag pre-column derivatization reversed phase HPLC [J]. Analytical Instrumentation, 2007(4):32-35.

[3] 邓红英,张永文,李永贵.柱前衍生高效液相色谱法测定复方氨基酸注射液中氨基酸的含量[J].药学研究,2020,39(1):27-28.
DENG H Y, ZHANG Y W, LI Y G. Determination of amino acids in compound amino acids injection by HPLC after pre-column derivatization [J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2020, 39(1):27-28.

[4] 侯松媚,孙敬,何红波,等.AQC柱前衍生反相高效液相色谱法测定土壤中氨基酸[J].分析化学,2006,34(10):1395-1400.
HOU S M, SUN J, HE H B, et al. Simultaneous determination of amino acids in soil by reversed-phase high performance liquid chromatography by using 6-aminoquinoly-N-hydroxysuccinimidyl carbamate as a precolumn derivatization reagent [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2006, 34(10):1395-1400.

[5] 范婉萍,吴婕.用分光光度法测定含氨基酸类制品中的氨基酸含量[J].中国测试技术,2007,33(3):117-119.
FAN W P, WU J. Determination of amino acid content in products by spectrophotometric method [J]. China Measurement Technology, 2007, 33(3):117-119.

[6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.茶 游离氨基酸总量的测定:GB/T 8314—2013[S].北京:中国标准出版社,2013.

[7] 中华人民共和国工业和信息化部.含腐植酸尿素:HG/T 5045—2016[S].北京:[出版者不详],2016.

[8] 国家市场监督管理总局,国家标准化管理委员会.冶金产品化学分析 火焰原子吸收光谱法通则:GB/T 7728—2021[S].北京:中国标准出版社,2021.

[9] 罗志彬,钟志雄,朱炳辉.离子色谱法测定净水产品中 F^- 、 Cl^- 、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 HPO_4^{2-} 和 SO_4^{2-} [J].化学分析计量,2011,20(1):45-47.
LUO Z B, ZHONG Z X, ZHU B H. Analysis of fluorid, chloride, nitrite, nitrate, phosphate and sulfate in water purification products by ion chromatography [J]. Chemical Analysis and Meterage, 2011, 20(1):45-47.

(上接第50页)

ZHANG J. Thoughts on Building a Hub for Saline-Alkali Land Seed Industry Development in Dongying[J]. China Seed Industry, 2025(9): 66-68.

[7] 佚名.让“不毛之地”破“碱”重生 山东东营盐碱地上演丰收变革[J].中国农业综合开发,2025(7):52.

[8] 王文慧.山东东营:让小黑麦在盐碱地落地生根[J].国际人才交流,2023(6):57-58.

[9] 何浩锋,李绍冲,吕明,等.褐藻寡糖的制备方法及在肥料增效中的应用研究进展[J].生态产业科学与磷氟工程,2025,40(2):54-65.
HE H F, LI S C, LYU M, et al. Research progress on the application of alginate oligosaccharides for enhancing fertilizer efficacy [J]. Eco-industry Science & Phosphorus Fluorine Engineering, 2025, 40(2): 54-65.

[10] MAO X Z. Degrading Enzymes for Marine Polysaccharides and Their Applications[M]. Singapore: Springer Nature, 2025.

[11] DEBNATH T, BANDYOPADHYAY T K, VANITHA K, et al. Astaxanthin from microalgae: A review on structure, biosynthesis, production strategies and application [J]. Food Research International, 2024, 176: 113841.

[12] NAGUIB Y M. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(4): 1150-1154.

[13] OZAVIZE S F, QIU C W, WU F. Astaxanthin induces plant tolerance against cadmium by reducing cadmium uptake and enhancing carotenoid metabolism for antioxidant defense in wheat (*triticum aestivum* L.) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2024, 210: 108622.

[14] 徐霞,钟秋怡,何彬,等.外源虾青素对分蘖期受淹水稻的补救效应[J].南京农业大学学报,2019,42(6):1006-1013.
XU X, ZHONG Q Y, HE B, et al. Remedial effect of exogenous astaxanthin on submerged rice at tillering stage [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2019, 42(6): 1006-1013.