

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2694—2015

---

## 饲料添加剂氨基酸锰及蛋白锰 络(螯)合强度的测定

Determination of complexation (chelation) strengths of  
manganese–amino acids and manganese–proteinates as feed additives

2015-02-09 发布

2015-05-01 实施

---

中华人民共和国农业部 发布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由农业部畜牧业司提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)归口。

本标准起草单位:中国农业科学院北京畜牧兽医研究所、哈尔滨德邦鼎立生物科技有限公司、济宁和实生物科技有限公司。

本标准主要起草人:罗绪刚、张伶俐、李素芬、吕林、邓志刚、李华、刘向伟、张雪元、王彦平、张丽阳。

## 饲料添加剂氨基酸锰及蛋白锰络(螯)合强度的测定

### 1 范围

本标准规定了饲料添加剂氨基酸锰及蛋白锰络(螯)合强度的测定方法。

本标准适用于饲料添加剂氨基酸锰及蛋白锰络(螯)合强度的测定。

### 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 13885 动物饲料中钙、铜、铁、镁、锰、钾、钠和锌含量的测定 原子吸收光谱法

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**氨基酸锰及蛋白锰络(螯)合强度** **complexation (chelation) strengths of manganese-amino acids and manganese-proteinates**

锰元素与有机配位体之间形成的配位键的强度,以  $Q_f$  (Quotient of formation) 值表示,即在离子强度为  $0.1 \text{ mol/L}$ 、 $\text{pH}=8.0$  的 BES 缓冲底液中,用悬汞电极极谱仪分别测定锰浓度为  $5 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  的硫酸锰的半波电位  $E_{1/2}$  与锰浓度为  $3.5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  的氨基酸锰或蛋白锰的半波电位  $E_{1/2}$ ,以 2 个半波电位的绝对差值  $\Delta E_{1/2}$ ,由公式  $Q_f = 10^{(2 \times \Delta E_{1/2})/0.05916}$  进行计算。

注:氨基酸锰或蛋白锰的络(螯)合强度一般分为 4 个等级,即  $Q_f$  在  $0 \sim 10$  时为弱络(螯)合强度、 $10 \sim 100$  时为中等络(螯)合强度、 $100 \sim 1000$  时为强络(螯)合强度及  $1000$  以上时为极强络(螯)合强度。

### 4 原理

硫酸锰、氨基酸锰或蛋白锰中的锰离子均可在极谱仪的悬汞电极上被还原为锰形成锰汞齐  $\text{Mn(Hg)}$ ,但氨基酸锰或蛋白锰需先打开配位键释放出锰离子,锰离子与有机配位体形成的配位键的强度越大,打开配位键所需的电压就越大,即半波电位的绝对值也越大。因此,在特定条件下,通过测定氨基酸锰或蛋白锰的半波电位,利用其与硫酸锰半波电位的差值,即可计算氨基酸锰或蛋白锰的络(螯)合强度。

### 5 试剂和溶液

本标准方法所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 N,N-双(2-羟乙基)-2-氨基乙磺酸(BES)。

5.2 氢氧化钠。

5.3  $0.1 \text{ mol/L MnSO}_4$  溶液:称取  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$   $1.691 \text{ g}$ ,定容于  $100 \text{ mL}$  容量瓶中。

5.4 BES 缓冲液(离子强度为  $0.1 \text{ mol/L}$ 、 $\text{pH}=8.0$ ):称取 BES  $24.006 \text{ g}$  溶于  $500 \text{ mL}$  水中,称 NaOH  $4.504 \text{ g}$  溶于  $400 \text{ mL}$  水中;将上述 NaOH 溶液缓缓倒入 BES 溶液中,调节 pH 到  $8.0$  后,转移至

1 000 mL容量瓶中,定容至刻度。

## 6 仪器和设备

- 6.1 恒温水浴振荡器。
- 6.2 分析天平,感量 0.000 1 g。
- 6.3 实验用样品粉碎机或研钵。
- 6.4 悬汞电极极谱仪。

## 7 采样和试样制备

按 GB/T 14699.1 的规定采集试样,并按 GB/T 20195 的规定以四分法缩减分取试样,混匀装入磨口瓶中低温保存备用。

## 8 分析步骤

### 8.1 氨基酸锰及蛋白锰样品中总锰含量测定

称取氨基酸锰或蛋白锰样品 0.2 g,精确至 0.000 1 g,其他步骤按 GB/T 13885 中的规定操作,用以测定试样中的总锰含量。

### 8.2 锰浓度约为 0.7 mol/L 的氨基酸锰或蛋白锰过滤液制备及锰含量分析

#### 8.2.1 氨基酸锰或蛋白锰过滤液的制备

氨基酸锰或蛋白锰样品称样量  $m$ ,数值以克(g)表示,按式(1)计算。

$$m = \frac{c \times V \times M}{\omega \times \lambda} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- $c$  ——制备的氨基酸锰或蛋白锰过滤液锰浓度,单位为摩尔每升(mol/L)( $c=0.7$ );
- $V$  ——过滤液的体积,单位为升(L);
- $M$  ——锰的摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol)( $M=54.94$ );
- $\omega$  ——氨基酸锰或蛋白锰样品的锰含量,单位为百分率(%);
- $\lambda$  ——氨基酸锰或蛋白锰的溶出率按 70%计算( $\lambda=0.7$ )。

根据式(1)的计算结果称取氨基酸锰或蛋白锰样品,精确至 0.000 1 g,于 100 mL 锥形瓶中,加入 50 mL水,密封。将以上溶液置于 37°C 恒温水浴振荡器中振荡 8 h,5 000 r/min 离心 20 min,干过滤后备用。

#### 8.2.2 氨基酸锰或蛋白锰过滤液中锰浓度分析

准确移取过滤液 1 mL,其他步骤按 GB/T 13885 中的规定操作,用以测定过滤液中的锰含量,并换算为过滤液中的锰浓度。

## 8.3 极谱待测溶液的制备

### 8.3.1 锰浓度为 $5 \times 10^{-4}$ mol/L 硫酸锰极谱待测液的制备

电解槽中应加入的硫酸锰溶液的体积  $V_1$ ,数值以微升( $\mu$ L)表示,按式(2)计算。

$$V_1 = \frac{V_0 \times c_1 \times 1000}{c_2} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- $V_0$  ——电解槽中溶液的终体积,单位为毫升(mL);
- $c_1$  ——电解槽中硫酸锰极谱待测液的最终锰浓度,单位为摩尔每升(mol/L)( $c_1=5 \times 10^{-4}$ );
- $c_2$  ——硫酸锰溶液(5.3)的锰浓度,单位为摩尔每升(mol/L)( $c_2=0.1$ )。

根据式(2)计算的体积  $V_1$ ，向电解槽中加入硫酸锰溶液(5.3)，再加 BES 缓冲液(5.4)稀释至所用体积。本溶液现配现用。

### 8.3.2 锰浓度为 $3.5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的氨基酸锰或蛋白锰极谱待测溶液的制备

电解槽中应加入的氨基酸锰或蛋白锰过滤液体积  $V_2$ ，数值以微升( $\mu\text{L}$ )表示，按式(3)计算。

$$V_2 = \frac{V_0 \times C_3 \times 1000}{C_4} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$V_0$  ——电解槽中溶液的终体积，单位为毫升(mL)；

$c_3$  ——电解槽中氨基酸锰或蛋白锰极谱待测液的最终锰浓度，单位为摩尔每升(mol/L) ( $c_3 = 3.5 \times 10^{-3}$ )；

$c_4$  ——氨基酸锰或蛋白锰过滤液(8.2.1)的实测锰浓度，单位为摩尔每升(mol/L)。

根据式(3)计算需要加入的氨基酸锰或蛋白锰样品过滤液体积，向电解槽中加入氨基酸锰或蛋白锰过滤液(8.2.1)，再加 BES 缓冲液(5.4)稀释至所用体积。本溶液现配现用。

### 8.4 极谱待测液半波电位的测定

根据各自仪器性能调至最佳状态。

悬汞电极极谱仪工作参考条件：在室温 ( $25 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$  时，用悬汞电极极谱仪测定硫酸锰及氨基酸锰或蛋白锰极谱待测液的半波电位  $E_{1/2}$ 。

实验技术：根据仪器选择线性扫描或脉冲扫描。

实验参数：充氮时间为 300 s。

平衡时间为 5 s。

扫描范围为  $-1.80 \text{ V} \sim -1.20 \text{ V}$ 。

扫描速度为  $10 \text{ mV/s}$ 。

采样间隔为  $1 \text{ mV}$ 。

## 9 结果计算

氨基酸锰或蛋白锰的络(螯)合强度值  $Q_f$ ，按式(4)计算。

$$Q_f = 10^{(2 \times \Delta E_{1/2}) / 0.05916} \dots\dots\dots (4)$$

式中：

$Q_f$  ——氨基酸锰或蛋白锰的络(螯)合强度值；

2 ——锰从其氧化态( $\text{Mn}^{2+}$ )到还原态(Mn)时的电子转移数目；

$\Delta E_{1/2}$  ——硫酸锰半波电位与氨基酸锰或蛋白锰半波电位的差值，单位为伏特(V)；

0.05916 ——温度为  $25^{\circ}\text{C}$  时的常数。

## 10 结果表示

测定结果用平行测定的算术平均值表示，结果保留 3 位有效数字。

## 11 重复性

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值应不大于这 2 个测定值的算术平均值的 20%。