

# 几种凯氏加速剂对植物全氮消煮时间和结果的比较分析

陈淑萍, 王雪征, 茜晓哲, 李 洁

(河北省农林科学院旱作农业研究所, 河北 衡水 053000)

**摘要:** 探讨了几种凯氏加速剂对植物全氮的消煮测定情况, 浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  分别加入  $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4 + \text{Se}$  和  $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{Se}$  对苜蓿、高丹草、狼尾草、油菜花粉等 4 种植物材料进行消煮和测定, 统计结果表明: 消煮液在  $380^\circ\text{C}$  消煮清亮后继续加热 120 min, 测定的全氮差异显著,  $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ 、 $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4 + \text{Se}$  和  $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{Se}$  分解出的氮较多, 加入  $\text{H}_2\text{O}_2$  氧化分解出的氮少; 含 Se 的加速剂消煮所需时间最短,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  加入  $\text{H}_2\text{O}_2$  消化速度最慢; 样品消煮清亮后应继续加热 40 min 以上; 用  $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{Se}$  作加速剂代替  $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$  可同时测定植物氮磷钾。

**关键词:** 凯氏法; 植株全氮; 混合加速剂; 消煮时间

中图分类号: S143.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2006)增刊-0019-04

## Comparison and Relative Analyses on the Digesting Time and Results of Catalyst Mixtures of Plant Total Nitrogen in Kjeldahl Method

CHEN Shu\_ping, WANG Xue\_zheng, QIAN Xiao\_zhe, LI Jie

(Dryland Farming Institute, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Hengshui 053000, China)

**Abstract:** Several catalyst mixtures were studied about digesting conditions of plant total nitrogen, four kinds of catalyst mixtures used for the plant analysis of total nitrogen by J. Kjeldahl method were compared, four kinds of botanical materials including Purple medic, Sorghum hybrid Sudan grass, Kikuyu grass and Rape pollen were digested. The total Nitrogen obtained at digestion temperature of  $380^\circ\text{C}$  were significant different among  $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4 + \text{Se}$  and  $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{Se}$  after clearing 120 min. Conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  with  $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4 + \text{Se}$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$  or  $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{Se}$  decomposed out more N than  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; it took less time for the catalyst mixtures containing Se to digest the plant tissues to clear,  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$  method was slowest; Digestion should be at  $380^\circ\text{C}$  for an additional 40 minutes after clearing to ensure complete reaction; Compared with  $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{Se}$  was more convenient for determining plant total N, total P and total K simultaneously.

**Key words:** J. Kjeldahl method; Total nitrogen; Catalyst mixtures; Digestion time

植物体内氮主要以蛋白质、氨基酸或酰胺等有机态存在, 植物全氮的测定可用于诊断粗蛋白含量和植物组织氮素的丰缺, 目前国际谷物化学协会 (ICC) 和美国分析化学家协会 (AOAC) 以及我国等一些国家都把凯氏法 (J. Kjeldahl) 作为标准的分析方法, 即植物样品用浓硫酸和混合加速剂消煮, 将有机氮转化为铵态氮后用蒸馏、扩散或比色法测定<sup>[1]</sup>。

在凯氏法中, 加速剂按其效用的不同, 分为增温剂、催化剂和氧化剂等三大类, 分别起提高沸点、催化和氧化有机物的作用<sup>[2]</sup>。目前国内外凯氏法定氮混合加速剂常采用以下几种:  $\text{CuSO}_4 + \text{K}_2\text{SO}_4 + \text{Se}$ , C. Owen Plank 博士在主编的《美国南部地区植物分析参考方法》中, 采用该加速剂测氮<sup>[3]</sup>, 近年来我国也用于植株全氮或籽粒粗蛋白测定<sup>[1,4]</sup>;  $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{Se}$ ,

收稿日期: 2006-05-20

作者简介: 陈淑萍 (1965-), 女, 河北冀州人, 副研究员, 主要从事土壤营养、植物生理生化和农产品质分析工作。

为美国官方分析化学家协会规范的分析测定方法<sup>[5]</sup>, John Ryan 等把 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ Se 作为凯氏法测氮的加速剂, 应用于中西亚和北非等干旱地区<sup>[6]</sup>; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ Se, Varley, J. A 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ Se- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 消煮植物材料同时测定粗蛋白、全磷、全钾<sup>[7]</sup>; CuSO<sub>4</sub>+ K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 为我国测定饲料粗蛋白和全氮的国家标准方法<sup>[8]</sup>, 美国的 Clemson 大学也采用该加速剂, 代替有毒的 Se 和 Ti<sup>[9]</sup>; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 近年来我国用于植物全氮、全磷、全钾的同时测定<sup>[1]</sup>。

对于植物样品加入不同加速剂消煮后测定结果是否一致, 消煮速度是否相同, 消化完全需要的时间, 目前各种资料没有一致的报道, 本试验拟通过几种植物材料的消煮, 对硫酸加入不同的混合加速剂后, 消煮时间、消煮结果进行统计分析和比较, 以便根据需要选择适宜的测定方法。

### 1 材料和方法

#### 1.1 试验材料

材料为 2005 年 10 月河北省农科院旱作所深州实验站送交化验的饲用成熟期苜蓿 (*Medicago sativa* L.)、高丹草 (*Sorghum Hybrid sudangrass*)、狼尾草 (*Pennisetum Spp.*)、生物防治中心送交化验的油菜 (*Brassica Campestris* L. var. *Oleifera* Dc.) 花粉。测定植株样品 184 个。

#### 1.2 试验方法

##### 1.2.1 方法设计

凯氏法消煮、蒸馏法测定。试验设 4 种处理, 即浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 分别加入混合加速剂 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ CuSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ CuSO<sub>4</sub>+ Se 和 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ Se(表 1), 对苜蓿、高丹草、狼尾草和油菜花粉消煮测定, 重复 3 次。对测定结果进行方差分析 PLSD 分析。用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 替代 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 对高丹草消煮, 用 t 检验比较测定结果。

苜蓿材料消煮时间分别设消煮清亮后继续恒温 30, 40, 60, 120 min, 以确定消煮完全所需的最短时间, 其余材料清亮后继续加热 120 min。

对 4 种处理分别作试剂空白试验(只加药品不加样品), 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ Se 对分析纯 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 作氮的回收率检验, 并对植株样品进行消煮, 消煮使用 BRAN+ LUBBE BD\_40 型控温定时消煮炉(美国)。

##### 1.2.2 试验步骤

浓硫酸+ 催化 剂+ 升温剂实验: 取磨细混匀的植株干样(过 0.25 mm 筛) 0.25~0.40 g, 置于 100 mL 消化管中, 用水湿润样品, 然后加入 5 mL 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 轻轻摇匀, 如表 1 加入混合加速

剂, 置于 H\_1 微型混合器(2 800 r/min) 上彻底混匀, 放置数小时预反应后, 瓶口放一个弯颈漏斗, 置于消煮炉缓缓加热, 上升到 200 ℃ 时保温约 25 min, 至泡沫消失, 继续升高温度至 380 ℃, 恒温消煮到清亮后, 按试验要求继续加热 30~ 120 min<sup>[2]</sup>。

表 1 混合加速剂配比及用量

Tab. 1 The ratios and quantities of catalyst mixtures			
代号 Code	混合加速剂 Catalyst mixture	比例 Ratio	加入量 Quantity
A	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CuSO <sub>4</sub>	10 1	1.8g
B	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	30%	20 滴
C	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CuSO <sub>4</sub> + Se	100 10 1	1.8g
D	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Se	100 1	1.8g

浓硫酸+ 氧化剂试验: 同上步骤加入浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 mL, 在消化炉上缓缓升温, 以防消煮液上溢, 当温度上升至 380 ℃, 消煮液全部呈深棕色溶液时, 从消化炉上取下消化管, 稍冷, 逐滴加入 300 g/L 双氧水 10 滴, 边加边摇动消化管, 以利于充分反应。继续加热微沸 10~ 20 min, 取下稍冷后再加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5~10 滴, 继续消煮, 重复 2~ 3 次, 逐次减少 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 用量, 直至消煮液呈无色或清亮后, 再加热 120 min<sup>[1]</sup>。

### 2 结果与分析

#### 2.1 混合加速剂测定结果分析

##### 2.1.1 4 种混合加速剂消煮结果差异性比较

4 种混合加速剂对植物材料测定结果见表 2, 经 SAS 统计, C. V. = 1.685 195, R<sup>2</sup> = 0.997 770; 方差分析见表 3, 处理间 F= 12.81, F<sub>0.01</sub> = 7.29, F> F<sub>0.01</sub>, 说明不同处理消化分解的氮差异极显著; 进一步以 PLSD 方法对 4 种处理之间进行差异显著性检验(表 4), 处理 C 消化分解出的氮最多, 处理 B 氧化分解出的氮最少, 各处理平均值的极差(C 与 B) 为 0.114 1; A, C, D 间差异不显著, 而 A, C, D 与 B 差异显著, 说明加入催化 剂 (Se, CuSO<sub>4</sub>) 和升温剂 (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 比氧化剂 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 消化更为彻底。升温剂 (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 用于提高消煮液的沸点, 催化 剂 (Se 和 CuSO<sub>4</sub>) 加快反应速度, 而氧化剂 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 的作用是在热浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液中分解出生态氧 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = H<sub>2</sub>O + [O]), 其具有强烈的氧化作用, 分解 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 没有破坏的有机物和碳<sup>[1]</sup>。但只加入氧化剂 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 沸点较低, 可能对结构较复杂的有机氮化合物氧化不彻底, 催化 剂和升温剂共同作用效果比氧化剂更为强烈。然而该结论是用 4 种植物材料的平均值进行统计和比较, 对于某种植物材料不同处理的消煮情况未做

深入分析。

用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ Se- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 对分析纯(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 进行消煮和测定,回收率为 99.5%; 用不加入加速剂的浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 与分别加入 A, B, C, D 混合加速剂的浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(不加入植物样品)一起消煮测定,结果表明四种混合加速剂本身均不含氮,排除了试剂含氮影响结果的可能性。

2.1.2 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 对高丹草的消煮结果比较

表 2 不同混合加速剂全氮测定结果

Tab.2 The analytical results on total nitrogen of different catalyst mixtures													
代号 Code	混合加速剂 Catalyst mixtures	高丹草(%) Sorghum hybrid			油菜花粉(%) Rape pollen			苜蓿(%) Purple medic			狼尾草(%) Kikuyu grass		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
A	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CuSO <sub>4</sub>	1.43	1.45	1.43	4.02	3.99	3.99	3.37	3.34	3.34	2.67	2.65	2.59
B	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1.42	1.41	1.40	3.81	3.78	3.74	3.27	3.25	3.24	2.66	2.64	2.64
C	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CuSO <sub>4</sub> + Se	1.45	1.43	1.45	4.02	4.09	4.02	3.35	3.36	3.35	2.69	2.67	2.75
D	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Se	1.43	1.44	1.43	4.03	3.97	4.00	3.36	3.37	3.35	2.63	2.65	2.65
E	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CuSO <sub>4</sub>	1.43	1.43	1.44									
F	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CuSO <sub>4</sub> + Se	1.46	1.45	1.44									

注: R1, R2, R3 表示重复 1、重复 2、重复 3 Note: R1, R2, R3 means 1repetition 1, repetition 2, repetition 3

表 3 测定结果方差分析

Tab.3 Variance analysis of Nitrogen content					
变异来源 Variance source	DF	SS	MS	F	F <sub>0.01</sub>
加速剂 Treatment	3	0.08818958	0.02939653	12.81	7.29
品种 Variety	3	42.01832292	14.00610764	6101.34	7.29
误差 Error	41	0.09411875	0.00229558		
总变异 Corrected total	47	42.20063125			

表 4 各处理间差异显著性检验(PLSD)

Tab.4 Analysis of Variance Procedure				
代号 Code	处理 Treatment	平均值 Mean	差值 Difference	5% 显著性 5% level
C	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CuSO <sub>4</sub> + Se	2.8858		
D	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Se	2.8592	0.0266	a
A	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CuSO <sub>4</sub>	2.8558	0.0034	a
B	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2.7717	0.0841	b

注: PLSD<sub>0.05</sub>= 0.0395

2.2 消煮时间分析

2.2.1 不同加速剂消煮至清亮所用时间比较

样品自开始加热起计时,加热 26 min 达到 200℃,保温 25 min 后,消煮管泡沫消失,继续升温 38 min 至 380℃,累计用时约 90 min;然后恒温 380℃消煮至液体变清亮,其中含 Se 的加速剂在 380℃消煮清亮所需时间最短(图 1),加入 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ CuSO<sub>4</sub>+ Se 的消煮液恒温 5 min 即呈清亮鲜绿色,Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ Se 消煮液恒温 5 min 由黑色转为清亮淡黄色,表明 Se 的催化作用最强;恒温 30 min 时加入 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ CuSO<sub>4</sub> 的消煮液

采用 6 种加速剂对高丹草消煮(表 2),比较用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 代替 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 对消煮结果的影响,经 t 检验, A 与 E 间 t= 0.677 869, t<sub>0.05</sub>= 2.776, C 与 F 间 t= 0.491 769, t<sub>0.05</sub>= 2.776, t< t<sub>0.05</sub>, 所以 A 与 E 间、C 与 F 间结果差异不显著,表明升温剂 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 与 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 效果相同,证实了用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 代替 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的可行性,而且在凯氏法测定植株全钾时可考虑用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 代替 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 消煮样品。

变为清亮鲜绿色;H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消煮至清亮所用时间最长,在 380℃恒温 10 min,逐一取出消煮管,取下小漏斗,冷却数秒后,每管滴加 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,放上小漏斗继续消煮,共重复 3 次左右,至消煮液清亮,在 380℃消煮时间超过 50 min,而且需专人观察操作,样品越多操作耗时越长。

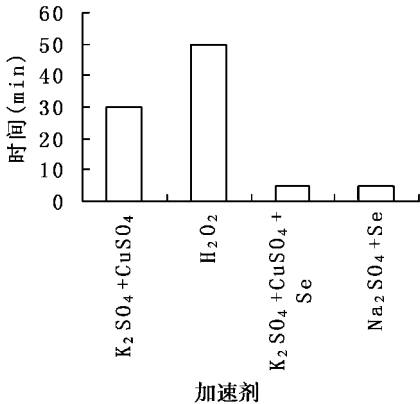


图 1 不同加速剂 380℃消煮至清亮所用时间

Fig.1 The time taken by catalyst mixtures digesting to clear at 380℃

2.2.2 消煮液清亮后的消化时间 以苜蓿为试验材料,用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ Se- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 消煮,消化清亮后恒温 30, 40, 60, 120 min, 重复 3 次,测定结果平均值分别为 3.19%, 3.32%, 3.36% 和 3.36%, 见图 2, 说明 40 min 以内的测定结果是一个逐渐增高的趋势,消煮液清亮后恒温 60 min 测定结果趋于稳定,与消化 120

min 结果相同。说明在消煮苜蓿时,消化液清亮后要继续消煮 40 min 以上;因苜蓿为豆科植物,含有较复杂的含氮化合物,所以一般要求较长的消煮时间以保证分解完全。

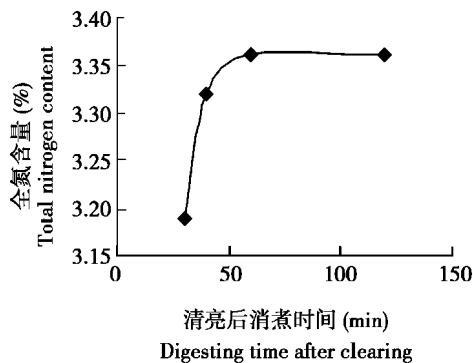


图 2 消煮时间与及全氮测定结果

Fig. 2 Digesting time and total nitrogen results

### 3 讨论

凯氏法是测定全氮量的经典方法,由于设备简单易得,结果可靠至今尚无别的方法能与其相比拟或将其取代<sup>[1]</sup>,本试验选择了常用的 4 种混合加速剂,对 4 种植物材料消煮,结果表明,  $K_2SO_4 + CuSO_4$ ,  $K_2SO_4 + CuSO_4 + Se$  和  $Na_2SO_4 + Se$  之间消煮结果差异不显著;而  $H_2SO_4 - H_2O_2$  较其他 3 种处理测定结果低,差异极显著;含 Se 的加速剂消煮植物样品所需的时间最短,升温到  $380\text{ }^{\circ}\text{C}$  后 5 min 清亮,  $H_2SO_4 + H_2O_2$  需要至少 50 min 的时间消煮液清亮;人们在测定植物 N, P, K 等元素时常选用浓  $H_2SO_4 + H_2O_2$  消煮,但必须控制好  $H_2O_2$  加入的时间、用量、滴加的次数和滴加的速度,防止氮的损失<sup>[2]</sup>;在具备良好的与消煮管连接的流水抽空管道时,推荐使用  $Na_2SO_4 + Se$  作为同时测定植物 N, P, K 的加速剂,因 Se 不溶于水,其消煮后过滤液中的离子对测定无干扰,该方法现被北美一些国家用于全自动流动分析仪对 N, P 的测定以及原子吸收测钾<sup>[4]</sup>。

$K_2SO_4(Na_2SO_4) + CuSO_4$  作催化剂,只适合植株全氮或粗蛋白的测定,不适合植株比色法测磷和原子吸收测钾,因为钼黄或钼蓝比色法测磷时,调节消煮液酸碱度的 NaOH 会与消煮液中的  $CuSO_4$  反应生成蓝色  $Cu(OH)_2$  沉淀,干扰测定。

苜蓿材料需要在  $380\text{ }^{\circ}\text{C}$  消煮清亮后继续加热 40 min 以上。消煮液恒温消煮时间,有许多资料报道,加拿大农业半干旱研究中心 (SPARC) 实验室在样品清亮后继续消煮 60 min,或者升温至  $380\sim 390\text{ }^{\circ}\text{C}$  后恒温消

煮 90 min<sup>[5]</sup>,美国南部地区要求在  $350\sim 375\text{ }^{\circ}\text{C}$  清亮后继续消煮 35~ 60 min<sup>[3]</sup>,Clemson 大学凯氏法测定饲料、食品或植物样品时  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$  消煮 45 min,即清亮后消煮 30 min<sup>[9]</sup>,中华人民共和国国标法测定饲料粗蛋白规定  $360\sim 410\text{ }^{\circ}\text{C}$  消煮澄清后继续消煮 120 min<sup>[8]</sup>,国际农业干旱地区研究中心 (ICARDA) 规定  $380\text{ }^{\circ}\text{C}$  消煮清亮后继续加热 120 min<sup>[6]</sup>。所以为了消煮完全,尤其是结构较复杂的材料要求在  $380\text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温较长时间。而有些农产品如食品加工、半成品等消煮不需要上述要求的最高温度,使用者希望改变消煮时间、温度和试剂比例,就要进行相关对照试验,确保结果准确的基础上对以上方法进行修正<sup>[3]</sup>。

$H_2SO_4 - H_2O_2$  法不适合测定包括硝态氮和亚硝态氮的样品。如某些植物样品(如幼嫩的茎叶等)含有相当量的硝态氮,测定前则必须先用含有水杨酸的浓  $H_2SO_4$  处理,形成硝基水杨酸,再用  $Na_2S_2O_3$  或 Zn 粉还原转化为铵盐,然后加入凯氏加速剂消煮,此处不能用  $H_2SO_4 - H_2O_2$  法分解含有大量硫代硫酸钠或锌粉还原剂的样品,因氧化剂  $H_2O_2$  将与溶液中存在的大量还原剂作用,影响消煮结果,所以应选用不含有氧化剂的其他加速剂。

### 参考文献:

- [1] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 284- 286, 263- 270.
- [2] 史瑞和. 土壤农化分析[M]. 第 2 版. 北京: 中国农业出版社, 1996: 212- 216, 233- 234.
- [3] Baker WH, Thompson T L. Determination of total nitrogen in plant samples by Kjeldahl [A]. In: PLANK C O. Plant Analysis Reference Procedures for the Southern Region of the United States[C]. Athens: Georgia Press, 1992: 13- 16.
- [4] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 309- 433.
- [5] Association of officiao analytical chemists( AOAC). Official methods of analysis[M]. 14th Edition. Washington D C, 1984: 16- 17.
- [6] Juhn R, George E, Abdul R. Soil and Plant Analysis Laboratory Manual[M]. Second Edition. Aleppo: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), 2001.
- [7] Varley J A. Automated method for the detemination of nitrogen, phosphorus and potassium in plant material[J]. Analyst, 1996, 91: 119- 126.
- [8] 6432- 86. 饲料粗蛋白测定方法[S]. 中华人民共和国国家标准.
- [9] Kathy P M. Plant tissue and feed and forage analysis procedures[A]. Plant and Feed[M]. Clemson: Clemson University Press, 2000.