

中国磷复肥工业协会团体标准

T/CPFIA 0007—2022

含聚谷氨酸磷酸二铵

Diammonium phosphate with polyglutamic acid

2022-12-27 发布

2023-01-01 实施

中国磷复肥工业协会 发布

前 言

本文件按照GB/ T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国磷复肥工业协会提出。

本文件由中国磷复肥工业协会归口。

本文件起草单位：南京轩凯生物科技股份有限公司、云南云天化股份有限公司、湖北三宁化工股份有限公司、武汉光华时代生物科技有限公司、烟台进邦生物科技有限公司。

本文件主要起草人：许宗奇、冯小海、王祥、段家堂、杜建波、李寒尽、赵洪涛、曾庆茁、彭伟、程显好、蔡源卿。

本文件首次制定。

含聚谷氨酸磷酸二铵

1 范围

本文件规定了含聚谷氨酸磷酸二铵的技术要求、试验方法、检验规则、标识、包装、运输和贮存。

本文件适用于以淀粉、淀粉糖、蔗糖、葡萄糖、糖蜜等为主要原料经微生物发酵得到的聚谷氨酸，添加到满足 GB/T 10205-2009 标准的磷酸二铵肥料（以氮、磷为基础养分的二元固体肥料）生产过程中制成的含聚谷氨酸磷酸二铵。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 6679	固体化工产品采样通则
GB/T 6682	分析实验室用水规格和试验方法
GB/T 8170	数值修约规则与极限数值的表示和判定
GB/T 8569	固体化学肥料包装
GB/T 10205-2009	磷酸一铵、磷酸二铵
GB/T 10209.1	磷酸一铵、磷酸二铵的测定方法 第 1 部分：总氮含量
GB/T 10209.2	磷酸一铵、磷酸二铵的测定方法 第 2 部分：磷含量
GB/T 10209.3	磷酸一铵、磷酸二铵的测定方法 第 3 部分：水分
GB/T 10209.4	磷酸一铵、磷酸二铵的测定方法 第 4 部分：粒度
GB 18382	肥料标识 内容和要求
GB 38400	肥料中有毒有害物质的限量要求
HG/T 2843	化肥产品 化学分析常用标准滴定溶液、标准液、试剂溶液和指示剂溶液
QB/T 5189	γ-聚谷氨酸

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 聚谷氨酸 polyglutamic acid

聚谷氨酸（也称 γ-聚谷氨酸，γ-PGA），是以淀粉、淀粉糖、蔗糖、葡萄糖、糖蜜等为主要原料，经微生物发酵，将谷氨酸单体通过酰胺键聚合而成的一类聚合氨基酸。

3.2 含聚谷氨酸磷酸二铵 diammonium phosphate containing polyglutamic acid

在磷酸二铵的生产过程中，加入聚谷氨酸，制成含一定量聚谷氨酸和养分标明量的肥料。

4 要求

4.1 原料聚谷氨酸的要求

原料聚谷氨酸分为粉体剂型和液体剂型，粉体剂型分子量应为5 000 Da ~3 000 000 Da，液体剂型分子量应为100 000 Da ~3 000 000 Da，液体剂型同时应符合表1要求。

表1 原料聚谷氨酸的要求

项 目	指 标
	液体剂型
外观	淡黄色至棕色
聚谷氨酸质量百分比 /%	3.5~17.5
pH	5.0~7.5
水不溶物 /% ≤	1.0

4.2 含聚谷氨酸磷酸二铵要求

4.2.1 外观

颜色均匀，颗粒状，无机械杂质。

4.2.2 技术指标

含聚谷氨酸磷酸二铵应符合表2、表3的要求，同时应符合标明值。

表2 传统法粒状含聚谷氨酸磷酸二铵的要求

项 目		指 标		
		优等品	一等品	合格品
		18-46-0	15-42-0	14-39-0
总养分 (N+P ₂ O ₅) /%	≥	64.0	57.0	53.0
聚谷氨酸/(mg/kg)	≥	140		
总氮 (N) /%	≥	17.0	14.0	13.0
有效磷 (P ₂ O ₅) /%	≥	45.0	41.0	38.0
水溶性磷占有有效磷百分率/%	≥	87	80	75
水分 (H ₂ O) ^a /%	≤	2.5	2.5	3.0
粒度 (1.00 mm-4.00 mm) /%	≥	90	80	80
^a 水分为推荐性要求。 每个等级下面的配合式为该等级的典型配合式，企业可以生产其他配合式的产品，总氮和有效磷允许与标明值之间有 1.0%的绝对负偏差，并且所有项目都应符合表中相应等级的要求。若未标明等级则按总养分对应的等级进行判定。				

表3 料浆法粒状含聚谷氨酸磷酸二铵的要求

项 目		指标		
		优等品	一等品	合格品
		16-44-0	15-42-0	14-39-0
总养分 (N+P ₂ O ₅) /%	≥	60.0	57.0	53.0
聚谷氨酸/(mg/kg)	≥	140		

表 3 料浆法粒状含聚谷氨酸磷酸二铵的要求（续）

项 目	指标		
	优等品	一等品	合格品
	16-44-0	15-42-0	14-39-0
总氮（N）/%	≥ 15.0	14.0	13.0
有效磷（P ₂ O ₅ ）/%	≥ 43.0	41.0	38.0
水溶性磷占有有效磷百分率/%	≥ 80	75	70
水分（H ₂ O） ^a /%	≤ 2.5	2.5	3.0
粒度（1.00 mm-4.00 mm）/%	≥ 90	80	80
^a 水分为推荐性要求。 每个等级下面的配合式为该等级的典型配合式，企业可以生产其他配合式的产品，总氮和有效磷允许与标明值之间有 1.0%的绝对负偏差，并且所有项目都应符合表中相应等级的要求。若未标明等级则按总养分对应的等级进行判定。			

4.2.3 技术指标

有毒有害物质的限量要求执行GB 38400。

5 试验方法

5.1 一般规定

除外观和粒度外，均做两份试料的平行测定。本标准中所用试剂、水和溶液的配制，在未注明规格和配制方法时，均应符合HG/T 2843 的规定。

5.2 外观

目测法测定。

5.3 总氮含量的测定

按GB/T 10209.1规定进行。

5.4 有效磷的测定和水溶性磷占有有效磷百分率的计算

按GB/T 10209.2规定进行。

5.5 聚谷氨酸含量的测定

按附录A或附录B进行，附录B为含聚谷氨酸磷酸二铵快速检测方法，仅用于生产企业中控分析，以附录A的方法为仲裁法。

5.6 水分的测定

按GB/T 10209.3规定进行。

5.7 粒度的测定

按GB/T 10209.4规定进行。

5.8 原料聚谷氨酸的测定

原料聚谷氨酸的测定，含分子量、外观、质量百分比、pH、水不溶物，按QB/T 5189进行测定。

6 检验规则

6.1 检验类别及检验项目

产品检验为出厂检验，检验项目为第四章中4.2的全部项目。

6.2 组批

产品按批检验，以一天或两天的产量为一批，最大批量为1000 t。

6.3 采样方法

6.3.1 袋装产品

按GB/T 10205-2009 中的6.3.1 进行。

6.3.2 散装产品

按GB/T 6679 规定进行。

6.4 样品缩分和试样制备

按GB/T 10205-2009 中的6.4.1-6.4.2进行。

6.5 结果判定

6.5.1 本标准中产品质量指标合格判定，采用 GB/T 8170 中的“修约值比较法”。

6.5.2 出厂检验的项目全部符合本标准要求时，判该批产品合格。

6.5.3 如果检验结果中有一项指标不符合本标准要求时，应重新自两倍量的包装袋中采取样品进行检验，重新检验结果中，即使有一项指标不符合本标准要求，判该批产品不合格。

6.5.4 每批检验合格的出厂产品应附有质量证明书，其内容包括：生产企业名称、地址、产品名称、产品类别、批号或生产日期、总养分、配合式或主要养分含量、聚谷氨酸含量、本标准编号、GB/T 10205-2009 和法律法规规定必须要标注的内容。

7 标识

产品名称可以是“含聚谷氨酸磷酸二铵”，并应在产品包装容器正面标明产品类别（如传统法、料浆法），应以配合式标明总氮、有效五氧化二磷含量（如 18-46-0）、聚谷氨酸含量、本标准编号、GB/T 10205-2009。应以单一数值标明每袋净含量，其余执行 GB 18382。

8 包装、运输和贮存

8.1 产品应符合 GB/T 8569 规定的材料进行包装，产品每袋净含量(50±0.5)kg、(40±0.4)kg、(25±0.25)kg，平均每袋净含量分别不应低于 50.0 kg、40.0 kg、25.0 kg。

8.2 在符合 GB/T 8569 规定的前提下，宜使用经济实用型包装。

8.3 产品应贮存于阴凉干燥处，可以散装或包装形式运输，在贮存和运输过程中应防雨、防潮、防晒、防破裂。

附 录 A

(规范性)

含聚谷氨酸磷酸二铵中聚谷氨酸含量的测定 高效液相色谱法

A.1 原理

以硫酸钠溶液为流动相，以不同含量的聚谷氨酸标准溶液紫外吸收值为检测对象，利用高效液相色谱法测定含聚谷氨酸磷酸二铵中聚谷氨酸含量。

A.2 试剂或材料

A.2.1 试剂、溶液和水：本方法采用符合 GB/T 6682 中的一级水、色谱纯无水硫酸钠，其余试剂、溶液，在未注明规格和配置方法时，均应符合 HG/T 2843 的规定。

A.2.2 流动相硫酸钠溶液（0.2 mol/L）：称取 28.4 g（精确至 0.0001 g）无水硫酸钠溶解并定容至 1 L，用乙酸调节 pH 至 4.0，用孔径 0.22 μm 微孔滤膜过滤，超声波脱气 15 min。

A.2.3 聚谷氨酸标准贮备液（10.0 mg/mL）：称取聚谷氨酸标准品（含量（以干基计））≥99.0%）1.0 g（精确至 0.0001 g），用流动相溶解并定容至 100 mL，4 °C 储存条件下有效期 1 周。

A.2.4 聚谷氨酸标准工作液（0.1 mg/mL）：取 1.0 mL 聚谷氨酸标准贮备液于 100 mL 容量瓶中，用流动相定容至 100 mL，获得聚谷氨酸标准工作液（0.1 mg/mL），此标准工作液使用前制备。

A.3 仪器设备

A.3.1 一般实验室仪器和设备。

A.3.2 高效液相色谱仪：配有紫外检测器。

A.4 色谱参考条件

A.4.1 检测温度：35°C。

A.4.2 检测波长：210 nm。

A.4.3 流速：0.8 mL/min。

A.4.4 进样量：40 μL。

A.4.5 色谱柱：凝胶色谱柱（7.8 mm×300 mm，或达到同等效果的凝胶色谱柱）。

备注：需一根 SB-G 6B 预柱（或达到同等效果预柱）和两根 SB-806M HQ 分析柱（或达到同等效果分析柱）串联。

A.5 试验步骤

A.5.1 标准工作曲线的绘制

分别准确移取 0.0 mL、5.0 mL、10.0 mL、15.0 mL、20.0 mL、25.0 mL 聚谷氨酸标准工作液稀释液

至 25 mL 容量瓶中并定容，配成 0.00 mg/mL、0.02 mg/mL、0.04 mg/mL、0.06mg/mL、0.08mg/mL、0.10 mg/mL 溶液，溶液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤。打开色谱仪，并调至工作状态，待基线平稳后，依次将上述聚谷氨酸溶液注入色谱柱中，进样量为 40 μL，记录峰面积。以标准溶液中聚谷氨酸的浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

A. 5. 2 试样溶液制备

待测样品充分混匀缩分（若样品很难粉碎，可研磨至全部通过 1.00 mm 孔径试验筛），准确称取 50.0 g（精确至 0.01 g）含聚谷氨酸磷酸二铵料样品，加入流动相后在磁力搅拌器上充分溶解，过滤掉残渣，然后用流动相定容到 250 mL，混匀后静置 10 min 待测。

A. 5. 3 试样测定

取以上滤液两次经 0.22 μm 微孔滤膜过滤。打开色谱仪，并调至工作状态，待基线平稳后，进样量为 40 μL，进行高效液相色谱检测，以谷氨酸钠出峰时间前峰形一致的完整峰（参考标品峰形）记录峰面积，并根据标准曲线计算得到试样中聚谷氨酸的浓度 ω 。

备注：每次检测结束，用流动相继续冲洗色谱柱至少 50 min，待基线平稳后方可进行下次检测。

A. 5. 4 结果的表述和计算

以质量分数表示的聚谷氨酸含量（以钠盐计） ω 按公式（A.1）计算：

$$\omega = \frac{\rho \times 250}{m \times 10^{-3}} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

ω ——样品中聚谷氨酸的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

ρ ——根据标准曲线计算的试样中聚谷氨酸的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

250 ——含聚谷氨酸磷酸二铵样品溶解的体积，单位为毫升（mL）；

m ——称取的含聚谷氨酸磷酸二铵样品的质量，单位为克（g）；

10^{-3} ——克与千克之间的换算系数。

计算结果表示的小数点后一位，取平行测定结果的算术平均值作为测定结果。

A. 5. 5 精密度

平行测定结果的相对相差应不大于 15%。

不同实验室测定结果的相对相差应不大于 30%。

注：相对相差为两个平行测定结果的相对差值与两个平行测定结果的平均值之比，以百分数（%）表示。

附 录 B

(规范性)

含聚谷氨酸磷酸二铵中聚谷氨酸含量快速测定 十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 比浊法

B.1 原理

在碱性溶液中, CTAB 的氮原子可以与 γ -PGA 中羧基的氧原子配对, 能够形成不溶于水的 γ -PGA-CTAB 络合物。以不同含量的聚谷氨酸标准溶液与 CTAB 溶液反应液的吸收值为检测对象, 利用分光光度法测定含聚谷氨酸磷酸二铵中聚谷氨酸含量。

B.2 试剂和材料

B.2.1 试剂、溶液和水: 本方法采用符合 GB/T 6682 中的一级水, 其余试剂、溶液, 在未注明规格和配置方法时, 均应符合 HG/T 2843 的规定。

B.2.2 NaOH 溶剂(2%): 称量 2 g(精确至 0.01 g) NaOH, 加入 100 mL 的容量瓶内, 纯水定容至 100 mL。

B.2.3 CTAB 试剂(25 g/L): 称量 2.5 g(精确至 0.01 g) CTAB, 用 2% 的 NaOH 的溶剂定容至 100 mL, 加热溶解, 避光保存。

B.2.4 聚谷氨酸标准贮备液: 称取聚谷氨酸标准品(含量(以干基计)) $\geq 99.0\%$ 0.1 g(精确至 0.0001 g), 溶解并定容至 100 mL, 得到 1000 mg/L 标准液。

B.2.5 聚谷氨酸标准工作液: 取 10.0 mL 聚谷氨酸标准贮备液于 100 mL 容量瓶中, 定容至 100 mL, 获得聚谷氨酸标准工作液(100 mg/L), 此标准工作液使用前制备。

B.2.6 超滤离心管: 选用合适截留分子量 15 mL 超滤管(Amicon Ultra-15, 或达到同等效果的超滤离心管)。

B.3 仪器设备

B.3.1 通常用实验室仪器。

B.3.2 紫外可见分光光度计。

B.4 试验步骤

B.4.1 标准工作曲线的绘制

分别准确移取 0.0 mL、2.0 mL、4.0 mL、6.0 mL、8.0 mL、10.0 mL 聚谷氨酸标准工作液稀释至 25 mL 容量瓶中并定容, 配成 0.0 mg/L、8.0 mg/L、16.0 mg/L、24.0 mg/L、32.0 mg/L、40.0 mg/L 溶液。吸取 2 mL 标准液加入试管中, 准确加入 2 mL CTAB 试验溶液, 加入时用秒表开始计时, 并充分震荡, 震荡过程中尽量避免反应溶液产生泡沫, 静置接近 2 min, 倒入比色皿中, 2 min 时测定波长在 400 nm 下吸光度(A_{400})。以聚谷氨酸为零和 CTAB 试剂反应液为参比溶液。记录吸光度(A_{400}), 以标准溶液中聚谷氨酸的浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线或求得线性回归方程。

B.4.2 试样溶液的制备

分别取 50.0 g (精确至 0.01 g) 含聚谷氨酸磷酸二铵样品 (若样品很难粉碎, 可研磨至全部通过 1.00 mm 孔径试验筛), 加入纯水后在磁力搅拌器上充分溶解, 过滤掉残渣, 然后定容到 250 mL, 混匀后静置 10 min 待用。

超滤内管加 10 mL~12 mL 水, 4℃冷藏或冰水浴 5 min 后倒出。准确移取上清液 10.0 mL 加入超滤内管, 超滤内管膜面板朝上, 以最大 5000 × g 旋转约 15 min~60 min (使用定角转子) 或以最大 4000 × g 旋转约 15 min~60 min (使用摆桶转子)。离心后在超滤内管加 10 mL 水, 重复离心操作 3 次。将超滤内管内剩余浓缩液小心转移至 10 mL 容量瓶中, 少量水冲洗超滤内管 3~5 次全部转移入容量瓶中, 用水稀释至刻度, 混匀。

B. 4. 3 测定

吸取 2 mL 待测样液加入试管中, 准确加入 2 mL CTAB 试验溶液, 加入时用秒表开始计时, 并充分震荡, 震荡过程中尽量避免反应溶液产生泡沫, 静置近 2 min, 倒入比色皿中, 2min 时测定波长在 400 nm 下吸光度 (A₄₀₀)。以聚谷氨酸为零和 CTAB 试剂反应液为参比溶液。

B. 4. 4 试验数据处理

以质量分数表示的聚谷氨酸含量 (以钠盐计) 按公式 (B.1) 计算:

$$\omega = \frac{\rho \times 250}{m} \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

- ω ——样品中聚谷氨酸的含量, 单位为毫克每千克 (mg/kg);
 - ρ ——根据标准曲线计算的试样中聚谷氨酸的浓度, 单位为微克每毫升 (μg/mL);
 - 250 ——含聚谷氨酸磷酸二铵样品溶解的体积, 单位为毫升 (mL);
 - m ——称取的含聚谷氨酸磷酸二铵样品的质量, 单位为克 (g);
- 计算结果表示的小数点后一位, 取平行测定结果的算术平均值作为测定结果。

B. 4. 5 精密度

平行测定结果的相对相差应不大于 20%。取平行测定结果的算术平均值作为测定结果。
注: 相对相差为两个平行测定结果的相对差值与两个平行测定结果的平均值之比, 以百分数 (%) 表示。