

ICS 65.080

G 21

中国磷复肥工业协会团体标准

T/CPFIA 0006—2022

含聚谷氨酸复合肥料

Compound fertilizer 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、新洋丰农业科技股份有限公司、湖北三宁化工股份有限公司、成都云图控股股份有限公司、四川金象赛瑞化工股份有限公司、中国-阿拉伯化肥有限公司、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：冯小海、王祥、康婷婷、王盛锋、李寒尽、赵洪涛、阎应广、喻小丽、田彬、刘元兴、杨振军、王金刚、曾庆苗、彭伟、程显好、蔡源卿。

本文件首次制定。

含聚谷氨酸复合肥料

1 范围

本文件规定了含聚谷氨酸复合肥料的技术要求、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 15063-2020 标准的复合肥料中制成的含聚谷氨酸复合肥料。

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 8572 复混肥料中总氮含量的测定 蒸馏后滴定法
- GB/T 8573 复混肥料中有效磷含量的测定
- GB/T 8574 复混肥料中钾含量测定 四苯硼酸钾重量法
- GB/T 8576 复混肥料中游离水含量的测定 真空烘箱法
- GB/T 8577 复混肥料中游离水含量的测定 卡尔·费休法
- GB/T 15063-2020 复合肥料
- GB/T 22923 肥料中氮、磷、钾的自动分析仪测定法
- GB/T 24890 复混肥中氯离子含量的测定
- GB/T 24891 复混肥料粒度的测定
- GB 38400 肥料中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、标准溶液、试剂溶液和指示剂溶液
- NY/T 1977-2010 水溶肥料 总氮、磷、钾含量的测定
- NY/T 2540-2014 肥料 钾含量的测定
- 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 含聚谷氨酸复合肥料 compound fertilizer containing polyglutamic acid

在复合肥料的生产过程中，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 000Da，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 含聚谷氨酸复合肥料要求

4.2.1 外观

粒状、条状或片状产品，无机械杂质，颜色均匀。

4.2.2 技术指标

含聚谷氨酸复合肥料应符合表2的技术指标，同时应符合包装容器上的标明值。

表2 含聚谷氨酸复合肥料的技术指标

项 目	指 标		
	高浓度	中浓度	低浓度
总养分 ^a (N+P ₂ O ₅ +K ₂ O) /% ≥	40.0	30.0	25.0
聚谷氨酸/ (mg/kg) ≥	140		
水溶性磷占有效磷百分率 ^b /% ≥	60	50	40
硝态氮 ^c /% ≥	1.5		
水分 ^d (H ₂ O) /% ≤	2.0	2.5	5.0
粒度 ^e (1.00 mm~4.75 mm 或 3.35 mm~5.60 mm) /% ≥	90		
氯离子 ^f /% ≤	未标“含氯”的产品	3.0	
	标识“含氯(低氯)”的产品	15.0	
	标识“含氯(中氯)”的产品	30.0	
单一中量元素 ^g (以单质计) /% ≥	有效钙	1.0	
	有效镁	1.0	
	总硫	2.0	
单一微量元素 ^h (以单质计) /% ≥	0.02		
^a 组成产品的单一养分含量不应小于4.0%，且单一养分测定值与标明值负偏差的绝对值不应大于1.5%。 ^b 以钙镁磷肥等枸溶性磷肥为基础磷肥并在包装容器上注明为“枸溶性磷”时，“水溶性磷占有效磷百分率”项目不做检验和判定。若为氮、钾二元肥料，“水溶性磷占有效磷百分率”项目不做检验和判定。 ^c 包装容器上标明“含硝态氮”时检测本项目。			

表2 含聚谷氨酸复合肥料的技术指标（续）

项 目	指 标		
	高浓度	中浓度	低浓度
^d 水分以生产企业出厂检验数据为准。 ^e 特殊形状或更大颗粒（粉状除外）产品的粒度可由供需双方协议确定。 ^f 氯离子的质量分数大于30.0%的产品，应在包装袋上标明“含氯（高氯）”；标识“含氯（高氯）”的产品氯离子的质量分数可不作检验和判定。 ^g 包装容器上标明含钙、镁、硫时检测本项目。 ^h 包装容器上标明含铜、铁、锰、锌、硼、钼时检测本项目，钼元素的质量分数不高于0.5%。			

4.2.3 有毒有害物质的限量要求

包装容器或使用说明中标明适用于种肥同播的产品缩二脲含量应 $\leq 0.8\%$ ，其他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 外观检验

目测法测定。

5.3 总氮含量的测定

按GB/T 8572或GB/T 22923或NY/T 1977-2010的3.2进行测定。以GB/T 8572中的方法为仲裁法。

5.4 有效磷含量的测定和水溶性磷占有有效磷百分率的计算

按GB/T 15063-2020的6.3.2.1或GB/T 8573或GB/T 22923 进行测定。以GB/T 15063-2020的6.3.2.1中的方法为仲裁法。

5.5 钾含量的测定

按GB/T 8574或GB/T 22923或NY/T 2540-2014进行测定。以GB/T 8574中的方法为仲裁法。

5.6 硝态氮含量的测定

按GB/T 15063-2020的6.4.1-6.4.4进行测定。以GB/T 15063-2020的6.4.1中的方法为仲裁法。

5.7 聚谷氨酸含量的测定

按附录A或附录B进行，附录B为含聚谷氨酸复合肥料快速检测方法，仅用于生产企业中控分析，以附录A的方法为仲裁法。

5.8 水分的测定

按GB/T 8577或GB/T 8576 进行测定。以GB/T 8577中的方法为仲裁法。

5.9 粒度的测定

按GB/T 24891进行测定。

5.10 氯离子含量的测定

按GB/T 24890或GB/T 15063-2020 的6.7.2进行测定。以GB/T 24890中的方法为仲裁法。

5.11 中量元素含量的测定

5.11.1 有效钙、有效镁含量的测定

按GB/T 15063-2020的6.8.1.1-6.8.1.2进行测定，以GB/T 15063-2020的6.8.1.1中的方法为仲裁法。

5.11.2 总硫含量的测定

按GB/T 19203 进行。

5.12 微量元素含量的测定

按GB/T 15063-2020的6.9.1-6.9.2进行测定，以GB/T 15063-2020的6.9.1中的方法为仲裁法。

5.13 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

按GB/T 15063-2020 规定执行。

6.2 组批

按GB/T 15063-2020 规定执行。

6.3 采样方法

6.3.1 袋装产品

按GB/T 15063-2020规定执行。

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 15063-2020 规定执行。

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 生产企业应按本标准要求进行出厂检验和型式检验。检验项目全部符合本标准要求时，判该批产品合格。

6.5.3 生产企业进行的出厂检验或型式检验结果中如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。

7 标识和质量证明书

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、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、氯离子含量、缩二脲含量、本标准号、GB/T 15063-2020 和法律法规规定应标注的内容。以钙镁磷肥等枸溶性磷肥为基础磷肥的产品应注明为“枸溶性磷”，并应注明是否为“硝态氮”“尿素态氮”“有机态氮”。其余按 GB/T 15063-2020 中 8.1-8.11 规定进行。

8 包装、运输和贮存

产品贮存时应保证通风、干燥、阴凉、防止日光直射等，在运输过程中应防潮、防晒、防破裂。其余按 GB/T 15063-2020 中 9.1-9.4 规定进行。

附录 A

(规范性)

含聚谷氨酸复合肥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复合肥中聚谷氨酸含量。

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，或达到同等效果及规格的凝胶色谱柱)。

备注：需一根 SB-G 6B 预柱 (或达到同等效果的预柱) 和两根 SB-806M HQ 分析柱 (或达到同等效果的分析柱) 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）含聚谷氨酸复合肥料样品，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

取以上滤液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤两次。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 30 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 ——含聚谷氨酸复合肥料样品溶解的体积，单位为毫升（mL）；
- m ——称取的含聚谷氨酸复合肥料样品的质量，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)

含聚谷氨酸复合肥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复合肥中聚谷氨酸含量。

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 上述溶液加入试管中, 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) 含聚谷氨酸复合肥料样品 (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°C 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 (A_{400})。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 ($\mu\text{g/mL}$);
- 250 —— 含聚谷氨酸复合肥料样品溶解的体积, 单位为毫升 (mL);
- m —— 称取的含聚谷氨酸肥料样品的质量, 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%。

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。