

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 3039—2016

水溶肥料 聚谷氨酸含量的测定

Water-soluble fertilizers—Determination of poly-glutamic acid content

2016-12-23 发布

2017-04-01 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。

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位：中国农业科学院农业资源与农业区划研究所、中国农学会、中国植物营养与肥料学会、土壤肥料产业联盟。

本标准主要起草人：刘蜜、韩岩松、黄均明、侯晓娜。



水溶肥料 聚谷氨酸含量的测定

1 范围

本标准规定了水溶肥料聚谷氨酸含量测定的氨基酸自动分析仪法试验方法。

本标准适用于微生物发酵而成的液体或固体聚谷氨酸水溶肥料；也适用于添加聚谷氨酸，不含硝酸根和其他有机成分的肥料。

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。

NY/T 887 液体肥料 密度的测定

NY/T 1975 水溶肥料 游离氨基酸含量的测定

3 原理

分别测定试样中经盐酸溶液水解后的和未经水解的游离谷氨酸的含量，两者之差即为聚谷氨酸含量。

4 试剂和材料

所用试剂、水和溶液的配制，在未注明规格和配制方法时，均应符合氨基酸自动分析仪设备的要求。

4.1 浓盐酸。

4.2 盐酸溶液：1+1。

4.3 氢氧化钠溶液： $\rho(\text{NaOH}) = 40 \text{ g/L}$ 。

4.4 柠檬酸钠缓冲液： $\text{pH} = 2.2$ 。称取 19.6 g 柠檬酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)，用水溶解并转移至 1 000 mL 容量瓶中，加入 16.5 mL 浓盐酸(4.1)，混匀，用水定容，必要时可用盐酸溶液(4.2)和氢氧化钠溶液(4.3)调节 pH 至 2.2。过孔径 0.45 μm 水系微孔滤膜后备用。

4.5 乙二胺四乙酸二钠溶液： $\rho(\text{EDTA}-2\text{Na}) = 10 \text{ g/L}$ 。

4.6 谷氨酸标准溶液。

5 仪器

5.1 通常实验室仪器。

5.2 氨基酸自动分析仪。

5.3 恒温振荡器：温度可控制在 $(25 \pm 5)^\circ\text{C}$ ，振荡频率可控制在 $(180 \pm 20) \text{ r/min}$ 。

5.4 水解管及封管装置：体积为 15 mL~20 mL 的硬质玻璃管及喷灯、真空泵或充氮气装置，或其他相同功能的装置。

5.5 恒温干燥箱：温度可控制在 $(110 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。

5.6 离心机(10 000 r/min 以上)，或水系微孔滤膜(孔径 0.45 μm)及过滤器、注射器。

5.7 蒸干装置：试管浓缩仪或其他相同功能的装置。

6 分析步骤

6.1 试样的制备

NY/T 3039—2016

固体样品缩分至约 100 g, 将其迅速研磨至全部通过 0.50 mm 孔径试验筛(如样品潮湿, 可通过 1.00 mm 试验筛), 混合均匀, 置于洁净、干燥容器中; 液体样品经摇动均匀后, 迅速取出约 100 mL, 置于洁净、干燥容器中。

6.2 试样溶液的制备

称取 0.5 g~50 g(精确到 0.000 1 g)混合均匀的试样(以含谷氨酸 37 mg~184 mg 为佳), 置于 250 mL 容量瓶中。液体试料直接加水定容; 固体试料加水约 150 mL, 置于(25±5)℃振荡器内, 在(180±20) r/min 的振荡频率下振荡 30 min, 取出后用水定容。放置至澄清后吸取上清液(或过滤后吸取滤液) 1.00 mL 于水解管中, 加入 1.00 mL 浓盐酸(4.1)和 8.00 mL 盐酸溶液(4.2)。封管后置于(110±2)℃的恒温干燥箱中, 水解 22 h~24 h 后, 取出冷却, 打开水解管, 将水解液于 10 000 r/min 以上离心 15 min 或用微孔滤膜过滤。吸取上清液(或滤液) 1.00 mL, 用蒸干装置蒸干。加入 1.00 mL~5.00 mL 的柠檬酸钠缓冲液(4.4)溶解, 使谷氨酸浓度处于仪器测定的最佳浓度范围内。

注: 当试样中含有金属元素影响测定时, 则在“打开水解管”后吸取水解液 2.00 mL, 加入乙二胺四乙酸二钠溶液(4.5) 2.00 mL, 混匀, 然后按“于 10 000 r/min 以上离心 15 min 或用微孔滤膜过滤……使谷氨酸浓度处于仪器测定的最佳浓度范围内。”进行操作。

6.3 标准曲线的绘制

将谷氨酸标准溶液(4.6)稀释至 100 nmol/mL, 上机测定。以仪器进样体积中谷氨酸的物质的量(nmol)为横坐标, 相应的峰面积为纵坐标, 采用单点校准法绘制标准曲线。

注: 谷氨酸标准溶液的最佳上机浓度通常为 100 nmol/mL, 可根据仪器要求调整。

6.4 试样溶液的测定

将试样溶液在与测定标准溶液相同的条件下测定, 在标准曲线上查出相应仪器进样体积中谷氨酸的物质的量(nmol)。

7 游离谷氨酸含量的测定

按照 NY/T 1975 的规定测定未经水解的试样中游离谷氨酸的含量。

8 分析结果的表述

8.1 水解后游离谷氨酸的总含量以质量分数 ω_1 计, 数值以百分率表示, 按式(1)计算。

$$\omega_1 = \frac{nMDV_1 \times 10^3}{mV \times 10^9} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

n ——仪器进样体积 V 中谷氨酸的物质的量, 单位为纳摩尔(nmol);

M ——谷氨酸的摩尔质量数值(147.1), 单位为克每摩尔(g/mol);

D ——稀释倍数;

V_1 ——定容体积, 单位为毫升(mL);

10^3 ——将毫升换算成微升的系数, 以微升每毫升($\mu\text{L}/\text{mL}$)表示;

m ——试料的质量, 单位为克(g);

V ——仪器进样体积, 单位为微升(μL);

10^9 ——将克换算成纳克的系数, 以纳克每克(ng/g)表示。

取两次平行测定结果的算术平均值为测定结果, 结果保留到小数点后一位。

8.2 聚谷氨酸含量以质量分数 ω 计, 数值以百分率表示, 按式(2)计算。

$$\omega = \omega_1 - \omega_2 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

ω_1 ——试样中水解后游离谷氨酸的总含量;

ω_2 ——试样中游离谷氨酸的质量分数。
结果保留到小数点后一位。

9 允许差

9.1 平行测定结果的允许差

水解后游离谷氨酸的总含量平行测定结果的绝对差值应符合表 1 要求。

表 1

| 水解后游离谷氨酸的总含量(ω_1), % | 绝对差值, % |
|-------------------------------|------------|
| $\omega_1 \leq 2.0$ | ≤ 0.2 |
| $2.0 < \omega_1 \leq 5.0$ | ≤ 0.5 |
| $5.0 < \omega_1 \leq 10.0$ | ≤ 1.0 |
| $\omega_1 > 10.0$ | ≤ 2.0 |

游离谷氨酸含量平行测定结果的允许差按照 NY/T 1975 的规定执行。

9.2 不同实验室测定结果的允许差

聚谷氨酸含量不同实验室测定结果的绝对差值应符合表 2 要求。

表 2

| 聚谷氨酸的含量(ω), % | 绝对差值, % |
|--------------------------|------------|
| $\omega \leq 2.0$ | ≤ 0.4 |
| $2.0 < \omega \leq 5.0$ | ≤ 1.0 |
| $5.0 < \omega \leq 10.0$ | ≤ 2.0 |
| $\omega > 10.0$ | ≤ 4.0 |

10 质量浓度的换算

液体试样聚谷氨酸含量以质量浓度 ρ_1 计,单位为克每升(g/L),按式(3)计算。

$$\rho_1 = 1000\omega\rho \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

1 000 ——将克每毫升换算为克每升的系数,以毫升每升(mL/L)表示;

ω ——试样中聚谷氨酸的质量分数;

ρ ——液体试样的密度,单位为克每毫升(g/mL)。

结果保留至整数。

密度的测定按照 NY/T 887 的规定执行。