



中华人民共和国国家标准

GB/T 37500—2019

肥料中植物生长调节剂的测定 高效液相色谱法

Determination of plant growth regulators in fertilizer—
High performance liquid chromatography

2019-06-04 发布

2020-01-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国石油和化学工业联合会提出。

本标准由全国肥料和土壤调理剂标准化技术委员会(SAC/TC 105)归口。

本标准起草单位：上海化工研究院有限公司、山东省产品质量检验研究院、黑龙江省质量监督检测研究院、云南省化工产品质量监督检验站、四川国光农化股份有限公司、山东农大肥业科技有限公司、上海化工院检测有限公司。

本标准主要起草人：苏本玉、张娟、段路路、柳羽丰、丁方军、吴攀道、魏厚道、毛红祥、朱海荣、刘卫、吴凡、姚莎。



肥料中植物生长调节剂的测定

高效液相色谱法

警示——使用本标准的人员应有正规实验室工作的实践经验。本标准并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施,并保证符合国家有关法规规定的条件。

1 范围

本标准规定了肥料中植物生长调节剂含量的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于水溶性肥料、复合肥料、复混肥料、掺混肥料等肥料中复硝酚钠、2,4-二氯苯氧乙酸(简称 2,4-D)、脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸含量的测定。

本标准中各目标物的方法检出限和定量限分别为:复硝酚钠 3 mg/kg 和 10 mg/kg; 2,4-D 5 mg/kg和 10 mg/kg;脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑 3 mg/kg 和 10 mg/kg;吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸 5 mg/kg和 10 mg/kg。

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

3 方法提要

试样用甲醇进行超声提取,在选定的工作条件下,用高效液相色谱仪(配有二极管阵列检测器)进行测定,以保留时间定性,外标法定量。

4 试剂和材料

- 4.1 除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和 GB/T 6682 中的一级水。
- 4.2 甲醇:色谱纯。
- 4.3 乙腈:色谱纯。
- 4.4 甲酸:色谱纯。
- 4.5 乙酸铵:色谱纯。
- 4.6 冰乙酸:优级纯。
- 4.7 甲酸溶液(1+1 000):移取 1.0 mL 甲酸(4.4)与 1 000 mL 水混匀。
- 4.8 乙酸铵溶液(0.77 g/L):称取 0.77 g 乙酸铵(4.5),用水溶解并定容至 1 000 mL。
- 4.9 冰乙酸溶液(1+50):移取 20.0 mL 冰乙酸(4.6)与 1 000 mL 水混匀。
- 4.10 2-硝基苯酚钠、4-硝基苯酚钠、5-硝基邻甲氧基苯酚钠、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)、脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸标准品:已知质量分数, $w \geq 98.0\%$, 信息参见附录 A 中表 A.1。
- 4.11 复硝酚钠标准储备溶液:称取适量的 2-硝基苯酚钠、4-硝基苯酚钠、5-硝基邻甲氧基苯酚钠标准

品,用甲醇配制成各个标准物质浓度为 2 000 mg/L 的标准储备溶液。

4.12 复硝酚钠标准溶液:准确移取适量的复硝酚钠标准储备溶液(4.11),用甲醇稀释成 200 mg/L 的复硝酚钠标准溶液。

4.13 2,4-D 标准储备溶液:称取适量的 2,4-D 标准品,用甲醇配制成浓度为 2 000 mg/L 的标准储备溶液。

4.14 2,4-D 标准溶液:准确移取适量的 2,4-D 标准储备溶液(4.13),用甲醇配制成浓度为 200 mg/L 的 2,4-D 标准溶液。现用现配。

4.15 脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑标准储备溶液:称取适量的脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑标准品,用甲醇配制成浓度为 4 000 mg/L 的标准储备溶液。

4.16 脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑混合标准溶液:准确移取适量的脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑标准储备溶液(4.15),用甲醇配制成浓度为 400 mg/L 的脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑混合标准溶液。现用现配。

4.17 吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸标准储备溶液:称取适量的吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸标准品,用甲醇配制成浓度为 2 000 mg/L 的标准储备溶液。

4.18 吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸混合标准溶液:准确移取适量的吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸标准储备溶液(4.17),用甲醇配制成浓度为 200 mg/L 的吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸混合标准溶液。现用现配。

5 仪器与设备

5.1 高效液相色谱仪:配有二极管阵列检测器(PDA)。

5.2 色谱数据处理机。

5.3 微量注射器:50 μ L。

5.4 高速离心机:最高转速不低于 4 000 r/min。

5.5 漩涡混合器。

5.6 超声波清洗器。

5.7 电子天平:精度 0.1 mg。

5.8 金属试验筛:0.5 mm。

5.9 有机相微孔滤膜:0.22 μ m。

6 测定步骤

6.1 样品制备

固体样品应粉碎至全部过 0.5 mm 试验筛,待用。液体样品混匀后直接称量。

6.2 试液提取

称取 0.1 g~1.0 g 试样(精确至 0.000 1 g)置于 10 mL 离心管中,加入 10 mL 甲醇(4.2),涡旋振荡 1 min,超声提取 30 min 后冷却至室温,用甲醇定容,高速离心 10 min,取 1 mL 上清液过 0.22 μ m 有机相滤膜,待测。

6.3 高效液相色谱参考条件

6.3.1 复硝酚钠色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:250 mm \times 4.6 mm(内径)不锈钢柱,内装 Atlantis® T₃、5.0 μ m 填充物(或具有同等效果的色谱柱);

- b) 流动相:甲醇(4.2)+0.1%甲酸溶液(4.7)=55+45(体积比),经滤膜过滤,并进行脱气;
- c) 流速:0.8 mL/min;
- d) 柱温:35 ℃;
- e) 检测波长:254 nm;
- f) 进样量:10 μL。

6.3.2 2,4-D 色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:250 mm× 4.6 mm(内径)不锈钢柱,内装 RP18、5.0 μm 填充物(或具有同等效果的色谱柱);
- b) 流动相:乙腈(4.3)+乙酸铵溶液(4.8)=60+40(体积比);
- c) 流速:0.8 mL/min;
- d) 柱箱温度:35 ℃;
- e) 检测波长:283 nm;
- f) 进样量:10 μL。

6.3.3 脱落酸、萘乙酸、氯吡脘和烯效唑色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:250 mm× 4.6 mm(内径)不锈钢柱,内装 RP₁₈、5.0 μm 填充物(或具有同等效果的色谱柱);
- b) 流动相:流动相及梯度洗脱条件见表 1;
- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温:室温;
- e) 检测波长:氯吡脘、烯效唑、脱落酸最佳检测波长为 258 nm,萘乙酸最佳检测波长为 280 nm;
- f) 进样量:10 μL。

6.3.4 吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:250 mm× 4.6 mm(内径)不锈钢柱,内装 RP₁₈、5.0 μm 填充物(或具有同等效果的色谱柱);
- b) 流动相:流动相及梯度洗脱条件见表 2;
- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温:室温;
- e) 检测波长:280 nm;
- f) 进样量:10 μL。

表 1 高效液相色谱条件

时间 min	流动相[甲醇(4.2)] %	流动相[0.1 甲酸溶液(4.7)] %
0	30	70
7.0	45	55
13.0	55	45
18.0	80	20
26.0	90	10
26.1	30	70
33.0	30	70

表 2 高效液相色谱条件

时间 min	流动相[甲醇(4.2)] %	流动相[2.0%冰乙酸溶液(4.9)] %
0	40	60
15.0	40	60
15.1	55	45
30.0	55	45
30.1	40	60
33.0	40	60

6.4 标准曲线的绘制

6.4.1 分别移取复硝酚钠标准溶液(4.12)0.5 mL、5.0 mL、10.0 mL、25.0 mL 和 50.0 mL 至 100 mL 容量瓶中,用甲醇(4.2)定容,配制浓度为 1 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L 和 100 mg/L 的复硝酚钠标准工作溶液。按照色谱条件(6.3.1)浓度由低到高的顺序测定,以色谱峰峰面积为纵坐标,对应的溶液浓度为横坐标,绘制标准工作曲线。复硝酚钠标准物质色谱图参见附录 B 中图 B.1。

6.4.2 分别移取 2,4-D 标准溶液(4.14)0.5 mL、5.0 mL、10.0 mL、25.0 mL 和 50.0 mL 至 100 mL 容量瓶中,用甲醇(4.2)定容,配制浓度为 1 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L 和 100 mg/L 的 2,4-D 标准工作溶液。按照色谱条件(6.3.2)浓度由低到高的顺序测定,以色谱峰峰面积为纵坐标,对应的溶液浓度为横坐标,绘制标准工作曲线。2,4-D 标准物质色谱图参见附录 C 中图 C.1。

6.4.3 分别移取脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑混合标准溶液(4.16)2.5 mL、5.0 mL、10.0 mL、25.0 mL 和 50.0 mL 至 100 mL 容量瓶中,用甲醇(4.2)定容,配制成浓度为 10 mg/L、20 mg/L、40 mg/L、100 mg/L、200 mg/L 的混合标准工作溶液。按照色谱条件(6.3.3)浓度由低到高的顺序测定,以色谱峰峰面积为纵坐标,对应的溶液浓度为横坐标,绘制标准工作曲线。脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑标准物质色谱图参见附录 D 中图 D.1。

6.4.4 分别移取吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸混合标准溶液(4.18)0.5 mL、5.0 mL、10.0 mL、25.0 mL 和 50.0 mL 至 100 mL 容量瓶中,用甲醇(4.2)定容,配制成浓度为 1 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L 和 100 mg/L 的混合标准工作溶液。按照色谱条件(6.3.4)浓度由低到高的顺序测定,以色谱峰峰面积为纵坐标,对应的溶液浓度为横坐标,绘制标准工作曲线。吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸标准物质色谱图参见附录 E 中图 E.1。

6.5 试样测定

取提取后的待测液(6.2),按照高效液相色谱参考条件(6.3)进行测定,外标法定量。所检组分含量高的试样可用甲醇(4.2)适当稀释后进行测定。

6.6 空白试验

除不称取试样外,其他步骤同 6.5 试样测定。

6.7 平行试验

做两份试样的平行测定。

6.8 分析结果表述

试样中 5-硝基邻甲氧基苯酚钠、4-硝基苯酚钠、2-硝基苯酚钠、2,4-D、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸的含量 X_i ，以质量分数(%)表示，结果按式(1)计算：

$$X_i = \frac{(c_i - c_0) \times V \times D_i}{1\,000\,m} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

- 式中：
- c_i ——由标准曲线求得的试样组分浓度，单位为毫克每升(mg/L)；
 - c_0 ——由标准曲线求得空白试样中的组分浓度，单位为毫克每升(mg/L)；
 - V ——试样溶液(或稀释后)的总体积，单位为升(L)；
 - D_i ——试样溶液的稀释倍数；
 - m ——试样质量的数值，单位为克(g)。

计算结果保留两位有效数字，取平行测定结果的算术平均值作为测定结果。

注：复硝酚钠含量以 5-硝基邻甲氧基苯酚钠、4-硝基苯酚钠和 2-硝基苯酚钠的含量总和计。

6.9 允许差

重复条件下，对同一试样两次平行测定结果的相对偏差不超过 10%。



附 录 A
(资料性附录)
10 种植物生长调节剂信息表

10 种植物生长调节剂信息见表 A.1。

表 A.1 10 种植物生长调节剂信息表

序号	中文名称	英文名称	分子式	相对分子质量	CAS 号
1	2-硝基苯酚钠	2-nitrophenol sodium salt	$C_6H_4NNaO_3$	161.09	824-39-5
2	4-硝基苯酚钠	4-nitrophenol sodium salt	$C_6H_4NNaO_3$	161.09	824-78-2
3	5-硝基邻甲氧基苯酚钠	5-nitroguaiacol sodium salt	$C_7H_6NNaO_4$	191.12	77-06-5
4	2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)	2,4-dichlorophenoxyacetic acid	$C_8H_6Cl_2O_3$	221.04	94-75-7
5	脱落酸	abscisic acid	$C_{15}H_{20}O_4$	264.32	14375-45-2
6	萘乙酸	1-naphthylacetic acid	$C_{12}H_{10}O_2$	186.21	86-87-3
7	氯吡脞	forchlorfenuron	$C_{12}H_{10}ClN_3O$	247.70	68157-60-8
8	烯效唑	uniconazole	$C_{15}H_{18}ClN_3O$	291.8	83657-22-1
9	吲哚-3-乙酸	indole-3-acetic acid	$C_{10}H_9NO_2$	175.19	87-51-4
10	吲哚丁酸	4-(3-indolyl)-butyric acid	$C_{12}H_{13}NO_2$	203.23	133-32-4
注：复硝酚钠(sodium nitrophenolate)在本标准中指 2-硝基苯酚钠、4-硝基苯酚钠和 5-硝基邻甲氧基苯酚钠。					

附 录 B
(资料性附录)
复硝酚钠标准物质液相色谱图

复硝酚钠标准物质液相色谱图见图 B.1。

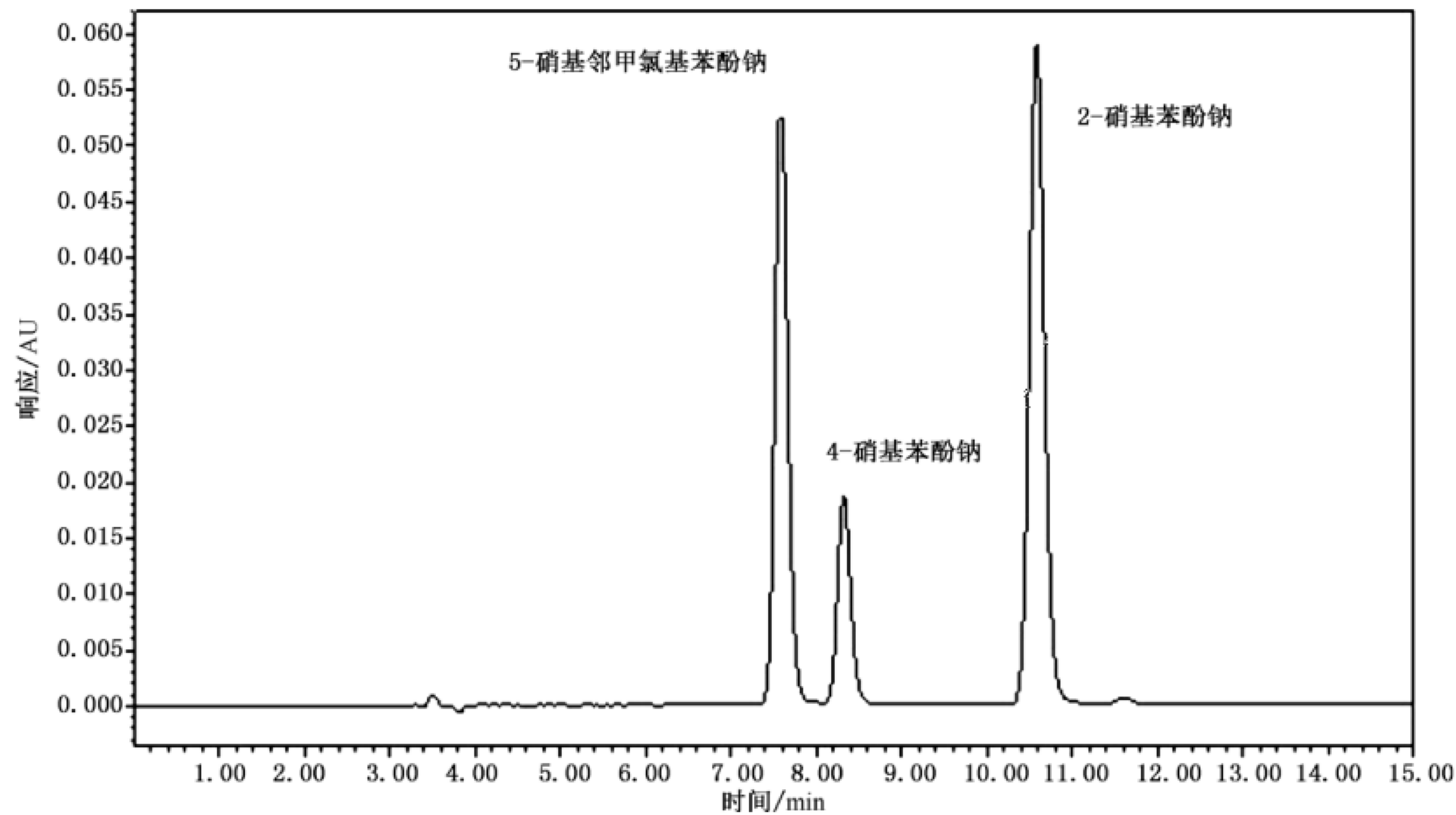


图 B.1 复硝酚钠标准物质液相色谱图

附 录 C
(资料性附录)

2,4-二氯苯氧乙酸标准物质液相色谱图

2,4-二氯苯氧乙酸标准物质液相色谱图见图 C.1。

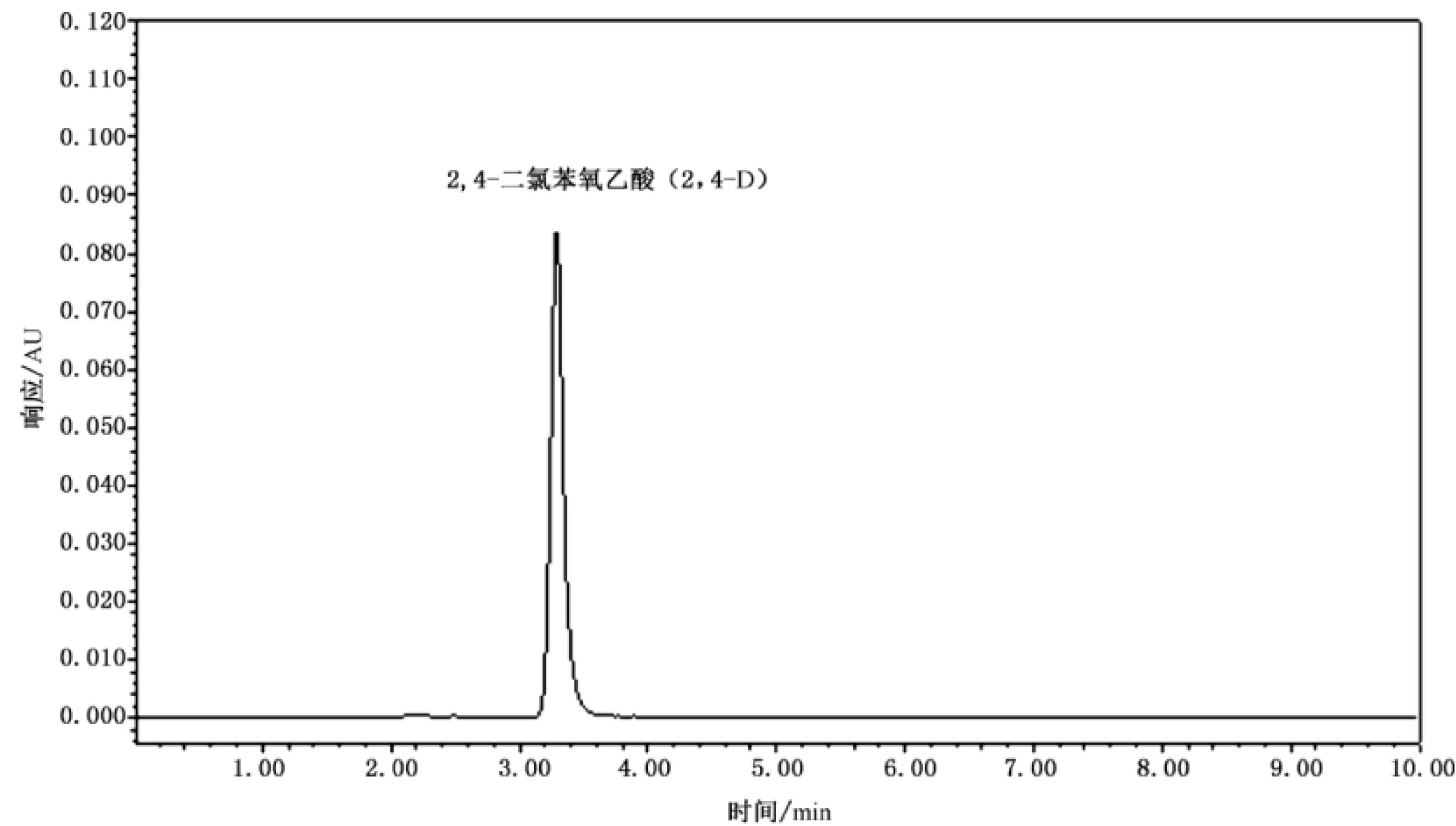


图 C.1 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)标准物质液相色谱图

附 录 D
(资料性附录)

脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑标准物质液相色谱图

脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑标准物质液相色谱图见图 D.1。

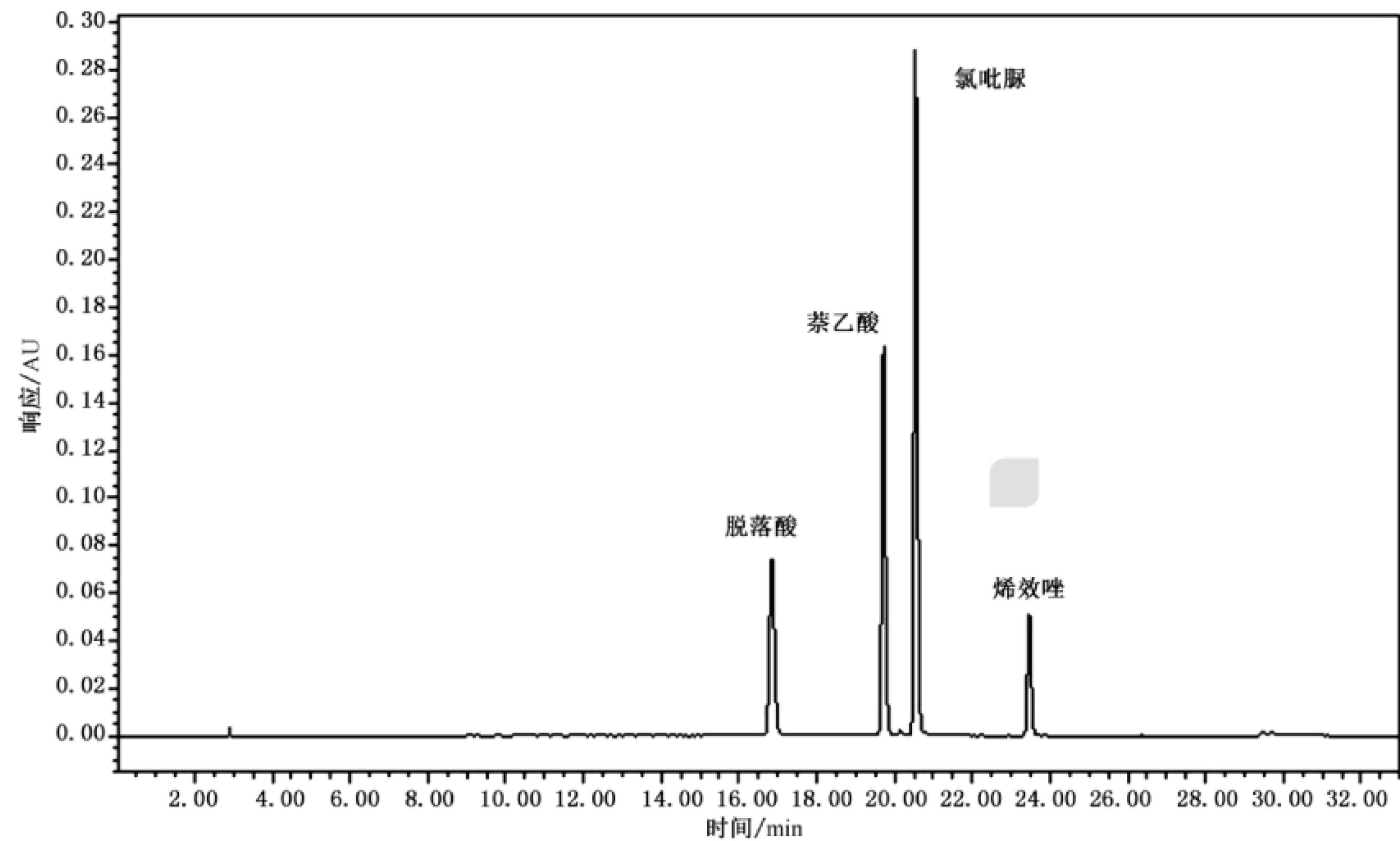


图 D.1 脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑标准物质液相色谱图(280 nm)

附 录 E
(资料性附录)

吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸标准物质液相色谱图

吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸标准物质液相色谱图见图 E.1。

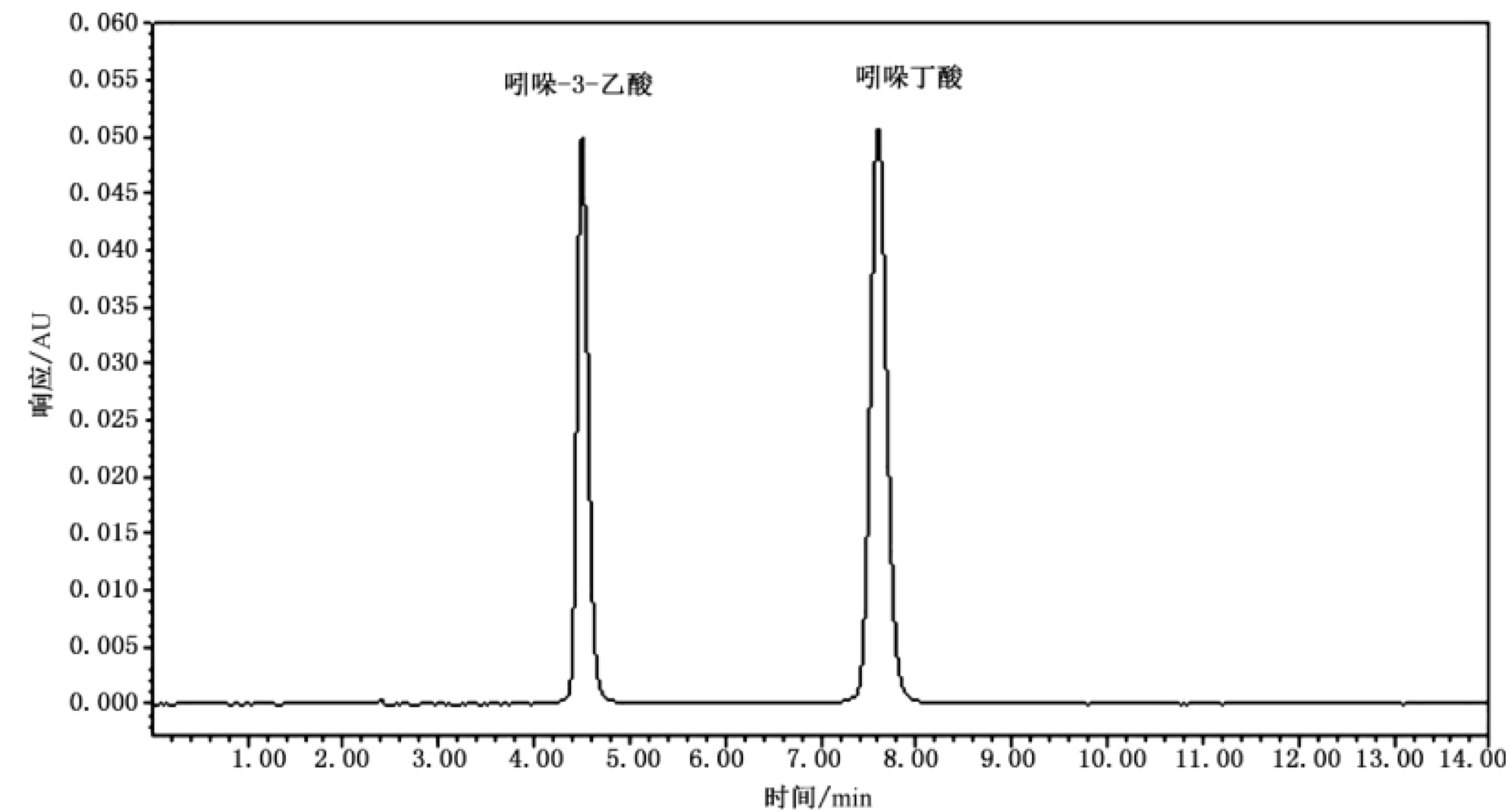


图 E.1 吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸标准物质液相色谱图