



中华人民共和国国家标准

GB/T ×××××—××××

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 by high performance liquid chromatography

(送审稿)

(本稿完成日期：2018.07.1)

××××—××—××发布

××××—××—××实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 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：

本标准主要起草人：

本标准为首次发布。

肥料中植物生长调节剂的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了使用高效液相色谱法测定肥料中植物生长调节剂的含量。

本标准适用于水溶肥料、复混肥料、掺混肥料、配方肥料等肥料中复硝酚钠、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、吲哚丁酸含量的检测。

该方法中复硝酚钠的检出限为0.3 mg/kg, 定量限为1.0 mg/kg; 2,4-D的检出限为0.5 mg/kg, 定量限为1.0 mg/kg; 脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑的检出限为0.3 mg/kg, 定量限为1.0 mg/kg。吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸检出限为0.5 mg/kg, 定量限为1.0 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 602 化学试剂杂质测定用标准溶液的制备

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

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

本标准所用试剂, 除另有说明外均为分析纯。实验室用水应符合GB/T 6682中一级用水的要求。

4.1 甲醇: 色谱纯。

4.2 水: 二次重蒸水。

4.3 甲酸: 色谱纯。

4.4 乙腈: 色谱纯。

4.5 甲酸溶液: 准确移取 1.0 mL 甲酸(4.3), 用水稀释至 1000 mL。

4.6 乙酸铵溶液: 称取 0.75 g 乙酸铵加水稀释至 1000 mL。

4.7 2-硝基苯酚钠标准品: 已知质量分数 $w \geq 99.0\%$ 。

4.8 4-硝基苯酚钠标准品: 已知质量分数 $w \geq 99.0\%$ 。

4.9 5-硝基邻甲氧基苯酚钠标准品: 已知质量分数 $w \geq 99.0\%$ 。

- 4.10 2,4-二氯苯氧乙酸（2,4-D）标准品：已知质量分数 $w \geq 99.0\%$ 。
- 4.11 脱落酸标准品：已知质量分数 $w \geq 99.0\%$ 。
- 4.12 萘乙酸标准品：已知质量分数 $w \geq 99.0\%$ 。
- 4.13 氯吡脞标准品：已知质量分数 $w \geq 99.0\%$ 。
- 4.14 烯效唑标准品：已知质量分数 $w \geq 99.0\%$ 。
- 4.15 吲哚-3-乙酸标准品：已知质量分数 $w \geq 99.0\%$ 。
- 4.16 吲哚丁酸标准品：已知质量分数 $w \geq 99.0\%$ 。
- 4.17 复硝酚钠标准溶液：准确称取适量的 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 1000 mg/L 的混合标准溶液。保存于 4℃ 冰箱中，可放置 30 天。
- 4.18 2,4-D 标准溶液：准确称取适量的 2,4-D 标准品，精确至 0.0001 g，用甲醇配制成浓度为 1000 mg/L 的标准溶液。保存于 4℃ 冰箱中，可放置 30 天。
- 4.19 脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑混合标准溶液：准确称取适量的脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑标准品，精确至 0.0001 g，用甲醇配制成浓度为 1000 mg/L 的混合标准溶液。保存于 4℃ 冰箱中，可放置 30 天。
- 4.20 吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸混合标准溶液：准确称取适量的吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸标准品，精确至 0.0001 g，用甲醇配制成浓度为 1000 mg/L 的标准溶液。保存于 4℃ 冰箱中，可放置 15 天。

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 μL 。
- 5.4 漩涡混合器。
- 5.5 有机相微孔滤膜：0.22 μm 。
- 5.6 高速离心机。
- 5.7 电子天平：精度 0.1 mg。
- 5.8 容量瓶：10 mL。

6 测定步骤

6.1 样品预处理

6.1.1 液体或粉剂样品

称取 1.0 g 样品（精确至 0.000 1 g），置于 50 mL 比色管中，加入 20 mL 甲醇，涡旋振荡 1 min，超

声提取 30 min 后，在高速离心机中以 8000 r/min 的转速离心 10 min，全部上清液转移至 25 mL 容量瓶中，甲醇（4.1）定容，稀释相应倍数，过 0.22 μm 有机相滤膜，待测。

6.1.2 颗粒状等固体样品

将待测样品研磨粉碎，后续步骤同 6.1.1。

6.2 色谱参考条件

6.2.1 复硝酚钠色谱参考条件

- a) 色谱柱：Atlantis® T3 柱（250 mm×4.6 mm，5.0 μm ）或分离性能相当者；
- b) 检测器：二极管阵列检测器（PDA）；检测波长：254 nm；
- c) 流动相：V(甲醇):V(0.1%甲酸水)=55:45，等度洗脱；
- d) 流速：0.8 mL/min；
- e) 柱温：35℃；
- f) 进样量：10.0 μL 。

6.2.2 2, 4-D 色谱参考条件

- a) 色谱柱：RP18（250 mm×4.6 mm，5.0 μm ）或分离性能相当者；
- b) 检测器：二极管阵列检测器（PDA）；检测波长：283 nm；
- c) 流动相：V（乙腈）：V（10 mmol/L 乙酸铵水溶液）= 60: 40，等度洗脱；
- d) 流速：0.8 mL/min；
- e) 柱箱温度：35℃；
- f) 进样量：10.0 μL 。

6.2.3 脱落酸、萘乙酸、氯吡脘和烯效唑色谱参考条件

- a) 色谱柱：Symmetry Shield™ RP18 柱(250 mm×4.6 mm, 5.0 μm)或分离性能相当者；
- b) 检测器：二极管阵列检测器（PDA）；检测波长：氯吡脘、烯效唑、脱落酸同时检测波长为 258 nm，萘乙酸检测波长为 280 nm。
- c) 流动相：甲醇溶液（A）和 0.1%甲酸水溶液（B），高效液相色谱梯度洗脱条件见表 1；
- d) 流速：1.0 mL/min；
- e) 柱温：室温；
- f) 进样量：10.0 μL 。

表1 高效液相色谱条件

时间/min	流动相 A 含量/%	流动相 B 含量/%
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

6.2.4 吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸色谱参考条件

- a) 色谱柱：Symmetry Shield™ RP18 柱(250 mm×4.6 mm, 5.0 μm)或分离性能相当者；
- b) 检测器：二极管阵列检测器（PDA）；检测波长：280 nm；
- c) 流动相：甲醇溶液（A）和 2.0%乙酸水溶液（B），高效液相色谱梯度洗脱条件见表 2；
- d) 流速：1.0 mL/min；
- e) 柱温：室温；
- f) 进样量：10.0 μL。

表2 高效液相色谱条件

时间/min	流动相 A 含量/%	流动相 B 含量/%
0	40	60
15.0	40	60
15.1	55	45
30.0	55	45
30.1	40	60
33.0	40	60

6.3 标准曲线的绘制

6.3.1 分别移取复硝酚钠标准溶液（4.15）0.01 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.50 mL、0.80 mL 和 1.00 mL 至 10 mL 容量瓶中，甲醇（4.1）定容，配制浓度为 1 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L、80 mg/L 和 100 mg/L 的复硝酚钠标准工作溶液。按照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。标准物质色谱图参见附录 B 中图 B.1。

6.3.2 分别移取 2, 4-D 标准溶液（4.16）0.01 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL 和 1.00 mL 至 10 mL 容量瓶中，甲醇（4.1）定容，配制浓度为 1 mg/L、20 mg/L、40 mg/L、60 mg/L、80 mg/L、100 mg/L 的 2,4-D 标准工作溶液。按照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。标准物质色谱图参见附录 C 中图 C.1。

6.3.3 分别移取脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑混合标准溶液（4.17）0.10 mL、0.20 mL、0.50 mL、0.80 mL、1.00 mL 和 2.00 mL 至 10 mL 容量瓶中，甲醇（4.1）定容，配制成浓度为 10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L、80 mg/L、100 mg/L、200 mg/L 的混合标准工作溶液。按照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。标准物质色谱图参见附录 D 中图 D.1。

6.3.4 分别移取吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸混合标准溶液（4.18）0.01 mL、0.05 mL、0.10 mL、0.20 mL、1.00 mL 至 10 mL 容量瓶中，甲醇（4.1）定容，配制成浓度为 1.0 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L、50.0mg/L、100.0mg/L 的混合标准工作溶液。按照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。标准物质色谱图参见附录 E 中图 E.1。

6.4 试样测定

取预处理后的待测液，按照色谱条件进行测定，记录色谱峰的保留时间和峰面积，由标准工作曲线和色谱峰的峰面积即可求出所检组分的浓度。样品溶液中所检组分的响应值均应在仪器测定的线性范围之内，所检组分含量高的试样可适当稀释后进行测定。同时进行平行试验。

6.5 空白试验

除不称取试样外，均按上述步骤进行。

6.6 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、氯吡脞、烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸的含量以质量百分数 X_i (%)表示，结果按式(1)计算：

$$X_i = \frac{(c_i - c_0) \times V_i \times D}{1000m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X_i ——样品中组分的含量，以质量百分数(%)计；

c_i ——由标准曲线求得的样品组分浓度，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_i ——样品溶液(或稀释后)的总体积，单位为升(L)；

m ——样品质量，单位为克(g)；

D ——样品溶液的稀释倍数；

取平行测定结果的平均值作为测定结果，结果保留到小数点后两位。

试样中复硝酚钠的含量 X 以质量百分数(%)表示，结果按式(2)计算：

$$X = X_1 + X_2 + X_3 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X ——试样中复硝酚钠的含量，以质量百分数(%)计；

X_1 ——试样中5-硝基邻甲氧基苯酚钠的含量，以质量百分数(%)计；

X_2 ——试样中4-硝基苯酚钠的含量，以质量百分数(%)计；

X_3 ——试样中2-硝基苯酚钠的含量，以质量百分数(%)计；

取平行测定结果的平均值作为测定结果，结果保留到小数点后两位。

6.7 允许差

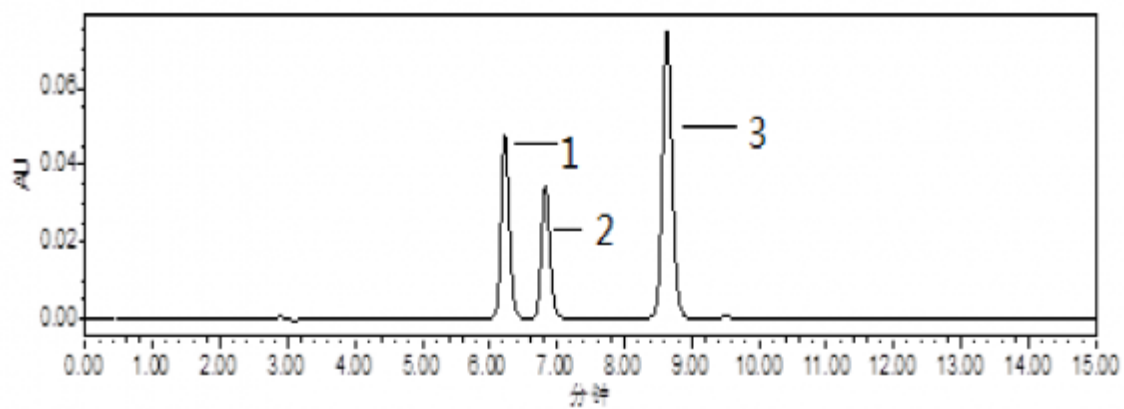
重复条件下，对同一试样两次独立测定结果的相对偏差不超过10%。

附 录 A
(资料性附录)
8 种植物生长调节剂一览表

A.1 8 种植物生长调节剂一览表

化合物	英文名称	分子式	分子量	CAS 号
复硝酚钠	Sodium nitrophenolate	/	/	/
2-硝基苯酚钠盐	2- Nitrophenol Sodium Salt	C ₆ H ₄ NNaO ₃	161.09	824-39-5
4 硝基苯酚钠盐	4-Nitrophenol Sodium Salt	C ₆ H ₄ NNaO ₃	161.09	824-78-2
5-硝基邻甲氧基苯酚钠盐	5-Nitroguaiacol Sodium Salt	C ₇ H ₆ NNaO ₄	191.12	77-06-5
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	221.04	94-75-7
脱落酸	abscisic acid	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	264.32	14375-45-2
萘乙酸	1-Naphthylacetic acid	C ₁₂ H ₁₀ O ₂	186.21	86-87-3
氯吡脞	Forchlorfenuron	C ₁₂ H ₁₀ ClN ₃ O	247.70	68157-60-8
烯效唑	uniconazole	C ₁₅ H ₁₈ ClN ₃ O	291.8	83657-22-1
吲哚-3-乙酸	indole-3-acetic acid	C ₁₀ H ₉ NO ₂	175.19	87-51-4
吲哚丁酸	4-(3-indolyl)-butyric acid	C ₁₂ H ₁₃ NO ₂	203.23	133-32-4

附 录 B
(资料性附录)
复硝酚钠标准物质高效液相色谱图



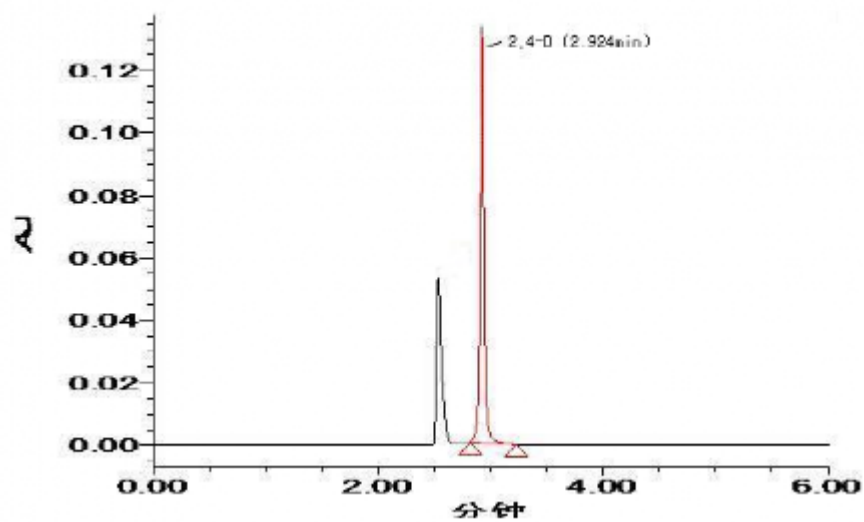
图B. 1 复硝酚钠标准物质高效液相色谱图

注：1：5-硝基邻甲氧基苯酚钠；2：4-硝基苯酚钠；3：2-硝基苯酚钠

附 录 C

(资料性附录)

2, 4-二氯苯氧乙酸标准物质高效液相色谱图

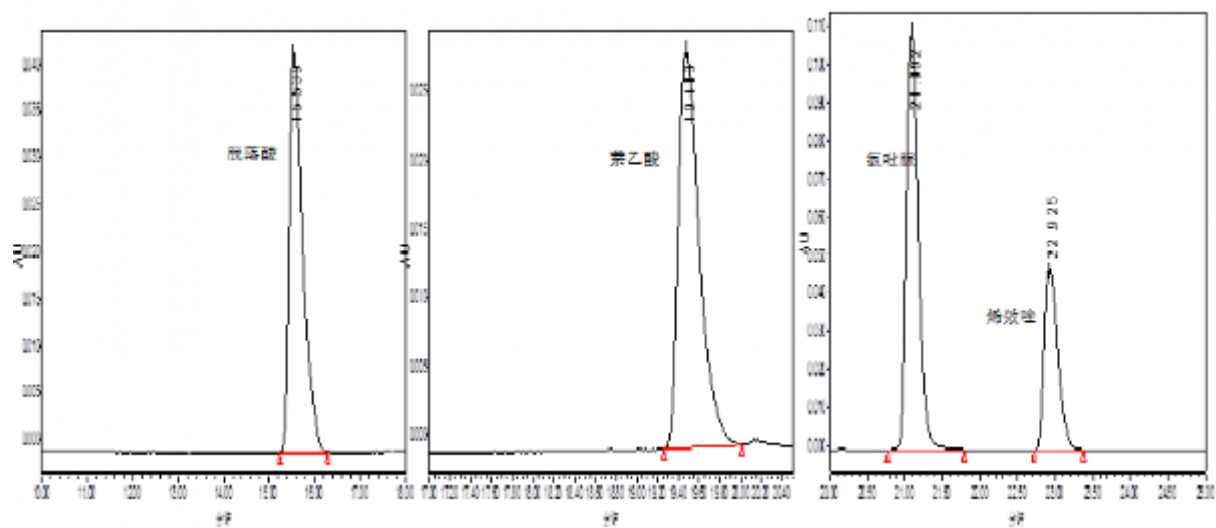


图C.1 2, 4-二氯苯氧乙酸 (2, 4-D) 标准物质液相色谱图

附 录 D

(资料性附录)

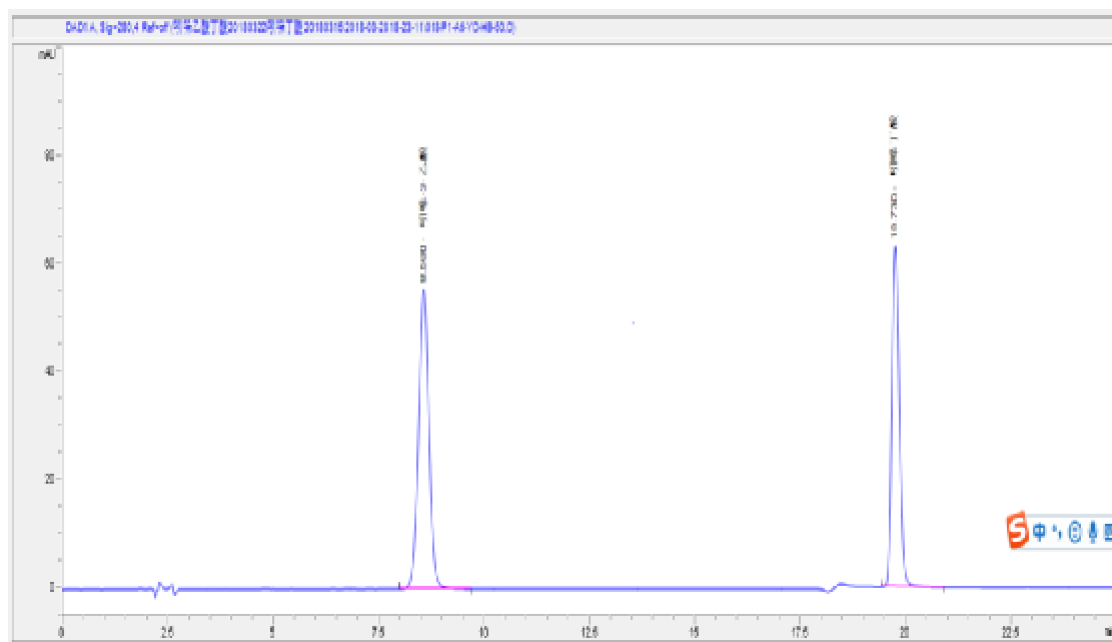
脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑标准物质高效液相色谱图



图D.1 脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑标准物质高效液相色谱图

附 录 E
(资料性附录)

吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸标准物质高效液相色谱图



图E.1 吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸标准物质高效液相色谱图