

《肥料中植物生长调节剂的测定 高效液相色谱法》

国家标准编制说明

(送审稿)

山东省产品质量检验研究院

二〇一八年七月

一、工作简况

1、任务来源

本标准是根据国家标准化管理委员会《国家标准委关于下达2016年第二批国家标准制修订计划的通知》，由山东省产品质量检验研究院、上海化工研究院、山东农大肥业科技有限公司等单位参加。项目名称为《肥料中植物生长调节剂的测定 高效液相色谱法》的国家标准，计划编号为20161323-T-606。本标准为首次制定。

2、标准制定的主要工作过程

国家标准《肥料中植物生长调节剂的测定 高效液相色谱法》制定任务下达后，山东省产品质量检验研究院、上海化工研究院、山东农大肥业科技有限公司等单位共同成立标准起草工作组，制定了工作方案，查阅了大量文献资料，进行了样品收集和实验验证工作，在此基础上编写了本标准的征求意见稿和编制说明。主要工作过程如下：

2016年3月～6月：资料调研与收集，包括国家及行业有关政策法规、国内肥料产业现状调研及现有国家标准、行业标准等，形成《肥料中植物生长调节剂的测定 高效液相色谱法》草案；

2016年7月～2017年8月：收集相关实验样品，依据实验结果优化了实验条件，及时编写了《肥料中植物生长调节剂的测定 高效液相色谱法》工作组讨论稿及编制说明；

2017年9月，召开征求意见工作会，制定修改完善、补充数据方案。

2017年9月～2018年6月：根据征求意见工作会中的意见或建议，进一步完善了实验过程及实验条件，并修改了《肥料中植物生长调节剂的测定 高效液相色谱法》，形成送审稿和标准编制说明。

3、标准制定的背景和意义

肥料是农业生产中极为重要的生产资料，是保障国家粮食安全的重要物质基础。

肥料的合理使用在农业生产过程中起到了积极的增产作用。有资料显示近50%的粮食增产是合理使用化肥的结果。我国在农业生产中忽视了对农产品质量的要求，而盲目的追求农产品的增产，从而增加了人们对肥料使用的依赖性，肥料的用量与日俱增。肥料的不合理使用对环境 and 人体健康均构成极大的威胁。据有关部门统计，我国植物生长调节剂的年产量接近2000吨，常用品种近百个，对植物生长调节剂的使用一直受到社会的普遍关注。资料表明，过量植物生长调节剂被人体吸收后，会在人体不断积累，往往会导致支端肥大、骨质疏松、恶性肿瘤等疾病，且易使儿童提前发育、过早成熟等症状。

复硝酚钠是二十世纪六十年代被发现的一种高效植物生长调节剂，它含有三种有效成分：5-硝基邻甲氧基苯酚钠、对硝基苯酚钠（4-硝基苯酚钠）和邻硝基苯酚钠（2-硝基苯酚钠），对植物具有加快生根速度，打破休眠，促进生长发育，防止落花落果，改善品质，提高产量等作用。由于复硝酚钠低廉高效，不少肥料生产商在肥料生产过程中，违禁添加少量复硝酚钠，在增强肥效的同时降低成本，但复硝酚钠使用浓度过高时会导致药害，造成植株畸形、矮化，对于肥料中复硝酚钠的添加量要严格控制，避免因使用浓度不当造成作物减产。

2, 4-二氯苯氧乙酸（2,4-D）是世界范围内使用最广泛的农药之一，高浓度的2,4-D有抑制植物生长并杀死杂草的作用，2,4-D在低浓度下可以刺激植物生长，影响新陈代谢，提高座果率，促进果实生长。但是超过适宜浓度，则会对根部发育产生明显的抑制作用。2,4-D的不合理使用同样会带来严重的农药残留危害，由于2,4-D不易降解且水溶性低，易在环境中蓄积，对土壤环境造成严重破坏，2,4-D同样会对哺乳动物造成危害。

氯吡脲是人工合成的高效植物生长调节剂，它对植物生长促进作用效果优异，萘乙酸具有促进细胞分裂与扩大，诱导形成不定根等特点，脱落酸在农业生产上常作为种子萌发的有效抑制剂，烯效唑作为植物生长延缓剂，广泛应用于果树、烟草和花卉等植物。氯吡脲、萘乙酸、脱落酸和烯效唑在农业生产中显示出了巨大潜力和经济效益，然而，这四种植物生长调节剂在肥料中隐性添加的状况，既无限量指标要求，又缺乏规范统一的检测方法标准，政府监管部门缺乏执法依据，严重影响

对肥料产品质量的监管工作。

吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸是植物内源生长素，能促进细胞分裂与细胞生长，诱导形成不定根，增加座果，防止落果等作用，但二者的生理作用都具有两重性，较低浓度促进生长，较高浓度抑制生长。一些不法商贩为了谋取利益在肥料中添加吲哚-3-乙酸或吲哚丁酸而不进行标识，农民使用了此类肥料具有使农产品减产甚至绝产的安全隐患，目前国内尚无肥料中吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸的检测标准。

农业部于2000年发布的《肥料登记管理办法》中明确规定“肥料和农药的混合物”不适用登记办法，即含有农药成分的肥料产品不予肥料登记；植物生长调节剂属于农药登记的范畴，农药登记对产品的安全性评价以及质量要求非常严格，而大多数水溶肥料生产企业规模较小，一般不进行植物生长调节剂的农药登记，而是利用“药肥”监管空白的“擦边球”，牟取高额利润，给肥料产品质量安全以及人民的财产、身体健康带来了潜在的风险。因此肥料中复硝酚钠、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑、2,4-D、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸等的含量必须严格控制，其检测方法标准的建立尤为重要，该检测方法能够及时为政府监管工作提供技术支持和依据，为行业的健康发展提供安全可靠的保障。

目前，植物生长调节剂含量的检测方法有萃取-光度法，液相色谱法、薄层色谱法、酶联免疫法，气相色谱法等，荧光比色法容易受外界因素干扰，气质联用仪器昂贵，难以广泛使用，高效液相色谱法对植物生长调节剂的分离具有速度快、灵敏度高、无需衍生化等优点。

二、标准编制原则和主要内容（如技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等）的论据

1、标准编制原则

标准编制遵循“先进性，实用性，统一性，规范性”的原则，按照GB/T 1.1-2009 标准化工作导则第1部分：标准的结构和编写规则》和GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》进行编制。

在充分查阅、研究相关标准及资料的基础上，结合本实验室的条件和实验方法

的技术特点，对高效液相色谱法检测肥料中植物生长调节剂含量的方法进行探索，在考察了方法的线性范围、精密度、准确度及应用范围的前提下，通过反复研究和分析，建立了检测肥料中复硝酚钠、2,4-D、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸含量的高效液相测定法，对本标准进行回收率和重复性实验，均符合要求。

2、复硝酚钠、2,4-D、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘和烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸的检验方法论据

本标准在制定过程中，通过查阅相关技术文献资料，确定实验前处理过程及仪器参数，按规定条件测定样品和标准溶液，根据样液中组分的含量，选定响应值最适宜的标准工作液进行色谱分析，标准工作液应至少有五个浓度水平，待测样液中组分的响应值均应在仪器检测的工作范围曲线内。

3、技术参数

采用高效液相色谱法测定肥料中植物生长调节剂的含量，需要测定的技术参数如下：

- (1) 确定实验最优实验参数，包括样品前处理、仪器条件以及溶液浓度等；
- (2) 对试剂和肥料样品进行初测，了解试剂和肥料中各组分的大概含量，以此确定称样量和样品稀释倍数；
- (3) 进行方法曲线线性、重复性、精密度、回收率、检出限等实验。确立平行测定结果允许差；
- (4) 选择若干家实验室，进行不同实验室间方法验证和比对试验，确立不同实验室间允许差。

4、解决的主要问题

根据目前肥料中违禁添加或过量添加植物生长调节剂的现状，研究肥料中违禁添加的复硝酚钠、2,4-D、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁

酸的性质，筛选、优化肥料产品中各违禁组分的前处理方法，对产品中的复硝酚钠、2,4-D、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸的进行测定，提高检测以及监管信息反馈工作效率，确定了稳定性好、准确度高、回收率高、易于操作的检测方法，为打击违法添加肥料产品工作以及肥料产品质量安全风险评估提供技术支撑。

三、主要实验（或验证）情况

1、提取方式和溶剂的选择

实验分别试验了涡旋、超声波震荡和涡旋后再超声波震荡的不同提取方式，发现涡旋后再超声提取效果最好，并且该方法的实验回收率相对稳定，因此本实验采用涡旋后再超声的方式来提取肥料中的复硝酚钠、2,4-D、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘和烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸。

2-硝基苯酚钠、4-硝基苯酚钠和5-硝基邻甲氧基苯酚钠、2,4-D、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘和烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸在甲醇等有机溶剂中溶解度较高，本实验分别采用乙腈和甲醇作为提取溶剂进行试验，结果表明，乙腈作为提取剂时，样品提取液中的杂质较多，影响色谱检测效果。用甲醇溶解，离心后的上清液清澈，并且甲醇作为提取液可以促使某些基质复杂的肥料蛋白质变性而明显减少其在提取液中的存在，减少干扰，保护色谱柱。因此实验采用甲醇作为提取溶剂，可以保证较好的提取效果。

2、复硝酚钠含量测定的主要实验（或验证）情况

本方法检测肥料中复硝酚钠的含量，用甲醇进行超声提取，以甲醇-0.1%甲酸水为流动相，在选定的工作条件下，用高效液相色谱仪二极管阵列检测器进行定性，外标法定量。方法中复硝酚钠的检出限为0.3 mg/kg。主要实验情况如下：

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 色谱柱的选择

由于硝基酚钠在大多数情况下是盐溶液，其良好的溶解性能决定了正相色谱柱

不能将其进行有效分离，而它在普通C18反相柱上洗脱过快难以保留，也无法达到分离效果。Atlantis® T3高效液相色谱柱采用三官能团C18烷基键合相，保证键合密度能提升极性化合物的保留并且100%水相流动相兼容，它不仅能够保留和分离水溶性极性小分子，是保留极性化合物的首选。本实验采用色谱柱Atlantis® T3柱（250 mm×4.6 mm,5.0 μm）作为分离柱，复硝酚钠的三种成分得到了有效分离，达到了较好的分离效果。

2.1.2 检测器的选择

由于复硝酚钠的三种有效成分在紫外可见光区都有一定的吸收波长，因此在液相检测法中可选择紫外检测器或二极管阵列检测器，本方法采用Waters 2695型二极管阵列（PDA）检测器，用一组光电二极管同时检测透过样品的所有波长紫外光，而不是某一个或几个波长，与普通的紫外-可见分光检测器不同，进入流动池的光不再是单色光。这种检测器灵敏度高，检测限低，线性范围宽，对流速和温度波动不敏感；可得任意时间、任意波长的色谱图；也可以对色谱峰纯度进行测定（峰纯度数值被用来判定某个色谱峰的纯度，数值越高，色谱峰为单峰的可能性越大，数值越低，色谱峰为重叠峰的可能性越大）。

2.1.3 检测波长的选择

按试验方法分别对复硝酚钠三种成分的混合标准溶液（50 mg/L）从190~ 490 nm进行全波段扫描，5-硝基邻甲氧基苯酚钠的最大吸收波长在242 nm，4-硝基苯酚最大吸收波长在227 nm，2-硝基苯酚最大吸收波长在274 nm，为简单操作和增加检测器的适用性，我们比较后选择三种化合物的同时检测最佳波长为254 nm，在此波长处检测时5-硝基邻甲氧基苯酚钠、4-硝基苯酚钠和2-硝基苯酚钠灵敏度都较高，基线稳定并且背景干扰少。三种植物生长调节剂的液相色谱图见图1，其中保留时间在6.2 min左右的峰归属于5-硝基邻甲氧基苯酚钠，保留时间在6.8 min左右的峰归属于4-硝基苯酚钠，保留时间在8.6 min左右的峰归属于2-硝基苯酚钠。

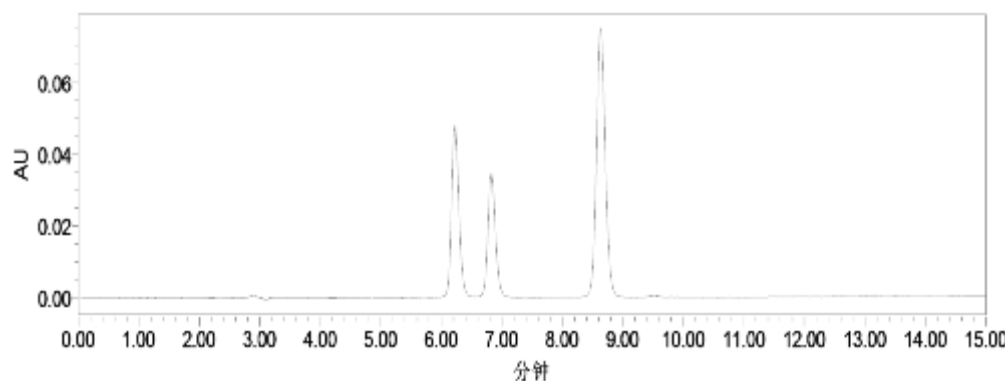


图1 三种植物生长调节剂混合标准溶液的液相色谱图

2.1.4 流动相的选择

由于复硝酚钠的三种有效成分5-硝基邻甲氧基苯酚钠、4-硝基苯酚钠和2-硝基苯酚钠结构相似，分离时难度相对较大，需要反复实验以确定最佳条件。5-硝基邻甲氧基苯酚钠、4-硝基苯酚钠和2-硝基苯酚钠都属于苯酚盐类，经酸化后都含有苯酚基团，属于强极性的物质；实验选择强极性溶剂甲醇和水作为洗脱溶剂，尝试了以下几种洗脱方式：甲醇/水体积比为70/30、甲醇/水体积比为55/45、甲醇/0.1%甲酸水体积比为55/45。

(1) 流动相中甲醇/水体积比为70/30

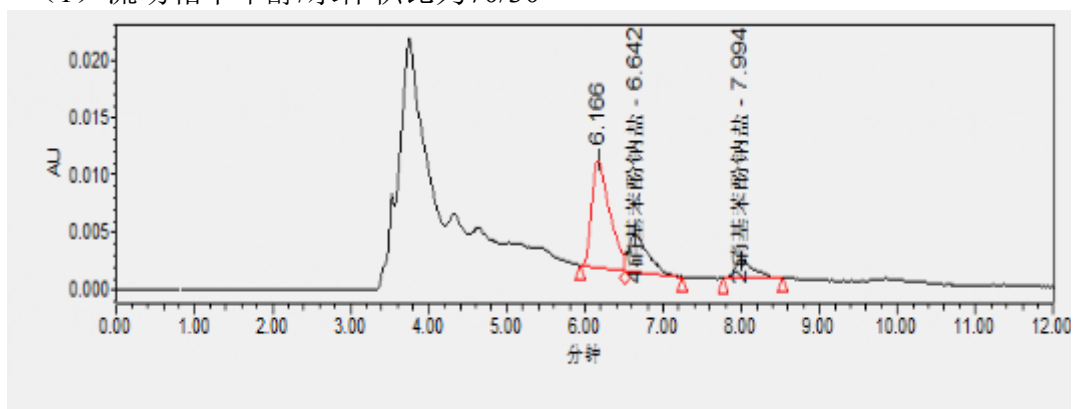


图2 甲醇/水体积比为70/30时50 mg/L混合标准溶液的液相色谱图

流动相甲醇/水体积比为70/30时，50 mg/L复硝酚钠混合标准溶液的高效液相色谱图如图2所示，此种条件下三种植物生长调节剂的峰形较差，且5-硝基邻甲氧基苯

酚钠和4-硝基苯酚钠未得到有效分离,说明甲醇/水体积比为70/30的流动相条件不足实验要求。

(2) 流动相中甲醇/水体积比为55/45

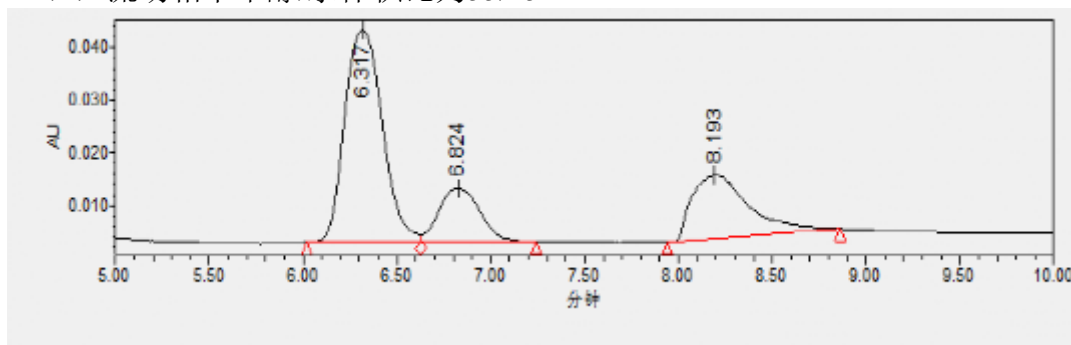


图3 甲醇/水体积比为55/45时50 mg/L混合标准溶液的液相色谱图

流动相甲醇/水体积比为55/45时, 50 mg/L复硝酚钠混合标准溶液的高效液相色谱图如图3所示,此种条件下三种植物生长调节剂得到了有效分离但峰形较差,说明甲醇/水体积比为55/45的流动相条件不满足实验要求,此种情况下可以通过调节水相的pH值来改善峰形。

(3) 流动相中甲醇/0.1%甲酸水体积比为55/45

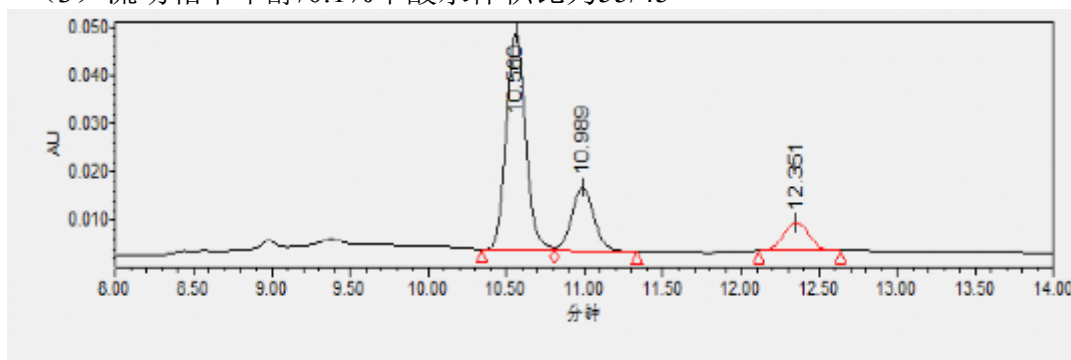


图4 甲醇/0.1%甲酸水体积比为55/45时50 mg/L混合标准溶液的液相色谱图

流动相中甲醇/0.1%甲酸水体积比为55/45时, 50 mg/L复硝酚钠混合标准溶液的高效液相色谱图如图4所示,此条件下三种植物生长调节剂得到了有效分离且峰形得到了改善,因此本方法采用甲醇/0.1%甲酸水体积比为55/45作为液相色谱洗脱条件。

2.1.5 流速的选择

考虑到进入色谱的流速不能过大又不能过小，过大容易导致柱压过大，过小则容易导致色谱峰产生拖尾，因此选择流动相流速也是至关重要的一个环节。流速考察了0.5 mL/min、0.8 mL/min、1.0 mL/min。实验结果表明，当流速为0.5 mL/min时，2-硝基苯酚钠盐和4-硝基苯酚钠盐的峰宽都较大，有明显的拖尾现象；当流速为1.0 mL/min时，各目标物的出峰时间都提前，但柱压很容易达到仪器报警限度，长期采用此流速会对色谱柱造成不可逆损害；当实验选择流动相流速为0.8 mL/min时，色谱柱柱压稳定正常，2-硝基苯酚钠、4-硝基苯酚钠和5-硝基邻甲氧基苯酚钠分离效果良好。

2.2 线性范围、检出限的确定

在本方法所确定的色谱条件下，对三种植物生长调节剂的一系列质量浓度的混合标准溶液按浓度从低到高，分段进行分析测定，分别计算各个化合物线性回归方程、相关系数。基于实际空白样品中添加复硝酚钠标准品分析结果，按3倍信噪比计算对应的浓度为方法的最低检出限为0.3 mg/kg，按10倍信噪比计算对应的浓度为方法的最低定量限为1.0 mg/kg。

（1）标准溶液浓度范围在1.0 mg/L~10.0 mg/L 的线性回归方程及相关系数

表1 浓度范围1.0 mg/L ~10.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	1.0	2.5	5.0	8.0	10.0
5-硝基邻甲氧基苯酚钠标准曲线 回归方程	Y=3.55×10 ⁴ X-3.69×10 ⁴ (r=0.9991)				
4-硝基苯酚钠标准曲线回归方程	Y=4.92×10 ³ X-7.54×10 ³ (r=0.9992)				
2硝基苯酚钠标准曲线回归方程	Y=6.66×10 ⁴ X-4.21×10 ⁴ (r=0.9994)				

(2) 标准溶液浓度范围在10.0 mg/L~50.0 mg/L 的线性回归方程及相关系数

表2 浓度范围10.0 mg/L ~50.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	10.0	20.0	30.0	40.0	50.0
5-硝基邻甲氧基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=3.54 \times 10^4 X - 3.32 \times 10^4$ ($r=0.9994$)				
4-硝基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=4.91 \times 10^3 X - 7.15 \times 10^3$ ($r=0.9997$)				
2硝基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=6.69 \times 10^4 X - 4.38 \times 10^4$ ($r=0.9994$)				

(3) 标准溶液浓度范围在50.0 mg/L~100.0 mg/L的线性回归方程及相关系数

表3 浓度范围50.0 mg/L ~100.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	50.0	65.0	80.0	90.0	100.0
5-硝基邻甲氧基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=3.53 \times 10^4 X - 2.95 \times 10^4$ ($r=0.9993$)				
4-硝基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=4.89 \times 10^3 X - 6.99 \times 10^3$ ($r=0.9997$)				
2硝基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=6.71 \times 10^4 X - 4.59 \times 10^4$ ($r=0.9994$)				

(4) 标准溶液浓度范围在100.0 mg/L~200.0 mg/L的线性回归方程及相关系数

表4 浓度范围100.0 mg/L ~200.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	100.0	125.0	150.0	175.0	200.0
5-硝基邻甲氧基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=2.87 \times 10^4 X - 3.14 \times 10^4$ ($r=0.9974$)				

4-硝基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=3.12 \times 10^3 X - 3.56 \times 10^3$ ($r=0.9932$)
2硝基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=7.78 \times 10^4 X - 6.52 \times 10^4$ ($r=0.9965$)

在本方法所确定的色谱条件下,标准溶液在1.0 mg/L~100.0 mg/L范围内建立的线性方程如表1、表2、表3所示,相关系数大于0.999,定量准确;标准溶液浓度范围在100 mg/L~200 mg/L范围内建立的线性方程如表4所示,相关系数小于0.999,该段的线性曲线相对于1.0 mg/L~100.0 mg/L范围内的曲线发生偏移,定量不准确,因此,本方法最终确定标准曲线的线性范围在1.0 mg/L~100.0 mg/L之间。对5-硝基邻甲氧基苯酚钠、4-硝基苯酚钠和2-硝基苯酚钠在1.0 mg/L~100.0 mg/L一系列浓度的混合标准溶液按浓度从低到高进样分析测定,其线性范围、线性回归方程、相关系数见表5。

表5 浓度范围1.0 mg/L ~100.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	1.0	10.0	20.0	50.0	100.0
5-硝基邻甲氧基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=3.52 \times 10^4 X - 3.28 \times 10^4$ ($r=0.9995$)				
4-硝基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=4.94 \times 10^3 X - 6.82 \times 10^3$ ($r=0.9994$)				
2硝基苯酚钠标准曲线回归方程	$Y=6.70 \times 10^4 X - 4.02 \times 10^4$ ($r=0.9996$)				

2.3 回收率实验

选取6个实际肥料样品,每个样品平行测定两次,取两次测定结果的平均值作为空白值,在样品中加入复硝酚钠的标准溶液,使各个标准物质的加标浓度为50 mg/L,实验结果扣除空白值,剔除离群值后将6次测定结果分别加标回收率(P_i),计算结果如表6所示。实验结果表明,三种化合物的加标回收率都在90%~110%之间,满足实验要求。

表6 实际样品的加标回收率实验

化合物	P ₁ /%	P ₂ /%	P ₃ /%	P ₄ /%	P ₅ /%	P ₆ /%
2-硝基苯酚钠	90.05	90.56	91.44	92.67	91.32	94.36
4-硝基苯酚钠	105.28	103.23	101.32	104.72	103.21	102.83
5-硝基邻甲氧基苯酚钠	95.34	96.32	91.22	97.39	93.58	94.83

2.4 精密度实验

选取浓度为25 mg/L和50 mg/L的混合标准溶液按实验方法对2-硝基苯酚钠、4-硝基苯酚钠和5-硝基邻甲氧基苯酚钠混合标溶液平行测定6次，测得相对标准偏差如表7所示。实验计算测得3种化合物的相对标准偏差均小于2.5%，说明该方法的重复性较好，满足实验要求。

表7 方法的相对标准偏差RSD

化合物	理论值	实测值	RSD	化合物	理论值	实测值	RSD
2-硝基苯酚钠	25 mg/L	24.45	2.33%	2-硝基苯酚钠	50 mg/L	50.98	1.68%
		25.03				51.32	
		24.96				49.84	
		25.35				49.52	
		25.78				49.19	
		24.18				50.52	
4-硝基苯酚钠	25 mg/L	26.13	1.06%	4-硝基苯酚钠	50 mg/L	51.39	1.58%
		25.94				52.03	
		25.54				51.35	

		25.49				51.99	
		25.51				52.91	
		25.91				50.49	
5-硝基邻甲 氧基苯酚 钠	25 mg/L	24.98	2.05%	5-硝基邻 甲氧基苯 酚钠	50 mg/L	49.31	1.22%
		24.99				49.91	
		24.71				50.10	
		25.90				50.52	
		25.93				50.92	
		25.09				49.49	

F4	0.015	0.024	0.018	0.015	0.023	0.018	0.014	0.023	0.022
F5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
F6	0.034	0.082	0.061	0.033	0.080	0.060	0.033	0.080	0.059

2.6 实验室间比对实验

选取了两个肥料样品按实验方法和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进行对比验证试验，所得数据如表9所示。从测定数据看，三个检测单位复硝酚钠含量检测数据基本一致，未超出实验室间的允许误差，满足实验要求。

表9 不同实验室复硝酚钠含量测定数据表

实验室	样品7#复硝酚钠含量（%）	样品8#复硝酚钠含量（%）
山东省质检院	0.14	0.061
云南省化工产品质量监督检验站	0.14	0.057
四川国光农化股份有限公司	0.15	0.064

3、2,4-D含量测定的主要实验（或验证）情况

3.1 色谱条件的选择

3.1.1 色谱柱的选择

2,4-二氯苯氧乙酸分子量小于2000，且属于脂溶性，易溶于甲醇，可以选用反相色谱柱，且反相色谱柱可以对非极性、弱极性、中等极性以及部分强极性化合物进行分离，是应用最广的色谱柱。RP18(4.6mm×250mm, 5.0μm)是一种与C18(4.6mm×250mm, 5.0μm)性质相似的反相色谱柱，可以用于2,4-二氯苯氧乙酸的检测。

3.1.2 检测器的选择

2，4-二氯苯氧乙酸中含有一个苯环结构，苯环在紫外中有明显吸收，适合使用

紫外-可见光检测器。而二极管阵列检测器（PDA）是用一组光电二极管同时检测透过样品的所有波长紫外光，不是某一个或几个波长，和普通的紫外-可见分光检测器不同的是进入流动池的光不再是单色光。因此其具有灵敏度高、噪音低、线性范围宽、对流速和温度的波动不灵敏，适用于梯度洗脱及制备色谱；可得任意波长的色谱图，极为方便；可得任意时间的光谱图，相当于与紫外联用；色谱峰纯度鉴定、光谱图检索等功能，可提供组分的定性信息等优点。综上所述，在本次研究中采用二极管阵列检测器对其进行检测。

3.1.3 检测波长选择

使用二极管阵列检测器通过对光谱图的分析确定检测器波长，2,4-二氯苯氧乙酸在230nm有强吸收峰，在283nm有较强吸收峰。但在230nm波长处干扰较重，故选择波长为283nm，在该波长下进行测定，既保证了灵敏度的要求，又无干扰。

3.1.4 流动相比例的确定

流动相的比例不同，会对物质的出峰时间、峰型和峰面积等产生影响，在试验中，以乙腈和10 mmol/L 醋酸铵水溶液为流动相，结果发现，随着流动相中乙腈含量的增加，2,4-二氯苯氧乙酸的保留时间会稍有增大，响应值也会随之增大。但在试验中发现，如图5：V(乙腈)：V(10 mmol/L醋酸铵水溶液)=65：35时，虽然响应值高，但难与溶剂峰分离，如图6；V(乙腈)：V(10 mmol/L醋酸铵水溶液)=55：45时，响应值低，干扰较严重，如图7；V(乙腈)：V(10 mmol/L醋酸铵水溶液)=60：40时，效应值较高，分离效果相对较好。通过实验最终确定流动相中V(乙腈)：V(10 mmol/L醋酸铵水溶液)=60：40。

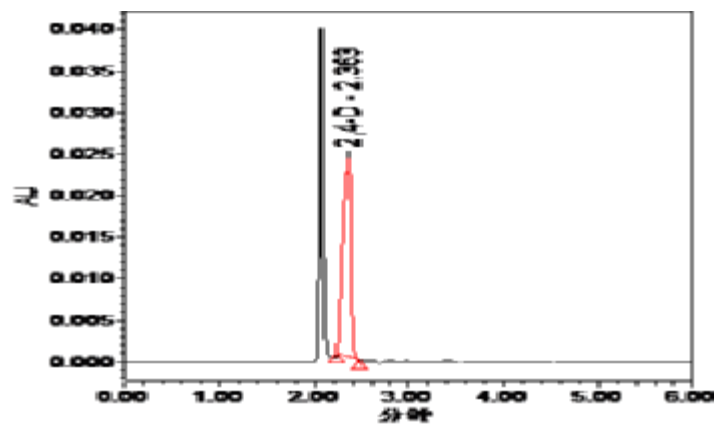


图5 V(乙腈):V(10mM 醋酸铵水溶液)=65: 35时2, 4-二氯苯氧乙酸色谱图

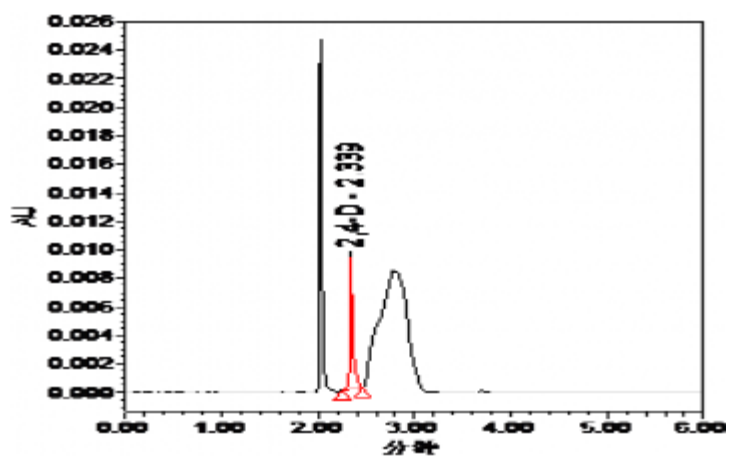


图6 V(乙腈):V(10mM 醋酸铵水溶液)=55: 45时2, 4-二氯苯氧乙酸色谱图

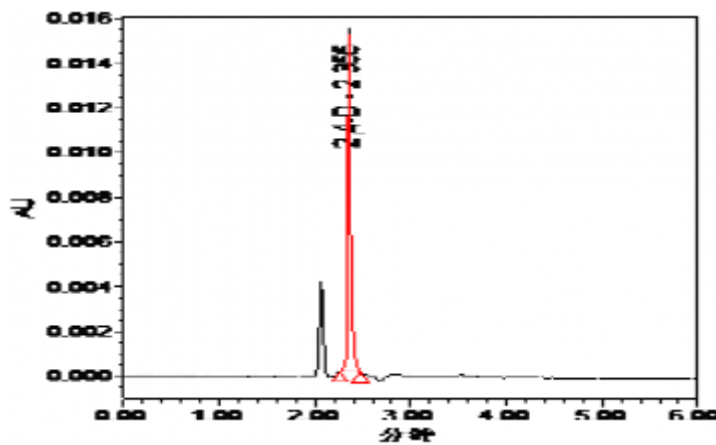


图7 V(乙腈):V(10mM 醋酸铵水溶液)=60: 40时2, 4-二氯苯氧乙酸色谱图

3.1.5 流速的确定

流速的大小对峰型及保留时间等都会产生影响，本实验中在0.8~1.0 mL/min范围内变量实验，流量≥1.0 mL/min两目标物在低浓度情况下无法分离完全，如图8；在流速为0.8 mL/min时，保留时间稍长，但分离比较完全，且峰型尖锐、响应值较高，如图9。因此确定流速为0.8 mL /min。

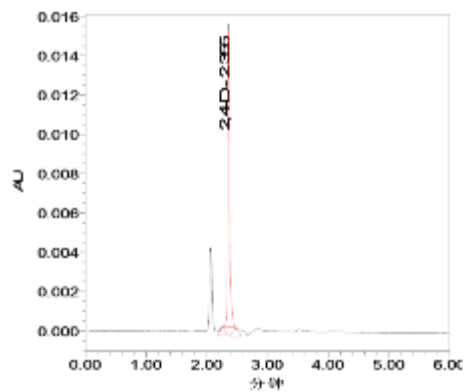


图8 流速为1.0 mL/min时色谱图

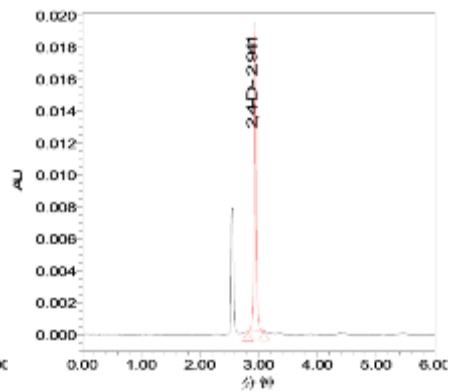


图9流速为0.8 mL/min时色谱图

3.2 线性范围、检出限

配制2,4-二氯苯氧乙酸丁酯浓度为1 mg/L、20 mg/L、40 mg/L、60 mg/L、80 mg/L、100 mg/L的标准品溶液，测定其峰面积，如表10。以浓度（mg/L）为横坐标x，以峰面积为纵坐标y，测得2,4-二氯苯氧乙酸丁酯浓度在1 mg/L~100 mg/L范围，线性方程为 $y = 4073.6x + 829.4$ ，线性相关系数 $R^2 = 0.9994$ ，以信噪比为3（S/N=3）计算，叶面肥料中2,4-二氯苯氧乙酸的最低检出限为0.5 mg/kg，以信噪比为10（S/N=10）计算最低定量限为1.0 mg/kg。

表 10 峰面积随浓度的变化

浓度（mg/L）	1.0	20.0	40.0	60.0	80.0	100.0
峰面积	4903	78352	165218	249099	330552	403023

3.3 回收率实验

称取叶面肥料试样，进行高中低三个添加浓度的加标回收实验，考察方法的准确度。经提取、纯化后的溶液取1 mL提取液进行检测。重复测定6次。回收率在80.8%-116.4%范围内。

3.4 精密度实验

精密称取批样品1份，按该方法进行样品前处理，采用同样的色谱条件，同一样品连续进样六次，对检测方法的精密性进行鉴定，试验结果见表11。从表中可以看出，检测得到的平均浓度为22.68 mg/L，RSD值为0.43%，说明检测方法的精密性良好。

表11 2,4-二氯苯氧乙酸液相色谱检测方法精密性试验

序号	峰面积	浓度（mg/L）	RSD(%, n=6)
1	93702	22.80	0.42
2	94251	22.93	
3	94045	22.88	
4	90515	22.02	
5	91650	22.29	
6	95068	23.13	

3.5 方法的重复性

精密称取同一批样品6份，按该方法进行样品前处理，采用同样的色谱条件，对

六份样品连续进样，检测方法的重复性进行鉴定，试验结果见表12。从表中可以看出，检测得到的平均浓度为49.61 mg/L，RSD值为1.13%，说明检测方法的重复性良好。

表12 2,4-二氯苯氧乙酸液相色谱检测方法重现性试验

序号	峰面积	浓度（mg/L）	RSD（%，n=6）
1	194181	47.46	1.13
2	201699	49.31	
3	204097	49.90	
4	205236	50.18	
5	206202	50.42	
6	206137	50.40	

3.6 稳定性实验

稳定性实验能够反映在规定的贮存条件下一定时间内实验结果的一致性。分别选取室温条件下样品处理完毕、样品放置3天、样品放置7天三个时间段来进行测定，实验数据见表13。根据表13中的数据可得，实验样品在预处理后、放置3天后、放置7天后所测得的含量在允许的误差范围内。样品在七天内的稳定性仍然符合实验测定要求。

表13 2,4-D样品稳定性实验

样品号	预处理后的含量/ (%)	放置3天后的含量/ (%)	放置7天后的含量/ (%)
D1	0.015	0.014	0.014
D2	ND	ND	ND
D3	0.022	0.020	0.019
D4	0.072	0.071	0.069
D5	ND	ND	ND
D6	ND	ND	ND

3.7 实验室间比对实验

选取了两个肥料样品按实验方法和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进行对比验证试验，所得数据如表14所示。从测定数据看，三个检测单位2,4-D含量检测数据基本一致，未超出实验室间的允许误差，满足实验要求。

表14 不同实验室2,4-D含量测定数据表

实验室	样品1# 2,4-D含量 (%)	样品2# 2,4-D含量 (%)
山东省质检院	0.028	0.050
云南省化工产品质量监督检验站	0.030	0.054
四川国光农化股份有限公司	0.025	0.0052

3.8 总结

通过上述几种样品前处理方法的比较，仪器条件的进一步优化，最终确定：采用高效液相色谱法测定叶面肥料中2,4-二氯苯氧乙酸的含量，使用甲醇进行肥料样品提取，检出限为0.5mg/kg，测定范围宽，色谱分离效果好，杂质离子干扰小。样

品测定、回收率及验证试验表明，方法具有良好的重复性和再现性，定量准确。相对于气相色谱法，液相色谱法更准确，重现性更好，故液相色谱法可以用于叶面肥料中2,4-二氯苯氧乙酸的测定。

4、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑含量测定的主要实验（或验证）情况

试样中脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑用甲醇进行超声提取，以甲醇-0.1%甲酸水为流动相，在选定的工作条件下，用高效液相色谱仪进行测定，保留时间定性，外标法定量。主要实验情况如下：

4.1 色谱条件的选择

4.1.1 色谱柱的选择

本实验选用色谱柱为Symmetry Shield™ RP18柱(250 mm×4.6 mm, 5.0 μm)或分离性能相当者。RP18(250 mm×4.6 mm, 5.0 μm)是一种与C18(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm)性质相似的反相色谱柱。Symmetry®色谱柱的最主要优势是重现性好，此系列色谱柱使用高纯度原料，经过严密控制的填料生产流程和色谱柱装填技术，得到了市场上重现性最好的高效液相色谱柱。同时有Symmetry 卡套柱和保护柱供选择。脱落酸、萘乙酸、氯吡脘和烯效唑经该色谱柱能够完成分离。

4.1.2 检测器的选择

通过搜集文献及实验验证确定，氯吡脘、萘乙酸、脱落酸、烯效唑在200 nm～400 nm范围内都有一定的紫外吸收，因此选用二极管阵列（PDA）检测器，与普通的紫外-可见分光检测器不同，进入流动池的光不再是单色光，这种检测器灵敏度高，检测限低，线性范围宽，对流速和温度波动不敏感；可得任意时间、任意波长的色谱图；也可以对色谱峰纯度进行测定。

4.1.3 检测波长的选择

按实验方法分别对四种待测组分标准溶液（50 mg/L）从190~490 nm进行全波段

扫描，氯吡脲最大吸收波长在262 nm，烯效唑最大吸收波长在254 nm，萘乙酸最大吸收波长在280 nm，脱落酸最大吸收波长在 254 nm。为简单操作及增加检测器的适用性，我们比较后选择氯吡脲、烯效唑和脱落酸的最佳同时检测波长为258 nm，萘乙酸最佳检测波长为280 nm。

4.1.4 流动相的选择

4种植物生长调节剂的醇溶性较好，在RP18色谱柱上保留行为合适，选择Waters公司粒径5 μm 的Symmetryshield RP18柱（250 mm $\times$ 4.6 mm）为色谱分离柱，色谱分离采用梯度洗脱程序，比较了甲醇-水、甲醇-10 mmol/L 醋酸铵溶液、甲醇-0.1%甲酸水溶液这三种流动相体系对四种植物生长调节剂色谱峰分离结果的影响。

（1）以甲醇-10 mmol/L 醋酸铵溶液为流动相

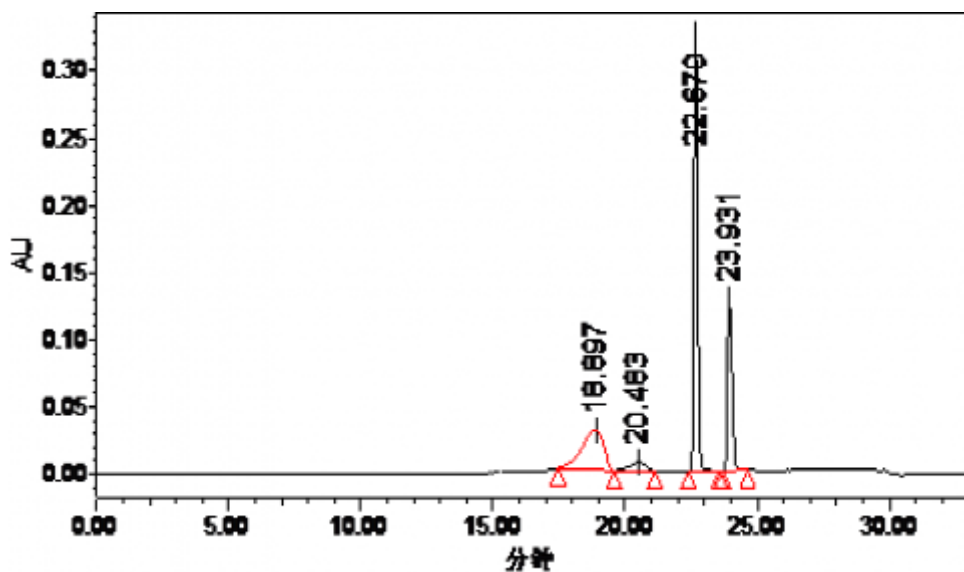


图10 以甲醇-10 mmol/L 醋酸铵溶液为流动相时的液相色谱图

以甲醇-10 mmol/L 醋酸铵溶液为流动相时（图10），在258 nm波长下，氯吡脲（ $t_R=22.670$ min）和烯效唑（ $t_R=22.885$ min）峰形尖锐且分离较好，但脱落酸（ $t_R=18.897$ min）和萘乙酸（ $t_R=20.483$ min）峰形较差，分离度不满足实验要求。

（2）以甲醇-水为流动相

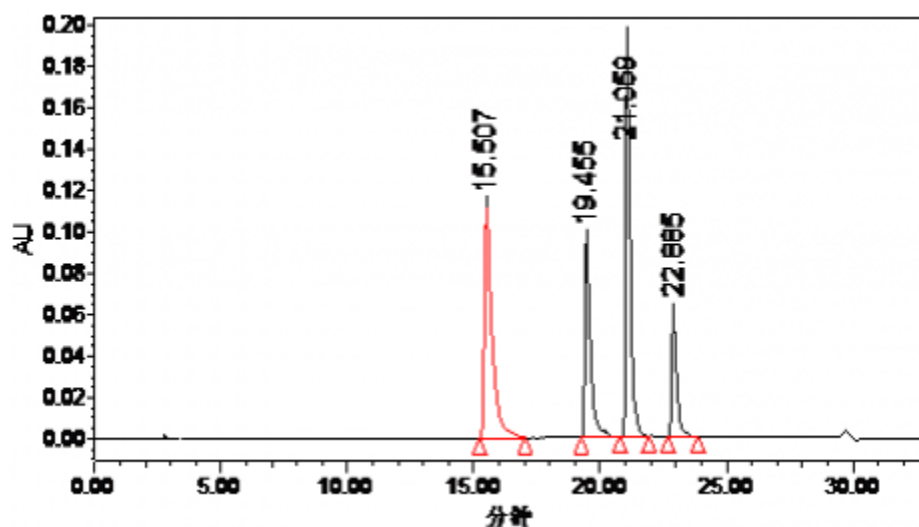


图11 以甲醇-水为流动相时的液相色谱图

以甲醇-水为流动相时（图11），四种植物生长调节剂基本可以实现分离，但四个峰都有不同程度的拖尾现象（在258 nm波长下，脱落酸 $t_R=15.507$ min，萘乙酸 $t_R=19.455$ min，氯吡脲 $t_R=21.059$ min，烯效唑 $t_R=22.885$ min），此种条件下测定，若样品中存在干扰成分，极易影响四种植物生长调节剂的定性或定量准确度，因此不采用甲醇-水作为流动相。此种情况下可以通过调节水相的pH值来改善峰形。

（3）以甲醇-0.1%甲酸水溶液为流动相

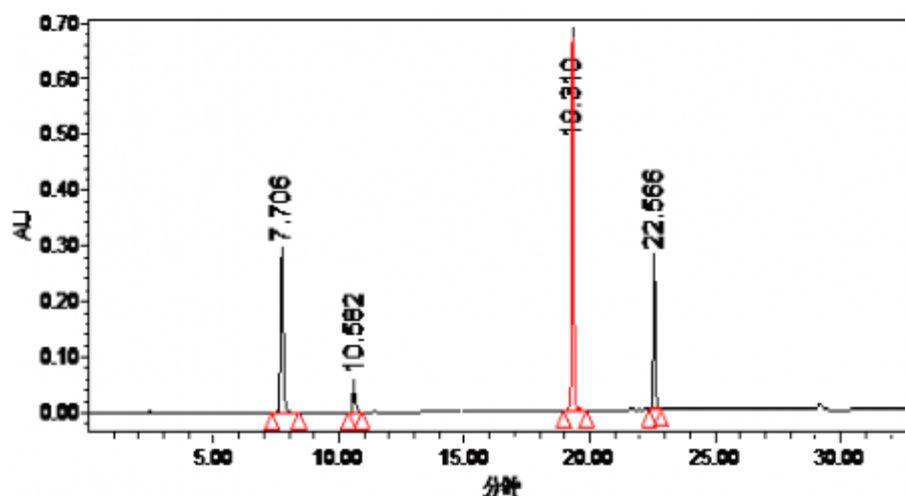


图12 以甲醇-0.1%甲酸水体系为流动相的液相色谱图

在RP18键合固定相上分离试样中的四种植物生长调节剂，选择甲醇-0.1%甲酸水体系为流动相（图12），在258 nm波长下，脱落酸tR=7.706 min，萘乙酸tR=10.582 min，氯吡脲tR=19.310 min，烯效唑tR=22.566 min，四种植物生长调节剂可以实现有效分离，各个化合物保留时间适中，峰形尖锐，实验结果满足实验要求，因此流动相选择甲醇和0.1%甲酸水。

4.2 线性范围、检出限的确定

在本方法所确定的色谱条件下，对氯吡脲、烯效唑、萘乙酸及脱落酸四种植物生长调节剂在1.0 mg/L~400.0 mg/L一系列质量浓度的混合标液按浓度从低到高，分段进行分析测定，分别计算四种植物生长调节剂线性回归方程、相关系数。

（1）4种生长调节剂浓度范围在1.0 mg/L~10.0 mg/L 的线性回归方程及相关系数

表15 浓度范围1.0 mg/L ~10.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	1.0	2.0	5.0	8.0	10.0
氯吡脲标准曲线回归方程	$Y=6.92\times10^4X-5.62\times10^4$ (r=0.9985)				
烯效唑标准曲线回归方程	$Y=5.27\times10^4X-2.42\times10^4$ (r=0.9932)				
脱落酸标准曲线回归方程	$Y=2.15\times10^4X-1.69\times10^4$ (r=0.9974)				
萘乙酸标准曲线回归方程	$Y=4.59\times10^4X-3.59\times10^4$ (r=0.9935)				

（2）4种生长调节剂浓度范围在10.0 mg/L~50.0 mg/L 的线性回归方程及相关系数

表16 浓度范围10.0 mg/L ~50.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	10.0	20.0	30.0	40.0	50.0
氯吡脞标准曲线回归方程	$Y=6.41 \times 10^4 X - 4.12 \times 10^4$ ($r=0.9995$)				
烯效唑标准曲线回归方程	$Y=5.95 \times 10^4 X - 2.86 \times 10^4$ ($r=0.9994$)				
脱落酸标准曲线回归方程	$Y=2.95 \times 10^4 X - 2.53 \times 10^4$ ($r=0.9994$)				
萘乙酸标准曲线回归方程	$Y=4.98 \times 10^4 X - 4.48 \times 10^4$ ($r=0.9996$)				

(3) 4种生长调节剂浓度范围在50.0 mg/L~200.0 mg/L 的线性回归方程及相关系数

表17 浓度范围50.0 mg/L ~200.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	50.0	80.0	100.0	150.0	200.0
氯吡脞标准曲线回归方程	$Y=6.38 \times 10^4 X - 4.05 \times 10^4$ ($r=0.9993$)				
烯效唑标准曲线回归方程	$Y=6.01 \times 10^4 X - 2.92 \times 10^4$ ($r=0.9994$)				
脱落酸标准曲线回归方程	$Y=3.07 \times 10^4 X - 2.98 \times 10^4$ ($r=0.9996$)				
萘乙酸标准曲线回归方程	$Y=5.05 \times 10^4 X - 4.96 \times 10^4$ ($r=0.9996$)				

(4) 4种生长调节剂浓度范围在200.0 mg/L~400.0 mg/L 的线性回归方程及相关系数

表18 浓度范围200.0 mg/L ~400.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	200.0	250.0	300.0	350.0	400.0
氯吡脞标准曲线回归方程	$Y=4.35 \times 10^4 X - 1.45 \times 10^4$ ($r=0.9962$)				
烯效唑标准曲线回归方程	$Y=7.01 \times 10^4 X - 4.56 \times 10^4$ ($r=0.9945$)				
脱落酸标准曲线回归方程	$Y=4.82 \times 10^4 X - 4.57 \times 10^4$ ($r=0.9941$)				
萘乙酸标准曲线回归方程	$Y=7.92 \times 10^4 X - 8.44 \times 10^4$ ($r=0.9938$)				

(5) 四种植物生长调节剂线性范围的确定

在本方法确定的实验条件下,4种生长调节剂浓度范围在1.0 mg/L~10.0 mg/L 建立的线性回归方程,相关系数小于0.999(表15),定量准确度低;4种生长调节剂浓度范围在200.0 mg/L~400.0 mg/L建立的线性回归方程,相关系数小于0.999(表18),定量准确度低;4种生长调节剂浓度范围在10.0 mg/L~50.0 mg/L、50.0 mg/L~200.0 mg/L建立的线性回归方程,相关系数大于0.999,定量准确度较高(表16、表17)。因此本方法确定在10.0 mg/L~200.0 mg/L浓度范围内,由低浓度到高浓度测定,建立4种生长调节剂的线性回归方程,实验结果显示,在10.0 mg/L~200.0 mg/L范围内,4种生长调节剂的线性相关系数都大于0.999(见表19),定量准确度较高。

表19 4种生长调节剂的线性范围、线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	10.0	20.0	50.0	80.0	100.0	200.0
氯吡脞标准曲线回归方程	$Y=6.39 \times 10^4 X - 3.75 \times 10^4$ ($r=0.9997$)					
烯效唑标准曲线回归方程	$Y=5.98 \times 10^4 X - 3.42 \times 10^4$ ($r=0.9996$)					

脱落酸标准曲线回归方程	$Y=3.16 \times 10^4 X - 2.84 \times 10^4$ ($r=0.9997$)
萘乙酸标准曲线回归方程	$Y=5.49 \times 10^4 X - 4.18 \times 10^4$ ($r=0.9998$)

基于实际空白样品中添加氯吡脞、烯效唑、脱落酸和萘乙酸混合标准溶液分析结果，按3倍信噪比计算，氯吡脞、烯效唑、脱落酸和萘乙酸对应的浓度为方法的最低检出限为0.3mg/kg，按10倍信噪比计算对应的浓度为方法的最低定量限为1.0mg/kg。

4.3 回收率实验

选取实际肥料样品，每个样品平行测定两次，取两次测定结果的平均值作为空白值，在样品中加入的标准溶液，使待测物的加标浓度为20 mg/L，实验结果扣除空白值，剔除离群值后将测定结果分别计算平均值和加标回收率，由表20所示的回收率结果可知，在该方法条件下测得的肥料样品中植物生长调节剂的加标回收率在85%~106%之间，表明方法的准确度较高。

表20 实际样品的加标回收率实验

化合物	样品1回收率 (%)	样品2回收率 (%)	样品3回收率 (%)	样品4回收率 (%)	样品5回收率 (%)	样品6回收率 (%)
脱落酸	90.56	91.32	93.28	89.32	94.21	93.25
萘乙酸	98.31	91.15	93.36	91.27	100.90	102.45
氯吡脞	89.70	91.78	98.29	96.45	89.19	96.54
烯效唑	105.09	92.56	98.16	90.31	93.15	90.16

4.4 精密度实验

对标准溶液进行精密度实验，标准溶液的浓度分别为20 mg/L和50 mg/L，重复进样六次，计算精密度，结果见表21。实验结果表明相对标准偏差在1.00%~2.20%

之间（表21），说明本方法具有良好的重复性和再现性，可满足检测要求。

表21 肥料中4种化合物的回收率和精密度结果（n=6）

化合物	标液浓度/ mg/L	标液实测值/ mg/L	相对标准偏 差/%
脱落酸	20	19.95,19.41,20.15,19.56,20.45,20.14	1.97
	50	50.24,49.32,50.56,49.89,51.77,50.47	1.63
萘乙酸	20	18.98,19.48,19.55,19.14,20.05,19.63	1.95
	50	49.84,48.64,47.63,48.12,49.05,48.33	1.59
氯吡脞	20	19.14,19.44,18.52,18.44,18.96,18.58	2.11
	50	50.16,50.49,48.55,49.64,49.74,50.22	1.38
烯效唑	20	19.63,19.82,19.92,20.14,20.59,19.96	1.65
	50	50.41,51.26,50.12,50.34,49.26,49.86	1.32

4.5 稳定性实验

分别选取室温条件下样品处理完毕、样品放置3天、样品放置7天三个时间段来进行测定，实验数据见表22、表23、表24、表25。根据表中的数据可得，实验样品在预处理后、放置3天后、放置7天后所测得的含量在允许的误差范围内，样品在七天内的稳定性仍然符合实验测定要求。

表22 脱落酸样品稳定性实验

样品号	预处理后的含量/ (%)	放置3天后的含量/ (%)	放置7天后的含量/ (%)
T1	ND	ND	ND
T2	0.022	0.021	0.021
T3	0.011	0.011	0.010

T4	ND	ND	ND
T5	0.13	0.13	0.12
T6	ND	ND	ND

表23 萘乙酸样品稳定性实验

样品号	预处理后的含量/ (%)	放置3天后的含量/ (%)	放置7天后的含量/ (%)
N1	ND	ND	ND
N2	0.23	0.23	0.22
N3	ND	ND	ND
N4	ND	ND	ND
N5	0.054	0.053	0.052
N6	ND	ND	ND

表24 氯吡脞样品稳定性实验

样品号	预处理后的含量/ (%)	放置3天后的含量/ (%)	放置7天后的含量/ (%)
D1	0.063	0.062	0.062
D2	ND	ND	ND
D3	0.047	0.047	0.047
D4	ND	ND	ND
D5	ND	ND	ND
D6	0.035	0.035	0.035

表25 烯效唑样品稳定性实验

样品号	预处理后的含量/ (%)	放置3天后的含量/ (%)	放置7天后的含量/ (%)
X1	0.12	0.12	0.12
X2	ND	ND	ND
X3	0.15	0.15	0.15
X4	ND	ND	ND
X5	ND	ND	ND
X6	0.21	0.21	0.20

4.6 实验室间比对实验

选取了两个肥料样品按实验方法和四川国光农化股份有限公司、云南省化工产品质量监督检验站进行对比验证试验，所得数据如表26所示，从测定数据看，三个检测单位检测数据基本一致，未超出实验室间的允许误差，满足实验要求。

表26 不同实验室肥料中植物生长调节剂含量测定数据表

样品编号	化合物	质检院实验室测定值 (%)	四川国光农化股份有限公司测定值 (%)	云南省化工产品质量监督检验站测定值 (%)
样品3#	萘乙酸	0.032	0.034	0.033
	氯吡脲	0.038	0.040	未检测
样品4#	萘乙酸	0.098	未检测	0.091
	氯吡脲	0.081	0.084	0.078

5、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸含量测定的主要实验（或验证）情况

5.1 色谱条件的选择

5.1.1 色谱柱的选择

吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸属于强极性化合物，故本实验选用色谱柱ZORBAX SB-C18柱(250 mm×4.6 mm, 5.0 μm)或分离性能相当者，ZORBAX SB-C18柱是一种反相色谱柱，吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸利用该色谱柱分离度良好，满足检测要求。

5.1.2 检测器的选择

通过搜集文献及实验验证确定，吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸在200 nm~400 nm范围内都有一定的紫外吸收，因此选用二极管阵列（PDA）检测器。二极管阵列检测器这种检测器灵敏度高，检出限低，对流速和温度波动不敏感；可得任意时间、任意波长的色谱图。

5.1.3 检测波长的选择

按实验方法分别对两种待测组分标准溶液（50 mg/L）从190~490 nm进行全波段扫描，我们比较后选择吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸最佳同时检测波长为280 nm。在280 nm处吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸都有很强的吸收峰且干扰较少。

5.1.4 流动相的选择

再参考文献的基础上，实验考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%甲酸水，甲醇-2.0%乙酸水四种体系的溶液体系作为流动相。实验结果显示，利用甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%甲酸水三种溶剂体系得到的谱图中，吲哚-3-乙酸和吲哚丁酸的吸收峰有严重的峰拖尾现象；甲醇-2.0%乙酸水溶液体系的洗脱效果最好，吲哚-3-乙酸和吲哚丁酸分离度良好且峰形尖锐（见图13），满足实验要求，最优色谱洗脱条件见表27。

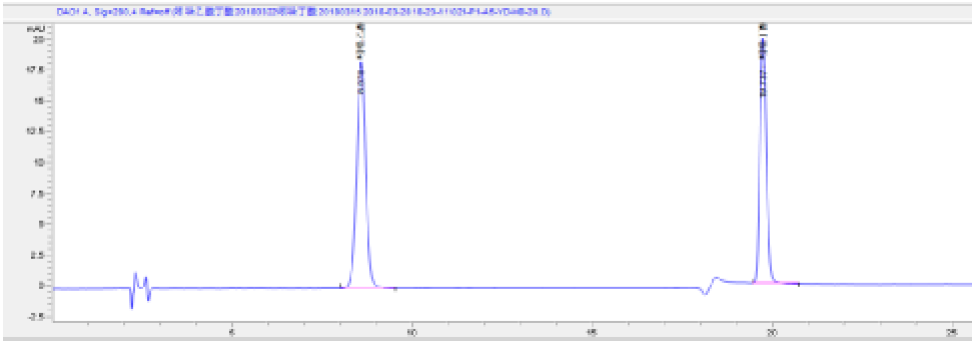


图13 吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸标准溶液（20µg/mL）液相色谱图

表27 吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸高效液相色谱条件

时间/min	流动相甲醇含量/%	流动相2.0%乙酸水含量/%
0	40	60
15.0	40	60
15.1	55	45
30.0	55	45
30.1	40	60
33.0	40	60

5.2 线性范围、检出限的确定

在本方法所确定的色谱条件下，对吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸在1.0 mg/L~400.0 mg/L一系列质量浓度的混合标液按浓度从低到高，分段进行分析测定，分别计算吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸线性回归方程、相关系数。

（1）吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸在 1.0 mg/L~10.0 mg/L 的线性回归方程及相关系数

表28 浓度范围1.0 mg/L ~10.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	1.0	2.0	5.0	8.0	10.0
--------------	-----	-----	-----	-----	------

吡啶-3-乙酸标准曲线回归方程	$Y=18.44960X-9.15124$ ($r=0.9996$)
吡啶丁酸标准曲线回归方程	$Y=15.66147X-6.99748$ ($r=0.9994$)

(2) 吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸浓度范围在 10.0 mg/L~50.0 mg/L 的线性回归方程及相关系数

表29浓度范围10.0 mg/L ~50.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	10.0	20.0	30.0	40.0	50.0
吡啶-3-乙酸标准曲线回归方程	$Y=18.15148X-8.99458$ ($r=0.9995$)				
吡啶丁酸标准曲线回归方程	$Y=15.61964X-5.59655$ ($r=0.9997$)				

(3) 吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸浓度范围在 50.0 mg/L~200.0 mg/L 的线性回归方程及相关系数

表30 浓度范围50.0 mg/L ~200.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	50.0	65.0	80.0	90.0	100.0
吡啶-3-乙酸标准曲线回归方程	$Y=17.88569X-8.54196$ ($r=0.9999$)				
吡啶丁酸标准曲线回归方程	$Y=15.11965X-5.31014$ ($r=0.9998$)				

(4) 吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸浓度范围在 100.0 mg/L~200.0 mg/L 的线性回归方程及相关系数

表31 浓度范围200.0 mg/L ~400.0 mg/L的线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	100.0	125.0	150.0	175.0	200.0
吡啶-3-乙酸标准曲线回归方程	$Y=17.11475X-7.15489$ ($r=0.9945$)				

吡啶丁酸标准曲线回归方程	$Y=13.66978X-4.96458$ ($r=0.9948$)
--------------	--------------------------------------

(5) 吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸线性范围的确定

在本方法确定的实验条件下，吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸浓度范围在100.0 mg/L~200.0 mg/L建立的线性回归方程，相关系数小于0.999（表31），定量准确度低；吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸浓度范围在1.0 mg/L~10.0 mg/L、10.0 mg/L~50.0 mg/L、50.0 mg/L~100.0 mg/L建立的线性回归方程，相关系数大于0.999，定量准确度较高（表28、表29、表30）。因此本方法确定在1.0 mg/L~100.0 mg/L浓度范围内，由低浓度到高浓度测定，建立吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸的线性回归方程，实验结果显示，在1.0 mg/L~100.0 mg/L范围内，吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸的线性相关系数都大于0.999（见表32），定量准确度较高。

表32 两种化合物的线性范围、线性方程、相关系数

标准溶液系列(mg/L)	1.0	5.0	10.0	20.0	50.0	100.0
吡啶-3-乙酸标准曲线回归方程	$Y=17.46182X-8.31223$ ($r=0.9997$)					
吡啶丁酸标准曲线回归方程	$Y=14.61964X-5.57251$ ($r=0.9998$)					

基于实际空白样品中添加吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸混合标准溶液分析结果，按3倍信噪比计算吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸对应的浓度为方法的最低检出限为0.5 mg/kg，按10倍信噪比计算对应的浓度为方法的最低定量限为1.0 mg/kg。

5.3 回收率实验

选取实际肥料样品，每个样品平行测定两次，取两次测定结果的平均值作为空白值，在样品中加入的标准溶液，使待测物的加标浓度为20 mg/L，实验结果扣除空白值，剔除离群值后将测定结果分别计算平均值和加标回收率，由表33所示的回收率结果可知，在该方法条件下测得的肥料样品中吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸的加标回收率在90%~105%之间，表明方法的准确度较高。

表33实际样品的加标回收率实验

化合物 回收率	样品 1/%	样品 2 /%	样品 3 /%	样品 4 /%	样品 5 /%	样品 6 /%
吡啶-3-乙	92.58	94.15	93.45	94.85	102.6.63	104.49
吡啶丁酸	91.46	96.44	94.98	93.74	103.14	103.17

5.4 精密度实验

对标准溶液进行精密度实验，标准溶液的浓度分别为20 mg/L和50 mg/L，重复进样六次，计算精密度，结果见表34。实验结果表明测定结果的相对标准偏差在1.0%~2.70%之间，说明本方法具有良好的重复性和再现性，可满足检测要求。

表34 肥料中两种化合物的回收率和精密度结果（n=6）

化合物	标液浓度/ mg/L	标液实测值/ mg/L	相对标准偏 差/%
吡啶-3-乙酸	20	20.45、21.62、20.96、19.14、19.62、18.95	1.06
	50	52.45、53.96、51.22、48.26、47.63、50.26	2.43
吡啶丁酸	20	18.44、18.15、21.44、22.65、22.15、21.99	1.98
	50	50.46、51.63、52.48、48.26、47.36、45.63	2.65

5.5 稳定性实验

分别选取室温条件下样品处理完毕、样品放置3天、样品放置7天三个时间段来进行测定，实验数据见表35、表36。根据表中的数据可得，实验样品在预处理后、放置3天后、放置7天后所测得的含量在允许的误差范围内，样品在七天内的稳定性仍然符合实验测定要求。

表35 吡啶-3-乙酸样品稳定性实验

样品号	预处理后的含量/ (%)	放置3天后的含量/ (%)	放置7天后的含量/ (%)
Y11	0.025	0.024	0.024
Y12	ND	ND	ND
Y13	0.13	0.13	0.13
Y14	ND	ND	ND
Y15	0.25	0.25	0.24
Y16	ND	ND	ND

表36 吡啶丁酸样品稳定性实验

样品号	预处理后的含量/ (%)	放置3天后的含量/ (%)	放置7天后的含量/ (%)
Y21	ND	ND	ND
Y22	ND	ND	ND
Y23	0.11	0.10	0.10
Y24	ND	ND	ND
Y25	0.26	0.26	0.26
Y26	0.082	0.082	0.080

5.6 实验室间比对实验

选取了两个肥料样品按实验方法和四川国光农化股份有限公司、云南省化工产品质量监督检验站进行对比验证试验，所得数据如表37所示，从测定数据看，三个检测单位检测数据基本一致，未超出实验室间的允许误差，满足实验要求。

表37 不同实验室肥料中植物生长调节剂含量测定数据表

样品 编号	化合物	山东省质检院实验 室测定值（%）	四川国光农化股份有 限公司测定值（%）	云南省化工产品质量监 督检验站测定值（%）
样品 5#	吲哚-3-乙酸	0.036	0.035	0.038
	吲哚丁酸	0.035	0.035	0.030
样品 6#	吲哚-3-乙酸	0.082	0.080	未检测
	吲哚丁酸	0.056	0.053	未检测

四、 预期达到的经济效果及社会效益

1、 经济收益

新型检测技术培训收益，承担上级下达的检测任务的事业收益，对社会上企业 and 个人的委托检测产生的直接收益，为企业和个人就产品质量问题产生的纠纷进行仲裁、维权的质量鉴定等收益。

2、 社会效益

本方法建立的复硝酚钠、2,4-D、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸八种植物生长调节剂的液相检测法标准，可以避免因复硝酚钠、2,4-D、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸使用不当或过量使用带来的“药害”损失，保证农产品的产品质量安全，保障农民的合法利益。

另外，通过该标准方法可以准确检测出肥料中添加的复硝酚钠、2,4-D、脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、烯效唑、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸含量，可以有效监督肥料市场中生产厂家及销售厂商违规添加植物生长调节剂，为政府进行肥料产品质量安全监管工作提供技术基础，保障肥料产品质量安全。

五、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况；

编制本标准前详细查阅了国内外标准发布部门的相关信息，至标准编制之日尚未发现与计划编制标准相类同或相似标准。

六、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系；

本标准符合现行法律、法规和规章的要求，与其它相关标准之间不存在矛盾之处。本标准的制定会进一步推动肥料行业的规范与成熟，为行业的健康发展提供必要的依据。

七、重大分歧意见的处理经过和依据；

无。

八、标准性质的建议说明；

本标准方法标准，标准属性建议为推荐性标准。

九、贯彻标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过度办法、实施日期等）；

为了贯彻好本标准，使其有效发挥作用，建议在标准发布后，在全国肥料行业进行宣传与贯彻，建议政府管理部门将该产品标准作为对肥料的质量保证和相关主管部门对肥料的检验和验收参考依据，以使肥料产业健康有序发展。

组织措施及技术措施：多形式开展培训活动，通过举办培训知识讲座，现场技术指导，邀请专家课堂讲授，资料函授和互联网等开展技术培训。

十、废止现行相关标准的建议；

该标准为首次制定，与现行国家标准和行业标准协调一致，不涉及标准废止的建议。

十一、其它应予说明的事项。

无。