



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
中国国家标准化管理委员会 发布

订单号: 0100201221073649 防伪编号: 2020-1221-0943-4152-8958 购买单位: 北京中培质联

北京中培质联 专用

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。

北京中培质联 专用

订单号: 0100201221073649 防伪编号: 2020-1221-0943-4152-8958 购买单位: 北京中培质联

北京中培质联 专用

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、氯吡脘、烯效唑标准储备溶液:称取适量的脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、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、氯吡脘、烯效唑混合标准溶液:准确移取适量的脱落酸、萘乙酸、氯吡脘、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、氯吡脘、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 μ L。

6.3.2 2,4-D 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 RP18、5.0 μ m 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 μ L。

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 $\times$ 4.6 mm(内径)不锈钢柱,内装 RP₁₈、5.0 μ m 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 μ L。

6.3.4 吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:250 mm $\times$ 4.6 mm(内径)不锈钢柱,内装 RP₁₈、5.0 μ m 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 μ L。

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

订购号: 0100201221073649 防伪编号: 2020-1221-0943-4152-8958 购买单位: 北京中培质联

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:

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

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	$C_{10}H_8NO_2$	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。

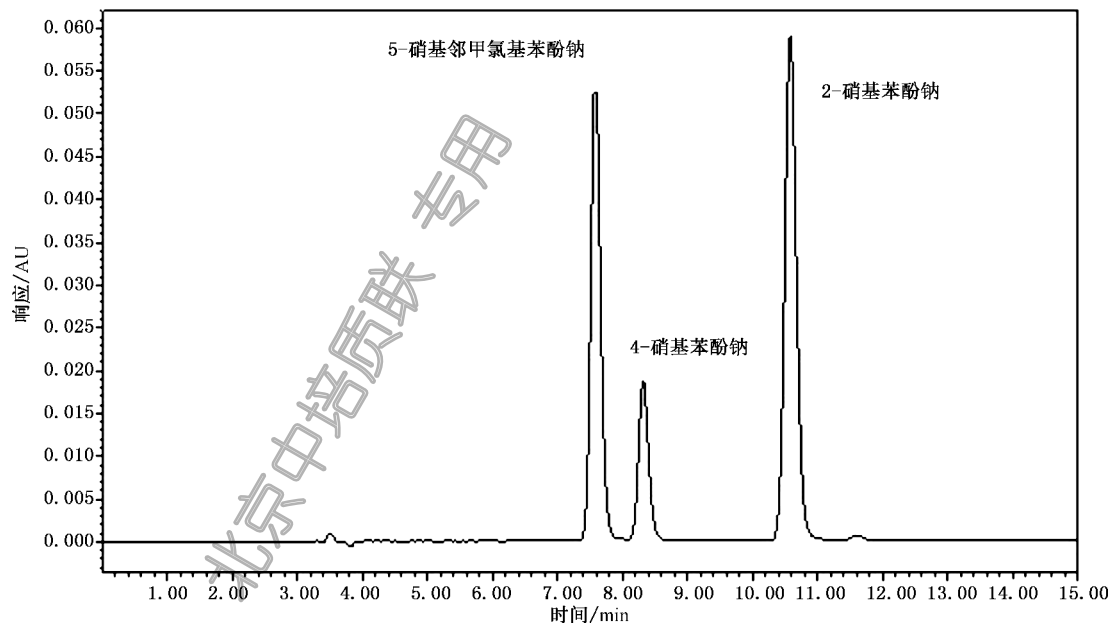


图 B.1 复硝酚钠标准物质液相色谱图

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。

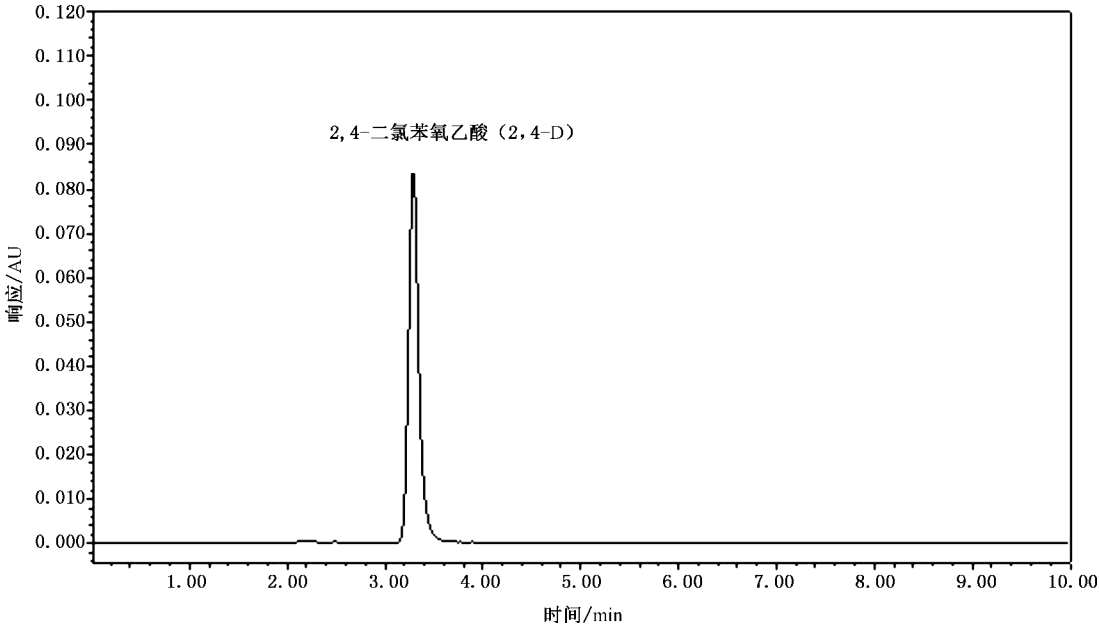


图 C.1 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)标准物质液相色谱图

订单号: 0100201221073649 防伪编号: 2020-1221-0943-4152-8958 购买单位: 北京中培质联

北京中培质联 专用

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。

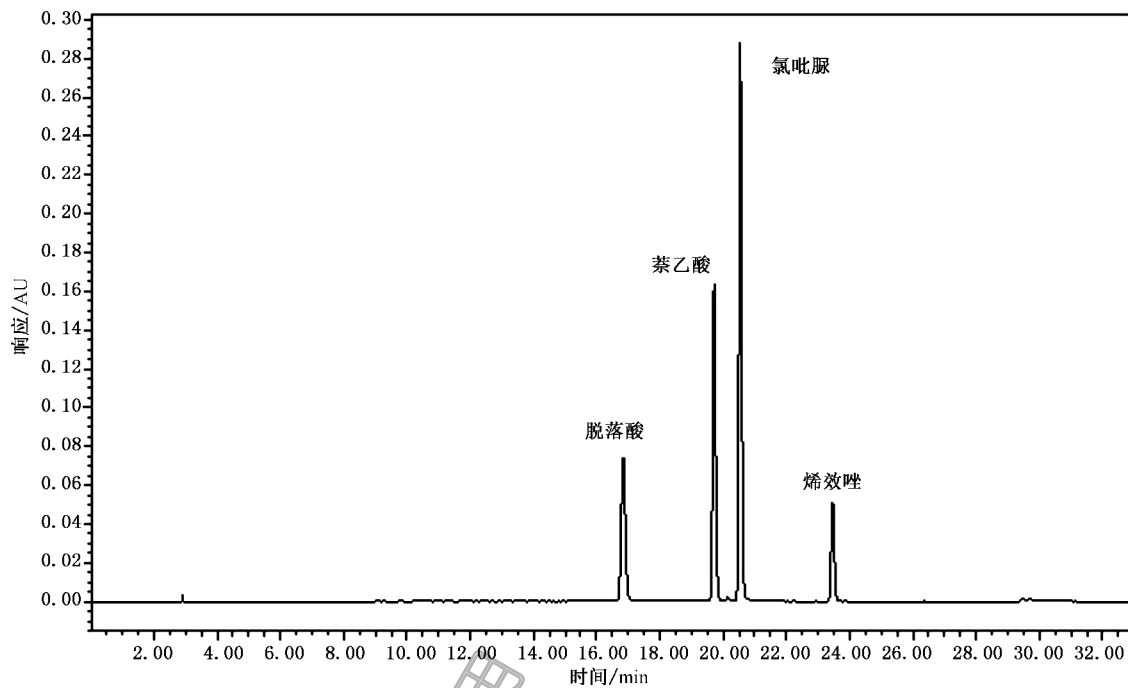


图 D.1 脱落酸、萘乙酸、氯吡脞、烯效唑标准物质液相色谱图(280 nm)

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。

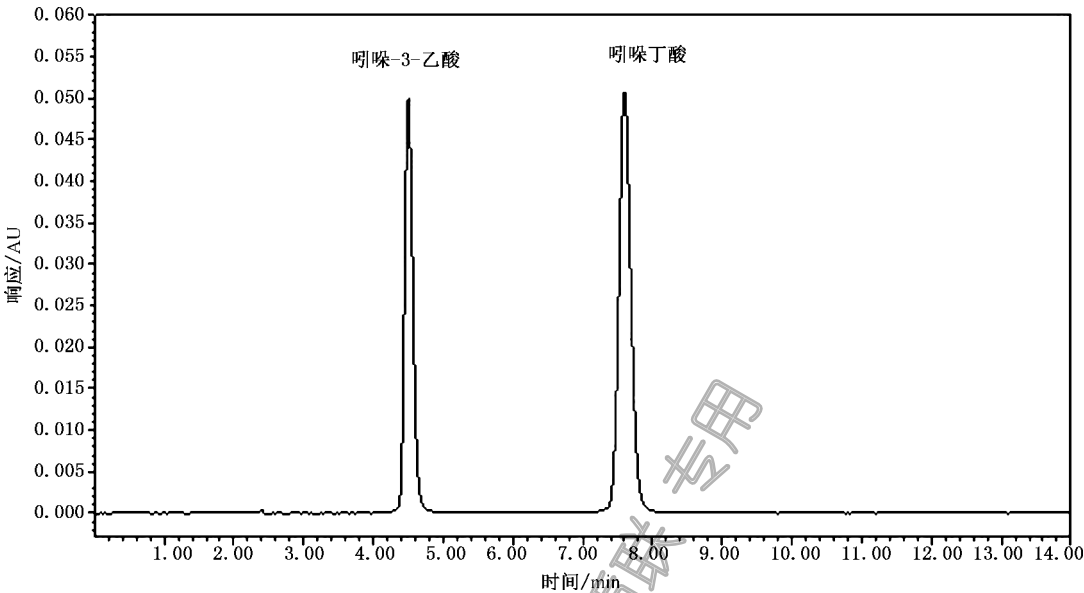


图 E.1 吡啶-3-乙酸、吡啶丁酸标准物质液相色谱图

订单号: 0100201221073649 防伪编号: 2020-1221-0943-4152-8958 购买单位: 北京中培质联

北京中培质联 专用

 版权声明

中国标准在线服务网(www.spc.org.cn)是中国标准出版社委托北京标科网络技术有限公司负责运营销售正版标准资源的网络服务平台,本网站所有标准资源均已获得国内外相关版权方的合法授权。未经授权,严禁任何单位、组织及个人对标准文本进行复制、发行、销售、传播和翻译出版等违法行为。版权所有,违者必究!

中国标准在线服务网
<http://www.spc.org.cn>

标准号: GB/T 37500-2019
购买者: 北京中培质联
订单号: 0100201221073649
防伪号: 2020-1221-0943-4152-8958
时 间: 2020-12-21
定 价: 24元



GB/T 37500-2019

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
肥料中植物生长调节剂的测定
高效液相色谱法

GB/T 37500—2019

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址: www.spc.org.cn

服务热线: 400-168-0010

2019年6月第一版

*

书号: 155066 • 1-62677

版权专有 侵权必究