

# 团 体 标 准

T/CCPIA XXX-202X

## 肥料中多效唑等 8 种成分的检测方法 高效液相色谱法

Detection method of 8 components such as paclobutrazol in fertilizers

by High Performance Liquid Chromatography

202X - XX - XX 发布

202X - XX - XX 实施

中国农药工业协会 发布

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由中国农药工业协会提出并归口。

本文件起草单位：xxx

本文件主要起草人：XXX

CCPIA 团体标准征求意见稿

# 肥料中多效唑等 8 种成分的检测方法 高效液相色谱法

## 1 范围

本文件规定了肥料中8种植物生长调节剂含量的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于尿素、复合肥料、部分复混肥料中茉莉酸、多效唑、羟烯腺嘌呤、赤霉素、水杨酸、吲哚乙酸、胺鲜酯和脱落酸含量的测定。

本文件中各目标物的方法检出限分别为：羟烯腺嘌呤、脱落酸、多效唑为1 mg/kg；水杨酸、吲哚乙酸为5 mg/kg；赤霉素为10 mg/kg；茉莉酸为20 mg/kg；胺鲜酯为65 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，仅所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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 试验方法

### 4.1 方法提要

试样用甲醇提取，以甲醇+乙酸溶液为流动相，使用以C<sub>18</sub>为填料的不锈钢柱，使用双波长模式，对试样中的8种植物生长调节剂进行高效液相色谱分离，利用紫外检测器在220nm、260nm双波长模式下检测，外标法定量。

### 4.2 试剂和材料

4.2.1 本文件所用试剂和水在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和 GB/T 6682 中的一级水。

4.2.2 甲醇：色谱纯。

4.2.3 乙酸：色谱纯。。

4.2.4 0.1%(V/V)乙酸溶液：准确移取 1 mL 乙酸置于 1 L 容量瓶中，用水定容，混匀。

4.2.5 茉莉酸、多效唑、羟烯腺嘌呤、赤霉素、水杨酸、吲哚乙酸、胺鲜酯和脱落酸标准品：纯度≥98.0%，信息参见附录 A。

### 4.3 仪器与设备

4.3.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器。

4.3.2 高速离心机：最高转速不低于 4000 r/min。

4.3.3 漩涡混合器。

- 4.3.4 超声波清洗器。
- 4.3.5 电子天平：精度 0.1 mg。
- 4.3.6 金属试验筛：0.5 mm。
- 4.3.7 有机相微孔滤膜：0.22  $\mu\text{m}$ 。

#### 4.4 高效液相色谱参考条件

- 4.4.1 色谱柱：100 mm $\times$ 4.6 mm(i.d.)不锈钢柱，内装  $\text{C}_{18}$ 、5  $\mu\text{m}$  填充物(或同等效果的色谱柱)。
- 4.4.2 流动相：流动相及梯度洗脱条件见表 1。
- 4.4.3 流速：0.5 mL/min。
- 4.4.4 柱温：35  $^{\circ}\text{C}$ 。
- 4.4.5 检测波长：茉莉酸和多效唑最佳检测波长为 220 nm，胺鲜酯、羟烯腺嘌呤、赤霉素、水杨酸、吲哚乙酸和脱落酸最佳检测波长为 260 nm。
- 4.4.6 进样量：10  $\mu\text{L}$ 。
- 4.4.7 标准样品液相图谱见附录 B。

表1 高效液相色谱操作条件

时间 min	流动相 A (乙酸溶液) %	流动相 B (甲醇) %
0	70	30
4	70	30
8	65	35
12	65	35
16	60	40
30	60	40
40	30	70
45	30	70
50	70	30
60	70	30

#### 4.5 测定步骤

##### 4.5.1 标准溶液的配制

4.5.2 羟烯腺嘌呤、吲哚乙酸、脱落酸和水杨酸标准储备溶液：分别称取适量的羟烯腺嘌呤、吲哚乙酸、脱落酸和水杨酸标准品，用甲醇配制成浓度为 4 mg/mL 的单个标准储备溶液。

4.5.2.1 赤霉素、茉莉酸、胺鲜酯和多效唑标准储备溶液：分别称取适量的赤霉素、茉莉酸、胺鲜酯和多效唑标准品，用甲醇配制成浓度为 20 mg/mL 的单个标准储备溶液。

4.5.2.2 混合标准中间液：分别移取羟烯腺嘌呤、吲哚乙酸、脱落酸、赤霉素、茉莉酸、胺鲜酯、水杨酸和多效唑 8 种标准储备溶液，用甲醇稀释成混合标准中间液，使其中羟烯腺嘌呤、脱落酸的浓度均为 0.2 mg/mL，吲哚乙酸的浓度为 0.4 mg/mL，水杨酸、胺鲜酯的浓度均为 1 mg/mL，多效唑的浓度为 1.5 mg/mL，赤霉素的浓度为 2 mg/mL，茉莉酸浓度为 5 mg/mL，于 4  $^{\circ}\text{C}$  下保存。

#### 4.6 标准曲线的绘制

准确移取适量的混合标准中间液，用甲醇稀释成一系列的混合标准工作液，使其中羟烯腺嘌呤、脱落酸浓度分别为 1 µg/mL、5 µg/mL、10 µg/mL、15 µg/mL、20 µg/mL；吲哚乙酸浓度分别为 2 µg/mL、10 µg/mL、20 µg/mL、30 µg/mL、40 µg/mL；水杨酸和胺鲜酯浓度分别为 5 µg/mL、25 µg/mL、50 µg/mL、75 µg/mL、100 µg/mL；多效唑浓度分别为 7.5 µg/mL、37.5 µg/mL、75 µg/mL、112.5 µg/mL、150 µg/mL；赤霉酸浓度分别为 10 µg/mL、50 µg/mL、100 µg/mL、150 µg/mL、200 µg/mL；茉莉酸浓度分别为 25 µg/mL、75 µg/mL、250 µg/mL、375 µg/mL、500 µg/mL，临用时配制。按照色谱条件浓度由低到高的顺序测定，以溶液浓度为横坐标，色谱峰峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线。茉莉酸、多效唑、胺鲜酯、羟烯腺嘌呤、赤霉酸、水杨酸、吲哚乙酸和脱落酸标准物质色谱图参见附录 B。

#### 4.7 试样预处理

称取 0.1 g~1.0 g（精确至 0.000 1 g）液体试样或粉碎后过 0.5 mm 试验筛的固体试样，置于 10 mL 离心管中，加入 8 mL 甲醇，涡旋振荡 1 min，超声提取 30 min 后冷却至室温，高速离心 10 min，将上清液全部转至 10 mL 容量瓶，用甲醇定容，混匀。取 1 mL 上清液过 0.22 µm 有机相滤膜，待测。

每个试样做两次平行，同时做空白试验。

#### 4.8 试样测定

在上述操作条件下，待仪器稳定后，连续注入数针标样溶液，直至相邻两针峰面积相对变化小于 1.2% 后，进试样溶液，外标法定量。所检组分含量高的试样可用甲醇适当稀释后进行测定。

#### 4.9 空白实验

除不称取试样外，其他步骤同 4.8 试样测定。

### 5 分析结果表述

试样中茉莉酸、多效唑、胺鲜酯、羟烯腺嘌呤、赤霉酸、水杨酸、吲哚乙酸和脱落酸的含量  $X_i$ ；以质量分数(%)表示，结果按式(1)计算：

$$X_i = \frac{(c_i - c_0) \times V \times D_i}{m \times 1000} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

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，单位为毫升(L)；

$D_i$ ——试样溶液的稀释倍数；

$m$ ——试样的质量，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。

### 6 允许差

重复条件下，对同一试样平行测定结果的相对偏差不超过10%。

附 录 A  
(资料性)  
8 种植物生长调节剂信息表

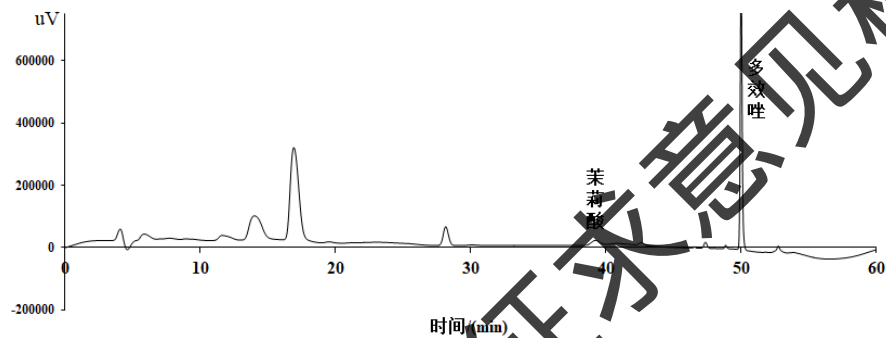
8种植物生长调节剂信息见表A.1。

表 A.1 8 种植物生长调节剂信息表

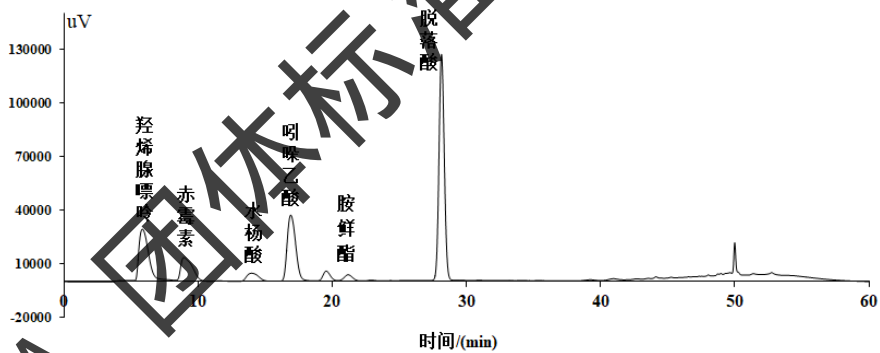
序号	中文名称	英文名称	分子式	相对分子质量	CAS 登录号	分子式
1	茉莉酸	Jasmonic acid	$C_{12}H_{18}O_3$	210.27	77026-92-7	
2	多效唑	Paclobutrazol	$C_{15}H_{20}ClN_3O$	293.79	78738-62-0	
3	胺鲜酯	2-Diethylaminoethyl hexanoate	$C_{12}H_{25}NO_2$	215.83	10369-83-2	
4	羟基腺嘌呤	Zeatin	$C_{10}H_{13}N_5O$	219.24	13114-27-7	
5	赤霉酸	Gibberellin A3	$C_{20}H_{32}O_6$	346.37	77-06-5	
6	水杨酸	Salicylic acid	$C_7H_6O_3$	138.12	69-72-7	
7	吲哚乙酸	Indole-3-acetic acid	$C_{10}H_9NO_2$	175.18	87-51-4	
8	脱落酸	Absciscic acid	$C_{15}H_{20}O_4$	264.32	21293-29-8	
本标准图谱只代表上述所列种类。						

附录 B  
(资料性)  
标准物质高效液相色谱图

茉莉酸、多效唑标准物质高效液相色谱图见图B.1，羟基腺嘌呤、赤霉素、水杨酸、吲哚乙酸、胺鲜酯、脱落酸标准物质高效液相色谱图见图B.2。



图B.1 茉莉酸、多效唑标样高效液相色谱图（220 nm）



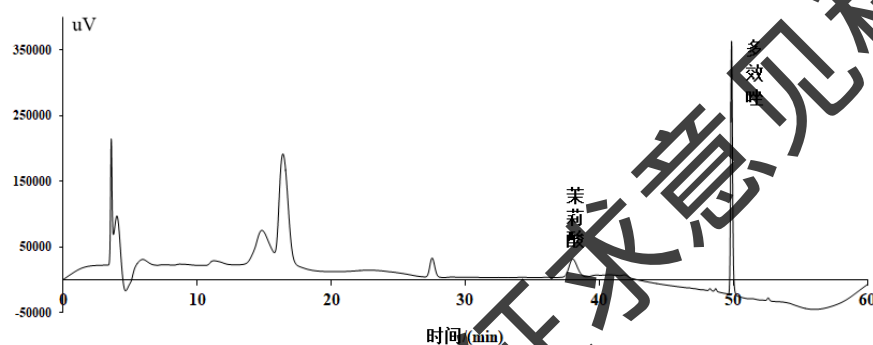
图B.2 羟基腺嘌呤、赤霉素、水杨酸、吲哚乙酸、胺鲜酯、脱落酸标样高效液相色谱图(260 nm)

## 附录 C

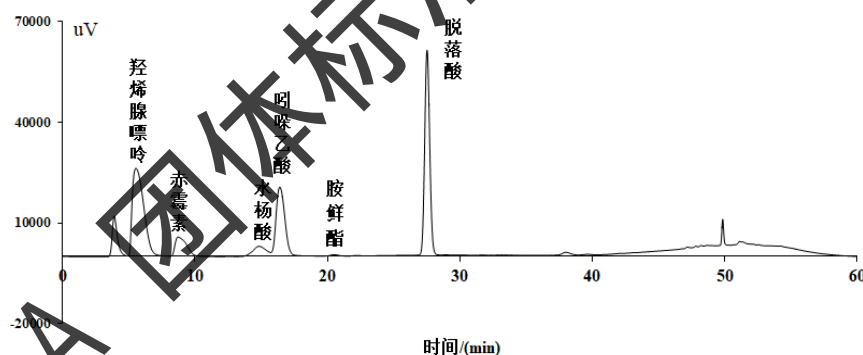
(资料性)

## 肥料样品中 8 种植剂高效液相色谱图

肥料中茉莉酸、多效唑高效液相色谱图见图C.1，肥料中羟烯腺嘌呤、赤霉素、水杨酸、吲哚乙酸、胺鲜酯、脱落酸标准物质高效液相色谱图见图C.2。



图C.1 肥料中茉莉酸、多效唑高效液相色谱图(220 nm)



图C.2 肥料中羟烯腺嘌呤、赤霉素、水杨酸、吲哚乙酸、胺鲜酯、脱落酸高效液相色谱图(260 nm)



## 附 录 D

(资料性)

## 8 种植物生长调节剂在肥料中回收率测定

8 种植物生长调节剂在肥料中的回收率试验结果见表 D.1。

表 D.1 8 种植物生长调节剂在肥料中的回收率测定

植物生长调节剂	添加水平 (mg/L)	空白	样品回收率 (%)			平均回收率 (%)	总平均回收率 (%)	相对标准偏差 RSD (%)	平均相对标准偏差 RSD (%)
茉莉酸	25	ND	111.54	116.58	112.32	113.48	104.68	2.39	2.45
	125	ND	106.78	103.44	101.96	104.06		2.38	
	250	ND	104.98	111.37	111.47	109.27		3.40	
	375	ND	100.91	104.21	103.86	102.99		1.76	
	500	ND	91.39	95.73	93.71	93.61		2.32	
多效唑	5	ND	105.80	105.55	106.25	105.87	96.15	0.34	0.48
	25	ND	90.94	91.69	91.21	91.28		0.42	
	50	ND	97.79	97.75	98.68	98.08		0.54	
	75	ND	95.05	95.70	95.11	95.62		0.56	
	100	ND	89.44	89.78	90.45	89.89		0.57	
羟烯腺嘌呤	1	ND	96.31	97.51	98.70	97.51	91.92	1.23	0.68
	5	ND	87.64	87.61	87.05	87.43		0.38	
	10	ND	95.90	95.87	96.57	96.11		0.41	
	15	ND	93.69	93.72	94.49	93.97		0.48	
	20	ND	84.00	84.36	85.44	84.60		0.89	
水杨酸	5	ND	101.48	96.92	104.01	100.80	94.35	3.56	1.16
	10	ND	89.71	89.70	89.57	89.66		0.08	
	50	ND	96.55	97.20	98.17	97.31		0.84	
	75	ND	93.88	95.17	95.01	94.69		0.74	
	100	ND	88.90	89.04	89.87	89.27		0.59	
赤霉酸	10	ND	99.85	98.19	100.87	99.64	94.11	1.36	0.86
	50	ND	86.75	87.89	87.46	87.37		0.66	
	100	ND	95.32	95.71	96.48	95.84		0.62	
	150	ND	93.02	93.40	94.26	93.56		0.68	
	200	ND	93.51	93.77	95.23	94.17		0.98	
吲哚乙酸	2	ND	101.60	107.98	102.13	103.90	94.33	3.41	1.25
	10	ND	87.35	89.29	88.90	88.51		1.16	
	20	ND	96.86	97.45	96.51	96.94		0.49	
	30	ND	93.98	94.78	94.99	94.59		0.56	
	40	ND	87.21	87.66	88.33	87.73		0.64	

胺鲜酯	5	ND	118.85	103.32	109.01	110.39	96.44	7.12	4.74
	25	ND	78.49	93.07	94.42	88.66		9.97	
	50	ND	93.94	96.50	96.06	95.50		1.43	
	75	ND	93.28	94.07	98.47	95.27		2.93	
	100	ND	90.49	92.06	94.59	92.38		2.24	
脱落酸	1	ND	104.60	105.04	105.15	104.93	94.38	0.28	0.54
	5	ND	88.69	89.67	89.60	89.32		0.61	
	10	ND	96.17	96.31	97.22	96.57		0.59	
	15	ND	93.39	93.98	94.50	93.96		0.59	
	20	ND	86.60	87.06	87.67	87.11		0.62	