

ICS 65.080
CCS G 20



中华人民共和国国家标准

GB/T 40459—2021

肥料中多种植物生长调节剂的 定性筛选 液相色谱-质谱联用法

Qualitative screening of multi plant growth regulators in fertilizers—
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

2021-08-20 发布

2022-03-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 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专利的责任。

本文件由中国石油和化学工业联合会提出。

本文件由全国肥料和土壤调理剂标准化技术委员会(SAC/TC 105)归口。

本文件起草单位：山东省产品质量检验研究院、上海化工院检测有限公司、云南省化工产品质量监督检验站、山东农大肥业科技有限公司、四川国光农化股份有限公司、山东晨彰生物科技有限公司、济南天邦化工有限公司、临沂市检验检测中心。

本文件主要起草人：张娟、商照聪、苏本玉、朱海荣、陈曦、赵林、张鹏、陈萌、杨一、丁方军、郭新送、殷慧敏、赵怀宁。

肥料中多种植物生长调节剂的 定性筛选 液相色谱-质谱联用法

1 范围

本文件描述了肥料中多种植物生长调节剂的定性筛选液相色谱-质谱联用法。

本文件适用于水溶肥料、复混肥料、掺混肥料、有机肥料等产品中多种植物生长调节剂(复硝酚钠、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)、脱落酸、萘乙酸、赤霉素、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸、氯吡脞、烯效唑、多效唑、6-苄氨基嘌呤)的检测。

本文件中,吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸的方法检出限为 0.5 mg/kg,萘乙酸、脱落酸、赤霉素、2,4-D 的方法检出限为 0.3 mg/kg,复硝酚钠的方法检出限为 0.1 mg/kg,氯吡脞、烯效唑、多效唑、6-苄氨基嘌呤的方法检出限为 0.05 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 原理

试样中待测物用甲醇-甲酸水溶液进行超声提取,在选定的工作条件下,用液相色谱-串联质谱仪进行筛选定性,外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 一般规定: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。

5.2 甲醇:色谱纯。

5.3 甲酸:色谱纯。

5.4 甲酸溶液(I):准确移取 0.10 mL 甲酸(5.3),用水稀释至 1 000 mL。

5.5 甲酸溶液(II):准确移取 1.0 mL 甲酸(5.3),用水稀释至 1 000 mL。

5.6 甲醇-甲酸溶液:准确量取 200 mL 甲酸溶液(II)(5.5),用甲醇(5.2)稀释至 1 000 mL,混匀。现配现用。

5.7 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、赤霉素、吲哚-3-乙酸、吲哚丁酸、氯吡脞、烯效唑、多效唑、6-苄氨基嘌呤标准品的化学文摘登记号

(CAS号)、英文名称、分子式、相对分子质量、结构式参见附录A中表A.1,纯度不小于98.0%。

5.8 标准储备溶液:分别准确称取多种植物生长调节剂标准品(5.7)10.0 mg于10 mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度线,得到质量浓度为1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液,置于 -18°C 条件下避光保存。

5.9 标准中间液:取标准储备液(5.8),用甲醇(5.2)稀释,其中复硝酚钠、赤霉酸、萘乙酸、脱落酸、2,4-D、吲哚丁酸和吲哚-3-乙酸的质量浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$,多效唑、烯效唑、氯吡脞和6-苄氨基嘌呤的质量浓度为1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。现用现配。

5.10 标准工作溶液:用甲醇-甲酸溶液(5.6)稀释标准中间液(5.9),配成不同浓度的混合标准溶液,其中复硝酚钠、赤霉酸、萘乙酸、脱落酸、2,4-D、吲哚丁酸和吲哚-3-乙酸的质量浓度为50 ng/mL 、100 ng/mL 、200 ng/mL 、500 ng/mL 、1 000 ng/mL ,多效唑、烯效唑、氯吡脞和6-苄氨基嘌呤的质量浓度为5 ng/mL 、10 ng/mL 、20 ng/mL 、50 ng/mL 、100 ng/mL 。现用现配。

6 仪器设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源和数据处理机。

6.2 高速离心机:转速不低于6 000 r/min 。

6.3 超声波清洗器。

6.4 分析天平:精度0.1 mg。

6.5 漩涡混合器。

6.6 试验筛:孔径0.5 mm。

6.7 滤膜(有机相):孔径0.22 μm ,尼龙微孔滤膜或相当者。

7 分析步骤

7.1 样品制备

固体样品:将样品粉碎,全部过0.5 mm试验筛,待用。

液体样品混匀后直接称取。

7.2 样品提取

称取0.1 g~0.3 g样品(精确至0.000 1 g),准确加入甲醇-甲酸溶液25 mL于离心管中,用漩涡混合器均质1 min,25 $^{\circ}\text{C}$ 下超声波清洗器中水浴超声30 min,然后在6 000 r/min 条件下离心5 min,取上清液过0.22 μm 有机相微孔滤膜,待测。浓度过高样品稀释相应倍数后上机测定。

7.3 色谱及质谱参考条件

7.3.1 色谱参考条件

色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:C18(2.1 mm \times 50 mm,1.7 μm)或相当者;
- b) 柱箱温度:30 $^{\circ}\text{C}$;
- c) 流动相:甲醇(5.2)-甲酸溶液(I)(5.4),梯度洗脱条件见表1;
- d) 流速:0.3 mL/min;
- e) 进样量:2 μL 。

表 1 液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	流动相[甲醇(5.2)]/%	流动相[甲酸溶液(I)(5.4)]/%
0	10	90
1.5	10	90
3.0	60	40
7.5	90	10
9.0	10	90
14.0	10	90

7.3.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 离子源类型：电喷雾离子源(ESI)；
- b) 电离方式：电喷雾电离，氯吡脞、烯效唑、多效唑和 6-苄氨基嘌呤采用正离子模式(ESI+)，复硝酚钠、萘乙酸、脱落酸、赤霉素、2,4-D、吲哚丁酸和吲哚-3-乙酸采用负离子模式(ESI-)；
- c) 扫描方式：正负离子同时扫描；
- d) 毛细管电压：+3 500 V，-2 000 V；
- e) 离子源温度：260 ℃；
- f) 鞘气温度：300 ℃；
- g) 干燥气流速：8 mL/min；
- h) 鞘气流速：8 mL/min；
- i) 雾化气压力：0.207 MPa；
- j) 检测方式：多反应监测(MRM)，多反应监测条件参见附录 B 中表 B.1。

7.4 测定

7.4.1 标准工作曲线的绘制

将标准工作溶液(5.10)，按照浓度由低到高的顺序依据仪器条件(7.3)进行测定，以定量离子色谱峰的峰面积为纵坐标，与其对应的标准溶液浓度为横坐标作图，绘制标准工作曲线。

7.4.2 定性测定

按 7.3 的仪器条件对标准工作溶液和样品溶液进行测定，如果样品溶液中色谱峰的保留时间与标准物质色谱峰的保留时间一致；且样品溶液中监测离子的相对丰度比与相当浓度的标准溶液的监测离子对的相对丰度比的偏差不超过表 2 的规定范围，则可判定样品中存在相应的目标成分。多种植物生长调节剂标准物质总离子流图和提取离子质谱图参见附录 C。

表 2 定性测定时相对离子丰度最大允许偏差

相对离子丰度 K / %	$K > 50$	$20 < K \leq 50$	$10 < K \leq 20$	$K \leq 10$
允许的相对偏差 / %	± 20	± 25	± 30	± 50

7.4.3 定量测定

取预处理后的待测液(7.2),按照条件(7.3)进行测定,记录色谱峰的保留时间和峰面积,由色谱峰的峰面积可从标准曲线上求出待测物的浓度。样品溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围之内,外标法定量。待测物含量高的试样用甲醇-甲酸溶液(5.6)稀释后测定。

7.5 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

7.6 平行试验

做两份试样的平行测定。

8 试验数据处理

试样中被测组分的含量 X_i ,以质量分数计,单位以毫克每千克(mg/kg)表示,按式(1)计算:

$$X_i = \frac{(\rho_i - \rho_0) \times V \times D_i}{1\ 000\ m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

ρ_i ——由标准曲线查得样品溶液中待测物的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

ρ_0 ——由标准曲线查得空白溶液中待测物的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

V ——样品提取后的提取溶液体积,单位为毫升(mL);

D_i ——样品稀释倍数;

m ——样品质量,单位为克(g)。

计算结果至少保留两位有效数字,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。

9 允许差

在同一实验室,由同一操作者使用相同设备,按相同的测试方法,并在短时间内对同一被测对象相互独立进行测试获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 20%,以大于这两个测定值的算术平均值的 20%的情况不超过 5%为前提。

附 录 A
(资料性)
多种植物生长调节剂信息

多种植物生长调节剂信息见表 A.1。

表 A.1 多种植物生长调节剂信息表

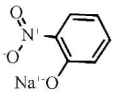
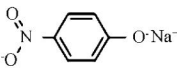
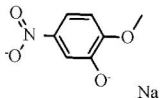
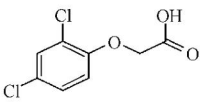
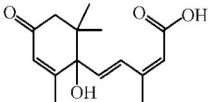
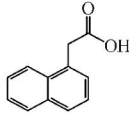
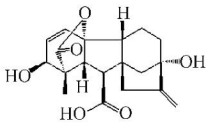
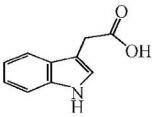
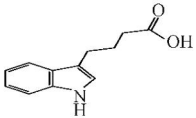
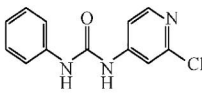
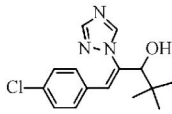
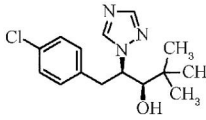
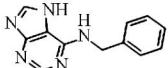
序号	化合物	英文名称	分子式	相对分子质量	CAS号	结构式
1	复硝酚钠	Sodium nitrophenolate	—	—	—	—
2	2-硝基苯酚钠	2- Nitrophenol Sodium Salt	$C_6H_4NNaO_3$	161.09	824-39-5	
3	4-硝基苯酚钠	4-Nitrophenol Sodium Salt	$C_6H_4NNaO_3$	161.09	824-78-2	
4	5-硝基邻甲氧基苯酚钠	5-Nitroguaiacol Sodium Salt	$C_7H_6NNaO_4$	191.12	67233-85-6	
5	2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	$C_8H_6Cl_2O_3$	221.04	94-75-7	
6	脱落酸	Abscisic acid	$C_{15}H_{20}O_4$	264.32	14375-45-2	
7	萘乙酸	1-Naphthylacetic acid	$C_{12}H_{10}O_2$	186.21	86-87-3	
8	赤霉素	Gibberellic acid	$C_{19}H_{22}O_6$	346.4	77-06-5	

表 A.1 多种植物生长调节剂信息表 (续)

序号	化合物	英文名称	分子式	相对分子质量	CAS号	结构式
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	
11	氯吡啶	Forchlorfenuron	$C_{12}H_{10}ClN_3O$	247.70	68157-60-8	
12	烯效唑	Uniconazole	$C_{15}H_{18}ClN_3O$	291.8	83657-22-1	
13	多效唑	Pacllobutrazol	$C_{15}H_{20}ClN_3O$	293.79	76738-62-0	
14	6-苄氨基嘌呤	6-Benzylaminopurine	$C_{12}H_{11}N_5$	225.25	1214-39-7	

附录 B

(资料性)

多反应监测(MRM)条件

多反应监测(MRM)条件见表 B.1。

表 B.1 多反应监测(MRM)条件

序号	目标物	定性离子对(m/z)	定量离子对(m/z)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
1	2-硝基苯酚钠	138.0>92.0	138.0>108.0	100	15
		138.0>108.0			25
2	4-硝基苯酚钠	138.0>92.0	138.0>108.0	100	15
		138.0>108.0			25
3	5-硝邻甲氧基苯酚钠	168.0>123.0	168.0>153.0	100	25
		168.0>153.0			15
4	萘乙酸	185.0>113.0	185.0>141.0	70	10
		185.0>141.0			5
5	脱落酸	263.0>153.0	263.0>153.0	110	10
		263.0>219.0			15
6	赤霉素	345.0>143.0	345.0>143.0	105	10
		345.0>239.0			25
7	2,4-D	219.0>125.0	219.0>161.0	100	10
		219.0>161.0			15
8	吲哚-3-乙酸	174.0>130.0	174.0>130.0	60	15
		174.0>128.1			20
9	吲哚丁酸	201.9>115.9	201.9>158.0	135	20
		201.9>158.0			10
10	氯吡脞	248.0>129.0	248.0>129.0	110	35
		248.0>155.0			30
11	烯效唑	292.0>70.0	292.0>70.0	105	20
		292.0>125.0			25
12	多效唑	294.0>70.0	294.0>70.0	110	15
		294.0>125.0			25
13	6-苄氨基嘌呤	226.1>147.9	226.1>91.1	70	10
		226.1>91.1			20

附录 C

(资料性)

标准物质的总离子流质谱图和提取离子质谱图

标准物质的总离子流质谱图见图 C.1,提取离子质谱图见图 C.2~图 C.4。

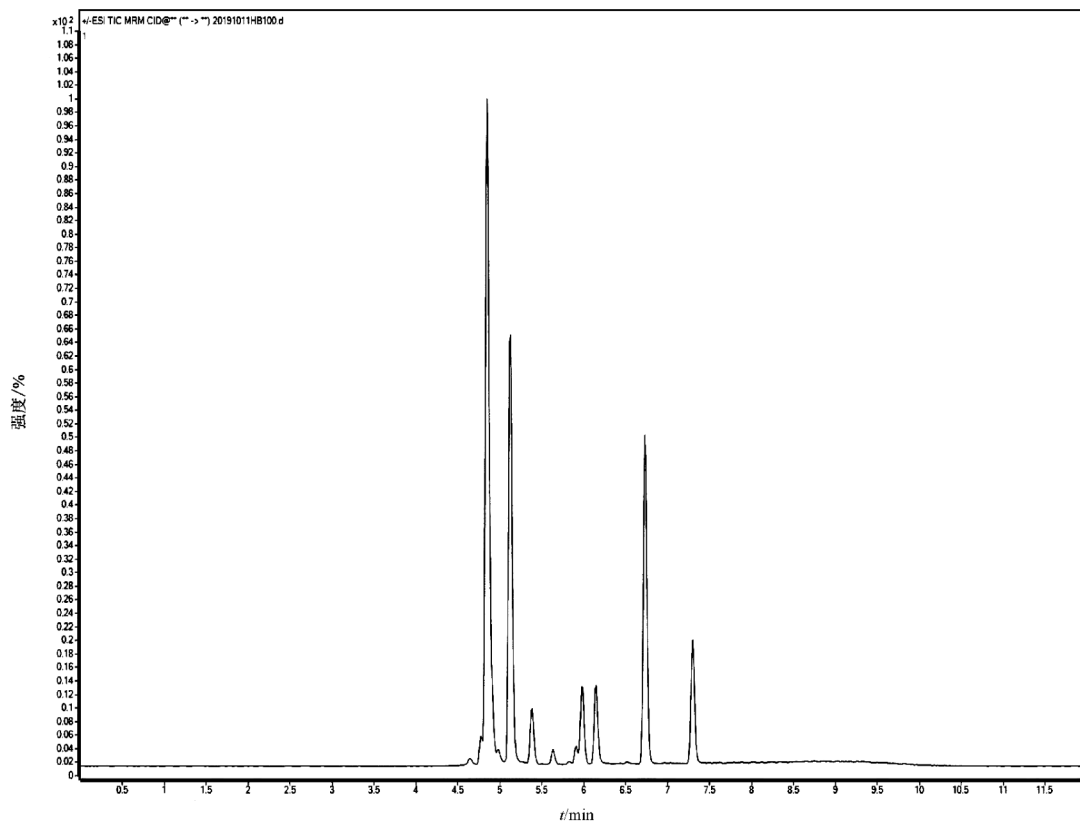


图 C.1 标准物质的总离子流质谱图

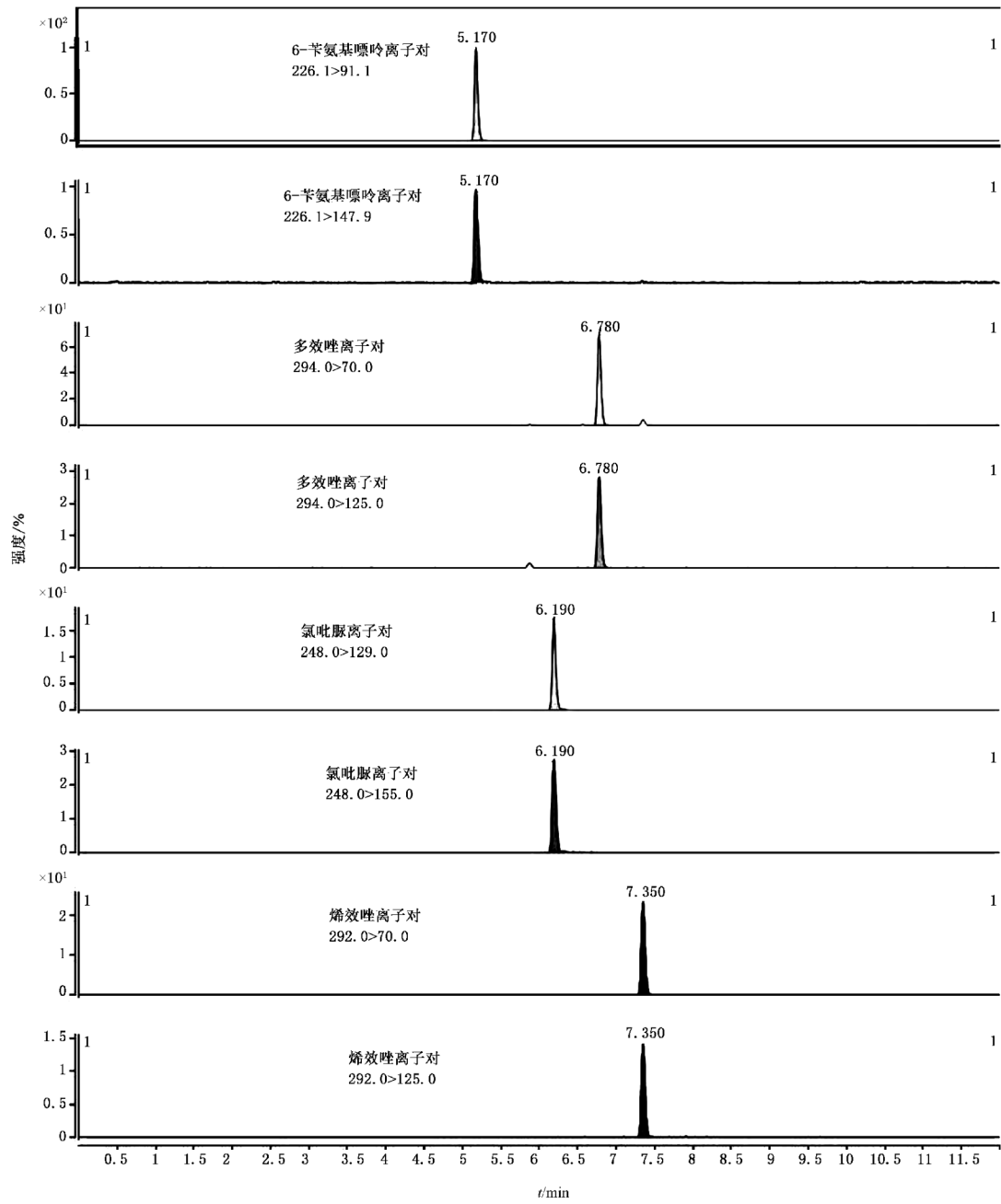


图 C.2 标准物质(多效唑、烯效唑、氯吡脞和 6-苄氨基嘌呤)的提取离子质谱图

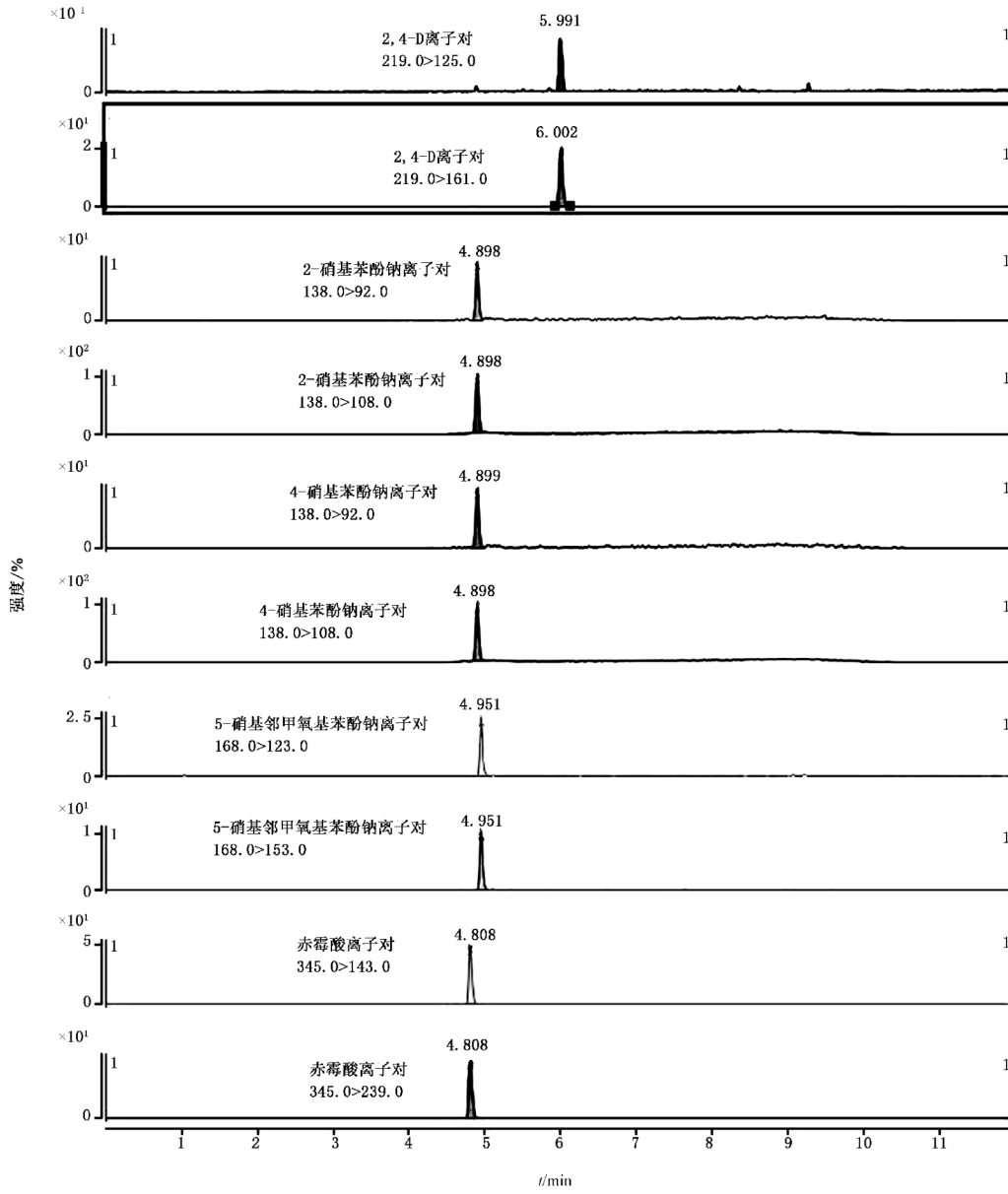


图 C.3 标准物质(2,4-D、复硝酚钠、赤霉酸)的提取离子质谱图

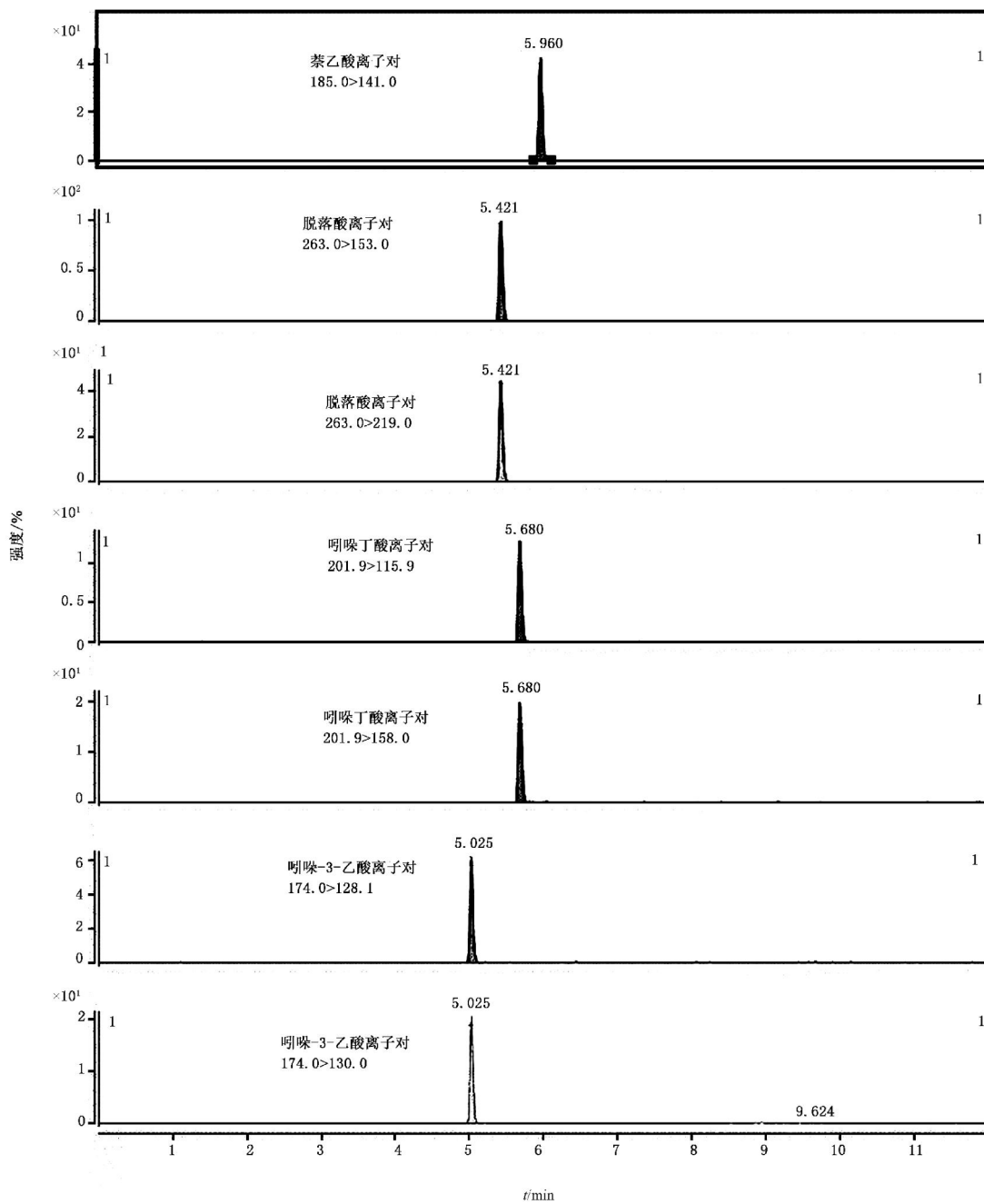


图 C.4 标准物质(萘乙酸、脱落酸、吲哚丁酸、吲哚-3-乙酸)的提取离子质谱图