

高效液相色谱法同时测定肥料中两种抑制剂的含量及国际标准制定研究

王新慧^{1, 2}, 田焯炜^{1, 2}, 黄河清^{1, 2*}, 颜坤^{1, 2}, 储德韧^{1*}

(1. 上海化工研究院有限公司, 上海 200062; 2. 上海化工院检测有限公司, 上海 200062)

摘要: 为解决氮肥增效助剂测定方法存在的问题并实现对新型肥料的有效管控, 建立了对肥料中 N- 正丁基硫代磷酰三胺和双氰胺同时测定的高效液相色谱分析方法。检验结果表明, 该方法在线性范围内 2 种抑制剂的浓度与对应色谱峰面积的线性关系良好, 线性相关系数均 >0.9999 , 回收率分别为 91.1% ~ 104.8% 和 90.9% ~ 107.6%, 6 次平行测定的相对标准偏差分别为 1.94% 和 0.84%。与此同时, 通过对全球 18 家国际实验室间比对试验数据的统计分析, 表明该方法在兼顾前处理简单、分离效果好、检测准确的同时, 又具有适用性广、精密度高的优势, ISO/DIS 6650 可作为新的国际标准推广使用。

关键词: 高效液相色谱; N- 正丁基硫代磷酰三胺; 双氰胺; 国际标准

氮在作物必需大量元素中居首位, 氮素肥料对农作物的品质和产量提高起着关键性作用。我国是世界最大肥料生产和消费国, 对氮肥的利用具有高投入、高产出、高剩余、对合成肥料高度依赖等特点, “四高”特征在支持中国农业高产的同时, 也导致了氮素利用率低、氮素向环境排放量高进而污染环境等问题^[1-2]。因此, 研发利用率高且能控制其对环境质量产生不利影响的新型氮肥是新时代肥料行业的发展方向^[1, 3]。

稳定性肥料是一类添加了脲酶抑制剂和/或硝化抑制剂等增效助剂从而使肥效得到延长的含氮肥料^[4-5]。脲酶抑制剂能通过抑制土壤中脲酶的活性进而延缓尿素的水解, 降低尿素水解成氨的氨挥发损失及氨进一步硝化成硝态氮的氮淋溶损失。硝化抑制剂能通过抑制土壤中亚硝化单胞菌属的活性进而延缓铵态氮的硝化过程, 降低铵态氮硝化成硝态氮的氮淋溶损失及硝态氮的反硝化脱氮损失^[4, 6]。良好的农学效应和环境效益使稳定性肥料在生产应用领域发展迅速。目前, N- 正丁基硫代

磷酰三胺 (NBPT) 以其经济实惠、作用明显等优势是应用最广的脲酶抑制剂, 双氰胺 (DCD) 以其稳定性良好、最终分解产物 (CO_2 和 NH_4^+) 对土壤无不利影响等优势是较常用的硝化抑制剂^[7-8]。NBPT 与 DCD 组合添加于肥料中可达到协同增效的作用, 其作用效果受抑制剂的含量影响很大^[9-10], 但国内外现有标准法规多着眼于氮肥增效助剂的评价^[4, 11], 对含量的检测方法尚不健全。欧盟和我国建立了测定脲酶抑制剂和硝化抑制剂含量的方法^[12-16], 但各标准方法中仅涉及对单一种类抑制剂的测定, 且对不同肥料基质的适用性未达成国际共识。

为实现对新型肥料的有效管控, 解决肥料中氮肥增效助剂测定方法存在的问题, 建立了采用高效液相色谱对 N- 正丁基硫代磷酰三胺和双氰胺同时测定的新方法, 并以此为基础向国际标准化组织“肥料、土壤调理剂和有益物质”标准化技术委员会 (ISO/TC 134) 提出建立了“肥料中正丁基硫代磷酰三胺和双氰胺的同时测定 - 高效液相色谱法”国际标准草案 (ISO/DIS 6650), 以求建立与氮肥增效助剂评价体系配套的含量分析方法, 填补肥料中脲酶抑制剂和硝化抑制剂同时测定的国际标准与规范的缺失。为此, 本文以一系列具有代表性的肥料样品为实验对象, 对新方法进行了方法验证及国际实验室间比对研究。

收稿日期: 2023-06-13; 录用日期: 2023-07-21

作者简介: 王新慧 (1996-), 助理工程师, 从事肥料和土壤调理剂检测及标准化工作。E-mail: wxh@ghs.cn。

通讯作者: 黄河清, E-mail: huanghqmsds@163.com; 储德韧, E-mail: cdr@ghs.cn。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

主要仪器: LC-20A 型高效液相色谱仪配二极 管阵列检测器 (日本岛津公司); Simplicity uv 型超纯水仪 (德国默克密理博公司); SK7210HP 型超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司); ME204/02 型分析天平 (瑞士梅特勒托利多公司); 移液器 (20 ~ 200 μ L, 100 ~ 1000 μ L, 1 ~ 10 mL) (德国艾本德公司)。

主要试剂: 乙腈 (HPLC 级) (国药集团化学试剂有限公司); N-正丁基硫代磷酰三胺 (NBPT) (纯度 97% ~ 100%, CAS 号 94317-64-3) (上海麦克林生化科技股份有限公司); 双氰胺 (DCD) 试剂 (纯度 98% ~ 100%, CAS 号 461-58-5) (上海麦克林生化科技股份有限公司)。2 种抑制剂的结构式如图 1 所示。

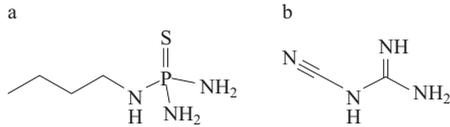


图 1 NBPT 和 DCD 分子结构式

注: 图 a 为 NBPT; 图 b 为 DCD。

1.2 实验样品

实验选取了 9 种含尿素态氮和 / 或铵态氮的固 体和 / 或液体肥料, 样品信息见表 1。

表 1 肥料样品信息

样品 编号	样品名称	NBPT 理论 含量 (%)	DCD 理论 含量 (%)
1	尿素	0.21	0.22
2	尿素	1.92	1.92
3	复合肥料 1 (尿素、 磷酸二铵、硫酸钾)	2.01	2.02
4	尿素硝铵溶液	0.21	0.22
5	尿素硝铵溶液	0.98	1.05
A	尿素	—	—
B	尿素	—	—
C	复合肥料 2 (尿素、 磷酸二铵、硫酸钾)	—	—
D	尿素硝铵溶液	—	—

注: 表中样品由 2 种抑制剂与对应肥料按质量比投入 到搅拌器内混合制成, 编号 1 ~ 5 的样品中 2 种抑制 剂及其肥料在混合前经过精密称重, 编号 A ~ D 的 样品未经过精密称重, 2 种抑制剂的含量范围在 0.2% ~ 5.0%, 用于开展国际实验室间比对实验。

1.3 实验步骤

1.3.1 试样溶液的制备

称取 0.1 ~ 3 g 的试样 (称重精准至 0.0002 g) 于 250 mL 容量瓶中, 加入 100 mL 水, 置于超声波 清洗器中超声溶解 20 min, 冷却后加水定容、 摇匀。将试样溶液过水相滤膜至进样瓶后加盖 待测。

1.3.2 标准溶液的配制

精密称取 0.2500 g NBPT、DCD 试剂于 2 个 250 mL 容量瓶中, 加入 100 mL 超纯水, 置于超声波 清洗器中超声溶解 20 min, 冷却后用水定容、 摇匀, 即得浓度为 1000 mg/L 的 NBPT 和 DCD 单标 母液。分别移取 NBPT 母液 0.5、1、2.5、5、10 mL, DCD 母液 0.1、0.25、1、2.5、10 mL 于 5 个 100 mL 容量 瓶中, 加水定容、摇匀, 即得系列混标溶液, 混标 溶液中 2 种抑制剂的浓度见表 2。将混标溶液过水 相滤膜至进样瓶后加盖待测。

表 2 系列混标溶液的浓度 (mg/L)

编号	NBPT	DCD
STD-1	5.0	1.0
STD-2	10.0	2.5
STD-3	25.0	10.0
STD-4	50.0	25.0
STD-5	100.0	100.0

1.3.3 色谱分析条件

色谱柱: SHIMADZU Shim-pack GIST C18 4.6 mm \times 250 mm、5 μ m; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 进样体积: 10 μ L; 流动相为不同体积比的乙腈与水的混合物, 梯度洗 脱程序见表 3, 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 205 nm (NBPT)、214 nm (DCD)。

表 3 流动相梯度洗脱程序

时间 (min)	乙腈 (%)	超纯水 (%)
0	5	95
3	5	95
10	25	75
16	25	75
17	5	95
31	5	95

2 结果与分析

2.1 色谱分析条件的选择

本文中建立的液相色谱分析条件参考了各国现行标准^[12-16], 各国现行标准测定方法的区别详见表4。

2.1.1 流动相与流速的选择

由于乙腈相比于甲醇截止波长更低、粘度更小, 流动相选择乙腈/水体系。对于图1中的分子结构式, 2种抑制剂均含有氨基极性基团, 可与水分子形成氢键作用, 从而与水有很好的互溶性, 同时NBPT结构中含有正丁基基团, 因此, 2种抑制剂均为极性化合物且NBPT的极性小于DCD。由于分子结构的原因会使2种抑制剂在乙腈与水不同体积比的溶剂中溶解度不同, 当利用液相色谱对

NBPT、DCD同时分析时, 流动相需采用梯度洗脱模式。

在确定了梯度洗脱程序中流动相的混合比例后, 考察不同流速(0.8、1.0、1.2 mL/min)对2种抑制剂的分离情况。结果表明, 在其他色谱分析条件不变的情况下, 1.0 mL/min的流速分离效果较好, 也不会造成柱压升高进而损坏色谱柱的情况, 最终确定流动相流速为1.0 mL/min。

2.1.2 检测波长的选择

称取NBPT、DCD试剂约0.01 g于2个100 mL容量瓶中, 加水经超声溶解后定容、摇匀。过水相滤膜后依次进样分析, 得到2种抑制剂的光谱视图(图2), 考虑到乙腈在末端吸收的影响, NBPT、DCD的最佳检测波长选取分别为205、214 nm, 此时, 2种抑制剂的灵敏度较高、干扰也较少。

表4 各国现行标准在NBPT和DCD测定方法上的区别

项目	EN 15688:2008 或 EN 16651:2015	NY/T 3038—2016	EN 15360:2007	NY/T 2877—2015
适用氮肥增效助剂种类	NBPT	NBPT	DCD	DCD
流动相体系	乙腈/水(90/10、85/15或25/75)	乙腈/水(25/75)	甲醇/水(99/1)	甲醇/水(99/1)
色谱柱	C18或RP8	RP8	C18	RP18
测定波长	200 nm或205 nm	未指明	220 nm	220 nm

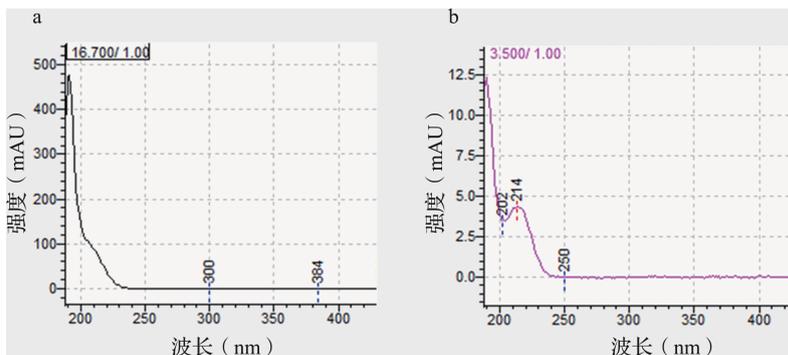


图2 NBPT和DCD光谱视图

注: 图a为NBPT; 图b为DCD。

2.2 试样提取溶剂的选择

采用溶剂1(水)、溶剂2(乙腈/水=25/75)分别对1.2中的编号3样品进行试样溶液制备, 过水相

滤膜后分析测定结果见表5。由表5可知, 试样经不同溶剂提取所得2种抑制剂的平均含量及回收率基本一致, 为便于实验操作最终确定以水作为提取溶剂。

表5 2种抑制剂经不同溶剂提取的实验结果

溶剂	NBPT					DCD				
	1	2	平均含量 (%)	理论含量 (%)	平均回收率 (%)	1	2	平均含量 (%)	理论含量 (%)	平均回收率 (%)
1	1.98	1.94	1.96	2.01	97.5	2.08	2.09	2.08	2.02	103.0
2	1.98	1.97	1.98	2.01	98.5	2.07	2.07	2.07	2.02	102.5

2.3 标准线性方程与定量限

对 1.3.2 中的系列混标溶液按 1.3.3 仪器条件依次进样分析, 以每种抑制剂标准溶液的浓度为横坐标, 对应峰面积为纵坐标进行线性拟合, 2 种抑制剂的标准线性方程等信息见表 6。结果表明, NBPT 在 5 ~ 100 mg/L 浓度范围内线性关系良好, 线性相关系数 $R^2 > 0.9999$, 定量限为 0.15 mg/L; DCD 在 1 ~ 100 mg/L 浓度范围内线性关系良好, 线性相关系数 $R^2 > 0.9999$, 定量限为 0.02 mg/L。

表 6 标准线性方程及定量限

参数	NBPT	DCD
线性方程	$y=15465.50x+1607.57$	$y=88527.70x+21233.70$
相关系数 (R^2)	0.99992	0.99996
浓度范围 (mg/L)	5 ~ 100	1 ~ 100
定量限 (mg/L)	0.15 (S/N=332.21)	0.02 (S/N=400.05)

2.4 回收率实验

对 1.2 中编号 1 ~ 5 样品按 1.3.1 制备后进样分析, 所得色谱图见图 3。由图 3 可知, 该方法能将各种肥料样品中的 NBPT 与 DCD 进行有效分离, 可用于 2 种类型抑制剂的同时测定。

分别记录编号 1 ~ 5 样品中 2 种抑制剂的峰面积, 并根据理论含量计算回收率, 结果见表 7。由表 7 可知, 2 种抑制剂的回收率分别为 91.1% ~ 104.8% 和 90.9% ~ 107.6%, 表明该方法的准确度较高。

2.5 精密度实验

2.5.1 方法精密度实验

对 1.2 中的编号 3 样品平行制备 6 份样品溶液, 并按 1.3.3 仪器条件进样分析, 分别计算 2 种抑制剂含量, 计算结果见表 8。由表 8 可知, 2 种抑制剂进行 6 次平行测定的相对标准偏差分别为 1.94% 和 0.84%, 表明该方法的精密度较高。

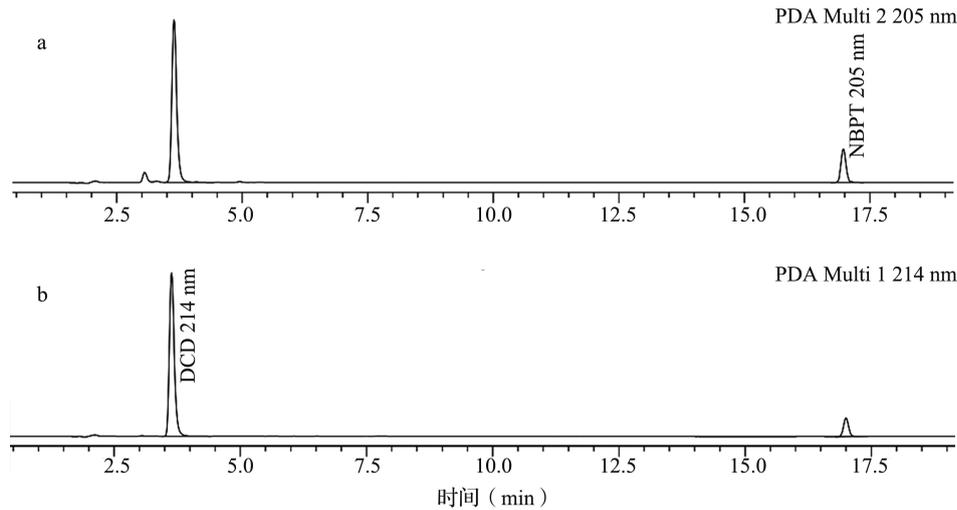


图 3 样品色谱图

注: 图 a 为 NBPT 205 nm; 图 b 为 DCD 214 nm。

表 7 回收率实验结果

样品编号	NBPT					DCD				
	1	2	平均含量 (%)	理论含量 (%)	平均回收率 (%)	1	2	平均含量 (%)	理论含量 (%)	平均回收率 (%)
1	0.21	0.23	0.22	0.21	104.8	0.20	0.20	0.20	0.22	90.9
2	1.76	1.74	1.75	1.92	91.1	2.04	1.98	2.01	1.92	104.7
3	1.98	1.94	1.96	2.01	97.5	2.08	2.09	2.08	2.02	103.0
4	0.20	0.20	0.20	0.21	95.2	0.23	0.23	0.23	0.22	104.5
5	0.96	1.00	0.98	0.98	100.0	1.10	1.16	1.13	1.05	107.6

表 8 精密度实验结果

测定次数	NBPT 含量 (%)	DCD 含量 (%)
1	1.96	2.08
2	2.02	2.08
3	2.04	2.10
4	2.01	2.05
5	2.06	2.07
6	1.97	2.06
平均值 (%)	2.01	2.07
RSD (%)	1.94	0.84

2.5.2 国际实验室间比对实验
新国际标准 ISO/DIS 6650 由本文开发的高效

液相色谱分析方法为基础进行制定。为研究 ISO/DIS 6650 中测定方法在全球范围内的重复性和再现性,并进一步验证该方法作为国际标准进行推广的可行性,组织了全球 18 家分析实验室对该方法进行了国际实验室间比对。比对研究按国际标准草案 ISO/DIS 6650 制定程序进行,实验样品为 1.2 中所述的 4 个样品 (A ~ D),实验数据的统计分析依据 ISO 5725—2:2019《测量方法与结果的准确度(正确度与精密度)第 2 部分:确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法》^[17]进行。

全球 18 家实验室测定的 4 个肥料样品中 2 种抑制剂含量原始数据见表 9。

表 9 国际实验室间比对 2 种抑制剂含量测定原始数据 (%)

实验室 (编号 i)	样品 NBPT 质量分数 (水平 j ₁)								样品 DCD 质量分数 (水平 j ₂)							
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1	0.845	0.863	4.638	3.725	1.273	1.284	0.165	0.166	0.885	0.915	4.593	3.870	1.802	1.843	0.198	0.201
2	1.025	1.094	4.309	4.569	1.359	1.360	0.215	0.195	—	—	—	—	—	—	—	—
3	0.829	0.836	3.972	4.178	1.665	1.591	0.153	0.133	0.882	0.894	4.068	4.231	1.665	1.591	0.178	0.168
4	0.951	0.947	4.210	4.135	1.310	1.328	0.179	0.179	0.998	0.999	4.299	4.255	1.832	1.828	0.199	0.199
5	0.918	0.923	4.484	4.484	1.356	1.357	0.175	0.175	0.980	0.984	4.665	4.717	1.896	1.891	0.199	0.198
6	0.931	0.928	4.086	4.089	1.268	1.301	0.176	0.173	0.990	0.990	4.274	4.258	1.810	1.811	0.193	0.196
7	0.931	0.983	4.426	4.359	1.336	1.351	0.177	0.176	1.039	1.095	4.810	4.732	1.968	1.982	0.196	0.200
8	0.906	0.931	4.430	4.199	1.282	1.276	0.165	0.158	1.112	1.126	5.039	4.863	1.969	1.932	0.212	0.211
9	0.983	0.970	4.234	4.099	1.320	1.381	0.171	0.170	1.054	1.027	4.403	4.261	1.869	1.943	0.203	0.203
10	0.876	0.900	4.243	4.400	1.309	1.332	0.200	0.196	0.995	0.992	4.558	4.712	1.993	1.946	0.203	0.199
11	0.910	0.908	3.969	4.189	1.284	1.287	0.177	0.175	0.954	0.972	4.137	4.268	1.811	1.785	0.200	0.197
12	1.010	0.936	4.380	4.250	1.480	1.350	0.212	0.213	1.020	0.935	4.560	4.410	2.020	1.940	0.206	0.207
13	0.945	0.973	4.576	4.761	1.553	1.331	0.168	0.168	1.000	1.013	4.779	5.050	1.920	1.884	0.204	0.204
14	0.982	0.969	4.274	4.143	1.284	1.245	0.158	0.172	0.947	0.993	4.666	4.499	1.932	1.906	0.170	0.165
15	0.985	0.998	4.367	4.477	1.349	1.324	0.195	0.195	1.090	1.085	4.533	4.625	2.032	1.951	0.193	0.195
16	0.962	0.992	4.130	4.074	1.376	1.425	0.177	0.176	1.083	1.135	4.700	4.608	2.022	2.081	0.206	0.210
17	0.799	0.790	3.753	3.852	1.157	1.131	0.222	0.222	1.030	1.020	4.665	4.782	2.001	1.959	0.199	0.199
18	1.039	0.982	4.544	4.298	1.201	1.242	0.170	0.163	1.032	1.052	4.851	4.576	1.870	1.829	0.202	0.201

注:实验室 2 为离群实验室,所报告的关于 DCD 含量的 4 个样本数据在其测试结果水平上具有过大的系统误差。

依据 ISO 5725—2:2019 第 2 部分^[17]对数据的有效性进行统计检验,应用柯克伦 (Cochran) 检验对实验室内数据一致性进行检验,然后对通过 Cochran 检验的数据再应用格拉布斯 (Grubbs) 检验对实验室间的数据一致性进行检验。经 Cochran 及 Grubbs 依次检验后发现,NBPT 测定原始数据中

在实验室 1 的 B 样品、实验室 3、12 和 13 的 C 样品所测数据的绝对差过大,因此剔除这 4 组数据;DCD 测定原始数据中在实验室 1 的 B 样品、实验室 3 的 C 样品、实验室 3 和 14 的 D 样品所测数据的绝对差过大,因此剔除这 4 组数据。所产生的离群值或歧离值均由随机误差引起。

计算通过有效性检验的 2 种抑制剂含量测定结果的平均值 (m)、重复性标准差 (s_r) 和再现性标准差 (s_R)。由于 2 种抑制剂的 s_r 、 s_R 与对应的 m 均具有明显的线性关系, 因此, 将 s_r 、 s_R 与 m 进行线

性拟合, 以此来表征该方法的精密度, 平均值计算及拟合结果等见表 10。由表 10 可知实验中 2 种抑制剂的含量水平范围, 该方法在全球范围内具有良好的适用性以及较高的精密度。

表 10 2 种抑制剂的含量平均值和标准差计算结果

参数	NBPT				DCD			
	A	B	C	D	A	B	C	D
有效实验室数据数目	18	17	15	18	17	16	16	15
离群值和歧离值数目	0	1	3	0	0	1	1	2
平均值 m (%)	0.938	4.263	1.303	0.179	1.009	4.558	1.914	0.201
重复性标准差 s_r (%)	0.0236	0.1110	0.0208	0.0056	0.0231	0.1060	0.0324	0.0017
m 与 s_r 的函数关系	0.0264 m -0.0039 ($R^2=0.9810$)				0.0238 m -0.0049 ($R^2=0.9847$)			
再现性标准差 s_R (%)	0.0673	0.2204	0.0651	0.0202	0.0665	0.2596	0.0792	0.0050
m 与 s_R 的函数关系	0.0487 m +0.0120 ($R^2=0.9913$)				0.0572 m -0.0074 ($R^2=0.9770$)			

3 结论

本文利用二极管阵列检测器对 2 种抑制剂在各自特征波长进行测定的优势, 建立了对肥料中 NBPT 和 DCD 同时测定的高效液相色谱分析方法。相较于国内外针对上述物质单独分别分析方法^[12-16], 本文开发的方法操作步骤简单, 节约了部分样品溶液制备和液相上机的人力和时间成本, 可将各种肥料样品中的 NBPT 和 DCD 进行有效分离及准确测定。通过对全球 18 家实验室间比对实验数据的统计分析, 验证了本文所开发的方法具有良好的适用性以及较高的精密度, ISO/DIS 6650 可作为新的国际标准推广使用。

参考文献:

- [1] Chen M, Sun F, Shindo J. China's agricultural nitrogen flows in 2011: Environmental assessment and management scenarios [J]. Resources, Conservation and Recycling, 2016, 111: 10-27.
- [2] 孙志梅, 武志杰, 陈利军, 等. 农业生产中的氮肥施用现状及其环境效应研究进展 [J]. 土壤通报, 2006, 37 (4): 782-786.
- [3] 朱兆良. 关于土壤氮素研究中的几个问题 [J]. 土壤学进展, 1989, 17 (2): 1-9.
- [4] 全国肥料和土壤调理剂技术委员会. 稳定性肥料: GB/T 35113-2017 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [5] International Organization for Standardization. Fertilizers and soil conditioners-Vocabulary: ISO 8157: 2015 [S]. Geneva, Switzerland: ISO, 2015.
- [6] 奚振邦, 黄培钊, 段继贤. 现代化学肥料学 [M]. 增订版. 北京: 中国农业出版社, 2013: 148-153.
- [7] 李思平, 刘蕊, 刘家欢, 等. 稳定性肥料产业发展创新及展望 [J]. 现代化工, 2022, 42 (11): 1-8.
- [8] 黄益宗, 冯宗炜, 王效科, 等. 硝化抑制剂在农业上应用的研究进展 [J]. 土壤通报, 2002, 33 (4): 310-315.
- [9] 张惠, 王志国, 张晴雯, 等. 抑制剂 NBPT/DCD 不同组合对灌区碱性灌淤土中氨挥发及有效氮积累量的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2015, 34 (3): 606-612.
- [10] 柯福来, 黄瑞冬, 马兴林, 等. 化学抑制型氮素释放延缓剂对玉米产量和品质的影响 [J]. 玉米科学, 2007, 15 (2): 111-113.
- [11] 中华人民共和国农业部. 肥料增效剂效果试验和评价要求: NY/T 2543-2014 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2014.
- [12] 中华人民共和国农业部. 肥料增效剂 正丁基硫代磷酸三胺 (NBPT) 和正丙基硫代磷酸三胺 (NPPT) 含量的测定: NY/T 3038-2016 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2016.
- [13] 中华人民共和国农业部. 肥料增效剂 双氰胺含量的测定: NY/T 2877-2015 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
- [14] European Committee for Standardization. Fertilizers-Determination of N-(n-Butyl) thiophosphoric acid triamide (NBPT) and N-(n-Propyl) thiophosphoric acid triamide (NPPT) -Method using high-performance liquid chromatography (HPLC): EN 16651:2015 [S]. Brussels, Belgium: European Committee for Standardization, 2015.
- [15] European Committee for Standardization. Fertilizers-Determination of dicyandiamide-Method using high-performance liquid chromatography (HPLC): EN 15360:2007 [S]. Brussels, Belgium: European Committee for Standardization, 2007.
- [16] European Committee for Standardization. Fertilizers-Determination of urease inhibitor N-(n-butyl) thiophosphoric

triamide (NBPT) using high-performance liquid chromatography (HPLC): EN 15688:2008 [S]. Brussels, Belgium: European Committee for Standardization, 2008.

[17] International Organization for Standardization. Accuracy

(trueness and precision) of measurement methods and results—Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method; ISO 5725-2:2019 [S]. Geneva, Switzerland; ISO, 2019.

Simultaneous determination of two inhibitors in fertilizers by high performance liquid chromatography and development of related international standard

WANG Xin-hui^{1, 2}, TIAN Ye-wei^{1, 2}, HUANG He-qing^{1, 2*}, YAN Kun^{1, 2}, CHU De-ren^{1*} (1. Shanghai Research Institute of Chemical Industry, Co., Ltd., Shanghai 200062; 2. Shanghai Institute of Chemical Industry Testing Co., Ltd., Shanghai 200062)

Abstract: In order to solve the problem existing in the determination method of nitrification inhibitors and achieve effective management and control of new fertilizers, an analytical method for simultaneous determination of NBPT and DCD in fertilizers was established by high performance liquid chromatography. The results showed that the linear relationship between the mass concentration of the two inhibitors and the value of the corresponding chromatographic peak area was good in the linear range. The correlation coefficients were all greater than 0.9999. The recoveries were 91.1%-104.8% and 90.9%-107.6%, and the relative standard deviations of 6 parallel determinations were 1.94% and 0.84%, respectively. At the same time, through the statistical analysis of an international comparison test between 18 international laboratories world-widely, it indicated that the method not only had the advantages of simple pretreatment, good separation effect and accurate detection, but also had the advantages of wide applicability and high precision. New international standard of ISO/DIS 6650 was a good testing method which could be used world-widely.

Key words: high performance liquid chromatography; NBPT; DCD; international standard