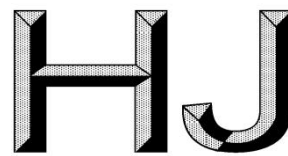


附件 12



中华人民共和国国家环境保护标准

HJ □□□-20□□

水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法

Water quality— Determination of glyphosate
— High performance liquid chromatography

(征求意见稿)

201□-□□-□□发布

201□-□□-□□实施

生态环境部 发布

目 次

前 言.....	ii
1 适用范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 方法原理.....	1
4 试剂和材料.....	1
5 仪器和设备.....	2
6 样品.....	2
7 分析步骤.....	3
8 结果计算与表示.....	4
9 精密度和准确度.....	5
10 质量保证和质量控制.....	6
11 废物处理.....	6

前 言

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》和《中华人民共和国水污染防治法》，保护生态环境，保障人体健康，规范水中草甘膦的测定方法，制定本标准。

本标准规定了测定地表水、地下水、生活污水、工业废水中草甘膦的高效液相色谱法。

本标准首次发布。

本标准由生态环境部生态环境监测司、法规与标准司组织制订。

本标准起草单位：环境保护部南京环境科学研究所。

本标准验证单位：江苏省环境监测中心、安徽省环境监测中心站、常州市环境监测中心、无锡市环境监测中心站、泰州市环境监测中心站、南京市环境监测中心站。

本标准环境保护部 201□年□□月□□日批准。

本标准自 201□□年□□月□□日起实施。

本标准由生态环境部解释。

水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法

警告：实验中使用的部分溶剂及标准样品具有一定的毒性，对健康具有潜在的危害，其溶液配制应在通风橱中进行；操作时应按规定要求佩带防护器具，避免接触皮肤和衣物。

1 适用范围

本标准规定了测定水中草甘膦的柱前衍生-高效液相色谱法。

本标准适用于地表水、地下水、生活污水和工业废水中草甘膦的测定。

当进样量为 20 μ l 时，方法的检出限为 2 μ g/L，测定下限为 8 μ g/L。

2 规范性引用文件

本标准内容引用了下列文件或其中的条款。凡是不注明日期的引用文件，其有效版本适用于本标准。

HJ/T 91 地表水和污水监测技术规范

HJ/T 164 地下水环境监测技术规范

3 方法原理

在水样（pH=4~9）中加入柠檬酸三钠络合金属离子，经固相萃取柱净化，净化后水样中的草甘膦与 9-芴甲基氯甲酸酯（FMOC-Cl）进行衍生化反应，生成的荧光产物经二氯甲烷净化，去除衍生化副产物后用高效液相色谱分离，经荧光检测器检测。以保留时间和特征波长定性，外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准和分析纯试剂，实验用水为无目标化合物检出的去离子水。

4.1 乙腈（CH₃CN）：HPLC级。

4.2 甲醇（CH₃OH）：HPLC级。

4.3 二氯甲烷（CH₂Cl₂）。

4.4 磷酸（H₃PO₄）： ρ （H₃PO₄）=1.69g/ml，优级纯。

4.5 磷酸溶液：2+998。

取2.0ml磷酸（4.4）于1000ml容量瓶中，用去离子水定容至刻度，混匀。

4.6 二水合柠檬酸三钠（Na₃C₆H₅O₇·2H₂O）。

4.7 十水合四硼酸钠（Na₂B₄O₇·10H₂O）。

4.8 四硼酸钠溶液： $c=0.05\text{mol/L}$ 。

称取十水合四硼酸钠（4.7）1.91g 溶于少量去离子水中，定容至 100ml。

4.9 9-苄甲基氯甲酸酯（ $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_2$ ）标准品：纯度不低于99.0%，4℃保存。

4.10 9-苄甲基氯甲酸酯乙腈溶液： $\rho=1000\text{mg/L}$ 。

称取50.0mg 9-苄甲基氯甲酸酯标准品（4.9），溶解于少量乙腈（4.1）中，转移至50ml 容量瓶，用乙腈定容至刻度并超声使其充分溶解，4℃保存，保质期3个月。使用时应恢复至室温，并摇匀。

4.11 草甘膦（ $\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}$ ）标准品：纯度不低于99.0%，4℃保存。

4.12 草甘膦标准贮备液： $\rho=1000\text{mg/L}$ 。

准确称取50.0mg草甘膦标准品（4.11），用去离子水溶解，转移至50ml容量瓶中，用去离子水定容至刻度并超声使其充分溶解，4℃保存，保质期6个月，或直接购买有证标准溶液。使用时应恢复至室温，并摇匀。

4.13 草甘膦标准使用液： $\rho=10.0\text{mg/L}$ 。

用去离子水稀释草甘膦标准贮备液（4.12），配置浓度为10mg/L的草甘膦标准使用液，4℃保存，保质期2个月。使用时应恢复至室温，并摇匀。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪（HPLC）：具有荧光检测器。

5.2 色谱柱：填料为十八烷基键合硅胶（ C_{18} ）的色谱柱，或其他等效类型液相色谱柱。参考规格250mm×4.6mm，5 μm 。

5.3 pH计（可精确到0.1）。

5.4 水平振荡器。

5.5 固相萃取柱：填料为二乙烯苯和N-乙烯基吡咯烷酮共聚物或填料为十八烷基硅胶的萃取柱，或同等柱效的萃取柱，规格为500mg/6ml。

5.6 聚乙烯塑料（PE）管：10ml。

5.7 电子天平：精度为0.1mg。

5.8 一般实验室常用仪器和设备。

6 样品

6.1 样品的采集

参照 HJ/T 91 和 HJ/T 164 的相关规定采集样品。

用预先洗涤干净并干燥的磨口棕色玻璃瓶（250ml）采集水样，水样满瓶采集。

6.2 样品的保存

样品采集后，调 pH 至 4~9，密闭储存于棕色玻璃瓶中，避光 4℃冷藏保存，7 天内完成样品萃取及分析工作。

6.3 试样的制备

6.3.1 固相萃取净化

依次用 6ml 甲醇（4.2）和 6ml 去离子水活化固相萃取柱（5.5），保证小柱柱头浸润。量取 10ml 水样，加入 29.3mg 柠檬酸三钠（4.6），混匀后在自然重力作用下通过固相萃取柱，收集过滤后的水样，待衍生。

6.3.2 衍生化反应

取 2.0ml 净化后的水样于聚乙烯塑料（PE）管（5.6）中，加入 0.5ml 四硼酸钠溶液（4.8），1.0ml 9-芴甲基氯甲酸酯乙腈溶液（4.10），充分混匀后置于水平振荡器（5.4）上，40℃条件下衍生 1h。

6.3.3 液液萃取

在衍生后的水样中加入 5ml 二氯甲烷（4.3），涡旋萃取 2min，取水相层，经 0.45μm 滤膜过滤后待测。

6.4 空白试样的制备

用实验用水代替样品，按照与试样的制备（6.3）相同的步骤进行实验室空白试样的制备。

7 分析步骤

7.1 测量条件

流动相：乙腈（A），0.2%磷酸水溶液（B），梯度洗脱程序如表1所示。

流速：1.0ml/min。

柱温：30℃。

进样量：20μl。

荧光条件：激发波长254nm；发射波长315nm、302nm。

表 1 梯度洗脱程序

时间（min）	比例 A（%）	比例 B（%）
0	35	65
10	25	75
15	80	20
20	35	65

7.2 工作曲线的建立

分别取适量的草甘膦标准使用液（4.13），用水稀释，制备至少5个浓度点的标准系列，

草甘膦的质量浓度分别为10μg/L、20μg/L、50μg/L、100μg/L、200μg/L、500μg/L（此为参考浓度）。按6.3.2步骤进行衍生化反应，按6.3.3步骤液液萃取，然后按仪器参考条件（7.1），浓度由低到高依次进样，以草甘膦的浓度为横坐标，对应的色谱峰面积为纵坐标，建立标准曲线。

7.3 试样测定

按照与校准曲线的建立（7.2）相同的仪器条件进行试样（6.3）的测定。

7.4 空白试验

按照与试样测定（7.3）相同的仪器条件进行（实验室）空白试样（6.4）的测定。

8 结果计算与表示

8.1 定性分析

根据样品中目标化合物的保留时间定性，必要时可采用标准加入法、不同波长下的荧光强度比值等方法辅助定性。

在本标准推荐的色谱条件下（7.1），草甘膦的标准色谱图见图1。

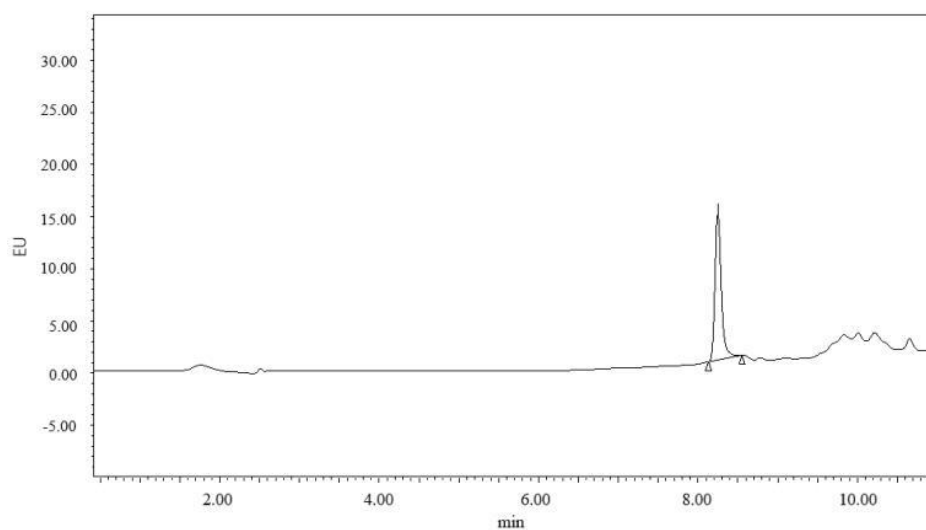


图1 草甘膦标准色谱图（10μg/L）

8.2 定量分析

水样中的草甘膦用外标法定量，按公式（1）进行计算：

$$\rho = \frac{A-a}{b} \times f \quad (1)$$

式中： ρ ——水样中草甘膦的质量浓度，μg/L；

A ——草甘膦的峰面积或峰高；

a ——校准曲线的截距；
 b ——校准曲线的斜率；
 f ——水样的稀释倍数。

8.3 结果表示

当测定结果小于100 $\mu\text{g/L}$ 时，保留整数位；当结果大于100 $\mu\text{g/L}$ 时，保留三位有效数字。

9 精密度和准确度

9.1 精密度

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 和100 $\mu\text{g/L}$ 的地表水样品进行了6次重复测定，实验室内相对标准偏差分别为：2.1%~9.1%、2.4%~8.4%；实验室间相对标准偏差为6.7%、6.3%；重复性限分别为2 $\mu\text{g/L}$ 、14 $\mu\text{g/L}$ ，再现性限分别为3 $\mu\text{g/L}$ 、8 $\mu\text{g/L}$ 。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 和100 $\mu\text{g/L}$ 的地下水样品进行了6次重复测定，实验室内相对标准偏差分别为：1.6%~9.9%、1.3%~3.9%；实验室间相对标准偏差为2.0%、4.8%；重复性限分别为2 $\mu\text{g/L}$ 、9 $\mu\text{g/L}$ ，再现性限分别为2 $\mu\text{g/L}$ 、7 $\mu\text{g/L}$ 。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 和100 $\mu\text{g/L}$ 的生活污水样品进行了6次重复测定，实验室内相对标准偏差分别为：3.3%~7.6%、2.7%~7.5%；实验室间相对标准偏差为6.2%、8.5%；重复性限分别为2 $\mu\text{g/L}$ 、14 $\mu\text{g/L}$ ，再现性限分别为3 $\mu\text{g/L}$ 、9 $\mu\text{g/L}$ 。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、1000 $\mu\text{g/L}$ 的工业废水（总排口）样品进行了6次重复测定，实验室内相对标准偏差分别为：2.4%~9.5%、3.4%~7.8%、1.7%~8.4%；实验室间相对标准偏差为7.5%、4.8%、8.4%；重复性限分别为2 $\mu\text{g/L}$ 、15 $\mu\text{g/L}$ 、34 $\mu\text{g/L}$ ，再现性限分别为3 $\mu\text{g/L}$ 、7 $\mu\text{g/L}$ 、26 $\mu\text{g/L}$ 。

9.2 准确度

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 和100 $\mu\text{g/L}$ 的地表水样品进行了分析测定，加标回收率分别为91.5%~105%、92.9%~109%，加标回收率最终值为97.2% \pm 13.0%、98.7% \pm 12.4%。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 和100 $\mu\text{g/L}$ 的地下水样品进行了分析测定，加标回收率分别为89.4%~103%、92.9%~107%，加标回收率最终值为98.8% \pm 10.2%、100% \pm 9.6%。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 和100 $\mu\text{g/L}$ 的生活污水样品进行了分析测定，加标回收率分别为88.5%~105%、85.0%~108%，加标回收率最终值为97.8% \pm 12.0%、97.7% \pm 16.6%。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、1000 $\mu\text{g/L}$ 的工业废水（总排口）样品进行了分析测定，加标回收率分别为84.6%~105%、92.3%~106%、89.7%~111%，加标回收率最终值为96.4% \pm 14.4%、98.7% \pm 9.4%、98.0% \pm 16.8%。

6家实验室对草甘膦浓度为14.5 $\mu\text{g/L}$ 的工业废水（车间排口）分别加标10 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 进行了分析测定，加标回收率分别为87.0%~108%、87.7%~107%，加标回收率最终值为

97.7%±15.4%、95.8%±13.4%。

10 质量保证和质量控制

10.1 空白试验

每20个样品或每批次（少于20个样品）应至少做一个空白试验，空白中草甘膦的浓度应低于方法检出限。

10.2 初始校准

校准曲线的相关系数 ≥ 0.995 。

10.3 工作曲线核查

每20个样品或每批次（少于20个样品）应测定一个校准曲线中间浓度点标准溶液，测定结果与曲线该点浓度的相对误差应 $\leq 15\%$ ，否则，应建立新的校准曲线。

10.4 平行样

每10个样品或每批次（少于10个样品）应带一个平行样，平行样的相对偏差 $\leq 20\%$ 。

10.5 基体加标

每20个样品或每批次（少于20个样品）应进行一个基体加标样的分析，基体加标回收率应控制在70%~130%。

11 废物处理

实验中产生的废液应集中收集，并做好相应标识，委托有资质的单位进行处理。
