



中华人民共和国国家环境保护标准

HJ□□□-20□□

水质 百草枯和杀草快的测定 固 相萃取-高效液相色谱法

Water quality-Determination of paraquat and disquat-Solid phase
extraction-High performance liquid chromatography

（征求意见稿）

201□-□□-□□发布

201□-□□-□□实施

环 境 保 护 部 发布

目 次

前 言	ii
1 适用范围.....	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.....	4
10 质量控制和质量保证.....	5
附录A （规范性附录） 目标化合物检出限和测定下限	6
附录B （资料性附录 ）方法精密度和准确度	7

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》，保护环境，保护人体健康，规范水中百草枯和杀草快的测定方法，制定本标准。

本标准规定了测定地表水、地下水和废水中百草枯（1,1-二甲基-4,4-联吡啶阳离子盐）和杀草快（1,1'-乙撑-2,2'-联吡啶二溴盐）的固相萃取高效液相色谱法。

本标准为首次发布。

本标准的附录A为规范性附录，附录B为资料性附录。

本标准由环境保护部科技标准司组织制定。

本标准起草单位：浙江省环境监测中心。

本标准参与验证单位：江苏省环境监测中心、浙江省舟山海洋生态环境监测站、杭州市环境监测中心站、苏州市环境监测中心、绍兴市环境监测中心站、嘉兴市环境保护监测站。

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。

本标准由环境保护部解释。

水质 百草枯和杀草快的测定 固相萃取-高效液相色谱法

1 适用范围

本标准规定了测定水中百草枯（1,1-二甲基-4,4-联吡啶阳离子盐）和杀草快（1,1'-乙撑-2,2'-联吡啶二溴盐）的固相萃取高效液相色谱法。

本标准适用于地表水、地下水和废水中百草枯和杀草快的测定。

本标准方法的检出限随仪器的灵敏度、样品中农药浓度及干扰水平等因素变化。

地表水：取样量为 500ml 水样，定容为 1.0ml 时，百草枯检出限和测定下限分别为 0.3μg/L、1.0μg/L；杀草快检出限和测定下限分别为 0.4μg/L、1.5μg/L。

废水：取样量为 100ml 水样，定容为 1.0ml 时，百草枯检出限和测定下限分别为 0.7μg/L、2.8μg/L；杀草快检出限和测定下限分别为 1.0μg/L、4.1μg/L。

地下水：取样量为 200ml 水样，定容为 1.0ml 时，百草枯检出限和测定下限分别为 1.2μg/L、4.5μg/L；杀草快检出限和测定下限分别为 1.0μg/L、3.8μg/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。

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

HJ/T 91-2002 地表水和污水监测技术规范

3 方法原理

采用弱阳离子交换固相萃取小柱富集水中百草枯和杀草快，用含甲酸的乙腈溶液洗脱，洗脱液浓缩后用亲水色谱柱分离，紫外检测器定性定量分析。

由于百草枯和杀草快在溶液中呈离子态，实验需使用塑料器皿。

4 试剂和材料

4.1 乙腈（CH₃CN）：液相色谱纯。

4.2 甲醇（CH₃OH）：液相色谱纯。

4.3 甲酸（HCOOH）：液相色谱纯。

4.4 甲酸铵（HCOONH₄）：优级纯。

4.5 甲酸铵缓冲溶液

0.2mol/L 的甲酸铵溶液，用甲酸调节 pH 值至 2~3。

4.6 水：超纯水，电导率为 18.2MΩ。

4.7 标准品

市售有证标准即可。本标准方法开发时百草枯和杀草快标准品为固体，需自行配制不同

浓度。

4.8 标准贮备液

配制浓度为 100mg/L 的百草枯和杀草快的溶液，4℃ 以下避光保存。

4.9 标准使用液

取 0.5ml 标准贮备液于 5ml 溶液瓶中，定容至刻度，该溶液中含目标物 10.0mg/L，4℃ 以下避光保存。

4.10 洗脱液：乙腈（含 2%甲酸，体积比）。

4.11 氮气：纯度≥99.999%，用于样品的干燥浓缩。

4.12 硫代硫酸钠溶液：浓度为 100.0mg/L。

4.13 浓硫酸：分析纯。

5 仪器和设备

5.1 采样器

应符合 HJ/T 91-2002 的要求，并使用对目标物无吸附作用的塑料材质器具，样品用 PVC 高密度瓶或聚丙烯瓶装，采样前需清洗、去离子水涮洗、晾干。

5.2 器皿

5.2.1 5ml 容量瓶，聚丙烯材质。

5.2.2 样品瓶，聚丙烯材质。

5.3 天平，精确至 0.0001g。

5.4 pH 计，准确至小数点后 1 位。

5.5 固相萃取仪

弱阳离子交换柱（150mg/6.0ml），只要能满足分析要求，可使用其它具有同等萃取性能的填料。必须保证对目标物无吸附。

5.6 液相色谱仪（HPLC）

5.6.1 具有可调波长紫外检测器和梯度洗脱功能。

5.6.2 色谱柱：填料为 5μm，柱长为 25cm，内径为 4.6mm 亲水作用色谱柱（填料为硅胶）或其它性能相近的色谱柱。

5.6.3 进样器：手动或自动进样器，进样量 50μl。

5.6.4 柱温箱。

5.6.5 紫外或二极管阵列检测器。

5.7 离心机

5.8 氮吹仪。

5.9 其它常用设备。

6 样品

6.1 样品的采集

样品必须用 PVC 高密度瓶或聚丙烯瓶采集，按照 HJ/T 91-2002 开展工作，如采用自动

采样设备，必须保证该设备任何部件不吸附目标物。如样品中含余氯，需加入硫代硫酸钠（加入量控制为 100mg/L）。如样品具有生物活性，必须用硫酸调节 pH 至 2，以免目标物被锁水剂吸附。

6.2 样品必须避光 4℃冰箱冷藏保存至前处理，目标物特别是杀草快见光易降解。

6.3 目标物的稳定性与样品基质有关，在有代表性基质中目标物采样起 7 天内是稳定的，因此需在采样起 7 天内完成萃取工作，萃取后 21 天内完成分析工作。

7 分析步骤

7.1 样品前处理

所有样品都经富集后测定。如样品中悬浮物较多，需对样品预先离心后上清液用固相萃取浓缩。

7.1.1 固相萃取

7.1.1.1 活化：分别用 2 ml 甲醇、水活化固相萃取小柱，在活化过程中勿让柱子流干。

7.1.1.2 上样：用 0.2M 的甲酸铵缓冲溶液调节水样至 pH6-7，控制真空度，保证水样上样速度为 1 滴/秒，上样量根据水样类型、工作需求和回收率确定，建议地表水 500ml，地下水 200ml-300ml，废水 100ml。

7.1.1.3 淋洗：2ml 甲醇淋洗。

7.1.1.4 洗脱：2 ml 2%甲酸的乙腈溶液洗脱两次。

7.1.2 浓缩：氮吹仪浓缩至 1.0ml，如果检出限不够，也可以浓缩至 0.5ml。

7.2 仪器条件

仪器参考条件如下。

7.2.1 色谱条件：流量为 1.0ml/min，具体梯度条件见表 1。

表 1 梯度条件

时间/min	甲酸铵缓冲溶液（pH=2~3）/%	乙腈/%
0	60	40
14	60	40

7.2.2 进样：50μl。

7.2.3 柱温：40℃。

7.2.4 检测器波长：百草枯为 257nm，杀草快为 308nm。

7.3 标准曲线绘制

7.3.1 标准系列：在 0.4~10μg/ml 之间至少配制 5 个标准系列，贮存于冷暗处。

7.3.2 标准曲线：分别进样不同浓度标准系列，进样量为 50μl，以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，绘制工作曲线，相关系数大于 0.999。

7.3.3 标样色谱图：目标物参考色谱图见图 1。

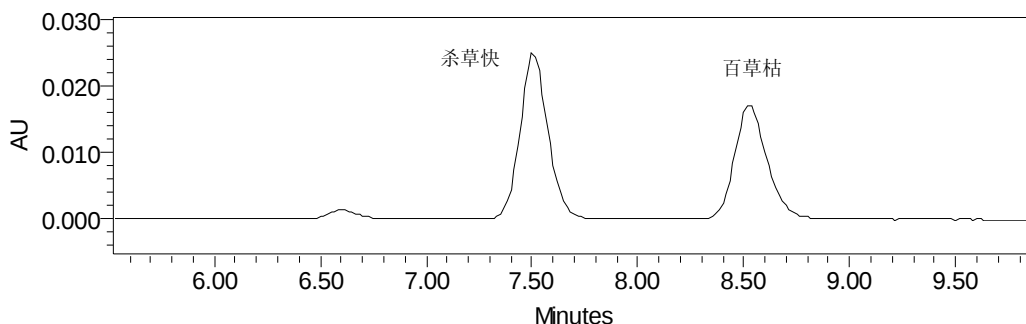


图 1 标样色谱图

7.4 样品的测定

将处理好的实际样品进样仪器分析，记录色谱峰的保留时间和峰面积。当本方法用于未知样品分析时，目标物的鉴别需同时用另外一种定性方法，如二极管阵列检测器产生的紫外吸收光谱可作为定性分析的依据。

7.5 空白试验：在分析样品的同时应做空白试验，即用超纯水代替实际样品，按相同步骤分析，检查分析过程中是否有污染。

8 结果计算与表示

按式（1）进行计算

$$\omega_i = \frac{\rho_i \times V_2}{V_1} \quad (1)$$

式中：

ω_i —样品浓度，mg/L；

ρ_i —提取液中目标物浓度，mg/L；

V_2 —定容体积，ml；

V_1 —取样量，ml。

当测定结果大于 100 μ g/L 时，保留 3 位有效数字；小于 100 μ g/L 时，与检出限一致。

9 精密度和准确度

9.1 精密度

地表水：6 个实验室对 20.0 μ g/L 加标样品进行测定，百草枯、杀草快的实验室间相对标准偏差分别为 8.9%、9.8%，实验室内相对标准偏差为 4.3%~12.1%、5.0%~14.9%，重复性分别为 5.0 μ g/L、4.7 μ g/L，再现性分别为 6.5 μ g/L、6.8 μ g/L。6 个实验室对 0.8 μ g/L 加标样品进行测定，百草枯、杀草快的实验室间相对标准偏差分别为 6.6%、8.3%，实验室内相对标准偏差分别为 2.6%~12.6%、3.8%~17.7%；重复性分别为 0.2 μ g/L、0.2 μ g/L，再现性分别为 0.2 μ g/L、0.3 μ g/L。

废水：6 个实验室对 100.0 μ g/L 加标样品进行测定，百草枯、杀草快的实验室间相对标准偏差分别为 6.1%、11.3%，实验室内相对标准偏差分别为 1.7%~11.1%、2.9%~12.5%，重

复性分别为 16.8 $\mu\text{g/L}$ 、17.0 $\mu\text{g/L}$ ，再现性分别为 22.9 $\mu\text{g/L}$ 、28.2 $\mu\text{g/L}$ 。6 个实验室对 5.0 $\mu\text{g/L}$ 加标样品进行测定，百草枯、杀草快的实验室间相对标准偏差分别为 1.4%、4.0%，实验室内相对标准偏差分别为 2.4%~5.7%、7.2%~12.9%；重复性分别为 0.4 $\mu\text{g/L}$ 、0.8 $\mu\text{g/L}$ ，再现性限分别为 0.4 $\mu\text{g/L}$ 、0.8 $\mu\text{g/L}$ 。

地下水：6 个实验室对 50.0 $\mu\text{g/L}$ 加标样品进行测定，百草枯、杀草快的实验室间相对标准偏差分别为 1.4%、6.0%，实验室内相对标准偏差分别为 0.6%~2.1%、0.6%~1.6%，重复性分别为 2.2 $\mu\text{g/L}$ 、1.1 $\mu\text{g/L}$ ，再现性分别为 2.8 $\mu\text{g/L}$ 、6.0 $\mu\text{g/L}$ 。6 个实验室对 2.5 $\mu\text{g/L}$ 加标样品进行测定，百草枯、杀草快的实验室间相对标准偏差分别为 9.8%、8.8%，实验室内相对标准偏差分别为 6.2%~14.4%、7.2%~11.6%；重复性分别为 0.6 $\mu\text{g/L}$ 、0.6 $\mu\text{g/L}$ ，再现性分别为 0.7 $\mu\text{g/L}$ 、0.8 $\mu\text{g/L}$ 。

9.2 准确度

地表水：6 个实验室分别对加标量为 20.0 $\mu\text{g/L}$ 、0.8 $\mu\text{g/L}$ 的样品进行测定，百草枯、杀草快加标回收率最终为 93.4 $\pm$ 16.6%、95.5 $\pm$ 18.8%，87.2 $\pm$ 11.4%、90.3 $\pm$ 14.8%。

废水：6 个实验室分别对加标量为 100.0 $\mu\text{g/L}$ 、5.0 $\mu\text{g/L}$ 加标样品进行测定，百草枯、杀草快加标回收率最终为 95.5 $\pm$ 12.2%、74.3 $\pm$ 16.8%，76.5 $\pm$ 2.2%、50.3 $\pm$ 2.0%。

地下水：6 个实验室分别对加标量为 50.0 $\mu\text{g/L}$ 、2.5 $\mu\text{g/L}$ 加标样品进行测定，百草枯、杀草快加标回收率最终为 103 $\pm$ 2.8%、71.1 $\pm$ 8.4%，76.1 $\pm$ 14.8%、89.5 $\pm$ 15.8%。

10 质量控制和质量保证

10.1 空白

所有空白测试结果应低于方法检出限。

10.1.1 试剂空白

每批试剂均应分析试剂空白。

10.1.2 全程空白

每分析一批样品至少分析一个全程空白。

10.2 加标回收

每批样品至少做 1 个加标样，加标回收率应与本标准方法验证相当。

10.3 平行样

每批样品至少分析 10% 的平行样，样品数量小于 10 个时至少分析 1 个平行样。当测定结果 $\leq$ 10 倍检测限，平行样相对偏差 $\leq$ 50%；当测定结果 $>$ 10 倍检测限，平行样相对偏差 $\leq$ 20%。

10.4 连续校准（中间点）

选择标准曲线的中间浓度点，每隔 12 小时测定一次，响应值变化值在 $\pm$ 20%以内。如果超过这个范围，应查找原因，重新测定。

附录 A

(规范性附录)

目标化合物检出限和测定下限

附表 A 方法检出限和测定下限 (μg/L)

序号	化合物	英文名称	CAS No	样品类型	检测限	测定下限
1	百草枯	Paraquat	1910-42-5	地表水	0.3	1.0
				废水	0.7	2.8
				地下水	1.2	4.5
2	杀草快	Diquat	85-00-7	地表水	0.4	1.5
				废水	1.0	4.1
				地下水	1.0	3.8

附录 B

(资料性附录)

方法精密度和准确度

附表 B.1 给出了方法的精密度。

附表 B.1 方法精密度

样品类型	序号	化合物	平均值 ($\mu\text{g/L}$)	实验室内相 对标准偏差 %	实验室间相 对标准偏差 %	重现性r ($\mu\text{g/L}$)	再现性R ($\mu\text{g/L}$)
地表水	20.0 $\mu\text{g/L}$						
	1	百草枯	18.7	4.3~12.1	8.9	5.0	6.5
	2	杀草快	19.1	5.0~14.9	9.8	4.7	6.8
	0.8 $\mu\text{g/L}$						
	1	百草枯	0.7	2.6~12.6	6.6	0.2	0.2
	2	杀草快	0.7	3.8~17.7	8.3	0.2	0.3
废水	100.0 $\mu\text{g/L}$						
	1	百草枯	99.5	1.7~11.1	6.1	16.8	22.9
	2	杀草快	74.3	2.9~12.5	11.3	17.0	28.2
	5.0 $\mu\text{g/L}$						
	1	百草枯	3.8	2.4~5.7	1.4	0.4	0.4
	2	杀草快	2.5	7.2~12.9	4.0	0.8	0.8
地下水	50.0 $\mu\text{g/L}$						
	1	百草枯	51.3	0.6~2.1	1.4	2.2	2.8
	2	杀草快	35.5	0.6~1.6	6.0	1.1	6.0
	2.5 $\mu\text{g/L}$						
	1	百草枯	1.9	6.2~14.4	9.8	0.6	0.7
	2	杀草快	2.2	7.2~11.6	8.8	0.6	0.8

附表 B.2 给出了方法的准确度。

附表 B.2 方法的准确度

样品类型	序号	化合物	平均值 ($\mu\text{g/L}$)	$\bar{P}$ (%)	$S_{\bar{P}}$ (%)	$\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
地表水	20.0 $\mu\text{g/L}$					
	1	百草枯	18.7	93.4	8.3	93.4 $\pm$ 16.6
	2	杀草快	19.1	95.5	9.4	95.5 $\pm$ 18.8
	0.8 $\mu\text{g/L}$					
	1	百草枯	0.7	87.2	5.7	87.2 $\pm$ 11.4
	2	杀草快	0.7	90.3	7.4	90.3 $\pm$ 14.8
废水	100.0 $\mu\text{g/L}$					
	1	百草枯	99.5	99.5	6.1	99.5 $\pm$ 12.2
	2	杀草快	74.3	74.3	8.4	74.3 $\pm$ 16.8
	5.0 $\mu\text{g/L}$					
	1	百草枯	3.8	76.5	1.1	76.5 $\pm$ 2.2
	2	杀草快	2.5	50.3	2.0	50.3 $\pm$ 4.0
地下水	50.0 $\mu\text{g/L}$					
	1	百草枯	51.3	103	1.4	93.4 $\pm$ 16.6
	2	杀草快	35.5	71.1	4.2	71.1 $\pm$ 8.4
	2.5 $\mu\text{g/L}$					
	1	百草枯	1.9	76.1	7.4	76.1 $\pm$ 14.8
	2	杀草快	2.2	89.5	7.9	89.5 $\pm$ 15.8