附件 7

《土壤和沉积物　草甘膦的测定 高效液相色谱法（征求意见稿）》 编制说明

《土壤和沉积物　草甘膦的测定　高效液相色谱法》

标准编制组

二 0 一八年六月

项目名称：土壤和沉积物　草甘膦的测定　高效液相色谱法

项目统一编号：**2015-22**

项目承担单位：环境保护部南京环境科学研究所

编制组主要成员：王娜，郭欣妍，孙立思，王光焱，孔德洋，焦少俊，顾卫东，单正军

标准所技术管理负责人：李琴

环境监测司项目负责人：赵国华

目　录

1 项目背景.....1
1.1 任务来源.....1
1.2 工作过程.....1
2 标准制修订的必要性分析.....3
2.1 草甘膦的环境危害.....3
2.2 相关环保标准和环保工作的需要.....4
3 国内外相关分析方法研究.....4
3.1 主要国家、地区及国际组织关于草甘膦的标准分析方法.....5
3.2 国内关于草甘膦的标准分析方法.....6
3.3 国内外的研究进展.....7
4 标准修订的基本原则和技术路线.....10
4.1 标准修订的基本原则.....10
4.2 标准的适用范围和主要技术内容.....10
4.3 标准修订的技术路线.....10
5 方法研究报告.....12
5.1 方法研究的目标.....12
5.2 方法原理.....12
5.3 试剂和材料.....12
5.4 仪器设备.....14
5.5 样品.....18
5.6 分析步骤.....19
5.7 方法的适用性.....31
5.8 结果计算与表示.....34
5.9 质量控制与保证.....35
6 方法验证.....36
6.1 方法验证方案.....36
6.2 方法验证过程.....38
6.3 方法验证结论.....39
6.4 方法验证数据的取舍.....39
7 与开题报告差异说明.....39
8 参考文献.....39
附一　方法验证报告.....43

《土壤和沉积物　草甘膦的测定　高效液相色谱法》征求意见稿

1 项目背景

1.1 任务来源

根据《关于开展2015年度国家环境保护标准项目实施工作的通知》（环办函〔2015〕329号），按照《国家环境保护标准制修订工作管理办法》（环保总局公告2006年第41号）的有关要求，环境保护部下达了《土壤和沉积物　草甘膦的测定　液相色谱法》制修订任务，由环境保护部南京环境科学研究所承担该标准的制修订工作，项目统一编号为2015-22。

1.2 工作过程

（1）成立标准编制小组

2015年4月，环保部南京环境科学研究所接到环保部下达的环办函[2015]329号《关于开展2015年度国家环境保护标准项目实施工作的通知》的任务之后，成立了标准编制小组，主要由“国家环境保护农药环境评价与污染控制重点实验室”从事农药环境分析、具有较丰富技术经验的研究人员组成。

（2）查询国内外相关标准和文献资料

2015年3-8月，根据国家环保标准修订工作管理办法的相关规定，围绕本方法标准开展了检索、查询、收集与分析国内外有关标准和文献资料的相关工作，其中包括美国EPA水中和食品中草甘膦残留量的检测方法、土壤环境质量标准(修订)中草甘膦的控制要求，并在文献资料调研的基础上确定了本标准修订拟采用的原则、方法和技术依据，确定了本标准制修订目标，即满足我国土壤中草甘膦浓度监测与控制要求，适用于我国大部分环境监测实验室和相关实验室的仪器设备、技术能力的要求。

（3）开题汇报，确定标准制订技术路线，制订原则

2015年11月，编制完成了《土壤和沉积物　草甘膦的测定　液相色谱法》标准制修订项目开题论证报告并提交环境保护部标准处进行开题论证。开题会议上，编制组向专家委员会汇报了前期采用柱后衍生方法和柱前衍生方法开展研究的过程，并列举数据和图谱阐明了采用柱后衍生方法分析土壤和沉积物中草甘膦存在的问题。通过论证委员会讨论和验证，确

定了本标准的具体内容、原则、技术路线等内容，并提出了具体修改意见和建议：

鉴于草甘膦的稳定性，避免在土壤样品烘干晾晒过程中造成损失，建议用新鲜样品直接进行测定。建议优化样品的提取和净化方法。选择具有代表性的三种土壤和两种沉积物，按照《环境监测　分析方法标准制订技术导则》（HJ/T 168）、《环境保护标准编制出版技术指南》（HJ 565）和《国家环境污染物监测方法标准制修订工作暂行要求》（环科函[2009]10号）的要求开展实验、验证和标准草案的编制工作。

（4）研究建立标准方法，进行标准方法论证试验

标准编制组按照计划任务书的要求，结合开题论证意见以及其它制定标准的要求，研究建立标准方法的实验方案，并进行方法前处理条件的选择、仪器条件的确定和方法精密度、准确度及检出限的测定等试验。

（5）方法验证工作

2016 年 8 月-12 月，根据专家的函审意见对方法进行了完善，进一步修改了方法文本和编制说明，组织了六家有资质的实验室进行方法验证，于 2016 年 12 月收回了全部的验证报告，在此基础上进行了数据的汇总和分析整理工作，并编写完成了《土壤和沉积物　草甘膦的测定　高效液相色谱法》验证汇总报告。

（6）编写标准征求意见稿和编制说明

2017 年 1 月，编写《土壤和沉积物　草甘膦的测定　高效液相色谱法》的标准文本征求意见稿及编制说明。

（7）征求意见稿技术审查会

2018 年 4 月 3 日，在北京召开了标准征求意见稿技术审查会。专家组建议按照以下意见修改完善后，提请公开征求意见：（1）题目修改为“土壤和沉积物　草甘膦的测定　高效液相色谱法”。（2）编制说明与正式文本内容相匹配，进一步补充完善。（3）按照《环境监测　分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）和《环境保护标准编制出版技术指南》（HJ 565-2010）对标准文本和编制说明进行编辑性修改。

标准编制组根据征求意见稿技术审查会意见对标准征求意见稿文本和编制说明进行修改完善，并于 2018 年 4 月上报环境监测司和环境标准研究所提请公开征求意见。

2 标准制修订的必要性分析

2.1 草甘膦的环境危害

（1）草甘膦的理化性质

草甘膦（glyphoste）化学式为 $C_3H_8NO_5P$，分子量为 169.1，结构式见图 1，密度是 0.5 g/L，纯品为白色结晶，无挥发性，强极性，难溶于无水乙醇、乙醚、苯、丙酮等有机溶剂中，它是一种有机酸，各级 pKa 值分别为 pKa1：2.34（20℃），pKa2：5.73（20℃），pKa3：10.2（25℃）。在水中溶解度：25℃时草甘膦在水中的溶解度为 12 g/L，纯品水溶液 pH 值为 1~1.9，辛烷水分配系数（$K_{\alpha w}$ logP）<-3.2（pH2-5, 20℃），Henry 常数<2.1×10^{-7} Pa M^3mol^{-1}，蒸气压为 1.31×10^{-2} mPa(25℃)，沸点大于 200℃（并分解），熔点与所用溶剂有关：从丙酮溶液中沉淀出来的粉末为 224-226℃（并分解）；从强酸水溶液中沉淀出来的粉末为 230℃（并分解）；从水中结晶出来的固体为 314℃（并分解）。

草甘膦的盐类在水中溶解度要比草甘膦大得多，如常用的草甘膦单异丙胺盐和钠盐在水中溶解度均为 500g/L，胺盐为 300g/L，钙盐仅为 30g/L，草甘膦三甲基硫盐则为 4300g/L。草甘膦盐类对植物毒性也各不相同，少量的金属离子（如 Ca, Fe, Al 以及更少量的 Zn 和 Mn）可降低其对植物的毒性。草甘膦盐中尤以单异丙胺盐和三甲基硫盐对植物毒性最高，铵盐次之，钠盐稍差。

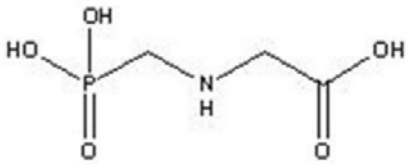


图 1 草甘膦的结构式

（2）草甘膦的环境危害

草甘膦自 1974 年推向市场以来，由于具有极强的内吸传导性和广谱的灭杀效果，已成为使用最为广泛、销售量最大的除草剂。由于草甘膦的使用量越来越大，使用范围越来越广，且在土壤中具有中等的持留性（$t_{1/2}$ 在 1-174 d），草甘膦在土壤环境中的污染也越发受到关注。

由于草甘膦会对非靶标植物以及后茬作物产生很大的毒性危害，且具有广泛的生殖毒性、诱突变性等一些环境激素效应，对生态环境和人体健康的潜在危害极大。Wu 等详细研究了草甘膦对微囊藻的毒性作用，发现草甘膦会引起微囊藻中丙二醛含量增加，提高超氧化物歧化酶、过氧化氢酶强和过氧化物酶的活性。并最终得出了草甘膦会加速微囊藻细胞凋亡

的结论。世界卫生组织国际癌症研究机构把草甘膦归类为人体致癌物质，这已经在动物体内得到证实。Schimpf 等通过研究草甘膦对新生大鼠子宫形态、以及调节其分化相关的蛋白的增殖表达的影响，得出草甘膦会引起女性生育能力的下降并有致子宫瘤的可能。

美国环保局日前公布了一项关于除草剂草甘膦安全性评估计划，将对草甘膦及其盐类的各种应用对人类及生态环境的安全风险进行全面评估，以决定是否取消草甘膦在美国的所有登记。我国的《土壤环境质量标准（修订）》（GB15618-2008）的第一次征求意见稿中将草甘膦列为有机污染物之一。因此，加强土壤及沉积物中草甘膦的监控，对于保障农产品安全、土壤和水环境质量及人民群众的身体健康，具有重要意义。建立土壤和沉积物中草甘膦的测定方法是开展我国土壤及沉积物中有机污染物环境调查与监控的技术基础，同时可作为我国土壤及沉积物中农药分析方法的技术储备。

2.2 相关环保标准和环保工作的需要

草甘膦除草剂的大量使用，一方面对保证我国农业高产丰收起到了重要的作用；另一方面对生态环境和人体健康造成了巨大的威胁。我国的《土壤环境质量标准》（修订）的第一次征求意见稿中将草甘膦列为有机污染物之一，限值为 0.50 mg/kg。虽然 2018 年 1 月 22 日发布的《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准（试行）》（征求意见稿）和《土壤环境质量 建设用地土壤污染风险管控标准（试行）》（征求意见稿）中无草甘膦这项控制指标，但是鉴于草甘膦对人体及环境的危害，为了更好地监测和分析草甘膦在土壤和沉积物中的污染状况，建立一套实施方便且准确可靠的土壤及沉积物中草甘膦的标准检测技术作为环境监测技术方法储备是非常必要的。我国涉及草甘膦农药的质量标准/排放标准见表 1。

表 1　我国涉及草甘膦农药的质量标准/排放标准

标准名称	标准编号	部门	介质	目标物	标准限值
生活饮用水卫生标准	GB 5749-2006	卫生部	生活饮用水	草甘膦	0.70 mg/L
农药工业水污染物排放标准(征求意见稿))	-	环境保护部	农药企业排放废水	草甘膦	0.70 mg/L

3 国内外相关分析方法研究

草甘膦的化学性质能够在防除杂草方面发挥应有的作用，但是同时也使得对它的分析测

定更加困难，尤其在环境中有其他化合物存在的情况下，进行痕量检测愈加困难。草甘膦的极性和水溶性不利于对其进行提取，并且限制了很多常规气相色谱标准衍生方法的采用。且草甘膦缺少发色团和荧光团，在利用高效液相色谱法进行检测前必须先进行衍生。现将国内外测定草甘膦的分析方法总结如下。

3.1 主要国家、地区及国际组织关于草甘膦的标准分析方法

对于草甘膦在土壤中的检测标准，EPA 也仅收录了草甘膦农药生产企业用于登记时的测定方法，而无成熟的草甘膦在土壤及沉积物中的检测标准发布。美国 EPA443265-06 方法采用气相色谱/质谱联用分析土壤中的草甘膦。该方法采用氨水和磷酸钾混合液（pH 13 左右）作为提取液，与七氟丁醇与三氟乙酸酐（TEAA），在 92-97℃下进行衍生反应，检测限可达 0.05 mg/kg。但该方法衍生条件苛刻且步骤繁杂，对操作带来很多不便。EPA547.0 方法采用 HPLC-FLD 方法测定水中的草甘膦，水样过滤后直接经 OPA 进行柱后衍生，检测限为 6 μg/L。 ISO21458 方法采用 HPLC-FLD 检测器测定水质中草甘膦，该方法运用 9-芴氯甲酸甲酯（FMOC-Cl）进行柱前衍生，经乙醚萃取净化，检测限为 0.05 ug/L。主要国家、地区及国际组织关于草甘膦的标准分析方法见表 2。

表 2　主要国家、地区及国际组织关于草甘膦的标准分析方法

标准编号	适用介质	前处理方法		仪器方法	最低定量限（LOQ）
		提取方法	净化方法		
USEPA METHOD 547.0	水	--	水样过滤后直接用 OPA 柱后衍生化	HPLC-FLD	6 μg/L
USEPA 推荐 MRID 408816-01	水	加 HCL 溶液后旋蒸浓缩，残渣加 KH_2PO_4 溶液，并调节 pH 值为 2.1，加 0.3 M Na_2EDTA 溶液	0.45μm 膜过滤后，用 OPA 柱后衍生化	HPLC-FLD	0.5 μg/L
USEPA 推荐 MRID 443265-06	土壤	氨水+磷酸钾溶液振荡提取	0.45μm 膜过滤后，用七氟-1-丁醇+三氟乙酸酐衍生化	GC-ECD	0.05 mg/kg
USEPA 推荐 MRID 443265-07	土壤	KOH 溶液提取	加入浓 HCL 酸化，加入活性炭吸附净	GC-FPD	土壤：0.05 mg/kg；水：

			化后脱烷基化		0.01 mg/L（草甘膦代谢物三甲基锍盐）
ISO 21458	水	--	乙醚萃取净化后与 FMOC-Cl 室温下反应 1h	HPLC-FLD	0.05 μg/L

3.2 国内关于草甘膦的标准分析方法

目前，我国关于草甘膦分析检测的标准仅局限于食品和水质介质，还没有土壤及沉积物中草甘膦的标准检测方法。我国 2007 年开始实行的《生活饮用水卫生标准》中采用柱后衍生，HPLC-FLD 检测器测定水质中草甘膦。草甘膦经阳离子交换柱分离后，被氧化剂氧化，然后与邻苯二甲醛（OPA）和巯基乙醇（ME）反应生成荧光物质进而用荧光检测器检测，检测限分别为 6 ug/L 和 0.7 mg/L。然而柱后衍生化反应需要特定的设备来完成，而且反应是在高效液相色谱流路系统中进行，柱后衍生化反应难以人为控制，因此限制了这种方法的普及。食品中的草甘膦检测方法中，均采用 CAX 固相萃取柱进行净化，GB/T 23750-2009 和 NY/T 1096-2006 方法经七氟-1-丁醇+三氟乙酸酐衍生化后用 GC-MS 进行检测，检测限为 0.05 mg/kg。该方法衍生条件苛刻且步骤繁杂，对操作带来很多不便。SN/T 1923-2007 方法运用 9-芴氯甲酸甲酯（FMOC-Cl）进行柱前衍生，经 LC-MS/MS 进行检测，检测限为 0.05 mg/kg。国内关于草甘膦的标准分析方法见表 3。

表 3　国内关于草甘膦的标准分析方法

标准编号	适用介质	前处理方法		仪器方法	最低定量限（LOQ）
		提取方法	净化方法		
GB/T 23750-2009	植物性产品	水提取后离心取上清液，加二氯甲烷涡旋，取上清液	经 CAX 小柱净化后，用七氟-1-丁醇+三氟乙酸酐衍生化	GC-MS	0.05 mg/kg
SN/T 1923-2007	食品	水+二氯甲烷（v:v，2:1）振荡提取	经 CAX 小柱净化后，与 FMOC-Cl 衍生化	LC-MS/MS	茶叶：0.1mg/kg 其他：0.05 mg/kg
NY/T	蔬菜、水果和	水提取后离心取上	经 CAX 小柱净化	GC-MS	0.02 mg/kg

1096-2006	粮食类	清液，加二氯甲烷涡旋，取上清液	后，用七氟-1-丁醇+三氟乙酸酐衍生化		
GB/T 5750.9-2006	生活饮用水	--	水样过滤后用 OPA 柱后衍生化	UPLC-FLD	25μg/L
GB 5085.6-2007	水体	--	水样过滤后直接用 OPA 柱后衍生化	HPLC-FLD	试剂水：6μg/L 地下水：8.99μg/L 自来水：5.99μg/L

3.3 国内外的研究进展

3.3.1 吸光光度法

草甘膦与过量的亚硝基在酸性条件下进行反应生成稳定的亚硝基化合物, 剩余的亚硝基则氧化碘化钾中碘为 I_2 , 从而与可溶性淀粉生成最大吸收波长为 550 nm 的蓝色配合物。根据草甘膦在一定浓度范围内含量与蓝色络合物的吸光度呈线性关系而 定量分析草甘磷。董文庚等采用吸光光度法测定废水中的草甘膦，通过添加 EDTA 排除 Fe^{3+}、Fe^{2+}、Ca^{2+}、Mg^{2+} 等金属离子在高浓度时对测定的干扰效果明显，该法中草甘膦线性浓度范围为 0.375-4.50 mg/L。国标 GB 12686-2004（草甘膦原药）和 GB 20684-2006（草甘膦水剂）中也介绍了分光光度法检测方法：试样溶于水后，在酸性介质中与亚硝酸钠反应生成亚硝基草甘麟，于波长 242 nm 处测定吸光，计算草甘膦的质量分数。该方法中 Fe^{2+}、Fe^{3+} 和三乙胺会严重干扰检测结果，其他相近光吸收化合物的存在也会对该法的应用产生影响，这些限制了分光光度法分析草甘膦的广泛使用。

3.3.2 气相色谱法

气相色谱法敏感性强，选择性高且对样品量要求低，适合于样品的痕量分析，但实验步骤繁琐，目前在草甘膦检测上应用较少。草甘膦本身具有的较强极性、难挥发性以及与自然界存在的氨基酸、氨基糖的相似性，不适合直接利用气相色谱分析，需要先经衍生生成含有特征官能团的草甘膦衍生物，才能利用气相色谱法测定，间接分析草甘膦。通常使用的衍生化试剂为三氟乙酸、三氟乙酸酐、三甲基原甲酸酯或三氟乙酸酐和三氟乙醇等。日本学者 Sadao 用 50%醋酸与原乙酸三甲酯衍生化，阴离子柱净化后，用配有火焰光度检测器的气相色谱(GC-FPD)对蔬菜和水果中草甘膦残留检测，样品中草甘膦检出限为 0.01 μg/g。马为民等则通过阳离子柱净化，用三氟乙酸(TFA)、TFAA 和三甲基原甲酸酯(TMOA)进行衍生化反

应，采用气相色谱法测定了苹果、桃、胡萝卜中草甘膦残留。

3.3.3 气相色谱-质谱联用法

气相色谱-质谱联用法因毛细管柱的高分离能力和质谱的高灵敏度, 在分析草甘膦方面具有优越性。国标 GB/T 23750-2009：植物性产品中草甘膦残留量的测定 气相色谱质谱法。该标准规定了植物性产品中草甘膦及其降解产物氨甲基膦酸残留量的检测和确证。样品用水提取，经阳离子交换柱（CAX）净化，与七氟丁醇（HFB）和三氟乙酸酐（TFAA）衍生化化反应后，用气相-质谱联用仪测定，外标法定量。该标准的定量限为 0.05mg/kg。目前, 国外在气相色谱—质谱联用分析草甘膦领域上研究较多，国内虽有相关文章发表，但不是很多。美国 EPA443265-06 方法采用气相色谱-质谱联用分析土壤中的草甘膦。该方法采用氨水和磷酸钾混合液（pH 13 左右）振荡提取，加入 2,2,3,3,4,4,4-七氟-1-丁醇与三氟乙酸酐(TEAA)（*V*:*V*=1:2），在 92-97℃下衍生反应 1 h，氮气吹干后用乙酸乙酯定容，检测限可达 0.05 mg/kg。Borjesson E 报道了一种配位交换和阴离子交换后应用气相色谱一质谱联用的方法分析草甘膦，用于瑞典铁路沿线控制除草后土壤和地下水中的草甘膦量测定，具有较低的检出限。国内学者程雪梅等将香蕉和灌溉水样品经弱阳离子交换固相萃取柱净化后, 用七氟丁醇-三氟乙酸酐(*V*:*V*=1:2)进行衍生, 然后用 DB-5MS 毛细管柱进行检测，样品草甘膦检出限为 0.3 μg/L，回收率和重现性较好。

3.3.4 高效液相色谱法

高效液相色谱法测定草甘膦是目前国际上比较通用的方法，但与应用气相色谱分析草甘膦一样，由于草甘膦的强极性等特性，草甘膦必须经过柱前衍生化或柱后衍生化，才能借助带有紫外检测器或荧光检测器的液相色谱进行分析。美国 EPA 547.0 方法（Determination of Glyphosate in Drinking water by Direct-Aqueous Injection HPLC, Post-Column Derivatization, and Fluorescence Detection）采用 HPLC-FLD 检测器测定草甘膦，该方法中水样经过滤后直接进行柱后衍生。草甘膦经阳离子交换柱分离后，被氧化剂次氯酸钙氧化，然后与邻苯二甲醛和巯基乙醇反应生成荧光物质进而用荧光检测器检测，检测限 6μg/L。王聪等和汪琳等都是利用高效液相色谱-柱后衍生法，由配有荧光检测器的高效液相色谱仪对水质中草甘膦及其主要代谢产物氨甲基膦酸残留量进行检测。

由于柱后衍生化反应是在高效液相色谱流路系统中完成的，反应难以人为控制，所以这种方法普及性不是很高，多数学者采用柱前衍生反应。J.V. Sancho 采用 HPLC-FLD 检测器测定水质中草甘膦，借助 9-芴氯甲酸甲酯（FMOC-Cl）衍生化样品，经 C18 柱和氨基离子柱双柱串联 分离检测。C18 柱用于去除非极性物质干扰，氨基柱用于草甘膦的分离检测。

该方法中衍生化反应会产生副产物 FMOC-OH，对检测造成干扰，需对衍生化条件进行优化，检测限为 0.5 μg/L。周艳明等以水为提取剂，超声波提取板栗中草甘膦，提取液经三氯甲烷液液萃取和 C18 固相萃取净化，净化液与氯甲酸-9-芴甲酯衍生化反应后，经阴离子交换色谱柱分离，以配有荧光检测器高效液相色谱仪检测，草甘膦的检出限为 0.005 mg/kg。

3.3.5 高效液相色谱串联质谱法

应用液相色谱串联质谱法分析水、土壤等环境中草甘磷较为常见，也是目前国内外比较认可的快速检测方法之一。Marıa Ibanez 采用液相串联质谱（LC-ESI-MS/MS）检测土壤及水质中的草甘膦。土样用 KOH 溶液提取，用盐酸调节提取液 pH 到 9，经 HLB 萃取小柱净化后与 FMOC-Cl 反应 12-15h，加 HCl 调 pH 至 1.5，放置一小时后进样。该方法的检测限为水质 50 ng/L，土壤 0.05 mg/kg。Hankel 等借助 9-芴氯甲酸甲醋衍生化样品, 建立了一种灵敏的定量分析草甘膦的方法, 检出限可达 0.2 ng /L。李波等用水提取出植物提取液后经阳离子交换柱净化以及衍生化，采用高效液相色谱-串联质谱法测定草甘磷，方法的检出限为 0.05 mg/kg。莫佳琳等以乙腈为萃取液, 甘蔗中的草甘膦经加速溶剂萃取仪萃取, 萃取液与 9-芴基甲基三氯甲烷衍生化反应，应用超高效液相色谱-串联质谱仪定性定量法检测草甘膦，检出限为 0.05 mg/kg。

3.3.6 本标准与国内外分析方法的关系

目前国内外草甘膦的检测方法多采用气相-质谱法或液相-质谱法，但是这两种方法较为繁琐，仪器昂贵，对实验操作人员要求高，并且在进样过程中容易造成对质谱仪的污染，影响仪器的灵敏度。本标准将参考《Cover Sheet for Environmental chemistry method 》(EPA 443265-06)中土壤的前处理方法，通过对比不同碱性溶液的提取效果，最终选择磷酸钠和柠檬酸三钠混合水溶液作为提取液。参考《植物性产品中草甘膦残留量的测定 气相色谱—质谱法》（GB/T 23750-2009）中的的净化方法，探究固相萃取与液液萃取净化效果，最终采用正己烷液液萃取方法净化样品。参考《Residue determination of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry》中的衍生化方法，并对衍生试剂的用量，衍生时间，温度等因素进行优化。参考《Determination of Glyphosate in Drinking water by Direct—queousinjection HPLC, Post-column Derivatization, and Fluorescence Detection》（EPA547.0）的检测方法—高效液相色谱荧光检测，选择合适的色谱柱以及仪器条件，建立满足相关环境质量标准的要求的标准方法。

4 标准制订的基本原则和技术路线

4.1 标准制订的基本原则

本标准依据《国家环境保护标准制修订工作管理办法》、《标准编写规则　第4部分：化学分析方法》（GB/T 20001.4-2001）、《标准化工作导则》（GB/T 1.1-2000）及《环境监测　分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2010）的要求。标准制（修）订的基本原则如下：

4.1.1 方法的检出限和测定范围满足相关环保标准和环保工作的要求

本标准的方法检出限应不高于0.05 mg/kg，以满足相关环保要求。

4.1.2 方法准确可靠，满足各项方法特性指标的要求

4.1.3 方法具有普遍适用性，易于推广使用。

4.2 标准的适用范围和主要技术内容

4.2.1 本标准适用于土壤及沉积物中农药草甘膦的测定。

4.2.2 本标准涵盖了草甘膦测定所需的提取方法、净化方法、衍生反应条件、仪器分析条件以及结果计算等内容。

4.3 标准制订的技术路线

4.3.1 本标准的技术路线为：采用磷酸钠溶液提取新鲜土壤/沉积物（去除间隙水）样品中草甘膦，并通过添加金属离子络合剂柠檬酸钠去除土壤中金属离子的干扰，经正己烷液液萃取净化后，与FMOC-Cl衍生化反应，用高效液相色谱-荧光检测器检测。

4.3.2 根据标准的主要技术内容制定如下技术路线图（图1）。

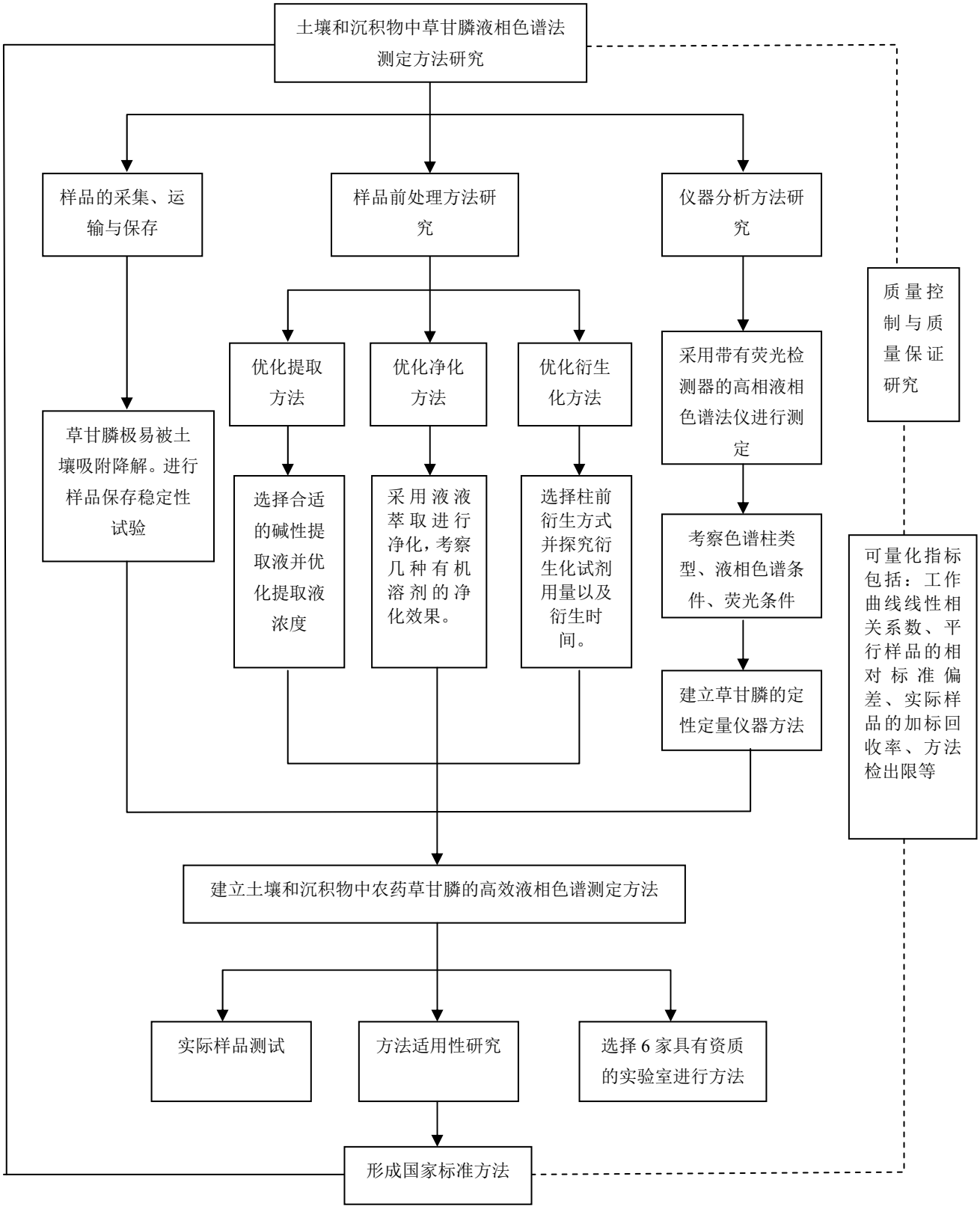

土壤和沉积物中草甘膦液相色谱法测定方法研究
样品的采集、运输与保存
样品前处理方法研究
仪器分析方法研究
质量控制与质量保证研究
优化提取方法
优化净化方法
优化衍生化方法
采用带有荧光检测器的高相液相色谱法仪进行测定
草甘膦极易被土壤吸附降解。进行样品保存稳定性试验
选择合适的碱性提取液并优化提取液浓度
采用液液萃取进行净化，考察几种有机溶剂的净化效果。
选择柱前衍生方式并探究衍生化试剂用量以及衍生时间。
考察色谱柱类型、液相色谱条件、荧光条件
可量化指标包括：工作曲线线性相关系数、平行样品的相对标准偏差、实际样品的加标回收率、方法检出限等
建立草甘膦的定性定量仪器方法
建立土壤和沉积物中农药草甘膦的高效液相色谱测定方法
实际样品测试
方法适用性研究
选择6家具有资质的实验室进行方法
形成国家标准方法

图1　技术路线图

5 方法研究报告

5.1 方法研究的目标

（1）研究土壤和沉积物中草甘膦的高效液相色谱测定方法，确定方法的检出限、测定下限、精密度、准确度等参数。

（2）进行方法验证，确定方法的可行性和适用性。

（3）依据《环境监测　分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）要求编写标准文本。

5.2 方法原理

土壤和沉积物中的草甘膦用磷酸钠和柠檬酸钠混合水溶液提取，提取液在弱碱性条件下用正己烷萃取净化后，水相经 9-芴氯甲酸甲酯衍生化后，用具荧光检测器的高效液相色谱仪分离检测草甘膦的衍生物，以保留时间定性，外标法定量。

5.3 试剂和材料

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准的分析纯试剂和无目标物检出的去离子水。

乙腈（CH3CN）：液相色谱纯。

正己烷（C_6H_{14}）。

盐酸（HCl），ρ（HCl）= 1.19 g/ml。

盐酸溶液：1+1。盐酸和去离子水按 1:1 的体积比混合。

磷酸（H3PO4），ρ（H3PO4）=85.0%。

磷酸溶液：ω（H_3PO_4）=0.2%。准确量取 85%的磷酸 2.35 ml 于 1 L 容量瓶中，用去离子水定容至刻度，摇匀，现配现用。

十二水合磷酸钠（Na_3PO_3•$12H_2O$）。

二水合柠檬酸钠（$Na_3C_6H_5O_7$•$2H_2O$）。

磷酸钠和柠檬酸钠混合提取液：c（Na_3PO_3•$12H_2O$）=0.03 mol/L，c（$Na_3C_6H_5O_7$•$2H_2O$）=0.01 mol/L。准确称取十二水合磷酸钠 11.40 g（精确到 0.01 g）和二水合柠檬酸三钠（4.8）2.94 g（精确到 0.01 g），用去离子水溶解并定容至 1 L 容量瓶中。

十水合四硼酸钠（$Na_2B_4O_7$•$10H_2O$）。

四硼酸钠溶液：c（$Na_2B_4O_7$•$10H_2O$）=0.05 mol/L。

准确称取十水合四硼酸钠 1.91 g（精确到 0.01 g），用去离子水溶解并定容至 100 ml 容量瓶中。

9-芴氯甲酸甲酯（$C_{15}H_{11}ClO_2$，FMOC-Cl）：纯度不低于 99%，4℃下冷藏、避光保存。

FMOC-Cl 溶液：：ρ（$C_{15}H_{11}ClO_2$）= 1.0 mg/ml。

准确称取 50.0mg （精确到 0.1 mg）FMOC-Cl，用乙腈溶解并定容至 50 ml 容量瓶，摇匀，转移至密实瓶中于 4℃下冷藏保存。

草甘膦标准贮备液：ρ（$C_3H_8NO_5P$）=100 mg/l

可直接购买有证标准溶液，也可用标准物质配制。

草甘膦标准使用液：ρ（$C_3H_8NO_5P$）=10 μg/ml。

移取 1.0 ml 草甘膦标准贮备液于 10 ml 容量瓶，用去离子水稀释并定容至刻度，摇匀，转移至密实瓶中于 4℃下冷藏保存。

石英砂：粒径 0.7 mm ～0.3 mm。

针式过滤器：滤膜材质为 0.22 μm 聚四氟乙烯或其它等效材质。

滤纸：本标准中两次用到滤纸。第一次是样品经磷酸钠和柠檬酸三钠混合提取液提取离心后，上清液用滤纸过滤，是为了去除未沉降的杂质。第二次是用 1+1 盐酸溶液调节溶液 pH 值至 9，静置后用滤纸过滤，是为了去除在该 pH 条件下沉淀析出的腐植酸等杂质，否则在用正己烷净化过程中易发生乳化反应，使响应值降低。

草甘膦标准工作溶液：根据需要，吸取一定量的草甘膦标准储备液或标准使用液，用水稀释配制成适合浓度的标准工作溶液（建议浓度范围 0-500 μg/L），4℃保存，保存时间为 2 个月。

课题组对草甘膦标准工作溶液（200 μg/L 和 500 μg/L）进行了稳定性考察试验，结果如图 2 所示，两个浓度水平下草甘膦测定值的相对标准（RSD）偏差均在±10%以内，表明在 2 个月内草甘膦工作标准工作溶液稳定。

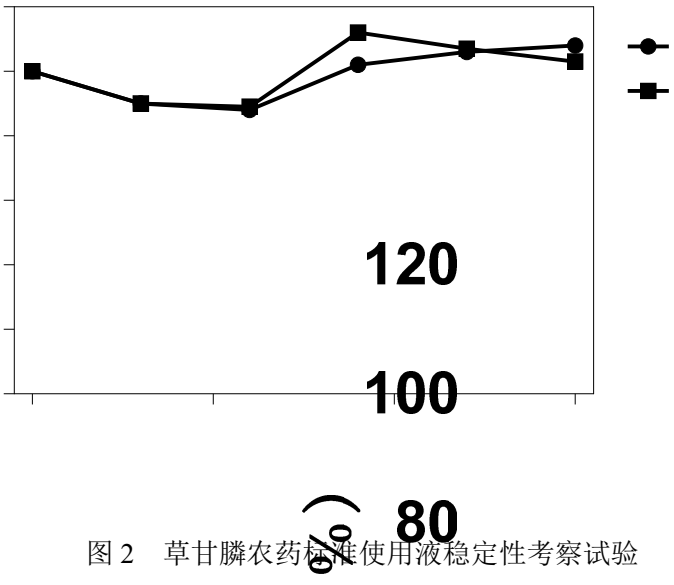


图 2　草甘膦农药标准使用液稳定性考察试验

5.4 仪器设备

本实验所用仪器设备如下：

• 配有荧光检测器的高效液相色谱仪；

• 混匀仪（用于衍生化反应）；

• pH 计（可精确到 0.1）；

• 高速离心机（转速范围为 8000-12000 r/min），为满足沉积物去除间隙水以及最大限度的回收提取液的要求，应选择转速不低于 8000 r/min 的高速离心机。

• 色谱柱：耐酸性强的多点键合型十八烷基键合硅胶反相色谱柱，如 COSMOSIL 5C18-AR-Ⅱ液相色谱柱或其它等效色谱柱。

在色谱仪器的选择方面，考虑到草甘膦分子不具有荧光基团，采用液相色谱荧光检测器进行分析时，必须先进行衍生化。荧光衍生化反应分为柱前衍生反应和柱后衍生反应两种，参考 EPA 547 水中草甘膦的检测方法，本课题组开展了大量柱后衍生实验工作，对衍生条件进行了优化，并探究了样品的提取净化方法。

5.4.1 优化衍生条件

5.4.1.1 优化氧化剂用量

固定 OPA 和 ME 的加入量分别为 0.8 g 和 2.0 ml（均配成 500 ml 溶液），次氯酸钠（NaClO）溶液的加入量分别为 0.02, 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ml 时，草甘膦浓度分别为 0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 时响应值如图 3 所示，可见随着氧化剂用量的增加，检测结果的变化不大，

为保证反应完全，可选择 2.0 ml。

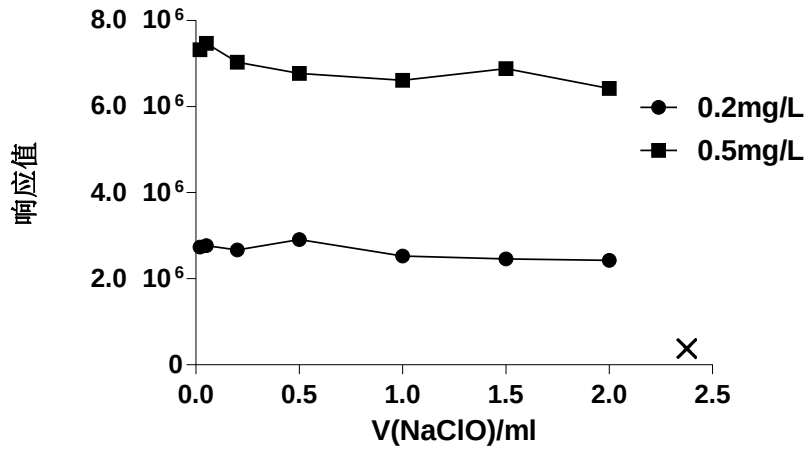


图 3　优化氧化剂用量

5.4.1.2 优化 OPA 用量

固定 NaClO 和 ME 的加入量分别为 2 ml 和 2 ml（均配成 500 ml 溶液），OPA 的加入量分别为 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 g 时，草甘膦浓度分别为 0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 时响应值如图 4 所示，可见响应值随着 OPA 用量的增加而增加，当加入量达到 2.0 g 时响应值趋于稳定，故 OPA 的最佳用量为 2.0 g。

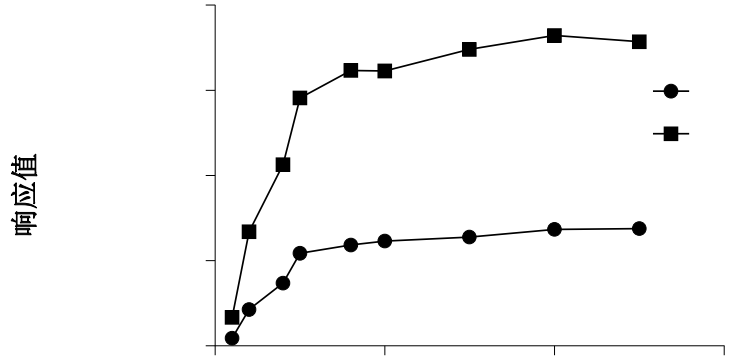


图 4　优化 OPA 用量

5.4.1.3 优化 ME 用量

固定 NaClO 和 OPA 的加入量分别为 2.0 ml 和 2.0 g（均配成 500 ml 溶液），ME 的加入量分别为 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 ml，草甘膦浓度分别为 0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 时响应值如图 5 所示，可见 V（ME）<2.0 ml 时，响应值随着 ME 用量的增加而增加，当 V（ME）>2.0 ml 时响应值随着 ME 用量的增加而减小，故 ME 的最佳用量为 2.0 ml。

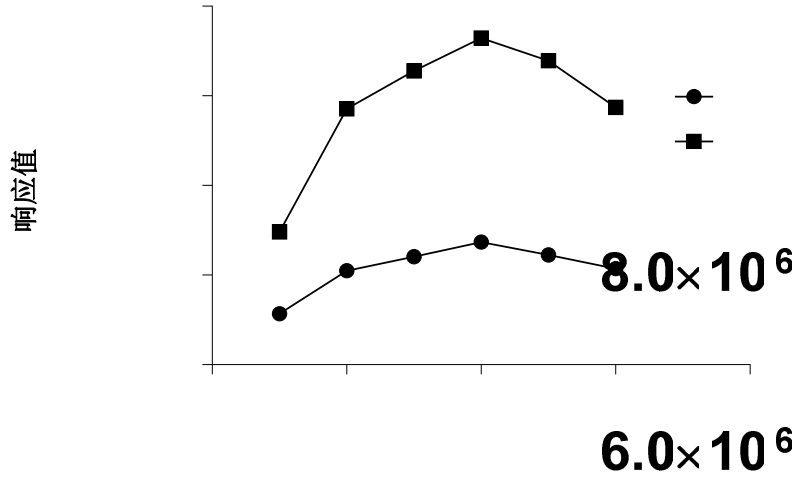


图 5　优化 ME 用量

因此，柱后衍生反应的最佳条件为：

a. 氧化剂：准确取 2.0 ml NaClO 于 250 ml 水中，准确称取 0.38 g KH_2PO_4, 5.8 g NaCl, 0.2 g NaOH 于 250 ml 水中溶解，混合后定容至 500 ml 用 0.45 μm 滤膜过滤。

b. OPA-ME 衍生化试剂：准确称取 9.6 g 四硼酸钠溶于约 400 ml 去离子水中，另称取 2.0 g 邻苯二甲醛于 10 ml 甲醇中。缓慢地将邻苯二甲醛溶液滴加到四硼酸钠溶液中，边加边摇，加入 2.0 ml 巯基乙醇于上述溶液中，摇匀后定容至 500 ml，用 0.45 μm 滤膜过滤。

5.4.2 提取方法

通过尝试各种碱性溶液，包括 30 mM Na3PO4 溶液，2.5% NH3·H2O 溶液，0.1 M NaHCO3 溶液，0.6 M NaOH 溶液，0.1 M 三乙胺溶液等提取土壤和沉积物中的草甘膦，均无法检测到草甘膦。向基质中加入草甘膦标样，仍检测不到草甘膦，说明草甘膦与土壤基质发生吸附，需要进一步的净化。

5.4.3　净化方法

5.4.3.1 固相萃取净化

实验过程中分别考察了亲水亲油平衡柱（Waters Oasis HLB）、强阴离子交换柱（Waters Oasis SAX）、弱阳离子交换柱（Waters Oasis WCX）、弱阴离子交换柱（Waters Oasis WAX）及草甘膦专用柱 CAX 柱对提取液的净化效果。结果表明：只有用 WAX 萃取柱净化，10% 盐酸溶液洗脱时才能检测到目标化合物色谱峰，但却与杂质峰无法分离。下图为江西红壤加标量为 5.0 mg/kg 时的色谱图。

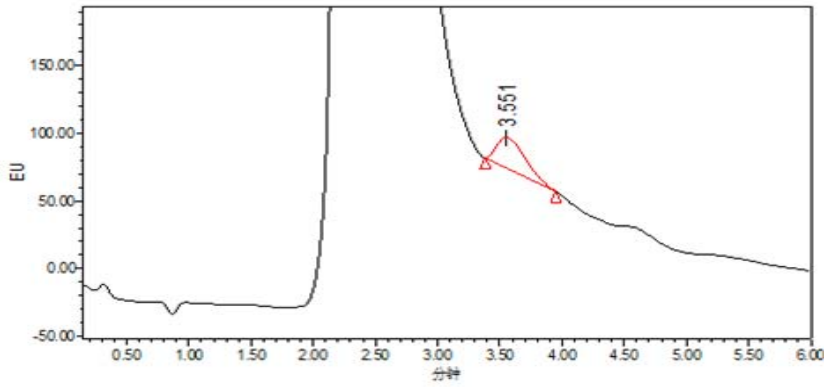


图 6　土壤样品固相萃取净化色谱图

5.4.3.2 液液萃取净化

采用二氯甲烷萃取提取液，研究表明检测结果与提取液的 pH 值有显著地影响。分别将提取液 pH 值调至 pH=2, 4, 6, 9, 12，当 pH 值为 2 和 9 时，土壤中不同添加浓度的草甘膦检测结果呈线性。相比于固相萃取净化方式，液液萃取净化的效果较好，但目标化合物仍与杂质峰无法完全分离。下图为江西红壤加标量为 5.0 mg/kg，提取液 pH 调至 9 时的色谱图。

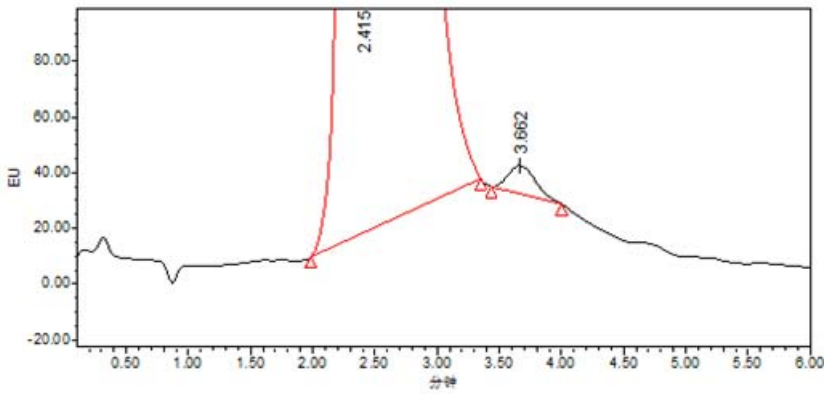


图 7　土壤样品液液萃取色谱图

5.4.3.3 其他措施

土壤中基质效应较强，其中腐殖质和金属离子等均易与草甘膦络合形成干扰，我们尝试通过以下方法消除杂质干扰：

（a）在提取液中加入 EDTA 消除金属离子干扰；

（b）降低流速使色谱峰与杂质峰分离；

（c）减少衍生化试剂用量以降低杂质峰的干扰；

（d）采用一种新的离子色谱柱 SAX 离子柱。

然而这些方法均无法使草甘膦与杂质完全分开。

前期工作表明，柱后衍生反应对于土壤和沉积物中草甘膦检测并不适用，目标化合物与杂质峰无法完全分离。因此，本课题组将柱后衍生改为柱前衍生，并对样品的提取方法、净化方法、衍生化方法以及仪器方法等进行了重新优化，分析检测结果良好，能很好地满足草甘膦的测定要求。样品色谱图如图 8 所示。

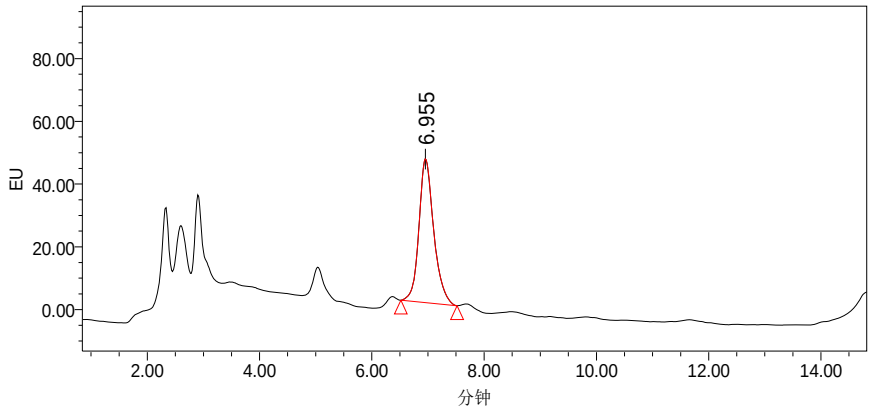


图 8　实际样品色谱图

5.5 样品

5.5.1 样品采集

按照HJ/T 166的相关规定进行土壤样品的采集，按照GB 17378.3、GB 17378.5、HJ 494、HJ 495及HJ/T 91的规定进行沉积物样品的采集。

采样时应记录样品的名称、来源、采样量、保存状况、采样点位、采样日期、采样人员等信息。采样人员应及时填写采样记录或采样报告。

5.5.2 样品保存

草甘膦在土壤环境中极易与土壤腐殖质、金属元素等络合，因此我们考察了草甘膦在常温下保存和在4℃冰箱里保存的稳定性，以确定其保存条件。

在实际样品中加入浓度为1000 μg/kg的草甘膦标样，在常温下保存，不同时间测定其中目标物的浓度，结果见表4。在3天内，草甘膦在三种土壤样品中的降解率分别为湖南红壤31.7%，水稻土36.7%，东北黑土20.6%。常温下土壤中草甘膦降解较块，因此样品不适宜在常温下保存。

在实际样品中加入浓度为1000 μg/kg的草甘膦标样，在4℃环境中保存，不同时间测定其中目标物的浓度，结果见表5。在7天内，三种土壤样品中草甘膦相对稳定，降解率分别为

湖南红壤23.5%，水稻土26.0%，东北黑土19.5%，相对标准偏差（RSD）都在在20%以内；沉积物在4℃冰箱里保存，三天内降解率分别为12.4%和14.4%，相对标准偏差（RSD）在20%以内。因此土壤样品需在4℃冰箱里冷藏保存，7天内完成前处理；沉积物样品需在4℃冰箱里冷藏保存，3天内完成前处理。

表4　常温下样品稳定性考察数据

时间	浓度/μg/kg		
	湖南红壤	东北黑土	水稻土
0d	908	1090	1440
3d	620	690	1143
降解率/%	31.7	36.7	20.6

表5　4℃冷藏条件下样品稳定性考察数据

时间	浓度/μg/kg				
	湖南红壤	东北黑土	水稻土	前湖	秦淮河
0d	2286	1448	1943	1163	1299
3d	2009	1086	1457	1019	1112
7d	1748	1166	1438	-	-
降解率/%	23.5（7d）	19.5（7d）	26.0（7d）	12.4（3d）	14.4(3d)
RSD/%	13.4	15.4	17.7	9.4	11.0

5.6 分析步骤

5.6.1 衍生条件选择

5.6.1.1 优化FMOC-Cl用量

以浓度为100 μg /L和500 μg /L的草甘膦标准溶液进行试验，在1.0 ml草甘膦标准溶液中加入120 μL 0.05 mol/L的硼砂溶液，分别加入0.1, 0.2, 0.5 ml 浓度为1.0 g/L的FMOC-Cl和10.0 g/L的FMOC-Cl溶液，常温下衍生4 h后进行检测。结果如图9所示，当FMOC-Cl的加入量为0.2 mg（即取0.2 ml 1.0 g/L FMOC-Cl）时草甘膦的响应值达到最高。衍生化试剂FMOC-Cl的化学性质较活泼，加入量太大时，未反应部分会迅速与水反应变为FMOC-OH, 对草甘膦的测定产生干扰。综上所述，0.2 ml 1.0 g /L FMOC-Cl为最佳用量。

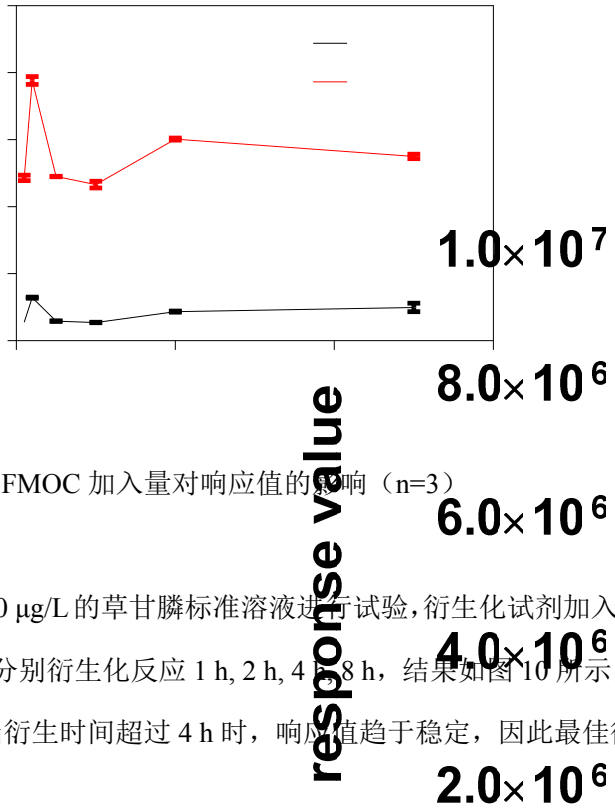


图 9　FMOC 加入量对响应值的影响（n=3）

5.6.1.2 优化衍生时间

以浓度为500 μg/L和1000 μg/L的草甘膦标准溶液进行试验，衍生化试剂加入量为0.2 ml 1.0 g/L 的 FMOC-Cl，常温下分别衍生化反应 1 h, 2 h, 4 h, 8 h，结果如图 10 所示，随着衍生时间的增加，响应值增大。当衍生时间超过 4 h 时，响应值趋于稳定，因此最佳衍生时间为 4 h。

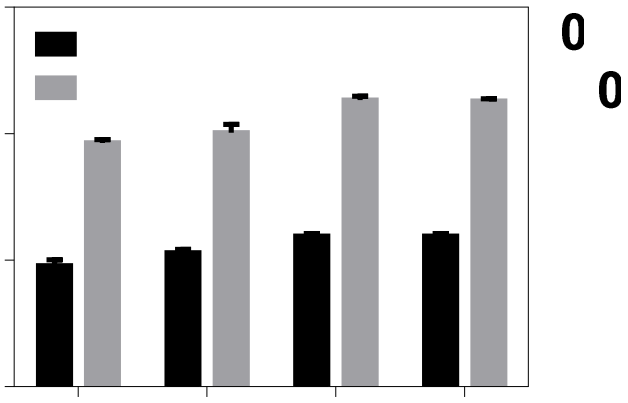


图 10　衍生化时间对响应值的影响（n=3）

5.6.2 优化提取方式

5.6.2.1 优化提取液种类

由于草甘膦具有难溶于一般有机溶剂但其盐易溶于水的特点，所以采用强碱溶液进行提取。通过借鉴国内外土壤检测方法中的提取方法，尝试了多种碱性溶液，包括 0.6 mol/L 的 KOH、0.6 mol/L 的 NaOH、0.6 mol/L 的 $NaHCO_3$、30.0 mmol/L 的 Na_3PO_4、0.1 mol/L 的

KH_2PO_4 等，由于水稻土的有机质含量较高，杂质峰较多，选择水稻土作为实验对象。当水稻土添加浓度分别为 1000 μg/kg 和 5000 μg/kg 时回收率如图 11 所示。30.0 mmol/L Na_3PO_4 溶液的提取效果最好，回收率最高，因为在土壤中草甘膦与磷酸盐的吸附机理类似，磷酸盐会与草甘膦竞争吸附位点从而降低草甘膦的吸附量，提高回收率。

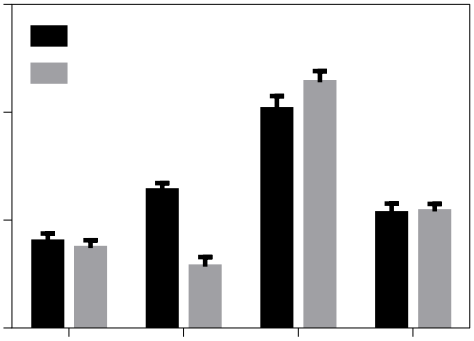
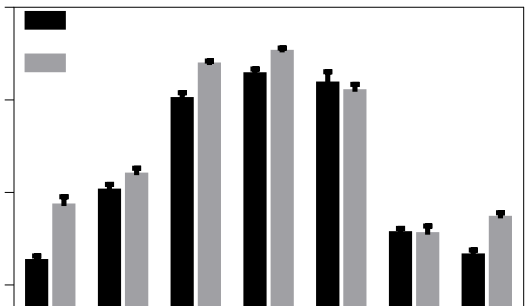


图 11　不同提取液提取回收率（n=3）

5.6.2.2 优化提取液浓度

配制不同浓度的 Na_3PO_4 水溶液作为提取液，土壤添加浓度为 500 μg/kg 和 2000 μg/kg 时回收率如图 12 所示。回收率随着 Na_3PO_4 浓度的增大先增大后减小，其中 30 mmol/L、50 mmol/L 和 60 mmol/L 的 Na_3PO_4 溶液回收率均较高。但随着浓度的增加，目标化合物的峰形变差。故选择 30 mmol Na_3PO_4 溶液作为提取液。



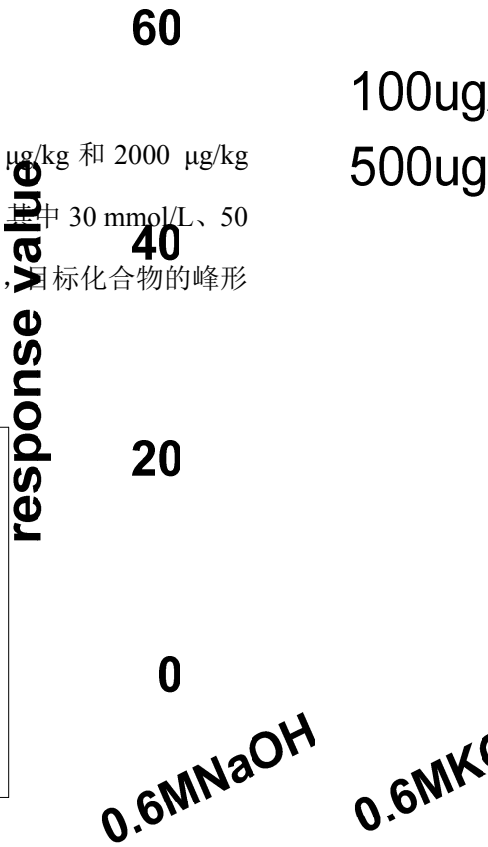
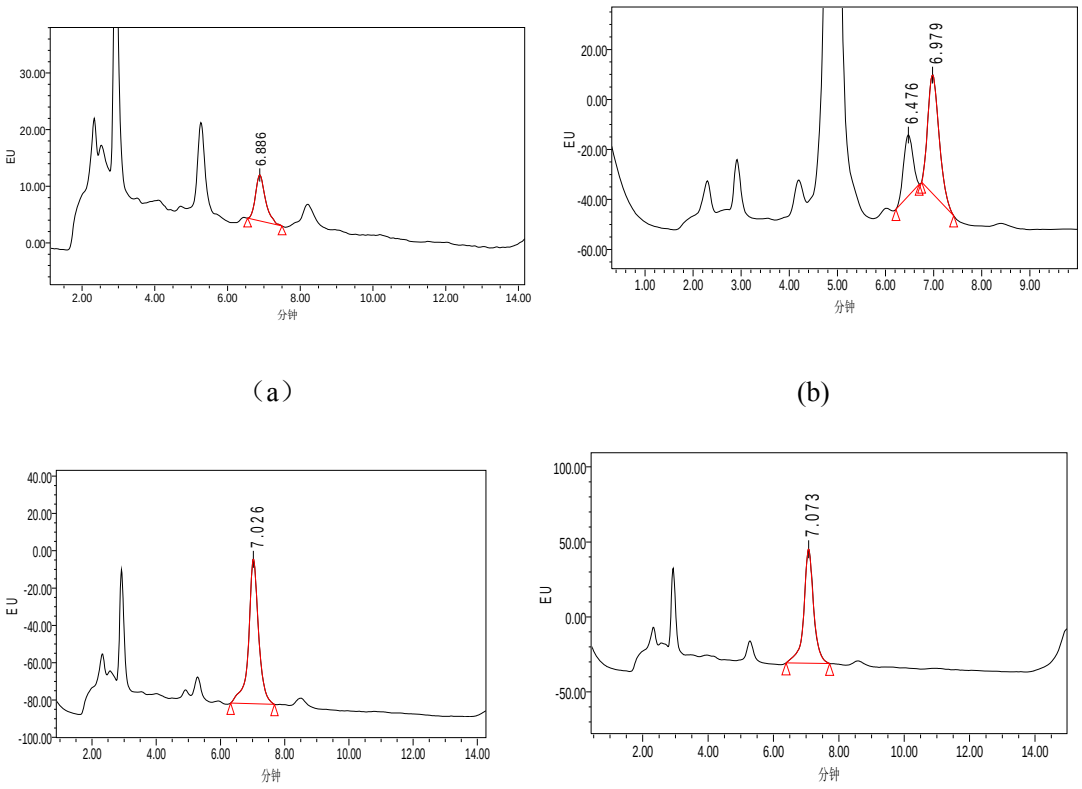


图 12　不同浓度的提取液提取回收率（n=3）

5.6.2.3 添加金属离子络合剂

由于草甘膦与土壤中的重金属极易络合，因此需要选择合适的解络合剂，从而提高方法的回收率。选择杂质较多的水稻土和湖沉积物进行试验。通过对比几种金属离子络合剂的效果，发现添加 EDTA 二钠，色谱峰峰型较差，与杂质峰未完全分离；添加酒石酸钾钠和柠檬酸三钠的色谱峰分离效果较好。添加浓度为 1000 μg/kg 时，水稻土目标化合物的色谱图如图 13 所示。由图 14 可以看出，在选择的两种典型土壤和沉积物中（添加浓度为 1000 μg/kg），0.01 mol/L 的柠檬酸三钠的提取效果更好，回收率较高。



（a）　　(b)

（c）　　（d）

图 13　添加金属离子络合剂色谱图

（a）无添加（b）EDTA 二钠（c）柠檬酸三钠（d）酒石酸钾钠

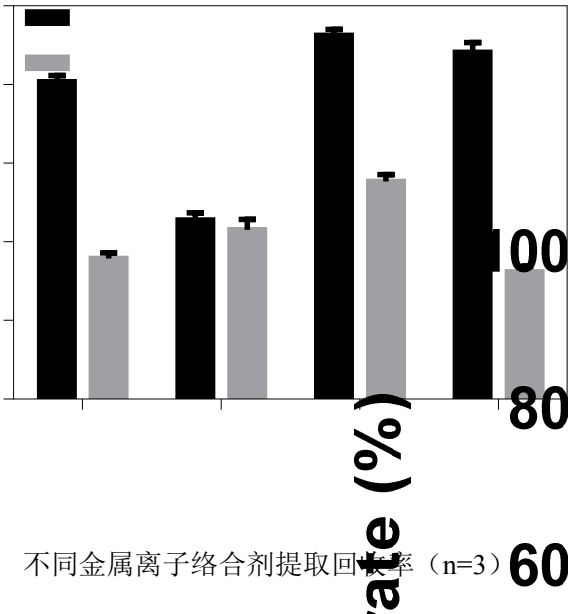


图 14　不同金属离子络合剂提取回收率（n=3）

5.6.3 优化净化方式

土壤中含有各种腐殖质等有机物质，会影响草甘膦的检测，必须采取合适的净化方法去除杂质干扰。常用的净化方式包括液液萃取和固相萃取两种，相较于固相萃取净化，液液萃取更方便快捷且成本较低。因此本方法采用液液萃取的方法进行净化。通过对比二氯甲烷、三氯甲烷、正己烷以及二氯甲烷：乙酸乙酯（7:3，v:v）、二氯甲烷：正己烷（7:3，v:v）的净化效果，图 15 表明正己烷的净化效果最好。

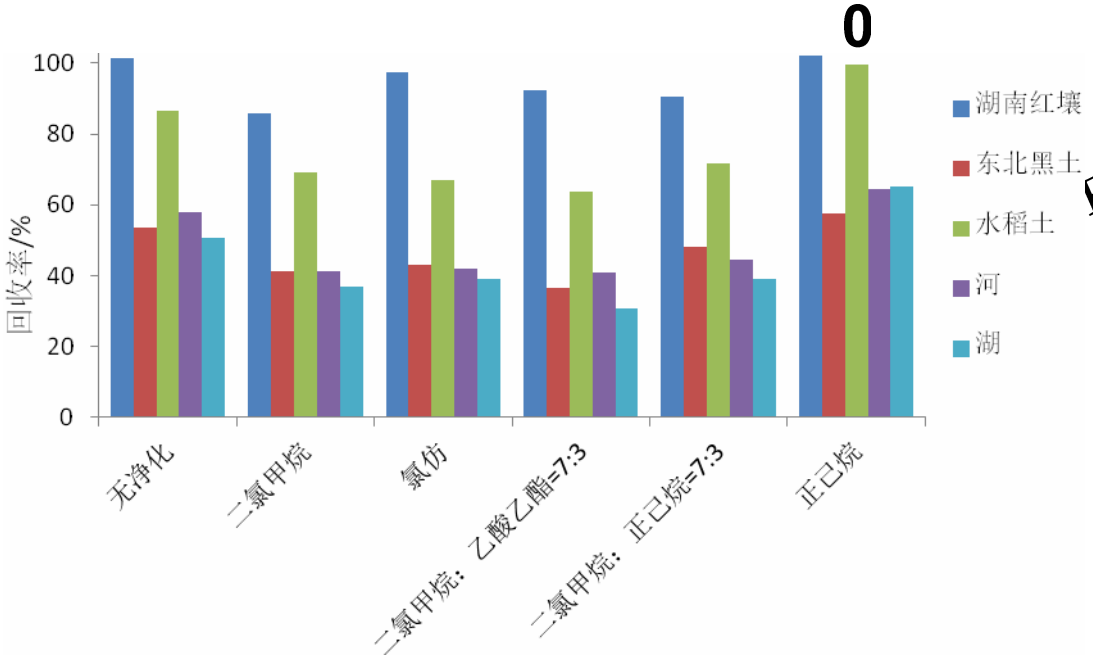


图 15　不同净化方法对提取效果的影响（1000 μg/kg）

5.6.4 仪器分析方法优化

5.6.4.1 色谱柱的选择

实验考察了SB-C18色谱柱和5C18-AR-Ⅱ液相色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈-0.2%磷酸溶液。当采用SB-C18色谱柱进行检测时，实际土壤色谱图如图16所示，由色谱图可以看出：

a) 土壤样品中草甘膦色谱峰与杂质峰分离度差；

b) 色谱峰较宽，峰形差；

c) 检测时间较长。

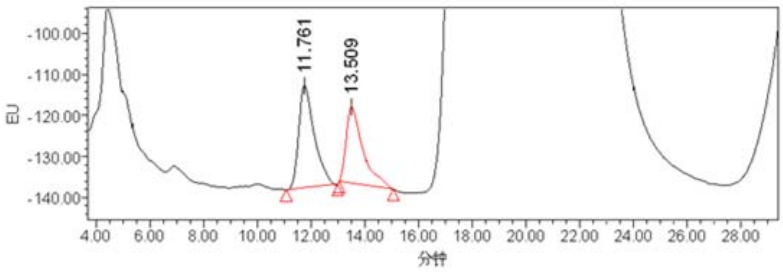


图 16　红土土壤样品

拟通过梯度洗脱，改变流动相比例来解决上述问题，但未找到合适的梯度条件。因此我们尝试使用对酸碱化合物及金属低配位化合物均可分离，耐酸性更强的5C18-AR-Ⅱ色谱柱来提高分离效果。

5.6.4.2 仪器条件优化

通过尝试各种梯度洗脱程序，草甘膦能与杂质较好分离时的仪器条件参考如下：

色谱柱：使用5C18-AR-Ⅱ（250 mm×4.6 mm × 5 μm）液相色谱柱，或其他等效类型色谱柱。

流动相：A：乙腈，B: 0.2%磷酸水溶液，梯度洗脱程序如表6所示。

流速：1.0 ml/min

柱温：35℃

进样量：20 μL

荧光条件：激发波长：254 nm；发射波长：301 nm。

表6　梯度洗脱程序

时间（min）	流速（ml/min）	比例 A（%）	比例B（%）
0	1.0	35	65
10	1.0	25	75
15	1.0	80	20
20	1.0	35	65

该仪器条件下实际样品色谱图如图17所示， 从色谱图中可以看出草甘膦能与杂质较好的分离。样品浓度分别为湖南红壤150 μg/kg，水稻土110 μg/kg和前湖沉积物190 μg/kg。

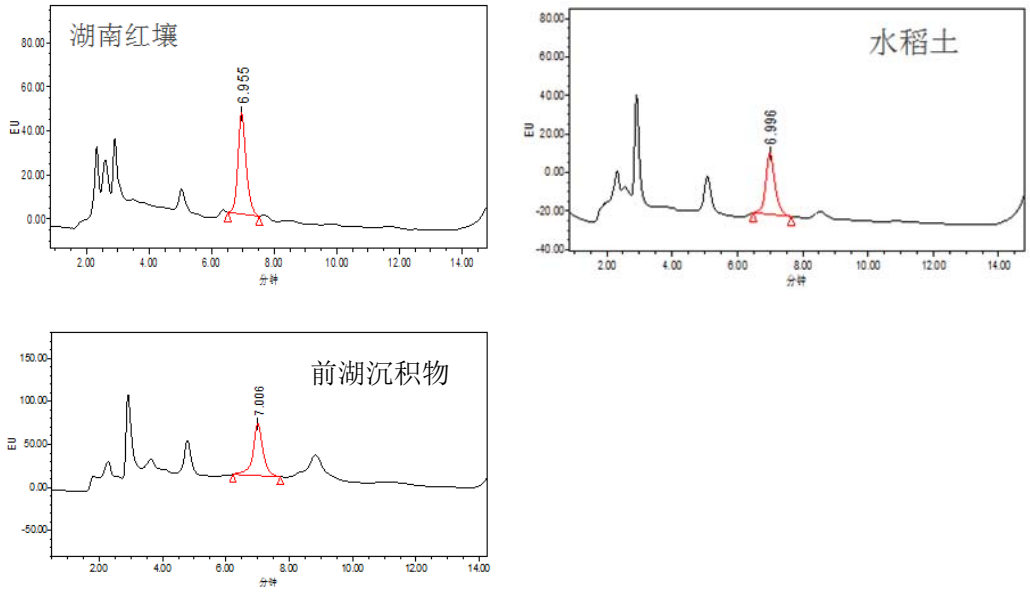


图 17　三种实际样品色谱图

5.6. 5 工作曲线

（1）工作曲线的绘制

配制一定浓度范围的标准工作液系列, 参考浓度为 10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、200 μg/L、500 μg/L。在浓度范围内草甘膦的线性相关系数为 0.996。草甘膦的标准溶液色谱图如下所示。

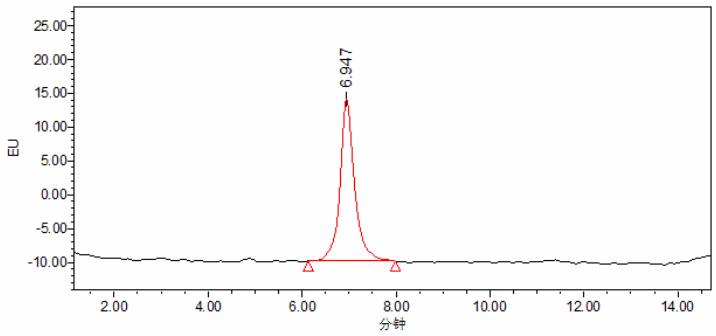


图 18　草甘膦标准溶液色谱图（50 μg/L）

5.6. 6 检出限和测定下限

按照样品分析的全部步骤，称取 10.0 g 石英砂，加标浓度为 50.0 μg/kg，平行 7 份，将各测定结果换算为样品中的浓度或含量，计算 7 次平均测定的标准偏差，按公式（1）计算方法检出限，数据结果见表 7。相对标准偏差 RSD 为 5.9%，实验室内方法检出限为 10 μg/kg，测定下限为 40 μg/kg。

$$MDL = t_{(n-1,0.99)} \times S$$　　公式（1）

式中：MDL—方法检出限；

n—样品的平行测定次数；

t—自由度为 n-1，置信度为 99%时的 t 分布（单侧）；

S—n 次平均测定的标准偏差。

测定下限：以 4 倍方法检出限确定为本方法目标物的测定下限。

根据 HJ 168-2010 的表 A.1 t 值表，平行测定次数为 7 次时，$t_{(n-1,0.99)}$ 取值为 3.143。

表 7　方法检出限、测定下限计算结果（n=7）

平行样	浓度 (μg/kg)	平均浓度 (μg/kg)	标准偏差 S(μg/kg)	RSD （%）	检出限 (μg/kg)	测定下限 (μg/kg)
1	48.4	50.2	3.0	5.9	10	40
2	49.1					
3	51.8					
4	48.5					
5	46.2					
6	52.2					
7	55.0					

5.6. 7 方法精密度

采集未施过草甘膦农药的空白样品进行精密度实验。土壤样品：根据土壤含水率，称取与 10.0 g 干重土壤相对应的新鲜空白土样，分别加入 1.0 μg、5.0 μg 和 10.0 μg 标准溶液，即加标浓度为 100 μg/kg，500 μg/kg 和 1000 μg/kg，每个浓度平行配制 6 份，测定结果分别计算平均值、标准偏差和相对标准偏差，实验室内精密度计算公式见公式（2）~（4）。沉积物样品：沉积物通过离心去除间隙水，其余同土壤样品。

$$\bar{x}_i = \frac{\sum_{k=1}^{n} x_k}{n}$$ 公式（2）

$$S_i = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^{n}(x_k - \bar{x})^2}{n-1}}$$ 公式（3）

$$RSD_i = \frac{S_i}{\bar{x}_i} \times 100\%$$ 公式（4）

式中：x_k—对某一浓度水平样品进行的第 k 次测试结果；

错误！未找到引用源。—对某一浓度水平样品测试的平均值；

S_i—对某一浓度水平样品测试的标准偏差；

RSD_i—对某一浓度水平样品测试的相对标准偏差。

测定结果见表 8~表 10。从表中可以看出，不同浓度的空白加标样品，测试的相对标准偏差为 3.0%~9.0%，说明方法的精密度良好。

表 8　低浓度（100 μg/kg）空白基体加标测定精密度数据（n=6）

样品	测定值(μg/kg)						平均值 (μg/kg)	标准偏差 (μg/kg)	相对标准偏差(%)
	1	2	3	4	5	6			
湖南红壤	92	80	85	93	99	98	91	7.3	8.1
东北黑土	80	82	74	85	90	81	82	5.3	6.4
水稻土	71	74	69	70	76	81	74	4.6	6.2
前湖	87	88	80	93	87	91	88	4.4	5.1
秦淮河	79	78	80	71	76	74	76	3.5	4.6

表 9　中浓度（500 μg/kg）空白基体加标测定精密度数据（n=6）

样品	测定值(μg/kg)						平均值 (μg/kg)	标准偏差 (μg/kg)	相对标准偏差(%)
	1	2	3	4	5	6			
湖南红壤	539	454	441	486	475	454	475	35.2	7.4
东北黑土	317	410	370	350	390	389	371	33.4	9.0
水稻土	435	403	413	389	403	452	416	23.4	5.6
前湖	356	345	346	339	327	306	337	17.7	5.3
秦淮河	421	420	356	369	397	370	389	27.8	7.1

表 10　高浓度（1000 μg/kg）空白基体加标测定精密度数据（n=6）

样品	测定值(μg/kg)						平均值 (μg/kg)	标准偏差 (μg/kg)	相对标准偏差(%)
	1	2	3	4	5	6			
湖南红壤	987	902	959	999	993	805	941	75.5	8.0
东北黑土	826	795	797	763	760	715	776	38.6	5.0
水稻土	906	925	919	842	857	901	892	33.9	3.8
前湖	719	744	722	701	752	756	732	21.8	3.0
秦淮河	856	686	793	798	742	865	790	68.1	8.6

5.6.8 方法准确度

采集施过草甘膦农药的实际样品进行准确度实验，并测定样品原始浓度。

土壤样品：根据土壤含水率，称取与 10.0 g 干重土壤相对应的实际样品，分别加入 1.0 μg、5.0 μg 和 10.0 μg 标样，即加标溶度为 100 μg/kg，500 μg/kg 和 1000 μg/kg，每个浓度平行配制 6 份，测定结果分别计算平均值和加标回收率。加标回收率计算公式见公式（5）。沉积物样品：沉积物通过离心去除间隙水，其余同土壤样品。

$$P_i = \frac{\overline{y_i} - \overline{x_i}}{u} \times 100\% \qquad \text{公式（5）}$$

式中：**错误！未找到引用源。**—对某一浓度或含量水平样品测试的平均值；

$\overline{y}_i$—对加标样品测试的平均值；

μ—加标量；

P_i—加标回收率。

测定结果见表 11 到表 15。从表中可以看出，不同浓度的实际加标样品，回收率为65.0%~105%，说明方法的准确度良好。

表 11　湖南红壤准确度数据（n=6）

平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	149	259	149	669	149	1170
	2	222	319	222	754	222	1182
	3	215	320	215	746	215	1144
	4	151	247	151	648	151	1135
	5	219	315	219	755	219	1204
	6	219	316	219	697	219	1153
平均值**错误！未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		196	296	196	712	196	1165
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i（%）		100		103		96.9	

表 12　东北黑土准确度数据（n=6）

平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	469	548	469	912	469	1361
	2	560	648	560	964	560	1338
	3	547	635	547	952	547	1400
	4	493	574	493	921	493	1390
	5	502	592	502	936	502	1385
	6	573	658	573	996	573	1411
平均值**错误！未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		524	609	524	947	524	1381
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	

加标回收率 P_i（%）	85.2	84.5	85.7

表 13　水稻土准确度数据（n=6）

平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	146	243	146	596	146	964
	2	143	239	143	595	143	971
	3	182	269	182	562	182	992
	4	141	231	141	570	141	951
	5	149	234	149	583	149	968
	6	173	259	173	566	173	932
平均值**错误！未找到引用源。**、$\overline{y}_i$（μg/kg）		156	246	156	579	156	963
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i（%）		86.5		82.5		78.9	

表 14　前湖沉积物准确度数据（n=6）

平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	87	N.D.	356	N.D.	719
	2	N.D.	88	N.D.	345	N.D.	744
	3	N.D.	80	N.D.	346	N.D.	722
	4	N.D.	93	N.D.	339	N.D.	701
	5	N.D.	87	N.D.	327	N.D.	752
	6	N.D.	91	N.D.	306	N.D.	756
平均值**错误！未找到引用源。**、$\overline{y}_i$（μg/kg）		N.D.	88	N.D.	337	N.D.	732
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	

加标回收率 P_i（%）	87.5	67.4	73.2

表 15　秦淮河沉积物准确度数据（n=6）

平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	79	N.D.	421	N.D.	856
	2	N.D.	78	N.D.	420	N.D.	686
	3	N.D.	80	N.D.	356	N.D.	793
	4	N.D.	71	N.D.	369	N.D.	798
	5	N.D.	76	N.D.	397	N.D.	742
	6	N.D.	74	N.D.	370	N.D.	865
平均值**错误！未找到引用源。**、$\overline{y}_i$（μg/kg）		N.D.	76	N.D.	389	N.D.	790
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i（%）		75.9		77.8		79.0	

5.7 方法的适用性

本课题组采集了湖南红壤、东北黑土、水稻土及前湖、秦淮河沉积物的空白样品以及施药样品，作为不同基质，并探究了不同土壤和沉积物理化性质对草甘膦残留检测的影响，以研究本方法的适用性。

表 16　土壤样品概况

样品名称	采样位置	有机质/(g/kg)	pH	铁/%	CEC/(cmol/kg)
湖南红壤	湖南	7.8	4.52	3.56	9.6
太湖水稻土	江苏	20.4	6.24	2.00	10.7
东北黑土	吉林	20.6	8.38	2.05	23.1
前湖沉积物	江苏	36.2	7.55	2.92	17.2

秦淮河沉积物	江苏	26.7	6.54	2.92	27.3

5.7.1 腐殖酸对草甘膦检测的影响

土壤中有机质含量是影响草甘膦吸附量的主要因素，而腐殖质作为土壤中有机质的重要存在形式，对草甘膦的影响尤为显著。草甘膦分子具有三个极性基团（羧基、氨基和膦酸基团），这些基团可以通过氢键与腐殖酸结合。草甘膦添加浓度为 100 μg/kg 和 1000 μg/kg 时，在不同腐殖酸含量条件下的回收率如图 19 所示。草甘膦回收率随着腐殖酸浓度的增加而减小，且回收率与腐殖酸含量存在较好的线性关系。由表 16 可以看出，不同类型土壤和沉积物的有机质含量大不相同，是影响草甘膦检测回收率的主要原因。

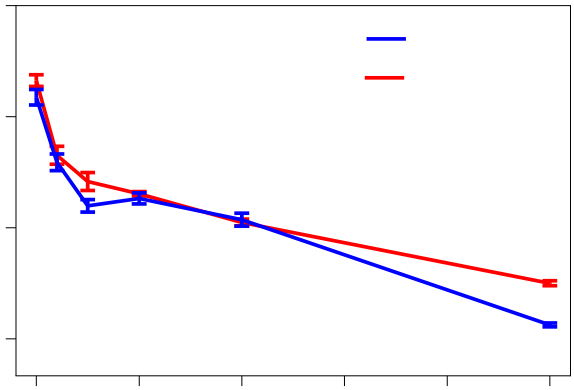


图 19　腐殖酸含量对草甘膦回收率的影响（n=3）

5.7.2 土壤 pH 对草甘膦检测的影响

土壤 pH 值随着土壤类型和组成不同而发生改变，对草甘膦的吸附效果有较大影响。对于离子型和有机酸型农药，当土壤 pH 值接近农药的 pka 值时，吸附最强。草甘膦分子中含有 3 个可电离的活泼氢,各级电离常数分别为 pk_{a1}=2.53, pk_{a2}=5.9, pk_{a3}=10.9。所以在酸性条件下，草甘膦大多是以分子态形式存在，而在碱性条件下，大多是以阴离子的形态存在，而在碱性环境中，土壤是带有负电荷的，与草甘膦发生排斥，减少了草甘膦的吸附量。在 pH 3-11 范围内，1000 μg/kg 草甘膦回收率结果如下图所示。随着 pH 的增大，草甘膦的回收率先逐渐增大，在 pH 8 和 pH 9 处取得最大值，当 pH>9 时，回收率逐渐降低到与 pH 7 时相等。然而，由下图可以看出，草甘膦回收率在不同 pH 条件下差别并不大（相对极差为 0.17），这是由于样品提取液（0.03 mol/L 磷酸钠和 0.01 mol/L 柠檬酸三钠混合溶液）本身就是一种缓冲溶液，使得土壤 pH 对草甘膦的影响大大减小，说明建立的检测方法可以适用于各种 pH 条件的土壤。

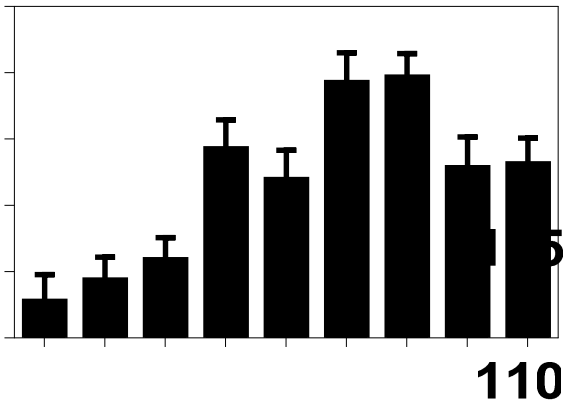


图 20　土壤 pH 值对草甘膦回收率的影响(n=3)

5.7.3 土壤重金属离子对草甘膦检测的影响

土壤中的重金属离子对草甘膦的吸附也有影响，金属离子可以和草甘膦形成稳定的络合物，比如 Cu-Gly 复合体。下图展示了在不同浓度的七种常见的重金属离子（Cu^{2+},Fe^{2+},Fe^{3+},Zn^{2+},Ni^{2+},Co^{2+},Mn^{2+}）环境下，1000 μg/kg 草甘膦回收率的变化情况。当金属离子浓度小于 0.5 g/kg 时，草甘膦回收率基本不受影响，这是由于提取液中添加了柠檬酸三钠金属离子络合剂，消除了金属离子的干扰。当金属离子浓度大于 0.5 g/kg 时，对于 Cu^{2+},Fe^{2+},Fe^{3+},Zn^{2+},Ni^{2+}离子，草甘膦回收率随着金属离子浓度的增加而急剧下降，说明这些金属离子能与草甘膦络合形成稳定化合物。而对于 Co^{2+}和 Mn^{2+}，离子浓度的增加对草甘膦的回收率基本没有影响，说明这两种金属离子不能与草甘膦作用，对草甘膦的检测没有影响。当金属离子浓度大于 20 g/kg 时，金属离子经碱液浸提会形成碱性盐沉淀，金属离子浓度降低。

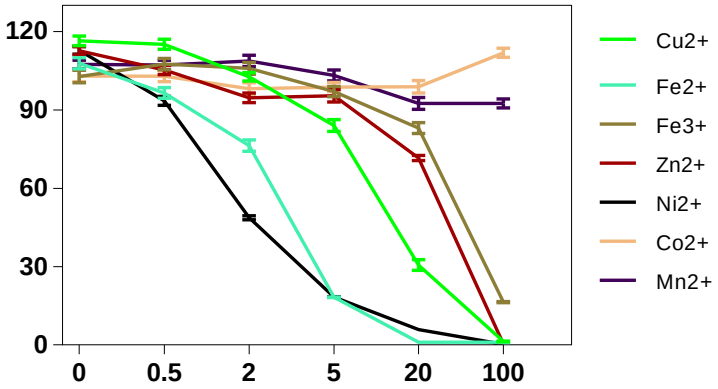


图 21　重金属含量对草甘膦回收率的影响(n=3)

综上所述，建立的土壤和沉积物中草甘膦的标准检测方法能满足各种类型的土壤和沉

积物。其中磷酸钠和柠檬酸三钠提取液具有缓冲溶液的效果，可以适应各种 pH 环境的土壤，而且柠檬酸三钠可以去除土壤中大部分重金属离子的干扰（0.5 g/kg），对重金属污染地区依然适用。当样品中金属离子浓度大于 0.5 g/kg 时，可通过适量增加金属离子络合剂来减轻干扰。

5.8 结果计算与表示

5.8.1 定性分析

根据样品中目标化合物的保留时间（RT）进行定性分析。样品中目标化合物的保留时间与期望保留时间（即标准溶液中的平均相对保留时间）的相对偏差应控制在±5%以内。

5.8.2 定量分析

新鲜土壤样品的含水量，按照公式（6）进行计算：

$$V_s = \frac{m \times (1 - W_{dm})}{\rho_{H_2O}} \qquad \text{公式（6）}$$

式中：V_s——新鲜土壤样品的含水量，ml；

m ——样品质量（湿重），g；

W_{dm}——土壤样品中的干物质含量，%；

ρ_{H_2O}——水的密度，g/ml。

土壤样品中草甘膦的浓度（μg/kg）按照公式（7）进行计算：

$$w_1 = \frac{\rho_1 \times (V_s + V_1)}{m_1 \times W_{dm}} \qquad \text{公式（7）}$$

式中：w_1——土壤样品中目标的浓度，μg/kg；

ρ_1——由标准曲线计算所得草甘膦的浓度，μg/L；

V_s——新鲜土壤样品的含水量，ml；

V_1——提取液体积，ml；

m_1——样品质量（湿重），g；

W_{dm}——土壤样品中的干物质含量，%。

沉积物样品中草甘膦的浓度（μg/kg），按照公式（8）进行计算：

$$w_2 = \frac{\rho_2 \times (\frac{m_2 \times W_{H_2O}}{\rho_{H_2O}} + V_2)}{m_2 \times (1 - W_{H_2O})} \qquad \text{公式（8）}$$

式中：w_2——沉积物样品中草甘膦的浓度，μg/kg；

ρ_2——由标准曲线计算所得草甘膦的浓度，μg/L；

m_2 ——样品质量（湿重），g；

W_{H_2O}——沉积物样品的含水率，%；

ρ_{H_2O}——水的密度，g/ml；

V_2——提取液体积，ml。

5.8.3 结果表示

检测结果表示与检出限一致，实测浓度单位以 μg/kg 表示，当测定结果大于等于 100 μg/kg 时，数据保留三位有效数字；当结果小于 100μg/kg，数据保留至整数。

5.9 质量控制与保证

使用本方法的实验室应具备合乎要求的样品分析能力、标准物质和空白操作以及数据评价和质量控制能力，所有分析结果应符合本方法所规定的质量保证要求。

5.9.1 校准

每批样品应绘制工作曲线，实验室内及实验室间工作曲线如表 17 所示，线性相关系数应≥0.995。

每 20 个样品或每批次样品（少于 20 个样品）应测定一个工作曲线中间浓度点标准溶液，其测定结果与该点浓度的相对偏差应≤20%，否则，须重新绘制标准曲线。

表 17　实验室内及实验室间工作曲线

实验室	工作曲线方程	线性相关系数R^2
实验室内	$Y=8.928\times10^7X-207971$	0.9996
验证实验室1	Y=891.1X-1.4319	0.9986
验证实验室2	Y=1115X-2.164	0.9982
验证实验室3	$Y=1.117\times10^8X-226139$	0.9994
验证实验室4	Y=195.6X+0.06994	0.9987
验证实验室5	$Y=1.794\times10^7X-52911$	0.9950
验证实验室6	$Y=6.872\times10^6X-38525$	0.9971

5.9.2 空白分析

每批样品至少做一个实验室空白和全程序空白分析，实验室空白和全程序空白不得超过

方法的检出限。

5.9.3 平行样测定

本课题组通过六家实验室进行方法验证，不同浓度草甘膦的实验室间相对标准偏差为3.4%-12%，能很好的满足有机分析实验的要求。因此，参照已颁布的《土壤　毒鼠强的测定　气相色谱法》（HJ 614-2011）、《土壤和沉积物　多环芳烃的测定　高效液相色谱法》（HJ 784-2016）等相关标准，结合有机分析的要求，本方法规定每批样品至少测定10%的平行双样，样品数量少于10个时，应至少测定一个平行样，平行样测定结果的相对偏差应≤20%。

5.9.4 基体加标

每20个样品或每批次（少于20个样品/批）需做1个基体加标样，加标样与原样品在完全相同的测试条件下进行分析。加标回收率范围应在60%-120%之间。

6 方法验证

按照《环境监测　分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168)和《国家环境污染物监测方法标准制修订工作暂行要求》（环科函 [2009] 10号）的要求，组织了6家有资质的实验室进行验证。根据影响方法的精密度和准确度的主要因素和数理统计学的要求，编制方法验证报告，验证数据主要包括检出限、测定下限、精密度以及加标回收率等。

6.1 方法验证方案

6.1.1　参与方法验证的实验室、验证人员的基本情况见表18。

表18　验证单位及验证人员概况

序号	单位	仪器型号	人员	职称	参加分析工作年限
1	呼伦贝尔市环境监测中心站	Agilent 1200	于交远	中级工程师	8年
			刘立刚	中级工程师	8年
			于瀛鑫	初级工程师	3年
2	镇江市环境监测中心站	Agilent 1200	黎莉	高级工程师	9年
			李双双	工程师	6年
3	江苏省环境监测中心	Waters 2695	张蓓蓓	高级工程师	10年
			史震宇	工程师	6年

4	常州市环境监测中心	美国戴安 U3000	章霖之	工程师	10 年
			董黎静	高级工程师	5 年
5	南宁市环境保护监测站	日本岛津 LC-20A	韦进进	高级工程师	10 年
			范辉	工程师	11 年
			范磊	工程师	8 年
6	南京市环境监测中心站	日本岛津 LC-20AT	王美飞	高级工程师	9 年

6.1.2 验证方案

方法验证方案及工作方法的编写按照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）中规定进行，具体验证方案如下：

6.1.2.1 试样的制备及分析

土壤样品：根据土壤含水率，称取与 10.0g 干重土壤相对应的新鲜土壤样品于 50 ml 离心管中，加入 50 ml 磷酸钠和柠檬酸三钠混合提取液，超声提取 30 min，以 10000 r/min 的速度离心 5min，取上清液用滤纸过滤，待净化。

沉积物样品：先以 10000 r/min 的速度离心 10 min 去除间隙水，根据含水率，称取与 10.0g 干重沉积物相对应的去除间隙水沉积物样品于 50 ml 离心管中，加入 50 ml 磷酸钠和柠檬酸三钠混合提取液，超声提取 30 min，以 10000 r/min 的速度离心 5 min，取上清液用滤纸过滤，待净化。

净化：先用 1+1 盐酸溶液调节溶液 pH 至 9，静置 10 min 后用滤纸过滤，加入 50 ml 正己烷，充分振荡后静置，弃有机相留水相，用 50 ml 正己烷再萃取一次，取 1 ml 水溶液待衍生化。

衍生化：取 1 ml 溶液于 1.5 ml 聚乙烯塑料管中，加入 0.12 ml 四硼酸钠溶液，0.2 ml FMOC-Cl 乙腈溶液，涡旋使充分混匀，常温下衍生 4 h，经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。

测定条件：

流动相 A：乙腈；流动相 B：0.2%磷酸水溶液，梯度洗脱程序见表 19。

流速：1.0 ml/min。

柱温：35℃。

进样量：20 μL。

荧光条件：激发波长：254 nm；发射波长：301 nm。

表 19　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

6.1.2.2 标准系列配制

吸取不同体积的标准使用液，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 10.0 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L、100 μg/L、200 μg/L、500 μg/L。按 6.1.2.1 步骤进行提取、净化、衍生化以及测定。

6.1.2.3 检出限及测定下限的确定

称取 10.0 g 石英砂，加入 0.5 μg 标准溶液，即加标浓度为 50.0 μg/kg。加标样品经过一系列前处理过程及衍生化反应后，平行测定 7 次。计算 7 次测定结果的标准偏差 S，此时检出限 MDL＝S×3.143。本方法以 4 倍检出限为目标物的测定下限。

6.1.2.4 精密度的测定

采集未施过草甘膦农药的样品进行精密度实验。

土壤样品：根据土壤含水率，称取与 10.0 g 干重土壤相对应的新鲜空白土样，分别加入 1.0 μg、5.0 μg 和 10.0 μg 标准溶液，即加标浓度为 100 μg/kg，500 μg/kg 和 1000 μg/kg，每个浓度平行配制 6 份，测定结果分别计算平均值、标准偏差和相对标准偏差。

沉积物样品：沉积物通过离心去除间隙水，其余同土壤样品。

6.1.2.5 准确度

采集施过草甘膦农药的样品进行准确度实验，并测定样品原始浓度。

土壤样品：根据土壤含水率，称取与 10.0 g 干重土壤相对应的实际样品，分别加入 1.0 μg、5.0 μg 和 10.0 μg 标准溶液，即加标溶度为 100 μg/kg，500 μg/kg 和 1000 μg/kg，每个浓度平行配制 6 份，测定结果分别计算平均值和加标回收率。

沉积物样品：沉积物通过离心去除间隙水，其余同土壤样品。

6.2　方法验证过程

筛选有资质的验证单位，向验证单位提供方法草案、验证方案、标准溶液和验证报告格式。验证单位按照验证方案准备实验用品，在规定时间内完成验证实验并反馈验证结果报告。

在方法验证前，参加验证的操作人员应熟悉和掌握方法原理、操作步骤及流程。方法验证过程中所用的试剂和材料、仪器和设备及分析步骤应符合方法相关要求。

6.3 方法验证结论

（1）检出限和测定下限

六家实验室草甘膦的方法检出限中最高的值为 11 μg/kg，测定下限中最高的值为 44 μg/kg。

（2）精密度

六家实验室对含草甘膦浓度为 100 μg/kg，500 μg/kg，1000 μg/kg 的统一样品进行测定：实验室内相对标准偏差分别为 3.3%~12%、1.6%~11%、2.7%~12%；实验室间相对标准偏差分别为 3.4%~7.8%、3.4%~12%、4.0%~11%；重复性限为 14 μg/kg~19 μg/kg、66 μg/kg ~94 μg/kg、110 μg/kg ~169 μg/kg；再现性限为 18 μg/kg~26 μg/kg、76 μg/kg~172 μg/kg、169 μg/kg~292 μg/kg。

（3）准确度

六家实验室对含草甘膦浓度为 100 μg/kg，500 μg/kg，1000 μg/kg 的统一样品进行加标分析测定。加标回收率范围分别为：79.6%±12%～102%±13%，77.3%±5.6%～100%±8.6%，75.5%±9.4%～100%±12%。加标回收率最终值为 75.5%±9.4%~102%±13%。

6.4 方法验证数据的取舍

（1）检出限：由于不同品牌、不同型号高效液相色谱仪灵敏度可能会有差异，本标准在进行方法验证时，尽可能选择了覆盖市场的不同品牌高效液相色谱仪，包括 Waters、Agilent、美国戴安，日本岛津，获得的数据能够全面反映各种品牌型号仪器的检出限水平。

（2）以本方法确定的 4 倍检出限为目标物的测定下限。

（3）本课题组在进行方法验证报告数据统计时，所有数据全部采用，未进行取舍。

7 与开题报告差异说明

7.1 提取方式的差异

7.1.1 磷酸钠溶液提取替代氢氧化钾溶液提取

开题报告中样品的提取溶液采用氢氧化钾溶液来提取土壤和沉积物样品中的草甘膦，经实验室进一步优化提取溶液，尝试了多种碱性溶液，包括0.6 mol/LKOH、0.6 mol/L NaOH、0.6 mol/L$NaHCO_3$、30.0 mmol/L Na_3PO_4、0.1 mol/LKH_2PO_4等，实验结果表明，Na_3PO_4溶液

的提取效果最好，回收率最高。文献提示土壤中草甘膦与磷酸盐的吸附机理类似，磷酸盐会与草甘膦竞争吸附位点从而降低草甘膦的吸附量，提高回收率。因此，本标准将样品的提取溶液修改为磷酸钠溶液。

7.1.2 正己烷萃取净化替代二氯甲烷萃取净化

开题报告中样品的净化溶剂采用二氯甲烷，经实验室进一步优化净化溶剂，通过对比二氯甲烷、三氯甲烷、正己烷以及二氯甲烷：乙酸乙酯（7:3，v:v）、二氯甲烷：正己烷（7:3，v:v）的净化效果，实验结果表明正己烷的净化效果最好。因此，本标准将样品的净化溶剂修改为正己烷。

7.2 开展了样品保存条件和时间研究

按照开题论证专家意见，开展了土壤和沉积物样品保存条件和时间的研究，在实际样品中加入浓度为1000 μg/kg的草甘膦标样，在常温及4℃环境中保存，不同时间测定其中目标物的浓度，实验结果表明，土壤样品需在4℃冰箱里冷藏保存，7天内完成前处理；沉积物样品需在4℃冰箱里冷藏保存，3天内完成前处理。

7.3 以标准溶液绘制工作曲线

按照开题论证专家意见，修改了开题报告中按照土壤/沉积物基质溶液配制工作曲线的方法，修改为以标准溶液绘制工作曲线。由于改变了提取和净化溶液，且采用柱前衍生方法进行测定，消除了基质效应影响，以标准溶液绘制工作曲线能够较好地定量土壤/沉积物样本中的目标待测物草甘膦。

7.4 修改标准名称

按照标准征求意见稿技术审查会专家的审查意见，标准题目由“土壤和沉积物　草甘膦的测定　液相色谱法”修改为“土壤和沉积物　草甘膦的测定　高效液相色谱法”。

8 参考文献

[1] Sandro de Miranda Colombo, Developing a fluorimetric sequential injection methodology to study adsorption/desorption of glyphosate on soil and sediment samples, Microchemical Journal 98 (2011) :260–266.

[2] F. Veiga, J.M. Zapata, Dynamics of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in a forest soil in Galicia, north-west Spain, The Science of the Total Environment 271 (2001)135-144.

[3] A.M.Botero-Coy, Improvements in the analytical methodology the residue determination of

the herbicide glyphosate in soils by iquid chromatography coupled to mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 1292(2013) 132-141.

[4] J.V. Sancho , F. Hernfindez, Rapid determination of glufosinate, glyphosate andaminomethylphosphonic acid in environmental water samples using precolumn fluorogenic labeling and coupled-column liquid chromatography, Journal of Chromatography A, 737(1996) 75-83.

[5] EPA 547.0,Determination of Glyphosate in Drinking water by Direct—queousinjection HPLC, Post-column Derivatization, and Fluorescence Detection

[6] GB 12686 -2004. 草甘膦原药

[7] GB 12686 -2004. 草甘膦水剂

[8] GB23750-2009. 植物性产品中草甘膦残留量的测定 气相色谱-质谱法.

[9] NY/T 1906-2006. 食品中草甘膦残留量测定.

[10] NY/T 1923-2007. 食品中草甘膦残留量的检测方法 液相色谱-质谱/质谱法.

[11] GB13596-2004. 烟草及烟草制品 有机氯农药残留量的测定 气相色谱法.

[12] Mar´ıa Iba´n˜ez, O´ scar J. Pozo, Residue determination of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 1081 (2005) 145–155.

[13] Hiroyuki Kataoka , Sunhi Ryu, Simple and rapid determination of the herbicides glyphosate and glufosinate in river water, soil and carrot samples by gas chromatography with flame photometric detection, Journal of Chromatography A, 726 (1996) 253-258.

[14] 李波 ，邓晓军, 2007.高效液相色谱-串联质谱法检测食品中的草甘膦及其主要代谢物氨甲基膦酸残留.色谱. 25(4) 486～490.

[15] 刘铮铮 ，李立 ，王静,2009.高效液相色谱- 柱前衍生法测定水中有机磷除草剂. 中国环境监测 25(5) 35～38.

[16] 汪立高，杨仁斌，魏凤,2011. 土壤中残留草甘膦检测方法及其消解动态研究. 湖南农业科学 2011，(23)：85～88.

[17] 王玉军，周东美,孙瑞娟.2006. 除草剂草甘膦在几种土壤和矿物上的吸附研究. 土壤学报.45(5) 780～785.

[18] 马为民.2008. 草甘膦和氨甲基磷酸残留量检测方法研究进展. 农药. 47(8) 554～557.

[19] 何凯, 李国芳2011.草甘麟分析方法的研究进展.理化检验-化学分册，第47卷991～995.

[20] 刘晓玉, 肖珊珊, 李军.2015. 食品和水质中草甘膦检测方法及研究进展. 食品安全质量检测学报.6(6)2241～2247.

附一

方法验证报告

方 法 名 称：土壤和沉积物 草甘膦的测定 高效液相色谱法

项目承担单位：环保部南京环境科学研究所

验 证 单 位：呼伦贝尔市环境监测中心站、镇江市环境监测中心站、江苏省环境监测中心、常州市环境监测中心、南宁市环境保护监测站、南京市环境监测中心站

项目负责人及职称：王娜/副研究员

通 讯 地 址：江苏省南京市玄武区蒋王庙 8 号 电话：025-85287140

报告编写人及职称：王娜/副研究员

报 告 日 期：2016 年 12 月 6 日

1　原始测试数据

1.1 实验室基本情况

按照《环境监测　分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）的规定，组织 6 家有资质的实验室进行对《土壤和沉积物　草甘膦的测定 高效液相色谱法》进行方法验证，其中实验室 1 为呼伦贝尔市环境监测中心站、2 为镇江市环境监测中心站、3 为江苏省环境监测中心、4 为常州市环境监测中心、5 为南宁市环境保护监测站、6 为南京市环境监测中心站

表 1-1　参加验证的人员情况登记表

姓名	性别	年龄	职务或职称	所学专业	参加分析工作年份	方法验证单位名称
于交远	男	31	中级工程师	应用化学	8 年	呼伦贝尔市环境监测中心站
刘立刚	男	32	中级工程师	应用化学	8 年	
于瀛鑫	男	26	初级工程师	材料化学	3 年	
黎莉	女	38	高级工程师	药物化学	9 年	镇江市环境监测中心站
李双双	女	31	工程师	有机化学	6 年	
张蓓蓓	女	34	高级工程师	药物分析	10 年	江苏省环境监测中心
史震宇	男	31	工程师	环境科学	6 年	
章霖之	男	35	工程师	环境工程	10 年	常州市环境监测中心
董黎静	女	37	高级工程师	环境科学	5 年	
韦进进	女	36	高级工程师	植物营养学	10 年	南宁市环境保护监测站
范辉	男	35	工程师	环境工程	11 年	
范磊	男	36	工程师	有机化学	8 年	
王美飞	女	36	高级工程师	分析化学	9 年	南京市环境监测中心站

表 1-2　使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	性能状况	方法验证单位名称
高效液相色谱仪	Agilent 1200	正常	呼伦贝尔市环境监测中心站
高效液相色谱仪	Agilent 1200	正常	镇江市环境监测中心站
高效液相色谱仪	Waters 2695	正常	江苏省环境监测中心
高效液相色谱仪	美国戴安 U3000	正常	常州市环境监测中心
高效液相色谱仪	日本岛津 LC-20A	正常	南宁市环境保护监测站
高效液相色谱仪	日本岛津 LC-20AT	正常	南京市环境监测中心站

表 1-3　使用试剂及溶剂登记表

名称	厂家、规格	纯化处理方法	备注	验证单位
磷酸	安谱 /500 ml /AR	/	/	呼伦贝尔市环境监测中心站
乙腈	天地 /4 L /HPLC	/	/	
正己烷	天地 /4 L /HPLC	/	/	
磷酸	南化 /500 ml /AR	/	/	镇江市环境监测中心站
乙腈	Merck /4 L /HPLC	/	/	
正己烷	南化 /500 ml /AR	/	/	
磷酸	南化 /500 ml /AR	/	/	江苏省环境监测中心
乙腈	Merck /4 L /HPLC	/	/	
正己烷	南化 /500 ml /AR	/	/	
磷酸	国药 /500 ml /AR	/	/	常州市环境监测中心
乙腈	Merck /4 L /HPLC	/	/	
正己烷	南化 /500 ml /AR	/	/	
磷酸	国药 /500 ml /AR	/	/	南宁市环境保护监测站
乙腈	Fisher /4 L /HPLC	/	/	
正己烷	南化 /500 ml /AR	/	/	
磷酸	国药 /500 ml /AR	/	/	南京市环境监测中心站
乙腈	Merck /4 L /HPLC	/	/	
正己烷	Merck /4 L /HPLC	/	/	

1.2 检出限和测定下限测试数据

按照 HJ168 的检出限确定方法，对 6 家实验室测定《土壤和沉积物 草甘膦的测定 高效液相色谱法》中目标化合物的检出限和测定下限数据进行汇总，见表 1-4。

表 1-4 方法检出限、测定下限测试数据表（μg/kg）

平行号		实验室 1	实验室 2	实验室 3	实验室 4	实验室 5	实验室 6
测定结果(μg/kg)	1	49	47	52	53	48	49
	2	49	50	48	62	45	50
	3	49	50	50	55	53	54
	4	53	48	51	53	49	50
	5	53	55	49	55	49	45
	6	54	55	46	54	52	50
	7	50	55	55	53	46	51
平均值 $\bar{x}_i$（μg/kg）		51	51	50	55	49	50
标准偏差 S_i(μg/kg)		2.3	3.4	2.7	3.3	2.8	2.7
t 值		3.143	3.143	3.143	3.143	3.143	3.143
检出限（μg/kg）		7	11	9	10	9	9
测定下限（μg/kg ）		28	44	36	40	36	36

1.3 精密度测试数据

准备目标化合物含量为不同浓度加标样品进行精密度测定，6 家实验室测试原始数据分别见表 1-5 至表 1-10。

表 1-5　实验室 1 精密度测试原始数据

湖南红壤				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	90	438	829
	2	91	439	930
	3	84	399	934
	4	90	427	963
	5	87	444	824
	6	96	430	909
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		90	430	898
标准偏差 Si（μg/kg）		4.0	16.0	58.1
相对标准偏差 RSDi （%）		4.5	3.7	6.5
水稻土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	92	431	896
	2	91	429	842
	3	84	417	793
	4	84	404	829
	5	89	399	850
	6	88	465	843
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		88	424	842
标准偏差 Si（μg/kg）		3.6	23.7	33.3
相对标准偏差 RSDi （%）		4.1	5.6	4.0
东北黑土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	84	397	833
	2	81	423	900

	3	92	407	819
	4	95	382	926
	5	90	413	830
	6	81	444	929
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		87	411	873
标准偏差 Si（μg/kg）		6.0	21.4	50.9
相对标准偏差 RSDi （%）		6.9	5.2	5.8
前湖沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	84	395	791
	2	91	402	772
	3	72	370	765
	4	74	404	800
	5	81	343	769
	6	85	461	819
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		81	396	786
标准偏差 Si（μg/kg）		7.1	39.5	21.0
相对标准偏差 RSDi （%）		8.8	10	2.7
秦淮河沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	88	413	725
	2	70	404	755
	3	75	348	814
	4	75	411	752
	5	93	388	883
	6	77	402	700
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		80	394	771
标准偏差 Si（μg/kg）		8.9	24.4	66.6
相对标准偏差 RSDi （%）		11	6.2	8.6

表 1-6　实验室 2 精密度测试原始数据

湖南红壤				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	88	436	797
	2	95	447	730
	3	93	428	758
	4	100	438	797
	5	94	431	755
	6	93	426	744
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		94	434	764
标准偏差 S_i（μg/kg）		3.8	7.8	27.6
相对标准偏差 RSD_i （%）		4.1	1.8	3.6
水稻土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	95	536	986
	2	114	637	1051
	3	97	561	1043
	4	95	534	1008
	5	102	573	1048
	6	95	520	1004
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		100	560	1023
标准偏差 S_i（μg/kg）		7.8	42.4	27.3
相对标准偏差 RSD_i （%）		7.8	7.6	2.7
东北黑土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	79	385	791
	2	90	399	840
	3	80	426	809

	4	95	415	782
	5	85	406	868
	6	85	421	860
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		86	409	825
标准偏差 S_i（μg/kg）		5.9	15.4	36.2
相对标准偏差 RSD_i （%）		6.9	3.8	4.4
前湖沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	103	419	784
	2	97	390	844
	3	83	425	783
	4	88	452	793
	5	78	371	870
	6	88	390	792
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		90	408	811
标准偏差 S_i（μg/kg）		9.0	29.6	36.6
相对标准偏差 RSD_i （%）		10	7.3	4.5
秦淮河沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	90	447	885
	2	92	446	880
	3	91	482	848
	4	86	422	925
	5	88	405	844
	6	71	454	870
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		86	443	875
标准偏差 S_i（μg/kg）		7.7	26.7	29.6
相对标准偏差 RSD_i （%）		8.9	6.0	3.4

表 1-7　实验室 3 精密度测试原始数据

湖南红壤				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	105	492	954
	2	109	505	947
	3	108	492	1001
	4	103	488	965
	5	122	510	920
	6	114	442	997
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		110	488	964
标准偏差 S_i（μg/kg）		6.9	24.2	30.8
相对标准偏差 RSD_i （%）		6.2	5.0	3.2
水稻土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	96	405	870
	2	91	469	868
	3	83	439	929
	4	90	442	825
	5	85	513	901
	6	85	429	895
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		88	449	881
标准偏差 S_i（μg/kg）		4.8	37.4	35.4
相对标准偏差 RSD_i （%）		5.5	8.3	4.0
东北黑土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	78	374	744
	2	89	405	790
	3	84	398	798

	4	80	438	788
	5	78	400	753
	6	84	425	748
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		82	407	770
标准偏差 S_i（μg/kg）		4.5	22.5	24.4
相对标准偏差 RSD_i （%）		5.5	5.5	3.2
前湖沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	77	433	711
	2	87	383	727
	3	93	383	613
	4	78	421	732
	5	87	385	718
	6	87	310	621
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		85	386	687
标准偏差 S_i（μg/kg）		6.3	43.1	55.0
相对标准偏差 RSD_i （%）		7.4	11	8.0
秦淮河沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	86	373	823
	2	80	393	772
	3	86	391	719
	4	85	402	764
	5	82	381	823
	6	89	422	574
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		85	394	746
标准偏差 S_i（μg/kg）		3.3	17.1	92.6
相对标准偏差 RSD_i （%）		3.9	4.4	12

表 1-8　实验室 4 精密度测试原始数据

湖南红壤				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	102	478	1044
	2	94	548	1066
	3	100	524	1092
	4	95	456	1050
	5	101	505	1053
	6	101	518	1006
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		99	505	1052
标准偏差 S_i（μg/kg）		3.3	33.0	28.2
相对标准偏差 RSD_i （%）		3.4	6.5	2.7
水稻土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	94	437	969
	2	94	449	1004
	3	90	458	972
	4	86	389	836
	5	92	419	903
	6	89	463	799
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		91	436	914
标准偏差 S_i（μg/kg）		3.2	27.6	82.4
相对标准偏差 RSD_i （%）		3.6	6.3	9.0
东北黑土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	78	390	728
	2	67	355	908
	3	75	389	908

	4	67	425	786
	5	73	438	771
	6	83	383	874
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		74	397	829
标准偏差 S_i（μg/kg）		6.4	30.1	77.4
相对标准偏差 RSD_i （%）		8.6	7.6	9.3
前湖沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	74	355	725
	2	69	397	870
	3	79	404	819
	4	64	358	729
	5	68	355	726
	6	74	368	799
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		72	373	778
标准偏差 S_i（μg/kg）		5.4	22.1	60.6
相对标准偏差 RSD_i （%）		7.5	5.9	7.8
秦淮河沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	83	376	719
	2	88	378	749
	3	90	344	856
	4	85	349	703
	5	76	416	780
	6	65	382	822
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		81	374	771
标准偏差 S_i（μg/kg）		9.4	25.8	59.5
相对标准偏差 RSD_i （%）		12	6.9	7.7

表 1-9　实验室 5 精密度测试原始数据

湖南红壤				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	99	490	957
	2	97	512	934
	3	103	506	1024
	4	104	519	934
	5	101	537	1028
	6	121	465	1023
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		104	505	983
标准偏差 S_i（μg/kg）		8.7	24.7	46.6
相对标准偏差 RSD_i （%）		8.4	4.9	4.7
水稻土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	88	524	827
	2	84	432	872
	3	94	460	996
	4	94	470	923
	5	82	450	847
	6	87	449	859
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		88	464	887
标准偏差 S_i（μg/kg）		4.9	32.1	62.0
相对标准偏差 RSD_i （%）		5.6	6.9	7.0
东北黑土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	87	428	905
	2	89	448	748
	3	94	389	891

	4	91	451	858
	5	83	459	836
	6	77	420	751
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		87	432	832
标准偏差 S_i（μg/kg）		6.1	25.8	67.8
相对标准偏差 RSD_i （%）		7.0	6.0	8.2
前湖沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	78	366	739
	2	80	404	833
	3	70	425	799
	4	80	374	749
	5	81	439	824
	6	75	413	830
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		77	403	796
标准偏差 S_i（μg/kg）		4.4	28.8	42.0
相对标准偏差 RSD_i （%）		5.7	7.1	5.3
秦淮河沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	86	394	787
	2	88	442	811
	3	81	413	837
	4	87	405	860
	5	87	390	850
	6	83	415	710
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		85	410	809
标准偏差 S_i（μg/kg）		2.8	18.6	55.4
相对标准偏差 RSD_i （%）		3.3	4.5	6.8

表 1-10　实验室 6 精密度测试原始数据

湖南红壤				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	95	392	924
	2	88	499	986
	3	89	461	960
	4	97	430	924
	5	93	485	1000
	6	101	441	922
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		94	451	953
标准偏差 S_i（μg/kg）		5.0	39.1	34.5
相对标准偏差 RSD_i （%）		5.3	8.7	3.6
水稻土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	95	403	816
	2	95	405	863
	3	87	399	817
	4	88	413	770
	5	94	415	900
	6	90	401	825
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		92	406	832
标准偏差 S_i（μg/kg）		3.7	6.6	44.6
相对标准偏差 RSD_i （%）		4.0	1.6	5.4
东北黑土				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	83	427	865
	2	92	479	760
	3	96	403	836

	4	93	453	868
	5	86	403	754
	6	103	444	893
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		92	435	829
标准偏差 S_i（μg/kg）		7.1	30.0	58.9
相对标准偏差 RSD_i （%）		7.7	6.9	7.1
前湖沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	75	372	804
	2	86	345	759
	3	89	373	750
	4	77	409	634
	5	84	358	707
	6	69	435	713
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		80	382	728
标准偏差 S_i（μg/kg）		7.5	33.7	58.0
相对标准偏差 RSD_i （%）		9.4	8.8	8.0
秦淮河沉积物				
平行号		**100 μg/kg**	**500 μg/kg**	**1000 μg/kg**
测定结果(μg/kg)	1	89	456	811
	2	84	408	744
	3	86	391	780
	4	88	394	843
	5	84	404	772
	6	91	377	814
平均值**错误!未找到引用源。**（μg/kg）		87	405	794
标准偏差 S_i（μg/kg）		2.9	27.3	35.2
相对标准偏差 RSD_i （%）		3.3	6.7	4.4

1.4 准确度测试数据

准备施过草甘膦农药的实际样品加标进行准确度测试。其结果见表 1-11 至表 1-16。

表 1-11　实验室 1 准确度测试数据

湖南红壤							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	90	250	704	250	1155
	2	N.D.	91	265	742	265	1245
	3	N.D.	84	243	715	243	1091
	4	N.D.	90	241	719	241	1109
	5	N.D.	87	305	745	305	1266
	6	N.D.	96	230	702	230	1107
平均值**错误!未找到引用源。**、$\overline{y}_i$（μg/kg）		N.D.	90	256	721	256	1162
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		91.9		93.1		90.6	
水稻土							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	162	253	162	643	162	1001
	2	143	241	143	584	143	862
	3	163	250	163	609	163	1024
	4	160	238	160	625	160	982
	5	143	237	143	548	143	923
	6	161	252	161	610	161	1016
平均值**错误!未找到引用源。**、		155	245	155	603	155	968

$\bar{y}_i$（μg/kg）							
加标量 μ（μg/kg）		102		511		1021	
加标回收率 P_i		90.0		89.6		81.3	
东北黑土							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	391	470	391	798	391	1139
	2	453	541	453	857	453	1282
	3	467	557	467	901	467	1255
	4	397	480	397	819	397	1205
	5	395	474	395	855	395	1228
	6	484	560	484	888	484	1328
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		431	514	431	853	431	1239
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		82.6		84.4		80.8	
前湖沉积物							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	84	N.D.	395	N.D.	791
	2	N.D.	95	N.D.	402	N.D.	772
	3	N.D.	72	N.D.	370	N.D.	765
	4	N.D.	74	N.D.	404	N.D.	800
	5	N.D.	81	N.D.	343	N.D.	769
	6	N.D.	85	N.D.	461	N.D.	819
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	81	N.D.	396	N.D.	786

加标量 μ（μg/kg）		104		518		1036	
加标回收率 P_i		78.4		76.4		75.8	
秦淮河沉积物							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	88	N.D.	413	N.D.	725
	2	N.D.	70	N.D.	404	N.D.	755
	3	N.D.	75	N.D.	348	N.D.	814
	4	N.D.	75	N.D.	411	N.D.	752
	5	N.D.	93	N.D.	388	N.D.	883
	6	N.D.	77	N.D.	402	N.D.	700
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	80	N.D.	394	N.D.	771
加标量 μ（μg/kg）		102		512		1024	
加标回收率 P_i		77.6		77.0		75.3	

表 1-12　实验室 2 准确度测试数据

湖南红壤							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	375	476	0.375	916	375	1458
	2	363	465	0.363	882	363	1450
	3	424	536	0.424	932	424	1492
	4	256	374	0.256	802	256	1391
	5	343	443	0.343	876	343	1439
	6	307	414	0.307	852	307	1361
平均值**错误!未找到引用源。**、		344	451	344	877	344	1432

$\bar{y}_i$（μg/kg）							
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		106		106		109	
水稻土							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	189	277	189	649	189	1054
	2	173	260	173	630	173	1019
	3	157	258	157	563	157	1069
	4	147	310	147	612	147	1116
	5	183	271	183	613	183	1048
	6	164	246	164	580	164	903
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		169	270	169	608	169	1035
加标量 μ（μg/kg）		102		511		1021	
加标回收率 P_i		87.5		83.6		83.6	
东北黑土							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	314	384	314	758	314	1070
	2	399	487	399	762	399	1134
	3	413	494	413	810	413	1180
	4	321	404	321	710	321	1081
	5	376	472	376	791	376	1109
	6	448	517	448	884	448	1218
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		379	460	379	786	379	1132

加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		81.3		79.4		74.3	
前湖沉积物							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	103	N.D.	419	N.D.	784
	2	N.D.	97	N.D.	390	N.D.	844
	3	N.D.	83	N.D.	425	N.D.	783
	4	N.D.	88	N.D.	452	N.D.	793
	5	N.D.	78	N.D.	371	N.D.	870
	6	N.D.	88	N.D.	390	N.D.	792
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	90	N.D.	408	N.D.	811
加标量 μ（μg/kg）		101		503		1006	
加标回收率 P_i		88.9		81.1		80.6	
秦淮河沉积物							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	90	N.D.	447	N.D.	885
	2	N.D.	92	N.D.	446	N.D.	880
	3	N.D.	91	N.D.	482	N.D.	848
	4	N.D.	86	N.D.	422	N.D.	925
	5	N.D.	88	N.D.	405	N.D.	844
	6	N.D.	71	N.D.	454	N.D.	870
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	86	N.D.	443	N.D.	875
加标量 μ（μg/kg）		99		495		991	

加标回收率 P_i	87.2	89.3	88.4

表 1-13　实验室 3 准确度测试数据

湖南红壤							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	168	291	168	719	168	1220
	2	213	332	213	696	213	1219
	3	242	346	242	709	242	1204
	4	190	309	190	702	190	1162
	5	223	320	223	769	223	1229
	6	227	338	227	690	227	1229
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		211	323	211	714	211	1.11
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		109		101		100	
水稻土							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	102	188	102	551	102	913
	2	106	196	106	507	106	938
	3	128	219	128	520	128	1088
	4	90	183	90	523	90	1008
	5	105	195	105	564	105	1023
	6	134	225	134	572	134	995
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		111	201	111	540	111	994

加标量 μ（μg/kg）		102		511		1021	
加标回收率 P_i		88.5		84.0		86.5	
东北黑土							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	209	290	209	610	209	912
	2	318	404	318	719	318	1128
	3	290	374	290	697	290	1066
	4	269	356	269	649	269	1052
	5	299	384	299	674	299	1127
	6	301	379	301	719	301	1046
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		281	364	281	678	281	1055
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		83.4		79.4		77.4	
前湖沉积物							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	77	N.D.	433	N.D.	711
	2	N.D.	87	N.D.	383	N.D.	727
	3	N.D.	93	N.D.	383	N.D.	613
	4	N.D.	78	N.D.	421	N.D.	732
	5	N.D.	87	N.D.	385	N.D.	718
	6	N.D.	87	N.D.	310	N.D.	621
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	85	N.D.	386	N.D.	.687
加标量 μ（μg/kg）		101		503		1006	

加标回收率 P_i		84.2		76.7		68.3	
秦淮河沉积物							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	86	N.D.	373	N.D.	823
	2	N.D.	80	N.D.	393	N.D.	772
	3	N.D.	86	N.D.	391	N.D.	719
	4	N.D.	85	N.D.	402	N.D.	764
	5	N.D.	82	N.D.	381	N.D.	823
	6	N.D.	89	N.D.	422	N.D.	574
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	85	N.D.	394	N.D.	746
加标量 μ（μg/kg）		99		495		991	
加标回收率 P_i		85.3		79.5		75.3	

表 1-14　实验室 4 准确度测试数据

湖南红壤							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	207	304	207	739	207	1184
	2	231	338	231	744	231	1150
	3	120	205	120	618	120	1195
	4	169	270	169	694	169	1248
	5	211	301	211	663	211	1166
	6	138	0.237	138	739	138	1158
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		179	276	179	686	179	1183

加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		97.6		101		101	
水稻土							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	208	294	208	681	208	1075
	2	119	218	119	607	119	972
	3	206	290	206	639	206	1037
	4	231	313	231	685	231	1091
	5	132	222	132	630	132	1024
	6	210	296	210	661	210	977
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		184	272	184	651	184	1029
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		88.0		93.3		84.5	
东北黑土							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	192	278	192	610	192	1019
	2	195	291	195	528	195	995
	3	168	251	168	551	168	912
	4	172	244	172	518	172	967
	5	180	270	180	552	180	843
	6	162	278	162	516	162	867
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		178	263	178	546	178	934
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	

加标回收率 P_i		84.4		73.6		75.6	
前湖沉积物							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	74	N.D.	355	N.D.	725
	2	N.D.	69	N.D.	397	N.D.	870
	3	N.D.	79	N.D.	404	N.D.	819
	4	N.D.	64	N.D.	358	N.D.	729
	5	N.D.	68	N.D.	355	N.D.	726
	6	N.D.	74	N.D.	368	N.D.	799
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	72	N.D.	373	N.D.	778
加标量 μ（μg/kg）		101		503		1006	
加标回收率 P_i		71.0		74.1		77.3	
秦淮河沉积物							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	83	N.D.	376	N.D.	719
	2	N.D.	88	N.D.	378	N.D.	749
	3	N.D.	90	N.D.	344	N.D.	856
	4	N.D.	85	N.D.	349	N.D.	703
	5	N.D.	76	N.D.	416	N.D.	780
	6	N.D.	65	N.D.	382	N.D.	822
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	81	N.D.	374	N.D.	771
加标量 μ（μg/kg）		99		495		991	
加标回收率 P_i		81.8		75.6		77.9	

表 1-15　实验室 5 准确度测试数据

湖南红壤							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	204	303	204	700	204	1158
	2	186	291	186	707	186	1236
	3	86.0	184	86.0	602	86.0	1129
	4	142	251	142	586	142	1133
	5	179	284	179	665	179	1096
	6	103	195	103	612	103	1061
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		150	251	150	645	150	1135
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		101		99.1		98.5	
水稻土							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	177	262	177	615	177	1021
	2	102	194	102	570	102	1008
	3	101	200	101	519	101	949
	4	131	230	131	585	131	1016
	5	72.0	162	72.0	517	72.0	871
	6	95.0	184	95.0	514	95.0	995
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		113	205	113	554	113	976
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		92.3		88.1		86.4	

东北黑土							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	167	247	167	580	167	993
	2	166	251	166	596	166	1073
	3	181	267	181	575	181	1063
	4	177	259	177	582	177	1047
	5	228	313	228	662	228	1054
	6	202	294	202	617	202	1048
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		187	272	187	602	187	1046
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		85.1		83.1		86.0	
前湖沉积物							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	78	N.D.	366	N.D.	739
	2	N.D.	81	N.D.	404	N.D.	833
	3	N.D.	70	N.D.	425	N.D.	799
	4	N.D.	80	N.D.	374	N.D.	749
	5	N.D.	81	N.D.	439	N.D.	824
	6	N.D.	75	N.D.	413	N.D.	830
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	77	N.D.	403	N.D.	796
加标量 μ（μg/kg）		101		503		1006	
加标回收率 P_i		76.8		80.2		79.1	
秦淮河沉积物							

平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	86	N.D.	394	N.D.	787
	2	N.D.	88	N.D.	442	N.D.	811
	3	N.D.	85	N.D.	413	N.D.	837
	4	N.D.	87	N.D.	405	N.D.	860
	5	N.D.	87	N.D.	390	N.D.	850
	6	N.D.	83	N.D.	415	N.D.	710
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	85	N.D.	410	N.D.	809
加标量 μ（μg/kg）		99		495		991	
加标回收率 P_i		85.9		82.7		81.7	

表 1-16　实验室 6 准确度测试数据

湖南红壤							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	235	336	235	721	235	1293
	2	187	293	187	727	187	1219
	3	198	307	198	696	198	1163
	4	210	304	210	677	210	1289
	5	213	321	213	724	213	1172
	6	183	286	183	691	183	1180
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		204	308	204	706	204	1219
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		104		100		101	

水稻土							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	209	301	209	656	209	1017
	2	217	307	217	648	217	1023
	3	229	311	229	674	229	1111
	4	235	319	235	661	235	1016
	5	225	312	225	668	225	1056
	6	229	318	229	691	229	1117
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		224	311	224	667	224	1057
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		87.7		88.6		83.3	
东北黑土							
平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	210	281	210	607	210	895
	2	203	281	203	627	203	978
	3	213	288	213	602	213	1020
	4	186	267	186	575	186	990
	5	202	276	202	567	202	934
	6	171	281	171	527	171	996
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		198	274	198	584	198	969
加标量 μ（μg/kg）		100		500		1000	
加标回收率 P_i		76.5		77.4		77.1	
前湖沉积物							

平行号		加标量 100 μg/kg		加标量 500 μg/kg		加标量 1000 μg/kg	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	75	N.D.	372	N.D.	804
	2	N.D.	86	N.D.	345	N.D.	759
	3	N.D.	89	N.D.	373	N.D.	750
	4	N.D.	77	N.D.	409	N.D.	634
	5	N.D.	84	N.D.	358	N.D.	707
	6	N.D.	69	N.D.	435	N.D.	713
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	80	N.D.	382	N.D.	728
加标量 μ（μg/kg）		102		508		1017	
加标回收率 P_i		78.6		75.1		71.6	
秦淮河沉积物							
平行号		**加标量 100 μg/kg**		**加标量 500 μg/kg**		**加标量 1000 μg/kg**	
		样品	**加标样品**	**样品**	**加标样品**	**样品**	**加标样品**
测定结果(μg/kg)	1	N.D.	89	N.D.	456	N.D.	811
	2	N.D.	84	N.D.	408	N.D.	744
	3	N.D.	86	N.D.	391	N.D.	780
	4	N.D.	88	N.D.	394	N.D.	843
	5	N.D.	84	N.D.	404	N.D.	772
	6	N.D.	91	N.D.	377	N.D.	814
平均值**错误!未找到引用源。**、$\bar{y}_i$（μg/kg）		N.D.	87	N.D.	405	N.D.	794
加标量 μ（μg/kg）		99		498		996	
加标回收率 P_i		87.5		81.3		79.7	

2 方法验证数据汇总

2.1 方法检出限、测定下限数据汇总

表 2-1　方法检出限、测定下限汇总表（μg/kg）

实验室	检出限	测定下限
1	7	28
2	11	44
3	9	36
4	10	40
5	9	36
6	9	36

结论：当样品量为 10.0g 时，草甘膦检出限和测定下限分别为 11 μg/kg 和 44 μg/kg。

2.2 精密度测定数据汇总

精密度数据汇总见表 2-2。

表 2-2　6 家实验室精密度测试数据汇总表

湖南红壤									
	100 μg/kg			500 μg/kg			1000 μg/kg		
	$\bar{x}$	S_i	RSD_i	$\bar{x}$	S_i	RSD_i	$\bar{x}$	S_i	RSD_i
1	90	4.0	4.5	430	16.0	3.7	898	58.1	6.5
2	94	3.8	4.1	434	7.8	1.8	764	27.6	3.6
3	110	6.9	6.2	488	24.2	5.0	964	30.8	3.2
4	99	3.3	3.4	505	33.0	6.5	1052	28.2	2.7
5	104	8.7	8.4	505	24.7	4.9	983	46.6	4.7
6	94	5.0	5.3	451	39.1	8.7	953	34.5	3.6
$\bar{\bar{x}}$(μg/kg)	99			469			936		
S' (μg/kg)	7.6			34.6			97.8		

$RSD'_{(\%)}$	7.8			7.4			11		
重复性限 r(μg/kg)	16			73			110		
再现性限 R(μg/kg)	26			118			292		
水稻土									
	100 μg/kg			**500 μg/kg**			**1000 μg/kg**		
	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**
1	88	3.6	4.1	424	23.7	5.6	842	33.3	4.0
2	100	7.8	7.8	560	42.4	7.6	1023	27.3	2.7
3	88	4.8	5.5	449	37.4	8.3	881	35.4	4.0
4	91	3.2	3.6	436	27.6	6.3	914	82.4	9.0
5	88	4.9	5.6	464	32.1	6.9	887	62.0	7.0
6	92	3.7	4.0	406	6.6	1.6	832	44.6	5.4
$\bar{\bar{x}}$(μg/kg)	91			457			897		
S' (μg/kg)	4.5			54.6			69.1		
$RSD'_{(\%)}$	4.9			12			7.7		
重复性限 r(μg/kg)	14			86			143		
再现性限 R(μg/kg)	18			172			234		
东北黑土									
	100 μg/kg			**500 μg/kg**			**1000 μg/kg**		
	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**
1	87	6.0	6.9	411	21.4	5.2	873	50.9	5.8
2	86	5.9	6.9	409	15.4	3.8	825	36.2	4.4
3	82	4.5	5.5	407	22.5	5.5	770	24.4	3.2
4	74	6.4	8.6	397	30.1	7.6	829	77.4	9.3
5	87	6.1	7.0	432	25.8	6.0	832	67.8	8.2
6	92	7.1	7.7	435	30.0	6.9	829	58.9	7.1

$\bar{\bar{x}}$(μg/kg)	85			415			826		
$S^{'}$ (μg/kg)	6.2			15.2			32.8		
$RSD^{'}$ (%)	7.4			3.7			4.0		
重复性限 r(μg/kg)	17			69			156		
再现性限 R(μg/kg)	23			76			169		
前湖沉积物									
	100 μg/kg			**500 μg/kg**			**1000 μg/kg**		
	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**
1	81	7.1	8.8	396	39.5	10.0	786	21.0	2.7
2	90	9.0	10.1	408	29.6	7.3	811	36.6	4.5
3	85	6.3	7.4	386	43.1	11.2	687	55.0	8.0
4	72	5.4	7.5	373	22.1	5.9	778	60.6	7.8
5	77	4.4	5.7	403	28.8	7.1	796	42.0	5.3
6	80	7.5	9.4	382	33.7	8.8	728	58.0	8.0
$\bar{\bar{x}}$(μg/kg)	81			391			764		
$S^{'}$ (μg/kg)	6.2			13.4			47.2		
$RSD^{'}$ (%)	7.7			3.4			6.2		
重复性限 r(μg/kg)	19			94			133		
再现性限 R(μg/kg)	25			---			180		
秦淮河沉积物									
	100 μg/kg			**500 μg/kg**			**1000 μg/kg**		
	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**	$\bar{x}$	**S_i**	**RSD_i**
1	80	8.9	11	394	24.4	6.2	771	66.6	8.6
2	86	7.7	8.9	443	26.7	6.0	875	29.6	3.4
3	85	3.3	3.9	394	17.1	4.4	746	92.6	12.4
4	81	9.4	12	374	25.8	6.9	771	59.5	7.7

5	85	2.8	3.3	410	18.6	4.5	809	55.4	6.8
6	87	2.9	3.3	405	27.3	6.7	794	35.2	4.4
$\bar{x}$(μg/kg)	84			403			795		
S'(μg/kg)	2.8			22.8			45		
RSD'(%)	3.4			5.7			5.7		
重复性限 r(μg/kg)	18			66			169		
再现性限 R(μg/kg)	18			124			199		

6 家实验室验证结果表明方法具有较好的重复性和再现性，实验室间重复性限为：14 μg/kg~169 μg/kg；再现性限为：18 μg/kg ~292 μg/kg。

2.3 准确度测定数据汇总

准确度数据汇总见表 2-3。

表 2-3　6 家实验室准确度测试数据汇总表

湖南红壤			
实验室号	加标量为 100 μg/kg	加标量为 500 μg/kg	加标量为 1000 μg/kg
	$\bar{P}$%	$\bar{P}$%	$\bar{P}$%
1	91.9	93.1	90.6
2	106	106	109
3	109	101	100
4	97.6	101	101
5	101	99.1	98.5
6	104	100	101
$\overline{\bar{P}\%}$	102	100	100
$S_{\bar{P}}$	6.3	4.3	5.8
$\overline{\bar{p}\%} \pm 2S_{\bar{p}}$	102±13	100±8.6	100±12
水稻土			

实验室号	加标量为 100 μg/kg	加标量为 500 μg/kg	加标量为 1000 μg/kg
	$\overline{P}$%	$\overline{P}$%	$\overline{P}$%
1	90.0	89.6	81.3
2	87.5	83.6	83.6
3	88.5	84.0	86.5
4	88.0	93.3	84.5
5	92.3	88.1	86.4
6	87.7	88.6	83.3
$\overline{\overline{P\%}}$	89.0	87.9	84.3
$S_{\overline{P}}$	1.8	3.6	2.0
$\overline{\overline{p\%}} \pm 2S_{\overline{p}}$	89.0±3.7	87.9±7.3	84.3±4.0
东北黑土			
实验室号	加标量为 100 μg/kg	加标量为 500 μg/kg	加标量为 1000 μg/kg
	$\overline{P}$%	$\overline{P}$%	$\overline{P}$%
1	82.6	84.4	80.8
2	81.3	79.4	74.3
3	83.4	79.4	77.4
4	84.4	73.6	75.6
5	85.1	83.1	86.0
6	76.5	77.4	77.1
$\overline{\overline{P\%}}$	82.2	79.5	78.5
$S_{\overline{P}}$	3.1	3.9	4.2
$\overline{\overline{p\%}} \pm 2S_{\overline{p}}$	82.2±6.2	79.5±7.8	78.5±8.5
前湖沉积物			
实验室号	加标量为 100 μg/kg	加标量为 500 μg/kg	加标量为 1000 μg/kg
	$\overline{P}$%	$\overline{P}$%	$\overline{P}$%
1	78.4	76.4	75.8

2	88.9	81.1	80.6
3	84.2	76.7	68.3
4	71.0	74.1	77.3
5	76.8	80.2	79.1
6	78.6	75.1	71.6
$\overline{\overline{P\%}}$	79.6	77.3	75.5
$S_{\bar{P}}$	6.2	2.8	4.7
$\overline{\overline{p\%}} \pm 2S_{\bar{p}}$	79.6±12	77.3±5.6	75.5±9.4
秦淮河沉积物			
实验室号	**加标量为 100 μg/kg**	**加标量为 500 μg/kg**	**加标量为 1000 μg/kg**
	$\overline{P}\%$	$\overline{P}\%$	$\overline{P}\%$
1	77.6	77.0	75.3
2	87.2	89.3	88.4
3	85.3	79.5	75.3
4	81.8	75.6	77.9
5	85.9	82.7	81.7
6	87.5	81.3	79.7
$\overline{\overline{P\%}}$	84.2	80.9	79.7
$S_{\bar{P}}$	3.8	4.9	4.9
$\overline{\overline{p\%}} \pm 2S_{\bar{p}}$	84.2±7.6	80.9±9.8	79.7±9.8

统计结果表明，对不同浓度不同基质土壤样品进行加标测定，加标回收率最终值为75.5%±9.4%~102%±12.6%。

3 方法验证结论

（1）本课题组在进行方法验证报告数据统计时，所有数据全部采用，未进行取舍。

（2）6家实验室验证结果表明，草甘膦的方法检出限为11 μg/kg，测定下限为44 μg/kg。方法具有较好的重复性和再现性，实验室间重复性限为：14 μg/kg~169 μg/kg；再现性限为：

18 μg/kg ~292 μg/kg。对不同基质土壤样品进行加标测定，其加标回收率最终值为75.5%±9.4%~102%±13%。

（3）从方法验证结果可以看出，草甘膦的检出限就为 11 μg/kg，远低于我国土壤环境质量标准（2008 征求意见稿）限值（0.5 mg/kg），所以本方法检出限满足现在及以后环保标准的要求。方法的各项特性指标能达到预期要求。