

中华人民共和国国家环境保护标准

HJ 1071-2019

水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法

Water quality—Determination of glyphosate
—High performance liquid chromatography

(发布稿)

本电子版为发布稿。请以中国环境出版集团出版的正式标准文本为准。

2019-12-31 发布

2020-06-30 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 干扰和消除.....	1
5 试剂和材料.....	1
6 仪器和设备.....	2
7 样品.....	3
8 分析步骤.....	3
9 结果计算与表示.....	4
10 精密度和准确度.....	5
11 质量保证和质量控制.....	6
12 废物处理.....	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、生活污水和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：生态环境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、安徽省生态环境监测中心、江苏省南京环境监测中心、江苏省常州环境监测中心、江苏省无锡环境监测中心和江苏省泰州环境监测中心。

本标准生态环境部2019年12月31日批准。

本标准自2020年6月30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品具有一定的毒性，试剂配制和样品前处理过程应在通风橱中进行，操作时应按规定要求佩戴防护器具，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。

当进样体积为 20 μl 时，方法的检出限为 2 $\mu\text{g/L}$ ，测定下限为 8 $\mu\text{g/L}$ 。

2 规范性引用文件

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

HJ 91.1 污水监测技术规范

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

样品在 pH 为 4~9 的条件下加入二水合柠檬酸三钠，经过滤或固相萃取净化后与 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萃取净化去除衍生化副产物后，用具有荧光检测器的高效液相色谱分离检测。以保留时间和特征波长定性，外标法定量。

4 干扰和消除

样品中的金属离子会与草甘膦形成稳定的络合物从而干扰草甘膦的测定，可通过加入二水合柠檬酸三钠消除干扰。

5 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。

5.1 乙腈 (CH_3CN): 色谱纯。

5.2 甲醇 (CH_3OH): 色谱纯。

5.3 二氯甲烷 (CH_2Cl_2): 色谱纯。

- 5.4 盐酸： $\rho(\text{HCl}) = 1.19 \text{ g/ml}$ ，优级纯。
- 5.5 磷酸： $\rho(\text{H}_3\text{PO}_4) = 1.69 \text{ g/ml}$ ，优级纯。
- 5.6 氢氧化钠（NaOH）。
- 5.7 盐酸溶液：1+1。
量取50 ml盐酸（5.4），缓慢加入到50 ml水中。
- 5.8 氢氧化钠溶液： $c(\text{NaOH}) = 0.1 \text{ mol/L}$ 。
称取0.4 g氢氧化钠（5.6）溶于少量水中，定容至100 ml。
- 5.9 磷酸溶液： $\rho(\text{H}_3\text{PO}_4) = 0.2\%$ 。
取2.0 ml磷酸（5.5）于1000 ml容量瓶中，用水稀释定容至标线，混匀。
- 5.10 二水合柠檬酸三钠（ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）。
- 5.11 十水合四硼酸钠（ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ）。
- 5.12 四硼酸钠溶液： $c(\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7) = 0.05 \text{ mol/L}$ 。
称取 1.91 g 十水合四硼酸钠（5.11）溶于少量水中，定容至 100 ml。
- 5.13 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℃以下避光冷藏。
- 5.14 9-苄甲基氯甲酸酯乙腈溶液： $\rho(\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_2) = 1000 \text{ mg/L}$ 。
称取50 mg 9-苄甲基氯甲酸酯标准品（5.13），用少量乙腈（5.1）溶解，转移至50 ml容量瓶中，用乙腈（5.1）稀释定容至标线，混匀。4℃以下避光冷藏，保质期3个月。
- 5.15 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℃以下避光冷藏。
- 5.16 草甘膦标准贮备液： $\rho(\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}) = 1000 \text{ mg/L}$ 。
准确称取50.0 mg草甘膦标准品（5.15），溶于少量水中，转移至50 ml容量瓶中，用水稀释定容至标线，混匀。4℃以下避光冷藏，保质期6个月，或直接购买有证标准溶液。
- 5.17 草甘膦标准使用液： $\rho(\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}) = 10.0 \text{ mg/L}$ 。
移取适量草甘膦标准贮备液（5.16），用水稀释，配制浓度为10.0 mg/L的草甘膦标准使用液。4℃以下避光冷藏，保质期2个月。
- 5.18 滤膜：0.45 μm ，亲水性聚丙烯、玻璃纤维、亲水性聚四氟乙烯或其他等效材质。

6 仪器和设备

- 6.1 高效液相色谱仪（HPLC）：具有荧光检测器。
- 6.2 色谱柱：填料粒径为5 μm ，柱长250 mm，内径4.6 mm的十八烷基键合硅胶（ C_{18} ）反相色谱柱，或其它性能相近的色谱柱。
- 6.3 固相萃取柱：填料为二乙烯基苯和N-乙基吡咯烷酮共聚物或十八烷基硅胶的萃取柱，或同等柱效的萃取柱，规格为500 mg/6 ml。
- 6.4 聚乙烯塑料（PE）管：10 ml。
- 6.5 水平振荡器。
- 6.6 涡旋振荡器。
- 6.7 棕色采样瓶：250 ml或500 ml带聚四氟乙烯衬垫的螺旋盖玻璃瓶或磨口瓶。
- 6.8 棕色样品瓶：2.0 ml带聚四氟乙烯衬垫的螺旋盖玻璃瓶。
- 6.9 一般实验室常用仪器和设备。

7 样品

7.1 样品采集和保存

按照 HJ 91.1、HJ/T 91 和 HJ/T 164 的相关规定进行样品的采集。

用棕色采样瓶（6.7）采集样品，样品满瓶采集。若采集的样品 pH 不在 4~9 之间，用盐酸溶液（5.7）或氢氧化钠溶液（5.8）调节其 pH 至 4~9，4℃ 以下冷藏、避光保存，7 d 内完成样品分析工作。

7.2 试样的制备

7.2.1 固相萃取净化

依次用 6 ml 甲醇（5.2）和 6 ml 水活化固相萃取柱（6.3），保证小柱柱头浸润。量取 10 ml 样品，加入 29.3 mg 二水合柠檬酸三钠（5.10），混匀后以约 3 ml/min（约 1 滴/秒）的流速通过固相萃取柱，收集净化后的样品，待衍生。

注 1：对于清洁度较好的，对目标化合物测定没有明显干扰的样品，可加入二水合柠檬酸三钠（5.10）后直接经滤膜（5.18）过滤，待衍生。

注 2：若样品浓度较高，先将样品稀释后加入二水合柠檬酸三钠（5.10）再进行固相萃取净化，待衍生。

7.2.2 衍生化反应

取 2.00 ml 净化后的样品于聚乙烯塑料（PE）管（6.4）中，加入 0.50 ml 四硼酸钠溶液（5.12），1.00 ml 9-芴甲基氯甲酸酯乙腈溶液（5.14），充分混匀后置于水平振荡器（6.5）上，40℃ 下衍生 1 h。

7.2.3 液液萃取净化

在衍生后的样品中加入 5 ml 二氯甲烷（5.3），置于涡旋振荡器（6.6）上涡旋萃取 2 min，取水相层，经滤膜（5.18）过滤，收集 1 ml 滤液于棕色样品瓶（6.8）中，待测。

7.3 空白试样的制备

用实验用水代替样品，按照与试样的制备（7.2）相同步骤进行实验室空白试样的制备。

8 分析步骤

8.1 液相色谱参考条件

流动相A：乙腈（5.1），流动相B：磷酸溶液（5.9），梯度洗脱程序见表1；

流速：1.0 ml/min；柱温：30℃；进样量：20 μl；

激发波长：254 nm；

发射波长：以302 nm作为检测波长，以315 nm作为辅助定性波长。

表 1 梯度洗脱程序

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

注：15 min~20 min用于清洗色谱柱，清洗时间可根据实际样品的复杂程度进行调整。20 min~25 min为色谱柱的平衡时间。

8.2 工作曲线的建立

分别取适量的草甘膦标准使用液（5.17），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0 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、200 μg/L、500 μg/L（此为参考浓度）。

按7.2.2步骤进行衍生化反应，按7.2.3步骤液液萃取净化，然后按仪器参考条件（8.1），由低浓度到高浓度依次对标准系列溶液进样，以草甘膦的浓度为横坐标，对应的色谱峰面积或峰高为纵坐标，建立工作曲线。

8.3 试样测定

按照与工作曲线的建立（8.2）相同的仪器条件进行试样（7.2）的测定。

8.4 空白试验

按照与试样测定（8.3）相同的仪器条件进行空白试样（7.3）的测定。

9 结果计算与表示

9.1 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。

在本标准推荐的液相色谱参考条件（8.1）下，100 μg/L 草甘膦溶液对应的衍生物标准色谱图见图 1。

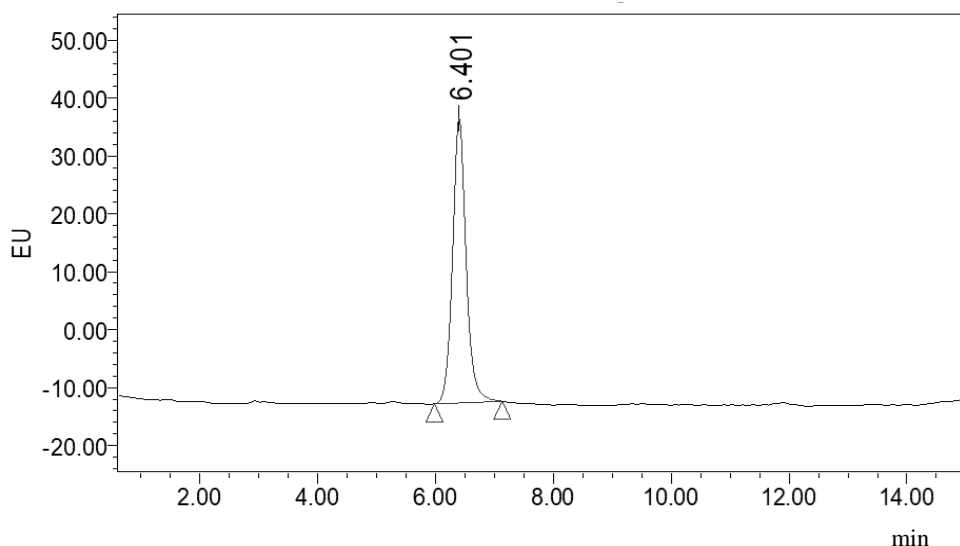


图 1 草甘膦衍生物标准色谱图

9.2 定量分析

样品中的草甘膦用外标法定量，草甘膦的质量浓度按公式（1）计算。

$$\rho = \rho_1 \times D \quad (1)$$

式中： ρ ——样品中草甘膦的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

ρ_1 ——由工作曲线计算所得草甘膦的浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

D ——样品的稀释倍数。

9.3 结果表示

测定结果小数点后位数的保留与方法检出限一致，最多保留3位有效数字。

10 精密度和准确度

10.1 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2.2%~9.2%、2.5%~8.5%；实验室间相对标准偏差分别为6.8%、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 $2\ \mu\text{g/L}$ 、 $22\ \mu\text{g/L}$ 。

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3.3%~9.8%、1.3%~3.8%；实验室间相对标准偏差分别为5.1%、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 $2\ \mu\text{g/L}$ 、 $16\ \mu\text{g/L}$ 。

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3.2%~7.6%、2.7%~7.4%；实验室间相对标准偏差分别为6.1%、8.4%；重复性限分别为 $2\ \mu\text{g/L}$ 、 $14\ \mu\text{g/L}$ ；再现性限分别为 $2\ \mu\text{g/L}$ 、 $26\ \mu\text{g/L}$ 。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 µg/L、100 µg/L和1000 µg/L的工业废水（草甘膦生产废水总排口）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%、3.5%~7.8%、1.6%~8.4%；实验室间相对标准偏差分别为7.6%、4.8%、8.4%；重复性限分别为2 µg/L、15 µg/L、143 µg/L；再现性限分别为3 µg/L、19 µg/L、265 µg/L。

6家实验室对含草甘膦平均浓度为15 µg/L的工业废水（草甘膦生产废水车间排口）分别加标10 µg/L和100 µg/L进行了6次重复测定：实验室内相对标准偏差分别为0.8%~9.8%、2.2%~4.7%、0.9%~6.5%；实验室间相对标准偏差分别为8.4%、4.3%、6.9%；重复性限分别为2 µg/L、3 µg/L、12 µg/L；再现性限分别为4 µg/L、4 µg/L、24 µg/L。

10.2 准确度

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 µg/L和100 µg/L的地表水样品进行了分析测定：加标回收率分别为91.5%~106%、92.9%~109%，加标回收率最终值分别为97.4%±13.0%、98.7%±12.4%。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 µg/L和100 µg/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%，加标回收率最终值分别为98.7%±10.2%、100%±9.6%。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 µg/L和100 µg/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%，加标回收率最终值分别为97.7%±12.0%、97.6%±16.6%。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 µg/L、100 µg/L和1000 µg/L的工业废水（草甘膦生产废水总排口）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%，加标回收率最终值分别为96.6%±14.4%、98.9%±9.4%、97.9%±16.8%。

6家实验室对含草甘膦平均浓度为15 µg/L的工业废水（草甘膦生产废水车间排口）分别加标10 µg/L和100 µg/L进行了分析测定：加标回收率分别为87.0%~108%、87.7%~107%，加标回收率最终值分别为97.7%±15.4%、95.8%±13.4%。

11 质量保证和质量控制

11.1 空白试验

每20个样品或每批次（少于20个样品/批）应至少做一个空白试验，测定结果应低于方法检出限。

11.2 校准

分析样品之前，应建立能够覆盖样品浓度范围的至少5个浓度点的工作曲线，曲线的相关系数应 ≥ 0.995 。每20个样品或每批次（少于20个样品/批）应测定一个标准系列中间浓度点，其测定结果与工作曲线该点浓度的相对误差应在 $\pm 20\%$ 以内。否则，应建立新的工作曲线。

11.3 平行样

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

11.4 基体加标

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

12 废物处理

实验中产生的废物应集中收集,并做好相应标识,委托有资质的单位进行处理。
