

中华人民共和国国家环境保护标准

HJ 914-2017

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 diquat—Solid phase
extraction high performance liquid chromatography**

(发布稿)

本电子版为发布稿。请以中国环境出版社出版的正式标准文本为准。

2017-12-28 发布

2018-04-01 实施

环 境 保 护 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.....	5
12 废物处理.....	6
13 注意事项.....	6
附录 A（资料性附录）方法精密度和准确度.....	7
附录 B（资料性附录）直接进样-高效液相色谱法测定水质百草枯和杀草快.....	8

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，保障人体健康，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和杀草快的固相萃取-高效液相色谱法。

本标准的附录A、附录B为资料性附录。

本标准为首次发布。

本标准由环境保护部环境监测司和科技标准司组织制订。

本标准起草单位：浙江省环境监测中心。

本标准验证单位：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和嘉兴市环境保护监测站。

本标准环境保护部2017年12月28日批准。

本标准自2018年4月1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

警告：实验中使用的溶剂和标准溶液对人体健康有害，溶液配制及样品前处理过程应在通风橱中进行，并按规定佩戴防护用具，避免接触皮肤和衣物。

1 适用范围

本标准规定了测定水中百草枯和杀草快的固相萃取-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。

当取样体积为 500 ml，试样定容体积为 1.0 ml，进样体积为 50 μ l 时，百草枯检出限为 0.3 μ g/L，测定下限为 1.2 μ g/L；杀草快检出限为 0.4 μ g/L，测定下限为 1.6 μ 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/T 91 地表水和废水监测技术规范

HJ/T 164 地下水环境监测技术规范

3 方法原理

水样中的百草枯和杀草快经弱阳离子交换固相萃取柱富集，用含甲酸的乙腈溶液洗脱后，用液相色谱分离、紫外检测器检测，根据保留时间定性，外标法定量。

4 干扰和消除

4.1 对于含盐量较高的水样，为避免固相萃取柱穿透，可减少取样体积、将水样稀释或采用较大容量的固相萃取柱富集。

4.2 具有相近保留时间的物质干扰测定时，可通过改变流动相提高分离度；也可用标准溶液添加法、不同波长下的吸收比、紫外吸收光谱图比较法辅助定性。

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，实验用水为不含目标物的去离子水。

5.1 乙腈 (CH_3CN)：液相色谱纯。

5.2 甲醇 (CH_3OH)：液相色谱纯。

5.3 甲酸 (HCOOH)：液相色谱纯。

5.4 甲酸铵 (HCOONH_4)：优级纯。

- 5.5 硫酸 (H_2SO_4): $\rho=1.84 \text{ g/ml}$ 。
- 5.6 硫代硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$): 优级纯。
- 5.7 氢氧化钠 (NaOH)。
- 5.8 硫酸溶液: 1+1。
量取 50 ml 硫酸 (5.5), 缓慢加入 50 ml 水中。
- 5.9 氢氧化钠溶液: $\rho=0.4 \text{ g/ml}$ 。
称取 40 g 氢氧化钠 (5.7) 溶于水中, 定容至 100 ml。
- 5.10 甲醇溶液: 1+1。
分别量取 50 ml 甲醇 (5.2) 和 50 ml 水, 混匀。
- 5.11 甲酸铵溶液: $\text{pH}=2\sim 3$ 。
称取 12.6 g 甲酸铵 (5.4) 溶于水中, 加入 20ml 甲酸 (5.3), 用水定容至 1000ml。
- 5.12 含 2%甲酸的乙腈溶液。
分别量取 2 ml 甲酸 (5.3) 和 98 ml 乙腈 (5.1), 混匀。
- 5.13 标准贮备液: $\rho=100 \text{ mg/L}$ 。
直接购买市售百草枯 ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2$, CAS NO. 1910-42-5) 和杀草快 ($\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{N}_2$, CAS NO. 85-00-7) 有证标准溶液, 按标准溶液证书要求保存。
- 5.14 标准使用液: $\rho=10.0 \text{ mg/L}$ 。
取 500 μl 标准贮备液 (5.13) 于 5 ml 容量瓶 (聚丙烯或聚氯乙烯材质) 中, 用甲醇溶液 (5.10) 定容, 混匀, 置于 -18°C 冰箱, 密封、避光保存, 保存期为 6 个月。
- 5.15 固相萃取柱: 弱阳离子交换柱 (150 mg / 6.0 ml 或 500 mg / 6.0 ml) 或其他性能相近的固相萃取柱。
- 5.16 氮气: 纯度 $\geq 99.999\%$ 。
- 5.17 滤膜: 0.45 μm 尼龙滤膜。

6 仪器和设备

- 6.1 液相色谱仪 (HPLC)。
- 6.1.1 可调波长紫外检测器或二极管阵列检测器。
- 6.1.2 色谱柱: 柱长 25 cm, 内径 4.6 mm, 填料粒径为 5 μm 的亲水液相色谱柱 (HILIC) 或其它性能相近的色谱柱。
- 6.1.3 进样器: 手动或自动进样器, 进样量 5 μl ~50 μl 。
- 6.1.4 柱温箱。
- 6.1.5 样品瓶: 聚氯乙烯或聚丙烯材质。
- 6.2 固相萃取装置: 自动或手动, 流速可调节。10 ml 聚氯乙烯或聚丙烯材质洗脱液接收管。
- 6.3 pH 计: 准确至小数点后 1 位。
- 6.4 浓缩装置: 氮吹浓缩仪或其他类型的性能相当的设备。
- 6.5 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/T 91 和 HJ/T 164 的相关规定使用聚氯乙烯或聚丙烯材质采样瓶采集样品，于 0~4℃ 避光保存，7 d 内完成萃取，萃取后 21 d 内完成分析。当水样 pH>9 时，应用硫酸溶液（5.8）调节水样 pH 至中性，当水样中含余氯时，需加入硫代硫酸钠（5.6），每升水加入 0.1 g。

7.2 试样制备

7.2.1 过滤

水样用滤膜（5.17）过滤，置于采样瓶中。

7.2.2 固相萃取

用硫酸溶液（5.8）或氢氧化钠溶液（5.9）调节水样 pH 至 6~7，依次用 4 ml 甲醇（5.2）、水以 1 滴/s（约 3 ml/min）的速度活化固相萃取柱（5.15），在活化过程中应确保萃取柱填料表面不露出液面。取 500 ml 过滤后水样（7.2.1）（根据水样中目标物和其他阳离子浓度适当减少取样体积），调节流量使水样以 2 ml/min~5 ml/min 的速度通过萃取柱，在柱填料刚要暴露于空气之前，依次用 2 ml 水、2 ml 甲醇（5.2）淋洗，弃去流出液。然后用 5 ml 含 2% 甲酸的乙腈溶液（5.12）以 1 滴/s（约 3 ml/min）的速度洗脱固相萃取柱，收集洗脱液于洗脱液接收管中，定容，待测，如需浓缩，继续进行 7.2.3。

注 1：对于基质相同的未知样品，应先进行穿透实验，以确定合适的取样体积。方法如下：分别用固相萃取柱（150 mg / 6.0 ml）富集不同体积的同一个水样（如 100 ml、200 ml 和 400 ml），如后者的测定结果低于前者的 30%，说明后者富集水样体积过大，固相萃取柱已穿透，应适当减少取样体积、将水样稀释或使用容量较大的固相萃取柱（如 500 mg / 6.0 ml）富集样品。

注 2：对于目标物含量较高的水样（>0.1mg/L），过滤后可直接进样测定，方法详见附录 B。

7.2.3 浓缩

用浓缩装置（6.4）将洗脱液浓缩定容至 1.0 ml，转移至样品瓶（6.1.5）待测。

7.3 空白试样制备

用实验用水替代样品，按照与试样制备（7.2）相同的步骤进行实验室空白试样的制备。

8 分析步骤

8.1 测量条件

流动相：甲酸铵溶液（5.11）/乙腈（5.1）=6/4（V/V）；流速：1.0 ml/min；柱温：40℃；进样量：50 μl；检测波长：百草枯定量波长为 257 nm，辅助定性波长为 290 nm；杀草快定量波长为 309 nm，辅助定性波长为 290 nm。

8.2 校准曲线的建立

移取一定量的标准使用液（5.14），用含 2%甲酸的乙腈（5.12）稀释、定容于聚氯乙烯或聚丙烯材质容量瓶，配制至少 5 个浓度点的标准系列，标准系列浓度分别为 0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L 和 10.0 mg/L（此为参考浓度）。由低浓度到高浓度依次对标准系列溶液进样，按测量条件（8.1）分析。以标准系列溶液中目标物浓度为横坐标，以其对应的峰高或峰面积为纵坐标，建立校准曲线。

注：标准系列溶液经分装后置于-18℃冰箱，密封、避光保存，可保存 6 个月。

8.3 试样测定

按照与校准曲线的建立（8.2）相同的步骤进行试样（7.2）的测定。

8.4 空白试验

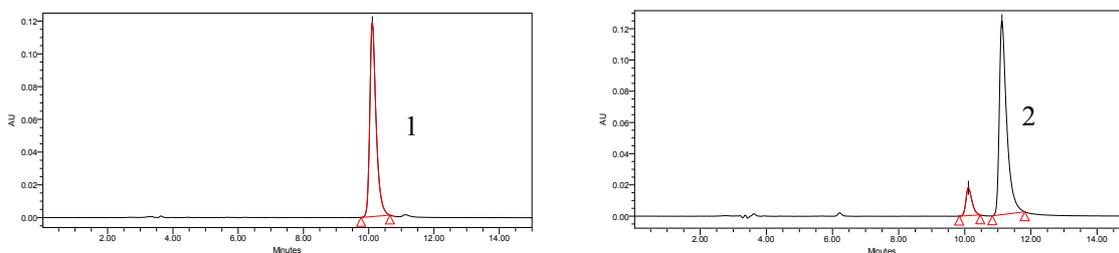
按照与试样测定（8.3）相同的步骤进行空白试样（7.3）的测定。

9 结果计算与表示

9.1 定性分析

根据目标物的保留时间定性。在相同的色谱条件下，试样中目标物保留时间和标准溶液中该组分的保留时间相对偏差应小于 2.5%。必要时采用标准溶液添加法、不同波长下的吸收比和紫外吸收光谱辅助定性。

在本标准规定的测量条件（8.1）下，1.0 mg/L 百草枯和杀草快的标准溶液色谱图见图 1。



1—杀草快，吸收波长为 309nm；2—百草枯，吸收波长为 257nm

图 1 标准溶液色谱图

9.2 结果计算

样品中目标物的质量浓度按照公式（1）进行计算：

$$\rho_i = \frac{\rho_1 \times V_2 \times 1000}{V_1} \quad (1)$$

式中： ρ_i —样品中目标物的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

ρ_1 —由校准曲线得到的试样中目标物的浓度， mg/L ；

V_2 —试样定容体积, ml;

V_1 —富集水样的体积, ml。

9.3 结果表示

当测定结果小于 10 $\mu\text{g/L}$ 时, 保留小数点后 1 位; 当测定结果大于等于 10 $\mu\text{g/L}$ 时, 保留 3 位有效数字。

10 精密度和准确度

10.1 精密度

六家实验室对含百草枯浓度为 2.5 $\mu\text{g/L}$ 、20.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 的地下水、地表水、废水样品进行了 6 次重复测定, 实验室内相对标准偏差分别为: 6.2%~14%, 4.3%~12%, 1.7%~11%; 实验室间相对标准偏差分别为: 9.8%, 8.9%, 6.1%; 重复性限为: 0.6 $\mu\text{g/L}$, 5.0 $\mu\text{g/L}$, 17 $\mu\text{g/L}$; 再现性限为: 0.7 $\mu\text{g/L}$, 6.5 $\mu\text{g/L}$, 23 $\mu\text{g/L}$ 。

六家实验室对含杀草快浓度为 2.5 $\mu\text{g/L}$ 、20.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 的地下水、地表水、废水样品进行了 6 次重复测定, 实验室内相对标准偏差分别为: 7.2%~12%, 5.0%~15%, 2.7%~12%; 实验室间相对标准偏差分别为: 8.8%, 9.8%, 5.2%; 重复性限为: 0.6 $\mu\text{g/L}$, 4.7 $\mu\text{g/L}$, 17 $\mu\text{g/L}$; 再现性限为: 0.8 $\mu\text{g/L}$, 6.8 $\mu\text{g/L}$, 19 $\mu\text{g/L}$ 。

精密度结果详见附录 A。

10.2 准确度

六家实验室对含百草枯浓度均小于检出限的地下水、地表水、废水实际样品进行了加标分析测定, 加标量分别为 2.5 $\mu\text{g/L}$ 、20.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$, 加标回收率分别为 70.4%~90.7%, 83.0%~105%, 91.3%~107%; 加标回收率最终值: 76.1% \pm 15%, 90.9% \pm 16%, 99.5% \pm 12%。

六家实验室对含杀草快浓度均小于检出限的地下水、地表水、废水实际样品进行了加标分析测定, 加标量分别为 2.5 $\mu\text{g/L}$ 、20.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$, 加标回收率分别为 82.0%~104%, 82.0%~111%, 74.1%~83.3%; 加标回收率最终值: 89.5% \pm 16%, 95.5% \pm 19%, 77.7% \pm 8.0%。

准确度结果详见附录 A。

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) 至少分析 1 个实验室空白, 空白测试结果应低于方法检出限。

11.2 校准

校准曲线的相关系数 ≥ 0.995 ，否则重新进行校准。

选择校准曲线的中间浓度点进行连续校准，每分析 20 个样品或每批次(少于 20 个样品)进行 1 次连续校准，测定结果相对偏差应 $\leq 20\%$ ，否则重新建立校准曲线。

11.3 平行样

每 20 个样品或每批次(少于 20 个)至少分析 1 个平行样，平行样相对偏差 $\leq 30\%$ 。

11.4 基体加标

每 20 个样品或每批次(少于 20 个)至少分析 1 个基体加标样，回收率在 60%~120% 之间。

12 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。

13 注意事项

在样品采集、前处理及分析过程中不得使用玻璃材质器皿及耗材。

附录 A
(资料性附录)
方法精密度和准确度

采用固相萃取富集，测定三种类型的加标水样的精密度和准确度，方法精密度结果见表 A.1，方法准确度结果见表 A.2。

表 A.1 六家实验室固相萃取法精密度 (n=6)

样品类型	目标物	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 (%)	重复性限 r ($\mu\text{g/L}$)	再现性限 R ($\mu\text{g/L}$)
地下水	百草枯	1.9	6.2~14	9.8	0.6	0.7
	杀草快	2.2	7.2~12	8.8	0.6	0.8
地表水	百草枯	18.2	4.3~12	8.9	5.0	6.5
	杀草快	19.1	5.0~15	9.8	4.7	6.8
废水	百草枯	99.5	1.7~11	6.1	17	23
	杀草快	77.7	2.7~12	5.2	17	19

注：取样体积为 200ml，试样定容体积为 1.0ml。

表 A.2 六家实验室固相萃取法准确度 (n=6)

样品类型	目标物	样品浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率范围 P (%)	回收率最终值 $\bar{p} \pm 2S_{\bar{p}}$ (%)
地下水	百草枯	未检出	2.5	70.4~90.7	76.1 \pm 15
	杀草快	未检出	2.5	82.0~104	89.5 \pm 16
地表水	百草枯	未检出	20.0	83.0~105	90.9 \pm 16
	杀草快	未检出	20.0	82.0~111	95.5 \pm 19
废水	百草枯	未检出	100	91.3~107	99.5 \pm 12
	杀草快	未检出	100	74.1~83.3	77.7 \pm 8.0

注：取样体积为 200ml，试样定容体积为 1.0ml。

附录 B
(资料性附录)

直接进样-高效液相色谱法测定水质百草枯和杀草快

高浓度样品可经 0.45 μm 尼龙滤膜 (5.17) 过滤后, 置于聚氯乙烯或聚丙烯材质样品瓶 (6.1.5) 中, 直接上机测定。测量条件见 8.1。

移取一定量的标准使用液 (5.14), 用水配制至少 5 个浓度点的标准系列, 标准系列浓度分别为 0.05 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L 和 5.0 mg/L (此为参考浓度)。由低浓度到高浓度依次对标准系列溶液进样, 按测量条件 (8.1) 分析。以标准系列溶液中目标物浓度为横坐标, 以其对应的峰高或峰面积为纵坐标, 建立校准曲线。

样品中目标物的质量浓度按照以下公式进行计算。

$$\rho_i = \frac{A - a}{b} \times f$$

式中: ρ_i —样品中目标物的质量浓度, mg/L;

A —目标物的峰面积或峰高;

a —校准曲线的截距;

b —校准曲线的斜率;

f —样品的稀释倍数。

当进样体积为 50 μl 时, 百草枯检出限为 0.01 mg/L, 测定下限为 0.04 mg/L; 杀草快检出限为 0.01 mg/L, 测定下限为 0.04 mg/L。