

附件 13

《水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法
（征求意见稿）》
编制说明

《水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法》标准编制组

二〇一八年七月

项目名称：水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法

项目统一编号：2015-12

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：焦少俊，孔德洋，王娜，许静，孔祥吉，吴文铸，
郭欣妍，王智畅，李菊颖，何健，陈全博，蔡印莹

标准所技术管理负责人：魏玉霞

标准处项目负责人：曹勤

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	5
3.1	主要国家、地区及国际组织相关标准分析方法	5
3.2	国内相关标准分析方法	6
3.3	国内外相关分析方法的研究进展	7
3.4	本标准与国内外分析方法的关系	9
4	标准制订的基本原则和技术路线	10
4.1	标准制订的基本原则	10
4.2	标准制订的技术路线	10
5	方法研究报告	13
5.1	方法研究的目标	13
5.2	方法原理	13
5.3	试剂和材料	13
5.4	仪器设备	13
5.5	样品	14
5.6	分析步骤	15
5.7	结果计算	27
5.8	实验室内方法的特性指标的确定	28
6	方法验证	32
6.1	方法验证方案	32
6.2	方法验证过程	33
6.3	方法验证数据统计	33
6.4	方法验证结论	34
7	质量保证与质量控制	35
8	与开题报告差异说明	35
9	标准征求意见情况	36
10	标准技术审查情况	36
11	参考文献	36
	附件一 方法验证报告	38

《水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法》编制说明

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 2017 年 1 号）的有关要求，环境保护部下达了《水质 草甘膦、氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷、辛硫磷的测定 液相色谱法》制订任务，由环境保护部南京环境科学研究所承担该标准的制订工作，项目统一编号为 2015-12。

1.2 工作过程

1.2.1 成立标准编制组

2015 年 4 月，环保部南京环境科学研究所接到环保部下发的环办函〔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、具有丰富技术经验的研究人员组成。

1.2.2 查询国内外相关标准和文献资料

2015 年 3-8 月，根据国家环保标准制订工作管理办法的相关规定，围绕本标准方法开展了检索、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 水和食品中草甘膦残留量的检测方法、《农药工业水污染物排放标准（征求意见稿）》中草甘膦、乙酰甲胺磷等几种有机磷农药、《地表水环境质量标准（修订）》、《地下水质量标准》中相关有机磷农药的残留状况及控制要求，并在文献资料调研的基础上确定了本标准制订拟采用的原则、方法和技术依据，确定了本标准制订目标，即满足我国水体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。

1.2.3 开题论证，完善技术路线

2016 年 1 月 14 日，编制组在北京召开了《水质 草甘膦、氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷、辛硫磷的测定 液相色谱法》标准制订项目的研讨会，与会专家听取了编制组的工作汇报后，经过质询、讨论，形成以下建议：鉴于草甘膦与氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷和辛硫磷在理化性质、前处理方法和检测方法等方面具有较大差异，建议分别采用不同的方法，在完成相应的实验验证工作、得出明确结论后，进行开题论证。

2016年7月1日，编制组在南京召开了《水质 草甘膦、氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷、辛硫磷的测定 液相色谱法》标准制订项目的专家研讨会，与会专家听取了编制组的工作汇报后，建议编制单位针对草甘膦采用液相色谱法荧光检测分析法，辛硫磷采用液相色谱法紫外检测分析法，氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷三种农药由于富集存在较大难度，且在液相色谱中检出限较高，无明显特征紫外吸收峰，建议采用液相色谱串联质谱法进行检测，同时几种农药应采用不同的前处理方法。

2016年12月编制组编制完成了《水质 草甘膦、氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷、辛硫磷的测定 液相色谱法》标准制订项目开题论证报告和标准草案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草甘膦与氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷、辛硫磷在前处理方法和检测方法等方面的较大差异，并列举数据和图谱阐明了这几种有机磷农药无法通过一种分析方法同时测定。通过论证委员会讨论和验证，一致同意将本标准题目改为《水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法》和《水质 氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷、辛硫磷的测定 液相色谱-三重四极杆质谱法》，同时进一步优化样品保存及方法前处理等实验条件，细化验证方案。

1.2.4 研究建立标准方法，开展条件实验

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。

1.2.5 方法验证工作

2018年3月~4月，根据《环境监测 分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2010）的要求，选择6家实验室进行方法验证，并将数据汇总、分析，形成了《方法验证报告》。

1.2.6 编写标准征求意见稿和编制说明

2018年5月，根据实验研究结果、实验室间验证结果，在总结分析国内外相关标准的基础上，编写完成了《水质 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。

2018年5月底编制组将《水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法》标准文本和编制说明的征求意见稿提交环保部监测司进行技术审查。技术审查会议上，专家组听取了编制组的工作汇报后，一致认为编制组提供的材料齐全、内容完整，对国内外方法标准及文献进行了充分调研，技术路线合理，方法验证内容完整。建议按以下意见修改完善后，提请公开征求意见：补充说明草甘膦的生产使用情况及环境污染现状，增加辅助定性检测波长、计算公式，

明确衍生化温度，在方法准确度中增加原样品浓度，规范有效数字的保留，根据方法验证结果确定质量控制指标等。

1.2.7 公开征求意见

待完成。

2 标准制修订的必要性分析

2.1 草甘膦的环境危害

2.1.1 草甘膦的理化性质

草甘膦化学式为 $C_3H_8NO_5P$ ，分子量为 169.1，结构式见图 1，密度是 1.74 kg/m^3 。纯品为白色固体，无挥发性，强极性，不溶于一般有机溶剂，它是一种有机酸，各级 pK_a 值分别为 pK_{a1} : 2.34 (20°C)， pK_{a2} : 5.73 (20°C)， pK_{a3} : 10.2 (25°C)。25°C 时草甘膦在水中的溶解度为 12 g/L，辛烷水分配系数 ($K_{ow} \log P$) < -3.2 (pH 2~5, 20°C)，蒸气压为 1.31×10^{-2} MPa (25°C)。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°C (分解)；从强酸水溶液中沉淀出来的粉末为 230°C (分解)；从水中结晶出来的固体为 314°C (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 500 g/L，胺盐为 300 g/L，钙盐仅为 30 g/L，草甘膦三甲基硫盐则为 4300 g/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。

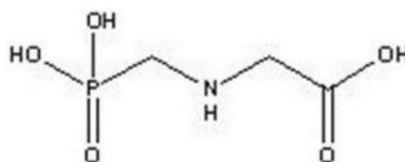


图 1 草甘膦的结构式

2.1.2 草甘膦的环境危害

草甘膦 (glyphosate) 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 1~174d)，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，《地下水质量标准》（GB/T 14848-2017）中对草甘膦也作出了浓度限值。因此，加强环境中草甘膦的监控，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。建立水质草甘膦的测定方法是开展我国水中有机污染物环境调查与监控的技术基础，同时可作为我国水质农药分析方法的技术储备。

2.1.3 草甘膦的生产使用现状

草甘膦作为一种高效、低毒、广谱、适用范围极广的灭生性除草剂，由于其优良的传导性，最初主要用于非粮食作物以及免耕土壤上的除草，随着抗草甘膦转基因作物的发展，草甘膦的应用从非粮食作物转向粮食作物，使其在全球的使用正以每年 20% 的速度递增。2014 年全球草甘膦实现销售额 57.2 亿美元，销售额遥遥领先其他类型除草剂产品。草甘膦销售额占除草剂市场比重为 21.76%，已成为全球用量最大的除草剂品种。

据统计，2017 年我国国内草甘膦产能为 69.3 万吨，同比下降 17.26%，主要是受到国内供给侧改革和环保督查双重影响，产能下降明显，未来草甘膦产能整体趋稳。国内产能主要集中在江苏（23 万吨）、四川（17 万吨）、湖北（13 万吨）、浙江（10.5 万吨）。

2.2 相关环保标准和环保工作的需要

草甘膦农药一部分会经过施用后进入环境，还有一部分可能会直接通过工业排放进入到水环境中。草甘膦的含量水平是水环境质量关注的热点，而合适的测定方法，对其快速分析和水质质量评估具有关键意义。如今，我国的水质相关标准对草甘膦的关注度越来越高。涉及草甘膦农药的质量标准/排放标准，具体如表 1 所示。

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
地表水质量标准 (正在修订)	GB 3838-2002	环境保护部	地表水	草甘膦 (拟增加)	mg/L 级别

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	1.0 mg/L
土壤环境质量标准 (征求意见稿)	GB15618	环境保护部	农业用地土壤	草甘膦	0.50 mg/kg
地下水质量标准	GB/T 14848-2017	国土资源部与水利部	地下水	草甘膦	I类水质 ≤ 0.10 μg/L II类水质 ≤ 140 μg/L III类水质 ≤ 700 μg/L IV类水质 ≤ 1400 μg/L V类水质 > 1400 μg/L

目前我国的相关质量与排放标准还在完善中，生活饮用水卫生标准（GB5749-2006）中规定了对草甘膦的限制（0.70 mg/L），正在修订的地表水环境质量标准中拟增加了对草甘膦的控制限值；正在制订的农药工业水污染物排放标准对草甘膦进行了排放口控制（1.0 mg/L）；2017年10月发布的最新地下水标准中，规定草甘膦在地下水 I 类水质中的限值为 0.10 μg/L。随着水体的草甘膦污染越来越严重，为了保障人体健康和生态环境，未来对于水质中草甘膦农药的监控势必会加强。因此迫切需要建立一套实施方便且准确可靠的水质草甘膦的标准检测技术方法，以适应我国草甘膦水质监测和排放控制工作的需要。

本标准是配套我国即将出台的《农药工业水污染物排放标准》而下达，因此本标准中目标化合物、方法灵敏度等重要参数将参照《农药工业水污染物排放标准》进行制定，以确保排放标准的顺利实施。

3 国内外相关分析方法研究

3.1 主要国家、地区及国际组织相关标准分析方法

国外主要国家、地区及国际组织关于草甘膦的标准方法如表 2 所示，EPA 547 中采用柱后衍生-高效液相色谱法测定饮用水中的草甘膦，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。但该方法的衍生过程是在高效液相色谱流路系统中进行的，无法人为控制，稳定性较差，而且必须要配备柱后衍生的装置，因此难以普及。ISO 2008 年发布的草甘膦标准分析方法中采用的是柱前衍生-高效液相色谱法，该方法借助 9-芴氯甲酸甲酯（FMOC-Cl）进行柱前衍生，经乙醚萃取净化。2014 年更新为柱前衍生-液相色谱串联质谱法，但采用液质方

法进行草甘膦农药残留的检测，草甘膦形成的盐在检测过程中易对仪器产生影响，对仪器的损耗较大。

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

标准来源	标准编号	前处理方法	仪器方法	最低定量限 (LOQ)	适用范围
美国 EPA	44326506 (1994)	氨水+磷酸钾溶液振荡提取, 0.45 μ m 膜过滤后, 用七氟-1-丁醇+三氟乙酸酐衍生化	GC/ECD	0.05 mg/kg	土壤
美国 EPA	40881601 (1987)	加 HCL 溶液后旋蒸浓缩, 残渣加 KH ₂ PO ₄ 溶液, 并调节 pH 值为 2.1, 加 0.3MNa ₂ EDTA 溶液, 0.45 μ m 膜过滤后, 用 OPA 柱后衍生化	HPLC-FLD	0.5 μ g/L	水
美国 EPA	44326507 (1994)	KOH 溶液提取, 加入浓 HCL 酸化, 加入活性炭吸附净化后脱烷基化	GC-PFD	0.01 mg/kg	土壤
美国 EPA	547 (1990)	水样过滤后直接用 OPA 柱后衍生化	HPLC-FLD	6 μ g/L	饮用水
国际 ISO	21458 (2008)	乙醚萃取净化后与 FMOC-Cl 衍生化	HPLC	0.05 μ g/L 0.2 μ g/L 0.5 μ g/L	饮用水 地下水 地表水
国际 ISO	16308 (2014)	水样过滤后与 FMOC-Cl 衍生化	LC-MS/MS	0.03-1.5 μ g/L	饮用水 地下水 地表水

3.2 国内相关标准分析方法

国内关于草甘膦的标准方法如表 3 所示。目前, 我国关于草甘膦分析检测的标准方法主要是服务于粮食、蔬菜等食物的检测, 我国生活饮用水标准检验方法 (GB/T 5750) 中规定草甘膦的标准检测方法为柱后衍生-高效液相色谱法, 但该方法只服务于生活饮用水, 还没有适用于地表水、地下水、生活污水和工业废水等多种水质类型的标准检测方法。现行的标准方法中多采用气相色谱质谱联用法和高效液相色谱法, 但草甘膦的极性非常强, 难以将其从水中提取出来且提取过程也较为繁琐, 因此气质联用法不适合水质中草甘膦的测定。

表 3 国内关于草甘膦的标准分析方法

标准来源	标准编号	前处理方法	仪器方法	测定下限 (LOQ)	适用范围
中国质量监督检验检疫总局	GB/T 23750-2009	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	植物性产品
中国质量	SN/T 1923-2007	水+二氯甲烷 (v:v, 2:1)	LC-MS/MS	茶叶: 0.10 mg/kg	食品

监督检验检疫总局		振荡提取，经 CAX 小柱净化后，与 FMOC-Cl 衍生化		其他：0.05 mg/kg	
中国农业部	NY/T 1096-2006	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	0.02 mg/kg	蔬菜、水果和粮食类
中国卫生部	GB/T5750.9-2006	水样过滤后用 OPA 柱后衍生化	UPLC-FLD	25µg/L	生活饮用水
国家环境保护总局	GB5085.6-2007	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	水

3.3 国内外相关分析方法的研究进展

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，尤其在环境中存在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。

3.3.1 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的碘为 I_2 ，从而与可溶性淀粉生成最大吸收波长为 550nm 的蓝色络合物。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膦。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，该法中草甘膦线性浓度范围为 0.375-4.50mg/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膦，于波长 242nm 处测定吸光度，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

气相色谱法灵敏性强，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)对蔬菜和水果中的草甘膦进行残留检测，样品中草甘膦检出限为 0.01 $\mu\text{g/g}$ 。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。《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)中规定了植物性产品中草甘膦及其降解产物氨基磷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 EPA44326506 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 $^{\circ}\text{C}$ 下衍生反应 1h，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-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含量测定，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 $\mu\text{g/L}$ ，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，但与气相色谱法分析草甘膦一样，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 方法采用 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 6 $\mu\text{g/L}$ 。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基磷酸残留量进行检测。

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 μ g/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、土壤等环境中草甘膦较为常见，也是目前国内外比较认可的快速检测方法之一。Maria Ibanez 采用液相色谱串联质谱（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-芴氯甲酸甲酯衍生化样品，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膦，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。

3.4 本标准与国内外分析方法的关系

本标准研究旨在建立一项满足我国水体中草甘膦浓度监测与控制要求，在环境管理目标和技术手段上与国际接轨，适应我国大部分环境监测及相关实验室仪器设备和技术的监测方法标准。通过查阅国内外相关文献资料，制定条件优化方案，确保本方法前处理所采用的装置操作简便，能够满足国内实验室的条件要求。本标准拟采用柱前衍生-高效液相色谱-荧光检测分析方法（HPLC-FLD）测定草甘膦。水样的前处理步骤、质量控制和保证措施参考 ISO 21458、SN/T 1923-2007、HJ168-2010 以及其他文献资料，探究固相萃取与液液萃取净化效果，并对衍生试剂的用量，衍生时间，温度等因素进行优化；检测方法参考 ISO 21458、EPA547 以及其他文献资料，选择合适的色谱柱以及仪器条件。力求方法在稳定、可靠和实用的基础上，达到国际先进水平，以适应我国水体中草甘膦监测工作的需要。

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

按照《国家环境保护标准制修订工作管理办法》和《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》（HJ168-2010）的要求，兼顾国内监测分析实际情况，确保本标准的先进性、适用性、可操作性和实用性。

- （1）先进性：其准确度、精密度和灵敏度达到国外同类方法的同等水平。
- （2）适用性：满足相关环境质量标准、污染控制排放标准的要求。
- （3）可操作性：符合我国目前检测仪器设备和试剂、材料的供应条件。
- （4）实用性：符合检测从业人员的技术水平，能被国内主要的环境分析实验室所使用并达到所规定的要求。

4.2 标准制订的技术路线

本标准制订的工作流程图见图 2，技术路线图见图 3。

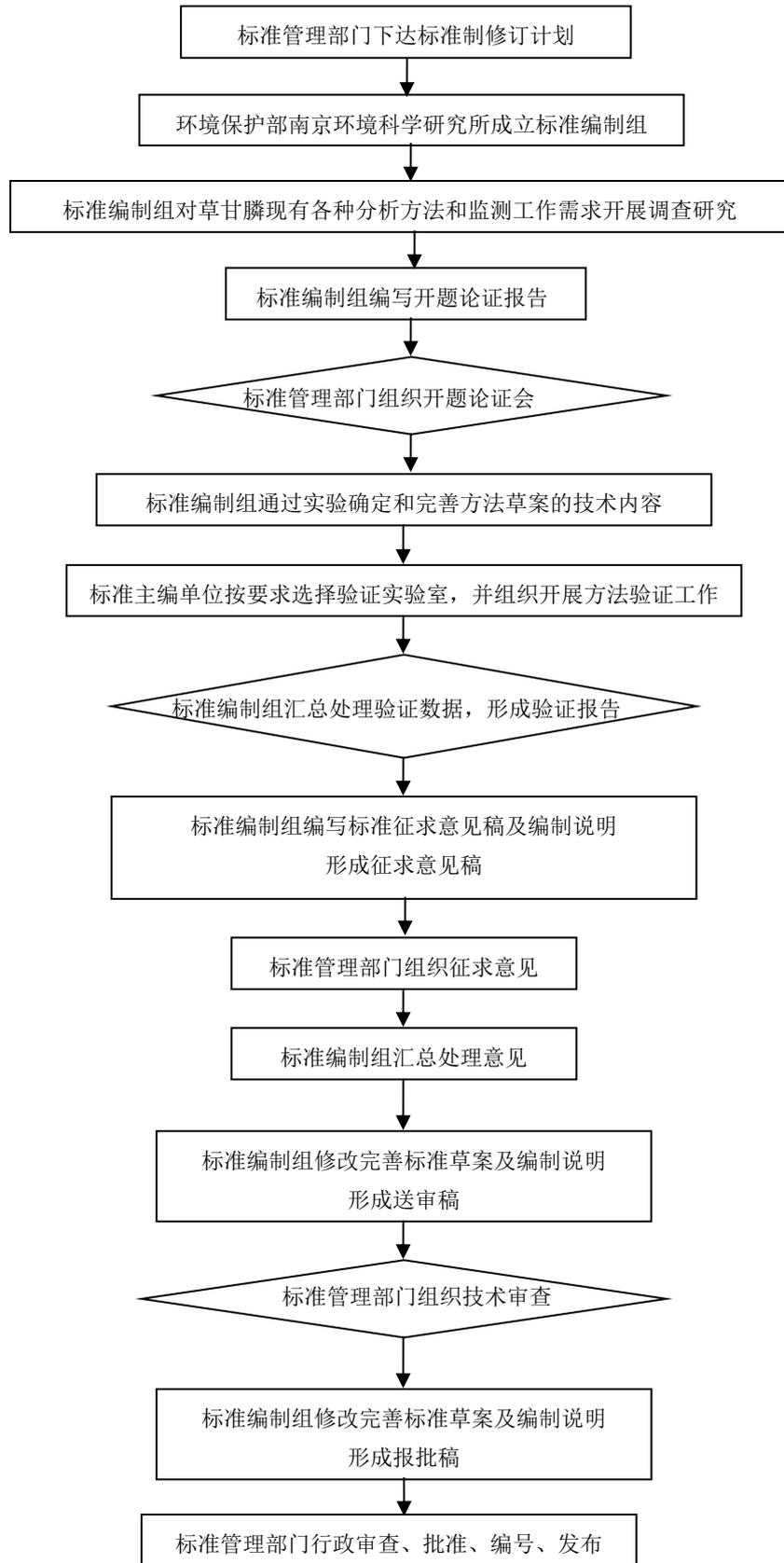


图2 《水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法》制订工作流程图

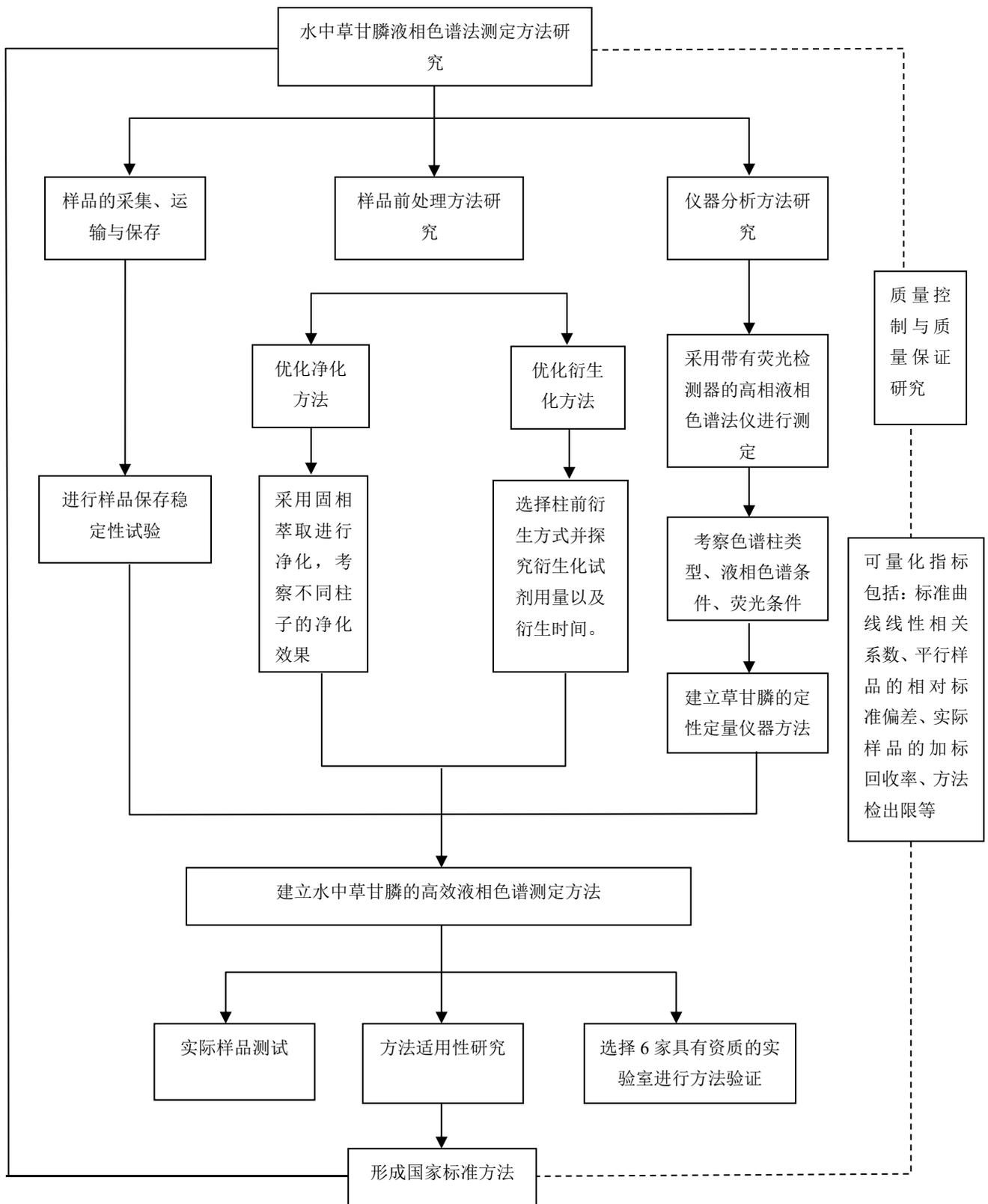


图3 《水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法》技术路线图

5 方法研究报告

5.1 方法研究的目标

本标准规定了水中草甘膦农药测定的柱前衍生-高效液相色谱-荧光检测分析方法。

通过实验确定前处理方法及检测仪器，优化测定条件，明确方法检出限、测定范围、精密度、准确度等特性指标，规范操作步骤；通过统计检验技术确认外部实验室试验结果的准确性；通过外部实验室验证方法的再现性。

5.2 方法原理

在水样中加入柠檬酸三钠络合金属离子，经固相萃取小柱净化，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，经二氯甲烷萃取，去除衍生化副产物后，生成的高荧光产物用高效液相色谱分离，经荧光检测器检测。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和分析纯试剂和不含目标化合物的去离子水。

5.3.1 四硼酸钠溶液（0.050 mol/L）

称取十水合四硼酸钠 1.91g 溶解于少量去离子水中，定容至 100ml。

5.3.2 FMOC-Cl 溶液（1000 mg/L）

称取 50.0mg 9-芴甲基氯甲酸酯（FMOC-Cl）标准品，溶解于少量乙腈中，转移至 50 ml 容量瓶，用乙腈定容至刻度并超声使其充分溶解，4℃条件下可以保存 3 个月。

5.3.3 草甘膦标准贮备液（1000 mg/L）

称取 50.0mg 草甘膦（ $C_3H_8NO_5P$ ）标准品，用去离子水溶解，转移至 50 ml 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。

5.3.4 草甘膦标准使用液（10 mg/L）

用去离子水稀释草甘膦标准贮备液，配置浓度为 10 mg/L 的草甘膦标准使用液，4℃保存，保质期 2 个月。

5.4 仪器设备

5.4.1 高效液相色谱仪

由于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，生成高荧光产物后用高效液相色谱分离，经荧光检测器检测。因此，应使用带有荧光检测器的高效液相色谱仪。

5.4.2 分析天平

根据方法准确度的要求，草甘膦标准品的称样量需精确到 0.1 mg，应使用感量为 0.1 mg 的分析天平。

5.4.3 色谱柱：C18 液相色谱柱（250mm×4.6mm，5 μ m）或其他等效色谱柱。

5.4.4 pH 计：可精确到 0.1。

5.4.5 混匀仪：用于衍生化反应。

5.4.6 固相萃取柱：填料为二乙烯苯和 N-乙烯基吡咯烷酮共聚物（HLB）或填料为十八烷基硅胶（ENVI 18）的萃取柱，或同等柱效的萃取柱。

5.4.7 聚乙烯塑料（PE）管：10 mL。

5.4.8 电子天平：精度为 0.1 mg。

5.4.9 一般实验室常用仪器和设备。

5.5 样品

5.5.1 样品采集

按照 HJ/T 91 和 HJ/T 164 的相关规定进行水样的采集。

5.5.2 样品保存

草甘膦在强酸或强碱的环境中较易降解，因此我们考察了草甘膦在弱酸性水体、中性水体和弱碱性水体中的稳定性，同时考察了草甘膦在实际水样中的稳定性，以确定其保存条件。

在水中加入草甘膦标样，配制低浓度（20 μ g/L）平行水样 6 份，进行直接进样。分别考察避光冷藏（4 $^{\circ}$ C 左右）的条件下，弱酸性水体（pH=4）、中性水体（pH=7）和弱碱性水体（pH=9）保存 1~7 天目标物测定准确度情况。结果表明（图 4），三种 pH 条件下，草甘膦在 7 天内的测定准确度在 90%-110%之间。

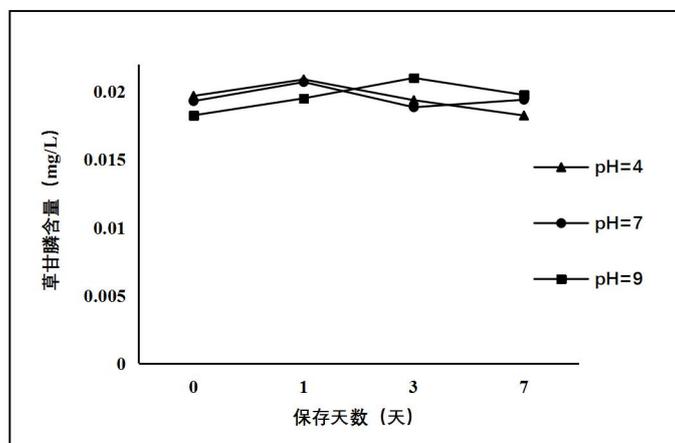


图 4 不同 pH 条件草甘膦水样的保存条件实验 (n=6)

在实际样品中加入草甘膦标样,配制了低、中、高三种不同浓度的水样(20 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、500 $\mu\text{g/L}$),在4 $^{\circ}\text{C}$ 环境中避光保存,不同时间测定其中目标物的浓度,结果见图5。草甘膦在7天内的测定准确度在80%-110%之间。因此,本实验最终确定草甘膦水样采集后,调剂pH至4~9,避光4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存,7天内完成样品萃取及分析工作。

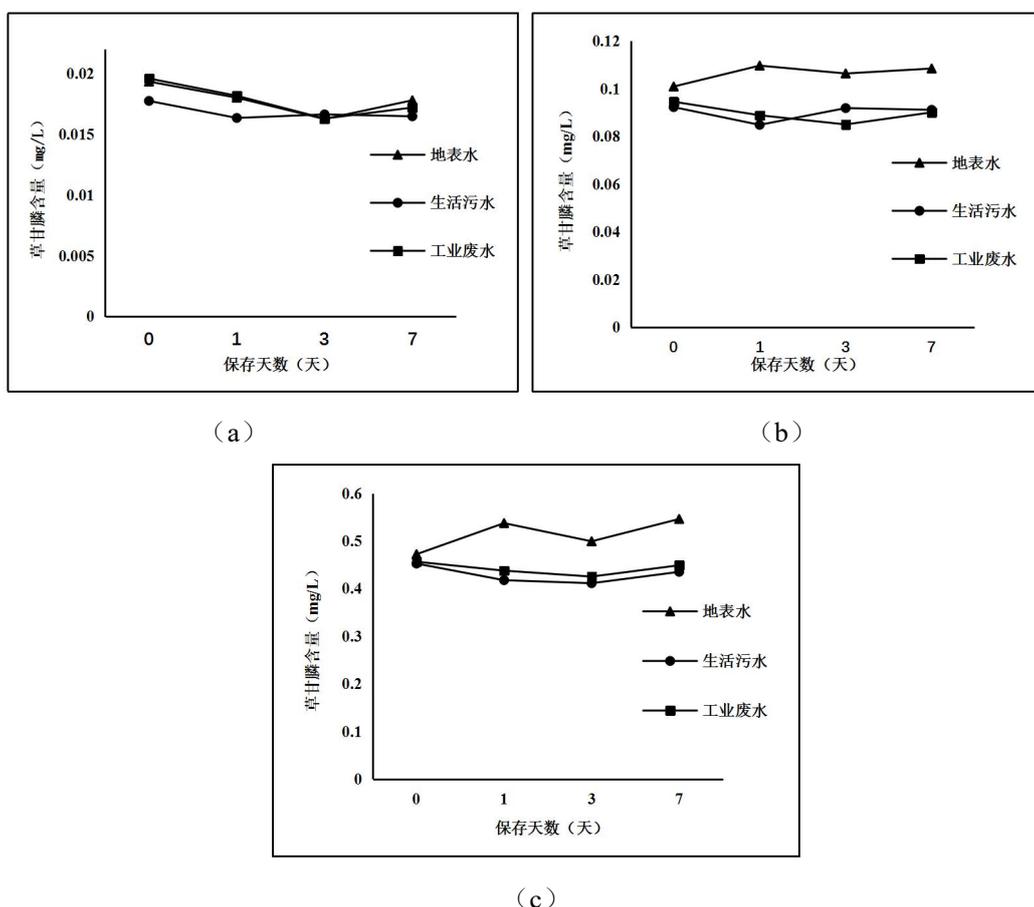


图5 不同浓度草甘膦水样的保存条件实验 (n=6)

(a) 20 $\mu\text{g/L}$ (b) 100 $\mu\text{g/L}$ (c) 500 $\mu\text{g/L}$

5.6 分析步骤

5.6.1 衍生方式的选择

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 EPA547 水中草甘膦的检测方法,编制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。

5.6.1.1 柱后衍生条件的优化

(1) 氧化剂用量的优化

取 500mL 的去离子水，固定加入 0.8g 邻苯二甲醛（OPA）和 2.0mL 巯基乙醇（ME），改变氧化剂次氯酸钠（NaClO）溶液的加入量分别为 0.02 mL、0.05 mL、0.2 mL、0.5 mL、1 mL、1.5 mL、2.0 mL。选取 0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 两个浓度水平的草甘膦溶液，观察在相同的实验条件和检测条件下，不同 NaClO 加入量所对应的样品响应值变化。结果如图 6 所示，随着氧化剂用量的增加，检测的结果变化不大，为了保证反应完全，可选择 2mL 为氧化剂的用量。

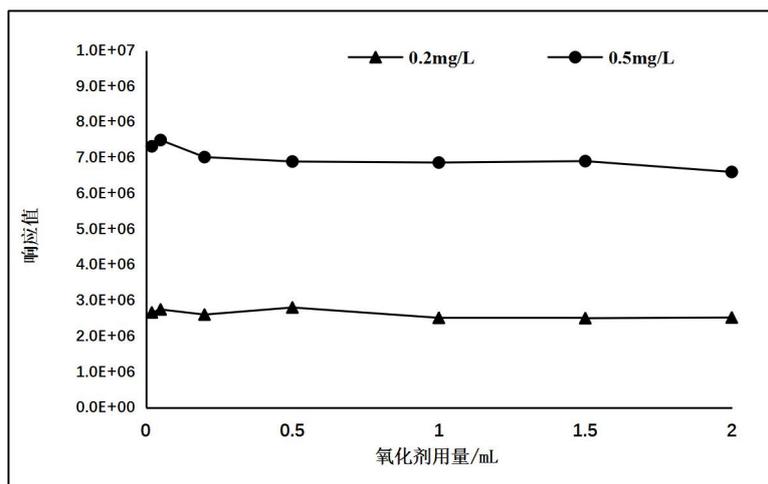


图 6 氧化剂用量优化 (n=3)

(2) OPA 用量的优化

取 500mL 的去离子水，固定加入 2.0mL NaClO 和 2.0mL ME，改变 OPA 加入量分别为 0.1 g、0.2 g、0.4 g、0.5 g、0.8 g、1.0 g、1.5 g、2 g、2.5g。选取 0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 两个浓度水平的草甘膦溶液，观察在相同的实验条件和检测条件下，不同的 OPA 加入量所对应的样品响应值变化。结果如图 7 所示，样品的响应值随着 OPA 用量的增加而增加，当加入量达到 2.0g 时响应值趋于稳定，故 OPA 的最佳用量为 2.0g。

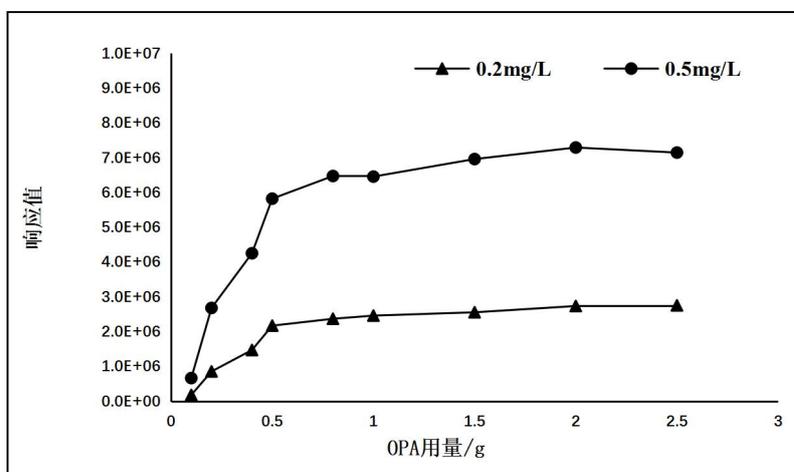


图 7 OPA 用量的优化 (n=3)

(3) ME 用量的优化

取 500mL 的去离子水, 固定加入 2.0mL NaClO 和 2.0g OPA, 改变 ME 加入量分别为 0.5 mL、1 mL、1.5 mL、2 mL、2.5 mL、3mL。选取 0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 两个浓度水平的草甘膦溶液, 观察在相同的实验条件和检测条件下, 不同的 ME 加入量所对应的样品响应值变化。结果如图 8 所示, 当 ME 的加入量小于 2mL 时, 样品的响应值随着 ME 用量的增加而增加; 当 ME 的加入量达到 2.0mL 时响应值达到最大; 当 ME 的加入量大于 2mL 时, 样品的响应值随着 ME 用量的增加而减小。因此, ME 的最佳用量为 2.0mL。

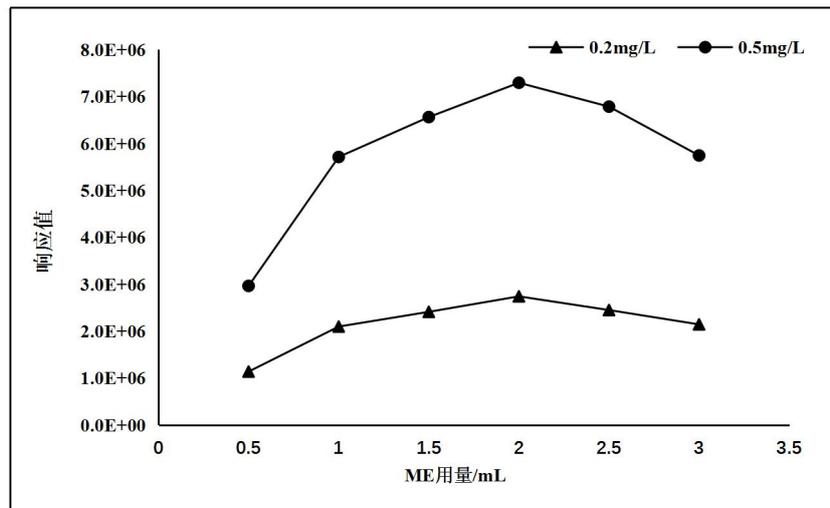


图 8 ME 用量的优化 (n=3)

因此, 柱后衍生反应的最佳条件为:

a. 氧化剂: 准确量取 2.0mL NaClO 于 250mL 水中, 准确称取 0.68g KH_2PO_4 , 5.8g NaCl, 0.2g NaOH 于 250mL 水中溶解, 混合后定容至 500mL 用 0.45 μm 滤膜过滤。

b. OPA-ME 衍生化试剂: 准确称取 9.6g 四硼酸钠 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) 溶于约 400mL 去离子水中, 另称取 2.0g OPA 于 10mL 甲醇中。缓慢地将 OPA 溶液滴加到 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 溶液中, 边加边摇, 加入 2.0mL ME 于上述溶液中, 摇匀后定容至 500mL, 用 0.45 μm 滤膜过滤。

5.6.1.2 柱后衍生仪器条件的选择

(1) 草甘膦的仪器条件参考如下:

色谱柱: 离子交换柱 IC-Pak™ Anion HR (4.6×75mm, 6 μm), 或其他等效类型色谱柱。

流动相: 3mmol/L 磷酸钠水溶液;

流速: 0.8mL/min;

柱温: 30℃;

柱后反应温度: 60℃;

进样量：20 μ L；

FLD 条件：激发波长 338nm，发射波长 455nm；

氧化剂流速：0.5mL/min；

衍生试剂流速：0.5mL/min。

(2) 经过净化后的实际样品色谱图如图 9 所示，从色谱图中可以看出草甘膦与干扰物的分离度较差且峰形较差。

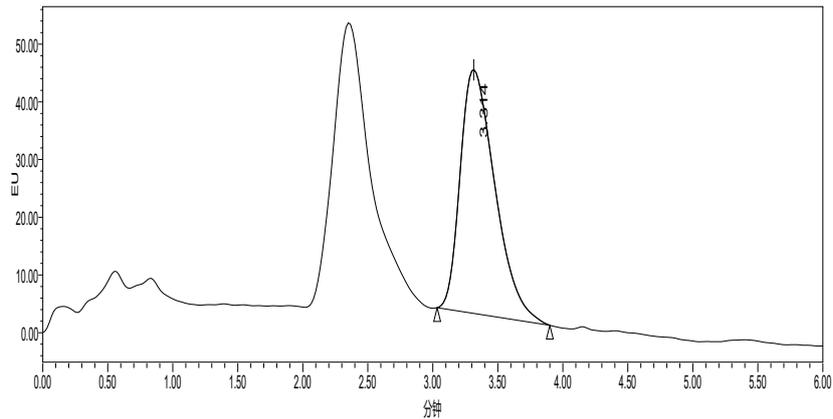


图 9 生活污水水样色谱图 (0.5 mg/L)

上述工作表明，柱后衍生反应用于水中草甘膦的检测，基质干扰较大，色谱峰分离度较差，所需的衍生试剂种类较多且需现配现用，操作起来较为繁琐，并且柱后衍生必须配备柱后衍生装置，衍生过程无法人为控制，不可控性较大。因此，编制组又探究了柱前衍生的方法，并对样品的净化方法、衍生化方法以及仪器方法等进行了优化，分析检测结果良好，能很好地满足草甘膦的测定要求。因此，选择柱前衍生来测定水中的草甘膦含量。

5.6.2 柱前衍生条件的选择

(1) FMOC-Cl 用量的优化

选取 0.1 mg/L 和 0.5 mg/L 两个浓度的草甘膦标准溶液进行试验，取 1mL 经过前处理方法处理好的样品溶液，分别加入 0.1mg、0.2 mg、0.5 mg、1.0 mg、2.0 mg、5.0 mg 的 FMOC-Cl，常温下衍生 1 h 后进行检测。观察在相同的实验条件和检测条件下，不同 FMOC-Cl 加入量所对应的样品响应值变化。结果如图 10 所示，当 FMOC-Cl 的加入量超过 0.5 mg 时，草甘膦的响应值趋于稳定。因此，FMOC-Cl 的最佳用量为 0.5 mg。

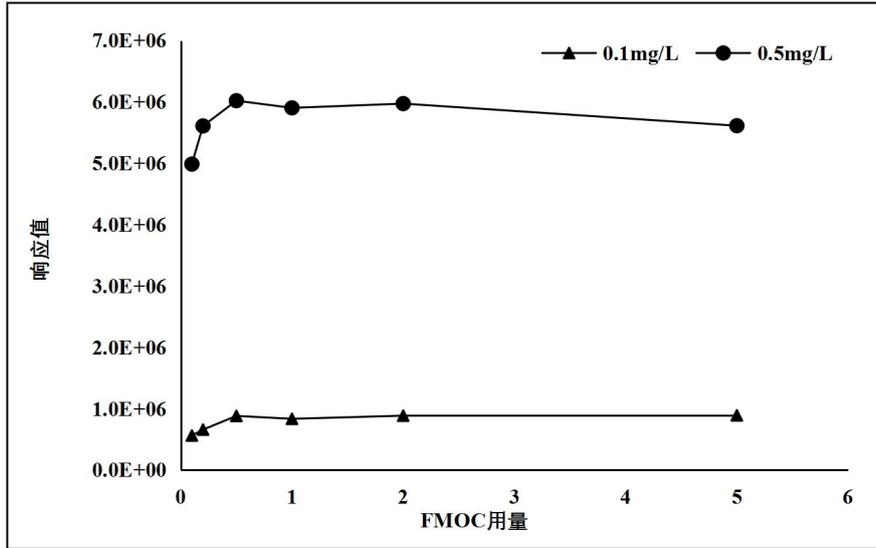


图 10 FMOC-Cl 加入量对响应值的影响 (n=6)

(2) 衍生时间及温度的优化

选取 0.5 mg/L 浓度水平的草甘膦标准溶液进行试验，取 1mL 经过前处理方法处理好的样品溶液，加入 0.5mL 1.0 g/L 的衍生化试剂 FMOC-Cl，在常温（25℃左右）、40℃、60℃ 三种温度条件下分别衍生 0.25 h、0.5 h、1 h、2 h、4 h 后进行检测。观察在相同的实验条件和检测条件下，不同衍生时间及温度条件对应的样品响应值变化。结果如图 11 所示，在 40℃、60℃ 温度条件下，草甘膦与 FMOC 具有较高的衍生化效率，并且，当衍生时间超过 1 h 时，响应值趋于稳定。因此，选择 40℃ 条件下衍生 1 h。

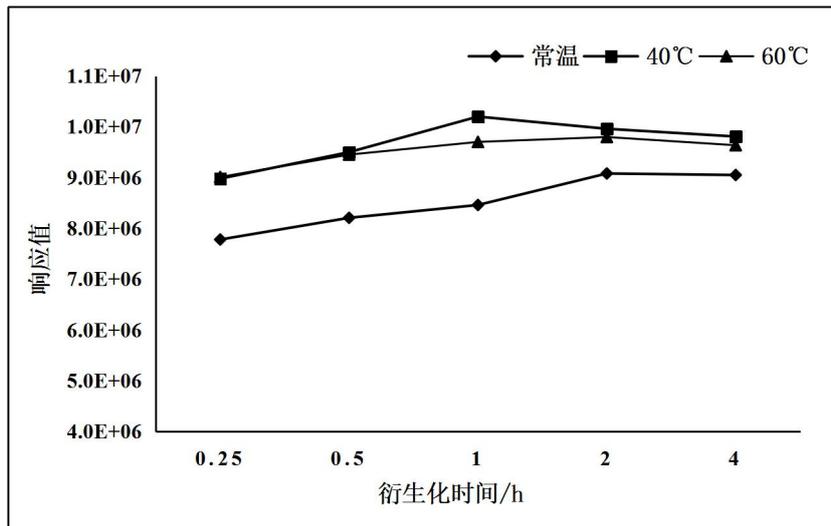


图 11 衍生化时间对响应值的影响 (n=6)

5.6.3 金属离子络合剂的选择

水体中的金属离子对草甘膦的吸附作用有一定影响，金属离子可以和草甘膦形成稳定的络合物，从而降低草甘膦测定的回收率。本实验考察了七种常见的重金属离子（Cu²⁺、Fe²⁺、

Fe³⁺、Zn²⁺、Ni²⁺、Co²⁺、Mn²⁺) 环境下, 0.5mg/L 草甘膦回收率的变化情况。结果如图 12 所示, 对于 Co²⁺、Mn²⁺、Zn²⁺来说, 金属离子浓度的增加对草甘膦的回收率基本没有影响, 说明这三种金属离子不能与草甘膦作用, 对草甘膦的检测基本没有影响。而对于 Cu²⁺、Fe²⁺、Fe³⁺、Ni²⁺来说, 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的化合物, 极大地影响了草甘膦的测定结果。因此, 需要选择合适的金属离子络合剂, 消除因金属离子与草甘膦络合带来的对检测结果的干扰, 从而提高方法的回收率。

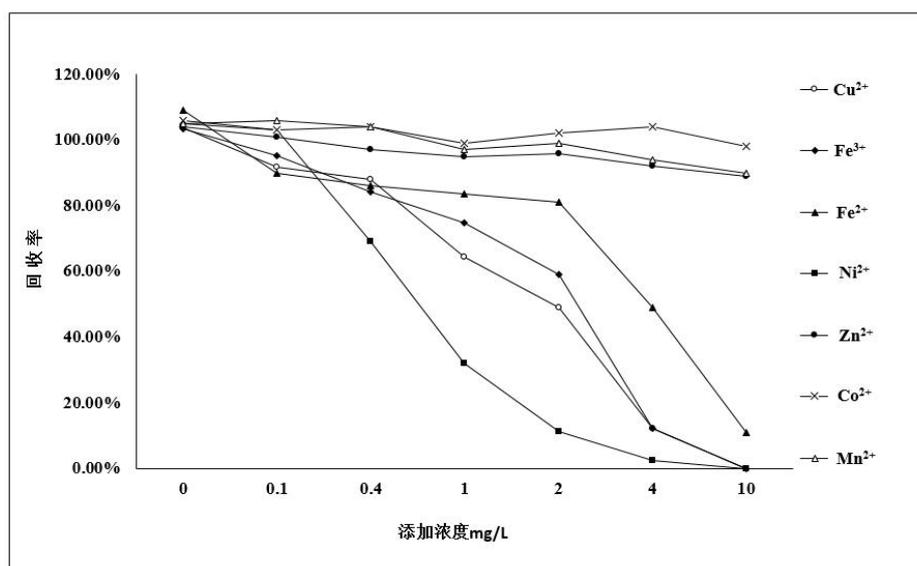


图 12 重金属含量对草甘膦回收率的影响

本实验选取了 EDTA、柠檬酸三钠、酒石酸钾钠三种常用的金属离子络合剂进行实验, EDTA 分子中含有四个羧基基团, 柠檬酸三钠分子中含有三个羧基、一个羟基, 酒石酸钾钠含有两个羧基、两个羟基, 三种络合剂络合金属离子的能力均强于草甘膦, 能将草甘膦从金属离子络合物中解离出来。

选择工业废水 (pH 为中性) 进行实验, 在水样中分别加入 0.02mol/L 的 EDTA、柠檬酸三钠和酒石酸钾钠, 比较不同金属络合剂的净化效果, 目标化合物的色谱图如图 13 所示, 三种金属络合剂的色谱峰分离效果都较好。测定结果如图 14 所示, 由图可以看出柠檬酸三钠的净化效果更好, 回收率较高。因此, 选择柠檬酸三钠作为金属离子络合剂。同时, 按照柠檬酸三钠与金属离子的最弱络合比 (摩尔 1:1) 来计算, 柠檬酸三钠添加浓度为 0.02mol/L 已经完全过量, 可以满足对自然水体中金属离子的充分络合。

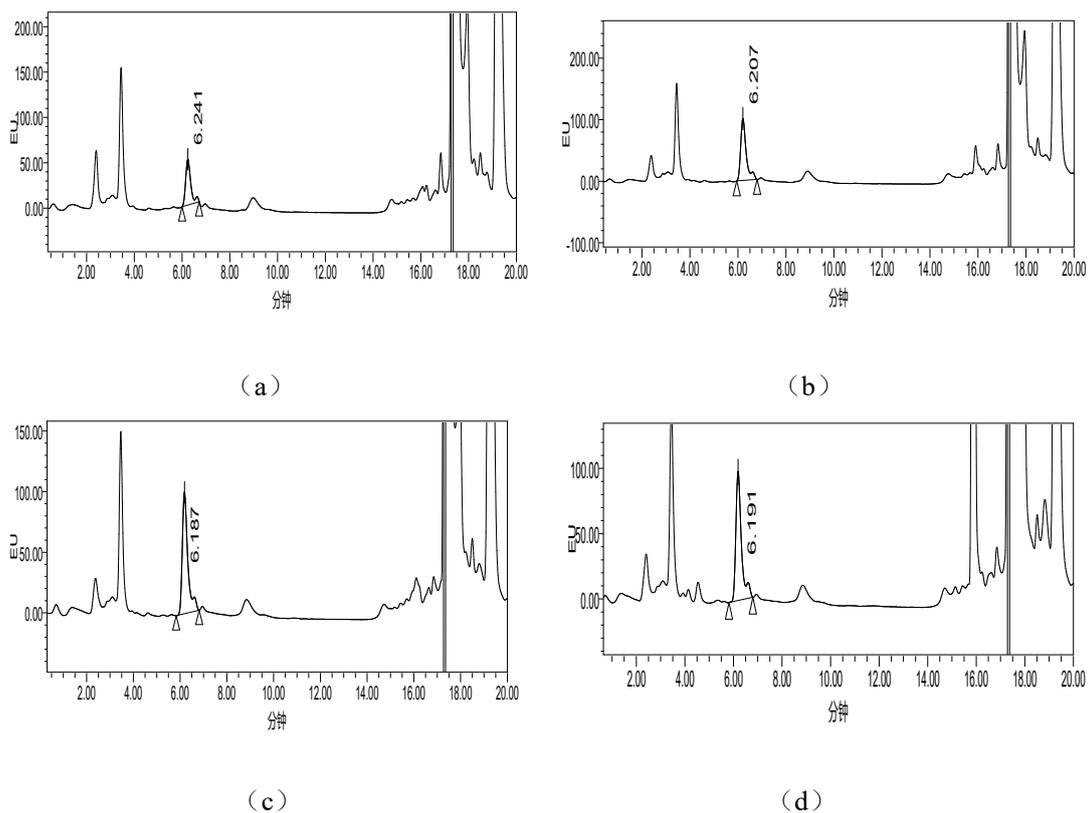


图 13 添加金属离子络合剂色谱图 (0.5 mg/L)

(a) 无添加 (b) 酒石酸钾钠 (c) 柠檬酸三钠 (d) EDTA 二钠

表 4 不同金属离子络合剂净化回收率 (n=6)

络合剂	CK	酒石酸钾钠	柠檬酸三钠	EDTA
回收率 (%)	51.1	88.2	98.4	94.1

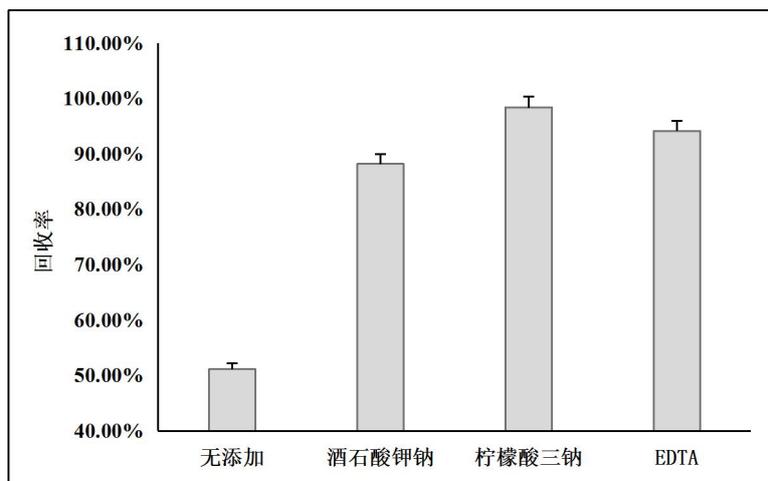


图 14 不同金属离子络合剂净化回收率 (n=6)

5.6.4 净化方法的选择

环境水体中含有各种各样的杂质，会对草甘膦的检测产生影响。例如，蛋白质、脂肪等有机大分子会污染色谱柱，影响色谱柱的分离效果，从而降低草甘膦的回收率。因此，在水样进行衍生化之前，需要采取一定的净化措施去除杂质的干扰。常用的净化方式有液液萃取和固相萃取两种，本实验分别探究了这两种净化方法对于水中草甘膦的净化效果。

5.6.4.1 液液萃取

采用生活污水进行实验，并选取二氯甲烷、三氯甲烷、正己烷和乙酸乙酯四种萃取剂，通过比较这几种萃取剂的净化效果，发现二氯甲烷和乙酸乙酯的色谱峰形较差，未与杂质峰完全分离；三氯甲烷和正己烷的分离效果较好。目标化合物的色谱图如图 15 所示。测定结果如图 16 所示，由图可以看出正己烷的净化效果更好，回收率较高，因此若采用液液萃取净化，可选择正己烷作为萃取剂。

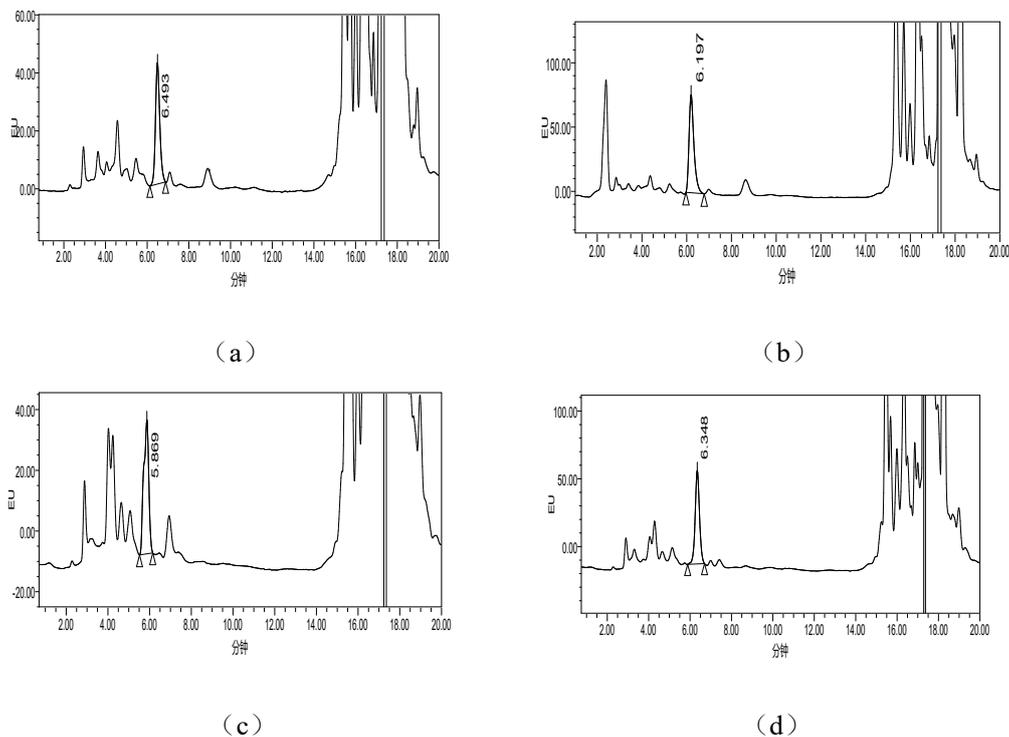


图 15 不同萃取剂净化色谱图 (0.2 mg/L)

(a) 二氯甲烷 (b) 三氯甲烷 (c) 乙酸乙酯 (d) 正己烷

表 5 不同萃取剂净化的回收率 (n=3)

萃取剂	CK	二氯甲烷	三氯甲烷	正己烷	乙酸乙酯
回收率 (%)	79.3	53.3	80.7	97.5	66.5

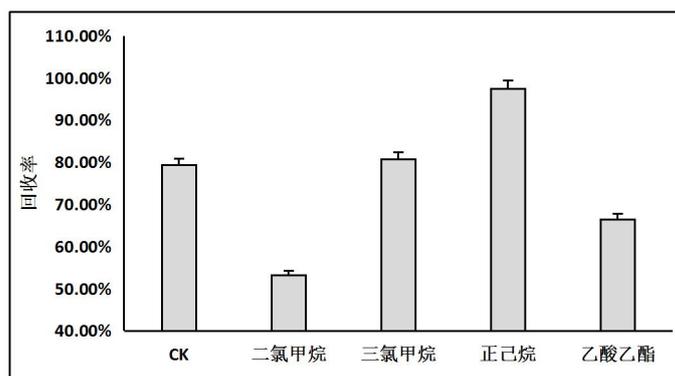


图 16 不同萃取剂净化的回收率 (n=3)

液液萃取对生活污水具有较好的净化效果，但应用于工业废水时，发现液液萃取无法完全去除水样中的干扰物，回收率较低，无法达到检测要求，具体参见图 17 (c)。因此，编制组又探究了固相萃取法对工业废水的净化效果。

5.6.4.2 固相萃取

(1) 固相萃取柱的选择

采用工业废水进行实验，选取 ENVI 18 和 HLB 两种小柱进行固相萃取净化，并与液液萃取的净化效果进行对比。结果发现，液液萃取的色谱峰峰形较差，未与杂质峰完全分离，固相萃取的分离效果较好。目标化合物的色谱图如图 17 所示，测定结果如图 18 所示，由图可以看出 ENVI 18 和 HLB 的净化效果较好。因此，选择 ENVI 18 或 HLB 小柱进行固相萃取。

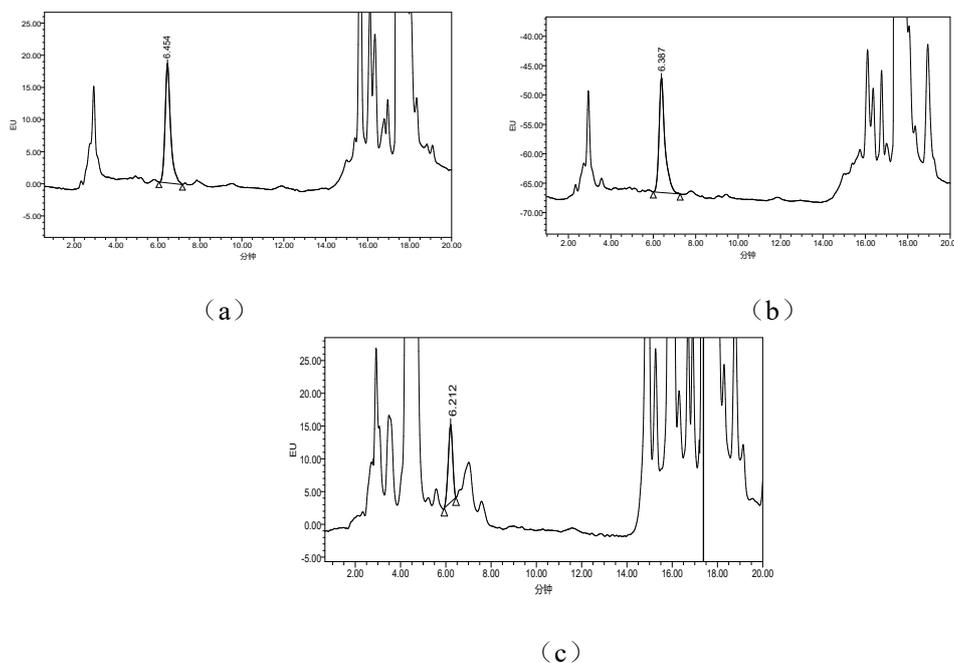


图 17 不同净化方法色谱图 (0.1 mg/L)

(a) ENVI 18 (b) HLB (c) 液液萃取

表 6 不同净化方法的回收率 (n=3)

净化方法 浓度	未净化	液液萃取	HLB	ENVI 18
0.05mg/L	40.4%	46.2%	94.1%	83.9%
0.2mg/L	43.1%	47.8%	89.4%	82.6%

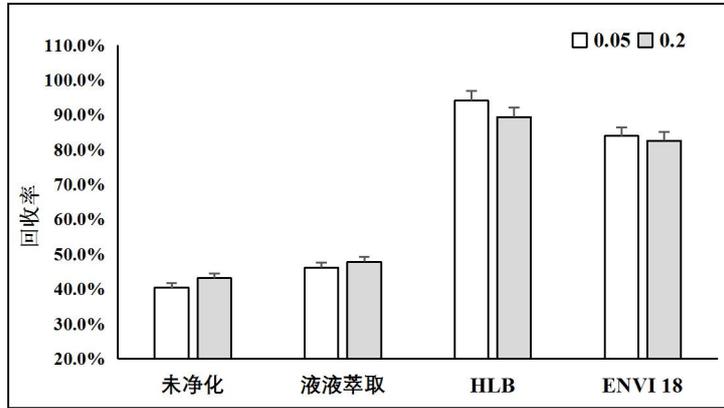


图 18 不同净化方法的回收率 (n=3)

(2) pH 条件的优化

在不同的 pH 条件下，固相萃取的净化效果会有所差异，而由于样品保存的 pH 条件为 4~9，因此，配制一定浓度的平行水样，调节 pH 值使其分别为 4、7、9，比较不同 pH 条件下固相萃取的净化效果。结果如图 19 所示，三种 pH 条件下，草甘膦的回收率无明显差异。

表 7 不同 pH 条件下的回收率 (n=3)

pH 条件 固相萃取柱	pH=4	pH=7	pH=9
HLB	95.1%	90.2%	89.3%
ENVI 18	89.5%	92.3%	88.3%

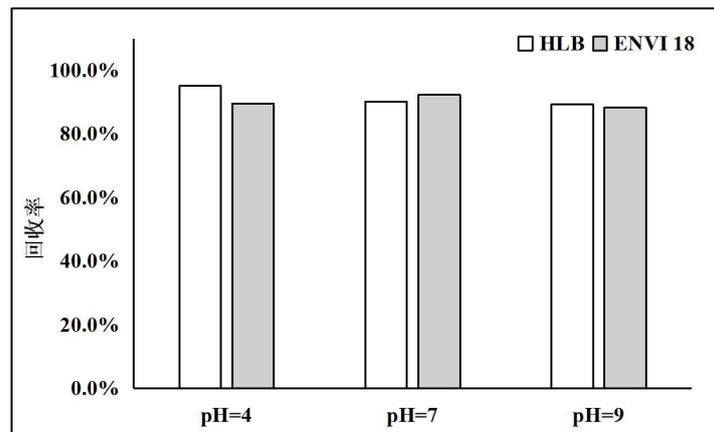


图 19 不同 pH 条件下的回收率 (n=3)

5.6.5 衍生化副产物的净化

FMOC-Cl 作为柱前衍生的衍生化试剂既可以与伯胺反应又可以与仲胺反应，能够在柱外很好的控制衍生反应的进行。但在 FMOC-Cl 与草甘膦反应生成草甘膦衍生物的同时，FMOC-Cl 还会与水反应生成 FMOC-OH 等副产物，FMOC-OH 在液相色谱仪上会出现一个极大的色谱峰，严重干扰了草甘膦的测定。因此，在进样检测之前，需要对水样采取进一步的净化措施。

本实验选取二氯甲烷、正己烷和乙酸乙酯三种萃取剂对衍生过后的水样进行萃取净化，结果表明，三种萃取剂对衍生化副产物均有一定的去除效果，对目标化合物亦无损失。目标化合物的色谱图如图 20 所示。考虑到采用二氯甲烷作为萃取剂，可以较大范围地去除实际水样中不必要的有机干扰物，因此，选择二氯甲烷作为萃取剂。

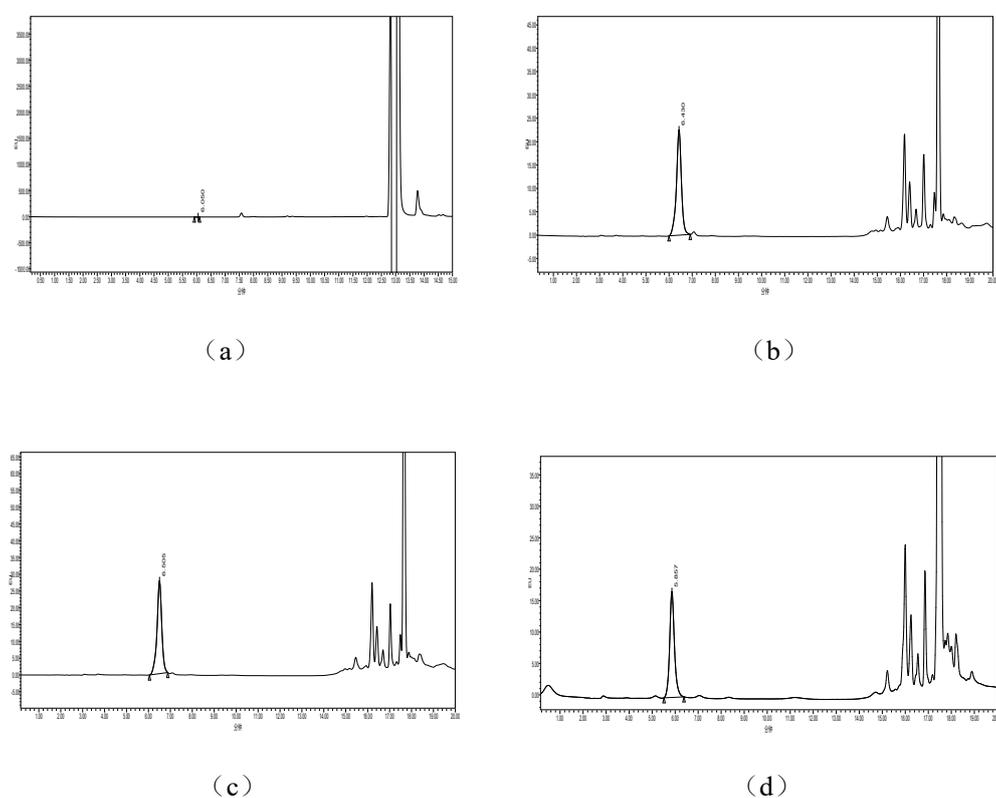


图 20 不同萃取剂净化色谱图 (0.05 mg/L)

(a) 未萃取 (b) 二氯甲烷 (c) 乙酸乙酯 (d) 正己烷

5.6.6 仪器条件的选择

通过尝试各种色谱柱以及梯度洗脱程序，当草甘膦能与杂质较好分离时的仪器条件参考如下：

色谱柱：C18 (250mm×4.6 mm×5μm)，或其他等效类型液相色谱柱；

流动相：A (乙腈)，B (0.2%磷酸水溶液)，梯度洗脱程序如表 8 所示；

流速：1.0 mL/min；

柱温：30℃；

进样量：20μL。

荧光条件：激发波长 254nm，发射波长 315nm、302nm；

表 8 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 21 所示，可以看出草甘膦能与杂质较好的分离。

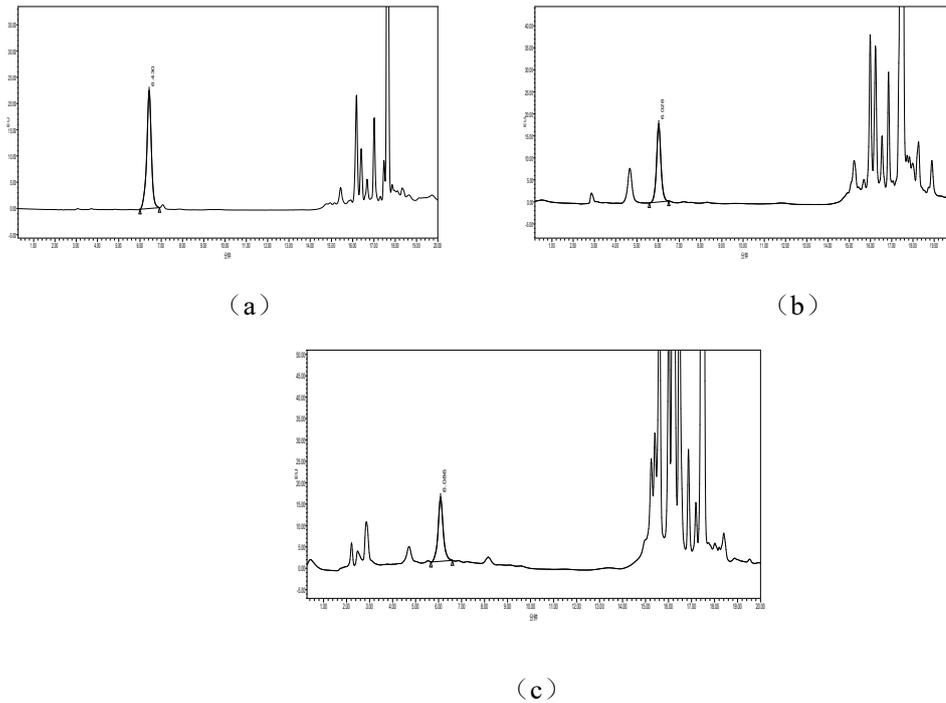


图 21 三种实际样品色谱图 (0.02 mg/L)

(a) 地表水 (b) 生活污水 (c) 工业废水

5.6.7 工作曲线

(1) 标准使用液稳定性考察

编制组对草甘膦标准工作溶液 (10mg/L) 进行了稳定性考察试验，结果表明在 2 个月的时间内，草甘膦相对测定误差均在±10%以内。

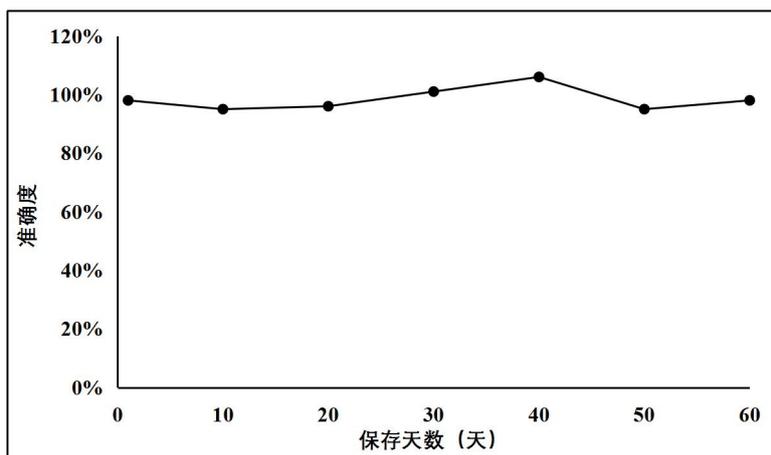


图 22 草甘膦农药标准使用液稳定性考察试验 (n=6)

(2) 工作曲线的绘制

配置一定浓度的系列标准工作溶液 (10 μ g/L、20 μ g/L、50 μ g/L、100 μ g/L、200 μ g/L、500 μ g/L)，衍生化之后进样，分别测定目标化合物色谱峰面积，将峰面积对浓度线性拟合得工作曲线，其回归方程为 $y=1.42\times 10^8x-331865$ ，线性相关度 $R^2=0.9991$ 。草甘膦标准溶液在浓度 10~500 μ g/L 范围内，线性良好，且色谱峰峰形较好，符合检测要求。草甘膦的标准溶液色谱图如图 23 所示。

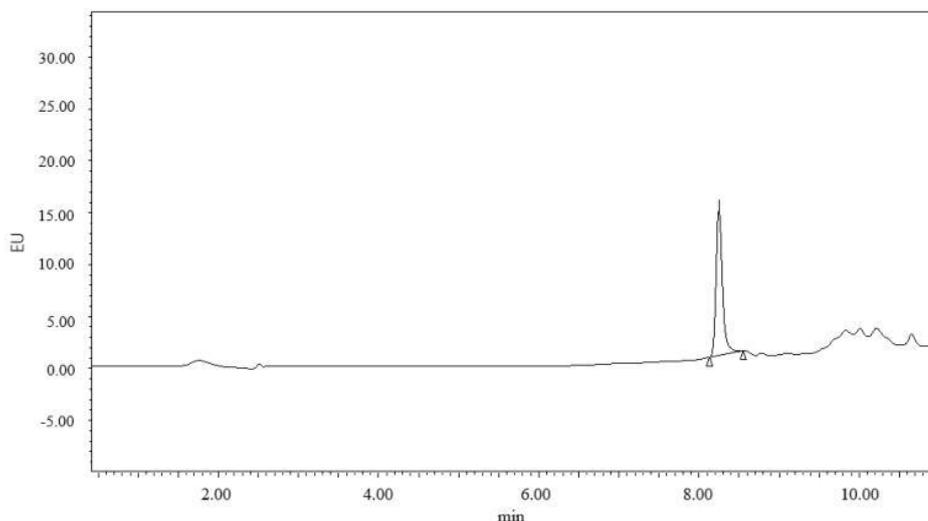


图 23 标准溶液色谱图 (10 μ g/L)

5.7 结果计算

5.7.1 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。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 $\pm 5\%$ 以内。

5.7.2 定量分析

水样中的草甘膦用外标法定量,由校准曲线计算所得草甘膦的质量浓度即为水体中草甘膦的浓度 ($\mu\text{g/L}$)。

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

式中: ρ ——水样中草甘膦的质量浓度, $\mu\text{g/L}$;

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。

5.7.3 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。

5.8 实验室内方法的特性指标的确定

5.8.1 方法检出限

按照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)中附录 A 1.1 所示方法确定草甘膦测定的检出限。即,重复测定空白样品 7 次,按 5.7 中的计算方法换算测定结果,并计算 7 次平行测定的标准偏差,按下列公式计算方法检出限,以 4 倍检出限作为方法测定下限,结果见表 9。

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

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 次平行测定的标准偏差。

表 9 方法检出限、测定下限计算结果 ($n=8$)

平行样	浓度 ($\mu\text{g/L}$)	平均浓度 ($\mu\text{g/L}$)	标准偏差 $S(\mu\text{g/L})$	RSD (%)	检出限 ($\mu\text{g/L}$)	测定下限 ($\mu\text{g/L}$)
1	5.04	5.16	0.36	7.0	1.2	4.8
2	5.07					
3	5.57					
4	5.19					
5	4.53					

6	5.60					
7	5.12					

由上表可见,当加标浓度为 5 $\mu\text{g/L}$ 时,实验室内方法检出限为 1.2 $\mu\text{g/L}$,测定下限为 4.8 $\mu\text{g/L}$ 。此检出限基本能够满足我国的排放标准和质量标准,地下水质量标准中的 I 类水质(限值 0.10 $\mu\text{g/L}$) 除外。由于高效液相色谱仪的灵敏度有一定的限制,且草甘膦的水溶性极大,无法进行富集,因此无法达到该类水质的检测要求,建议针对该类水质另立一个液相色谱串联质谱的标准方法进行检测。

综上所述,本标准的检出限能够满足地表水、地下水、生活污水和工业废水中草甘膦的测定要求。

5.8.2 方法精密度

本实验采集了地表水(扬州长江流域)、地下水(某厂下游污染监测井)、生活污水(南京某小区,排水口)和工业废水(安徽合肥某农化有限公司,总排口)4种实际环境水样,对高、中、低三个浓度水平进行了精密度测试(见表 10)。每个浓度水平配制 6 份平行样品。从表中可以看出,不同浓度的加标水样,测试的相对标准偏差为 1.1%~6.8%,说明方法的精密度良好。

表 10 基体加标测定精密度数据 (n=6)

平行号		地表水		地下水		生活污水		工业废水(总排口)		
		10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$	1000 $\mu\text{g/L}$						
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	9.98	92.8	9.12	74.6	9.48	84.1	9.52	94.7	842
	2	10.3	93.8	9.34	85.0	8.94	92.3	9.79	94.8	888
	3	9.19	100	9.31	90.5	8.90	86.5	9.79	96.5	912
	4	9.66	101	8.75	86.8	8.11	81.2	9.80	96.2	911
	5	10.4	96.8	9.18	81.7	8.86	83.4	8.83	95.2	933
	6	10.4	99.1	9.34	88.6	9.33	90.7	10.4	97.4	950
平均值 \bar{x} ($\mu\text{g/L}$)		9.98	97.3	9.17	84.5	8.94	86.4	9.68	95.8	906
标准偏差 S ($\mu\text{g/L}$)		0.48	3.4	0.22	5.7	0.48	4.3	0.50	0.11	3.8
相对标准偏差 RSD (%)		4.8	3.5	2.4	6.8	5.3	5.0	5.2	1.1	4.2

5.8.3 方法准确度

本实验采集了地表水(扬州长江流域)、地下水(某厂下游污染监测井)、生活污水(南京某小区,排水口)、工业废水(安徽合肥某农化有限公司,总排口)、工业废水(安徽合肥

某农化有限公司，车间排口）的实际环境水样，对 2~3 个浓度水平进行了准确度测试（见表 11）。每个浓度水平配制 6 份平行样品。从表中可以看出，不同浓度的实际加标样品，回收率为 74.6%~110%，说明方法的准确度良好。

表 11 基体加标回收准确度数据（n=6）

地表水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	9.98	ND	92.8
	2	ND	10.3	ND	93.8
	3	ND	9.19	ND	100
	4	ND	9.66	ND	101
	5	ND	10.4	ND	96.8
	6	ND	10.4	ND	99.1
平均值 \bar{x} , \bar{y} ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.98	ND	97.3
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P (%)		99.8		97.3	
地下水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	9.12	ND	74.6
	2	ND	9.34	ND	85.0
	3	ND	9.31	ND	90.5
	4	ND	8.75	ND	86.8
	5	ND	9.18	ND	81.7
	6	ND	9.34	ND	88.6
平均值 \bar{x} , \bar{y} ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.17	ND	84.5
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P (%)		91.7		84.5	
生活污水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果	1	ND	9.48	ND	84.1
	2	ND	8.94	ND	92.3

(μg/L)	3	ND	8.90	ND	86.5		
	4	ND	8.11	ND	81.2		
	5	ND	8.86	ND	83.4		
	6	ND	9.33	ND	90.7		
平均值 \bar{x} , \bar{y} (μg/L)		ND	8.94	ND	86.4		
加标量 μ (μg/L)		10		100			
加标回收率 P (%)		89.4		86.4			
工业废水 (总排口)							
平行号		样品 1		样品 2		样品 3	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 (μg/L)	1	ND	9.52	ND	94.7	ND	842
	2	ND	9.79	ND	94.8	ND	888
	3	ND	9.79	ND	96.5	ND	912
	4	ND	9.80	ND	96.2	ND	911
	5	ND	8.83	ND	95.2	ND	933
	6	ND	10.4	ND	97.4	ND	950
平均值 \bar{x} , \bar{y} (μg/L)		ND	9.68	ND	95.8	ND	906
加标量 μ (μg/L)		10		100		1000	
加标回收率 P (%)		96.8		95.8		90.6	
工业废水 (车间排口)							
平行号		样品 1		样品 2			
		样品	加标样品	样品	加标样品		
测定结果 (μg/L)	1	14.0	23.1	14.0	107		
	2	14.2	23.4	14.2	107		
	3	14.0	23.4	14.0	109		
	4	14.3	23.4	14.3	109		
	5	14.2	22.4	14.2	108		
	6	13.5	24.0	13.5	110		
平均值 \bar{x} , \bar{y} (μg/L)		14.0	23.3	14.0	108		
加标量 μ (μg/L)		10		100			
加标回收率 P (%)		93.0		94			

5.8.4 结论

上述结果表明, 高效液相色谱法测定水质草甘膦, 实验室内方法检出限为 1.2 μg/L, 测定下限为 4.8 μg/L。此检出限基本能够满足我国的排放标准和质量标准, 地下水质量标准中

的 I 类水质（限值 0.10 μg/L）除外。对地表水、地下水、生活污水和工业废水的实际水样进行加标回收实验，回收率在 74.6%~110%之间，相对标准偏差为 1.1%~6.8%，说明方法的精密度和准确度良好。

综上所述，本标准方法能够满足地表水、地下水、生活污水和工业废水中草甘膦的测定要求。

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 168-2010）的要求进行方法验证。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。

本标准编制组向六家验证单位提供了统一的草甘膦标准贮备液以及地表水、地下水、生活污水和工业废水样品。

6.1 方法验证方案

6.1.1 参加验证的实验室、验证人员的基本情况

选择 6 家具有资质的实验室参加方法的验证工作，参与方法验证的实验室、验证人员的基本情况见表 12。

表 12 验证单位及验证人员概况

验证单位	验证人员	性别	年龄	验证人员职称	所学专业	参加分析 工作年限
江苏省环境监测中心站	张蓓蓓	女	36	高级工程师	药物分析	12
安徽省环境监测中心站	张敏	男	52	正高	无机化学	25
	张付海	男	39	高级工程师	环境监测	20
	田丙正	男	35	工程师	分析化学	10
	赵彬	男	35	工程师	分析化学	10
常州市环境监测中心站	薛银刚	男	37	高级工程师	环境化学	15
	蒋少杰	男	32	工程师	化学	10
无锡市环境监测中心站	沈斐	男	35	高级工程师	分析化学	10
	章嘉晴	女	28	助理工程师	环境工程	4
泰州市环境监测中心站	张永兵	男	43	高级工程师	生态学	15
	翟有朋	男	34	工程师	环境科学	5

南京市环境监测中心站	王美飞	女	38	高级工程师	分析化学	11
------------	-----	---	----	-------	------	----

6.1.2 方法验证方案

编制组根据《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)的要求编写了《水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法》方法验证方案,主要技术要求如下:

(1) 检出限的验证

按照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)中方法检出限的一般确定方法,按照样品的全部分析步骤,重复 n ($n \geq 7$) 次空白试验,将各测定结果换算为样品中的浓度或含量(按 5.7 中的计算方法换算),计算 n 次平行测定的标准偏差,按公式 $MDL = t_{(n-1,0.99)} \times S$ 计算方法检出限(加标浓度为 $10\mu\text{g/L}$),以 4 倍检出限作为方法测定下限,取 6 家实验室的最大值为方法的检出限。结果填入《方法验证报告》中。

(2) 精密度的测定

选择地表水、地下水、生活污水的实际水样,分别配制浓度为 $10\mu\text{g/L}$ 、 $100\mu\text{g/L}$ 的加标样品;选择工业废水(总排口)的实际水样,分别配制浓度为 $10\mu\text{g/L}$ 、 $100\mu\text{g/L}$ 、 $1000\mu\text{g/L}$ 加标样品。每个浓度水平各 6 份平行样,由各个实验室进行测定。将所得数据填入《方法验证报告》中,并按规定公式进行平均值、标准偏差、相对标准偏差等各项参数的计算。

(3) 准确度的测定

选择地表水、地下水、生活污水、工业废水(总排口)、工业废水(车间排口)的实际水样,经全过程分析平行测定 6 次取其平均值作为样品原始浓度,再进行加标分析测试。地表水、地下水、生活污水、工业废水(车间排口)的加标浓度分别为 $10\mu\text{g/L}$ 、 $100\mu\text{g/L}$,工业废水(总排口)的加标浓度分别为 $10\mu\text{g/L}$ 、 $100\mu\text{g/L}$ 、 $1000\mu\text{g/L}$,每种样品平行测定 6 次。将所得数据填入《方法验证报告》中,并按规定公式计算平均值和加标回收率。

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。验证单位按照方法草案准备实验用品,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 方法验证数据统计

(1) 本课题组在进行方法验证报告数据统计时,需按照 GB/T6379.6-2009 进行异常数据的剔除。

(2) 方法精密度和准确度统计结果需满足方法特性指标要求。

6.4 方法验证结论

本验证方法采用高效液相色谱法测定地表水、地下水、生活污水、工业废水中的草甘膦含量。现将 6 家实验室方法验证结果汇总如下：

(1) 检出限

当进样量为 20 μ l 时，方法的检出限为 2.0 μ g/L，测定下限为 8.0 μ g/L。

(2) 精密度

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μ g/L 和 100 μ g/L 的地表水样品进行精密度测定，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 1.5 μ g/L、14.2 μ g/L，再现性限分别为 2.5 μ g/L、7.8 μ g/L。

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μ g/L 和 100 μ g/L 的地下水样品进行精密度测定，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 5.1%、4.8%；重复性限分别为 1.5 μ g/L、8.6 μ g/L，再现性限分别为 2.4 μ g/L、6.6 μ g/L。

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μ g/L 和 100 μ g/L 的生活污水样品进行精密度测定，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 1.6 μ g/L、14.3 μ g/L，再现性限分别为 2.5 μ g/L、8.6 μ g/L。

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μ g/L、100 μ g/L、1000 μ g/L 的工业废水（总排口）样品进行精密度测定，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 1.6 μ g/L、14.6 μ g/L、34.1 μ g/L，再现性限分别为 2.6 μ g/L、7.3 μ g/L、25.6 μ g/L。

(3) 准确度

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μ g/L 和 100 μ 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 μ g/L 和 100 μ 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 μ g/L 和 100 μ 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%±16.6%。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 μg/L、100 μg/L、1000 μg/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%±14.4%、98.7%±9.4%、98.0%±16.8%。

6家实验室对草甘膦浓度为14.5 μg/L的工业废水（车间排口）分别加标10 μg/L、100 μg/L进行了分析测定，加标回收率分别为87.0%~108%、87.7%~107%，加标回收率最终值为97.7%±15.4%、95.8%±13.4%。

7 质量保证与质量控制

（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。

（2）初始校准

校准曲线的相关系数 ≥ 0.995 。

（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。

（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，控制平行样的相对偏差 $\leq 20\%$ 。

（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，由于方法验证数据中的加标回收率范围为81.1%~115%，考虑到不同实验室的检测能力水平有所差异，因此，控制基体加标回收率在70%~130%。

8 与开题报告差异说明

标准题目由《水质 草甘膦、氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷、辛硫磷的测定 液相色谱法》改为《水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法》和《水质 氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷、辛硫磷的测定 液相色谱-三重四极杆质谱法》两个标准。

9 标准征求意见情况

待完成。

10 标准技术审查情况

待完成。

11 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 liquid chromatography coupled to mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1292(2013): 132-141.
- [4] J.V. Sancho, F. Hernfindez, Rapid determination of glufosinate, glyphosate and aminomethylphosphonic 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—aqueous injection HPLC, Post-column Derivatization, and Fluorescence Detection .
- [6] GB 12686 -2004. 草甘膦原药[s].
- [7] GB 12686 -2004. 草甘膦水剂[s].
- [8] GB/T5750.9-2006. 生活饮用水标准检验方法-农药指标[s].
- [9] GB 23750-2009. 植物性产品中草甘膦残留量的测定 气相色谱-质谱法[s].
- [10] NY/T 1906-2006. 食品中草甘膦残留量测定.
- [11] 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.
- [12] 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[s].
- [13] GB/T 14848-2017. 地下水质量标准[s].
- [14] Mar'ia 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.

- [15] 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.
- [16] 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基甲酸磷残留. *色谱*. 25(4) :486~490.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 张蓓蓓, 张立志, 章勇. 2015. 水中草甘膦和氨基甲酸的柱前衍生-液相色谱方法研究. *环境监控与预警*. 7(2) :13~16.
- [21] 马为民. 2008. 草甘膦和氨基甲酸磷残留量检测方法研究进展. *农药*. 47(8) :554~557.
- [22] 何凯, 李国芳 2011. 草甘膦分析方法的研究进展. *理化检验-化学分册*, 第 47 卷 991~995.
- [23] 刘晓玉, 肖珊珊, 李军. 2015. 食品和水质中草甘膦检测方法及其研究进展. *食品安全质量检测学报*. 6(6):2241~2247.
- [24] ISO 16308, 2014. Water quality -- Determination of glyphosate and AMPA -- Method using high performance liquid chromatography (HPLC) with tandem mass spectrometric detection[s].
- [25] IOS21458, 2008. Water quality-Determination of glyphosate and AMPA-Method using high performance liquid chromatography (HPLC) and fluorometric detection[s] .

附件一

方法验证报告

方法名称： 水质 草甘膦的测定 高效液相色谱法

项目主编单位： 环境保护部南京环境科学研究所

验证单位： 江苏省环境监测中心站、安徽省监测中心站、常州市环境监测中心站、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

项目负责人及职称： 焦少俊 研究员

通讯地址： 南京市玄武区蒋王庙街8号 电话： 025-85471399

报告编写人及职称： 焦少俊 研究员

报告日期： 2018 年 5 月 4 日

依照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)的要求,组织 6 家有资质的实验室进行验证。其中实验室 1 为江苏省环境监测中心站、实验室 2 为安徽省环境监测中心站、实验室 3 为常州市环境监测中心站、实验室 4 为无锡市环境监测中心站、实验室 5 为泰州市环境监测中心站、实验室 6 为南京市环境监测中心站。

A.1 原始测试数据

A.1.1 实验室基本情况

表 A1-1 参加验证的人员情况登记表

验证单位	验证人员	性别	年龄	验证人员职称	所学专业	参加分析工作年限
江苏省环境监测中心站	张蓓蓓	女	36	高级工程师	药物分析	12
安徽省环境监测中心站	张敏	男	52	正高	无机化学	25
	张付海	男	39	高级工程师	环境监测	20
	田丙正	男	35	工程师	分析化学	10
	赵彬	男	35	工程师	分析化学	10
常州市环境监测中心站	薛银刚	男	37	高级工程师	环境化学	15
	蒋少杰	男	32	工程师	化学	10
无锡市环境监测中心站	沈斐	男	35	高级工程师	分析化学	10
	章嘉晴	女	28	助理工程师	环境工程	4
泰州市环境监测中心站	张永兵	男	43	高级工程师	生态学	15
	翟有朋	男	34	工程师	环境科学	5
南京市环境监测中心站	王美飞	女	38	高级工程师	分析化学	11

表 A1-2 使用仪器情况登记表

验证实验室	仪器名称	规格型号	仪器出厂编号	性能状况 (计量/校准状态、量程、灵敏度等)	备注
江苏省环境监测中心站	高效液相色谱仪	WATERS 2695	03010201487	良好	
	固相萃取装置	Supelco		良好	
安徽省环境监测中心站	高效液相色谱仪	Waters 1525	D0525P334M	良好	
	固相萃取装置	Supelco Visiprep		良好	
常州市环境监测中心站	高效液相色谱仪	U-3000 HPLC	21110	良好	
	固相萃取装置	戴安 AT280	25227	良好	

验证实验室	仪器名称	规格型号	仪器 出厂编号	性能状况 (计量/校准状态、量 程、灵敏度等)	备注
无锡市环境监 测中心站	高效液相色谱仪	Waters 2695	AO8SM7611A	良好	
	固相萃取装置	Supelco (Visiprep DL SPE)		良好	
泰州市环境监 测中心站	高效液相色谱仪	Waters 2695	WAT270886	良好	
	固相萃取装置	DIONEX Auto Trace 280	11081299	良好	
南京市环境监 测中心站	高效液相色谱仪	岛津 LC-20AT		良好	
	固相萃取装置	Sulpeclo visiprep 24DL		良好	

表 A1-3 使用试剂及溶剂登记表

验证实验室	名称	生产厂家、规格	纯化处 理方法	备注
江苏省环境 监测中心站	磷酸	南京化学试剂公司, 分析纯	---	
	乙腈	德国默克, 色谱纯	---	
	甲醇	德国默克, 色谱纯	---	
	二氯甲烷	德国默克, 色谱纯	---	
安徽省环境 监测中心站	磷酸	国药/500mL /GR	---	
	乙腈	CNW /4L /HPLC	---	
	甲醇	Merck /4L /HPLC	---	
	二氯甲烷	Merck /4L /HPLC	---	
常州市环境 监测中心站	磷酸	百灵威/分析纯	---	
	乙腈	MERCK/色谱纯	---	
	甲醇	MERCK/色谱纯	---	
	二氯甲烷	MERCK/色谱纯	---	
无锡市环境 监测中心站	磷酸	国药 /500mL /GR	---	
	乙腈	CNW /4L /HPLC	---	
	甲醇	CNW /4L /HPLC	---	
	二氯甲烷	CNW /4L /HPLC	---	
泰州市环境 监测中心站	磷酸	国药/500mL /GR	---	
	乙腈	CNW /4L /HPLC	---	
	甲醇	CNW /4L /HPLC	---	
	二氯甲烷	CNW /4L /HPLC	---	
南京市环境 监测中心站	磷酸	国药集团化学试剂有限公司	---	
	乙腈	Merck	---	
	甲醇	Merck	---	
	二氯甲烷	Merck	---	

A.1.2 方法检出限、测定下限测试数据

按照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)中方法检出限的一般确定方法,按照样品的全部分析步骤,重复 n ($n \geq 7$) 次空白试验,将各测定结果换算为样品中的含量,计算 n 次平行测定的标准偏差,按公式 $MDL = t_{(n-1,0.99)} \times S$ 计算方法检出限,以 4 倍检出限作为方法测定下限。取 6 家实验室的最大值作为方法检出限。

表 A1-4 方法检出限、测定下限测试数据表

验证单位: 1

测试日期: 2018-3-29

平行样品编号		草甘膦	备注
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	5.60	
	2	4.85	
	3	5.58	
	4	5.65	
	5	5.28	
	6	5.93	
	7	5.85	
平均值 $\bar{x}_1(\mu\text{g/L})$		5.53	
标准偏差 $S_1(\mu\text{g/L})$		0.37	
t 值		3.143	
检出限($\mu\text{g/L}$)		1.15	
测定下限($\mu\text{g/L}$)		4.60	
注: 1 为实验室编号			

表 A1-5 方法检出限、测定下限测试数据表

验证单位: 2

测试日期: 2018-4-4

平行样品编号		草甘膦	备注
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	4.90	
	2	4.86	
	3	5.70	
	4	4.83	
	5	4.53	
	6	4.18	
	7	5.57	
平均值 $\bar{x}_2(\mu\text{g/L})$		4.94	
标准偏差 $S_2(\mu\text{g/L})$		0.54	
t 值		3.143	
检出限($\mu\text{g/L}$)		1.69	
测定下限($\mu\text{g/L}$)		6.76	

注：2 为实验室编号

表 A1-6 方法检出限、测定下限测试数据表

验证单位： 3

测试日期： 2018-4-9

平行样品编号		草甘膦	备注
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	4.49	
	2	4.66	
	3	5.49	
	4	5.03	
	5	4.35	
	6	4.91	
	7	5.45	
平均值 $\bar{x}_3(\mu\text{g/L})$		4.91	
标准偏差 $S_3(\mu\text{g/L})$		0.45	
t 值		3.143	
检出限($\mu\text{g/L}$)		1.41	
测定下限($\mu\text{g/L}$)		5.64	

注：3 为实验室编号

表 A1-7 方法检出限、测定下限测试数据表

验证单位： 4

测试日期： 2018 年 4 月 18 日

平行样品编号		草甘膦	备注
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	5.60	
	2	5.66	
	3	6.17	
	4	6.18	
	5	6.65	
	6	5.82	
	7	6.19	
平均值 $\bar{x}_4(\mu\text{g/L})$		6.04	
标准偏差 $S_4(\mu\text{g/L})$		0.37	
t 值		3.143	
检出限($\mu\text{g/L}$)		1.16	
测定下限($\mu\text{g/L}$)		4.64	

注：4 为实验室编号

表 A1-8 方法检出限、测定下限测试数据表

验证单位： 5

测试日期： 2018年4月20日

平行样品编号		草甘膦	备注
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	5.73	
	2	6.08	
	3	5.65	
	4	4.99	
	5	5.38	
	6	5.19	
	7	5.24	
平均值 $\bar{x}_5(\mu\text{g/L})$		5.46	
标准偏差 $S_5(\mu\text{g/L})$		0.37	
t 值		3.143	
检出限($\mu\text{g/L}$)		1.17	
测定下限($\mu\text{g/L}$)		4.68	
注：5 为实验室编号			

表 A1-9 方法检出限、测定下限测试数据表

验证单位： 6

测试日期： 2018年4月23日

平行样品编号		草甘膦	备注
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	5.17	
	2	5.07	
	3	4.84	
	4	5.91	
	5	4.95	
	6	5.56	
	7	5.90	
平均值 $\bar{x}_6(\mu\text{g/L})$		5.34	
标准偏差 $S_6(\mu\text{g/L})$		0.45	
t 值		3.143	
检出限($\mu\text{g/L}$)		1.40	
测定下限($\mu\text{g/L}$)		5.60	
注：6 为实验室编号			

A.1.3 方法精密度测试数据

选择地表水、地下水、生活污水的实际水样，分别配制浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 的加标样品，选择工业废水（总排口）的实际水样，分别配制浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、1000 $\mu\text{g/L}$ 加标样品。每个浓度水平各 6 份平行样，由各个实验室进行测定。按规定公式计算平均值、标准偏差、相对标准偏差。

表 A1-10 精密度测试数据

验证单位： 1

测试日期： 2018-3-29

平行号		地表水		地下水		生活污水		工业废水（总排口）		
		10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$	10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$	10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$	10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$	1000 $\mu\text{g/L}$
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	10.6	98.0	10.1	92.2	11.2	86.1	9.44	90.9	941
	2	10.5	104	9.75	91.3	11.0	90.8	10.2	91.3	928
	3	10.9	102	9.35	94.8	9.40	90.9	10.3	90.4	929
	4	10.5	101	9.70	93.5	9.63	92.0	10.2	91.5	909
	5	10.7	103	10.2	92.9	10.5	92.1	9.78	98.8	875
	6	10.2	96.4	9.59	92.4	9.62	93.2	10.2	90.8	881
平均值 $\bar{x}_1(\mu\text{g/L})$		10.5	101	9.77	92.9	10.2	90.9	10.0	92.3	910
标准偏差 $S_1(\mu\text{g/L})$		0.23	2.87	0.31	1.19	0.78	2.48	0.35	3.19	27.2
相对标准偏差 RSD_1 (%)		2.2	2.9	3.2	1.3	7.6	2.7	3.4	3.5	3.0
注：1 为实验室编号										

表 A1-11 精密度测试数据

验证单位： 2

测试日期： 2018-4-4

平行号		地表水		地下水		生活污水		工业废水（总排口）		
		10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$	10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$	10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$	10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$	1000 $\mu\text{g/L}$
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	8.78	93.4	9.21	103	9.21	110	10.3	101	829
	2	8.45	91.1	10.0	103	8.61	98.0	9.09	91.0	919
	3	10.8	103	11.2	104	9.91	96.4	8.89	91.3	942
	4	8.87	86.1	8.49	98.1	9.21	94.3	9.74	89.9	1006
	5	9.20	88.6	9.79	107	10.2	93.4	10.2	104	803
	6	9.32	103	10.6	105	10.2	109	8.53	96.2	881
平均值 $\bar{x}_2(\mu\text{g/L})$		9.23	94.3	9.89	104	9.56	100	9.47	95.5	897
标准偏差 $S_2(\mu\text{g/L})$		0.82	7.3	0.98	3.00	0.64	7.5	0.74	5.7	7.4

相对标准偏差 RSD ₂ (%)	8.8	7.8	9.9	2.9	6.7	7.5	7.9	6.0	8.4
注：2 为实验室编号									

表 A1-12 精密度测试数据

验证单位：_____ 3 _____

测试日期：_____ 2018-4-9 _____

平行号	地表水		地下水		生活污水		工业废水（总排口）			
	10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	1000 μg/L	
测定结果 (μg/L)	1	8.04	94.4	8.43	101	9.12	109	10.1	99	858
	2	8.76	90.7	9.26	98.4	8.79	101	9.46	93.2	911
	3	10.3	102	8.55	95.5	9.99	97.8	9.12	94.4	1010
	4	9.89	88.1	8.73	103	8.93	97.7	9.11	98.4	988
	5	8.65	84.5	9.31	98.0	9.8	93.0	8.8	102	823
	6	9.28	105	9.35	104	10.0	102	9.44	101	965
平均值 \bar{x}_3 (μg/L)	9.15	94.0	8.94	99.9	9.44	100	9.30	97.8	926	
标准偏差 S ₃ (μg/L)	0.84	7.88	0.42	3.24	0.56	5.30	0.45	3.37	7.5	
相对标准偏差 RSD ₃ (%)	9.1	8.4	4.6	3.3	5.9	5.3	4.9	3.4	8.1	
注：3 为实验室编号										

表 A1-13 精密度测试数据

验证单位：_____ 4 _____

测试日期：_____ 2018年4月18日 _____

平行号	地表水		地下水		生活污水		工业废水（总排口）			
	10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	1000 μg/L	
测定结果 (μg/L)	1	10.5	109	9.94	111	10.9	118	11.9	114	1132
	2	10.9	105	10.9	104	10.3	106	9.57	103	1097
	3	10.6	108	9.92	109	9.35	108	9.49	115	1040
	4	10.4	108	10.8	104	10.3	97.5	10.7	102	1071
	5	10.2	113	10.3	112	9.22	113	9.48	109	1161
	6	10.5	112	10.0	103	10.3	104	9.83	93.1	1128
平均值 \bar{x}_4 (μg/L)	10.5	109	10.3	107	10.1	108	10.1	106	1105	
标准偏差 S ₄ (μg/L)	0.22	2.9	0.46	3.8	0.64	7.2	0.96	8.30	4.45	
相对标准偏差 RSD ₃ (%)	2.1	2.6	4.5	3.6	6.4	6.6	9.5	7.8	4.0	
注：4 为实验室编号										

表 A1-14 精密度测试数据

验证单位： 5

测试日期： 2018年4月20日

平行号		地表水		地下水		生活污水		工业废水（总排口）		
		10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	1000 μg/L
测定结果 (μg/L)	1	9.75	97.8	10.5	102	10.9	101	10.8	102	1030
	2	9.54	100	10.4	98.5	10.3	104	10.6	98.6	1012
	3	9.79	104	10.6	97.2	10.7	103	10.7	106	1050
	4	9.56	99.3	9.55	100	10.0	103	10.6	101	1045
	5	9.87	104	9.93	96.3	10.3	104	10.4	106	1042
	6	10.2	102	10.0	103	10.7	96.9	9.94	95.4	1061
平均值 \bar{x}_5 (μg/L)		9.79	101	10.2	99.4	10.5	102	10.5	101	1040
标准偏差 S_5 (μg/L)		0.26	2.46	0.40	2.59	0.34	2.72	0.30	4.1	1.70
相对标准偏差 RSD_5 (%)		2.6	2.4	4.0	2.6	3.3	2.7	2.9	4.0	1.7
注：5 为实验室编号										

表 A1-15 精密度测试数据

验证单位： 6

测试日期： 2018年4月23日

平行号		地表水		地下水		生活污水		工业废水（总排口）		
		10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	10 μg/L	100 μg/L	1000 μg/L
测定结果 (μg/L)	1	9.19	94.5	10.7	100	9.26	82.9	8.20	101	1043
	2	8.73	88.6	9.71	104	8.99	83.2	8.57	105	1011
	3	9.93	91.4	9.86	93.9	8.62	83.8	8.70	94.2	965
	4	9.40	88.8	9.93	97.0	9.17	84.3	8.27	99.3	979
	5	8.66	95.3	10.5	97.0	8.89	89.2	8.63	105	1023
	6	9.05	98.7	10.3	102	8.18	86.8	8.39	94.0	942
平均值 \bar{x}_6 (μg/L)		9.16	92.9	10.2	99.1	8.85	85.0	8.46	99.7	994
标准偏差 S_6 (μg/L)		0.47	4.0	0.39	3.84	0.40	2.45	0.21	4.86	3.82
相对标准偏差 RSD_6 (%)		5.1	4.3	1.6	3.9	4.5	2.9	2.4	4.9	3.8
注：6 为实验室编号										

A.1.4 方法准确度测试数据

选择地表水、地下水、生活污水、工业废水（总排口）、工业废水（车间排口）的实际水样，经全过程分析平行测定 6 次取其平均值作为样品原始浓度，再进行加标分析测试。地表水、地下水、生活污水、工业废水（车间排口）的加标浓度分别为 10 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ ，工业废水（总排口）的加标浓度分别为 10 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、1000 $\mu\text{g/L}$ ，每种样品平行测定 6 次，计算平均值和加标回收率。

表 A1-16 准确度测试数据

验证单位： 1

测试日期： 2018-3-29

地表水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	10.6	ND	98.0
	2	ND	10.5	ND	104
	3	ND	10.9	ND	102
	4	ND	10.5	ND	101
	5	ND	10.7	ND	103
	6	ND	10.2	ND	96.4
平均值 \bar{x}_1, \bar{y}_1 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.5	ND	101
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_1 (%)		105		101	
地下水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	10.1	ND	92.2
	2	ND	9.75	ND	91.3
	3	ND	9.35	ND	94.8
	4	ND	9.70	ND	93.5
	5	ND	10.2	ND	92.9
	6	ND	9.59	ND	92.4
平均值 \bar{x}_1, \bar{y}_1 ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.77	ND	92.9
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_1 (%)		97.7		92.9	
生活污水					

平行号		样品 1		样品 2			
		样品	加标样品	样品	加标样品		
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	11.2	ND	86.1		
	2	ND	11.0	ND	90.8		
	3	ND	9.40	ND	90.9		
	4	ND	9.63	ND	92.0		
	5	ND	10.5	ND	92.1		
	6	ND	9.62	ND	93.2		
平均值 \bar{x}_1, \bar{y}_1 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.2	ND	90.9		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_1 (%)		102		90.9			
工业废水 (总排口)							
平行号		样品 1		样品 2		样品 3	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	9.44	ND	90.9	ND	941
	2	ND	10.2	ND	91.3	ND	928
	3	ND	10.3	ND	90.4	ND	929
	4	ND	10.2	ND	91.5	ND	909
	5	ND	9.78	ND	98.8	ND	875
	6	ND	10.2	ND	90.8	ND	881
平均值 \bar{x}_1, \bar{y}_1 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.0	ND	92.3	ND	910
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100		1000	
加标回收率 P_1 (%)		100		92.3		91.0	
工业废水 (车间排口)							
平行号		样品 1		样品 2			
		样品	加标样品	样品	加标样品		
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	14.4	23.8	14.4	111		
	2	14.5	22.8	14.5	112		
	3	14.4	22.4	14.4	111		
	4	14.5	22.9	14.5	111		
	5	14.5	23.5	14.5	109		
	6	14.2	23.2	14.2	110		
平均值 \bar{x}_1, \bar{y}_1 ($\mu\text{g/L}$)		14.4	23.1	14.4	111		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			

加标回收率 P_1 (%)	87.0	96.6
注: \bar{x}_1 为实际样品测试均值, \bar{y}_1 为加标样品测试均值 1 为实验室编号		

表 A1-17 准确度测试数据

验证单位: 2

测试日期: 2018-4-4

地表水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	8.78	ND	93.4
	2	ND	8.45	ND	91.1
	3	ND	10.8	ND	103
	4	ND	8.87	ND	86.1
	5	ND	9.20	ND	88.6
	6	ND	9.32	ND	103
平均值 \bar{x}_2, \bar{y}_2 ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.23	ND	94.3
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_2 (%)		92.3		94.3	
地下水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	9.21	ND	103
	2	ND	10.0	ND	103
	3	ND	11.2	ND	104
	4	ND	8.49	ND	98.1
	5	ND	9.79	ND	107
	6	ND	10.6	ND	105
平均值 \bar{x}_2, \bar{y}_2 ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.89	ND	104
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_2 (%)		98.9		104	
生活污水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
	1	ND	9.21	ND	110

测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	2	ND	8.61	ND	98.0		
	3	ND	9.91	ND	96.4		
	4	ND	9.21	ND	94.3		
	5	ND	10.2	ND	93.4		
	6	ND	10.2	ND	109		
平均值 \bar{x}_2, \bar{y}_2 ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.56	ND	100		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_2 (%)		95.6		100			
工业废水 (总排口)							
平行号		样品 1		样品 2		样品 3	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	10.3	ND	101	ND	829
	2	ND	9.09	ND	91.0	ND	919
	3	ND	8.89	ND	91.3	ND	942
	4	ND	9.74	ND	89.9	ND	1006
	5	ND	10.2	ND	104	ND	803
	6	ND	8.53	ND	96.2	ND	881
平均值 \bar{x}_2, \bar{y}_2 ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.47	ND	95.5	ND	897
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100		1000	
加标回收率 P_2 (%)		94.7		95.5		89.7	
工业废水 (车间排口)							
平行号		样品 1		样品 2			
		样品	加标样品	样品	加标样品		
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	14.4	25.2	14.4	97.5		
	2	15.0	25.0	15.0	99.4		
	3	13.1	25.8	13.1	105		
	4	13.2	23.3	13.2	104		
	5	14.3	22.9	14.3	116		
	6	11.3	24.2	11.3	99.9		
平均值 \bar{x}_2, \bar{y}_2 ($\mu\text{g/L}$)		13.6	24.4	13.6	104		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_2 (%)		108		90.4			
注: \bar{x}_2 为实际样品测试均值, \bar{y}_2 为加标样品测试均值 2 为实验室编号							

表 A1-18 准确度测试数据

验证单位: 3

测试日期: 2018-4-9

地表水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	8.04	ND	94.4
	2	ND	8.76	ND	90.7
	3	ND	10.3	ND	102
	4	ND	9.89	ND	88.1
	5	ND	8.65	ND	84.5
	6	ND	9.28	ND	105
平均值 \bar{x}_3, \bar{y}_3 ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.15	ND	94.0
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_3 (%)		91.5		94.0	
地下水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	8.43	ND	101
	2	ND	9.26	ND	98.4
	3	ND	8.55	ND	95.5
	4	ND	8.73	ND	103
	5	ND	9.31	ND	98.0
	6	ND	9.35	ND	104
平均值 \bar{x}_3, \bar{y}_3 ($\mu\text{g/L}$)		ND	8.94	ND	99.9
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_3 (%)		89.4		99.9	
生活污水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	9.12	ND	109
	2	ND	8.79	ND	101
	3	ND	9.99	ND	97.8
	4	ND	8.93	ND	97.7

	5	ND	9.8	ND	93.0		
	6	ND	10.0	ND	102		
平均值 \bar{x}_3, \bar{y}_3 ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.44	ND	100		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_3 (%)		94.4		100			
工业废水（总排口）							
平行号		样品 1		样品 2		样品 3	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	10.1	ND	99.0	ND	858
	2	ND	9.46	ND	93.2	ND	911
	3	ND	9.12	ND	94.4	ND	1010
	4	ND	9.11	ND	98.4	ND	988
	5	ND	8.8	ND	102	ND	823
	6	ND	9.44	ND	101	ND	965
平均值 \bar{x}_3, \bar{y}_3 ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.30	ND	97.8	ND	926
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100		1000	
加标回收率 P_3 (%)		93.0		97.8		92.6	
工业废水（车间排口）							
平行号		样品 1		样品 2			
		样品	加标样品	样品	加标样品		
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	14.6	25.5	14.6	98.5		
	2	14.4	25.3	14.4	101		
	3	12.9	26.1	12.9	106		
	4	15.4	23.6	15.4	105		
	5	14.5	23.2	14.5	103		
	6	14.2	24.5	14.2	101		
平均值 \bar{x}_3, \bar{y}_3 ($\mu\text{g/L}$)		14.3	24.7	14.3	102		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_3 (%)		104		87.7			
注: \bar{x}_3 为实际样品测试均值, \bar{y}_3 为加标样品测试均值 3 为实验室编号							

表 A1-19 准确度测试数据

验证单位: 4

测试日期: 2018年4月18日

地表水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	10.5	ND	109
	2	ND	10.9	ND	105
	3	ND	10.6	ND	108
	4	ND	10.4	ND	108
	5	ND	10.2	ND	113
	6	ND	10.5	ND	112
平均值 \bar{x}_4, \bar{y}_4 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.5	ND	109
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_4 (%)		105		109	
地下水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	9.94	ND	111
	2	ND	10.9	ND	104
	3	ND	9.92	ND	109
	4	ND	10.8	ND	104
	5	ND	10.3	ND	112
	6	ND	10.0	ND	103
平均值 \bar{x}_4, \bar{y}_4 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.3	ND	107
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_4 (%)		103		107	
生活污水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	10.9	ND	118
	2	ND	10.3	ND	106
	3	ND	9.35	ND	108
	4	ND	10.3	ND	97.5

	5	ND	9.22	ND	113		
	6	ND	10.3	ND	104		
平均值 \bar{x}_4, \bar{y}_4 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.1	ND	108		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_4 (%)		101		108			
工业废水（总排口）							
平行号		样品 1		样品 2		样品 3	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	11.9	ND	114	ND	1132
	2	ND	9.57	ND	103	ND	1097
	3	ND	9.49	ND	115	ND	1040
	4	ND	10.7	ND	102	ND	1071
	5	ND	9.48	ND	109	ND	1161
	6	ND	9.83	ND	93.1	ND	1128
平均值 \bar{x}_4, \bar{y}_4 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.1	ND	106	ND	1105
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100		1000	
加标回收率 P_4 (%)		101		106		111	
工业废水（车间排口）							
平行号		样品 1		样品 2			
		样品	加标样品	样品	加标样品		
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	16.9	27.0	16.9	127		
	2	16.7	26.3	16.7	117		
	3	17.7	27.2	17.7	125		
	4	17.2	24.2	17.2	122		
	5	16.0	25.7	16.0	124		
	6	17.0	25.9	17.0	128		
平均值 \bar{x}_4, \bar{y}_4 ($\mu\text{g/L}$)		16.9	26.1	16.9	124		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_4 (%)		92.0		107			
注: \bar{x}_4 为实际样品测试均值, \bar{y}_4 为加标样品测试均值 4 为实验室编号							

表 A1-20 准确度测试数据

验证单位： 5

测试日期： 2018年4月20日

地表水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	9.75	ND	97.8
	2	ND	9.54	ND	100
	3	ND	9.79	ND	104
	4	ND	9.56	ND	99.3
	5	ND	9.87	ND	104
	6	ND	10.2	ND	102
平均值 \bar{x}_5, \bar{y}_5 ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.79	ND	101
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_5 (%)		97.9		101	
地下水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	10.5	ND	102
	2	ND	10.4	ND	98.5
	3	ND	10.6	ND	97.2
	4	ND	9.55	ND	100
	5	ND	9.93	ND	96.3
	6	ND	10.0	ND	103
平均值 \bar{x}_5, \bar{y}_5 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.2	ND	99.4
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_5 (%)		102		99.4	
生活污水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	10.9	ND	101
	2	ND	10.3	ND	104
	3	ND	10.7	ND	103
	4	ND	10.0	ND	103

	5	ND	10.3	ND	104		
	6	ND	10.7	ND	96.9		
平均值 \bar{x}_5, \bar{y}_5 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.5	ND	102		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_5 (%)		105		102			
工业废水（总排口）							
平行号		样品 1		样品 2		样品 3	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	10.8	ND	102	ND	1030
	2	ND	10.6	ND	98.6	ND	1012
	3	ND	10.7	ND	106	ND	1050
	4	ND	10.6	ND	101	ND	1045
	5	ND	10.4	ND	106	ND	1042
	6	ND	9.94	ND	95.4	ND	1061
平均值 \bar{x}_5, \bar{y}_5 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.5	ND	101	ND	1040
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100		1000	
加标回收率 P_5 (%)		105		101		104	
工业废水（车间排口）							
平行号		样品 1		样品 2			
		样品	加标样品	样品	加标样品		
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	13.7	24.6	13.7	114		
	2	13.7	23.0	13.7	114		
	3	14.2	23.6	14.2	114		
	4	14.2	24.3	14.2	105		
	5	13.9	23.9	13.9	107		
	6	13.4	23.6	13.4	112		
平均值 \bar{x}_5, \bar{y}_5 ($\mu\text{g/L}$)		13.9	23.8	13.9	111		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_5 (%)		99.0		97.1			
注: \bar{x}_5 为实际样品测试均值, \bar{y}_5 为加标样品测试均值 5 为实验室编号							

表 A1-21 准确度测试数据

验证单位: 6测试日期: 2018年4月23日

地表水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	9.19	ND	94.5
	2	ND	8.73	ND	88.6
	3	ND	9.93	ND	91.4
	4	ND	9.40	ND	88.8
	5	ND	8.66	ND	95.3
	6	ND	9.05	ND	98.7
平均值 \bar{x}_6, \bar{y}_6 ($\mu\text{g/L}$)		ND	9.16	ND	92.9
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_6 (%)		91.6		92.9	
地下水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	10.7	ND	100
	2	ND	9.71	ND	104
	3	ND	9.86	ND	93.9
	4	ND	9.93	ND	97.0
	5	ND	10.5	ND	97.0
	6	ND	10.3	ND	102
平均值 \bar{x}_6, \bar{y}_6 ($\mu\text{g/L}$)		ND	10.2	ND	99.1
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100	
加标回收率 P_6 (%)		102		99.1	
生活污水					
平行号		样品 1		样品 2	
		样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	9.26	ND	82.9
	2	ND	8.99	ND	83.2
	3	ND	8.62	ND	83.8
	4	ND	9.17	ND	84.3

	5	ND	8.89	ND	89.2		
	6	ND	8.18	ND	86.8		
平均值 \bar{x}_6, \bar{y}_6 ($\mu\text{g/L}$)		ND	8.85	ND	85.0		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_6 (%)		88.5		85.0			
工业废水（总排口）							
平行号		样品 1		样品 2		样品 3	
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	8.20	ND	101	ND	1043
	2	ND	8.57	ND	105	ND	1011
	3	ND	8.70	ND	94.2	ND	965
	4	ND	8.27	ND	99.3	ND	979
	5	ND	8.63	ND	105	ND	1023
	6	ND	8.39	ND	94.0	ND	942
平均值 \bar{x}_6, \bar{y}_6 ($\mu\text{g/L}$)		ND	8.46	ND	99.7	ND	994
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100		1000	
加标回收率 P_6 (%)		84.6		99.7		99.4	
工业废水（车间排口）							
平行号		样品 1		样品 2			
		样品	加标样品	样品	加标样品		
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	13.6	22.8	13.6	112		
	2	14.1	23.5	14.1	112		
	3	14.2	23.2	14.2	106		
	4	13.7	25.0	13.7	108		
	5	14.6	23.0	14.6	106		
	6	14.0	24.0	14.0	116		
平均值 \bar{x}_6, \bar{y}_6 ($\mu\text{g/L}$)		14.0	23.6	14.0	110		
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		10		100			
加标回收率 P_6 (%)		96.0		96.0			
注: \bar{x}_6 为实际样品测试均值, \bar{y}_6 为加标样品测试均值 6 为实验室编号							

A.2 方法验证数据汇总（以下结果均按照 GB/T 6379.6-2009 进行了异常数据的剔除）

A.2.1 方法检出限、测定下限数据汇总

表 A2-1 方法检出限、测定下限数据汇总表

实验室编号	检出限（ $\mu\text{g/L}$ ）	测定下限（ $\mu\text{g/L}$ ）
1	1.15	4.60
2	1.69	6.76
3	1.41	5.64
4	1.16	4.64
5	1.17	4.68
6	1.40	5.60

结论：6家实验室测定方法检出限的最大值为 $1.69\mu\text{g/L}$ ，测定下限为 $6.76\mu\text{g/L}$ ，考虑到不同实验室的检测能力水平有所差异，需适当放宽检测要求。因此，确定高效液相色谱法测定水质草甘膦的方法检出限为 $2.0\mu\text{g/L}$ ，测定下限为 $8.0\mu\text{g/L}$ 。

A.2.2 实际样品原始浓度汇总

表 A2-2 实际样品原始浓度汇总表

单位： $\mu\text{g/L}$

实验室编号	地表水	地下水	生活污水	工业废水（总排口）	工业废水（车间排口）
1	ND	ND	ND	ND	14.4
2	ND	ND	ND	ND	13.6
3	ND	ND	ND	ND	14.3
4	ND	ND	ND	ND	16.9
5	ND	ND	ND	ND	13.9
6	ND	ND	ND	ND	14.0
平均值	ND	ND	ND	ND	14.5

结论：6家实验室对编制组统一提供的地表水、地下水、生活污水、工业废水（总排口）、工业废水（车间排口）的实际水样分别进行了分析测定。结果表明，地表水、地下水、生活污水、工业废水（总排口）中的草甘膦含量均低于检出限，工业废水（车间排口）中的草甘膦含量为 $14.5\mu\text{g/L}$ 。

A.2.3 方法精密度测试数据汇总

表 A2-3 精密度测试数据汇总表

单位: $\mu\text{g/L}$

实验 室号	地表水						地下水						生活污水						工业废水（总排口）										
	10 $\mu\text{g/L}$			100 $\mu\text{g/L}$			10 $\mu\text{g/L}$			100 $\mu\text{g/L}$			10 $\mu\text{g/L}$			100 $\mu\text{g/L}$			10 $\mu\text{g/L}$			100 $\mu\text{g/L}$			1000 $\mu\text{g/L}$				
	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i
1	10.5	0.23	2.2	101	2.87	2.9	9.77	0.31	3.2	92.9	1.19	1.3	10.2	0.78	7.6	90.9	2.48	2.7	10.0	0.35	3.4	92.3	3.19	3.5	910	27.2	3.0		
2	9.23	0.82	8.8	94.3	7.3	7.8	9.89	0.98	9.9	104	3.00	2.9	9.56	0.64	6.7	100	7.5	7.5	9.47	0.74	7.9	95.5	5.7	6.0	897	7.4	8.4		
3	9.15	0.84	9.1	94.0	7.88	8.4	8.94	0.42	4.6	99.9	3.24	3.3	9.44	0.56	5.9	100	5.30	5.3	9.30	0.45	4.9	97.8	3.37	3.4	926	7.5	8.1		
4	10.5	0.22	2.1	109	2.9	2.6	10.3	0.46	4.5	107	3.8	3.6	10.1	0.64	6.4	108	7.2	6.6	10.1	0.96	9.5	106	8.30	7.8	1105	4.45	4.0		
5	9.79	0.26	2.6	101	2.46	2.4	10.2	0.40	4.0	99.4	2.59	2.6	10.5	0.34	3.3	102	2.72	2.7	10.5	0.30	2.9	101	4.1	4.0	1040	1.70	1.7		
6	9.16	0.47	5.1	92.9	4.0	4.3	10.2	0.39	1.6	99.1	3.84	3.9	8.85	0.40	4.5	85.0	2.45	2.9	8.46	0.21	2.4	99.7	4.86	4.9	994	3.82	3.8		
\bar{x}	9.72			98.7			9.88			100			9.78			97.7			9.64			98.7			979				
S'	0.65			6.19			0.51			4.81			0.60			8.28			0.72			4.72			82.6				
RSD' (%)	6.7			6.3			5.1			4.8			6.2			8.5			7.5			4.8			8.4				
重复 性限 r	1.5			14.2			1.5			8.6			1.6			14.3			1.6			14.6			34.1				
再现 性限 R	2.5			7.8			2.4			6.6			2.5			8.6			2.6			7.3			25.6				

结论：6家实验室对草甘膦加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 和100 $\mu\text{g/L}$ 的地表水样品进行精密度测定，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1.5 $\mu\text{g/L}$ 、14.2 $\mu\text{g/L}$ ，再现性限分别为2.5 $\mu\text{g/L}$ 、7.8 $\mu\text{g/L}$ 。

6家实验室对草甘膦加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 和100 $\mu\text{g/L}$ 的地下水样品进行精密度测定，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5.1%、4.8%；重复性限分别为1.5 $\mu\text{g/L}$ 、8.6 $\mu\text{g/L}$ ，再现性限分别为2.4 $\mu\text{g/L}$ 、6.6 $\mu\text{g/L}$ 。

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精密度测定，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1.6 $\mu\text{g/L}$ 、14.3 $\mu\text{g/L}$ ，再现性限分别为2.5 $\mu\text{g/L}$ 、8.6 $\mu\text{g/L}$ 。

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）样品进行精密度测定，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 1.6 μg/L、14.6 μg/L、34.1 μg/L，再现性限分别为 2.6 μg/L、7.3 μg/L、25.6 μg/L。

A.2.4 方法准确度测试数据汇总

表 A2-4 实际样品加标测试数据汇总表

单位：μg/L

实验室号	地表水		地下水		生活污水		工业废水（总排口）			工业废水（车间排口）	
	10 μg/L	100 μg/L	1000 μg/L	10 μg/L	100 μg/L						
	P_i (%)	P_i (%)									
1	105	101	97.7	92.9	102	90.9	100	92.3	91.0	87.0	96.6
2	92.3	94.3	98.9	104	95.6	100	94.7	95.5	89.7	108	90.4
3	91.5	94.0	89.4	99.9	94.4	100	93.0	97.8	92.6	104	87.7
4	105	109	103	107	101	108	101	106	111	92.0	107
5	97.9	101	102	99.4	105	102	105	101	104	99.0	97.1
6	91.6	92.9	102	99.1	88.5	85.0	84.6	99.7	99.4	96.0	96.0
\bar{P} (%)	97.2	98.7	98.8	100	97.8	97.7	96.4	98.7	98.0	97.7	95.8
$s_{\bar{P}}$ (%)	6.5	6.2	5.1	4.8	6.0	8.3	7.2	4.7	8.4	7.7	6.7

结论：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%~105%、92.9%~109%，加标回收率最终值为 97.2%±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%，加标回收率最终值为 98.8%±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%，加标回收率最终值为 97.8%±12.0%、97.7%±16.6%。

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μg/L、100 μg/L、1000 μg/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%±14.4%、98.7%±9.4%、98.0%±16.8%。

6 家实验室对草甘膦浓度为 14.5μg/L 的工业废水（车间排口）分别加标 10μg/L、100μg/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%。

A.3 方法验证结论

A.3.1 验证过程中异常值的解释、更正或剔除的情况及理由。

异常值的检验和处理按照 GB/T 6379.6-2009 标准进行。

A.3.2 方法特性指标的描述

(1) 检出限

当进样量为 20 μ l 时，方法的检出限为 2.0 μ g/L，测定下限为 8.0 μ g/L。

(2) 精密度

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μ g/L 和 100 μ g/L 的地表水样品进行精密度测定，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 1.5 μ g/L、14.2 μ g/L，再现性限分别为 2.5 μ g/L、7.8 μ g/L。

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μ g/L 和 100 μ g/L 的地下水样品进行精密度测定，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 5.1%、4.8%；重复性限分别为 1.5 μ g/L、8.6 μ g/L，再现性限分别为 2.4 μ g/L、6.6 μ g/L。

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μ g/L 和 100 μ g/L 的生活污水样品进行精密度测定，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 1.6 μ g/L、14.3 μ g/L，再现性限分别为 2.5 μ g/L、8.6 μ g/L。

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μ g/L、100 μ g/L、1000 μ g/L 的工业废水（总排口）样品进行精密度测定，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 1.6 μ g/L、14.6 μ g/L、34.1 μ g/L，再现性限分别为 2.6 μ g/L、7.3 μ g/L、25.6 μ g/L。

(3) 准确度

6 家实验室对草甘膦加标浓度为 10 μ g/L 和 100 μ 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 μ g/L 和 100 μ 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 μ g/L 和 100 μ 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% \pm 15.4%、95.8% \pm 13.4%。