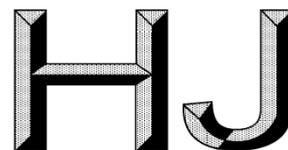


附件 6



中华人民共和国国家环境保护标准

HJ □□□-201□

土壤和沉积物 草甘膦的测定 高效液相色谱法

Soil and sediment — Determination of glyphosate

— High performance liquid chromatography

(征求意见稿)

201□-□□-□□发布

201□-□□-□□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 试剂和材料.....	1
5 仪器和设备.....	2
6 样品.....	3
7 分析步骤.....	4
8 结果计算与表示.....	5
9 精密度和准确度.....	6
10 质量保证和质量控制.....	6
11 废物处理.....	7

前 言

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》，保护生态环境，保障人体健康，规范土壤和沉积物中草甘膦的测定方法，制定本标准。

本标准规定了测定土壤和沉积物中草甘膦的高效液相色谱法。

本标准首次发布。

本标准由环境监测司、科技标准司组织制订。

本标准起草单位：环境保护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、南京市环境监测中心站、常州市环境监测中心站、镇江市环境监测中心站、呼伦贝尔市环境监测中心站、南宁市环境保护监测站。

本标准生态环境部20□□年□□月□□日批准。

本标准自20□□年□□月□□日起实施。

本标准由生态环境部解释。

土壤和沉积物 草甘膦的测定 高效液相色谱法

警告：实验中所使用的溶剂及标准溶液均为有毒有害物质，溶液配制和试样的制备应在通风橱内进行，操作时应按要求佩戴防护器具，避免接触皮肤和衣物。

1 适用范围

本标准规定了测定土壤和沉积物中草甘膦的高效液相色谱法。

本标准适用于土壤和沉积物中草甘膦的测定。

当取样量为 10.0 g 时，本标准方法测定草甘膦的方法检出限为 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，测定下限为 44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

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。

GB 17378.3 海洋监测规范 第 3 部分：样品采集、贮存和运输

GB 17378.5 海洋监测规范 第 5 部分：沉积物分析

HJ 494 水质采样技术指导

HJ 495 水质采样方案设计技术规定

HJ 613 土壤 干物质和水分的测定 重量法

HJ/T 91 地表水和污水监测技术规范

HJ/T 166 土壤环境监测技术规范

3 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，水相经 9-芴甲基氯甲酸酯衍生化后，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。

4 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。

4.1 乙腈 (CH_3CN)：液相色谱纯。

4.2 正己烷 (C_6H_{14})。

4.3 盐酸 (HCl)： $\rho(\text{HCl})=1.19\text{ g/ml}$ 。

4.4 盐酸溶液：1+1。

盐酸（4.3）和去离子水按 1:1 的体积比混合。

4.5 磷酸 (H_3PO_4) : $\rho (\text{H}_3\text{PO}_4) = 85.0\%$ 。

4.6 磷酸溶液: $\rho (\text{H}_3\text{PO}_4) = 0.2\%$ 。

准确量取 2.35 ml 磷酸 (4.5) 于 1 L 容量瓶中, 用去离子水定容至刻度, 摇匀, 现配现用。

4.7 十二水合磷酸钠 ($\text{Na}_3\text{PO}_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 。

4.8 二水合柠檬酸钠 ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 。

4.9 磷酸钠和柠檬酸钠混合提取液: $c (\text{Na}_3\text{PO}_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}) = 0.03 \text{ mol/L}$, $c (\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = 0.01 \text{ mol/L}$ 。

准确称取十二水合磷酸钠 (4.7) 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。

4.10 十水合四硼酸钠 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 。

4.11 四硼酸钠溶液: $c (\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}) = 0.05 \text{ mol/L}$ 。

准确称取十水合四硼酸钠 (4.10) 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。

4.12 9-芴甲基氯甲酸酯 ($\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_2$, Fmoc-Cl) : 纯度不低于 99%, 4°C 以下冷藏、避光保存。

4.13 Fmoc-Cl 溶液: $\rho (\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_2) = 1.0 \text{ mg/ml}$ 。

准确称取 50.0 mg (精确到 0.1 mg) Fmoc-Cl (4.12), 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°C 以下冷藏保存。

4.14 草甘膦标准贮备液: $\rho (\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}) = 100 \text{ mg/L}$ 。

可直接使用市售有证标准溶液, 也可用标准物质配制。

4.15 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 1.0 ml 草甘膦标准贮备液 (4.14) 于 10 ml 容量瓶中, 用去离子水稀释并定容至刻度, 摇匀, 转移至密实瓶中于 4°C 下冷藏保存。

4.16 石英砂: 粒径 0.7~0.3 mm。

4.17 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。

4.18 滤纸。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱仪: 配备荧光检测器, 具有梯度洗脱功能。

5.2 色谱柱: 十八烷基键合硅胶反相色谱柱, 柱长 25 cm, 内径 4.6 mm, 或其它等效色谱柱。

5.3 离心管: 聚丙烯 (PP) 材质, 50 ml。

5.4 超声波清洗器。

5.5 高速离心机: 转速范围 8000~12000 r/min。

5.6 分析天平: 精度为 0.1 mg。

5.7 一般实验室常用仪器和设备。

6 样品

6.1 样品采集和保存

按照HJ/T 166的相关要求采集和保存土壤样品，按照GB 17378.3、GB 17378.5、HJ 494 HJ、495及 HJ/T 91的要求采集和保存沉积物样品。

样品采集好后于4℃以下冷藏、避光和密封保存，土壤样品在7 d内完成前处理；沉积物样品应在3天内完成前处理。

6.2 样品的制备

土壤样品：称取两份约10 g（精确到0.01g）的样品，一份用于测定干物质含量，另一份直接用于目标物草甘膦的测定。

沉积物样品：先以10000 r/min的速度离心10 min去除间隙水，再称取两份约10 g（精确到0.01g）的样品，一份用于测定含水率，另一份直接用于目标物草甘膦的测定。

6.3 水分的测定

土壤样品干物质含量的测定按照HJ 613进行测定，沉积物样品含水率的测定按照GB 17378.5进行测定。

6.4 试样的制备

6.4.1 提取方法

将样品（6.2）全部转移至50 ml离心管中，加入50 ml 磷酸钠和柠檬酸钠混合提取液（4.9），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。

6.4.2 净化方法

先用盐酸溶液（4.4）调节溶液pH值至9，静置10 min后用滤纸过滤，加入50 ml 正己烷（4.2），充分振荡后静置，弃有机相留水相，用50 ml 正己烷（4.2）再萃取一次，取1 ml水溶液待衍生化。

6.4.3 衍生化方法

取1 ml 水溶液（6.4.2）于1.5 ml 聚乙烯塑料管中，加入0.12 ml 四硼酸钠溶液（4.11），0.2 ml FMOC-Cl乙腈溶液（4.13），涡旋使充分混匀，常温下衍生4 h，经0.22 μm滤膜（4.17）过滤后待测。

6.5 空白试样的制备

用石英砂（4.16）代替样品，按照与试样的制备（6.4）相同的步骤进行实验室空白试样的制备。

7 分析步骤

7.1 测量条件

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 1。

流速: 1.0 ml/min。

柱温: 35℃。

进样量: 20 μ l。

荧光条件: 激发波长: 254 nm; 发射波长: 301 nm。

表 1 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

7.2 工作曲线的建立

吸取不同体积的标准使用液 (4.15), 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 μ g/L、20.0 μ g/L、50.0 μ g/L、100 μ g/L、200 μ g/L、500 μ g/L (参考浓度)。按6.4.3步骤进行衍生化, 待测。

按照仪器测量参考条件 (7.1), 浓度由低到高依次进样, 以草甘膦浓度为横坐标, 以峰面积 (峰高) 为纵坐标, 建立工作曲线。草甘膦的参考色谱图见图 1。

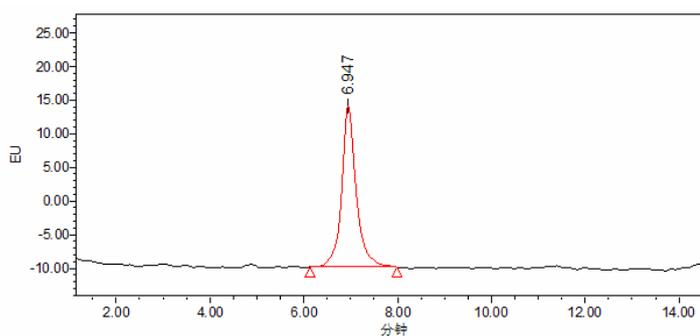


图 1 草甘膦参考色谱图

7.3 试样测定

按照与绘制工作曲线相同条件 (7.2) 进行试样 (6.4) 的测定。

7.4 空白试验

按照与试样测定相同条件（7.2）进行空白试样（6.5）的测定。

8 结果计算与表示

8.1 定性分析

根据样品中目标化合物的保留时间（RT）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±5%以内。必要时可采用样品中添加目标化合物的方法辅助定性。

8.2 结果计算

8.2.1 含水量计算

新鲜土壤样品的含水量，按照公式（1）进行计算：

$$V_s = \frac{m \times (1 - W_{dm})}{\rho_{H_2O}} \quad (1)$$

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} ——20℃下水的密度，g/ml。

8.2.2 土壤样品中的结果计算

土壤样品中草甘膦的浓度（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）按照公式（2）进行计算：

$$w_1 = \frac{\rho_1 \times (V_s + V_1)}{m_1 \times W_{dm}} \quad (2)$$

式中： w_1 ——土壤样品中目标的浓度， $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；

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

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，%。

8.2.3 沉积物样品中的结果计算

沉积物样品中草甘膦的浓度（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ），按照公式（3）进行计算：

$$w_2 = \frac{\rho_2 \times \left(\frac{m_2 \times W_{H_2O}}{\rho_{H_2O}} + V_2 \right)}{m_2 \times (1 - W_{H_2O})} \quad (3)$$

式中： w_2 ——沉积物样品中草甘膦的浓度， $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；

ρ_2 ——由工作曲线计算所得草甘膦的浓度， $\mu\text{g}/\text{L}$ ；

m_2 ——样品质量（湿重）， g ；

W_{H_2O} ——沉积物样品的含水率， $\%$ ；

ρ_{H_2O} —— 20°C 下水的密度， g/ml ；

V_2 ——提取液体积， ml 。

8.3 结果表示

当测定结果小于 $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时，保留至整数位；当测定结果大于等于 $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时，保留三位有效数字。

9 精密度和准确度

9.1 精密度

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

9.2 准确度

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

10 质量保证和质量控制

10.1 空白试验

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。

10.2 校准

初次使用仪器或在仪器维修、更换色谱柱或连续校准不合格时，应绘制工作曲线，相关系数应 ≥ 0.995 。每20个样品或每批次样品（少于20个样品）应使用工作曲线中间浓度点进行连续校准，其测定结果与该点浓度的相对偏差应 $\leq 20\%$ 。

10.3 平行样

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 $\leq 20\%$ 。

10.4 基体加标

每20个样品或每批次（少于20个样品/批）应做1个基体加标，加标回收率范围应在60%~120%之间。

11 废物处理

实验中产生的废液应分类收集，做好相应标识，并委托有资质的单位进行处理。
