

中华人民共和国国家环境保护标准

HJ 1055-2019

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**

(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。

2019-10-24 发布

2020-04-24 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.....	7
11 废物处理.....	7
附录 A（资料性附录）方法的精密度和准确度.....	8

前 言

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》和《中华人民共和国土壤污染防治法》，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。

本标准为首次发布。

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、江苏省南京环境监测中心、江苏省常州环境监测中心、江苏省镇江环境监测中心、呼伦贝尔市环境监测中心站、广西壮族自治区南宁生态环境监测中心。

本标准生态环境部2019年10月24日批准。

本标准自2020年4月24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 g（干重）时，本方法检出限为 0.02 mg/kg，测定下限为 0.08 mg/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（Glyphosate）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经正己烷萃取净化，水相用 9-芴甲基氯甲酸酯（FMOC-Cl）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（Glyphosate-FMOC），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，实验用水为新鲜制备的蒸馏水或不含目标化合物的纯水。

4.1 乙腈（CH₃CN）：液相色谱纯。

4.2 正己烷（C₆H₁₄）。

4.3 盐酸（HCl）： ρ （HCl）=1.19 g/ml。

4.4 盐酸溶液：1+1。

盐酸（4.3）和水按 1:1 的体积比混合。

- 4.5 磷酸 (H_3PO_4) : $\varphi(\text{H}_3\text{PO}_4) = 85.0\%$ 。
- 4.6 磷酸溶液: $\varphi(\text{H}_3\text{PO}_4) = 0.2\%$ 。
准确量取 2.35 ml 磷酸 (4.5) 于 1 L 容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀, 临用现配。
- 4.7 十二水合磷酸钠 ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 。
- 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: $c(\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}) = 0.03 \text{ mol/L}$, $c(\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = 0.01 \text{ mol/L}$ 。
准确称取 11.40 g (精确到 0.01 g) 十二水合磷酸钠 (4.7) 和 2.94 g (精确到 0.01 g) 二水合柠檬酸三钠 (4.8), 用水溶解并定容至 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 1.91 g (精确到 0.01 g) 十水合四硼酸钠 (4.10), 用水溶解并定容至 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℃ 以下冷藏、避光保存。
- 4.13 9-芴甲基氯甲酸酯溶液: $\rho(\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_2) = 1.0 \text{ mg/ml}$ 。
准确称取 50.0 mg (精确到 0.1 mg) 9-芴甲基氯甲酸酯 (4.12), 用乙腈 (4.1) 溶解并定容至 50 ml 容量瓶, 摇匀, 转移至密实瓶中于 4℃ 以下冷藏、避光保存。
- 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。准确称取 10.0 mg (精确到 0.1 mg) 草甘膦标准物质, 用水溶解并定容至 100 ml 容量瓶, 摇匀, 转移至密实瓶中于 4℃ 以下冷藏保存, 保存时间为 2 个月。
- 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, 保存期为 2 个月。
- 4.16 石英砂: 粒径 0.7~0.3 mm (25~50 目) 。
- 4.17 针式过滤器: 0.22 μm , 滤膜材质为聚四氟乙烯或其它等效材质。
- 4.18 滤纸: 中速滤纸, 棉质纤维材质。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱仪: 具有梯度洗脱功能, 柱温箱温度可控, 配备荧光检测器。
- 5.2 色谱柱: 填料为十八烷基硅烷键合硅胶, 粒径 5 μm , 柱长 250 mm, 内径 4.6 mm 的色谱柱或其他等效色谱柱。
- 5.3 离心管: 聚丙烯 (PP) 材质, 50 ml。
- 5.4 超声波清洗器: 超声功率 500~700 W。
- 5.5 高速离心机: 转速范围 8000~12000 r/min。
- 5.6 分析天平: 感量为 0.1 mg。
- 5.7 混匀仪。

5.8 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。

样品于4℃以下密封、避光、冷藏运输和保存。土壤样品应在7 d内完成前处理，沉积物样品应在3 d内完成前处理。

6.2 样品的制备

土壤样品：称取两份新鲜样品，一份样品用于测定干物质含量，另一份样品（干物质含量应大于10 g）用于目标物草甘膦的测定。

沉积物样品：用高速离心机（5.5）离心10 min去除间隙水后，再称取两份新鲜样品，一份样品用于测定含水率，另一份样品（干物质含量应大于10 g）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按照HJ 613进行测定，沉积物样品含水率按照GB 17378.5进行测定。

6.4 试样的制备

6.4.1 提取

将样品（6.2）全部转移至50 ml离心管中，加入50.0 ml 磷酸钠和柠檬酸钠混合提取液（4.9），超声提取30 min，用高速离心机（5.5）离心5 min，取上清液用滤纸（4.18）过滤，待净化。

6.4.2 净化

提取液（6.4.1）先用盐酸溶液（4.4）调节pH值至9，静置10 min后用滤纸（4.18）过滤，加入50 ml 正己烷（4.2），充分振荡后静置，弃去有机相，水相用50 ml 正己烷（4.2）再萃取一次。

6.4.3 衍生化

取1.00 ml 净化后的水溶液（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）和0.2 ml 9-芴甲基氯甲酸酯溶液（4.13），在常温下用混匀仪（5.7）衍生4 h，用针式过滤器（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）相同的步骤进行空白试样的制备。

7 分析步骤

7.1 测量参考条件

流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 磷酸溶液 (4.6), 梯度洗脱程序见表 1。

流速: 1.0 ml/min。

柱温: 35℃。

进样量: 20 μ l。

激发波长: 254 nm; 发射波长: 301 nm。

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

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。草甘膦衍生物的参考色谱图见图 1。

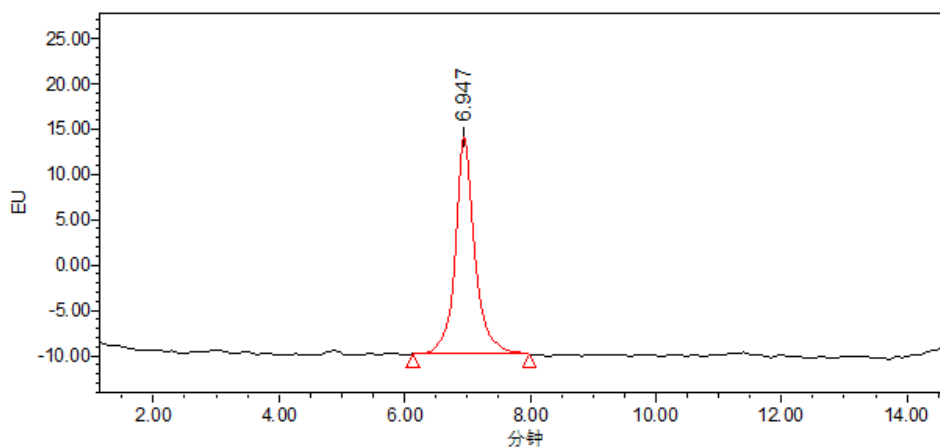


图 1 草甘膦衍生物参考色谱图

7.3 试样测定

按照与建立工作曲线相同条件（7.2）进行试样（6.4）的测定。

7.4 空白试验

按照与试样测定（7.3）相同条件进行空白试样（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 土壤样品中的结果计算

新鲜土壤样品的含水量，按照公式（1）进行计算：

$$V_s = \frac{m_1 \times (1 - w_{dm})}{\rho_{H_2O}} \quad (1)$$

式中： V_s ——新鲜土壤样品的含水量，ml；

m_1 ——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。

土壤样品中草甘膦的浓度（mg/kg）按照公式（2）进行计算：

$$w_1 = \frac{\rho_1 \times (V_s + V_1)}{m_1 \times w_{dm} \times 1000} \quad (2)$$

式中： w_1 ——土壤样品中目标的浓度，mg/kg；

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

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，%。

8.2.2 沉积物样品中的结果计算

新鲜沉积物样品的含水量，按照公式（3）进行计算：

$$V_{sd} = \frac{m_2 \times w_{H_2O}}{\rho_{H_2O}} \quad (3)$$

式中： V_{sd} ——新鲜沉积物样品的含水量，ml；

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℃下水的密度，g/ml。

沉积物样品中草甘膦的浓度（mg/kg），按照公式（4）进行计算：

$$w_2 = \frac{\rho_2 \times (V_{sd} + V_2)}{m_2 \times (1 - w_{H_2O}) \times 1000} \quad (4)$$

式中： w_2 ——沉积物样品中草甘膦的浓度，mg/kg；

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

V_{sd} ——沉积物样品含水量，ml；

V_2 ——提取液体积，ml；

m_2 ——样品质量（湿重），g；

w_{H_2O} ——沉积物样品的含水率，%。

8.3 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 0.100 mg/kg、0.500 mg/kg 和 1.00 mg/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% 和 2.7%~12%；实验室间相对标准偏差分别为 3.4%~7.8%、3.4%~12% 和 4.0%~11%；重复性限为 0.014~0.019 mg/kg、0.066~0.094 mg/kg 和 0.11~0.17 mg/kg；再现性限为 0.018~0.026 mg/kg、0.076~0.17 mg/kg 和 0.17~0.29 mg/kg。

方法精密度汇总数据参见附录 A。

9.2 准确度

六家实验室对草甘膦加标浓度为 0.100 mg/kg、0.500 mg/kg 和 1.00 mg/kg 的统一样品进行分析测定。加标回收率范围分别为：71.0%~109%、73.6%~106% 和 68.3%~109%。加标回收率最终值为：79.6% \pm 12%~102% \pm 13%、77.3% \pm 5.6%~100% \pm 8.6% 和 75.5% \pm 9.4%~100% \pm 12%。

方法准确度汇总数据参见附录 A。

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空白试验，空白值不得高于方法的检出限。

10.2 校准

初次使用仪器或在仪器维修、更换色谱柱或校准不合格时，应建立工作曲线，相关系数应 ≥ 0.995 。每20个样品或每批次样品（ ≤ 20 个样品/批）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误差应在 $\pm 20\%$ 以内。

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（ ≤ 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

实验中产生的所有废液和废物应分类收集，置于密闭容器中集中保管，粘贴明显标识，委托有资质的单位处置。

附录 A
 (资料性附录)
 方法的精密度和准确度

表 A.1 和表 A.2 中列出了方法的精密度和准确度。

表 A.1 方法的精密度汇总表

基体类型	加标浓度 (mg/kg)	平均值 (mg/kg)	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 (mg/kg)	再现性限 R (mg/kg)
红壤	0.10	0.10	3.4~8.4	7.8	0.016	0.026
	0.50	0.47	1.8~8.7	7.4	0.073	0.12
	1.00	0.94	2.7~6.5	11	0.11	0.29
水稻土	0.10	0.091	3.6~7.8	4.9	0.014	0.018
	0.50	0.46	1.6~8.3	12	0.086	0.17
	1.00	0.90	2.7~9	7.7	0.14	0.23
黑土	0.10	0.085	5.5~8.6	7.4	0.017	0.023
	0.50	0.42	3.8~7.6	3.7	0.069	0.076
	1.00	0.83	3.2~9.3	4.0	0.16	0.17
湖库型沉 积物	0.10	0.081	5.7~10	7.7	0.019	0.025
	0.50	0.39	5.9~11	3.4	0.094	0.094
	1.00	0.76	2.7~8	6.2	0.13	0.18
河流型沉 积物	0.10	0.084	3.3~12	3.4	0.018	0.018
	0.50	0.40	4.4~6.9	5.7	0.066	0.12
	1.00	0.80	3.4~12	5.7	0.17	0.20

表 A. 2 方法的准确度汇总表

基体类型	加标浓度 (mg/kg)	加标回收率范 围 (%)	加标回收率 均值 \bar{P} (%)	加标回收率标准 偏差 $S_{\bar{P}}$ (%)	加标回收率最终值 $\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
红壤	0.10	91.9~109	102	6.3	102±13
	0.50	93.1~106	100	4.3	100±8.6
	1.00	90.6~109	100	5.8	100±12
水稻土	0.10	87.5~92.3	89.0	1.8	89.0±3.7
	0.50	84.0~93.3	87.9	3.6	87.9±7.3
	1.00	81.3~86.5	84.3	2.0	84.3±4.0
黑土	0.10	76.5~85.1	82.2	3.1	82.2±6.2
	0.50	73.6~84.4	79.5	3.9	79.5±7.8
	1.00	74.3~86.0	78.5	4.2	78.5±8.5
湖库型沉 积物	0.10	71.0~88.9	79.6	6.2	79.6±12
	0.50	74.1~81.1	77.3	2.8	77.3±5.6
	1.00	68.3~80.6	75.5	4.7	75.5±9.4
河流型沉 积物	0.10	77.6~87.5	84.2	3.8	84.2±7.6
	0.50	75.6~89.3	80.9	4.9	80.9±9.8
	1.00	75.3~88.4	79.7	4.9	79.7±9.8