

气相色谱-串联质谱法测定牛奶中有机磷残留的不确定度评定

高 杨^{1*}, 郑玉山¹, 巴特尔²

(1. 内蒙古自治区产品质量检验研究院, 呼和浩特 010070;

2. 内蒙古自治区电子信息产品质量检验院, 呼和浩特 010070)

摘 要: **目的** 采用气相色谱法-质谱法对牛奶中有机磷农药残留的不确定度进行评估。**方法** 通过气质联用法对测定牛奶中有机磷农药残留量测定过程进行分析, 应用数学模型计算出测定过程中的不确定度, 最后计算出相对合成标准不确定度和扩展不确定度。**结果** 当牛奶中敌敌畏含量为 0.507 mg/kg 时, 其扩展不确定度为 7.35×10^{-3} mg/kg ($k=2$); 当牛奶中甲拌磷含量为 0.509 mg/kg 时, 其扩展不确定度为 5.45×10^{-3} mg/kg ($k=2$); 当牛奶中乐果含量为 0.450 mg/kg 时, 其扩展不确定度为 6.35×10^{-3} mg/kg ($k=2$); 当牛奶中毒死蜱含量为 0.459 mg/kg 时, 其扩展不确定度为 6.09×10^{-3} mg/kg ($k=2$); 当牛奶中对硫磷含量为 0.435 mg/kg 时, 其扩展不确定度为 6.53×10^{-3} mg/kg ($k=2$)。**结论** 影响测量结果不确定度的主要来源为标准溶液配制的准确性、测量重复性和方法的准确度, 其他因素的影响相对较小。

关键词: 气质联用法; 有机磷; 有机磷残留; 不确定度

Uncertainty evaluation of organic organophosphorus residues in milk determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry

GAO Yang^{1*}, ZHENG Yu-Shan¹, BA Te-Er²

(1. Inner Mongolian Product Quality Inspection Institute, Huhhot 010070, China; 2. Inner Mongolia Electronic Information Product Quality Inspection Institute, Huhhot 010070, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate organic phosphorus residues in milk by gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The evaluation process of organic phosphorus residues in milk was determined by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS), at the same time, mathematical model was applied to calculate the uncertainty component in the process, then, the relative combined standard uncertainty and expanded uncertainty were calculated. **Results** The expanded uncertainty was 7.35×10^{-3} , 5.45×10^{-3} , 6.35×10^{-3} , 6.09×10^{-3} and 6.53×10^{-3} mg/kg ($k=2$), when dichlorvos, phorate, dimethoate, chlorpyrifos and parathion content in milk were 0.507, 0.509, 0.450, 0.459 and 0.435 mg/kg, respectively. **Conclusion** The main sources which affect the uncertainty measurement were the accuracy of the standard solution preparation, the repeatability of measurement and accuracy of method, other factors had less affect to uncertainty measurement.

KEY WORDS: gas chromatography-tandem mass spectrometry; organic phosphorus; organophosphorus residues; uncertainty

*通讯作者: 高杨, 工程师, 主要研究方向为食品分析化学。E-mail: nmzjgy@126.com

*Corresponding author: GAO Yang, Master, Engineer, Inner Mongolian Product Quality Inspection Institute, Shihua Road, Jinqiao Development Zone, Huhhot 010070, China. E-mail: nmzjgy@126.com

1 引言

有机磷农药作为一种高效杀虫剂,具有品种多、防治范围广、成本低等优点,目前应用较广^[1],有机磷农药的残留量过高会危害人体的健康。有机磷农药的最终归宿是进入生态环境,扩散、残留、富集是其不可避免的环境行为,并且可以通过食物链进行富集,而牛奶与奶粉就处于食物链的最高级^[2-6]。国标 GB/T 23210-2008^[7]中详细规定了气相色谱-质谱法测定牛奶和奶粉中有机磷农药残留的方法。而一切测量结果都不可避免地具有不确定度,不确定度需要以完整的信息表示,以便对所做测定结果的准确性和可靠性进行衡量^[11-16]。目前,对于气相色谱-质谱联用仪检测牛奶中农药残留方法的准确性及不确定因素的研究评定实例未见报道。本文根据 JJF 1059-1999《测量不确定度评定与表示》^[8],结合测定方法和数学模型,对气相色谱-质谱法测定牛奶中有机磷农药残留的结果进行不确定度评估,并对影响结果准确度的各因素逐项分析,为气相色谱-质谱法定量测定牛奶和奶粉中有机磷农药残留量的测量不确定度评定提供参考模型,对实验室的分析测试工作具有一定的参考价值。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 实验原料

金典有机奶(内蒙古伊利实业集团股份有限公司)。

2.1.2 试剂与仪器

乙腈(色谱纯,天津市风船化学试剂科技有限公司); MgSO₄(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司); NaCl(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司); 标准物质,农业部环境保护科研监测所。

气相色谱质谱联用仪(GC-MS QP2010,日本岛津公司)。

2.2 方法

样品检测参照 GB/T 23210-2008《牛奶和奶粉中 511 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》^[7]。

量取 15 g 牛奶于 50 mL 离心管中,加入 20 mL 乙腈以及 4 g MgSO₄ 和 1 g NaCl。于振荡器上剧烈震荡 10 min, 4200 r/min 离心 8 min, 收集上清液于 100

mL 鸡心瓶中,残渣用 20 mL 乙腈重复提取 1 次,离心后,合并 2 次提取液,净化后旋转蒸发至 0.5 mL,做 2 次溶剂交换,使最终样液体积为 1 mL,加入 40 μL 内标溶液,混匀,供仪器分析。

2.3 数学模型

$$X_i = c_s \times A/A_s \times c_i/c_{si} \times A_{si}/A_i \times V/m$$

式中:

X_i ——试样中被测物残留量,单位为 mg/kg 或 mg/L;

c_s ——基质标准工作溶液中被测物的浓度, μg/mL;

A ——试样溶液中被测物的色谱峰面积;

A_s ——基质标准工作溶液中被测物的色谱峰面积;

c_i ——试样溶液中内标物的浓度, μg/mL;

c_{si} ——基质标准工作溶液中内标物的浓度, μg/mL;

A_{si} ——基质标准工作溶液中内标物的色谱峰面积;

V ——样液最终定容体积, mL;

m ——试样溶液所代表试样的质量或体积, g 或 mL。

3 不确定度的来源及分析

3.1 样品称样量引入的不确定度

根据 2.2 测定方法,称样量为 15 g,精确至 0.01 g,根据天平附带资料及检定证书,天平称量的允许误差为 0.001 g,根据 JJG 539-1997^[9],按照矩形分布,计算天平最大允许误差引入的标准不确定度及相对标准不确定度为:

$$u_1(m) = 0.001/\sqrt{3} = 0.00058 \text{ g};$$

而通常使用天平量取物质时需经两次独立称量,因此,天平校准的标准不确定度为:

$$u_2(m) = \sqrt{0.00058^2 \times 2} = 0.00082 \text{ g};$$

因此,称取 15 g 试样引起的不确定度为:

$$u_r(m) = 0.00082/15 = 0.00546\%$$

3.2 样品定容体积引入的不确定度

本次实验定容至 1 mL,定容时采用 A 级流出式刻度移液管,根据 JJG 196-2006^[10]中规定,1 mL 的容量允差为 ±0.008 mL,相对允许误差为 0.8%,按照矩形分布,计算定容体积引入的不确定度为:

$$u(v) = 0.8\%/\sqrt{3} = 0.0046$$

实验室温度在 ±5 °C 之间变化,水温的膨胀系数为 $\alpha_T = 2.1 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$,属于 B 类不确定度,设定矩形分布,引入的相对不确定度为:

$$u(v_T) = \frac{\Delta T \times A_T}{k} = \frac{5 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 0.061\%$$

因此, 样品体积引起的不确定度为:

$$u_r(v) = \sqrt{u(v)^2 + u(v_T)^2} / 1 = 0.084\%$$

3.3 标准溶液制备引入的不确定度

3.3.1 标准品纯度引入的不确定度

本实验采用的有机磷标样均购自农业部环境保护科研监测所, 浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 标准物质证书提供的最大不确定度为 $\pm 0.17 \mu\text{g}/\text{mL}$, 相对不确定度为 0.17%, 设定矩形分布, 产生的最大不确定度为:

$$u(c_0) = 0.17\% / \sqrt{3} = 0.098\%$$

3.3.2 标准溶液配制引入的不确定度

标准工作液的配制过程为: 用 1 mL 移液管吸取 1.0 mL 标准溶液, 定容至 5 mL 容量瓶中, 浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 再吸取 1.0 mL 稀释过的标准溶液定容至 10 mL 容量瓶中, 浓度为 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1 mL 移液管引入的不确定度已在上述部分计算过, 5 mL 与 10 mL 容量瓶的允许误差均为 ± 0.020 ^[10]。

玻璃量器的不确定度为 B 类不确定度, 由若干

相对不确定度合成, 该不确定度设为三角分布, 根据表 1 中相对不确定度得到合成不确定度:

$$u_r(c_v) = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_{10}^2} = 0.528\%$$

实验室温度在 $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ 之间变化, 水温的膨胀系数为 $A_T = 2.1 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}$, 属于 B 类不确定度, 设定矩形分布, 引入的相对不确定度为:

$$u(v_T) = \frac{\Delta T \times A_T}{k} = \frac{5 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 0.061\%$$

因此, 标准溶液配制引起的不确定度为:

$$u_r(v_0) = \sqrt{u(v)^2 + u(v_T)^2} = 0.53\%$$

3.4 仪器测定引入的不确定度

本次实验选用岛津 GCMS-QP2010 气质联用仪, 由于色谱仪灵敏度均能达到测定要求, 所以仪器稳定性是导致峰面积测量不确定度的主要原因, 仪器进样量及仪器示值误差不予考虑。因此, 对样品中添加的有机磷含量(添加量为 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)分别进行连续 6 次的进样测试, 采用三角分布处理, 则测试过程中随机效应引入的标准不确定度见表 2。

表 1 移液管、容量瓶的不确定度

Table 1 Uncertainty of pipette and volumetric flask

标称容量	允许误差(mL)	不确定度	相对不确定度%
A 级流出式刻度移液管 1 mL	± 0.008	0.0046	0.460
5 mL 容量瓶	± 0.020	0.0116	0.232
10 mL 容量瓶	± 0.020	0.0116	0.116

表 2 样品添加峰面积的不确定度

Table 2 Uncertainty of spiked peak area samples

峰面积	敌敌畏	甲拌磷	乐果	毒死蜱	对硫磷
1	689007	270856	407055	102233	145841
2	685739	265857	398688	101378	144494
3	696023	273594	410003	102986	146143
4	682136	266981	406893	101869	140537
5	678934	265597	399564	102019	144761
6	685493	266832	403956	100998	142983
平均值	686222	268286.2	404359.8	101913.8	144126.5
标准偏差	5905	3216	4491	691	2085
标准不确定度	2411	1313	1833	282	851
相对标准不确定度/%	0.351%	0.489%	0.453%	0.277%	0.590%

表 3 样品回收率的不确定度
Table 3 Uncertainty of samples recovery

回收率	敌敌畏	甲拌磷	乐果	毒死蜱	对硫磷
1	101.75	102.0	89.5	92.1	87.0
2	100.23	101.26	90.2	91.6	86.5
3	102.01	101.65	90.6	90.9	86.9
4	101.56	101.91	89.9	92.3	86.7
5	101.44	102.34	89.7	91.7	87.2
6	100.95	102	90.4	92.0	87.5
平均值	101.32	101.86	90.05	91.77	86.97
标准偏差	0.642	0.368	0.423	0.497	0.356
标准不确定度	0.262	0.150	0.173	0.203	0.145
相对标准不确定度/%	0.259%	0.147%	0.192%	0.221%	0.167%

表 4 样品中农药残留合成标准不确定度
Table 4 Combined standard uncertainty of pesticide residues in samples

农残名称	敌敌畏	甲拌磷	乐果	毒死蜱	对硫磷
相对标准不确定度/%	0.649	0.733	0.709	0.612	0.804

3.5 回收实验准确度引入的不确定度

实验准确度引入的不确定度为 A 类评定, 采用添加 6 份 0.5 mg/kg 标准物质溶液对样品测定回收率的方法进行计算, 设定三角分布, 结果如表 3 所示。

3.6 合成标准不确定度

由上述各相对标准不确定度合成牛奶中农药残留量相对标准不确定度的计算公式为:

$$u(X) = \sqrt{u_r(m)^2 + u_r(v)^2 + u(c_0)^2 + u(v_0)^2 + u(A)^2 + u(R)^2}$$

最终计算得出各农药残留的合成标准不确定度为, 如表 4 所示。

3.7 结果表示

根据测量不确定度评定指南对一般检测实验室要求, 在置信概率 $P=95\%$ 时, 取 $k \approx 2$ 。因此, 牛奶中的农药残留量测定的相对扩展不确定度为:

$$\text{敌敌畏: } U_{rel} = k \times u(X) = 2 \times 0.649\% = 1.298\%$$

$$\text{甲拌磷: } U_{rel} = k \times u(X) = 2 \times 0.733\% = 1.466\%$$

$$\text{乐果: } U_{rel} = k \times u(X) = 2 \times 0.709\% = 1.418\%$$

$$\text{毒死蜱: } U_{rel} = k \times u(X) = 2 \times 0.612\% = 1.224\%$$

$$\text{对硫磷: } U_{rel} = k \times u(X) = 2 \times 0.804\% = 1.608\%$$

故其扩展不确定度可表示为: $U_{\text{敌敌畏}} = 1.298 \times 0.00566 \text{ mg/kg} = 7.35 \times 10^{-3} \text{ mg/kg}$, $k=2$; $U_{\text{甲拌磷}} = 1.466 \times 0.00372 \text{ mg/kg} = 5.45 \times 10^{-3} \text{ mg/kg}$, $k=2$; $U_{\text{乐果}} = 1.418 \times 0.00448 \text{ mg/kg} = 6.35 \times 10^{-3} \text{ mg/kg}$, $k=2$; $U_{\text{毒死蜱}} = 1.224 \times 0.00498 \text{ mg/kg} = 6.09 \times 10^{-3} \text{ mg/kg}$, $k=2$; $U_{\text{对硫磷}} = 1.608 \times 0.00406 \text{ mg/kg} = 6.53 \times 10^{-3} \text{ mg/kg}$, $k=2$ 。

4 结果与讨论

该研究通过牛奶中有机磷农药残留的重复性测试结果计算试验标准差, 同时对测试过程系统效应产生的不确定度分量进行评估, 计算出了测量结果的相对合成不确定度, 并求出了牛奶中有机磷农药残留的扩展不确定度。通过比较其对总测量不确定度的相对贡献, 可知被测样品牛奶中有机磷农药残留量测定的测量不确定度主要来源于标准溶液配制的准确性、测量重复性和方法的准确度, 其他因素影响较小。因此, 在实验中根据实际情况, 通过选择可行性高的试验方案, 规范操作就可以有效减少不确定度, 从而保证测量结果的准确、可靠。

参考文献

- [1] 付广云, 韩长秀. 有机磷农药及其危害[J]. 化学教育, 2005,

- 26(1): 9-10.
- Fu GY, Han CX. Organophosphorus pesticide and its hazard [J]. Chem Educat, 2005, 26(1): 9-10.
- [2] 王凤平. 我国食品安全质量问题及对策[J]. 食品科技, 2005, (9): 7-9.
- Wang FP. Study on China food security [J]. Food Sci Technol, 2005, (9): 7-9.
- [3] 林竹光, 陈美瑜, 张莉莉, 等. 气相色谱-负离子化学源质谱法分析牛奶饮品和奶粉中 19 种有机磷农药残留[J]. 分析测试学报, 2007, 26(3): 331-334, 338.
- Lin ZG, Chen MY, Zhang LL, *et al.* Determination of 19 organophosphorus pesticides residues in milk drink and milk powder by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry [J]. J Instru Anal, 2007, 26(3): 331-334, 338.
- [4] 刘丽君, 赵贞, 于海静, 等. 气相色谱法测定牛乳中 15 种有机氯农药[J]. 乳业科学与技术, 2014, 37(4): 15-17.
- Liu LJ, Zhao Z, Yu HJ, *et al.* Determination of 15 organochlorine pesticides in milk by gas chromatography [J]. J Dairy Sci Technol, 2014, 37(4): 15-17.
- [5] 王彦娟, 云战友, 靳焜, 等. 牛乳中有机磷农药残留分析方法[J]. 中国乳品工业, 2007, 35(9): 47-49.
- Wang YJ, Yun ZY, Jin Y, *et al.* Study on analysis of organophosphate pesticide residues in milk [J]. China Dairy Ind, 2007, 35(9): 47-49.
- [6] 段伟伟. 有机磷农药的残留检测及在山羊乳中的迁移[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009.
- Duan WW. Traceability and residual of organophosphorus pesticides in the production of raw milk [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2009.
- [7] GB/T 23210-2008 牛奶和奶粉中 511 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S].
- GB/T 23210-2008 Determination of 511 pesticides and related chemicals residues in milk and milk powder-GC-MS method [S].
- [8] JJF 1059-1999 测量不确定度评定与表示[S].
- JJF 1059-1999 Evaluation and expression of uncertainty in measurement [S].
- [9] JJG 539-1997 数字指示秤[S].
- JJG 539-1997 Verification regulation of digital indicating weighing instrument [S].
- [10] JJG 196-2006 常用玻璃量器[S].
- JJG 196-2006 Working glass container [S].
- [11] 王宜生. 果蔬食品中有机磷类农药不确定度的测定[J]. 食品研究与开发, 2010, (08), 125.
- Wang YS. Determination of uncertainty for organophosphorus pesticides in fruit and vegetable [J]. Food Res Devel, 2010, (08), 125.
- [12] 殷朝珍, 翟付凤, 董卫峰. 气相色谱法测定蔬菜中有机磷农药残留量不确定度评定研究[J]. 现代农业科技, 2014, (17): 153-155.
- Yin CZ, Zhai FF, Dong WF. Uncertainty evaluation of organic phosphorus pesticide residues in vegetables determined by GC [J]. Mod Agric Sci Technol, 2014, (17): 153-155.
- [13] 蒋永祥, 叶丽. 茶叶中多种有机磷农药残留量测定不确定度的评定[J]. 分析试验室, 2006, (12): 59-62.
- Jiang YX, Ye L. Uncertainty evaluation of determination of organophosphorus pesticide multi-residues in tea [J]. Chin J Anal Lab, 2006, (12): 59-62.
- [14] 叶洪淼, 阮建苗, 张海潮. 出口蔬菜中氯氰菊酯残留量测量的不确定度评定[J]. 检验检疫学刊, 2009, 19(2): 26-28.
- Ye HM, Ruan JM, Zhang HC. Uncertainty evaluation of cypermethrin pesticide residues in export-oriented vegetable [J]. J Inspect Quarant, 2009, 19(2): 26-28.
- [15] 林冬云. 气相色谱法测定蔬菜中甲胺磷农药残留量的测量不确定度评定[J]. 福建轻纺, 2006, (9): 50-53.
- Lin DY. Uncertainty evaluation of methamidophos pesticide residues in Vegetables Determined by GC [J]. Light Textile Ind, 2006, (9): 50-53.
- [16] 黄荣浪, 章虎, 王祥云, 等. 气相色谱法测定蔬菜中有机磷农药残留的测量不确定度[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(13): 7124-7127.
- Huang RL, Zhang H, Wang XY, *et al.* Measure uncertainty of measuring organic phosphorus pesticide residue in Vegetables with GC [J]. J Anhui Agric Sci, 2010, 38(13): 7124-7127.

(责任编辑: 李振飞)

作者简介



高 杨, 工程师, 主要研究方向为食品分析化学。

E-mail: nmzjgy@126.com