

超高效液相色谱-三重四级杆质谱法测定猪肉中氯霉素残留量的不确定度评定

温海滨, 熊含鸿, 梁旭霞, 雷毅*

(广东省食品检验所, 广州 510435)

摘要: **目的** 采用超高效液相色谱-三重四级杆质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定猪肉中的氯霉素残留量, 并进行不确定度评定。**方法** 依据 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》, 结合数学模型和实验过程, 分析测定结果的主要测量不确定度来源, 评定各标准不确定度的分量。**结果** 不确定度主要来源于标准溶液配制和标准曲线拟合。当猪肉中氯霉素残留量测定结果为 1.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 其扩展不确定度为 0.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 结果表示为 $(1.07 \pm 0.12) \mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$)。**结论** 该评定方法适用于超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中氯霉素残留量的不确定度分析, 可以为科学评价药物残留测量结果的准确性提供依据。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 猪肉; 氯霉素; 不确定度

Uncertainty evaluation for the determination of chloramphenicol residue in pork by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WEN Hai-Bin, XIONG Han-Hong, LIANG Xu-Xia, LEI Yi*

(Guangdong Institute of Food Inspection, Guangzhou 510435, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty of chloramphenicol residue in pork by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** According to JJF 1059.1-2012 *Evaluation and expression of uncertainty in measurement*, combined with mathematical model and experimental process, the main sources of uncertainty resulted from the determination process were analyzed, and the components of each standard uncertainties were evaluated. **Results** The uncertainties of the method were mainly derived from standard solution preparation and standard curve calibration. When the chloramphenicol residue in pork was 1.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the extended uncertainty was 0.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the result was expressed as $(1.07 \pm 0.12) \mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$). **Conclusion** The evaluation method is suitable for the uncertainty analysis of chloramphenicol in pork determined by UPLC-MS/MS, which provides a basis for scientific evaluation of the accuracy of drug residue measurement results.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; pork; chloramphenicol; uncertainty

基金项目: 广东省科技计划项目(2019B020208008)、广东省食品药品监督管理局科技创新项目(2018TDB07, 2018TDB09)

Fund: Supported by the Provincial Science and Technology Project of Guangdong (2019B020208008), and Guangdong Provincial Food and Drug Administration, Science and Technology Innovation Project (2018TDB07, 2018TDB09)

*通讯作者: 雷毅, 博士, 主任技师, 主要研究方向为食品安全与质量分析。E-mail: leiy04@qq.com

*Corresponding author: LEI Yi, Ph.D, Chief Pharmacist, Guangdong Institute of Food Inspection, Guangzhou 510435, China. E-mail: leiy04@qq.com

1 引言

测量不确定度被定义为表征合理地赋予被测量之值的分散性, 与测量结果相联系的参数^[1], 其数值的大小反映了测量结果质量的高低, 并直接与检测结果的判定相关^[2,3]。在实际检验工作中, 测量结果的准确性和可靠性是实验室计量认证评审等体现检测能力资质认证过程的重要依据, 测量不确定度对于实验室间比对、方法确认以及检测工作与国际接轨等各方面都具有重要意义, 因此在食品安全检测等各领域越来越受到重视^[4]。

氯霉素是一种酰胺醇类广谱抗生素, 对多种革兰阴性菌和阳性菌均具有良好的抑制作用^[5], 因其具有抗菌谱广, 价格低廉和性质稳定等特点, 曾被大量应用于畜禽及水产养殖业中^[6], 但对人体造血系统和消化系统有严重的不良反应, 长期食用氯霉素残留的食物后会引发再生障碍性贫血、粒状白细胞缺乏等症^[7]。近几年来, 世界很多国家和地区均已禁止在食用性动物中使用氯霉素^[8], 我国农业部第 235 号公告也明确规定, 氯霉素为禁止使用的药物, 并且在动物性食品中不得检出^[9]。随着人们生活质量日益改善, 对猪肉的需求量也越来越多, 然而猪肉中氯霉素残留的安全质量问题日益突出^[10], 国内各行业检测机构已将高效液相色谱-串联质谱法应用于猪肉中氯霉素残留的测定^[11-13], 但目前国内对猪肉中氯霉素残留的不确定度分析研究很少有相关报道, 为了确保检测结果的可信度, 应对猪肉中氯霉素残留量的测量结果给出测量不确定度。

本研究依据 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》^[14], 建立超高效液相色谱-三重四级杆质谱法测定猪肉中氯霉素残留量的不确定度评定的基本方法, 分析测定过程中影响其含量的关键因素, 以期掌握降低可控不确定度的质量控制手段, 为正确评价药物残留测量结果提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

TQ-S 超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪(美国 Waters 公司); IKA RV10 旋转蒸发仪(德国 IKA 公司); Multifuge X3R 高速离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); HBE-12B 固相萃取装置(天津市恒奥科技发展有限公司); ME203 千分位电子天平(瑞士梅特勒-托利多集团)。

氯霉素标准物质(99.8%, 北京曼哈格生物科技有限公司); 氯霉素-D5 内标储备液(100 μg/mL, 99.7%, 德国 Dr.Ehrenstorfer 公司); 乙腈、甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 正己烷、丙酮(分析纯, 广州化学试剂厂); 正丙醇(分析纯, 天津市永大化学试剂有限公司); 实验用水为 Milli-Q 超纯水; 实验用猪肉样品来自当地超市。

2.2 实验方法

2.2.1 标准系列溶液配制

氯霉素标准储备液: 准确称取氯霉素 10.00 mg, 用乙腈溶解, 转移至 100 mL 容量瓶中, 并定容至刻度, 摇匀, 配制成 100 mg/L 的标准储备液。

氯霉素-D5 内标工作液: 准确移取内标储备液 10 μL 于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 配制成 100 μg/L 氯霉素-D5 内标工作液。

氯霉素标准工作液(100 μg/L): 准确移取氯霉素储备液 10 μL 于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀。

氯霉素标准工作液(10.0 μg/L): 准确移取 100.0 μg/L 氯霉素标准工作液 100 μL 于 1 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀。

标准曲线的制备: 准确移取氯霉素标准工作液和氯霉素-D5 内标工作液适量, 用水稀释成氯霉素浓度分别为 0.10、0.50、1.00、2.00、5.00 和 10.0 μg/L, 氯霉素-D5 内标浓度为 2.00 μg/L 的溶液, 供高效液相色谱-三重四级杆质谱测定。

2.2.2 试样提取

本实验过程参照 GB/T 22338-2008《动物源性食品中氯霉素类药物残留量的测定》中的检测方法^[15]。准确称取已匀质的市售猪肉样品 2 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入 100 μL 氯霉素-D5 内标工作液和 10 mL 乙腈, 涡旋均匀后, 超声 20 min, 离心 5 min, 移取上清液至另一 50 mL 离心管, 再用 10 mL 乙腈重复提取 1 次, 合并 2 次提取液, 往提取液中加入 10 mL 乙腈饱和的正己烷, 涡旋振荡, 离心 5 min, 转移乙腈层至棕色心形瓶中, 向心形瓶中加入 5 mL 正丙醇, 于 40 °C 水浴中旋转蒸发至近干, 用氮气吹干, 用 5 mL 丙酮-正己烷(1:9, V/V, 下文同)溶解残渣, 待净化。

2.2.3 净化

LC-Si 硅胶小柱用 5 mL 丙酮-正己烷(1:9)活化, 将净化液转移至固相萃取小柱上, 弃去流出液, 用 5 mL 丙酮-正己烷(6:4)洗脱, 收集洗脱液并于 40 °C 氮吹仪吹干, 用水溶解定容至 2 mL, 涡旋混匀, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 供上机测定。

2.3 仪器条件

2.3.1 液相色谱条件

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相: A-水; B-乙腈; 柱温: 35 °C; 流速: 0.35 mL/min; 进样体积: 1 μL; 洗脱方式: 梯度洗脱。B 相初始浓度为 10%, 时间程序: 0~1.0 min, 10%B; 1.0~3.5 min, 10%B~90%B; 3.5~4.5 min, 90%B; 4.5~4.6 min, 90%B~10%B; 4.6~6.0 min, 10%B。

2.3.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子化 (electrospray ionization, ESI),

负离子模式;毛细管电压: 2.0 kV; 脱溶剂气温度: 500 °C; 脱溶剂气流速: 1000 L/Hr; 碰撞气: 氩气; 扫描模式: 多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM); 监测离子为: 氯霉素 321.0/152.1 (定量), 321.0/257.1 (定性), 氯霉素-D5 内标 326.1/157.1。

2.4 不确定度数学模型的建立

测定猪肉中氯霉素含量的数学模型如下所示:

$$X = \frac{(C - C_0) \times V}{m}$$

式中: X 为试样中氯霉素残留量, $\mu\text{g}/\text{kg}$; C 为试样被测液中的测定浓度, $\mu\text{g}/\text{L}$; C_0 为试样空白提取液的测定浓度, $\mu\text{g}/\text{L}$; V 为试样提取液最终定容体积, mL ; m 为试样质量, g 。

3 结果与分析

3.1 测量不确定度的来源

根据测定过程和数学模型分析, 对影响氯霉素残留量测定结果的各种不确定度分量来源进行评估, 相关不确定度因素引入来源见图 1。具体引入的主要不确定度来源包括: 标准溶液配制引入的不确定度、样品测定重复性的不确定度、标准曲线拟合引入的不确定度、样品称量引入的不确定度、样品溶液定容引入的不确定度等环节。

3.2 不确定度分量的评定

3.2.1 标准溶液配制引入的不确定度

(1) 标准物质引入的不确定度

根据标准物质证书提供的信息, 氯霉素的扩展不确定度为 2.0% ($k=2$), 其相对标准不确定度为 $0.020/2=0.010$, 氯霉素-D5 内标的扩展不确定度为 3.0% ($k=2$), 其相对标准不确定度为 $0.030/2=0.015$ 。

综上, 标准物质引入的相对不确定度为

$$u_{\text{rel}}(S) = \sqrt{0.010^2 + 0.015^2} = 0.01803。$$

(2) 标准品称量引入的不确定度

氯霉素标准物质称样量为 10.00 mg, 根据电子分析天平计量检定证书, 其最大质量允许误差为 0.01 mg, 按均匀分布计算, 则由标准物质称量引入的标准不确定度为 $0.01/\sqrt{3}=0.00557$ mg, 其相对标准不确定度为

$$u_{\text{rel}}(m_S) = \frac{u(m_S)}{m_S} = \frac{0.00557}{10.00} = 0.00058。$$

(3) 标准溶液稀释定容过程引入的不确定度

由 2.2.1 可知, 标准溶液稀释定容过程中使用到 100 mL 容量瓶 1 次, 10 mL 容量瓶 2 次, 1 mL 容量瓶 7 次, 10 μL 可调移液器 2 次, 100 μL 可调移液器 13 次。

1) 容量瓶体积带来的不确定度

根据 JJG 196-2006《常用玻璃量器检定规程》^[16], 100 mL A 级容量瓶在 20 °C 时最大容量允差为 0.10 mL, 按均匀分布计算, 由允差带来的不确定度为 $0.10 \text{ mL}/\sqrt{3} = 0.05574 \text{ mL}$ 。

实验室温度波动变化为 ± 5 °C, 乙腈体积膨胀系数为 $0.00137 \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$, 温度差异引起的体积变化为 $\Delta V = 100 \times 5 \times 0.00137 = 0.685 \text{ mL}$, 按均匀分布计算, 由此引入的不确定度为 $0.685/\sqrt{3} = 0.39548 \text{ mL}$ 。

因此, 100 mL 容量瓶体积的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(100 \text{ mL}) = \frac{u(100 \text{ mL})}{V_{100 \text{ mL}}} = \frac{\sqrt{0.05574^2 + 0.39548^2}}{100} = 0.00399。$$

根据常用玻璃量器检定规程, 10 mL A 级容量瓶的最大容量允差为 0.020 mL, 按均匀分布计算, 由允差带来的不确定度为 $0.020/\sqrt{3} = 0.01155 \text{ mL}$ 。

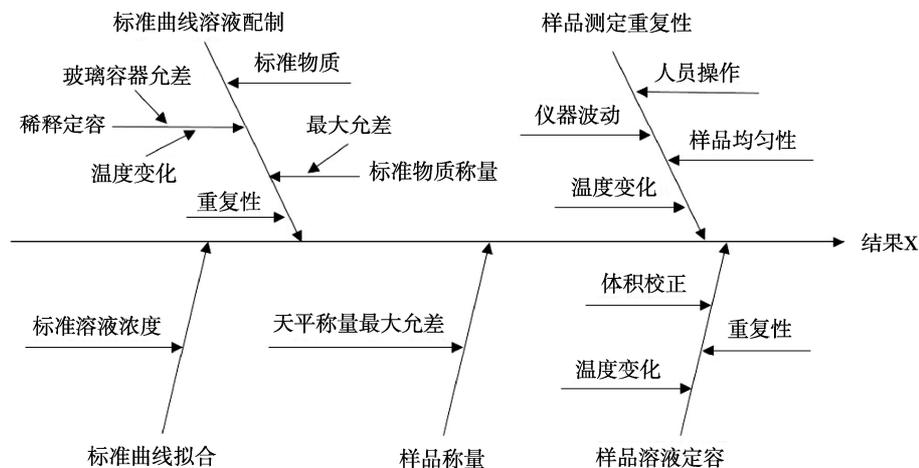


图 1 氯霉素测定不确定度来源图

Fig.1 Uncertainty source of determination for chloramphenicol

实验室温度波动变化为 $\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$, 乙腈体积膨胀系数为 $0.00137\text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$, 温度差异引起的体积变化为 $\Delta V=10\times 5\times 0.00137=0.0685\text{ mL}$, 按均匀分布计算不确定度为 $0.0685/\sqrt{3}=0.03955\text{ mL}$ 。

因此, 10 mL 容量瓶体积的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(10\text{ mL}) = \frac{u(10\text{ mL})}{V_{10\text{ mL}}} = \frac{\sqrt{0.01155^2 + 0.03955^2}}{10} = 0.00412。$$

根据常用玻璃量器检定规程, 1 mL A 级容量瓶的最大容量允差为 0.010 mL, 按均匀分布计算不确定度为 $0.010/\sqrt{3}=0.00557\text{ mL}$ 。

实验室温度波动变化为 $\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$, 由于标准曲线溶液用水稀释配制, 因此主要考虑水的体积变化, 而水体积膨胀系数为 $2.08\times 10^{-4}\text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$, 温度差异引起的体积变化为 $\Delta V=1\times 5\times 2.08\times 10^{-4}=0.00104\text{ mL}$, 按均匀分布计算, 由此引入的不确定度为 $0.00104/\sqrt{3}=0.00060\text{ mL}$ 。

因此, 1 mL 容量瓶引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(1\text{ mL}) = \frac{u(1\text{ mL})}{V_{1\text{ mL}}} = \frac{\sqrt{0.00557^2 + 0.00060^2}}{1} = 0.00560$$

2) 可调移液器引入的不确定度

根据 10 μL 可调移液器检定证书, 其移取 10 μL 的扩展不确定度为 0.020 ($k=2$), 由允差带来的相对标准不确定度为 $0.020/2=0.010$; 容量重复性对体积的影响: 根据证书, 其重复性误差为 0.008 ($k=2$), 由容量重复性引起带来的相对标准不确定度为 $0.008/2=0.004$ 。

实验室温度波动变化 $\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$, 乙腈膨胀系数为 $0.00137\text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$, 则由温度变化引起的体积变化为 $\Delta V=10\times 0.00137\times 5=0.0685\text{ }\mu\text{L}$, 按均匀分布计算, 由此带入的相对标准不确定度为 $\frac{0.0685}{\sqrt{3}\times 10}=0.00395$ 。

因此, 10 μL 可调移液器的相对不确定度为

$$u_{\text{rel}}(10\text{ }\mu\text{L}) = \sqrt{0.010^2 + 0.004^2 + 0.00395^2} = 0.01147。$$

由于在标准溶液配制过程中, 使用 100 μL 可调移液器移取了不同体积的标准溶液, 根据实际操作和可调移液

器检定证书, 以上述 10 μL 可调移液器不确定度的评定方法, 对稀释定容过程产生的不确定度进行评定, 各步骤不确定度如表 1 所示。

综上, 标准溶液稀释定容过程引入的相对不确定度为

$$u_{\text{rel}}(C) = \sqrt{\frac{u_{\text{rel}}^2(100\text{ mL}) + 2\times u_{\text{rel}}^2(10\text{ mL}) + 7\times u_{\text{rel}}^2(1\text{ mL}) + 2\times u_{\text{rel}}^2(10\text{ }\mu\text{L}) + u_{\text{rel}}^2(100\text{ }\mu\text{L})}{0.00399^2 + 2\times 0.00412^2 + 7\times 0.00560^2 + 2\times 0.01147^2 + 0.02445^2}} = 0.03362$$

综合上述结果, 可得出标准溶液配制过程中引入的合成相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(C_s) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(S) + u_{\text{rel}}^2(m_1) + u_{\text{rel}}^2(C)} = \sqrt{0.01803^2 + 0.00058^2 + 0.03362^2} = 0.03815$$

3.2.2 样品测定重复性引入的不确定度

由重复测定引入的不确定度主要考虑 A 类不确定度^[17], 本实验平行制备 6 份样品, 分别加入氯霉素标准工作液(100 $\mu\text{g/L}$) 20 μL 后进行氯霉素含量测定, 重复测量结果见表 2。根据样品空白提取液测定结果 $C_0=0$, 扣除样品空白引入的不确定度可忽略不计。

根据表 2 的重复测量结果, 可得标准偏差为:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = 0.01145\text{ }\mu\text{g/kg}。$$

样品 6 次重复测定平均值的标准不确定度为:

$$u(X) = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0.01145}{\sqrt{6}} = 0.00467\text{ }\mu\text{g/kg}。$$

样品测定重复性引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(X) = \frac{u(X)}{X} = \frac{0.00467}{1.066} = 0.00438$$

3.2.3 标准曲线拟合引入的不确定度

采用内标法对 6 个不同浓度的标准系列溶液进行测定, 标准曲线测定结果如表 3 所示。

表 1 稀释过程中 100 μL 可调移液器引入的不确定度

Table 1 Uncertainty of the 100 μL pipette in the dilution process

移取标准溶液体积/ μL	10	20	50	100
移取次数	1	7	2	3
允差扩展不确定度/%	2.0	1.0	1.0	0.8
容量重复性/%	0.7	0.2	0.2	0.1
温度差异引起的标准不确定度/ μL	0.03955	0.07910	0.19774	0.39548
相对标准不确定度	0.01131	0.00645	0.00645	0.00564
合成相对标准不确定度	0.02445			

表 2 猪肉中氯霉素含量的重复测定结果
Table 2 Repeated determination results of chloramphenicol in pork

序号	色谱峰面积比值 Y^*	提取液中氯霉素浓度 $C/(\mu\text{g/L})$	称样量 m/g	样品中氯霉素含量 $X/(\mu\text{g/kg})$
1	0.496	1.075	2.01	1.070
2	0.481	1.043	2.00	1.043
3	0.495	1.073	2.01	1.068
4	0.495	1.074	2.01	1.069
5	0.497	1.078	2.01	1.073
6	0.495	1.073	2.00	1.073
$\overline{C}_{\text{样}}$	—	1.069	—	—
\overline{m}	—	—	2.01	—
\overline{X}	—	—	—	1.066

注: *为待测样品中氯霉素色谱峰与内标色谱峰面积比率。

表 3 氯霉素标准曲线测定结果
Table 3 Results of chloramphenicol standard curve

序号	$C_i/(\mu\text{g/L})$	Y_i	$Y=0.45592C_i+0.00565$	$(C_i - \overline{C})^2$	$(Y_i - Y)^2$
1	0.100	0.050	0.051	9.00	1.000×10^{-6}
2	0.500	0.240	0.234	6.76	3.600×10^{-5}
3	1.00	0.462	0.461	4.41	1.000×10^{-6}
4	2.00	0.923	0.917	1.21	3.600×10^{-5}
5	5.00	2.231	2.285	3.61	2.916×10^{-3}
6	10.0	4.599	4.565	47.61	1.156×10^{-3}
Σ	$\overline{C} = 3.1$	—	—	72.60	4.146×10^{-3}

根据贝塞尔公式, 上述标准曲线拟合的剩余标准差为:

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - Y)^2}{p - 2}} = 0.03219。$$

其中, p 为标准溶液测定次数($p = 6$), 由此可得标准曲线拟合引入的标准不确定度:

$$u(Y) = \frac{S_R}{b} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{p} + \frac{(\overline{C}_{\text{样}} - \overline{C})^2}{\sum (C_i - \overline{C})^2}} = \frac{0.03219}{0.45592} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{6} + \frac{(1.069 - 3.1)^2}{72.60}} = 0.04410$$

其中: S_R 为标准曲线拟合的剩余标准差, b 为曲线的斜率 ($b=0.45592$), n 为样品重复测定次数($n=6$), C_i 为标准溶液各点的浓度, $\overline{C}_{\text{样}}$ 为重复测定样品提取液氯霉素浓度的平均值。

综上, 可得标准曲线拟合引入的相对不确定度:

$$u_{\text{rel}}(Y) = \frac{u(Y)}{\overline{C}_{\text{样}}} = \frac{0.04410}{1.069} = 0.04125$$

3.2.4 样品称量引入的不确定度

根据样品称量过程中分析天平的计量检定证书, 其最大质量允差为 0.01 g, 按均匀分布计算, 则由允差引入的标准不确定度为 $u(m_{\text{样}}) = 0.01 \text{ g} / \sqrt{3} = 0.00577 \text{ g}$, 由表 2 可得, 本次称量的猪肉样品的平均质量为 $\overline{m} = 2.01 \text{ g}$, 样品称量引入的相对标准不确定度为

$$u_{\text{rel}}(m_{\text{样}}) = \frac{0.00577}{2.01} = 0.00287$$

3.2.5 样品溶液定容引入的不确定度

根据 JJG 196-2006《常用玻璃量器检定规程》^[16], A 级 2 mL 容量瓶的最大容量允差为 0.015 mL, 按均匀分布计算, 由允差带来的不确定度为 $0.015 / \sqrt{3} = 0.00866 \text{ mL}$ 。

实验室温度波动变化 $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$, 水体积膨胀系数为 $2.08 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, 则由温度变化引起的体积变化为 $\Delta V = 2 \times 5 \times 2.08 \times 10^{-4} = 0.00208 \text{ mL}$, 按均匀分布计算其不确定度为 $0.00208 / \sqrt{3} = 0.00120 \text{ mL}$ 。

因此, 样品溶液定容过程引入的相对不确定度为

$$u_{\text{rel}}(V) = \frac{\sqrt{0.00866^2 + 0.00120^2}}{2} = 0.00437。$$

3.3 合成不确定度

综合上述对各不确定度分量及其相对标准不确定度, 汇总统计结果见表 4。

表 4 各分量的相对标准不确定度分量表
Table 4 Relative standard uncertainty of each component

不确定度分量	不确定度来源	量值	标准不确定度	相对标准不确定度
$u_{\text{rel}}(C_s)$	标准物质和标准溶液配制引入	—	—	0.03815
$u_{\text{rel}}(X)$	样品测定重复性引入	1.066 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.00467 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.00438
$u_{\text{rel}}(Y)$	标准曲线拟合引入	1.069 $\mu\text{g}/\text{L}$	0.04410 $\mu\text{g}/\text{L}$	0.04125
$u_{\text{rel}}(m_{\text{样}})$	样品称量过程引入	2.01 g	0.00577 g	0.00287
$u_{\text{rel}}(V)$	样品溶液定容引入	2 mL	0.00874 mL	0.00437

根据表 4 各分量的相对标准不确定度, 因此合成相对标准不确定度为

$$\begin{aligned} u_{\text{rel}} &= \sqrt{u_{\text{rel}}^2(C_s) + u_{\text{rel}}^2(X) + u_{\text{rel}}^2(Y) + u_{\text{rel}}^2(m_{\text{样}}) + u_{\text{rel}}^2(V)} \\ &= \sqrt{0.03815^2 + 0.00438^2 + 0.04125^2 + 0.00287^2 + 0.00437^2} \\ &= 0.05660 \end{aligned}$$

样品中氯霉素含量为 1.066 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 则合成标准不确定度为

$$u(C) = \bar{X} \times u_{\text{rel}} = 1.066 \times 0.05660 = 0.0603 \mu\text{g}/\text{kg}。$$

3.4 测量不确定度报告

依据 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》^[14]和 JJF 1135-2005《化学分析测量不确定度评定》^[17], 在 95% 置信概率下取包含因子 $k=2$, 则测量结果的扩展不确定度为 $U = 2 \times u(C) = 2 \times 0.0603 = 0.121 \mu\text{g}/\text{kg}$, 故采用超高效液相色谱-三重四级杆质谱法测定猪肉中氯霉素残留量结果表示为: $X=(1.07 \pm 0.12) \mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$)。

4 结论与讨论

本研究采用超高效液相色谱-三重四级杆质谱法对猪肉样品中氯霉素残留量进行了测定, 并建立了猪肉中氯霉素含量的不确定度的基本方法。根据不确定度的主要来源对测定结果进行了评定, 结合实验过程和评定结果可知, 本方法中测量不确定度影响因素主要来源于标准溶液配制过程和标准曲线拟合, 通过对标准溶液配制过程和标准曲线拟合进行分析可以发现, 每进行一次标准溶液的稀释定容就会引入不确定度, 当标准溶液稀释定容步骤越多, 引入的不确定度相应累加, 由此引入的不确定度越大, 而且样品中氯霉素含量很低, 仪器对该低浓度点的响应波动较大, 引入的不确定度对总不确定度的贡献也较大。因此在应用本方法进行测量时, 应在日常检验工作中对标准溶液配制和标准曲线拟合过程等几个关键步骤加以严格控制, 确保检测结果的可靠性。在配制标准溶液时, 应当选用合

格的、有效的标准物质, 同时选用精度高并通过计量检定合格的量取容器来配制标准溶液, 根据仪器检测性能设置合适浓度梯度的工作曲线, 优化配制过程, 尽可能减少标准溶液的稀释定容步骤, 降低由此引入的不确定度。此外, 在使用仪器进行检测前, 应加强仪器的日常维护, 确保仪器具有良好的检测稳定性, 同时提高技术人员实验操作水平, 采用科学可靠的分析方法, 并对仪器条件加以优化改进, 以提高测定结果的准确度, 保证良好的方法重现性, 为药物残留测量结果的科学性提供依据。

参考文献

- [1] CNAS-GL006 化学分析中不确定度的评估指南[S]. CNAS-GL006 Guidance on evaluating the uncertainty in chemical analysis [S].
- [2] 李涛, 周艳华, 杨滔, 等. UPLC-MS/MS 法测定虾肉中氯霉素残留量的不确定度分析[J]. 食品与机械, 2017, 33(7): 61-64, 99. Li T, Zhou YH, Yang T, et al. Uncertainty analysis of determination of chloramphenicol residue in shrimp by UPLC-MS/MS method [J]. Food Mach, 2017, 33(7): 61-64, 99.
- [3] Cordero RR, Seckmeyer G, Pissulla D, et al. Uncertainty evaluation of the spectral UV irradiance evaluated by using the UVSPEC radiative transfer model [J]. Opt Commun, 2007, 276(1): 44-53.
- [4] 李静, 夏苏捷, 刘晓云, 等. 液相色谱-串联质谱法测定牛奶中氯霉素残留量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(7): 2751-2757. Li J, Xia SJ, Liu XY, et al. Uncertainty evaluation of chloramphenicol in milk by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(7): 2751-2757.
- [5] Ingebrigtsen SG, Didriksen A, Johannessen M, et al. Old drug, new wrapping-A possible comeback for chloramphenicol? [J]. Int J Pharm, 2017, 526(1-2): 538-546.
- [6] Baynes RE, Dedonder K, Kissell L, et al. Health concerns and management of select veterinary drug residues [J]. Food Chem Toxicol, 2016, (88): 112-122.
- [7] Hanekamp JC, Bast A. Antibiotics exposure and health risks: Chloramphenicol [J]. Environ Toxicol Pharm, 2015, 39(1): 213-220.

- [8] Javidi M, Housaindokht MR, Verdian A, *et al.* Detection of chloramphenicol using a novel apta-sensing platform based on aptamer terminal-lock in milk samples [J]. *Anal Chim Acta*, 2018, (1039): 116–123.
- [9] 胡黎黎, 唐晓琴, 顾万江. 超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱法测定猪肉中的氯霉素[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, (21): 3061–3064.
Hu LL, Tang XQ, Gu WJ. Detection of chloramphenicol in pork by ultra-high-performance liquid chromatography-q extractive mass spectrometry [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2017, (21): 3061–3064.
- [10] Chiesa LM, Nobile M, Panseri S, *et al.* Antibiotic use in heavy pigs: Comparison between urine and muscle samples from food chain animals analysed by HPLC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2017, (235): 111–118.
- [11] 刘吉成. HPLC-MS/MS 测定猪肉和猪肝中氯霉素残留量的研究[J]. *食品与机械*, 2012, 28(4): 93–95, 156.
Liu JC. Determination of chloramphenicol residues in pork and pig liver by LC-MS/MS [J]. *Food Mach*, 2012, 28(4): 93–95, 156.
- [12] 赵世瑾, 姚凯, 李娜, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中氯霉素残留[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2017, (23): 249–252.
Zhao SJ, Yao K, Li N, *et al.* Residue determination of chloramphenicol in pork by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Heilongjiang Anim Husband Vet Med*, 2017, (23): 249–252.
- [13] 陶昕晨, 黄和, 廖建萌, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时检测虾肉和猪肉中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和其代谢产物氟苯尼考胺残留[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(1): 232–238.
Tao XC, Huang H, Liao JM, *et al.* Simultaneous determination of residues of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in shrimp muscle and pork by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2014, 14(1): 232–238.
- [14] JJF 1059.1-2012 测量不确定度评定与表示[S].
JJF 1059.1-2012 Evaluation and expression of uncertainty in measurement [S].
- [15] GB/T 22338-2008 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定[S].
GB/T 22338-2008 Determination of multi-residues of chloramphenicols in animal-original food [S].
- [16] JJG 196-2006 常用玻璃量器检定规程[S].
JJG 196-2006 Verification regulation of working glass container [S].
- [17] JJF 1135-2005 化学分析测量不确定度评定[S].
JJF 1135-2005 Evaluation of uncertainty in chemical analysis measurement [S].

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



温海滨, 硕士, 主要研究方向为食品质量与安全检测技术。
E-mail: 626125738@qq.com

雷毅, 博士, 主要研究方向为食品质量与安全检测技术。
E-mail: Leiy04@qq.com