

# 气质联用检测草莓中毒死蜃残留量检出 限测定方法研究

范志刚<sup>1\*</sup>, 林红<sup>2</sup>, 王勇<sup>1</sup>, 王俊芳<sup>1</sup>, 张扬<sup>1</sup>

(1. 成都宏亿实业集团有限公司, 成都 610110; 2. 成都市产品质量监督检验研究院, 成都 610100)

**摘要:** **目的** 建立色谱分析中检出限的测定方法。 **方法** 以草莓为基质, 用气相色谱-质谱法测定草莓中毒死蜃含量。 **结果** 校准曲线估算法、空白标准偏差法、 $3S_0$ 法、信噪比法得出的检出限分别为 10.75、0.18、0.5、1.5 ng/mL。 **结论** 信噪比法所测出的检出限结果符合要求。

**关键词:** 检出限; 气相色谱-质谱; 信噪比法

## Study on determination methods of detection limits of chlorpyrifos residues in strawberry by GC-MS

FAN Zhi-Gang<sup>1\*</sup>, LIN Hong<sup>2</sup>, WANG Yong<sup>1</sup>, WANG Jun-Fang<sup>1</sup>, ZHANG Yang<sup>1</sup>

(1. Chengdu Hongyi Industry Group Co., Ltd., Chengdu 610110, China; 2. Chengdu Product Quality Supervision and Inspection Institute, Chengdu 610100, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for determination of the detection limit in chromatographic analysis. **Methods** Chlorpyrifos content in strawberry was determined by gas chromatography-mass spectrometry. **Results** The detection limits of calibration curve method, blank standard deviation method,  $3S_0$  method, and signal-to-noise ratio method were 10.75, 0.18, 0.5, 1.5 ng/mL, respectively. **Conclusion** The detection limit of signal-to-noise ratio method could conform with the requirement of detection.

**KEY WORDS:** detection limits; gas chromatography-mass spectrometry; signal-to-noise ratio method

## 1 引言

IUPAC<sup>[1]</sup> 1997 年通过、1998 年发布的《分析术语纲要》中规定: 检出限以浓度(或质量)表示, 是指由特定的分析步骤能够合理地检测出的最小分析信号求得的最低浓度(或质量)。检出限是评价分析方法测试性能的重要指标, 可对给定分析方法在低浓度水平的检测能力进行评估。目前已有较多的关于检出

限测定的研究报道。吕涛等<sup>[2]</sup>对检出限的定义进行了阐述, 并对国内外各种检出限确定方法进行了介绍与比较, 总结出适合水质分析的检出限确定方法。鲁静等<sup>[3]</sup>认为检出限的测定或估算方法有 4 种, 一是目测法; 二是信噪比法; 三是基于偏差和斜率的方法; 四是校正曲线估算法。蒲家彬等<sup>[4]</sup>认为考察一个分析方法在低浓度范围的检测性能, 可以基于不同的角度或有不同的侧重点。通过比较传统估算法与 ISO

基金项目: 国家质检总局公益性行业科研专项(201010054)

**Fund:** Support by AQSIQ Public Welfare Industry Scientific Research Projects(201010054)

\*通讯作者: 范志刚, 质量工程师, 主要研究方向为分析检测。E-mail: 915137545@qq.com

\*Corresponding author: FAN Zhi-Gang, Quality Engineer, Chengdu Hongyi Industry Group Co., Ltd., No.243, Donghong Road, Longquanyi District, Chengdu 610100, China. E-mail: 915137545@qq.com

新推出的  $VB_x$  法,认为  $VB_x$  法在理论根据上更接近检出限的实质。焦红<sup>[5]</sup>建议对于方法确认,使用( $S_0$ )的精密评估应基于在典型的基质空白或低水平材料中被分析物浓度至少经过6次单独的完整测定,不去除零或负值结果,近似的检测限计算为  $3S_0$ 。但是,采用气质联用的方法研究有机残留物和污染物检出限的文献未见报道,本文根据色谱分析的特点对检出限进行了研究,建立了适合有机残留物和污染物的检出限确定方法。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料与仪器

草莓采购自超市;99.5%毒死蜱、乙腈(色谱纯),购自迪马科技有限公司;7890GC-5975MS、PSA 40  $\mu\text{m}$ 、粒度 46  $\mu\text{m}$   $C_{18}$  色谱柱,购自美国 Agilent 公司;冰醋酸、无水硫酸镁、氯化钠均为分析纯,购自成都科龙化工试剂厂;99.5%三苯基磷酸酯、99.5% 3-乙氧基 1,2-丙二醇、99.5%山梨醇,均购自美国 Sigma 公司。

### 2.2 实验方法

参照行业标准 NY/T1380-2007<sup>[6]</sup>进行检测。草莓打浆搅匀后装入聚乙烯瓶中,于  $-16\sim -20\text{ }^\circ\text{C}$  下保存备用。称取 10.00 g 试样,加入一定量的毒死蜱,用 10 mL 溶剂提取,吸取上清液 2 mL 净化后取上清液 1 mL 于 1 mL 容量瓶中,氮吹至 0.8 mL 后分别添加内标物和分析保护剂溶液,乙腈定容至 1.0 mL 混匀,待测。使用气相色谱-质谱仪检测。定量离子为 197、定性离子为 314 和 199。

## 3 结果及分析

### 3.1 工作曲线选择

配制浓度为 4、8、20、50、100、200、500 ng/mL 的毒死蜱溶液,绘制标准曲线。分别将浓度所需量的毒死蜱加入到 10.00 g 试样中,按 2.2 方法处理后定容至 1 mL,待测。使用 GC/MS 分别检测上述溶液。每个浓度点各测三次,结果见表 1。

选择不同浓度范围的信号进行回归,计算  $\sum(y_i - \hat{y}_i)^2$  值,根据 GB/T 17378.2-2007<sup>[7]</sup>计算  $t$  值。结果见表 2 和表 3。

以上  $t$  值均小于  $t_{0.025}(3)=3.182$ 。工作曲线通过原

点。综合比较 3 条工作曲线的  $\sum(y_i - \hat{y}_i)^2$  值和  $t$  值,1 号拟合质量优于其他两条工作曲线,因此选择 1 号工作曲线进行定量。

表 1 草莓基质毒死蜱标液检测数据( $n=3$ )

Table 1 The test data of chlorpyrifos standard liquid in the strawberry matrix ( $n=3$ )

浓度(ng/mL)	峰面积比(毒死蜱峰面积/内标物峰面积)
0	0
4	0.01125±0.00148
8	0.01803±0.00032
20	0.03994±0.00024
50	0.10047±0.00087
100	0.20757±0.00121
200	0.39781±0.00073
500	1.01489±0.00239

表 2 工作曲线浓度范围

Table 2 Working curve concentration range

编号	浓度(ng/mL)
1	4、8、20、50、100
2	8、20、50、100、200
3	20、50、100、200、500

表 3 不同浓度范围的工作曲线

Table 3 Working curves of different concentration range

编号	回归方程	$R^2$	$\sum(y_i - \hat{y}_i)^2 \times 10^{-5}$	$t$ 值
1	$\hat{y}=0.0021X+0.0008$	0.9992	5.1	0.30
2	$\hat{y}=0.002X+0.0023$	0.9995	5.7	2.53
3	$\hat{y}=0.002X-0.0007$	0.9999	31.5	0.12

### 3.2 $t$ 检验

在计算检出限的同时,采用  $t$ <sup>[8]</sup>检验确定检测结果平均值和接受参考值之间是否有显著性差异。统计量的计算和比较方法如下:  $t = \frac{|\bar{x} - \mu_0|}{s/\sqrt{n}}$ , 自由度  $f=n-1$ ,  $n$  为检测次数,  $\alpha=0.05$ 。查  $t$  分布表得  $t_{0.05}(f)$ 。如果  $t \leq t_{0.05}(f)$ , 则检测结果平均值与接受参考值之间无显著性差异,检测结果准确可靠。

$t > t_{0.05}(f)$ , 则检测结果平均值与接受参考值存在显著性差异, 检测结果不准确。

### 3.3 几种检出限表达方法

#### 3.3.1 校准曲线估算法

根据 GB/T 17378.2-2007<sup>[7]</sup>分别计算工作曲线 1 的剩余标准偏差  $S_y$ 、 $Y_C$ 、空白上限  $X_C$ 、 $Y_N$ 、检出限  $X_N$  如下。

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y})^2}{n-2}} = 0.00414, \bar{X} = 36.4, t_{(0.05,3)} =$$

2.353

$$Y_C = a + S_y t \sqrt{\frac{1}{N} + 1 + \frac{(0 - \bar{X})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = 0.01236,$$

$$X_C = \frac{S_y t}{b} \sqrt{\frac{1}{N} + 1 + \frac{(0 - \bar{X})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = 5.89 \text{ ng/mL},$$

$$Y_N = a + 2S_y t \sqrt{\frac{1}{N} + 1 + \frac{(x_c - \bar{X})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = 0.02337,$$

$$X_N = 2 \frac{S_y t}{b} \sqrt{\frac{1}{N} + 1 + \frac{(x_c - \bar{X})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = 10.75 \text{ ng/mL}$$

#### 3.3.2 空白标准偏差法( $C_L = KS \frac{c}{\bar{X}}$ 法)

由于气质分析方法空白值测定结果接近于 0, 在空白处, 仪器检测不到信号, 所以配制毒死蜱浓度为 0.5 ng/mL 的草莓基质样品作为加强空白。测定其响应信号, 根据工作曲线 1 计算样品中毒死蜱含量。结果见表 4。

进行  $t$  检验并计算检出限:

$\bar{X} = 0.936 \text{ ng/mL}$ ,  $S = 0.165$ ,  $t = 11.82$ , 查  $t$  值表  $t_{0.05}(19) = 2.093$ ,  $\bar{X}$  与接受参考值比较, 有显著性差异, 说明在浓度为 0.5 ng/mL 处检不准。

根据  $C_L = KS \frac{c}{\bar{X}}$ ,  $k = 2.093$ (式中  $C_L$  为检出限;  $S$  为样品测量结果标准差;  $c$  为样品含量值;  $\bar{X}$  为样品测

量结果均值), 计算得出  $C_L = 0.18 \text{ ng/mL}$ 。

#### 3.3.3 $3S_0$ 法

“单一实验室分析方法确认一致性指南”<sup>[4]</sup>要求, 使用  $S_0$  精密度评估应基于在典型的基质空白或低水平材料中被分析物浓度至少经过 6 次单独的完整测定, 不去除零或负值结果, 近似的检测限计算为  $3S_0$ 。根据表 4 中的数据, 计算得出:

$$C_L = 3S_0 = 3 \times 0.165 = 0.50 \text{ ng/mL}.$$

#### 3.3.4 信噪比法

以草莓为基质配制浓度为 2、1.7、1.5、1.3、1.1、0 ng/mL 的样品。各浓度点测定 6 次, 记录毒死蜱的峰高、噪音、信噪比等信号, 根据工作曲线 1 计算样品中毒死蜱含量、标准偏差和  $t$  值。结果见表 5。

表 4 毒死蜱浓度为 0.5 ng/mL 样品的检测数据  
Table 4 The test data of chlorpyrifos concentration 0.5 ng/mL in samples

序号	峰面积比( $\times 10^{-3}$ )	信噪比	计算结果(ng/mL)
1	2.255	1.2	0.79
2	2.825	1.4	1.06
3	2.320	1.2	0.82
4	2.160	1.3	0.74
5	2.484	1.5	0.90
6	2.237	1.5	0.84
7	2.866	1.3	1.08
8	2.326	1.3	0.82
9	3.095	1.3	1.19
10	3.097	1.2	1.19
11	2.192	1.2	0.76
12	2.726	1.3	1.01
13	2.860	1.4	1.08
14	3.020	1.5	1.15
15	3.025	1.4	1.15
16	2.656	1.3	0.98
17	2.410	1.5	0.86
18	2.301	1.1	0.81
19	2.302	1.3	0.81
20	2.019	1.3	0.68

表 5 草莓基质毒死蜱各浓度样品检测数据( $n=6$ )

Table 5 The test data of chlorpyrifos of different concentrations in the strawberry matrix( $n=6$ )

序号	浓度(ng/mL)	平均信噪比	平均峰面积比 ( $\times 10^{-3}$ )	计算结果(ng/mL)	标准偏差 $s$	$t$
1	0	0.42	0	0	0	0
2	1.1	1.72	3.04	1.17	0.133	1.29
3	1.3	2.42	3.49	1.38	0.122	1.61
4	1.5	3.25	3.66	1.46	0.141	0.70
5	1.7	4.07	4.30	2.11	0.109	0.67
6	2	4.75	5.03	1.76	0.220	2.47

按照 3.2 的方法比较检测结果的平均值与添加的标准溶液浓度是否有显著性差异。置信水平  $\alpha=0.05$ , 自由度  $f=5$ , 查双尾  $t$  分布表得  $t_{(0.05), 5}=2.571$ 。

由表 5 可以看出, 1.1~2.0 ng/mL 范围的几个浓度点,  $t$  检验都无显著性差异, 说明使用本方法, 检测浓度低至 1.1 ng/mL 都能获得准确可靠的检测。

但用质谱检测, 尤其是检测低浓度目标组份时, 首先要保证能准确定性, 在此基础上才能准确定量。为确证是否为毒死蜱产生的峰, 给出浓度为 1.3 ng/mL 和 1.5 ng/mL 的总离子流图和丰度图, 见图 1~4。

图 1 和图 2 表明在保留时间 11.50 处有一个明显的峰, 图 3 和图 4 也看出相应的离子丰度, 其中 314 定性离子相对丰度分别是 41% 和 63%; 199 定性离子相对丰度分别是 98% 和 100%。根据“贯彻执行 96/23/EC 关于分析方法和结果解释的决议”<sup>[5]</sup>的要求, 314 定性离子相对丰度应在 60.8%~91.2%、199 定性离子相对丰度应大于 79.2% 时, 才能满足准确定性的要求。毒死蜱浓度为 1.3 ng/mL 时质谱图中 314 定性离子相对丰度只有 41%, 不能确认为毒死蜱所产生的离子峰; 毒死蜱浓度为 1.5 ng/mL 的 314、199 定性离子相对丰度满足要求, 基本能定性, 此时信噪比为 3:1, 据此确定本方法的检出限为 1.5 ng/mL。

### 3.4 各种检出限计算方法的比较

整理前述 4 种方法得到的检出限见表 6。

表 6 不同检出限表达方法

Table 6 The expression method of different detection limits

表达方法	检出限 (ng/mL)
校准曲线估算法	10.75
空白 $KS \frac{c}{\bar{X}}$ 法	0.18
空白 3 倍标准差法	0.50
信噪比法	1.5

空白  $KS \frac{c}{\bar{X}}$  法和空白  $3S_0$  法都是在毒死蜱浓度为 0.5 ng/mL 时计算得到的检出限 ( $\leq 0.5$  ng/mL)。表 4 的分析结果表明, 在毒死蜱浓度为 0.5 ng/mL 这个点不能准确检测。那么空白  $KS \frac{c}{\bar{X}}$  法和空白  $3S_0$  法得到的检出限都不可靠, 没有实际运用价值。与信噪比法得到的检出限比较, 工作曲线估算法得到的结果太高, 超出了方法准确检出的最低浓度点。所以 3 倍信

噪比法得到的检出限是可靠的。

## 4 讨论

从本研究的结果来看, 3 倍信噪比法用于表达气相色谱-质谱分析方法的检出限是合理的。

特定的分析步骤合理地检测出的最小分析信号应该是一定的, 即浓度或量应该是唯一的。在质谱分析中, 检出限的确定首先是建立在准确定性的基础上。

信噪比法测定检出限, 具有快速、直观、简单、准确的特点。以信噪比为 3:1 来确定检出限

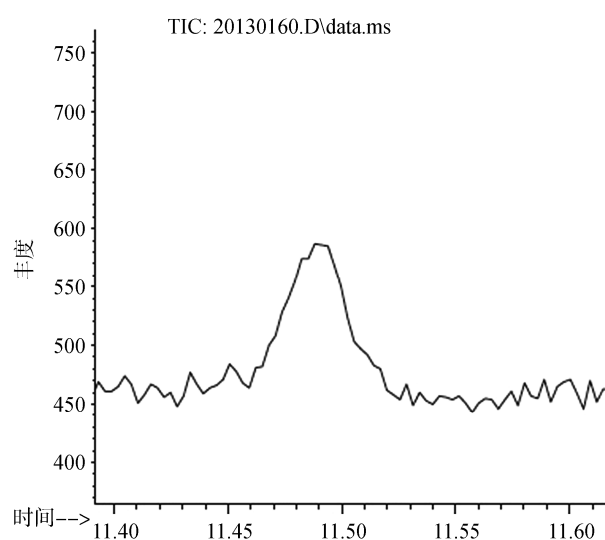


图 1 1.3 ng/mL 毒死蜱总离子图

Fig. 1 Total ion graph of chlorpyrifos(1.3 ng/mL)

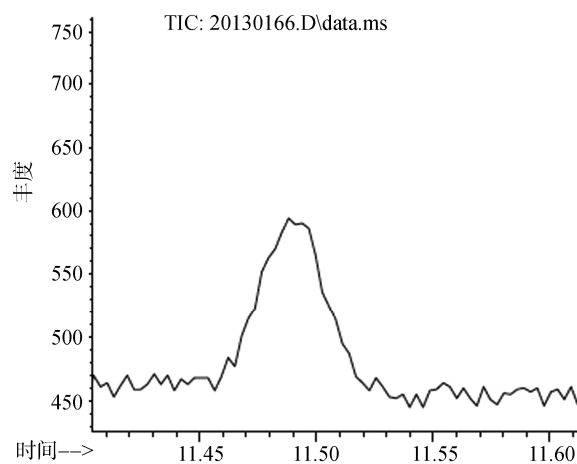


图 2 1.5 ng/mL 毒死蜱总离子图

Fig. 2 Total ion graph of chlorpyrifos(1.5 ng/mL)

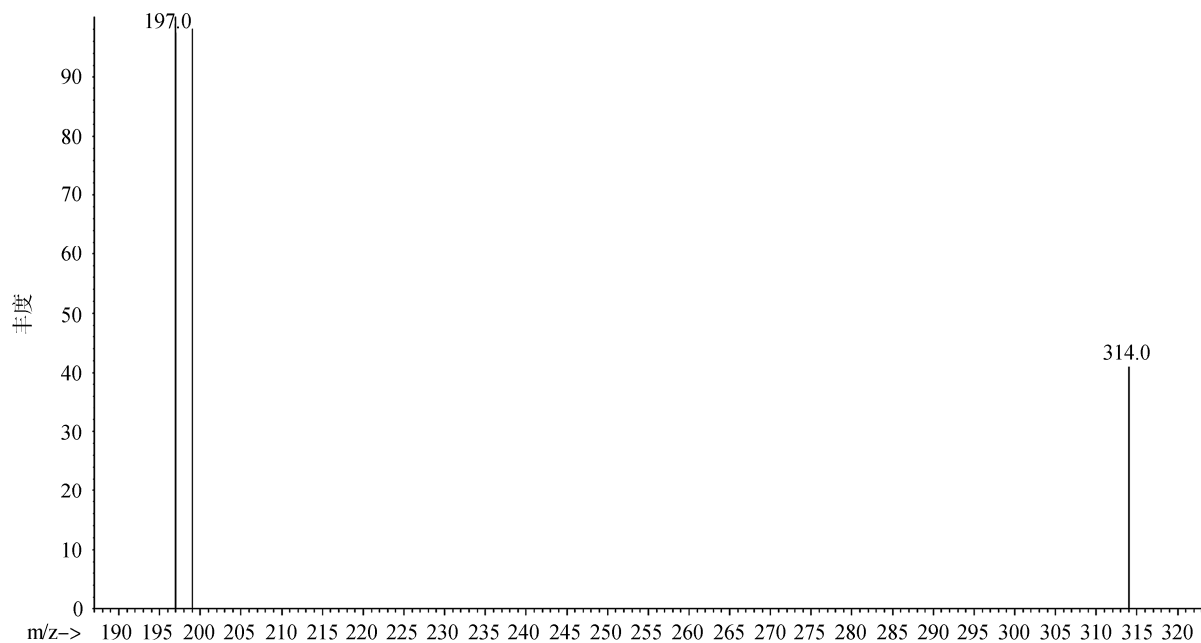


图 3 1.3 ng/mL 毒死蜱质谱图

Fig. 3 Mass spectrum of chlorpyrifos(1.3 ng/mL)



图 4 1.5 ng/mL 毒死蜱质谱图

Fig. 4 Mass spectrum of chlorpyrifos(1.5 ng/mL)

是对样品定性和定量要求的综合考虑。本研究中当信噪比低于 3:1 时, 很难确定是否为目标组分所产生的信号。遇到基质较复杂的样品时除依据信噪比是否不小于 3:1 外, 还应考虑丰度、峰宽、保留时间

等要求<sup>[5]</sup>, 保证响应信号为目标组份所产生。

#### 参考文献

- [1] IUPAC. IUPAC Compendium of Analytical Nomenclature [S].

- [2] 吕涛, 冯奇, 史利涛, 等. 分析方法检出限的确定[J]. 漯河职业技术学院学报, 2007, (10), 6(4): 191-192.  
Lv T, Feng Q, Shi LT, *et al.* Determination of the detection limits of water quality analysis method [J]. J Luohe Vocational Technol Coll, 2007, (10), 6(4): 191-192.
- [3] 鲁静, 付凌燕, 王旭. 质量分析方法验证中检出限和定量限检测方法探讨[J]. 中国药品标准, 2012, 13(1): 33-35.  
Lu J, Fu LY, Wang X. Discussion on the detecting methods for limit of detection and limit of quantification in validation of analytical method [J]. Drug Stand China, 2012, 13(1): 33-35.
- [4] 蒲家彬, 马永安, 刘彤. 检出限估算新探[J], 海洋通报, 1996(12), 15(6): 76-81.  
Pu JB, Ma YA, Liu T. Detection limit estimation of new agent [J]. Mar Sci Bull, 1996(12), 15(6): 76-81.
- [5] 焦红. 食品化学实验室质量控制国际指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2011.  
Jiao H. International Guidelines of Quality Control in the process of Food Chemical Detecting [M]. Beijing: Science Press, 2011.
- [6] NY/T1380-2007 蔬菜、水果中 51 种农药多残留的测定气相色谱-质谱法[S].  
NY/T1380-2007 Determination of 51 pesticides residues in fruits and vegetables GC-MS [S].
- [7] GB/T17378.2-2007 海洋监测规范第 2 部分 数据处理与分析质量控制[S].  
GB/T17378.2-2007 The specification for marine monitoring-part 2: Data processing and quality control of analysis [S].
- [8] 倪永年. 化学计量学在分析化学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 2004.  
Ni YN. The Applications of Chemo-metrics in Analytical Chemistry [M]. Beijing: Science Press, 2004.

(责任编辑: 佟丽)

### 作者简介



范志刚, 质量工程师, 主要研究方向为分析检测。  
E-mail: 915137545@qq.com