

液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中8种大环内酯类药物残留的不确定度评定

申雪丽^{1,2}, 陈瑞¹, 周靓静², 莫卫民¹, 钱鸣蓉², 吴俐勤^{2*}

(1. 浙江工业大学化学工程学院, 杭州 310014; 2. 浙江省农业科学院农产品质量标准研究所, 杭州 310021)

摘要: **目的** 对液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)测定蜂蜜中8种大环内酯类药物残留的测量不确定度进行评定。**方法** 根据JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》,对LC-MS/MS法测定蜂蜜中大环内酯类药物残留的测量不确定度进行评定,建立数学模型,确定不确定度的来源和大小,最终进行合成和扩展。**结果** 本方法中测量不确定度的主要来源为校准曲线拟合、仪器的定量校准和回收率的精密度。当包含因子 $k=2$ 时,螺旋霉素、替米考星、竹桃霉素、红霉素、泰乐菌素、吉他霉素、交沙霉素、罗红霉素的测定结果分别为: (9.02 ± 0.81) 、 (9.26 ± 0.63) 、 (9.79 ± 0.68) 、 (9.47 ± 0.59) 、 (9.75 ± 0.82) 、 (9.16 ± 0.70) 、 (9.59 ± 0.60) 、 (9.84 ± 0.68) $\mu\text{g/kg}$ 。**结论** 本方法可为评定食品源中大环内酯类药物残留量的测定结果和方法的可靠性提供科学依据;在实际检测过程中,痕量残留分析要得到精确、可靠的测量结果,需要有良好的仪器维护、完善的样品前处理过程和实验人员的精准操作。

关键词: 不确定度; 大环内酯类药物; 液相色谱-串联质谱法; 蜂蜜

Uncertainty evaluation for determination of 8 kinds of macrolide residues in honey by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

SHEN Xue-Li^{1,2}, CHEN Rui^{1,2}, ZHOU Liang-Jing², MO Wei-Min¹, QIAN Ming-Rong², WU Li-Qin^{2*}

(1. College of Chemical Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2. Institute of Quality and Standard on Agricultural Products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the measurement uncertainty for determination of macrolide residues in honey by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** According to JJF1059.1-2012 *Evaluation and expression of uncertainty in measurement*, the measurement uncertainty for determination of macrolide residues in honey by LC-MS/MS was evaluated, mathematical model was established, and sources and sizes of uncertainty were also analyzed. Finally, the synthetic and expanded uncertainties were calculated. **Results** The major sources of uncertainty were calibration curves fitting, quantitative calibration of instrument and precision of recovery. When including factor was $k=2$, determination results of spiramycin, tilmicin, oleandomycin, erythromycin, tylosin, kitasamycin, josamycin and roxithromycin were (9.02 ± 0.81) , (9.26 ± 0.63) , (9.79 ± 0.68) , (9.47 ± 0.59) , (9.75 ± 0.82) , (9.16 ± 0.70) , (9.59 ± 0.60) , (9.84 ± 0.68) $\mu\text{g/kg}$, respectively. **Conclusion** The established

基金项目: 农业行业标准修订项目(201573)

Fund: Supported by Formulation and Revision of Agricultural Industry Criteria (201573)

*通讯作者: 吴俐勤, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为药物残留分析与食品安全。E-mail: wuliqin@mail.zaas.ac.cn

*Corresponding author: WU Li-Qin, Master, Associate Researcher, Institute of Quality and Standard on Agricultural Products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China. E-mail: wuliqin@mail.zaas.ac.cn

method can provide scientific basis for evaluation of the reliability of the measurement methods and results of macrolide residues in food. In order to get accurate and reliable measurement results, it is necessary for trace residual analysis to have good equipment maintenance, perfect sample pretreatment process and personnel's precise operation in the process of the actual detection.

KEY WORDS: uncertainty; macrolide; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; honey

1 引言

大环内酯类抗生素属于中谱抗菌药, 被广泛用于畜禽、水产养殖及养蜂业中。由于人们不当的使用这些抗生素, 导致动物源食品中大环内酯类药物的残留及细菌耐药性的增加, 对人们的健康产生了危害。目前关于动物源食品中大环内酯类药物残留检测方法的相关标准主要为液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[1-5]。为了加强兽药残留监控工作, 保证动物性食品卫生安全, 农业部 2002 年 235 号公告中^[6]规定了动物性食品中兽药最高残留限量, 其中规定红霉素、吉他霉素、泰乐菌素不得超过 200 $\mu\text{g/kg}$, 替米考星不得超过 1500 $\mu\text{g/kg}$ 。

测量结果的不确定度是测量结果可靠程度的一种定量表述, 在测量报告中应包含被测量的值以及相关的测量不确定度, 测量结果才是完整并有意义的。本研究参照 JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》^[7]和 JJF1135-2005《化学分析测量不确定度评定》^[8], 借鉴国内外已报道的食品中药物残留的不确定度文献^[9-14], 通过 GB/T 23408-2009^[15]《蜂蜜中大环内酯类药物残留量测定液相色谱-质谱/质谱法》评定蜂蜜中的 8 种大环内酯类药物残留量的不确定度, 找出不确定度的主要来源, 为实验室质控提供依据。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

蜂蜜样品: 市场购买。

8 种大环内酯药物标准品: 红霉素(纯度 95.3%)、竹桃霉素(纯度 98%)、螺旋霉素 I(纯度 97%)、替米考星(纯度 95%)、交沙霉素(纯度 95%)、罗红霉素(纯度 98%)、泰乐菌素(纯度 96%)、吉他霉素(纯度 92%), 均购自德国 Dr.Ehrenstorfer 公司。

固相萃取柱: Oasis®HLB Cartridges (200 mg /6 mL, 美国 Waters 公司)。甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 甲酸铵(分析纯, Acros Organics 公司); 甲酸(色谱纯, 美国 ACS 公司); 碳酸氢钠(分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司); 无水碳酸钠(分析纯, 温州市化学用料厂); 实验用水: Milli-Q 超纯水。

2.2 仪器与设备

Ultimate-TSQ Quantum Discovery 质谱仪(美国赛默飞世尔科技公司); BS 224S 型电子分析天平、BS 2202S 型电子天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司); TALBOYS 230V 涡旋混合器(美国 Troemner 公司); MTN-2800D 型氮吹仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); BIOFUGE PRIMO R 型高速离心机(美国赛默飞世尔科技公司)。

2.3 样品前处理方法

参照 GB/T 23408-2009《蜂蜜中大环内酯类药物残留量测定 液相色谱-质谱/质谱法》进行。

2.4 仪器条件

色谱条件: 色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₈ (150 mm×2.1 mm, 3.5 μm); 流速: 0.25 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 5 μL ; 流动相: A 为 2 mmol/L 甲酸铵水溶液(含 0.1% 甲酸), B 为甲醇; 洗脱程序: 0~1.0 min, 90%A; 1.0~8.0 min, 90%A~25%A; 8.0~8.1 min, 25%A~5%A; 8.1~14 min, 5%A; 14~14.1 min, 5%A~90%A; 14.1~20 min, 90%A。

质谱条件: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI+); 扫描方式为多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 喷雾电压: 4.5 kV; 离子源温度: 390 $^{\circ}\text{C}$; 雾化气(普通氮气): 0.7 L/h; 气帘气流量(普通氮气): 0.2 L/h; 碰撞气为氩气: 1.5 mtorr。具体参数见表 1。

2.5 数学模型

$$C = \frac{c \times V}{m} \quad (1)$$

式中: C 为试样中被测组分的残留量, $\mu\text{g/kg}$; c 为回归方程拟合得样品溶液的浓度, ng/mL ; V 为试样定容体积, mL ; m 为试样溶液中所代表的试样的质量, g 。

3 结果与分析

3.1 不确定度来源分析

从实际测量过程和测量模型分析, 测量结果的不确定度的主要来源为从校正曲线得到的试样溶液中被测组分的浓度 c 引入的不确定度; 样品称量 m 引入的不确定度; 试样溶液最终定容体积 V 引入的不确定度; 加标回收率 R 引入的不确定度; LC-MS/MS 仪器定量校准因子 f_Q 引入的不确定度。

表 1 8 种化合物的保留时间及质谱分析参数
Table 1 Retention time and MS parameters of 8 kinds of target compounds

化合物	分子量	保留时间(min)	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	碰撞能量 (V)
螺旋霉素	843.1	10.88	422.3	174.1, 540.3*	16, 14
替米考星	869.1	11.79	435.3	522.5, 695.5*	21, 16
竹桃霉素	687.9	12.22	688.5	158.1, 544.4*	24, 18
红霉素	733.9	12.78	734.6	158.1, 576.4*	25, 18
泰乐菌素	915.8	12.71	916.7	174.0*, 772.6	37, 31
吉他霉素	771.9	12.81	772.6	109.0, 174.1*	35, 32
交沙霉素	827.9	13.15	828.6	109.0, 174.0*	33, 31
罗红霉素	837.0	13.32	837.8	158.0, 679.5*	31, 26

注: *定量离子

表 2 标准品纯度、称样量的不确定度
Table 2 Uncertainties from standard purity and sample weighting

化合物	纯度 <i>p</i> /%	纯度误差 <i>p</i> ₁ /%	称样量 <i>M</i> /mg	<i>u</i> (<i>p</i>)	<i>u</i> _{rel} (<i>p</i>)	<i>u</i> (<i>M</i>)	<i>u</i> _{rel} (<i>M</i>)
螺旋霉素	97	1	10.9	0.57735	0.00595	0.0583	0.00535
替米考星	95	2	9.8	1.15470	0.01215	0.0583	0.00595
竹桃霉素	98	1	10.3	0.57735	0.00589	0.0583	0.00566
红霉素	95.3	1	10.3	0.57735	0.00606	0.0583	0.00566
泰乐菌素	96	2	10.5	1.15470	0.01203	0.0583	0.00555
吉他霉素	92	2	10.2	1.15470	0.01255	0.0583	0.00572
交沙霉素	95	1	10.9	0.57735	0.00608	0.0583	0.00535
罗红霉素	98	1	9.9	0.57735	0.00589	0.0583	0.00589

由于各个分量彼此不相关, 所以 *C* 的相对合成标准不确定度可表示为:

$$u_{rel}(C) = \sqrt{\frac{[u_{rel}(c)]^2 + [u_{rel}(V)]^2 + [u_{rel}(f_Q)]^2}{[u_{rel}(R)]^2 + [u_{rel}(m)]^2}} \quad (2)$$

3.2 各分量不确定度评定

3.2.1 从校正曲线得到的试样溶液中被测组分的浓度 *c* 引入的不确定度 *u*_{rel}(*c*)

校正曲线方程拟合得到的样品浓度的不确定度来源主要有标准品浓度引起的不确定度及回归方程引入的不确定度。

(1) 标准品浓度引起的不确定度

标准品浓度引起的不确定度来源主要有标准品纯度、标准品称量、储备液配制和稀释。

标准品纯度 *p* 引入的不确定度 *u*_{rel}(*p*): 根据标准品证书可知 8 种化合物的纯度 *p* 和误差范围 *p*₁, 按照均匀分布

计算, 取 *k*=√3, 则 *u*(*p*)=*p*₁/√3, *u*_{rel}(*p*)=*u*(*p*)/*p*。由纯度引入的不确定度和相对不确定度列于表 2。

标准品称量的不确定度 *u*_{rel}(*M*): 标准品称量的不确定度来自 2 个方面: 第一, 称量变动性, 可以通过反复称量或根据历史记载给出变动性标准偏差为 0.03 mg; 第二, 天平校正产生的不确定度, 按检定证书给出在 95%置信概率时为 ±0.1 mg, 根据正态分布换算成标准偏差为 0.1/1.96=0.05 mg, 则标准品称样量的标准不确定度为 *u*(*M*)=√[(0.03)²+(0.05)²]=0.0583 mg。则相对标准不确定度为 *u*_{rel}(*M*)=*u*_{*M*}/*M*, 结果列于表 2 中。

标准储备液的配制: 称取适量标样, 用甲醇定容至 100 mL; 储备液稀释: 用甲醇:水 (2:8, *V*:*V*) 将储备液逐步稀释至 0.1 mg/mL。储备液的稀释见表 3。

量器刻度误差参考 JJG196-2006《常用玻璃器检定规程》的要求, 按照均匀分布处理, 玻璃量器引入的不确定度见表 4。

表 3 储备液的稀释
Table 3 Dilution of stock solution

标准工作液质量浓度(mg/mL)	吸取液质量浓度(mg/mL)	移液管体积(mL)	吸取量(mL)	定容体积(mL)
5	100	5	5	100
1	5	10	10	50
0.1	1	5	5	50

表 4 玻璃量器引入的不确定度
Table 4 Uncertainties from glass container

玻璃量器	最大允许误差(mL)	相对标准不确定度
100 mL 容量瓶 A 级 (使用 2 次) V_1	± 0.10	5.774×10^{-4}
50 mL 容量瓶 A 级 (使用 2 次) V_2	± 0.05	5.774×10^{-4}
10 mL 移液管 A 级 V_3	± 0.05	2.887×10^{-3}
5 mL 移液管 A 级 (使用 2 次) V_4	± 0.025	2.887×10^{-3}

温度变化引起溶剂体积改变引入的不确定度: 玻璃量器受温度变化影响很小, 可忽略不计, 但溶剂受温度的影响不能忽略。单标储备液用甲醇定容; 标准中间液用甲醇:水 (2:8, V_1/V_2) 定容, 主要考虑水的体积膨胀系数。20 ℃ 时甲醇的体积膨胀系数 α 为 $1.2 \times 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, 水的体积膨胀系数 α 为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, 实验室温度在 $(20 \pm 4) \text{ }^\circ\text{C}$ 范围变动, 按照均匀分布, 则每次定容温度变化引起溶剂体积改变的标准不确定度为 $u(V_x) = (\Delta V) / \sqrt{3}$, $\Delta V = V \times \Delta T \times \alpha$, 相对标准不确定度见表 5。

(2) 校准曲线方程引入的不确定度

用蜂蜜空白提取液配制 6 档浓度 5、12.5、20、50、100、250 ng/mL 的基质标准匹配溶液, 每档浓度的标液测定 3 次, 得到相应的峰面积, 用最小二乘法进行拟合, 得到线性回归方程。

取一阳性样品, 进行 6 次测量, 根据回归方程求出试样浓度, 结果见表 6, 则回归方程引入的不确定度为:

$$u(x) = \frac{S(A)}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(x - \bar{X}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X}_i)^2}} \quad (3)$$

式中 $S(A)$ 为标准溶液峰面积残差的标准差, 计算方法

$$S(A) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_i - (a + bX_i)]^2}{n - 2}}; a \text{ 为校正曲线截距; } b \text{ 为校正曲线斜率; } p \text{ 为样品测量次数, 本实验 } p=6; n \text{ 为标准溶液测量次数, 本实验中 } n=6 \times 3=18; x \text{ 为样品浓度, ng/mL; } X_i \text{ 系列标准液的浓度, ng/mL; } \bar{X}_i \text{ 标准溶液平均浓度, ng/mL,}$$

$\bar{X}_i = \sum_{i=1}^6 C_i / 6 = 77.92, \sum_{i=1}^6 (X_i - \bar{X}_i)^2 = 45005$, 校正曲线方

程引入的不确定度如表 6。

3.2.2 样品称样量引入的不确定

使用精度为 0.01 g 的天平称样 5.01 g, 其最大允许误差为 $\pm 0.05 \text{ g}$, 是 B 类不确定度评定, 根据均匀分布则其标准不确定度为: $u(m_1) = 0.05 / \sqrt{3} = 0.0289 \text{ g}$; 该天平的重复性误差为 $\pm 0.01 \text{ g}$, 是 A 类不确定度评定, 根据正态分布换算成标准偏差为: $u(m_2) = 0.01 / 1.96 = 0.00510 \text{ g}$, 由于 2 个分量独立不相关, 则合成不确定度为: $u(m) = \sqrt{[u(m_1)]^2 + [u(m_2)]^2} = 0.0293 \text{ g}$; 则相对合成标准不确定度为: $u_{rel}(m) = 0.0294 / 5.01 = 0.00585$ 。

3.2.3 方法回收率引入的不确定度

选择阴性试样进行加标回收试验, 加标浓度为 10 $\mu\text{g/kg}$ 下, 做 6 组平行试验, 将平均回收率 R , 标准偏差 $S(R)$ 结果代入公式 $u(R) = S(R) / \sqrt{6}$ 和 $u_{rel}(R) = u(R) / R$, 计算得到回收率引入的标准不确定度和相对标准不确定度, 见表 7。

3.2.4 最终定容体积引入的不确定度

样品经提取、净化、吹干后, 加入 2 mL 定容液, 使用 A 级 2 mL 的移液管, 其最大允许误差为 $\pm 0.012 \text{ mL}$, 按照均匀分布, 则 2 mL 移液管刻度误差引入的相对标准不确定度为 $u_{rel}(V_v) = 0.012 / (2 \times \sqrt{3}) = 0.00346$; 水的体积膨胀系数 α 为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, 实验室温度在 $(20 \pm 4) \text{ }^\circ\text{C}$ 范围变动, 按照均匀分布, 由温度变化引起溶剂体积改变的相对标准不确定度为 $u_{rel}(V_T) = 4 \times 2.1 \times 10^{-4} / (\sqrt{3}) = 0.000485$ 。

$$\text{所以 } u_{rel}(V) = \sqrt{[u_{rel}(V_v)]^2 + [u_{rel}(V_T)]^2} = 0.00349。$$

3.2.5 仪器定量校准引入的不确定度

根据仪器检定证书报告: $u_{rel}(f_Q) = 2\% = 0.02$ 。

3.3 合成不确定度

8 种大环内酯类药物的各分量的不确定度列于表 8 中。

由 公 式

$$u_{rel}(C)=\sqrt{\left[u_{rel}(c)\right]^2+\left[u_{rel}(V)\right]^2+\left[u_{rel}\left(f_Q\right)\right]^2+\left[u_{rel}(R)\right]^2+\left[u_{rel}(m)\right]^2}$$
 计算可得

8 种大环内酯类药物的合成不确定度，结果列于表 9 中。

3.4 扩展不确定度及测量结果

根据 JJF1059.1-2012，取包含因子 $k=2$ ，则大环内酯类药物含量的扩展不确定度 $U=u_{rel}(C)\times C\times 2$ ，计算得到 LC-MS/MS 法测定蜂蜜中 8 种大环内酯类药物残留量的结果见表 9。

表 5 温度变化引入的不确定度
Table 5 Uncertainties from temperature variation

玻璃量器		$\Delta V / \text{mL}$	相对标准不确定度
100 mL 容量瓶 A 级 (甲醇定容)	V_1	$100\times 4\times 1.2\times 10^{-3}$	2.771×10^{-3}
100 mL 容量瓶 A 级 (甲醇+水)		$100\times 4\times 2.1\times 10^{-4}$	4.850×10^{-4}
50 mL 容量瓶 A 级 (甲醇+水, 使用 2 次) V_2		$50\times 4\times 2.1\times 10^{-4}$	4.850×10^{-4}
10 mL 移液管 A 级 (吸甲醇+水) V_3		$10\times 4\times 2.1\times 10^{-4}$	4.850×10^{-4}
5 mL 移液管 A 级 (吸甲醇+水, 使用 2 次) V_4		$5\times 4\times 2.1\times 10^{-4}$	4.850×10^{-4}

表 6 校正曲线方程引入的不确定度
Table 6 Uncertainties from calibration curve

化合物	校正曲线方程 $Y=bX+a$	相关系数 (r^2)	x (ng/mL)	$\bar{X}_i$ (ng/mL)	$S(A)$	$u_{rel}(x)$
螺旋霉素	$Y=30862X+42026$	0.9991	22.55	77.92	3.309×10^4	0.02562
替米考星	$Y=51425X+74155$	0.9998	23.15	77.92	3.566×10^4	0.01610
竹桃霉素	$Y=145640X+3082824$	0.9998	24.48	77.92	8.299×10^4	0.01244
红霉素	$Y=69605X+145515$	0.9999	23.68	77.92	4.826×10^4	0.01570
泰乐菌素	$Y=14275X+14468$	0.9998	24.38	77.92	9.897×10^3	0.01521
吉他霉素	$Y=14016X+19073$	0.9996	22.90	77.92	9.731×10^3	0.01631
交沙霉素	$Y=34946X+44409$	0.9999	23.98	77.92	2.423×10^4	0.01549
罗红霉素	$Y=71643X+8736$	0.9995	24.60	77.92	4.955×10^4	0.01502

表 7 回收率引入的不确定度
Table 7 Uncertainties from recovery

化合物	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R	$S(R)$	$u(R)$	$u_{rel}(R)$
螺旋霉素	88.1	102.4	98.9	91.0	89.3	90	93.3	5.9	2.404	0.02577
替米考星	92.3	95.6	98.4	97.8	97.3	96.6	96.3	2.2	0.899	0.00933
竹桃霉素	97.5	88.0	94.0	91.9	98.6	98.2	94.7	4.2	1.718	0.01814
红霉素	96.9	99.3	97.9	98.8	95.7	98.7	97.9	1.4	0.555	0.00567
泰乐菌素	88.4	103.7	95.9	96.7	87.8	89.7	93.7	6.2	2.535	0.02705
吉他霉素	88.4	99.6	95.1	92.6	100.2	96.1	95.3	4.4	1.808	0.01897
交沙霉素	95.7	97.8	98.8	96.9	95.5	94.2	96.5	1.7	0.685	0.00710
罗红霉素	96.4	90.1	98.2	92.9	97.9	100.1	95.9	3.7	1.525	0.01590

表 8 8 种大环内酯类化合物的各分量的相对不确定度
Table 8 Uncertainty from each component of 8 kinds of macrolides

不确定度分量	不确定度来源	螺旋霉素	替米考星	竹桃霉素	红霉素	泰乐菌素	吉他霉素	交沙霉素	罗红霉素
$u_{rel}(c)$	标准品纯度	0.00595	0.01215	0.00589	0.00606	0.01203	0.01255	0.00608	0.00589
	标准品称量	0.00535	0.00595	0.00566	0.00566	0.00555	0.00572	0.00535	0.00589
	储备液配制	0.00335	0.00335	0.00335	0.00335	0.00335	0.00335	0.00335	0.00335
	储备液稀释	0.01330	0.01330	0.01330	0.01330	0.01330	0.01330	0.01330	0.01330
	校正曲线拟合	0.02562	0.01610	0.01244	0.01570	0.01521	0.01631	0.01549	0.01502
$u_{rel}(m)$	样品称量	0.00585	0.00585	0.00585	0.00585	0.00585	0.00585	0.00585	0.00585
$u_{rel}(R)$	测量回收率	0.02577	0.00933	0.01814	0.00567	0.02705	0.01897	0.00710	0.01590
$u_{rel}(V)$	定容体积	0.00349	0.00349	0.00349	0.00349	0.00349	0.00349	0.00349	0.00349
$u_{rel}(f_Q)$	仪器定量校正	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

表 9 不确定度评定结果
Table 9 Evaluation results of uncertainty

项目	螺旋霉素	替米考星	竹桃霉素	红霉素	泰乐菌素	吉他霉素	交沙霉素	罗红霉素
合成不确定度 $u_{rel}(C)$	0.0447	0.0338	0.0341	0.0310	0.0419	0.0378	0.0312	0.0341
实测值 C ($\mu\text{g/kg}$)	9.02	9.26	9.79	9.47	9.75	9.16	9.59	9.84
扩展不确定度 U ($\mu\text{g/kg}$)	0.81	0.63	0.67	0.59	0.82	0.69	0.60	0.67
检测结果($k=2$)($\mu\text{g/kg}$)	9.02±0.81	9.26±0.63	9.79±0.68	9.47±0.59	9.75±0.82	9.16±0.70	9.59±0.60	9.84±0.68

4 结 论

本研究评定了 LC-MS/MS 法测定蜂蜜中 8 种大环内酯类药物残留的不确定度, 通过对实验室温度变化、标样配制、标样稀释、校正曲线拟合、称样量、回收率、定容体积、仪器定量校正等因素的考虑, 发现校正曲线拟合、储备液稀释、测量回收率以及仪器的定量校正为测定结果不确定度的主要因素。因此在实际检测过程中, 痕量残留分析要得到精确、可靠的测量结果, 要有良好的仪器维护、完善的样品前处理过程和实验人员的精准操作。

参考文献

[1] SN/T 1777.2-2007 动物源性食品中大环内酯类抗生素残留测定方法 第 2 部分: 高效液相色谱串联质谱法[S].
SN/T 1777.2-2007 Determination of macrolide antibiotic residues in animal-derived food—Part 2: LC-MS/MS method [S].

[2] GB/T 22946-2008 蜂王浆和蜂王浆冻干粉中林可霉素、红霉素、替米考星、泰乐菌素、螺旋霉素、克林霉素、吉他霉素、交沙霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
GB/T 22946-2008 Determination of lincomycin, erythromycin, tilmicosin, tylosin, spiramycin, clindamycin, kitasamycin and josamycin residues in royal jelly and lyophilized royal jelly powder-LC-MS/MS method [S].

[3] SN/T 2062-2008 进出口蜂王浆中大环内酯类抗生素残留量的检测方法

液相色谱串联质谱法[S].
SN/T 2062-2008 Determination of macrolide antibiotics residues in royal jelly for import and export LC-MS/MS method [S].

[4] GB/T 20762-2006 畜禽肉中林可霉素、竹桃霉素、红霉素、替米考星、泰乐菌素、克林霉素、螺旋霉素、吉他霉素、交沙霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
GB/T 20762-2006 Method for the determination of lincomycin, oleandomycin, erythromycin, tilmicosin, tylosin, clindamycin, spiramycin, kitasamycin and josamycin residues in livestock and poultry muscles-LC-MS/MS method [S].

[5] GB/T 22964-2008 河豚鱼、鳗鱼中林可霉素、竹桃霉素、红霉素、替米考星、泰乐菌素、螺旋霉素、吉他霉素、交沙霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
GB/T 22964-2008 Determination of lincomycin, oleandomycin, erythromycin, tilmicosin, tylosin, spiramycin, kitasamycin and josamycin residues in fugu and eel-LC-MS/MS method [S].

[6] 中华人民共和国农业部 235 号公告, 动物性食品中兽药最高残留限量 [S].
The ministry of agriculture of the People's Republic of China announcement No.235, highest veterinary drug residues in animal foods limited [S].

[7] 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].

[8] 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].
- [9] 张燕, 徐幸, 郭启新, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中 3 种磺胺类药物残留不确定度的评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(1): 303-309.
- Zhang Y, Xu X, Guo QX, *et al.* Uncertainty evaluation of three sulfonamides residues in milk by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(1): 303-309.
- [10] 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.
- [11] 张岩岩, 尚岩岩, 赵杰, 等. 固相萃取高效液相色谱-串联质谱联用法测定蔬菜及其制品中苯甲酰胺类农药残留的不确定度评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 362-366.
- Zhang YY, Shang YY, Zhao J, *et al.* Uncertainty evaluation of benzoylurea pesticide residues in vegetables and vegetable products determined by solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(1): 362-366.
- [12] Pecorelli I, Bibi R, Fioroni L, *et al.* Sulfonamides residues analysis: evaluation of results dispersion at maximum residual limit by the expanded uncertainty and 2002/657/EC decision limit approaches [J]. Anal Chim Acta, 2005, 529(1): 15-20.
- [13] Valse AC, Molognoni L, Ploêncio LAD S, *et al.* A fast and simple LC-ESI-MS/MS method for detecting pyrrolizidine alkaloids in honey with full validation and measurement uncertainty [J]. Food Control, 2016, 67: 183-191.
- [14] Banerjee K, Oulkar DP, Dasgupta S, *et al.* Validation and uncertainty analysis of a multi-residue method for pesticides in grapes using ethyl acetate extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2007, 1173(1-2): 98-109.
- [15] GB/T 23408-2009 蜂蜜中大环内酯类药物残留量测定 液相色谱-质谱/质谱[S].
- GB/T 23408-2009 Determination of macrolides residues in honey-LC-MS/MS method [S].

(责任编辑: 姚 菲)

作者简介



申雪丽, 硕士生, 主要研究方向为药物残留分析与食品安全。
E-mail: xlishen@163.com



吴俐勤, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为药物残留分析与食品安全。
E-mail: wuliqin@mail.zaas.ac.cn