

# 米粉中六六六农药残留测定的能力验证研究

张会亮, 黄传峰, 孙姗姗, 丁宏, 曹进\*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

**摘要:** **目的** 设计组织米粉中六六六测定能力验证项目, 评价食品检验机构对有机氯农药残留的检测能力。**方法** 制备单一水平样品, 对参加实验室米粉中六六六测定结果进行稳健统计分析, 以稳健 Z 比分数评价实验室检测能力, 对实验操作记录进行技术分析。**结果** 在 95%置信水平下, 样品均匀性符合要求, 且至少在 2 个月内保持稳定, 满足能力验证计划要求。42 家实验室参加了本次计划, 满意结果数为 30 家, 满意率为 71.4%。**结论** 多数参加实验室对六六六农药残留检测结果满意, 部分实验室检测能力有待提高。

**关键词:** 能力验证; 米粉; 有机氯; 六六六; 稳健统计

## Proficiency testing on the determination of hexachlorocyclohexane in rice flour

ZHANG Hui-Liang, HUANG Chuan-Feng, SUN Shan-Shan, DING Hong, CAO Jin\*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT: Objective** To design and conduct the proficiency testing program (PTP) for determination of hexachlorocyclohexane (BHC) in rice flour, in order to evaluate the detection capacity of food inspection agencies on the residue of organochlorine pesticides. **Methods** The single-level test sample was prepared for this program. The results of determination of BHC in laboratory rice flour were analyzed by robust statistics and the proficiency of the participant laboratories was evaluated by Z score. **Results** The analysis showed that the samples were homogeneous and staying stable at least 2-month period at the confidence level of 95%, which met the requirements of PTP. A total of 42 laboratories participated in the PTP, among which 30 laboratories had satisfactory results, and the satisfaction rate was 71.4%. **Conclusion** The majority of participant laboratories are evaluated to have satisfactory proficiency with the determination of BHC, while some laboratories' testing capabilities need to be improved.

**KEY WORDS:** proficiency testing; rice flour; organochlorine; hexachlorocyclohexane; robust statistics

## 1 引言

有机氯类农药是历史上最早大规模使用的一类农药, 主要包括六六六(hexachlorocyclohexane, BHC)和滴滴涕(dichlorodiphenyltrichloroethane, DDT)。在世界范围内, 有机氯类农药对防治病虫害起到了积极作用, 但其极易吸附于土壤中并长期残留。据报道, 六六六在土壤中被分解

95%需最长时间约 20 年, DDT 则需 16~33 年<sup>[1]</sup>。我国于 1984 年停止使用有机氯农药, 至今土壤和蔬菜中的残留现象仍广泛存在, 例如兰州周边土壤中的六六六和滴滴涕检出率均为 100%<sup>[2]</sup>。一份对贵阳地区 50 份蔬菜中有机氯农药的调研显示检出率为 10%~44%,  $\gamma$ -六六六是主要的残留物之一<sup>[3]</sup>。一项 2010 年对西安 315 份蔬菜样品进行的检测报道,  $\beta$ -六六六的超标率达 4.8%<sup>[4]</sup>。可以预期, 今后较长一段时

\*通讯作者: 曹进, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: caojin@nifdc.org.cn

\*Corresponding author: CAO Jin, Researcher, National Institutes of Food and Drug Control, No.2, Tiantan Xili, Dongcheng District, Beijing 100050, China. E-mail: caojin@nifdc.org.cn

期内,食品中有机氯残留的现象仍然存在。

近年来,国家食品药品监管总局的抽检参数均涵盖了有机氯,并以六六六为代表性指标。例如 2017 年的食用农产品抽检计划中,六六六是蔬菜、水果、水产品和鲜蛋 4 个大类下,共 22 食品细类的抽检项目。可见,六六六的含量是食品日常监督检查的重要内容之一。为考查评价检测机构测定的准确性和数据一致性,促进该项目检验能力的提高,中国食品药品检定研究院组织实施了米粉中有机氯能力验证计划。

能力验证(proficiency testing, PT)是利用实验室间比对,按照预先制定的准则评价参加能力。根据 PT 计划内容,设计和制备样品,通过均匀性、稳定性评价,分发可靠样品,获得检测结果,评价参加者出具数据的可靠性,是 PT 计划的实施过程。向所有参加者分发均匀、稳定的样品是客观评价参加者能力的前提,因此,所用的样品必须进行均匀性和稳定性检验<sup>[5]</sup>。能力验证的结果可以多种形式体现,分析数据的统计方法应与数据类型及其统计分布相适应。

本计划由中国食品药品检定研究院组织,中检院食品检定所理化检测室负责实施。本文总结了本次 PT 计划的一系列工作,并对离群值进行了分析,为参加实验室提高其技术能力、改进质量管理体系,以及管理部门评价实验室能力提供参考。

## 2 材料与amp;方法

### 2.1 仪器与试剂

7890A 气相色谱仪, ECD 检测器(美国安捷伦公司); HP-5 气相色谱柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm, 安捷伦公司); Vortex-Genie2 涡旋混匀器(美国 Scientific Industries 公司); AL204 电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); KQ 3200DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)

石油醚(沸点 30~60 °C, 分析纯, 北京化工厂); 有机氯农药残留混合标准品溶液(农业部环境保护科研监测所); 硫酸(优级纯, 北京化工厂)。

### 2.2 样品的制备

本次能力验证使用单一浓度样品。制备过程以米粉(过 18 目筛)为基质, 将目标物 γ-六六六溶于石油醚, 与米

粉混合形成均匀浆液, 充分进行物理混合。后续经过低温回收溶剂, 制粒、过筛、干燥、整粒、总混等工序, 形成干燥粉末, 用棕色玻璃瓶带硅胶密封垫塑料盖包装, 每瓶 20 g, 常温保存, 作为能力验证样品。

## 2.3 测定方法

### 2.3.1 样品前处理方法

使用本次能力验证推荐的方法进行测定。准确称量米粉约 2.0 g 于 15 mL 离心管中, 加入 5 mL 石油醚, 超声提取 10 min, 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液至 10 mL 容量瓶中。再用 5 mL 石油醚重复提取残渣 1 次, 合并至容量瓶中, 补加石油醚至 10 mL。转移至 15 mL 离心管中, 缓慢加入 0.5 mL 浓硫酸, 缓慢振摇, 取上清液水洗至中性, 进行气相色谱测定。

### 2.3.2 仪器条件

载气: 氮气; 流速 1 mL/min; 柱温程序: 160 °C 保持 1 min, 5 °C/min 升温至 210 °C, 保持 12 min, 30 °C/min 升温至 270 °C, 保持 3 min。进样口和检测器温度均为 270 °C, 进样体积 1 μL, 分流比 5:1。

## 2.4 样品的均匀性和稳定性考察

给各参加实验室分发样品之前, 根据 CNAS-GL03:2006<sup>[6]</sup>, 对样品的均匀性和稳定性进行考察。均匀性考察从分装好的样品中随机抽取 15 份样品, 每个样品进行 2 次独立平行测定, 采用单因子方差分析法对样品进行检验; 稳定性考察是以均匀性测定结果作为第 1 次稳定性数据, 在样品的实际保存状态下, 分别在随后的第 4 周、第 8 周各随机抽取 3 瓶样品进行测定, 以此作为第 2、3 次稳定性数据, 考察时间覆盖了整个计划周期, 采用 *t* 检验法判定样品的稳定性<sup>[7]</sup>。

## 3 结果与分析

### 3.1 测定信息

#### 3.1.1 标准曲线与线性

量取 γ-六六六标准物质溶液, 配制成浓度分别为 6、12、18、30、60 g/L 的标准工作液, 进样 1 μL, 以峰面积为纵坐标, 浓度(μg/L)为横坐标, 测定标准曲线, 计算回归方程为:  $Y=29.90351X-1.8634033$  ( $r=0.9996$ )。

表 1 γ-六六六回收率和重复性  
Table 1 Recoveries and repeatability of γ-BHC

成分名称	添加量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	重复性 RSD(%)
γ-六六六	0.30	0.245	81.7	81.9	3.2
	0.30	0.253	84.3		
	0.30	0.247	82.3		
	0.30	0.233	77.7		
	0.30	0.251	83.7		

### 3.1.2 方法回收率和重复性考察

取用于制备本次能力验证样品的空白米粉基质进行加标实验, 加标水平与样品的设计浓度保持一致。进行 5 份平行加标实验, 测定  $\gamma$ -六六六的含量。计算回收率和结果的重复性 RSD。

### 3.2 样品均匀性和稳定性考察结果

对于 15 瓶样品共 30 次平行测定的结果进行单因素方差分析( $F$  检验), 当测定结果的  $F$  值  $< F_{\alpha}(\gamma_1, \gamma_2)$  时, 认为样品是充分均匀的。由表 2 可见, 样品的均匀性满足要求。

分别于第 4 周和第 8 周开展稳定性测定, 结果平均值与均匀性检验结果平均值进行  $t$  检验, 当  $t < t_{0.05, (自由度)}$  时, 认为样品稳定。由表 3 可见, 样品稳定性满足要求。

### 3.3 结果评价

测定有机氯农药的方法主要有 GB/T 5009.19-2008<sup>[8]</sup> 和 NY/T 761-2008<sup>[9]</sup>, 均为气相色谱法。前者包含凝胶色谱净化法和浓硫酸磺化法 2 种方法<sup>[8]</sup>, 对于六六六和滴滴涕这类对浓硫酸稳定的目标物, 使用磺化法能得到更好的净化效果。NY/T 761 的佛罗里砂土柱的净化法适合于多种农药残留共存时的净化处理, 但净化后基线上的杂峰仍较多。本次能力验证推荐使用 GB/T 5009.19-2008 方法, 但不强制使用该方法。

#### 3.3.1 参加者情况

本次能力验证向 22 个省(自治区、直辖市)的 42 家实验室发放了样品, 所有参加单位均反馈了结果。42 个参加单位中, 食品药品检验机构有 36 家, 占参加者数量的 85.7%。另有 2 家质量监督检验机构, 2 家企业实验室, 1 家疾病预防控制中心和 1 家第三方检测机构。分布见表 4。

#### 3.3.2 结果总体情况

对回收结果进行技术审阅, 发现代码为 885 实验室存在技术性错误, 直接将其判定为不满意结果, 不再参与后续的分析。采用稳健统计方法处理其余 41 家实验室结

果, 主要的统计参数见表 5。

使用 JMP 软件, 对 41 份数据做出正态分布直方图, 呈现出较明显的单峰正态分布图形。见图 1。

#### 3.3.3 实验室的能力评价

使用稳健  $Z$  比分数法评价实验室的结果。以参加者结果的中位值作为结果的指定值, 以所有结果的标准化四分位距(NIQR)作为能力评定标准差, 计算参加者结果的  $Z$  值<sup>[10]</sup>。当  $|Z| \leq 2$  时, 结果评为满意;  $2 < |Z| < 3$  时, 评为可疑;  $|Z| \geq 3$  时, 评为不满意。见表 6。

41 家实验室的结果  $Z$  值按从小到大排列, 形成  $Z$  比分数柱状图, 见图 2。

## 4 结果与讨论

### 4.1 总体情况

能力验证计划推荐检测方法为 GB/T 5009.19-2008, 有 40 家单位使用了推荐方法, 占 95%, 1 家单位采用了药典方法(硫酸磺化-气相法), 1 家单位采用了第三方提供的方法, 这 2 家均得到了满意结果。42 家实验室全部使用 GC 法进行测定, 未见使用 GC-MS 的实验室。使用的气相色谱仪品牌, 33 家为安捷伦, 7 家为岛津, 2 家为赛默飞世尔。

### 4.2 前处理方法

在农残的测定过程中, 样品提取后, 往往需要对提取液进行净化, 去除其中存在的脂类、有机酸类等影响测定的杂质, 从而减少对进样口的污染和对色谱柱的损耗, 降低基质效应。对使用不同净化方法的结果进行分析, 见表 7。可以看出, 未对样品提取液进行净化的单位的测定结果较总体水平 0.13 mg/kg 偏高。在气相色谱测定中, 基质效应往往表现为信号的增高<sup>[11]</sup>。未净化组更容易受到基质效应的影响, 在一些复杂基质样品的测定中, 这一点将更明显, 因此不应省略样品净化过程。

表 2 米粉样品中  $\gamma$ -六六六含量测定方差分析结果  
Table 2 Analysis of variance of  $\gamma$ -BHC in rice flour sample

差异源	平方和	自由度	均方	$F$ 值	$P$ -value	$F$ crit
组间	0.000142	14	1.01E-05	0.313317375	0.981954516	2.42436
组内	0.000485	15	3.23E-05			
总计	0.000627	29				

表 3 样品稳定性检验结果  
Table 3 Results of stability test of sample

考察时间(周)	平均值(mg/kg)	数据个数	$t$ 值	$t_{0.05, (34)}$	判定结果
0	0.109	30	/	/	
4	0.110	6	-0.438	2.0322	通过
8	0.107	6	0.966	2.0322	通过

表 4 参加实验室地域分布表

Table 4 Regional distribution of participated laboratories

省份	实验室数	省份	实验室数
安徽	1	江苏	2
北京	3	江西	1
福建	1	辽宁	3
甘肃	2	宁夏	1
广东	1	山东	3
广西	2	陕西	2
贵州	2	天津	2
海南	2	西藏	1
河南	1	新疆	2
黑龙江	1	云南	4
吉林	1	浙江	4

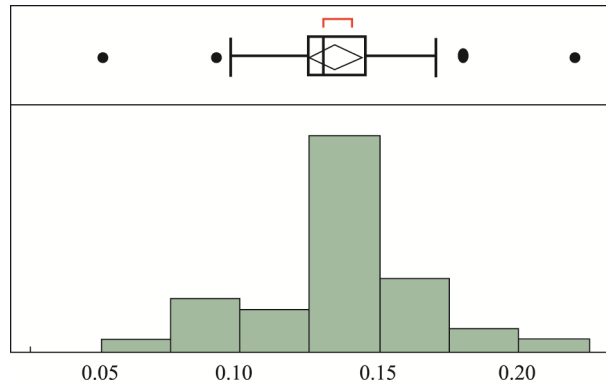


图 1 结果正态分布直方图

Fig. 1 Normal distribution histogram of results

表 5 总体统计量汇总表

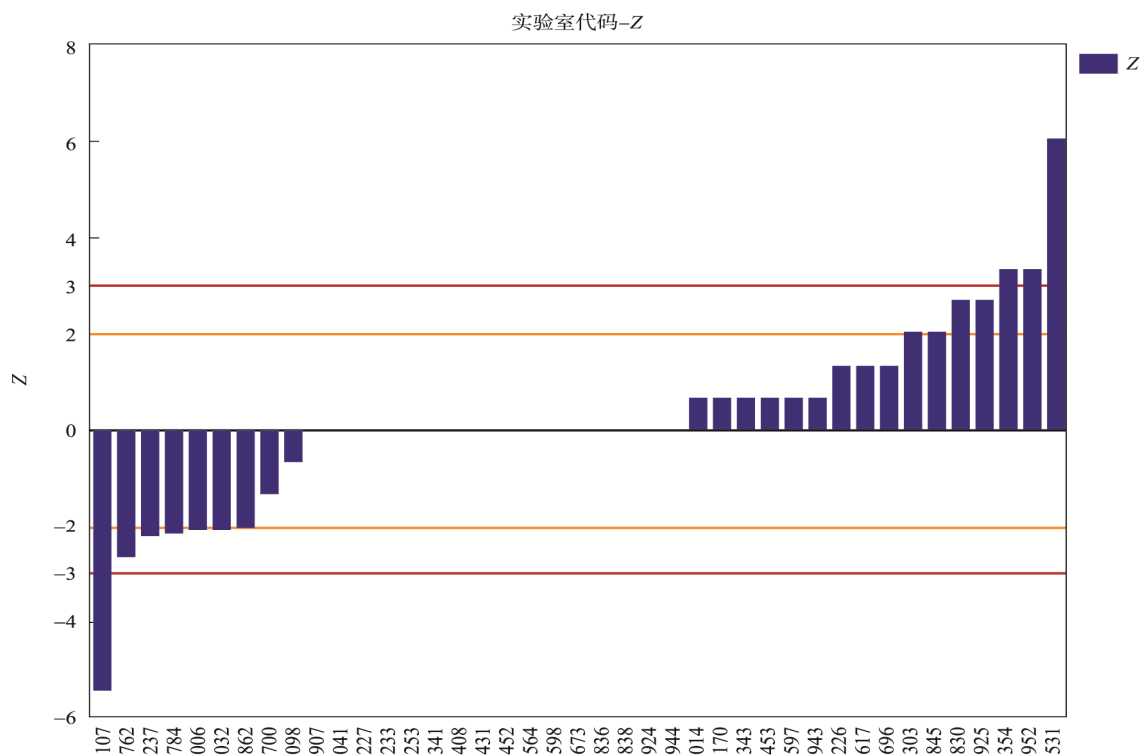
Table 5 Statistical values of proficiency test

项目	结果个数	中位值 M(mg/kg)	NIQR(mg/kg)	变异系数 CV(%)	最大值(mg/kg)	最小值(mg/kg)	极差(mg/kg)
γ-六六六	41	0.13	0.01483	21.5	0.22	0.050	0.17

表 6 能力验证结果评价表

Table 6 Evaluation results of proficiency test

项目	结果个数	满意结果数	满意率(%)	结果不满意实验室代码 $ Z  \geq 3$	检测结果可疑实验室代码( $2 <  Z  < 3$ )
γ-六六六	42	30	71.4	107、885、952、354、531	762、237、784、881、006、925、830



按“Z”排序(升序)的“实验室代码”

图 2 γ-六六六 Z 比分数柱状图

Fig. 2 Histogram of Z value of γ-BHC

表 7 按净化方法的分类的结果表  
Table 7 Results classified by purification method

	GPC	QuEChERS	不净化	弗罗里柱*	磺化
家数	2	2	6	1	30
结果均值(mg/kg)	0.12	0.14	0.15	0.14	0.13

\*使用弗罗里柱的有 2 家单位, 因其中一家(代码 885)存在技术错误, 未列入统计。

### 4.3 影响结果准确性的因素

#### 4.3.1 常见系统误差的来源

测定用标准物质直接关系到定量的准确性, 因此, 标准物质的贮存、称量、配制的全过程都应做到严格可控<sup>[12]</sup>。未折算标准物质的存在形式和纯度是能力验证过程的常见风险点, 在本次能力验证过程中, 多数参加者使用了固体标准品, 并折算了纯度。应当指出的是, 使用浓硫酸净化的提取液, 应水洗至中性后进行气相检测, 否则进样口将有硫酸不断蓄积, 对色谱柱产生损害, 部分实验室未注意这一点。个别实验室(代码 881)使用了外标单点法进行计算, 但标液浓度与待测液相差较大, 引入较大误差。

#### 4.3.2 常见偶然误差的来源

偶然误差主要来源于检测技术关键点掌握不足、仪器状态不佳等<sup>[13,14]</sup>。代码 531 实验室在连续 2 d 的测定中, 仪器对同一溶液的响应相差 10 倍, 说明仪器调试不当或存在故障, 这种情况极易引入较大误差, 应引起关注和重视; 个别实验室的待测液浓度在标准曲线线性范围之外, 这样测得结果的误差将显著被放大<sup>[13]</sup>。样品提取过程中振荡是否充分, 是否存在结块等现象, 是偶然误差的另一来源。

## 5 结 论

本次能力验证计划制备了均匀、稳定的米粉样品, 参加实验室按 GB/T 5009.19 方法进行了检验, 多数实验室提交的结果较好, 满意率为 71.4%。个别实验室存在操作错误, 部分实验室结果偏离中位值。结果不满意的实验室对照技术分析开展自查并实施针对性改进措施, 将有助于本项目检测水平的提高<sup>[15]</sup>。

### 参考文献

- [1] 丁晓雯, 柳春红. 食品安全学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2013.  
Ding XW, Liu CH. Food safety [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2013.
- [2] 毛潇萱, 丁中原, 马子龙, 等. 兰州周边地区土壤典型有机氯农药残留及生态风险[J]. 环境化学, 2013, 32(3): 466-473.  
Mao XX, Ding ZY, Ma ZL, et al. Typical organochlorine pesticides residues in topsoils and ecological risk of Lanzhou surrounding areas, China [J]. Environ Chem, 2013, 32(3): 466-473.
- [3] 罗鹏, 赵宝平, 潘雪莉, 等. 贵阳市蔬菜中有机氯农药残留现状调查[J]. 贵阳医学院学报, 2009, 34(2): 40-42.  
Luo P, Zhao BP, Pan XL, et al. Investigation on organochlorine pesticide residues in vegetables in Guiyang, Guizhou [J]. J Guiyang Med Coll, 2009, 34(2): 40-42.
- [4] 李永波, 李红光, 陈艳, 等. 西安市市售叶类蔬菜有机氯和拟除虫菊酯类农药残留情况分析[J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(3): 255-258.  
Li YB, Li HG, Chen Y, et al. Investigation of organochlorine and pyrethroid pesticides residues in leafy vegetables on sale in Xi'an [J]. J Environ Health, 2010, 27(3): 255-258.
- [5] GB/T27043-2012/ISO/IEC 17043:2010 合格评定 - 能力验证的通用要求[S].  
GB/T27043-2012/ISO/IEC 17043:2010 Conformity assessment-general requirements for proficiency testing [S].
- [6] CNAS-GL03 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S].  
CNAS-GL03 Guidance on evaluating the homogeneity and stability of samples used for proficiency testing [S].
- [7] CNAS-GL02 能力验证结果的统计处理和评价指南[S].  
CNAS-GL02 Guidance on statistic treatment of proficiency testing results and performance evaluation [S].
- [8] GB/T 5009.19-2008 食品中有机氯农药多组分残留量的测定[S].  
GB/T 5009.19-2008 Determination of organochlorine pesticide multiresidues in foods [S].
- [9] NY/T 761-2008 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定[S].  
NY/T 761-2008 Pesticide multiresidue screen methods for determination of organophosphorus pesticides, organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruits [S].
- [10] GB/T 28043-2011/ISO 13528. 利用实验室间比对进行能力验证的统计方法 [S].  
GB/T 28043-2011/ISO 13528. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons [S].
- [11] 贺利民, 刘祥国, 曾振灵. 气相色谱分析农药残留的基质效应及其解决方法[J]. 色谱, 2008, 26(1): 98-104.  
He LM, Liu XG, Zeng ZL. Solutions to matrix-induced response enhancement in pesticide residue analysis by gas chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2008, 26(1): 98-104.
- [12] 王英. 浅谈食品理化检验中的误差来源[J]. 计量与测试技术, 2010, 37(4): 48-49.  
Wang Y. Talking about the sources of error in physical and chemical testing of food [J]. Metrol Measur Technol, 2010, 37(4): 48-49.
- [13] 赵素娟, 穆效群, 熊晓燕. 常见能力验证/实验室比对不满意结果原因分析[J]. 首都公共卫生, 2011, 5(4): 188-189.  
Zhao SJ, Mu XQ, Xiong XY. Cause analysis of unsatisfactory results in

proficiency test/ inter-laboratory comparison [J]. Capital J Public Health, 2011, 5(4): 188-189.

- [14] 潘丽梅, 赫晓宏. 标准曲线使用中的几个问题探析[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(6): 742-743.

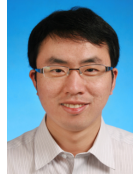
Pan LM, He XH. Analysis of several issues in the use of standard curves [J]. Chin J Public Health, 2003, 19(6): 742-743.

- [15] 沈漪, 顾颂青. 浅谈能力验证结果的再利用[C]. 中国药学会第三届药物检测质量管理学术研讨会资料汇编, 2016.

Shen Y, Gu SQ. Talking about the reuse of the results of proficiency testing [C]. Data compilation of the Third Symposium on quality control of drug testing in Chinese Pharmaceutical Association, 2016.

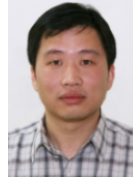
(责任编辑: 杨翠娜)

## 作者简介



张会亮, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为食品化妆品安全分析研究。

E-mail: zhanghl@nifdc.org.cn



曹进, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: caojin@nifdc.org.cn