

气相色谱法测定番茄中腐霉利残留量的 不确定度评定

庄件兵*, 袁艳丽

(江苏省理化测试中心, 南京 210000)

摘要: **目的** 评定气相色谱法测定番茄中腐霉利残留量的不确定度。**方法** 依据 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量的测定》对腐霉利测定中的不确定来源进行分析, 建立数学模型, 计算各不确定度分量, 合成扩展不确定度。**结果** 当在番茄中的腐霉利添加量为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 测定结果为 9.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 番茄中腐霉利的不确定度为 0.55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。**结论** 本方法不确定度主要来源是在前处理过程、标准配置与重复性测量中产生的, 其他因素影响较小。

关键词: 不确定度; 气相色谱法; 番茄; 腐霉利

Determination of the uncertainty of procymidone residue in tomato by gas chromatography

ZHUANG Jian-Bing*, YUAN Yan-Li

(Physics and Chemistry Testing Center of Jiangsu Province, Nanjing 210000, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty of determination of procymidone residues in tomato by gas chromatography. **Methods** Based on NY/T 761-2008 *Determination of organophosphates, organochlorines, pyrethroids, and carbamate pesticides in vegetables and fruits*, the uncertainty sources of the determination of procymidone residues were analyzed, the mathematical model was established, the uncertainty component was calculated, and the uncertainty of the synthetic extension was obtained. **Results** When the added amount was 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the uncertainty of procymidone in tomato was 0.55 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the determination result was 9.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$. **Conclusion** The main sources of uncertainty in this method are those generated in the pre-treatment process, standard configuration, and repeatability measurements, other factors have little effect.

KEY WORDS: uncertainty; gas chromatography; tomato; procymidone

1 引言

腐霉利, 属于毒性比较低的一种杀菌剂^[1], 主要作用是抑制菌体内甘油三酯的合成, 同时也能对农作物产生保护和治疗的三重作用, 低温高湿条件下使用效果明显。用

于防治灰霉病和菌核病^[2]及灰星病、花腐病、褐腐病、蔓枯病等。随着人们生活水平的提高以及对身体健康的重视, 对于低毒性农药的关注度也越来越高, 在国家标准 GB 2763-2016《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中规定番茄中腐霉利残留的最大残留限量为 2 mg/kg ^[3]。不

*通讯作者: 庄件兵, 工程师, 主要研究方向为食品、药品检测技术。E-mail: zhuangjianb@126.com

*Corresponding author: ZHUANG Jian-Bing, Engineer, Physics and Chemistry Testing Center of Jiangsu Province, Nanjing 210000, China. E-mail: zhuangjianbing@126.com

确定度是评定检测结果的重要指标,能够反映检测过程中各种因素对结果数据的影响程度^[4-6],近年来在实验室资质认定认可中都对不确定度的评定提出了新要求,同时在日常检测及能力验证中对于检测结果的不确定度进行分析,来判定实验结果的准确性^[7,8]。

本文依据 GB/T 27411-2012《检测实验室中常用不确定度评定方法与表示》^[9]、《CNAS-CL06:2006 化学分析中不确定度的评估指南》^[10]、《CNAS-CL07:测量不确定度的要求》^[11]和 JJF 1135-2005《化学分析测量不确定度评定》^[12]以及 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量的测定》^[13]方法,对番茄中腐霉利残留量检测的不确定度评定,分析整个实验过程中影响不确定度的因素,建立数学模型,为番茄中腐霉利农药残留的检测提供质量控制的科学依据。

2 材料与方 法

2.1 试剂与仪器

乙腈、正己烷(色谱纯,德国默克公司);丙酮、氯化钠、无水硫酸镁(分析纯,南京化学试剂股份有限公司)。

JA2603B 电子天平(0.001 g,上海精科天美科学仪器有限公司);WIGGENS D-500 高速均质机(德国维根斯公司);WH-3 涡旋混合器(上海沪西分析仪器厂有限公司);SC-3610 离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);DC24H 氮吹仪(上海安谱实验科技股份有限公司),7890A 气相色谱仪(美国 Agilent 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

准确称取 20 g 的番茄样品于 100 mL 塑料离心管中,加入 3 g 氯化钠,3 g 无水硫酸镁,20 mL 乙腈,以 20000 r/min 的转速均质 1 min,4000 r/min 离心 5 min,取 10 mL 上清液于氮吹管中,在 50 °C 水浴中氮吹近干,在氮吹管中加入约 2 mL 正己烷振荡涡旋,溶解残渣,准备过 SPE 小柱。

2.2.2 样品提取液的净化

将弗罗里硅土柱活化后,立即倒入上述待净化溶液,用 10 mL 氮吹管接收洗脱液,用 3 mL 丙酮:正己烷(1:9, V:V)的混合溶剂润洗两次上述待净化氮吹管,合并收集液于 50 °C 水浴中氮吹近干,定容至 5 mL,装瓶进样。

2.2.3 色谱条件

色谱柱:DB-5MS UI 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.5 μm);升温程序:初始温度 120 °C,以 10 °C/min 的速率升温到 300 °C,保持 10 min;进样口温度:270 °C;检测器:电子捕获检测器(ECD);检测器温度:300 °C;载气为高纯氮气(99.999%);柱流速 1.0 mL/min;不分流进样,进样

量:1.0 μL。

3 结果与分析

3.1 建立不确定度数学模型

依据上述实验方法建立样品中腐霉利含量的数学模型,见式 1:

$$X = \frac{C \times V}{m} \times n \quad (\text{式 1})$$

式中 X 表示待测样品中腐霉利农药残留量, mg/kg; C 表示待测溶液中腐霉利的质量浓度, μg/mL; V 表示最终定容体积, mL; m 表示待测样品的质量, g; n 表示稀释倍数。

3.2 不确定的主要来源

从样品检测的整个过程以及数学模型得知,番茄中腐霉利残留量测定的不确定度主要来源于标准物质、待测样品称量、最终定容、重复性以及前处理过程^[14,15],包括下面 7 个方面:(1)腐霉利标准溶液引入的不确定度;(2)标准系列溶液配制过程引入的不确定度;(3)腐霉利标准曲线引入的不确定度;(4)待测样品称量引入的不确定度;(5)样品溶液最终定容时引入的不确定度;(6)测量重复性引入的不确定度;(7)样品前处理过程引入的不确定度。

3.3 不确定度分量的评定

3.3.1 腐霉利标准溶液的不确定度 $u_{rel}(m_1)$

腐霉利标准溶液的浓度为 100 μg/mL,其标准物质证书提供的扩展不确定度为 0.15 μg/mL。取包含因子 $k=2$,置信区间约为 95%,则腐霉利标准溶液的相对不确定度

$$\text{为 } u_{rel}(C_{\text{腐霉利}}) = \frac{0.15}{2 \times 100} = 0.00075。$$

3.3.2 标准系列溶液配制过程引入的不确定度

(1) 标准系列溶液配置中移液管引入的不确定度

1)标准溶液稀释引入的不确定度:标准溶液逐级稀释分别采用了 1 mL、5 mL 的移液管,查 JJG196-2006 刻度常用玻璃量器检定规程可知,1 mL、5 mL 的 A 级移液管的容量误差分别为 ±0.007 mL、±0.015 mL,按均匀分布考虑,包含因子 $k=\sqrt{3}$,因此 $u_1(V_{\text{吸}1}) = \frac{0.007}{\sqrt{3}}$,

$$u_1(V_{\text{吸}2}) = \frac{0.015}{\sqrt{3}}。$$

2)实验室温度变化引入的不确定度:一般实验室温差 ±2 °C,在稀释时是以正己烷为稀释溶剂,其膨胀系数 1.26×10⁻³ mL/°C,按均匀分布考虑, $u_2(V_{\text{吸}1}) = \frac{2 \times 1.26 \times 10^{-3} \times 1}{\sqrt{3}}$,

$$u_2(V_{\text{吸}2}) = \frac{2 \times 1.26 \times 10^{-3} \times 5}{\sqrt{3}}。$$

3)移液管引入的相对不确定度: $u_{rel}(V_{\text{吸}1}) =$

$$\frac{\sqrt{u_1^2(V_{吸1}) + u_2^2(V_{吸1})}}{1} = 0.0074, u_{rel}(V_{吸2}) = \frac{\sqrt{u_1^2(V_{吸2}) + u_2^2(V_{吸2})}}{5} = 0.0039。$$

(2) 标准溶液配置中容量瓶引入的不确定度

1) 标准溶液定容引入的不确定度: 标准溶液逐级稀释定容时采用了 10 mL 的容量瓶, 查 JJG196-2006 刻度常用玻璃量器检定规程可知, 10 mL 的 A 级容量瓶的容量误差为 ±0.020 mL, 按照均匀分布考虑, 其包含因子 $k = \sqrt{3}$, 因此 $u_1(V_{容1}) = \frac{0.020}{\sqrt{3}} = 0.0115$ 。

2) 实验室温度变化引入的不确定度: 一般实验室温差 ±2 °C, 在实验过程中一般以正己烷使用次数最频繁, 以其为例, 膨胀系数为 $1.26 \times 10^{-3} \text{ mL/}^\circ\text{C}$ 按均匀分布考虑,

$$u_2(V_{容1}) = \frac{2 \times 1.26 \times 10^{-3} \times 10}{\sqrt{3}} = 0.0145。$$

3) 容量瓶引入的相对不确定度: $u_{rel}(V_{容1}) = \frac{\sqrt{u_1^2(V_{容1}) + u_2^2(V_{容1})}}{10} = 0.0019$ 。

(3) 标准溶液及引入配制过程(稀释、定容)中引入的不确定度

在稀释过程中 1 mL、5 mL 的移液管分别使用 1、4 次, 10 mL 容量瓶使用 7 次, 则腐霉利标准系列溶液引入的相对不确定度为: $u_{rel}(m_1) = \frac{\sqrt{u_{rel}^2(c_{腐霉利}) + u_{rel}^2(V_{吸1}) + u_{rel}^2(V_{吸2}) \times 4 + u_{rel}^2(V_{容1}) \times 7}}{10} = 0.0121$ 。

3.3.3 腐霉利标准曲线引入的不确定度

取 100 μg/mL 的腐霉利标准溶液 1 mL 用正己烷定容至 10 mL 容量瓶中, 逐级稀释得到质量浓度为 6.25、12.5、25、50、100 ng/mL 的标准系列溶液。按照本实验色谱条件进行测定, 得到腐霉利的线性回归方程, 根据线性回归方程求标准溶液的不确定度, 按下式计算:

$$u(c_x) = \frac{S_R}{a} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_x - \bar{c})^2}{\sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2}}, S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - (bc_i + a)]^2}{n-2}}$$

式中, S_R 为标准曲线的剩余标准差; a 、 b 为标准曲线的截距和斜率; p 表示待测样品的测定次数, $p=2$; n 为建立标准曲线的质量浓度个数, $n=5$; c_x 为待测样品中腐霉利质量浓度, 由于本次实验准备的样品中腐霉利含量未检出, 选择含量约为 20 μg/L 模拟净化液进行 2 次测量; c_i 为标准曲线的质量浓度; \bar{c} 为建立标准曲线的各质量浓度的平均值, $\bar{c}=38.75 \text{ } \mu\text{g/L}$, y_i 为第 i 个标准溶液中腐霉利所产生的峰面积。结果表 1。

根据上述结果, 计算, 标准溶液引入的相对不确定度见表 2。

3.3.4 待测样品称量引入的不确定度

用千分之一天平准确称取 20 g 样品, 在样品称量过程中所产生的不确定度应按均匀分布考虑, 其包含因子 $k = \sqrt{3}$, 本实验所使用的天平最大允许误差为 ±1 mg, 引入的不确定度为

$$u_{rel}(m_3) = \frac{0.001}{\sqrt{3}} = 0.0006。$$

3.3.5 样品溶液最终定容时引入的不确定度

样品经提取浓缩复溶过完 SPE 小柱氮吹定容时使用的是 5 mL 移液管, 5 mL 的 A 级移液管的示值允差为 ±0.015 mL, 按均匀分布考虑, 包含因子 $k = \sqrt{3}$, 最终定容引入的不确定度为

$$u_{rel}(m_4) = \frac{0.015}{\sqrt{3}} = 0.0087。$$

3.3.6 测量重复性引入的不确定度 $u_{rel}(m_5)$

由于实际样品中农药含量未检出, 以 6 份添加腐霉利含量为 10 μg/kg 的番茄试样进行 6 次重复测量, 计算测量重复性引入的相对不确定度。结果见表 3。

表 1 腐霉利标准系列溶液测定结果
Table 1 Results of procymidone standard solution

浓度(μg/L)	6.25	12.5	25	50	100	标准曲线
腐霉利	1321.2	2538.7	5562.9	12025.2	24651.6	$Y=251.03X-507.58$

表 2 标准溶液引入的相对不确定度 $u_{rel}(m_2)$
Table 2 Relative uncertainty introduced by the standard solutions

c_x (μg/L)	\bar{c} (μg/L)	S_R (μg/L)	$u(c_x)$ (μg/L)	$u_{rel}(m_2)$
腐霉利	18.4	38.75	9.54	0.0198

表 3 6 份加标样品中腐霉利残留测定结果
Table 3 Determination results of procymidone residues in 6 spiked samples

	1	2	3	4	5	6	\bar{c}	$s(c)$	$u_{rel}(m_5)$
腐霉利	8.91	9.17	9.01	8.99	8.98	9.12	9.03	0.0965	0.0107

表4 样品前处理引入的不确定度
Table 4 Uncertainty introduced by sample preparation

	添加浓度(mg/kg)	回收率 H_1 (%)	回收率 H_2 (%)	\bar{H} (%)	$s(H)$	$u_{rel}(m_6)$
腐霉利	0.01	88.1	89.2	90.75	2.19	0.0241
	0.02	89.5	91.3			
	0.05	92.6	93.8			

3.3.7 样品前处理过程引入的不确定度

样品在前处理过程中需要经过均质、取液、净化、氮吹、定容等多个步骤，每一步骤中都会产生不确定度，如果对每一个步骤所产生的不确定度的来计算是比较难的，本实验方法采用对空白样品进行加标来计算在整个前处理过程中所产生的不确定度进行评定。称取6份番茄样品做高、中、低3个质量浓度的加标实验，通过平均回收率和相对标准偏差来计算所引入的不确定度。结果见表4。

3.3.8 合成不确定度和扩展不确定度

综上所述，在本实验中番茄中腐霉利残留量不确定度各分量相互独立，则相对合成标准不确定度为：

$$u_{crel}(w_{腐霉利}) = \sqrt{u_{rel}^2(m_1) + u_{rel}^2(m_2) + u_{rel}^2(m_3) + u_{rel}^2(m_4) + u_{rel}^2(m_5) + u_{rel}^2(m_6)} = 0.0304。$$

取包含因子 $k=2$ ，置信区间约为95%，则添加腐霉利含量为10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的番茄样品中腐霉利的扩展不确定度为

$$U(w_{百菌清}) = 2 \times u_{crel}(w_{百菌清}) \times 9.03 = 0.55 \mu\text{g}/\text{kg}。$$

3.4 样品测定结果

用该方法测量番茄中腐霉利含量为：(9.03±0.55) $\mu\text{g}/\text{kg}$, $k=2$ 。

4 结论

本实验采用气相色谱法对番茄中的腐霉利进行了测定，从实验过程可以看出前处理过程中产生的不确定度最大，标准配置与重复性测量中产生的不确定度次之，其他因素影响较小。因此本实验的关键在于实际样品检测中，可以增加样品平行，在配置标准溶液时使用校准过的量具，同时提高检测人员的实际操作水平，以减小产生的不确定度，提高检测结果的准确度。

参考文献

- 廖且根, 罗林广, 陆彦锋. 气相色谱-三重四级杆质谱联用测定食用油中残留的腐霉利[J]. 现代科学仪器, 2011, (1): 78-80.
Liao QG, Luo LG, Lu YF. Determination of procymidone residues in the edible vegetable oils gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. Mod Sci Instrum, 2011, (1): 78-80.
- 余婧, 周彬彬. 固相萃取-气相色谱-质谱法检测食品中腐霉利的残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(2): 516-520.

Yu J, Zhou BB. Determination of procymidone residues in food by solid-phase extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(2): 516-520.

- GB 2763-2016 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763-2016 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].
- Arrow KJ, Lind RC. University and the evaluation of public investment decisions [J]. J Nat Resour Policy Res, 2014, 6(1): 29-44.
- 沈旒, 陈曦, 毕焯, 等. 高效液相色谱法测定参类食品中人参皂苷的不确定度评定[J]. 卫生研究, 2015, 44(2): 288-293.
Shen S, Chen X, Bi Y, et al. Uncertainty evaluation for determining ginsenosides in ginseng food by HPLC [J]. J Hyg Res, 2015, 44(2): 288-293.
- 李静娜, 伍雅婷, 革丽亚, 等. 高效液相色谱法测定玉米粉中黄曲霉毒素 B1 含量的不确定度评定[J]. 公共卫生与预防医学, 2015, 26(3): 22-25.
Li JN, Wu YT, Ge LY, et al. Evaluation of the aflatoxin B1 content uncertainty in corn flour by HPLC [J]. J Public Rrev Med, 2015, 26(3): 22-25
- 程家丽, 刘婷婷, 马彦宁, 等. 液相色谱法测定保健食品中番茄红素的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(11): 4653-4658.
Cheng JL, Liu TT, Ma YN, et al. Uncertainty evaluation of the determination of lycopene in health food by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(11): 4653-4658.
- 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): 2752-2757.
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): 2752-2757.
- GB/T 27411-2012 检测实验室中常用不确定度评定方法与表示[S].
GB/T 27411-2012 Routine methods for evaluation and expression of measurement uncertainty in testing laboratory [S].
- CNAS-CL06 化学分析中不确定度的评估指南[S].
CNAS-GL06 Guidance on evaluating of the uncertainty in chemical analys [S].
- CNAS-CL07 测量不确定度的要求[S].
CNAS-CL07 Requirements for measurement uncertainty [S].
- JF 1135-2005 化学分析测量不确定度评定[S].
JF 1135-2005 Evaluation of uncertainty in chemical analysis measurement [S].

[13] 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量的测定[S].
NY/T 761-2008 pesticide multiresidue screen methods for determination of organophosphorus pesticides, organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruit [S].

[14] 陈 科. 气相色谱法测定大豆油中有机氯农药残留的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(6): 2251-2256.
Chen K. Uncertainty evaluation of determination of organochlorine pesticide residues in soybean oil by gas chromatography [J]. J Food Saf Qual 2017, 8(6): 2251-2256.

[15] 曾艳, 郎红, 邵辉, 等. 有机氯农药混合标准溶液配制不确定度评定[J]. 农药科学与管理. 2013, 34(8): 37-41.

Zeng Y, Lang H, Shao H, *et al.* Uncertainty evaluation of preparation of organochlorine pesticides mixed standard solution [J]. Pest Sci Administ, 2013, 34(8): 37-41.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



庄件兵, 工程师, 主要研究方向为食品、药品检测技术工作。
E-mail: zhuangjianb@126.com



“食品的化学性风险” 专题征稿函

化学性有害因素是近年来引起食品安全问题的主要因素之一, 化学性危害物存在于从农田到餐桌的整个食品供应链, 包括原料种养殖环节引入的农兽药、除草剂、生长调节剂及抗生素, 食品加工过程中新形成的有害物, 如丙烯酰胺、杂环胺、三氯丙醇等, 以及以铅、砷、汞等有害矿质元素为代表的环境污染物。随着全球对食品安全问题的关注, 食品的化学安全问题已成为同行关注的热点领域。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品的化学性风险”专题, 由中国农业大学 食品科学与营养工程学院 陈芳教授担任专题主编, 主要围绕食品中化学性危害物的分析检测方法、安全性评价、产生途径、形成机理、控制方法、毒性干预等方面或您认为有意义的相关领域展开论述和研究, 综述及研究论文均可。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 学报主编吴永宁研究员和专题主编 陈芳教授 特邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。

本专题计划在 **2018 年 6 月** 出版, 请在 **2018 年 4 月 10 日** 前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

希望您能够通过各种途径宣传此专题, 并积极为本专题推荐稿件和约稿对象。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com (注明专题)

E-mail: jfoodsq@126.com (注明专题)

《食品安全质量检测学报》编辑部