

气相色谱质谱法快速测定谷物中敌草快含量的优化及其不确定度评定

张森*, 时超, 张瑞刚, 杨永坛

(中粮营养健康研究院营养健康与食品安全北京市重点实验室, 北京 102209)

摘要: **目的** 优化气相色谱质谱法快速测定谷物中敌草快的分析方法, 并评定测定小麦敌草快含量的不确定度。**方法** 样品经二氯甲烷净化, 超纯水萃取, 硼氢化钠溶液衍生, 正己烷萃取上机, 气相色谱质谱法测定, 外标法定量。以大米、小麦、玉米为样品, 测定加标回收率证实方法的可行性。以测定小麦敌草快数据为基础, 依据 JJF 1135-2005《化学分析测量不确定度评定》和 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》, 考察标准溶液配制、标准曲线拟合、样品称量、定容体积、仪器重复测量和回收率等主要因素引入的不确定度, 并对不确定度的各分量进行计算和合成。**结果** 3种谷物加标回收实验, 均满足实验要求。当小麦中敌草快含量为 0.094 mg/kg 时, 在 95% 的置信区间下, 其扩展不确定度为 0.013 mg/kg($k=2$)。实验过程中的不确定度主要来源于标准溶液配制、标准曲线拟合。**结论** 此法提高固液萃取、液液萃取效率, 且操作简单。并可通过选择精度高的移液、定容器皿, 规范操作有效减少不确定度, 保证测量结果的准确性。

关键词: 不确定度; 敌草快; 气相色谱质谱法; 谷物

Optimization for rapid determination of diquat in cereals by gas chromatography-mass spectrometry and uncertainty evaluation of the determination of diquat

ZHANG Sen*, SHI Chao, ZHANG Rui-Gang, YANG Yong-Tan

(Beijing Key Laboratory of Nutrition Health and Food Safety, COFCO Nutrition and Health Research Institute, Beijing 102209, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the method for rapid determination of diquat in cereals by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and evaluate the uncertainty in determination of diquat in wheat by GC-MS. **Methods** The sample was purified by dichloromethane, extracted with deionized water, and derived by sodium borohydride solution. The extraction liquid were extracted by hexane and determined by GC-MS. The target object was quantified with external standard curve. Rice flour, wheat flour and corn flour were selected as samples to prove the feasibility of the method. According to JJF 1135-2005 *Evaluation of uncertainty in chemical analysis measurement* and JJF 1059.1-2012 *Evaluation and expression of uncertainty in measurement*, the factors affecting the determination results of diquat in wheat were investigated, such as standard curve, measurement repeatability, weighing, constant volume and recovery rate, and the uncertainty components were calculated and synthesized. **Results** Recovery experiments of 3 kinds of grain met the experimental requirements. When the determination

*通讯作者: 张森, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: zhangsen@cofco.com

*Corresponding author: ZHANG Sen, Engineer, Beijing Key Laboratory of Nutrition Health and Food Safety, COFCO Nutrition and Health Research Institute, No.4 Road, Future Science Park South, Beiqijia, Changping District, Beijing 102209, China. E-mail: zhangsen@cofco.com

result of diquat in wheat was 0.094 mg/kg, the expand uncertainty was 0.013 mg/kg ($k=2$) under the confidence interval of 95%. The results showed that the main sources of uncertainty in the determination were standard solution preparation and the standard curve. **Conclusion** This method improves the efficiency of solid-liquid extraction and liquid-liquid extraction, which is simple to operate. By selecting high-precision pipetting and fixed containers, the specification operation can effectively reduce the uncertainty and ensure the accuracy of the measurement results.

KEY WORDS: uncertainty; diquat; gas chromatography mass spectrometry; wheat

1 引言

敌草快通用名为杀草快、双快, 化学名称为 1,1'-乙撑-2,2'-联吡啶二溴盐, 英文名为 diquat, CAS2764-72-9, 分子式为 $C_{12}H_{12}N_2Br_2$ 。敌草快是优良的联吡啶类内吸性触杀灭生性除草剂, 通过被绿色植物组织吸收抑制植物的光合作用, 从而破坏植物的细胞膜, 使植物迅速失水, 枯萎死亡^[1,2]。

敌草快应用广泛, 大量应用在果园、田间等快速灭草, 并常用于水稻、马铃薯、大豆、小麦等作物的摧枯。该类除草剂属于中等毒性除草剂, 人体摄入后会导致肝肾衰竭、肺逐渐纤维化而呼吸衰竭死亡^[3]。目前敌草快的检测方法主要有: 分光光度计法^[4]、液相色谱法^[5,6]、高效液相色谱-质谱联用法^[7,8]、气相色谱-质谱联用法^[9]等。用气相色谱质谱联用仪测定谷物敌草快的方法, 现行仅有国标法 GB/T 5009.221-2008^[10], 但此方法前处理繁琐, 需多次萃取, 过程较多, 回收率较低, 不利于批次处理, 工作效率低。其他参考文献也未建立更好的检测方法。

本研究建立了谷物中快速测定敌草快含量的气质联用测定方法。样品以超纯水为提取溶剂, 二氯甲烷净化提取液, 用硼氢化钠还原提取液, 正己烷萃取还原产物, 气相色谱串联质谱法测定。此方法提高了固液萃取、液液萃取的效率, 省去旋蒸等操作, 减少多次液液萃取及有毒试剂的使用, 提高回收率, 缩短工作时间, 可批量处理操作, 提高工作效率。本研究选取大米粉、小麦粉、玉米粉为样品, 测定其加标回收率并证实方法的可行性。并以小麦粉敌草快数据为基础, 依据 JJF 1135-2005《化学分析测量不确定度评定》^[11]和 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》^[12], 以及参考相关文献^[13,14], 对测量过程进行不确定度评定, 对实验过程所产生的不确定度因素进行分析和计算, 确定影响检测结果不确定度的主要因素, 对质量控制具有重要意义, 也为测量其他农药残留的不确定度评定提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与材料

GCMS-QP2010 气相色谱质谱联用仪 (gas chromatography mass spectrometer, GC-MS) (日本岛津公

司); BSA224-CW 型电子天平(感量 0.1 mg, 德国赛多利斯科学仪器有限公司); Reference 型超纯水机(美国 Millipore 公司); HP-5MS 色谱柱(美国安捷伦科技有限公司), Thermo ST16R 冷冻离心机(赛默飞世尔科技公司)。

敌草快标准品[纯度 99.9%, CAS 号 85-00-7, 北京曼哈格(Bepure)生物科技有限公司]; 二氯甲烷(色谱纯, 上海安谱公司), 超纯水(自制); 小麦粉、大米粉、玉米粉(市售); 硼氢化钠化学纯(纯度>95%, 国药集团化学试剂有限公司)。

2.2 GC-MS 条件

色谱柱: HP-5MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μ m); 柱温 60 $^{\circ}$ C, 保持 2 min, 然后以 10 $^{\circ}$ C/min 程序升温至 180 $^{\circ}$ C, 再以 30 $^{\circ}$ C/min 升温至 300 $^{\circ}$ C, 保持 10 min; 载气为氦气(纯度为 $\geq 99.999\%$), 无分流进样, 流速为 1.67 mL/min, 进样口温度 250 $^{\circ}$ C, 进样量 1 μ L。无分流进样, 3 min 后开阀。

质谱条件: 电离方式为 EI(electron impact), 电子轰击源 70 eV; 离子源温度: 230 $^{\circ}$ C; 接口温度: 280 $^{\circ}$ C; 溶剂延迟时间 2 min。选择监测离子(selected ion monitor, SIM): 108、135、189、190 (m/z)。

2.3 样品前处理

称取 2 g 小麦粉样品, 置于 50 mL 离心管中加入 5 mL 去离子水和 5 mL 二氯甲烷, 涡匀 5 min, 8000 r/min 速度离心 5 min, 取出上层水层, 小麦粉中再次加入 4 mL 去离子水, 重复操作。合并 2 次上清液于 50 mL 离心管, 加入 10 mL 二氯甲烷净化提取液。移取上清液于 50 mL 离心管中, 加入 1.5 mL 10% 硼酸氢钠溶液, 快速涡旋 2 min 混匀后室温振荡衍生 30 min; 加入 1.5 mL 5 mol/L 氢氧化钠溶液终止衍生; 加入 2 mL 正己烷, 涡旋 5 min, 以 8000 r/min 速度离心 5 min, 取出正己烷层, 加入少量无水硫酸钠除水。正己烷溶液过 0.22 μ m 滤膜进样瓶供分析。

2.4 方法检出限和定量限

采取美国环境保护署方法评估方法检出限: 能够被检出, 并在被分析物浓度大于零时能以 99% 置信度报告的物质的最低浓度。MDL(method detection limit)= $S \times t(n-1, 1-\alpha=0.99)$, S 为标准偏差^[15,16]。同时满足样品最小浓度上机信噪比 S/N 大于 3。按照 2.3 步骤操作, 选取加标水平为 0.03 mg/kg, 进行 7 次独立实验。3 倍方法检出限为定量限。

3 结果与分析

3.1 样品前处理方法的优化

敌草快为季胺盐化合物, 难溶于非极性有机溶剂, 微溶于乙醇和羰基溶剂, 易溶于水。采用水作为提取溶剂, 二氯甲烷净化提取液, 硼氢化钠还原提取液, 正己烷萃取还原产物。谷物中加入二氯甲烷主要是为了除去脂类等杂质, 与水相分层便于提取上清液。上清液中加入二氯甲烷是为了沉淀小麦粉颗粒和水溶性蛋白大分子杂质。操作过程不需旋蒸有机试剂, 减少液液萃取次数和有毒试剂的使用, 提高回收率, 缩短工作时间, 可批处理操作, 提高工作效率。

3.2 线性关系、检出限、精密度和回收率

将浓度为 0.01、0.02、0.1、0.2、0.5 μg/mL 的敌草快标准系列溶液在气相色谱质谱条件下进行测定, 以峰面积为纵坐标, 以对应浓度为横坐标绘制标准曲线。线性回归方程为 $Y=35337X+9.1158$, 相关系数 $r=0.9991$, 在浓度为 0.01~0.5 μg/mL 范围内, 峰面积与浓度线性关系良好。

方法检出限: 由表 1 和图 1 知, 方法检出限 $MDL=S\times t(n-1, 1-\alpha=0.99)=0.006\text{ mg/kg}$, $t(n-1, 1-\alpha=0.99)=3.14$, 检出限为 0.006 mg/kg。当检出限为 0.006 mg/kg, S/N 小于 3, 当检出限为 0.01 mg/kg, S/N 为 3.4, 故检出限为 0.01 mg/kg, 定量限为 3 倍检出限为 0.03 mg/kg。

对小麦、玉米和大米样品进行 3 个水平进行加标实验,

回收率和精密度均符合要求(见表 2), 表明此方法可行。

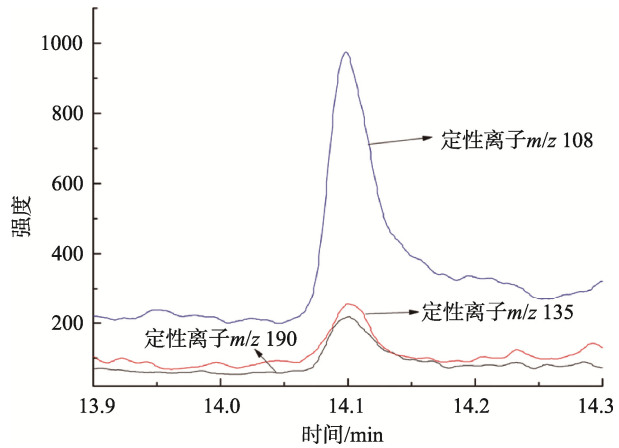


图 1 敌草快谱图(加标 0.01 mg/kg)
Fig.1 Mass spectrum of diquat (0.01 mg/kg)

3.3 建立不确定度计算数学模型

数学模型为: $X=\frac{C\times V}{m\times R}$
式中: X 为样品中敌草快的含量, mg/kg;
 C 为由标准曲线得出的试样液中敌草快的质量浓度, μg/mL;
 V 为试样溶液定容体积, mL;
 m 为试样称样量, g;
 R 为回收率。

表 1 方法稳定性、重复性(0.03 mg/kg)
Table 1 Method stability and repeatability (0.03 mg/kg)

加标/(mg/kg)	检出值/(mg/kg)							平均值	S
0.03	0.022	0.025	0.024	0.025	0.025	0.027	0.028	0.025	0.002

表 2 方法回收率、精密度实验
Table 2 The precision and recovery of this method

样品	添加水平/(mg/kg)	检出值/(mg/kg)						平均回收率/%	相对标准偏差/%
小麦	0.03	0.022	0.025	0.024	0.025	0.025	0.027	82.4	6.60
	0.1	0.097	0.096	0.093	0.096	0.092	0.095	94.8	2.05
	0.2	0.178	0.187	0.183	0.188	0.178	0.192	92.0	3.09
玉米	0.03	0.024	0.026	0.027	0.025	0.026	0.027	86.2	4.67
	0.1	0.084	0.092	0.093	0.093	0.092	0.090	90.6	3.81
	0.2	0.173	0.182	0.183	0.189	0.178	0.183	90.8	2.98
大米	0.03	0.024	0.027	0.025	0.024	0.026	0.025	83.7	4.56
	0.1	0.084	0.093	0.092	0.094	0.092	0.092	91.3	3.89
	0.2	0.173	0.183	0.188	0.189	0.184	0.184	92.1	3.03

注: 检出值保留小数点后 3 位。

敌草快含量 X 的合成标准不确定度传播效率为:

$$u_{rel}(X) = \sqrt{\left[\frac{u(m)}{m}\right]^2 + \left[\frac{u(V)}{V}\right]^2 + \left[\frac{u(C)}{C}\right]^2 + \left[\frac{u(R)}{R}\right]^2}$$

式中: $\frac{u(m)}{m}$ 、 $\frac{u(V)}{V}$ 、 $\frac{u(C)}{C}$ 、 $\frac{u(R)}{R}$ 分别为称取试样的质量 m 、试样定容总体积 V 、标准曲线得出的试样液中敌草快的浓度 C 、回收率 R 引起的相对标准不确定度。

3.4 不确定度分量的主要来源与分析

以小麦样品为例, 对其敌草快残量测定结果有影响的不确定度分量进行分析, 具体引入的不确定度来源如图 2, (1) 样品称量时引起的不确定度 $u(m)$; (2) 溶液定容体积引入的不确定度 $u(V)$; (3) 由标准溶液引入的不确定度 $u(C)$, 包括标准品纯度引入的不确定度 $u(C_1)$ 、标准溶液配制稀释过程引入的不确定度 $u(C_2)$ 、标准曲线拟合产生的不确定度 $u(C_3)$ 、标准溶液峰面积重复测量引入的不确定度 $u(C_4)$, 仪器引入的不确定度 $u(C_5)$; (5) 试样处理和仪器测定样品溶液引入的不确定度用样品回收率的不确定度 $u(R)$ 表示。

3.5 不确定度的评定

3.5.1 称取因素引入的不确定度

称取小麦粉样品 2.0 g, 依据天平校准证书, 其标准偏差为 0.1 mg, 按均匀分布 $k=\sqrt{3}$, 则称取引入的不确定度为 $u(m) = \frac{0.1}{k\sqrt{3}} = 0.0578$ mg, 其中标准品和样品称取引入的相对标准不确定度 $\frac{u(m)}{m}$ 为: $\frac{u(m)}{m} = \frac{0.0578 \text{ mg}}{2 \text{ g}} = 0.0000289$ 。

3.5.2 试样定容体积引入的不确定度

试样经过衍生后, 用 5.0 mL 的吸量管吸取 2.0 mL 正己烷溶液, 20 °C 时 5 mL 吸量管最大允许误差为 ± 0.025 mL, 按照均匀分布 $k=\sqrt{3}$, 其不确定度为 $u(V_1) = \frac{0.025}{\sqrt{3}} = 0.0144$ mL, 相对不确定度为 $u_{rel}(V_1) = \frac{0.0144}{2} = 0.0072$; 实验室的环境温度

控制在 (20 ± 5) °C 变化, 20 °C 时正己烷的体积膨胀系数为 $1.18 \times 10^{-3}/^\circ\text{C}$, 远大于硼硅玻璃的体积膨胀系数 $1.0 \times 10^{-5}/^\circ\text{C}$, 因此产生的体积变化主要由正己烷体积变化引起, 按均匀分布 $k=\sqrt{3}$ 转化, 则其相对不确定度为:

$$u(V_2) = \frac{1.18 \times 10^{-3} \times 5}{\sqrt{3}} = 0.00606$$

试样定容体积引入的相对标准不确定度为: $\frac{u(V)}{V} = \sqrt{u_{rel}(V_1)^2 + u(V_2)^2} = 0.00941$ 。

3.5.3 标准曲线引入的不确定度

(1) 标准品纯度引入的不确定度

标准物质不确定度按 B 类不确定度评价, 根据标准物质证书, 敌草快标准品的浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$, 不确定度为: $u(C_1) = 0.03 \mu\text{g/mL}$, 其相对标准不确定度为: $\frac{u(C_1)}{C_1} = \frac{0.03}{100} = 0.0003$ 。

(2) 标准溶液配制引入的不确定度

用 1.0 mL 的吸量管吸取 1.0 mL 浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 敌草快标准液转移到 10 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度。用 1.0 mL 的吸量管吸取 1.0 mL 浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 敌草快标准液转移到 10 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 得到 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液。分别用 1.0 mL 的吸量管移取 0.1、0.2、1.0 mL 和用 5.0 mL 的吸量管移取 2.0、5.0 mL 的浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液分别置于 10 mL 容量瓶中, 用水定容配制成浓度为 0.01、0.02、0.1、0.2、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的敌草快标准溶液。

标准溶液的配制稀释过程中, 环境温度和器具校准变化是引入不确定度的主要来源。依据 JJG 196-2006《常用玻璃量器检定规程》^[17], 本实验过程所使用的所有玻璃器具对应的最大允许误差, 按均匀分布 $k=\sqrt{3}$, 计算出标准溶液配制过程中计量器具校准引入的不确定度见表 3。

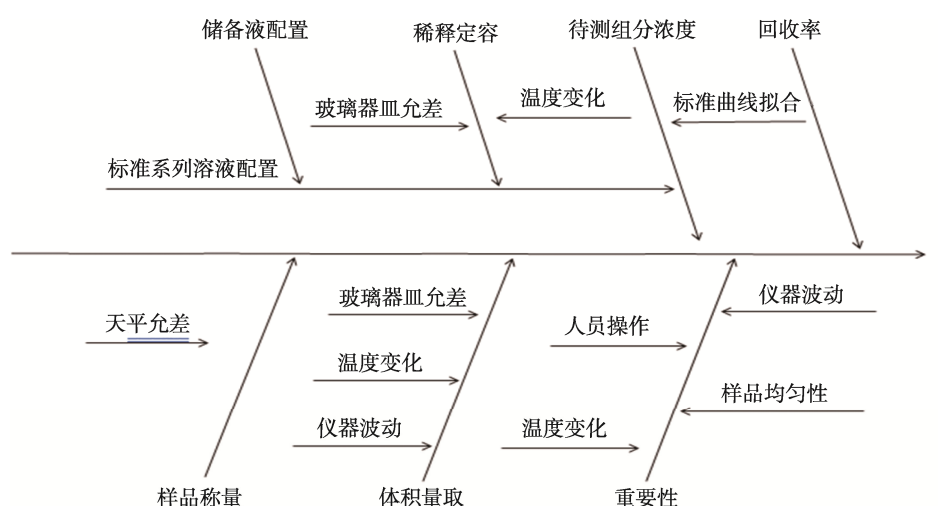


图 2 敌草快的不确定度来源

Fig.2 Uncertainty source for determination of diquat

标准储备液和标准溶液由水配制, 实验室的温度一般在 (20±5) °C 变化, 20 °C 时水体积膨胀系数为 2.1×10^{-4} mL/°C, 硼硅玻璃的体积膨胀系数 1.0×10^{-5} mL/°C, 水体积膨胀系数远大于硼硅玻璃的体积膨胀系数, 因此温度变化引入的不确定度主要由溶剂体积变化产生, 按均匀分布 $k=\sqrt{3}$, 计算得出标准溶液配制过程中温度环境变化引入的不确定度见表 3。

准溶液配制过程中引入的相对标准不确定度为:

$$\frac{u(C_2)}{C_2}=\sqrt{6\times u_1^2+u_2^2+u_3^2+u_4^2+u_5^2+u_6^2}=0.0525。$$

(3) 标准曲线拟合产生的不确定度

对 5 个浓度水平的敌草快标准溶液, 在本实验的色谱条件下进行测定, 以峰面积为纵坐标, 以对应质量浓度为横坐标, 采用最小二乘法拟合绘制标准工作曲线。标准工作曲线信息见表 4。

工作曲线的标准偏差为 $S=\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j-(B_1C_j+B_0)]^2}{n-2}}=217.1。$ 本实验对待测液进行了 6 次测定, 根据工作曲线得到其平均浓度为 0.097 μg/mL, 则由标准曲线拟合引入的标准不确定度按如下公式计算:

$$u(C_3)=\frac{S}{B_1}\sqrt{\frac{1}{P}+\frac{1}{n}+\frac{(C_2-\overline{C})^2}{S_{xx}}}。$$

其中 S 为工作曲线标准偏差, P 为样品测量次数(本实验测定 6 次), n 为工作曲线测定次数(本实验测定 5 次), S_{xx} 标准溶液浓度的残差平方和(见表 5)。经计算得到: $u(C_3)=0.00387。$

相对标准不确定度为: $\frac{u(C_3)}{C_3}=\frac{0.00387}{0.097}=0.0399。$

(4) 试样峰面积测量引入的不确定度

峰面积测量引入的不确定度主要来源于重复进样引入和仪器性能引入的不确定度组成。将样品处理液连续进样 6 次, 其平均值 $\bar{x}=3432$ (见表 6), 用贝塞尔公式计算得到单次测量峰面积的标准偏差 $S_{x_i}=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i-\bar{x})^2}{n-1}}=123.8,$ 其峰面积测定平均值标准不确定度为 $u(C_{4-1})=\frac{S_{x_i}}{\sqrt{n}}=50.55$ (n=6), 则

其相对标准不确定度为 $\frac{u(C_{4-1})}{C_{4-1}}=\frac{50.55}{3432}=0.0147。$

(5) 气相色谱质谱仪引入的不确定度

根据仪器说明书和检定证书, 仪器的最大允许误差 1%, 按均匀分布 B 类评定 $k=\sqrt{3}$ 计算, 仪器测定峰面积的标准不确定度为: $u(C_{4-2})=\frac{1\%}{\sqrt{3}}=0.00577。$

其相对标准不确定度为: $\frac{u(C_{4-2})}{C_{4-2}}=\frac{0.00577}{3432}=0.0000016$ (对结果影响甚微, 可忽略不计)。

综上所述, 峰面积测量引入的相对标准不确定度为:

$$\frac{u(C_4)}{C_4}=0.0147。$$

由标准溶液引入的合成相对标准不确定度为:

$$\frac{u(C)}{C}=\sqrt{\left[\frac{u(C_1)}{C_1}\right]^2+\left[\frac{u(C_2)}{C_2}\right]^2+\left[\frac{u(C_3)}{C_3}\right]^2+\left[\frac{u(C_4)}{C_4}\right]^2}=\sqrt{0.0003^2+0.0525^2+0.0399^2+0.00577^2}=0.0662。$$

3.5.4 样品处理过程引起的不确定度

敌草快测定受实验室操作条件影响较大, 包括: 样品均匀程度、样品提取与净化过程等, 所以采用加标回收实验引入的不确定度进行综合评定, 加标量为 0.1 μg/mL, 重复测定 6 次, 测得的回收率见表 7。

根据贝塞尔公式, 单次测量回收率的标准偏差 $S_{x_i}=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i-\bar{x})^2}{n-1}}=1.682;$ 回收率平均值的标准不确定度为 $u(R)=\frac{S_{x_i}}{\sqrt{n}}=\frac{1.682}{\sqrt{6}}=0.687,$ 其相对标准不确定度为 $\frac{u(R)}{R}=\frac{0.687}{94.8}=0.00724。$

化学分析中不确定度的评估指南(CNAS-GL06)中要求校正明显的系统误差, 用 t 检验判定回收率 R 与 100% 之间是否存在显著性差异, 以判定检测结果是否需要用回收率来校正^[18]。 $t=\frac{|1-R|}{S_{x_i}}=\frac{|100-94.8|}{1.682}=3.09,$ 大于双边临界值 $t(0.95, 5)=2.57,$ 表明回收率间有显著性差异, 检测结果需用回收率进行校正。

表 3 标准溶液配制过程中引入的不确定度
Table 3 Uncertainty resulting from the preparation of standard solution

计量器具	定容或移取 体积/mL	最大允许误差/mL	使用次数	温度引入的标 准不确定度	器具引入的标准 不确定度	相对标准不确定度
10 mL A 级容量瓶	10	±0.020	6	0.00606	0.0115	$u_1=0.000130$
5 mL 吸量管	5	±0.025	1	0.00303	0.0144	$u_2=0.00295$
5 mL 吸量管	2	±0.025	1	0.001212	0.0144	$u_3=0.007242$
1 mL 吸量管	0.1	±0.008	1	0.0000606	0.00462	$u_4=0.0462$
1 mL 吸量管	0.2	±0.008	1	0.000121	0.00462	$u_5=0.0231$
1 mL 吸量管	1	±0.008	1	0.000606	0.00462	$u_6=0.00466$

表 4 线性回归方程拟合
Table 4 Linear regression equation fitting

标准溶液浓 度 $C_j/(\mu\text{g/mL})$	仪器测得的 平均峰面积 A	线性方程
0.01	423	$A_j=C_j\times B_1+B_0=35337C_j+9.1158$
0.02	785	
0.1	3200	
0.2	7324	
0.5	17643	

表 5 拟合标准曲线时引入不确定度计算结果
Table 5 Uncertainty calculations of least squares fitting standard curve

C_2 $/(\mu\text{g/mL})$	$\bar{C}$ $/(\mu\text{g/mL})$	S	S_{xx}	$u(C_3)$ $/(\mu\text{g/mL})$	$\frac{u(C_3)}{C_3}$
0.097	0.166	217.12	0.163	0.00387	0.0399

表 6 重复进样测定峰面积结果
Table 6 Peak areas measured with repeated sample injections

进样数	1	2	3	4	5	6	均值
峰面积	3401	3260	3613	3532	3383	3401	3432

表 7 回收率测定结果
Table 7 Determination results of recovery rate

实验次数	1	2	3	4	5	6	平均值
回收率/%	96.2	95.8	92.7	95.5	92.6	96.0	94.8

3.6 扩展不确定度及测定结果表示

各因素引入的相对不确定度的分量值相互独立，敌草快测定过程中合成标准不确定度为：

$$u_{rel}(X)=\sqrt{\left[\frac{u(m)}{m}\right]^2+\left[\frac{u(V)}{V}\right]^2+\left[\frac{u(C)}{C}\right]^2+\left[\frac{u(R)}{R}\right]^2}=\sqrt{0.0000289^2+0.00941^2+0.0662^2+0.00724^2}=0.0673。$$

在本实验色谱条件下，测得样品中敌草快的含量为 0.094 mg/kg，则其合成标准不确定度为： $u(X)=u_{rel}(X)\times\bar{X}=0.0673\times0.094=0.00632$ mg/kg。取包含因子 $k=2(95\%$ 的置信区间)，则其扩展不确定度为： $U=k\times u(X)=2\times0.00632=0.013$ mg/kg，本实验测定小麦粉中敌草快的不确定度结果报告为： $X=(0.094\pm0.013)$ mg/kg， $k=2$ 。

4 结 论

本研究优化了 GC-MS 法测定谷物中敌草快含量的方法，此法提高了固液萃取、液液萃取的效率，减少多次液液萃取及有毒试剂的使用，提高回收率，缩短工作时间，提高工作效率。该方法线性关系良好、精密度高，结果准确，操作简便，适用于批量检测工作。本研究确定了测量结果不确定度计算模型，并对不确定度的来源进行了分析，

主要来源于标准溶液的配制和标准曲线的拟合，标准溶液配制过程步骤越多，不确定度越大。在测试样品时，应选用高精度的玻璃器皿，控制实验室温度，减少标准溶液配制步骤，定期对仪器检定，规范操作，提高人员技能，从而减少引入的不确定度，提高检测结果的准确度。

参考文献

[1] 高利娜, 宋洋, 祝娟, 等. 固相微萃取结合气质联用测定血浆中敌草快[J]. 中国法医学杂志, 2014, 29(5): 427-430.
Gao LN, Song Y, Zhu J, et al. GC/MS and headspace solid-phase microextraction for rapid determination of diquat in plasma samples [J]. Chin J Forensic Med, 2014, 29(5): 427-430.

[2] 刘学, 任晓东, 张宏军. 灭生性除草剂敌草快与百草枯杀草活性比较[J]. 农药科学与管理, 2006, 25(9): 27-30.
Liu X, Ren XD, Zhang HJ. Comparison of the bioactivities of diquat and paraquat [J]. Pestic Sci Admin, 2006, 25(9): 27-30.

[3] 成云峰, 刘鹏, 薛章荣. 农药敌草快的生态毒性研究[J]. 科技通报, 2015, 31(11): 128-130.
Cheng YF, Liu P, Xue ZR. Study on environment toxicity of diquat [J]. Bull Sci Technol, 2015, 31(11): 128-130.

[4] 沙鸥, 王钰, 王苏南, 等. 固相萃取分光光度法测定敌草快含量[J]. 淮海工学院学报(自然科学版), 2016, 25(4): 30-33.
Sha O, Wang Y, Wang SN, et al. Solid phase extraction coupled with spectrophotometric determination of diquat [J]. J Huaihai Inst Technol (Nat Sci Ed), 2016, 25(4): 30-33.

[5] 朱光艳, 秦冬梅, 龚勇. 敌草快和百草枯在马铃薯中残留检测方法[J]. 农药科学与管理, 2008, 29(7): 11-13.
Zhu GY, Qin DM, Gong Y. Residue analysis of diquat and paraquat in potato by HPLC [J]. Pest Sci Admin, 2008, 29(7): 11-13.

[6] 朱震海, 宣栋梁. 固相萃取-HPLC 法测定水中敌草快、百草枯[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(9): 2154-2156.
Zhu ZH, Xuan DL. Determination of diquat and paraquat in water by high performance liquid chromatography with solid-phase extraction [J]. Chin J Health Lab Technol, 2011, 21(9): 2154-2156.

[7] 李捷, 杨方, 卢声宇, 等. 超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法测定茶叶中敌草快和百草枯残留[J]. 分析实验室, 2014, 33(5): 537-541.
Li J, Yang F, Lu SY, et al. Determination of diquat and paraquat residues in tea by ultra-performance liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2014, 33(5): 537-541.

[8] 王连珠, 李晓莲, 方恩华, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定棕榈原油中敌草快等 6 种农药残留[J]. 色谱, 2016, 34(7): 686-691.
Wang LZ, Li XL, Fang EH, et al. Determination of six pesticide residues including diquat in crude palm oil by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2016, 34(7): 686-691.

[9] 古丽君, 蓝康华, 黄磊, 等. 液液萃取-气质联用法测定食用植物油中的敌草快含量[J]. 中国油脂, 2017, 42(12): 70-72.
Gu LJ, Lan KH, Huang L, et al. Determination of diquat content in edible vegetable oils by liquid-liquid extraction and GC-MS [J]. China Oil Fat, 2017, 42(12): 70-72.

[10] GB/T 5009.221-2008 粮谷中敌草快残留量的测定[S].
GB/T 5009.221-2008 Determination of the residues of diquat in cereals [S].

- [11] 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].
- [12] 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].
- [13] 颜春荣, 徐春祥, 武中平, 等. 气质联用法测定含乳饮料中的邻苯二甲酸酯及其不确定度分析[J]. 乳品科学与技术, 2012, 35(1): 36-39.
Yan CR, Xu CX, Wu ZP, *et al.* GC-MS determination and uncertainty analysis of phthalate acid esters in milk-containing beverages [J]. J Dairy Sci Technol, 2012, 35(1): 36-39.
- [14] 张瑞刚, 杨永坛, 钱承敬. 高效液相色谱法测定饮料中富马酸二甲酯的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(10): 4044-4050.
Zhang RG, Yang YT, Qian CJ. Uncertainty evaluation of the determination of dimethyl fumarate in beverage by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(10): 4044-4050.
- [15] 王吉祥, 胡赠彬, 张学忠, 等. 气相色谱-串联质谱法测定三七中五氯硝基苯残留量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(9): 2164-2168.
Wang JX, Hu ZB, Zhang XZ, *et al.* Evaluation of uncertainty in determination of quintozone in pseudo-ginseng by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(9): 2164-2168.
- [16] 丁怡, 彭程. 多种方法评估液相色谱方法检出限的初步探讨[J]. 现代食品科技, 2009, 25(11): 1372-1374.
Ding Y, Peng C. Evaluation of four simple methods for calculating the method detection limit of HPLC analysis [J]. Mod Food Sci Technol, 2009, 25(11): 1372-1374.
- [17] JJG 196-2006 常用玻璃量器检定规程[S].
JJG 196-2006 Verification regulation of working glass container [S].
- [18] CNAS-GL06 化学分析中不确定度的评估指南[S].
CNAS-GL06 Guidance on evaluation the uncertainty [S].

(责任编辑: 苏笑芳)

作者简介



张 森, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: zhangsen@cofco.com