

# 液相色谱串联质谱内标法测定猪肉中沙丁胺醇及 莱克多巴胺残留量的不确定度分析

韩德娟\*, 高艾英, 高大山  
(泰安市食品药品检验检测中心, 泰安 271000)

**摘要: 目的** 对液相色谱串联质谱内标法测定猪肉中沙丁胺醇、莱克多巴胺 2 种  $\beta$ -受体激动剂残留量的不确定度进行分析。**方法** 采用液相色谱串联质谱以沙丁胺醇 D<sub>3</sub> 为内标对猪肉中沙丁胺醇、莱克多巴胺 2 种  $\beta$ -受体激动剂残留量进行测定; 建立数学模型, 对测量重复性、标准物质纯度、标准溶液配制、内标物质添加、仪器进样体积等不确定因素进行评定。**结果** 当猪肉中沙丁胺醇、莱克多巴胺残留量分别为 11.004  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 11.770  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 其扩展不确定度分别为 2.628  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 2.839  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ( $k=2$ )。**结论** 标准曲线拟合过程、仪器进样体积、标准系列配制过程对检测结果影响最大。

**关键词:** 猪肉; 沙丁胺醇; 莱克多巴胺; 不确定度; 液相色谱串联质谱; 沙丁胺醇-D<sub>3</sub>

## Uncertainty evaluation for the determination of salbutamol and ractopamine residues in pork by liquid chromatography with tandem-mass spectrometric internal standard method

HAN De-Juan\*, GAO Ai-Ying, GAO Da-Shan  
(Taian Center for Food and Drug Control, Taian 271000, China)

**ABSTRACT: Objective** To analyze the uncertainty for the determination of salbutamol and ractopamine in pork by liquid chromatography tandem-mass spectrometry internal standard method. **Methods** The uncertainty for the determination of salbutamol and ractopamine in pork was analyzed by liquid chromatography tandem-mass spectrometry with salbutamol-D<sub>3</sub> as internal standard. The mathematical model was established to evaluate the uncertainty factors such as measurement repeatability, purity of standard substances, preparation of standard solution, addition of internal standard substances and volume of sample injection. **Results** When the residual amounts of salbutamol and ractopamine in pork were 11.004  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 11.770  $\mu\text{g}/\text{kg}$  respectively, the extended uncertainty was 2.628  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 2.839  $\mu\text{g}/\text{kg}$  respectively ( $k=2$ ). **Conclusion** The standard curve fitting process, the volume of instrument injection and the standard series preparation process have the greatest influence on the test results.

**KEY WORDS:** pork; salbutamol; ractopamine; uncertainty; liquid chromatography with tandem-mass spectrometry; salbutamol-D<sub>3</sub>

\*通讯作者: 韩德娟, 助理工程师, 主要研究方向为食品检验。E-mail: handjuan@163.com

\*Corresponding author: HAN De-Juan, Assistant Engineer, Taian Center for Food and Drug Control, No.2666, Fengtian Road, Tai'an City High-Tech Zone Shandong Province, Taian 271000, China. E-mail: handjuan@163.com

## 1 引言

$\beta$ -受体激动剂最早用于 1988 年,主要用于防治人、畜的支气管痉挛,但若将其加大剂量并长期使用,则可提高家畜瘦肉率、促进家畜生长、改善肉质,因此一些饲料生产商与家畜生产者违禁使用该药于家畜养殖中。 $\beta$ -受体激动剂作用效应较强,很容易在动物体内有较长的残留时间并在短期内产生较大的残留量。食用了带有药物残留的牲畜可能危害健康。我国农业部等相关部门多次发文,禁止在畜牧业中使用此类药物。然而,由于经济利益的驱使,瘦肉精事件仍屡禁不止<sup>[1]</sup>。因此检测评估畜肉中瘦肉精残留量的重要性不言而喻,而测量结果的可用性很大程度上取决于其不确定度的大小<sup>[2]</sup>。目前,动物性食品中  $\beta$ -受体激动剂类药物分析方法主要有免疫筛选法及仪器确证法。仪器分析法包括液相色谱法、毛细管电泳法、气相色谱串联质谱法、液相色谱串联质谱法等<sup>[3]</sup>。而液相色谱串联质谱法以其高灵敏度、强可靠性,被广泛应用于各类样品的检测中<sup>[4]</sup>。近年来,液相色谱串联质谱法测定动物组织中  $\beta$ -受体激动剂残留量的不确定度评定方法已见报道,但其多采用外标法定量,内标法的相关研究较少。

本研究参照 CNAS-GL006:2019《化学分析中不确定度的评估指南》<sup>[5]</sup>、JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》<sup>[6]</sup>及 GB/T 22286-2008《动物性食品中多种  $\beta$ -受体激动剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法》<sup>[7]</sup>,以沙丁胺醇-D<sub>3</sub>为内标,对猪肉中沙丁胺醇、莱克多巴胺残留量检测的不确定度进行评价,以期评价测量数据的准确性提供科学依据,并通过分析不确定度的主要影响因素,确保检验结果的可靠性。

## 2 材料与方法

### 2.1 原材料与试剂

猪肉:阳性猪肉样品(市售)。

沙丁胺醇标准品(标准值 100  $\mu\text{g/mL}$ ,扩展不确定度 0.05  $\mu\text{g/mL}$ ,农业部环境保护科研监测所);莱克多巴胺标准品(标准值 100  $\mu\text{g/mL}$ ,扩展不确定度 0.07  $\mu\text{g/mL}$ ,农业部环境保护科研监测所);沙丁胺醇-D<sub>3</sub>(标准值 100  $\text{mg/L}$ ,扩展不确定度 4.41  $\text{mg/L}$ ,德国 Dr.Er 公司); $\beta$ -葡萄糖醛基酶(德国 Dr.E 公司);甲醇(色谱纯,天津巴斯夫)。

### 2.2 仪器与设备

1290/6460 液相色谱-串联质谱仪(安捷伦科技有限公司);FE-28 pH 计、XSW204 电子天平(梅特勒-托利多公司);CF16RN 高速离心机(日本 HITACHI 公司);VORTEX-6 涡旋混合器(其林贝尔公司);N-EVAP34 氮吹仪(美国 Organomation 公司);MCX 阳离子交换柱(安谱公司)。

## 2.3 实验方法

### 2.3.1 样品前处理

样品前处理参照 GB/T 22286-2008《动物性食品中多种  $\beta$ -受体激动剂残留量的测定》进行。即称取 2 g(精确到 0.01 g)经捣碎的样品经  $\beta$ -葡萄糖醛基酶 37  $^{\circ}\text{C}$ 水浴水解 12 h 后添加 50  $\mu\text{L}$  100  $\text{ng/mL}$  内标工作液。待测样品中经提取、过 MCX 阳离子交换柱净化、洗脱、氮气吹干,后用 0.1%甲酸/水-甲醇溶液(95:5,体积比)1 mL 复溶,超声混匀,0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,液相色谱串联质谱测定。

### 2.3.2 液相色谱条件

色谱柱: SHIM-PACK FC-ODS C<sub>18</sub>;流速: 0.2  $\text{mL/min}$ ;柱温: 30  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量: 2  $\mu\text{L}$ 。

流动相: A 相: 0.1%甲酸/水, B 相: 0.1%甲酸/乙腈;梯度淋洗见表 1。

表 1 梯度淋洗表  
Table 1 Gradient elution

时间/min	A/%	B%
0	96	4
2	96	4
8	20	80
21	77	23
22	5	95
25	5	95
25.5	96	4

### 2.3.3 质谱条件

离子源:电喷雾(ESI),正离子模式;扫描方式:多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM);监测离子见表 2。

表 2 被测物的母离子和子离子参数表  
Table 2 The parameters of mother ion and child ion of the measured substance

被测物	母离子( $m/z$ )	子离子( $m/z$ )	定量子离子( $m/z$ )
沙丁胺醇	240	148、222	148
莱克多巴胺	302	164、284	164
沙丁胺醇 D <sub>3</sub>	243	151	151

## 3 结果与分析

### 3.1 数学模型的建立

根据 GB/T 22286-2008《动物性食品中多种  $\beta$ -受体激动剂残留量的测定》,并参考 CNAS-GL006:2019《化学分析中不确定度的评估指南》,测定猪肉中沙丁胺醇和莱克多巴胺含量( $\mu\text{g/kg}$ )可表示为:

$$X = \frac{C \times V \times n}{m} = \frac{c \times c_i \times A \times A_{si} \times V}{c_{si} \times A_i \times A_s \times m}$$

式中:  $X$ —样品中被测物残留量( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );  $C$ —样液中被测物质量浓度( $\text{ng}/\text{mL}$ );  $n$ —稀释倍数;  $c$ —沙丁胺醇、莱克多巴胺标准工作溶液的浓度( $\mu\text{g}/\text{L}$ );  $c_{si}$ —标准工作溶液中内标物的浓度( $\mu\text{g}/\text{L}$ );  $c_i$ —样液中内标物的浓度( $\mu\text{g}/\text{L}$ );  $A_s$ —沙丁胺醇、莱克多巴胺工作溶液的峰面积;  $A$ —样液中沙丁胺醇、莱克多巴胺的峰面积;  $A_{si}$ —标准工作溶液中内标物的峰面积;  $A_i$ —样液中内标物的峰面积;  $m$ —样品称样量( $\text{g}$ )。

### 3.2 不确定度来源分析

通过对测量过程和数学模型的分析, 影响猪肉中沙丁胺醇和莱克多巴胺残留量不确定度的因素有: 重复测定引入的不确定度; 回收率产生的不确定度; 标准物质和内

标物质纯度引入的不确定度; 标准物质和内标物质稀释引入的不确定度; 标准系列配制引入的不确定度; 标准曲线拟合引入的不确定度; 添加内标物质引入的不确定度; 样品称量引入的不确定度; 样品定容引入的不确定度; 仪器进样体积引入的不确定度。其关系图如图 1。

### 3.3 各分量不确定度的计算

#### 3.3.1 重复性测定样品产生的不确定度

沙丁胺醇、莱克多巴胺含量为分别为 12.5、13.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的猪肉样品, 平行测定 10 次, 将重复测定的平均值  $\bar{X}$ , 标准偏差  $S(\bar{X})$  结果分别代入公式

$$u(\bar{X}) = \frac{S(\bar{X})}{\sqrt{10}}, \quad u_r(\bar{X}) = \frac{u(\bar{X})}{\bar{X}}$$

引入的不确定度如表 3 所示。

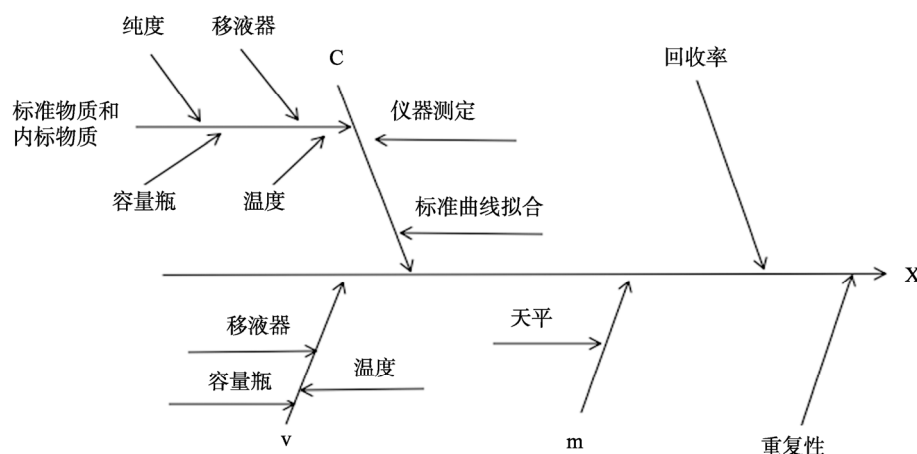


图 1 不确定度分量因果图

Fig.1 Cause and effect relationship of each component of uncertainty

表 3 猪肉中沙丁胺醇、莱克多巴胺测定结果

Table 3 Results of determination of salbutamol and ractopamine in pork

编号	称样量/g	沙丁胺醇			莱克多巴胺		
		质量浓 $C/(\text{ng}/\text{mL})$	含量 $X/(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率 $R/\%$	质量浓度 $C/(\text{ng}/\text{mL})$	含量 $X/(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率 $R/\%$
1	2.00	22.8789	11.439	91.52	24.0706	12.035	89.15
2	2.00	22.0532	11.027	88.21	23.2286	11.614	86.03
3	2.00	22.3104	11.155	89.24	23.4552	11.728	86.87
4	2.00	21.2742	10.637	85.10	22.9505	11.475	85.00
5	2.00	22.0699	11.035	88.28	23.9866	11.993	88.84
6	2.00	22.0953	11.048	88.38	23.6023	11.801	87.42
7	2.00	22.2906	11.145	89.16	24.1221	12.061	89.34
8	2.00	21.9079	10.954	87.63	23.5726	11.786	87.31
9	2.00	21.3140	10.657	85.26	22.8744	11.437	84.72
10	2.00	21.8914	10.946	87.57	23.6782	11.839	87.70
平均值	2.00	22.00858	11.004	88.03	23.55411	11.770	87.24
标准偏差	0	0.4458	0.2229	1.7830	0.4167	0.2084	1.5434
不确定度	0	0.14096	0.07048	0.56384	0.13178	0.06589	0.48807
相对不确定度	0	0.006405	0.006405	0.006405	0.005595	0.005598	0.005595

## 3.3.2 标准物质、内标引入的不确定度

## (1) 标准物质纯度引入的不确定度

沙丁胺醇标准品的标准值为 100  $\mu\text{g/mL}$ , 扩展不确定度 0.07  $\mu\text{g/mL}$  ( $k=2$ ); 莱克多巴胺标准品的标准值为 100  $\mu\text{g/mL}$ , 扩展不确定度 0.05  $\mu\text{g/mL}$  ( $k=2$ ); 则由纯度引入的相对不确定度分别为: 沙丁胺醇:

$$u_r(p) = \frac{0.05}{2 \times 100} = 0.00025; \quad \text{莱克多巴胺:}$$

$$u_r(p) = \frac{0.07}{2 \times 100} = 0.00035。$$

## (2) 内标物质纯度引入的不确定度

沙丁胺醇-D<sub>3</sub> 的标准值为 100  $\text{mg/L}$ , 扩展不确定度 4.41  $\text{mg/L}$  ( $k=2$ ); 则由纯度引入的相对不确定度分别为:

$$u_r(p_{\text{内标}}) = \frac{4.41}{2 \times 100} = 0.02205。$$

## (3) 标准物质稀释过程引入的不确定度

用 1 mL 单标线吸量管分别移取沙丁胺醇 (100  $\mu\text{g/mL}$ )、莱克多巴胺标准品溶液 (100  $\mu\text{g/mL}$ ) 1 mL 于 100 mL 容量瓶中, 甲醇定容, 摇匀, 得到浓度为 1.0  $\mu\text{g/mL}$  的混合标准储备液。用 10 mL 单标线吸量管移取 1.0  $\mu\text{g/mL}$  混合标准储备液 10 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 得到浓度为 100  $\text{ng/mL}$  的混合标准工作液。

根据 JJG 196-2006《常用玻璃量器》规定, 20  $^{\circ}\text{C}$  时 1 mL A 级单标线吸量管、10 mL A 级单标线吸量管及 100 mL A 级容量瓶的容量允许误差分别为  $\pm 0.007$  mL、 $\pm 0.020$  mL 及  $\pm 0.10$  mL, 假设为对称分布,  $k = \sqrt{6}$ , 则其不确定度分别为  $u(V_{\text{吸量管}1}) = \frac{0.007}{\sqrt{6}} = 0.002858$ ,  $u(V_{\text{吸量管}2}) = \frac{0.020}{\sqrt{6}}$

$= 0.008165$ ,  $u(V_{\text{容量瓶}}) = \frac{0.10}{\sqrt{6}} = 0.04082$ 。实验室的温度为

20  $^{\circ}\text{C} \pm 2$   $^{\circ}\text{C}$ , 甲醇的体积膨胀系数为  $1.1 \times 10^{-3} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$ , 远大于玻璃的膨胀系数, 故玻璃的膨胀系数忽略。假设温度波动呈均匀分布  $k = \sqrt{3}$ , 则温度引起的标准不确定度

$$u(V_T) = \frac{2 \times 1.1 \times 10^{-3} \times 100}{\sqrt{3}} = 0.12702。 \text{则得到 1.0 } \mu\text{g/mL 混}$$

合标准储备液稀释过程引入的相对不确定度

$$u_r(V_{\text{标准溶液}1}) = \frac{\sqrt{0.002858^2 \times 2 + 0.04082^2 + 0.12702^2}}{100}$$

$= 0.0013348$ ; 得到 100  $\text{ng/mL}$  混合标准工作液稀释过程引入的相对不确定度

$$u_r(V_{\text{标准溶液}2}) = \frac{\sqrt{0.008165^2 + 0.04082^2 + 0.12702^2}}{100} = 0.0013367$$

所以标准物质稀释过程引入的不确定度

$$u_r(V_{\text{标准溶液}}) = \sqrt{0.0013348^2 + 0.0013367^2} = 0.001889。$$

## (4) 内标溶液稀释过程引入的不确定度

用 1 mL 单标线吸量管移取沙丁胺醇-D<sub>3</sub> 内标溶液

(100  $\text{mg/L}$ ) 1.0 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 得到质量浓度为 1  $\text{mg/L}$  的沙丁胺醇-D<sub>3</sub> 溶液; 再用 10 mL 单标线吸量管移取 10 mL 该溶液于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 得到质量浓度为 100  $\text{ng/mL}$  的沙丁胺醇-D<sub>3</sub> 内标工作液。

根据 JJG 196-2006《常用玻璃量器》规定, 20  $^{\circ}\text{C}$  时 1 mL A 级单标线吸量管、10 mL A 级单标线吸量管及 100 mL A 级容量瓶的容量允许误差分别为  $\pm 0.007$  mL、 $\pm 0.020$  mL 及  $\pm 0.10$  mL, 假设为对称分布,  $k = \sqrt{6}$ , 则其不确定度分别为  $u(V_{\text{吸量管}1}) = \frac{0.007}{\sqrt{6}} = 0.002858$ ,

$$u(V_{\text{吸量管}2}) = \frac{0.020}{\sqrt{6}} = 0.008165, \quad u(V_{\text{容量瓶}}) = \frac{0.10}{\sqrt{6}}$$

$= 0.04082$ 。实验室的温度为 20  $^{\circ}\text{C} \pm 2$   $^{\circ}\text{C}$ , 甲醇的体积膨胀

系数为  $1.1 \times 10^{-3} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$ , 远大于玻璃的膨胀系数, 故玻璃的膨胀系数忽略。假设温度波动呈均匀分布  $k = \sqrt{3}$ , 则温度

引起的标准不确定度  $u(V_T) = \frac{2 \times 1.1 \times 10^{-3} \times 100}{\sqrt{3}} = 0.12702$ 。

则得到质量浓度为 1  $\text{mg/L}$  的沙丁胺醇-D<sub>3</sub> 溶液稀释过程引入的相对不确定度

$$u_r(V_{\text{内标}1}) = \frac{\sqrt{0.002858^2 + 0.04082^2 + 0.12702^2}}{100} = 0.0013345$$

; 则得到质量浓度为 100  $\text{ng/mL}$  的沙丁胺醇-D<sub>3</sub> 溶液稀释过程引入的相对不确定度

$$u_r(V_{\text{内标}2}) = \frac{\sqrt{0.008165^2 + 0.04082^2 + 0.12702^2}}{100} = 0.0013367$$

; 所以内标溶液稀释过程引入的相对不确定度

$$u_r(V_{\text{内标溶液}}) = \sqrt{0.0013345^2 + 0.0013367^2} = 0.001889。$$

## (5) 标准系列配制过程引入的不确定度

准确称取 2 g (精确到 0.01 g) 空白样品于 50 mL 离心管中, 平行操作 5 次。分别向其中添加 50、100、200、300、400  $\mu\text{L}$  混合标准工作液 (100  $\text{ng/mL}$ ), 按照 1.3.1 样品前处理步骤操作, 得到含量分别为 2.5、5、10、15、20  $\mu\text{g/kg}$  的空白加标系列溶液。

根据 JJG 646-2006《移液器检定规程》规定, 按照均匀分布处理, 玻璃器具及温度波动引入的不确定度见表 4。

则由标准系列配制过程引入的相对不确定度为:

$$u_r(V_{\text{标准系列}}) = \sqrt{\frac{(0.03874^2 + 0.01298^2 + 0.01048^2)}{+0.03230^2 + 0.01619^2}} = 0.04518$$

## (6) 标准曲线拟合引入的不确定度

沙丁胺醇标准曲线的回归方程为  $Y_1 = 1.183814X_1 - 0.065026$  ( $R^2 = 0.9998$ )。莱克多巴胺标准曲线的回归方程为  $Y_2 = 0.867072X_2 - 0.250399$  ( $R^2 = 0.9976$ )。标准曲线产生的不确定度源于标准曲线残差的标准偏差, 残差

为测量值  $Y$  与标准曲线拟合值  $\hat{Y}$  之差的绝对值  $|Y - \hat{Y}|$ 。沙丁胺醇、莱克多巴胺标准曲线残差计算表分别见表 5、表 6:

标准曲线拟合引入的标准不确定度根据公式

$$u(x_{\text{拟合}}) = \frac{sE}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(X_0 - \bar{X})^2}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}}$$

计算, 其中  $sE$  为标准溶液峰面积残差的标准差, 其计算公式为:

$sE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y - \hat{Y}_i)^2}{n - 2}}$ ,  $n$  为标准样品测试次数  $n=5$ , 所以  $sE_1$ 、 $sE_2$  分别为 1.7274、1.3779;  $b$  为斜率;  $p$  为样品  $X_0$  的测试次数

$p=10$ ;  $\bar{X}$  为标准溶液的平均质量浓度,  $\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^5 X_i}{5} = 10.5$ ,  $\sum_{i=1}^5 (X_i - \bar{X})^2 = 205$ 。测得样品中沙丁胺醇、莱克多巴胺浓度  $X_0$  分别为 11.004、11.770  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 沙丁胺醇  $u(X_{\text{标拟合}}) = 0.8009$ , 莱克多巴胺  $u(X_{\text{标拟合}}) = 0.8817$ ,

所以, 由标准曲线拟合引入的相对不确定度

$$ur(X_{\text{沙丁胺醇标拟合}}) = \frac{0.8009}{11.004} = 0.07278,$$

$$ur(X_{\text{莱克多巴胺标拟合}}) = \frac{0.8817}{11.770} = 0.0749。$$

(7) 添加内标物质引入的不确定度

用 100  $\mu\text{L}$  移液枪吸取 50  $\mu\text{L}$  100  $\text{ng}/\text{mL}$  的沙丁胺醇-D3 溶液, 根据 JJG 646-2006《移液器检定规程》规定, 容量允许误差为  $\pm 3.0\%$ , 测量重复性为 1.5%, 按照均匀分布处理, 则其不确定度分别为  $u(V_{\text{内标刻度}}) = \frac{0.003}{\sqrt{3}} = 0.001732$ ,

$$u(V_{\text{内标重复性}}) = \frac{0.0015}{\sqrt{3}} = 0.0008660。$$

实验室的温度为 20  $^{\circ}\text{C} \pm 2$   $^{\circ}\text{C}$ , 甲醇体积膨胀系数为  $1.1 \times 10^{-3} \text{ } ^{\circ}\text{C}^{-1}$ , 假设温度波动呈均匀分布  $k = \sqrt{3}$ , 则温度引起的标准不确定度

$$u(V_{\text{内标温度}}) = \frac{2 \times 1.1 \times 10^{-3} \times 0.05}{\sqrt{3}} = 0.0000635。$$

所以添加内标物质引入的相对不确定度

$$ur(V_{\text{内标添加}}) = \frac{\sqrt{0.001732^2 + 0.0008660^2 + 0.0000635^2}}{0.05} = 0.03874。$$

表 4 标准系列配制过程引入的不确定度

Table 4 Uncertainty introduced in the preparation of standard series

项目	100 $\mu\text{L}$ 移液器	100 $\mu\text{L}$ 移液器	200 $\mu\text{L}$ 移液器	1000 $\mu\text{L}$ 移液器	1000 $\mu\text{L}$ 移液器
移取体积/mL	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
刻度误差	容量允许误差/%	$\pm 3.0$	$\pm 2.0$	$\pm 1.5$	$\pm 1.5$
	计算公式	$0.003/\sqrt{3}$	$0.002/\sqrt{3}$	$0.003/\sqrt{3}$	$0.015/\sqrt{3}$
	不确定度 $u(V_{\text{刻度}})$ /mL	0.001732	0.001155	0.001732	0.008660
重复性	测量重复性/%	1.5	1.0	1.0	0.75
	计算公式	$0.0015/\sqrt{3}$	$0.001/\sqrt{3}$	$0.002/\sqrt{3}$	$0.0075/\sqrt{3}$
	不确定度 $u(V_{\text{重复性}})$ /mL	0.0008660	0.0005774	0.001155	0.004330
温度波动	温度误差/ $^{\circ}\text{C}$	$\pm 2$	$\pm 2$	$\pm 2$	$\pm 2$
	甲醇体积膨胀系数 $\beta_{\text{甲醇}}$ / $^{\circ}\text{C}$	$1.1 \times 10^{-3}$	$1.1 \times 10^{-3}$	$1.1 \times 10^{-3}$	$1.1 \times 10^{-3}$
	计算公式	$\beta_{\text{甲醇}} \times 2 \times 0.05/\sqrt{3}$	$\beta_{\text{甲醇}} \times 2 \times 0.1/\sqrt{3}$	$\beta_{\text{甲醇}} \times 2 \times 0.2/\sqrt{3}$	$\beta_{\text{甲醇}} \times 2 \times 0.3/\sqrt{3}$
	不确定度 $u(V_{\text{温度}})$ /mL	0.0000635	0.000127	0.000254	0.000381
相对不确定度 $ur(V)$	0.03874	0.01298	0.01048	0.03230	0.01619

表 5 沙丁胺醇标准曲线残差计算表

Table 5 Calculation table of standard curve residuals for salbutamol

$X_{i1}$	$Y_1$	$\hat{Y}_1$	$(Y_1 - \hat{Y}_1)^2$
2.5	2.645	2.894	0.0620
5	4.404	5.853	2.0996
10	10.682	11.773	1.1903
15	16.047	17.692	2.7060
20	21.910	23.611	2.8934

表 6 莱克多巴胺标准曲线残差计算表

Table 6 Calculation table of standard curve residuals for ractopamine

$X_{2i}$	$Y_2$	$\hat{Y}_2$	$(Y_2 - \hat{Y}_2)^2$
2.5	1.857	1.917	0.0036
5	4.469	4.085	0.1475
10	8.078	8.420	0.1170
15	11.578	12.756	1.3877
20	15.081	17.091	4.0401

## 3.3.3 样品引入的不确定度

## (1) 样品称量引入的不确定度

称取 2 g 猪肉样品, 所用天平最大允许误差为 $\pm 0.005$ ,

按照均匀分布计算, 其不确定度:  $u(m) = \frac{0.005}{\sqrt{3}} = 0.00289$ , 相对

不确定度:  $u_r(m) = \frac{0.00289}{2} = 0.00144$ 。

## (2) 定容体积引入的不确定度

样品经提取、净化后用 0.1% 甲酸/水-甲醇溶液(95:5, 体积比)1 mL 复溶, 根据 JJG 646-2006《移液器检定规程》规定, 1000  $\mu\text{L}$  移液枪容量允许误差为 1.0%, 测量重复性为 0.5%, 按照均匀分布处理, 则其不确定度分别为

$$u(V_{\text{定容刻度}}) = \frac{0.01}{\sqrt{3}} = 0.005774,$$

$u(V_{\text{定容重复性}}) = \frac{0.005}{\sqrt{3}} = 0.002887$ 。实验室的温度为

20  $^{\circ}\text{C} \pm 2$   $^{\circ}\text{C}$ , 水的体积膨胀系数为  $2.1 \times 10^{-4} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$ , 假设温度波动呈均匀分布  $k = \sqrt{3}$ , 则温度引起的不确定度

$u(V_{\text{定容温度}}) = \frac{2 \times 2.1 \times 10^{-4} \times 1}{\sqrt{3}} = 0.0002425$ 。所以定容引入

的相对不确定度

$$u_r(V_{\text{定容}}) = \sqrt{0.005774^2 + 0.002887^2 + 0.0002425^2} = 0.006460。$$

## (3) 仪器进样体积引入的不确定度

实验过程中采用经校准合格的高效液相色谱-串联质谱, 采用的进样量为  $V = 2 \mu\text{L}$ , 根据 JJG 646-2006《移液器检定规程》规定, 对于标称容量为 2  $\mu\text{L}$  的移液器的容量允许误差为 $\pm 12.0\%$ , 所以仪器进样体积引入的不确定度

$$u_r(V_{\text{进样体积}}) = \frac{0.12}{\sqrt{3}} = 0.06928^{\circ}$$

## 3.4 合成标准不确定度

沙丁胺醇、莱克多巴胺相对不确定度分量见表 7。

根据表 7 可以看出, 标准物质纯度、样品称量等引入的不确定度相对较小, 可忽略不计, 因此沙丁胺醇及莱克多巴胺其他步骤分析过程引入的相对标准不确定度分别为

$$u_r(X_{\text{沙丁胺醇}}) = \sqrt{\begin{matrix} (0.006405^2 \times 2 + 0.02205^2 \\ + 0.00889^2 \times 2 + 0.04518^2 + 0.07278^2 \\ + 0.03874^2 + 0.00144^2 + 0.006460^2 + 0.06928^2) \end{matrix}} = 0.1194$$

$$u_r(X_{\text{莱克多巴胺}}) = \sqrt{\begin{matrix} (0.005598^2 + 0.005595^2 + 0.02205^2 \\ + 0.001889^2 \times 2 + 0.04518^2 + 0.0749^2 \\ + 0.03874^2 + 0.006460^2 + 0.06928^2) \end{matrix}} = 0.1206$$

其标准不确定度  $u_r(X_{\text{沙丁胺醇}}) = 0.1194 \times 11.004 = 1.3139$ ,

$u_r(X_{\text{莱克多巴胺}}) = 0.1206 \times 11.770 = 1.4195$ 。

## 3.5 扩展不确定度

根据 JJF 1135-2005, 取置信区间  $P = 95\%$ , 包含因子  $k = 2$ ; 根据公式  $U = u_r(X) \times 2$ , 沙丁胺醇、莱克多巴胺扩展

表 7 沙丁胺醇、莱克多巴胺相对不确定度分量表  
Table 7 Relative uncertainty subscale of salbutamol and ractopamine

序号	不确定度来源	不确定度符号	沙丁胺醇	莱克多巴胺
1	重复性测定样品	$u_r(\bar{X})$	0.006405	0.005598
2	测量回收率	$u_r(R)$	0.006405	0.005595
3	标准物质纯度	$u_r(p)$	0.00025	0.00035
4	内标物质纯度	$u_r(p_{\text{内标}})$	0.02205	0.02205
5	标准物质稀释过程	$u_r(V_{\text{标准溶液}})$	0.001889	0.001889
6	内标溶液稀释过程	$u_r(V_{\text{内标溶液}})$	0.001889	0.001889
7	标准系列配制过程	$u_r(V_{\text{标准系列}})$	0.04518	0.04518
8	标准曲线拟合	$u_r(X_{\text{标准拟合}})$	0.07278	0.0749
9	添加内标物质	$u_r(V_{\text{内标添加}})$	0.03874	0.03874
10	样品称量	$u_r(m)$	0.00144	0.00144
11	定容体积	$u_r(V_{\text{定容}})$	0.006460	0.006460
12	仪器进样体积	$u_r(V_{\text{进样体积}})$	0.06928	0.06928

不确定分别为  $U_{\text{沙丁胺醇}}=2.628$ 、 $U_{\text{莱克多巴胺}}=2.839$ ; 最终结果可表示为沙丁胺醇含量  $X_{\text{沙丁胺醇}}=(11.004\pm 2.628)\ \mu\text{g}/\text{kg}$ , 莱克多巴胺含量  $X_{\text{莱克多巴胺}}=(11.770\pm 2.839)\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

## 4 结论

本文采用液相色谱串联质谱内标法对猪肉中沙丁胺醇及莱克多巴胺含量进行测定, 其不确定度主要来源于标准曲线拟合过程, 其次来源于仪器进样体积, 而标准系列配制过程、内标物质纯度及添加内标物质过程引入的不确定度分量也较大, 标准物质纯度、样品称量等引入的不确定度可以忽略不计。因此, 实验过程中可通过提高实验人员的操作水平和加强实验仪器的维护保养, 严格控制标准溶液的配制过程和标准曲线校准过程, 减小测量不确定度。

## 参考文献

- [1] 岳振峰. 食品中兽药残留检测指南[M]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 175-176.  
Yue ZF. Guidelines for detection of veterinary drug residues in food [M]. Beijing: China Standard Press, 2010: 175-176.
- [2] 贾涛, 王有月, 赵营, 等. 饲料中 $\beta$ -受体激动剂的检测研究进展[J]. 饲料研究, 2012, (2): 9-71.  
Jia T, Wang YY, Zhao Y, *et al.* Progress in the detection of  $\beta$ -receptor agonists in feed [J]. Feed Res, 2012, (2): 9-71.
- [3] 倪晓丽. 化学分析测量不确定度评定指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2018.  
Ni XL. Evaluation guide for uncertainty of chemical analysis measurement [M]. Beijing: China Metrology Publishing House, 2018.
- [4] 卢艳芬, 徐丽君, 王辉, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定饲料中的7种 $\beta_2$ -兴奋剂[J]. 质谱学报, 2012, 33(5): 280-285.  
Lu YF, Xu LJ, Wang H, *et al.* Simultaneous determination of 7 kinds of  $\beta_2$ -agonists in feed by UPLC-MS/MS [J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2012, 33(5): 280-285.
- [5] CNAS-GL006:2019 中国合格评定国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南[S]. 北京: 中国计量出版社, 2019.  
CNAS-GL006:2019 China national accreditation service for conformity assessment. Guide for evaluation of uncertainty in chemical analysis [S]. Beijing: China Metrology Publishing House, 2019.
- [6] JF 1059.1-2012 国家质量监督检验检疫总局. 测量不确定度评定与表示[S]. 北京: 中国计量出版社, 2012.  
JF 1059. 1-2012 General administration of quality supervision, inspection and quarantine of the people's republic of China. Evaluation and expression of measurement uncertainty [S]. Beijing: China Metrology Publishing House, 2012.
- [7] GB/T 22286-2008. 动物性食品中多种 $\beta$ -受体激动剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.  
GB/T 22286-2008. Determination of various  $\beta$ -Agonist residues in animal foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry [S]. Beijing: China Standard Press, 2008.
- [8] 宁军, 王军. 血液中乙醇含量测定内标法和外标法不确定度的比较[J]. 计量与测试技术, 2017, 44(1): 61-65.  
Ning J, Wang J. Comparison of uncertainty between internal standard method and external standard method for determination of ethanol content in blood [J]. Meas Test Technol, 2017, 44(1): 61-65.
- [9] 宁霄, 金绍明, 梁瑞强, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中 $\beta$ -受体激动剂残留量的不确定度分析[J]. 食品科学, 2017, 38(6): 315-320.  
Ning X, Jin SM, Liang RQ, *et al.* Determination of the uncertainty of beta agonist residues in pork by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2017, 38(6): 15-320.
- [10] 骆晓敏, 阮征, 李沛生, 等. 液相色谱串联质谱法测定猪肉中盐酸莱克多巴胺不确定度分析[J]. 广州城市职业学院学报, 2017, 11(1): 48-52.  
Luo XM, Ruan Z, Li BS, *et al.* Determination of the uncertainty of ractopamine hydrochloride in pork by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Guangzhou Vocat Coll, 2017, 11(1): 48-52.
- [11] 李珊, 杨宁, 胡廷皓, 等. 超高效液相色谱法测定配制酒中糖精钠的不确定度分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(19): 5109-5113.  
Li S, Yang N, Hu TH, *et al.* Determination of the uncertainty of saccharin sodium in prepared wine by ultra high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(19): 5109-5113.
- [12] 黄雪英, 齐敏, 沈丹, 等. 液质联用法测定猪肝中 $\beta$ -受体激动剂残留的不确定度评定[J]. 中国兽药杂志, 2015, (1): 45-51.  
Huang XY, Qi M, Shen D, *et al.* Evaluation of uncertainty in determination of  $\beta$ -receptor agonist residues in pig liver by liquid-mass spectrometry [J]. Chin J Vet Drug, 2015, (1): 45-51.
- [13] 熊波, 韩振亚, 苏焕斌, 等. 猪尿中盐酸莱克多巴胺测量结果不确定度的评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(2): 769-773.  
Xiong B, Han ZY, Su HB, *et al.* Evaluation of uncertainty of measurement results of ractopamine hydrochloride in pig urine [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(2): 769-773.
- [14] 范巧成. Excel在线性回归法测量不确定度评定中的应用[J]. 理化检验-化学分册, 2005, 1(9): 678-680.  
Fan QC. Application of excel in uncertainty evaluation of linear regression measurement [J]. Phys Chem Exam-Chem Div, 2005, 1(9): 678-680.
- [15] 李兰英, 丁敏, 徐勤, 等. LC-MS/MS测定猪尿中盐酸莱克多巴胺不确定度的评定[J]. 中国计量学院学报, 2012, 3(1): 7-12.  
Li LY, Ding M, Xu Q, *et al.* Evaluation of uncertainty in determination of ractopamine hydrochloride in pig urine by lc-ms/MS [J]. J Chin Inst Metrol, 2012, 3(1): 7-12.
- [16] 国家质量监督检验检疫总局. 移液器检定规程: JIG 646-2006[S]. 北京: 中国计量出版社, 2006.  
General administration of quality supervision, inspection and quarantine of China. Inspection regulation of pipette: JIG 646-2006 [S]. Beijing: China Metrology Publishing House, 2006.
- [17] JIG 196-2006 国家质量监督检验检疫总局. 常用玻璃器检定规程[S]. 北京: 中国计量出版社, 2006.  
JIG 196-2006 General administration of quality supervision, inspection

and quarantine of China. Inspection regulations of common glassware [S].

Beijing: China Metrology Publishing House, 2006.

- [18] 郭军, 王文兰, 赵全东, 等. 气相色谱法测定水产品中氯霉素残留的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(23): 6216-6220.

Guo J, Wang WL, Zhao QD, *et al.* Evaluation of the uncertainty of determination of chloramphenicol residue in aquatic products by gas chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(23): 6216-6220.

(责任编辑: 王 欣)

### 作者简介



韩德娟, 助理工程师, 主要研究方向为食品检验。

E-mail: handjuan@163.com

## “动物性食品质量与安全”专题征稿函

动物性食品是人们食品的重要组成部分, 这类食品含有丰富蛋白质、脂肪、碳水化合物、矿物质等。然而这类食品容易腐败变质, 且养殖环境的污染、饲料的污染也会对动物源食品安全造成危害, 从而影响消费者健康。

鉴于此, 本刊特别策划了“动物性食品质量与安全”专题, 由中国农业科学院饲料研究所李俊研究员担任专题主编, 主要围绕动物性食品及饲料中农兽药残留、违禁添加物、霉菌毒素、环境污染物的检测、加工贮藏与品质控制、营养成分分析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李俊研究员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 **2020 年 5 月** 出版, 请在 **2020 年 3 月 15 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。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 再次感谢您的关怀与支持!

谢谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: [www.chinafoodj.com](http://www.chinafoodj.com)(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者登录-注册投稿-投稿选择“**专题: 动物性食品质量与安全**”)

E-mail: [jfoodsq@126.com](mailto:jfoodsq@126.com)

《食品安全质量检测学报》编辑部