

气相色谱-质谱法测定芥蓝中虫螨腈残留量的 不确定度评定

林慧纯*, 王 瑞, 禹绍周, 张晓鸿, 张晓强, 王钰歆

(深圳市农产品质量安全检验检测中心, 广东省食品药品监督管理局食用农产品监管重点实验室, 深圳 518040)

摘要: **目的** 评定气相色谱-质谱法测定芥蓝中虫螨腈的不确定度。**方法** 采用气相色谱-质谱法(GB 23200.8-2016)对芥蓝中虫螨腈残留量进行测定, 建立测量不确定度的数学模型, 计算检测过程中不确定度分量, 合成扩展不确定度。**结果** 当芥蓝中虫螨腈残留量为 0.091 mg/kg 时, 其扩展不确定度为 0.0060 mg/kg ($k=2$)。**结论** 标准溶液配制过程引入的不确定度贡献率最大, 使用的量具标称容量越小引入的不确定度越大, 使用体积越小引入的不确定度越大。实验室可通过选择合适的量具、增加平行样品测定, 提高人员操作熟练度及稳定性等来减小测量不确定度。

关键词: 气相色谱-质谱法; 芥蓝; 虫螨腈; 不确定度

Uncertainty evaluation for determination of chlorfenapyr residues in cabbage mustard by gas chromatography-mass spectrometry

LIN Hui-Chun*, WANG Rui, YU Shao-Zhou, ZHANG Xiao-Hong, ZHANG Xiao-Qiang, WANG Yu-Xin

(Shenzhen Agricultural Product Quality Safety Inspection Testing Center/Key Laboratory of Supervision for Edible
Agricultural Products, Guangdong Administration for Market Regulation, Shenzhen 518040, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty for the determination of chlorfenapyr in cabbage by gas chromatography-mass spectrometry. **Methods** Gas chromatography-mass spectrometry (GB 23200.8-2016) was used to determine chlorfenapyr residues in cabbage, a mathematical model of measurement uncertainty was established, uncertainty components in the detection process were calculated, and the extended uncertainty was synthesized. **Results** When the residue of chlorfenapyr was 0.091 mg/kg, the expanded uncertainty was 0.0060 mg/kg ($k=2$). **Conclusion** The uncertainty contribution rate introduced in the preparation process of standard solution is the largest. The smaller the nominal capacity of the measuring tool is, the greater the uncertainty will be, and the smaller the used volume is, the greater the uncertainty will be. The laboratory can reduce the uncertainty of measurement by selecting appropriate measuring tools, increasing parallel sample measurement, and improving the proficiency and stability of personnel.

KEY WORDS: gas chromatography-mass spectrometry; cabbage mustard; chlorfenapyr; uncertainty

*通讯作者: 林慧纯, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品质量安全检测。E-mail: 43241309@qq.com

*Corresponding author: LIN Hui-Chun, Senior Agronomist, Shenzhen Agricultural Product Quality Safety Inspection Testing Center/Key Laboratory of Supervision for Edible Agricultural Products, Guangdong Administration for Market Regulation, Agricultural technology building, chaguang Road, Nanshan District, Shenzhen 518040, China. E-mail: 43241309@qq.com

1 引言

测量不确定度是评定检测、校准结果水平的指标,根据所用到的信息,表征赋予被测量值分散性的非负参数。我国实验室认可执行标准 RB/T 214-2017《检验检测机构资质认定能力评价检验检测机构通用要求》^[1]明确要求检验检测机构应建立相应数学模型,给出相应检验检测能力的评定测量不确定度案例。检验检测机构在检验检测出现临界值、内部质量控制或客户有要求时,需要报告测量不确定度。因此,对每个检验检测实验室来说,研究测量不确定度尤为重要^[2-8]。

虫螨腈(chlorfenapyr, CAS: 122453-73-0),又名除尽,溴虫腈,是一种新型吡咯类杀虫、杀螨剂,对多种害虫具有胃毒和触杀作用,防治小菜蛾具有防效高、持效期较长等优点^[9]。国家标准 GB 2763-2019《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》中规定,芥蓝中虫螨腈的残留限量为 0.1 mg/kg^[10],该农药为广谱性农药,受农户的青睐,但由于限量值低,导致其残留问题日益突出。

本文参照 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],依据 GB 23200.8-2016《水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定气相色谱-质谱法》^[13]评定芥蓝样品中虫螨腈残留检测的不确定度,以期实验室检测结果的准确性提供科学依据,为气相色谱-质谱法测定其他农药残留量的不确定度评定提供参考。

2 材料与方法

2.1 材料、试剂与仪器

芥蓝绞碎样,购于超市;虫螨腈标准品(100.2 mg/L,安谱公司)。

乙腈、甲苯、正己烷(色谱纯,德国 Merck 公司);氯化钠(广州化学试剂厂)。

GC/MS 6890N/5975C 气相色谱质谱仪(安捷伦科技(中国)有限公司);SQP 电子天平(北京赛多利斯公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 前处理方法

称取 20 g 试样(精确至 0.01 g)于 80 mL 塑料离心管中,加入 40 mL 乙腈,用均质器,15000 r/min 匀浆提取 1 min,加入 5 g 氯化钠,再匀浆提取 1 min,后 3000 r/min 离心 5 min,取上清液 10 mL,40 °C 水浴中旋转浓缩至约 1 mL,待净化。将此溶液上样,预先用 4 mL 乙腈+甲苯($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{甲苯}}=3:1$)条件化的 carb-NH₂ 小柱,再每次用 2 mL 乙腈+甲苯($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{甲苯}}=3:1$)3 次洗涤样液瓶,用 25 mL 乙腈+甲苯($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{甲苯}}=3:1$)淋洗,收集洗涤液和淋洗液,40 °C 水浴旋转浓缩近干,加入 5 mL 正己烷复溶,混匀,用于气相色谱-质谱

测定。

2.2.2 仪器条件

色谱柱: HP-5MS UI(30 m×0.25 mm, 0.25 μm),载气: He,进样口温度: 250 °C,进样方式: 不分流进样,进样量: 1.0 μL,离子源: EI,离子源温度: 230 °C,四极杆温度: 150 °C,加热器温度: 280 °C,恒压模式,压力 20.0 psi,升温程序: 90 °C(15 °C/min)—220 °C(30 °C/min)—280 °C(保持 8 min);选择离子(m/z): 247, 328, 408。

2.2.3 标准溶液配制

标准溶液经过稀释后,配制基质标准工作液。

2.2.4 建立数学模型

测量结果以下式表示:

$$X_i = \frac{A_{\text{样}} \times V_1 \times V_3 \times C_i}{A_{\text{标}} \times V_2 \times m}$$

式中: X_i 为试样中虫螨腈残留量, mg/kg; m 为样品质量, g; $A_{\text{标}}$ 为虫螨腈标准溶液响应值; $A_{\text{样}}$ 为试样中虫螨腈响应值; C_i 为虫螨腈标准溶液质量浓度, mg/L; V_1 为试样提取液总体积, mL; V_2 为分取溶液体积, mL; V_3 为浓缩后定容体积, mL。

3 结果与分析

3.1 不确定度分量主要来源

由测量模型可知,气相色谱-质谱法测定芥蓝中虫螨腈的不确定度的主要影响因素包括(1)标准物质;(2)样品称量;(3)样品前处理过程溶液体积;(4)进样器进样体积;(5)测量重复性;(6)测量回收率。不确定度分量主要来源见图 1。

3.2 不确定度分量的评定

3.2.1 标准物质引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{标})$

3.2.1.1 标准物质含量引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{标}_h)$

根据标准物质证书,100.2 mg/L 虫螨腈的扩展不确定度为 1 mg/L, k 为 2,由虫螨腈标准物质含量引入的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(\text{标}_h) = \frac{1}{\sqrt{2} \times 100.2} = 0.71\%$ 。

3.2.1.2 标准溶液配制过程引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{标}_p)$

基质标准工作液的配制: 准确移取 1.00 mL 虫螨腈标准储备液于 10 mL 容量瓶中,用丙酮定容,浓度为 10 mg/L;准确移取 0.05 mL 的 10 mg/L 标准溶液于 5 mL 容量瓶中,用空白基质溶液(正己烷溶液)定容,获得浓度为 0.10 mg/L 的基质标准工作液。

标准物质配制过程引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{标}_p)$ 包括量具允差引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{标}_L)$ 和环境温度引起的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{标}_T)$ 。根据 JJG 196-2006《常用玻璃量器》^[14]检定规程规定的最大允差,1 mL(A 级)单标线吸量管的容量允差为 ±0.007 mL,0.1 mL(A 级)分度吸量管的容量允差为 ±0.002 mL,5 mL(A 级)和 10 mL(A 级)容量瓶的容量允差均为 ±0.02 mL。20 °C 时,丙酮的膨胀系数为

$1.44\times 10^{-3}/^{\circ}\text{C}$, 正己烷的膨胀系数为 $1.36\times 10^{-3}/^{\circ}\text{C}$ ^[15], 空白基质溶液(正己烷溶液)参考正己烷膨胀系数; 按矩阵分布, k 取 $\sqrt{3}$;

$$u_{\text{rel}}(\text{标}_\text{L})=\sqrt{\left(\frac{0.007}{\sqrt{3}\times 1}\right)^2+\left(\frac{0.002}{\sqrt{3}\times 0.05}\right)^2+\left(\frac{0.02}{\sqrt{3}\times 10}\right)^2+\left(\frac{0.02}{\sqrt{3}\times 5}\right)^2}=2.36\%。$$
$$u_{\text{rel}}(\text{标}_\text{T})=\sqrt{\left(\frac{5\times 0.00144}{\sqrt{3}}\right)^2\times 2+\left(\frac{5\times 0.00136}{\sqrt{3}}\right)^2\times 2}=0.81\%。$$

标准溶液配制所用量具及温度带入的不确定度见表 1。
合成标准溶液配制过程引入的相对标准不确定度:

$$u_{\text{rel}}(\text{标}_\text{P})=\sqrt{u_{\text{rel}}^2(\text{标}_\text{L})+u_{\text{rel}}^2(\text{标}_\text{T})}=2.50\%。$$

根据上述各不确定度分量计算标准物质引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{标})$

$$u_{\text{rel}}(\text{标})=\sqrt{u_{\text{rel}}^2(\text{标}_\text{h})+u_{\text{rel}}^2(\text{标}_\text{p})}=2.60\%。$$

3.2.2 样品称量引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(m)$

样品称取 20.00 g, 使用的天平检定证书中的允差为 $\pm 0.05\text{g}$, $k=2$, 由样品称量引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(m)=\frac{0.05}{\sqrt{2}\times 20.00}=0.18\%。$$

3.2.3 样品前处理过程溶液体积引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(V)$

样品经前处理过程产生的不确定度主要来源于器具

的允差和环境温度引起的体积变化两个方面。实验温度为 $(20\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 范围内, 20°C 时, 乙腈的膨胀系数为 $1.37\times 10^{-3}/^{\circ}\text{C}$, 正己烷的膨胀系数为 $1.36\times 10^{-3}/^{\circ}\text{C}$ ^[15]。

3.2.3.1 提取液总体积引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(V_1)$

用 50 mL 量筒取 40.00 mL 乙腈, 50 mL 量筒容量允差为 ± 0.50 mL, 按矩形分布计算,

$$u_{\text{rel}}(V_1)=\sqrt{\left(\frac{0.50}{\sqrt{3}\times 40}\right)^2+\left(\frac{5\times 0.00137\times 40}{\sqrt{3}\times 40}\right)^2}=0.82\%。$$

3.2.3.2 移取溶液体积引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(V_2)$

用 10 mL 单标吸量管移取 10 mL 样品, 10 mL 吸量管容量允差为 ± 0.020 mL, 按矩形分布计算,

$$u_{\text{rel}}(V_2)=\sqrt{\left(\frac{0.02}{\sqrt{3}\times 10}\right)^2+\left(\frac{5\times 0.00137\times 10}{\sqrt{3}\times 10}\right)^2}=0.41\%。$$

3.2.3.3 浓缩后定容体积引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(V_3)$

用 5 mL 单标吸量管吸取 5.00 mL 正己烷, 5 mL 吸量管容量允差为 ± 0.015 mL, 按矩形分布计算,

$$u_{\text{rel}}(V_3)=\sqrt{\left(\frac{0.015}{\sqrt{3}\times 5}\right)^2+\left(\frac{5\times 0.00136\times 5}{\sqrt{3}\times 5}\right)^2}=0.43\%。$$

将以上 3 项不确定度分量合成, 则样品前处理过程溶液体积引入的不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V)=\sqrt{u_{\text{rel}}^2(V_1)+u_{\text{rel}}^2(V_2)+u_{\text{rel}}^2(V_3)}=1.01\%。$$

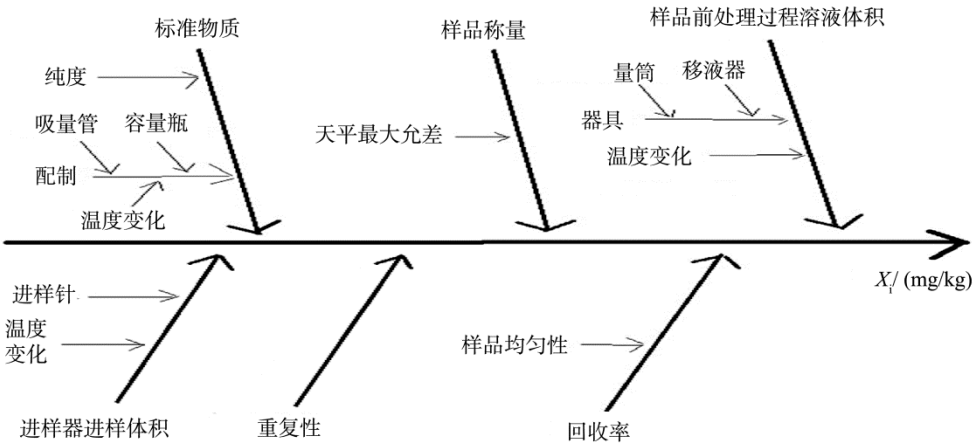


图 1 不确定度分量主要来源
Fig.1 Main sources of uncertainty components

表 1 标准溶液配制所用玻璃器皿及温度变化带入的不确定度
Table 1 Uncertainty of glassware and temperature change in preparation of standard solution

量具(A 级)	溶剂	使用容量体积/mL	容量允差/mL	$u_{\text{rel}}(\text{标}_\text{L})$	$u_{\text{rel}}(\text{标}_\text{T})$
1 mL 单标线吸量管	丙酮	1	± 0.007	0.004	0.0042
0.1 mL 刻度吸量管	正己烷	0.05	± 0.002	0.0231	0.0039
10 mL 容量瓶	丙酮	10	± 0.020	0.0012	0.0042
5 mL 容量瓶	正己烷	5	± 0.020	0.0023	0.0039

3.2.4 进样器进样体积引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(V_s)$

进样器进样体积产生的不确定度主要来源于进样针允差和环境温度变化引起的体积变化。仪器室温度为 $(20\pm 5)^\circ\text{C}$ ，气相色谱-质谱联用仪进样针为 $10\ \mu\text{L}$ ，其允差为 1%，样品检测的实际进样量为 $1\ \mu\text{L}$ ，按矩阵分布计算，

$$u_{\text{rel}}(V_s)=\sqrt{\left(\frac{1\%}{\sqrt{3}\times 1}\right)^2+\left(\frac{5\times 0.00136\times 1}{\sqrt{3}\times 1}\right)^2}=0.70\%。$$

3.2.5 测量重复性引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(R)$

在阴性样品中添加虫螨腈标准品，使其含量为 $0.10\ \text{mg/kg}$ ，进行 6 次重复实验，测定结果分别为： 0.0908 、 0.0916 、 0.0943 、 0.0932 、 0.0875 、 $0.0886\ \text{mg/kg}$ ，平均值为 $0.0910\ \text{mg/kg}$ ，按 A 类评定，应用贝塞尔公式计算标准差为 0.0026 。重复性引入的相对标准不确定度为：

$$u_{\text{rel}}(R)=\frac{0.0026}{\sqrt{6}\times 0.091}=1.17\%。$$

3.2.6 回收率引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(Rec)$

在阴性样品中添加虫螨腈标准品，使其含量为 $0.10\ \text{mg/kg}$ ，进行 6 次重复实验，回收率测定结果分别为： 90.8% 、 91.6% 、 94.3% 、 93.2% 、 87.5% 、 88.6% ，平均回收率为 91.0% ，按 A 类评定，应用贝塞尔公式计算标准差为 0.0261 。回收率引入的相对标准不确定度为：

$$u_{\text{rel}}(Rec)=\frac{0.0261}{\sqrt{6}\times 91.0\%}=1.17\%。$$

3.3 合成不确定度

虫螨腈各分量的相对标准不确定度见表 2，计算出相对合成标准不确定度：

$$u_{\text{rel}}(X_i)=\sqrt{\frac{u_{\text{rel}}^2(\text{标})+u_{\text{rel}}^2(m)+u_{\text{rel}}^2(V)+u_{\text{rel}}^2(V_s)+u_{\text{rel}}^2(R)+u_{\text{rel}}^2(Rec)}{}}=0.0332。$$

折算合成标准不确定度为： $u(X_i)=0.091\times 0.0332=0.0030\ \text{mg/kg}$ 。

表 2 虫螨腈各分量的相对标准不确定度

Table 2 Relative uncertainty of each component of acaritrile

各分量	符号	相对标准 不确定度	贡献率 /%
标准物质	$u_{\text{rel}}(\text{标})$	0.0260	61.2
样品称量	$u_{\text{rel}}(m)$	0.0018	0.3
样品前处理过程溶液 体积	$u_{\text{rel}}(V)$	0.0101	9.2
进样器进样体积	$u_{\text{rel}}(V_s)$	0.007	4.4
重复性	$u_{\text{rel}}(R)$	0.0117	12.4
回收率	$u_{\text{rel}}(Rec)$	0.0117	12.4

3.4 扩展不确定度及结果表示

依据 JJF 1135-2005^[11]，取扩展因子 $k=2$ ，则 $U(X_i)=2\times 0.0030=0.0060\ \text{mg/kg}$ ，故按照 GB 23200.8-2016^[13]测定芥蓝中虫螨腈残留量结果表示为 $(0.091\pm 0.0060)\ \text{mg/kg}$ ， $k=2$ 。

4 结 论

基质效应随不同的农药、不同的基质类型和基质浓度而变化，具有很强的随机性^[16,17]，本实验采用匹配的基质标样进行定量，补偿了基质效应对检测结果的影响。实验中虽然可以计算出空白基质溶液中基质含量的不确定度，但基质含量对目标化合物虫螨腈残留检测结果的影响及规律暂不可知，因此基质标样中基质引入的不确定度仍需进一步探讨。

本研究仅提供评定测量不确定的案例，实际操作中，需根据前处理方法及配制标准溶液步骤的变化而更改。实验中，不确定度贡献率最大的是标准物质，主要由标准溶液配制过程引入；其次是重复性、回收率和样品前处理过程溶液体积。在使用量具移取液体时，量具标称容量越小，引入的不确定度越大；使用体积越小，引入的不确定度越大。因此，在检验检测过程中，可以通过选择合适的量具、增加平行样品测定，提高人员操作熟练度及稳定性等来减小测量不确定度，从而提供更加科学、准确的检测结果。

参考文献

[1] RB/T 214-2017 检验检测机构资质认定能力评价检验检测机构通用要求[S].
RB/T 214-2017 Competence assessment for inspection body and laboratory mandatory approval-General requirements for inspection body and laboratory [S].
[2] Smith AF, Shinkins B, Hall PS, *et al.* Toward a framework for outcome-based analytical performance specifications: a methodology review of indirect methods for evaluating the impact of measurement uncertainty on clinical outcomes. [J]. Clin Chem, 2019, 11: 11.
[3] 潘城, 胡朝阳, 吴凌, 等. 高效液相色谱法测定蔬菜中异菌脲残留量的不确定度分析[J]. 食品科学, 2017, 38(24): 235-240.
Pan C, Hu CY, Wu L, *et al.* Uncertainty evaluation of the determination of iprodion residues in vegetables by high performance liquid chromatography [J]. Food Sci, 2017, 38(24): 235-240.
[4] 刘黎, 邓可. 气相色谱-质谱联用法测定番茄中腐霉利农药残留量的不确定度评定[J]. 农业与技术, 2017, 37(8): 55-57, 59.
Liu L, Deng K. Evaluation of uncertainty in the determination of pythium pesticide residues in tomato by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Agric Technol, 2017, 37(8): 55-57, 59.
[5] 罗彦平, 单江华, 高海文, 等. 番茄中联苯菊酯残留量的测量不确定度评价[J]. 中国计量大学学报, 2017, 28(4): 424-429.
Luo YP, Dan JH, Gao HW, *et al.* Evaluation of measurement uncertainty of bifenthrin residues in tomato fruits [J]. J China Univ Metrol, 2017, 28(4): 424-429.
[6] 高杨, 郑玉山, 巴特尔. 气相色谱-串联质谱法测定牛奶中有机磷残留的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 4237-4241.
Gao Y, Zheng YS, Bater. Uncertainty evaluation of organic organophosphorus residues in milk determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(10): 4237-4241.
[7] 王吉祥, 张学忠, 王亚琴, 等. 气相色谱法和气相色谱-质谱法测定茶

- 叶中联苯菊酯的不确定度评定[J]. 食品科学, 2014, 35(12): 200–203.
- Wang JX, Zhang XZ, Wang YQ, *et al.* Uncertainty evaluation for the determination of bifenthrin in tea by gas chromatography and gas chromatography–mass spectrometry [J]. Food Sci, 2014, 35(12): 200–203.
- [8] 逢瑜, 于新兰, 李海芳, 等. 农药残留测定结果不确定度评定方法指南介绍[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(1): 17–21.
- Pang Y, Yu XL, Li HF, *et al.* Introduction of the guidance on the estimation of measurement uncertainty of results for the determination of pesticide residues [J]. Chin J New Drugs, 2018, 27(1): 17–21.
- [9] 王勇庆, 马千里, 谭煜婷, 等. 氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾的毒力及田间防效[J]. 环境昆虫学报, 2019, 041(4): 782–788.
- Wang YQ, Ma QL, Tan YT, *et al.* Toxicity and field control effects of benzamide on Meadow noctuid moth [J]. Acta Entomol Sinica, 2019, 41(4): 782–788.
- [10] GB 2763–2019 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量[S].
- GB 2763–2019 National food safety standard–Maximum residue limits for pesticides in food [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] GB 23200. 8–2016 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定气相色谱–质谱法[S].
- GB 23200. 8–2016 National food safety standards–Determination of 500 pesticides and related chemicals residues in fruits and vegetables gas chromatography–mass spectrometry [S].
- [14] JJG 196–2006 常用玻璃量器[S].
- JJG 196–2006 Working glass container [S].
- [15] 程能林. 溶剂手册(第五版)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015.
- Cheng nengling. Solvent manual (Fifth Edition) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015.
- [16] 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, (1): 98–104.
- He LM, Liu XG, Zeng ZL. Solution to matrix–induced response enhancement in pesticide residue analysis by gas chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2008, (1): 98–104.
- [17] 易盛国, 侯雪, 韩梅, 等. 气相色谱–串联质谱法检测蔬菜农药残留基质效应与基质分类的研究[J]. 西南农业学报, 2012, 25(2): 537–543.
- Yi SG, Hou X, Han M, *et al.* Study on matrix effect and matrix classification of pesticide residues in vegetables by gas chromatography–tandem mass spectrometry [J]. Southwest China J Agric Sic, 2012, 25(2): 537–543.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



林慧纯, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品质量安全检测。
E-mail: 43241309@qq.com