

液相色谱-高分辨质谱法测定豆芽中 4-氯苯氧乙酸的不确定度评估

郭立净*, 王赛楠

(河南省口岸食品检验检测所, 郑州 450003)

摘要: **目的** 评定液相色谱串联高分辨质谱法测定豆芽中4-氯苯氧乙酸含量的不确定度。**方法** 按照SN/T 3725-2013《出口食品中4-氯苯氧乙酸残留量的测定》测定豆芽中4-氯苯氧乙酸, 根据JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》的方法, 建立高分辨液质联用法测定豆芽中4-氯苯氧乙酸不确定度评定的数学模型, 分析其中各不确定度分量的来源, 并对其分别进行量化, 最终合成豆芽中4-氯苯氧乙酸含量测定结果的不确定度。**结果** 豆芽中4-氯苯氧乙酸含量测定结果为35.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 在95%的置信区间下, 扩展不确定度为4.28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$)。**结论** 标准溶液的配制是实验过程不确定度主要来源。**关键词:** 液相色谱串联高分辨质谱法; 豆芽; 4-氯苯氧乙酸; 不确定度

Uncertainty evaluation for determination of 4-chlorophenoxyacetic acid in bean sprouts by liquid chromatography- high resolution mass spectrometry

GUO Li-Jing*, WANG Sai-Nan

(Food Inspection and Testing Institute of Henan Province, Zhengzhou 450003, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty for the determination of 4-chlorophenoxyacetic acid in bean sprouts by liquid chromatography- high resolution mass spectrometry. **Methods** According to SN/T 3725-2013 *Determination of 4-chlorophenoxyacetic acid residues in food for export*, content of 4-chlorophenoxyacetic acid in bean sprouts was detected. According to JJF 1059.1-2012 *Evaluation and expression of measurement uncertainty*, a mathematical model for the evaluation of the uncertainty of 4-chlorophenoxyacetic acid in bean sprouts by high-resolution liquid chromatography-mass spectrometry was established, the sources of each uncertainty component was analyzed and quantified, and 4-chlorophenoxy in bean sprouts uncertainty in the determination of acetic acid content was synthesized. **Results** When the content of 4-chlorophenoxyacetic acid in bean sprout was 35.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the expanded uncertainty was 4.28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$) under 95% confidence interval. **Conclusion** The preparation of standard solution is the main source of uncertainty in experimental process.

KEY WORDS: liquid chromatography- high resolution mass spectrometry; bean sprouts; 4-chlorophenoxyacetic acid; uncertainty

*通讯作者: 郭立净, 助理工程师, 主要研究方向为食品标准与食品检验。E-mail: 876678220@qq.com

*Corresponding author: GUO Li-Jing, Assistant Engineer, Food Inspection and Testing Institute of Henan Province, Zhengzhou 450003, China. E-mail: 876678220@qq.com

1 引言

4-氯苯氧乙酸(sodium 4-chlorophenoxyacetate, 4-CPA) 俗称促生灵、蕃茄灵、防落素, 因其可促进豆芽肥嫩、粗壮, 提高豆芽产量, 广泛应用于豆芽菜的生产中^[1,2]。研究表明, 其亚急性毒性会影响小鼠生长, 损害肝脏、肾脏^[3,4]。原食药局 2015 年第 11 号公告明确指出, 不得生产、经营含有 4-CPA 的豆芽。然而大量监测数据显示豆芽中 4-CPA 残留严重^[5-7]。

测定不确定度作为表征合理地赋予被测量值的分散性、与测定结果相联系性的参考^[8,9], 其结果既关系了测定结果的可靠性, 也影响到检验结论的判定。目前关于 4-氯苯氧乙酸的测定方法的不确定评估研究较少, 但在日常检测工作中发现豆芽中 4-CPA 的检出率较高。本研究依照 SN/T 3725-2013《出口食品中 4-氯苯氧乙酸残留量的测定》^[10]测定豆芽中 4-CPA 残留量, 根据 JJF 1059.1-2012《测定不确定度评定与表示》^[8]和 CNAS-GL06《化学分析中不确定度的评估指南》规定的方法^[9], 建立数学模型, 对 4-CPA 的测定结果不确定度进行评定, 进而为其检测过程的质量控制提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

Q Exactive Plus 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(配有 H-ESI II 源, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Vanquish 液相色谱系统(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 3-30K 离心机(德国 Sigma 公司); ME203 电子天平、XSE105DU 电子天平(精确至 0.001 g, 瑞士梅特勒-托利多公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Milli-pore 公司); HR2166 食品加工机(荷兰 Philips 公司)。

4-氯苯氧乙酸标准品(纯度 98.1%, 德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司); 阴离子交换固相萃取柱(美国 Waters 公司); 甲酸(质谱纯)、甲醇、乙腈、乙酸乙酯、正己烷(色谱纯)(美国 Thermo Fisher 公司)。实验用水为自制一级水。

豆芽样本来自市场抽查随机样本。

2.2 实验方法

2.2.1 样品处理与测定

豆芽样品经粉碎机粉碎后, 称取约 5 g(精确到 0.01 g) 均匀样品于 100 mL 的离心管中, 加入 15 mL 0.02 mol/L NaOH 溶液, 再加入 20 mL 正己烷, 震荡 5 min, 4000 r/min 离心 2 min, 去除上层正己烷, 将下层样品加甲酸调节使其 pH 值为 2.5, 加入 20 mL 乙酸乙酯振荡 30 min, 4000 r/min 离心 2 min, 取上层有机溶液, 残渣加入 20 mL 乙酸乙酯,

重复提取一次, 合并上层有机溶液, 于 45 °C 氮气浓缩仪吹干, 用 3 mL 2% 甲酸水溶液溶解, 待净化。将上述样品溶液加入先用甲醇, 水活化的阴离子交换小柱中, 然后依次用 2% 氨水、30% 甲醇的水溶液, 甲醇淋洗, 最后用 3 mL 含 2% 甲酸甲醇溶液洗脱, 收集最后的洗脱溶液于 45 °C 氮气浓缩仪吹干, 用 1 mL 流动相溶解残渣, 过 0.22 μm 滤膜, 待上机测定。

2.2.2 色谱条件

色谱柱: Thermo Fisher Scientific Hypoersil GOLD VANQUISH 柱(10 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 柱温: 30 °C; 色谱条件: 流速: 0.3 mL/min; 进样量: 5 μL; 流动相: 0.1% 甲酸水溶液: 乙腈=55:45(V:V), 等度洗脱。

2.2.3 质谱条件

质谱条件: 可加热的电喷雾离子源(HESI-II), 离子传输管温度 300 °C, 毛细管电压 2500 V(负离子模式), 气化温度 350 °C, 鞘气压(N₂)35 arb, 辅助气压(N₂)5 arb, 使用质谱校正液 5 d 校正 1 次质量轴。扫描模式: 平行反应监测, 碰撞能量为 35 (N)CE。4-CPA 的定量离子对 186.9962 > 128.9910, 定性离子对为 184.9993 > 126.9939, 186.9962 > 1226.9939。

2.2.4 不确定度数学模型

参考 SN/T 3725-2013 的规定, 使用数学模型式(1)计算豆芽样品中 4-CPA 残留量。

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

式中: X—样品中 4-CPA 的残留量, μg/kg; c—从标准工作曲线中得到的 4-CPA 的浓度, ng/mL; V—样品最终定容体积, mL; m—最终样品溶液所代表样品的质量, g。

3 结果与分析

3.1 不确定度来源分析

结合不确定度数学模型和检测流程, 从样品称量、样品定容、环境条件、标准溶液及标准曲线配制、标准曲线拟合、重复性测定^[10-14]等方面对豆芽中 4-CPA 含量测定的不确定度进行分析, 具体如图 1 所示。

3.2 不确定度的评估

3.2.1 标准储备液配制引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(C_{\text{st}})$

(1)标准物质纯度引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(P)$

4-CPA 标准物质的纯度为 98.1%, 其证书提供的不确定度为 ±1.0%(k=2), 则 4-CPA 标准物质的不确定度为:

$$u(P) = \frac{1.0 \times 10^{-2}}{2} = 5 \times 10^{-3}$$

相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(P) = \frac{5.0 \times 10^{-3}}{9.81 \times 10^{-1}} = 5.10 \times 10^{-3}$$

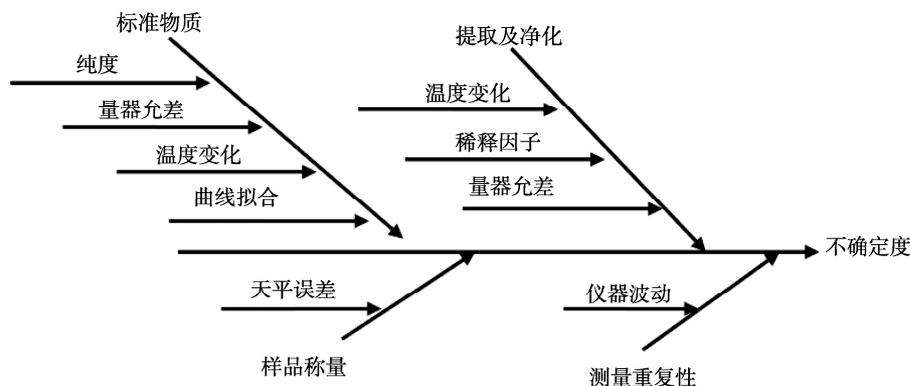


图 1 不确定度来源图

Fig.1 Sources of uncertainty

(2)标准物质称量引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(m_c)$

使用分度值为 0.0001 g 的电子天平称量标准物质, 最大允许误差为 ± 0.00005 g, 按均匀分布 $k = \sqrt{3}$, 则称样量为 0.01019 g 时, 称量引起的不确定度为:

$$u(m_c) = \frac{5 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 2.89 \times 10^{-5} \text{ g.}$$

相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(m_c) = \frac{2.89 \times 10^{-5}}{0.01019} = 2.83 \times 10^{-3}.$$

(3)标准储备液定容器具引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(V_c)$

标准物质定容至 10.0 mL A 级容量瓶, 参考玻璃量具检定规程^[15], 其允差为 ± 0.020 mL, 按均匀分布 $k = \sqrt{3}$, 则定容器具引起的不确定度为:

$$u(V_c) = \frac{0.020}{\sqrt{3}} = 1.15 \times 10^{-2} \text{ mL.}$$

相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_c) = \frac{1.15 \times 10^{-2}}{10} = 1.15 \times 10^{-3}.$$

(4)标准储备液定容环境温度变化引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(T_c)$

实验室温度在 $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ 波动, 容量瓶检定环境温度为 20°C , 20°C 时玻璃的膨胀系数为 $2.5 \times 10^{-5}/^\circ\text{C}$, 甲醇的体积膨胀系数为 $1.18 \times 10^{-3}/^\circ\text{C}$, 按均匀分布 $k = \sqrt{3}$, 则定容环境温度变化引起的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(T_c) = \frac{(1.18 \times 10^{-3} - 2.5 \times 10^{-5}) \times 10 \times 5}{\sqrt{3}} = 3.33 \times 10^{-2}.$$

综合上述不确定度分量, 则标准储备液引起的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(C_{\text{st}}) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(P) + u_{\text{rel}}^2(m_c) + u_{\text{rel}}^2(V_c) + u_{\text{rel}}^2(T_c)} = 3.38 \times 10^{-2}.$$

3.2.2 标准中间液配制引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(C_s)$

(1)标准储备液移取体积引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(V_{\text{st}})$

使用 20~200 μL 移液器移取 100 μL 标准储备液, 根据移液器检定规程^[16], 其容量允差为 $\pm 2\%$, 按均匀分布 $k = \sqrt{3}$,

则标准储备液移取体积产生的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{\text{st}}) = \frac{2 \times 10^{-2}}{\sqrt{3}} = 1.15 \times 10^{-2}.$$

(2)标准中间液定容器具引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(V_s)$

标准中间液定容至 10 mL A 级容量瓶, 根据玻璃量具检定规程^[15], 其允差为 ± 0.020 mL, 按均匀分布 $k = \sqrt{3}$, 则标准工作液定容器具引起的不确定度为:

$$u(V_s) = \frac{0.020}{\sqrt{3}} = 1.15 \times 10^{-2} \text{ mL.}$$

相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_s) = \frac{1.15 \times 10^{-2}}{\sqrt{3}} = 1.15 \times 10^{-3}.$$

(3)标准中间液定容环境温度变化引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(T_s)$

实验室温度在 $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ 波动, 容量瓶检定环境温度为 20°C , 20°C 时玻璃的膨胀系数为 $2.5 \times 10^{-5}/^\circ\text{C}$, 甲醇的体积膨胀系数 $1.18 \times 10^{-3}/^\circ\text{C}$, 按照均匀分布 $k = \sqrt{3}$, 则标准中间液定容环境温度变化引起的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(T_s) = \frac{(1.18 \times 10^{-3} - 2.5 \times 10^{-5}) \times 10 \times 5}{\sqrt{3}} = 3.33 \times 10^{-2}.$$

综合以上中的不确定度分量, 则标准中间液引起的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(C_s) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(V_{\text{st}}) + u_{\text{rel}}^2(V_s) + u_{\text{rel}}^2(T_s)} = 3.52 \times 10^{-2}.$$

3.2.3 标准使用液配制引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(C_m)$

(1)标准中间液移取体积引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(V_{\text{ms}})$

使用 1 mL 单标线吸量管移取标准中间液, 参考玻璃量器检定规程规定^[15], 其容量允差为 ± 0.007 mL, 按均匀分布 $k = \sqrt{3}$, 则标准中间液移取体积产生的不确定度为:

$$u(V_{\text{ms}}) = \frac{0.007}{\sqrt{3}} = 4.04 \times 10^{-3} \text{ mL.}$$

相对相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{\text{ms}}) = \frac{4.04 \times 10^{-3}}{1} = 4.04 \times 10^{-3}.$$

(2)标准使用液定容器具引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(V_m)$

标准使用液定容至 10 mL A 级容量瓶, 根据玻璃量具检定规程^[15], 其容量允差为 ± 0.020 mL, 按均匀分布 $k=\sqrt{3}$, 则标准使用液定容器具引起的标准不确定度为:

$$u(V_m) = \frac{0.020}{\sqrt{3}} = 1.15 \times 10^{-2} \text{ mL}.$$

相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_m) = \frac{1.15 \times 10^{-2}}{10} = 1.15 \times 10^{-3}.$$

(3)标准使用液定容环境温度变化引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(T_s)$

标准使用液用水:乙腈(55:45, V:V)定容, 实验室环境温度在(20 \pm 5) $^{\circ}$ C波动, 容量瓶检定环境温度为 20 $^{\circ}$ C, 20 $^{\circ}$ C 时玻璃的膨胀系数为 $2.5 \times 10^{-5}/^{\circ}$ C, 水的体积膨胀系数 $2.08 \times 10^{-4}/^{\circ}$ C, 乙腈的体积膨胀系数 $1.37 \times 10^{-3}/^{\circ}$ C, 按照均匀分布 $k=\sqrt{3}$, 则标准使用液定容环境温度变化引起的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(T_m) = \frac{(7.31 \times 10^{-4} - 2.5 \times 10^{-5}) \times 10 \times 5}{\sqrt{3}} = 2.04 \times 10^{-2}.$$

其中: $7.31 \times 10^{-3}/^{\circ}$ C 为 20 $^{\circ}$ C 时, 水:乙腈(55:45)混合溶液膨胀系数。

综合以上中的不确定度分量, 则标准使用液引起的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(C_m) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(V_{\text{ms}}) + u_{\text{rel}}^2(V_m) + u_{\text{rel}}^2(T_m)} = 2.08 \times 10^{-2}.$$

3.2.4 标准工作曲线配制引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(M)$

参考移液器检定规程, 移液器的校准应满足容量允差的要求^[16], 宜采用 B 类不确定度评定, 按照均匀分布 $k=\sqrt{3}$, 标准工作曲线配制过程由移液器引起的不确定度见表 1。

由标准曲线配制过程引起的不确定度:

$$u_{\text{rel}}(M) = \sqrt{\sum_{i=1}^{12} u_{\text{rel}}(M_{vi})^2} = 3.04 \times 10^{-2}.$$

3.2.5 标准工作曲线拟合引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(S)$

(1)4-CPA 标准曲线绘制

配制浓度为 50、100、150、200、250、300 ng/mL 的标准系列工作溶液, 各浓度测定 3 次, 计算峰面积平均值, 详见表 2。

表 1 标准工作曲线配制过程移液器引起的不确定度

Table 1 Uncertainty introduced by pipette in preparation of standard working curve

	20~200 μ L 移液器	20~200 μ L 移液器	20~200 μ L 移液器	20~200 μ L 移液器	1000~1000 μ L 移液器	1000~1000 μ L 移液器	
标准液	移取体积/ μ L	50	100	150	200	250	300
	容量允差/%	± 2.75	± 2.0	± 1.75	± 1.5	± 1.64	± 1.5
	计算公式	$\frac{\text{容量允差}}{\sqrt{3}}$					
	相对不确定度	$u_{\text{rel}}(M_{v1})$ 1.59×10^{-2}	$u_{\text{rel}}(M_{v2})$ 1.15×10^{-2}	$u_{\text{rel}}(M_{v3})$ 1.01×10^{-2}	$u_{\text{rel}}(M_{v4})$ 8.7×10^{-3}	$u_{\text{rel}}(M_{v5})$ 9.5×10^{-3}	$u_{\text{rel}}(M_{v6})$ 8.7×10^{-3}
溶剂	移取体积/ μ L	1000~1000 μ L 移液器	1000~1000 μ L 移液器				
	移取体积/ μ L	950	900	850	800	750	700
	容量允差/%	± 1.0	± 1.0				
	计算公式	$\frac{\text{容量允差}}{\sqrt{3}}$					
相对不确定度	$u_{\text{rel}}(M_{v7})$ 5.8×10^{-3}	$u_{\text{rel}}(M_{v8})$ 5.8×10^{-3}	$u_{\text{rel}}(M_{v9})$ 5.8×10^{-3}	$u_{\text{rel}}(M_{v10})$ 5.8×10^{-3}	$u_{\text{rel}}(M_{v11})$ 5.8×10^{-3}	$u_{\text{rel}}(M_{v12})$ 5.8×10^{-3}	

表 2 系列标准工作溶液峰面积测定结果

Table 2 Determination of peak area of series standard working solutions

浓度/(ng/mL)	峰面积			平均峰面积
50	5672941	5569128	5670988	5637686
100	11834827	11823659	11830572	11829686
150	17663390	17584479	17666407	17638092
200	23605034	23597247	23600375	23600885
250	30687361	30685143	30686681	30686395
300	36959126	36950711	36958748	36956195

以最小二乘法将浓度 c 与各浓度平均峰面积 \bar{A} 进行线性回归分析, 得标准曲线方程: $A=125215c-854390$ 。其中 $R^2=0.9991$, 斜率 a 为 125125, 截距 b 为 -854390。

(2)最小二乘法拟合标准工作曲线过程所引起的不确定度

对样品测定 6 次, 测得峰面积 A , 由线性回归方程计算得出样本溶液中 4-CPA 的浓度分别为 182.446、172.437、178.673、180.122、179.649、176.547 ng/mL, 则最小二乘法拟合标准工作曲线过程所引起的标准不确定度为:

$$u(S) = \frac{S_A}{b} \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{c}_{\text{样}} - \bar{c}_{\text{标}})^2}{S_c}} = 2.17 \times 10^{-2}$$

式中: S_A 一标准使用液峰面积残差的标准偏差;

$\bar{c}_{\text{标}}$ 一标准使用液平均浓度, ng/mL;

S_c 一标准使用液浓度残差的平方和;

n 一标准工作液的测定次数, 此方法为 18 次, $n=18$;

P 一样液的测定次数, 此方法为 6 次, $P=6$ 。

其中,

$$S_A = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_i - (a + bc_{\text{标}i})]^2}{n - 2}} = 343668.2068;$$

$$\bar{c}_{\text{标}} = \frac{\sum_{i=1}^6 c_{\text{标}i}}{6} = 175;$$

$$\bar{c}_{\text{样}} = \frac{\sum_{i=1}^6 c_{\text{样}i}}{6} = 178.312。$$

可得最小二乘法拟合标准工作曲线求得样液中 4-CPA 含量过程所引起的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(S) = \frac{u(S)}{\bar{c}_{\text{样}}} = 1.22 \times 10^{-4}。$$

表 3 豆芽中 4-氯苯氧乙酸重复性测定结果($n=6$)

Table 3 Repeatability test results of 4-chlorophenoxyacetic acid in bean sprouts ($n=6$)

序号	1	2	3	4	5	6
含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	35.54	34.40	35.05	35.26	35.34	35.08
平均含量/(g/kg)	35.11					

表 4 测定不确定度分量

Table 4 Uncertainty components of measurement

符号	来源	相对标准不确定度
$u_{\text{rel}}(C_{\text{st}})$	标准储备液配制	3.38×10^{-2}
$u_{\text{rel}}(C_s)$	标准中间溶液配制	3.52×10^{-2}
$u_{\text{rel}}(C_m)$	标准使用液配制	2.08×10^{-2}
$u_{\text{rel}}(M)$	标准曲线配制	3.04×10^{-2}
$u_{\text{rel}}(S)$	标准曲线拟合	1.22×10^{-4}
$u_{\text{rel}}(m)$	样品称量	5.78×10^{-4}
$u_{\text{rel}}(V)$	样品定容	5.77×10^{-3}
$u_{\text{rel}}(R)$	重复性测定	4.56×10^{-3}

3.2.6 样品称量引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(m)$

样品称量使用的天平(ME203)分度值为 0.001 g, 最大允许误差为 ± 0.005 g, 按均匀分布取 $k=\sqrt{3}$, 称取 5 g 时, 样品称量引入的不确定度为:

$$u(m) = \frac{0.005}{\sqrt{3}} = 2.89 \times 10^{-3} \text{ g}。$$

相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(m) = \frac{2.89 \times 10^{-3}}{5} = 5.78 \times 10^{-4}。$$

3.2.7 样品定容引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(V)$

样品提取、净化后, 使用 100~1000 μL 移液器移取 1 mL 流动相复溶, 根据移液器具检定规程^[16], 最大允差为 $\pm 1.0\%$, 按均匀分布取 $k=\sqrt{3}$, 则样品定容引起的不确定度:

$$u(V) = \frac{1.0 \times 10^{-2}}{\sqrt{3}} = 5.77 \times 10^{-3}。$$

相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V) = \frac{5.77 \times 10^{-3}}{1} = 5.77 \times 10^{-3}。$$

3.2.8 重复性测定引起的不确定度 $u_{\text{rel}}(R)$

重复性测定引起的不确定度属于 A 类, 用贝塞尔法评定。通过 6 次重复性测定, 样品中 4-CPA 含量见表 3。

$$\text{重复性标准偏差 } S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X - \bar{X})^2}{n - 1}} = 3.92 \times 10^{-1};$$

$$\text{重复性不确定度 } u(R) = \frac{S}{\sqrt{n}} = 1.60 \times 10^{-1};$$

$$\text{重复性测定相对不确定度 } u_{\text{rel}}(R) = \frac{u(R)}{\bar{X}} = 4.56 \times 10^{-3}。$$

3.3 合成标准不确定度及扩展不确定度的计算

综合以上结果, 测定不确定度分量如表 4 所示。

合成相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(X) = \sqrt{\frac{u_{\text{rel}}^2(C_{\text{st}}) + u_{\text{rel}}^2(C_{\text{s}}) + u_{\text{rel}}^2(C_{\text{m}}) + u_{\text{rel}}^2(M)}{u_{\text{rel}}^2(S) + u_{\text{rel}}^2(m) + u_{\text{rel}}^2(V) + u_{\text{rel}}^2(R)}} = 0.061。$$

实验所得豆芽中 4-CPA 的含量为 35.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 则合成标准不确定度为:

$$u(X) = 35.11 \times 0.061 = 2.14 \mu\text{g}/\text{kg}。$$

本实验符合正态分布, 取扩展因子 $k=2$ (95%置信水平), 则扩展不确定度

$$U=2u(X) = 2 \times 2.14 = 4.28 \mu\text{g}/\text{kg}。$$

3.4 测定不确定度的结果报告

按照 SN/T 3725-2013 《出口食品中 4-氯苯氧乙酸残留量的测定》测定豆芽中 4-CPA 残留量, 本次豆芽中 4-CPA 含量的测定结果, 用标准不确定度表示为: $X=35.11 \mu\text{g}/\text{kg}$, $u(X)=2.14 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。用扩展不确定度表示为 $(35.11 \pm 4.28) \mu\text{g}/\text{kg}$, $k=2$ 。

4 结 论

实验过程从标准储备液配制、标准中间溶液配制、标准使用液配制、标准工作曲线配制、标准曲线拟合、样品称量、样品定容、重复性测定 8 个方面对不确定度进行量化分析, 结果表明依据 SN/T 3725-2013 测定豆芽中 4-CPA 的含量时, 不确定度的主要来源是标准溶液的配制, 其次是样品定容与样品重复性测定, 样品称量与标准曲线拟合影响最小。在日常检测过程中, 可通过控制实验室检测环境温度、增加样品重复性测定等措施, 以降低检测结果的不确定度。

参考文献

- 侯德莉, 梁振纲, 陈文慧, 等. 分散固相萃取-HPLC-MS/MS 法测定热带水果中 4-氯苯氧乙酸[J]. 食品工业, 2019, (12): 301-304.
Hou DL, Liang ZG, Chen WH, et al. Determination of 4-chlorophenoxyacetic acid in tropical fruit by DSPE-HPLC-MS/MS [J]. Food Ind, 2019, (12): 301-304.
- 胡志国, 钟彩丽, 何林才, 等. 超高效液相色谱串联四极杆质谱测定豆芽中的 4-氯苯氧乙酸[J]. 山东化工, 2019, 48(8): 83-84.
Hu ZG, Zhong CL, He LC, et al. Determination of 4-Chlorophenoxyacetic acid in Bean Sprouts By UPLC-MS/MS [J]. Shandong Chem Ind, 2019, 48(8): 83-84.
- 刘红, 曾志杰, 李传勇, 等. 4-氯苯氧乙酸钠对小鼠的亚急性毒性及残留检测分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(20): 6829-6836.
Liu H, Zeng ZJ, Li CY, et al. Subacute toxicity and residue detection of sodium 4-chlorophenoxyacetate in mice [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(20): 6829-6836.
- 刘红, 曾志杰, 李传勇, 等. 4-氯苯氧乙酸钠对小鼠的毒性及其残留分析[J]. 食品科学, 2016, (3): 197-204.
Liu H, Zeng ZJ, Li CY, et al. Acute and accumulative toxicity and detection of residual sodium 4-chlorophenoxyacetate in mice [J]. Food Sci, 2016, (3): 197-204.
- 石金娥, 侯宇, 王莹, 等. 吉林省市售豆芽中 7 种植物生长调节剂的含量监测分析[J]. 吉林蔬菜, 2014, (12): 54-55.
Shi JE, Hou Y, Wang Y, et al. Monitoring and analysis of seven plant

growth regulators in soybean sprouts sold in Jilin province [J]. Jilin Veget, 2014, (12): 54-55.

- 杨婕, 黄少文, 孙远明, 等. 4-氯苯氧乙酸钠对绿豆芽生长的影响及其残留分析[J]. 食品工业科技, 2015, 36(15): 104-108.
Yang J, Huang SW, Sun YM, et al. Analysis of sodium 4-chlorophenoxyacetate on mung bean sprouts growth and residue [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 36(15): 104-108.
- 赵海玲, 邱宏萌, 何娟, 等. 赣州市豆芽中 5 种植物生长调节剂的残留监测结果分析[J]. 实验与检验医学, 2018, 36(2): 271-272.
Zhao HL, Qiu HM, He J, et al. Analysis of residual monitoring results of five plant growth regulators in bean sprouts of Ganzhou city [J]. Exp Lab Med, 2018, 36(2): 271-272.
- CNAS-GL 06: 2006 化学分析中不确定度的评估指南[S].
CNAS-GL 06: 2006 Guidance on evaluating the uncertainty in chemical analysis [S].
- JF 1059. 1-2012 测定不确定度评定与表示[S].
JJF 1059. 1-2012 Evaluation and expression of uncertainty in measurement [S].
- SN/T 3725-2013 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准 出口食品中 4-氯苯氧乙酸残留量的测定[S].
SN/T 3725-2013 Industry Standard for entry-exit inspection and quarantine of the People's Republic of China-Determination of 4-chlorophenoxyacetic acid residues in food for export [S].
- 王赛楠. 高效液相色谱法测定水果罐头中阿斯巴甜的不确定度评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(3): 734-739.
Wang SN. Uncertainty evaluation for determination of aspartame in canned fruits by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(3): 734-739.
- 常立群, 胡春, 李晓雪. 液质联用法测定苹果中氧化乐果残留的不确定度评定[J]. 宁夏农林科技, 2019, 60(2): 4-7.
Chang LQ, Hu C, Li XX. Uncertainty evaluation for the determination of omethoate in apple by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Ningxia J Agric Forest Sci Technol, 2019, 60(2): 4-7.
- 王小乔, 许晓辉, 张虹艳, 等. 液质联用法测定保健品中西地那非含量的不确定度评定[J]. 甘肃科技, 2019, 35(16): 66-69.
Wang XQ, Xu XH, Zhang HY, et al. Evaluation of uncertainty in determination of the content of sinafil in health care products by liquid mass spectrometry [J]. Gansu Sci Technol, 2019, 35(16): 66-69.
- 余晓娟. 液质联用法测定鸡蛋中氟虫腈及其代谢物 残留的不确定度报告[J]. 现代食品, 2019, (22): 171-176.
Yu XJ. Uncertainty report on determination of fipronil and its metabolites residues in eggs by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Mod Food, 2019, (22): 171-176.
- JJG 196-2006 常用玻璃量器检定规程[S].
JJG 196-2006 Verification rules for common glass gauges [S].
- JJG 646-2006 移液器检定规程[S].
JJG 196-2006 Verification regulation of locomotive pipette [S].

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

郭立净, 助理工程师, 主要研究方向为食品标准与食品检验。
E-mail: 876678220@qq.com