

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240611002

韭菜粉中腐霉利标准物质的研制

包汇川^{1,2*}, 肖昭理^{1,2}, 付 辉^{1,2}, 莫秋华^{1,2}, 王炳志^{1,2}

(1. 深圳市易瑞生物技术股份有限公司, 深圳 518126;

2. 广东省农产品质量安全快速检测工程技术研究中心, 深圳 518126)

摘 要: **目的** 研制韭菜粉中腐霉利标准物质, 并联合多家实验室以同位素稀释内标法测试定值。**方法** 以含腐霉利的韭菜为原材料, 样品经冲洗除杂、粉碎、添加防腐剂、均质、匀浆、冷冻干燥后, 过筛混匀, 在洁净干燥条件下以聚乙烯塑料袋外套铝塑复合袋真空封装, 再由 ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌, 最终研制出韭菜粉中腐霉利标准物质。依据 GB 23200.113—2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定》中气相色谱-质谱法的前处理方法, 多家实验室采用同位素稀释内标-气相色谱-串联质谱法对腐霉利的含量进行联合定值。**结果** 韭菜粉中腐霉利标准物质回收率为 88.1%~104.5%, 均匀性和稳定性良好, 特性值为 0.223 mg/kg, 扩展不确定度为 0.021 mg/kg ($k=2$), 在-18 °C 下冰冻保存有效期为 18 个月。**结论** 所制备的韭菜粉中腐霉利标准物质可作为实验室腐霉利农药残留检测的质控样品, 对于农药腐霉利的精准检测具有重要意义, 可推广应用于快速检测产品评价、能力验证考核、方法验证等各个领域。

关键词: 韭菜冻干粉; 腐霉利; 标准物质; 均匀性; 稳定性; 同位素稀释

Preparation of certified reference material of procymidone in *Allium tuberosum* powder

BAO Hui-Chuan^{1,2*}, XIAO Zhao-Li^{1,2}, FU Hui^{1,2}, MO Qiu-Hua^{1,2}, WANG Bing-Zhi^{1,2}

(1. Shenzhen Bioeasy Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen 518126, China; 2. Engineering Technology Research Center of Rapid Detection for Quality and Safety of Agricultural Products, Shenzhen 518126, China)

ABSTRACT: Objective To prepare the standard substances of procymidone in *Allium tuberosum* and determine the value by isotope dilution internal standard method in collaboration with several laboratories. **Methods** Used *Allium tuberosum* containing procymidone as raw material, the samples were rinsed and cleaned, crushed, added preservatives, homogenized, homogenized, freeze-dried, screened and mixed, vacuum-packaged in polyethylene plastic bag with aluminum-plastic composite bag under clean and dry conditions, and then sterilized by ^{60}Co - γ -ray irradiation. Finally, the standard material of procymidone in *Allium tuberosum* powder was prepared. Accorded to the pre-treatment method of gas chromatogram-mass spectrometry in GB 23200.113—2018 *National standard for food safety-Determination of residues of 208 kinds of pesticides and their metabolites in plant origin foods*, multiple laboratories used isotope dilution internal standard-gas chromatography tandem mass spectrometry to jointly

基金项目: 国家标准化管理委员会关于下达 2019 年度第四批国家标准样品研复制计划项目(国标委发〔2019〕34 号)(S2019364)

Fund: Supported by the National Standardization Management Committee Issued the Fourth Batch of National Standard Sample Research and Replication Plan Project in 2019 (National Standards Committee Issued [2019] No.34) (S2019364)

***通信作者:** 包汇川, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品标准物质与能力验证。E-mail: baohuichuan@163.com

***Corresponding author:** BAO Hui-Chuan, Master, Engineer, Shenzhen Bioeasy Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen 518126, China. E-mail: baohuichuan@163.com

determine the content of prochlorperazine. **Results** The recoveries of the standard substance of procymidone in *Allium tuberosum* powder putrescine were 88.1% to 104.5%, with good uniformity and stability. The characteristic value was 0.223 mg/kg, and the expanded uncertainty as 0.021 mg/kg ($k=2$). The shelf life of frozen storage at $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ was 18 months. **Conclusion** The standard material of procymidone in the prepared *Allium tuberosum* powder can be used as the quality control sample for the detection of pesticide residue of procymidone in the laboratory, which is of great significance for the accurate detection of pesticide procymidone, and can be applied to various fields such as rapid detection product evaluation, capability verification and method verification.

KEY WORDS: lyophilized *Allium tuberosum* powder; procymidone; certified reference material; homogeneity; stability; isotope dilution

0 引言

随着我国经济社会的快速发展和人民生活水平的不断提高,蔬菜每日食用量剧增,经济快速发展带来了蔬菜生产的工业化。腐霉利,也称速克灵、杀霉利、二甲菌核利,属于广谱内吸性低毒性新型杀菌剂^[1-2]。腐霉利主要是抑制菌体内甘油三酯的合成,具有保护和治疗的三重作用,对低温高湿条件下发生的各种作物的灰霉病、菌核病有显著防效,对葡萄孢属和核盘菌属所引起的病害具有特效。常用于防治果树、蔬菜、花卉等菌核病、灰霉病、黑星病、褐腐病、大斑。在农业生产中,为达到快速杀菌除虫的目的,腐霉利等农药常被过度使用,致使蔬菜中农药残留超标^[3-4]。

蔬菜中农药残留含量是影响蔬菜质量安全的主要因素之一,近年来有多起韭菜中腐霉利残留超标的新闻报道,蔬菜等农产品安全已成为社会公众关注的焦点。腐霉利超标会对患者的皮肤、黏膜产生刺激,还可能会影响中枢神经系统,长期食用腐霉利超标的食物可能会使患者骨髓造血功能下降或异常增生,进而引发贫血、出血、感染等相关症状,引发一些严重的并发症^[5-7]。GB 2763.1—2022《食品安全国家标准 食品中 2,4-滴丁酸钠盐等 112 种农药最大残留限量》规定韭菜中腐霉利最大残留限量为 5.0 mg/kg。腐霉利是近年来农药残留抽检的必检农药残留项目之一,因此及时、快速、准确测定蔬菜中的腐霉利农药残留量,对监控腐霉利农药的合理使用,提升农作物安全性,防止农药残留量超标的蔬菜上市销售,保障人民身体健康具有重要意义。

标准物质是分析检测过程中质量保证的基础,可以确保检测方法及数据可靠性、可比性与可追溯性。基体标准物质是具有实际样品特性的标准样品,即目标物与基体结合与真实检测样品一致。农药残留分析标准物质是保证农产品和食品安全检测质量的重要物质基础^[8-14]。目前国内只有中国海关科学技术研究中心有研制过韭菜中毒死蜱、甲拌磷、腐霉利定量分析标准样品,但是没有查询到相关技术公开内容。

鉴于此,本研究探究韭菜冻干粉标准物质制备工艺

流程,并采用同位素稀释内标法对韭菜粉中腐霉利进行定值,为蔬菜基体中农药残留标准物质研制提供方法参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

苯甲酸钠(化学纯)、NP-10 壬基酚聚氧乙烯醚(化学纯)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);乙腈、乙醇、乙酸乙酯(色谱纯,德国默克股份两合公司);超纯水(香港 Waston 公司);GSB 05-2338-2016 丙酮中腐霉利溶液标准样品(1000 $\mu\text{g/mL}$,农业部环境保护科研监测所);甲醇中腐霉利-D₅ 标准品(100 $\mu\text{g/mL}$,德国 Dr 有限公司)。

1.2 仪器与设备

TRACE 1300/TSQ 9000 气相色谱-三重四极杆质谱联用仪、TG-5SILMS 柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 2.5 μm)(美国赛默飞世尔科技有限公司);IKA MultiDrive Control 研磨机、IKA C-MAG HS 10 S25 加热磁力搅拌器(德国 IKA 有限公司);FM200 超离心研磨仪(北京格瑞德曼仪器设备有限公司);ZJR-50 高剪切均质乳化机(无锡意凯自动化技术有限公司);LYO-10 (CIP)真空冷冻干燥机(上海东富龙有限公司);AUW 120D 电子天平(精度 1 mg,日本岛津公司);SYH-50 三维摆动混合机(常州圣万达干燥设备有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准物质制备工艺和流程

从种植农场等收集韭菜样品,经过筛选,将含有腐霉利的阳性样品作为标准物质的原料。用去离子水将韭菜反复冲洗干净,沥水,用研磨机 6000 r/min 均质 2 min 搅成悬糊状物。称取 100 g 去离子水、20 g 防腐剂、10 g 乳化剂 NP-10 于大烧杯中加热搅拌 20 min 冷却后备用^[12]。开启冷却水循环系统,温度控制在 $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右,将上述韭菜悬糊状物和添加剂等混合液一并加入高剪切均质反应釜中,充分混合 4 h,将其搅拌成阳性韭菜腐霉利均匀乳浆。将混匀后的韭菜匀浆液放入真空冷冻机进行冷冻干燥。

冻干样品在超离心研磨机中研碎,自动筛网采用 0.12 mm

钛合金筛网,自动筛分样品(通过超离心研磨机得到成品不大于 120 μm)。样品置于 50 L 三维混匀机中(不超过桶体积的 1/2),连续混匀 8 h 以上。

样品铝箔袋真空密封分装,每袋约 10.0 g。采用放射性同位素钴-60 产生的 γ 射线,对冻干粉进行辐照杀菌。 ^{60}Co - γ 射线辐照剂量为 10 kGy^[15]。

1.3.2 定值方法研究

样品测试时从冰箱中取出样品应使其在室温平衡 4 h 后方可开启使用。样品开启后按以下步骤进行样品复原:称取韭菜冻干粉样品 0.5 g(精确至 0.0001 g)于 50 mL 塑料离心管中加入 4.5 g 蒸馏水涡旋搅拌 15 min 混匀,混匀后的浆状样品即为复原样品。称取的 0.5 g 韭菜冻干粉样品经复原后等同于 5 g 韭菜浆样品。测试结果以准确复原后的韭菜浆质量进行计算。样品的最小取样量为 0.5 g,使用时不低于该取样量。

样品复原后的前处理方法是按照 GB 23200.113—2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定》的气相色谱-质谱法中前处理 7.1.1 操作要求:在复原的韭菜浆离心管中加入 100 μL 腐霉利- D_5 同位素内标溶液(5 mg/L),涡旋 2 min,加入 10 mL 乙腈,加入 1 mL 乙酸乙酯复溶,过 13 mm $\times$ 0.22 μm 有机相微孔滤膜,滤液用于上机测试分析^[16-20]。

将提供的韭菜粉空白基质按照上述操作,40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮气吹至近干后加入 20 μL 腐霉利- D_5 同位素内标溶液(5 mg/L),加入 1 mL 乙酸乙酯释成质量浓度为 0.005、0.010、0.050、0.100、0.200 和 0.500 mg/L 的标准工作溶液复溶。过 13 mm $\times$ 0.22 μm 有机相微孔滤膜配制成系列基质混合标准工作溶液,供仪器测定。以农药定量离子峰面积和内标物定量离子峰面积的比值为纵坐标,农药标准溶液质量浓度和内标物质量浓度的比值为横坐标,绘制标准工作曲线。

1.3.3 仪器设备条件

采用气相色谱-串联三重四极杆质谱仪测定韭菜粉中腐霉利含量,仪器分析条件 1:仪器设备:使用色谱柱: TG-5SILMS (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 2.5 μm)或相当者,流速: 1 mL/min,柱温: 60 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1.0 min,以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 160 $^{\circ}\text{C}$,保持 6.0 min,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 250 $^{\circ}\text{C}$,保持 1.0 min,以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 280 $^{\circ}\text{C}$,保持 1.0 min,进样量: 1.0 μL ,进样口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$,进样方式: 不分流进样,离子源温度: 300 $^{\circ}\text{C}$,传输线温度: 280 $^{\circ}\text{C}$,质谱条件: 多反应监测。仪器分析条件 2: 化合物: 腐霉利- D_5 ,定量离子对: 101.1-72.1,碰撞电压: 10 V,定性离子对: 101.1-56.0,碰撞电压: 15 V,保留时间: 50 ms; 化合物: 腐霉利,定量离子对: 96.0-67.0,碰撞电压: 10 V,定性离子对: 96.0-53.0,碰撞电压: 15 V,保留时间: 50 ms。所有与检测相关的仪器设备均通过中国合格评定国家认可委员会(China National

Accreditation Service for Conformity Assessment, CNAS)认可计量机构检定或校准。

1.3.4 均匀性检验

标准物质经 ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌后,均检抽样依据 JJF 1343—2022《标准物质的定值及均匀性、稳定性评估》从分装后的样品采用随机号码表法随机抽取 15 包样品($i=1, 2, \dots, 15$)。每包样品在不同位置独立随机取样,重复性测试 3 次,在 95%的置信度下,采用单因子方差分析法对样品的均匀性按照 F 检验分析判断样品的均匀性。

1.3.5 稳定性检验

稳定性包括运输的短期稳定性和储存的长期稳定性。通过最小二乘法线性回归曲线方法对稳定性监测结果进行分析判断。

(1)短期稳定性

为了考察标准物质在预期运输条件下发生短期改变的情况下的稳定性,按照 JJF 1343—2022 采用随机号码表法对样品每次随机抽取 3 包。分别将样品置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 恒温隔水式培养箱中模拟运输条件进行短期稳定性测试。

在分别储存 4、10、20、30 d 不同的时间后,一起测定其特性值,每包标准样品独立重复平行测定 2 次。考察标准样品特性值在不同的贮存时间变化的趋势。

(2)长期稳定性

本标准物质在-18 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻的保存条件下,从样品制备完成的当天开始,按照先密后疏的原则,测定时间分别为: 0、1、2、3、6、9、12、18 个月。每次随机抽取 3 个包装单元(其中 0 个月稳定性数据采用均检总平均值结果),每单元独立取样 2 次,每次稳定性测定获得 6 组数据,以均检总平均值作为首次测试数据,长期总测试次数为 8 次。

1.3.6 多家实验室联合定值

按照 JJF 1343—2022 邀请 10 家具有相关资质的、专业的、权威的实验室均统一按照 GB 23200.113—2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定》中的同位素内标稀释-气相色谱-三重四极杆质谱法进行韭菜粉中腐霉利标准物质的定值检测^[21-25]。

从研制的同一批次标准物质中随机抽取 20 包样品,每家实验室重复性测试 2 包定值样品,需提交 4 次测试结果。同时提供的韭菜粉空白基质、甲醇中腐霉利- D_6 内标和 GSB 05-2338—2016 丙酮中腐霉利溶液标准样品,从而使该标准样品定值和量值溯源具有可比性。

1.4 数据处理

在对回收的 10 家实验室韭菜中腐霉利标准物质的定值结果后,对 10 家实验室的定值结果采用 Minitab 绘制正态直方图进行正态分布分析,组内和组间使用格拉布斯准则进行离群值检验,柯克伦(Cochran)检验对组间数据进行等精度检验,最后使用有效定值数据的平均值作为标准样品的标准值^[26-29]。

2 结果和分析

2.1 均匀性验证分析

经均匀性计算分析, 韭菜粉中腐霉利 F 检验均匀性分析见表 1, 满足 F 检验值 $<F$ 临界值, 则认为数据间无明显差异, 本批次韭菜粉中腐霉利的均匀性满足标准物质生产技术要求, 验收合格, 可以接受。

2.2 稳定性检验

标准物质的稳定性使用最小二乘法线性回归, 在自由度 $v=n-2$ (n 为稳定性监测的测量次数), 置信水平为 95% 的条件下, 临界值为 $t_{0.95,n-2}$, 如果 $t_{\beta_1}=\frac{\beta_1}{S(\beta_1)}<t_{0.95,n-2}$, (式中 t_{β_1} 为线性回归统计值; β_1 为斜率; $S(\beta_1)$ 为 β_1 的标准偏差), 则斜率是不显著的, 因而未观测到不稳定性, 说明韭菜粉中腐霉利标准物质的特性值在保存期间是稳定的。

2.2.1 短期稳定性验证

对于韭菜粉中腐霉利标准物质在 50 °C 保存 4、10、20、30 d 的模拟运输条件下, 短期稳定性监测数据及线性回归结果分析见表 2, t 检验线性回归临界值: $t_{0.95,3}=3.182$, $t_{腐霉利}<t_{0.95,3}=3.182$, 故在 50 °C 极端高温模拟运输条件 15 d 内都满足 $|\beta_1|<t_{0.95,3}\cdot S(\beta_1)$, 则斜率是不显著的, 因而未观测到不稳定性, 判定此次韭菜粉中腐霉利标准物质 30 d 内短期运输过程中, 50 °C 极端运输条件下特性值不会发生改变, 稳定性良好。

2.2.2 长期稳定性验证

韭菜粉中腐霉利标准物质在制备完成后计划进行了 18 个月的稳定性考察, 长期稳定性监测数据及线性回归结果分析见表 3, 在-18 °C 冷冻储存条件下, 因有 $t_{腐霉利}<t_{0.95,6}=2.447$, 故判定此次韭菜粉中腐霉利标准物质稳定性良好, 可以满足 18 个月有效期内保存稳定性要求。此外所有稳定性测试结果以及其平均值均在特性值的不确定度范围内。

表 1 韭菜中腐霉利标准样品均匀性检验数据统计分析
Table 1 Statistical analysis of homogeneity test data of procymidone in *Allium tuberosum* powder

检验阶段	样品序号	腐霉利/(mg/kg)			均值/(mg/kg)
		-1(测定第 1 次数据)	-2(测定第 2 次数据)	-3(测定第 3 次数据)	
均匀性检验	44	0.231	0.221	0.226	0.226
	133	0.224	0.228	0.221	0.224
	181	0.219	0.221	0.21	0.217
	224	0.213	0.219	0.234	0.222
	316	0.219	0.225	0.231	0.225
	66	0.226	0.221	0.228	0.225
	141	0.226	0.223	0.219	0.223
	204	0.211	0.224	0.209	0.215
	269	0.209	0.216	0.228	0.218
	327	0.219	0.228	0.221	0.223
	80	0.228	0.218	0.234	0.227
	147	0.219	0.205	0.228	0.217
	216	0.215	0.219	0.215	0.216
	275	0.219	0.225	0.227	0.224
	355	0.219	0.225	0.228	0.224
	总均值/(μg/kg)			0.222	
	单元间均方(MS)			0.00004754	
	单元内均方(MS)			0.000044955	
	统计量 $F_{0.05}(14,30)$			1.06	
	不均匀性标准偏差(S_{bb})			0.0011	
	F 临界值			2.04	

表 2 50 °C 短期稳定性监测数据及线性回归结果分析
Table 2 Analysis of short-term stability monitoring data and linear regression at 50 °C

检验阶段	样品 编号	腐霉利/(mg/kg)		样品 编号	腐霉利/(mg/kg)		样品 编号	腐霉利/(mg/kg)		平均值 /(mg/kg)
		-1(测定 第 1 次数据)	-2(测定 第 2 次数据)		-1(测定 第 1 次数据)	-2(测定 第 2 次数据)		-1(测定 第 1 次数据)	-2(测定 第 2 次数据)	
0 d (-18 ℃)					/					0.222
4 d (50 ℃)	239	0.235	0.220	173	0.231	0.219	075	0.223	0.214	0.224
10 d (50 ℃)	122	0.216	0.223	192	0.219	0.220	242	0.212	0.223	0.219
20 d (50 ℃)	281	0.217	0.224	261	0.229	0.236	095	0.228	0.223	0.226
30 d (50 ℃)	228	0.231	0.218	124	0.219	0.212	166	0.213	0.225	0.220
检验阶段	斜率 $ \beta_1 $		截距 β_0		$S(\beta_1)$		t_{β_1}		临界值 $t_{0.95,3}$	
30 d (50 ℃)	0.223		0.0000738		0.0000459		1.61		3.182	

注: / 为 0 个月稳定性数据采用均检总平均值结果。

表 3 长期稳定性监测数据及线性回归结果分析
Table 3 Analysis of long-term stability monitoring data and linear regression

检验阶段	样品 编号	腐霉利/(mg/kg)		样品 编号	腐霉利/(mg/kg)		样品 编号	腐霉利/(mg/kg)		平均值 /(mg/kg)
		-1(测定 第 1 次数据)	-2(测定 第 2 次数据)		-1(测定 第 1 次数据)	-2(测定 第 2 次数据)		-1(测定 第 1 次数据)	-2(测定 第 2 次数据)	
2022.01.28 (第 1 个月)	036	0.236	0.221	143	0.228	0.218	285	0.234	0.224	0.227
2022.02.15 (第 2 个月)	057	0.226	0.231	203	0.233	0.218	338	0.221	0.230	0.226
2022.03.21 (第 3 个月)	083	0.220	0.227	169	0.218	0.214	271	0.221	0.233	0.222
2022.06.30 (第 6 个月)	098	0.212	0.228	232	0.216	0.224	296	0.222	0.234	0.223
2022.09.15 (第 9 个月)	109	0.232	0.208	251	0.223	0.230	349	0.233	0.214	0.223
2022.12.16 (第 12 个月)	302	0.227	0.218	267	0.223	0.228	244	0.223	0.234	0.226
2023.06.11 (第 18 个月)	011	0.228	0.217	085	0.222	0.220	068	0.218	0.219	0.221
检验阶段		$ \beta_1 $			$S(\beta_1)$			$t_{\beta_1} = \frac{\beta_1}{S(\beta_1)}$		临界值 $t_{0.95,6}$
2023.06.11 (第 18 个月)		0.00011			0.000139			0.819		2.447

本次研制的韭菜粉中腐霉利标准物质有效期暂定为 18 个月，后续将持续跟踪其稳定性。

2.3 标准物质联合定值结果

将 10 家不同实验室每家收集了 4 组独立测量值汇总见表 4。韭菜粉中腐霉利标准物质回收率为 88.1%~104.5%，在对回收的 10 家实验室韭菜粉中腐霉利标准物质的定值结果采用 Minitab 绘制正态直方图进行正态分布分析、组

内和组间使用格拉布斯进行离群值检验、柯克伦(Cochran)检验对组间数据进行等精度检验，最后使用有效定值数据的平均值作为标准样品的标准值。

2.3.1 数据分布正态性检验

回收 10 家实验室韭菜粉中腐霉利 2 包标准物质重复性定值结果后，对 10 家实验室的 40 组定值结果使用 Minitab 进行数据处理，绘制正态分布直方图，如图 1 所示，所有参加定值测试的实验室回收结果服从近似正态分布。

表 4 10 家实验室参与腐霉利定值测试数据统计
Table 4 Statistical data of 10 laboratories participating in the determination of procymidone

实验室代码	腐霉利/(mg/kg)				样品均值/(mg/kg)	回收率/%
	-1(测定 第 1 次数据)	-2(测定 第 2 次数据)	-3(测定 第 3 次数据)	-4(测定 第 4 次数据)		
001	0.223	0.228	0.227	0.227	0.226	94.5
002	0.224	0.222	0.216	0.222	0.221	88.1
003	0.208	0.209	0.213	0.211	0.210	99.6
004	0.211	0.201	0.204	0.212	0.207	94.9
005	0.228	0.227	0.230	0.235	0.230	90.0
006	0.224	0.22	0.213	0.216	0.218	96.9
007	0.220	0.233	0.221	0.241	0.229	93.3
008	0.226	0.230	0.210	0.216	0.221	104.5
009	0.234	0.227	0.241	0.237	0.235	101.0
010	0.238	0.226	0.236	0.224	0.231	93.0

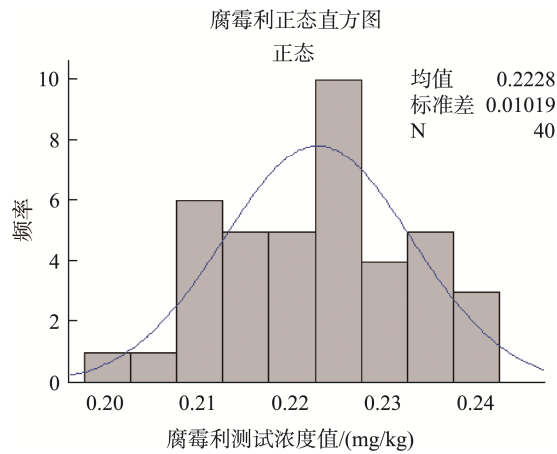


图 1 10 家实验室回收结果正态分布图
Fig.1 Normal distribution of recovery results in 10 laboratories

2.3.2 组内离群值检验

各实验室组内检验结果采用格拉布斯(Grubbs)检验法分析各实验室定值是否具有可疑值, 统计分析结果见表 5。由格拉布斯临界值表可知 $\lambda_{0.05, 4}=1.481$, $\lambda_{\max}=1.466$, 均满足要求, 说明回收 10 家实验室的 4 组内的定值检验提交结果无离群值, 不需要剔除全部可参与定值计算。

表 5 格拉布斯法分析定值实验室组内离群值
Table 5 Outliers in the fixed laboratory group analyzed by Grubbs method

实验室编号	样品均值/(mg/kg)	$\lambda_{\max}$	可疑值
001	0.226	1.466	无
002	0.221	1.443	无
003	0.210	1.240	无
004	0.207	1.121	无
005	0.230	1.405	无
006	0.218	1.201	无
007	0.229	1.215	无
008	0.221	1.148	无
009	0.235	1.312	无
010	0.231	0.997	无

2.3.3 组间离群值检验

再将每个实验室的平均值组成一组数据, 用格拉布斯检验法进行双侧情形检验, 确定各实验室数据无异常值后, 使用各实验室定值测试结果的平均值作为该项目的特性值, 定值测试结果如下表 6。由表 6 可知, $\lambda_{\max}<\lambda_{0.05, 10}$, 说明 10 家定值实验室的定值测试结果均值没有出现异常值, 不需要剔除。

2.3.4 组间等精度检验

所有参加定值测试实验室统一使用同位素稀释内标-气相色谱-串联质谱法对韭菜粉中腐霉利标准物质进行测试定值, 为检验各组数据的平均值是否等精度检验, 根据科克伦法分析先计算 10 家定值实验室的各家 4 组数据的方

差, 再计算其中的最大方差与 10 家实验室的方差和比较, 经计算可得表 7。

表 6 格拉布斯法分析定值实验室组间离群值
Table 6 Outliers between laboratory groups with fixed values analyzed by Grubbs method

序号	第 1 次剔除		第 2 次剔除	
	测试结果 /(mg/kg)	λ_i	测试结果 /(mg/kg)	λ_i
1	0.226	0.348	/	/
2	0.221	-0.196	/	/
3	0.210	-1.393	/	/
4	0.207	-1.720	/	/
5	0.230	0.784	/	/
6	0.218	-0.522	/	/
7	0.229	0.675	/	/
8	0.221	-0.196	/	/
9	0.235	1.328	/	/
10	0.231	0.893	/	/
总均值	0.223			
标准偏差	0.009			
$\lambda_{\max}$	1.720	临界值: $\lambda_{0.05, 10}=2.290$		

注: /为无此数据。

表 7 科克伦法分析定值实验室组间等精度
Table 7 Equal precision between laboratory groups of Cochran method analysis

组别	腐霉利/(mg/kg)	
	标准偏差/%	方差
001	0.98	0.00010
002	1.57	0.00025
003	1.05	0.00011
004	2.59	0.00067
005	1.55	0.00024
006	2.19	0.00048
007	4.41	0.00194
008	4.15	0.00172
009	2.52	0.00063
010	3.04	0.00092
方差最大值		0.000194
方差总和		0.00706
C		0.2749
$C_{(0.05, 10, 4)}$		0.3311
结论	各组数据均等精度	

注: C: 科克伦计算值。

由此可知韭菜粉中腐霉利标准物质定值检测结果 C 均小于 $C_{(0.05, 10, 4)}$, 表明 10 家定值实验室各组数据均等精度。多家实验室腐霉利定值特性值定值结果汇总表见表 8。

表 8 多家实验室腐霉利定值特性值汇总表
Table 8 Summary of the characteristic values of procymidone in several laboratories

测试项目	腐霉利
参与实验室家次数/个	10
标准值/(mg/kg)	0.223
定值标准差/(mg/kg)	0.009
变异系数/%	4.19
最小值/(mg/kg)	0.201
最大值/(mg/kg)	0.241
极差/(mg/kg)	0.04

2.4 韭菜粉中腐霉利不确定度的评估

韭菜粉中腐霉利标准物质不确定度来源由 3 个部分组成: 定值过程引入的不确定度、均匀性引入的不确定度、稳定性引入的不确定度。计算得到在 95%的置信区间下, 研制韭菜粉中腐霉利标准物质的特征值为 0.223 mg/kg, 扩展不确定度为 0.021 mg/kg ($k=2$)。

3 结 论

韭菜粉中腐霉利标准物质选用阳性韭菜为基体, 经过冲洗除杂后, 使用破壁机将韭菜粉碎和匀浆、冷冻干燥、过筛后混匀, 在洁净干燥条件下以聚乙烯塑料袋外套铝塑复合袋真空封装。⁶⁰Co- γ 射线辐照灭菌后均匀性验证合格后冷冻保存。

测试结果以复原后韭菜浆质量特性值为 0.223 mg/kg, 扩展不确定度为 0.021 mg/kg ($k=2$), 稳定性 18 个月。新鲜韭菜含水率 90%左右, 不易保存, 依据本研究工艺制备的农药残留基体标准物质, 采用冷冻干燥后韭菜粉含水率可控制在 5%以下, 具有良好的均匀性和稳定性, 不容易腐败, 目标物与基体结合与真实检测样品一致, 按照 1:9 ($m:l$) 比例加水复原模拟新鲜韭菜, 减少在前处理过程与检测过程中的损失和变化。该工艺也适用于大白菜、芹菜、菠菜、黄瓜等蔬菜基体标准物质的制备, 为农药残留标准物质的研究提供参考, 同时研制的基体标准物质, 为食品安全国家标准和监督抽检的实施和质量控制提供支撑^[30-31]。

参考文献

[1] 陈玉娟, 马耀荣, 曹嘉慧, 等. 2023 年佛山市禅城区果蔬中腐霉利残留及膳食风险评估[J]. 食品安全导刊, 2024(13): 55–59.
CHEN YJ, MA YR, CAO JH, *et al.* Residual humus in fruits and vegetables and dietary risk assessment in Chancheng District of Foshan City in 2023 [J]. China Food Saf Magaz, 2024(13):55–59.
[2] LI SH, HAN YY, JIANGYUAN CZ, *et al.* Revealing the biodiversity and the response of pathogen to a combined use of procymidone and thiamethoxam in tomatoes [J]. Food Chem, 2019, 284(6): 73–79.

[3] 崔雪妍. 韭菜中农药多残留胶体金免疫层析检测技术研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2023.
CUI XY. Study on lateral flow immunoassay for multi-residue detection of pesticides in leek [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2023.
[4] 汪霞丽, 言剑, 张丽, 等. 市售韭菜中农药残留及重金属污染状况[J]. 食品与机械, 2022, 38(10): 76–81.
WANG XL, YAN J, ZHANG L, *et al.* Analysis of pesticide residues and heavy metal pollution in leek [J]. Food Mach, 2022, 38(10): 76–81.
[5] 李辉, 林宏芳, 张宇轩, 等. 韭菜中 8 种农药及其代谢物残留分析[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(22): 166–171.
LI H, LIN HF, ZHANG YX, *et al.* Residue analysis of eight pesticides and their metabolites in leek [J]. Food Res Dev, 2021, 42(22): 166–171.
[6] 周勇, 朴秀英, 唐先骏, 等. 韭菜中腐霉利的残留检测及长期膳食暴露评估[J]. 农药学报, 2021, 23(2): 373–379.
ZHOU Y, PIAO XY, TANG XJ, *et al.* Determination and chronic dietary exposure assessment of procymidone residue in Chinese chives [J]. Chin J Pestic Sci, 2021, 23(2): 373–379.
[7] 胡晓飞, 魏凤仙, 邢云端, 等. 腐霉利检测技术研究进展[J]. 食品安全检测质量学报, 2021, 12(10): 4076–4082.
HU XF, WEI FX, XING YR, *et al.* Research progress on the detection technologies of procymidone [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(10): 4076–4082.
[8] 食品伙伴网. 农药腐霉利的基本信息 [EB/OL]. [2020-10-07]. http://db.foodmate.net/pesticide/read_nyxz.php?pid=711 [2020-12-02].
Foodmate network. General information of procymidone [EB/OL]. [2020-10-07]. http://db.foodmate.net/pesticide/read_nyxz.php?pid=711 [2020-12-02].
[9] 赵红阳, 孙孟娇, 张苗, 等. 蔬菜中腐霉利、克百威、对硫磷的检测能力验证样品研制及应用[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(9): 1304–1310.
ZHAO HY, SUN MJ, ZHANG M, *et al.* Preparation and application of the proficiency testing of procymidone, carbofuran, and parathion in vegetables [J]. Chin J Food Hyg, 2023, 35(9): 1304–1310.
[10] 李建珍, 张倩. 气相色谱-质谱联用测定黄瓜中的腐霉利[J]. 广东蚕业, 2022, 56(8): 60–62.
LI JZ, ZHANG Q. Determination of procymidone in cucumber by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Guangdong Canye, 2022, 56(8): 60–62.
[11] 田世宏, 陈洪俊, 高建忠, 等. 标准样品概论[M]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
TIAN SH, CHEN HJ, GAO JZ, *et al.* Introducion to reference materials [M]. Beijing: China Standardization Press, 2021.
[12] 赵静, 段建华, 张利仙, 等. 乳粉中六六六、滴滴涕质控样品的研制[J]. 化学分析计量, 2023, 32(28): 1–5.
ZHAO J, DUAN JH, ZHANG LX, *et al.* Preparation of quality control samples of HCH and DDD in milk powder [J]. Chem Anal Meter, 2023, 32(28): 1–5.
[13] 王贵滨, 王秋艳, 潘锋, 等. 菠菜中四种六六六农药残留实物标准样品及其制备方法. 中国, CN201711211940.5[P]. 2018-06-12.
WANG GB, WANG QY, PAN F, *et al.* The CRM of Four BHC pesticide

- residues in spinach and its preparation method: China, CN201711211940.5 [P]. 2018-06-12.
- [14] 李秀琴, 张庆合, 阚莹, 等. 一种含有克伦特罗的猪肉粉标准物质制备方法. 中国, CN201710117460.6[P]. 2019-10-08.
- LI XQ, ZHANG QH, KAN Y, *et al.* A method for preparing a pork powder reference material containing clenbuterol. China, CN201710117460.6 [P]. 2019-10-08.
- [15] 王丹丹, 徐佳璇, 郑悦, 等. 一种含有有机磷农药的蔬菜粉标准物质的制备方法. 中国, CN201910663108.1[P]. 2019-9-24
- WANG DD, XU JX, ZHENG Y, *et al.* A method for preparing the CRM of vegetable powder containing an organophosphorus pesticide. China, CN201910663108.1 [P]. 2019-10-08.
- [16] SUN T, MO XX, LI XZ, *et al.* Qualitative detection of procymidone in edible vegetable oils by near infrared spectroscopy and variable selection methods [J]. *Spectrosc Spectr Anal*, 2016, 36(12): 3915–3919.
- [17] TAIRA S, TOKAI M, KANEKO D, *et al.* Mass spectrometry imaging analysis of location of procymidone in cucumber samples [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(27): 6109–6112.
- [18] RODRÍGUEZ R, BOYER I, FONT G, *et al.* Capillary zone electrophoresis for the determination of thiabendazole, prochloraz and procymidone in grapes [J]. *Analyst*, 2001, 126(12): 2134–2138.
- [19] 张海燕. 一种腐霉利的残留量测定方法. 中国, CN201410851681.2[P]. 2016-07-27.
- ZHANG HY. A method for determining the residue of procymidone. China, CN201410851681.2 [P]. 2016-07-27.
- [20] 黄宝勇. 果蔬中农药多残留的气相色谱-质谱方法与基质效应的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- HUANG BY. Multiresidue determination of pesticides in vegetables and fruits by gas chromatography with mass spectrometry and examination on matrix effects [D]. Beijing: China Agricultural University, 2005.
- [21] 张艳, 曲良娇, 凌莉, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定蔬菜中 11 种有机磷和 10 种新烟碱类杀虫剂[J]. *现代预防医学*, 2024, 51(4): 722–727.
- ZHANG Y, QU LJ, LING L, *et al.* Simultaneous determination of eleven Organophosphorus and ten neonicotinoid pesticide in vegetables by UPLC-MS/MS [J]. *Mod Prev Med*, 2019, 51(4): 722–727.
- [22] 董见南. 10 种有机磷杀虫剂和 8 种杀菌剂残留在代表性水果蔬菜中的储存稳定性[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- DONG JN. Storage stability of 10 organophosphorus insecticides and 8 fungicides residue in representative fruits and vegetables [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.
- [23] 纪卫红, 王欣, 郭文丽. 气相色谱法测定韭菜中腐霉利含量的不确定度评估[J]. *质量与安全检验检测*, 2024, 3(3): 66–70.
- JI WH, WANG X, GUO WL. Uncertainty evaluation of determination of procymidone in Chinese chive by gas chromatography [J]. *Qual Saf Inspect Test*, 2024, 3(3): 66–70.
- [24] HU Z, DAI T, LI L, *et al.* Use of GC-MS based metabolic fingerprinting for fast exploration of fungicide modes of action [J]. *BMC Microbiol*, 2019, 19(1): 1.
- [25] LUO L, DONG L, HUANG Q, *et al.* Detection and risk assessments of multi-pesticides in 1771 cultivated herbal medicines by LC/MS-MS and GC/MS-MS [J]. *Chemosphere*, 2021, 262: 127477.
- [26] 刘贺, 张鹏, 刘宁, 等. 果蔬汁中有机磷农药残留能力验证结果与分析[J]. *计量和测试技术*, 2024, 51(1): 6–9.
- LIU H, ZHANG P, LIU N, *et al.* Validation results and analysis of organophosphorus pesticide residues in fruit and vegetable juice [J]. *Measure Test Technol*, 2024, 51(1): 6–9.
- [27] 王钟. 气相色谱-质谱法测定蔬菜中有机磷农药和氨基甲酸酯类农药残留的研究[D]. 青岛: 山东大学, 2010.
- WANG Z. Method study on the determination of organophosphorus pesticides and carbamates pesticides in vegetable by gas chromatography and mass spectrometry [D]. Qingdao: Shandong University, 2010.
- [28] 陆千里. GC-MS 法测定黄瓜中腐霉利的不确定度评估[J]. *食品安全导刊*, 2023(1): 114–117.
- LU QL. Uncertainty evaluation for the determination of procymidone in cucumber by GC-MS [J]. *China Food Saf Magaz*, 2023(1): 114–117.
- [29] 李彦生, 董寿堂, 柴连周, 等. 气相色谱-串联质谱法测定三七中腐霉利残留量的不确定度评定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(23): 8920–8924.
- LI YS, DONG ST, CHAI LZ, *et al.* Uncertainty evaluation of determination of procymidone residue in panax no- toginseng by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(23): 8920–8924.
- [30] SHU L, TANG T, TAO C, *et al.* The distributions of three fungicides in vegetables and their potential health risks in Zhejiang, China: A 3-year study (2015-2017) [J]. *Environ Pollut*, 2020, 1: 115481.
- [31] ROSSIGNOL J, DUJOURDY L, STUERGA D, *et al.* A first tentative for simultaneous detection of fungicides in model and real wines by microwave sensor coupled to molecularly imprinted sol-gel polymers [J]. *Sensors*, 2020, 20(21): 6224.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)

作者简介



包汇川, 硕士, 工程师, 主要研究方向是食品标准物质与能力验证。
E-mail: baohuichuan@163.com