

UPLC-MS/MS 测定猪肝中五氯酚残留量的不确定度评定

Evaluation of uncertainty for the determination of pentachlorophenol in pork liver by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

欧阳丽 汪辉 何翊 陈娅娅 胡婷舒 刘曼舒

OU-YANG Li WANG Hui HE Yi CHEN Ya-ya HU Ting-shu LIU Man-shu

(长沙市食品药品检验所, 湖南 长沙 410016)

(Changsha Institute for Food and Drug Control, Changsha, Hunan 410016, China)

摘要:根据 GB 23200.92—2016 规定的方法对样品中五氯酚的残留量进行测定,通过建立数学模型,确定不确定度来源并分别进行量化,计算合成不确定度。结果显示:当猪肝中的五氯酚残留量为 $14\text{ }\mu\text{g/kg}$ 时,在 95% 的置信区间下,合成不确定度为 $1.4\text{ }\mu\text{g/kg}$,扩展不确定度为 $3\text{ }\mu\text{g/kg}$ ($k=2$)。样品净化后的定容体积、样品测量重复性、标准溶液的配制与标准曲线的拟合等环节引入不确定度分量的相对贡献最大。

关键词:超高效液相色谱—串联质谱;猪肝;五氯酚;不确定度

Abstract: Based on GB 23200.92—2016, the samples were detected, and a mathematical model was established. Moreover, each uncertainty of the whole analysis procedures was analyzed and quantified. It was found that, when the pentachlorophenol residue was $14\text{ }\mu\text{g/kg}$, the extended uncertainty was $3\text{ }\mu\text{g/kg}$ ($k=2$) under the 95% confidence interval. The results showed that the main sources of measurement uncertainties are derived from the final volume of sample, measurement repeatability, standard solution preparation, and the calibration fitting.

Keywords: UPLC-MS/MS; pork liver; pentachlorophenol; uncertainty

五氯酚 (pentachlorophenol, PCP) 及其钠盐具有杀虫、防腐、除草等作用^[1],但具有明显的生物毒性^[2],美国环境保护局已将其列为 114 种主要环境污染物之一^[3-4]。

基金项目:国家公益性行业科研专项项目(编号:201310130)

作者简介:欧阳丽,女,长沙市食品药品检验所工程师,硕士。

通信作者:汪辉(1983—),男,长沙市食品药品检验所高级工程师,硕士。E-mail: wanghui158@163.com

收稿日期:2019-05-14

中国农业部公告第 193 号规定禁止五氯酚用于所有食用性动物^[5]。高效液相色谱—串联质谱法因具有灵敏度高、特异性强等特点,已成为动物源性食品中五氯酚残留量检测的国标方法^[6]。

作为衡量检测结果可信度的重要指标^[7],测量不确定度在评定试验结果的可信性、可比性、可接受性以及检测过程中需注意的关键环节等方面都具有十分重要的意义^[8]。中国实验室国家认可委员会(CNACL)对检测实验室测量不确定度评定程序的制定与应用提出了明确的要求^[9]。目前尚未见对动物源性食品中五氯酚残留量的检测结果进行不确定度评定的报道。肝脏作为代谢器官,负责处理各种代谢废物与毒素,是五氯酚残留量相对较高的动物源性食品,为衡量检测结果的可信度,试验依据 GB 23200.92—2016 对猪肝样品进行检测,并参照现行有效的化学分析中不确定度评定方法及指南^[10-12]对猪肝中五氯酚残留量的检测结果进行不确定度评定,以期提高五氯酚残留量测量结果的科学性,为五氯酚残留量的检测提供切实可行的建议。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

五氯酚钠标准物质:纯度 86.0%,CAS 号 123333-54-0,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;

甲醇、乙腈:色谱纯,德国 MERCK 公司;

猪肝:市场抽检样品;

实验室用水:Milli-Q 超纯水;

Oasis MAX 固相萃取柱:60 mg,3 mL,美国 Waters 公司;

超高效液相色谱—四级杆串联质谱仪:Acquity

uplc® H-Class/Xevo® tq-s micro 型,美国 Waters 公司;
快速混匀器:SK-1 型,江苏金坛医疗仪器厂;
高速离心机:CT14D 型,上海天美生化仪器设备工程有限公司;
固相萃取真空装置:Visiprep-DL 24 型,美国 Sigma-Aldrich 公司;
超声波清洗器:AS3120 型,天津奥特赛恩斯仪器有限公司;
全自动高通量平行浓缩仪:MV5 型,美国 Labtech 公司;
分析天平:XSE205 型,德国 Mettler-Toledo 公司。

1.2 方法

1.2.1 五氯酚标准储备液的制备 精确称取五氯酚钠 12.59 mg 至 50 mL 棕色容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,配制成 200 μg/mL 的标准储备液,−18 ℃ 以下避光保存;用 1 mL 单标线吸量管移取 1 mL 五氯酚标准储备液于 100 mL 容量瓶中,用甲醇稀释并定容至刻度,配制成浓度为 2 μg/mL 的标准中间溶液。用 1 mL 单标线吸量管移取 1 mL 标准中间溶液于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶液稀释并定容至刻度,稀释成浓度为 200 ng/mL 的标准使用液。用移液器分别移取适量标准使用液于 5 支 2 mL 容量瓶中,用空白样品基质溶液稀释并定容至刻度,配制成五氯酚浓度为 1,5,10,20,50 ng/mL 的标准系列溶液,供超高效液相色谱—串联质谱仪测定。

1.2.2 碱性乙腈水溶液提取 称取均质试样 2 g 于 10 mL 具螺旋盖聚丙烯离心管中,加入 6 mL 5% 三乙胺的乙腈—水溶液,涡旋 1 min,超声提取 5 min。3 000 r/min 离心 5 min,收集上清液于一具刻度离心管中。离心后的残渣用约 6 mL 5% 三乙胺的乙腈—水溶液重复上述提取步骤 1 次,合并上清液,混匀。

1.2.3 固相萃取净化 将所得提取溶液转入经过预处理的 MAX 固相萃取柱中,以 1 滴/s 流速使样品溶液全部通过固相萃取柱,弃去流出液。依次用 5 mL 5% 氨水溶液、5 mL 甲醇、5 mL 2% 甲酸的甲醇—水溶液淋洗,弃去流出液,淋洗液全部流出后,固相萃取柱用真空泵抽干 5 min。以 4 mL 4% 甲酸甲醇溶液洗脱,15 mL 具刻度试管收集洗脱液,40 ℃ 水浴下吹氮浓缩至 1 mL,用水定容至 2 mL,混匀。溶液以 0.22 μm 有机膜过滤,供测定。

1.2.4 液相色谱条件 色谱柱:Acquity uplc BEH C₁₈ 液相色谱柱(2.1 mm×50 mm×1.7 μm);流动相流速:0.3 mL/min;流动相:A(5 mmol/L 乙酸铵溶液)+B(甲醇),梯度洗脱程序:0.00~1.00 min,40%~100% B;1.00~5.00 min,100% B;5.01~5.50 min,100%~40% B;5.50~9.00 min,40% B;柱温:35 ℃;进样量:10 μL。

1.2.5 质谱条件 离子源:电喷雾离子源,负离子模式;毛细管电压:2.0 kV;锥孔电压:20 V;离子源温度:

150 ℃;锥孔反吹气流量:60 L/h;脱溶剂气温度:350 ℃;脱溶剂气流量:700 L/h;数据采集方式:多反应监测(MRM)。仪器参数见表 1。

表 1 仪器参数[†]

Table 1 Instrumental parameters

监测离子对	锥孔电压/V	碰撞能/eV
264.7>264.7 ^a	20	6
262.7>262.7	20	6
266.7>266.7	20	6
268.7>268.7	20	6

[†] 保留时间 4.12 min;a 为定量离子。

1.2.6 不确定度数学模型的建立 测量不确定度数学模型:

$$X = \frac{c \times V \times f_{\text{rep}}}{m \times R} \times f_{\text{c标}}, \quad (1)$$

式中:

X——样品中五氯酚残留量,μg/kg;

c——由标准工作曲线获得样品进样液中五氯酚的浓度,ng/mL;

V——样品最后定容体积,mL;

m——样品质量,g;

R——加标回收率,%;

f_{rep} ——样品测量重复性;

$f_{\text{c标}}$ ——校准标准溶液影响因子。

2 不确定度评估

2.1 各分量不确定度来源

根据检测过程与数学模型,标准溶液的配制与稀释、标准曲线拟合、样品称量、样品测量重复性、样品最后定容、样品加标回收等环节引入的不确定度为五氯酚残留量测定结果不确定度的主要来源。

2.2 不确定度分量的量化

2.2.1 标准溶液的配制与稀释引入的不确定度

(1) 标准品的不确定度:五氯酚钠标准品由德国 Dr. Ehrenstorfer 公司提供,纯度为 86.0%,标准证书给出的相对扩展不确定度为 2.0%,取均匀分布, $k = \sqrt{3}$,则其引入的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(p) = \frac{2.0\%}{\sqrt{3}} = 0.011\ 55$ 。

(2) 标准品称量引入的不确定度:标准品称量天平为梅特勒 XSE205 型分析天平(精度为 0.000 01 g),根据其检定证书,当称样量为 0~5 g 时,该天平的最大允许误差为 ±0.05 mg,取均匀分布,则称量引入的标准不确定度为: $\frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.028\ 87\ \text{mg}$ 。因标准品称量采用减量法,涉及

两次独立称量结果,产生的标准不确定度为: $u(m_{\text{标}}) = \sqrt{2 \times (0.028\ 87)^2} = 0.040\ 83\ \text{mg}$ 。

精密称取五氯酚钠标准品 12.59 mg,五氯酚钠称量引入的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(m_{\text{标}}) = \frac{0.040\ 83}{12.59} = 0.003\ 24$ 。

(3) 标准储备液定容引入的不确定度:标准品溶解定容于 50 mL A 级容量瓶中,由 JJG 196—2006《常用玻璃量器检定规程》可知,其最大容量允差为 $\pm 0.05\ \text{mL}$,取三角分布, $k = \sqrt{6}$,则其引入的标准不确定度为: $u(V_{\text{容}1,V}) = \frac{0.05}{\sqrt{6}} = 0.020\ 42\ \text{mL}$;实验室温度波动范围为 $(20 \pm 3)^\circ\text{C}$,甲醇的体积膨胀系数为 $1.18 \times 10^{-3}\ ^\circ\text{C}^{-1}$,假设温度变化取均匀分布, $k = \sqrt{3}$,则标准不确定度为: $u(V_{1t}) = \frac{3 \times 1.18 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0.002\ 044\ \text{mL}$ 。因此,配制

标准储备液引入的合成标准不确定度为: $u(V_{\text{容}1}) = \sqrt{u(V_{\text{容}1,V})^2 + u(V_{1t})^2} = \sqrt{0.020\ 42^2 + 0.002\ 044^2} = 0.020\ 52\ \text{mL}$,相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(V_{\text{容}1}) = \frac{u(V_{\text{容}1})}{50} = \frac{0.020\ 52}{50} = 0.000\ 410\ 4$ 。

(4) 标准中间溶液配制引入的不确定度:

① 移液管引入的不确定度:由 JJG 196—2006《常用玻璃量器检定规程》可知,A 级 1 mL 单标线吸量管容量允差为 $\pm 0.007\ \text{mL}$,取均匀分布,则 $u(V_{\text{吸}1,V}) = \frac{0.007}{\sqrt{3}} = 0.004\ 042\ \text{mL}$;实验室温度波动范围为 $(20 \pm 3)^\circ\text{C}$,温度变化引入的标准不确定度为: $u(V_{\text{吸}1,t}) = u(V_{1t}) = 0.002\ 044\ \text{mL}$ 。1 mL 单标线吸量管合成标准不确定度为: $u(V_{\text{吸}1}) = \sqrt{u(V_{\text{吸}1,V})^2 + u(V_{\text{吸}1,t})^2} = \sqrt{0.004\ 042^2 + 0.002\ 044^2} = 0.004\ 529\ \text{mL}$,则 $u_{\text{rel}}(V_{\text{吸}1}) = \frac{u(V_{\text{吸}1})}{1} = 0.004\ 529$ 。

② 容量瓶引入的不确定度:A 级 100 mL 容量瓶最大容量允差为 $\pm 0.10\ \text{mL}$ ^[13],取三角分布, $k = \sqrt{6}$,则其定容体积引入的标准不确定度为: $u(V_{\text{容}2,V}) = \frac{0.10}{\sqrt{6}} = 0.040\ 83\ \text{mL}$;实验室温度波动范围为 $(20 \pm 3)^\circ\text{C}$,因温度波动而引起的体积不确定度为: $u(V_{2t}) = u(V_{1t}) = 0.002\ 044\ \text{mL}$ 。合成标准不确定度为: $u(V_{\text{容}2}) = \sqrt{u(V_{\text{容}2,V})^2 + u(V_{2t})^2} = \sqrt{0.040\ 83^2 + 0.002\ 044^2} = 0.040\ 88\ \text{mL}$,相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(V_{\text{容}2}) = \frac{u(V_{\text{容}2})}{100} = \frac{0.040\ 88}{100} = 0.000\ 408\ 8$ 。因此,标准储备液稀释成标准中间溶液引入的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(V_1) = \sqrt{u_{\text{rel}}(V_{\text{吸}1})^2 + u_{\text{rel}}(V_{\text{容}2})^2} =$

$$\sqrt{0.004\ 529^2 + 0.000\ 408\ 8^2} = 0.004\ 547。$$

(5) 标准使用液配制引入的不确定度:标准使用液配制时,单标线吸量管(1 mL,A 级)引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_{\text{吸}2}) = u_{\text{rel}}(V_{\text{吸}1}) = 0.004\ 529$ 。A 级 10 mL 容量瓶最大容量允差为 $\pm 0.020\ \text{mL}$ ^[13],取三角分布, $k = \sqrt{6}$,则其定容体积引入的标准不确定度为: $u(V_{\text{容}3,V}) = \frac{0.020}{\sqrt{6}} = 0.008\ 167\ \text{mL}$;实验室温度波动范围为 $(20 \pm 3)^\circ\text{C}$,因温度波动而引起的体积不确定度为: $u(V_{3t}) = u(V_{1t}) = 0.002\ 044\ \text{mL}$ 。合成标准不确定度为: $u(V_{\text{容}3}) = \sqrt{u(V_{\text{容}3,V})^2 + u(V_{3t})^2} = \sqrt{0.008\ 167^2 + 0.002\ 044^2} = 0.008\ 419\ \text{mL}$,相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(V_{\text{容}3}) = \frac{u(V_{\text{容}3})}{10} = \frac{0.008\ 419}{10} = 0.000\ 841\ 9$ 。因此,标准中间溶液稀释成标准使用液引入的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(V_2) = \sqrt{u_{\text{rel}}(V_{\text{吸}2})^2 + u_{\text{rel}}(V_{\text{容}3})^2} = \sqrt{0.004\ 529^2 + 0.000\ 841\ 9^2} = 0.004\ 607$ 。

(6) 标准系列溶液配制引入的不确定度:

① 移液器移液引入的不确定度:检定合格的移液器在其各检定点的容量允差可从 JJG 646—2006《移液器检定规程》中获知。取均匀分布, $k = \sqrt{3}$,移液器移取不同移液体积所引入的相对不确定度见表 2。则移液器引入的合成不确定度为: $u_{\text{rel}}(V_{\text{器}}) = \sqrt{0.046\ 19^2 + 0.017\ 32^2 + 0.011\ 55^2 + 0.008\ 661^2 + 0.005\ 774^2} = 0.051\ 72$ 。

表 2 移液器引入的不确定度

Table 2 The uncertainty of locomotive pipette

标准系列溶液/ (ng · mL ⁻¹)	标准体积/ μL	移液器 规格/μL	容量允 差/%	u_{rel} ($V_{\text{器}i}$)
1	10	100	±8.0	0.046 190
5	50	100	±3.0	0.017 320
10	100	100	±2.0	0.011 550
20	200	200	±1.5	0.008 661
50	500	1 000	±1.0	0.005 774

② 容量瓶引入的不确定度:由 JJG 196—2006《常用玻璃量器检定规程》可知,A 级 2 mL 容量瓶最大容量允差为 $\pm 0.015\ \text{mL}$,按照三角分布计算, $k = \sqrt{6}$,则 $u(V_{\text{容}4}) = \frac{0.015}{\sqrt{6}} = 0.006\ 125\ \text{mL}$, $u_{\text{rel}}(V_{\text{容}4}) = \frac{u(V_{\text{容}4})}{2} = \frac{0.006\ 125}{2} = 0.003\ 063$ 。因此,标准系列溶液配制引入的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(V_3) = \sqrt{u_{\text{rel}}(V_{\text{器}})^2 + 5u_{\text{rel}}(V_{\text{容}4})^2} = \sqrt{0.051\ 72^2 + 5 \times 0.003\ 063^2} = 0.052\ 17$ 。

(6) 标准溶液配制和稀释引入的合成不确定度为:

$$u_{rel}(f_{c标}) = \sqrt{u_{rel}(p)^2 + u_{rel}(m_{标})^2 + u_{rel}(V_{容1})^2 + u_{rel}(V_1)^2 + u_{rel}(V_2)^2 + u_{rel}(V_3)^2}$$
$$= \sqrt{0.011\ 55^2 + 0.003\ 24^2 + 0.000\ 410\ 4^2 + 0.004\ 547^2 + 0.004\ 607^2 + 0.052\ 17^2} = 0.053\ 92。$$

2.2.2 标准曲线拟合引入的不确定度 取标准系列溶液 5 355.3c+284.9(A 为峰面积,c 为浓度,ng/mL),相关系数为 0.999 7,测定结果见表 3。
峰面积为纵坐标,获得标准工作曲线的回归方程为:A= 根据式(2)~(4)计算最小二乘法拟合曲线引入的标

表 3 五氯酚标准溶液测定结果

Table 3 Result of determination for pentachlorophenol calibration solution

$c_i/(ng \cdot mL^{-1})$	峰面积 A_j	c_j	ac_i+b	$[A_j-(ac_i+b)]^2$	$(c_j-\bar{c})^2$
1	5 654	0.934	5 640	196	264.6
5	26 094	4.779	27 061	9 35 089	154.3
10	54 885	10.195	53 838	1 096 209	49.1
20	104 647	19.557	107 391	7 529 536	5.6
50	270 535	50.765	268 050	6 175 225	1 126.6

准不确定度与相对不确定度。

$$u(\text{curve}) = \frac{S(A)}{a} \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{N} + \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{\sum_{i=1}^N (c_j - \bar{c})^2}}, \tag{2}$$

$$S(A) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N [A_j - (ac_i + b)]^2}{N - 2}}, \tag{3}$$

$$u_{rel}(\text{curve}) = \frac{u(\text{curve})}{c_0}, \tag{4}$$

式中:

$u(\text{curve})$ ——标准曲线拟合引入的标准不确定度, ng/mL;

$u_{rel}(\text{curve})$ ——标准曲线拟合引入的相对不确定度;

$S(A)$ ——残差的标准差;

P ——测定样品溶液的次数,日常检测中每个样品做 2 个平行即 $P=2$;

N ——获得标准曲线的标准溶液的测定次数, $N=5$;

α ——标准曲线的斜率, $\alpha=5\ 355.3$;

b ——标准曲线的截距, $b=284.9$;

c_0 ——由标准曲线拟合得到的样品溶液中五氯酚残留量的浓度, $c_0=14.4\ \text{ng/mL}$;

$\bar{c}$ ——获得标准曲线的标准溶液浓度的平均值, $\bar{c}=17.2\ \text{ng/mL}$;

c_i ——第 i 个标准溶液的配制浓度, ng/mL;

c_j ——第 j 个由标准曲线拟合的标准溶液浓度, ng/mL;

A_j ——标准溶液的峰面积。

将 α, b, c_i, A_j, N 值代入式(3),得 $S(A)=2\ 290.287\ 8$;将 $S(A)$ 代入式(2),得 $u(\text{curve})=0.359\ 1$,则标准曲线拟合引入的相对不确定度 $\mu_{rel}(\text{curve})=0.024\ 94$ 。

2.2.3 称量样品引入的不确定度 样品称量与标准品使

用同一天平,称样量为 2 g。样品称量应重复计量两次,一次是空盘,另一次为空盘加样品,则样品称量引入的标准不确定度 $u(m_{样})=u(m_{标})=0.040\ 83\ \text{mg}$,相对标准不确定度为: $u_{rel}(m_{样}) = \frac{u(m_{样})}{2\ 000} = \frac{0.040\ 83}{2\ 000} = 2.04 \times 10^{-5}$ 。

2.2.4 测量重复性引入的不确定度 取同一阳性样品从取样开始重复测量 6 次,测量结果分别为 14,14,14,15,12,13 $\mu\text{g/kg}$,平均值为 14 $\mu\text{g/kg}$ 。单次测量结果的标准

偏差为: $S_c = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}} = 1.095\ 4\ \mu\text{g/kg}$ 。因

为在实际检测中五氯酚含量的报告由两次平行试验结果得到,则测量重复性引入的标准不确定度为: $u(f_{rep}) = \frac{S_c}{\sqrt{m}} = 0.774\ 7(m=2)$, 相对标准不确定度:

$$u_{rel}(f_{rep}) = \frac{u(f_{rep})}{\bar{X}} = \frac{0.774\ 7}{14} = 0.055\ 34。$$

2.2.5 样品最后定容体积引入的不确定度 由 JJG 10—2005《专用玻璃量器检定规程》可知,15 mL 具刻度试管的容量允差为 $\pm 0.2\ \text{mL}$,取均匀分布,则样品定容引入的标准不确定度为: $u(V_{样}) = \frac{0.2}{\sqrt{3}} = 0.115\ 5\ \text{mL}$,相对不

确定度为: $u_{rel}(V_{样}) = \frac{u(V_{样})}{2} = \frac{0.115\ 5}{2} = 0.057\ 75。$

2.2.6 加标回收引入的不确定度 标准添加试验在空白猪肝样品中进行,添加量为 14 $\mu\text{g/kg}$ 。回收率(R)分别为 91.2%, 89.7%, 90.6%, 91.4%, 88.2%, 90.5%, $\bar{R}$ 为 90.3%; $S(R)=0.011\ 76$; $u(R)=0.004\ 800$; $u_{rel}(R)=0.005\ 317$ 。其中 $u(R) = \frac{S(R)}{\sqrt{6}}$, $u_{rel}(R) = \frac{u(R)}{\bar{R}}$ 。

用 t 值检验来判断回收率与 1.0 的差异是否显

著。根据研究中加标回收的平行次数($n=6$),当显著水平取 $\alpha=0.05$,查表得 $t_{\alpha}(0.05,5)=2.571$ 。试验中 $t=\frac{1-\bar{R}}{u(R)}=20.20>t_{\alpha}(0.05,5)$,故需考虑平均回收率引入

$$u_{\text{rel}}=\sqrt{u_{\text{rel}}(f_{\text{c标}})^2+u_{\text{rel}}(\text{curve})^2+u_{\text{rel}}(m_{\text{样}})^2+u_{\text{rel}}(f_{\text{rep}})^2+u_{\text{rel}}(V_{\text{样}})^2+u_{\text{rel}}(R)^2}$$
$$=\sqrt{0.053\ 92^2+0.024\ 94^2+(2.04\times 10^{-5})^2+0.055\ 34^2+0.057\ 75^2+0.005\ 317^2}=0.099\ 78。$$

当五氯酚含量为 $14\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 时,合成不确定度为: $u=u_{\text{rel}}\times c=0.099\ 78\times 14=1.4\ \mu\text{g}/\text{kg}$,选择 95%置信概率,包含因子取 $k=2$,则扩展不确定度为: $U(c_{\text{样}})=u\times k=3\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。猪肝中五氯酚残留量的测量不确定度表示为: $X=(14\pm 3)\ \mu\text{g}/\text{kg}$, $k=2$ 。

的不确定度。

2.3 合成不确定度与扩展不确定度

将各不确定度分量进行合成得:

2.4 主要不确定度分量的相对贡献

根据 CNAS—GL006:2019 规定的方法计算各不确定度分量的相对贡献,结果如表 4 所示。从表 4 可知,样品最后定容体积、样品测量重复性、标准溶液的配制与稀释引入的不确定度分量对合成不确定度的影响最大。

表 4 各不确定度分量的相对贡献

Table 4 The relative contribution of uncertainty components

符号	分量名称	值	标准不确定度 $u(x_i)$	分量的相对贡献/%
$f_{\text{c标}}$	校准标准溶液影响因子	1	0.053 92	28.08
c	标准工作曲线拟合	14.4 ng/mL	0.359 10	6.01
m	样品称量	2.00 g	0.040 83	3.87
f_{rep}	样品测量重复性	1	0.055 34	29.58
V	样品最后定容体积	2 mL	0.115 50	32.21
R	加标回收	90.3%	0.004 800	0.27

3 结论

研究对采用 UPLC-MS/MS 法测定猪肝中五氯酚残留量的检测结果进行了不确定度评定。结果显示,样品最后定容体积、样品重复性测量及标准溶液的配制与稀释等人员操作环节引入的不确定度最大,此部分不确定度的相对贡献之和约为 90%,为检测结果不确定度的主要来源;标准工作曲线拟合和样品称量等环节引入不确定度分量的相对贡献约为 10%;加标回收引入的不确定度的相对贡献最小,仅为 0.27%。因此,在检测过程中,样品制备要均匀、建议选用纯度更高的标准品、减少标准溶液的稀释步骤、定期校准仪器,减少测定结果的不确定度,以提高测定结果的准确性。

参考文献

[1] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for pentachlorophenol (update): Report of department of health and human services[R]. US. Atlanta: DHHS, 2001: 152-163.

[2] 张民, 顾宇飞, 顾颖, 等. 低浓度五氯酚对鲫鱼血液细胞毒性的体外研究[J]. 环境化学, 2005, 24(3): 302-306.

[3] ZHENG Wei-wei, YU Huan, WANG Xia, et al. Systematic review of pentachlorophenol occurrence in the environment and in humans in China: Not a negligible health risk due to the re-emergence of schistosomiasis[J]. Environment Inter-

national, 2012, 42: 105-116.

[4] HEACOCK H, HERTZMAN C, DEMERS P A, et al. Childhood cancer in the offspring of male sawmill workers occupationally exposed to chlorophenolate fungicides[J]. Environmental Health Perspectives, 2000, 108(6): 499-503.

[5] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业部公告第 193 号[S/OL]. (2011-04-22)[2019-04-10]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/201104/t20110422_1976324.htm.

[6] 国家卫生和计划生育委员会. GB 23200.92—2016 动物源性食品中五氯酚残留量的测定液相色谱—质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-7.

[7] 许永, 李超, 杨乾彬, 等. 连续流动法测定烟草中总糖、还原糖、氯、钾含量的不确定度评定[J]. 食品与机械, 2017, 33(12): 61-64.

[8] 陆美斌, 王步军. 分光光度法测定食品中二氧化钛的不确定度评定[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 206-209.

[9] 中国实验室国家认可委员会. 实验室认可与管理基础知识[M]. 北京: 中国计量出版社, 2003: 64-74.

[10] 国家质量监督检验检疫总局. JJF 1135—2005 化学分析测量不确定度评定[S]. 北京: 中国计量出版社, 2005: 1-12.

[11] 国家质量监督检验检疫总局. JJF 1059.1—2012 测量不确定度评定与表示[S]. 北京: 中国质检出版社, 2012: 1-53.

[12] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS—GL006:2019 化学分析中不确定度的评估指南[S]. 北京: 中国质检出版社, 2019: 1-138.

[13] 国家质量监督检验检疫总局. JJG 196—2006 常用玻璃量器检定规程[S]. 北京: 中国计量出版社, 2006: 8.