

DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2021.07.011

# 液相色谱—质谱/质谱法测定猪肉中 4 种磺胺类药物残留量的不确定度评定

## Uncertainty evaluation for the determination of 4 kinds of Sulfonamides residues in pork by LC-MS/MS

闫顺华 王亚丽 夏依拉·艾尼

YAN Shun-hua WANG Ya-li XIA-YI-LA · Ai-ni

(新疆维吾尔自治区药品检验研究院, 新疆 乌鲁木齐 830054)

(Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute for Drug Control, Urumqi, Xinjiang 830054, China)

**摘要:**目的:对采用液相色谱—质谱/质谱法测定猪肉中磺胺间甲氧嘧啶、磺胺二甲氧嘧啶、磺胺甲噁唑和磺胺二甲嘧啶残留量的不确定度进行评定。方法:分析猪肉中磺胺类药物残留量测定过程中的各种影响因素,包括称量、标准溶液的配制、样品提取净化、仪器测量、回收率等进行分析评定。结果:该方法测定磺胺间甲氧嘧啶、磺胺二甲氧嘧啶、磺胺甲噁唑和磺胺二甲嘧啶残留量的扩展不确定度分别为 9.4, 18.1, 12.0, 15.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。结论:试验的不确定度主要由测量重复性、标准溶液的配制和标准曲线拟合引入。

**关键词:**液相色谱—质谱/质谱;猪肉;磺胺类药物;不确定度

**Abstract: Objective:** The uncertainty in determination of sulfamonomethoxine (SMM), sulfadimethoxine (SDM), sulfamethoxazole (SMZ) and sulfamethazine (SM<sub>2</sub>) in pork was evaluated by using LC-MS/MS technique. **Methods:** The uncertainty caused by various factors in the whole process of determination was analyzed, including weighing, solution preparation, sample extraction and purification, apparatus measure, recovery, etc. **Results:** The expand uncertainties for SMM, SDM, SMZ and SM<sub>2</sub> were 9.4, 18.1, 12.0 and 15.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectively. **Conclusion:** The results showed that the main sources of uncertainty arose from the measurement repeatability, standard solution and curve fitting.

**Keywords:** LC-MS/MS; pork; sulfonamides; uncertainty

磺胺类药物廉价且高效,主要用于生猪的疾病防治,甚至作为饲料添加剂用来促生长或增产<sup>[1-2]</sup>,但过量使用会在猪肉中残留。研究显示,磺胺类药物代谢时间长且有蓄积,长期摄入含有此类药物的食品,会引起过敏反应以及引发泌尿系统、肝脏损伤<sup>[3]</sup>;一些磺胺类药物还会影响造血功能,从而引发癌症<sup>[4]</sup>。

测量不确定度是“根据所用到的信息,表征赋予被测量值分散性的非负参数”<sup>[5]</sup>,是评价实验室检测结果质量优劣或可信程度的定量指标<sup>[6]</sup>。目前,关于畜禽肉类中磺胺类药物残留量检测方法的研究较多,但与实际应用相结合,全面地考虑、分析测定猪肉中多种磺胺类药物过程的不确定度影响因素的报道较少。试验拟采用乙腈—水( $V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=100:3$ )溶液涡旋振荡提取,经乙腈饱和正己烷萃取,旋转蒸发、氮吹浓缩前处理后,应用液相色谱—质谱/质谱法技术对猪肉中的磺胺间甲氧嘧啶、磺胺二甲氧嘧啶、磺胺甲噁唑和磺胺二甲嘧啶的残留量进行测定,并依据 CNAS-GL006《化学分析不确定度的评估指南》和 JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》,分析试验过程中可能引入的各不确定度分量,对猪肉中 4 种磺胺类药物的检测结果进行不确定度评估,旨在为猪肉品质评价提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

磺胺间甲氧嘧啶(SMM)标准物质(批号 00817,纯度 98.5%)、磺胺二甲氧嘧啶(SDM)标准物质(批号 81124,纯度 97.5%)、磺胺甲噁唑(SMZ)标准物质(批号 01118,纯度 99.0%)、磺胺二甲嘧啶(SM<sub>2</sub>)标准物质(批号 100411,纯度 99.5%);德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司;乙腈:色谱纯,德国 Merck 公司;

**基金项目:**新疆维吾尔自治区食品药品监督管理局科研项目(编号:20170001(科))

**作者简介:**闫顺华(1972—),女,新疆维吾尔自治区药品检验研究院高级工程师,硕士。E-mail:1050889015@qq.com

**收稿日期:**2021-01-21

正己烷、正丙醇:优级纯,国药集团化学试剂有限公司;  
猪肉样品:国家认监委提供的能力验证样品。

1.1.2 仪器与设备

液相色谱—质谱联用仪:API4000 型,美国 AB 公司;  
分析天平:AE240 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

分析天平:MS205DU 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

旋转蒸发器:R-300 型,瑞士步琦有限公司;

氮吹仪:Eva50a 型,北京普利泰科仪器有限公司;

移液器:20~5 000  $\mu\text{L}$ ,北京 Eppendorf 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 标准溶液的配制

(1) 混合标准储备液:分别精密称取 SMM、SDM、SMZ 和  $\text{SM}_2$  标准物质 0.010 34, 0.010 58, 0.010 12, 0.011 81 g 置于同一个 10 mL 容量瓶中,用乙腈溶解并定容,得到质量浓度(用纯度折算后)分别为 1 018, 1 032, 1 002, 1 175  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 SMM、SDM、SMZ 和  $\text{SM}_2$  的混合标准储备液。

(2) 混合标准中间液:用 1.0 mL 单标线吸量管移取混合标准储备液至 100 mL 容量瓶中,用乙腈定容,得到混合标准中间液。

(3) 混合标准工作液 1:用 1.0 mL 单标线吸量管吸取混合标准中间液至 10 mL 容量瓶中,用乙腈—水 ( $V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=1:1$ ) 定容,得到混合标准工作液 1。

(4) 混合标准工作溶液系列:用单标线吸量管和微量移液器分别移取 5 000, 1 000, 500, 100, 50, 20  $\mu\text{L}$  混合标准工作液 1 至 6 个 10 mL 容量瓶中,用乙腈—水 ( $V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=1:1$ ) 定容,得到 SMM、SDM、SMZ、 $\text{SM}_2$  的 6 种混合标准工作溶液系列。

1.2.2 样品处理 称取猪肉样品 2 g,加入 6 g  $\text{C}_{18}$  填料,研磨均匀后装入 50 mL 离心管中,加入 25 mL 乙腈—水 ( $V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=100:3$ ) 溶液,旋涡振荡 1 min,微波辐照 30 s, 3 000 r/min 离心 5 min,将乙腈层移入 1 000 mL 棕色分液漏斗中,用 25 mL 乙腈饱和正己烷溶液萃取;将底层的乙腈萃取液移入 150 mL 棕色鸡心瓶中,加入 10 mL 正丙醇,45  $^{\circ}\text{C}$  水浴减压蒸发、氮吹至近干;加入 1 mL 乙腈—水 ( $V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=1:1$ ) 溶液复溶,正己烷脱脂,过膜,待测。

1.2.3 加标样品制备 称取猪肉空白样品(阴性样品) 6 份(每份 2.0 g),加入 6 g  $\text{C}_{18}$  填料,研磨均匀后,分别装入 50 mL 离心管中,加入混合标准中间液 20  $\mu\text{L}$ ,其余步骤同 1.2.2 样品前处理。

1.2.4 仪器设备条件

(1) 液相色谱条件: $\text{C}_{18}$  色谱柱 Shimadzu shim-pack XRt5-ODS (3.0 mm  $\times$  75 cm, 5  $\mu\text{m}$ );柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ,流速

0.2 mL/min,进样量 10  $\mu\text{L}$ ;流动相为乙腈(A)—0.1% 甲酸水溶液(B),梯度洗脱。

(2) 质谱条件:电离模式  $\text{ESI}^+$ ;扫描方式 MRM;气帘气(CUR)0.103 MPa;雾化气(GS1)0.413 MPa;干燥气(GS2)0.413 MPa;离子喷雾电压 5 500 V;离子化温度 550  $^{\circ}\text{C}$ ;锥孔电压(DP)50 V。

1.3 测量数学模型

$$X = \frac{C \times V}{m} \times \frac{1\ 000}{1\ 000}, \tag{1}$$

式中:

X——样品中各磺胺类药物残留量,  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;

C——被测组分溶液的质量浓度,  $\text{ng}/\text{mL}$ ;

V——样品溶液定容体积, mL;

m——被测组分的称样量, g;

1 000——换算系数。

2 试验过程中不确定度来源分析

根据试验步骤和测量数学模型,液相色谱—质谱/质谱法测定猪肉中 4 种磺胺类药物残留量的不确定度来源如图 1 所示<sup>[7-8]</sup>。

3 不确定度的评定

3.1 样品测定引入的不确定度

3.1.1 称量样品引入的不确定度  $u_r(W_{\text{样}})$  称量样品使用天平的最大允差为 0.000 5 g,按均匀分布估算,  $k=\sqrt{3}$ 。实际称量样品质量的平均值  $\bar{W}_{\text{样}}=2.088 8 \text{ g}$ ,则

$$u(W_{\text{样}}) = \frac{0.000\ 5\ \text{g}}{\sqrt{3}} = 0.000\ 289\ \text{g},$$

$$u_r(W_{\text{样}}) = \frac{u(W_{\text{样}})}{\bar{W}_{\text{样}}} = \frac{0.000\ 289\ \text{g}}{2.088\ 8\ \text{g}} = 0.000\ 138.$$

3.1.2 待测样品溶液定容引入的不确定度  $u_r(V_{\text{样}})$  样品定容用的是 1 mL 移液器,移液器引入的不确定度主要由容量允差、温度波动和测量重复性引入。根据 JJG 646—2006《移液器检定规程》,移取 1 mL 溶液时,移液器容量允差为  $\pm 0.010 \text{ mL}$ ,测量重复性为 0.5%,按均匀分

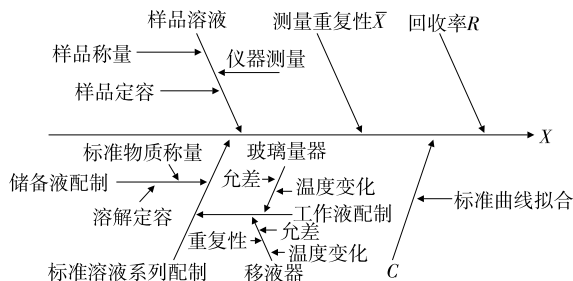


图 1 液相色谱—质谱/质谱法测定猪肉中 4 种磺胺类药物残留量的不确定度来源

Figure 1 Uncertainty sources for determination of 4 Sulphonamides residues in pork by LC-MS/MS

布估算,则

$$u_{\text{允差}}(V_{\text{样}}) = \frac{0.010 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 0.00577 \text{ mL},$$

$$u_{\text{重复}}(V_{\text{样}}) = \frac{1 \text{ mL} \times 0.5\%}{\sqrt{3}} = 0.00289 \text{ mL}.$$

移取样品溶液时实验室温度为 24 °C,移液器校准时温度为 20 °C,乙腈的体积膨胀系数为  $1.37 \times 10^{-3} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ ,则产生体积变化的半宽为  $1 \text{ mL} \times 1.37 \times 10^{-3} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1} \times 4 \text{ } ^\circ\text{C} = 0.00548 \text{ mL}$ ,假设体积变化为均匀分布,则

$$u_{\text{温差}}(V_{\text{样}}) = \frac{0.00548 \text{ mL}}{\sqrt{3}} = 0.00316 \text{ mL},$$

$$u(V_{\text{样}}) = \sqrt{u_{\text{允差}}^2(V_{\text{样}}) + u_{\text{重复}}^2(V_{\text{样}}) + u_{\text{温差}}^2(V_{\text{样}})} = \sqrt{0.00577^2 + 0.00289^2 + 0.00316^2} = 0.00718 \text{ mL},$$

$$u_r(V_{\text{样}}) = \frac{u(V_{\text{样}})}{1 \text{ mL}} = 0.00718.$$

3.1.3 液质联用仪引入的不确定度  $u_r(E_{\text{液质}})$  液质联用仪的测量重复性为 0.9%,按均匀分布估算,则该仪器测量引入的不确定度为:

$$u_r(E_{\text{液质}}) = \frac{0.9\%}{\sqrt{3}} = 0.00519.$$

3.1.4 测量重复性引入的不确定度  $u_r(\bar{X})$  平行制备 10 份样品溶液进行测定,测量数据及计算结果见表 1。

则样品重复测量引入的不确定度为:

$$u_r(\bar{X}_{\text{SMM}}) = \frac{u(\bar{X}_{\text{SMM}})}{\bar{X}_{\text{SMM}}} = \frac{S(\bar{X}_{\text{SMM}})}{\sqrt{10} \times \bar{X}_{\text{SMM}}} =$$

$$\frac{4.49 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg}}{\sqrt{10} \times 84.20 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg}} = 0.0169,$$

$$u_r(\bar{X}_{\text{SDM}}) = \frac{u(\bar{X}_{\text{SDM}})}{\bar{X}_{\text{SDM}}} = \frac{S(\bar{X}_{\text{SDM}})}{\sqrt{10} \times \bar{X}_{\text{SDM}}} =$$

$$\frac{5.78 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg}}{\sqrt{10} \times 175.04 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg}} = 0.0104,$$

$$u_r(\bar{X}_{\text{SMZ}}) = \frac{u(\bar{X}_{\text{SMZ}})}{\bar{X}_{\text{SMZ}}} = \frac{S(\bar{X}_{\text{SMZ}})}{\sqrt{10} \times \bar{X}_{\text{SMZ}}} =$$

$$\frac{4.67 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg}}{\sqrt{10} \times 101.51 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg}} = 0.0145,$$

$$u_r(\bar{X}_{\text{SM}_2}) = \frac{u(\bar{X}_{\text{SM}_2})}{\bar{X}_{\text{SM}_2}} = \frac{S(\bar{X}_{\text{SM}_2})}{\sqrt{10} \times \bar{X}_{\text{SM}_2}} =$$

$$\frac{5.49 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg}}{\sqrt{10} \times 136.54 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg}} = 0.0127.$$

3.1.5 方法回收率引入的不确定度  $u_r(R)$  对加标样品进行测定,按式(2)<sup>[9]</sup>、式(3)<sup>[10]</sup>计算回收率引入的不确定度。

$$u(R) = \frac{S(R)}{\sqrt{6}}, \tag{2}$$

$$u_r(R) = \frac{u(R)}{\bar{R}}, \tag{3}$$

式中:

$\bar{R}$ ——平均回收率,%;

$S(R)$ ——标准偏差。

根据  $t$  检验,按式(4)计算  $t$  值,判断测量结果的偏差是否显著<sup>[11]</sup>。

$$t = \frac{|\bar{R} - 100\%|}{u(R)}. \tag{4}$$

计算结果见表 2。

当置信度为 95%, $n-1=5$ ,查  $t$  值临界值分布表可得: $t(0.05, 5)=2.571$ ,与表 2 中 4 种磺胺类药物的  $t$  值相比较可知,需要将回收率代入式(1)修正样品的测定结果。

表 1 样品测定结果

Table 1 Results for determination of samples

序号	称样量/g	SMM		SDM		SMZ		SM <sub>2</sub>	
		质量浓度/ (ng · mL <sup>-1</sup> )	含量/ (μg · kg <sup>-1</sup> )	质量浓度/ (ng · mL <sup>-1</sup> )	含量/ (μg · kg <sup>-1</sup> )	质量浓度/ (ng · mL <sup>-1</sup> )	含量/ (μg · kg <sup>-1</sup> )	质量浓度/ (ng · mL <sup>-1</sup> )	含量/ (μg · kg <sup>-1</sup> )
1	2.079 4	181.78	87.42	373.88	179.80	205.89	99.01	289.22	139.09
2	2.098 3	164.26	78.28	364.07	173.51	217.90	103.85	276.30	131.68
3	2.012 1	174.25	86.60	365.39	181.60	192.75	95.80	261.64	130.03
4	2.087 1	167.11	80.07	371.51	178.00	213.37	102.23	297.16	142.38
5	2.032 3	169.36	83.33	370.89	182.50	215.95	106.26	291.03	143.20
6	2.034 4	161.22	79.25	336.52	165.41	191.61	94.19	277.94	136.62
7	2.013 9	182.63	90.68	353.05	175.31	217.24	107.87	290.05	144.02
8	2.066 8	177.30	85.78	351.17	169.91	212.96	103.04	280.66	135.79
9	2.054 7	166.19	80.88	362.05	176.21	200.14	97.41	273.94	133.32
10	2.093 2	188.12	89.87	351.89	168.11	220.74	105.46	270.46	129.21
平均值	2.057 2	173.22	84.20	360.04	175.04	208.86	101.51	280.84	136.54
标准偏差	0.032 5	8.99	4.49	11.72	5.78	10.66	4.67	10.95	5.49

表 2 回收率测定结果  
Table 2 Results of recovery

组分	$\bar{R}/\%$	$S(R)/\%$	$u(R)/\%$	$u_r(R)$	$t$	$P$
SMM	81.7	1.103	0.450	0.00551	40.67	显著
SDM	89.9	1.214	0.496	0.005 52	20.36	显著
SMZ	80.5	0.962	0.393	0.004 88	49.62	显著
SM <sub>2</sub>	82.3	1.023	0.418	0.005 08	42.34	显著

3.2 标准物质引入的不确定度

3.2.1 标准物质纯度引入的不确定度  $u_r(P_{对})$  SMM、SDM、SMZ 和 SM<sub>2</sub> 4 种标准物质的纯度分别为 98.5%、97.5%、99.0%、99.5%，其质量分数的标准偏差分别为 1.5%、2.5%、1.0%、0.5%，按均匀分布计算，不确定度为

$$u_r(P_{SMM对}) = \frac{u(P_{SMM对})}{98.5\%} = \frac{1.5\%}{\sqrt{3} \times 98.5\%} = 0.008 79,$$

$$u_r(P_{SDM对}) = \frac{u(P_{SDM对})}{97.5\%} = \frac{2.5\%}{\sqrt{3} \times 97.5\%} = 0.014 8,$$

$$u_r(P_{SMZ对}) = \frac{u(P_{SMZ对})}{99.0\%} = \frac{1.0\%}{\sqrt{3} \times 99.0\%} = 0.005 83,$$

$$u_r(P_{SM2对}) = \frac{u(P_{SM2对})}{99.5\%} = \frac{0.5\%}{\sqrt{3} \times 99.5\%} = 0.002 90.$$

3.2.2 称量标准物质引入的不确定度  $u_r(W_{对})$  称量标准物质所使用天平的最大允差为 0.000 05 g。实际称量 SMM、SDM、SMZ 和 SM<sub>2</sub> 标准物质的质量分别为 0.010 34、0.010 58、0.010 12、0.011 81 g。按均匀分布计算，标准物质称量引入的不确定度为：

$$u_r(W_{SMM对}) = \frac{u(W_{SMM对})}{0.010 34 \text{ g}} = \frac{0.000 05 \text{ g}}{\sqrt{3} \times 0.010 34 \text{ g}} =$$

0.002 79,

$$u_r(W_{SDM对}) = \frac{u(W_{SDM对})}{0.010 58 \text{ g}} = \frac{0.000 05 \text{ g}}{\sqrt{3} \times 0.010 58 \text{ g}} =$$

0.002 73,

$$u_r(W_{SMZ对}) = \frac{u(W_{SMZ对})}{0.010 12 \text{ g}} = \frac{0.000 05 \text{ g}}{\sqrt{3} \times 0.010 12 \text{ g}} =$$

0.002 85,

$$u_r(W_{SM2对}) = \frac{u(W_{SM2对})}{0.011 81 \text{ g}} = \frac{0.000 05 \text{ g}}{\sqrt{3} \times 0.011 81 \text{ g}} =$$

0.002 44。

3.2.3 混合标准工作液系列配制过程引入的不确定度  $u_r(V_{对})$  根据 1.2.1 可知，标准溶液系列配制过程中使用了单标线吸量管(3 次 1 mL、1 次 5 mL)、容量瓶(8 次 10 mL、1 次 100 mL)和微量移液器(分别量取 20, 50, 100, 500  $\mu\text{L}$  标准中间液各 1 次)，按照 JJG 196—2006《常用玻璃量器检定规程》和 JJG 646—2006《移液器检定规程》，假设为均匀分布，则各类玻璃器具引入的不确定度计算数据如表 3 所示，移液器引入的不确定度计算数据如表 4 所示。

标准溶液系列配制过程中玻璃器具引入的不确定度为：

$$u_r(V_{对1}) = \sqrt{u_r^2(V_{1 \text{ mL}}) \times 3 + u_r^2(V_{5 \text{ mL}}) + u_r^2(V_{100 \text{ mL}}) + u_r^2(V_{10 \text{ mL}}) \times 8} = 0.013 8.$$

标准溶液系列配制过程中移液器引入的不确定度为：

$$u_r(V_{对2}) = \sqrt{u_r^2(V_{20 \mu\text{L}}) + u_r^2(V_{50 \mu\text{L}}) + u_r^2(V_{100 \mu\text{L}}) + u_r^2(V_{500 \mu\text{L}})} = \sqrt{0.026 0^2 + 0.019 6^2 + 0.013 2^2 + 0.008 05^2} = 0.036 0.$$

标准溶液系列配制引入的不确定度为：

$$u_r(V_{对}) = \sqrt{u_r^2(V_{对1}) + u_r^2(V_{对2})} = \sqrt{0.013 8^2 + 0.036 0^2} = 0.038 6.$$

3.2.4 标准曲线拟合引入的不确定度  $u_r(C)$  对标准工作液系列进行测定(每个浓度点平行测 2 次)，对所得数据进行拟合。各成分标准曲线的测量数据如表 5 所示。

根据标准工作液系列的稀释浓度，利用线性回归方程，可计算得到峰面积的理论值  $A_i$ ，然后计算出峰面积  $A_{实i}$  的残差  $A_{实i} - A_i = A_{实i} - (aC_i + b)$ 。由式(5)计算得到标准溶液峰面积残差的标准差<sup>[11]</sup>。

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_{实i} - (aC_i + b)]^2}{n - 2}}, \tag{5}$$

表 3 标准溶液配制过程中玻璃器具引入的不确定度

Table 3 Relative standard uncertainty from working glass container in standard solution preparation

影响因素	刻度误差		温度波动				相对标准不确定度 $u_r(V)$	
	容量允差/mL	计算公式	不确定度 $u(V_{vg})/\text{mL}$	温度误差/℃	乙腈体积膨胀系数 $\beta_{乙腈}/\text{℃}^{-1}$	计算公式		不确定度 $u(V_{vh})/\text{mL}$
1 mL 单标线吸量管	$\pm 0.007$	$0.007/\sqrt{3}$	0.004 04	$\pm 4$	0.001 37	$\beta_{乙腈} \times 4 \times 1/\sqrt{3}$	0.003 16	0.005 10
5 mL 单标线吸量管	$\pm 0.015$	$0.015/\sqrt{3}$	0.008 66	$\pm 4$	0.001 37	$\beta_{乙腈} \times 4 \times 5/\sqrt{3}$	0.015 8	0.003 60
100 mL 容量瓶	$\pm 0.100$	$0.10/\sqrt{3}$	0.057 70	$\pm 4$	0.001 37	$\beta_{乙腈} \times 4 \times 100/\sqrt{3}$	0.316	0.003 21
10 mL 容量瓶	$\pm 0.020$	$0.020/\sqrt{3}$	0.011 50	$\pm 4$	0.001 37	$\beta_{乙腈} \times 4 \times 10/\sqrt{3}$	0.031 6	0.003 36

式中:

$n$ ——标准工作液系列测定的次数( $n=2\times 7=14$ )。

则标准曲线拟合产生的标准不确定度可按式(6)

计算<sup>[12]</sup>。

$$u(C) = \frac{S_R}{a} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{C}_{\text{样}} - \bar{C})^2}{\sum_{i=1}^n (C_{\text{实}i} - \bar{C})^2}}, \quad (6)$$

式中:

$P$ ——待测溶液的平行测量次数,  $P=10$ ;

$$u_r(X) = \sqrt{u_r^2(W_{\text{样}}) + u_r^2(V_{\text{样}}) + u_r^2(E_{\text{液质}}) + u_r^2(\bar{X}) + u_r^2(R) + u_r^2(P_{\text{对}}) + u_r^2(W_{\text{对}}) + u_r^2(V_{\text{对}}) + u_r^2(C)}. \quad (7)$$

$C_{\text{实}i}$ ——标准溶液系列的实测质量浓度, mg/L;

$\bar{C}$ ——标准溶液系列配制质量浓度的平均值, mg/L;

$\bar{C}_{\text{样}}$ ——待测溶液测定质量浓度的平均值, mg/L。

根据式(5)、式(6),可计算得到标准曲线拟合引入的不确定,其结果如表6所示。

### 3.3 不确定度的合成

3.3.1 相对标准不确定度的合成 按式(7)进行计算,4种磺胺类药物的相对标准不确定度如表7所示。

表4 标准溶液系列配制过程中移液器引入的不确定度

Table 4 Relative standard uncertainty from locomotive pipette in standard solution preparation

移液器/ $\mu\text{L}$	刻度误差				温度波动			
	移取体积/mL	容量允差/%	计算公式	不确定度 $u(V_{\text{vi}})/\text{mL}$	温度差异/ $^{\circ}\text{C}$	乙腈体积膨胀系数 $\beta_{\text{乙腈}}/^{\circ}\text{C}^{-1}$	计算公式	不确定度 $u(V_{\text{vj}})/\text{mL}$
20	0.02	$\pm 4.0$	$0.02 \times 0.04 / \sqrt{3}$	$4.62 \times 10^{-4}$	$\pm 4$	0.001 37	$\beta_{\text{乙腈}} \times 4 \times 0.02 / \sqrt{3}$	$6.33 \times 10^{-5}$
100	0.05	$\pm 3.0$	$0.05 \times 0.03 / \sqrt{3}$	$8.66 \times 10^{-4}$	$\pm 4$	0.001 37	$\beta_{\text{乙腈}} \times 4 \times 0.05 / \sqrt{3}$	$1.58 \times 10^{-4}$
100	0.1	$\pm 2.0$	$0.1 \times 0.02 / \sqrt{3}$	$1.15 \times 10^{-3}$	$\pm 4$	0.001 37	$\beta_{\text{乙腈}} \times 4 \times 0.1 / \sqrt{3}$	$3.16 \times 10^{-4}$
1 000	0.5	$\pm 1.0$	$0.5 \times 0.01 / \sqrt{3}$	$2.89 \times 10^{-3}$	$\pm 4$	0.001 37	$\beta_{\text{乙腈}} \times 4 \times 0.5 / \sqrt{3}$	$1.58 \times 10^{-3}$

移液器/ $\mu\text{L}$	重复性			相对标准不确定度 $u_r(V)$
	测量重复性/%	计算公式	不确定度 $u(V_{\text{vk}})/\text{mL}$	
20	2.0	$0.02 \times 0.02 / \sqrt{3}$	$2.31 \times 10^{-4}$	0.026 0
100	1.5	$0.05 \times 0.015 / \sqrt{3}$	$4.33 \times 10^{-4}$	0.019 6
100	1.0	$0.1 \times 0.01 / \sqrt{3}$	$5.77 \times 10^{-4}$	0.013 2
1 000	0.5	$0.5 \times 0.005 / \sqrt{3}$	$2.31 \times 10^{-3}$	0.008 05

表5 标准曲线测量数据

Table 5 Results of standard curves

组分	标准溶液配制质量浓度 $C/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	峰面积	实测质量浓度 $C_i/$ 峰面积理论值		$A_{\text{实}i} - A_i$	线性回归方程	相关系数
		实测值 $A_{\text{实}i}$	( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$A_i = aC_i + b$			
SMM	2.034	2 392	2.224	1 737	655	$A = 3.45e + 003C - 5.28e + 003$	0.997 7
		2 576	2.277		839		
	5.090	12 722	5.218	12 280	442		
		13 082	5.322		802		
	10.180	33 695	11.297	29 841	3 854		
		35 108	11.707		5 267		
	50.900	172 680	51.583	170 325	2 355		
		187 918	55.999		17 593		
	101.800	358 907	105.561	345 930	12 977		
		361 613	106.346		15 683		
	509.000	1 808 486	525.729	1 750 770	57 716		
		1 778 314	516.984		27 544		
1 018.000	3 518 600	1 021.414	3 506 820	11 780			
	3 494 280	1 014.365		-12 540			

续表 5

组分	标准溶液配制质量浓度 $C/(ng \cdot mL^{-1})$	峰面积 实测值 $A_{实i}$	实测质量浓度 $C_i/$ ( $ng \cdot mL^{-1}$ )	峰面积理论值 $A_i = aC_i + b$	$A_{实i} - A_i$	线性回归方程	相关系数
SDM	2.064	51 176	2.245	49 346.4	1 829.6	$A = 1.01e + 004C + 2.85e + 004$	0.998 5
		53 233	2.449		3 886.6		
	5.160	82 014	5.298	80 616	1 398		
		76 839	4.786		-3 777		
	10.320	129 879	10.038	132 732	-2 853		
		140 277	11.067		7 545		
	51.600	572 420	53.853	549 660	22 760		
		588 231	55.419		38 571		
	103.200	1 082 009	104.308	1 070 820	11 189		
		1 049 785	101.117		-21 035		
	516.000	5 179 828	510.032	5 211 600	-31 772		
		5 320 033	523.914		108 433		
	1 032.000	10 583 943	1 045.093	10 451 700	132 243		
		10 705 317	1 057.111		253 617		
SMZ	2.004	11 025	2.272	9 512.56	1 512.44	$A = 5.64e + 003C - 1.79e + 003$	0.997 9
		9 883	2.070		370.44		
	5.010	27 880	5.261	26 466.4	1 413.6		
		28 632	5.394		2 165.6		
	10.020	57 863	10.577	54 722.8	3 140.2		
		52 614	9.646		-2 108.8		
	50.100	291 330	51.972	280 774	10 556		
		269 551	48.110		-11 223		
	100.200	590 340	104.988	563 338	27 002		
		614 678	109.303		51 340		
	501.000	2 887 600	512.303	2 823 850	63 750		
		2 801 619	497.058		-22 231		
	1 002.000	5 702 001	1 011.310	5 649 490	52 511		
		5 853 127	1 038.106		203 637		
2.350	18 692	3.024	13 853	4 839			
	16 087	2.661		2 234			
5.875	40 359	6.042	39 162.5	1 196.5			
	39 564	5.931		401.5			
11.750	88 601	12.761	81 345	7 256			
	83 538	12.055		2 193			
58.750	408 510	57.316	418 805	-10 295			
	430 363	60.360		11 558			
117.500	859 560	120.136	840 630	18 930			
	831 239	116.192		-9 391			
587.500	4 330 800	603.596	4 215 230	115 570			
	4 456 956	621.167		241 726			
1 175.000	8 325 100	1 159.905	8 433 480	-108 380			
	8 641 075	1 203.913		207 595			



表6 标准曲线拟合引入的不确定度

Table 6 Relative standard uncertainty from standard curve fitting

组分	$S_R$	$a$	$\bar{C}_{\text{样}} /$ ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$\bar{C} /$ ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$\sum_{i=1}^n (C_{\text{实}i} - \bar{C})^2$	$u(C) /$ ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$u_r(C)$
SMM	20 736.07	3 450	173.222	242.429	1 801 287.874	2.504 7	0.010 3
SDM	90 023.20	10 100	360.042	245.763	1 903 457.003	3.759 0	0.015 3
SMZ	66 086.70	5 640	208.855	238.619	1 808 733.441	4.852 4	0.020 3
SM <sub>2</sub>	103 038.57	7 180	280.000	279.818	2 446 211.807	5.934 4	0.021 2

表7 不确定度评定结果

Table 7 Uncertainty evaluation for the determination of 4 sulfonamides residues

组分	合成相对标准 不确定度 $u_r(X)$	修正后的实测含量 平均值 $\bar{X}' / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	扩展不确定度 $U / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	检测结果 ( $k=2$ ) / ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )
SMM	0.045 5	103.1	9.4	103.1±9.4
SDM	0.046 6	194.7	18.1	194.7±18.1
SMZ	0.047 5	126.1	12.0	126.1±12.0
SM <sub>2</sub>	0.047 1	165.9	15.6	165.9±15.6

3.3.2 扩展不确定度的计算 按式(8)、式(9)进行计算<sup>[13-14]</sup>,4种磺胺类药物的扩展不确定度如表7所示。

$$\bar{X}' = \bar{X} / \bar{R}, \quad (8)$$

$$U = u_r(X) \times \bar{X}' \times 2. \quad (9)$$

## 4 结论

影响样品检测结果准确性的因素有很多,如检验人员的理论知识水平、样品前处理的经验、对试验操作过程的熟练程度、仪器设备的稳定性、试剂耗材的质量以及标准物质的纯度等各方面,实验室应在检测开始前对上述所有因素进行核查。此外,样品经提取、净化、浓缩后,定容所用溶剂一般要与进样标准溶液所用溶剂一致;定容后溶解是否充分也会对结果造成一定的影响。因此,实际操作过程中,应使用经检定校准且满足检验方法要求的仪器设备,加强对试验环境的控制,不断提高检验人员的能力,以有效减少分析结果的不确定度。

### 参考文献

- [1] 王颖. 高效液相色谱法检测动物性食品中磺胺药残留研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2009: 2-8.  
WANG Ying. Simultaneous determination of sulfonamides residue in animal food by high performance liquid[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2009: 2-8.
- [2] 王奇. 珠江三角洲典型养殖区磺胺类抗生素的监测分析及其生物标记物研究[D]. 广州: 暨南大学, 2010: 1-6.  
WANG Qi. Analysis of sulfonamides in typical aquaculture regions of the pearl river delta and study of its biomarkers[D]. Guangzhou: Jinian University, 2010: 1-6.
- [3] 孙亚奇, 郭京超, 潘源虎, 等. 磺胺类药物代谢与残留消除以及检测方法研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(2): 66-75.  
SUN Ya-qi, GUO Jing-chao, PAN Yuan-hu, et al. Research progress on the metabolism, residue elimination and detection on methods of

sulfonamides[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2019, 53(2): 66-75.

- [4] 危梦, 王卫, 雷英杰, 等. 肉制品中磺胺类药物残留危害及检测方法的研究进展[J]. 中国调味品, 2019, 44(12): 185-200.  
WEI Meng, WANG Wei, LEI Ying-jie, et al. Research progress of hazards of sulfonamides residues in meat products and their detection methods[J]. China Condiment, 2019, 44(12): 185-200.
- [5] 施元旭, 张水锋, 潘项捷, 等. 超高效液相色谱串联质谱法测定豆芽中恩诺沙星、环丙沙星残留量的不确定度评定[J]. 食品与机械, 2020, 36(10): 37-42.  
SHI Yuan-xu, ZHANG Shui-feng, PAN Xiang-jie, et al. Evaluation of uncertainty in determination of enrofloxacin and ciprofloxacin residues in bean sprouts by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food & Machinery, 2020, 36(10): 37-42.
- [6] 闫顺华, 程曦, 闫皓, 等. Top-down 控制图法评定大葱中铅含量测定的不确定度[J]. 食品与机械, 2020, 36(8): 67-71.  
YAN Shun-hua, CHENG Xi, YAN Hao, et al. Uncertainty evaluation for determination of lead in scallion by Top-down control chart method[J]. Food & Machinery, 2020, 36(8): 67-71.
- [7] 闫顺华, 叶青, 韩晋焯, 等. GC-MS/MS 法测定白酒中3种塑化剂含量的不确定度评定[J]. 食品与机械, 2018, 34(12): 43-48.  
YAN Shun-hua, YE Qing, HAN Jin-xuan, et al. Uncertainty evaluation for the determination of 3 plasticizers in liquor by GC-MS/MS[J]. Food & Machinery, 2018, 34(12): 43-48.
- [8] 闫顺华, 李海芳, 尹蔚荣, 等. 液相色谱-质谱/质谱法测定肉糜中克伦特罗残留量的不确定度评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(2): 482-488.  
YAN Shun-hua, LI Hai-fang, YIN Xue-rong, et al. Uncertainty evaluation for the determination of clenbuterol residues in meat by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(2): 482-488.

(下转第86页)

- Journal of Lipid Science and Technology, 2003, 105(5): 199-200.
- [6] 梁克红, 卢林纲, 朱大洲, 等. 马铃薯糖苷生物碱的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(21): 195-199.  
LIANG Ke-hong, LU Lin-gang, ZHU Da-zhou, et al. Research progress of potato glycoside alkaloids[J]. Food Research and Development, 2017, 38(21): 195-199.
- [7] NOVYR R G, WHITWORTH J L, STARK J C, et al. Payette russet: a dual-purpose potato cultivar with cold-sweetening resistance, low acrylamide formation, and resistance to late blight and potato virus Y[J]. American Journal of Potato Research, 2017, 94(1): 38-53.
- [8] WILLIAMS J S E. Influence of variety and processing conditions on acrylamide levels in fried potato crisp[J]. Food Chemistry, 2004, 90(4): 875-881.
- [9] AMREIN T M, BACHMANN S, NOTI A, et al. Potential of acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: A comparison of cultivars and farming systems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(18): 5 556-5 560.
- [10] VINCI R M, MESTDAGH F, MEULENAER B D. Acrylamide formation in fried potato products- present and future, a critical review on mitigation strategies[J]. Food Chemistry, 2012, 133(4): 1 138-1 154.
- [11] 柴晴晴, 武文, 刘鹏飞, 等. 食品中丙烯酰胺的形成机理、检测方法与控制措施研究进展[J]. 食品与机械, 2021, 37(5): 203-208.  
CHAI Qing-qing, WU Wen, LIU Peng-fei, et al. Research progress on formation mechanism, determination methods and regulatory measure of acrylamide in food[J]. Food & Machinery, 2021, 37(5): 203-208.
- [12] 褚婧, 茅力. 食品中丙烯酰胺形成机理及控制[J]. 江苏预防医学, 2009, 20(3): 80-83.  
CHU Ting, MAO Li. Formation mechanism and control of acrylamide in food[J]. Jiangsu Journal of Preventive Medicine, 2009, 20(3): 80-83.
- [13] 张晓芳. 糕点加工过程中产生的主要危害物及控制措施[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 261-263.  
ZHANG Xiao-fang. Major hazard and control measure in process of pastry production[J]. Food & Machinery, 2014, 30(3): 261-263.
- [14] 张顺扬. 麻花中热加工有害产物及油脂的减控技术研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2018: 16-24.  
ZHANG Shun-yang. Research on reduction control technology of harmful products and oils in thermal processing of fried dough twist[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2018: 16-24.
- [15] 谭欣同. 食品危害物丙烯酰胺影响机体生物节律的分子机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019: 7-12.  
TAN Xin-tong. Molecular mechanism of hazardous food product acrylamide affecting on circadian rhythm[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2019: 7-12.
- [16] 谢瑞丽, 周启星. 丙烯酰胺的环境暴露、生态行为与毒理效应研究进展[J]. 生态学杂志, 2013, 32(5): 1 347-1 354.  
XIE Rui-li, ZHOU Qi-xing. Environmental exposure, ecological behavior, and toxicological effects of acrylamide: A review[J]. Chinese Journal of Ecology, 2013, 32(5): 1 347-1 354.
- [17] 张鹏澜. 薯条中丙烯酰胺的释放规律及机制探究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2019: 20-31.  
ZHANG Peng-lan. Study on the Regulation and mechanism of acrylamide release from french fries[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Commerce and Industry, 2019: 20-31.
- [18] 辛全伟. 面粉中破损淀粉对面包中丙烯酰胺生成及淀粉消化性影响的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2016: 30-48.  
XIN Quan-wei. The effect of damaged starch in flours on acrylamide formation and starch digestibility [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2016: 30-48.
- [19] 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 Xiao, JIN SHAO-ming, LIANG Rui-qiang, et al. Uncertainty evaluation for the determination of  $\beta$ -agonists in pork by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Science, 2017, 38(6): 315-320.
- [10] 高家敏, 曹进, 丁宏. 超高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中地塞米松含量的不确定度分析[J]. 中国药师, 2018, 21(3): 539-543.  
GAO Jia-min, CAO Jin, DING Hong. Uncertainty evaluation for the determination of dexamethasone in cosmetics by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. China Pharmacist, 2018, 21(3): 539-543.
- [11] 陈章捷. 国家标准 GB/T 21316—2007 测定动物源性食品中磺胺类药物残留量的不确定度评定[J]. 现代农业科技, 2020(1): 224-227.  
CHEN Zhang-jie. Uncertainty evaluation for determination of sulfonamide residues in animal-derived foods by National standard GB/T 21316—2007[J]. Food Science, 2020(1): 224-227.
- [12] 汤云瑜, 杨光昕, 娄晓祎, 等. 液相色谱-串联质谱法测定水产品中 8 种磺胺类药物残留的不确定度评定[J]. 农产品质量与安全, 2020(1): 42-48.  
TANG Yun-yu, YANG Guang-xin, LOU Xiao-yi, et al. Uncertainty evaluation on determination of 8 sulfonamides in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Quality and Safety of Agro-products, 2020(1): 42-48.
- [13] 舒顺顺, 米倩, 李佳丽, 等. 液相色谱-串联质谱法检测猪肉中 5 种磺胺类药物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(11): 2 836-2 841.  
SHU Shun-shun, MI Qian, LI Jia-li, et al. Simultaneous determination of 5 kinds of sulfonamides residues in pork by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2018, 9(11): 2 836-2 841.
- [14] 杨建红. 2018 年春季兰州市鸡肉中磺胺类药物残留的检测与分析[J]. 甘肃畜牧兽医, 2019, 49(2): 66-72.  
YANG Jian-hong. Testing and analysis of sulfonamine in chicken in spring 2018[J]. Gansu Animal Husbandry and Veterinary, 2019, 49(2): 66-72.

(上接第 75 页)