

QuEChERS-气相色谱—串联质谱法测定茶叶中水胺硫磷农药残留的不确定度评定

Uncertainty evaluation for determination of isocarbophos residues in tea by QuEChERS-gas chromatography-tandem mass spectrometry

陆振华 于丽芳 蔡丹萍 李 成

LU Zhen-hua YU Li-fang CAI Dan-ping LI Cheng

(耐斯检测技术服务有限公司, 浙江 嘉兴 314001)

(Nice Detection & Technology Services Co., Ltd., Jiaxing, Zhejiang 314001, China)

摘要:目的:探索影响茶叶中水胺硫磷检测结果测量不确定度的主要原因。方法:根据 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 气相色谱—质谱联用法》的要求,采用气相色谱—质谱法对茶叶中水胺硫磷残留量进行测定,并通过建立数学模型,分析茶叶中水胺硫磷残留量测定过程中的各种影响因素,包括样品称量、体积引入、标准溶液校准、测量重复性、回收率等进行分析评定。结果:当茶叶中水胺硫磷残留量为 0.050 mg/kg 时,扩展不确定度为 0.007 mg/kg,测定结果表示为 $\omega = (0.050 \pm 0.007) \text{ mg/kg}, k=2$ 。结论:该方法主要不确定度来源为标准溶液校准及回收率。

关键词:水胺硫磷;茶叶;QuEChERS-气相色谱—串联质谱法;不确定度

Abstract: Objective: The uncertainty of determination of Isocarbophos residues in tea by using QuEChERS-gas chromatography-tandem mass spectrometry technique was evaluated. **Methods:** Isocarbophos residues in tea was determined by using "GB 23200.113—2018 National food safety Standard-Determination of 208 pesticides and metabolites residues in plant origin-Gas chromatography-tandem mass spectrometry method", and factors in the determination of isocarbophos were analyzed by establishing a mathematical model, including sample weighing, volume, calibration of standard solutions, repeatability and recovery rate, etc.. **Results:** When the residual amount of isocarbophos in tea was 0.050 mg/kg, the expanded uncertainty was 0.007 mg/kg,

and the determination result was expressed as: $\omega = (0.050 \pm 0.007) \text{ mg/kg}, k = 2$. **Conclusion:** The main sources of uncertainty in this method were calibration of standard solutions and the recovery rate.

Keywords: isocarbophos; tea; QuEChERS-gas chromatography-tandem mass spectrometry; uncertainty

水胺硫磷是由德国拜耳公司研发的一种广谱性有机磷杀虫、杀螨剂,具触杀、杀卵和胃毒作用,在昆虫体内能首先被氧化成毒性更大的水胺氧磷,抑制昆虫体内的乙酰胆碱酯酶^[1]。水胺硫磷属于高毒农药,已禁止在蔬菜、瓜果、茶叶、菌类、中草药材上使用。GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中规定茶叶中水胺硫磷的最大残留限量为 0.05 mg/kg。近年来,茶叶中水胺硫磷超限量常有报道,如何提升农药残留检测结果的准确性已成为相关检测机构的一项重要工作。

目前,茶叶中农药残留的检测方法较多。对气相色谱法^[2-4]、气相色谱—质谱法^[4-6]和液相色谱—质谱法^[7]测定茶叶中农药残留的不确定度评定有较多报道,关于 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 气相色谱—质谱联用法》测定蔬菜中农药残留的不确定度评定也有报道^[8-9],而参照 GB 23200.113—2018 测定茶叶中农药残留的不确定度评定还未见相关报道。茶叶基质复杂,含有较多的生物碱、茶多酚和色素等对农药残留检测产生干扰的物质,检测时需加入更多的净化试剂,且茶叶含水率较低,在提取过程中需用水浸泡使细胞膨胀,与有机溶剂充分接触,才能达到提高提取效率的目的。且茶叶农残检测时,取样量较少,称样量及均匀性对检测结果的影响较大。因此茶叶的前处理对检测结果的影响更大。对于各影响因素评定方法的处理,通常回收率有显著性差

基金项目:科技对口支援和东西部协作项目(编号:KYY-ZX-20220020)

作者简介:陆振华(1982—),男,耐斯检测技术服务有限公司质量工程师。E-mail:71582272@qq.com

收稿日期:2022-01-07 **改回日期:**2022-04-15

异时,会将回收率代入计算公式以修正样品的测定结果^[10-11],但当实际出具的检测数据满足标准要求时,对回收率的处理并不直接折算到结果中。评定用内标法定量时的不确定度,通常的处理方法是用内标浓度进行评定再进行合成^[12-13],但内标法一般用同一种内标,只与加标的体积有关。

研究基于 CNAS—GL006—2019《化学分析中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》,参照 GB 23200.113—2018 中 QuEChERS-气相色谱—串联质谱法测定茶叶农药残留的方法,用单独的数学模型将内标参与到评定过程中,将回收率以纯度的方式参与到评定过程中,再对样品称量、体积引入、测量重复性等因素进行评定,找出影响茶叶中水胺硫磷检测结果测量不确定度的主要原因,以期为实验室检测茶叶中水胺硫磷时进一步提高检测数据的可靠性提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

气相色谱质谱联用仪:GCMS-TQ8040 型,日本 SHIMADZU 公司;

氮吹仪:N-EVAP 111 型,美国 Organomation 公司;

旋涡仪:XH-B 型,江苏康健医疗用品有限公司;

超声仪:KH-500DE 型,昆山禾创超声仪器有限公司;

离心机:TG1850-WS 型,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;

电子天平:SL2002N 型,上海民桥精密科学仪器有限公司;

乙腈、乙酸乙酯:色谱纯,美国 Fisher 公司;

水胺硫磷(CAS: 24353-61-5; 相对扩展不确定度 $\pm 3\%$): 1 000.0 $\mu\text{g/mL}$,北京曼哈格生物科技有限公司;

环氧七氯 B(CAS: 1024-57-3; 相对扩展不确定度 $\pm 3\%$): 100.0 $\mu\text{g/mL}$,北京曼哈格生物科技有限公司;

乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(PSA): 50 μm ,纳谱分析技术(苏州)有限公司;

十八烷基硅烷键合硅胶(C_{18}): 50 μm ,纳谱分析技术(苏州)有限公司;

石墨化炭黑(GCB): 100 μm ,纳谱分析技术(苏州)有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 试样处理

(1) 提取:准确称取 2 g 粉碎均匀的茶叶样品,于 50 mL 塑料离心管中,加 10 mL 水涡旋混匀,静置 30 min。加入 15 mL 乙腈—醋酸($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{醋酸}}=99:1$)溶液、6 g 无水硫酸镁、1.5 g 醋酸钠、1 颗陶瓷均质子,涡旋 1 min,超声 30 min,4 200 r/min 离心 5 min。

(2) QuEChERS 净化:吸取 8 mL 上清液到 15 mL 塑料离心管中(内含 1 200 mg 硫酸镁、400 mg PSA、400 mg C_{18} 及 200 mg GCB),涡旋混匀 1 min。4 200 r/min 离心 5 min。

(3) 浓缩:准确吸取 2 mL 上清液至 10 mL 玻璃试管中,40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮吹至近干。加入 20 μL 的内标溶液(环氧七氯 B 5 $\mu\text{g/mL}$),加入 1 mL 乙酸乙酯复溶,过 0.22 μm 滤膜,用于 GC-MS/MS 测定,内标法定量。

1.2.2 仪器检测条件

(1) 色谱条件:色谱柱为 TG-5MS(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm); 流量 1.69 mL/min; 程序升温条件为初温 50 $^{\circ}\text{C}$,保留 1 min,以 25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 125 $^{\circ}\text{C}$,再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 300 $^{\circ}\text{C}$,保留 6 min; 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$;不分流进样,进样量体积 1 μL 。

(2) 质谱条件:EI 源;电子轰击源 70 eV;传输线温度 250 $^{\circ}\text{C}$;离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$;溶剂延迟 2 min;多反应监测(MRM),优化后的质谱参数见表 1。

1.2.3 测量数学模型

$$\omega = \frac{c \times v}{m} \times f_{\text{method}} = \frac{c \times V_1 \times V_3}{m \times V_2} \times f_{\text{method}}, \quad (1)$$

式中:

ω ——待测样品中水胺硫磷的含量,mg/kg;

c ——试样中水胺硫磷的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$;

v ——总的样品代表的试样体积,mL;

V_1 ——加入提取溶剂的体积,mL;

V_2 ——移取上清液的体积,mL;

V_3 ——最终样品复溶体积,mL;

m ——试样称样量,g;

f_{method} ——方法校正因子。

1.2.4 不确定度分量的主要来源 根据试验的测定,茶叶中水胺硫磷残留量测定不确定度分量主要来源如图 1 所示。

表 1 水胺硫磷及环氧七氯 B 的质谱参数表

Table 1 Mass spectrum parameters of isocarbophos and heptachlor epoxide B

化合物	保留时间/min	定量离子对(m/z)	碰撞电压/eV	定性离子对(m/z)	碰撞电压/eV
水胺硫磷	16.268	135.9/108.0	15	135.9/69.0	30
环氧七氯 B	16.943	352.8/262.9	14	354.8/264.9	20

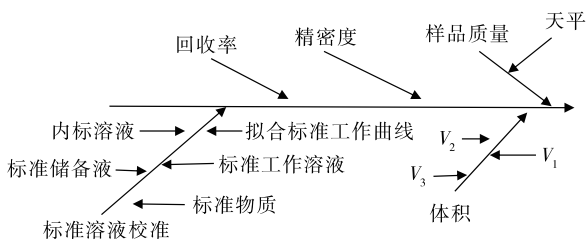


图1 不确定度来源

Figure 1 Analysis diagram of the uncertainty source

2 水胺硫磷农药残留不确定度分量的评定

2.1 样品称量引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(m)$

样品称量所用的电子天平的分度值 d 为 0.01 g , 称量允许误差为 $\pm 0.05 \text{ g}$, 按矩形分布, $k=\sqrt{3}$, 在称量时应计算两次分量(一次为去皮, 一次为最后读数)则

$$u(m) = \sqrt{2} \times \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.0408 \text{ g}, u_{\text{rel}}(m) = \frac{u(m)}{m}$$

$$\frac{0.0408}{2} = 2.04\%$$

2.2 体积引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(v)$

主要包含加入提取溶剂 V_1 、移取上清液的体积 V_2 、最终乙酸乙酯复溶的体积 V_3 。

2.2.1 加入提取溶剂引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_1)$

加入提取溶剂使用的是 A 级 15 mL 单标线吸管, 在移取 15 mL 乙腈—醋酸($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{醋酸}}=99:1$)溶液时, 其容量允许误差为 $\pm 0.025 \text{ mL}$, 考虑其生产工艺, 越接近标称值概率越高, 所以按三角分布计算, 取 $k=\sqrt{6}$, 则由单标线吸管引入的不确定度为:

$$u_1(V_1) = \frac{0.025}{\sqrt{6}} = 0.0102 \text{ mL}.$$

试验时, 实验室的环境温度通常控制在 $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$, 提取液主要由乙腈组成, 醋酸可忽略不计, 乙腈的体积膨胀系数为 $1.37 \times 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, 服从矩形分布 $k=\sqrt{3}$, 则温度对提取液体积变化引入的标准不确定度为:

$$u_2(V_1) = \frac{1.37 \times 10^{-3} \times 5 \times 15}{\sqrt{3}} = 0.0593 \text{ mL}.$$

15 mL A 级单标线吸管吸取液体时, 估计读数约为 $\pm 0.01 \text{ mL}$, 按三角分布, $k=\sqrt{6}$, 则估读误差引入的不确定度为:

$$u_3(V_1) = \frac{0.01}{\sqrt{6}} = 0.0041 \text{ mL}.$$

所以移液管移取 15 mL 乙腈—醋酸($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{醋酸}}=99:1$)溶液引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_1) = \frac{u(V_1)}{V_1} = \frac{\sqrt{u_1^2(V_1) + u_2^2(V_1) + u_3^2(V_1)}}{V_1} = \frac{\sqrt{0.0102^2 + 0.0593^2 + 0.0041^2}}{15} = 0.4021\%.$$

2.2.2 移取上清液引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_2)$

移取 2 mL 上清液使用的是 2 mL A 级单标线吸量管, 其允许误差为 $\pm 0.010 \text{ mL}$, 参考 15 mL 单标线吸量管的评定过程, 2 mL A 级单标线吸量管引入的不确定度为:

$$u_1(V_2) = \frac{0.01}{\sqrt{6}} = 0.0041 \text{ mL}.$$

实验室温度变化引入的标准不确定度为:

$$u_2(V_2) = \frac{1.37 \times 10^{-3} \times 5 \times 2}{\sqrt{3}} = 0.0079 \text{ mL}.$$

2 mL A 级单标线吸量管吸取液体时, 估计读数约为 $\pm 0.001 \text{ mL}$, 按三角分布, $k=\sqrt{6}$, 则估读误差引入的不确定度为:

$$u_3(V_2) = \frac{0.001}{\sqrt{6}} = 0.0004 \text{ mL}.$$

所以吸量管移取 2 mL 上清液引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_2) = \frac{u(V_2)}{V_2} = \frac{\sqrt{u_1^2(V_2) + u_2^2(V_2) + u_3^2(V_2)}}{V_2} = \frac{\sqrt{0.0041^2 + 0.0079^2 + 0.0004^2}}{2} = 0.4455\%.$$

2.2.3 乙酸乙酯复溶引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_3)$

使用 1 mL A 级单标线吸量管移取 1 mL 乙酸乙酯复溶, 1 mL A 级单标线吸量管允许误差为 $\pm 0.007 \text{ mL}$, 参考 15 mL 单标线吸量管的评定过程, 1 mL A 级单标线吸量管引入的不确定度为:

$$u_1(V_3) = \frac{0.007}{\sqrt{6}} = 0.0029 \text{ mL}.$$

乙酸乙酯的体积膨胀系数为 $1.38 \times 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, 则温度对乙酸乙酯体积变化引入的标准不确定度为:

$$u_2(V_3) = \frac{1.38 \times 10^{-3} \times 5 \times 1}{\sqrt{3}} = 0.0040 \text{ mL}.$$

1 mL 单标线吸管吸取液体时, 估计读数约为 $\pm 0.001 \text{ mL}$, 按三角分布, $k=\sqrt{6}$, 则估读误差引入的不确定度为:

$$u_3(V_3) = \frac{0.001}{\sqrt{6}} = 0.0004 \text{ mL}.$$

所以移取 1 mL 乙酸乙酯复溶的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_3) = \frac{u(V_3)}{V_3} = \frac{\sqrt{u_1^2(V_3) + u_2^2(V_3) + u_3^2(V_3)}}{V_3} = \frac{\sqrt{0.0029^2 + 0.0040^2 + 0.0004^2}}{1} = 0.4957\%.$$

综上, 由提取液移取、提取液净化分取和浓缩定容 3 个步骤引起的合成相对不确定度 $u_{\text{rel}}(v)$ 为:

$$u_{\text{rel}}(v) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(V_1) + u_{\text{rel}}^2(V_2) + u_{\text{rel}}^2(V_3)} =$$

$$\sqrt{0.004\ 021^2 + 0.004\ 455^2 + 0.004\ 957^2} = 0.778\%$$

2.3 标准工作溶液校准过程引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(c)$

该相对标准不确定度主要来源:标准工作溶液的配制、标准工作曲线拟合。

2.3.1 标准工作溶液的配制引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(c)$ 试验使用的水胺硫磷标样购于北京曼哈格生物科技有限公司,标准物质给出的质量浓度为 $1\ 000.0\ \mu\text{g/mL}$,其扩展不确定度为 $\pm 3\%$ ($k=2$),所以标准溶液的不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(c_s) = \frac{3\%}{2} = 1.5\%。$$

$10\ \mu\text{g/mL}$ 的标准储备液的配制:使用量程为 $20\sim 200\ \mu\text{L}$ 的移液器移取 $1\ 000.0\ \mu\text{g/mL}$ 的标准原液 $100\ \mu\text{L}$ 到 $10\ \text{mL}$ 容量瓶,用乙酸乙酯定容至刻度。

标准溶液稀释过程:其数学模型为

$$c_x = \frac{c_s \times v_y}{v_r \times 1\ 000}, \quad (2)$$

式中:

c_x ——稀释后标准溶液的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$;

c_s ——标准原液的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$;

v_y ——移液器移取的体积, μL ;

v_r ——定容时容量瓶的体积, mL 。

所以, $u_{\text{rel}}^2(c_x) = u_{\text{rel}}^2(c_s) + u_{\text{rel}}^2(V_y) + u_{\text{rel}}^2(V_r)$ 。

量程为 $20\sim 200\ \mu\text{L}$ 的移液器在移取 $100\ \mu\text{L}$ 时,其容量允许误差为 $\pm 2.0\%$,按均匀分布 $k=\sqrt{3}$,则 $u_{\text{rel}}(V_{0.1}) = \frac{2\%}{\sqrt{3}} = 1.155\%$, $10\ \text{mL}$ A 级容量瓶的容量允许误差为 $\pm 0.020\ \text{mL}$,按三角分布, $k=\sqrt{6}$,则 $u_{\text{rel}}(V_{10}) = \frac{0.02/\sqrt{6}}{10} = 0.081\ 6\%$,则 $10\ \mu\text{g/mL}$ 标准储备液配制引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(c_{10}) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(c_s) + u_{\text{rel}}^2(V_{0.1}) + u_{\text{rel}}^2(V_{10})} = \sqrt{0.015^2 + 0.011\ 55^2 + 0.000\ 816^2} = 1.895\%。$$

$1\ \mu\text{g/mL}$ 储备液:用 $1\ \text{mL}$ A 级单标线吸管吸取 $10\ \mu\text{g/mL}$ 的储备液 $1\ \text{mL}$ 到 $10\ \text{mL}$ A 级容量瓶中,用乙酸乙酯定容至刻度,其相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(c_1) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(c_{10}) + u_{\text{rel}}^2(V_1) + u_{\text{rel}}^2(V_{10})} = \sqrt{0.018\ 95^2 + 0.000\ 816^2 + 0.000\ 4^2} = 1.897\%。$$

标准溶液的配制:用量程为 $20\sim 200\ \mu\text{L}$ 的移液器分别移取 $50\ \mu\text{L}$ ($1\ \mu\text{g/mL}$)、 $100\ \mu\text{L}$ ($1\ \mu\text{g/mL}$)、 $50\ \mu\text{L}$ ($10\ \mu\text{g/mL}$)、 $100\ \mu\text{L}$ ($10\ \mu\text{g/mL}$) 及用量程为 $100\sim 1\ 000\ \mu\text{L}$ 的移液器移取 $500\ \mu\text{L}$ ($10\ \mu\text{g/mL}$ 的标准储备液)到 $10\ \text{mL}$ A 级容量瓶,用乙酸乙酯定容,配制成水胺硫磷质量浓度分别为 $0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5\ \mu\text{g/mL}$ 的标准溶液系列。移液过程中移液器的容量允许误差分别为

$\pm 3.0\%, \pm 2.0\%, \pm 3.0\%, \pm 2.0\%, \pm 1.0\%$,按均匀分布 $k=\sqrt{3}$,其移液器移液的相对不确定度分别为 $u_{\text{rel}}(V_{50}) = \frac{0.03}{\sqrt{3}} = 1.732\%, u_{\text{rel}}(V_{100}) = \frac{0.02}{\sqrt{3}} = 1.155\%, u_{\text{rel}}(V_{50}) = \frac{0.03}{\sqrt{3}} = 1.732\%, u_{\text{rel}}(V_{100}) = \frac{0.02}{\sqrt{3}} = 1.155\%, u_{\text{rel}}(V_{500}) = \frac{0.01}{\sqrt{3}} = 0.577\ 4\%, 10\ \text{mL}$ A 级容量瓶上述已有计算

$u_{\text{rel}}(V_{10}) = \frac{0.02/\sqrt{6}}{10} = 0.081\ 6\%$,此过程温度影响较小,不予考虑,所以各质量浓度的标准溶液的不确定度分别为

$$\begin{aligned} u_{\text{rel}}(c_{0.005}) &= \sqrt{u_{\text{rel}}^2(c_1) + u_{\text{rel}}^2(V_{50}) + u_{\text{rel}}^2(V_{10})} = \sqrt{0.018\ 97^2 + 0.017\ 32^2 + 0.000\ 816^2} = 2.570\%, \\ u_{\text{rel}}(c_{0.01}) &= \sqrt{u_{\text{rel}}^2(c_1) + u_{\text{rel}}^2(V_{100}) + u_{\text{rel}}^2(V_{10})} = \sqrt{0.018\ 97^2 + 0.011\ 55^2 + 0.000\ 816^2} = 2.223\%, \\ u_{\text{rel}}(c_{0.05}) &= \sqrt{u_{\text{rel}}^2(c_{10}) + u_{\text{rel}}^2(V_{50}) + u_{\text{rel}}^2(V_{10})} = \sqrt{0.018\ 95^2 + 0.017\ 32^2 + 0.000\ 816^2} = 2.569\%, \\ u_{\text{rel}}(c_{0.1}) &= \sqrt{u_{\text{rel}}^2(c_{10}) + u_{\text{rel}}^2(V_{100}) + u_{\text{rel}}^2(V_{10})} = \sqrt{0.018\ 95^2 + 0.011\ 55^2 + 0.000\ 816^2} = 2.221\%, \\ u_{\text{rel}}(c_{0.5}) &= \sqrt{u_{\text{rel}}^2(c_{10}) + u_{\text{rel}}^2(V_{500}) + u_{\text{rel}}^2(V_{10})} = \sqrt{0.018\ 95^2 + 0.005\ 774^2 + 0.000\ 816^2} = 1.983\%。 \end{aligned}$$

标准工作溶液的配制:移取上述标准溶液 $1\ \text{mL}$ 到茶叶空白基质中,加 $20\ \mu\text{L}$ 环氧七氯 B 内标溶液 ($5\ \mu\text{g/mL}$),过膜,配制成质量浓度分别为 $0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5\ \mu\text{g/mL}$ 的标准工作溶液。 $1\ \text{mL}$ 标样的移取使用的是 $1\ \text{mL}$ A 级单标线吸量管,样品复溶时已有评定,这里不重复评定。试验选择与被测样品接近的 $u_{\text{rel}}(c_{0.01}) = 2.223\%$ 予以评定,则 $u_{\text{rel}}(c) = u_{\text{rel}}(c_{0.01}) = 2.223\%$ 。

2.3.2 标准工作曲线拟合引入的不确定度 5 种浓度的标准工作溶液由低到高分别上机进样,得到的浓度比及面积比的数据见表 2。采用仪器自带的定量软件最小二乘法拟合,得到标准工作曲线的回归方程和相关系数为:

$$A_{\text{ri}} = -0.025\ 042 + 5.544\ 347\ c_{\text{ri}}, R^2 = 0.999\ 997, \quad (3)$$

式中:

c_{ri} ——标准溶液与内标溶液浓度比值;

A_{ri} ——标准物质峰面积与内标峰面积的比值。

为了评定茶叶中水胺硫磷残留限量时(即残留量为 $0.05\ \text{mg/kg}$)的不确定度,所以假定某阳性样品平行测定 2 次,得到样液中平均质量浓度为 $0.013\ 33\ \mu\text{g/mL}$,内标质量浓度为 $0.1\ \mu\text{g/mL}$ 。其与内标浓度比的相对标准不确定度按式(4)计算:

$$u(c_r) = \frac{s}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_r - \bar{c}_r)^2}{\sum_{i=1}^n (c_{\text{ri}} - \bar{c}_r)^2}}, \quad (4)$$

表 2 线性回归方程拟合过程及结果[†]

Table 2 Linear regression equation fitting and results

浓度比 c_{ri}	面积比 A_{ri}	$A_{rf}=a+bc_{ri}$	$(A_{ri}-A_{rf})^2$	$(c_{ri}-\bar{c}_r)^2$
0.05	0.263 3	0.252 2	0.000 13	1.638 4
0.10	0.552 2	0.529 4	0.000 52	1.512 9
0.50	2.713 7	2.747 1	0.001 12	0.688 9
1.00	5.515 2	5.519 3	0.000 02	0.108 9
5.00	27.700 3	27.696 7	0.000 02	13.468 9

[†] $\bar{c}_r = 1.33$; $\sum (A_{ri} - A_{rf})^2 = 0.001\ 81$; $\sum (c_{ri} - \bar{c}_r)^2 = 17.418\ 0$ 。

式中:

s ——拟合标准工作曲线的标准偏差;

b ——拟合标准工作曲线的斜率, $b=5.544\ 347$;

p ——试样测定的次数, $p=2$;

n ——标准工作溶液的测定次数, $n=5$;

c_r ——试样中水胺硫磷与内标浓度比的平均值, $c_r = 0.133\ 3$;

$\bar{c}_r$ ——标准工作溶液中水胺硫磷与内标浓度比的平均值, $\bar{c}_r = 1.33$;

c_{ri} ——标准工作溶液中水胺硫磷与内标的系列浓度比。

其中: $c_r = \frac{c}{c_{\text{内标}}}$, $A_r = \frac{A}{A_{\text{内标}}}$,

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_{ri} - (a + bc_{ri})]^2}{n-2}} = 0.024\ 57,$$

$$\text{所以, } u(c_r) = \frac{0.024\ 57}{5.544\ 347} \times \sqrt{\frac{1}{2} + \frac{1}{5} + \frac{1.432}{17.418\ 0}} =$$

$$0.003\ 920, u_{\text{rel}}(c_r) = \frac{0.003\ 920}{0.133\ 3} = 2.941\%。$$

由 $c_r = \frac{c}{c_{\text{内标}}}$ 可得 $u_{2\text{rel}}(c) =$

$\sqrt{u_{\text{rel}}^2(c_r) + u_{\text{rel}}^2(c_{\text{内标}})}$, 由于样品和标样中加入内标的储备液的浓度是一样的, 最终定容体积的不确定度即为 1 mL 复溶带入的不确定度, 这里不重复评定, 所以 $u_{\text{rel}}(c_{\text{内标}})$ 的不确定度主要由量程为 20~200 μL 的移液器移取 20 μL (5 $\mu\text{g/mL}$) 内标溶液引入, 其容量允许误差为 $\pm 4.0\%$, 按均匀分布 $k=\sqrt{3}$, 所以 $u_{\text{rel}}(c_{\text{内标}}) = \frac{0.04}{\sqrt{3}} = 2.309\%$, 则 $u_{2\text{rel}}(c) = \sqrt{0.029\ 41^2 + 0.023\ 09^2} = 3.739\%$ 。

所以标准工作溶液校准引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(c) = \sqrt{u_{1\text{rel}}^2(c) + u_{2\text{rel}}^2(c)} = \sqrt{0.022\ 23^2 + 0.037\ 39^2} = 4.35\%。$$

2.4 重复性测量引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{rep})$

分别称取 6 份样品按照检测方法检测, 最终样液中水胺硫磷的质量浓度分别为 0.012 3, 0.012 5, 0.012 3, 0.012 8, 0.013 1, 0.012 3 $\mu\text{g/mL}$, 平均值为 0.012 55 $\mu\text{g/mL}$, 标准偏差 $S=0.000\ 333$, 最终以 2 次独立测定结果的算术平均值作为报出值, 所以 $u(\text{rep}) = \frac{S}{\sqrt{n}} = \frac{0.000\ 333}{\sqrt{2}} = 0.000\ 236$, $u_{\text{rel}}(\text{rep}) = 0.000\ 236 / 0.012\ 55 = 1.88\%$ 。

2.5 方法回收率引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(R)$

对市售茶叶按 1.2 试验方法进行检测, 在水胺硫磷目标峰位置观察其质谱图, 无法识别出水胺硫磷特征离子的样品确定为阴性样品。称取 6 份阴性茶叶样品, 添加量为 0.05 mg/kg , 测定回收率, 结果见表 3。

表 3 样品添加回收率

Table 3 Results of replicate recovery tests in samples

称样量/g	加入量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	实测值/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	回收率/ %	回收率平 均值/%	标准偏 差/%
2.00	0.05	0.046	92.0	94.0	2.53
2.00	0.05	0.047	94.0		
2.00	0.05	0.046	92.0		
2.00	0.05	0.048	96.0		
2.00	0.05	0.049	98.0		
2.00	0.05	0.046	92.0		

标准不确定度采用平均值的标准偏差计算得到:

$$u(R) = \frac{0.025\ 3}{\sqrt{6}} = 0.010\ 3。$$

用 t 检验来确定平均回收率是否与 100% 有显著性

差异。检验统计量 $t = \frac{|1-R|}{u(R)} = \frac{(1-0.94)}{0.010\ 3} = 5.83$, 该值与 95% 置信度, $n-1$ 自由度下的双侧临界值 t_{crit} 比较 (其中 n 是用来评估 R 的测试结果的数目), 假如 $t < t_{\text{crit}}$ 值, 则回收率与 100% 无显著性差异, 反之, 则回收率与 100% 有显著性差异。查 t 值临界值分布表可得 $t_{\text{crit}, 5} \approx 2.571$, 则 $t \geq t_{\text{crit}, 5}$ 。

因此方法回收率引入的不确定度需进行修正。但通常情况下, 检测结果满足标准要求时, 不需要把回收率直接折算到检测结果中, 所以将回收率以水胺硫磷纯度的方式参与到评定过程中, 则

$$u'(R) = \sqrt{\left(\frac{1-R}{k}\right)^2 + u(R)^2} = \sqrt{\left(\frac{1-0.94}{2}\right)^2 + 0.010\ 3^2} = 0.031\ 7,$$

$$u_{\text{rel}}(R) = \frac{0.031\ 7}{0.94} = 3.37\%。$$

2.6 合成标准不确定度的评定

综上所述,各因素相对不确定度分别为 $u_{\text{rel}}(m) = 2.04\%$, $u_{\text{rel}}(v) = 0.778\%$, $u_{\text{rel}}(c) = 4.35\%$, $u_{\text{rel}}(\text{rep}) = 1.88\%$, $u_{\text{rel}}(R) = 3.37\%$, 根据不确定度传播公式对各分量进行合成:

$$\begin{aligned} u_{\text{rel}}(\omega) &= \sqrt{u_{\text{rel}}^2(m) + u_{\text{rel}}^2(V) + u_{\text{rel}}^2(c) + u_{\text{rel}}^2(\text{rep}) + u_{\text{rel}}^2(R)} \\ &= \sqrt{0.020^2 + 0.00778^2 + 0.0435^2 + 0.0188^2 + 0.0337^2} \\ &= 6.22\%, \end{aligned}$$

$$\omega = \frac{c \times v}{m} = \frac{c \times V_1 \times V_2}{m \times V_3} = 0.050 \text{ mg/kg},$$

$$u(\omega) = 0.050 \times 6.22\% = 0.0032 \text{ mg/kg}.$$

2.7 扩展不确定度 $U(\omega)$

取包含因子 $k=2$, 置信水平 $P=95\%$, 则扩展不确定度为:

$$U(\omega) = 2u(\omega) = 2 \times 0.0032 = 0.0064 \text{ mg/kg}.$$

测定结果:

通过 QuEChERS-气相色谱—串联质谱法测定, 该茶叶样品中水胺硫磷残留量结果为:

$$\omega = (0.050 \pm 0.007) \text{ mg/kg}, k=2.$$

3 结论

通过 QuEChERS-气相色谱—串联质谱法测定茶叶中水胺硫磷残留量的不确定度分析, 得出该方法的检测结果表示为 $\omega = (0.050 \pm 0.007) \text{ mg/kg}, k=2$ 。从各标准不确定度分量数值大小可以看出, 浓度 c (涉及标准物质纯度、标准储备液与标准工作溶液的配制、标准工作曲线校准及内标加入量) 引入的不确定度分量对合成标准不确定度贡献最大, 加标回收试验引入的不确定度对合成标准不确定度的贡献次之, 因此, 可以通过使用不确定度更小的标样, 用精度更高的量器配制标线及加内标等方式降低相关不确定度分量, 也可以通过改善样品的前处理步骤(QuEChERS 净化、氮吹等), 减少水胺硫磷残留量的损失, 特殊情况, 还可以通过回收率的校准, 来提高结果的准确性, 保证测量结果准确、可靠。

参考文献

- [1] 田忠江. 水胺硫磷合成新工艺的研究[J]. 广西化工, 2000, 29(4): 13-15.
TIAN Z J. Study on new synthetic process of optunal[J]. Guangxi Chemical Industry, 2000, 29(4): 13-15.
- [2] 张瑜, 田甜, 邵康群. 气相色谱法测定茶叶中杀螟硫磷残留量的不确定度评定[J]. 轻工科技, 2018, 34(4): 4-5, 8.
ZHANG Y, TIAN T, SHAO K Q. Uncertainty evaluation for the determination of fenitrothion residues in tea by gas chromatography[J]. Guangxi Journal of Light Industry, 2018, 34(4): 4-5, 8.
- [3] 涂红艳, 谈金辉. 气相色谱法测定茶叶中溴氰菊酯残留量的不确

定度评定[J]. 分析实验室, 2009, 28(S2): 241-243.

- TU H Y, TAN J H. Uncertainty evaluation for the determination of bromopropylate residues in tea by gas chromatography[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2009, 28(S2): 241-243.
- [4] 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 J X, ZHANG X Z, WANG Y Q, et al. Uncertainty evaluation for the determination of bifenthrin in tea by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2014, 35(12): 200-203.
- [5] 李志. 气相色谱—质谱法测定茶叶中敌敌畏残留量的不确定度评定[J]. 包装与食品机械, 2018, 36(5): 55-60.
LI Z. Evaluation of uncertainty in determination of dichlorvos residue in tea by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Packaging and Food Machinery, 2018, 36(5): 55-60.
- [6] 覃慧丽. 气相色谱—质谱法测定茶叶中草甘膦残留量的不确定度评定[J]. 包装与食品机械, 2019, 37(3): 65-69.
QIN H L. Analysis on determination uncertainty of glyphosate residue in tea by GC-MS method[J]. Packaging and Food Machinery, 2019, 37(3): 65-69.
- [7] 胡贝贞, 蔡海江, 宋伟华. 茶叶中氟虫腈等 8 种农药残留的液相色谱—串联质谱法测定及不确定度评定[J]. 色谱, 2012, 30(9): 889-895.
HU B Z, CAI H J, SONG W H. Determination of eight pesticide residues in tea by liquid chromatograph-tandem mass spectrometry and its uncertainty evaluation [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2012, 30(9): 889-895.
- [8] 汪春明, 张洋, 施鹏斐, 等. 气相色谱—质谱法测定黄瓜中毒死蜱残留量的测量不确定度评定[J]. 食品工业科技, 2021, 42(15): 204-210.
WANG C M, ZHANG Y, SHI P F, et al. Uncertainty evaluation of chlorpyrifos residues in cucumber determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(15): 204-210.
- [9] 阳曦, 陈慧斐, 向世杰. QuEChERS-气相色谱—串联质谱法测定结球甘蓝中甲基毒死蜱残留量不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(3): 1136-1141.
YANG X, CHEN H F, XIANG S J. Uncertainty evaluation for determination of chlorpyrifos-methyl residues in cabbage by QuEChERS-gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(3): 1136-1141.
- [10] 范广宇, 唐秀, 张琳, 等. 高效液相色谱—串联质谱法测定鲟鳇类产品中啉诺酮的不确定度评定[J]. 食品工业科技, 2021, 42(20): 248-254.
FAN G Y, TANG X, ZHANG L, et al. Uncertainty evaluation of determination of quinolones in flatfish by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(20): 248-254.

(下转第 68 页)