

超高效液相色谱—串联质谱法测定植物油中 甲胺磷残留量的不确定度评定

高 含 刘 锐 姜 铖 王飞飞

(云南云科特色植物提取实验室有限公司, 云南 昆明 651000)

摘要: [目的] 保证农药甲胺磷残留检测质量。[方法] 采用 QuEChERS 前处理方法、超高效液相色谱—串联质谱法检测一种植物油样品, 测定样品的同时进行加标回收率测定, 通过对试验过程中不确定度来源进行分析, 对其测量不确定度进行评定。[结果] 橄榄油样品中未检出甲胺磷残留量, 对正确度 1 样品进行不确定度评定, 结果为 (0.018 ± 0.010) mg/kg。[结论] 在植物油中甲胺磷残留量的不确定度测量过程中, 标准曲线拟合、超高效液相色谱—质谱联用仪、标准工作溶液的影响相对较大, 样品称量、样品前处理和样品重复性测定的影响相对较小。

关键词: 植物油; 甲胺磷; 液相色谱—串联质谱法; 不确定度

Evaluation of uncertainty in determination of methamidophos residue in vegetable oil by ultra- performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

GAO Han LIU Rui JIANG Cheng WANG Feifei

(Yunnan Yunke Characteristic Plant Extraction Laboratory Co., Ltd., Kunming, Yunnan 651000, China)

Abstract: [Objective] To evaluation the uncertainty of determination of methamidophos residues in vegetable oil by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. [Methods] A vegetable oil sample was detected by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and the recovery rate was determined at the same time. By analyzing the sources of uncertainty in the experimental process, the measurement uncertainty was ultimately evaluated. [Results] The residue amount of methamidophos in olive oil samples was not detected, and the uncertainty of the accuracy 1 sample was evaluated, The results were (0.018 ± 0.010) mg/kg. [Conclusion] In the uncertainty measurement process of methamidophos residue in vegetable oil, the influence of standard curve fitting, ultra-high liquid chromatography-mass spectrometry, and standard working solution is relatively large, while the influence of sample weighing, sample pretreatment, and sample repeatability determination is relatively small.

Keywords: vegetable oil; methamidophos; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; uncertainty

测量不确定度是实验室出具检测结果的一项溯源性证据^[1]。分析不确定度来源在整个测量不确定度过程中尤为重要, 而目前的相关法规及规范并未完全对不确定度来源进行非常详细、准确的界定。

目前, 全世界范围内的农作物生长过程中均需要使用农药进行干预, 而农药残留是消费者必须面对的食品安全问题。研究拟参照 GB 23200.121—2021、CNAS-GL006: 2019、JJF 1059.1—2012、RB/T 030—2020、GB/T

27418—2017、CNAS-CL01-G003: 2021 及文献[2—10], 对使用超高效液相色谱—质谱联用仪检测植物油中甲胺磷残留量的不确定度进行分析评定, 力求全面分析整个农药残留检测过程中不确定度来源, 从而保证检测质量。

1 仪器与材料

1.1 仪器设备

液相串联三重四极杆质谱仪: 1290 II -6470 型, 安捷伦科技有限公司;

基金项目: 平台建设专项(云南实验室建设)(编号: 2022YKZY001)

通信作者: 刘锐(1989—), 男, 云南云科特色植物提取实验室有限公司工程师。E-mail: 237980491@qq.com

收稿日期: 2023-07-09 **改回日期:** 2024-05-15

电子天平:MS4002TS/02型,梅特勒托利多科技(中国)有限公司;

离心机:Multifuge X1R型,赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.2 样品、试剂信息

橄榄油:植物油,实验室内部编号为202304Y0013,益海嘉里金龙鱼粮油食品股份有限公司;

乙腈、甲醇:色谱纯,默克化工技术(上海)有限公司;

甲酸:色谱纯,阿拉丁试剂(上海)有限公司;

甲酸铵:纯度 $\geq 99.0\%$,阿拉丁试剂(上海)有限公司;

氮气:纯度 $\geq 99.999\%$,昆明鹏翼达气体产品有限公司。

甲醇中甲胺磷:CAS号10265-92-6,标准值 $1\,000\,\mu\text{g/mL}$,相对扩展不确定度($k=2$)为 2% ,坛墨质检科技股份有限公司;

试验用水为一级水。

1.3 试验方法

1.3.1 标准溶液的制备

(1) 甲胺磷标准中间液($1.0\,\text{mg/L}$):准确吸取 $0.1\,\text{mL}$ 甲胺磷标准品溶液,用乙腈定容。

(2) 甲胺磷标准工作溶液:分别准确吸取 $25, 50, 250, 500, 2\,500\,\mu\text{L}$ 甲胺磷标准中间液,用植物油空白基质溶液定容,摇匀,备用。

1.3.2 仪器条件 色谱柱为AgilentInfinityLab Poroshell 120 SB- C_{18} , $2.1\,\text{mm} \times 100\,\text{mm}$, $2.7\,\mu\text{m}$;流动相:A为甲酸铵—甲酸水溶液($2\,\text{mmol/L}$),B为甲酸铵—甲酸甲醇溶液($2\,\text{mmol/L}$)。流速 $0.4\,\text{mL/min}$;柱温 $25.0\,^{\circ}\text{C}$;进样体积 $0.2\,\mu\text{L}$;离子源为AJS ESI, Positive, $350\,^{\circ}\text{C}$;干燥气 $250\,^{\circ}\text{C}$, $7\,\text{L/min}$;鞘气 $350\,^{\circ}\text{C}$, $11\,\text{L/min}$;喷雾器压力 $206.85\,\text{kPa}$;毛细管电压 $3\,000\,\text{V}$;多反应监测模式。流动相梯度洗脱程序见表1,甲胺磷的离子对信息见表2。

表1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Mobile phase gradient table

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
1.00	95.00	5.00
1.50	85.00	15.00
2.00	68.00	32.00
2.10	2.00	98.00
4.00	2.00	98.00
4.10	95.00	5.00
6.50	95.00	5.00

1.3.3 样品制备 称取 $2\,\text{g}$ 植物油(精确至 $0.000\,1\,\text{g}$)于塑料离心管中,加入 $5\,\text{mL}$ 蒸馏水,加入 $10\,\text{mL}$ 乙腈及1颗均质子,剧烈振摇 $1\,\text{min}$,加入盐包(含 $4\,\text{g}\,\text{MgSO}_4$ 、 $1\,\text{g}\,\text{NaCl}$ 、 $1\,\text{g}\,\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.5\,\text{g}\,\text{HOC}(\text{COOH})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$),加盖,剧烈振摇 $1\,\text{min}$, $4\,200\,\text{r/min}$ 离心 $5\,\text{min}$ 。

表2 离子对表

Table 2 Ion pair table

保留时间/min	定量离子对(m/z)	CE/V	定性离子对(m/z)	CE/V
1.73	142, 94	12	142, 125	10

吸取适量上清液(乙腈层)至净化管(含 $1\,200\,\text{mg}\,\text{MgSO}_4$ 、 $400\,\text{mg}\,\text{PSA}$ 及 $400\,\text{mg}\,\text{C}_{18}$)中,涡旋 $1\,\text{min}$ 。 $4\,200\,\text{r/min}$ 离心 $5\,\text{min}$,上清液过滤膜,待测。

1.3.4 数学模型 试样中甲胺磷残留量按式(1)、式(2)进行计算。

$$\omega = \frac{\rho_1 \times A \times V \times 1\,000}{A_s \times m \times 1\,000}, \quad (1)$$

$$\omega = \frac{c \times V \times F}{m}, \quad (2)$$

式中:

ω ——甲胺磷残留量, mg/kg ;

ρ_1 ——标准工作溶液中甲胺磷质量浓度, mg/L ;

A ——试样溶液中甲胺磷的质量色谱图峰面积;

A_s ——标准工作溶液中甲胺磷的质量色谱图峰面积;

c ——试样溶液中甲胺磷质量浓度, mg/L ;

V ——试样溶液中加入乙腈/乙腈—乙酸溶液体积, mL ;

F ——试样溶液稀释倍数;

m ——试样称样量, g 。

1.3.5 不确定度来源分析 按图1进行不确定度来源分析。

2 结果与分析

2.1 相对标准不确定度评定

2.1.1 样品称量引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(m)$ 试验所用电子分析天平,称量范围为 $0\sim 220\,\text{g}$ 的称取质量为 $2\,\text{g}$ 。

(1) 天平称量引入的不确定度 $u_1(m)$:根据天平检定证书,实际分度值为 $0.1\,\text{mg}$,天平的称量不确定度按均匀分布,包含因子为 $\sqrt{3}$,采用B类评定方法,则天平称量引入的标准不确定度 $u_1(m) = \frac{0.1\,\text{mg}}{\sqrt{3}} = 0.057\,74\,\text{mg}$ 。

(2) 天平示值误差引入的不确定度 $u_2(m)$:根据天平检定证书,当 $0\,\text{g} \leq m \leq 50\,\text{g}$ 时,天平示值误差的最大允许误差为 $\pm 0.5\,\text{mg}$,天平的称量不确定度按均匀分布,包含因子为 $\sqrt{3}$,采用B类评定方法,天平示值误差引入的不确定度 $u_2(m) = \frac{0.5\,\text{mg}}{\sqrt{3}} = 0.288\,7\,\text{mg}$ 。

采用减重法对样品进行称量,此期间共有2次称量活动,两项合成样品称量引入的相对标准不确定度

$$u_{\text{rel}}(m) = \frac{\sqrt{u_1^2(m) \times 2 + u_2^2(m) \times 2}}{2\,\text{g} \times 10^3} = 0.000\,208\,2。$$

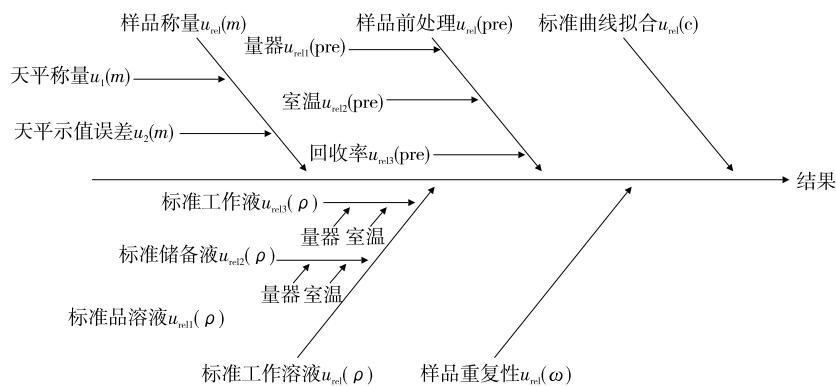


图 1 甲胺磷测定过程中不确定度影响因素

Figure 1 Factors affecting the uncertainty in the determination of methamidophos

2.1.2 甲胺磷标准工作溶液引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(\rho)$

(1) 甲胺磷标准品溶液引入的相对标准不确定度 $u_{rel,1}(\rho)$: 甲醇中甲胺磷标准物质证书中标注, 标准值为 $1\,000\,\mu\text{g/mL}$, 相对扩展不确定度为 $U_{rel}=2\%(k=2)$ 。则甲胺磷标准品溶液引入的相对标准不确定度 $u_{rel,1}(\rho)=\frac{U_{rel}}{k}=0.01$ 。

(2) 甲胺磷标准中间液配制引入的相对标准不确定度 $u_{rel,2}(\rho)$

① 甲胺磷标准中间液配制过程中使用的量器引入的相对标准不确定度 $u_{rel,2(V)}(\rho)$: 配制过程中使用了量程为 $10\sim 100\,\mu\text{L}$ 的移液器, 移取 $100\,\mu\text{L}$ 甲胺磷标准品溶液至 $100\,\text{mL}$ 容量瓶中, 用乙腈定容。按照 JJG 646—2006《移液器检定规程》和 JJG 196—2006《常用玻璃量器检定规程》, 移液器允许误差为 $\pm 0.002\,\text{mL}$, 容量瓶允许误差为 $\pm 0.10\,\text{mL}$, 包含因子为 $\sqrt{3}$, 采用 B 类评定方法, 则相对标准不确定度为: $u_{rel,2(V),\text{移液器}}(\rho)=\frac{0.002\,\text{mL}}{\sqrt{3}\times 100\,\mu\text{L}\times 10^{-3}}=$

$$0.011\,55, \quad u_{rel,2(V),\text{容量瓶}}(\rho)=\frac{0.10\,\text{mL}}{\sqrt{3}\times 100\,\text{mL}}=0.000\,577\,4,$$

$$u_{rel,2(V)}(\rho)=\sqrt{u_{rel,2(V),\text{移液器}}^2(\rho)+u_{rel,2(V),\text{容量瓶}}^2(\rho)}=0.011\,56。$$

② 甲胺磷标准中间液配制中室温变化引入的相对标准不确定度 $u_{rel,2(t)}(\rho)$: 配制甲胺磷标准中间液当日中央实验台区域温度为 $25.5\,^{\circ}\text{C}$, 按 JJG 646—2006 和 JJG 196—2006, 标准温度为 $20\,^{\circ}\text{C}$, 试验温度与标准温度差值为 $5.5\,^{\circ}\text{C}$, 乙腈膨胀系数为 $0.001\,37\,^{\circ}\text{C}^{-1}$, 移液器容量变化为 $100\,\mu\text{L}\times 10^{-3}\times 5.5\times 0.001\,37=0.000\,753\,5\,\text{mL}$, 容量瓶容量变化为 $100\,\text{mL}\times 5.5\times 0.001\,37=0.753\,5\,\text{mL}$, 包含因子为 $\sqrt{3}$, 采用 B 类评定方法, 则相对标准不确定度分别为: $u_{rel,2(t),\text{移液器}}(\rho)=\frac{0.000\,753\,5\,\text{mL}}{\sqrt{3}\times 100\,\mu\text{L}\times 10^{-3}}=0.004\,350,$

$$u_{rel,2(t),\text{容量瓶}}(\rho)=\frac{0.753\,5\,\text{mL}}{\sqrt{3}\times 100\,\text{mL}}=0.004\,350, \quad u_{rel,2(t)}(\rho)=$$

$$\sqrt{u_{rel,2(t),\text{移液器}}^2(\rho)+u_{rel,2(t),\text{容量瓶}}^2(\rho)}=0.006\,152。$$

甲胺磷标准中间液配制引入的相对标准不确定度

$$u_{rel,2}(\rho)=\sqrt{u_{rel,2(V)}^2(\rho)+u_{rel,2(t)}^2(\rho)}=0.013\,10。$$

(3) 甲胺磷工作溶液配制引入的相对标准不确定度

$$u_{rel,3}(\rho)$$

① 甲胺磷标准工作曲线溶液配制使用的量器引入的相对标准不确定度 $u_{rel,3(V)}(\rho)$: 配制甲胺磷标准工作曲线溶液中, 使用了 $10\sim 100, 100\sim 1\,000, 0.5\sim 5.0\,\text{mL}$ 的移液器和 5 个 $10\,\text{mL}$ 容量瓶, 分别移取 $25, 50, 250, 500, 2\,500\,\mu\text{L}$ 甲胺磷标准中间液至 $10\,\text{mL}$ 容量瓶中, 用空白基质溶液定容并摇匀。移取 $25\,\mu\text{L}$ 时移液器允许误差为 $\pm 0.002\,\text{mL}$, 移取 $50\,\mu\text{L}$ 时移液器允许误差为 $\pm 0.001\,5\,\text{mL}$, 移取 $250\,\mu\text{L}$ 时移液器允许误差为 $\pm 0.005\,\text{mL}$, 移取 $500\,\mu\text{L}$ 时移液器允许误差为 $\pm 0.005\,\text{mL}$, 移取 $2\,500\,\mu\text{L}$ 时移液器允许误差为 $\pm 0.012\,5\,\text{mL}$, 容量瓶允许误差为 $\pm 0.020\,\text{mL}$, 包含因子为 $\sqrt{3}$, 采用 B 类评定方法, 则相对标准不确定度为:

$$u_{rel,3(V),25\,\mu\text{L}}(\rho)=\frac{0.002\,\text{mL}}{\sqrt{3}\times 25\,\mu\text{L}\times 10^{-3}}=0.046\,19,$$

$$u_{rel,3(V),50\,\mu\text{L}}(\rho)=\frac{0.001\,5\,\text{mL}}{\sqrt{3}\times 50\,\mu\text{L}\times 10^{-3}}=0.017\,32,$$

$$u_{rel,3(V),250\,\mu\text{L}}(\rho)=\frac{0.005\,\text{mL}}{\sqrt{3}\times 250\,\mu\text{L}\times 10^{-3}}=0.011\,55,$$

$$u_{rel,3(V),500\,\mu\text{L}}(\rho)=\frac{0.005\,\text{mL}}{\sqrt{3}\times 500\,\mu\text{L}\times 10^{-3}}=0.005\,774,$$

$$u_{rel,3(V),2\,500\,\mu\text{L}}(\rho)=\frac{0.012\,5\,\text{mL}}{\sqrt{3}\times 2\,500\,\mu\text{L}\times 10^{-3}}=0.002\,887,$$

$$u_{rel,3(V),\text{容量瓶}}(\rho)=\frac{0.020\,\text{mL}}{\sqrt{3}\times 10\,\text{mL}}=0.001\,155,$$

$$u_{\text{rel},3(V)}(\rho)=$$

$$\sqrt{u_{\text{rel},3(V),25\mu\text{L}}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(V),50\mu\text{L}}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(V),250\mu\text{L}}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(V),500\mu\text{L}}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(V),2500\mu\text{L}}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(V),\text{容量瓶}}^2(\rho)}\times 5=0.05114。$$

② 甲胺磷标准工作溶液配制过程中室温变化引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},3(t)}(\rho)$: 配制甲胺磷标准中间液当日中央实验台区域温度为 25.5℃, 标准温度为 20℃, 试验温度与标准温度差值为 5.5℃, 乙腈膨胀系数为 $0.00137\text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$, 移取 25 μL 时移液器容量变化为 $25\mu\text{L}\times 10^{-3}\times 5.5\times 0.00137=0.0001884\text{ mL}$, 移取 50 μL 时移液器容量变化为 $50\mu\text{L}\times 10^{-3}\times 5.5\times 0.00137=0.0003768\text{ mL}$, 移取 250 μL 时移液器容量变化为 $250\mu\text{L}\times 10^{-3}\times 5.5\times 0.00137=0.001884\text{ mL}$, 移取 500 μL 时移液器容量变化为 $500\mu\text{L}\times 10^{-3}\times 5.5\times 0.00137=0.003768\text{ mL}$, 移取 2500 μL 时移液器容量变化为 $2500\mu\text{L}\times 10^{-3}\times 5.5\times 0.00137=0.01884\text{ mL}$, 容量瓶容量变化为 $10\text{ mL}\times 5.5\times 0.00137=0.07535\text{ mL}$,

$$u_{\text{rel},3(t)}(\rho)=$$

$$\sqrt{u_{\text{rel},3(t),25\mu\text{L}}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(t),50\mu\text{L}}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(t),250\mu\text{L}}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(t),500\mu\text{L}}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(t),2500\mu\text{L}}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(t),\text{容量瓶}}^2(\rho)}\times 5=0.009728。$$

甲胺磷标准工作液配制引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},3}(\rho)=\sqrt{u_{\text{rel},3(V)}^2(\rho)+u_{\text{rel},3(t)}^2(\rho)}=0.05205。$

因此, 甲胺磷标准工作溶液引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(\rho)=\sqrt{u_{\text{rel},1}^2(\rho)+u_{\text{rel},2}^2(\rho)+u_{\text{rel},3}^2(\rho)}=0.05460。$

2.1.3 样品前处理引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{pre})$

(1) 样品前处理过程中加入乙腈所使用的量器引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},1}(\text{pre})$: 样品经称量后, 使用量程为 1~10 mL 的移液器, 移取 10 mL 乙腈至样品瓶中, 再进行其他步骤操作, 除移液器外, 未使用其他量器。移液器允许误差为 $\pm 0.06\text{ mL}$, 包含因子为 $\sqrt{3}$, 采用 B 类评定方法, 则相对标准不确定度为 $u_{\text{rel},1}(\text{pre})=\frac{0.06\text{ mL}}{\sqrt{3}\times 10\text{ mL}}=0.003464。$

(2) 样品前处理过程中加入乙腈时室温变化引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},2}(\text{pre})$: 样品配制当日中央实验台

包含因子为 $\sqrt{3}$, 采用 B 类评定方法, 则相对标准不确定度分别为 $u_{\text{rel},3(t),25\mu\text{L}}(\rho)=\frac{0.0001884\text{ mL}}{\sqrt{3}\times 25\mu\text{L}\times 10^{-3}}=4.350\times 10^{-9}$,

$$u_{\text{rel},3(t),50\mu\text{L}}(\rho)=\frac{0.0003768\text{ mL}}{\sqrt{3}\times 50\mu\text{L}\times 10^{-3}}=4.350\times 10^{-9},$$

$$u_{\text{rel},3(t),250\mu\text{L}}(\rho)=\frac{0.001884\text{ mL}}{\sqrt{3}\times 250\mu\text{L}\times 10^{-3}}=4.350\times 10^{-9},$$

$$u_{\text{rel},3(t),500\mu\text{L}}(\rho)=\frac{0.003768\text{ mL}}{\sqrt{3}\times 500\mu\text{L}\times 10^{-3}}=4.350\times 10^{-9},$$

$$u_{\text{rel},3(t),2500\mu\text{L}}(\rho)=\frac{0.01884\text{ mL}}{\sqrt{3}\times 2500\mu\text{L}\times 10^{-3}}=4.350\times 10^{-9},$$

$$u_{\text{rel},3(t),\text{容量瓶}}(\rho)=\frac{0.07535\text{ mL}}{\sqrt{3}\times 10\text{ mL}}=4.350\times 10^{-9},$$

区域温度为 25.5℃, 标准温度为 20℃, 试验温度与标准温度差值为 5.5℃, 乙腈膨胀系数为 $0.00137\text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$, 移液器容量变化为 $10\text{ mL}\times 5.5\times 0.00137=0.07535\text{ mL}$, 包含因子为 $\sqrt{3}$, 采用 B 类评定方法, 则相对标准不确定度 $u_{\text{rel},2}(\text{pre})=\frac{0.07535\text{ mL}}{\sqrt{3}\times 10\text{ mL}}=0.004350。$

(3) 样品前处理步骤对甲胺磷测定结果回收率的影响引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},3}(\text{pre})$: 在样品处理过程中, 样品经过前处理步骤, 可能会对目标化合物的提取造成影响, 所以需要使用加标回收方法对前处理方法进行正确度评估。由于植物油样品中未检出甲胺磷, 所以称取植物油样品 6 份进行加标, 作为正确度 1 样品 (使用甲胺磷质量浓度为 1.0 mg/L 的标准中间液, 加标体积为 40 μL), 分别测定一次。测定数据呈正态分布, 结果见表 3。

不确定度评估采用 B 类评定方法, 则相对不确定度

表 3 回收率结果

Table 3 Recovery rate result

样品号	称样量/g	测得量/ (mg·kg ⁻¹)	测得量均值/ (mg·kg ⁻¹)	原有量/ (mg·kg ⁻¹)	加标量/ (mg·kg ⁻¹)	回收率/%
1	1.986 2	0.017 6	0.018	未检出	0.020 1	87.5
2	2.002 5	0.018 0			0.020 0	90.0
3	2.009 5	0.017 9			0.019 9	90.0
4	2.003 4	0.017 5			0.020 0	87.5
5	2.006 3	0.017 9			0.019 9	90.0
6	2.005 5	0.018 4			0.019 9	92.5

$$u_{rel,3}(pre)=\sqrt{\frac{(Rec_{max}-Rec_{min})^2}{12}}=0.014\,43。$$

因此,样品前处理引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(pre)=\sqrt{u_{rel,1}^2(pre)+u_{rel,2}^2(pre)+u_{rel,3}^2(pre)}=0.016\,23。$

2.1.4 样品重复性测定引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(\omega)$ 因样品中未检出甲胺磷,所以采用正确度 1 样品进行重复性测定,平行制备正确度 1 样品 7 份,每份正确度 1 样品在相同试验条件和相同仪器条件下分别测定 1 次,结果见表 4。

表 4 样品重复性结果

Table 4 Sample repeatability results

样品号	响应值	称样量/g	测定结果/ (mg·kg ⁻¹)	结果平均值/ (mg·kg ⁻¹)
1	510	1.986 2	0.017 6	0.018
2	532	2.002 5	0.018 0	
3	537	2.009 5	0.017 9	
4	509	2.003 4	0.017 5	
5	536	2.006 3	0.017 9	
6	542	2.005 5	0.018 4	
7	513	1.987 7	0.017 6	

不确定度评估采用 A 类评定方法(贝塞尔法),则相对不确定度标准偏差 $s(\omega)=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n=7}(\omega_i-\bar{\omega})^2}{n-1}}=0.000\,310\,1$,标准不确定度 $u(\omega)=\frac{s(\omega)}{\sqrt{n}}=0.000\,117\,2$, $u_{rel}(\omega)=\frac{u(\omega)}{\bar{\omega}}=0.006\,570。$

2.1.5 标准系列工作曲线拟合引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(c)$ 试验针对 5 个浓度的标准系列工作曲线溶液,分别测定 1 次,标准曲线测定结果见表 5。

参照 JJF 1059.1—2012,标准系列工作曲线的拟合结果所产生的标准偏差 $S_x=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n=5}(y-y_i)^2}{mn-2}}=206.643\,0。$ 使用上述标准工作系列溶液进行样品测定,对被测

样品(正确度 1 样品)重复测定 7 次 $p=7$,由标准曲线线性回归方程计算得到正确度 1 样品的浓度为 $x_0=0.003\,6\,\text{mg/L}$,按最小二乘法拟合的不确定度分量计算方法计算标准不确定度, $u(c)=\frac{S_x}{a}\sqrt{\frac{1}{p}+\frac{1}{mn}+\frac{(x_0-\bar{x})^2}{\sum_{i=1}^{n=5}(x_i-\bar{x})^2}}=0.000\,848\,9$,则标准系列工作曲线拟合结果所引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(c)=\frac{u(c)}{x_0}=0.235\,8。$

2.2 合成标准不确定度 $u_c(y)$

根据以上各分量的相对标准不确定度,合成相对标准不确定度 $u_{rel}=\sqrt{u_{rel}^2(m)+u_{rel}^2(\rho)+u_{rel}^2(pre)+u_{rel}^2(\omega)+u_{rel}^2(c)}=0.242\,9。$

根据正确度 1 样品检测结果,最终样品残留量为 $0.018\,\text{mg/kg}$,合成标准不确定度 $u_c(y)=u_{rel}\times 0.018\,\text{mg/kg}=0.004\,372\,\text{mg/kg}。$

2.3 扩展不确定度 U

参照 RB/T 030—2020、GB/T 27418—2017 和 CNAS-CL01-G003:2021,植物油中甲胺磷残留量测定的扩展不确定度可判定为近似正态分布,故设置包含因子 $k=2$,置信概率 95%,则植物油中甲胺磷残留量测定的扩展不确定度 $U=ku_c(y)=0.008\,743\,\text{mg/kg}。$

2.4 测量结果报告

按照 GB 23200.121—2021 方法检测正确度 1 样品,评估试验过程中的不确定因素,得到正确度 1 样品中甲胺磷残留量的测定结果,表示为 $\omega=(0.018\pm 0.010)\,\text{mg/kg}$,其中扩展不确定度 $U=0.010$, U 是由 $u_c(y)(u_c(y)=0.004\,372\,\text{mg/kg})$ 和 $k(k=2)$ 确定的, k 是基于正态分布得到的,置信区间具有约 95% 的包含概率。

从评定结果可以看出,使用超高液相色谱—质谱联用仪测定橄榄油中甲胺磷残留量时,根据比较各分量的相对标准不确定度大小,最终判定影响试验不确定度的主要因素为标准曲线拟合,其次是标准工作溶液配制,其他因素对不确定度的评定影响较小。

表 5 标准曲线线性拟合结果

Table 5 Linear fitting result of standard curve

标准工作溶液质量浓度/(mg·L ⁻¹)	标准工作溶液平均质量浓度/(mg·L ⁻¹)	响应值 y	线性回归方程	斜率 a	截距 b	相关系数	响应值
0.002 5	0.066 5	362	$y=160\,315.927\,879x-$	160 315.927 879	-45.827 627	0.999 7	354.96
0.005 0		763	45.827 627				755.75
0.025 0		3 960					3 962.07
0.050 0		7 711					7 969.97
0.250 0		40 280					40 033.15

3 结论

研究从5个方面深刻剖析了不确定度来源,根据各不确定度来源的特点,分别使用了不确定度A类和B类评定方法,准确合理地对各不确定度分量进行计算,最终进行合成及扩展不确定度评定。在后续类似的农药残留量检测工作中,可以从以下方面进行优化,以降低测量不确定度,提高检测结果的可靠性和准确性:①增加标准工作曲线的浓度点,同时对每个浓度点进行多次测定;②对实验室所用量器及设备进行定期检定/校准,使用检定/校准合格的设备及量器开展检测工作;③对样品前处理过程使用的关键试剂/耗材进行多方面的技术验收,降低试剂/耗材对方法回收率的影响;④制备标准系列工作曲线溶液时,尽可能降低对其的稀释频次;⑤检测过程中尽量将实验室温度控制在20℃左右,减少温度对体积的影响;⑥检测过程中必须严格按照国家检验标准执行。

参考文献

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL01-G002: 2021 测量结果的计量溯源性要求[S/OL]. (2021-08-03) [2023-05-31]. <https://www.cnas.org.cn/rkgf/sysrk/rkyzz/2021/08/906163.shtml>. China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-CL01-G002: 2021 requirements on the traceability of measurement results[S/OL]. (2021-08-03) [2023-05-31]. <https://www.cnas.org.cn/rkgf/sysrk/rkyzz/2021/08/906163.shtml>.
- [2] 张丽霞, 郭庆园, 华启诚, 等. GC-MS法测定保健食品中他汀类药物含量的不确定度评定[J]. 食品与机械, 2022, 38(6): 79-84. ZHANG L X, GUO Q Y, HUA Q C, et al. Uncertainty evaluation on determination of statins in health food by gas chromatography mass spectrometry(GC-MS) [J]. Food & Machinery, 2022, 38(6): 79-84.
- [3] 白荣汉. 气相色谱内标法测定塑料制品中乙苯和苯乙烯含量的不确定度评定[J]. 包装工程, 2023, 44(19): 223-228. BAI R H. Evaluation of uncertainty in determination of ethylbenzene and styrene in plastic products by GC internal standard method[J]. Packaging Engineering, 2023, 44(19): 223-228.
- [4] 龙锦林, 王春丽, 陶银凤, 等. 高效液相色谱法测定植物油中游离棉酚的不确定度评定[J]. 食品与机械, 2021, 37(4): 76-79. LONG J L, WANG C L, TAO Y F, et al. Uncertainty evaluation for determination of free gossypol in vegetable oil by high performance liquid chromatography[J]. Food & Machinery, 2021, 37(4): 76-79.
- [5] 李俊, 蔡滔, 代虹镜, 等. 基于气相色谱质谱法测定茶叶中哒螨灵等9种农药残留量的测量不确定度评定[J]. 食品工业科技, 2022, 43(14): 311-322. LI J, CAI T, DAI H J, et al. Evaluation of measurement uncertainty for the determination of pyridaben and other nine pesticide residues in tea by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(14): 311-322.
- [6] 袁圆, 曾辉, 肖艳, 等. 高效液相色谱法测定橙汁中酸性大红GR的不确定度评定[J]. 食品与机械, 2022, 38(6): 88-92. YUAN Y, ZENG H, XIAO Y, et al. Evaluation of uncertainty in the determination of acid scarlet GR in orange juice by high performance liquid chromatography[J]. Food & Machinery, 2022, 38(6): 88-92.
- [7] 徐幸, 张燕, 舒平, 等. 高效液相色谱—串联质谱同位素内标法测定鸡肉中头孢菌素的不确定度评定[J]. 食品工业科技, 2022, 43(8): 312-319. XU X, ZHANG Y, SHU P, et al. Evaluation of uncertainty in determination of cephalosporins in chicken by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry isotope internal standard method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(8): 312-319.
- [8] 翟洪稳, 范素芳, 王娟, 等. 测量不确定度在食品检验中的应用及进展[J]. 食品科学, 2021, 42(5): 314-320. ZHAI H W, FAN S F, WANG J, et al. Recent progress in measurement uncertainty and its application in food inspection and detection[J]. Food Science, 2021, 42(5): 314-320.
- [9] 韩瑨, 罗芸, 王传兴, 等. HPLC-MS/MS测定新疆驼乳粉中氯酸盐与高氯酸盐含量的不确定度评定[J]. 中国乳品工业, 2023, 51(4): 52-58. HAN J X, LUO Y, WANG C X, et al. Evaluation of uncertainty in determination of chlchlorite and perchlorate in infant formula by HPLC-MS/MS[J]. China Dairy Industry, 2023, 51(4): 52-58.
- [10] 杨军林, 程平言, 蒋力力, 等. UPLC-Q/Orbitrap HRMS测定白酒中氨基甲酸乙酯含量的不确定度分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(24): 239-246. YANG J L, CHENG P Y, JIANG L L, et al. Evaluation of uncertainty in determination of ethyl carbamate residues in Chinese Baijiu by UPLC-Q/Orbitrap HRMS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(24): 239-246.