

HPLC-MS/MS 测定枳壳中杀虫脒残留量的不确定度评定

杨 扬^{1,2}, 冯 京^{1,2}, 丁长丽^{1,2}, 马文睿^{1,2}, 张 倩^{1,2}, 甘 爽^{1,2}, 郭 丹^{1,2}, 王惠芬^{1,2}, 赵 欣^{1,2}, 尹云泽^{1,2*}, 周 鸿^{2,3*}

1. 津药达仁堂集团股份有限公司中药研究院, 天津 300457
2. 天津市中药质量控制企业重点实验室, 天津 300457
3. 津药达仁堂集团股份有限公司, 天津 300193

摘 要: 目的 对高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MS/MS) 测定枳壳中禁用农药杀虫脒残留量进行不确定度评估。方法 采用 HPLC-MS/MS 法对枳壳中杀虫脒残留量进行测定, 通过建立数学模型, 分析测定过程的主要不确定度来源, 对各个分量进行评估。结果 不确定性的主要来源是标准溶液的配制、工作曲线的拟合、重复性及加样回收率引入。当杀虫脒的残留量为 0.016 mg/kg 时, 扩展不确定度为 0.002 9 mg/kg ($k=2$)。结论 枳壳中禁用农药杀虫脒残留量测定结果准确且重现性好, 可用于枳壳中禁用农药多残留的质量控制; 建立的不确定度评定法适用于测定中药材及饮片中禁用农药残留量的不确定度分析。

关键词: 液相色谱-质谱联用法; 禁用农药残留; 杀虫脒; 枳壳; 不确定度

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)24-8574-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.24.024

Evaluation of uncertainties in determination of chlordimeform residue in *Aurantii Fructus* by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

YANG Yang^{1,2}, FENG Jing^{1,2}, DING Changli^{1,2}, MA Wenrui^{1,2}, ZHANG Qian^{1,2}, GAN Shuang^{1,2}, GUO Dan^{1,2}, WANG Huifen^{1,2}, ZHAO Xin^{1,2}, YIN Yunze^{1,2*}, ZHOU Hong^{2,3*}

1. Tianjin Pharmaceutial DA REN TANG Group Corporation Limited Traditional Chinese Pharmacy Research Institute, Tianjin 300457, China
2. Tianjin Key Laboratory of Quality Control in Traditional Chinese Medicine Research Institute, Tianjin 300457, China
3. Tianjin Pharmaceutial DA REN TANG Group Corporation Limited, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To evaluate the uncertainty of prohibited pesticide chlordimeform residue in Zhiqiao (*Aurantii Fructus*) determination by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The residue of chlordimeform in *Aurantii Fructus* was determined by HPLC-MS/MS. Through the establishment of mathematical model, the main sources of uncertainty in the measurement process were analyzed, and each component was evaluated. **Results** The main sources of uncertainty were the preparation of standard solution, the fitting of working curve, reproducibility and the recoveries of standard addition. When the residue of chlordimeform was 0.016 mg/kg, the expanded uncertainty was 0.002 9 mg/kg ($k=2$). **Conclusion** This method is suitable for the uncertainty analysis of chlordimeform residue by gas chromatography tandem mass spectrometry, and can provide scientific and reliable basis for the accuracy of pesticide residue measurement results.

Key words: liquid chromatography-tandem mass spectrometry; prohibited pesticide residue; chlordimeform; *Aurantii Fructus*; uncertainty

测量不确定度是表征合理地赋予被测量值的分散性和测量结果相关联的参数, 体现了实验室测量结果的准确性、可靠性和检测人员技术水平。开展检测的实验室应当评定测量不确定度^[1], 一方面

收稿日期: 2024-05-06

作者简介: 杨 扬 (1988—), 女, 内蒙古赤峰市人, 高级工程师, 从事中药质量研究工作。Tel: 15202284007 E-mail: xfy8885@126.com

*通信作者: 尹云泽, 高级工程师, 主要从事中药质量研究工作。Tel: 18722049418 E-mail: yinyunze@zx-innova.com

周 鸿, 正高级工程师, 主要从事中药生产管理、全生命周期质量体系建设和大品种二次开发工作。

Tel: 18526111797 E-mail: tjzhouhong@163.com

评估测量结果的可靠性, 另一方面也增强了测量结果之间的可比性。特别是当检测结果数据在规定的限量值附近时, 其数据的准确性可信度尤为重要, 检测结果直接影响到样品是否合格的判定。

基于人体用药健康考虑, 国家药品监管部门对于中药材质量控制提出了更高要求, 《中国药典》2020 年版四部通则“药材和饮片检定通则”^[2]中规定了 33 种禁用农药残留限量要求, 一些具有高毒性的农药被禁止使用。《中国药典》2020 年版四部通则“农药残留量测定法”中第五法“药材及饮片(植物类)中禁用农药多残留测定法”明确 33 种禁用农药化合物残留量检测方法^[2], 属于痕量级分析水平, 对仪器设备精度和人员能力要求较高, 检测过程复杂、影响因素众多。标准发布实施不足 3 年, 许多企业质控实验室还未具备独立检测的能力, 关于该方法不确定度评定的研究成果较少。在检验检测过程中, 实验室环境条件变化、溶液的配制以及样品制备过程、农药化合物极性、样本自身存在基质干扰成分等因素均会对各化合物检测结果的准确性产生较大影响, 其中以农药化合物杀虫脒最具代表性。因此, 进行测量不确定度评定具有重要意义, 可反映出测量结果的偏离情况, 亦可综合评估各个不确定度分量对合成标准不确定度的贡献, 有助于发现 33 种禁用农残检测过程中的关键点, 指导检测工作正确开展, 以获得更准确的检测结果, 严把中药材质量关。

本研究参照《测量不确定度评定与表示》^[3]和《化学分析中不确定度的评估指南的要求》^[4], 对枳壳中禁用农药杀虫脒在最大残留限量 0.02 mg/kg 水平进行不确定度评定, 分析各不确定度的分量及来源^[5-6], 通过建立数学模型, 对测定结果的不确定度进行评定, 反映测量的置信度和准确度, 帮助实验室更好地甄别检测过程中直接影响检测结果的关键因素, 为该实验过程的控制和结果准确性的评估提供了科学的依据。

1 仪器与试药

1290-6470B 型超高效液相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司); MS204TS 型万分之一电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); Multi Reax 型多孔涡旋振荡仪(德国 Heidolph 公司); TDL-5-A 型低速台式离心机(上海安亭公司)。

枳壳药材(产地江西)由津药达仁堂集团股份有限公司中药研究院尹云泽高级工程师鉴定为酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟

果实; 禁用农药对照品(批号 610001-202001, 杀虫脒质量浓度 4.2 $\mu\text{g/mL}$)购自中国食品药品检定研究院; 所用水为纯化水; 乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司); 甲酸(上海阿拉丁试剂有限公司)、甲酸铵(国药集团化学试剂有限公司)、冰醋酸(国药集团化学试剂有限公司)均为分析纯。

2 测定方法

2.1 色谱条件

色谱柱以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(型号 Poroshell 120SB-C₈ (100 mm $\times$ 2.1 mm, 2.7 μm , 安捷伦), 以 0.1%甲酸溶液(含 5 mmol/L 甲酸铵)为流动相 A, 以乙腈-0.1%甲酸溶液(含 5 mmol/L 甲酸铵)(95:5)为流动相 B, 梯度洗脱: 0~1 min, 2%~10% B; 1~17 min, 10%~75% B; 17~19 min, 75%~100% B; 19~21 min, 100% B; 体积流量为 0.3 mL/min, 进样量 2 μL , 柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2 质谱条件

以三重四极杆串联质谱仪为检测; 离子源为电喷雾离子源, 正离子扫描模式, 监测模式为多反应监测(MRM), 离子源电压 3.5 kV, 鞘气温度 325.0 $^{\circ}\text{C}$, 干燥气温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 干燥气流量 11.0 L/min, 鞘气流量 11.0 L/min, 定量离子对为 m/z 197.1 $\rightarrow$ 46.2, 定性离子对为 m/z 197.1 $\rightarrow$ 117.0 和 m/z 197.1 $\rightarrow$ 89.0, 碰撞电压依次为 36、18、45 V。

2.3 溶液制备

2.3.1 对照品溶液的制备 精密量取禁用农药混合对照品溶液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 即得含 0.42 $\mu\text{g/mL}$ 杀虫脒的对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备(快速样品处理法) 取供试品粉末(过三号筛)3 g, 精密称定, 置 50 mL 聚苯乙烯具塞离心管中, 加入 1%冰醋酸溶液 15 mL, 涡旋使药粉充分浸润, 放置 30 min, 精密加入乙腈 15 mL, 涡旋使混匀, 置振荡器上剧烈振荡(500 次/min)5 min, 加入无水硫酸镁与无水乙酸钠的混合粉末(4:1)7.5 g, 立即摇散, 再置振荡器上剧烈振荡(500 次/min)3 min, 于冰浴中冷却 10 min, 离心(4 000 r/min)5 min, 取上清液 9 mL, 置分散固相萃取净化管(无水硫酸镁 900 mg、*N*-丙基乙二胺 300 mg、十八烷基硅键合硅胶 300 mg、硅胶 300 mg、石墨化碳黑 90 mg)中, 涡旋使充分混匀, 置振荡器上剧烈振荡(500 次/min)5 min 使净化完全, 离心(4 000 r/min)5 min, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.3 空白基质溶液的制备 取空白基质样品,同“2.3.2”项方法处理制成空白基质溶液。

2.3.4 基质混合对照品溶液的制备 分别精密量取空白基质溶液 1.0 mL 至 1 mL 量瓶,置氮吹仪上,于 40 ℃ 适量浓缩,分别加入混合对照品工作溶液 2、4、10、20、40 μL ,加乙腈稀释至 1 mL,涡旋混匀,即得。

2.3.5 基质加样回收率考察溶液的制备 取空白基质样品粉末(过三号筛)3 g,精密称定,置 50 mL 聚苯乙烯具塞离心管中,精密加入 150 μL 混合对照品工作溶液,按“2.3.2”项方法,自“加入 1%冰醋酸溶液 15 mL”起,平行 6 份制备加样基质样品溶液,平行制备 6 份,用于随行回收率考察。

2.3.6 重复性试验溶液的制备 取空白基质样品粉末(过三号筛)3 g,精密称定,置 50 mL 聚苯乙烯具塞离心管中,精密加入 150 μL 混合对照品工作溶液,按“2.3.2”项方法,自“加入 1%冰醋酸溶液 15 mL”起,制备加样基质样品溶液,平行制备 6 份,用于重复性实验考察。

2.4 测定方法

分别精密吸取“2.3.2”和“2.3.4”项基质混合对照溶液和供试品溶液各 1 mL,精密加入水 0.3 mL,涡旋混匀,用微孔有机滤膜(0.22 μm)滤过,取续滤液,分别取上述 2 种溶液各 2.0 μL ,注入液相色谱串联质谱仪,按照“2.1”和“2.2”项仪器参数条件进行分析。以定量离子对峰面积为纵坐标(Y),对照品溶液质量浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,按外标标准曲线法计算,曲线方程为 $Y=3\,179.89X-62.53$ 。

3 不确定度的评定

3.1 建立数学模型

本法为外标法的标准曲线方式测定枳壳供试品中农药化合物杀虫脒的含量,其数学模型为

$$X=C_R \times A/A_S \times V_S/M_X$$

X 为供试品溶液中待测物残留量, C_R 为基质混合对照溶液中被测物的浓度, A 为供试品溶液中被测物的色谱峰面积, A_S 为基质混合对照溶液中被测物的色谱峰面积, V_S 为供试品最终定容体积, M_X 为供试品溶液所代表供试品的质量。

3.2 分析和识别不确定度的来源

根据建立的数学模型及样品的测定过程,分析影响枳壳中杀虫脒的不确定度的分量,其不确定度引入来源主要为标准溶液的配制过程、工作曲线的拟合、样品溶液的制备过程、样品重复性测试、样

品的加标回收率,每一种来源分别受不同因素的影响。根据不确定度的来源,分为线性最小二乘法校准曲线拟合的相对标准不确定度[$U_{\text{rel}}(X)$]、回收率相对标准不确定度[$U_{\text{rel}}(R)$]、测量的重复性相对标准不确定度[$U_{\text{rel}}(\text{rep})$]、对照品稀释相对标准不确定度[$U_{\text{rel}}(\text{STD})$]、系列标准工作溶液制备相对标准不确定度[$U_{\text{rel}}(\text{LV})$]、供试品溶液制备相对标准不确定度[$U_{\text{rel}}(\text{V})$]、供试品称量相对标准不确定度[$U_{\text{rel}}(\text{M})$]。

3.2.1 对照品工作溶液的稀释过程引入的相对标准不确定度[$U_{\text{rel}}(\text{STD})$] 禁用农药对照品由中国食品药品检定研究院提供,未提供不确定度数据,试验采用配制好的针剂型标准溶液,因此不考虑溶液配制过程中称量带来的不确定度分量,只涉及移液、定容及温度变化对试剂膨胀的影响带来的不确定度。

对照品工作溶液配制过程使用了 10 mL 量瓶和 1 mL 单标吸量管,按照《常用玻璃量器检定规程》(JJG 196-2006)^[7]的要求,用最大允许误差计算不确定度,按照三角分布,计算结果见表 1。

表 1 对照品溶液稀释过程量器引入的不确定度

Table 1 Relative uncertainty introduced during dilution process of reference solution

量器类型	使用次数	最大允许误差/ μL	标准不确定度	相对标准不确定度
10 mL 量瓶	1	-0.020~0.020	0.008 16	0.000 82
1 mL 单标吸量管	1	-0.007~0.007	0.002 86	0.002 86

实际温度与校准温度不同引入的不确定度(不确定度=体积 $\times$ 温差 $\times$ 溶剂膨胀系数/包含因子)中,本实验室的温度为 24.0 ℃,校准时的温度为 20.0 ℃,温差为 4 ℃,乙腈体积膨胀系数为 1.37×10^{-3} ,按照矩形分布,取包含因子(k)= $\sqrt{3}$,则 10 mL 量瓶和 1 mL 单标吸量管引入的相对标准不确定度分别为 0.031 64、0.003 16。

根据公式计算得到对照品工作溶液制备过程引入的 $U_{\text{rel}}(\text{STD})$ 为 0.009 31。

$$U_{\text{rel}}(\text{STD}) = \sqrt{\text{量器不确定度之和}^2 + \text{温差不确定度之和}^2}$$

3.2.2 基质混合标准工作溶液配制过程中引入的相对标准不确定度[$U_{\text{rel}}(\text{LV})$] 系列浓度基质混合标准工作溶液的制备过程使用了 1 mL 量瓶和 3 种不同量程(2~20、100~1 000、30~300 μL)的可调移液器,按照《常用玻璃量器检定规程》(JJG 196-2006)^[7]和《移液器检定规程》(JJG 646-2006)^[8]的要求,用最大允许误差计算不确定度,按照三角分布,取 $k=\sqrt{6}$,计算结果见表 2。根据公式计算

得 $U_{\text{rel}(\text{LV})}$ 为 0.072 14。

$$U_{\text{rel}(\text{LV})} = \sqrt{\text{仪器使用次数} \times \text{相对标准不确定度}^2}$$

3.2.3 基质混合标准工作曲线拟合时引入的相对标准不确定度 $[U_{\text{rel}(\text{X})}]$ 以基质混合标准工作溶液的测定结果进行线性拟合, 数据见表 3。

表 2 标准工作溶液制备过程引入的不确定度

Table 2 Relative uncertainty introduced in preparation process of standard working solution

移液器或容量瓶规格使用次数	最大允许 误差	标准不确定度	相对标准 不确定度
2 μL	1	-0.24~0.24	0.097 98
4 μL	1	-0.32~0.32	0.130 64
10 μL	1	-0.80~0.80	0.326 60
20 μL	1	-0.80~0.80	0.326 60
40 μL	2	-0.80~0.80	0.326 60
300 μL	5	-4.50~4.50	1.837 12
1 mL	5	-0.01~0.01	0.004 08

表 4 回归曲线的标准偏差相关数据

Table 4 Standard deviation of regression curve

质量浓度/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Y_i	Y	$ bX_i + a - Y_i $	$(bX_i + a - Y_i)^2$	$(X_i - \bar{X})^2$
0.840	2 905	2 608.58	296.42	87 866.24	30.74
1.680	5 496	5 279.69	216.31	46 792.09	22.13
4.200	13 329	13 293.01	35.99	1 295.42	4.77
8.400	25 643	26 648.55	1 005.55	1 011 122.76	4.06
16.800	53 817	53 359.62	457.38	209 194.63	108.49

根据 CNAS-GL06 《化学分析中不确定度的评估指南》, 标准曲线拟合时引入的不确定度 $[U_{\text{rel}(\text{X})}]$ 按公式计算为

$$U_{\text{rel}(\text{X})} = \frac{S_y}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(X_x - \bar{X})^2}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}}$$

式中 b 为标准曲线的斜率、 S_y 为回归曲线的标准偏差; p 为连续测试供试品溶液的次数, 本实验为 6; n 为测试标准溶液的次数, 本实验为 5; X_x 为试样的平均浓度; $\bar{X}$ 为标准溶液浓度平均值; X_i 为标准溶液各工作液浓度, 将数据带入公式, 即可知 $U_{\text{rel}(\text{X})}$ 为 0.138 47 ng/mL 。

计算标准工作溶液制备过程的合成相对标准不确定度 $[U_{\text{rel}(\text{X})} = U_{\text{rel}(\text{X})}/X]$ 为 0.044 23。

3.2.4 供试品制备过程中引入的相对标准不确定度 供

表 3 标准工作曲线相关数据

Table 3 Data of standard curve

水平	质量分数/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	峰面积
1	0.004 2	2 905
2	0.008 4	5 496
3	0.021 0	13 329
4	0.042 0	25 643
5	0.084 0	53 817

线性拟合方程: $Y = 3\,179.89X - 62.53$, 其中截距 (a) = -62.53, 斜率 (b) = 3 179.89, 相关系数 (r) = 0.999 6。式中 Y 为响应值; X 为测定中杀虫脒的质量分数。

根据标准溶液的杀虫脒的质量分数 (X), 利用标准曲线求得杀虫脒质谱峰面积的理论值 (Y), 计算实际峰面积值 (Y_i) 与 Y 的残差 $[Y_i - (bX_i + a)]$ 。计算求得残差标准偏差 (S_y) 为 672.376 67。回归曲线的标准偏差相关数据见表 4。

$$S_y = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{i=1}^n (Y_i - Y)^2}$$

试品制备过程中引入的不确定度由天平称量 $[U_{\text{rel}(\text{M})}]$ 、溶液制备过程中试剂量取 $[U_{\text{rel}(\text{Vt})}]$ 分别引入。

(1) 天平的可读性 (数字分辨率) 引入的不确定度: 所用电子天平 ($d=0.1 \text{ mg}$) 可读的最小有效数字为 0.1 mg , 按照矩形分布, 则取 $k=\sqrt{3}$, 则其标准不确定度 $[U_{\text{rel}(\text{M1})} = \text{最小有效数字}/\sqrt{3}]$ 为 0.028 87 mg 。

天平的线性引入的不确定度: 所用电子天平依据可使用的分度值 ($d=0.1 \text{ mg}$) 其示值误差为 0.2 mg (0~50 g), 按照矩形分布, 则取 $k=\sqrt{3}$, 则其标准不确定度 $[U_{\text{rel}(\text{M2})} = \text{示值误差}/\sqrt{3}]$ 为 0.115 47 mg 。

本法为减重法称定, 线性不确定度分量应重复计算 2 次, 一次是皮质量, 另一次是总质量, 产生的不确定度 $[U_{\text{rel}(\text{M3})} = \sqrt{\text{计算次数} \times U_{\text{rel}(\text{M2})}^2}]$ 为 0.163 30 mg 。

供试品称量过程中引入的标准不确定度为 0.165 83 mg [$U_{(M)} = \sqrt{U_{(M-1)}^2 + U_{(M-3)}^2}$], $U_{rel(M)}$ 为 0.000 06]。

$U_{rel(M)} = U_{(M)} / \text{称量质量}$

(2) 移液器引入的相对标准不确定度 [$U_{rel(Vt)}$]:

样品制备过程严格按照标准操作规程, 样品前处理中, 使用了 10 mL、1000 μL 和 300 μL 移液器, 按照《移液器检定规程》(JJG 646-2006) [8] 的要求, 用最大允许误差计算不确定度, 按照三角分布, 取 $k = \sqrt{6}$, 计算结果见表 6。

表 6 样品制备过程移液器引入的相对标准不确定度

sample preparation process				
移液器	使用次数	最大允许误差/ μL	标准不确定度	相对标准不确定度
10 mL	1	-60.0~60.0	24.494 90	0.002 45
1 000 μL	1	-8.0~8.0	3.265 99	0.003 27
300 μL	1	-4.5~4.5	1.83 712	0.006 12

溶剂为乙腈, 温度变化引起的不确定度主要为 10 mL 移液器引入, 实验室与校准温度温差为 4 $^{\circ}\text{C}$, 乙腈的体积膨胀系数为 $1.37 \times 10^{-3} / ^{\circ}\text{C}$, 按照矩形分布, 取包含因子 $k = \sqrt{3}$, 则温差引入的标准不确定度为 $10 \times 1.37 \times 10^{-3} \times 4 / \sqrt{3} = 0.031 6 \text{ mL}$ 。

由样品制备过程引入的相对不确定度 ($U_{rel(Vt)} = \sqrt{0.002 45^2 + 0.003 27^2 + 0.006 12^2 + 0.031 6^2}$) 为 0.008 01。

3.2.5 添加回收率引入的相对标准不确定度 $U_{rel(R)}$ 的评定 按加样回收率试验, 对枳壳样品 (空白基质) 进行禁用农药化合物混合对照品的添加, 以杀虫脒表示, 在 0.02 mg/kg 添加水平, 重复 6 次加标回收试验, 杀虫脒回收率数据见表 7。

$$U_{rel(P)} = \sqrt{U_{rel(STD)}^2 + U_{rel(X)}^2 + U_{rel(R)}^2 + U_{rel(rep)}^2 + U_{rel(LV)}^2 + U_{rel(Vt)}^2 + U_{rel(M)}^2}$$

3.4 计算扩展标准不确定度 (U_{95})

当测试样品枳壳中测得禁用农药杀虫脒残留量为 0.016 mg/kg 时, 其 $U_{rel(P)}$ 为 0.001 43 mg/kg。

根据 JJF 1135-2005 《化学分析测量不确定度评定》, 在 95% 置信水平下, 取 $k = 2$, 则 U_{95} 为 0.002 86 mg/kg, 修约为 0.002 9 mg/kg。

$$U_{95} = k \times U_{rel(P)}$$

结果表明, 用高效液相色谱-质谱联用法测定枳壳中杀虫脒的残留量, 结果为 $(0.016 0 \pm 0.002 9) \text{ mg/kg}$, $k = 2$ 。

回收率引入的相对标准不确定度 [$U_{rel(R)}$] 为 0.025 68。

$U_{rel(R)} = \text{加样回收率标准偏差} / \text{加样回收率平均值}$

3.2.6 重复性实验引入的相对标准不确定度 [$U_{rel(rep)}$] 的评定 按加样回收率试验, 对枳壳样品 (空白基质) 进行禁用农药化合物混合对照品的添加, 以杀虫脒表示, 在 0.02 mg/kg 添加水平, 重复 6 次加样回收率试验, 测得杀虫脒质量分数的重复性数据见表 8。计算得 $U_{rel(rep)}$ 为 0.020 45。

$U_{rel(rep)} = \text{重复性标准偏差} / \text{重复性平均值}$

表 7 加样回收试验结果

Table 7 Results of spiked recovery test

添加水平/(mg·kg ⁻¹)	回收率/%	平均值/%	标准偏差/%
0.02	78.2	75.92	1.95
0.02	77.4		
0.02	77.2		
0.02	75.2		
0.02	73.6		
0.02	73.9		

表 8 重复性试验结果

Table 8 Results of repeatability test

重复次数	峰面积	残留量/(mg·kg ⁻¹)	平均值	标准偏差/%
1	10 245	0.016 21	0.016	0.03
2	9 983	0.015 80		
3	9 773	0.015 47		
4	9 801	0.015 51		
5	9 870	0.015 62		
6	9 680	0.015 32		

3.3 计算合成相对标准不确定度 [$U_{rel(P)}$]

在评估总不确定度时, 将分析不确定度的每一个分量的标准不确定度进行汇总, 数据见表 9, 能确定其对总不确定度的贡献, 计算 $U_{rel(P)}$ 为 0.089 56。

4 讨论

实验采用 HPLC-MS/MS 法测定枳壳中杀虫脒的残留量, 在标准溶液配制、样品前处理过程、仪器测定等方面均会引入不确定度。不确定度评定是通过分析测量过程中的各种因素来计算测量结果的分散性, 包括随机误差和系统误差, 稳定性考察试验反映的是样品溶液在测定过程的稳定状态、测量器具稳定性能等, 精密度考察试验可通过实验合成重复性考虑, 不再重复计算, 故二者在测量不确定度评定过程中不做考虑。本实验通过对标准溶液的

表 9 杀虫脒测定的相对标准不确定度分量
Table 9 Uncertainty item in determination of
chlordimeform

分量	分布	类型	相对标准不确定度
$U_{\text{rel}}(X)$	—	A 类	0.044 23
$U_{\text{rel}}(R)$	—	A 类	0.025 68
$U_{\text{rel}}(\text{rep})$	—	A 类	0.020 45
$U_{\text{rel}}(\text{STD})$	三角	B 类	0.009 31
	矩形	B 类	
$U_{\text{rel}}(\text{Lv})$	三角	B 类	0.072 14
$U_{\text{rel}}(\text{Vt})$	三角	B 类	0.008 01
	矩形	B 类	
$U_{\text{rel}}(\text{M})$	矩形	B 类	0.000 06

配制、样品称量、玻璃器皿、移液器、标准工作曲线的拟合、样品重复性测定及加标回收率等不确定度分量进行考察,结果表明 HPLC-MS/MS 法测定枳壳中杀虫脒残留量的方法中,标准曲线工作溶液的配制、标准工作曲线的拟合引入的不确定度较大。因此,制备供试品和对照品溶液时应采用计量合格移液管和移液器,加强对试验操作过程中的质量控

制,提高检验检测人员实验水平等方面减少测量结果的不确定度,以减少实验的不确定度,提高检测结果的准确性,适合于中药材及饮片中禁用农药多残留测定的实际应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 检验和校准实验室能力认可准则 [S]. CNAS-CL01. 2018.
- [2] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 29-31, 275-279.
- [3] 测量不确定度评定与表示 [S]. JJF 1059.1-2012, 2012: 1-26.
- [4] 化学分析中不确定度的评估指南的要求 [S]. CNAS-GL06. 2006.
- [5] 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农药残留不确定度评估 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(3): 1136-1141.
- [6] 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.
- [7] 常用玻璃量器检定规程 [S]. JJG 196-2006, 2006.
- [8] 移液器检定规程 [S]. JJG 646-2006, 2006.

[责任编辑 时圣明]