

气相色谱-质谱法测定芹菜中毒死蜱的不确定度分析

杜茜, 吴天骄, 谷冠军, 龚锡文, 彭玉峰

湘西土家族苗族自治州疾病预防控制中心, 湖南 吉首 416000

摘要: **目的** 测定芹菜中的毒死蜱残留, 通过建立数学模型, 对测定过程不确定度来源进行分析, 计算各不确定度分量, 合成不确定度及扩展不确定度来反映实验室的技术和设备水平。 **方法** 采用《水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留的测定气相色谱-质谱法》(GB/T 23200.8-2016) 对芹菜中的毒死蜱含量进行测定, 根据《测量不确定度评定与表示》(JJF 1059.1-2012) 计算不确定度。 **结果** 试验数据计算得到毒死蜱含量为 0.206 mg/kg, 扩展不确定度为: $U = 2 \times u(w) = 0.034 \text{ mg/kg}$, 毒死蜱含量测定表示为: $W = (0.206 \pm 0.034) \text{ mg/kg}$, $k = 2$ 。 **结论** 采用该方法时, 标准曲线拟合所引入的不确定度较大。为了数据的准确性, 可以选取高精度的容量器降低不确定度。

关键词: 毒死蜱; 数学模型; 不确定度

中图分类号: R155.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2021)08-1010-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2021.08.031

Analysis of uncertainty for the determination of chlorpyrifos in celeries by gas chromatography-mass spectrometry

DU Han, WU Tian-jiao, GU Guan-jun, GONG Xi-wen, PENG Yu-feng

Xiangxi Tujia and Miao Autonomous Prefecture Center for Disease Control and Prevention, Jishou, Hunan 416000, China

Corresponding author: WU Tian-jiao, E-mail: 174964319@qq.com

Abstract: **Objective** To determine the residua of rechlorpyrifos in celeries, and to establish a mathematical model for analyzing

作者简介: 杜茜 (1964-), 女, 本科, 副主任技师, 主要从事理化检验及管理工作。

通信作者: 吴天骄, E-mail: 174964319@qq.com。

大流行的 W 群 Nm 属于 CC11 高致病克隆群, 主要为 ST-11 型。2001 年, 该克隆群 Nm 在麦加朝圣者中再次引起了流脑暴发, 这促使多国对朝圣者进行 W 群 Nm 的预防接种, 并纳入本国的计划免疫。随着 W 群 Nm 疫苗的引入, 由麦加朝圣者引起的流脑暴发流行得到了有效控制。

1991—2019 年流脑监测显示, 河北省曾于 2013 年报告 2 例 W 群流脑病例, 均为 CC4821 克隆群^[6]。本报告中的死亡病例, 经 MLST 分型分析, 结果为 ST-11 型, 属于全球流行的 CC11 克隆群。此病例是河北省确诊的首例由 W 群 ST-11 型 Nm 引起的流脑死亡病例。经流行病学调查, 本病例无明显接触史及无外出史, 属于河北省本地病例, 说明河北省已存在 W 群 ST-11 型 Nm 的本地传播。目前我国采用 A 群单价和 A+C 群多价疫苗进行免疫规划接种, 而针对 W 群 Nm 的疫苗, 只有 A+C+Y+W 群多价疫苗, 属于自费接种的二类疫苗, 在河北省接种率偏低。W 群流脑病例在河北省多个地区相继出现, 提示应加强人群中 W 群 Nm 的病原学和相应抗体水平的监测, 为完善相应的免疫规划措施, 提供数据支持, 同时力求及早发现隐

患, 采取有效应对措施, 及时发现和控制疫情的发展和传播。同时, 在流脑流行季节, 临床医生应引起高度重视, 重点关注发热、脑膜炎等相关症状, 需要高度怀疑流脑, 进行及时对症治疗, 从而降低病死率。

参考文献

- [1] 吴昀, 陈强, 冷红英. 江苏省 14 岁以下健康儿童脑膜炎奈瑟菌 A、C、W135、Y 群抗体水平保护性分析[J]. 实用预防医学, 2019, 26(12): 1458-1461.
- [2] 李军宏, 李艺星, 吴丹, 等. 中国 2006—2014 年流行性脑脊髓膜炎病例菌群分布特征及变迁趋势[J]. 中国疫苗和免疫, 2015, 21(5): 481-485.
- [3] Zhu B, Lucidarme J, Bai X, et al. Comparative genomic analyses of Chinese serogroup W ST-11 complex *Neisseria meningitidis* isolates [J]. J Infect, 2020, 80(1): 54-60.
- [4] 胡家胜, 邓小龙, 孙丹, 等. 2016 版《欧洲临床微生物和感染病学会急性细菌性脑膜炎诊治指南》解读[J]. 中国实用儿科杂志, 2017, 32(10): 726-732.
- [5] Lingappa JR, Al-Rabeah AM, Hajjeh R, et al. Serogroup W-135 meningococcal disease during the Hajj, 2000[J]. Emerg Infect Dis, 2003, 9(6): 665-671.
- [6] He B, Jia Z, Zhou H, et al. CC4821 serogroup W meningococcal disease in China[J]. Inter J Infect Dis, 2014, 29(2): 113-114.

收稿日期: 2020-09-14

the source of uncertainty generated during the determination steps and calculating the uncertainty of each component, the combined uncertainty and the expanded uncertainty so as to reflect the technology and equipment level of the laboratory. **Methods** We determined the content of chlorpyrifos in celeries according to Determination of 500 Pesticides and Related Chemicals Residues in Fruits and Vegetables by Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GB/T 23200.8–2016). And the uncertainty was calculated according to Evaluation and Expression of Uncertainty in Measurement (JJF 1059.1–2012). **Results** The content of chlorpyrifos was 0.206 mg/kg, and the expanded uncertainty was $U=2\times u(w)=0.034$ mg/kg. The result was expressed as $W=(0.206\pm0.034)$ mg/kg, and $k=2$. **Conclusion** The standard curve fitting will cause the uncertainty to increase. In order to ensure the accuracy of data, the high-precision volumetric device should be selected to decrease the uncertainty.

Keywords: chlorpyrifos; mathematical model; uncertainty

毒死蜱是蔬菜、粮食、果树和其他经济作物的理想杀虫剂,对地下害虫防治尤为突出,大量生产和使用成为近年来农业发展的趋势^[1]。毒死蜱在人体内的代谢产物在一定浓度下可以抑制乙酰胆碱酯酶,阻止乙酰胆碱的降解。高浓度时引发神经精神改变、自主神经功能障碍及记忆、语言等认知障碍^[2]。毒死蜱的检测方法通常有气相色谱法、气相–质谱联用法及高效液相色谱法。社会各界不断加大对食品安全问题的关注,因此农药残留数据的准确性至关重要。测量不确定度是表征合理赋予被测量值的分散性,与测量结果相联系的参数。测量结果的可用性很大程度取决于测量结果不确定度的大小,有了不确定度的测量结果才更完整更有意义^[3]。

1 材料与方法

测量依据为《水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留的测定气相色谱–质谱法》(GB/T 23200.8–2016);环境条件为温度: (20 ± 5) ℃,湿度: $(58\pm10)\%$ 。测量设备:气相色谱质谱联用仪(Agent 7890B–5977A);电子天平:HZY–A220,量程 200 g,精度 0.01 g;标准物质:毒死蜱, (100 ± 0.08) ug/ml,农业部环境保护科研监测所(GSB 05–1869–2008)。测量对象:芹菜中的毒死蜱残留。取粉碎好的芹菜样品 20.0 g(精确至 0.01 g)放于 80 ml 离心管中,加入 40.0 ml 乙腈,用均质器匀浆提取 1 min,加入 5 g 氯化钠,再匀浆提取 1 min,再放入离心机,离心 5 min,取上清液 20 ml,待净化。净化后浓缩至 1 ml。

2 结果

2.1 数学模型 $W=(C_x\times V_1\times V_3)/(M\times V_2)$, W :样品中毒死蜱的含量,单位毫克每千克(mg/kg); C_x :由标准曲线得出的样品液中毒死蜱的浓度,单位微克每毫升(ug/ml); V_1 :提取溶剂总体积,单位毫升(ml); V_2 :提取液分体积,单位毫升(ml); V_3 :最终定容体积,单位毫升(ml); M :样品质量,单位为克(g)。

- 2.2 不确定度分量的主要来源
 - 2.2.1 标准曲线拟合引入的不确定度
 - 2.2.2 样品质量引入的不确定度,由天平的最大允许误差构成。
 - 2.2.3 体积引入的不确定度,由体积量取器的校准不确定。
 - 2.2.4 测量重复性引入的不确定度。

3 讨论

- 3.1 不确定度分量的评定
 - 3.1.1 由标准曲线求得样液中毒死蜱的浓度引入的标准不确定度 $u(C_s)$
 - 3.1.1.1 标准物质引入的标准不确定度 $u(p)$ 根据标准物质证书提供的信息,毒死蜱标准储备液校准值为 (100 ± 0.08) ug/ml,假设属于均匀分布,包含因子 $k=2$,其标准不确定度为 $u(p)0.08/2=0.04$,相对不确定度 $u_{rel}(p)=0.04/100=0.0004$ 。
 - 3.1.1.2 标准工作液配制过程中量器引入的不确定度 $u(V_s)$ 配制标准溶液的量器不确定度,来源于 1 ml, 5 ml 移液管和 10 ml 容量瓶。标准工作液稀释过程见表 1。

表 1 标准工作液稀释过程

标准工作液浓度(ug/ml)	母液浓度(ug/ml)	吸取量(ml)	定容体积(ml)
10	100	1	10
1.0	10	1	10
0.5	1	5	10
0.25	0.5	5	10
0.125	0.25	5	10
0.0625	0.125	5	10

标准工作液配制过程使用的玻璃量器有相应的最大允差,按均匀分布考虑 $k=\sqrt{3}$,分别计算标准不确定度,见表 2。

表 2 玻璃量器校准引入的不确定度

玻璃量器	最大允差(ml)	标准不确定度(ml)	相对不确定度(ml)
1.0 ml 移液管 B 级	±0.015	0.00866	0.00866
5.0 ml 移液管 B 级	±0.050	0.02887	0.00577
10 ml 容量瓶 A 级	±0.020	0.01155	0.00115

为 1.0 ml 移液管带来的相对不确定度,共使用 2 次;为 5.0 ml 移液管带来的相对不确定度,共使用 4 次;为 10 ml 容量瓶带来的相对不确定度,共使用 6 次。 $u_{rel}(V_s) = \sqrt{2U_1^2 + 4U_2^2 + 6U_3^2} = 0.0171$ 。由于 $u_{rel}(p)$, $u_{rel}(V_s)$ 各不相关,所以 $u_{rel}(C_s) = \sqrt{U_{rel}(p)^2 + U_{rel}(V_s)^2} = 0.0171$ 。

3.1.1.3 标准曲线拟合引入的不确定度 $U(\text{Curve})$

不同浓度标准溶液对应的峰面积,见表 3。

表 3 系列标准溶液测量结果

x 标准溶液浓度 (ug/ml)	y 峰面积	样品峰面积
0.0625	12 458	39 644
0.125	24 777	42 188
0.250	50 537	45 022
0.500	104 092	
1.00	227 608	

根据以上数据,采用最小二乘法拟合,回归方程为 $y = 229\ 881.4624x - 5\ 184.6667$,由标准曲线拟合引入的不确定度:

$$u(\text{curve}) = \frac{s}{b} \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{n} + \frac{(C_x - \bar{C}_s)^2}{s_{xx}}}$$

$$\text{残差标准偏差 } S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_j - (a + bc_j)]^2}{n-2}} = 4\ 314.5,$$

$$\text{离均差平方和 } S_{xx} = \sum_{i=1}^n (C_x - \bar{C}_s)^2 = 0.0991,$$

其中, b - 斜率,为 229 881.4624; a - 截距,为 5 184.6667; p - 样品测试次数,为 3; n - 测量工作曲线的次数,为 5; \bar{C}_s - 样品中毒死蜱的含量 (ug/ml),为 0.206; \bar{C}_s - 不同浓度标准工作溶液的平均值 (ug/ml),为 0.3875; A_j - 不同浓度标液对应的峰面积; C_j - 标准工作液浓度 (ug/ml);

计算得出 $U(\text{Curve}) = 0.0157$, $U_{rel}(\text{Curve}) = 0.076$,

由于 $U_{rel}(C_s)$, $U_{rel}(\text{Curve})$ 各不相关,所以 $u_{rel}(C_x) = \sqrt{U_{rel}(C_s)^2 + U_{rel}(\text{Curve})^2} = 0.0781$ 。

3.1.2 样品称量 m 引入的标准不确定度 $u(m)$ 称取样品 20.0 g,根据电子天平检定证书,天平最大允许误差为 0.05 g 按均匀分布考虑,标准不确定度为 $\frac{0.05}{\sqrt{3}} =$

$$0.0289, U_{rel}(m) = \frac{0.0289}{20} = 0.0014。$$

3.1.3 样品体积引入的不确定度 $u(v_m)$ 分别为提取溶液总体积 (V_1),提取分液体积 (V_2) 和最终定容体积 (V_3),不确定度分别来源于 25 ml 量筒和 1 ml 移液管。为 25 ml 量筒带来的相对不确定度,共使用 3 次;为 1.0 ml 移液管带来的相对不确定度,共使用 1

次。所以 $U_{rel}(v_m) = \sqrt{3U_1^2 + U_2^2} = 0.0218$ 。

表 4 玻璃量器校准引入的不确定度

玻璃量器	最大允差 (ml)	标准不确定度 (ml)	相对不确定度 (ml)
25 ml 量筒	±0.50	0.28868	0.01155
1.0 ml 移液管 B 级	±0.015	0.00866	0.00866

3.1.4 测量重复性引入的不确定度 按照测定方法,三次测得毒死蜱残留量分别是 0.195、0.206 ug/ml 和 0.218 ug/ml,平均值 0.206 ug/ml,极差 R 为 0.023 ug/ml,查表得极差系数为 1.69,单个测得值 X_k

的实验标准差 $S(X_k) = \frac{R}{C} = 0.0136$,所以 $u_{Rrel} = S(X_k) /$

$$\sqrt{n} = 0.0078。$$

3.1.5 合成相对标准不确定度的评定 不确定各个分量间互相独立不相关,所以 $u_{rel}(w) = \sqrt{U_{rel}(C_x)^2 + U_{rel}(m)^2 + U_{rel}(U_M)^2 + U_{rel}^2} = 0.0815$ 。

3.1.6 报告测定结果 由试验数据计算得毒死蜱含量为 0.206 mg/kg,合成标准不确定 $u(w) = 0.206 \times 0.0815 = 0.017$ mg/kg;取包含因子 $k = 2$,故测量结果的扩展不确定度为: $U = 2 \times u(w) = 0.034$ mg/kg。所以芹菜中的毒死蜱含量测定结果可表示为: $W = (0.206 \pm 0.034)$ mg/kg, $k = 2$ 。

3.2 不确定度分析 以上不确定度来源中,由标准曲线配置和标准曲线求得 C 时所引入的不确定度较大。为了数据的准确性,可以选取高精度的容量器降低不确定度,同时对仪器进行定期的维护与检定并提升实验人员的操作技能^[4-6]。

参考文献

- [1] 罗鹏飞,张永青,苏健,等.毒死蜱的毒性及其对人类的危害[J].江苏预防医学,2013,24(4):36-38.
- [2] Pope C, Karanth S, Liu J, et al. Pharmacology and toxicology of cholinesterase inhibitors: uses and misuses of a common mechanism of action[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2005, 19(3):433-446.
- [3] 黄荣浪,章虎,王祥云,等.气相色谱法测定蔬菜中有机磷农药残留的不确定度[J].安徽农业科学,2010,38(13):7124-7127.
- [4] Cryer SA, Applequist GE. Direct treatment of uncertainty: I-applications in aquatic invertebrate risk assessment and soil metabolism for chlorpyrifos[J]. Environ Eng Sci, 2003, 20(3):155-166.
- [5] Tiryaki O, Baysoy D. Estimation of sample processing uncertainty for chlorpyrifos residue in cucumber[J]. Accred Qual Assur, 2006, 10(10):550-553.
- [6] Fussell RJ, Hetmanski MT, Macarthur R, et al. Measurement uncertainty associated with sample processing of oranges and tomatoes for pesticide residue analysis[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(4):1062-1070.

收稿日期:2021-03-08