

◆ 环境与残留 ◆

液相色谱法测定蔬菜和水果中甲萘威 残留量的测量不确定度评定

马又娥, 刘宝峰

(上海市农药研究所, 上海 200032)

摘要: 依据 NY/T 761.3 - 2004《蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留检测方法》对蔬菜和水果中甲萘威残留量的测量不确定度进行分析和评定, 分析了影响测量标准不确定度结果的各个因素, 比较其对总测量不确定度的相对贡献。分析结果表明, 该测量过程所产生的测量不确定度主要来源于液相色谱仪引入的标样溶液和样品溶液色谱峰面积测量不确定度, 其次是甲萘威标准工作溶液和样品制备过程中引入的测量不确定度。

关键词: 蔬菜和水果; 甲萘威; 残留; 不确定度

中图分类号: TQ 450.2⁺63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-5284(2008)02-0033-04

Evaluation of Uncertainty of Measurement for the Determination of Carbaryl Residue in Vegetables and Fruits by HPLC

MA You-e, LIU Bao-feng

(Shanghai Pesticide Research Institute, Shanghai 200032, China)

Abstract: By the method of NY/T 761.3 - 2004 pesticide multiresidue screen methods for determination of organophosphorus pesticides, organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruits, uncertainty of measurement for the determination of carbaryl residue in vegetables and fruits was evaluated. The uncertainty of measurement appeared in the determination was mainly caused by that in the analysis procedure with HPLC, and that of the carbaryl standard work-solution.

Key words: vegetables and fruits; carbaryl; residue; uncertainty of measurement

蔬菜和水果农药残留已经成为食品安全中百姓关心、政府关注的重要问题。甲萘威是一种用途较广的氨基甲酸酯类杀虫剂, 属于中毒农药, 它在酸性土壤中不易降解, 作物可由根、茎、叶吸收传导, 在叶缘积累, 对人体产生不良影响。我国规定其在蔬菜中最大残留限量为2.0 mg/kg^[1]。目前, 越来越多的化学分析结果成为判定有害物质是否符合法定限量要求的重要依据。但由于测量结果具有不可避免的不确定度^[2], 其往往影响测量结果的准确性。为了保证测量结果的准确性, 根据相关规定, 对测量结果应给出不确定度的要求。为此, 结合检测方法和实际操作, 对本实验室采用NY/T 761.3 -

2004《蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留检测方法》^[3]中液相色谱法测定蔬菜和水果中甲萘威农药残留量的不确定度进行评定, 以作为实验室在该检测过程中进一步提高检测数据的可靠性和一致性的参考依据。

1 测量方法

1.1 检测方法

准确称取样品25.00 g, 加50.0 mL乙腈高速匀浆提取后, 抽滤于装有6 g氯化钠的抽滤瓶中, 静置分层, 取10.0 mL样品提取液, 经净化与浓缩, 最后定容至5.0 mL; 标准工作溶液和样品溶液等体积交错

收稿日期: 2008-02-18; 修回日期: 2008-03-03

作者简介: 马又娥 (1966—), 女, 湖北仙桃市人, 高级工程师。从事农药及农药残留分析工作。

进样,用峰面积外标法定量。

1.2 主要仪器与试剂

液相色谱仪:岛津 LC-20AB型,配有柱后衍生装置、荧光检测器、自动进样器及工作站,日本岛津公司;

量筒:50 mL,最大允许误差为 ± 0.50 mL;刻度移液管^[4]:1.0 mL、5.0 mL、10.0 mL, A级,最大允许误差分别为 ± 0.008 mL、 ± 0.025 mL、 ± 0.05 mL;容量瓶^[5]:10 mL、100 mL, A级,最大允许误差分别为 ± 0.02 mL、 ± 0.10 mL;电子天平:METTLER TOLEDO PB2002-N,最小读数为0.01 g,最大允许误差为 ± 0.005 g;高速匀浆机,减压抽滤机,旋转蒸发仪,固相萃取柱(氨基柱,容积6 mL,填充物1 000 mg);甲萘威标准储备溶液:100

± 0.15 mg/L。

1.3 测量数学模型

样品中甲萘威残留量:

$$X = \frac{A_1 c V K}{A_2 m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X-样品中甲萘威的残留量, mg/kg; A_1 -样品的色谱峰面积; c-甲萘威标准工作溶液的质量体积浓度, mg/L; V-样品溶液的定容体积, mL; K-稀释因子; A_2 -甲萘威标准工作溶液的色谱峰面积; m-称量样品的质量, kg。

1.4 测量不确定度的合成

由以上公式得甲萘威残留量测定相对合成标准不确定度为:

$$\left[\frac{u(X)}{X}\right]^2 = \left[\frac{u(A_1)}{A_1}\right]^2 + \left[\frac{u(c)}{c}\right]^2 + \left[\frac{u(V)}{V}\right]^2 + \left[\frac{u(A_2)}{A_2}\right]^2 + \left[\frac{u(m)}{m}\right]^2 + \left[\frac{u(K)}{K}\right]^2 \dots\dots\dots(2)$$

2 测量不确定度的来源

该试验中甲萘威残留量测量不确定度的主要来源有:① 配制标准工作溶液过程引入的测量不确定度;② 称取样品质量过程引入的测量不确定度;③ 样品处理过程溶液体积引入的测量不确定度;④ 样品溶液定容引入的测量不确定度;⑤ 甲萘威标准工作溶液的色谱峰面积测量引入的测量不确定度;⑥ 样品溶液的色谱峰面积测量引入的测量不确定度。

3 测量不确定度的分析与评定

3.1 配制标准工作溶液 (C) 引入的测量不确定度

甲萘威标准工作溶液的配制过程是由浓度为

$$\left[\frac{u(c)}{c}\right]^2 = \left[\frac{u(c_0)}{c_0}\right]^2 + \left[\frac{u(V_1)}{V_1}\right]^2 + \left[\frac{u(V_2)}{V_2}\right]^2 + \left[\frac{u(V_3)}{V_3}\right]^2 + \left[\frac{u(V_4)}{V_4}\right]^2 \dots\dots\dots(4)$$

(1) 第一次稀释、定容引入的测量不确定度:

使用1.0 mL刻度移液管将0.5 mL标准储备溶液转移至10 mL容量瓶中,用甲醇定容。1.0 mL刻度移液管示值允差为 ± 0.008 mL,按均匀分布考虑,包含因子 $k=\sqrt{3}$,则 $u(V_{1,1})=0.008/\sqrt{3}=0.0046$ mL。读数重复性偏差为 ± 0.003 mL,设为均匀分布, $k=\sqrt{3}$,则 $u(V_{1,2})=0.003/\sqrt{3}=0.002$ mL。将以上两项不确定度分量合成,得:

100 mg/L 甲萘威标准储备溶液经过两次稀释定容而成。甲萘威标准储备溶液 (C_0) 标准物质证书提供的测量不确定度 $u(c_0)=0.15$ mg/L, 则 $u(c_0)/c_0=0.15/100=0.15\%$ 。

标准工作溶液 (C) 浓度计算公式为:

$$C = \frac{c_0 V_1 V_2}{V_3 V_4} \dots\dots\dots(3)$$

式中:

C_0 -甲萘威标准储备溶液的质量体积浓度 (mg/L);

V_1 -第一次量取体积 (mL);

V_2 -第二次量取体积 (mL);

V_3 -第一次定容体积 (mL);

V_4 -第二次定容体积 (mL)。

由公式 (3) 和不确定度传播律导出:

$$u_{rel}(V_1)/V_1 = \sqrt{u^2(V_{1,1}) + u^2(V_{1,2})}/V_1 = 0.50\%$$

10 mL容量瓶体积示值允差为 ± 0.02 mL,体积读数重复性偏差为 ± 0.01 mL,将以上两项分量合成,得: $u_{rel}(V_3)/V_3 = \sqrt{u^2(V_{3,1}) + u^2(V_{3,2})}/V_3 = 0.14\%$

(2) 第二次稀释、定容引入的测量不确定度:

用1.0 mL刻度移液管将1.0 mL标准储备溶液转移至

100 mL容量瓶中, 用甲醇定容。照前述方法分析评定, 得: $u_{rel}(V_2)/V_2 = \sqrt{u^2(V_{2,1}) + u^2(V_{2,2})}/V_2 = 0.50\%$

100 mL容量瓶体积示值允差为 ± 0.10 mL, 读数重复性偏差为 ± 0.01 mL。将以上两项分量合成, 得: $u_{rel}(V_4)/V_4 = \sqrt{u^2(V_{4,1}) + u^2(V_{4,2})}/V_4 = 0.061\%$

将以上不确定度分量代入式 (4), 合成配制甲萘威标准工作溶液引入的相对标准不确定度 $U_{rel}(c) = u(c)/c = 0.74\%$ 。

3.2 称取样品质量 (m) 引入的测量不确定度

样品称量所用天平最小分度值为 0.01 g, 准确称量样品 25.00 g, 由于天平非常稳定, 称量重复性引入的不确定度忽略不计, 电子天平最大允许误差为 ± 0.01 g, 由称量误差导致的不确定度则 $u(m) = 0.01/\sqrt{3} = 0.006$ g, $U_{rel}(m) = u(m)/m = 0.023\%$ 。

3.3 样品处理过程溶液体积引入的测量不确定度 (稀释因子K的测量不确定度)

样品处理过程中, 加入 50.0 mL (V_5) 乙腈, 用 10.0 mL刻度移液管取样品提取液 10.0 mL (V_6) 进行净化与浓缩, 最终定容至 5.0 mL。则:

$$k = V_5/V_6 \dots\dots\dots(5)$$

(1) 加入 50.0 mL样品提取液 (乙腈) 引入的测量不确定度: 50.0 mL刻度量筒体积示值允差为 ± 0.5 mL, 设为均匀分布, $k = \sqrt{3}$, 则 $u(V_{3,1}) = 0.5/\sqrt{3} = 0.29$ mL。读数重复性偏差为 ± 0.10 mL, 设为均匀分布, $k = \sqrt{3}$, 则 $u(V_{3,2}) = 0.10/\sqrt{3} = 0.17$ mL。将以上两项不确定度分量合成, 得:

$$u(V_5)/V_5 = \sqrt{u^2(V_{3,1}) + u^2(V_{3,2})}/V_5 = 0.67\%$$

(2) 量取 10.0 mL样品提取液引入的测量不确定度: 10.0 mL刻度移液管示值允差为 ± 0.05 mL, 读数重复性偏差为 ± 0.01 mL, 将两项不确定度分量合成, 得: $u(V_6)/V_6 = \sqrt{u^2(V_{6,1}) + u^2(V_{6,2})}/V_6 = 0.30\%$, 则

$$U_{rel}(K) = u(K)/K = \sqrt{u^2(V_5)/V_5 + u^2(V_6)/V_6} = 0.73\%$$

3.4 样品溶液定容体积 (V) 引入的测量不确定度

样品提取液经净化与浓缩后, 最终定容至 5.0 mL, 使用的 5.0 mL刻度移液管体积示值允差为 ± 0.025 mL, 读数重复性偏差为 ± 0.01 mL, 将两项不确定度分量合成, 得:

$$U_{rel}(V) = u(V)/V = \sqrt{u^2(V_1) + u^2(V_2)}/V = 0.30\%$$

3.5 色谱峰面积 (A_1 、 A_2) 测量引入的测量不确定度

色谱峰面积测量引入的测量不确定度, 主要由重复进样引入, 样品溶液和甲萘威标准工作溶液的进样体积均为 1.0 μ L, 分别进行 6 次重复测量, 得到相应的色谱峰面积, 由色谱工作站计算峰面积及测量结果的相对标准偏差, 分别计算相对标准不确定度 $u(A_1)/A_1$ 与 $u(A_2)/A_2$, 测量数据见表1。从表1可看出 $U_{rel}(A_1) = u(A_1)/A_1 = 2.62\%$, $U_{rel}(A_2) = u(A_2)/A_2 = 5.08\%$ 。

表1 样品溶液和甲萘威标准工作溶液的测量结果

样品类别	样品溶液 A_1	标样溶液 A_2
色谱峰面积	26 987	125 647
	28 495	134 682
	27 423	130 198
	28 079	122 794
	27 094	138 771
	26 578	122 963
平均面积	274 431	129 176
RSD/%	2.62	5.08

3.6 合成不确定度与结果表述

把以上各相对标准不确定度分量数据代入式 (2), 即得蔬菜和水果中甲萘威残留量测定结果的合成相对标准不确定度 $U_{rel}(X) = u(X)/X = 5.82\%$ 。根据测量不确定度评定指南对一般实验室要求, 在置信概率 $p = 95\%$ 时, 取 $k \approx 2$, 则蔬菜和水果中甲萘威农药残留量的相对扩展不确定度为 $U_{95rel} = k \times U_{rel}(X) = 0.1164$, 试验测得蔬菜和水果中甲萘威残留量 $X = 0.11$ mg/kg, 故其扩展不确定度 $U_{95} = X \times U_{95rel} = \pm 0.013 \approx 0.01$ mg/kg。

蔬菜和水果中甲萘威残留量测量结果表示为: (0.11 ± 0.01) mg/kg, $k = 2$ 。

4 讨论

由于制样过程严格按照操作规程, 且样品经高速匀浆机匀浆, 样品均匀性引入的不确定度在此忽略不计。分析影响测量标准不确定度结果的各个因素, 比较其对总测量不确定度的相对贡献 (表2)。

结果表明, 对合成标准不确定度贡献最大的是样品溶液色谱峰及甲萘威标准工作溶液色谱峰面

积测量引入的测量不确定度,其次是甲萘威标准工作溶液的浓度和加入萃取液引入的测量不确定度。即被测样品蔬菜和水果中甲萘威农药残留量测定的测量不确定度主要来源于测量重复性,其它的影响因素相对较小。

表2 相对标准不确定度构成

符号	描述	相对标准不确定度/%	所占比重/%
$U_{\text{rel}}(c)$	标准工作溶液浓度	0.74	7.80
$U_{\text{rel}}(m)$	称样量	0.023	0.24
$U_{\text{rel}}(K)$	稀释因子	0.73	7.69
$U_{\text{rel}}(V)$	定容体积	0.30	3.16
$U_{\text{rel}}(A_1)$	样品溶液色谱峰面积测量值	2.62	27.60
$U_{\text{rel}}(A_2)$	标样溶液色谱峰面积测量值	5.08	53.51

(上接第22页)

3 结论

1) 乳化剂的种类和用量是配制质量稳定的10%甲基嘧啶磷水乳剂产品的关键,针对低熔点农药选用HLB值较高的乳化剂这样的组合,使试验获得比较理想的结果,大大减少了助剂的使用量,不但降低了生产成本,还减轻了对环境的影响。

2) 优惠工艺条件:30~35℃,pH 4左右,将油相与乳化剂(添加量为重量比的10%)混合后,将水相加入油相与乳化剂的混合物,用高剪切乳化机进行乳化(1500 r/min),乳化时间为10~15 min。

(上接第27页)

数≤0.60%。其结果如表2所示。

表2 精密度测定

序号	氰草津含量X/%	平均值/%	标准偏差	变异系数/%
1	39.58	39.76	0.24	0.60
2	39.66			
3	40.05			
4	39.58			
5	39.60			
6	40.07			

2.6 准确度测定

将氰草津标准品加到已准确测定其含量的样品中,在上述色谱条件下,平行测定其准确度,其回收率在99.30%~101.31%之间,平均回收率为

该方法也可以应用于其他仪器分析方法(气相色谱、液相色谱法测定蔬菜、水果中其他农药残留量)的测量不确定度分析。通过选择合适的、可行的试验方案,规范操作,就可以有效减少不确定度,保证测量结果的准确、可靠。

参考文献

- [1] GB 2763-2005 食品中农药最大残留限量[S].
- [2] 国家质量技术监督局. JJF1059-1999测量不确定度评定与表示[M]. 北京:中国计量出版社,1999.
- [3] NY/T 761.3-2004. 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留检测方法[S].
- [4] GB 12807-91. 实验室玻璃仪器——分度吸量管[S].
- [5] GB 12806-91. 实验室玻璃仪器——单标线容量瓶[S].

参考文献

- [1] 谢靖,雷岳盛,陈立球. 甲基嘧啶磷气态施药防治仓储害虫的示范试验[J]. 粮食科技与经济,2007,2: 3839.
- [2] 梁骥,李涛,熊晓妹,等. 农药仲丁威、丁硫克百威、甲基嘧啶磷的水乳剂及其制备方法:CN,1759676. 2006-04-19.
- [3] 谢雄平,向楚华,谢念平. 一种新型农产品仓储杀虫剂及其生产方法和用途:CN,1631160. 2005-06-29.
- [4] 刘步林. 农药剂型加工技术(第二版)[M]. 北京:化学工业出版社,1998.
- [5] 刘程. 表面活性剂应用手册(第一版)[M]. 北京:化学工业出版社,1993.
- [6] 徐年凤,韩顺宁. 农药水基性制剂的研究[C]//中国化工学会农药专业委员会第十一届年会论文集. 杭州:中国化工学会农药专业委员会,2002:301-305.
- [7] 赵欣昕. 农药规格质量标准汇编[G]. 北京:化学工业出版社,2002:151-152.

100.38%。其结果如表3所示。

表3 准确度测定

序号	添加标样重/g	实测标样重/g	回收率/%	回收率平均值/%
1	0.114 7	0.116 2	101.31	100.38
2	0.122 3	0.122 3	100.25	
3	0.096 8	0.097 2	100.44	
4	0.211 8	0.210 3	99.30	
5	0.147 5	0.148 4	100.61	

3 结论

本方法具有较高的准确度和精密度,并且操作简便、迅速,是40%氰草津水悬浮剂质量检测的理想分析方法。