

DOI:10.19403/j.cnki.1671-1521.2020.04.004

气相色谱法测定人参中十六种有机氯含量的不确定度评定

宋莹莹,徐芳菲,郭畅冰,娄子恒,曹志强*

(吉林人参研究院·吉林 通化·134001)

摘要:目的 对气相色谱法测定人参中十六种有机氯农药残留的方法进行不确定度评定。方法 按照《中国药典》2015年版第一增补本人参项下有机氯类农药残留量的测定方法,对人参禁用的十六种有机氯农药进行检测,根据JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》中有关规定,建立了不确定度评定的数学模型,对实验过程中不确定来源进行分析,并对评定过程中应注意的一些问题进行初步探讨。结果 该研究测定过程所产生的测量不确定度主要来源于回收率和重复性试验,其他因素影响很小,在实验过程中应给予格外重视并加以控制。结论 本评估方法可为气相色谱法检测多组分农药残留量的不确定度评估提供依据。

关键词:气相色谱仪;人参;不确定度

Evaluation of uncertainty in determination of 16 organochlorine in Ginseng

SONG Ying-ying, XU Fang-fei, GUO Chang-bing, LOU Zi-heng, CAO Zhi-qiang*

(Jilin Ginseng Research Institute, Tonghua Jilin 134001, China)

Abstract: Objective To evaluate the uncertainty of determination of 16 organochlorine pesticide residues in ginseng by gas chromatography. Methods Method for determination of organochlorine pesticide residues in ginseng according to the first supplement of 《Chinese pharmacopoeia》 2015 edition, sixteen organochlorine pesticides banned in ginseng were tested, according to JJF 1059.1—2012 《measurement uncertainty evaluation and representation》 of relevant provisions, the mathematical model of uncertainty evaluation is established, the uncertain sources in the experiment were analyzed, some problems that should be paid attention to in the evaluation process are discussed. Result In this study, the measurement uncertainty resulted from the recovery and repeatability test. Other factors have little influence, so we should pay more attention to them and control them. Conclusion This method can be used to evaluate the uncertainty of multi-component pesticide residues by gas chromatography.

Keywords: gas chromatograph; ginseng; uncertainty

人参是五加科植物人参(*Panax ginseng* C.A.Mey)的干燥根,味甘、微苦、微温,归脾、肺、心、肾经^[1],首载于《神农本草经》,是我国驰名中外的名贵药材,开发前景广阔。但由于人参生长周期长,病虫害较为严重,频繁施用农药难免导致农残问题。通过长期的农药残留检测工作中发现,人参中有机氯农药检出率较高。因此,为了确保检测结果的可信度,本文根据JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》,对人参中有机氯农药残留的检测过程进行不确定度来源分析,找到影响检测结果不确定度的主要因素,从而为相关的测量不确定度评定提供参考,对于质量控制具有重

要意义^[2-6]。本文检测的农残有机氯十六种包括:六氯苯、甲体-六六六、五氯硝基苯、丙体-六六六、乙体-六六六、丁体-六六六、七氯、艾氏剂、氧化氯丹、环氧七氯、反式氯丹、顺式氯丹、PP'-DDE、OP'-DDT、PP'-DDD、PP'-DDT。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人参购于当地人参市场。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 主要仪器

作者简介:宋莹莹,女,研究实习员,主要从事植物化学。

*通信作者:曹志强,男,研究员,主要从事人参、西洋参研究、标准制定、产品研发和规范化种植。E-mail:th5161@163.com.

表 1 实验主要用仪器

所用仪器名称	型号
分析天平	SQP
圆周振荡仪	Lab-Dancer
漩涡混合器	MX-S
旋转蒸发器	RE-52AA
循环水真空泵	SHZ-D(III)
移液枪	大龙
数控超声波清洗器	KQ-500DE
智能高速冷冻离心机	3H16RI
气相色谱仪	Agilent 7890B

1.2.2 主要试剂

正己烷(AR);丙酮(AR);氯化钠(AR);二氯甲烷(AR);无水硫酸钠(AR);浓硫酸(AR)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品测定

按照《中国药典》2015 年版第一增补本,人参项下有机氯类农药残留量的测定。精密称取人参粉末 5.0000g,置具塞锥形瓶中,加水 30mL,振摇 10min,精密加丙酮 50mL,称定重量,超声处理(功率 300W,频率 40kHz)30min,放冷,再称定重量,用丙酮补足减失的重量,再加氯化钠约 8g,精密加二氯甲烷 25mL,称定重量,超声处理(功率 300W,频率 40kHz)15min,再称定重量,用二氯甲烷补足减失的重量,振摇使氯化钠充分溶解,静置,转移至离心管中,离心(每分钟 3000 转)3min,使完全分层,将有机相转移至装有适量无水硫酸钠的具塞锥形瓶中,放置 30min。精密量取 15mL,置 40℃水浴中减压浓缩至约 1mL,加正己烷约 5mL,减压浓缩至近干,用正己烷溶解并转移至 5mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,转移至离心管中,缓缓加入硫酸溶液(9→10)1mL,振摇 1min,离心(每分钟 3000 转)10min,分取上清液,加水 1mL,振摇,取上清液,即得。

1.3.2 数学模型

试样中有机氯农药的含量数学模型建立如下:

$$W = \frac{A \times V_1 \times V_3 \times C}{A_s \times V_2 \times M}$$

式中:

W——试样中各组分农药含量,单位为毫克每千克(mg/kg)

A——试样中各组分农药峰面积,单位为赫兹*

秒(Hz*s)

A_s ——标准溶液峰面积,单位为赫兹*秒(Hz*s)

C——标准溶液浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)

V_1 ——萃取溶剂总体积,单位为毫升(mL)

V_2 ——取出样品溶液的体积,单位为毫升(mL)

V_3 ——样品定容体积,单位为毫升(mL)

M——称取试样质量,单位为克(g)

1.4 不确定度分量来源

从检测过程和数学模型分析,检测有机氯农药残留量的不确定度主要有以下 7 个来源:a.样品称量过程引入的不确定度。b.试剂转移过程移液枪引入的不确定度。c.样液定容过程引入的不确定度。d.样品上机过程引入的不确定度。e.标准溶液引入的不确定度。即标准物质的相对不确定度、标准溶液稀释过程引入的不确定度。f.实验回收率引入的不确定度。g.重复测量引入的不确定度。

2 结果与分析

2.1 样品称量过程引入的不确定度

电子天平检定合格,根据检定证书,当 $0.01 \text{ g} \leq m \leq 5 \text{ g}$ 时,天平校准允许的最大误差为 $\pm 0.05 \text{ mg}$,称取人参粉末 5.0000g,取矩形分布,引入的相对标准不确定度为:

$$U_1(\text{rel}) = \frac{0.05}{\sqrt{3} \times 5 \times 1000} = 5.77 \times 10^{-4} \%$$

2.2 试剂转移过程移液枪引入的不确定度

移液枪引入的不确定度,用 B 类不确定评定。根据 2~10mL 移液枪的出厂证书可知系统误差为 0.29%,即引入的相对标准不确定度为:

$$U_2(\text{rel}) = 0.29 \%$$

2.3 样液定容至 5mL 容量瓶过程引入的不确定度

根据 JG196—2006 《(常用玻璃量器检定规程》[7],得 5mLA 级容量瓶允许最大误差为 $\pm 0.020 \text{ mL}$,即 5mL 容量瓶的误差半宽为 0.02mL,符合均匀分布,则其相对标准不确定度为:

$$U_3(\text{rel}) = \frac{0.02}{\sqrt{3} \times 5} \times 100 \% = 0.23 \%$$

2.4 样品上机过程引入的不确定度

气相色谱仪引入的不确定度,查检定报告可知:

$$U_4(\text{rel}) = 3 \%$$

2.5 标准溶液引入的不确定度

2.5.1 标准品本身浓度的不确定度

根据各标准品的说明书,统计计算各标准品相对标准不确定度,详见表 2。

表 2 十六种有机氯农残标准品相对标准不确定度

样品名称	标准值 ($\mu\text{g/mL}$)	扩展不确定 ($\mu\text{g/mL}$)	相对标准不确 定度(%)
α -六六六	100	0.13	0.065
β -六六六	100	0.10	0.050
γ -六六六	100	0.13	0.065
δ -六六六	100	0.13	0.065
五氯硝基苯	100	0.12	0.060
PP'-DDE	100	0.11	0.055
OP'-DDT	100	0.09	0.045
PP'-DDD	100	0.10	0.050
PP'-DDT	100	0.10	0.050
六氯苯	100	0.12	0.060
七氯	100	0.11	0.055
环氧七氯	100	0.11	0.055
艾氏剂	100	0.11	0.055
顺式氯丹	20	0.045	0.0225
反式氯丹	20	0.036	0.018
氧化氯丹	100	0.13	0.065

2.5.2 标准溶液稀释过程引入的不确定度

2.5.2.1 移液管引入的不确定度

根据 JJG196—2006《常用玻璃量器检定规程》，

1mL 移液管允许最大误差为 $\pm 0.008\text{mL}$ ，按照均匀分布计算，其相对标准不确定度为：

$$U_5(\text{rel}) = \frac{0.08}{\sqrt{3} \times 1} \times 100\% = 0.462\%$$

0.5mL 移液管允许最大误差为 $\pm 0.005\text{mL}$ ，按照均匀分布计算，其相对标准不确定度为：

$$U_6(\text{rel}) = \frac{0.005}{\sqrt{3} \times 0.05} \times 100\% = 0.58\%$$

2.5.2.2 容量瓶引入的不确定度

同理查 JJG196—2006(常用玻璃量器检定规程)，得 50mL 容量瓶允许最大误差为 $\pm 0.05\text{mL}$ ，按照均匀分布计算，其相对标准不确定度为：

$$U_7(\text{rel}) = \frac{0.05}{\sqrt{3} \times 0.05} \times 100\% = 0.058\%$$

10mL 容量瓶允许最大误差为 $\pm 0.02\text{mL}$ ，按照均匀分布计算，其相对标准不确定度为：

$$U_8(\text{rel}) = \frac{0.02}{\sqrt{3} \times 10} \times 100\% = 0.12\%$$

2.5.3 标准溶液上机引入的不确定度

气相色谱仪引入的不确定度，查检定报告可知：

$$U_9(\text{rel}) = 3\%$$

2.6 实验回收率引入的不确定度

对空白样品进行 6 次加标回收试验，加标水平为 $0.1\mu\text{g/mL}$ ，即加标样检出浓度示值与回收率见表 3。

表 3 加标回收率试验

各目标物含量 ($\mu\text{g/mL}$)															
六氯苯	甲体- 六六六	五氯硝 基苯	丙体- 六六六	七氯	艾氏剂	乙体- 六六六	氧化氯丹	丁体- 六六六	环氧七氯	反式 氯丹	顺氏氯丹	P.P'- DDE	O.P'- DDT	P.P'- DDD	P.P'- DDT
0.0716	0.0744	0.0694	0.0719	0.0815	0.0727	0.0781	0.0661	0.0761	0.0769	0.0709	0.0699	0.0738	0.0783	0.0883	0.0791
0.0798	0.0845	0.0843	0.0815	0.0895	0.0832	0.0827	0.0777	0.0889	0.0840	0.0805	0.0791	0.0856	0.0916	0.0836	0.0876
0.0788	0.0833	0.0836	0.0812	0.0911	0.0823	0.0833	0.0774	0.0890	0.0874	0.0795	0.0781	0.0850	0.0922	0.0801	0.0822
0.0787	0.0835	0.0839	0.0811	0.0925	0.0820	0.0830	0.0775	0.0898	0.0809	0.0799	0.0788	0.0845	0.0944	0.0893	0.0803
0.0799	0.0850	0.0857	0.0819	0.0948	0.0829	0.0833	0.0782	0.0904	0.0816	0.0804	0.0793	0.0847	0.0935	0.0886	0.0846
0.0792	0.0839	0.0849	0.0811	0.0944	0.0818	0.0857	0.0772	0.0893	0.0807	0.0793	0.0781	0.0835	0.0940	0.0881	0.0839
平均回收率 R(%)															
78.0	82.4	82.0	79.8	90.6	80.8	82.7	75.7	87.3	81.9	78.4	77.2	82.9	90.7	86.3	83.0
回收率标准偏差 S(%)															
3.17	3.98	6.20	3.87	4.90	4.01	2.49	4.71	5.49	3.53	3.71	3.62	4.49	6.15	3.67	3.09

由表 3 可以知道，各目标物的回收率平均值 R 与标准偏差 S，用 t 检验法来检验回收率是否与 100% 存在显著性差异。

$$t = \frac{|100\% - R|}{U(R)}$$

方法使用有证标准物质做回收试验，其不确定度为^[8]：

$$U(R)=R\sqrt{\frac{S^2}{nR^2}+\left[\frac{U(C_s)}{C_s}\right]^2}$$

式中: $U(R)$ 为标准不确定度;

R 为平均回收率;

S 为重复分析的标准偏差;

n 为重复次数;

C_s 为标准物质证书给定的标准值;

$U(C_s)$ 为标准物质的标准不确定度。

由于标准物质的不确定度在标准溶液使用引入的不确定度已考虑过,这里不做再次考虑,上式简化为:

$$U(R)=R\sqrt{\frac{S^2}{nR^2}}=\frac{S}{\sqrt{n}}$$

查 t 表得,在自由度为 5,置信概率为 95% 下, $t_{0.95}(5)=2.57$ 。由表 3 计算得出各目标物 t 均大于 $t_{0.95}(5)$,因此,平均回收率 R 与 100% 存在显著性差异,须使用回收率修正结果。修正公式如下:

$$U_{rel}(R)=\sqrt{\left[\frac{1-R}{K}\right]^2+U(R)^2}$$

式中: k 为包含因子,按均匀分布, $k=\sqrt{3}$,修正后的回收率的相对不确定度见表 4。

表 4 十六种有机氯回收率引入的不确定

目标物名称	相对标准不确定度(%)	目标物名称	相对标准不确定度(%)
六氯苯	12.77	丁体-六六六	7.67
甲体-六六六	10.29	环氧七氯	10.55
五氯硝基苯	10.70	反式氯丹	12.56
丙体-六六六	11.77	顺氏氯丹	13.25
七氯	5.78	P.P'-DDE	10.04
艾氏剂	11.21	O.P'-DDT	5.93
乙体-六六六	10.04	P.P'-DDD	8.05
氧化氯丹	14.16	P.P'-DDT	9.90

2.7 重复测量引入的不确定度

通过对同一样品重复进样 6 次,测定值详见表 5。按 A 类评定应用贝塞尔公式计算,即每项的相对标准不确定度 $U_{11}(\text{rel})$ 如下表。

表 5 样品重复测量引入的不确定度

各目标物含量($\mu\text{g/mL}$)															
六氯苯	甲体-六六六	五氯硝基苯	丙体-六六六	七氯	艾氏剂	乙体-六六六	氧化氯丹	丁体-六六六	环氧七氯	反式氯丹	顺氏氯丹	P.P'-DDE	O.P'-DDT	P.P'-DDD	P.P'-DDT
0.0776	0.0824	0.0834	0.0819	0.0876	0.0827	0.0821	0.0761	0.0871	0.0819	0.0789	0.0789	0.0838	0.0893	0.0883	0.0821
0.0798	0.0845	0.0843	0.0815	0.0895	0.0832	0.0827	0.0777	0.0889	0.0840	0.0805	0.0791	0.0856	0.0916	0.0836	0.0876
0.0788	0.0833	0.0836	0.0812	0.0911	0.0823	0.0833	0.0774	0.0890	0.0874	0.0795	0.0781	0.0850	0.0922	0.0801	0.0822
0.0787	0.0835	0.0839	0.0811	0.0925	0.0820	0.0830	0.0775	0.0898	0.0809	0.0799	0.0788	0.0845	0.0944	0.0893	0.0803
0.0799	0.0850	0.0857	0.0819	0.0948	0.0829	0.0833	0.0782	0.0904	0.0816	0.0804	0.0793	0.0847	0.0935	0.0886	0.0846
0.0792	0.0839	0.0849	0.0811	0.0944	0.0818	0.0857	0.0772	0.0893	0.0807	0.0793	0.0781	0.0835	0.0940	0.0881	0.0839
平均值($\mu\text{g/mL}$)															
0.0790	0.0838	0.0843	0.0815	0.0917	0.0825	0.0834	0.0774	0.0891	0.0828	0.0798	0.0787	0.0845	0.0925	0.0863	0.0835
标准偏差($\mu\text{g/mL}$)															
0.000846	0.000920	0.000869	0.000378	0.00281	0.000542	0.00124	0.000701	0.00112	0.00256	0.000632	0.000508	0.000773	0.00190	0.00367	0.00253
相对标准不确定度(%)															
0.437	0.448	0.421	0.190	1.252	0.268	0.605	0.370	0.513	1.265	0.323	0.263	0.373	0.837	1.734	1.239

3 合成不确定度与实验结果

根据 JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》,合成不确定度计算公式为:

$$U_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u^2(x_i) + 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{\partial f}{\partial x_i} \cdot \frac{\partial f}{\partial x_j} \cdot r(x_i, x_j) \cdot u(x_i) \cdot u(x_j)}$$

式中 x_i, x_j , 为输入量, $i \neq j$

$r(x_i, x_j)$ 为输入量 x_i 和 x_j 之间的相关系数估计值。

实际工作中,若各输入量之间均不相关,或虽有部分输入量相关,但其相关系数较小而近似为 $r(x_i, x_j) = 0$, 于是 $U_c(y)$ 可简化为:

$$U_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u^2(x_i)} = \sqrt{\sum c_i^2 u^2(x_i)}$$

根据以上评估过程,各不确定度分量相互独立,因此,计算公式:

$$U_c(y) = \sqrt{u_1(\text{rel})^2 + u_2(\text{rel})^2 + u_3(\text{rel})^2 + \dots + u_n(\text{rel})^2}$$

计算结果见下表。

表6 十六种有机氯农药残留相对标准不确定度

样品名称	相对标准不确定度(%)
六氯苯	13.49
甲体-六六六	11.17
五氯硝基苯	11.55
丙体-六六六	12.54
七氯	7.33
艾氏剂	12.02
乙体-六六六	10.95
氧化氯丹	14.81
丁体-六六六	8.82
环氧七氯	11.47
反式氯丹	13.29
顺氏氯丹	13.94
P.P'-DDE	10.94
O.P'-DDT	7.39
P.P'-DDD	9.30
P.P'-DDT	10.87

4 结论

本研究对使用气相色谱法进行人参中十六种有机氯测定的不确定度来源进行了较全面的分析,通过对不确定度的计算评定,比较了各相对标准不确定度分量,发现影响测定人参中十六种有机氯的不确定度主要因素是回收率和重复性试验,因此本试验的关键在于对样品的前处理与仪器的稳定性,所以在以后的实验过程中要加强操作的规范性,且待仪器稳定后再检测,以减小不确定度的产生,从而得到准确性高的检测结果。

参 考 文 献

- [1]国家药典委员会.中国药典,一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015.
- [2]苏美玲,刘海旭,丁勇宝等.气相色谱法测定粮食中4种有机磷农药残留量的不确定度评定[J].食品安全质量检测学报,2018.11,9(21).
- [3]王吉祥,胡赠彬,张学忠等.气相色谱一串联质谱法测定三七中五氯硝基苯残留量的不确定度评定[J].食品安全质量检测学报,2018.5,9(09).
- [4]殷朝珍,翟付凤,董卫峰等.气相色谱法测定蔬菜中有机磷农药残留量不确定度评定研究[J].现代农业科技,2014(17).
- [5]中国质量技术监督局.中华人民共和国国家计量技术规范 JJF 1059.1-2012 测量不确定度评定与表示[S].2012.
- [6]高宇,王晓雅,于立亮等.气相色谱法测定人参中有机氯含量的不确定度评定[J].人参研究,2018(04).
- [7]JJG 196—2006 常用玻璃量器[S].
- [8]俞慧红.气相色谱法测定大米中马拉硫磷的不确定度评定[J].安徽农业科学,2015,43(35):148-150.