

# 基于改进的 QuEChERS 结合 UPLC-MS/MS 技术测定大米中 4 种杀虫剂类农药的不确定度评定

范宏<sup>1</sup>, 谭莉<sup>1</sup>, 张惠峰<sup>1</sup>, 张慧<sup>1</sup>, 蔡红梅<sup>1</sup>, 张俊姝<sup>2</sup>, 宋志峰<sup>1\*</sup>, 孟繁磊<sup>1\*</sup>

(1. 吉林省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所/吉林省农业环境与农产品安全重点实验室, 长春 130033;

2. 梅河口市农业综合行政执法大队, 吉林 梅河口 135000)

**摘要:** 对采用改进的 QuEChERS 结合超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)法测定大米中 4 种杀虫剂类农药测量值的不确定度进行评定。根据 JJF 1135-2005《化学分析测量不确定度评定》和 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》中的有关规定和基本程序, 建立大米中 4 种杀虫剂类农药含量不确定度的数学模型, 对测定过程中的不确定度来源进行分析和合成。结果显示: 当 4 种杀虫剂类农药含量分别为 9.18  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、8.81  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、8.26  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 7.95  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 其扩展不确定度依次为 1.49  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1.65  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1.40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 1.51  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ( $k=2$ ,  $P=95\%$ )。影响测定结果的主要因素是被测物质量浓度, 其次是样品测量的重复性、样品称量、净化液稀释、加标回收率、分析仪器和提取溶液加入体积。该方法适用于改进的 QuEChERS 结合 UPLC-MS/MS 法测定大米中杀虫剂类农药的不确定度评定, 以对大米中杀虫剂类农药的检测结果的可靠性提供科学依据。

**关键词:** QuEChERS; UPLC-MS/MS; 大米; 杀虫剂; 不确定度评定

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2024)04-0086-08

## Evaluation of Uncertainty in the Determination of Four Pesticides in Rice Based on Improved QuEChERS Combined with UPLC-MS/MS Technology

FAN Hong<sup>1</sup>, TAN Li<sup>1</sup>, ZHANG Huifeng<sup>1</sup>, ZHANG Hui<sup>1</sup>, CAI Hongmei<sup>1</sup>, ZHANG Junshu<sup>2</sup>, SONG Zhifeng<sup>1\*</sup>, MENG Fanlei<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Agricultural Quality Standard and Testing Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences/Jilin Provincial Key Laboratory of Agro-environment and Agro-products Safety, Changchun 130033; 2. Agricultural Comprehensive Administrative Law Enforcement Unit of Meihokou City, Meihokou 135000, China)

**Abstract:** the uncertainty of four pesticides in rice was evaluated by improved QuEChERS combined with UPLC-MS/MS. According to the relevant provisions and basic procedures of JJF 1135-2005 "Evaluation of Measurement Uncertainty in Chemical Analysis" and JJF 1059.1-2012 "Evaluation and Expression of Measurement Uncertainty", a mathematical model for the uncertainty of the content of four pesticides in rice is established and the sources of uncertainty in the determination process are analyzed and synthesized. The results showed that when the contents of four pesticides were 9.18, 8.81, 8.26, 7.95  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectively, the expanded uncertainty was 1.49, 1.65, 1.40, 1.51  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ( $k=2$ ,  $P=95\%$ ), respectively. The main factors affecting the determination results were the mass concentration of the measured substance, followed by the repeatability of sample measurement, sample weighing, purification solution dilution, the recovery rate of standard addition, analytical instrument and the volume of extraction solution. This method is applicable to the uncertainty evaluation of the improved QuEChERS combined with UPLC-MS/MS method for the determination of pesticides in rice, so as to provide a scientific basis for the reliability of the

收稿日期: 2024-01-22

基金项目: 吉林省科技厅重点研发项目(20210202110NC); 吉林省科技厅创新平台(基地)和人才专项(20230505056ZP)

作者简介: 范宏(1987-), 女, 助理研究员, 硕士, 主要从事农产品质量安全检测技术研究。

通信作者: 宋志峰, 男, 硕士, 研究员, E-mail: mhsr@sina.com

孟繁磊, 女, 硕士, 副研究员, E-mail: mengfanlei622@126.com

detection results of pesticides in rice.

**Key words:** QuEChERS; UPLC-MS/MS; Rice; Insecticide; Uncertainty evaluation

大米含有丰富的营养物质,是我国最主要的粮食<sup>[1]</sup>,我国是人口大国,水稻的产量居全球首位。随着人们生活水平的提高,大米的质量问题受到更大的关注,这是关系到国民生计问题的重中之重。农药的使用可以提高水稻的质量和产量,但是不合理的使用会带来一定的农药残留问题。杀虫剂是水稻生长过程中常用的农药,不合理使用会对环境和人体造成一定的威胁<sup>[2-7]</sup>。目前,粮谷中农药残留的检测方法主要有气相色谱法<sup>[8-9]</sup>、液相色谱法<sup>[10-11]</sup>、气相色谱-串联质谱法<sup>[12-14]</sup>和液相色谱-串联质谱法<sup>[15-17]</sup>等。大米中农药残留检测方法气相色谱-串联质谱法<sup>[18-20]</sup>和液相色谱-串联质谱法<sup>[21-23]</sup>因高效、准确等特点被广泛应用。

近年来,越来越多的检测机构关注不确定度的重要性,测定过程中有些环节会对最终测定值产生一定的不确定部分,不确定度与检测结果有着十分重要的关联性<sup>[24-28]</sup>,对检测结果的可靠性、校准和数值溯源等有着重要意义<sup>[29,30]</sup>。为此,本试验选择啉虫脒、吡虫啉、噻嗪酮、异丙威4种杀虫剂类农药,依据《测量不确定度评定与表示》<sup>[31]</sup>、《化学分析中不确定度的评估指南》<sup>[32]</sup>、《化学分析测量不确定度评定》<sup>[33]</sup>规定的基本方法和程序,对建立改进的QuEChERS法结合UPLC-MS/MS法测定大米中4种杀虫剂类农药方法的不确定度进行评定,确定主要的影响因素,并提出试验过程中需要注意的关键点,以对大米中杀虫剂类农药的检测结果的可靠性提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

大米样品为本实验室留存的无农药残留检出的大米样品;啉虫脒、吡虫啉、噻嗪酮、异丙威标准物质(1 000 mg/L),美国 Thermo Fisher 公司; N-丙基乙二胺散装吸附剂(PSA)、C<sub>18</sub>封端 SPE 散装吸附剂:分析纯,安捷伦科技有限公司;萃取盐包:天津欧姆尼基因科技有限公司;乙腈、甲酸、甲醇:色谱级,美国 Thermo Fisher 公司;甲酸铵:色谱纯,上海麦克林生化科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

Q-TRAP 5500 质谱仪: AB Sciex; LC-30A 超高效液相色谱仪:岛津公司; Milli-Q 超纯水仪(电阻率: 18.2M $\Omega$ . cm): 密理博公司; GENIUS 3 涡旋混

匀器: IKA 公司; MULTIFUGE X3R 离心机: Thermo Fisher 公司; FW-100 高速万能粉碎机: 北京市永光明医疗仪器有限公司。

### 1.3 标准溶液的配制

#### 1.3.1 混合标准中间溶液的配制

分别移取啉虫脒、吡虫啉、噻嗪酮、异丙威标准溶液各 0.10 mL 于 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,得到 1 mg/L 混合标准中间溶液。于 -18 °C 避光贮存,备用。

#### 1.3.2 混合标准工作液的配制

分别移取一定量的混合标准中间溶液于 10 mL 容量瓶,用空白大米提取液稀释至刻度,即得系列混合标准工作液,其浓度分别为 1、5、10、25、50、100  $\mu$ g/L。

### 1.4 样品前处理

准确称量 5.00 g 大米样品于 50 mL 离心管中,加入水 20 mL,涡旋混匀 60 s。静置 30 min 后,再加入乙腈溶液 10 mL,涡旋混匀 30 s,加入萃取盐包(包括 MgSO<sub>4</sub> 含量为 6 g, NaCOOH 含量为 1.5 g),涡旋混匀 60 s,于离心机 10 000 r/min 条件下离心 5 min。然后取 1 mL 上层乙腈提取溶液,加入装有 C<sub>18</sub>、PSA、硫酸镁(含量依次分别为 100 mg、50 mg、150 mg)的净化管中,涡旋混匀 30 s 后,于 10 000 r/min 条件下离心 5 min,将全部净化后的提取溶液过 0.22  $\mu$ m 有机微孔滤膜,取 0.50 mL 过膜后的提取溶液,再加入 0.50 mL 的水,涡旋混匀 30 s 后,上机备用。

### 1.5 仪器条件

#### 1.5.1 色谱条件

色谱柱: Kinetex SB-C<sub>18</sub> (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7  $\mu$ m); 流动相: A 相为 5 mmol/L 甲酸铵水溶液, B 相为 5 mmol/L 甲酸铵甲醇溶液; 进样量: 3  $\mu$ L; 柱温: 40 °C; 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

步骤	时间/min	A/%	B/%	流速/mL $\cdot$ min <sup>-1</sup>
1	0	95	5	0.3
2	1.0	60	40	0.3
3	3.0	20	80	0.3
4	5.0	5	95	0.3
5	8.0	5	95	0.3
6	8.1	95	5	0.3
7	11.0	95	5	0.3

### 1.5.2 质谱条件

离子源:电喷雾离子源;离子源温度:550 °C;质谱扫描方式:多反应离子监测(MRM);电离模式:ESI<sup>+</sup>;气帘气压力:206.9 kpa;离子源喷雾电压:5 500 V;碰撞气压力:103.4 kpa。其余质谱条件见表2。

表2 4种杀虫剂类农药的质谱检测条件

序号	化合物	离子对/m·z <sup>-1</sup>	去簇电压/V	碰撞能量/eV
1	啉虫脒	223.1/126*, 223.1/56	100	25, 20
2	吡虫啉	256/209*, 256/175	100	20, 30
3	噻嗪酮	306/201*, 306/116	70	16, 22
4	异丙威	194/95*, 194/137	84	23, 12

注:“\*”定量离子

### 1.6 数学模型的建立

大米样品中4种杀虫剂类农药的残留量测定计算公式为:

$$X = \frac{C \times V}{m \times R} \times f \dots\dots\dots (1)$$

式中:X为大米样品中杀虫剂类农药的残留量(μg/kg);C为标准曲线上查得杀虫剂类农药的质量浓度(μg/L);V为加入提取试剂的体积(mL);m为大米样品称样量(g);R为回收率;f为稀释倍数。

### 1.7 不确定度分量的主要来源分析

根据测量过程和数学模型,测定大米中4种杀虫剂类农药的不确定度来源见图1。

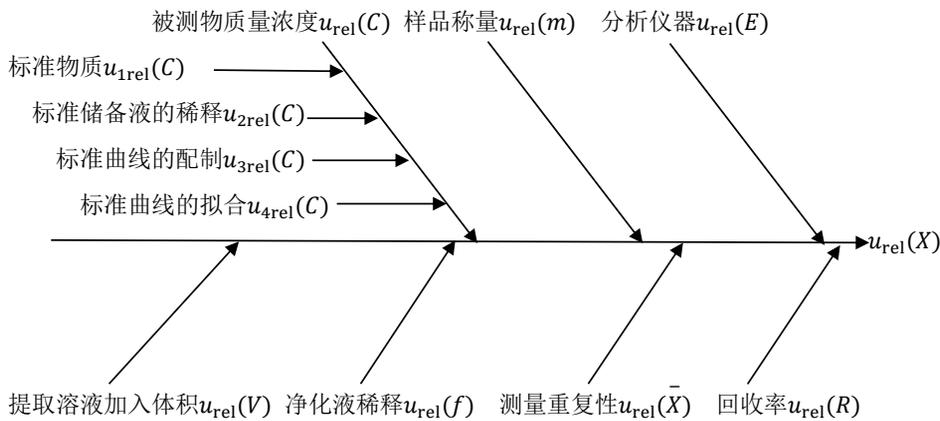


图1 不确定度来源因素示意图

采用基质匹配校准曲线外标法定量,采用仪器配套 MultiQuant 3.0.2 和 Office Excel 2021 进行数据处理和图表的绘制。

## 2 不确定度分量的分析

### 2.1 被测物质量浓度带来的不确定度

#### 2.1.1 标准物质的不确定度

根据标准物质证书可知,啉虫脒、吡虫啉、噻嗪酮、异丙威的质量浓度均为1 000 mg/L,扩展不确定度分别为:9%、8%、7%、7%,k=2,啉虫脒的相对不确定度为: $u_{1rel}(C) = \frac{9\%}{2} = 0.045$ ,同理,吡虫啉、噻嗪酮、异丙威的相对不确定度分别为0.040、0.035、0.035。

#### 2.1.2 标准物质储备液稀释带来的不确定度

用移液器分别移取标准物质溶液0.10 mL于100 mL容量瓶中,用甲醇定容至刻度,即得浓度为1 mg/L的混合标准中间溶液。

根据JJG646-2006《移液器检定规程》<sup>[34]</sup>的规定,0.10 mL的移液器的容量允差为±2%,0.10 mL

的移液器带来的不确定度为 $u_{rel}(V_{0.10})$ ,因此校准误差带来的不确定度为:

$$u_1(V_{0.10}) = \frac{0.02}{\sqrt{3}} = 0.0115 \mu\text{L} \dots\dots\dots (2)$$

由于试验室的温度差异为±3 °C左右,甲醇的膨胀系数为 $1.2 \times 10^{-3}$ ,则 $\Delta V = V \times \text{液体膨胀系数} \times \Delta T = 100 \times 0.0012 \times 3 = 0.360 \mu\text{L}$ ,因此温度差异带来的不确定度为:

$$u_2(V_{0.10}) = \frac{0.360}{\sqrt{3}} = 0.2078 \mu\text{L} \dots\dots\dots (3)$$

由以上可得0.10 mL的移液器带来的不确定度 $u_{rel}(V_{0.10})$ 为:

$$u_{rel}(V_{0.10}) = \frac{u(V_{0.10})}{V} = \frac{\sqrt{u_1^2(V_{0.10}) + u_2^2(V_{0.10})}}{100} = 0.0021 \dots\dots\dots (4)$$

根据JJG196-2006《常用玻璃量器检定规

程》<sup>[35]</sup>的规定,100 mL容量瓶的容量允差为±0.10 mL,100 mL的容量瓶带来的不确定度为 $u_{rel}(V_{100})$ ,因此校准误差带来的不确定度为:

$$u_1(V_{100}) = \frac{0.10}{\sqrt{3}} = 0.0578 \text{ mL} \dots\dots\dots (5)$$

由于实验室的温度差异为±3℃左右,甲醇的膨胀系数为 $1.2 \times 10^{-3}$ ,则 $\Delta V = V \times \text{液体膨胀系数} \times \Delta T = 100 \times 0.0012 \times 3 = 0.360 \text{ (mL)}$ ,因此温度差异带来的不确定度为:

$$u_2(V_{100}) = \frac{0.360}{\sqrt{3}} = 0.2078 \text{ mL} \dots\dots\dots (6)$$

由以上可得100 mL的容量瓶带来的不确定度 $u_{rel}(V_{100})$ 为:

$$u_{rel}(V_{100}) = \frac{u(V_{100})}{V} = \frac{\sqrt{u_1^2(V_{100}) + u_2^2(V_{100})}}{100} = 0.0022 \dots\dots\dots (7)$$

则标准储备液的稀释带来的不确定度为:

$$u_{2rel}(C) = \sqrt{u_{rel}^2(V_{0.10}) + u_{rel}^2(V_{100})} = 0.0030 \dots\dots\dots (8)$$

2.1.3 标准系列曲线的配制带来的不确定度

分别移取0.01 mL、0.05 mL、0.10 mL、0.25 mL、0.50 mL、1.00 mL的混合标准中间溶液于10 mL容量瓶中,用空白大米提取液定容至刻度即得到浓度分别为1,5,10,25,50、100 μg/L的系列标准工作液,标准系列溶液的配制带来的不确定度见表3。

表3 标准系列溶液配制带来的不确定度

项目	0.01 mL 移液器	0.10 mL 移液器	0.20 mL 移液器	1.00 mL 移液器	1.00 mL 移液器	1.00 mL 移液器
校准误差						
移取体积/mL	0.01	0.05	0.10	0.25	0.50	1.00
容量允差/%	±8.0	±3.0	±2.0	±1.5	±1.0	±1.0
计算公式	$0.08/\sqrt{3}$	$0.03/\sqrt{3}$	$0.02/\sqrt{3}$	$0.015/\sqrt{3}$	$0.01/\sqrt{3}$	$0.01/\sqrt{3}$
不确定度 $u(V_V)$	0.0462	0.0173	0.0115	0.00866	0.00577	0.00577
温度差异						
温度差异 $\Delta T/^\circ\text{C}$	±3	±3	±3	±3	±3	±3
50%甲醇体积膨胀系数 $\beta$	$6.5 \times 10^{-4}$					
计算公式	$\frac{\beta \times V \times \Delta T}{\sqrt{3}}$					
不确定度 $u(V_T)$	0.000113	0.000563	0.000113	0.000281	0.000563	0.00113
相对合成不确定度 $u(V)$	0.0462	0.0173	0.0115	0.0087	0.0012	0.0006

根据《常用玻璃量器检定规程》<sup>[35]</sup>规定,10 mL的容量瓶(A级)的容量允差为±0.020 mL,因10 mL容量瓶的校准误差带来的不确定度为:

$$u_1(V_{10}) = \frac{0.020}{\sqrt{3}} = 0.0120 \text{ mL} \dots\dots\dots (9)$$

由于试验室的温度差异在±3℃左右,乙腈的液体膨胀系数为 $1.37 \times 10^{-3}$ ,因此试验室的温度差异带来的不确定度为:

$$u_2(V_{10}) = \frac{10 \times 0.00137 \times 3}{\sqrt{3}} \dots\dots\dots (10)$$

$$= 0.0237 \text{ mL}$$

$$u_{rel}(V_{10}) = \frac{u(V_{10})}{V} = \frac{\sqrt{u_1^2(V_{10}) + u_2^2(V_{10})}}{10} \dots\dots\dots (11)$$

$$= 0.0027$$

在标准系列工作溶液的配制过程中用到0.01 mL的移液器1次、0.10 mL的移液器1次、0.20 mL的移液器1次、1.00 mL的移液器3次、10 mL的容量瓶6次,因此在标准系列工作溶液的配制过程中带来的不确定度为:

$$u_{3rel}(C) = \sqrt{0.0462^2 + 0.0173^2 + 0.0115^2 + 0.0087^2 + 0.0012^2 + 0.0006^2 + 6 \times 0.0027^2} = 0.0518 \dots\dots (12)$$

2.1.4 标准曲线拟合过程带来的不确定度

配制质量浓度均为1、5、10、25、50和100 μg/L的4种杀虫剂类农药系列标准工作溶液,将峰面积对4种杀虫剂类农药的质量浓度作线性回归方程,横坐标x为4种杀虫剂类农药的质量浓度,纵

坐标y为4种杀虫剂类农药定量离子的峰面积,利用最小二乘法做线性拟合,因此得到标准曲线方程 $y=bx+a$ 和相关系数r,4种杀虫剂类农药的具体曲线数据见表4。

对大米样品以10 μg/kg的添加水平进行平行

表4 最小二乘拟合标准曲线数据

待测物	质量浓度	峰面积	线性方程和相关系数	待测物	质量浓度	峰面积	线性方程和相关系数
啶虫脒	1	346 600	$y = 13\ 101x + 153\ 136$ $r=0.999\ 7$	吡虫啉	1	116 800	$y = 5\ 097x + 47\ 620$ $r=0.999\ 0$
	5	585 100			5	213 500	
	10	1 151 000			10	443 600	
	25	2 219 000			25	797 800	
	50	4 117 000			50	1 673 000	
	100	7 975 000			100	3 062 000	
噻嗪酮	1	508 900	$y = 26\ 761x + 39\ 959$ $r=0.999\ 9$	异丙威	1	44 870	$y = 1\ 663x + 15\ 185$ $r=0.999\ 8$
	5	1 047 000			5	71 380	
	10	1 998 000			10	149 300	
	25	4 152 000			2	257 000	
	50	8 065 000			50	523 300	
	100	16 080 000			100	1 009 000	

测量6次,根据上述标准曲线计算得到啶虫脒、吡虫啉、噻嗪酮、异丙威的质量浓度分别为2.295、2.203、2.065、1.988 μg/L。

$$u(C) = \frac{S_R}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{C} - \bar{C}_0)^2}{\sum_{i=1}^n (C_{0i} - \bar{C}_0)^2}} \dots\dots\dots (13)$$

其中： $S_R$ 为回归曲线的剩余标准差， $b$ 为斜率， $p$ 为大米样品的重复测量次数， $n$ 为回归曲线的点数， $\bar{C}$ 为大米样品测量浓度的平均值， $\bar{C}_{0i}$ 为各标准溶液的浓度值， $\bar{C}_0$ 为回归曲线各点浓度的平均值。

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_{0i} - (a + bC_{0i})]^2}{n - 2}} \dots\dots\dots (14)$$

其中： $A_{0i}$ 为各标准溶液的实际峰面积， $a + bC_{0i}$ 为根据回归曲线计算而得的理论值。则4种杀虫剂类农药的计算结果见表5。

表5 最小二乘拟合标准曲线带来的不确定度

待测物	$S_R$	$b$	$p$	$n$	$u_{4rel}(C)$
啶虫脒	65 291	13 101	6	6	0.023 5
吡虫啉	56 532	5 097	6	6	0.054 5
噻嗪酮	98 293	26 761	6	6	0.019 3
异丙威	14 655	1 663	6	6	0.048 0

综上,4种杀虫剂类农药被测物浓度带来的不确定度的相关量值见表6。

2.2 样品称量带来的不确定度

准确称取5.00 g均匀的大米样品,由天平的检定证书可知天平校准为±0.15 mg,则天平校准带来的不确定度为:

表6 被测物浓度带来的不确定度  $u(C)$

待测物	$u_{1rel}(C)$	$u_{2rel}(C)$	$u_{3rel}(C)$	$u_{4rel}(C)$	$u_{rel}(C)$
啶虫脒	0.045	0.003 0	0.051 8	0.023 5	0.072 6
吡虫啉	0.040	0.003 0	0.051 8	0.054 5	0.085 2
噻嗪酮	0.035	0.003 0	0.051 8	0.019 3	0.065 5
异丙威	0.035	0.003 0	0.051 8	0.048 0	0.078 9

$$u(m) = \frac{0.15}{\sqrt{3}} = 0.086\ 6\ \text{mg} \dots\dots\dots (15)$$

因此样品称量带来的相对不确定度为:

$$u_{rel}(m) = \frac{u(m)}{m} = 0.017\ 3 \dots\dots\dots (16)$$

2.3 样品前处理提取溶液的加入体积带来的不确定度

用25 mL可调移液器准确加入10 mL的乙腈提取溶液,当设定值为10 mL时,其容量允差为±50.0 μL,因此25 mL的可调移液器带来的不确定度为:

$$u_1(V) = \frac{0.050\ 0}{\sqrt{3}} = 0.028\ 9 \dots\dots\dots (17)$$

本试验室的温度差异为±3 °C左右,乙腈的液体膨胀系数为 $1.37 \times 10^{-3}$ ,则温度差异带来的不确定度为:

$$u_2(V) = \frac{10 \times 0.001\ 37 \times 3}{\sqrt{3}} = \frac{0.041\ 1}{\sqrt{3}} = 0.023\ 7(\text{mL}) \dots\dots\dots (18)$$

因此样品前处理提取液的加入体积带来的不确定度为:

$$u_{rel}(V) = \frac{\sqrt{u_1^2(V) + u_2^2(V)}}{10} = 0.003\ 7 \dots\dots\dots (19)$$

### 2.4 样品净化液稀释的移取带来的不确定度

样品提取液经净化后,取 0.50 mL 净化液与 0.50 mL 水混合上机待测,由 2.1.3 可知,1.00 mL 移液器校准误差带来的不确定度为  $u_1(f_{0.50}) = 0.0058$  mL,移取净化液时温度差异带来的不确定度为:

$$u_2(f_{\text{净}}) = \frac{0.50 \times 0.00137 \times 3}{\sqrt{3}} = 0.0012(\text{mL})$$

..... (20)

则移取净化液时带来的不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(f_{\text{净}}) = \frac{\sqrt{u_1^2(f_{0.50}) + u_2^2(f_{\text{净}})}}{0.50} = 0.0118$$

..... (21)

同理移取水时温度差异带来的不确定度为:

$$u_2(f_{\text{水}}) = \frac{0.50 \times 0.00025 \times 3}{\sqrt{3}} = 0.0002(\text{mL})$$

..... (22)

则移取水时带来的不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(f_{\text{水}}) = \frac{\sqrt{u_1^2(f_{0.50}) + u_2^2(f_{\text{水}})}}{0.50} = 0.0116$$

..... (23)

由上可得样品前处理移取净化液稀释时带来的不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(f) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(f_{\text{净}}) + u_{\text{rel}}^2(f_{\text{水}})} = 0.0165$$

..... (24)

### 2.5 样品测量重复性带来的不确定度

在重复性测定的条件下,以啶虫脒为例,准确称取 6 份的 5.00 g 样品,经提取、净化后,以 10 μg/kg 的添加水平对样品进行重复测定 6 次,测得值依次为  $X_1=9.129$  μg/kg、 $X_2=8.871$  μg/kg、 $X_3=9.264$  μg/kg、 $X_4=9.532$  μg/kg、 $X_5=9.095$  μg/kg、 $X_6=9.191$  μg/kg。

$$u(\bar{X}) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} = 0.225$$

..... (25)

因此啶虫脒样品测定重复性带来的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(\bar{X}) = \frac{u(\bar{X})}{\bar{X}} = 0.0245$$

..... (26)

$$u_{\text{rel}}(X) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(C) + u_{\text{rel}}^2(m) + u_{\text{rel}}^2(V) + u_{\text{rel}}^2(f) + u_{\text{rel}}^2(\bar{X}) + u_{\text{rel}}^2(R) + u_{\text{rel}}^2(E)}$$

..... (30)

因此 4 种杀虫剂类农药的不确定度分别为 0.0811、0.0935、0.0849、0.0947。

同理,吡虫啉、噻嗪酮、异丙威样品测定重复性带来的相对不确定度分别为 0.0269、0.0458、0.0434。

### 2.6 加标回收率带来的不确定度

准确称取 6 份的大米空白样品进行添加回收试验,由回收率带来的不确定度的计算公式为:

$$u_{\text{rel}}(R) = \frac{S(\bar{R})}{\sqrt{6} \times \bar{R}}$$

..... (27)

式中:  $u_{\text{rel}}(R)$  为加标回收率带来的不确定度,  $S(\bar{R})$  为回收率的标准偏差,  $\bar{R}$  为回收率的平均值。

回收率显著性检验的计算公式为:

$$t = \frac{|100\% - \bar{R}|}{u_{\text{rel}}(R)}$$

..... (28)

4 种杀虫剂类农药的计算结果见表 7。查阅 t 值临界值分布表可知,4 种杀虫剂类农药的 t 值均大于双侧临界值  $t_{(0.05,5)}=2.571$ ,因此表明回收率的结果具有显著性,所以在测定大米样品时应将回收率带入相应的计算公式来校正检测结果。

表 7 4 种杀虫剂类农药的回收率及其带来的不确定度 (n=6)

待测物	$\bar{R}/\%$	$S(\bar{R})/\%$	$u_{\text{rel}}(R)$	t 值	P
啶虫脒	91.80	2.17	0.00967	8.48	显著
吡虫啉	88.12	2.60	0.0120	9.87	显著
噻嗪酮	82.58	2.98	0.0147	11.82	显著
异丙威	79.53	3.11	0.0159	12.84	显著

### 2.7 分析仪器带来的不确定度

本试验所采用的分析仪器为超高效液相色谱三重四极杆质谱仪,其校准证书扩展不确定度为 1%,k=2,因此本检测分析仪器带来的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(E) = \frac{0.01}{2} = 0.0050$$

..... (29)

### 2.8 4 种杀虫剂类农药的不确定度的合成

合成标准不确定度为:

### 2.9 扩展不确定度及结果表示

以 10 μg/kg 的添加水平对大米空白样品进行

添加试验,在95%的置信水平下,包含因子 $k=2$ ,其扩展不确定度为:

$$U(X) = k \times X \times u_{rel}(X) \dots\dots\dots (31)$$

4种杀虫剂类农药的检测结果见表8。

表8 4种杀虫剂类农药的检测结果

待测物	$u_{rel}(X)$	$X/\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$U(X)$	检测结果/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
啶虫脒	0.081 1	9.18	1.49	9.18±1.49
吡虫啉	0.093 5	8.81	1.65	8.81±1.65
噻嗪酮	0.084 9	8.26	1.40	8.26±1.40
异丙威	0.094 7	7.95	1.51	7.95±1.51

### 3 结 论

本研究通过对改进的QuEChERS技术结合UPLC-MS/MS法测定大米中4种杀虫剂类农药的各个因素的不确定度进行考察,对影响检测结果的各个因素比较结果见图2。由图2可知,各个因素对检测结果的影响不同,其从大到小依次为被测物质量浓度、样品测量的重复性、样品称量、净化液稀释、加标回收率、分析仪器、提取溶液加入体积,其中标准系列曲线的配制带来的不确定度影响最大。因此为了提高检测结果的准确度,特别注意要选择正规的标准物质准确地配制标准工作溶液,选择相关性较好的标准曲线。此外,样品测量的重复性、样品称量、净化液的稀释和加标回收率对检测结果也有较大影响,可以分别通过增加样品的平行测定次数、选择合适量程和精度的天平称量样品、选择合适移液器准确稀释样品净化液及选择适当的提取方法提高回收率来减少对检测结果的影响;同时分析仪器和提取溶液的加入体积对检测结果也有一定的影响,可以分别通过定期进行维护和期间核查确保仪器正常工

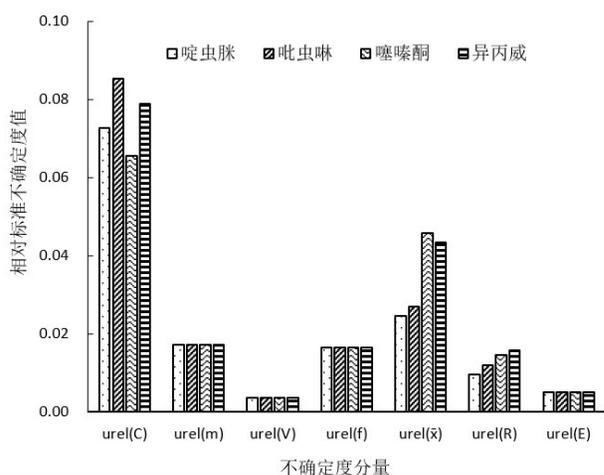


图2 各因素相对不确定度分量比较

作状态、确认可调移液器的准确度来减少对检测结果的影响。以上要求检测人员要熟练各项操作,保障检测结果的准确性,进而提高检测结论的科学性和可靠性。

### 参考文献:

- [1] 吴云艳,王鑫厚.生物菌肥对水稻氮素利用率及产量的影响[J].东北农业科学,2021,46(5):18-20,70.
- [2] Hal L, Wang Q. Association between organophosphorus insecticides exposure and the prevalence of sleep problems in the US adults: An analysis based on the NHANES 2007-2018[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 255: 114803.
- [3] Wu J J, Ge F, Zhu L Z, et al. Potential Toxic Mechanisms of Neonicotinoid Insecticides in Rice: Inhibiting Auxin-Mediated Signal Transduction[J]. Environmental science & technology, 2023.12(57): 4852-4862.
- [4] 刘冰,陈枫,刘金亮,等.水稻稻瘟病生防菌筛选、鉴定及作用机制初探[J].东北农业科学,2023,48(3):52-57.
- [5] 王莹,王莹,魏春雁.农药环境污染修复技术研究及应用进展[J].东北农业科学,2022,47(5):128-131,145.
- [6] Chen Y C, Yu W F, Zhang L, et al. First evidence of neonicotinoid insecticides in human bile and associated hepatotoxicity risk[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 446: 130715.
- [7] 刘琛,朱文学,吕笑天,等.吡啶磺隆和苯噻唑草胺在水稻中的残留分析[J].环境化学,2013,32(9):1653-1659.
- [8] 李婷婷,王蓉,任兴权,等.气相色谱法同时测定小麦胚片中26种有机磷农药残留[J].食品工业科技,2023,44(1):307-315.
- [9] 蒲云月,朱慧敏,陈少波.固相萃取-气相色谱法测定粮谷中敌瘟磷残留量[J].农药,2017,56(10):754-756.
- [10] 彭红霞,刘娅,杨丽,等.QuEChERS-超高效液相色谱法测定谷物及油籽中氰氟草酯和氰氟草酸残留量[J].食品工业科技,2022,43(11):310-317.
- [11] Esterant M C D M, Lucila C, Rosmar D P, et al. Multiclass method for the determination of pesticide residues in oat using modified QuEChERS with alternative sorbent and liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. Food Analytical Methods, 2019, 9(12): 2835-2844.
- [12] 孟祥龙,张云清,范广宇,等.加速溶剂萃取-气相色谱-三重四极杆串联质谱法测定粮谷中的51种农药残留[J].食品科学,2016,37(22):216-223.
- [13] Hakami R A, Aqel A, Ghfar A A, et al. Development of QuEChERS extraction method for the determination of pesticide residues in cereals using DART-ToF-MS and GC-MS techniques. Correlation and quantification study[J]. Journal of Food Composition and Analysis,2021,98: 103822.
- [14] Soon H K, MeeKyung K, Jeong E K. High-throughput simultaneous analysis of multiple pesticides in grain, fruit, and vegetables by GC-MS/MS.[J]. Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment, 2020, 37(6): 963-972.
- [15] 刘欣,孙秀兰,曹进.在线固相萃取/净化-高效液相色谱-

- 串联质谱法同时测定番茄、大米和圆白菜中8种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 色谱, 2021, 39(12): 1324-1330.
- [16] Lv X, Wang F Z, Cui Y, et al. Modification and validation of the simultaneous detection of 38 pesticide residues method by ultra-high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry with QuEChERS extraction in different oil crops and products[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2022, 36(12): e9284.
- [17] Li X J, Wang S, Guo Z, et al. Determination of Fosetyl-Aluminum in wheat flour with Extract-Dilute-Shoot procedure and hydrophilic interaction liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Separations, 2021, 8(11): 197.
- [18] 张月辉, 田甜, 王志刚. 分散固相萃取-气相色谱串联质谱法检测大米中35种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(23): 7825-7831.
- [19] 张隽娴, 郑程, 郑丹, 等. 注射泵辅助微固相萃取-气相色谱-串联质谱法检测大米中有机磷类农药残留[J]. 分析科学学报, 2022, 38(5): 561-567.
- [20] 陈溪, 董振霖, 孙玉玉, 等. 气相色谱-串联质谱法检测大米中20种农药残留[J]. 分析测试学报, 2016, 35(4): 394-399.
- [21] 魏进, 张盈, 王洪瑶, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测大米中5种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(5): 1783-1788.
- [22] 朱琳, 张蕊, 张冰, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定大米中14种农药残留[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(5): 149-153.
- [23] 邱世婷, 侯雪, 韩梅, 等. 基质固相分散萃取-超高效液相色谱串联质谱法检测大米中27种农药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(13): 4219-4225.
- [24] 王春丽, 王洋, 李晓娟, 等. 蒸馏-乙酸铅吸收滴定法测定东北黑木耳中二氧化硫含量的不确定度分析[J]. 东北农业科学, 2021, 46(6): 114-117.
- [25] 张君丽, 张迪雅, 迟恒, 等. 气相色谱-串联质谱法测定果汁中4种六六六残留量的不确定度评定[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(21): 264-269.
- [26] 张丽芳, 张亮, 杜瑞煥, 等. 气相色谱法测定蔬菜中农药残留量的测量不确定度评定[J]. 计量学报, 2022, 43(7): 965-972.
- [27] 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.
- [28] 方丽, 江晓, 杨熙, 等. 气相色谱法测定黑蒜中两种二烯丙基硫化物含量的不确定度评定[J]. 饲料工业, 2023, 44(8): 106-112.
- [29] 李珍, 蔡良平, 张学荣, 等. 食品检测实验室不确定度评估的探讨[J]. 粮食与食品工业, 2022, 29(6): 65-67, 72.
- [30] 柯瑞华, 胡晓燕. 化学分析测量结果不确定度评定中若干问题的论述[J]. 中国标准化, 2006(4): 19-23.
- [31] 国家市场监督管理总局. JJF 1059.1-2012 测量不确定度评定与表示[S]. 北京: 中国质检出版社, 2013.
- [32] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL06:2019 化学分析中不确定度的评估指南[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [33] 国家市场监督管理总局. JJF 1135-2005 化学分析测量不确定度评定[S]. 北京: 中国质检出版社, 2005.
- [34] 国家市场监督管理总局. JJG 646-2006 移液器检定规程[S]. 北京: 中国计量出版社, 2007.
- [35] 国家市场监督管理总局. JJG 196-2006 常用玻璃量器检定规程[S]. 北京: 中国计量出版社, 2006.

(责任编辑:王昱)