

朱靖蓉, 安静, 蒲敬伟, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中噁喹酸残留量的不确定度分析[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(5): 1176-1181.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.05.033

超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中噁喹酸残留量的不确定度分析

朱靖蓉¹, 安静¹, 蒲敬伟², 李霞¹, 刘河疆¹

(1. 新疆农业科学院农业质量标准与检测技术研究所/农业部农产品质量安全风险评估实验室(乌鲁木齐), 新疆 乌鲁木齐 830091; 2. 新疆生产建设兵团第十二师畜牧兽医工作站, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要: 对超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中噁喹酸残留量的测量不确定度进行了分析。建立了测量过程中各个分量的数学模型, 对测量过程中的不确定度来源进行逐项分析和合成, 并估算了各不确定度分量对总不确定度的影响。结果表明: 取包含因子 $k=2$, 置信概率为 95%, 待测猪肉样品中噁喹酸含量测量结果为 $(4.61 \pm 0.977) \mu\text{g}/\text{kg}$ 时扩展不确定度 $U=k \times U(X) = 0.977 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。影响噁喹酸含量测定不确定度有 2 个主要因素: 一是来源于制作拟合噁喹酸标准曲线产生的不确定度, 二是加标回收引起的不确定度。

关键词: 液相色谱-串联质谱; 猪肉; 噁喹酸; 不确定度

中图分类号: O657.7⁺2 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2017)05-1176-06

Uncertainty analysis of measurement of oxolinic acid in pork by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHU Jing-rong, AN Jing, PU Jing-wei, LI Xia, LIU He-jiang

(*Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agro-Products, Xinjiang Academy of Agricultural Science, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agro-Products (Urumqi), Ministry of Agriculture, Urumqi 830091, China; 2. Xinjiang Production and Construction Corps 12th Division Animal Husbandry and Veterinary Workstation, Urumqi 830000, China*)

Abstract: An efficient ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was established for the analysis of residues of oxolinic acid. The mathematical model of each component in the process of measurement was established, the sources of uncertainty were analyzed and synthesized item by item, and the effects of the uncertainty components on the total uncertainty were estimated. The results showed that the uncertainty of $U=k \times U(X)$ was $0.977 \mu\text{g}/\text{kg}$, when the content of oxolinic acid was $(4.61 \pm 0.977) \mu\text{g}/\text{kg}$ with a confidence probability of 95% and the coverage factor $k=2$. There are two main factors that affect the uncertainty of content determination of oxolinic acid: the uncertainty derived from the calibration of the standard curve of the oxolinic acid and the uncertainty caused by the sample recovery rate.

Key words: UPLC-MS/MS; pork; oxolinic acid; uncertainty

收稿日期: 2017-07-19

基金项目: 兵团农业科技攻关与成果转化项目(2015AC026)

作者简介: 朱靖蓉(1972-), 女, 浙江龙游人, 硕士, 高级实验师, 主要从事农产品质量安全及风险评估。(Tel) 13139880438;

(E-mail) 1069470816@qq.com

通讯作者: 刘河疆, (E-mail) 12631499@qq.com

噁喹酸(Oxolinic acid), 别名奥基索林酸, 是一种喹诺酮类抗菌药物, 主要通过抑制 DNA-螺旋酶, 影响 DNA 的正常形态与功能而达到抗菌的目的^[1]。对治疗革兰氏阴性菌感染有较好疗效, 但是, 研究发现噁喹酸具有致癌、致突变等毒害作用^[2-4]。养殖中违规

使用恶喹酸类药物,可导致动物性产品中药物残留超标,对食用者造成伤害,也严重影响产品的涉外出口贸易。国内外对肉中喹诺酮类兽药都有相应的限量标准,如何保证猪肉中噁喹酸测定结果的准确性尤为重要^[5-7]。测量不确定度对于测量结果之间的比较、数据解释、检测程序中需要注意的因素、方法的确认等具有十分重要的意义。超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)具有高灵敏度、多残留分析等优点^[8-10]。本研究以测定猪肉中噁喹酸为例,依据《JJF1059.1-2012 测量不确定度评定与表示》及《化学分析中不确定度的评估指南》^[11-13],建立了液质联用法检测猪肉中噁喹酸残留量的不确定度评估数学模型,对其在分析中产生的主要不确定度进行评定,为保证测量结果的准确性和置信度提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验仪器

XEVO TQ 四极杆串联质谱仪(带电喷雾离子源), H-CLASS 型液相色谱仪, MassLynx V4.1 仪器控制及数据处理软件,由 WATERS 公司生产;高速冷冻离心机(TECHCOMP CT15RT 型),由上海天美科学仪器有限公司生产;旋转蒸发器(N-1100 型),由上海 EYELA 公司生产;组织捣碎机,匀浆机(转速满足 18 000 r/min 以上,配备直径 19 mm 匀浆刀),由 IKA 公司生产;分析天平(PB303-E 型),感量 0.01 mg、0.001 g,由梅特勒-托利多仪器有限公司生产。

1.2 样品

猪后腿肉,去皮和脂肪层,采自新疆昌吉、石子等地养殖基地。

1.3 试剂与材料

噁喹酸标准物质纯度大于 99%(德国 Dr. E 公司生产);乙腈、甲醇均为 HPLC 级,由美国 Fisher Scientific 公司生产;磷酸(分析纯),由西安化学试剂厂生产;氯化钠(分析纯),由天津盛奥化学试剂厂生产,140 ℃ 烘 4 h;无水硫酸钠(分析纯),由天津盛奥化学试剂厂生产,650 ℃ 烘 4 h;乙酸铵(分析纯),由天津盛奥化学试剂厂生产;甲酸(专业分析级),由天津光复精细化工研究所生产;微孔滤膜 0.22 μm,由北京振翔工贸有限公司生产。

1.4 试验方法

1.4.1 仪器条件

1.4.1.1 色谱参数 色谱柱:BEH C18 柱 100 A

(50 mm×1.7 mm, 5 μm);色谱柱温度:40 ℃;流动相,A:甲醇;B:5 mmol/L 乙酸铵水溶液,梯度程序见表 1;进样:10.00 μl;进样器温度:4~10 ℃。

表 1 液相梯度程序

Table 1 Liquid phase gradient procedure

时间 (min)	流量 (ml/min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	0.3	5	95
2	0.3	40	60
6	0.3	5	95
8	0.3	5	95

A:甲醇;B:5 mmol/L 乙酸铵水溶液。

1.4.1.2 质谱参数 离子源:ESI,正离子;离子源温度:150 ℃;载气:氮气,流速 800 ml/h;碰撞气:氩气,流速 0.32 ml/min;扫描模式 2:质谱多反应监测 MRM 扫描;定性离子对(m/z):262 216,椎孔电压:28 V,碰撞电压:30 eV;定量离子对(m/z):262 244,椎孔电压:28 V,碰撞电压:22 eV;图 1 为 MRM 采集的色谱图。

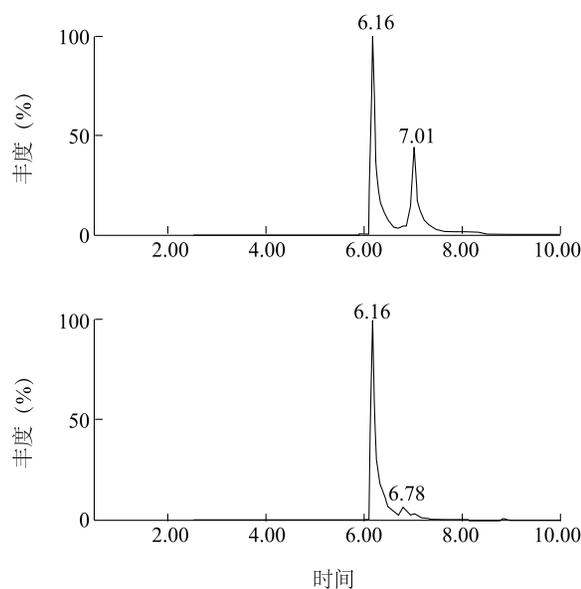


图 1 噁喹酸液质 MRM 模式的色谱图

Fig.1 The chromatogram of oxolinic acid in pork by UPLC-MS/MS

1.4.2 标准溶液配制

1.4.2.1 标准储备液与中间液 标准储备液:分别称取 50 mg(准确至 0.01 mg)噁喹酸标准品至 50 ml 容量瓶中,用甲醇溶解并定容,混匀。此储备液质量浓度为 1 000 mg/L,置于 -18 ℃ 冰箱中保存。标准

中间液:吸取 1.00 ml 标准储备液至 50 ml 容量瓶中,用甲醇稀释并定容,混匀。此标准中间液质量浓度为 20 mg/L。

1.4.2.2 标准混合工作液 A 准确吸取 5 ml 标准中间液至 50 ml 容量瓶中,用甲醇稀释并定容,混匀。此标准混合液质量浓度为 2 000 $\mu\text{g/L}$ 。

1.4.2.3 标准系列溶液配制 准确吸取标准混合工作液 A 0.05 ml、0.10 ml、0.20 ml、0.50 ml、1.00 ml 至 10.00 ml 容量瓶中,用流动相(甲醇:水=20:80)稀释并定容,混匀,得到 10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、40 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 标准曲线溶液。该标准曲线溶液即配即用。

1.4.3 样品处理 称取 5 g 制备好的样品(精确至 0.001 g)于 100 ml 离心管中,加入 20 ml 酸化乙腈,5 g 无水硫酸钠,以转速 12 000 r/min 匀浆 30 s,另取 1 个 50 ml 离心管,加入 20 ml 酸化乙腈洗涤匀浆刀 10 s,合并洗涤后的酸化乙腈于 100 ml 离心管。加入 15 ml 正己烷,摇匀,用高速冷冻离心机以转速 10 000 r/min 离心 5 min,弃去上层正己烷层,将下层

酸化乙腈全部转移至 150 ml 浓缩瓶中,40 $^{\circ}\text{C}$ 浓缩至干,向浓缩瓶中加入 1.0 ml 流动相(甲醇:水=20:80),涡旋振荡 1 min 溶解残渣,经 0.2 μm 滤膜过滤,待上机测定。

1.4.4 测量方法 外标法^[4]:依次测定空白及标准溶液并绘制噁啉酸标准曲线,然后对空白及样品溶液进行测定,通过浓度-峰面积标准曲线计算出溶液中噁啉酸含量。

1.5 测量不确定度的数学模型

1.5.1 试样中噁啉酸含量的计算 依据液相色谱-串联质谱法的测定原理,噁啉酸含量计算公式如下:

$$X = \frac{c_0 \times v}{m \times h} \quad (1)$$

式中: X :待测样品中噁啉酸含量, $\mu\text{g/kg}$; c_0 :待测样品中噁啉酸浓度, $\mu\text{g/L}$; v :样品定容体积, ml; m :待测样品质量, g; h :回收率, %。

1.5.2 试样中噁啉酸的不确定度合成式 根据不确定度的传播规律,由公式(1)可得到样品中噁啉酸含量的相对合成不确定度 $Ur(X)$:

$$Ur(X) = \frac{U(X)}{X} = \sqrt{\left(\frac{u(c_0)}{c_0}\right)^2 + \left(\frac{u(v)}{v}\right)^2 + \left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(h)}{h}\right)^2} \quad (2)$$

2 结果与分析

从试验步骤和数学模型来分析,试样经过称样、提取、稀释、定容、查标准曲线定量分析等步骤,通过加标准样计算回收率来评估前处理效果,因此,噁啉酸含量测定的不确定度来源主要有:称样量不确定度、回收率不确定度、定容体积不确定度、噁啉酸溶液浓度的不确定度。

2.1 样品称样量的不确定度

试验使用千分之一天平的精确度为 0.001 g,按照矩形分布转化为标准偏差为 $S_{m1} = 0.001/\sqrt{3} = 0.00058$ g,因为称样量为 $m = 5.000$ g,重复称样 20 次,标准偏差为 $S_{m2} = 0.001$ g,所以称量产生的相对标准不确定度为 $Ur(m) = \sqrt{(S_{m1})^2 + (S_{m2})^2}/m = 0.00023$ 。

2.2 方法回收率不确定度

前处理匀浆损失、无水硫酸钠吸附、浓缩或基质干扰等造成回收率不可能为 100%,本试验添加回收平行样品 6 份,噁啉酸平均回收率为 89.6%,回收

率范围在 86.4%~102.1%,此试验回收率的不确定度按 JJF 1059.1-2012^[13]中附录 A.1.4 中计算,公式如下:

$$Ur(h) = \frac{1}{2}(\alpha_+ - \alpha_-)/\sqrt{3} = 0.0575/\sqrt{3} = 0.03320$$

其中: $\alpha_+ = 0.136$, $\alpha_- = 0.021$ 。

2.3 噁啉酸溶液浓度不确定度

噁啉酸溶液浓度不确定度由以下 4 部分合成:一是标准物质自身的不确定度;二是根据标准溶液浓度-峰面积曲线求得 c_0 产生的不确定度;三是由噁啉酸标准储备溶液配制标准曲线工作液系列浓度所产生的不确定度;四是样品平行测量产生的不确定度。

2.3.1 标准物质产生的不确定度 $U(\rho)$ 购买标准品的证书标注纯度为 99%,则其标准不确定度为 $1/\sqrt{3}$ (按照矩形分布考虑,取 $k = \sqrt{3}$),因此 $U(\rho) = 0.58$ mg/L,标准溶液浓度为 $\rho = 1000$ mg/L 时,其相对标准不确定度为 $Ur(\rho) = U(\rho)/\rho = 0.00058$ 。

2.3.2 噁唑酸标准曲线拟合产生的不确定度 $U(c_1)$ 响应值结果见表 2。

根据方法 1.4 对标准溶液分别进行测定 3 次,其

表 2 噁唑酸标准溶液浓度-响应值结果

Table 2 Results of oxolinic acid standard solution concentration - response value

浓度 C_j ($\mu\text{g/L}$)	响应值 A_j			由曲线求得响应值 $B_1 C_j + B_0$	$\Sigma [A_j - (B_1 C_j + B_0)]^2$
	重复 1	重复 2	重复 3		
10	900	918	909	944	3 837
20	1 821	1 799	1 785	1 788	1 219
40	3 413	3 492	3 523	3 477	6 437
100	8 742	8 801	8 822	8 543	184 006
200	16 843	16 762	16 995	16 987	71 425

将上述所得数据建立回归校正曲线,其拟合所得曲线方程为: $A = 84.4397C + 99.6107$, 同时按照方法 1.4.3 将猪肉试样溶液测定 2 次,再根据校准曲线方程求得试样浓度 $c_0 = 20.67 \mu\text{g/L}$, 则 $U(c_1)$ 由下式计算:

$$U(c_1) = \frac{S_R}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{\sum (c_j - \bar{c})^2}} \quad (3)$$

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (B_1 C_j + B_0)]^2}{n-2}} \quad (4)$$

式中: B_1 : 校准曲线的斜率, 其值为 84.4397; p : 试样溶液测定的次数, $p = 2$; n : 标准溶液测定的次数, $n = 15$; c_0 : 待测样品溶液中噁唑酸的浓度, $\mu\text{g/L}$; \bar{c} : 校准曲线中噁唑酸的平均浓度, $\mu\text{g/L}$; C_j : 校准曲线中噁唑酸的标准浓度, $\mu\text{g/L}$; A_j : 校准曲线溶液中吸光度的测定值。

将表(2)的数据代入公式(3)和(4)进行计算, 其中:

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (B_1 C_j + B_0)]^2}{n-2}} = 143.29$$

$$\bar{c} = \frac{\sum_{i=1}^{15} c_i}{15} = 74.24 \mu\text{g/L}$$

$$\sum_{i=1}^{15} (c_j - \bar{c})^2 = 73\,677.6$$

$$\text{则 } U(c_1) = \frac{S_R}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{\sum (c_j - \bar{c})^2}} = 1.321 \mu\text{g/L}$$

$$\text{所以 } Ur(c_1) = \frac{u(c_1)}{c_0} = 0.06390$$

2.3.3 稀释标准工作溶液时引起的不确定度 以

c_1 为例, $c_1 = 10 \mu\text{g/L}$ 的标准溶液: 是将固体标品配制成储备液 ($1\,000 \text{ mg/L}$), 然后按 1:50、1:10、1:200 分 4 次稀释到 $10 \mu\text{g/L}$ 。从固体标品配制储备液 ($1\,000 \text{ mg/L}$) 时, 用万分之一天平, 精确至 0.1 mg, 称取 50.0 mg 到 50 ml 容量瓶定容得储备液 ($1\,000 \text{ mg/L}$), 相对标准不确定度为 $Ur(c_{11})$; 然后从 1:50 稀释标准溶液时, 使用 1.00 ml 移液管吸取 1.00 ml 标准储备液 ($1\,000 \text{ mg/L}$) 定容到 50 ml 容量瓶, 得 20 mg/L 标准溶液, 相对标准不确定度为 $Ur(c_{12})$; 1:10 稀释标准溶液时, 使用 5.00 ml 移液管吸取 5.00 ml 标准溶液 (20 mg/L) 定容到 50 ml 容量瓶, 得 $2\,000 \mu\text{g/L}$ 标准工作溶液, 相对标准不确定度为 $Ur(c_{13})$; 1:200 稀释标准溶液时, 使用 1.00 ml 移液管吸取 0.05 ml 标准储备液 ($2\,000 \mu\text{g/L}$) 定容到 10 ml 容量瓶, 得 $10 \mu\text{g/L}$ 标准溶液, 相对标准不确定度为 $Ur(c_{14})$; 上述过程需用 5.00 ml 移液管 1 次、1.00 ml 移液管 2 次和 50 ml 容量瓶 3 次, 10 ml 容量瓶 1 次。这里不确定度主要为称量、校准、重复性和温度的影响。

2.3.3.1 称量产生的不确定度 使用万分之一天平的精确度为 0.1 mg, 按照矩形分布转化为标准偏差为 $Sm_1 = 0.1/\sqrt{3} = 0.058 \text{ g}$, 因为称样量为 $m = 50.0 \text{ mg}$, 重复称样 20 次, 标准偏差为 $Sm_2 = 0.3 \text{ mg}$, 所以称量产生的相对标准不确定度为 $Ur(m) = \sqrt{(Sm_1)^2 + (Sm_2)^2} / m = 0.0061$ 。

2.3.3.2 校准产生的不确定度 $V_1 = 1.00 \text{ ml}$ 移液管 (A 级) 在 $20 \text{ }^\circ\text{C}$, 允许误差为 $\pm 0.007 \text{ ml}$, 按均匀分布转换成标准偏差为 $S_{j1} = 0.0070/\sqrt{3} = 0.0040 \text{ ml}$; $V_2 =$

5.00 ml 移液管(A级)在 20 ℃,允许误差为 ± 0.025 ml,按均匀分布转换成标准偏差为 $S_{j2} = 0.025 0/\sqrt{3} = 0.014 0$ ml; $V_3 = 50$ ml 容量瓶(A级)在 20 ℃,允许误差为 ± 0.050 ml,按均匀分布转换成标准偏差为 $S_{j3} = 0.050 0/\sqrt{3} = 0.029 0$ ml; $V_4 = 10$ ml 容量瓶(A级)在 20 ℃,允许误差为 ± 0.02 ml,按均匀分布转换成标准偏差为 $S_{j4} = 0.020 0/\sqrt{3} = 0.012 0$ ml。

2.3.3.3 重复性产生的不确定度 对 $V_1 = 1.00$ ml 移液管(A级)进行重复 20 次测定,得出其体积的标准偏差为 $S_{c1} = 0.002 2$ ml;对 $V_2 = 5.00$ ml 移液管(A级)进行重复 20 次测定,得出其体积的标准偏差为 $S_{c2} = 0.017 0$ ml;对 $V_3 = 50.00$ ml 容量瓶(A级)进行重复 20 次测定,得出其体积的标准偏差为 $S_{c3} = 0.015 0$ ml;对 $V_4 = 10.00$ ml 容量瓶(A级)进行重复 20 次测定,得出其体积的标准偏差为 $S_{c4} = 0.008 0$ ml。

2.3.3.4 试验温度产生的不确定度 20 ℃为校正温度,假设试验温度与校正温度相差 $\Delta t = 3$ ℃,产生的不确定度可通过估算该温度范围和体积膨胀系数来计算,甲醇的体积膨胀系数 β 为 1.24×10^{-3} ml/℃,则 95%置信概率时体积变化的区间转换成标准偏差: $V_1 = 1.00$ ml 移液管(A级)移取 $V = 1.00$ ml 甲醇,得出其体积的标准偏差 $St_1 = \Delta t \times V \times \beta / \sqrt{3} = 0.002 0$ ml; $V_2 = 5.00$ ml 移液管(A级)移取 5.00 ml 甲醇,得出其体积的标准偏差为 $St_2 = 0.010 7$ ml; $V_3 = 50$ ml 容量瓶(A级)进行移取 50.00 ml 甲醇,得出其体积的标准偏差为 $St_3 = 0.107 0$ ml; $V_4 = 10$ ml 容量瓶(A级)进行移取 10.00 ml 甲醇,得出其体积的标准偏差为 $St_4 = 0.021 1$ ml。

计算各个分步稀释过程不确定度分量,然后合成为 c_1 浓度时产生的相对标准不确定度,具体如下:

$$Ur(c_{11}) = \sqrt{(S_{j3})^2 + (S_{c3})^2 + (S_{t3})^2} / V_3$$

$$Ur(c_{12}) = \sqrt{\left(\frac{S_{j1}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{S_{j3}}{V_3}\right)^2 + \left(\frac{S_{c1}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{S_{c3}}{V_3}\right)^2 + \left(\frac{S_{t1}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{S_{t3}}{V_3}\right)^2}$$

$$Ur(C_{13}) = \sqrt{\left(\frac{S_{j3}}{V_3}\right)^2 + \left(\frac{S_{j2}}{V_2}\right)^2 + \left(\frac{S_{c3}}{V_3}\right)^2 + \left(\frac{S_{c2}}{V_2}\right)^2 + \left(\frac{S_{t3}}{V_3}\right)^2 + \left(\frac{S_{t2}}{V_2}\right)^2}$$

$$Ur(C_{14}) = \sqrt{\left(\frac{S_{j1}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{S_{j4}}{V_4}\right)^2 + \left(\frac{S_{c1}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{S_{c4}}{V_4}\right)^2 + \left(\frac{S_{t1}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{S_{t4}}{V_4}\right)^2}$$

$$Ur(c_{x1}) = \frac{u(c_1)}{c_1} = \sqrt{Ur(m)^2 + Ur(c_{11})^2 + Ur(c_{12})^2 + Ur(c_{13})^2 + Ur(c_{14})^2} = 0.033 0$$

稀释成 c_1 浓度时产生的相对标准不确定度:

$$\frac{u(c_2)}{c_2} = \frac{u(c_3)}{c_3} = \frac{u(c_4)}{c_4} = \frac{u(c_5)}{c_5} = 0.033 0$$

按上述步骤计算稀释成 c_2, c_3, c_4, c_5 浓度时的相对标准不确定度,噁唑酸标准储备液配制成 5 个梯

度标准使用液时,以上 5 个分量产生对 c_0 的测量相对标准不确定度为:

$$Ur(c_x) = \sqrt{Ur(c_{x1})^2 + Ur(c_{x2})^2 + Ur(c_{x3})^2 + Ur(c_{x4})^2 + Ur(c_{x5})^2} = 0.073 70。$$

2.3.4 样品重复测定产生的不确定度 对猪肉样品做 6 次平行重复测定 ($n = 6$), 获得平均值 c_m 为 $20.67 \mu\text{g/L}$, 标准偏差 $S = 0.035$, 按 A 类不确定度评定, 公式如下:

$$Ur(c_m) = \frac{S}{c_m \times \sqrt{n}} = 0.000 69$$

2.3.5 噁唑酸溶液浓度 c_0 合成的不确定度 合成 2.3.1、2.3.2、2.3.3、2.3.4 步骤, 得到 c_0 的相对标准不确定度:

$$Ur(c_0) = \frac{u(c_0)}{c_0} =$$

$$\sqrt{Ur(\rho)^2 + Ur(c_1)^2 + Ur(c_x)^2 + Ur(c_m)^2} = 0.097 5$$

2.4 样品提取浓缩稀释定容引入的不确定度

样品经浓缩后用 1.00 ml 移液管(A级)移取 1.00 ml 流动相(甲醇:水 = 20:80)至浓缩瓶中,水的体积膨胀系数 2.1×10^{-4} ml/℃, 1.00 ml 移液管(A级)移取 0.50 ml 水,参考 3.3.3 步骤得出体积的标准偏差为 $S_w = \Delta t \times V \times \beta / \sqrt{3} = 0.000 182$ ml。

其产生的不确定度的计算方法同 2.3.3 中计算方法,带入公式结果如下:

$$Ur(v) = \frac{u(v_0)}{v_0} =$$

$$\sqrt{(S_{f1})^2 + (S_{c1})^2 + (S_{t1})^2 + (S_w)^2} / 50 = 0.005\ 05$$

以上结果表明,影响噁喹酸含量测定不确定度主要来源是制作、拟合噁喹酸标准曲线产生的不确定度和加标回收引起的不确定度。

2.5 合成标准不确定度的计算

用 UPLC-MS 法测定猪肉中噁喹酸合成标准不确定度的计算,由公式(2)得到: $Ur(X) = \frac{U(X)}{X} =$

$$\sqrt{(Ur(c_0))^2 + (Ur(v))^2 + (Ur(m))^2 + (Ur(h))^2} = 0.106$$

$$\text{由公式(1)得到: } X = \frac{c_0 \times v}{m} = 4.610\ \mu\text{g/kg}$$

所以 $U(X) = Ur(X) \cdot X = 0.106 \times 4.610\ \mu\text{g/kg} = 0.489\ \mu\text{g/kg}$

2.6 扩展不确定度的计算

以上试验结果取包含因子 k 为 2,对应的置信概率为 95%,其扩展不确定度 $U = k \times U(X) = 0.977\ \mu\text{g/kg}$ 。

3 结论

用 UPLC-MS/MS 方法测定猪肉中的噁喹酸含量结果为 $X = (4.610 \pm 0.977)\ \mu\text{g/kg}$,取 95%的置信概率, $k=2$ 。由实际计算得知其测定不确定度主要来源于制作、拟合噁喹酸标准曲线产生的不确定度和加标回收引起的不确定度。因此测定过程中应注意前处理步骤中浓缩、转移、定容等过程,尽量做到最低的损失。

参考文献:

- [1] 晏利芝,赵永彪,富玉,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉中 β -受体激动剂、喹诺酮类和磺胺类兽药残留量[J].分析实验室,2011,30(1):84-86.
- [2] 林小莉,董艳峰,于静泉,等.高效液相色谱法测定鸡肉中噁喹酸残留量的测量不确定度评定[J].食品科学,2009,30(14):219-222.
- [3] 王元,殷桂芳,符贵红,等.噁喹酸在凡纳滨对虾体内药动学和对弧菌的体外药效[J].水产学报,2016,42(3):512-519.
- [4] 李倩,张玉洁,王鹤佳,等.鸡蛋和牛奶中噁喹酸、氟甲喹残留的检测方法研究[J].中国兽药杂志,2012,46(8):20-23.
- [5] 王立琦,贺利民,曾振灵,等.液相色谱-串联质谱检测兽药残留中的基质效应研究进展[J].质谱学报,2011,32(6):321-332.
- [6] 严凤,曹莹,李丹妮,等.猪肉中13种磺胺类药物多残留检测超高效液相-串联质谱法[J].中国农业科技导报,2009,11(S1):35-38.
- [7] 吴淑秀,公茂金,朱万燕,等.液相色谱串联质谱法测定猪肉和猪肝中9种磺胺类药物的残留[J].分析实验室,2012,31(2):79-83.
- [8] 杨方,庞国芳,刘正才,等.液相色谱-串联质谱法检测水产品中15种喹诺酮类药物残留量[J].分析实验室,2008,27(12):27-33.
- [9] 罗辉泰,黄晓兰,吴惠勤,等.分散固相萃取/高效液相色谱-串联质谱法快速测定饲料中87种药物残留[J].分析测试学报,2015,34(9):979-985.
- [10] 仲锋,汪霞,董琳琳,等.噁喹酸、氟甲喹在鸡组织中残留量的检测方法研究[J].中国兽药杂志,2002,36(9):19-21.
- [11] 中国实验室国家认可委员会.化学反应中的不确定度评估指南[M].北京:中国计量出版社,2002:4-5.
- [12] 国家质量技术监督局计量司.测量不确定度评定与表示指南[M].北京:中国计量出版社,2000:1.
- [13] 国家质量监督检验检疫总局.测量不确定度评定与表示:JJF1059.1-2012[S].北京:中国计量出版社,1999.

(责任编辑:陈海霞)