气相色谱法对干海参中的六六六、滴滴涕测量结果不确定度的评定

霍晓敏
(大连市产品质量监督检验所，辽宁 大连 116021)

摘 要：采用气相色谱法对干海参中六六六、滴滴涕残留量进行不确定度评定，建立不确定度评估模型，评估方法的偏倚和精密度，并通过对不确定度分量的分析计算，得出合成不确定度和扩展不确定度。该方法实用性强，模型简单、易懂，具有较强的参考价值。

关键词：气相色谱法；干海参；六六六；滴滴涕；不确定度

Uncertainty Evaluation for Determination of HCH and DDT in Dried Cucumber by Gas Chromatography

HUO Xiao-min
(Dalian Institute of Product Quality Supervision and Inspection, Dalian 116021, China)

Abstract: Uncertainty evaluation model was established for evaluating determination results of HCH and DDT in dried cucumber by gas chromatography. In this paper, the bias and precision of determination method was evaluated. The key factors for measurement results during the analysis process were discussed. Meanwhile, the composed and expanded uncertainties were evaluated. This uncertainty evaluation model was practical, simple and easy to understand and valuable as the reference.

Key words: gas chromatography; dried cucumber; HCH; DDT; uncertainty evaluation
中图分类号：O657.71 文献标志码：A 文章编号：1002-6630(2013)08-0244-05

近些年来，由于水产品的农药及药物残留频频出现问题，人们越来越关心环境污染对水产品带来的质量问题。六六六、滴滴涕作为有机氯农药，杀虫力极强，我国在六十到八十年代期间曾广泛使用，虽然现在已经明律禁止使用，但由于六六六、滴滴涕其化学性质比较稳定，分解缓慢，仍大量的残留在土壤中，土壤经雨水冲洗后，农药又会随水体进入海洋，从而污染整个食物链。六六六、滴滴涕可溶于脂肪，一旦进入人体，就很难排出。海参属多年生长的海底生物，其脂肪含量较高，极易富集六六六、滴滴涕。因此，检测干海参中六六六、滴滴涕的残留量对提高其产品食用安全、保障消费者身体健康意义重大。

食品监督检测部门要不断提升自身的检测能力与水平，其中提高不确定度评估能力是一项非常重要的工作。不确定度评估在实验室数据比对、方法确认、标准设备校准、数值溯源等方面具有很重要的意义，并且国际上与合格评定相关各方对测量不确定度也十分重视。因此，实验室在计量认证和国家实验室认可评审的过程中应建立并实施测量不确定度评估程序。本实验根据CNAS-CL07:2011《测量不确定度的要求》、JIF1059—1999《测量不确定度评定与表示》等标准的相关要求，并参照GB/T 5009.19—2008《食品中有机氯农药多组分残留量的测定》标准，结合实际操作条件，采用气相色谱法对干海参中六六六、滴滴涕残留量的不确定度进行评定，建立不确定度评估模型，讨论样品制备、称量、标准溶液配制、标准曲线校准和测量重复性等因素对测量结果的影响，并计算出合成不确定度和扩展不确定度[1-5]。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

干海参(辽宁产)，将样品密封、冷藏。

六六六、滴滴涕标准储备液 农业部环境保护科研监测所；浓硫酸(优级纯) 天津科密欧化学试剂有限公司；石油醚(色谱纯) 美国Tedia天地试剂公司。

7890A气相色谱仪(配备ECD检测器和自动进样器)、HP-5毛细管柱 美国Agilent公司；XS204电子天平 瑞士Mettler-toledo公司；XW-80A涡旋器 上海精科实

收稿日期：2012-04-06
作者简介：霍晓敏(1981—)，女，工程师，硕士研究生，研究方向为食品的气相色谱法分析。E-mail：linch09280126@hotmail.com

业有限公司；RT-TDL-5A离心机　无锡市瑞江分析仪器有限公司。

1.2　方法

1.2.1　样品处理

称量干海参样品(5±0.01)g，加30mL石油醚，振荡30min，静止，过滤，浓缩至近干，以石油醚定容到5mL，加浓硫酸0.5mL净化，振荡，离心，取上清液采用GC-ECD进行测定，以保留时间定性，以外标法采用峰面积定量。

本测试采用(50.0±0.5)μg/mL的六六六、滴滴涕标准储备溶液稀释配制成5种质量浓度的标准溶液，每种溶液测定3次，取平均结果，用最小二乘法拟合质量浓度-峰面积曲线为标准工作曲线进行校准。

干海参中六六六、滴滴涕测试的主要步骤见图1[4]。

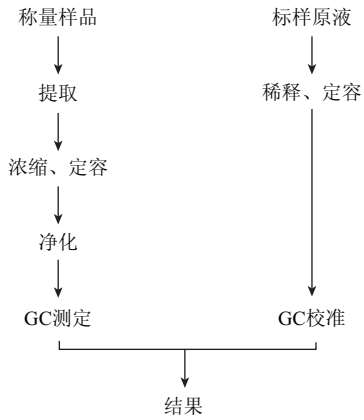


图1　干海参中六六六、滴滴涕的测试过程

Fig.1　Procedures for the determination of HCH and DDT in dried cucumber

1.2.2　仪器测定参数

进样体积：1μL；柱温：110℃；柱口温度：250℃；检测器温度：280℃；载气N_2柱流量：1.0mL/min；程序升温：初始温度110℃，保持2min，以20℃/min速率升至190℃，以5℃/min速率升至240℃，保持1min，再以20℃/min速率升至280℃，保持3min。

1.2.3　数学模型

$$W=\frac{C\times V}{m\times R}$$

式中：W为试样中六六六、滴滴涕的残留量/(mg/kg)；C为定容液中六六六、滴滴涕的质量浓度/(μg/mL)；V为定容体积/mL；R为回收率/%；m为试样质量/g。

1.2.4　不确定度分量的主要来源

方法回收率和标准物质的校准值是影响测量结果不确定度的因素，偏倚、精密度被归入方法回收率的不确定度中，标准溶液的配制过程对实际使用的标准物质的标准值产生影响，各相关不确定度分量在图2表示。

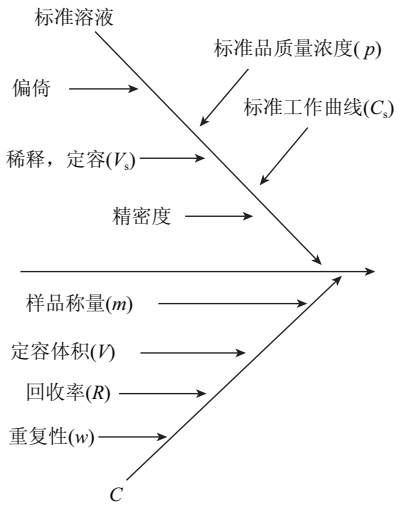


图2　测试过程中不确定度的分量构成

Fig.2　Components of uncertainty during the test

2　不确定度分量的量化

2.1　标准物质不确定度分量

2.1.1　标准储备液的不确定度

六六六、滴滴涕标准储备液是由国家标准物质中心提供，质量浓度校准值为(50±0.5)μg/mL(k=2)。按正态分布(95%置信概率)，则六六六、滴滴涕标准储备液的标准不确定度为：

$$u(p)=\frac{0.5}{1.96}\approx 0.26\mu g/mL$$

$$u_{rel}(p)=\frac{0.26}{50.0}\approx 0.0052$$

2.1.2　标准溶液配制过程引入的不确定度

2.1.2.1　1μg/mL 标准溶液的配制

将1mL标准储备液完全移至50mL容量瓶(A级)中，用正己烷定容。20℃时50mL容量瓶(A级)的容量瓶最大允许的误差为±0.05mL，单标线1mL移液管的容量允许差为±0.008mL[6]。按矩形分布，50mL容量瓶(a)和1mL单标移液管(b)标准不确定度分别为：

$$u(V_a)=\frac{0.05}{\sqrt{3}}\approx 0.029mL$$

$$u(V_b)=\frac{0.008}{\sqrt{3}}\approx 0.0046mL$$

1μg/mL标准溶液的配制过程的相对标准不确定度：

$$u_{rel}(V_1)=\sqrt{[u(V_a)/V_a]^2+[u(V_b)/V_b]^2}=\sqrt{(0.029/50.00)^2+(0.0046/1.00)^2}\approx 0.0046$$

2.1.2.2　0.1μg/mL标准溶液的配制

将1mL标准溶液完全移至10mL容量瓶(A级)中，用正己烷定容。20℃时10mL容量瓶(A级)的容量瓶最大允许

的误差为±0.02mL，单标线1mL移液管的容量允许差为±0.008mL[6]。按矩形分布，10mL容量瓶(c)和1mL单标移液管(d)标准不确定度分别为：

$$u(V_c)=\frac{0.02}{\sqrt{3}}\approx 0.012\text{mL}$$

$$u(V_b)=\frac{0.008}{\sqrt{3}}\approx 0.0046\text{mL}$$

0.1μg/mL标准溶液的配制过程的相对标准不确定度：

$$u_{rel}(V_e)=\sqrt{[u(V_c)/V_c]^2+[u(V_b)/V_b]^2}=\sqrt{(0.012/10.00)^2+(0.0046/1.00)^2}\approx 0.0048$$

按上述步骤计算，0.01、0.05、0.1、0.5、1.0μg/mL标准溶液的配制过程的相对标准不确定度分别为0.023、0.012、0.0048、0.0031、0.0012，计算时取0.01μg/mL质量浓度标准溶液最大的不确定度值$u_{rel}(V_2)$，即0.023。

2.1.2.3 温度引起的不确定度

由于本实验室是在(20±5)℃条件下进行的，因温度引起容量瓶的体积变化为：

V_{temp}=10mL×5℃×1.36×10^{-3}℃$^{-1}$≈0.068mL

式中：1.36×10^{-3}℃$^{-1}$为正己烷的热膨胀系数[7]。

按矩形分布，由温度引入的相对不确定度：

$$u_{rel}(V_{temp})=\frac{(0.068/\sqrt{3})}{10.0}\approx 0.0039$$

2.1.2.4 标准溶液配制过程引入的相对不确定度

$$u_{rel}(V_s)=\sqrt{u_{rel}^2(V_1)+u_{rel}^2(V_2)+u_{rel}^2(V_{temp})}=\sqrt{0.0046^2+0.0023^2+0.0039^2}\approx 0.024$$

2.1.3 标准曲线引入的不确定度

标准曲线采用5种质量浓度的标准溶液，分别为0.01、0.05、0.1、0.5、1.0μg/mL，则标准溶液的平均质量浓度$\bar{C}_s$为0.332μg/mL，将上述每个质量浓度分3次上机测定，得到的相应面积A，取3次面积平均值$\bar{A}$后采用最小二乘法拟合得到标准工作曲线的线性回归方程$A=a+bC$。

对试样进行2次测定，由标准工作曲线求得试样的平均质量浓度$\bar{\rho}$。由最小二乘法拟合曲线所产生的相对不确定度见表1。

表1 标准曲线校准引入的相对不确定度

Table 1 Relative uncertainty deduced from standard curve

物质名称	线性回归方程	R^2	$\bar{\rho}$/(μg/mL)	$\bar{\rho}_i$/(μg/mL)	S_A	S_{CC}/(μg^2/mL^2)	$u(\bar{\rho})$/(μg/mL)	$u_{rel}(\bar{\rho})$
α-666	A=1511860.08ρ+5.035×10^{-12}	0.9998	0.099	0.332	5801	0.18	0.0036	0.036
β-666	A=502110.742ρ+3.485×10^{-12}	0.9990	0.099	0.332	2711	0.25	0.0049	0.049
γ-666	A=1284477.19ρ+7.094×10^{-12}	0.9992	0.098	0.332	5546	0.15	0.0042	0.043
δ-666	A=1316158.05ρ+7.316×10^{-12}	0.9994	0.100	0.332	5600	0.16	0.0041	0.041
pp′-DDE	A=957856.68ρ+4.827×10^{-12}	0.9996	0.201	0.332	4419	0.23	0.0038	0.019
pp′-DDD	A=870056.172ρ+5.829×10^{-13}	0.9997	0.198	0.332	4200	0.22	0.0040	0.020
op′-DDT	A=495549.414ρ+3.439×10^{-12}	0.9998	0.198	0.332	2544	0.25	0.0042	0.021
pp′-DDT	A=471301.699ρ+1.452×10^{-12}	0.9998	0.198	0.332	2501	0.27	0.0043	0.022

表1中：$\bar{\rho}_s=\frac{\sum_{i=1}^{n}\rho_{si}}{n}$为标准溶液的平均质量浓度/(μg/mL)；$S_{cc}=\sum_{i=1}^{n}(\rho_{si}-\bar{\rho}_s)^2$，为标准溶液质量浓度的残差的平方和/(μg^2/mL^2)；$S_A=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}[A_{si}-(a+b\rho_{si})]^2}{n-2}}$，为标准溶液峰面积的残差的标准偏差；$u(\bar{\rho})=\frac{S_A}{b}\sqrt{\frac{1}{P}+\frac{1}{n}+\frac{(\bar{\rho}-\bar{\rho}_s)^2}{S_{cc}}}$，为拟合标准曲线引入的标准不确定度/(μg/mL)；P=2，为ρ_i的测量次数；n=10，为标准溶液的测量次数；$u_{rel}(\bar{\rho})=\frac{u(\bar{\rho})}{\bar{\rho}}$，为标准工作曲线求得试样平均质量浓度$\bar{\rho}$时所产生的相对不确定度。

2.1.4 标准物质引入的不确定度分析

标准物质引入的不确定度计算公式：

$$u_{rel}(\text{标})=\sqrt{u_{rel}^2(p)+u_{rel}^2(V_s)+u_{rel}^2(\bar{\rho})}$$

标准物质引入的不确定度计算结果如表2所示。

表2 由标准溶液引入的相对不确定度

Table 2 Relative uncertainty deduced from standard solution

物质名称	$u_{rel}(p)$	u_{rel} (Vs)	$u_{rel}(\bar{\rho})$	u_{rel}(标)
α-666	0.0052	0.024	0.036	0.044
β-666			0.049	0.055
γ-666			0.043	0.050
δ-666			0.041	0.048
pp′-DDE			0.019	0.031
pp′-DDD			0.020	0.032
op′-DDT			0.021	0.032
pp′-DDT			0.022	0.033

2.2 样品制备过程中引入的不确定度

2.2.1 取样引入的不确定度

本实验依据GB/T 5009.19—2008《食品中有机氯农药多组分残留量的测定》标准规定，将样品充分摇均后，可认为样品是均匀的，代表性充分，通过对多个测试样品重复结果的方差分析，其中测试样品间的方差分量作为代表不均匀性效应[8]，经过评价由取样所致的不确定度可忽略不计。

2.2.2 称量引入的不确定度[9]

依据标准称样5.0000g，使用天平的最大允许误差为0.0002g，由天平的最大允许误差导致的样品质量的不确定度按均匀分布为：

$$u(m)=\frac{0.0002}{\sqrt{3}}\approx 0.00012\text{g}$$

$$u_{rel}(m)=\frac{0.00012}{5.0000}\approx 0.000024$$

2.2.3 定容引入的不确定度

2.2.3.1 移液管引入的相对不确定度

20℃时5mL刻度移液管最大允许的误差为±0.1mL[6]，按矩形分布，则容量瓶带来的标准不确定度为：

$$u(V_f)=\frac{0.1}{\sqrt{3}}\approx 0.058\text{mL}$$

$$u_{rel}(V_f)=\frac{u(V_f)}{V_f}=\frac{0.058}{5.0000}\approx 0.012$$

2.2.3.2 温度引入的不确定度

由于本实验室是在(20±5)℃的条件下进行的，因温度引起容量瓶的体积变化为：

V_{temp}=5mL×5℃×1.36×10^{-3}℃$^{-1}$≈0.034mL

式中：1.36×10^{-3}℃$^{-1}$为正己烷的热膨胀系数[7]。

按矩形分布，由温度引入的相对不确定度：

$$u_{rel}(V_{temp})=\frac{(0.034/\sqrt{3})}{5.0}\approx 0.0039$$

2.2.3.3 定容引入的相对不确定度

$$u_{rel}(V)=\sqrt{u_{rel}^2(V_f)+u_{rel}^2(V_{temp})}\approx 0.013$$

2.2.4 制样过程中对回收率引入的不确定度

制样过程中对回收率引入的不确定度，采用六六六为0.1μg/mL质量浓度、滴滴涕为0.2μg/mL质量浓度进行5次空白样品添加回收率测试，见表3。

表3 5次添加回收率影响显著性检验

Table 3 Significance test of recovery rates in spiked samples

物质名称	R_1/%	R_2/%	R_3/%	R_4/%	R_5/%	$\bar{R}$/%	S_R/%	$u(\bar{R})$/%	$u_{rel}(\bar{R})$	t
α-666	91.5	94.2	92.3	90.8	93.1	92.4	1.33	0.595	0.0064	12.8
β-666	93.5	90.5	91.5	93.7	90.0	91.8	1.70	0.760	0.0083	10.8
γ-666	90.3	94.2	91.3	94.0	90.9	92.1	1.83	0.818	0.0089	9.66
δ-666	94.1	90.7	91.4	90.9	94.8	92.4	1.92	0.859	0.0093	8.85
pp'-DDE	97.5	93.2	96.7	92.0	96.1	95.1	2.37	1.06	0.011	4.62
pp'-DDD	92.8	97.6	93.3	94.8	93.7	94.4	1.91	0.854	0.0091	6.56
op'-DDT	97.0	96.8	92.1	94.9	91.5	94.5	2.58	1.15	0.012	4.78
pp'-DDT	92.1	96.2	97.3	91.8	92.6	94.0	2.56	1.14	0.012	5.26

表3中：$\bar{R}=\frac{\sum_{i=1}^{n}R_i}{n}$，为样品回收率的算术平均值/%；$S_R=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(R_i-\bar{R})^2}{n-1}}$，为单次测定的标准偏差/%；$u(\bar{R})=\frac{S_R}{\sqrt{n}}$，为算术平均值的标准不确定度/%；$u_{rel}(\bar{R})=\frac{u(\bar{R})}{\bar{R}}$，为算术平均值的相对不确定度；$t=\frac{|100\%-\bar{R}|}{u(\bar{R})}$，为显著性检验值。

对回收率进行显著性检验[10]，以确定回收率R是否在计算公式中采用，显著性检验采用t检验，当检验值t大于或等于临界值$t_{(95.4)}$=4.30时，则$\bar{R}$与100%有显著性差异，说明R必须在计算公式中使用；当t小于临界值时，则$\bar{R}$与100%没有显著性差异，不必采用R修正结果。从表3可以得出，六六六、滴滴涕的显著性检验值均大于4.30，则必须在计算公式中使用回收率R。

2.2.5 重复性引入的不确定度分量[8]

在重复条件下对样品进行6次独立实验，测试样品中六六六、滴滴涕残留量如表4所示。

表4 重复性实验引入的不确定度

Table 4 Uncertainty deduced from repeatability test

物质名称	w_1/(mg/kg)	w_2/(mg/kg)	w_3/(mg/kg)	w_4/(mg/kg)	w_5/(mg/kg)	w_6/(mg/kg)	$\bar{w}$/(mg/kg)	$S(w_i)$/(mg/kg)	$u(\bar{w})$/(mg/kg)	$u_{rel}(\bar{w})$
α-666	0.102	0.106	0.100	0.094	0.092	0.101	0.099	0.0052	0.0021	0.021
β-666	0.102	0.103	0.104	0.100	0.094	0.092	0.099	0.0050	0.0020	0.020
γ-666	0.100	0.101	0.095	0.101	0.092	0.099	0.098	0.0037	0.0015	0.015
δ-666	0.101	0.094	0.098	0.104	0.109	0.092	0.100	0.0049	0.0020	0.020
pp'-DDE	0.203	0.208	0.201	0.194	0.198	0.202	0.201	0.0047	0.0019	0.0095
pp'-DDD	0.195	0.201	0.205	0.190	0.194	0.200	0.198	0.0055	0.0022	0.011
op'-DDT	0.198	0.206	0.202	0.192	0.195	0.193	0.198	0.0058	0.0024	0.012
pp'-DDT	0.208	0.200	0.199	0.193	0.192	0.198	0.198	0.0058	0.0024	0.012

表4中，$\bar{w}=\frac{\sum_{i=1}^{n}w_i}{n}$，为样品质量含量的算术平均值/(mg/kg)；$S(w_i)=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(w_i-\bar{w})^2}{n-1}}$，为单次测定的标准偏差/(mg/kg)；$u(\bar{w})=\frac{S(w_i)}{\sqrt{n}}$，为算术平均值的标准不确定度/(mg/kg)；$u_{rel}(\bar{w})=\frac{u(\bar{w})}{\bar{w}}$，为算术平均值的相对不确定度。

2.3 计算相对合成标准不确定度及扩展不确定度

相对合成标准不确定度计算公式：

$$u_{rel}(P)=\sqrt{u_{rel}^2(\text{标})+u_{rel}^2(m)+u_{rel}^2(V)+u_{rel}^2(\bar{R})+u_{rel}^2(\bar{w})}$$

扩展不确定度计算公式：

$U=\bar{w}\times k\times u_{rel}(P)(k=2)$

相对合成标准不确定度及扩展不确定度的计算结果详见表5。

表5 测试样中六六六、滴滴涕残留量的相对合成不确定度和扩展不确定度

Table 5 Composed and expanded uncertainty for the determination of HCH and DDT in samples

物质名称	u_{rel}(标)	$u_{rel}(m)$	$u_{rel}(V)$	$u_{rel}(\bar{R})$	$u_{rel}(\bar{w})$	$u_{rel}(P)$	$\bar{w}$/(mg/kg)	U/(mg/kg)	结果/(mg/kg)
α-666	0.044			0.0064	0.021	0.051	0.099	0.010	0.099±0.010
β-666	0.055			0.0083	0.020	0.061	0.099	0.012	0.099±0.012
γ-666	0.050			0.0089	0.015	0.055	0.098	0.011	0.098±0.011
δ-666	0.048	0.000024	0.013	0.0093	0.020	0.054	0.100	0.011	0.100±0.011
pp'-DDE	0.031			0.011	0.0095	0.037	0.201	0.015	0.201±0.015
pp'-DDD	0.032			0.0091	0.011	0.037	0.198	0.015	0.198±0.015
op'-DDT	0.032			0.012	0.012	0.038	0.198	0.015	0.198±0.015
pp'-DDT	0.033			0.012	0.012	0.039	0.198	0.015	0.198±0.015

3 结 论

从上述不确定度评估可以判断出哪些不确定度分量对相对合成不确定度的贡献突出，因此可以对该分量采取相应措施，从而降低总不确定度。本实验对干海参中六六六、滴滴涕残留量测量不确定度的评估结果表明：标准溶液、试样定容体积以及重复性的不确定度分量对相对合成不确定度的贡献较大，这3个试验步骤是影响试样结果准确性的关键步骤。

参考文献：

[1] JIF 1059—1999测量不确定度评定与表示[S]. 北京: 中国计量出版社, 1999.

[2] 中国实验室国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2002.

[3] CNAS-CL07: 2011测量不确定度的要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.

[4] GB/T 5009.19—2008食品中有机氯农药多组分残留量的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[5] JJF 1135—2005化学分析测量不确定度评定[M]. 北京: 中国计量出版社, 2005.

[6] 杜书利, 张志清, 谢军燕, 等. JJG 196—2006常用玻璃量具鉴定规程[S]. 北京: 中国计量出版社, 2007.

[7] 陆华, 赵吉昉. 土壤中六六六和滴滴涕残留量的测量不确定度评定[J]. 环境研究与监测, 2011, 24(1): 28-31.

[8] GB/Z 22553—2010/ISO/TS 21748: 2004 利用重复性、再现性和正确度的估计值评估测量不确定度的指南[S].

[9] 郑怀东, 刘学光, 关丽, 等. 气相色谱法测定河蟹中多氯联苯残留量的不确定度分析[J]. 食品科学, 2011, 32(16): 334-337.

[10] 李松, 饶竹. 气相色谱法测定地下水中六六六结果的不确定度评定[J]. 岩矿测试, 2008, 27(4): 295-298.