

植物提取浓缩液中六六六残留测定实验室间比对分析

曾慧*, 王念彬, 林杰, 麦敏华, 张明珠

(清远加多宝草本植物科技有限公司, 清远 511675)

摘要: **目的** 考察集团下各实验室植物提取浓缩液中六六六农药残留测定的实验室检测能力。**方法** 以植物提取浓缩液为基质, β -六六六、 δ -六六六为目标物, 采用基质添加的方式制备比对样品, 经均匀性、稳定性验证, 采用稳健统计技术的算法 A 计算稳健平均值和稳健标准偏差, 以 Z 比分数为依据评价植物提取浓缩液中六六六农药残留测定的实验室检测能力。**结果** 比对样品的均匀性、稳定性检验结果均满足要求, 植物提取浓缩液中六六六农药残留检测满意率为 100%, 参加的实验室检测能力良好。**结论** 和能力验证相比实验室间比对对具成本低、组织方便的优点, 是能力验证活动的有效补充。

关键词: 均匀性; 稳定性; 实验室间比对; 稳健统计技术

Inter laboratory comparative analysis of residual determination of hexachlorocyclohexane in plant extract concentrate

ZENG Hui*, WANG Nian-Bin, LIN Jie, MAI Min-Hua, ZHANG Ming-Zhu

(Qingyuan Jiaduobao Herbal Technology Co., Ltd., Qingyuan 511675, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the laboratory detection capability of the determination of hexachlorocyclohexane pesticide residues in plant extract concentrates of various laboratories under the group. **Methods** Using plant extract concentrate as the substrate, β -hexachlorocyclohexane and δ -hexachlorocyclohexane was used as the target substance, and a comparison sample was prepared by adding a matrix. After uniformity and stability verification, robust statistical algorithm A was used to calculate the robust mean and robust standard deviation. The laboratory detection ability of hexachlorocyclohexane pesticide residues in plant extract concentrate was evaluated based on the Z-ratio score. **Results** The uniformity and stability test results of the comparison samples meet the requirements, and the satisfaction rate of the detection of pesticide residues in plant extract concentrate is 100%. The participating laboratories have good detection capabilities. **Conclusion** Compared with proficiency testing, inter laboratory comparisons have the advantages of low cost and convenient organization, making them an effective supplement to proficiency testing activities.

KEY WORDS: uniformity; stability; inter laboratory comparison; robust statistical techniques

0 引言

实验室间比对是指按照预先规定的条件, 由两个或多个实验室对同一或相似物品进行测量或检测的组织、实施和评价

(CNAS RL02-2018《能力验证规则》)。可行和适当时, 实验室应通过包括但不限于参加能力验证或实验室间比对与其他实验室的结果比对监控能力水平(CNAS CL01-2018《检测和校准实验室能力认可准则》)。实验室间比对和能力验证是确保检测结果

* 通信作者: 曾慧, 助理工程师, 研究方向: 食品分析检测。E-mail: zenghui@jdbchina.com。

*Corresponding author: ZENG Hui, Assistant Engineer, Qingyuan Jiaduobao Herbal Technology Co., Ltd., Qingyuan 511675, China. E-mail: zenghui@jdbchina.com。

准确可靠的重要手段, 可以识别实验室存在的问题和实验室间的差异^[1-5]。目前我国的能力验证机构每年会定期发布能力验证计划, 但是由于参加成本高, 工作安排时间冲突等原因, 并非所有的企业实验室都有条件参加能力验证或是参加频次较低^[6]。实验室间比对是能力验证活动的有效补充, 具有成本低、组织方便、项目覆盖较全面的优势。通过组织内部实验室间比对活动, 可以根据企业的检测工作质量控制要求, 定制适宜企业质量控制的基质样品和浓度水平, 全面探查集团下各企业实验室检测能力, 帮助实验室识别异常及风险, 促进实验室整体能力提高^[7-12]。

本研究选择高残留、化学性质相对稳定的有机氯类农药作为目标物, 用基质加标的方法制备有机氯类农药残留实验室间比对样品, 参考 CNAS GL002-2018《能力验证结果的统计处理和评价指南》、GB/T 28043-2019《利用实验室间比对进行能力验证的统计方法》、CNAS GL003-2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》、CNAS GL005-2018《实验室内部研制质量控制样品的指南》、JJF 1343-2022《标准物质的定值及均匀性、稳定性评估》及相关文献采用稳健统计技术的算法 A 估计数据总体的稳健平均值和稳健标准差^[13-16], 使离群值的影响降至最低, 进而对各实验室检测结果进行评价, 以掌握集团下各实验室检测能力水平, 为提升集团实验室检测技术能力和质量控制水平提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

7890A 气相色谱仪 (带 ECD 检测器, 美国 Agilent); BSA224S-CW 电子天平 (感量为 0.1 mg, 赛多利斯科学仪器北京有限公司); HS 260 往复式摇床 (德国 IKA 公司); simplicity-UV 去离子水发生器 (美国 Millipore 公司); N-EVAP112 氮吹仪 (美国 Organomation); 其他实验室常用玻璃器皿。

β -六六六, δ -六六六标准溶液 (100 mL 液器皿, 北京海岸鸿蒙标准物质技术有限责任公司); 色谱纯正己烷 (美国 Honeywell)。

1.2 检测方法

移取植物提取浓缩液 (以下简称浓缩液) 样品 5.00 mL 于 100 mL 烧杯, 加适量蒸馏水稀释, 转移至 500 mL 容量瓶, 用蒸馏水定容至刻度。用 20 mL 单标线移液管准确移取 20.00 mL 上述稀释液于 50 mL PTFE 离心管中, 加 10 mL 正己烷于摇床上 210 r/min 振摇萃取 10 min。静置分层, 转移有机层于玻璃试管; 水相层以 10 mL 正己烷再萃取一次, 合并有机相层氮吹至近干。残渣以 2.00 mL 正己烷复溶, 取适量复溶液体过 0.45 μ m PTFE 滤膜, 装瓶供 GC-ECD 分析。

1.3 比对样品的制备

随机抽取浓缩液样品置于干净烧杯中, 按照 1.1 测定 β -

六六六, δ -六六六, 结果均为未检出。以此样品为基质, 按照预期水平添加 β -六六六, δ -六六六农药标准溶液 (标准溶液浓度为 100 μ g/mL): 取适量浓缩液分别加 β -六六六, δ -六六六标液 1.4、1.2 mL, 用浓缩液补足体积至 1 L, β -六六六, δ -六六六浓度分别约为 0.14、0.12 mg/L。两个样品分别混合均匀后分装于 20 mL 棕色玻璃瓶中, 每瓶约 15 mL, 钳口封装, 随机编号, 粘贴标签, 室温存放。

1.4 均匀性检验

从制备的样品中随机抽取 10 个样品, 每个样品重复测试 2 次, 测定结果运用 Excel 软件进行单因素方差分析判定结果均匀性。

1.5 稳定性检验

随机抽取 2 组, 每组各 6 个样品考察样品在运输条件和保存时间下的稳定性。运输条件稳定性在样品发放后模拟样品运输的温度和时间 (45 $^{\circ}$ C, 5 d) 进行试验; 保存时间稳定性在运输条件稳定性结束后室温放置, 至收齐各实验室数据。测定结果运用 Excel 软件, 采用 t 检验法评价样品的稳定性。

1.6 样品发放

通过快递向集团下 10 个工厂实验室提供检测样品各 1 瓶, 随样品同时寄送《作业指导书》《被测样品接收表》《结果报告单》各实验室按照要求在规定的周期内提交检测结果, 每个实验室提交两个平行测定结果, 取平均值进行统计分析。为便于对各实验室检测结果进行统计及分析, 每个实验室均赋予一个唯一代码, 在说明与实验室有关的检测结果、结果评价等时, 均以代码表示参加的实验室。

1.7 结果评价

对参加者的结果进行评价, 一般包括指定值的确定, 能力统计量的计算和能力评定三方面。本研究采用迭代稳健统计方法 (算法 A) 计算稳健平均值作为指定值, 稳健标准差作为能力评定标准差; 采用 Z 比分数作为评价实验室能力的依据, Z 比分数按照式 (1) 计算; $|Z| \leq 2$ 时表示实验室的结果为满意结果, $2 < |Z| < 3$ 时表示实验室的结果可疑或有问题, 产生警戒信号, 应该引起重视, $|Z| \geq 3$ 时表示实验室的结果为不满意结果, 实验室应立即查找原因并制定有效的纠正措施。

$$Z = \frac{x - X}{\sigma} \quad (1)$$

式中: x —参加实验室的检测结果;

X —采用稳健统计方法得到的稳健平均值 x^* ;

σ —稳健标准偏差 s^* 。

2 结果与分析

2.1 比对样品的选择

比对计划选用植物提取浓缩液作为基体材料, 主要基于以

下方面考虑：第一，组织的实验室间比对主要是用于确定集团下 10 个实验室测量结果的等效程度，比对样品的技术要求和选择的关键标准是基体材料尽可能接近实际样品，即基体与日常检测样品的基体基本相同或尽可能相近，基体越接近，测量结果越具有代表性。浓缩液稀释后与日常检测样品基体基本相同。第二，样品加工是比对样品制备过程中重要一环，是比对样品成本的重要组成部分，因此加工制备方法简单易行是控制加工成本的不二法门。浓缩液在生产过程已经过多道工序过滤，加标混匀后直接分装即可，加工制备方法简单易行。第三，浓缩液本身含有的绿原酸、迷迭香酸等成分，具备一定的抑菌 / 抗菌作用，计划开展前经稳定性验证，拟计划的实验室间比对周期内样品未出现霉变现象，故样品制备好分装后无须再进行灭菌处理。最后，制备的样品约 15 mL/ 瓶，量小便于运输，亦可减少运输成本。

2.2 均匀性检验

均匀是一个相对概念，对于某些基体，如真溶液，如制备

过程中已经过滤且充分混合，原则上无须进行正式的均匀性检验，但是由于存在沾污或不完善分装的风险，应进行均匀性验证。均匀性包含两个方面，单元间和单元内均匀性，单元间均匀性反映样品每一单元之间测量结果的变差，单元内均匀性反映了能代表整个单元的最小取样量。为确保实验室间比对中出现的满意结果不归咎于样品之间或样品本身的变异性，研究参照 CNAS GL003-2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》，从分装的样品中各随机抽取 10 个样品，采用 1.1 检测方法（样品的所有重复测试均按随机顺序进行），检测结果单因子方差分析的 F 统计量小于 F 临界值，即认为样品是均匀的，反之则是不均匀的。统计结果见表 1。组间自由度为 9，组内自由度为 10，查 JJF 1343-2022《标准物质的定值及均匀性、稳定性评估》附表 D 可知 $F_{0.05(9,10)}$ 为 3.02，由表 1 可知 F 值均小于临界值，表明实验室间比对样品内和样品间不存在显著性差异，样品是均匀的。

表 1 均匀性检验数(mg/L)
Table 1 Uniformity test data (mg/L)

样品数	β -六六六测定值		平均值	样品数	δ -六六六测定值		平均值
1	0.124	0.125	0.125	1	0.114	0.113	0.114
2	0.129	0.131	0.130	2	0.120	0.117	0.119
3	0.124	0.133	0.129	3	0.115	0.121	0.118
4	0.126	0.130	0.128	4	0.116	0.119	0.118
5	0.123	0.129	0.126	5	0.115	0.120	0.118
6	0.126	0.134	0.130	6	0.116	0.126	0.121
7	0.126	0.120	0.123	7	0.117	0.110	0.114
8	0.121	0.126	0.124	8	0.114	0.117	0.116
9	0.131	0.105	0.118	9	0.124	0.095	0.110
10	0.128	0.112	0.120	10	0.120	0.104	0.112
总平均值	0.125			总平均值	0.116		
组间方差	0.00030505			组间方差	0.00021905		
组内方差	0.0005975			组内方差	0.0006675		
F	0.57			F	0.36		

2.3 稳定性检验

对某些性质不稳定的检测样品，运输时间对检测的特性量值可能会产生影响。因此，在样品发送给实验室之前，需要进行有关条件的稳定性检验。稳定性检验的测试方法应是精密和灵敏的，并且具有很好的复现性。研究参照 CNAS GL003-2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》，随机选择 12 个样品考察样品在运输条件和保存时间下的稳定性。运输条件稳定性模拟样品运输的温度和时间（45°C，5 d）进行试验，12 个样品全部进行运输条件稳定性试验，试验结束后随机抽取其中 6 个样品进行检测；剩余 6 个样品取出后室温放置，待收回各

实验室检测结果后开展检测。在稳定性实验中，测试人员、使用仪器、测试方法均与均匀性测试保持一致。稳定性测试结果按 CNAS GL03-2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》中 t 检验法：二个平均值之间是否存在显著性的差异，按式（2）计算 t 值：

$$t = \frac{|\bar{x}_2 - \bar{x}_1|}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}}} \quad (2)$$

式中： \bar{x}_1 —第一次测量结果的平均值；

\bar{x}_2 —第二次测量结果的平均值；

s_1 —第一次测量结果的标准偏差;
 s_2 —第二次测量结果的标准偏差;
 n_1 —第一次测量的次数;
 n_2 —第二次测量的次数。

若 $t < t_{\alpha}(n_1 + n_2 - 2)$ (显著性水平 α 通常取 0.05), 则表明两个平均值之间无显著性差异, 样品在本周期内是稳定的。

统计结果见表 2。组间自由度为 1, 组内自由度为 14, 查 JF 1343-2022 附表 D 可知 $F_{0.05(1,14)}$ 为 4.60, 由表 2 可知 F 统计量均小于 F 临界值, 精密性满足要求; 查 JF 1343-2022 附表 E 可知 $t_{0.05(14)}$ 为 2.15, 由表 2 可知 t 统计量均小于 t 临界值, 两次测定的平均值之间无显著性差异, 样品在本周期内是稳定的。

表 2 样品稳定性检验数据
 Table 2 Stability test data

样品	β -六六六测定值(mg/L)			样品	δ -六六六测定值(mg/L)		
	结果 1	结果 2	结果 3		结果 1	结果 2	结果 3
1	0.124	0.135	0.131	1	0.114	0.120	0.124
2	0.129	0.132	0.125	2	0.120	0.116	0.110
3	0.124	0.126	0.127	3	0.115	0.114	0.113
4	0.126	0.125	0.132	4	0.116	0.113	0.122
5	0.123	0.125	0.134	5	0.115	0.112	0.121
6	0.126	0.129	0.126	6	0.116	0.114	0.121
7	0.126	-	-	7	0.117	-	-
8	0.121	-	-	8	0.114	-	-
9	0.131	-	-	9	0.124	-	-
10	0.128	-	-	10	0.120	-	-
平均值	0.126	0.129	0.129	平均值	0.117	0.115	0.119
测量次数	10	6	6	测量次数	10	6	6
F 值	-	2.62	4.06	F 值	-	1.99	0.41
t 值	-	1.62	2.02	t 值	-	1.41	0.64

2.4 结果统计

各实验室结果见表 3。采用迭代稳健统计方法算法 A 确定指定值和能力评定标准差, 通过不断替换离群值降低其权重, 有效地减少了极端值对总体数据的影响。表 4 为样品 β -六六六迭代稳健统计方法算法 A 分析结果, 各数据均用 EXCEL 计算

得到。由表 4 可知, 第 2 次和第 3 次迭代得出新的稳健平均值和稳健标准差第 3 位有效数字均保持不变, 说明此过程已经收敛。同理计算得到 δ -六六六的稳健平均值和稳健标准偏差, 各结果见表 5。将表 5 数据与表 3 中数据代入式 (1) 计算得到相应 Z 值, 结果见表 6。

表 3 各实验室 β -六六六、 δ -六六六测定结果
 Table 3 Results of β -hexachlorocyclohexane and δ -hexachlorocyclohexane determination in each laboratory

实验室代码	编号	β -六六六	δ -六六六
L01	215	0.099	0.101
L02	022	0.132	0.138
L03	151	0.149	0.114
L04	486	0.138	0.140
L05	047	0.126	0.128
L06	242	0.115	0.106
L07	114	0.127	0.122
L08	184	0.100	0.126
L09	331	0.143	0.121
L10	369	0.105	0.103

2.5 数据分析

将表6各实验室Z比分数按照从小到大顺序依次排序后做柱状

图,见图1。此次实验室间比对共10个实验室参加,10个实验室提供了有效数据,均获得满意结果,集团下各实验室检测能力良好。

表4 β-六六六测定结果的迭代统计分析

Table 4 Iterative statistical analysis of β-hexachlorocyclohexane determination results

序号	第0次	$ (x-x^*) $	第1次	第2次	第3次	第4次
$1.5 \times s^*$	-	-	0.0311	0.0274	0.0274	0.0274
$x^* - 1.5 \times s^*$	-	-	0.0954	0.0960	0.0960	0.0960
$x^* + 1.5 \times s^*$	-	-	0.1576	0.1508	0.1508	0.1508
1	0.0990	0.0275	0.0990	0.0990	0.0990	0.0990
2	0.1320	0.0055	0.1320	0.1320	0.1320	0.1320
3	0.1490	0.0225	0.1490	0.1490	0.1490	0.1490
4	0.1380	0.0115	0.1380	0.1380	0.1380	0.1380
5	0.1260	0.0005	0.1260	0.1260	0.1260	0.1260
6	0.1150	0.0115	0.1150	0.1150	0.1150	0.1150
7	0.1270	0.0005	0.1270	0.1270	0.1270	0.1270
8	0.1000	0.0265	0.1000	0.1000	0.1000	0.1000
9	0.1430	0.0165	0.1430	0.1430	0.1430	0.1430
10	0.1050	0.0215	0.1050	0.1050	0.1050	0.1050
平均值	0.1234	-	0.1234	0.1234	0.1234	0.1234
STDEV	0.0179	-	0.0179	0.0179	0.0179	0.0179
新 x^*	0.1265	-	0.1234	0.1234	0.1234	0.1234
新 s^*	0.02076	-	0.01828	0.01828	0.01828	0.01828

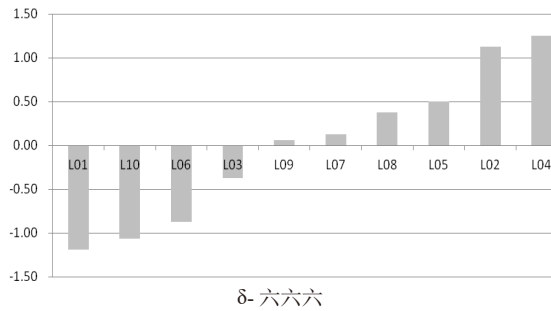
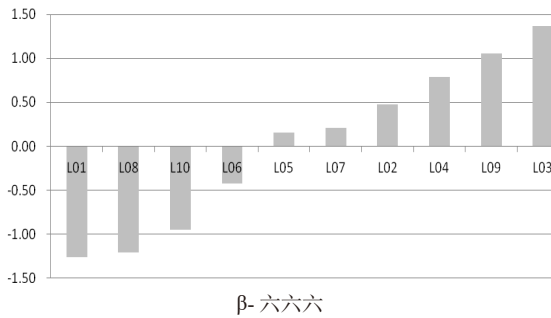


图1 β-六六六、δ-六六六Z比分数分布图

Fig.1 Distribution map of Z-ratio scores for β-hexachlorocyclohexane, δ-hexachlorocyclohexane

表5 两组样品稳健平均值和稳健标准偏差

Table 5 Robust mean and robust standard deviation of two groups of samples

样品	稳健平均值(mg/L)	稳健标准差(mg/L)
β-六六六	0.123	0.019
δ-六六六	0.120	0.016

表6 各实验室测定结果的Z比分数

Table 6 Z-ratio scores of measurement results in each laboratory

实验室代码	β-六六六(mg/L)	δ-六六六(mg/L)
L01	-1.26	-1.19
L02	0.47	1.13
L03	1.37	-0.37
L04	0.79	1.25
L05	0.16	0.50
L06	-0.42	-0.88
L07	0.21	0.13
L08	-1.21	0.38
L09	1.05	0.06
L10	-0.95	-1.06

3 讨论与结论

本次比对结果满意可能归因于以下几个主要原因:(1)本次评估的为集团下的10个内部实验室,实验室按照统一的标准筛选技术人员,并经过严格的岗前培训、能力确认,符合要求再予以上岗作业,加上实验室持续地监测和改进,确保检测能力处于较高的可控水平。减少了因人员及测量过程引入的不确定因素,确保结果准确可靠。(2)各实验室使用仪器设备型号相同,这些设备都有统一的定期维护和校准规程,从设备上确保了测量结果的一致性。(3)使用的检测方法为实验室内部经过方法验证后向集团各实验室推广的方法,且测量的样品基质与日常检测样品基质基本一致,从方法上确保了本次测试结果的准确性。(4)集团化的实验室,执行的是同一套质量控制措施,如人员比对、盲样检测、重复测量、结果审核等,严格的质量控制措施减小了偏差并提高结果的可靠性。

本次组织的实验室间比对采用参加者结果统计得到的标准差作为能力评定标准差,一般来说用参加者结果统计得到的标准差作为能力评定标准差时,由于参加者逐渐熟悉比对计划或方法得到改进,实验室间标准差会随时间而减小,即参加者本身的能力没有变化,也会导致 z 比分数明显变大,长期监测能力时应当谨慎。

实验室间比对是检测结果质量保证的重要方法,是实验室质量管理中非常重要的一环,能够发现实验室检测过程中存在的问题和实验室间的差异,有助于减少实验条件、设备或技术人员的差异造成的误差,从而提高检测结果的准确性和可信度;其次,通过实验室间比对各实验室可以相互学习,发现自身可能存在的问题和改进空间,有助于提高实验室的技术水平;再次,通过实验室间比对,可以验证各实验室结果的一致性,包括新方法或新技术的有效性和可比性,确保检测结果及新方法的准确性和可靠性。实验室间比对促进技术交流和经验分享,提高实验室整体技术水平和用户满意度具有非常重要的意义,实验室应充分利用比对结果,通过质量管理的方法对可疑值和离群值进行有效地控制,促进实验室内部质量控制措施的优化和持续改进,提升实验室检测能力,确保检测结果准确、可靠。

参考文献

[1] 周洁,冯晓丽,戴蕾蕾,等.实验室间比对在确保结果有效性中的应用[J].理化检验(化学分册),2022,58(01):103-105.

- [2] 邵颖.集团化实验室间比对方法与结果评价研究[J].煤炭加工与综合利用,2022,(06):76-80.
- [3] 陈秀芬,梁颖思,黄家欣,等.婴幼儿乳粉中维生素B12检测的实验室间比对结果分析[J].中国乳品工业,2020,48(08):49-52,59.
- [4] 刘金东,张雨,芦新根,等.迭代稳健统计法用于金矿石中银含量测定的实验室间比对[J].化学分析计量,2021,30(02):73-76.
- [5] 段建华,王秀娟,赵静,等.乳粉中铅、铬、汞、砷含量测定的实验室间比对分析[J].畜牧与饲料科学,2023,44(05):100-107.
- [6] 吕欧,李涛,林芳,等.茶叶中滴滴涕农药残留质控样品的制备与评价[J].食品安全质量检测学报,2020,11(11):3522-3527.
- [7] 杨美玲.化学检测实验室能力验证工作的实施探讨[J].中国标准化,2023,(19):198-201.
- [8] 吴少红,李琛.理化实验室能力验证比对试验结果分析[J].中国卫生检验杂志,2023,33(19):2423-2425.
- [9] 周德群.水质六价铬检测实验室间比对能力验证情况分析及其效果评价[J].广州化工,2023,51(11):132-135.
- [10] 刘雪朋.硅锰合金中化学成分分析能力实验室间结果比对[J].山东冶金,2023,45(01):50-51,64.
- [11] 麦笑芳.利用单因子方差分析优化实验室间比对样品测试流程[J].实验室检测,2024,2(04):77-81.
- [12] 郑学秋,魏敏.实验室间比对外加剂样品均匀性和稳定性影响分析[J].山东交通科技,2023,(05):35-37.
- [13] 王思明,宋利军,詹月辰. Z 比分数不同统计方法在实验室间比对试验结果评价中的比较[J].石油库与加油站,2024,33(02):23-27,4.
- [14] 李向威.检验检测机构能力验证实施探讨[J].中国检验检测,2023,31(01):95-96.
- [15] 刘敏,刘程啸.四分位数与迭代稳健统计方法在实验室间比对试验结果评价中的比较[J].中国纤检,2023,(01):53-57.
- [16] 杨姣兰,曹宁涛,王君.生活饮用水中铅检测的实验室间比对[J].卫生研究,2022,51(05):829-833.

作者简介



曾慧,助理工程师,研究方向:食品分析检测。