DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.02.040

气相色谱-串联质谱法测定白芍中滴滴涕的不确定度评定

颜梅,何钦
(金华市中心医院,浙江 金华 321000)

摘要:对气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)测定白芍中禁用的滴滴涕(DDT)残留量的不确定度进行评定,参考《中华人民共和国药典》(2020版)"药材及饮片(植物类)中禁用农药多残留测定方法",建立测量数学模型,对不确定度来源进行分析,包括标准溶液配制、样品制备、测量重复性、标准曲线、气相色谱-串联质谱仪、回收率。通过计算各个不确定度分量并合成,得到4,4'-滴滴伊(4,4'-DDE)、2,4'-滴滴涕(2,4'-DDT)、4,4'-滴滴滴(4,4'-DDD)、4,4'-滴滴涕(4,4'-DDT)的结果可分别报告为(0.14±0.01)、(0.13±0.01)、(0.14±0.01)、(0.13±0.03)mg·kg^{-1},(k=2)。测定结果的不确定度主要受标准曲线拟合、标准溶液配制的因素影响。

关键词:气相色谱-串联质谱法;不确定度评定;白芍;禁用农药;滴滴涕
中图分类号:R284.1 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)02-0230-04

Uncertainty Evaluation of Determination of Benzene Dichloro-Diphenyl-Trichloroethane(DDT) in Baishao(Paeoniae Radix Alba) by Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

YAN Mei, HE Qin
(Jinhua Municipal Central Hospital, Jinhua 321000, Zhejiang, China)

Abstract: Based on "method for the determination of multiple residues of prohibited pesticides in medicinal materials and herbal slices (Plants)" in *Chinese Pharmacopoeia* (2020 edition), the uncertainty in determination of benzene dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT) residues in Baishao (Paeoniae Radix Alba) was evaluated by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) was carried out. The measurement mathematical model was established. Source analysis including preparation of standard solution, sample preparation, measurement repeatability, standard curve, recovery and GC-MS/MS. By calculating and synthesizing each uncertainty component, the measured result of 4,4'-DDE, 2,4'-DDT, 4,4'-DDD and 4,4'-DDT can be respectively reported as (0.14±0.01), (0.13±0.01), (0.14±0.01), (0.13±0.03) mg·kg^{-1} (k=2). The uncertainty of the determination result was mainly affected by the uncertainty of standard curve, standard solution preparation.

Keywords: gas chromatography-tandem mass spectrometry; uncertainty evaluation; Baishao (Paeoniae Radix Alba); banned pesticide; benzene dichloro-diphenyl-trichloroethane

白芍始载于《神农本草经》,是浙江省著名的道地药材资源,列属于"浙八味"。其来源于毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,味苦、酸,性微寒,归肝、脾经,具有养血调经、敛阴止汗、柔肝止痛、平抑肝阳之功效,可用于血虚萎黄、月经不调、自汗、盗汗、胁痛、腹痛、四肢挛痛、头痛眩晕等症[1]。现代药理研究表明白芍在抗炎镇痛、抗氧化、抗抑郁、抗肿瘤、降血糖、保肝降脂等方面具有显著的生物活性[2-8],临床上被广泛用于吐血、瘀血、痛经、癫痫、癌症、肝病及糖尿病等的治疗[9-12]。同时,也有"十方九芍"之称。因此,白芍是一味重要且常用的药味。但近年来,中药的外源性有害残留问题引发探讨、引起关注[13-15],特别是农药残留污染[16-17]。因此,2020年版《中华人民共和国药典》增加了药材及饮片不得检出33种禁用农药的详细规定并给出了33种禁用农药的测定方法,引起了业界的高度关注和重视。

测量不确定度是合理表征被测量值的分散程度,对测量结果的可信性、可比性和可接受性都有重要影响,是评价测量活动质量的重要指标。目前,测量不确定度理论已被国内外许多国际组织所接受,并被广泛推广和应用于各个检测领域。如国

基金项目:浙江省中医药科技计划项目科研基金项目(2023ZL189)
作者简介:颜梅(1984-),女,四川内江人,副主任中药师,硕士,研究方向:中药质量控制。

际上要求,在分析样品的化学残留及污染物是否符合国内或国际标准时,应分析结果的测量不确定度。因此,中药农药残留应当进行不确定评定,但通过文献发现中药农药残留不确定度评定的研究相对较少,仅见于西洋参[18]、白术[19]、黄精[20]、三七[21]、菊花[22]、人参[23]等品种有相关报道。本文以白芍样品为研究对象,根据《中华人民共和国药典》(2020年版)"药材及饮片(植物类)中禁用农药多残留测定方法",选取白芍中容易检出的DDT[24-25]为测定指标,对其进行不确定度进行评定,以期为白芍DDT农药残留限量符合性判定提供依据。同时为测量其他中药农药残留量的不确定度分析提供参考。

1 材料

1.1 仪器

GCMS-TQ8040NX型气相色谱-串联质谱仪(日本岛津仪器有限公司);XB-620M型电子分析天平(瑞士Precisa);FSH-2A型可调高速匀浆机(北京神泰伟业仪器设备有限公司);SC-3612型低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);RE-52AA型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 试药

禁用农药混合对照品(批号:S084085),磷酸三苯酯(批号S090633),均购买于岛津(上海)器材有限公司;乙腈(色谱纯,批号:JB129230,德国默克公司);氯化钠(批号:20221223,国药试剂);水为实验室纯化水。

1.3 样品

农药阴性的白芍样品(批号:C042751b),农药阳性的白芍样品(批号:D050751),均购买于北京美正检测技术有限公司。

2 方法

以色谱柱SH-I-17SiL MS(30 mm×0.25 mm×0.25 μm),按照2020年版《中华人民共和国药典》四部通则2341农药残留测定法"第五法 药材及饮片(植物类)中禁用农药多残留测定方法",参考其中色谱条件、质谱条件、对照品溶液制备、供试品溶液制备(白芍采用直接提取法)等进行白芍样品的制备和测定。

3 测量模型

白芍中4,4'-DDE,2,4'-DDT,4,4'-DDD,4,4'-DDT各目标成分的质量分数按如下公式计算。

$$Xi = \frac{\rho_i \times V}{m \times 1000}$$

式中:Xi为各目标成分的质量分数,mg·kg^{-1};ρ_i为各目标成分测定浓度,ng·mL^{-1};V为定容终体积,mL;m为样品的称样量,g。

4 不确定度来源

根据测量模型和实验步骤,确定并列出影响DDT测量结果的不确定度主要分量,归纳为6个方面:(1)标准溶液配制(C),包含标准物质、标准储备溶液和标准工作液的移取、定容以及温度对溶剂影响产生的不确定度;(2)样品的制备(P),包含样品的称量、移取和定容产生等产生的不确定度;(3)仪器设备(E),主要是GC-MS/MS引入的不确定度;(4)样品重复6次测定($\bar{X}$)引入的不确定度;(5)标准曲线拟合(Q)引入的不确定度;(6)加样回收率(R)引入的不确定度。见图1。

5 不确定度的计算

5.1 配制标准溶液产生的不确定度

(1)标准物质引入:依据34种混合农药标准物质证书,4,4'-DDE,2,4'-DDT,4,4'-DDD,4,4'-DDT的扩展不确定度均为±5%,k=2,则4个成分的相对标准不确定度u_{rel}($C_{1.1}$)均为0.025。

(2)使用100~1000 μL移液器精密移取500 μL标准物质溶液:查看证书移液器允差为±1.0%,按三角形分布$k=\sqrt{6}$计算,则由1000 μL移液器产生的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(C_{1.2}) = \frac{d}{0.5 * \sqrt{6}} = 0.008\ 165$$

(3)标准储备溶液定容至50 mL,根据检定证书得知容量瓶的容量允差为(50±0.015) mL,按矩形分布$k=\sqrt{3}$计算,则由50 mL容量瓶定容产生的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(C_{1.3}) = \frac{d}{0.5 * \sqrt{3}} = 0.000\ 173\ 2$$

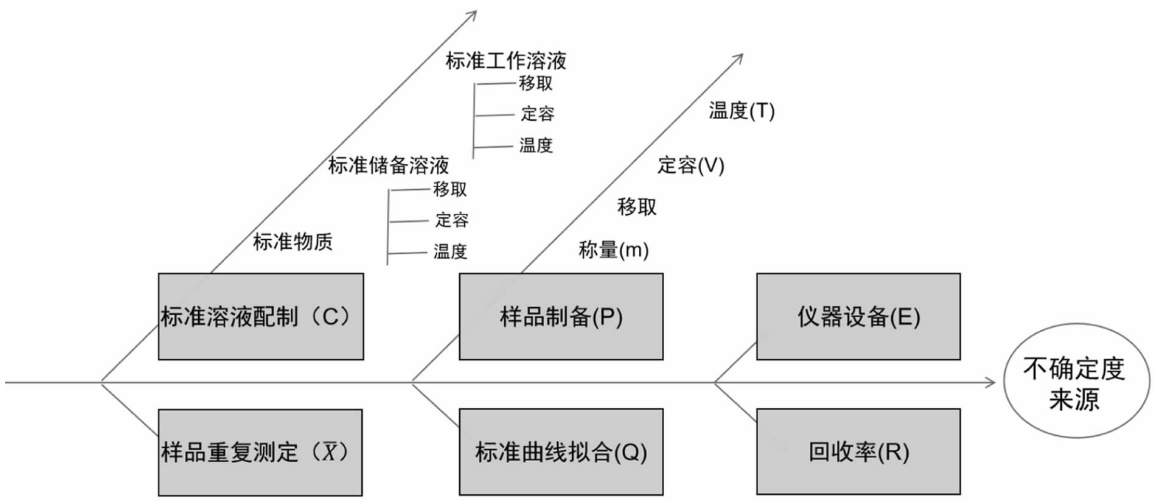


图1 不确定度来源

(4)乙腈在 20 ℃时体积膨胀系数 a 为 0.001 37 · ℃$^{-1}$,实验室温度通常在(20 ± 5) ℃内变化,按照矩形分布 k = $\sqrt{3}$计算,则由溶剂产生的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(C_{1.4}) = \frac{d}{0.5 \times \sqrt{3}} = 0.003\ 955$$

(5)配制系列标准工作溶液引入的不确定度:系列标准工作溶液配制过程中分别使用了 20、50、100、200 μL 的移液器,则由移液器引入的相对标准不确定度分量见表 1。

表 1 移液器引入的相对标准不确定度

类型	移液器/(μL)	移液体积/(μL)	容允误差 ±%	相对标准不确定度 u_{rel}
基质标 1	2 – 20	10	8.0	0.004 62
基质标 2	2 – 20	20	4.0	0.001 15
基质标 3	5 – 50	50	3.0	0.000 35
基质标 4	10 – 100	100	2.0	0.000 12
基质标 5	20 – 200	150	2.0	0.000 08
基质标 6	20 – 200	200	1.5	0.000 04

注:表中标准不确定度按三角形分布 k = $\sqrt{6}$计算。

则基质混合对照品溶液制备涉及移液器引入相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(C_{1.5}) = \sqrt{0.004\ 62^2 + 0.001\ 15^2 + 0.000\ 35^2 + 0.000\ 12^2 + 0.000\ 08^2 + 0.000\ 04^2} = 0.004\ 8$$

综上,配制标准溶液产生的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(C) = \sqrt{u_{rel}^2(C_{1.1}) + u_{rel}^2(C_{1.2}) + u_{rel}^2(C_{1.3}) + u_{rel}^2(C_{1.4}) + u_{rel}^2(C_{1.5})} = 0.027\ 03$$

5.2 样品制备引入的不确定度

样品制备引入的不确定主要涉及称量和定容两个步骤。根据电子天平检定证书,允差为 ±0.005,样品称量样约为 5 g,按矩形分布 k = $\sqrt{3}$计算,称称样引入的相对标准不确定度为。$u_{rel}(m) = \frac{d}{5 \times \sqrt{3}} = 0.000\ 577\ 4$;样品最终定容至 10 mL 容量瓶中,容量允差为 ±0.01 mL,按三角形分布 k = $\sqrt{3}$计算,则由 10 mL 容量瓶产生的相对标准不确定度为:$u_{rel}(V) = \frac{d}{V \times \sqrt{3}} = 0.000\ 574\ 4$ 因此,样品制备引入的相对标准不确定为:

$$u_{rel}(P) = \sqrt{u(m)_{rel}^2 + u(V)_{rel}^2} = 0.000\ 816$$

5.3 重复测量 $\bar{X}$ 的相对不确定度

根据 GC – MS/MS 的条件对样品进行重复测定 6 次,则 4,4' – DDE、2,4' – DDT、4,4' – DDD、4,4' – DDT 平均值 $\bar{X}$ 分别为 0.14、0.13、0.14、0.13,相应的标准偏差 S 分别为 0.002 5、0.004 5、0.004 1、0.001 0,按正态分布计算,则样品各目标成分重复测定引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(\bar{X})$ 分别为 0.007 3、0.013 5、0.012 3 和 0.003 1。

5.4 标准曲线拟合引入的不确定度

通过仪器,得到 4,4' – DDE 的线性方程为 Y = 0.140 22x + 0.098 99,r^2 = 0.999 9,C_o = 44.17,C_y = 68.10;2,4' – DDT 的线性方程为 Y = 0.253 54x – 0.201 23,r^2 = 0.999 8,C_y = 66.64;4,4' – DDD 的线性方程为 Y = 0.253 35 x – 0.215 61,r^2 = 0.999 8,C_y = 67.02;4,4' – DDT 的线性方程为 Y = 0.116 07x – 0.088 87,r^2 = 0.999 7,C_y = 65.47;标准曲线拟合引入的不确定度计算公式如下。

$$u_{(Q)} = \frac{S}{a}\sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{n} + \frac{(C_y - C_0)^2}{\sum_{i=1}^{n}(C_i - C_0)2}}$$

其中 $S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(C_i - C_j)2}{n-2}}$,$C_j = \frac{A-b}{a}$

其中:S—标准曲线的标准差;*P*—样品的测量次数(*P* = 6);*n*—标准溶液的测定总次数(*n* = 6);a—曲线斜率;b—截距;C_y—待测样品按回归方程计算得到的浓度平均值(ng · mL^{-1});C_0—六六六标准系列浓度的平均数(ng · mL^{-1});C_i—各标准溶液对应的浓度(ng · mL^{-1});C_j—由标准曲线方程求得浓度值(ng · mL^{-1});A—单次标准溶液的响应值。

标准工作曲线线性拟合引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel(Q)} = \frac{u_0}{C_y}$$

代入上述公式,各目标成分的相对标准不确定度分别为 0.036、0.029、0.034、0.092。

5.5 检测仪器 E 产生的不确定度

根据气相色谱 – 串联质谱联用仪的校准证书可知,U = 2%,k = 2,则检测分析过程中由仪器产生的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(E) = \frac{U}{k} = \frac{2\%}{2} = 0.01$$

5.6 回收率带来的不确定度

在白芍阴性样品中加入适量的禁用农药标准溶液,平行测定 6 次,即 4,4' – DDE、2,4' – DDT、4,4' – DDD、4,4' – DDT 回收率的平均值 $\bar{R}$ 分别为 103.5%、103.1%、102.4%、109.0%,相应的标准偏差 S 分别为 1.9,1.4、1.2、2.4,则测定样品各目标成分添加回收率引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(R)$ 分别为 0.018、0.014、0.012 和 0.022。

表 2 各分量相对标准不确定结果

目标成分	$u_{rel}(C)$	$u_{rel}(P)$	$u_{rel}(\bar{X})$	$u_{rel}(Q)$	$u_{rel}(E)$	$u_{rel}(R)$
4,4′– DDE	0.027 03	0.0008 16	0.007 3	0.036	0.01	0.018
2,4′– DDT	0.027 03	0.0008 16	0.013 5	0.029	0.01	0.014
4,4′– DDD	0.027 03	0.0008 16	0.012 3	0.034	0.01	0.012
4,4′– DDT	0.027 03	0.0008 16	0.003 1	0.092	0.01	0.022

5.7 合成相对标准不确定度、扩展不确定度和结果报告

根据表 2 结果,由公式 $u = \sqrt{u_{rel}^2(C) + u_{rel}^2(P) + u_{rel}^2(X) + u_{rel}^2(Q) + u_{rel}^2(E) + u_{rel}^2(R)}$分别

计算 4,4' - DDE、2,4' - DDT、4,4' - DDD、4,4' - DDT 的合成标准不确定度,即依次 0.050,0.045,0.048 和 0.099。按 95% 置信区间下,k = 2,U = K × u × 计算各目标成分的扩展不确定度,则分别为 0.01、0.01、0.01 和 0.03。所以,其结果可报告为(0.14 ± 0.01)、(0.13 ± 0.01)、(0.14 ± 0.01)、(0.13 ± 0.03) mg · kg^{-1}。

6 讨论

6.1 不确定影响因素比较

采用 GC - MS/MS 对白芍中 DDT 的不确定度评定,在影响测量不确定度的各分量中,标准曲线拟合引入的不确定影响最大,其次是标准溶液配制,再次是回收率、仪器设备和样品重复测定,样品制备产生的不确定影响最小。因此,在实际测定中,一是要注重标准曲线拟合的影响,可通过配制准确、合适浓度的标准溶液来有效降低标准曲线拟合的不确定度;二是注意标准溶液的配制,采用规范的操作手法;三是使用经计量合格的器具、设备;四是注重检测人员的检测能力的提升,以增强检测结果的准确性。

6.2 扩展不确定差异来源分析及改进

根据不确定度计算结果,4,4' - DDE、2,4' - DDT、4,4' - DDD 的扩展不确定度均为 0.01,4,4' - DDT 的扩展不确定为 0.03。按照预想,对照品浓度、样品、仪器、人员都一致的情况下,该 4 个目标成分的扩展不确定应该是一样的数值。但目前来看,前 3 个成分一致,后 1 个成分稍大,发现其差异主要来源于 4,4' - DDT 的标准曲线拟合引入的相对标准不确定度和加样回收率引入的相对标准不确定度较大的原因,然这两个因素是测定过程中客观存在的。要想获得较为准确的扩展不确定度,建议增加计算的数据,如设计日间精密实验,将日间精密度的样品重复性测定、标准曲线拟合和加样回收率的数据纳入不确定性评定中,实现不同时间多次测定数据的有效利用,这样的不确定度评定才会更加客观、全面。

6.3 测量不确定的应用

当样品测定结果处于限量值附近或各机构测得数据比较时,对测量不确定的需求明显,其对样品符合性判定具有重要作用。然药典只给出 33 种禁用农药的限量值,未给出扩展不确定的参考值,建议加强 33 种禁用农药的不确定度研究,增加各农药扩展不确定度,完善《中华人民共和国药典》中药农药残留限定内容,以提高样品农药测定结果判定效率。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:109.
[2] 张燕丽,田园,付起凤,等. 白芍的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药学报,2021,49(2):104 - 109.
[3] 代倩倩,夏欢,夏桂阳,等. 白芍方药以及白芍总苷镇痛功效及其机理研究进展[J]. 世界科学技术 - 中医药现代化,2020,22(1):39 - 46.
[4] 鄢贵,龚普阳,张复中,等. 基于 CiteSpace 和 VOSviewer 的白芍研究现状及研究热点可视化分析[J]. 中草药,2024,55(11):3805 - 3815.
[5] 杨阳,陈睿轩,闵力,等. 白芍及白芍总苷治疗自身免疫性皮肤病的作用及机制研究进展[J]. 首都医科大学学报,2024,45(1):1 - 7.
[6] 杨硕,石典花,王加锋,等. 白芍总苷药理活性及临床免疫应用研究进展[J]. 食品与药品,2024,26(1):111 - 116.
[7] 蔡康林,张婧恺,冉亮弟,等. 柴胡 - 白芍配伍抗抑郁药理作用机制研究进展[J]. 实用医学杂志,2024,40(4):447 - 452.
[8] 石思,杨梅,赵琦,等. 基于网络药理学探讨白芍治疗非酒精性脂肪性肝病的作用机制[J]. 云南中医中药杂志,2024,45(4):24 - 30.
[9] 崔红倩,迟宇昊,申远. 白芍的化学成分和药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报,2024,41(3):291 - 297.
[10] 李静,曹兰秀,郑文. 白芍常用药对配伍探析[J]. 中医学报,2024,39(6):1214 - 1219.
[11] 赵旌屹,马凯乐,张伟,等. 重构本草—白芍[J]. 长春中医药大学学报,2024,40(1):16 - 19.
[12] 陈楠,贝辰祺,施国娟,等. 白术 - 白芍药对的研究进展[J]. 湖北中医杂志,2023,45(4):52 - 56.
[13] 王莹,刘芫汐,刘丽娜,等. 中药中外源性有害残留物标准现状与监管建议[J]. 中国现代中药,2023,25(5):943 - 950.
[14] 窦亚杰,刘慧,李晓萌,等. 中药中外源性有害物的残留现状及风险评估的研究进展[J]. 中草药,2023,54(2):396 - 407.
[15] 左甜甜,金红宇,王莹,等. 以风险控制为核心的中药外源性有害残留物标准建设初步成效及展望[J]. 中国食品药品监管,2023(1):26 - 35.
[16] 苗水,毛秀红,周恒,等. 中药中农药残留防控的现状与建议[J]. 中国食品药品监管,2022(2):96 - 103.
[17] 王莹,申明睿,李纯,等. 中药农药残留检测标准发展情况及监管思路[J]. 中国食品药品监管,2021(10):76 - 85.
[18] 王薇. 西洋参中六氯苯残留量检测的测量不确定度评定[J]. 海峡药学,2022,34(4):95 - 97.
[19] 邹艺荣,洪家顺. QuEChERS - 超高液相色谱/串联质谱法测定炒白术中甲拌磷亚砜残留的不确定度评定[J]. 江西化工,2023(4):47 - 51.
[20] 金雅慧,俞华芬,李罗飞,等. 气相色谱法测定黄精中甲胺磷残留量的不确定度评定[J]. 现代农药,2022,21(2):56 - 61.
[21] 王英,吴思超,李云飞,等. 高效液相色谱 - 串联质谱法测定三七中胺苯磺隆残留量的不确定度分析[J]. 中南农业科技,2023,44(3):42 - 45.
[22] 李纯,黄志星,栗建明,等. LC - MS/MS 测定菊花中氟虫腈残留量的不确定度评定[J]. 中国现代中药,2023,25(5):964 - 968.
[23] 宋莹莹,李健豪,郭畅冰,等. 气相色谱 - 串联质谱法同时测定人参中 33 种农药残留量的不确定度评定[J]. 数理医药学杂志,2024,37(5):323 - 333.
[24] 程玲,徐毅敏,季申,等. 大体积进样 - 气相色谱 - 质谱法测定白芍中 15 种农药残留[J]. 浙江大学学报(医学版),2012,41(1):19 - 24.
[25] 刘小勤,佟玲,孟文婷,等. 气相色谱 - 三重四极杆串联质谱法测定白芍中 99 种农药残留[J]. 色谱,2015,33(8):869 - 877.