

固相萃取 - 高效液相色谱法测定水中呋喃丹含量的不确定度评定*

王晓楠 潘献辉 郝军 刘昱

(国家海洋局天津海水淡化与综合利用研究所,天津 300192)

摘要 采用固相萃取 - 高效液相色谱法测定水中呋喃丹浓度,对测量结果的不确定度进行了评定。根据《测量不确定度评定与表示》(JJF 1059 - 1999)中有关规定,建立呋喃丹不确定度分析数学模型。结果表明,该方法测量结果不确定度的主要来源为标准溶液的配制、定容和重复性测试,当水样中呋喃丹的浓度为 0.03 mg/L 时,扩展不确定度为 0.0044 mg/L($k=2$)。

关键词 固相萃取 液相色谱法 呋喃丹 不确定度

呋喃丹是一种高毒氨基甲酸酯类杀虫剂,由于它被广泛应用于粮食作物,致使环境水体、食物、作物及动物饲料中可能含有痕量呋喃丹残留物,严重威胁人类的健康安全^[1,2]。目前,呋喃丹的标准检测方法为柱后衍生高效液相色谱荧光检测法,如 GB/T 5750 - 2006^[3] 中采用的液 - 液萃取 - 柱后衍生高效液相色谱荧光法, NY/T 761 - 2008^[4] 中采用的固相萃取 - 柱后衍生高效液相色谱荧光法。液 - 液萃取前处理方式需要消耗大量超纯溶剂,而固相萃取具有溶剂耗用量少、高效快速、基体干扰小、回收率高的特点,故逐渐代替液 - 液萃取进行样品前处理;此外,柱后衍生高效液相色谱荧光法,不仅需要增加衍生装置,而且操作繁琐。为此笔者建立固相萃取 - 高效液相色谱荧光法检测水中呋喃丹,并对检测结果的不确定度进行了评定,以期为简单、快速、准确测定水体中呋喃丹农残新标准方法的推广提供依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

高效液相色谱仪: Agilent 1200 RRLC 型, 配有 Agilent 12 位固相萃取装置, Agilent C₁₈ 固相萃取小柱(500 mg / 3 mL), 美国 Agilent 公司;

呋喃丹标准物质[GBW(E) 060225]: 纯度为 96.4%, 中国计量科学研究院;

甲醇和四氢呋喃: 色谱纯;

呋喃丹标准储备液: 200.0 mg/L, 称取呋喃丹标准品 0.0100 g, 用甲醇准确定容至 50 mL, 于 4 °C 冰箱中保存。

1.2 测量步骤

(1) 固相萃取

分别用 5.0 mL 甲醇、5.0 mL 超纯水浸润和淋

洗 C₁₈ 固相萃取小柱, 活化备用。取 200 mL 水样, 以 3 mL/min 经 C₁₈ 固相萃取小柱富集后, 用 5.0 mL 四氢呋喃淋洗 C₁₈ 固相萃取小柱, 并收集洗脱液。

(2) 浓缩

在 35 °C 条件下, 将上述洗脱液用氩气吹至近干后, 用甲醇定容至 1.0 mL, 按色谱条件进行分析。

1.3 仪器分析条件

色谱柱:Eclipse XDB C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇 - 水(体积比为 1:1), 流量为 1.0 mL/min; 进样量: 6.0 μL; 柱温: 35 °C; 荧光检测器激发波长: 285 nm; 发射波长: 320 nm; 外标法定量。

1.4 数学模型

根据测量方法建立样品中呋喃丹含量的数学模型, 如式(1):

$$c_x = \frac{c_0 A_x V_2 f_r}{A_0 V_1} \quad (1)$$

式中: c_x —— 样品中呋喃丹含量, mg/L;

c_0 —— 标准使用溶液的浓度, mg/L;

A_x —— 样品溶液的峰面积;

V_2 —— 样品稀释液总体积, mL;

A_0 —— 标准溶液的峰面积;

V_1 —— 样品取样量, mL;

f_r —— 回收率校正因子。

2 不确定度来源分析

从上述测量过程和数学模型可以看出, 固相萃取 - 高效液相色谱法测定水中呋喃丹含量的不确定

* 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(K-JBYWF-2010-G17, K-JBYWF-2009-T203)

收稿日期: 2011-04-10

度主要来源于以下几个方面:标准溶液的配制、样品取样、样品浓缩、重复性测量以及制样过程。

3 不确定度评定

3.1 标准溶液配制引入的不确定度

配制呋喃丹标准工作溶液时,先准确称取0.0100 g 呋喃丹标准品,用甲醇准确定容至50 mL。再移取标准储备液12.5 mL于25 mL容量瓶中,用甲醇配制成100 mg/L的呋喃丹使用液。用移液管移取一定量使用液于10 mL容量瓶中,用甲醇逐级稀释配成浓度分别为50.0、10.0、5.0、1.0、0.5、0.1、0.05 mg/L的标准系列溶液,经0.45 μm滤膜过滤后待测,则:

$$c_0 = \frac{m V_{\text{移}2} V_{\text{移}4}}{V_{\text{溶}1} V_{\text{溶}3} V_{\text{溶}5}} \quad (2)$$

式中: $V_{\text{移}2}$ 、 $V_{\text{移}4}$ ——量取体积,分别为12.5、5 mL(或2 mL);

$V_{\text{容}1}$ 、 $V_{\text{容}3}$ 、 $V_{\text{容}5}$ ——定容体积,分别为50、25、10 mL。

由上述公式和不确定度传播律导出:

$$\begin{aligned} \frac{\partial u(c_0)}{c_0}^2 &= \frac{\partial u(m)}{m}^2 + \frac{\partial u(V_{\text{容}1})}{V_{\text{容}1}}^2 + \frac{\partial u(V_{\text{移}2})}{V_{\text{移}2}}^2 + \\ &\quad \frac{\partial u(V_{\text{容}3})}{V_{\text{容}3}}^2 + \frac{\partial u(V_{\text{移}4})}{V_{\text{移}4}}^2 + \frac{\partial u(V_{\text{容}5})}{V_{\text{容}5}}^2 \quad (3) \end{aligned}$$

(1) 呋喃丹质量引入的不确定度

呋喃丹标准物质证书提供的相对扩展不确定度为0.5%($k=2$),相对标准不确定度为0.5%/2=0.0025。天平校准证书说明校准的允差为±0.00001 g,包含因子 $k=\sqrt{3}$,因此其标准不确定度为 $0.00001/\sqrt{3}=5.8\times 10^{-6}$ g。呋喃丹质量为0.0100 g,则其相对标准不确定度为0.00058,所以呋喃丹质量引入的不确定度为:

$$u(m)/m = \sqrt{0.0025^2 + 0.00058^2} = 0.0026。$$

(2) 定容引入的不确定度

50、25、10 mL容量瓶体积示值允差分别为±0.05、±0.04、±0.02 mL,设为均匀分布,包含因

子 $k=\sqrt{3}$,因此: $\frac{u(V_{\text{容}1})}{V_{\text{容}1}} = \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.029$, $\frac{u(V_{\text{容}3})}{V_{\text{容}3}} = \frac{0.04}{\sqrt{3}} = 0.023$, $\frac{u(V_{\text{容}5})}{V_{\text{容}5}} = \frac{0.02}{\sqrt{3}} = 0.012$ 。

(3) 标准溶液稀释引入的不确定度

呋喃丹使用液和标准系列溶液逐级稀释分别采用15 mL和2 mL刻度吸管,经查检定证书15、2 mL刻度吸管示值允差分别为±0.05、±0.012 mL,按均

匀分布考虑,包含因子 $k=\sqrt{3}$,因此:

$$\frac{u(V_{\text{移}2})}{V_{\text{移}2}} = 0.05/\sqrt{3} = 0.029$$

$$\frac{u(V_{\text{移}4})}{V_{\text{移}4}} = 0.012/\sqrt{3} = 0.069$$

将各项不确定度数值代入式(3)计算得:

$$u_{\text{rel}}(c_0) = \frac{u(c_0)}{c_0} = 0.049$$

3.2 样品取样引入的不确定度

用100 mL无分度吸管分两次移取200 mL水样,由检定规程JJG 196-2007可知,100 mL无分度吸管的允许误差为±0.08 mL。假定为三角形分布,每吸取100 mL,其标准不确定度为: $0.08/\sqrt{6} = 0.033$ 。因为两次吸取使用同一支吸管,所以两次测量具有相关性,由校准引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_1) = 2 \times 0.033/200 = 0.00033$$

3.3 样品浓缩引入的不确定度

(1) 样品浓缩后定容体积的标准不确定度

1.0 mL刻度试管的允许误差估计为0.007 mL,假定为三角形分布,由校准引入的标准不确定度为: $0.007/\sqrt{6} = 0.0029$ 。样品浓缩后定容体积的相对标准不确定度为 $\frac{u(V_2)}{V_2} = 0.0029/1.0 = 0.0029$ 。

(2) 标准曲线拟合引入的不确定度

校准曲线取7个浓度点,每个浓度点分别测定2次,得到相应峰面积,用最小二乘法进行拟合,得到直线方程和其相关系数,结果列于表1。

表1 呋喃丹标准溶液的测定结果

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0	50.0
测定1 (mAU)	0.169	0.319	1.250	2.868	14.188	28.843	149.925
测定2 (mAU)	0.168	0.317	1.250	2.878	14.388	28.853	149.935

标准曲线方程为 $Y = 3.018X - 0.1639$, $r = 0.9999$ 。

样品浓缩液定容后的浓度通过拟合标准曲线确定,由标准曲线引入的标准不确定度按下式计算:

$$s(c_1) = \frac{s(y)}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(y - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2}} \quad (4)$$

$$s(y) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i - y_{fi})^2}{N - 2}} \quad (5)$$

式中: $s(y)$ ——拟合直线的标准偏差;

b ——标准曲线的斜率;

p ——一个试样平行测量次数;

n ——拟合直线的数据对总数;

y ——一个试样平行测量 P 次响应值的平均值;

\bar{y} ——绘制拟合直线全部(N 个)响应值的总平均值;

c_i ——一个试样平行测量 P 次结果的平均值;

\bar{c} ——绘制拟合直线全部(N 个)输入值的总平均值;

$y - y_{fi}$ ——输入量为 x_i 时,仪器响应值与拟合直线上对应的响应值之差。

在本测量中, $n=7,p=2$ 。试样测量响应值 $y_1=2.528,y_2=2.520$ 。利用拟合直线计算得到精制浓缩液定容后浓度: $c_1=0.94\text{ mg/L}$;把相关数据代入上述公式,计算得到 $s(y)=0.028$,由标准曲线引入的标准不确定度: $u(c_1)=s(c_1)=0.012\text{ mg/L}$ 。其相对标准不确定度为: $u(c_1)/c_1=0.012/0.94=0.012$ 。

因此样品浓缩引入的相对不确定度:

$$u_{\text{rel}}(S) = \sqrt{0.0029^2 + 0.012^2} = 0.012$$

3.4 重复性引入的不确定度

(1) 对标准溶液进行7次重复测量,得色谱峰面积(A_0)为1.345、1.466、1.466、1.466、1.345、1.345、1.345,平均值为1.397。经计算得 $s(x)=0.065$,则 $u(A_0)/A_0=s(x)/A_0=0.047$ 。

(2) 样品溶液7次重复测量的峰面积(A_x)为8.890、8.754、8.972、8.754、8.972、8.972,平均值为8.867。经计算 $s(x)=0.11$,则 $u(A_x)/A_x=s(x)/A_x=0.012$ 。

重复性引入的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(R) = \sqrt{0.047^2 + 0.012^2} = 0.049$$

3.5 制样过程引入的不确定度

测试样品的制备过程需要经过上柱、洗脱、浓缩、定容等步骤,要确定每一步骤对测量结果不确定度的贡献很困难。实验中采用方法的回收率对制样过程引入的不确定度进行评定。在水样中加入1.0 $\mu\text{g/L}$ 呋喃丹标准溶液进行回收试验,6次添加回收率的测定结果为93%、96%、92%、93%、94%、98%,平均回收率为94%,相对标准偏差为2.3%。则相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(f_r)=0.023/(0.94 \times \sqrt{6})=0.010$ 。

3.6 合成标准不确定度

因各不确定度分量相互独立,故试样中呋喃丹含量 c_x 的合成标准不确定度为:

$$\begin{aligned} u_{\text{rel}}(c_x) &= \sqrt{u_{\text{rel}}^2(c_0) + u_{\text{rel}}^2(V_1) + u_{\text{rel}}^2(S) + u_{\text{rel}}^2(R) + u_{\text{rel}}^2(f_r)} \\ &= \sqrt{0.049^2 + 0.00033^2 + 0.012^2 + 0.049^2 + 0.010^2} \\ &= 0.071 \end{aligned}$$

经计算水样中呋喃丹的浓度为0.03 mg/L,则:

$$u(c_x)=0.071 \times 0.03 = 0.0022\text{ (mg/L)}$$

3.7 扩展不确定度与结果表示

取包含因子 $k=2$,置信水平约为95%,则扩展不确定度为 $U(c_x)=ku(c_x)=0.0044\text{ mg/L}$,检测结果表示为 $(0.03 \pm 0.0044)\text{ mg/L}$,($k=2$)。

参 考 文 献

- [1] Petropoulou S S E, Gikas E, Tsarbopoulos A, et al. Gas chromatographic – tandem mass spectrometric method for the quantitation of carbofuran, carbaryl and their main metabolites in applicators' urine[J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1108(1):99–110.
- [2] Chen J B, Zhao W J, Liu W, et al. Cloud point extraction coupled with derivative of carbofuran as a preconcentration step prior to HPLC[J]. Food Chemistry, 2009, 115(3):1038–1041.
- [3] GB/T 5750–2006 生活饮用水标准检验方法[S].
- [4] NY/T 761–2008 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定[S].

EVALUATION OF UNCERTAINTY IN MEASUREMENT OF CARBOFURAN IN WATER BY SOLID – PHASE EXTRACTION AND HPLC

Wang Xiaonan¹, Pan Xianhui, Hao Jun, Liu Yu

(The Institute of Seawater Desalination and Multipurpose Utilization, SOA, Tianjin 300192, China)

ABSTRACT A method was developed for determining carbofuran in water by HPLC combining with solid – phase extraction and the measurement uncertainty was evaluated. A mathematical model for carbofuran uncertainty assessment was established according to Evaluation and Expression of Uncertainty in Measurement (JJF 1059 – 1999). The uncertainty of this method was mainly caused by preparation of working standards, dilution of standard solution and replicate injections. The expanded uncertainty was 0.0044 mg/L as content of carbofuran in water was 0.03 mg/L($k=2$).

KEYWORDS solid – phase extraction, HPLC, carbofuran, uncertainty