

2 种高效液相色谱仪测定芝麻酱中黄曲霉毒素 B₁ 的不确定度评定

董 靖, 张 潇, 刘 越, 李尔春, 李 卓, 张亚锋*, 郭 端, 张 凡

(西安市食品药品检验所, 西安 710054)

摘 要: **目的** 评定并比较 2 种厂家高效液相色谱仪测定芝麻酱中黄曲霉毒素 B₁ 的不确定度。**方法** 分别采用 Agilent1260 型及 Thermo U3000 型高效液相色谱仪测定芝麻酱中黄曲霉毒素 B₁ 的含量, 应用不确定度理论分析检测数学模型, 对测定不确定度的来源进行分析和量化。**结果** 结果表明当黄曲霉毒素 B₁ 的测定结果 (Agilent 1260、Thermo U3000) 分别为 6.1236、6.0230 μg/kg 时, 其扩展不确定度分别为 0.42706、0.31115 μg/kg, $k=2$ 。**结论** 标准溶液的配制、由最小二乘法拟合标准曲线计算样品浓度以及回收率测定引入的不确定度对结果影响较大。在本实验条件下, Agilent1260 型测定引入的相对不确定度大于 Thermo U3000 型测定引入的不确定度, 后者仪器更加稳定, 结果更准确。

关键词: 黄曲霉毒素 B₁; 高效液相色谱法; 不确定度

Uncertainty evaluation for the determination of aflatoxin B₁ in sesame sauce by 2 kinds of high performance liquid chromatograph

DONG Jing, ZHANG Xiao, LIU Yue, LI Er-Chun, LI Zhuo, ZHANG Ya-Feng*, GUO Duan, ZHANG Fan

(Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710054, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate and compare the difference of uncertainty of determination of aflatoxin B₁ in sesame sauce by 2 kinds of high performance liquid chromatograph. **Methods** The content of aflatoxin B₁ in sesame sauce was determined by Agilent 1260 and Thermo U3000 high performance liquid chromatography, and the mathematical model of uncertainty analysis was used to analyze and quantify the sources of measurement uncertainty. **Results** The results (Agilent 1260, Thermo U3000) showed when the determination results of aflatoxin B₁ were 6.1236 μg/kg and 6.0230 μg/kg, the extended uncertainties were 0.42706 μg/kg, 0.31115 μg/kg, and $k=2$. **Conclusion** The uncertainty introduced by the preparation of standard solution, the calculation of sample concentration by the least square method fitting standard curve and the determination of recovery has great influence on the results. Under this experimental condition, the relative uncertainty introduced by the Agilent 1260 measurement is greater than that introduced by the Thermo U3000 measurement, which is more stable and more accurate.

KEY WORDS: aflatoxin B₁; high performance liquid chromatography; uncertainty

基金项目: 食品安全风险物质筛查检测服务平台建设(2019PT-22)

Fund: Supported by Construction of Food Safety Risk Substance Screening and Testing Service Platform (2019PT-22)

*通讯作者: 张亚锋, 硕士, 副主任药师, 主要研究方向为药品与食品质量分析。E-mail: 27327242@qq.com

*Corresponding author: ZHANG Ya-Feng, Master, Associate Chief Pharmacist, Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710054, China. E-mail: 27327242@qq.com

1 引言

芝麻酱营养美味, 营养和食用价值非常高^[1-4]。然而芝麻的生长需要较为湿润的环境, 因此很容易受真菌毒素污染, 如具有强致癌性的黄曲霉毒素^[5-8], 其毒性是砒霜的68倍。国家卫生和计划生育委员会及国家食品药品监督管理局制定了黄曲霉毒素 B₁(aflatoxin B₁, AFB₁)的限量标准^[9], 其中规定芝麻酱中限量为 $\leq 5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。GB 5009.22-2016《食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》中规定食品中目前 AFB₁ 的检测方法有5种^[10], 其中高效液相色谱法最为常见, 柱前衍生法需要三氟乙酸衍生, 基质干扰较为严重, 而柱后光化学衍生不需要任何衍生试剂, 方便、快捷, 可对不具有荧光特性的 AFB₁ 经过紫外线照射进行羟基化, 使其具有荧光性, 增加了灵敏度^[11-14]。然而该方法需要使用免疫亲和柱进行净化, 前处理较为复杂, 对检测结果造成的影响因素较多^[15], 尤其边缘数据会直接影响行政决定、司法仲裁等评判工作的正确性, 目前其他各类食品中 AFB₁ 的不确定度评估很多, 但在芝麻酱中的 AFB₁ 的检测方法不确定度评估鲜有报道^[16-19], 而不同厂家的仪器灵敏度也有差别, 因此评定不同厂家高效液相色谱仪对芝麻酱中 AFB₁ 测定不确定度的差异尤为重要。

本研究参照相关的文献与标准^[20-29], 分别采用2个不同厂家的高效液相色谱仪进行测定, 通过建立数学模型, 对芝麻酱中 AFB₁ 含量的不确定度来源进行讨论, 全面分析2个检测仪器在该情况下所出具检测报告的准确度, 以期为该检测方法及其结果的准确度提供数据支持。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

芝麻酱: 西安市食品药品监督管理局监督抽检样品。

AFB₁ 标准溶液(2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 农业部环境保护科研监测所); 乙腈、甲醇(色谱级, 美国 Fisher 公司); 实验用水(Milli-Q Integral 5 超纯水仪制备一级水); 磷酸二氢钾、氯化钾、磷酸氢二钠、氯化钠、吐温-20(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline, PBS)配制: 称取 8.00 g 氯化钠、1.20 g 磷酸氢二钠、0.20 g 磷酸二氢钾、0.20 g 氯化钾, 用 900 mL 水溶解, 用盐酸调节 pH 至 7.4 ± 0.1 , 加水稀释至 1000 mL。

2.2 仪器与设备

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(配有荧光检测器 fluorescence detector, FLD, 美国安捷伦科技有限公司); Thermo U3000 型高效液相色谱仪(配有 FLD, 美国赛默飞世尔科技有限公司); KRC-II型光化学衍生器(青岛普瑞邦

生物工程有限公司); ME204E 型电子分析天平(瑞士梅特勒托利多集团有限公司); KQ-700VDB 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); HC-3018R 型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); Milli-Q Integral 5 型超纯水机(密理博中国有限公司); 免疫亲和柱(柱容量 300 ng, 规格 3 mL, 德国拜发公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 标准溶液配制

准确移取 AFB₁ 标准溶液 0.800 mL, 用乙腈稀释并定容至 10.00 mL 容量瓶中, 摇匀, 配制成浓度为 160 ng/mL 的标准储备溶液。

用 1 mL 单标线吸量管准确移取 1.00 mL 标准储备液至 20.00 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释并定容, 配制成浓度为 8.0 ng/mL 的标准中间溶液。

分别用 0.5 mL 分度吸量管准确移取 0.50 mL 标准中间溶液于 5.00 mL 容量瓶中, 分别用 1、2、3、5 mL 单标线吸量管准确移取 1.0、2.0、3.0、5.0 mL 标准中间溶液于 5.00 mL 容量瓶中, 用 5 mL 分度吸量管准确移取 4.0 mL 标准中间溶液于 5.00 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释并定容至刻度, 配制成 0.80、1.6、3.2、4.8、6.4、8.0 ng/mL 标准系列溶液。

2.3.2 样品前处理

称取 5 g 试样(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 乙腈溶液, 涡旋混匀, 置于超声波中振荡 20 min, 在 6000 r/min 下离心 10 min, 取上清液备用。

净化: 准确移取 4 mL 上述上清液, 加入 23 mL 1%吐温-20 的 PBS, 混匀, 备用。将免疫亲和柱连接于 50.0 mL 玻璃注射筒中, 调节下滴速度, 控制样液以 3 mL/min 的速度稳定下滴。待样液滴完后, 往注射器筒内加入 2×10 mL 水, 以稳定流速淋洗免疫亲和柱。待水滴完后, 用真空泵抽干亲和柱。脱离真空系统, 在亲和柱下部放置 10 mL 刻度试管, 取下 50 mL 的注射器筒, 2×1 mL 甲醇洗脱亲和柱, 控制在 3 mL/min 的速度下滴, 再用真空泵抽干亲和柱, 收集全部洗脱液至试管中。在 50 °C 下用氮气缓缓地将洗脱液吹至近干, 用初始流动相定容至 2.0 mL, 涡旋 30 s 溶解残留物, 0.22 μm 有机系滤膜过滤, 收集滤液于进样瓶中以备进样。

空白试验: 不称取试样, 按上述方法做空白实验。

2.3.3 仪器条件

两台液相色谱仪使用同一根色谱柱, 色谱条件完全一致, 具体如下:

色谱柱型: Diamonsil Plus C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm , 北京迪科马科技有限公司); 柱温: 40 °C; 柱流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 激发 360 nm 发射 440 nm; 流动相: 甲醇:乙腈:水=30:15:55(V:V:V); 进样量: 20 μL , 等度洗脱。

2.4 数学模型建立与结果计算

用外标标准曲线法计算芝麻酱中 AFTB₁ 含量, 计算公式:

$$X = \frac{\rho \times V_1 \times V_3 \times 1000}{V_2 \times m \times 1000}$$

式中: X -试样中 AFTB₁ 含量, $\mu\text{g}/\text{kg}$;

V_1 -试样中提取液体, mL;

V_2 -用于免疫亲和柱净化的取用体积, mL;

V_3 -经净化后的最终定容体积, mL;

ρ -样液经测定在标准曲线中计算得浓度, ng/mL ;

m -试样的称样量, g;

1000-换算系数。

3 结果与分析

3.1 不确定度的来源分析

根据测定 AFTB₁ 的数学模型, 分析整个过程不确定度来源主要有: (1)标准溶液配制引入的不确定度; (2)标准工作曲线的拟合引入的不确定度; (3)样品称量引入的不确定度; (4)样品定容引入的不确定度; (5)方法回收率测定引入的不确定度; (6)样品重复性测定引入的不确定度。

3.2 标准溶液配制引入的不确定度

3.2.1 标准物质引入的不确定度

根据 AFTB₁ 标准物质证书上给出标准溶液浓度 (2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的标准不确定度为 $\pm 0.015 \mu\text{g}/\text{mL}$, 将其转化为相对标准不确定度为: $U_{\text{rel}} = \frac{0.015}{2.0} = 0.0075$ 。

3.2.2 标准储备溶液配制引入的不确定度

根据标准溶液配制过程, 此过程不确定度主要来源包括: 容量瓶及移液管引入的标准不确定度, 而玻璃量具引入的标准不确定度由其允许误差及温度变化产生的误差组成, 计算过程如下。

3.2.2.1 移液管引入的不确定度

20 °C 时 1 mL 分度吸量管的允许误差为 $\pm 0.008 \text{ mL}$, 取矩形分布, 即标准不确定度为 $u_{\text{移}1} = \frac{0.008}{\sqrt{3}} = 0.004619 \text{ mL}$ 。

假设实验室温度在 (20 \pm 2) °C 范围内变动, 则乙腈的体积膨胀系数为 1.37×10^{-3} , 按照均匀分布, 则温度变化引入的不确定度为: $u_{(\text{温度}1)} = \frac{1.37 \times 10^{-3} \times 1 \times 2}{\sqrt{3}} = 0.001582 \text{ mL}$ 。由上可得, 移液管引入的合成不确定度为: $u_{\text{移}1} = \sqrt{u_{(\text{移})}^2 + u_{(\text{温度}1)}^2} = 0.004882 \text{ mL}$, 相对合成不确定度为: $u_{\text{rel, 移}} = \frac{u_{\text{移}1}}{V_1} = 0.004882$ 。

3.2.2.2 容量瓶引入的不确定度

根据 JJG 196-2006 《常用玻璃容器检定规程》规定, 10 mL 容量瓶(A)级容量允许误差为 $\pm 0.02 \text{ mL}$, 按矩形分布, 引入的不确定度为: $u_{\text{瓶}1} = \frac{0.02}{\sqrt{3}} = 0.01155 \text{ mL}$ 。

同上, 温度引入的不确定度为: $U_{(\text{温度}2)} = \frac{1.37 \times 10^{-3} \times 10 \times 2}{\sqrt{3}} = 0.01582 \text{ mL}$ 。

由此可得, 容量瓶引入的不确定度为: $u_{\text{瓶}1} = \sqrt{u_{(\text{瓶})}^2 + u_{(\text{温度}2)}^2} = 0.01959 \text{ mL}$, 合成相对标准不确定度为: $u_{(\text{rel, 瓶})} = \frac{u_{\text{瓶}1}}{V_2} = 0.001959$ 。

综上, 配制 10 mL 标准溶液体积引入的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(V_{10}) = \sqrt{u_{(\text{rel, 移})}^2 + u_{(\text{rel, 瓶})}^2} = \sqrt{0.004882^2 + 0.001959^2} = 0.005260$ 。

3.2.3 稀释标准工作溶液引入的不确定度

配制标准工作溶液的不确定度主要由移液管、容量瓶、温度所引入, 计算过程同 2.2.2, 各量具相对标准不确定度评定结果见表 1, 配制 AFTB₁ 标准工作溶液引入的相对合成不确定度为 $u_{\text{rel}}(V_1) = 0.01980$ 。

表 1 各量具相对标准不确定度评定结果
Table 1 Relative standard uncertainty of each volumetric glassware

玻璃器具类别	类别	容量允差	标准不确定度/mL	容量/mL	次数	相对标准不确定度
1 mL 单标线吸量管	容量允差	$\pm 0.007 \text{ mL}$	0.004041	1.0	1	0.004340
	温度波动	$\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	0.001582			
2 mL 单标线吸量管	容量允差	$\pm 0.010 \text{ mL}$	0.005774	2.0	1	0.003292
	温度波动	$\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	0.003164			
3 mL 单标线吸量管	容量允差	$\pm 0.015 \text{ mL}$	0.008660	3.0	1	0.003292
	温度波动	$\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	0.004746			
5 mL 单标线吸量管	容量允差	$\pm 0.015 \text{ mL}$	0.008660	5.0	1	0.002346
	温度波动	$\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	0.007910			
0.5 mL 分度吸量管	容量允差	$\pm 0.005 \text{ mL}$	0.002887	0.50	1	0.01684
	温度波动	$\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	0.0007910			
5 mL 分度吸量管	容量允差	$\pm 0.025 \text{ mL}$	0.01443	4.0	1	0.003939
	温度波动	$\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	0.006328			
5 mL 单标线容量瓶	容量允差	$\pm 0.020 \text{ mL}$	0.01155	5.0	6	0.002800
	温度波动	$\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	0.007910			

3.2.4 标准溶液引入的不确定度

由于以上因素各不相关, 因此由 AFTB₁ 标准溶液配制引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel(std)} = \sqrt{u_{rel(标)}^2 + u_{rel(V_{10})}^2 + u_{rel(V_1)}^2} = 0.02182。$$

3.3 由最小二乘法拟合标准曲线计算样品浓度引入的不确定度

采用了 6 个水平的 AFTB₁ 标准溶液, 每个点测定 1 次, 用峰面积及浓度进行标准曲线拟合, 标准曲线拟合引入的不确定度按以下公式计算:

$$u = \frac{S_A}{b} \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{n} + \frac{(c-\bar{c})^2}{\sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2}}$$

$$S_A = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{i=1}^n [A - (a + bc_i)]^2}$$

式中:

- u -标准曲线拟合引入的不确定度
- S_A -校准曲线的标准差;
- P -样品溶液的测定次数;
- n -标准溶液的测定总次数;
- b -校准曲线的斜率;
- a -校准曲线的截距;
- c -由校准曲线求得的样品溶液浓度, ng/mL;
- \bar{c} -各标准溶液中浓度的平均值, ng/mL;

c_i -由标准工作曲线方程得出的标准溶液中浓度的测定值, ng/mL。

分别用 Agilent1260 型液相色谱仪和 Thermo U3000 型液相色谱仪法测定标准曲线, 标准曲线拟合引入的不确定度分别见表 2、表 3。

因此, 由待测液浓度 C 引入的相对不确定度 $u(C)$ 分别为:

Agilent1260 型: $u_{rel}(C1) = \frac{U_1}{C_1} = 1.579\%$

Thermo U3000 型: $u_{rel}(C2) = \frac{U_2}{C_2} = 1.041\%$

3.4 样品称量引入的不确定度

依据本实验室天平检定证书, 该天平在称量范围为 $0 \leq m \leq 50$ g 内, 示值误差为 ± 0.0005 g, 实际称取样品 5.0 g, 按矩形分布, $k = \sqrt{3}$, 则称量引入的相对不确定度为 $u_{rel}(m) = 0.005774\%$ 。

3.5 样品提取及定容引入的不确定度

此样品称取后先加入 20 mL 乙腈进行提取, 移取 4 mL 上清液进行净化, 氮气吹干后用初始流动相定容至 2.0 mL。实验室温度在 (20 ± 2) °C 之间波动, 与 3.1.2 同理, 如表 4, 引入的相对标准不确定度为 $u_{rel}(V) = 0.005442$ 。

表 2 Agilent1260 型液相色谱仪标准溶液测定结果
Table 2 Determination results of standard solutions by Agilent1260

质量浓度/(ng/mL)	0.8	1.6	3.2	4.8	6.4	8.0
Ai(LU*s)	0.117724	0.247891	0.477799	0.678226	0.916173	1.14823
标准曲线	Y=0.142220X+0.00842606($r^2=0.99972$)					
$S_A=0.01163$	$b=0.14222$	$P=6$	$n=6$	$c=3.1096$	$u_1=0.04910$	

表 3 Thermo U3000 型标准溶液测定结果
Table 3 Determination results of standard solutions by Thermo U3000

质量浓度/(ng/mL)	0.8	1.6	3.2	4.8	6.4	8.0
Ai(LU*s)	660.807	1437.5900	2853.2104	4273.1659	5636.529	6990.0210
标准曲线	Y=877.0225X+16.8607($r^2=0.9997$)					
$S_A=46.3463$	$b=877.02225$	$P=6$	$n=6$	$c=3.0585$	$u_1=0.03185$	

表 4 样品定容过程引入的相对不确定度
Table 4 Relative uncertainty introduced by the sample volume adjustment process

玻璃器具类别	类别	容量允差	标准不确定度/mL	容量/mL	次数	相对标准不确定度
2 mL 单标线吸量管	容量允差	± 0.010 mL	0.005774	2.0	1	0.003292
	温度波动	± 2 °C	0.003164			
5 mL 分度吸量管	容量允差	± 0.025 mL	0.01443	4.0	1	0.00394
	温度波动	± 2 °C	0.006328			
20 mL 单标线吸量管	容量允差	± 0.030 mL	0.01732	20.0	1	0.001804
	温度波动	± 2 °C	0.03164			

3.6 样品的重复性测定引入的不确定度

样品测试过程中随机效应引入的不确定度可以通过样品的重复测定进行表示, 准确称量芝麻酱样品各 6 份, 按照上述条件进行处理并平行测定, 则由样品重复性引入

的相对不确定度计算如下: 标准偏差为 $S(x) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$,

则相对标准不确定度为 $u_{\text{rel}}(x) = \frac{S_x/\sqrt{n}}{\bar{x}} \times 100\%$, 结果见表 5。

3.7 回收率测定引入的不确定度

对上述样品进行 6 次加标回收实验, 分别用 Agilent1260 型高效液相色谱仪和 Thermo U3000 型高效液

相色谱仪进行计算相对不确定度, 计算过程同 3.5, 结果见表 6。

3.8 测量不确定度的评定

3.8.1 合成不确定度 $u(X)$

根据芝麻酱中 AFTB₁ 含量的测量数学模型, 合成的相对标准不确定度公式为:

$$u_{\text{rel}}(X) = \sqrt{u_{\text{rel}}(\text{std})^2 + u(m)^2 + u(V)^2 + u(C_1)^2 + u_{\text{rel}}(X)^2 + u_{\text{rel}}(R)^2}$$

计算 2 个仪器的相对标准不确定度分别为: Agilent1260 型为 3.487%, 同理 Thermo U3000 型为: 2.583%, 如表 7。

表 5 样品测定结果
Table 5 Determination results of samples

仪器厂家	编号	测定值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	标准偏差/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	相对标准不确定度/%
Agilent1260	样 1	5.8662	6.1236	0.2056	1.371
	样 2	6.3845			
	样 3	6.0788			
	样 4	5.9903			
	样 5	6.0662			
	样 6	6.3556			
Thermo U3000	样 1	6.0853	6.0230	0.07499	0.5083
	样 2	6.0987			
	样 3	5.9356			
	样 4	5.9966			
	样 5	6.0810			
	样 6	5.9405			

表 6 回收率测定结果
Table 6 Recovery results

仪器厂家	编号	测定值/%	平均值/%	标准偏差/%	相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(R)$ /%
Agilent1260	H1	93.8	93.6	0.03789	1.653
	H2	100.6			
	H3	92.9			
	H4	93.4			
	H5	92.1			
	H6	89.1			
Thermo U3000	H1	90.9	91.7	0.01173	0.5222
	H2	91.2			
	H3	90.5			
	H4	93.1			
	H5	91.3			
	H6	93.2			

表 7 影响 AFTB₁ 测定结果的不确定度分量一览表
Table 7 List of uncertainty components that affect the results of determination of AFTB₁

不确定度分量 $u(x_i)$	不确定度来源	相对标准不确定度	
		1260 型	U3000 型
$u_{rel}(std)$	标准溶液配制引入的相对不确定度	2.182%	2.182%
$u(m)$	样品称量	0.005774%	0.005774%
$u(V)$	样品提取及定容	0.5442%	0.5442%
$u(C)$	标曲拟合测定样品浓度引入的不确定度	1.579%	1.041%
$u_{rel}(x)$	样品的重复性测定引入的不确定度	1.371%	0.5083%
$u_{rel}(R)$	回收率测定引入的不确定度	1.653%	0.5222%
$u_{rel}(X)$	相对标准合成不确定度	3.487%	2.583%

3.8.2 相对扩展不确定度

样品经 Agilent 1260 型高效液相色谱仪及 Thermo U3000 型高效液相色谱仪测定, 取扩展因子 $k=2$, 其相对扩展不确定度计算公式为: $U=u_{rel}(X) \times k$

相对扩展不确定度: Agilent1260 为 6.974%; Thermo U3000 型为 5.166%。

3.8.3 扩展不确定度

样品经 Agilent 1260 型高效液相色谱仪及 Thermo U3000 型高效液相色谱仪测定, 其平均值分别为 Agilent 1260 型高效液相色谱仪 6.1236 $\mu\text{g}/\text{kg}$, Thermo U3000 型高效液相色谱仪 6.0230 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 则样品结果表示分别为:

Agilent 1260: $U_1=(6.1236 \pm 0.42706) \mu\text{g}/\text{kg}, k=2$;
Thermo U3000: $U_2=(6.0230 \pm 0.31115) \mu\text{g}/\text{kg}, k=2$ 。

4 结 论

本研究通过对不确定分量的分析计算, 在 6 个不确定分量中, 标准溶液的配制引入的不确定分量最大, 标曲拟合测定样品浓度以及回收率测定引入的不确定度次之, 样品称量引入的不确定度最小, 针对这些不确定分量, 在以后的实际测定过程中, 应尽量平行处理质控样品, 同时应加强实验人员常规操作技能, 来减小测量结果的不确定度。

此外, 由 2 台仪器的不确定结果来看, Agilent1260 型相比于 Thermo U3000 型不确定度主要相差来自于方法回收率及重复性测定, 在本实验条件下, 后者仪器更加稳定, 结果更准确。在以后的实验中同时添加质控样品进行校正, 并增加样品的平行性来减少结果的不确定度。

根据样品测定结果, 此芝麻酱中 AFTB₁ 含量测定结果大于国家相关标准中 $\leq 5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的限量要求^[11], 原因可能是芝麻运输、储存方式不正确, 或者收获期间过于潮湿感染霉菌, 为防止 AFTB₁ 含量超标对其人体的影响, 以后应严格控制其储存运输等条件。

参考文献

- [1] 檀静. 低脂芝麻酱的研制及感官风味评价的研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2018.
Tan J. Research on the development of low-fat sesame butter and sensory flavor evaluation [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2018.
- [2] 李林燕, 李昌, 聂少平. 黑芝麻的化学成分与功能及其应用[J]. 农产品加工(学刊), 2013, (21): 58–62.
Li LY, Li C, Nie SP. Chemical composition and function of black sesame and its application [J]. Agric Prod Process (Sci), 2013, (21): 58–62.
- [3] 尚小磊. 水代法中芝麻浆胶体稳定性及兑浆工艺的研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2013.
Shang XL. Study on colloidal stability and mixing process of sesame pulp in water substitution method [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2013.
- [4] 赵辉, 倪云霞, 鲁晓阳, 等. 芝麻种子带菌检测及药剂消毒处理效果[J]. 中国油料作物学报, 2012, 34(2): 206–209.
Zhao H, Ni YX, Lu XY, et al. Detection of sesame seed bacteria and disinfection of pesticides [J]. Chin J Oil Crops, 2012, 34(2): 206–209.
- [5] Richard JL. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses—An overview [Z].
- [6] 刘英丽, 毛慧佳, 刘慧琳, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 生物法脱毒机制及产物毒性评价[J]. 食品工业科技, 2018, 39(3): 324–329.
Liu YL, Mao HJ, Liu HL, et al. Biological detoxification mechanism and product toxicity evaluation of aflatoxin B₁ [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(3): 324–329.
- [7] 谢静, 杨惠莲, 冷静, 等. HPLC-柱后光化学衍生法测定 72 批舒筋活血丸中黄曲霉毒素 G₂、G₁、B₂、B₁ 的含量[J]. 药物分析杂志, 2014, (3): 437–441.
Xie J, Yang HL, Leng J, et al. Determination of aflatoxin G₂, G₁, B₂, B₁ in 72 batches of shujinhuoxue pills by HPLC-postcolumn photochemical derivatization method [J]. J Pharm Anal, 2014, (3): 437–441.
- [8] GB 2761-2017 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量[S].
GB 2761-2017 National food safety standard-Limit of mycotoxins in foods [S].
- [9] GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定[S].
GB 5009.22-2016 National food safety standard-Determination of aflatoxin B and G groups in foods [S].

- [10] 邵丽, 王晓, 滕振勇. HPLC-柱后光化学衍生法检测花生酱中黄曲霉毒素[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(23): 135-137.
Shao L, Wang X, Teng ZY. Detection of aflatoxin in peanut butter by HPLC-post-column photochemical derivatization method [J]. Food Res Dev, 2015, 36(23): 135-137.
- [11] 杨琳, 张宇昊, 马良. 高效液相色谱法同时检测粮谷中的黄曲霉毒素和赭曲霉毒素[J]. 食品科学, 2010, (24): 257-261.
Yang L, Zhang YH, Ma L. Simultaneous detection of aflatoxin and ochratoxin in grains by high performance liquid chromatography [J]. Food Sci, 2010, (24): 257-261.
- [12] 方芳, 张旭, 郑睿行. 免疫亲和和柱净化-光化学柱后衍生高效液相色谱荧光法测定粮食中黄曲霉毒素[J]. 粮食与饲料工业, 2012, (6): 60-62.
Fang F, Zhang X, Zheng RX. Determination of aflatoxin in food by high performance liquid chromatography and fluorescence method derived after immunoaffinity column purification with a photochemical column [J]. Grain Feed Ind, 2012, (6): 60-62.
- [13] 李红梅, 朱聿元, 韩华, 等. 高效液相色谱-柱后光化学衍生法测定大米粉中黄曲霉 B₁ 含量[J]. 安徽农学通报, 2017, (15): 141-143.
Li HM, Zhu YY, Han H, *et al.* Determination of aspergillus flavus B₁ in rice flour by high performance liquid chromatography-post-column photochemical derivatization method [J]. Anhui Agric Sci Bull, 2017, (15): 141-143.
- [14] GB/T 27411-2012 检测实验室中常用不确定度评定方法与表示[S].
GB/T 27411-2012 Uncertainty assessment methods and expressions commonly used in testing laboratories [S].
- [15] 李少晖, 任丹丹, 谢云峰, 等. 食品中黄曲霉毒素检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(4): 1107-1115.
Li SH, Ren DD, Xie YF, *et al.* Research progress on aflatoxin detection methods in foods [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(4): 1107-1115.
- [16] 李静娜, 伍雅婷, 革丽亚, 等. 高效液相色谱法测定玉米粉中黄曲霉毒素 B₁ 含量的不确定度评定[J]. 公共卫生与预防医学, 2015, 26(3): 22-25.
Li JN, Wu YT, Ge LY, *et al.* Uncertainty evaluation of determination of aflatoxin B₁ content in corn flour by high performance liquid chromatography [J]. Public Health Prev Med, 2015, 26(3): 22-25.
- [17] 刘丽娜, 金红宇, 毛敏, 等. 酸枣仁中黄曲霉毒素 B₁ 残留测定的不确定度评定[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(21): 1754-1759.
Liu LN, Jin HY, Mao X, *et al.* Uncertainty evaluation of determination of aflatoxin B₁ residues in jujube kernel [J]. Chin Pharm J, 2012, 47(21): 1754-1759.
- [18] 朱云, 蒋澄刚, 徐琳娜. 高效液相色谱法测定稻谷中黄曲霉毒素 B₁ 的不确定度评定[J]. 粮食科技与经济, 2016, 41(6): 43-44, 50.
Zhu Y, Jiang CG, Xu LN. Evaluation of uncertainty in the determination of aflatoxin B₁ in rice by high performance liquid chromatography [J]. Grain Sci Technol, 2016, 41(6): 43-44, 50.
- [19] 倪永付, 闫秋成, 王勇, 等. 免疫亲和和柱净化-高效液相色谱-光化学柱后衍生法测定花生酱中黄曲霉毒素的不确定度评定[J]. 农产品加工学刊, 2014, (13): 58-60.
Ni YF, Yan QC, Wang Y, *et al.* Evaluation of uncertainty in determination of aflatoxin in peanut butter by immunoaffinity column purification-high performance liquid chromatography-photochemical post-column derivatization method [J]. Acad Period Farm Prod Process, 2014, (13): 58-60.
- [20] JJF 1059.1-2012 测量不确定度评定与表示[S].
JJF 1059.1-2012 Evaluation and expression of measurement uncertainty [S].
- [21] GB/T 15481-2000 检测和校准实验室能力的通用要求[S].
GB/T 15481-2000 General requirements for the capabilities of testing and calibration laboratories [S].
- [22] 张潇, 李尔春, 刘越, 等. 电感耦合等离子体质谱法和石墨炉原子吸收光谱法测定金银花中镉含量不确定度评估的比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(8): 301-307.
Zhang X, Li EC, Liu Y, *et al.* Comparative study of uncertainty evaluation for the determination of cadmium content in lonicerae japonicae flos by inductively coupled plasma-mass spectrometry and graphite furnace atomic absorption spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(8): 301-307.
- [23] 李尔春, 刘越, 张潇, 等. 电感耦合等离子体质谱法测定荷花花粉和油菜花粉中镉含量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7): 313-319.
Li EC, Liu Y, Zhang X, *et al.* Evaluation of the measurement uncertainty for determination of cadmium in 2 kinds of bee pollens (lotus pollen & rape pollen) by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(7): 313-319.
- [24] 李卓, 王涛, 艾芸, 等. 高效液相色谱法测定八宝粥罐头中乙二胺四乙酸二钠的不确定度分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(1): 123-127.
Li Z, Wang T, Ai Y, *et al.* Uncertainty evaluation of the determination of EDTA-2Na in canned eight-ingredient porridge by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(1): 123-127.
- [25] CNAS-GL 06-2019 化学分析中不确定度的评估指南[S].
CNAS-GL 06-2019 Guidelines for the evaluation of uncertainty in chemical analysis [S].
- [26] JJG 646-2006 移液器检定规程[S].
JJG 646-2006 Pipette verification regulations [S].
- [27] JJG 196-2006 常用玻璃量器[S].
JJG 196-2006 Common glass measuring device [S].
- [28] JJG 1036-2008 电子天平[S].
JJG 1036-2008 Electronic balance [S].
- [29] 王涛, 杨会鸽, 李静静, 等. 高效液相色谱法测定化妆品中酸性黄 36 等 5 种组分含量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(9): 2181-2187.
Wang T, Yang HG, Li JJ, *et al.* Evaluation of uncertainty in the determination of acid yellow 36 and other 4 kinds of components in cosmetics by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(9): 2181-2187.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



董 靖, 药师, 主要研究方向为食品药品检验分析。

E-mail: 1052299790@qq.com



张亚锋, 副主任药师, 主要研究方向为药品与食品质量分析。

E-mail: 27327242@qq.com