

Oasis MCX 柱-高效液相色谱/三重四极杆质谱联用法测定火锅底料中罂粟壳不确定度评定

潘秀丽, 张虹艳*, 王小乔, 许晓辉, 李 赟, 李晨曦

(兰州市食品药品检验所, 兰州 730050)

摘要: **目的** 评定 Oasis MCX 柱-高效液相色谱/三重四极杆质谱联用法测定火锅底料中罂粟壳不确定度。**方法** 用 Oasis MCX 柱法对样品进行前处理, 采用高效液相色谱/三重四极杆质谱联用法测定火锅底料中可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁含量, 并根据建立的数学模型对各分量进行不确定度评定。**结果** 当火锅底料中可待因含量为 43.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 扩展不确定度为 5.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$); 蒂巴因含量为 4.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 扩展不确定度为 0.13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$); 吗啡含量为 42.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 扩展不确定度为 4.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$); 那可丁含量为 4.83 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 扩展不确定度为 0.17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$)。**结论** 曲线拟合是标准不确定度的最主要来源, 其次为重复性实验。**关键词:** 罂粟壳; 不确定度; 高效液相色谱/三重四极杆质谱联用法; Oasis MCX 柱

Uncertainty evaluation of determination of poppy shell in hot pot condiment by Oasis MCX column-high performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry

PAN Xiu-Li, ZHANG Hong-Yan*, WANG Xiao-Qiao, XU Xiao-Hui, LI Yun, LI Chen-Xi

(Lanzhou Institutes for Food and Drug Control, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty of determination of opium poppy shell in hot pot condiment by Oasis MCX column-high performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry. **Methods** The samples were pretreated by oasis MCX column method. The content of codeine, tibaine, morphine and nacotin in chafing dish was determined by high performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry. According to the established mathematical model, uncertainty of each component was evaluated. **Results** When the codeine content in hot pot base was 43.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the expanded uncertainty was 5.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$); when the thebaine content was 4.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the expanded uncertainty was 0.13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$); when the morphine content is 42.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the expanded uncertainty was 4.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$); when the noscapine content was 4.83 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the expanded uncertainty was 0.17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$). **Conclusion** Curve fitting is the main source of standard uncertainty, followed by repeated experiments.

KEY WORDS: poppy shell; uncertainty; high performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry; Oasis MCX column

基金项目: 兰州市 2019 年第一批科技计划项目(2019-1-63)

Fund: Supported by Lanzhou's First Batch of Science and Technology Projects in 2019(2019-1-63)

*通讯作者: 张虹艳, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测技术。E-mail: 329464276@qq.com

*Corresponding author: ZHANG Hong-Yan, Senior Engineer, Lanzhou Institutes for Food and Drug Control, 988 Peng Jiaping, Qilihe District, Lanzhou 730050, China. E-mail: 329464276@qq.com

1 引言

随着人民生活水平的提高, 火锅渐渐走上大众餐桌成为了人们舌尖上的最爱, 应市场所需, 各种品牌的火锅底料应运而生, 出于牟利, 有些不法商家为了提高火锅底料的香味而非法添加罂粟壳, 给消费者身体健康埋下安全隐患。罂粟壳为罂粟科植物罂粟采完鸦片后的干燥成熟果壳, 具有一定的成瘾性, 标志性成分为罂粟碱、那可丁、可待因、吗啡、蒂巴因等生物碱^[1-3]。罂粟中的生物碱含量虽然少, 但对于普通人来说, 长期食用也会成瘾, 并造成身体损害^[4]。从未接触过毒品的人对含有罂粟壳食物没有免疫性, 可能造成慢性中毒, 最终上瘾, 形成潜在的吸食毒品的倾向, 危害十分严重^[5]。2008 年 12 月卫生部发出《关于开展全国打击违法添加非食用物质和滥用食品添加剂专项整治的紧急通知》^[6], 明确将罂粟壳列入首批非食用物质名单, 并标注了其可能被添加的食品类别有火锅、火锅底料及小吃类。

目前罂粟壳的检验标准和文献中, 常用的前处理方法有 QuEChERS、Captive Enhanced Matrix 固相萃取柱、PCX 柱和 PRiME HLB 固相萃取小柱等法^[7-9], Oasis MCX 柱做前处理的研究较少, 仅有张虹艳等^[5]对 QuEChERS 法和 Oasis PRiME HLB 固相萃取法以及 Oasis MCX 固相萃取法进行前处理比较, 发现 Oasis MCX 固相萃取法是一种比较理想的罂粟壳前处理方法, 检测结果优于 QuEChERS 法和 PRiME HLB 固相萃取法。

测量不确定度是表征被测量物质真值所处的量值范围的评定结果, 可为检验合格评定准确性、可靠性提供真实、有效的依据^[10-15], 评定测量结果的不确定度可以保证检测结果的准确性, 同时, 通过不确定度的评价也可以判定实验结果质量的高低。为政府机构对产品最终的判定提供靶向, 减少判错风险, 因此, 不确定度的评价是实验室质量体系的重要组成部分^[16-20]。本研究采用 Oasis MCX 柱-高效液相色谱/三重四极杆质谱联用法检测日常抽检一批火锅底料中检测出了可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁 4 种成分, 依据 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》和 JJF 1135-2005《化学分析测量不确定度评定》对 4 种检出成分进行不确定度评定^[21,22], 从不确定度角度评定检验方法的适用性和检验结果的可靠性, 以期对检测方法和结果的可靠性和报告结论的准确性提供依据。

2 材料与方 法

2.1 仪器与试剂

Agilent 1260+6460 高效液相色谱/三重四极杆质谱联用仪(美国安捷伦科技有限公司); MS105DU 千分之一天平、XSE205DU 十万分之一天平[梅特勒-托利多仪器(上海)

有限公司]; 5810R 离心机(德国 Eppendorf 有限公司); SCG-6 智能恒温槽(宁波新芝生物科技股份有限公司); R-12 平行溶剂浓缩蒸发器(瑞士步琦有限公司)。

甲酸(色谱纯, 东京化成工业株式会社); 甲醇、乙腈(色谱纯, 默克股份两合公司); 乙酸铵(优级纯, 天津市凯信化学工业有限公司)。

对照品: 磷酸可待因(纯度 97.5%)、蒂巴因(纯度 100%)、吗啡(纯度 99.1%)、那可丁(纯度 99.9%)(中国食品药品检定研究院)。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

对于不同种类的固体和液体火锅底料采用相同的取样方式, 将火锅底料中的油脂、香辛料和调味料等充分混合, 制成样品组成均一的待测样。称取上述试样 2 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 聚四氟乙烯具塞离心管中, 准确加入 20 mL 含 0.2%甲酸的乙腈, 旋涡混合 30 s, 超声提取 5 min(超声功率 300 W, 超声频率 40 kHz), 以 5000 r/min 离心 5 min, 精密移取上清液 2.00 mL, 通过用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化后的固相萃取 Oasis MCX 小柱, 再依次用 5 mL 水和 5 mL 50%甲醇水溶液(V:V)淋洗, 弃去全部流出液, 减压抽干; 然后用 10 mL 5%氯化甲醇(V:V)洗脱, 洗脱液经氮气吹干后, 准确加入 1.0 mL 含 0.2%甲酸的乙腈溶解残渣, 过 0.22 μm 有机相滤膜, 待测定。

2.2.2 仪器条件

(1)液相色谱条件

色谱柱型号: PC HILIC(100 mm×2.0 mm, 3 μm), 柱温: 30 °C, 进样量: 3 μL; 流速: 0.3 mL/min; 流动相 A: 含 0.1%甲酸的乙腈, 流动相 B: 5 mmol/L 乙酸铵溶液(含 0.1%甲酸), 采用液相色谱梯度洗脱: 0~0.3 min, 98%A; 0.3~1 min, 30%A; 1~5 min, 15%A; 5~6 min, 98%A; 6~8 min, 98%A。

(2)质谱条件

电喷雾离子源: 正离子模式; 扫描模式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 干燥气温度: 325 °C; 干燥气流速: 6 L/min; 雾化器压力: 45 psi; 鞘气温度: 400 °C; 鞘气流速: 12 L/min; 毛细管电压: 4000 V。其他参数见表 1。

表 1 各种化合物质谱条件

Table 1 Mass spectrometric conditions for various compounds

化合物	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	碎裂电压 /V	碰撞能量 /eV
可待因	300.2	214.9*/164.7	135	25/25
蒂巴因	312.2	58.2*/251.1	80	35/10
吗啡	286.1	165.1*/181.0	135	35/35
那可丁	414.1	220.1*/353.0	95	30/20

注: 带*为定量离子。

2.2.3 标准曲线溶液制备

精密称取 10.29、13.13、11.58、10.79 mg 磷酸可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁对照品，用甲醇溶解并定容至 10 mL，得到浓度为 1.003、1.313、1.148、1.078 mg/mL 的磷酸可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁标准储备溶液，准确量取 0.10 mL 磷酸可待因、0.02 mL 蒂巴因、0.10 mL 吗啡、0.02 mL 那可丁标准储备溶液于 25 mL 容量瓶中并定容至刻度，配制成浓度分别为 4.012、1.050、4.592、0.8624 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液。用混合标准溶液进行标准曲线配制，系列标准溶液浓度如下：磷酸可待因：2.542、5.085、10.17、20.34、30.51、40.68、50.85、101.7 ng/mL；蒂巴因：0.07680、0.1535、0.3070、0.6140、0.9210、1.228、1.535、3.070 ng/mL；吗啡：2.530、5.060、10.12、20.24、30.36、40.48、50.60、101.2 ng/mL；那可丁：0.05790、0.1157、0.2314、0.4628、0.6942、0.9256、1.157、2.314 ng/mL。

2.2.4 各组分含量计算公式

各组分含量计算公式如(1)所示：

$$X = \frac{C \times V \times n \times f}{m} \quad (1)$$

式中： X -被测组分含量， $\mu\text{g/kg}$ ；

C -被测组分浓度， ng/mL ；

V -样品溶液定容体积， mL ；

n -分子量折算系数(可待因/磷酸可待因： $299.36/397.39=0.7533$)；

f -稀释倍数；

m -样品称样量， g 。

3 结果与分析

3.1 测量不确定度的来源

根据测量模型，测量不确定度的来源主要有：

(1)样品称样量 m 的标准不确定度 $u(m)$ ；

(2)样品溶液定容体积 V 的标准不确定度 $u(V)$ ，包括提取时定容引起的标准不确定度 $u^1(V)$ 和净化后待测物最终定容引起的标准不确定度 $u^{11}(V)$ ；

(3)被测组分浓度 C 的标准不确定度 $u(C)$ ，包括标准溶液配制过程中引入的标准不确定度 $u^1(C)$ 和工作曲线拟合时引入的标准不确定度 $u^{11}(C)$ ；

(4)稀释倍数引入的标准不确定度 $u(f)$ ；

(5)重复性实验引入的标准不确定度 $u(rep)$ 。

3.2 各标准不确定度分量的评定

3.2.1 天平称取试样质量 m 引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(m)$

称取试样的质量为 2.067 g。根据证书，天平的最大允

许差为 $\pm 0.5 \text{ mg}$ ，按均匀分布， $k = \sqrt{3}$ 。

则试样质量的标准不确定度为：

$$u(m) = \frac{0.5}{\sqrt{3}} = 0.29 \text{ mg}。 \quad (2)$$

相对标准不确定度为：

$$u_{\text{rel}}(m) = \frac{0.29}{2067} = 1.40 \times 10^{-4}。 \quad (3)$$

3.2.2 样品溶液定容体积 V 引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V)$

称取样品适量，加入 20 mL 含 0.2% 甲酸的乙腈提取液，使用的量具为 20 mL A 级单标线刻度吸管，20 mL A 级单标线刻度吸管的允许差为 $\pm 0.030 \text{ mL}$ ，按三角分布， k 值为 $\sqrt{6}$ ，乙腈的膨胀系数为 $1.37 \times 10^{-3} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ ，实验环境为 $(20 \pm 5) \text{ } ^\circ\text{C}$ ，提取液定容时引入的相对标准不确定度为：

$$u^1_{\text{rel}}(V) = \sqrt{\left(\frac{0.030}{20 \times \sqrt{6}}\right)^2 + \left(\frac{20 \times 1.37 \times 10^{-3} \times 5}{20 \times \sqrt{6}}\right)^2} = 2.86 \times 10^{-3}。 \quad (4)$$

样品溶液净化之后使用 1 mL 移液枪定容并上机测定，根据证书，1 mL 移液枪的最大允许差为 0.18%，按均匀分布， $k = \sqrt{3}$ ，则净化后定容体积的相对标准不确定度为：

$$u^{11}_{\text{rel}}(V) = \frac{0.18\%}{\sqrt{3}} = 1.04 \times 10^{-3}。 \quad (5)$$

样品溶液定容体积 V 引入的相对标准不确定度为：

$$u_{\text{rel}}(V) = \sqrt{\left(2.86 \times 10^{-3}\right)^2 + \left(1.04 \times 10^{-3}\right)^2} = 3.04 \times 10^{-3}。 \quad (6)$$

3.2.3 样品浓度 C 的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C)$ 的评定

(1)标准系列溶液配制过程中引入的相对标准不确定度 $u^1_{\text{rel}}(C)$

配制 1 mg/mL 的对照品储备液时，使用的仪器为十万分之一天平，器具为 10 mL A 级容量瓶，根据证书，天平的最大允许差为 $\pm 0.05 \text{ mg}$ ，按均匀分布， $k = \sqrt{3}$ ，则天平的标准不确定度为：

$$u^1_1(C) = \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.029 \text{ mg}。 \quad (7)$$

称取 10 mg 左右的对照品，在不确定度评定过程中发现，对照品的称样量精确值与 10 mg 值相比引起的不确定度误差可以忽略不计，所以 4 种对照品重量均以 10 mg 计，则对照品称量过程中天平引入的相对标准不确定度为：

$$u^1_{\text{rel}}(C) = \frac{0.029}{10} = 2.90 \times 10^{-3}。 \quad (8)$$

10 mL A 级容量瓶的最大允许差为 $\pm 0.020 \text{ mL}$ [23,24]，按三角分布， k 值为 $\sqrt{6}$ ，甲醇的膨胀系数为 $1.2 \times 10^{-3} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ ，实验环境为 $(20 \pm 5) \text{ } ^\circ\text{C}$ ，则标准储备液在定容时引入的相对标准不确定度为：

$$u_{1\text{rel}}^{11}(C) = \sqrt{\left(\frac{0.020}{\sqrt{6} \times 10}\right)^2 + \left(\frac{10 \times 1.2 \times 10^{-3} \times 5}{10 \times \sqrt{6}}\right)^2} = 2.58 \times 10^{-3} \quad (9)$$

可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁标准储备液配制过程中引入的相对标准不确定度为:

$$u_{1\text{rel}}(C) = \sqrt{(2.90 \times 10^{-3})^2 + (2.58 \times 10^{-3})^2} = 3.88 \times 10^{-3} \quad (10)$$

4 种标准物质储备液配置成浓度约为 1 和 5 $\mu\text{g/mL}$ 的二级混标, 使用的器具为 100 μL 移液枪和 25 mL A 级容量瓶, 根据证书, 100 μL 移液枪的最大允差为 0.19%, 服从均匀分布, 引入的相对标准不确定度为:

$$u_{2\text{rel}}^1(C) = \frac{0.19\%}{\sqrt{3}} = 1.10 \times 10^{-3} \quad (11)$$

25 mL A 级容量瓶的最大允差为 ± 0.03 mL, 按三角分布, k 值为 $\sqrt{6}$, 甲醇的膨胀系数为 $1.2 \times 10^{-3} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$, 实验环境为 $(20 \pm 5) \text{ } ^\circ\text{C}$, 则二级混标在定容时候引入的相对标准不确定度为:

$$u_{2\text{rel}}^{11}(C) = \sqrt{\left(\frac{0.03}{\sqrt{6} \times 25}\right)^2 + \left(\frac{25 \times 1.2 \times 10^{-3} \times 5}{\sqrt{6} \times 25}\right)^2} = 2.50 \times 10^{-3} \quad (12)$$

二级母液混标配制过程中引入的相对标准不确定度为:

$$u_{2\text{rel}}(C) = \sqrt{(1.10 \times 10^{-3})^2 + (2.50 \times 10^{-3})^2} = 2.73 \times 10^{-3} \quad (13)$$

系列标准溶液配制过程中引入的相对标准不确定度为:

$$u_{1\text{rel}}^1(C) = \sqrt{(3.88 \times 10^{-3})^2 + (2.73 \times 10^{-3})^2} = 4.74 \times 10^{-3} \quad (14)$$

(2) 工作曲线拟合时引入的相对标准不确定度 $u_{1\text{rel}}^{11}(C)$

工作曲线拟合时引入的样品溶液中可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁浓度的标准不确定度用式(15)计算:

$$u^{11}(C) = \frac{s}{b} \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{N} + \frac{(C - \bar{C})^2}{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}} \quad (15)$$

其中 s 为工作曲线的标准差:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_i - (a + bC_i)]^2}{N - 2}} \quad (16)$$

$$u_{1\text{rel}}^{11}(C) = u^{11}(C) / C \quad (17)$$

两式中: C_i —建立工作曲线用标准系列溶液中可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁的浓度;

A_i —建立工作曲线用标准系列溶液中可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁浓度所对应的峰面积;

a —工作曲线的截距;

b —工作曲线的斜率;

P —对样品溶液平行测定次数, $P=1$;

N —建立工作曲线用标准溶液测量总次数, 每个标准溶液测量 1 次, $N=8$;

C —根据测得的峰面积平均值, 利用工作曲线求得的样品溶液中可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁的浓度, ng/mL ;

\bar{C} —标准系列溶液中待测物浓度的平均值, ng/mL 。

工作曲线中标准溶液浓度和相应的峰面积、线性方程和相关系数如表 2 所示。

通过公式(15)、(16)、(17)计算曲线拟合引入的不确定度结果如表 3。

样品浓度 C 引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(C) = \sqrt{(u_{1\text{rel}}^1(C))^2 + (u_{1\text{rel}}^{11}(C))^2} \quad (18)$$

样品浓度引入的相对标准不确定度由系列标准溶液配制过程引入的相对标准不确定度和曲线拟合引入的标准不确定度组成, 根据公式(18), 计算样品浓度 C 引入的相对标准不确定度, 结果如表 4。

3.2.4 稀释倍数引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(f)$

将提取液吸取 2.00 mL 进行净化并定容, 使用的是 5 mL 移液枪, 根据证书, 5 mL 移液枪的最大允差为 0.13%, 按均匀分布, $k = \sqrt{3}$, 则稀释倍数引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(f) = \frac{0.13\%}{\sqrt{3}} = 0.751 \times 10^{-3} \quad (19)$$

3.2.5 重复性实验引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{rep})$

测量重复性引入的不确定度主要受实验人员的操作手法、仪器稳定性、试剂等因素影响, 包括称量的重复性、样品提取和净化过程中溶液体积变化的重复性、仪器检测的重复性等。称取 6 份样品, 按测定方法测定, 重复性实验引入的相对标准不确定度根据公式(20)、(21)、(22)计算而得, 结果如表 5。

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}; \quad (20)$$

$$u(\text{rep}) = \frac{s}{\sqrt{n}}; \quad (21)$$

$$u_{\text{rel}}(\text{rep}) = \frac{u(\text{rep})}{\bar{x}} \quad (22)$$

3.2.6 可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁的合成标准不确定度和扩展不确定度

将不确定度分量进行拟合, 根据公式(23)计算出合成相对标准不确定度

$$u_{\text{rel}}(X) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(m) + u_{\text{rel}}^2(V) + u_{\text{rel}}^2(f) + u_{\text{rel}}^2(C) + u_{\text{rel}}^2(\text{rep})} \quad (23)$$

表 2 工作曲线中标准溶液浓度和相应的峰面积

Table 2 Standard Solution concentration and corresponding peak area in the working curve

待测物	标准曲线浓度/(ng/mL)	峰面积	线性方程及相关系数
可待因	2.542	242	$Y=96.348079X+21.975040$ $r^2=0.9982$
	5.085	489	
	10.17	987	
	20.34	1900	
	30.51	3024	
	40.68	4012	
	50.85	5002	
	101.7	9780	
	浓度平均值(\bar{C}): 32.73		
蒂巴因	0.07680	185	$Y=2161.629551X-67.081732$ $r^2=0.9992$
	0.1535	314	
	0.3070	591	
	0.6140	1218	
	0.9210	1843	
	1.228	2519	
	1.535	3262	
	3.070	6620	
	浓度平均值(\bar{C}): 0.9882		
吗啡	2.530	129	$Y=89.528899X-195.979414$ $r^2=0.9961$
	5.060	288	
	10.12	581	
	20.24	1130	
	30.36	1684	
	40.48	2286	
	50.60	2861	
	101.2	5875	
	浓度平均值(\bar{C}): 32.57		
那可丁	0.05790	129	$Y=2536.970211X-35.500002$ $r^2=0.9997$
	0.1157	288	
	0.2314	581	
	0.4628	1130	
	0.6942	1684	
	0.9256	2286	
	1.157	2861	
	2.314	5875	
	浓度平均值(\bar{C}): 0.7448		

表 3 曲线拟合引入的相对标准不确定度

Table 3 Relative standard uncertainty introduced by curve fitting

待测物	$S/(\text{ng/mL})$	$C/(\text{ng/mL})$	$\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2$	$U^{11}(C)/(\text{ng/mL})$	$U_{\text{rel}}^{11}(C)$
可待因	64.7	11.83	7491	0.730	0.0617
蒂巴因	23.8	0.9570	6.826	0.0117	0.0122
吗啡	36.1	8.681	7418	0.442	0.0509
那可丁	35.82	0.9984	3.878	0.0151	0.0151

表 4 样品浓度引入的标准不确定度

Table 4 Standard uncertainty introduced by sample concentration

待测物	$U_{\text{rel}}^1(C)$	$U_{\text{rel}}^{11}(C)$	$U_{\text{rel}}(C)$
可待因	4.74×10^{-3}	0.0617	0.0619
蒂巴因	4.74×10^{-3}	0.0122	0.0131
吗啡	4.74×10^{-3}	0.0509	0.0511
那可丁	4.74×10^{-3}	0.0151	0.0158

表 5 重复性实验引入的标准不确定度
Table 5 Standard uncertainty introduced by reproducible experiments

待测物	含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)						平均值 \bar{x} /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	标准偏差 S /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	标准不确定度 $u(\text{rep})$ /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{rep})$
	1	2	3	4	5	6				
可待因	44.2	43.7	41.8	43.4	42.5	43.1	43.1	0.86	0.35	8.12×10^{-3}
蒂巴因	4.72	4.59	4.63	4.55	4.60	4.68	4.63	0.062	0.025	5.40×10^{-3}
吗啡	43.2	41.8	42.0	40.9	42.5	41.3	42.0	0.83	0.34	8.10×10^{-3}
那可丁	4.93	4.85	4.72	4.79	4.88	4.79	4.83	0.075	0.031	6.42×10^{-3}

取包含因子 $k=2$, 可待因, 蒂巴因, 吗啡, 那可丁的扩展不确定度由公式(24)计算得到

$$U = x \times u_{\text{rel}}(X) \times k \quad (24)$$

各相对标准不确定度分量及扩展不确定度如表 6 所示。

通过上述不确定度评定, 当取包含因子 k 为 2 时, 罂粟壳中可待因、蒂巴因、吗啡、那可丁的结果为: 可待因: $(43.1 \pm 5.4) \mu\text{g}/\text{kg}(k=2)$; 蒂巴因: $(4.63 \pm 0.13) \mu\text{g}/\text{kg}(k=2)$; 吗啡: $(42.0 \pm 4.4) \mu\text{g}/\text{kg}(k=2)$; 那可丁: $(4.83 \pm 0.17) \mu\text{g}/\text{kg}(k=2)$ 。

4 结论

本研究建立实验方法的数学模型, 从仪器条件、实验温度、玻璃器皿、标准溶液配制、曲线拟合、溶液稀释、人员操作等因素进行不确定度评定, 发现样品浓度是不确定度的主要来源, 包括标准溶液配制和曲线拟合, 其中曲线拟合对不确定度的影响最大, 其次是

重复性实验引入的不确定度。在日常检验中, 标准溶液配制过程中要严格按照操作规程, 确保仪器的灵敏度和稳定性, 同时通过提高实验人员检验素质, 从而提高标准曲线的线性 and 拟合准确度, 最终保证检验数据的准确性。在实验中发现, 仪器条件中离子源和色谱柱对响应值影响较大, 在检测时应做好离子源的清洁工作, 提高色谱柱柱效, 同时对质谱做好调谐, 是保证线性良好的前提。

本研究前处理使用的是 Oasis MCX 柱固相萃取法, 该方法与日常检验用的标准 DB 31/2010-2012《食品安全地方标准 火锅食品中罂粟碱、吗啡、那可丁、可待因和蒂巴因的测定 液相色谱-串联质谱法》^[25]相比具有步骤简单、提取效果好、回收率高的优点, 通过对不确定度的评定发现, 检验结果的准确度较高, 能以较高的置信概率分布在比较窄的置信区间内, 是一种理想的罂粟壳检测方法。

表 6 扩展不确定度
Table 6 Extended uncertainty

待测物	$u_{\text{rel}}(m)$	$u_{\text{rel}}(V)$	$u_{\text{rel}}(C)$	$u_{\text{rel}}(f)$	$u_{\text{rel}}(\text{rep})$	$u_{\text{rel}}(X)$	$U/(\mu\text{g}/\text{kg})$
可待因	1.40×10^{-4}	3.04×10^{-3}	0.0619	0.751×10^{-3}	8.12×10^{-3}	0.0625	5.4
蒂巴因	1.40×10^{-4}	3.04×10^{-3}	0.0131	0.751×10^{-3}	5.40×10^{-3}	0.0145	0.13
吗啡	1.40×10^{-4}	3.04×10^{-3}	0.0511	0.751×10^{-3}	8.10×10^{-3}	0.0518	4.4
那可丁	1.40×10^{-4}	3.04×10^{-3}	0.0158	0.751×10^{-3}	6.42×10^{-3}	0.0173	0.17

参考文献

- [1] 陈伟, 乔勇升, 董贵军. 高效液相色谱-荧光检测法同时检测火锅底料中吗啡和可待因[J]. 粮油食品科技, 2015, 23(6): 89-91.
Chen W, Qiao YS, Dong GJ. Simultaneous determination of morphine and

- codeine in hot pot by high performance liquid chromatography fluorescence detection [J]. Sci Technol Cere Oils Food, 2015, 23(6): 89-91.
[2] 刘敏敏, 张朝正, 李延志, 等. 液相色谱-串联质谱法检测火锅底料中罂粟壳[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(1): 99-102.

- Liu MM, Zhang CZ, Li YZ, *et al.* Determination of *Opium poppy* shell in chafing dish by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Res Dev*, 2013, 34(1): 99–102.
- [3] 黄宁, 唐丽君, 黄恩堂, 等. 液相色谱-质谱联用法测定罂粟壳中 5 种生物碱的含量[J]. *新视野*, 2019, 16 (15): 10–13.
- Huang N, Tang LJ, Huang ET, *et al.* Determination of five alkaloids in *Papaveris pericarpium* by LC-MS [J]. *New Horizons*, 2019, 16(15): 10–13.
- [4] 谭为, 杨秀颖, 张莉, 等. 中药罂粟壳毒的历史认识与现代研究[J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(2): 159–161.
- Tan W, Yang XY, Zhang L, *et al.* Historical understanding and modern studies on *Opium poppy* shell poison [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2019, 35(2): 159–161.
- [5] 张虹艳, 石晓峰, 王小乔, 等. 不同前处理方法对食品中罂粟壳检测效果对比[J]. *食品工业科技*, 2020, 22(6): 14–18 .
- Zhang HY, Shi XF, Wang XQ, *et al.* Comparison of different pretreatment methods for detection of *Opium poppy* husk in food [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2020, 22(6): 14–18.
- [6] 刘德华, 陈军, 宋建峰. 火锅底料中添加罂粟壳[J]. *方圆*, 2016, (22): 42–43.
- Liu DH, Chen J, Song JF. Adding poppy shell to hot pot base [J]. *Square*, 2016, (22): 42–43.
- [7] 陈秀红, 王春英, 赵光跃, 等. UPLC-MS/MS 筛查卤制品中罂粟壳生物碱及工业染料[J]. *食品科技*, 2020, 45(4): 296–301.
- Chen XH, Wang CY, Zhao GY, *et al.* UPLC-MS/MS screening of *Opium poppy* hull alkaloids and industrial dyes in bitter products [J]. *Food Technol*, 2020, 45(4): 296–301.
- [8] 沈洁, 聂荣荣, 戴尽波, 等. 卤汁中 5 种罂粟碱成分的测定-超高效液相色谱串联四级杆质谱法[J]. *食品安全导刊*, 2019, (1): 162–165.
- Shen J, Lie RR, Dai JB, *et al.* Determination of five papaverine constituents in brine by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2019, (1): 162–165.
- [9] 李兴根, 乔勇升, 陈伟, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定火锅中的 5 种罂粟壳生物碱残留[J]. *分析测试学报*, 2018, 37(4): 446–451.
- Li XG, Qiao YS, Chen W, *et al.* Rapid determination of five alkaloid residues from opium poppy husk in hot pot by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2018, 37(4): 446–451.
- [10] Rubino M, Milin S, Donofrio A, *et al.* Measurement of $\delta^{13}C$ values of soil amino acids by GC-C-IRMS using trimethylsilylation: A critical assessment [J]. *Isotopes Environ Health Stud*, 2014, 50(4): 516–530.
- [11] Suszter G, Ambrus Á, Turcu M, *et al.* Estimation of efficiency of processing soil samples for pesticide residues analysis [J]. *J Environ Sci Health Part B*, 2006, 41(5): 531–552.
- [12] Yu M, Hou XW, Liu Q, *et al.* Evaluation and reduction of the analytical uncertainties in GC-MS analysis using a boundary regression model [J]. *Talanta*, 2017, (164): 141–147.
- [13] Lehotay SJ, Han LJ, Sapozhnikova Y. Use of a quality control approach to assess measurement uncertainty in the comparison of sample processing techniques in the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(22): 5465–5479.
- [14] Yolci OP, Ambrus Á, Boyacioglu D. Uncertainty of pesticide residue concentration determined from ordinary and weighted linear regression curve [J]. *Food Addit Contam Part A*, 2018, 35(7): 1324–1339.
- [15] 陈煜, 何莉媛, 廖菲, 等. 三重四级杆气相色谱-质谱联用仪测定土豆中甲基枯磷过程中测量不确定度的评定[J]. *海南师范大学学报(自然科学版)*, 2020, 33(2): 136–142.
- Chen Y, He LY, Liao F, *et al.* Evaluation of the uncertainty of measurement in the determination of methyl parathion in potatoes by triple quadrupole gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Hainan Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2020, 33(2): 136–142.
- [16] 施元旭, 张水锋, 潘项捷, 等. 超高效液相色谱串联质谱法测定豆芽中恩诺沙星、环丙沙星残留量的不确定度评定[J]. *食品与机械*, 2020, (6): 1–8.
- Shi YX, Zhang SF, Pan XJ, *et al.* Evaluation of uncertainty for determination of enrofloxacin and ciprofloxacin residues in bean sprouts by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Food Mach*, 2020, (6): 1–8.
- [17] 李静, 张居舟, 余晓娟, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定豆芽中植物生长调节剂残留量的不确定度评定[J]. *食品科学*, 2019, 40(10): 292–297.
- Li J, Zhang JZ, Yu XJ, *et al.* Evaluation of uncertainty for the determination of plant growth regulator residues in bean sprouts by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2019, 40(10): 292–297.
- [18] 王嘉权. 液相色谱串联质谱法测定水产品喹诺酮类药物残留的不确定度评定[J]. *广东化工*, 2018, 45(12): 227–229.
- Wang JQ. Evaluation of uncertainty in the determination of quinolone residues in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Guangdong Chem Ind*, 2018, 45(12): 227–229.
- [19] Yang MR, Liu F, Wang M, *et al.* Development of a whole liquid egg certified reference material for accurate measurement of enrofloxacin residue [J]. *Food Chem*, 2020, (309): 125253.
- [20] CNAS-GL 06:2019 化学分析中不确定度的评估指南[S]. CNAS-GL 06:2019 Guide for evaluation of uncertainty in chemical analysis [S].
- [21] 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].
- [22] JJF 1135-2005 化学分析测量不确定度评定[S]. JJF 1135-2005 Evaluation of uncertainty of measurement in chemical

analysis [S].

[23] GB/T 12806-2011 实验室玻璃仪器 单标线容量瓶[S].

GB/T 12806-2011 Laboratory glassware-Single line volumetric flasks [S].

[24] JJG 196-2006 常用玻璃量器[S].

JJG 196-2006 Working glass container [S].

[25] DB 31/2010-2012 食品安全地方标准 火锅食品中罂粟碱、吗啡、那可丁、可待因和蒂巴因的测定 液相色谱-串联质谱法[S].

DB 31/2010-2012 Local food safety standard-Determination of papaverine, morphine, noxodine, codeine and thibaine in hot pot food, liquid chromatography-tandem mass spectrometry [S].

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



潘秀丽, 工程师, 主要研究方向为食品与化妆品中非法添加。

E-mail: 906198326@qq.com



张虹艳, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测技术。

E-mail: 329464276@qq.com



食品加工工艺优化及应用研究

随之人类对自身健康的关注及生活水平的提高, 加工食品因保持其原色、原味及食品营养成分的优越性备受关注。越来越多的新工艺新方法应用于食品加工业, 尤其是多种工艺的综合利用, 对食品行业的发展起到了巨大的推动作用。

鉴于此, 本刊特别策划“食品加工工艺优化及应用研究”专题, 主要围绕加工工艺优化(提取工艺优化、配方优化、纯化优化、制备优化、响应面法优化等)、食品加工的综合利用及评价等问题展开讨论, 计划在 2021 年 2/3 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编国家食品安全风险评估中心 吴永宁 研究员特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力, 综述及研究论文均可。请在 2021 年 1 月 30 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式(注明专题食品加工工艺优化及应用研究):

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者

登录-注册投稿-投稿栏目选择“2020 专题: 食品加工工艺优化及应用研究”)

邮箱投稿: E-mail: jfoodsq@126.com(备注: 食品加工工艺优化及应用研究专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部