

高效液相色谱法测定保健食品中非法添加 盐酸二氧丙嗪的不确定度分析

艾芸*, 李卓, 白雪, 王芍

(西安市食品药品检验所, 西安 710054)

摘要: **目的** 采用高效液相色谱法测定保健食品中非法添加盐酸二氧丙嗪的含量, 进行不确定度分析。**方法** 依据标准 JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》, 建立数学模型, 对测定不确定度的来源进行分析和量化。**结果** 保健食品中非法添加盐酸二氧丙嗪含量为 1.90 g/kg 时, 其相对扩展不确定度为 0.088, 测定结果可表示为 $X=(1.90\pm0.17)$ g/kg ($k=2$)。根据测量结果分析, 在影响检测结果不确定度的各分量中, 拟合标准曲线求溶液中目标物浓度所引入的不确定度是对结果影响较大的不确定度分量, 可通过减少这个不确定度分量提高测量结果的质量。**结论** 该研究可为实验室评定保健食品中非法添加盐酸二氧丙嗪的测定结果质量提供参考。

关键词: 高效液相色谱法; 保健食品; 盐酸二氧丙嗪; 不确定度

Uncertainty evaluation for determination of dioxopromethazine hydrochloride in health food by high performance liquid chromatography

AI Yun*, LI Zhuo, BAI Xue, WANG Shao

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

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty of dioxopromethazine hydrochloride content illegally added in health food by high performance liquid chromatography. **Methods** According to the standard JJF 1059.1—2012 *Evaluation and expression of uncertainty in measurement*, the mathematical model was established to analyze and quantify the sources of measurement uncertainty. **Results** The content of dioxopromethazine hydrochloride in health food was 1.90 g/kg, the relative expanded uncertainty was 0.088, and the determination result was expressed as $X=(1.90\pm0.17)$ g/kg ($k=2$). According to the analysis of the measurement results, the main factor coming from contents of targeted object lines fitting influenced the detection results mostly. Through reducing this factor, the quality of the determination results could be increased. **Conclusion** This study can provide a reference for laboratory to evaluate the quality of the determination results of illegally added dioxopromethazine hydrochloride in health food.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; health food; dioxopromethazine hydrochloride; uncertainty

*通信作者: 艾芸, 副主任药师, 主要研究方向为药品及保健食品检验检测。E-mail: 453072249@qq.com

*Corresponding author: AI Yun, Associate Pharmacist, Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710054, China. E-mail: 453072249@qq.com

0 引言

盐酸二氧丙嗪, 化学名为 10-(2-二甲氨基-异丙基)吩噻嗪-5,5-二氧化物的盐酸盐, 具有镇咳平喘、祛痰、抗组胺和局麻作用, 镇咳作用较强, 与可待因相当。现如今保健食品存在不少非法添加的乱象, 一些不法商贩利欲熏心, 追求短暂疗效和高额利润, 不择手段, 向保健食品中非法添加化学药品^[1], 夸大宣传, 欺骗群众, 谋取暴利。不当服用盐酸二氧丙嗪会对人体产生极大危害, 而且与有些药物同服还会发生药物相互作用, 导致难以预测的严重后果^[2-4]。

目前, 盐酸二氧丙嗪的检测方法主要是高效液相色谱法^[5-8], 关于盐酸二氧丙嗪不确定度的分析鲜有报道。测量不确定度评定是日常检验工作的重要技术组成部分, 可以进一步提高检测数据的质量提供依据, 对实验室质量控制有着重要的意义^[9]。我国现已按照《检测和校准实验室能力的通用要求》中的规定, 规范实验室管理工作并开展实验室认可活动^[10]。本实验参考 JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》^[11]和《化学分析中不确定度的评估指南》^[12]的要求, 对高效液相色谱法测定盐酸二氧丙嗪实验过程的不确定度进行了分析, 确定各个不确定因素对实验结果的影响, 以期实验室准确定量测定提供准确、可靠的依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

保健食品(市售); 盐酸二氧丙嗪对照品(批号 1002299-201202, 纯度 99.9%, 中国食品药品检定院); 甲醇、乙腈(色谱纯, 美国 ThermoFisher 公司), 磷酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

Uimate3000 高效液相色谱仪(美国 Thermo 公司); MS105 电子分析天平、ME204E 电子分析天平(感量 0.1 mg, 瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 对照品溶液的配制

精密称取 20 mg 盐酸二氧丙嗪对照品于 10 mL 容量瓶, 加甲醇溶解, 稀释至刻度, 摇匀。制成质量浓度为 2 mg/mL 的盐酸二氧丙嗪标准储备溶液。再吸取盐酸二氧丙嗪标准储备溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、1 mL, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 制成 2、4、8、120、200 μg/mL 的标准工作溶液。

1.3.2 样品溶液的制备

精密称取样品 1.0 g, 置于 50 mL 容量瓶中, 加甲醇适

量, 超声处理 20 min, 放冷, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 过滤, 即得。

1.3.3 测定法

精密量取对照品溶液及供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 根据保留时间定性, 按外标法计算含量。

1.3.4 色谱条件

流动相为甲醇: 乙腈: 0.02 mol/L 磷酸溶液(3: 34: 63, V:V:V); 色谱柱为安捷伦 C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温为 30 °C; 流速为 1.0 mL/min; 检测波长为 230 nm; 进样体积为 10 μL。

1.4 数学模型的建立与结果计算

根据测定原理和过程, 样品中盐酸二氧丙嗪的含量为式(1):

$$X = \frac{C \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \quad (1)$$

式中: X——样品中盐酸二氧丙嗪的含量, g/kg;

C——利用标准工作曲线查得盐酸二氧丙嗪的质量浓度, μg/mL;

V——样品定容体积, mL;

m——样品取样量, g。

2 测量不确定度来源

根据数学模型, 分析整个实验过程, 影响测定结果不确定度的主要来源有: (1)被测样品重复性产生的不确定度; (2)由标准物质引入的不确定度, 其中包含标准物质纯度、标准物质称量、标准物质定容和稀释、标准曲线引入的不确定度; (3)由被测样品引入的不确定度, 其中包含称取被测样品质量、样品定容产生的不确定度。

3 不确定度分量的量化

3.1 样品的重复性引入的不确定度

在重复条件下, 对样品进行了 10 次测定, 含量分别是 1.87、1.89、1.94、1.91、1.87、1.95、1.92、1.90、1.88、1.92 g/kg, 平均含量为 1.90 g/kg, 由样品重复性引入的相对标准不确定度为:

$$s(x) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{(1.87-1.90)^2 + (1.89-1.90)^2 + (1.94-1.90)^2 + (1.91-1.90)^2 + (1.87-1.90)^2 + (1.95-1.90)^2 + (1.92-1.90)^2 + (1.90-1.90)^2 + (1.88-1.90)^2 + (1.92-1.90)^2}{10-1}} = 0.0276;$$

$$u_{\text{rel}}(x) = \frac{s(x)/\sqrt{n}}{\bar{x}} = \frac{0.0276/\sqrt{10}}{1.90} = 0.0046。$$

3.2 由标准物质引入的不确定度

3.2.1 标准物质纯度引入的不确定度

由于中检院提供的本标准品无标物证书, 未给出其不确定度, 假设其半宽区间为 0.5%, 以矩形分布计算, 包含因子 $k=3$, 由盐酸二氧丙嗪标准物质纯度引入的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(\text{std}_1) = \frac{0.005}{\sqrt{3}} = 0.0029。$

3.2.2 称量标准物质引入的不确定度

用十万分之一天平称量样品, 在 0~5 g 量程范围内, 天平的示值误差为±0.05 mg, 以矩形分布计算, 包含因子 $k=3$, 由称量标准物质引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(\text{std}_2) = \frac{0.05}{\sqrt{3} \times 20} = 0.0014。$$

3.2.3 标准物质的定容引入的不确定度

(1)由容量瓶校准引入

标准 JJG 196—2006《常用玻璃量器检定规程》^[13]中规定 10 mL 容量瓶(A)级容量允差为±0.02 mL, 以三角分布计算, 包含因子 $k=6$, 由容量允差引入相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{10-1}) = \frac{0.02}{\sqrt{6} \times 10} = 0.0008。$$

(2)由温度波动引入

标准 JJG 209—2010《体积管检定规程》中规定甲醇的体积膨胀系数^[14]为 1.2×10^{-3} , 实验室的玻璃仪器在 20 °C 进行校正, 本实验室的温度控制在(20±5) °C 内变动, 以均匀分布计算, 由温度波动引入的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{10-2}) = \frac{1.2 \times 10^{-3} \times 5}{\sqrt{3}} = 0.0035。$$

配制 10 mL 标准品溶液体积引入的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{10}) = \sqrt{u_{\text{rel}}(V_{10-1})^2 + u_{\text{rel}}(V_{10-2})^2} = \sqrt{(0.0008)^2 + (0.0035)^2} = 0.0036。$$

3.2.4 稀释标准溶液引入的相对标准不确定度

标准工作溶液的配制: 分别移取 0.1、0.2、0.4、0.6、1 mL 盐酸二氧丙嗪标准储备溶液, 用甲醇定容于 10 mL 容量瓶。

配制标准工作溶液与 3.2.3 同理, 实验涉及的量器相对标准不确定度如表 1。

根据表 1 中数据合成, 由盐酸二氧丙嗪标准工作溶液的配制引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V) = \sqrt{5 \times (3.3 \times 10^{-3})^2 + 5 \times (8 \times 10^{-4})^2 + 10 \times (3.5 \times 10^{-3})^2} = 0.0013。$$

3.3 由标准曲线引入的不确定度

实验整体采用了 5 个水平质量浓度的盐酸二氧丙嗪标准溶液, 分别测定 2 次, 以其相应峰面积和标准浓度按最小二乘法进行拟合, 结果如表 2。

拟合曲线求样品溶液中盐酸二氧丙嗪平均浓度 c 产生的标准不确定度为式(2):

$$u(c) = \frac{s(A)}{a} \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(c - \bar{C})^2}{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}} \tag{2}$$

表 1 标准溶液稀释过程引入的相对不确定度
Table 1 Relative uncertainty during standard solution dilution

量器类型(数量)	类别	容量允差	相对标准不确定度
1 mL A 类刻度移液管(5)	最大允差	±0.008 mL	3.3×10^{-3}
	温度波动	±5 °C	3.5×10^{-3}
10 mL A 类单标容量瓶(5)	最大允差	±0.020 mL	8×10^{-4}
	温度波动	±5 °C	3.5×10^{-3}

表 2 最小二乘法拟合标准曲线数据
Table 2 Standard curve data by fitting least square curve

组分	浓度 $c/(\mu\text{g/mL})$	平均峰面积 Y	回归方程	相关系数 r
		$/(mAU \cdot \text{min})$		
盐酸二氧丙嗪	20	1.751	$Y = 0.0883c - 0.0005$	$r = 0.9995$
	40	3.571		
	80	6.882		
	120	10.783		
	200	17.596		

式中: $s(A)$ ——标准溶液峰面积的标准偏差

$$s(A) = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{i=1}^n [A_i - (aC_i + b)]^2} = 0.1570;$$

c ——样品溶液的质量浓度, 37.7132 $\mu\text{g/mL}$;

$\bar{C}$ ——标准系列溶液的平均浓度, $\bar{C} = 92 \mu\text{g/mL}$;

a ——回归方程的斜率, $a = 0.0935$;

N ——样品平行测定的次数, $N = 2$;

n ——标准溶液测定的次数, $n = 2 \times 5 = 10$;

将上述各值代入公式得出: $u(c) = 1.6333$ 。

按最小二乘法拟合标准曲线求得样品浓度引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(c) = \frac{u(c)}{c} = \frac{1.6333}{37.7132} = 0.0433。$$

3.4 称量样品引入的不确定度

标准 JJG 1036—2008《电子天平检定规程》^[15]中规定天平允许的最大误差为 $\pm 0.0005 \text{ g}$, 称取样品 1.0 g, 以矩形分布计算, 由样品称量引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(m) = \frac{0.0005}{\sqrt{3} \times 1.0} = 0.0003。$$

3.5 50 mL 容量瓶定容引入的相对标准不确定度

(1)容量瓶允差引入的不确定度

标准 JJG 196—2006《常用玻璃量器检定规程》中规定 50 mL 容量瓶(A)级容量允差为 $\pm 0.05 \text{ mL}$, 以三角分布计算, 由容量允差引入相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{50-1}) = \frac{0.05}{\sqrt{6} \times 50} = 0.0004。$$

(2)温度引入的不确定度

甲醇的体积膨胀系数为 1.2×10^{-3} , 实验室室温在 $\pm 5^\circ\text{C}$ 之间变动, 按照均匀分布, 温度差异引入的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{50-2}) = \frac{1.2 \times 10^{-3} \times 5}{\sqrt{3}} = 0.0035。$$

配制 50 mL 样品定容体积引入的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{50}) = \sqrt{u_{\text{rel}}(V_{50-1})^2 + u_{\text{rel}}(V_{50-2})^2} = 0.0035。$$

4 测量不确定度

4.1 合成标准不确定度

由上述各相对不确定度合成相对标准不确定度为:

$$U_{\text{rel}}(X) = \sqrt{u_{\text{rel}}(x)^2 + u_{\text{rel}}(\text{std}_1)^2 + u_{\text{rel}}(\text{std}_2)^2 + u_{\text{rel}}(V_{10})^2 + u_{\text{rel}}(V)^2 + u_{\text{rel}}(c)^2 + u_{\text{rel}}(m)^2 + u_{\text{rel}}(V_{50})^2} = 0.0440。$$

4.2 相对扩展不确定度

取包含因子 $k=2$ (置信概率 95%), 高效液相色谱法测

定保健食品中非法添加盐酸二氧丙嗪的相对扩展不确定度为: $U_{\text{rel}} = k \times u_{\text{rel}}(X) = 2 \times 0.0440 = 0.0880。$

4.3 扩展不确定度

$$U = 1.90 \times 0.0880 \approx 0.17 \text{ g/kg}。$$

4.4 结果表示

用高效液相色谱法测定保健食品中非法添加盐酸二氧丙嗪的含量, 测定结果为: $X = (1.90 \pm 0.17) \text{ g/kg}$, $k = 2。$

5 结论

测量不确定度是衡量测试结果准确度和可靠性的重要参数, 结果的表述同时包含被测量值及其测量不确定度才完整并有意义。本研究采用高效液相色谱法对保健食品中非法添加盐酸二氧丙嗪进行了测定, 建立了不确定度的数学模型。通过对不确定度各个分量的分析计算, 建立了一套合理、完整的分析方案。研究过程中可以看出对结果影响最大的分量为拟合标准曲线求浓度, 其他分量引入的不确定度都相对较小。针对此因素, 我们在日常检测过程中可以通过稳定仪器状态、选择适当线性范围、增加标曲测定重复次数等途径来提高检测结果的准确性。

参考文献

- [1] 吴景, 陈骁鹏, 袁华峰, 等. 清咽类保健食品中非法添加盐酸二氧丙嗪的检测方法研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(9): 2663–2669.
WU J, CHEN XP, YUAN HF, et al. Determination of dioxopromethazine hydrochloride illegally adulteration in health care food [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(9): 2663–2669.
- [2] 冯永格, 刘树刚. 小儿二氧丙嗪中毒 1 例[J]. 白求恩医学院学报, 2005, 3(2): 87.
FENG YG, LIU SG. 1 cases of dioxopromethazine hydrochloride poisoning [J]. J Bethune Mil Med Sci, 2005, 3(2): 87.
- [3] 蔡之珍. 二氧丙嗪(克咳敏)过量引起严重脑损害 1 例[J]. 中国医院药学杂志, 1995, 15(11): 523.
CAI ZZ. 1 Patients with severe brain damage caused by excess of dioxopromethazine hydrochloride [J]. Chin J Hosp Pharm, 1995, 15(11): 523.
- [4] 王玉英. 1 例大剂量盐酸二氧丙嗪片中毒患儿的抢救与护理[J]. 全科护理, 2011, 9(5): 442.
WANG YY. 1 cases of rescuing and nursing for poisoning in children by large doses of dioxopromethazine hydrochloride tablets [J]. Chin Gen Pract Nurs, 2011, 9(5): 442.
- [5] 张裕民. HPLC 法检测止咳平喘类中成药掺入化学药品的方法[J]. 中国药事, 2010, 24(12): 1213–1215.
ZHANG YM. Discussion on method of separation and detection of cough and asthma medicines mixed with chemicals by HPLC [J]. China Pharm Affairs, 2010, 24(12): 1213–1215.
- [6] 宋闫军. HPLC 法测定盐酸二氧丙嗪片的含量[J]. 中国医药科学, 2012, 2(2): 91–92.

- SONG YJ. Content determination of dioxopromethazine hydrochloride tablets by HPLC [J]. China Med Pharm, 2012, 2(2): 91-92.
- [7] 张平, 俞永梅. 复方氨酚葡锌片质量标准的提高研究[J]. 中国药师, 2012, 11: 1577-1579.
- ZHANG P, YU YM. Improvement of quality standards for compound paracetamol and zinc gluconate tablets [J]. China Pharm, 2012, 11: 1577-1579.
- [8] 索银科. HPLC 法测定复方氨酚葡锌片中盐酸二氧丙嗪的含量[J]. 中国药品标准, 2002, (1): 54-55.
- SUO YK. Determination of dioxopromethazine hydrochloride in compound paracetamol and zinc gluconate tablets by HPLC [J]. Drug Stand China, 2002, (1): 54-55.
- [9] 李彬. 高效液相色谱法测定 Fapas 能力验证样品中咖啡因含量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(8): 2511-2517.
- LI B. Uncertainty evaluation of determination of caffeine in Fapas proficiency testing samples by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(8): 2511-2517.
- [10] ISO/IEC 17025 检测和校准实验室能力的通用要求[S].
- ISO/IEC 17025 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories [S].
- [11] CNAS—GL006 化学分析中不确定度的评估指南[S].
- CNAS—GL006 Guidance on quantifying uncertainty in chemical analysis [S].
- [12] JJF 1059.1—2012 测量不确定度评定与表示 [S].
- JJF 1059.1—2012 Evaluation and expression of uncertainty in measurement [S].
- [13] JJF 196—2006 常用玻璃量器检定规程[S].
- JJF 196—2006 Verification regulation of working glass container [S].
- [14] JJG 209—2010 体积管检定规程[S].
- JJG 209—2010 Verification regulation of pipe prover [S].
- [15] JJG 1036—2008 电子天平[S].
- JJG 1036—2008 Electronic balance [S].

(责任编辑: 张晓寒)

作者简介



艾 芸, 副主任药师, 主要研究方向为药品及保健食品检验检测。
E-mail: 453072249@qq.com

“食品保鲜与贮藏”专题征稿函

随着生活水平的逐渐提高, 人们对食品的质量有了更高的要求。因此, 保鲜技术被广泛应用于食品的加工流通过程中。如何保持食品的新鲜度以及食品在储藏过程中的安全性成为目前研究的重点。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品保鲜与贮藏”专题, 由浙江大学 罗自生 教授 担任专题主编, 主要围绕 (1)果蔬、粮食、水产品、禽肉制品等食品保鲜方法、技术; (2)食品在储藏中的生理、生化变化; (3)食品腐败以及控制方法等或您认为有意义的领域展开讨论, 计划在 2021 年 6 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 本刊主编国家风险评估 吴永宁 研究员 及浙江大学 罗自生教授 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、实验报告、研究论文均可, 请在 2021 年 3 月 19 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与和支持!

投稿方式(注明专题): 食品保鲜与贮藏

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoods@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部