

超高效液相色谱-串联质谱法测定凉茶中 对乙酰氨基酚的不确定度评定

周芳梅^{1,2,3*}, 陈茹^{1,2,3}, 罗小宝^{1,2,3}, 陈晓嘉^{1,2,3}

(1. 广东省食品工业研究所有限公司, 广州 511442; 2. 广东省食品质量监督检验站, 广州 511442;
3. 广东省食品工业公共实验室, 广州 511442)

摘要: **目的** 评定超高效液相色谱-串联质谱法定凉茶中对乙酰氨基酚含量的不确定度。**方法** 依据 BJS 201713《饮料、茶叶及相关制品中对乙酰氨基酚等 59 种化合物的测定》, 采用超高效液相色谱-串联质谱法测定对乙酰氨基酚的含量, 并构建不确定度评定的模型, 分析不确定度分量的来源, 对各分量进行不确定度评定。**结果** 在 95% 的置信区间下, 凉茶中对乙酰氨基酚含量为 0.406 mg/kg, 其测量扩展不确定度为 0.013 mg/kg, $k=2$ 。**结论** 标准溶液配制、标准曲线拟合、重复性实验是影响标准不确定度的重要分量, 该研究可为实验室测定凉茶中对乙酰氨基酚含量的质量控制提供参考。

关键词: 对乙酰氨基酚; 超高效液相色谱-串联质谱法; 不确定度; 凉茶

Uncertainty evaluation for determination of paracetamol in herbal tea by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHOU Fang-Mei^{1,2,3*}, CHEN Ru^{1,2,3}, LUO Xiao-Bao^{1,2,3}, CHEN Xiao-Jia^{1,2,3}

(1. Guangdong Food Industry Institute Co., Ltd., Guangzhou 511442, China; 2. Guangdong Food Quality Supervision and Inspection Station, Guangzhou 511442, China; 3. Guangdong Food Industry Public Laboratory, Guangzhou 511442, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty of determination of paracetamol in herbal tea by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** According to BJS 201713 *Determination of 59 compounds including paracetamol in beverages, tea and related products*, the content of paracetamol was determined by UPLC-MS/MS, the uncertainty evaluation model was established, the sources of uncertainty components were analyzed, and the uncertainty of each component was evaluated. **Results** Under the 95% confidence interval, when the content of paracetamol in herbal tea was 0.406 mg/kg, the expanded uncertainty was 0.013 mg/kg ($k=2$). **Conclusion** The preparation of standard solution, standard curve fitting and repeatability experiment are the important components that affect the standard uncertainty. This study can provide a reference for the quality control of the determination of acetaminophen content in herbal tea in laboratory.

KEY WORDS: paracetamol; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; uncertainty; herbal teas

*通信作者: 周芳梅, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 13094751@qq.com

*Corresponding author: ZHOU Fang-Mei, Senior Engineer, Guangdong Food Quality Supervision and Inspection Station, No.303 Jinxing Avenue, Xinji Village, Nancun Town, Panyu District, Guangzhou 511442, China. E-mail: 13094751@qq.com

0 引言

饮料是指供直接饮用或用水冲调饮用的,乙醇含量不超过质量分数为0.5%的制品。凉茶是一种含中草药成分,可清热解毒、生津止渴的饮料。岭南地区,凉茶文化更是最具魅力的地方文化精粹之一。随着现代化工业发展,凉茶也开始适应现代人快节奏的生活习惯,被加工成配方更合理、饮用更方便、口味更适中的颗粒剂、袋泡茶、罐装等多种形式。2005年凉茶被入选为国家非物质文化遗产,2006年广东凉茶成功列入国家首批“非物质文化遗产”名录。

近些年来,由于利益驱动,在凉茶中非法添加对乙酰氨基酚等化学成分的情况时有发生。对乙酰氨基酚是一种乙酰苯胺类解热镇痛药,又名扑热息痛。用于感冒发热、缓解轻中度疼痛。药物使用过量,可能会对身体造成损害。对乙酰氨基酚作为药品,不得在食品中,包括饮料^[1-4]。

目前检测对乙酰氨基酚的方法,主要包括高效液相色谱法^[1-3]、液相色谱-串联质谱法^[5],而目前关于对乙酰氨基酚不确定度的评定极少,更多是液相色谱-串联质谱法测定非法添加物^[6-9]、农药残留^[10-12]、兽药残留^[13-15]、高效液相色谱法测定食品添加剂^[16-17]、污染物^[18-19]的不确定度评定。为了保证凉茶中对乙酰氨基酚测定结果的准确性和可靠性,判定测定结果是否超标尤其是边缘值界定,对对乙酰氨基酚的测定结果进行不确定度评定是十分必要的。测量不确定度是指与测量结果相关联的参数,表征了可以合理地赋予被测量的量值区间宽度。检测实验室应分析测量不确定度对检测结果的贡献,评定每一项分量的测量不确定度。测定不确定度评定也是日常检验工作的重要技术组成部分,可以为进一步提高检测结果的准确性提供参考^[18-21]。本研究依据 BJS 201713《饮料、茶叶及相关制品中对乙酰氨基酚等59种化合物的测定》,参考 CNAS-CL01-G003:2019《测量不确定度的要求》、JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》、CNAS-GL006:2019《化学分析中不确定度的评估指南》要求,采用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定凉茶中对乙酰氨基酚,并构建不确定度评定的模型,分析不确定度分量的来源,对各分量进行不确定度评定,确定各分量对实验结果的影响,为实验室检测结果质量控制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Waters TQS-micro 超高效液相色谱串联三重四极杆质谱联用仪(美国 Waters 公司); KJ202 涡旋振荡器(广州

绿百草生物科技有限公司); KQ100-ES 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); XSE205DU 十万分之一天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)。

对乙酰氨基酚标准物质(纯度 $\geq 98\%$,德国 DR.E 公司); 甲醇(色谱纯,美国 Honeywell 公司); 乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司); 甲酸(色谱纯,美国赛默飞世尔科技有限公司); 乙酸铵(色谱纯,阿拉丁公司); 实验室用水为 Milli-Q 超纯水。

凉茶样品购买于凉茶店。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液配制

对乙酰氨基酚标准溶液配制:准确称取 0.01000 g 对乙酰氨基酚,用甲醇溶解,并定容到 10 mL 容量瓶中,得到浓度为 1077 $\mu\text{g/mL}$ 对乙酰氨基酚标准储备液。吸取对乙酰氨基酚标准储备液 0.010 mL,置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,得到对乙酰氨基酚的浓度为 1077 ng/mL。准确吸取混合标准中间液 0.05、0.1、0.2、0.3、0.5 mL 于 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,得到浓度为 5.385、10.77、21.54、32.31、53.85 ng/mL 的标准工作溶液。

1.2.2 样品前处理

依据标准 BJS 201713《饮料、茶叶及相关制品中对乙酰氨基酚等59种化合物的测定》进行测定。称取 1.0000 g 摇匀的液体饮料置于 50 mL 量瓶中,加入甲醇约 40 mL,涡旋 2 min,超声 30 min,放冷至室温,用甲醇定容至刻度,摇匀,过微孔滤膜(0.22 μm ,尼龙膜),取滤液,供液相色谱-质谱联用仪分析。

1.2.3 液相色谱-串联质谱条件

(1)液相色谱条件

C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm), 流动相: 2 mmol/L 乙酸铵溶液(A)-乙腈(B), 流速: 0.4 mL/min, 进样体积: 1 μL , 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$ 。液相色谱梯度洗脱程序: 0~0.5 min, 10%B; 0.5~2.5 min, 10%B~90%B; 2.5~3.5 min, 90%B; 3.5~3.6 min, 90%B~10%B; 3.6~5.0 min, 90%B。

(2)质谱条件

离子化方式: 采用电喷雾(electron spray ionization, ESI)离子源, 正离子扫描方式, 多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM), 电离电压 3.5 kV, 源温度 150 $^{\circ}\text{C}$, 雾化气温度 450 $^{\circ}\text{C}$, 锥孔气流速 50 L/h, 雾化气流速 850 L/h。

对乙酰氨基酚的监测离子对为(m/z): 151.95/92.95、151.95/109.95(定量离子)

2 结果与分析

2.1 构建数学模型

超高效液相色谱-质谱/质谱法测定试样中对乙酰氨基

基酚按下面的公式计算:

$$X = \frac{c \times V}{1000 \times m} \times f$$

X —试样中对乙酰氨基酚的含量, mg/kg;

c —由标准曲线得出的供试品溶液中对乙酰氨基酚的浓度, ng/mL;

V —样液最终定容体积, mL;

m —试样溶液所代表的质量, g;

f —稀释倍数。

2.2 不确定度来源分析

从数学模型、测定原理及方法分析, 用超高效液相色谱-串联质谱仪测定凉茶中对乙酰氨基酚残留量的不确定度来源主要有: 标准品溶液配制产生的不确定度, 定容体积产生的不确定度, 样品称取产生的不确定度, 样品重复测定产生的不确定度, 最小二乘法拟合标准曲线产生的不确定度等。

不同的因素及其影响见图1的关系图。

2.3 不确定度各分量评定

2.3.1 配制标准溶液及标准曲线引入的相对标准不确定度

2.3.1.1 配制对乙酰氨基酚标准溶液产生的相对合成标准不确定度 $u_{rel,1}(S)$

(1) 标准物质引起的相对标准不确定度 $u_{rel,2}(P)$

由标准物质证书可知, 对乙酰氨基酚标准物质的扩展不确定度为 0.30% ($k=2$), 纯度为 99.91%; 则其相对标准不确定度平方为:

$$u_{rel,2}^2(P) = \left(\frac{U}{k \times P}\right)^2 = \left(\frac{0.30\%}{2 \times 99.91\%}\right)^2 = 2.255 \times 10^{-6}$$

(2) 标准物质称量引起的相对标准不确定度 $u_{rel,3}(m)$

对乙酰氨基酚标准物质由十万分之一电子天平称量。根据电子天平检定证书, 最大允许误差 (maximum permissible error, MPE) 为 ± 0.05 mg, 按矩形分布 ($k = \sqrt{3}$) 计算, 称取对乙酰氨基酚标准物质 10.78 mg, 其相对标准不确定度平方为:

$$u_{rel,3}^2(m) = \left(\frac{MPE}{k \times m}\right)^2 = \left(\frac{0.05}{\sqrt{3} \times 10.78}\right)^2 = 7.172 \times 10^{-6}$$

(3) 移液枪和容量瓶体积引起的相对标准不确定度 $u_{rel,4}(V_1)$

根据 JJG 196—2006 《常用玻璃量器检定规程》, 10 mL A 级容量瓶的最大容量允差 (MPE) 为 ± 0.020 mL, 100 mL A 级容量瓶的最大容量允差为 ± 0.10 mL, 200 μ L 移液枪的最大容量允差为 ± 3.0 μ L, 根据欧洲分析化学中心认为其服从三角分布分布^[20-21], $k = \sqrt{6}$, 则配制储备液产生的相对标准不确定度平方为:

$$u_{rel,5}^2(V_1) = u_{rel,5}^2(10 \text{ mL}) = \left(\frac{MPE}{k \times V}\right)^2 = \left(\frac{0.020}{\sqrt{6} \times 10}\right)^2 = 6.667 \times 10^{-7}$$

配制中间液, 使用 200 μ L 的移液枪, 取 100 μ L 储备液, 甲醇定容至 100 mL 容量瓶, 按照三角分布, $k = \sqrt{6}$, 其产生的相对标准不确定度平方为:

$$u_{rel,6}^2(V_1) = u_{rel,6}^2(100 \text{ mL}) = \left(\frac{MPE}{k \times V}\right)^2 = \left(\frac{0.10}{\sqrt{6} \times 100}\right)^2 = 1.667 \times 10^{-7}$$

$$u_{rel,7}^2(V_1) = u_{rel,7}^2(20 \mu\text{L}) = \left(\frac{MPE}{k \times V}\right)^2 = \left(\frac{3.0}{\sqrt{6} \times 200}\right)^2 = 3.751 \times 10^{-5}$$

移液枪和容量瓶体积引起的相对标准不确定度平方为:

$$u_{rel,4}^2(V_1) = u_{rel,5}^2(V_1) + u_{rel,6}^2(V_1) + u_{rel,7}^2(V_1) = 6.667 \times 10^{-7} + 1.667 \times 10^{-7} + 3.751 \times 10^{-5} = 3.759 \times 10^{-5}$$

(4) 温度系数引起的相对标准不确定度 $u_{rel,8}(T_1)$

溶液温度与检定标准温度 (20 $^{\circ}$ C) 不同引起的相对标准不确定度分量 $u_{rel,8}(T_1)$, 在 (20 \pm 4) $^{\circ}$ C 条件下进行。该影响引起的不确定是可通过估算该温度范围和体积膨胀系数进行计算。液体的体积膨胀明显大于玻璃容器的体积膨胀, 因此只考虑前者即可。甲醇的膨胀系数为 1.19×10^{-3} $^{\circ}$ C, 按照矩形分布, $k = \sqrt{3}$, 温度系数引起的相对不确定平方为:

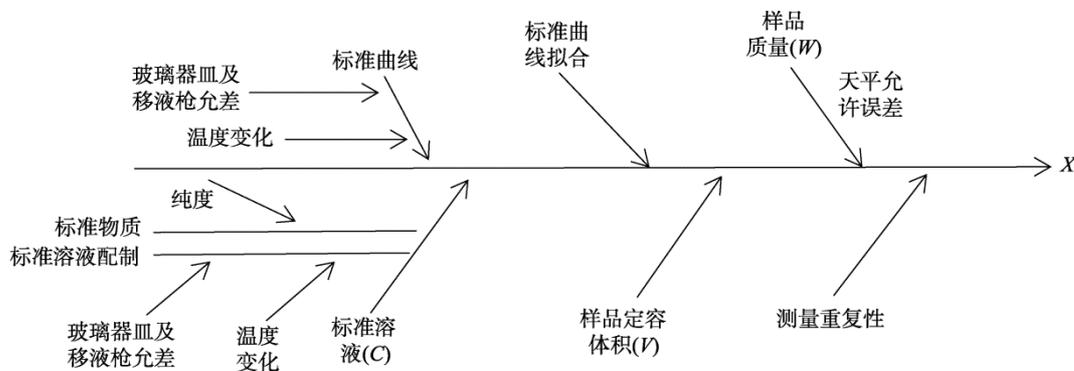


图1 UPLC-MS/MS 法测定凉茶中对乙酰氨基酚的不确定度来源图

Fig.1 Uncertainty source graph for the determination of paracetamol in herbal tea by UPLC-MS/MS

$$u_{\text{rel},9}^2(T10 \text{ mL}) = \left(\frac{V \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{V \times k} \right)^2 = \left(\frac{10 \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{10 \times \sqrt{3}} \right)^2 = 7.553 \times 10^{-6};$$

$$u_{\text{rel},10}^2(T100 \text{ mL}) = \left(\frac{V \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{V \times k} \right)^2 = \left(\frac{100 \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{100 \times \sqrt{3}} \right)^2 = 7.553 \times 10^{-6};$$

$$u_{\text{rel},11}^2(T200 \mu\text{L}) = \left(\frac{V \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{V \times k} \right)^2 = \left(\frac{200 \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{200 \times \sqrt{3}} \right)^2 = 7.553 \times 10^{-6}。$$

配制对乙酰氨基酚标准储备液及中间液温度系数引起的相对标准不确定度平方为:

$$u_{\text{rel},8}^2(T_1) = u_{\text{rel},9}^2(T10 \text{ mL}) + u_{\text{rel},10}^2(T100 \text{ mL}) + u_{\text{rel},11}^2(T200 \mu\text{L}) = 7.553 \times 10^{-6} + 7.553 \times 10^{-6} + 7.553 \times 10^{-6} = 2.266 \times 10^{-5}。$$

2.3.1.2 标准工作溶液配制产生的相对标准不确定度

(1)标准工作溶液配制过程中所用器量引起的不确定度 $u_{\text{rel},12}(V_2)$

标准工作溶液配制过程中所用器量引起的相对标准

不确定度主要来源:容量瓶定容体积、移液枪移取溶液。配制用容量瓶具经鉴定均为 A 级,可按国家规范 JJG 196—2006《常用玻璃量器检定规程》规定,按三角分布计算, $k = \sqrt{6}$,容量瓶的最大允差及相对标准不确定度的平方如表 1。移液器引入的不确定度,由校准证书得到标称容量,按三角分布计算,移液器的最大允许误差及相对标准不确定度的平方如表 2 所示。

则标准工作溶液配制过程中所用器量引起相对标准不确定度的平方:

$$u_{\text{rel},12}^2(V_2) = u_{\text{rel}}^2(\text{容量瓶}) + u_{\text{rel}}^2(\text{移液枪}) = 6.669 \times 10^{-7} + 1.667 \times 10^{-5} + 3.750 \times 10^{-5} = 5.425 \times 10^{-5}。$$

(2)温度系数引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},13}(T_2)$

溶液温度与检定标准温度(20°C)不同引起的相对标准不确定度分量 $u_{\text{rel},13}(T_2)$,在(20±4) °C条件下进行,甲醇的膨胀系数为 $1.19 \times 10^{-3} / ^\circ\text{C}$,按照矩形分布计算, $k = \sqrt{3}$ 。配制标准工作曲线时温度变化引入的相对标准不确定度见表 3。

表 1 使用容量瓶引起的相对标准不确定度

Table 1 Relative standard uncertainty caused by using volumetric flask

容量瓶	最大允差/mL	标准不确定度/mL	相对标准不确定度的平方
10 mL 单标线容量瓶 A 级	±0.020	$\frac{0.020}{\sqrt{6}}$	$\left(\frac{0.020}{10 \times \sqrt{6}} \right)^2 = 6.669 \times 10^{-7}$

表 2 使用移液枪引起的相对标准不确定度

Table 2 Relative standard uncertainty caused by pipette gun

移液枪	最大允差/ μL	标准不确定度/ μL	相对标准不确定度的平方
1000 μL 移液枪	±10.0	$\frac{10.0}{\sqrt{6}}$	$\left(\frac{10.0}{1000 \times \sqrt{6}} \right)^2 = 1.667 \times 10^{-5}$
200 μL 移液枪	±3.0	$\frac{3.0}{\sqrt{6}}$	$\left(\frac{3.0}{200 \times \sqrt{6}} \right)^2 = 3.751 \times 10^{-5}$

表 3 温度变化引入的相对标准不确定度平方

Table 3 Square of relative standard uncertainty introduced by temperature change

移液枪和容量瓶	标准不确定度/mL	相对标准不确定度的平方
10 mL 单标线容量瓶 A 级	$\frac{10 \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}}$	$\left(\frac{10 \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{10 \times \sqrt{3}} \right)^2 = 7.553 \times 10^{-6}$
1000 μL 移液枪	$\frac{1 \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}}$	$\left(\frac{1 \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{1 \times \sqrt{3}} \right)^2 = 7.553 \times 10^{-6}$
200 μL 移液枪	$\frac{0.2 \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}}$	$\left(\frac{0.2 \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{0.2 \times \sqrt{3}} \right)^2 = 7.553 \times 10^{-6}$

配制标准工作曲线时温度变化引入的相对标准不确定度的平方为:

$$u_{\text{rel},13}^2(T_2) = u_{\text{rel}}^2(\text{容量瓶}) + u_{\text{rel}}^2(\text{移液枪}) = 7.553 \times 10^{-6} + 7.553 \times 10^{-6} + 7.553 \times 10^{-6} = 2.266 \times 10^{-5}。$$

配制对乙酰氨基酚标准溶液及标准曲线引入的相对标准不确定度的平方:

$$\begin{aligned} u_{\text{rel},1}^2(S) &= u_{\text{rel},2}^2(P) + u_{\text{rel},3}^2(m) + u_{\text{rel},4}^2(V_1) + u_{\text{rel},8}^2(T_1) \\ &\quad + u_{\text{rel},12}^2(V_2) + u_{\text{rel},13}^2(T_2) \\ &= 2.255 \times 10^{-6} + 7.172 \times 10^{-6} + 3.759 \times 10^{-5} + 2.266 \times 10^{-6} \\ &\quad + 5.425 \times 10^{-5} + 2.266 \times 10^{-5} = 1.47 \times 10^{-4}。 \end{aligned}$$

2.3.2 标准曲线拟合产生的相对不确定度及样品重复性测定产生的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},14}(C)$

2.3.2.1 测量结果重复性偏差引起的不确定度分量 $u(X)$

选用一份阳性的样品, 选取 6 份, 经处理后, 进行测定, 测定结果见表 4。

根据以下公式, 可得阳性样品中对乙酰氨基酚重复性测定引起的标准不确定度为:

$$u(X)^2 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n=6} (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}^2 = 3.571 \times 10^{-3} \text{ ng/mL}。$$

2.3.2.2 标准曲线拟合的标准偏差(峰面积残差的标准偏差)引入的相对标准不确定度 $u(Y)$

将对乙酰氨基酚标准系列溶液测定 3 次, 得到对乙酰氨基酚标准系列溶液峰面积, 取平均值, 以对乙酰氨基酚标准系列溶液浓度为 X 坐标, 对乙酰氨基酚标准系列溶液峰面积作为 Y 坐标, 用最小二乘法拟合求出一元回归方程

及相关系数, 计算结果见表 5。

采用最小乘法拟合浓度-峰面积之比的标准工作曲线, 对乙酰氨基酚线性回归方程为: $Y=3426.2X+1041.3$, 相关系数为: $r=0.9999$, 大于 0.995, 符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》标准要求, 表明对乙酰氨基酚的标准系列溶液峰面积和标准系列溶液浓度具有显著的线相关性。根据贝塞尔公式, 标准曲线的剩余标准差 S_R 为:

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (y_{ij} - y_i)^2}{m \times n - 2}}$$

式中: y_{ij} —仪器各点峰面积;

y_i —回归直线计算值;

n —测量点数, $n=5$;

m —每个测量点重复测量次数, $m=3$ 。

标准曲线标准差的相对标准不确定度的平方:

$$u^2(Y) = S_R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (y_{ij} - y_i)^2}{m \times n - 2} = \frac{1.007 \times 10^7}{3 \times 5 - 2} = 7.747 \times 10^5。$$

按照不确定度传播律进行合成, 需先得出传播系数, 对线性方程 $y=ax+b$, 求偏导得到:

对乙酰氨基酚各分量灵敏系数为:

$$C(y) = \frac{\partial x}{\partial y} = \frac{1}{a} = \frac{1}{3426.2} = 2.919 \times 10^{-4}。$$

标准曲线拟合引入的合成标准不确定度 $u_c(c)$ 为:

$$u_c^2(c) = u^2(X) + C^2(y) \times u^2(Y) = 3.571 \times 10^{-3} + (2.919 \times 10^{-4})^2 \times 7.747 \times 10^5 = 0.06958 \text{ ng/mL}。$$

标准曲线拟合引入的合成相对标准不确定度 $u_{\text{rel},14}(C)$ 为:

$$u_{\text{rel},14}^2(C) = \frac{u_c^2(C)}{(C)^2} = \frac{0.06958}{24.78^2} = 1.13 \times 10^{-4}。$$

表 4 样品重复性测定结果

Table 4 Repeatability test results of samples

样品	1	2	3	4	5	6	平均值
对乙酰氨基酚/(ng/mL)	9.422	9.444	9.532	9.579	9.488	9.451	9.486

表 5 对乙酰氨基酚标准系列溶液 3 次测定的结果

Table 5 Results of three times determination of paracetamol standard series solution

对乙酰氨基酚标准系列溶液浓度/(ng/mL)	对乙酰氨基酚标准系列溶液峰面积			平均值	拟合值
5.385	19193	19062	19302	19186	19491
10.77	37318	37349	38458	37708	37941
21.54	76162	75483	75608	75751	74842
32.31	110458	111885	112243	111529	111742
53.85	186944	184182	185016	185381	185542

2.3.3 样品处理过程中产生的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},15}(Q)$ 2.3.3.1 样品处理过程中称量引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},16}(m)$

根据称量的万分之一电子天平使用说明书,称量 1.0000 g 时,最大允差为 0.5 mg,按矩形分布($k = \sqrt{3}$),用该天平称量样品 6 份,得到 1005.8、1003.8、1005.0、1005.5、1004.2、1004.7 mg,方差为 0.58 mg,所用校准砝码的引起的不确定度,贡献较小,忽略不计。称取样品产生的标准不确定度的平方为:

$$u^2 = \frac{s^2}{n} + \frac{MPE^2}{(\sqrt{k})^2} = \frac{0.58}{6} + \frac{0.5^2}{3} = 0.18 \text{ mg}^2$$

称取样品质量为 1.0480 g, 1.0204 g, 其平均值为 1.0342 g, 产生的相对标准不确定度平方为:

$$u_{\text{rel},16}^2(m) = \frac{u^2}{m^2} = \frac{0.18}{(1.0342 \times 10^3)^2} = 1.683 \times 10^{-7}$$

2.3.3.2 样品处理过程中所用器皿引入相对标准不确定度 $u_{\text{rel},17}(V_3)$

使用 50 mL 容量瓶定容,其最大允差为 ± 0.05 mL,依据三角分布, $k = \sqrt{6}$,其相对标准不确定度平方为:

$$u_{\text{rel},17}^2(V_3) = \left(\frac{0.05}{\sqrt{6} \times 50}\right)^2 = 1.667 \times 10^{-7}$$

2.3.3.3 温度系数引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},18}(T_3)$

溶液温度与检定标准温度(20 °C)不同引起的相对标准不确定度分量 $u_{\text{rel},18}(T_3)$,样品在(20 \pm 4) °C条件下进行定容,样品定容溶液为甲醇,甲醇的膨胀系数为 1.19×10^{-3} /°C,按照矩形分布计算, $k = \sqrt{3}$,其相对标准不确定度平方为:

$$u_{\text{rel},18}^2(T_3) = \left(\frac{50 \times 4 \times 1.19 \times 10^{-3}}{\sqrt{3} \times 50}\right)^2 = 7.553 \times 10^{-6}$$

样品处理过程引入的相对标准不确定度平方 $u_{\text{rel},15}(Q)$ 为:

$$\begin{aligned} u_{\text{rel},15}^2(Q) &= u_{\text{rel},16}^2(m) + u_{\text{rel},17}^2(V_3) + u_{\text{rel},18}^2(T_3) \\ &= 1.683 \times 10^{-7} + 1.667 \times 10^{-7} + 7.553 \times 10^{-6} \\ &= 7.89 \times 10^{-6} \end{aligned}$$

2.3.4 合成相对标准不确定度的评定

根据含量计算公式,饮料中对乙酰氨基酚残的含量测定的合成相对标准不确定度由标准品溶液配制产生的相

对标准不确定度,定容体积产生的相对标准不确定度,样品称取产生的相对标准不确定度,样品重复测定产生的相对标准不确定度,最小二乘法拟合标准曲线产生的相对标准不确定度等分量组成,如表 6 所示。因此高效液相色谱串联质谱法测定凉茶中对乙酰氨基酚含量测定的合成相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}} = \sqrt{u_{\text{rel},1}^2(S) + u_{\text{rel},15}^2(Q) + u_{\text{rel},14}^2(C)} = \sqrt{1.47 \times 10^{-4} + 7.89 \times 10^{-6} + 1.13 \times 10^{-4}} = 0.0163$$

2.3.5 扩展不确定度的评定

假设该测量误差属于正态分布,取置信水平 $P=95\%$,包含因子 $k=2$,则对乙酰氨基酚的相对扩展不确定度为: $U_{\text{rel}}=2u_{\text{rel}}=2 \times 0.0163=0.033$ 。

当样品对乙酰氨基酚检出为 0.406 mg/kg,其扩展不确定度为: $U=0.406 \times 0.033=0.013$ mg/kg。

根据不确定度评估后,凉茶中对乙酰氨基酚结果为 0.406 mg/kg; $U=0.013$ mg/kg, $k=2$ 。

3 结论

本研究依据 BJS 201713《饮料、茶叶及相关制品中对乙酰氨基酚等 59 种化合物的测定》,参考不确定度评估相关要求,采用超高效液相色谱-串联质谱法测定凉茶中对乙酰氨基酚含量,并构建不确定度评定的模型,分析了不确定度的来源,对各分量进行不确定度评定。由各分量评定结果可以看出,对检测结果影响较大的因素有标准溶液的配制及稀释过程、标准曲线的拟合、实验重复性。因此,在实验过程中,人员使用移液枪配制及稀释标准溶液时,要确保移液枪满足实验要求,操作正确;在进行标准曲线绘制时,应当确定不同设备的曲线范围,选择合适的曲线范围;为降低实验重复性的影响,要提高人员操作规范性和熟练程度。通过各方面的控制,可进一步提高检测结果的准确性,降低风险。

表 6 饮料中对乙酰氨基酚含量测定的合成相对标准不确定度分量

Table 6 Component of synthetic relative standard uncertainty for determination of paracetamol in herbal teas

参数	相对标准不确定度的平方	合成相对标准不确定度
配制标准溶液引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},1}(S)$	1.47×10^{-4}	
标准曲线拟合引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},14}(C)$	1.13×10^{-4}	0.0163
样品处理过程中引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel},15}(Q)$	7.89×10^{-6}	

参考文献

- [1] 何文斌,何作民,潘志文. RP-HPLC 法测定凉茶中非法添加对乙酰氨基酚和咖啡因的含量[J]. 中国药事, 2011, 25(2): 126-128.
HE WB, HE ZM, PAN ZW. Determination of paracetamol and caffeine

- illegally added in herbal tea by RP-HPLC [J]. Chin Pharm Aff, 2011, 25 (2): 126-128.
[2] 董玲玲,龚旭昊,王静文,等. HPLC-PDA 法同时检测黄连解毒散中非法添加的对乙酰氨基酚和盐酸溴己新[J]. 中国兽药杂志, 2016, 50(5): 19-23.

- DONG LL, WANG JW, GONG XH, *et al.* Simultaneous determination of acetaminophen and bromhexine hydrochloride illegally added in the Huanglian Jiedu powder by HPLC-PDA [J]. *Chin J Vet Drug*, 2016, 50(5): 19-23.
- [3] 王晓飞, 葛海生, 于玲, 等. 中成药中非法添加对乙酰氨基酚的检测[J]. *江西中医学院学报*, 2009, 21(3): 72-73
- WANG XF, GE HS, YU L, *et al.* Detection of acetaminophen illegally added in Chinese patent medicine [J]. *J Jiangxi Univ Tradit Chin Med*, 2009, 21(3): 72-73.
- [4] 广州抽查凉茶 40 份样品 15 份含西药[EB/OL]. [2020-07-01]. <http://bj.people.com.cn/n2/2020/0701/c233086-34126128.html>. [2020-12-23]
- In Guangzhou, 15 of the 40 herbal tea samples contained western medicine [EB/OL]. [2020-07-01]. <http://bj.people.com.cn/n2/2020/0701/c233086-34126128.html>. [2020-12-23]
- [5] 张宏峰, 彭荣飞, 罗晓燕, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定散装凉茶中非法添加的 6 种化学药物[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, (16): 17-20, 24.
- ZHANG HF, PENG RF, LUO XY, *et al.* Determination of six illegally added chemical drugs in bulk herbal tea by QuEChERS-UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2017, (16): 17-20, 24.
- [6] 潘秀丽, 张虹艳, 王小乔, 等. 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[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, (12): 8912-8919.
- PAN XL, ZHANG HY, WANG XQ, *et al.* Uncertainty evaluation of determination of poppy shell in hot pot condiment by Oasis MCX column-high performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, (12): 8912-8919.
- [7] 艾芸, 李卓, 白雪, 等. 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[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, (1): 156-160.
- AI Y, LI Z, BAI X, *et al.* Uncertainty evaluation for determination of dioxopromethazinehydrochloride in health food by high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, (1): 156-160.
- [8] 陈婷, 彭涛, 张文, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定豆芽 4-氯苯氧乙酸钠残留量的不确定度评定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, (2): 1076-1082.
- CHEN T, PENG T, ZHANG W, *et al.* Uncertainty evaluation for determination of sodium 4-chlorophenoxyacetate residue in bean sprouts by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, (2): 1076-1082.
- [9] 谢柏艳, 李文博, 杨玉平. 液相色谱-串联质谱法测定抗疲劳类保健食品中非法添加的西地那非含量的不确定度评定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(2): 1113-1118.
- XIE BY, LI WB, YANG YP. Uncertainty evaluation for the determination of sildenafil illegally added in anti-fatigue health food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(2): 1113-1118.
- [10] 汪春明, 张洋, 施鹏斐, 等. 气相色谱-质谱法测定黄瓜中毒死蜱残留量的测量不确定度评定[J]. *食品工业科技*, 2020, (12): 8912-8919.
- WANG CM, ZHANG Y, SHI PF, *et al.* Uncertainty evaluation of chlorpyrifos residues in cucumber determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2020, (12): 124-129.
- [11] 商鲁宁. 超高效液相色谱-串联质谱法测定葡萄中多菌灵和啉菌酯残留量的不确定度分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(15): 3948-3953.
- SHANG LN. Uncertainty evaluation of determination of carbendazim and azoxystrobin residues in grape by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(15): 3948-3953.
- [12] 曾志杰, 李传勇, 刘红, 等. QuEChERS-高效液相色谱串联质谱法测定豆芽与生产环境水样中多菌灵残留及其不确定度评估[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(2): 592-599.
- ZENG ZJ, LI CY, LIU H, *et al.* Determination and uncertainty analysis of carbendazim residues in bean sprout and its contaminate water sources by QuEChERS and high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(2): 592-599.
- [13] 熊慧霞, 张葵, 芦燕妮, 等. 液相色谱质谱联用法测定牛奶中氯霉素的 不确定度[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(21): 7921-7926.
- XIONG HX, ZHANG R, LU YN, *et al.* Determination of uncertainty of chloramphenicol in milk by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(21): 7921-7926.
- [14] 王婷, 王儒, 赵晓野, 等. 液相色谱质谱法测定贝类水产品中氯霉素的 不确定度评定[J]. *食品工业科技*, 2021, (4): 245-251.
- WANG T, WANG R, ZHAO XY, *et al.* Evaluation of uncertainty in determination of chloramphenicol in shellfish by LC-MS/MS [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021, (4): 245-251.
- [15] 李文杰, 陈涛, 倪建秀, 等. 超高效液相色谱-串联质谱同位素内标法测定水产品中氟苯尼考及其代谢物残留量的不确定度评定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(21): 7927-7934.
- LI WJ, CHEN T, NI JX, *et al.* Uncertainty evaluation of determination of florfenicol and its metabolite in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with isotope-labelled internal standards [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(21): 7927-7934.
- [16] 陶汝青. 液相色谱法测定糕点中脱氢乙酸的不确定度评定[J]. *中国食品添加剂*, 2021, (2): 112-117.
- TAO RQ. Uncertainty evaluation for determining dehydroacetic acid in cakes by high performance liquid chromatography [J]. *China Food Addit*, 2021, (2): 112-117.
- [17] 许源, 陈玉娇, 祝子铜, 等. 高效液相色谱法测定酱腌菜中脱氢乙酸含量的 不确定度评定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(23): 8971-8976.
- XU Y, CHEN YJ, ZHU ZT, *et al.* Uncertainty evaluation for the determination of dehydroacetic acid in pickles by high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(23): 8971-8976.
- [18] 袁国文, 沈海波, 方剑儒, 等. 液-液萃取液相色谱荧光检测油脂中苯并[a]芘的测量不确定度评定[J]. *中国食品添加剂*, 2021, 32(1): 72-80.
- YUAN GW, SHEN HB, FANG JR, *et al.* Evaluation of measurement uncertainty for determination of benzo[a]pyrene in oil by liquid chromatography with liquid-liquid extraction pretreatment [J]. *China Food Addit*, 2021, 32(1): 72-80.

- [19] 张梅超, 慕金雨, 王妍, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定鱼肉中甲基汞、乙基汞含量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(20): 7317-7322.
- ZHANG MC, MU JY, WANG Y, *et al.* Uncertainty evaluation for determination of methyl mercury and ethyl mercury in fish by high performance liquid chromatography inductively coupled plasma-mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(20): 7317-7322.
- [20] 曹慧, 施元旭, 王璐璐. UPLC-MS /MS 技术测定猪肉中甲氧氯普胺不确定度评价[J]. 食品工业科技, 2017, (9): 267-270.
- CAO H, SHI YX, WANG LL. Uncertainty evaluation for the determination of metoclopramide residue in pork by UPLC-MS/MS [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2017, (9): 267-270.
- [21] 陈明, 钱凯, 殷丽燕, 等. 液相色谱质谱法测定马口铁涂层中三聚氰胺迁移量不确定度的评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(4):

1112-1116.

CHEN M, QIAN K, YIN LY, *et al.* Uncertainty evaluation in determination of melamine migration in tinplate coating by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(4): 1112-1116.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



周芳梅, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 13094751@qq.com