

中图分类号: R917; R927.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)08-0097-05  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.08.018



# 三重四极杆液质联用法测定阿胶中特征多肽含量的不确定度评定

高敏, 王慧, 王健, 李茗, 张平

(山东省枣庄市食品药品检验检测中心, 山东 枣庄 277000)

**摘要:**目的 建立三重四极杆液质联用法测定阿胶中特征多肽(驴源多肽 A1、驴源多肽 A2)含量的不确定度评定方法。方法 按 2020 年版《中国药典(一部)》和 JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》中阿胶中特征多肽含量测定方法(三重四极杆液质联用法), 建立相应数学模型, 确定影响测定不确定度的因素, 计算合成相对标准不确定度和扩展不确定度。结果 共纳入不确定度来源 9 项, 其中标准曲线溶液配制过程的不确定度值最高, 为  $3.900 \times 10^{-2}$ ; 95% 置信区间下, 阿胶中合成相对标准不确定度驴原多肽 A1 为  $4.988 \times 10^{-2}$ , 驴原多肽 A2 为  $4.986 \times 10^{-2}$ ; 扩展不确定度驴原多肽 A1 为 0.010 37%, 结果表示为  $(0.1037 \pm 0.01037)\%$ , 驴原多肽 A2 为 0.012 37%, 结果表示为  $(0.1240 \pm 0.01237)\%$ , 包含因子( $k$ )为 2。结论 阿胶中特征多肽测量不确定度来源较多, 其中对照品称量是影响测量结果的主要因素, 检验过程中应定期维护设备, 选择适宜校准级别的设备, 规范操作, 以提高检验检测质量。

**关键词:** 阿胶; 特征多肽; 三重四极杆液质联用法; 不确定度

## Uncertainty Evaluation for Determination of Characteristic Polypeptides in Asini Corii Colla by Triple Quadrupole Liquid Chromatography – Mass Spectrometry

GAO Min, WANG Hui, WANG Jian, LI Ming, ZHANG Ping

(Zaozhuang Institute for Food and Drug Control, Zaozhuang, Shandong 277000, China)

**Abstract: Objective** To establish an uncertainty evaluation method for determination of characteristic polypeptides (donkey peptide A1, donkey peptide A2) in Asini Corii Colla by triple quadrupole liquid chromatography – mass spectrometry. **Methods** According to the determination method of characteristic polypeptide content in Asini Corii Colla (triple quadrupole liquid chromatography – mass spectrometry) in the *Chinese Pharmacopoeia (Volume I) (2020 edition)* and JJF1059.1-2012 *Evaluation and Expression of Uncertainty in Measurement*, the corresponding mathematical model was established to determine the factors affecting the determination uncertainty, and the combined relative standard uncertainty and expanded uncertainty were calculated. **Results** A total of nine sources of uncertainty were identified, with the uncertainty from the preparation of the standard curve solution was the highest at  $3.900 \times 10^{-2}$ ; under the 95% confidence interval, the combined relative standard uncertainty of donkey peptide A1 in Asini Corii Colla was  $4.988 \times 10^{-2}$ , and donkey peptide A2 was  $4.986 \times 10^{-2}$ , respectively; the expanded uncertainty of donkey peptide A1 was 0.010 37%, with the result expressed as  $(0.1037 \pm 0.01037)\%$ ; and donkey peptide A2 was 0.012 37%, with the result expressed as  $(0.1240 \pm 0.01237)\%$ , and the coverage factor ( $k$ ) was 2. **Conclusion** There are many sources of uncertainty in the measurement of characteristic polypeptides in Asini Corii Colla, and the weighing of reference material is the main factor affecting the measurement results. During the inspection process, the equipment should be regularly maintained, the equipment with appropriate calibration level should be selected, and the operation should be standardized to improve the quality of inspection and detection.

**Key words:** Asini Corii Colla; characteristic polypeptides; triple quadrupole liquid chromatography – mass spectrometry; uncertainty

阿胶是由驴皮经多道工序熬制而成的一种传统中药材, 具有滋阴补血、润肺止咳等功效, 被广泛应用于中医临床及日常保健<sup>[1]</sup>。随着医养大健康理念的不断完善与推进, 对阿胶质量控制的要求也越来越高<sup>[2]</sup>。特征多肽作为阿胶的主要活性成分, 准确测定其含量对于阿胶的质量评价具有重要意义。驴原多肽 A1 和驴原多肽 A2 为阿胶中的代表性特征多肽, 是评价其质量的核心指标<sup>[3-5]</sup>。三重四极杆液质联用技术具有高分辨率、高灵敏度、高选择性等优点, 在食品与药品的成分测定和分析中发挥巨大作用<sup>[6-9]</sup>。本研究中拟采用三重四极杆液质联用法, 按 2020 年版《中国药典(一部)》和

JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》中不确定度计算方法建立测定阿胶中驴原多肽 A1 和驴原多肽 A2 含量的不确定度评定方法<sup>[10-12]</sup>, 为阿胶的质量控制提供参考。现报道如下。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

BS-224S 型电子天平(德国 Sartorius 集团, 精度为 0.1 mg); XS205DU 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司, 精度为 0.01 mg); 6460A 型液相色谱-质谱/质谱仪(美国 Agilent Technologies 公司); XT5118-OV70 型电热鼓风干燥箱(杭州雪中炭恒温技术有限公司); 800Y 型多功能

第一作者: 高敏, 女, 硕士研究生, 副主任中药师, 研究方向为药品不良反应监测, (电子信箱)gaomin169@163.com。

能粉碎机(永康市铂欧五金制品有限公司);SK7200B型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。

### 1.2 试药

阿胶(山东东滕阿胶有限公司,批号为01220610);驴源多肽A1对照品(批号为112040-202102,含量为92.5%),驴源多肽A2对照品(批号为112041-202102,含量为95.3%),均购自中国食品药品检定研究院;序列分析级胰蛋白酶(Sigma-Aldrich <上海>贸易有限公司,批号为T7309);乙腈为色谱纯,甲酸为优级纯,碳酸氢铵为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 试验条件<sup>[10-11]</sup>

色谱条件:色谱柱为ZORBAX SB C<sub>18</sub>型(250 mm × 2.1 mm, 5 μm);流动相为乙腈(A) - 0.1%甲酸溶液(B),梯度洗脱(0~25 min时5%A → 20%A, 95%B → 80%B; 25~40 min时20%A → 50%A, 80%B → 50%B);流速为0.3 mL/min;柱温为35 °C;进样量为5 μL。

质谱条件:多反应监测(MRM)模式,电喷雾离子化(ESI)正离子模式扫描;雾化气流速为9 L/min,温度为350 °C;离子源接口电压为4 000 V,碰撞电压为20 V;驴源多肽A1定量离子对为469.25 *m/z* → 712.30 *m/z*,定性离子对为469.25 *m/z* → 783.40 *m/z*;驴源多肽A2定量离子对为618.35 *m/z* → 779.40 *m/z*,定性离子对为618.35 *m/z* → 850.40 *m/z*。

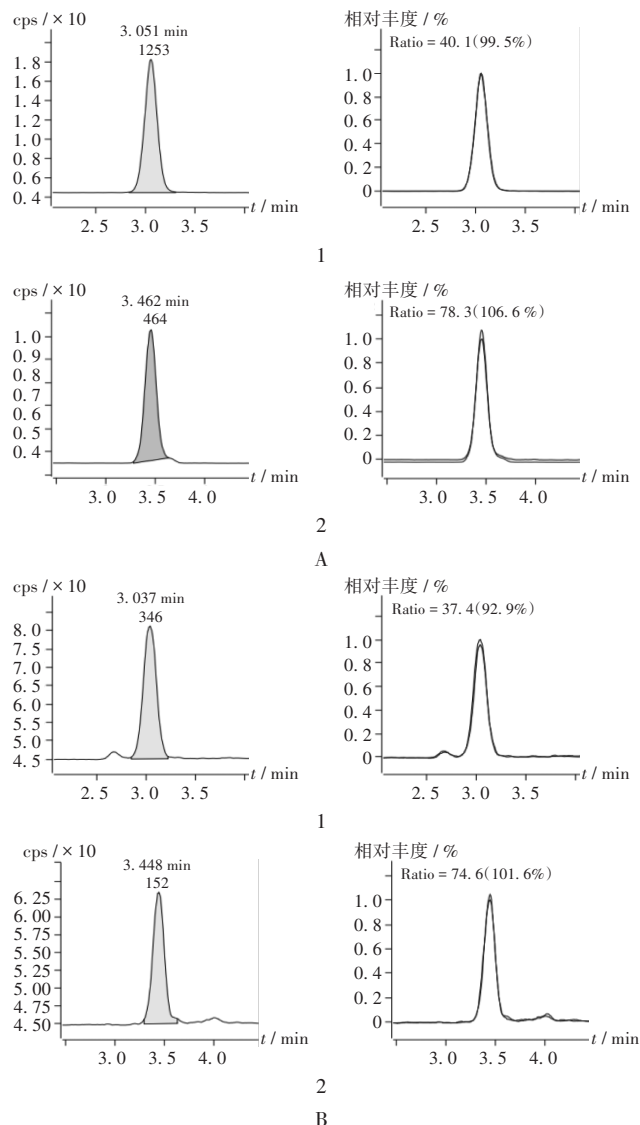
### 2.2 溶液制备<sup>[10]</sup>

分别取驴源多肽A1对照品12.96 mg、驴源多肽A2对照品13.20 mg,精密称定,加1%碳酸氢铵溶液溶解,即得每1 mL含驴源多肽A1、驴源多肽A2分别为2.397 6 μg、2.515 9 μg的混合对照品溶液。粉碎样品,过五号筛(下同),取样品粉末0.103 1 g,精密称定,置50 mL容量瓶中,加1%碳酸氢铵溶液40 mL,超声(功率250 W,频率40 kHz)处理30 min,加1%碳酸氢铵溶液定容,摇匀;精密量取1 mL,置5 mL容量瓶中,加序列分析级胰蛋白酶溶液和1%碳酸氢铵溶液制成每1 mL中含1 mg的溶液(现配现用)1 mL,加1%碳酸氢铵溶液定容,摇匀,37 °C恒温酶解12 h,过滤,取续滤液,即得供试品溶液。

### 2.3 方法学考察

专属性试验:取2.2项下混合对照品溶液和供试品溶液各适量,按2.1项下试验条件进样测定,分别导出驴原多肽A1、驴原多肽A2的提取离子流图。结果供试品溶液中,在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰出现,表明方法专属性良好。详见图1。

线性关系考察:精密量取2.2项下混合对照品溶液1 mL、2 mL、5 mL、10 mL、20 mL和25 mL,分别置50 mL容量瓶中,加1%碳酸氢铵溶液定容,制成系列混合对照品溶液。分别精密吸取系列混合对照品溶液与2.2项



1. 驴原多肽A1 2. 驴原多肽A2  
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

图1 提取离子流图

1. Donkey peptide A1 2. Donkey peptide A2  
A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig. 1 Extracted ion chromatograms

下供试品溶液各5 μL,按2.1项下试验条件进样测定,以对照品质量浓度(*X*, ng/mL)为横坐标,峰面积(*Y*)为纵坐标进行线性回归,制备标准曲线。得回归方程  $Y_{A1} = 1.039X_{A1} - 11.497$  ( $R^2 = 0.999 2, n = 6$ );  $Y_{A2} = 0.373X_{A2} - 2.702$  ( $R^2 = 0.999 7, n = 6$ )。结果驴原多肽A1和驴源多肽A2的质量浓度分别在4.795~1 460.379 ng/mL和5.032~1 499.706 ng/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下试验条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果驴原多肽A1和驴源多肽A2峰面积的RSD分别为3.76%和4.02% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品适量,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,分别于室温放置0,2,4,8,12,18,24 h时按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积,结果驴源多肽A1和驴源多肽A2峰面积的RSD分别为1.72%和1.43%( $n=7$ ),表明供试品溶液室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取样品粉末约0.1 g,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,共6份,按2.1项下试验条件连续进样测定6次,记录峰面积并计算含量。结果驴源多肽A1和驴源多肽A2峰面积的RSD分别为3.76%和4.02%( $n=6$ ),表明方法重复性良好。详见表1。

表1 重复性试验结果( $n=6$ )

Tab.1 Results of the repeatability test ( $n=6$ )

序号	称样量(g)	驴源多肽A1含量(%)	驴源多肽A2含量(%)
1	0.1067	0.1073	0.1283
2	0.1128	0.1135	0.1357
3	0.1033	0.1039	0.1242
4	0.1109	0.1115	0.1334
5	0.1044	0.1050	0.1235
6	0.1036	0.1042	0.1246
$\bar{X}$	0.1070	0.1076	0.1283
RSD(%)		3.76	4.02

加样回收试验:取样品粉末0.1g,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,共6份,分别加入2.2项下混合对照品溶液5 mL,按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,驴源多肽A1和驴源多肽A2的平均加样回收率分别为99.31%和99.18%,RSD均为0.62%( $n=6$ )。详见表2。

## 2.4 不确定度分析

### 2.4.1 数字模型建立

根据三重四极杆液质联用法,以峰面积计算含量

表2 加样回收试验结果( $n=6$ )

Tab.2 Results of the recovery test ( $n=6$ )

待测成分	样品含量( $\mu\text{g}$ )	加入量( $\mu\text{g}$ )	测得量( $\mu\text{g}$ )	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
驴源多肽A1	107.60	119.88	227.70	100.18	99.31	0.62
	107.60	119.88	225.87	98.66		
	107.60	119.88	225.97	98.74		
	107.60	119.88	227.37	99.91		
	107.60	119.88	226.40	99.10		
	107.60	119.88	226.62	99.28		
驴源多肽A2	128.30	125.80	252.30	98.57	99.18	0.62
	128.30	125.80	252.56	98.78		
	128.30	125.80	253.33	99.39		
	128.30	125.80	254.61	100.41		
	128.30	125.80	253.20	99.28		
	128.30	125.80	252.43	98.67		

的基本原理,计算供试品中特征多肽的含量( $X$ )= $\frac{c \times ft \times V \times 100\%}{Mt \times (1 - M\%)}$ ,式中, $ft$ 为供试品稀释倍数; $V$ 为供试品定容体积(mL); $Mt$ 为供试品质量(g); $M\%$ 为供试品水分(%); $c$ 为标准曲线上读取的供试品进样质量浓度( $\text{ng} / \text{mL}$ )。

### 2.4.2 不确定度来源识别

根据检测方法和数字模型可知,阿胶中特征多肽含量测定的不确定度来源包括,A类不确定度,主要为测量重复性。B类不确定度,包括供试品和对照品称量过程引入的不确定度;供试品和对照品溶液定容过程引入的不确定度;供试品水分检测过程引入的不确定度;标准曲线配制、方程拟合过程引入的不确定度;仪器测量引入的不确定度。

### 2.4.3 不确定度分析与计算<sup>[12]</sup>

#### 1)天平称量过程引入的不确定度

对照品称量过程引入的不确定度:根据所使用天平的校准证书,以称量负荷范围的最大允许误差为 $\pm 0.05 \text{ mg}$ ,按矩形分布,包含因子( $k$ )= $\sqrt{3}$ ,故计算标准不确定度 $u_1(\text{Ms}) = 0.05 / \sqrt{3} = 2.887 \times 10^{-2} \text{ mg}$ ;根据使用天平的校准证书,以天平称量重复性的标准偏差为 $0.15 \text{ mg}$ ,按矩形分布, $k = \sqrt{3}$ ,计算标准不确定度 $u_2(\text{Ms}) = 0.15 / \sqrt{3} = 8.660 \times 10^{-2} \text{ mg}$ ;由于对照品称量使用减重法,称量实验室的环境独立,温度和湿度在快速称量期内变化可忽略不计,计算对照品称量过程的标准不确定度 $u(\text{Ms}) = \{2 \times [u_1(\text{Ms})^2 + u_2(\text{Ms})^2]\}^{1/2} = 0.129 \text{ mg}$ ;因此两种特征多肽成分的相对标准不确定度驴源多肽A1  $u_{\text{rel}}(\text{Ms}) = u(\text{Ms}) / 12.96 \text{ mg} = 9.954 \times 10^{-3}$ ,驴源多肽A2  $u_{\text{rel}}(\text{Ms}) = u(\text{Ms}) / 13.20 \text{ mg} = 9.773 \times 10^{-3}$ 。

供试品称量过程引入的不确定度:根据使用天平的校准证书,以称量负荷范围的最大允许误差为 $\pm 0.50 \text{ mg}$ ,重复性的标准偏差为 $1.0 \text{ mg}$ ,按对照品相对标准不确定度计算方法,得 $u_{\text{rel}}(\text{Mt}) = u(\text{Mt}) / (0.1031 \text{ g} \times 10^3) = 8.855 \times 10^{-3}$ 。

#### 2)溶液配制过程引入的不确定度

对照品溶液配制过程引入的不确定度:按三角分布, $k = \sqrt{6}$ ,计算玻璃仪器校准不确定度 $u_{\text{sc}}(\text{V}_x1) = \text{误差} / \sqrt{6}$ ;以实验室环境温度与标准温度偏差温度为 $5 \text{ }^\circ\text{C}$ ,水的体积膨胀系数为 $2.07 \times 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ ,按矩形分布, $k = \sqrt{3}$ ,计算温度不确定度 $u_s(\text{V}_x2) = 2.07 \times 10^{-3} \times V \times 5 / \sqrt{3} \times \text{使用次数}$ ;计算对照品配制过程的标准不确定度 $u_s(\text{V}_x) = [u_s(\text{V}_x1)^2 + u_s(\text{V}_x2)^2]^{1/2}$ 因此对照品配制过程的相对不确定度 $u_{\text{rel}}(\text{Vs}) = \{[u_s(\text{V}_{50}) / 50]^2 + [u_s(\text{V}_{100}) / 100]^2 + [u_s(\text{V}_1) / 1]^2\}^{1/2} = 1.841 \times 10^{-2}$ 。详见表3。

标准曲线溶液配制过程引入的不确定度:按对照

表3 对照品溶液配制过程引入的不确定度

Tab. 3 Uncertainty introduced during the preparation process of the reference solution

玻璃器具(使用次数)	允许误差/mL	$u_{sc}(V_{x1})/mL$	$u_{sc}(V_{x2})/mL$	$u_{sc}(V_x)/mL$
1 mL移液管(2)	±0.005	$4.082 \times 10^{-3}$	$1.195 \times 10^{-2}$	$1.263 \times 10^{-2}$
50 mL容量瓶(2)	±0.05	$4.082 \times 10^{-2}$	0.598	0.599
100 mL容量瓶	±0.1	$4.082 \times 10^{-2}$	0.598	0.599

品溶液配制过程不确定度计算方法,得标准曲线溶液配制过程中的相对不确定度  $u_{rel}(V_{sc}) = \{ [u_{sc}(V_1)/1]^2 + [u_{sc}(V_2)/2]^2 + [u_{sc}(V_5)/5]^2 + [u_{sc}(V_{10})/10]^2 + [u_{sc}(V_{20})/20]^2 + [u_{sc}(V_{25})/25]^2 + [u_{sc}(V_{50})/50]^2 \}^{1/2} = 3.900 \times 10^{-2}$ 。详见表4。

表4 标准曲线溶液配制过程引入的不确定度

Tab. 4 Uncertainty introduced during the preparation process of standard curve solution

玻璃器具(使用次数)	允许误差/mL	$u_{sc}(V_{x1})/mL$	$u_{sc}(V_{x2})/mL$	$u_{sc}(V_x)/mL$
1 mL移液管	±0.005	$2.041 \times 10^{-3}$	$5.976 \times 10^{-3}$	$6.315 \times 10^{-3}$
2 mL移液管	±0.01	$4.082 \times 10^{-3}$	$1.195 \times 10^{-2}$	$1.263 \times 10^{-2}$
5 mL移液管	±0.015	$6.124 \times 10^{-3}$	$2.988 \times 10^{-2}$	$3.050 \times 10^{-2}$
10 mL移液管	±0.03	$1.225 \times 10^{-2}$	$5.976 \times 10^{-2}$	$6.100 \times 10^{-2}$
20 mL移液管	±0.05	$2.041 \times 10^{-2}$	0.120	0.122
25 mL移液管	±0.1	$4.082 \times 10^{-2}$	0.149	0.154
50 mL容量瓶(6)	±0.05	0.122	1.793	1.797

供试品溶液配制过程引入的不确定度:按对照品溶液配制过程不确定度计算方法得供试品溶液配制过程中引入的相对不确定度  $u_{rel}(V_t) = \{ [u_t(V_{50})/50]^2 + [u_t(V_1)/1]^2 + [u_t(V_5)/5]^2 \}^{1/2} = 1.063 \times 10^{-2}$ 。详见表5。

表5 供试品溶液配制过程引入的不确定度

Tab. 5 Uncertainty introduced during the preparation process of the test solution

玻璃器具	允许误差/mL	$u_{sc}(V_{x1})/mL$	$u_{sc}(V_{x2})/mL$	$u_{sc}(V_x)/mL$
1 mL移液管	±0.005	$2.041 \times 10^{-3}$	$5.976 \times 10^{-3}$	$6.315 \times 10^{-3}$
5 mL容量瓶	±0.015	$6.124 \times 10^{-2}$	$2.988 \times 10^{-2}$	$3.050 \times 10^{-2}$
50 mL容量瓶	±0.05	$2.041 \times 10^{-2}$	0.299	0.300

### 3) 含量检测方法及其检测过程引入的不确定度

标准曲线拟合的不确定度:根据标准曲线相关数据(见表6)和公式(1)(2)计算标准曲线拟合相对不确定度  $u_{rel}(P_{A1}) = 7.751 \times 10^{-3}$ ,  $u_{rel}(P_{A2}) = 5.108 \times 10^{-3}$ 。

$$S_L = \sqrt{\sum_{i=1}^n (A_a - A_i)^2 / (n - 2)} \quad (1)$$

$$u_{rel}(P) = \frac{S_L}{b} \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{n} + (\bar{x} - \bar{y})^2 / \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (2)$$

式中,  $S_L$  为曲线的标准偏差;  $n$  为标准曲线工作点个数,  $n = 6$ ;  $A_a$  为标准曲线各工作点浓度的实际响应值;  $A_i$  为根据标准曲线回归方程计算的各工作点浓度

的理论响应值;  $b$  为标准曲线回归方程斜率,  $b_{A1} = 1.039$ ,  $b_{A2} = 0.373$ ;  $P$  为供试品测定次数,  $P = 10$ ;  $\bar{x}$  为供试品浓度的平均值,  $\bar{x}_{A1} = 0.1037$ ,  $\bar{x}_{A2} = 0.1240$ ;  $\bar{y}$  为标准曲线工作点浓度的平均值;  $y_i$  为标准曲线各工作点浓度。

表6 标准曲线相关数据

Tab. 6 Data related to standard curve

特征多肽	质量浓度 (ng/mL)	响应值		特征多肽	质量浓度 (ng/mL)	响应值	
		对照品	供试品			对照品	供试品
驴原多肽A1	47.952	47.256	38.325	驴原多肽A2	50.318	20.037	16.067
	95.904	92.328	88.147		100.636	33.458	34.835
	239.760	234.121	237.614		251.590	88.986	91.141
	479.520	480.857	486.724		503.180	184.752	184.984
	959.040	964.960	984.946		1006.370	378.021	372.674
1198.800	1254.011	1234.056	1257.950	464.790	466.517		

方法重复性的不确定度:根据表1的数据和公式(3)(4)计算标准偏差  $S_{A1} = 4.047 \times 10^{-3}$ ,  $S_{A2} = 5.156 \times 10^{-3}$ ; 则方法重复性标准不确定度  $u_{A1}(R) = S_{A1} / \sqrt{6} = 1.652 \times 10^{-3}$ ,  $u_{A2}(R) = S_{A2} / \sqrt{6} = 2.105 \times 10^{-3}$ ; 因此方法重复性相对不确定度  $u_{rel}(R_{A1}) = u(R) / 0.1076 = 1.536 \times 10^{-2}$ ,  $u_{rel}(R_{A2}) = u(R) / 0.1283 = 1.641 \times 10^{-2}$ 。

$$S = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 / (n - 1)} \quad (3)$$

$$U_{rep}(R) = S / \sqrt{n} \quad (4)$$

式中,  $x_i$  为供试品平行样的含量,  $\bar{x}$  为平均含量,  $n$  为测定次数。

设备的测定不确定度:根据设备的检定证书,以测定相对标准偏差为0.01,按矩形分布,  $k = \sqrt{3}$ , 计算标准不确定度  $u_{rel}(H) = 0.01 / \sqrt{3} = 5.773 \times 10^{-3}$ 。

供试品测量结果重复性引入的不确定度:使用同一设备重复进样10次,根据表7的数据和公式(3)(4)计算标准偏差  $S_{A1} = 9.397 \times 10^{-4}$ ,  $S_{A2} = 1.340 \times 10^{-3}$ ; 则测量结果重复性标准不确定度  $u_{A1}(rep) = S_{A1} / \sqrt{10} = 2.972 \times 10^{-4}$ ,  $u_{A2}(rep) = S_{A2} / \sqrt{10} = 4.238 \times 10^{-4}$ ; 因此测量结果重复性相对不确定度  $u_{rel}(rep_{A1}) = u(rep) / 0.1037 = 2.860 \times 10^{-3}$ ,  $u_{rel}(rep_{A2}) = u(rep) / 0.1240 = 3.418 \times 10^{-3}$ 。

### 4) 合成相对标准不确定度

各分量的不确定度来源相互独立,根据上述结果和公式(5)计算驴原多肽A1合成相对标准不确定度  $u_{crel}$  为  $4.988 \times 10^{-2}$ ; 驴原多肽A2合成相对标准不确定度  $u_{crel}$  为  $4.986 \times 10^{-2}$ 。

### 5) 扩展不确定度

特征多肽含量测定结果符合正态分布,以95%置

$$u_{\text{rel}} = \sqrt{u_{\text{rel}}(\text{Ms})^2 + u_{\text{rel}}(\text{Mt})^2 + u_{\text{rel}}(\text{Vs})^2 + u_{\text{rel}}(\text{Vsc})^2 + u_{\text{rel}}(\text{V}_i)^2 + u_{\text{rel}}(\text{P})^2 + u_{\text{rel}}(\text{R})^2 + u_{\text{rel}}(\text{H})^2 + u_{\text{rel}}(\text{rep})^2} \quad (5)$$

表7 供试品中特征多肽含量测定结果(%)

Tab. 7 Results of content determination of characteristic polypeptide in the test sample (%)

序号	驴原多肽 A1	驴原多肽 A2	序号	驴原多肽 A1	驴原多肽 A2
1	0.1037	0.1222	6	0.1045	0.1239
2	0.1026	0.1248	7	0.1042	0.1262
3	0.1034	0.1223	8	0.1031	0.1253
4	0.1054	0.1230	9	0.1021	0.1250
5	0.1039	0.1232	10	0.1037	0.1242
			$\bar{X}$	0.1037	0.1240

信区间( $k=2$ ),根据阿胶中驴原多肽含量和 $u_{\text{rel}}$ 计算相对扩展不确定度 $u_{A1}=4.998 \times 10^{-2} \times 0.1037\% \times 2=0.01037\%$ ;  $u_{A2}=4.986 \times 10^{-2} \times 0.1240\% \times 2=0.01237\%$ ;即样品中驴原多肽 A1 含量表示为 $(0.1037 \pm 0.01037)\%$ ,驴原多肽 A2 含量表示为 $(0.1240 \pm 0.01237)\%$ 。

### 3 讨论

评定检测数据的不确定度可提升试验数据的准确性和可靠性,降低检验报告的风险,尤其是检验结果处于标准要求临界值或略低于标准限值<sup>[13-15]</sup>的情况。本研究中通过对阿胶中特征多肽含量的不确定度评定可知,其不确定度来源较多,但不确定度值较小。具体分析表明,不确定度最大的为溶液配制过程引入的不确定度,分析原因主要是使用的玻璃器具数量较多,其中大容量器具占比较大,因此可适当优化配制过程。本研究中因水分测定环节烦琐,其不确定度无法精确呈现,且样品平均加样回收率稳定在 $(99.4 \pm 1)\%$ ,不确定度影响较小,故未进行阿胶中水分检测过程及加样回收率的相关评定。后续将优化提取及检测方法,并进行方法学验证和不确定度再次评定,以期对阿胶的质量控制提供依据<sup>[16-20]</sup>。

综上所述,三重四极杆液质联用法测定阿胶中特征多肽 A1 和特征多肽 A2 含量的专属性和重复性良好,精密度高,其不确定度来源较多,其中对照品称量是影响测量结果的主要因素,检验过程中应定期维护设备,选择适宜校准级别的设备,规范操作,以提高其检验检测质量。

### 参考文献

[1] 李素素,王庆其,陈正. 经典名方中阿胶功效及临床运用探析[J]. 中医文献杂志,2023,41(4):26-31.  
[2] 曲媛鑫,付英杰. 阿胶化学成分、质量控制及药理作用研究进展[J]. 特产研究,2023,45(3):136-143.  
[3] 赵艳霞,姜树银,巩丽萍,等. 阿胶糕中驴皮源成分的质量控制研究[J]. 药学研究,2022,41(2):92-95.  
[4] 陈瑛琪,任世利,刘广志,等. 阿胶多肽的组成及功能研究

进展[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2024,55(2):288-294.  
[5] 王莹雪,樊雨梅,廖峰,等. 阿胶活性肽的结构鉴定及活性筛选[J]. 食品科学,2022,43(10):207-213.  
[6] 苏佳丽. 三重四级杆液质联用技术及数据采集模式分析[J]. 山西化工,2022,42(8):53-55.  
[7] 王雪颖,焦玉佩,许丽娜,等. 基于三重四级杆液质联用的大型仪器管理方法探讨[J]. 实验室研究与探索,2020,39(10):277-279.  
[8] WU WJ, LI LF, FUNG HY, et al. Qualitative and Quantitative Analysis of Ejiao - Related Animal Gelatins through Peptide Markers Using LC - QTOF - MS / MS and Scheduled Multiple Reaction Monitoring (MRM) by LC - QQQ - MS / MS [J]. Molecules, 2022, 27(14):4643.  
[9] 褚夏燕,孙梦茹,贾贵华,等. 基于 nano LC - Q - Exactive - MS / MS 技术分析阿胶中的蛋白多肽类物质[J]. 中国中药杂志,2021,46(24):6422-6434.  
[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:197-198.  
[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:114.  
[12] JIF 1059.1-2012, 测量不确定度评定与表示[S].  
[13] 杜晓娟,王冰,谢耀轩,等. 超高效液相色谱-质谱联用技术评价当归养血丸中阿胶投料情况[J]. 中国药理学杂志,2022,57(6):413-419.  
[14] 肖安菊,李董,张正悬,等. HPLC - MS 法测定阿胶益寿口服液驴源多肽的含量[J]. 湖北理工学院学报,2023,39(3):39-43.  
[15] 鲁辉,吴杨,闵春艳,等. 基于 UPLC - MS / MS 的特征多肽识别技术鉴别中成药中的阿胶[J]. 海峡药学,2021,33(5):35-38.  
[16] LI W, WANG YP, ZHANG JB, et al. UPLC - Q - TOF - MS and UPLC - QQQ - MS were used for the qualitative and quantitative analysis of oligosaccharides in Fufang Ejiao Syrup[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2023, 224:115193.  
[17] 谢超,宋美营,王巧宇,等. 乌梢蛇醇溶蛋白质提取工艺优化及其指纹图谱表征[J]. 中成药,2024,46(7):2177-2181.  
[18] 廖伟杰,黄兆翔,高佳敏. 优化液质法测定多种基质中五氯酚残留量[J]. 广州化学,2024,49(3):66-69.  
[19] 杨帅,郑林,迟明艳,等. UPLC - MS / MS 法同时测定阿胶中 18 种核苷、游离氨基酸的含量[J]. 中成药,2024,46(7):2140-2146.  
[20] 李军,罗清义. 聚焦山东阿胶产业构建发展新格局[J]. 食品安全导刊,2021(22):36.

(收稿日期:2024-12-09;修回日期:2025-05-12)