

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.08.012

超高效液相色谱—串联质谱法测定炒货中纽甜含量的不确定度评定

Uncertainty evaluation for the determination of neotame content in roasted seeds and nuts by UPLC-MS/MS method

黄 坤^{1,2} 王会霞^{1,2} 范小龙^{1,2} 郭 嘉³

HUANG Kun^{1,2} WANG Hui-xia^{1,2} FAN Xiao-long^{1,2} GUO Jia³

(1. 湖北省食品质量监督检验研究院, 湖北 武汉 430075; 2. 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心, 湖北 武汉 430075; 3. 绿色化工过程教育部重点实验室, 湖北 武汉 430205)

(1. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan, Hubei 430075, China; 2. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan, Hubei 430075, China; 3. Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, Wuhan, Hubei 430205, China)

摘要:建立了一种测定炒货中纽甜含量的不确定度数学模型,分析了整个检测过程中各种不确定度影响因子并进行评定,确定有关分量并合成不确定度。结果表明,当样品中纽甜含量为 7.69 mg/kg 时,其扩展不确定度为 0.71 mg/kg($k=2$),其中标准储备溶液的配制和测量重复性引入的不确定度影响较大。

关键词:超高效液相色谱—串联质谱法;炒货;纽甜;不确定度

Abstract: To analyse and evaluate the uncertainty in the determination of neotame content in roasted seeds and nuts by UPLC-MS/MS. A mathematical model of uncertainty in the determination of neotame content in roasted seeds and nuts was established, various factors of uncertainty in the whole determination process were studied and evaluated, the components of uncertainty in the method were confirmed and composed. The results showed that the expanded uncertainty was 0.71 mg/kg ($k=2$) when the neotame content was 7.69 mg/kg, which was greater caused by preparation of standard stock solution and repeatability of determination.

Keywords: UPLC-MS/MS; roasted seeds and nuts; neotame; uncertainty

基金项目:国家自然科学基金青年基金(编号:21503152);国家重点研发计划重点专项(编号:2018YFC1604000)

作者简介:黄坤,男,湖北省食品质量监督检验研究院工程师,硕士。

通信作者:王会霞(1973—),女,湖北省食品质量监督检验研究院高级工程师,硕士。E-mail:972567848@qq.com

收稿日期:2019-02-13

纽甜属于新型的强力功能性甜味剂,甜度约为蔗糖的 12 000 倍,其能量低、甜味柔和、无明显异味,且高温条件下稳定性能十分优异,因此被广泛应用于各类食品的生产过程中^[1-4],以改善口感和风味。测量不确定度是指根据所用到的信息表征赋予被测量值分散性的非负参数,是与测量结果紧密相关的参数,因此完整的测量结果应同时包含被测量值及其测量不确定度^[5]。目前食品中纽甜含量的测定大多采用高效液相色谱法,关于其不确定度的评定较少^[6-8],而采用超高效液相色谱—串联质谱法测定结果的不确定度评定更少。为评估此方法的不确定度,研究拟参考相关文献^[9-11],以已添加纽甜的市售葵花籽阳性样品为例,对炒货中纽甜的测定不确定度进行分析评定,确定有关不确定度分量的贡献,在实际检测过程中可对重点过程进行控制,以此保证测定结果的准确度和可信度,同时为其他甜味剂测定结果的不确定度评定提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

纽甜:≥98.0%,有效期至 2020 年 4 月,德国 DR 公司;

炒货:实验室抽检样品,包括市售瓜子、坚果和果仁等。

乙酸锌、亚铁氰化钾:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

乙腈、甲醇、甲酸:色谱纯,德国 Merck 公司;

超纯水:电导率≤0.055 μS/cm,25 °C,自制;

1.2 仪器与设备

超高效液相色谱—串联质谱仪: TQS 型, 美国 Waters 公司;

电子天平: ME2002E 和 XS204 型, 梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

翻转混匀器: Trayster 型, 德国 IKA 公司;

超声波清洗仪: P300H 型, 德国 Elma 公司;

高速离心机: Allegra X 型, 美国 Beckman Coulter 公司;

全自动固相萃取系统: Preval SPE 6S 型, 北京普立泰科仪器有限公司;

C₁₈ 固相萃取柱: Sep-pak 型(6 mL、500 mg), 美国 Waters 公司;

氮吹仪: N-EVAPTM112 型, 美国 Organomation 公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理 称取样品 10 g 左右置于 50 mL 离心管中, 加入约 30 mL 水, 翻转混合 0.5 min, 于 50 °C 水浴条件超声处理 10 min, 冷却后加乙酸锌溶液和亚铁氰化

钾溶液各 2 mL, 混匀, 于 4 000 r/min 离心 5 min, 转移上清液至 50 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 混匀后过滤待用。准确移取 10 mL 滤液通过固相萃取柱, 待液面降至柱床时, 用 5 mL 水淋洗, 弃去流出液, 再用 6 mL 甲醇分两次洗脱并收集净化液至离心管中, 于 40 °C 水浴中氮吹至干, 准确移取 2 mL 初始比例流动相涡旋复溶 0.5 min, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 续滤液视实际情况稀释一定倍数后供超高效液相色谱串联质谱仪分析。

1.3.2 液相色谱条件 C₁₈ 色谱柱: 50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm; 流动相: 0.1% 的甲酸水—乙腈, 流速 0.3 mL/min; 梯度分析程序: 0~0.3 min, 乙腈 5%; 0.3~0.8 min, 乙腈 5% 升至 65%; 0.8~3.2 min, 乙腈 65% 升至 95%; 3.2~3.3 min, 乙腈 95%; 3.3~3.4 min, 乙腈 95% 降至 5%; 3.4~5.0 min, 乙腈 5%; 柱温 40 °C; 进样量 2 μL。

1.3.3 质谱参数 选择 ESI 离子源负离子模式, 电喷雾电压 2.50 kV, 脱溶剂气流量 700 L/h, 锥孔气流量 50 L/h, 离子源温度 150 °C, 脱溶剂气温度 350 °C。多反应监测扫描(MRM)采集参数见表 1。

表 1 纽甜的质谱采集参数[†]

Table 1 Acquisition parameters of neotame for UPLC-MS/MS

化合物	母离子(<i>m/z</i>)	锥孔电压/V	子离子(<i>m/z</i>)	碰撞能量/eV	离子化方式
纽甜	377.7	36	200.1 [*] , 230.1	17, 15	ESI ⁻

[†] * 定量离子。

1.3.4 数学模型的建立 样品中纽甜的含量按式(1)计算。

$$X = \frac{C \times V \times 5}{m \times 1\,000} \times \frac{1}{R}, \quad (1)$$

式中:

X——样品中纽甜的含量, mg/kg;

C——样品溶液的浓度, ng/mL;

V——样品定容体积, mL;

m——样品的称样质量, g;

$\frac{1}{R}$ ——回收率校正因子。

2 不确定度的评定与合成

2.1 不确定度来源分析

从式(1)结合实际测定过程可知, 纽甜测定结果不确定度 $u_{\text{rel}}(X)$ 的主要来源包括: ① 样品溶液浓度引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(C)$; ② 样品溶液定容及稀释引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(V)$; ③ 样品称样过程引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(m)$; ④ 测量重复性引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(x)$; ⑤ 回收率引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(R)$ 。

2.2 不确定度评定

2.2.1 样品称样过程引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(m)$

其不确定度主要来源于重复性和天平的校准。

(1) 重复性引入的不确定度 $u_1(m)$: 根据相关校准证书可知扩展不确定度 $U = 0.2 \text{ mg} (k = 2)$, 转化为标准不确定度为 $u_1(m) = \frac{0.2 \times 10^{-3}}{2} = 0.000 10 \text{ g}$ 。

(2) 校准引入的不确定度 $u_2(m)$: 根据相关说明书可知误差为 $\pm 0.5 \text{ mg}$, 按照矩形分布, $k = \sqrt{3}$ 。称量过程需进行 2 次, 则标准不确定度为 $u_2(m) = \frac{\sqrt{2} \times 0.000 5}{\sqrt{3}} = 0.000 41 \text{ g}$ 。

试验中样品的平均称样量为 10.012 5 g, 因此由样品称量引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(m) = \frac{\sqrt{u_1^2(m) + u_2^2(m)}}{10.012 5} = 0.000 04。$$

2.2.2 样品溶液浓度引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C)$

其不确定度主要来源于标准溶液配制和标准曲线拟合。前者包括储备液的配制、储备液的稀释和标准系列溶液制备 3 个过程。

(1) 标准储备溶液的配制引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_1)$: 准确称取 11.5 mg 纽甜标准品 ($\geq 98.0\%$), 用超纯水超声溶解并定容至 100 mL, 即得浓度为 112.7 μg/mL 的纽甜标准储备溶液。

① 纯度引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_{1a})$: 查询标

准品相关证书,可知纽甜纯度误差为±0.2%,采用矩形分布处理,则 $u_{rel}(C_{1a}) = \frac{0.2\%}{\sqrt{3} \times 99.0\%} = 0.00118$ 。

② 标准品称量引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(C_{1b})$:由 2.2.1 可知由称量产生的不确定度为 $u_{rel}(C_{1b}) = \frac{\sqrt{u_1^2(m) + u_2^2(m)}}{0.0115} = 0.03653$ 。

③ 标准储备溶液定容引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(C_{1c})$:按照 JJG 196—2006《常用玻璃量器》规定,20℃ 时 100 mL A 级单标容量瓶容量允差为±0.10 mL,按矩形分布计算,其标准不确定度为 $\frac{0.10}{\sqrt{3}} = 0.05774$ mL。

试验过程中虽有中央空调控温,但由于各种原因环境温度很难保证在 20℃ 一成不变,设定室温在(20±2)℃ 之间波动。已知水(初始比例流动相构成与其接近)的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$,按照矩形分布考虑, $k = \sqrt{3}$,定容过程中 100 mL 容量瓶由于环境温度变化产生的标

准不确定度为 $\frac{100 \times 2 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 0.02425$ mL。则由

定容产生的相对标准不确定度为 $u_{rel}(C_{1c}) = \frac{\sqrt{0.05774^2 + 0.02425^2}}{100} = 0.00063$ 。

因此,由标准储备溶液配制引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(C_1) = \sqrt{u_{rel}^2(C_{1a}) + u_{rel}^2(C_{1b}) + u_{rel}^2(C_{1c})} = \sqrt{0.00118^2 + 0.03653^2 + 0.00063^2} = 0.03655$$

(2) 标准储备溶液的稀释引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(C_2)$:用 1 mL 单标线吸量管(A 级)吸取标准储备溶液 1 mL 于 100 mL 单标线容量瓶(A 级)中,用超纯水定容至刻度,混匀,即得浓度为 1.127 μg/mL 中间储备液;用 1 mL 吸量管吸取中间储备液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中,即得浓度为 112.7 ng/mL 的标准使用溶液。采用矩形分布,各量具及温度影响引入的不确定度见表 2。

表 2 标准储备溶液稀释引入的不确定度

Table 2 Uncertainty from the dilution of stock solution

来源	容量误差			温度误差			合成不确定度	相对合成不确定度	
	容量允差/mL	计算方式	不确定度/mL	温度波动/℃	水体积膨胀系数/℃ ⁻¹	计算方式			不确定度/mL
1 mL 单标线吸量管	±0.007	0.007/√3	0.00404	±2	2.1×10 ⁻⁴	$\frac{2.1 \times 10^{-4} \times 2 \times 1}{\sqrt{3}}$	0.00024	0.00405	0.00405
100 mL 容量瓶	±0.100	0.100/√3	0.05774	±2	2.1×10 ⁻⁴	$\frac{2.1 \times 10^{-4} \times 2 \times 100}{\sqrt{3}}$	0.02425	0.06263	0.00063
10 mL 容量瓶	±0.020	0.020/√3	0.01155	±2	2.1×10 ⁻⁴	$\frac{2.1 \times 10^{-4} \times 2 \times 10}{\sqrt{3}}$	0.00243	0.01180	0.00118

故溶液稀释引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(C_2) = \sqrt{2 \times 0.00405^2 + 0.00063^2 + 0.00118^2} = 0.00588$$

(3) 标准系列溶液配制过程引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(C_3)$:用 1 mL 分度吸量管(A 级)分别吸取标准使用溶液(112.700 ng/mL) 0.5, 1.0 mL 于 10 mL 单标线容量瓶(A 级)中,用超纯水定容至刻度,摇匀,分别得到 5.635, 11.270 ng/mL 的标准工作溶液;用 2 mL 单标线吸量管(A 级)吸取标准使用溶液 2 mL 于 10 mL 单标线容量瓶(A 级)中,用超纯水定容至刻度,摇匀,即得

$$u_{rel}(C_3) = \sqrt{0.00924^2 + 0.00463^2 + 0.00290^2 + 0.00482^2 + 0.00290^2 + 0.00362^2 + 6 \times 0.00118^2} = 0.01297$$

(4) 曲线拟合带来的相对标准不确定度 $u_{rel}(C_4)$:分别取以上 7 种不同浓度的标准工作溶液各进样 1 次,以系列标准溶液的浓度 C 对色谱峰面积作曲线,采用线性最小二乘法拟合得到回归方程 $Y = A_1 C + A_2$ (A_1 为斜率, A_2 为截距),测定数据及计算结果如表 4 所示。由 2.2.1、2.2.3 和

22.540 ng/mL 的标准工作溶液;用 5 mL 分度吸量管(A 级)分别吸取标准使用溶液 3, 5 mL 于 10 mL 单标线容量瓶(A 级)中,用超纯水定容至刻度,摇匀,分别得到 33.810, 56.350 ng/mL 的标准工作溶液;用 10 mL 分度吸量管(A 级)吸取标准使用溶液 8 mL 于 10 mL 单标线容量瓶(A 级)中,用超纯水定容至刻度,摇匀,即得 90.160 ng/mL 的标准工作溶液;直接将标准使用溶液作为 112.700 ng/mL 的工作溶液。

故由系列溶液配制引入的相对标准不确定度为:

2.2.4 可知测定液平均浓度 C_0 为 72.189 ng/mL,则由标准曲线拟合所产生的标准不确定度为:

$$u(C_4) = \frac{s_R}{A_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}}, \quad (2)$$

表 3 标准系列溶液制备引入的不确定度

Table 3 Uncertainty from the preparation of series standard solutions

来源	容量误差				温度误差				合成不 确定度	相对合成 不确定度
	吸取/定 容体积	容量 允差	计算 方式	不确定 度/mL	温度波 动/°C	水体积膨胀 系数/°C ⁻¹	计算方式	不确定 度/mL		
1 mL 分度 吸量管	0.5,1.0	±0.008	0.008/√3	0.004 62	±2	2.1×10 ⁻⁴	$\frac{2.1 \times 10^{-4} \times 2 \times 0.5}{\sqrt{3}}$	0.000 12	0.004 62	0.009 24
							$\frac{2.1 \times 10^{-4} \times 2 \times 1}{\sqrt{3}}$	0.000 24	0.004 63	0.004 63
2 mL 单标 线吸量管	2	±0.010	0.010/√3	0.005 77	±2	2.1×10 ⁻⁴	$\frac{2.1 \times 10^{-4} \times 2 \times 2}{\sqrt{3}}$	0.000 48	0.005 79	0.002 90
							$\frac{2.1 \times 10^{-4} \times 2 \times 3}{\sqrt{3}}$	0.000 73	0.014 45	0.004 82
5 mL 分度 吸量管	3,5	±0.025	0.025/√3	0.014 43	±2	2.1×10 ⁻⁴	$\frac{2.1 \times 10^{-4} \times 2 \times 5}{\sqrt{3}}$	0.001 21	0.014 48	0.002 90
							$\frac{2.1 \times 10^{-4} \times 2 \times 8}{\sqrt{3}}$	0.001 94	0.028 94	0.003 62
10 mL 容 量瓶	10	±0.020	0.020/√3	0.011 55	±2	2.1×10 ⁻⁴	$\frac{2.1 \times 10^{-4} \times 2 \times 10}{\sqrt{3}}$	0.002 42	0.011 80	0.001 18

表 4 标准曲线结果

Table 4 Results of standard curve

浓度 C/ (ng·mL ⁻¹)	平均峰面积 Y/mV	线性回归方程	相关系数 R ²
5.635	10 025.15	Y=1 791.4C-175.1	0.999 9
11.270	20 503.61		
22.540	41 025.58		
33.810	60 495.77		
56.350	101 541.30		
90.160	160 153.26		
112.700	203 065.49		

式中:

s_R ——标准溶液峰面积残差的标准差, $s_R =$

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [Y_i - (A_1 C_i + A_2)]^2}{n - 2}} = 975.41;$$

A_1 ——标准曲线的斜率, 1 791.4;

A_2 ——标准曲线的截距, -175.1;

p ——对 C_0 的测定次数, $p=6$;

n ——标准工作溶液的测试次数, $n=7$;

\bar{C} ——标准系列溶液的平均浓度, $\bar{C} = \frac{\sum_{i=1}^n C_i}{n} =$

$$47.495 \text{ ng/mL}, (C_0 - \bar{C})^2 = 609.79, \sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2 = 10.025。$$

由式(2)计算可得, $\mu(C_4) = 0.331\ 36 \text{ ng/mL}$ 。因此由标准曲线拟合所产生的相对标准不确定度为

$$u_{\text{rel}}(C_4) = \frac{u(C_4)}{C_0} = 0.004\ 59。$$

(5) 斜率和截距引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_5)$: 根据 JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》的有关规定,标准曲线的斜率 A_1 引入的标准不确定度 $u_1(C_5) =$

$$\frac{s_R}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}} = 9.741\ 96, \text{ 其灵敏系数 } c_{A_1} = -\frac{\bar{Y} - A_2}{A_1^2} = -0.026\ 62; \text{ 标准曲线的截距 } A_2 \text{ 引入的标准}$$

$$\text{不确定度 } u_2(C_5) = s_R \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{C}^2}{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}} =$$

$$591.612\ 09, \text{ 其灵敏系数 } c_{A_2} = -\frac{1}{A_1} = -0.000\ 56; \text{ 则由}$$

$$\text{标准曲线的斜率和截距引入的标准不确定度为 } u(C_5) = \sqrt{9.741\ 96^2 \times (-0.026\ 62)^2 + 591.612\ 09^2 \times (-0.000\ 56)^2} = 0.420\ 73 \text{ ng/mL}。$$

因此由标准曲线的斜率和截距引入的相对标准不确

$$\text{定度 } u_{\text{rel}}(C_5) = \frac{u(C_5)}{C_0} = 0.005\ 83。$$

综上所述,由样品溶液浓度引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(C) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(C_1) + u_{\text{rel}}^2(C_2) + u_{\text{rel}}^2(C_3) + u_{\text{rel}}^2(C_4) + u_{\text{rel}}^2(C_5)} =$$

$$\sqrt{0.036\ 55^2+0.005\ 88^2+0.012\ 97^2+0.004\ 59^2+0.005\ 83^2}=0.039\ 92。$$

2.2.3 样品溶液定容及稀释引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(V)$ 因 2.2.4 中测量重复性引入的标准不确定度已包含样品溶液的定容及稀释过程,故不再另行评定。

2.2.4 测量重复性引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(x)$

取同一样品,按 1.3.1 方法,1.3.2 和 1.3.3 条件对其组甜的含量进行 6 次平行测定($n=6$),结果见表 5。

表 5 重复性试验结果

Table 5 Results of repeatability test

测定次数	组甜含量 $X/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	测定次数	组甜含量 $X/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$
1	7.25	5	7.76
2	6.77	6	6.95
3	7.34	平均值	7.21
4	7.19		

按 JJF 1059.1—2012 规定,采用极差法可知单次测定

$$\text{的标准偏差 } s(X) = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1} = 0.292\ 49\ \text{mg/kg},$$

$$\text{则标准不确定度 } u(x) = \frac{s(X)}{\sqrt{n}} = \frac{0.292\ 49}{\sqrt{6}} = 0.159\ 75\ \text{mg/kg},$$

$$\text{因此由测量重复性引入的相对标准不确定度 } u_{rel}(x) = \frac{u(x)}{\bar{X}} = \frac{0.159\ 75}{7.21} = 0.022\ 16。$$

2.2.5 回收率引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(R)$ 取阴性样品,按 11.270 mg/kg 的添加水平进行加标回收试验,测定 9 次,回收率(R)的测定结果分别为 91.89%, 92.62%, 95.49%, 93.17%, 93.02%, 94.62%, 92.11%, 94.69%, 96.28%(平均回收率 $\bar{R} = 93.77\%$),应用贝塞尔公式可知单次测定回收率的标准偏差 $s(R) =$

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (R_i - \bar{R})^2}{n-1}} = 0.013\ 35, \text{ 则标准不确定度}$$

$$u(R) = \frac{s(R)}{\sqrt{n}} = \frac{0.013\ 35}{\sqrt{9}} = 0.004\ 45, \text{ 因此由测量重复性}$$

引入的相对标准不确定度:

$$u_{rel}(R) = \frac{u(R)}{\bar{R}} = \frac{0.004\ 45}{93.77\%} = 0.004\ 75。$$

为了确定回收率是否计入组甜含量的计算中,对平均回收率 \bar{R} 与期望值 1 进行显著性检验: $t = \frac{|1-\bar{R}|}{u(R)} = \frac{|1-0.937\ 7|}{0.004\ 45} = 14.008 > t(0.05, 8) = 2.306$, 说明 \bar{R} 与 1 具有明显性差异,所以计算结果有必要采用回收率进行修正。

2.3 合成相对标准不确定度

样品称样量、样品溶液的浓度、测量重复性和回收率等分量彼此之间相互独立,将各不确定度分量合成,即得组甜测定结果的合成相对标准不确定度:

$$u_{rel}(X) = \sqrt{u_{rel}(m)^2 + u_{rel}(C)^2 + u_{rel}(x)^2 + u_{rel}(R)^2} = \sqrt{0.000\ 04^2 + 0.039\ 92^2 + 0.022\ 16^2 + 0.004\ 75^2} = 0.045\ 90。$$

各相对标准不确定度分量的贡献值见图 1。

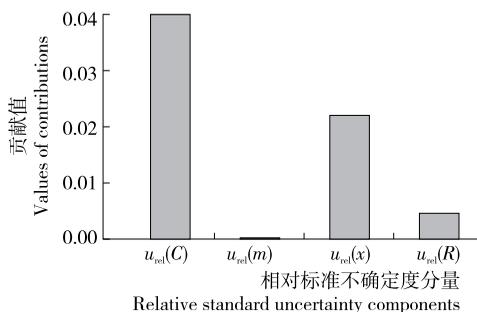


图 1 各相对标准不确定度分量的贡献

Figure 1 Contributions of relative standard uncertainty components

2.4 扩展不确定度

依据 JJF 1135—2005《化学分析测量不确定度评定》,取包含因子 $k=2$ (置信概率 $P \approx 95\%$) 衡量,采用回收率对结果进行修正,则扩展不确定度 $U(X) = \frac{u_{rel}(X) \times \bar{X} \times 2}{\bar{R}} = \frac{0.045\ 90 \times 7.21 \times 2}{0.937\ 7} = 0.71\ \text{mg/kg}。$

3 测量结果及其不确定度报告

用超高效液相色谱—串联质谱法测定炒货中组甜的含量,测定结果为 $X = (7.69 \pm 0.71)\ \text{mg/kg}, k=2。$

4 结论

研究采用超高效液相色谱—串联质谱法测定炒货中组甜的含量,结果符合相关国标规定的误差要求,不确定度评定过程合理有效。通过分析可知,影响组甜的测定结果不确定度的因素主要为样品溶液浓度和测量重复性,其次为测量回收率和样品称样量;进一步分析可知样品溶液浓度因素中贡献较大的分量为标准储备溶液的配制和标准曲线的制备。因此在实际检测过程中要尤其关注标准溶液的相关操作过程和样品重复性测定等关键环节,通过增加标准物质的称样量、使用准确度更高的量器、增加平行样品的测定次数、尽量提高测量回收率等措施,同时确保人员操作的规范性和一致性,以此减小测量不确定度,从而保证检测结果的准确性和可靠性。

(下转第 72 页)

- [4] XIE Li-juan, YAO Yang, YING Yi-bin. The application of terahertz spectroscopy to protein detection: A review [J]. Applied Spectroscopy Reviews, 2014, 4(6): 448-461.
- [5] KIKUCHI N, TANNO T, WATANABE M, et al. A membrane method for terahertz spectroscopy of amino acids [J]. Analytical Sciences, 2009, 25(3): 457-459.
- [6] KUTTERUF M R, BROWN C M, IWAKI L K, et al. Terahertz spectroscopy of short-chain polypeptides [J]. Chemical Physics Letters, 2003, 375(3/4): 337-343.
- [7] 于斌, 黄振, 王晓燕, 等. 烟酸和烟酰胺及烟碱的太赫兹光谱研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(9): 2 334-2 337.
- [8] 马微, 程丽, 单艺, 等. 太赫兹科学技术在食品质量安全领域的应用研究进展 [J]. 肉类研究, 2015, 29(11): 39-43.
- [9] 杨东, 苑江浩, 常青, 等. 太赫兹光谱技术在储粮品质检测中的应用 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(4): 823-829.
- [10] 李天莹, 蒋玲, 章龙, 等. 太赫兹光谱技术在食品添加安全领域的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 359-363.
- [11] KAWASE K, OGAWA Y, WATANABE Y. Non-destructive terahertz imaging of illicit drugs using spectral fingerprints [J]. Optics Express, 2003, 11(20): 2 549-2 554.
- [12] QUERRY M R, WIELICZKA D M, SDGELATEIN D J, et al. Handbook of optical constants of solids II [M]. San Diego: Elsevier Science, 1991: 1 059-1 077.
- [13] HOSHINA H, HAYASHI A, MIYOSHIO N, et al. Terahertz pulsed imaging of frozen biological tissues [J]. Applied Physics Letters, 2009, 94(12): 123.
- [14] MURAKAMI H, TOYOTA Y, NISHII T, et al. Terahertz absorption spectroscopy of protein-containing reverse micellar solution [J]. Chemical Physics Letters, 2012, 519/520(1): 105-109.
- [15] NIEHUES G, HEYDEN M, SCHIMIDT D A, et al. Exploring hydrophobicity by THz absorption spectroscopy of solvated amino acids [J]. Faraday Discussions, 2011, 150(5): 193-207.
- [16] 韩雪, 苏波, 张存林. 一种太赫兹微流控芯片 [J]. 太赫兹科学与电子信息学报, 2015, 13(4): 536-539.
- [17] NAGAI M, YADA H, ARIKAWA T, et al. Terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy in water and biological solution [J]. International Journal of Infrared and Millimeter Waves, 2006, 27(4): 505-515.
- [18] SHIRAGA K, OGAWA Y, KONDO N, et al. Evaluation of the hydration state of saccharides using terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy [J]. Food Chemistry, 2013, 140(1/2): 315-320.
- [19] 林少耕. 甘氨酸连续化生产工艺研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2003: 22-25.
- [20] 林玲, 朱占元, 王兰. 基于激光拉曼光谱的甘氨酸水溶液定量分析方法研究 [J]. 广东化工, 2019, 46(2): 92-93.
- [21] 王传岭, 于敏, 张雅倩. 原子吸收分光光度法间接测定甘氨酸的研究 [J]. 山东化工, 2019, 48(10): 95-96.
- [22] 李国强, 孟建新. 果汁饮料中甘氨酸添加剂的荧光分光光度分析 [J]. 化学研究与应用, 2005, 17(2): 780-782.
- [23] 母丹丹, 龚小见, 赵超, 等. 柱前衍生 HPLC 法测定滚山珠中 3 种氨基酸的含量 [J]. 贵州师范大学学报: 自然科学版, 2018, 36(3): 29-35.
- [24] CHABAN G M, CHABAN B G. Anharmonic vibrational spectroscopy of the glycine-water complex: Calculations for ab initio empirical, and hybrid quantum mechanics/molecular mechanics potentials [J]. The Journal of Chemical Physics, 2001, 115(3): 1 340.

(上接第 68 页)

参考文献

- [1] 魏志勇, 刘颖秋, 余志刚. 组甜的应用及研究进展 [J]. 食品工业科技, 2008, 29(12): 252-255.
- [2] 张金峰, 沈寒晰, 张存社. 新型甜味剂组甜研究进展 [J]. 应用化工, 2010, 39(10): 1 574-1 577.
- [3] 郭跃平, 石梦迪, 徐广伟, 等. HPLC 法测定乳饮料中组甜含量的研究 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(5): 184-186.
- [4] 周玉, 董孝元, 余义, 等. LC-ESI-MS/MS 测定白酒中甜味剂组甜的方法研究 [J]. 食品研究与开发, 2018, 39(10): 143-146.
- [5] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS—GL006: 2019 化学分析中不确定度的评估指南 [S]. 北京: 中国计量出版社, 2019: 7-9.
- [6] 卫星华, 李卓, 张亚锋, 等. 高效液相色谱法测定黄酒中组甜的不确定度评定 [J]. 中国酿造, 2017, 36(10): 167-170.
- [7] 孙洁, 孙立臻, 秦凤姣, 等. 高效液相色谱法测定白酒中组甜含量的不确定度评定 [J]. 酿酒科技, 2017, 37(12): 78-82.
- [8] 祝海珍. HPLC 法测定动物肝脏中维生素 A 含量的不确定度评定 [J]. 食品研究与开发, 2018, 39(7): 160-165.
- [9] 闫顺华, 叶青, 韩璠烜, 等. GC-MS/MS 法测定白酒中 3 种塑化剂含量的不确定度评定 [J]. 食品与机械, 2018, 34(12): 43-48, 78.
- [10] 邵亮亮, 赵美凤, 宁晖, 等. 高效液相色谱法测定小麦中脱氧雪腐镰刀菌烯醇含量的不确定度评定 [J]. 食品科学, 2016, 37(12): 232-237.
- [11] 李涛, 周艳华, 杨滔, 等. UPLC-MS/MS 法测定虾肉中氯霉素残留量的不确定度分析 [J]. 食品与机械, 2017, 33(7): 61-64, 99.