

高效液相色谱法测定乳粉中叶黄素含量 不确定度评定

刘德群, 王 邱, 周铭林*

(广东产品质量监督检验研究院, 佛山 528300)

摘 要: **目的** 评定高效液相色谱法测定乳粉中叶黄素的测量结果的不确定度。**方法** 根据 GB 5009.248—2016《食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定》中的方法检测乳粉中的叶黄素, 分析与量化高效液相色谱法测定乳粉中叶黄素的实验过程, 对标准溶液, 样品前处理, 标准曲线拟合, 仪器重复进样等方面进行不确定度分析, 建立数学模型, 最终合成乳粉中叶黄素含量的不确定度。**结果** 在95%的置信区间下, 乳粉中叶黄素含量的测定结果的扩展不确定度为 $26 \mu\text{g}/100 \text{g}$, 乳粉中叶黄素含量测定结果为 $(194 \pm 26) \mu\text{g}/100 \text{g}$, $k=2$ 。**结论** 在叶黄素含量测定过程中, 最小二乘法拟合标准曲线产生的不确定度在该法中影响最大, 即标准溶液曲线所涉及到的浓度值是影响测量不确定度的主要因素。

关键词: 不确定度; 叶黄素; 高效液相色谱法

Evaluation of the measurement uncertainty in determination of lutein content in milk power by high performance liquid chromatography

LIU De-Qun, WANG Qiu, ZHOU Ming-Lin *

(Guangdong Testing Institute of Product Quality Supervision, Foshan 528300, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty of determination of lutein in milk powder by high performance liquid chromatography. **Methods** According to GB 5009.248—2016 *National food safety standard Determination of lutein in foods*, the lutein in milk powder was detected, the experimental process for the determination of lutein in milk powder by high performance liquid chromatography was analyzed and quantized. The uncertainty analysis of standard solution, sample pretreatment, standard curve fitting, instrument repeated injection and other aspects was carried out to establish mathematical model, and finally the uncertainty of lutein content in synthetic milk powder was synthesized. **Results** Under the 95% confidence interval, the extended uncertainty of the determination of lutein content in milk powder was $26 \mu\text{g}/100 \text{g}$, and the determination result of lutein content in milk powder was $(194 \pm 26) \mu\text{g}/100 \text{g}$, $k=2$. **Conclusion** In the process of lutein content determination, the uncertainty generated by the least-square method fitting the standard curve has the greatest influence in this method, the concentration value involved in the standard solution curve is the main factor affecting the measurement uncertainty.

KEY WORDS: measurement uncertainty; lutein; high performance liquid chromatography

*通信作者: 周铭林, 硕士, 主要研究方向为食品安全检验与风险监测。E-mail: 532944584@qq.com

*Corresponding author: ZHOU Ming-Lin, Master, Guangdong Testing Institute of Product Quality Supervision, Foshan 528300, Guangdong Province, China. E-mail: 532944584@qq.com

0 引言

随着食品检验领域的不断发展, 检测技术逐步提升, 食品检测精确度大幅提高。食品检验工作需要复杂的测量程序, 实验过程中会受到诸多不确定因素的影响, 使检测结果与真实值之间出现一定的误差^[1-2]。食品检测通常需要对检测结果是否符合国家标准规定进行判定。当食品中分析物含量接近国家标准中规定的限量时, 需要借助不确定度对检验结果进行符合性判定。测量不确定度是实验室质量控制的需要, 是实验室认证的需要, 是开发新检测方法的需要^[3]。充分分析不确定度的来源, 可以有效降低实验过程中风险因素的影响, 提高分析结果质量, 保证测量结果的准确性^[4-5]。由于检测受环境、人员操作误差、仪器设备性能局限性等原因, 检测结果存在不确定性, 而测量不确定度是对测量过程中系统效应和随机效应的修正, 是反映检测结果可比性、可信性和可接受性的关键指标, 不确定度越小表明测量结果的使用价值越高。

叶黄素属于类胡萝卜素, 是一种天然、营养和多功能的食品添加剂, 素有“植物黄金”之称^[6]。人体自身不能合成叶黄素, 只能从食物中摄取或额外补充^[7]。叶黄素具有保护视力、增强免疫力、预防人体衰老、抗癌、延缓动脉硬化、修饰紫外线照射对皮肤造成的损伤等功能, 尤其是在预防老年性黄斑区病变方面有一定的功效^[8-11]。婴幼儿配方奶粉能够为母乳偏少或不能提供母乳的妈妈提供便利, 并给宝宝提供充足营养^[12]。国家标准 GB 14880—2012《食品安全国家标准-食品营养强化剂使用标准》^[13]中规定叶黄素在婴儿配方食品中的限量为 300~2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 在较大婴儿和幼儿配方食品中的限量为 1620~4230 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 特殊医学用途婴儿配方食品的限量为 300~2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。因此, 准确测定乳粉中添加的叶黄素含量至关重要。

本研究依据 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定和表示》^[14], 对检测乳粉中叶黄素含量的实验过程进行不确定度评定, 建立数学模型, 分析并量化其中各种来源的不确定度分量, 确定影响乳粉中叶黄素含量检测结果的主要因素, 为改进实验操作和提高结果的可靠性提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

1.1.1 试剂和材料

标准物质: 叶黄素标准品(纯度 97.6%, 北京曼哈格公司)。

环己烷(分析纯, 天津市永大化学试剂有限公司); 乙醚(分析纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 正己烷(色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 无水乙醇(分析纯, 西陇科学股份有限公司); 甲基叔丁基醚(色谱纯, 美国

天地有限公司); 二丁基羟基甲苯(butylated hydroxytoluene, BHT, $\geq 99.0\%$, 美国 Sigma 公司); 氢氧化钾(分析纯, 天津市致远化学试剂有限公司)。

随机选取市售的婴幼儿配方乳粉作为样品。

1.1.2 仪器和设备

LC-20AD XR 高效液相色谱仪(日本 SHIMADZU 公司); JJ500Y 电子天平(常熟市双杰测试仪器厂); ML204 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; UV-1800 紫外可见分光光度计(日本 SHIMADZU 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液的配制

萃取溶剂: 称取 1 g BHT, 以 200 mL 环己烷溶解, 加入 400 mL 乙醚和 400 mL 正己烷, 混匀。

标准储备液: 准确称取 20.00 mg(精确到 0.01 mg)叶黄素, 以 0.1%BHT 醇溶液溶解并定容至 100 mL, 得到 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 叶黄素标准储备液, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存, 有效期为 3 个月, 临用前需进行浓度校正。

标准中间液: 准确移取 1.0 mL 标准储备液, 以 0.1%BHT 乙醇溶液溶解并定容至 100 mL, 得到 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 叶黄素标准中间液, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存。

标准工作溶液: 从叶黄素标准中间液分别准确移取 0.5、1.0、2.0、4.0、5.0 mL 溶液于 10 mL 棕色容量瓶中, 用 0.1%BHT 乙醇溶液定容至刻度, 得到浓度分别为 0.1、0.2、0.4、0.8、1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列标准工作溶液。将系列标准工作溶液和标准中间液分别注入液相色谱中, 每个浓度重复进样 3 次, 测定相应的峰面积, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准工作曲线。

1.2.2 前处理方法

称取 2.00 g(精确到 0.01 g)均匀试样于 50 mL 聚丙烯离心管中, 加入约 0.2 g BHT 和 10 mL 乙醇, 混匀, 加入 10 mL 10%氢氧化钾溶液, 旋涡振荡 1 min 混匀, 室温避光振荡皂化 30 min, 以 10 mL 萃取溶剂避光涡旋振荡提取 3 min, 4500 r/min 离心 3 min, 重复提取 2 次, 合并提取液, 以 10 mL 水洗涤, 4500 r/min 离心 3 min 分层, 重复洗涤 1 次, 合并有机相于室温减压浓缩至近干, 以 0.1% BHT 乙醇溶液涡旋振荡溶解残渣并定容至 5 mL, 过 0.45 μm 滤膜, 供液相色谱上机测定。

1.2.3 样品加标回收率试验前处理方法

在样品中加入 3.40 μg 的标准溶液, 做 6 个平行试验, 按照上述样品前处理方法同步进行提取、净化等步骤后过滤膜上机。选择其中一个样品重复上机测定 6 次, 评定高效液相色谱仪重复进样引入的相对标准不确定度。

1.3 色谱条件

色谱柱: C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)或等效色谱柱; 柱温: 室温; 进样量: 50 μL ; 流速 1.0 mL/min; 流动

相: 甲醇/水(88:12, V:V, 含 0.1% BHT)-甲基叔丁基醚(含 0.1% BHT), 梯度洗脱, 0~18 min, 甲醇/水由 100%变换至 10%, 18.1 min, 甲醇/水由 10%变换至 100%, 保留 10 min; 检测波长 445 nm。

2 结果与分析

2.1 不确定度来源和数学模型

2.1.1 不确定度的来源

分析对样品中叶黄素含量的检测结果有影响的各种不确定度分量来源有以下 4 个方面: 标准溶液配制(包括标准品纯度、校正仪器、天平、容量瓶、移液器、温度等), 样品前处理(包括天平、加标回收率), 标准曲线拟合, 高效液相色谱仪重复进样。

2.1.2 计算公式

高效液相色谱法测定乳粉中叶黄素含量的计算公式为:
$$X = \frac{C \times V \times F \times 100}{m}$$

式中: X -试样中叶黄素含量, $\mu\text{g}/100\text{g}$;

C -从标准工作曲线得到被测组分的浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$;

m -样品称样量, g ;

V -样品最终定容体积, mL ;

F -稀释因子;

100-将结果单位由 $\mu\text{g}/\text{g}$ 换算成 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 的换算系数; 结果保留三位有效数字。

2.2 数学模型

从计算公式和实际试验过程来看, 通过对样品中叶黄素检测操作过程分析, 找出影响叶黄素检测结果的的操作因素, 并建立检测结果和评定不确定度中涉及所有已知输入量间的数学关系, 样品中叶黄素含量数学模型的函数关系表达式为:

$$Y = f\{u_{\text{rel}}(1), u_{\text{rel}}(2), u_{\text{rel}}(3), u_{\text{rel}}(4)\}。$$

式中, $u_{\text{rel}}(1)$ 为标准溶液配制引入的相对标准不确定度; $u_{\text{rel}}(2)$ 为样品前处理引入的相对标准不确定度; $u_{\text{rel}}(3)$ 为标准曲线拟合引入的相对标准不确定度; $u_{\text{rel}}(4)$ 为色谱仪重复进样引入的相对标准不确定度。

2.3 标准溶液配制引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(1)$

2.3.1 标准物质纯度引入的相对标准不确定度

经查询标准品证书, 叶黄素标准品纯度为 97.6%, 扩展不确定度为 $\pm 2.0\%$ ^[15], ($k=2$), 则标准品的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(\text{标品}) = \frac{2.0}{2 \times 97.6} = 0.010246$ 。

2.3.2 标准品校正时仪器的相对标准不确定度

使用分光光度计校正叶黄素标准品, 根据仪器的校准证书, 其扩展不确定度 $U=0.5\%$, 包含因子 $k=2$, 其相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(\text{校正}) = 0.005 / 2 = 0.0025$ 。

2.3.3 标准品称量时天平引入的相对标准不确定度

用万分之一天平称量 20.0 mg 标准品, 检定证书给出最大允许误差为 0.5 mg, 属均匀分布, 标准品称量引入的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(\text{天平}) = \frac{0.5}{\sqrt{3} \times 20} = 0.014434$ 。

2.3.4 标准溶液配制过程中容量瓶引入的相对标准不确定度

标准溶液配制过程中使用 10 mL 容量瓶 5 次。10 mL 容量瓶经检定 A 级, 20 °C 时的最大容量误差为 $\pm 0.020\text{ mL}$, 服从三角分布, 由此引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(10\text{ mL}) = \frac{0.020}{\sqrt{6} \times 10} = 0.0008165。$$

标准溶液配制过程中使用 100 mL 容量瓶 2 次, 100 mL 容量瓶经检定 A 级, 20 °C 时的最大容量误差为 $\pm 0.10\text{ mL}$, 服从三角分布, 由此引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(100\text{ mL}) = \frac{0.10}{\sqrt{6} \times 100} = 0.0004082。$$

因此, 配制标准溶液时容量瓶引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(\text{容量瓶}) = \sqrt{2 \times u_{\text{rel}}(100\text{ mL})^2 + 5 \times u_{\text{rel}}(10\text{ mL})^2} = 0.001915。$$

2.3.5 标准溶液配制过程中移液器引入的相对标准不确定度

标准溶液配制过程中需使用移液器(移液枪和移液管), 配制过程中使用 100~1000 μL 量程移液枪(允许最大误差 $\pm 6.0\ \mu\text{L}$)移取 500 μL 1 次、1000 μL 8 次; 使用 A 级移液管 5 mL(容量允许误差 $\pm 0.025\text{ mL}$)移取 5 mL 1 次, 按均匀分布计算, 标准溶液配制引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(500\ \mu\text{L}) = \frac{6.0}{\sqrt{3} \times 500} = 0.006928；$$

$$u_{\text{rel}}(1000\ \mu\text{L}) = \frac{6.0}{\sqrt{3} \times 1000} = 0.003464；$$

$$u_{\text{rel}}(5\text{ mL}) = \frac{0.025}{\sqrt{3} \times 5} = 0.002887。$$

综上, 标准品配制过程移液枪及移液管引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(\text{移液器}) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(500\ \mu\text{L}) + 8 \times u_{\text{rel}}^2(1000\ \mu\text{L}) + u_{\text{rel}}^2(5\text{ mL})} = 0.012342。$$

2.3.6 标准溶液配制过程中温度变化引起的溶剂体积改变引入的相对标准不确定度

实验室温度在 20 °C ± 5 °C 范围内波动, 玻璃器具受温度波动的影响较小, 可忽略不计, 但温度波动引起溶剂体积的改变需考虑。本次标准储备液和标准工作溶液均由 0.1% BHT 乙醇配制, 20 °C 时 0.1% BHT 乙醇(以乙醇计)的体积膨胀系数(a)为 $1.12 \times 10^{-3} / ^\circ\text{C}$, 相对标准不确定度公式

为 $u_{rel} = \sqrt{n \times \left(\frac{\Delta T \times \alpha}{\sqrt{3}}\right)^2}$, $\Delta T=5^\circ\text{C}$, n 为使用次数。标准溶液

配制的全部过程均由容量瓶、移液枪和移液管完成, 环境温度变化引入的容量瓶、移液枪和移液管中溶剂体积改变的相对标准不确定度见表 1。因此, 环境温度变化引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(\text{溶剂}) = \sqrt{0.004572^2 + 0.004572^2 + 0.009699^2 + 0.003233^2} = 0.012097。$$

表 1 环境温度变化引入的相对标准不确定度
Table 1 Relative standard uncertainty introduced by ambient temperature change

使用器具	使用次数 n	相对标准不确定度 u_{rel}
10 mL 容量瓶	2	0.004572
100 mL 容量瓶	2	0.004572
100~1000 μL 移液枪	9	0.009699
1~5 mL 移液管	1	0.003233

2.3.7 标准溶液配制过程的合成相对标准不确定度

标准溶液配制过程引入的相对标准不确定度主要由标准物质纯度的相对标准不确定度、配制时容量瓶引入的相对标准不确定度、配制时移液枪引入的相对标准不确定度以及环境温度变化时溶剂体积的改变引入的相对标准不确定度这几部分组成。因此标准溶液配制过程的合成相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(1) = \sqrt{u_{rel}^2(\text{标品}) + u_{rel}^2(\text{校正}) + u_{rel}^2(\text{天平}) + u_{rel}^2(\text{容量瓶}) + u_{rel}^2(\text{移液器}) + u_{rel}^2(\text{溶剂})}$$

$$= \sqrt{0.010246^2 + 0.0025^2 + 0.014434^2 + 0.001915^2 + 0.012342^2 + 0.012097^2} = 0.024938。$$

2.4 样品前处理过程引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(2)$

2.4.1 称量样品时天平引入的相对标准不确定度

用百分之一天平称量 2.0 g 样品, 检定证书给出最大允许误差为 0.05 g, 属均匀分布, 样品称量引入的相对标准不确定度为: $u_{rel}(\text{天平}) = \frac{0.05}{\sqrt{3} \times 2.0} = 0.014434。$

2.4.2 样品加标回收率引入的相对标准不确定度

样品前处理方法较为复杂, 需经过提取、净化等多个步骤, 难以对每个环节逐一进行评定, 可通过对样品加标测定其回收率的方式对样品前处理过程进行不确定度评定。经测定, 样品本底质量浓度为 194 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。样品加标回收率的平均值 \bar{R} 的标准不确定度

$$u(\bar{R}) = \frac{S(\bar{R})}{\sqrt{6}} \quad (S(\bar{R}) \text{ 为标准偏差}), \text{ 相对标准不确定度}$$

$$u_{rel}(\text{回收}) = u_{rel}(\bar{R}) = \frac{u(\bar{R})}{\bar{R}} = 0.006644, \text{ 《测量不确定度表示指南》}^{[16]}$$

中要求校正明显的系统误差, 因此应进行 t 检验

$$\text{验(公式为 } S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - (a + bx_i)]^2}{n - 2}} = 455.888) \text{ 以考察平均}$$

回收率 \bar{R} 与 100% 之间的差异是否具有统计学意义, 如果差异具有统计学意义 ($t \geq t_{95,5} = 2.57$), 则需要用回收率校正因子 $f(f=1/\bar{R})$ 校正结果, 应归入到样品质量分数的计算中, 否则不必进行校正。样品加标回收率、相对标准不确定度和 t 检验结果见表 2。

2.4.3 样品前处理过程引入的合成相对标准不确定度

样品前处理过程引入的不确定度主要由称量样品时天平引入的不确定度和样品加标回收试验引入的不确定度两部分组成。因此, 样品前处理过程引入的合成相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(2) = \sqrt{u_{rel}^2(\text{天平}) + u_{rel}^2(\text{回收})} = \sqrt{0.014434^2 + 0.006762^2} = 0.015939。$$

表 2 6 次平行试验的加标回收率、不确定度和 t 检验结果

Table 2 Recoveries, uncertainty and t -test results of samples in six parallel experiments

样品	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6
样品加标回收率/%	91.7	94.0	94.6	91.7	94.0	91.1
回收率平均值 $\bar{R}/\%$	92.9					
标准偏差 $S(\bar{R})$	0.015110					
标准不确定度 $u(\bar{R})$	0.006169					
相对标准不确定度 $u_{rel}(\bar{R})$	0.006644					
t 检验结果	11.6					

2.5 最小二乘法拟合标准曲线时引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(3)$

标准曲线拟合的不确定度由标准系列溶液进行测定得到。标准曲线拟合时的不确定度公式^[17]为:

$$u_{(c_0)} = \frac{S}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}},$$

其中 S 为标准曲线的标准

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - (a + bx_i)]^2}{n - 2}},$$

偏差, 公式为:

b 为线性回归方程的斜率, $b=244056$, p 为样品平行测定的次数, $p=6$; n 为标准曲线每个浓度点测定的总次数, $n=18$; C_0 为样品的平均浓度, $\mu\text{g/mL}$; \bar{C} 为所有标准溶液的质量浓度平均值, $\bar{C}=0.75 \mu\text{g/mL}$; 相对标准不确定度 $u_{rel}(3) = u_{rel}(c_0) = \frac{u(c_0)}{c_0}$, 峰面积 Y 与浓度的线性关系见表 3, 加标样品的峰面积经过线性回归方程计算后得到的质量浓度 C 以及对应的不确定度见表 4。

2.6 高效液相色谱仪重复进样引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(4)$

高效液相色谱仪引入的不确定度由峰面积平均值的相对标准不确定度表示。样品进行重复 6 次进样, 自动积分峰面积分别为: 198512、197437、198015、196998、197865、197589, 6 次重复进样得到的峰面积见表 5。峰面积平均值 $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = 197736$, 标准偏差

$$s(\bar{x}) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} = 520.059997; \text{ 标准不确定度}$$

$$u(\bar{x}) = \frac{S(\bar{x})}{\sqrt{6}} = 212.313605,$$

$$\text{相对标准不确定度 } u_{rel}(4) = u_{rel}(\bar{x}) = \frac{u(\bar{x})}{\bar{x}} = 0.001074。$$

2.7 合成相对标准不确定度 u_{rel}

综上所述, 高效液相色谱法测定食品乳粉中叶黄素含量的相对标准不确定度由标准溶液配制过程引入的合成相对标准不确定度 $u_{rel}(1)$ 、样品前处理过程引入的合成相对标准不确定度 $u_{rel}(2)$ 、标准曲线拟合时引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(3)$ 和高效液相色谱仪重复进样引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(4)$ 这 4 个主要部分构成, 合成相对不确定度为:

$$u_{rel} = \sqrt{u_{rel}^2(1) + u_{rel}^2(2) + u_{rel}^2(3) + u_{rel}^2(4)} = 0.066921。$$

2.8 扩展不确定度

一般情况下, 检测结果取包含因子 $k=2$, 置信区间 95%, 表明被测量值的大约 95% 概率可望包含于此区间, 则扩展不确定度 $U = U_{rel} \times k \times C_0$ (C_0 为被测样品含量的平均值), 因此, 乳粉样品中叶黄素含量的扩展不确定度 $U = U_{rel} \times k \times C_0 = 0.066921 \times 2 \times 194 = 26 \mu\text{g}/100 \text{g}$, 检测结果表述乳粉样品中叶黄素含量 $X = (194 \pm 26) \mu\text{g}/100 \text{g}$, $k=2$ 。

表 3 标准溶液的浓度-峰面积对应表

Table 3 Concentration-peak area of standard solutions

浓度 $X_i/(\mu\text{g/mL})$	0.1	0.2	0.4	0.8	1.0	2.0
峰面积, Y						
$Y1$	24284	49186	99166	197121	246145	488201
$Y2$	24226	49150	99231	197508	246055	488093
$Y3$	24300	49420	99908	198078	246340	488381
平均值	24270	49252	99435	197569	246180	488225
线性回归方程	$Y = bX + a, R^2 = 0.9999$					
斜率 b 为	244056					
截距 a 为	1113.2					

表 4 样品加标的含量结果和相对标准不确定度

Table 4 Content results and relative standard uncertainty of spiked sample

	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6
样品浓度/ $(\mu\text{g/g})$	3.48	3.52	3.53	3.48	3.52	3.47
样品浓度平均值 $C_0/(\mu\text{g/g})$	3.50					
标准不确定度 $u(c_0)$	0.210039					
相对标准不确定度 $u_{rel}(c_0)$	0.060011					

3 结论与讨论

通过分析与量化高效液相色谱法测定奶粉中叶黄素的实验过程, 对标准物质、样品前处理、标准曲线拟合、测量重复性等方面进行不确定度分析。结果表明, 在测定过程中, 最小二乘法拟合曲线引入的不确定度影响最大, 即标准溶液曲线所涉及到的浓度值是影响测量不确定度的主要因素, 其次是标准溶液配制过程以及样品前处理过程引入的不确定度, 高效液相色谱重复进样引入的相对标准不确定度影响最小。因此, 在样品测定过程中, 应选择合适的标准溶液浓度制作标准曲线, 在确保样品定量准确度的情况下, 适量减少标准溶液的梯度浓度数量以降低不确定度, 在实际检测中应选择纯度较高的标准品, 针对标准物质的不同性质, 选择购买质量稳定的标准品。严格做好仪器的定期校准和检定, 加强仪器维护, 尽量减少微量溶液的移取偏差, 在实际检测中, 通过增加标准溶液测定次数, 增加平行样品测定来减少不确定度。同时, 在测定过程中需不断优化分析检测方法, 包括前处理过程与仪器方法等, 提高检测结果的可靠性, 从而提高检验的准确性。

参考文献

- [1] 赵军. 食品检验检测的质量控制及细节问题分析[J]. 食品安全导刊, 2019, (11): 34-35.
ZHAO J. Quality control and detail analysis of food inspection and testing [J]. Chin Food Saf Magaz, 2019, (11): 34-35.
- [2] 黄轩. 食品企业检验检测的质量控制及细节问题分析[J]. 食品安全导刊, 2018, 221(30): 125.
HUANG X. Quality control and detail analysis of inspection and testing in food enterprises [J]. Chin Food Saf Magaz, 2018, 221(30): 125.
- [3] 翟洪稳, 范素芳, 王娟, 等. 测量不确定度在食品检验中的应用及进展[J]. 食品科学: 1-14. [2020-05-28]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode>
ZHAI HW, FAN SF, WANG J, *et al.* Application and progress of measurement uncertainty in food inspection [J]. Food Sci : 1-14. [2020-05-28]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode>
- [4] CNAS-GL05 2011 测量不确定度要求的实施指南[S].
CNAS-GL05 2011 Guidelines for the implementation of measurement uncertainty requirements [S].
- [5] CNAS-CL 01-A002 检测和校准实验室能力认可准则在化学检测领域的应用说明[S].
CNAS-CL 01-A002 Description of the application of the accreditation criteria for testing and calibration laboratories in the field of chemical testing [S].
- [6] MORA-GUTIERREZ A, ATTAIE R, NÚEZ-DEGONZÁLEZ MT, *et al.* Complexes of lutein with bovine and caprine caseins and their impact on lutein chemical stability in emulsion systems: Effect of arabinogalactan [J]. J Dairy Sci, 2018, 101(1): 18-27.
- [7] Elena G, Loredana Q. Lutein, zeaxanthin and mammalian development: Metabolism, functions and implications for health [J]. Arch Biochem

- Biophys, 2018, 647: 33-40.
- [8] 孟祥河, 毛忠贵, 潘秋月. 叶黄素的保健功能[J]. 亚热带植物科学, 2002, 31(4): 5-9.
MENG XH, MAO ZG, PAN QY. Health care function of lutein [J]. Subtrop Plant Sci, 2002, 31(4): 5-9.
- [9] DACHTLER M, GLASER T, KOHLER K, *et al.* Combined HPLC-MS and HPLC-NMR on-line coupling for the separation and determination of lutein and zeaxanthin stereoisomers in spinach and in retina [J]. Anal Chem, 2001, 73(3): 667-674.
- [10] ROCK CL, THORNQUIST MD, NEUHOUSER ML, *et al.* Diet and lifestyle correlates of lutein in the blood and diet [J]. J Nutr, 2002, 132(3): 525S-530S.
- [11] 牛桂玲, 朱海滨. 万寿菊叶黄素的提取及稳定性研究[J]. 承德石油高等专科学校学报, 2005, 7(4): 15-18.
NIU GL, ZHU HL. Extraction and stability of lutein from marigold [J]. J Chengde Petrol Coll, 2005, 7(4): 15-18.
- [12] 高伟民. 婴幼儿配方奶粉发展现状及分析[J]. 饮料工业, 2011, 14(8): 3.
GAO WM. Development status and analysis of infant formula [J]. Bever Ind, 2011, 14(8): 3.
- [13] GB 14880—2012 食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准[S].
GB 14880—2012 National standard for food safety—Standard for the use of Food nutritional fortifiers [S].
- [14] JJF 1059.1—2012 测量不确定度评定和表示[S].
JJF 1059.1—2012 Evaluation and representation of measurement uncertainty [S].
- [15] KAUSHIK B, DASHARATH PO, SOMA D, *et al.* Validation and uncertainty analysis of a multi-residue method for pesticides in grapes using ethyl acetate extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2007, 1173(1): 98-109.
- [16] 杨先麟, 戴中. 测量不确定度与《测量不确定度表示指南》[J]. 武汉工程大学学报, 2002, 24(1): 74-78.
YANG XL, DAI Z. Measurement uncertainty and guidelines for the expression of measurement uncertainty [J]. J Wuhan Univ Technol, 2002, 24(1): 74-78.
- [17] 郭兰典, 陈泽明, 陈维青. 仪器分析中线性回归标准曲线法分析结果不确定度评估[J]. 检验检疫科学, 2001, 11(4): 14-17.
GUO LD, CHEN ZM, CHEN WQ. Evaluation of uncertainty of analysis results by linear regression standard Curve method in instrumental analysis [J]. Sci Insp Quar, 2001, 11(4): 14-17.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

刘德群, 硕士, 主要研究方向食品安全检验与风险监测。

E-mail: xiaofi123@163.com

周铭林, 硕士, 主要研究方向食品安全检验与风险监测。

E-mail: 532944584@qq.com