

# 离子色谱法测定香肠中亚硝酸盐含量的 不确定度评定

于丽\*, 钟钰, 孟祥永, 张欣媛, 张侃

(沈阳出入境检验检疫局, 沈阳 110016)

**摘要:** **目的** 建立离子色谱法测定香肠中亚硝酸盐的不确定度评定方法, 给出不确定度, 为简化评定方法和提高检测质量提供依据。 **方法** 应用测量不确定度理论, 建立检测方法的数学模型, 找出影响不确定度的因素并对各个不确定度分量进行评估。 **结果** 由各不确定度分量评定结果可以看出香肠中亚硝酸盐的相对扩展不确定度, 校准曲线的不确定度分量较大, 合成的扩展不确定度为 0.26 mg/kg。 **结论** 提高校准曲线制作精度是离子色谱法检测香肠中亚硝酸盐的重要质控点, 在检测中可以通过设计合理的校准曲线和增加校准曲线的测量次数来减小不确定度带来的影响。通过对香肠中亚硝酸盐含量的测量不确定度的评定, 对检测结果可以给出一个正负区间, 提供一个准确的检测结果, 提高了检测结果的可信度; 同时建立了离子色谱定量分析不确定度的通用模式, 对检测实验室的不确定度评估起到一定的指导意义。

**关键词:** 不确定度; 离子色谱法; 香肠; 亚硝酸盐

## Evaluation of uncertainty in ion chromatography determination of nitrite in sausage

YU Li\*, ZHONG Yu, MENG Xiang-Yong, ZHANG Xin-Yuan, ZHANG Kan

(Shenyang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenyang 110016, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish ion chromatography(IC) uncertainty assessment method for determining the concentration of nitrite in sausage and provide the basis for simplification of assessment method and evaluation of detecting results. **Methods** The calculation formula of the uncertainty was deduced, and factors of uncertainty was analyzed and calculated with uncertainty theory. **Results** Nitrite in sausage relative expanded uncertainty by each component of uncertainty evaluation results could be seen, the uncertainty of calibration curve components was larger, Synthesis of expanded uncertainty was 0.26 mg/kg. **Conclusion** To improve the manufacturing accuracy was an important quality control point about detection of nitrite in sausage by ion chromatography calibration curve, the effects of uncertainty was reduced by reasonable design of calibration curve and increased the number of calibration curve. Through measuring the content of nitrite in sausage evaluation of uncertainty, the testing results could be given a negative region, and provide an accurate detection results, and improve the reliability of detection; at the same time, a general model of the uncertainty of the quantitative analysis by ion chromatography was established, it had a certain guiding significance in the testing laboratory evaluation of uncertainty.

**KEY WORDS:** uncertainty; ion chromatography; sausage; nitrites

\*通讯作者: 于丽, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: yl9862@sina.com

\*Corresponding author: YU Li, Engineer, Shenyang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenyang 110016, China. E-mail: yl9862@sina.com

## 1 引言

在酸性条件下,亚硝酸盐与蛋白质分解产生的次级胺反应生成强力致癌物—亚硝胺<sup>[1]</sup>,从而诱发消化系统癌变,如食道癌、胃癌、肝癌等<sup>[2]</sup>,因此,加强对亚硝酸盐的检测至关重要。测量不确定度是反映检测结果可信度和准确性的重要参数,一份完整的检测报告应包含对其测量不确定度分析<sup>[3]</sup>。目前,测定亚硝酸盐的方法主要有:光度法<sup>[4-6]</sup>、极谱法<sup>[7]</sup>、液相色谱法<sup>[8]</sup>和离子色谱法<sup>[9]</sup>,离子色谱是高效液相色谱的一种,是分析阴阳离子的一种液相色谱法<sup>[10]</sup>,该方法具有选择性好、灵敏、快速、简便等优点。本文依据 GB5009.33-2010 和 JJF1059-1999,对离子色谱法测定香肠中亚硝酸盐的含量进行了不确定度评定,分析了测试误差的来源,确定了分析结果的报告值。

## 2 材料与方方法

### 2.1 仪器与试剂

主要仪器有 Thermo ICS-5000 型离子色谱仪,水:超纯水;氢氧化钠(国药试剂):优级纯;亚硝酸根(国家标准物中心)标准品使用液:用储备液配制系列标准溶液待用。

### 2.2 检测方法

称取均匀试样约 2.00 g,以 80 mL 水洗入 100 mL 容量瓶中,超声提取 30min,加水定容至刻度,于 75℃ 水浴中放置 5min,过滤后离心,上清液进样测定亚硝酸根离子的峰面积,同时绘制工作曲线,以标准曲线法进行定量<sup>[11]</sup>。

## 3 测量数学模型

试样中亚硝酸盐(以 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>计)含量的计算:

$$y = \frac{C \times V \times 1000}{m \times 1000}$$

式中:  $y$  为试样中 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>含量(mg/kg);  $C$  为从标准曲线上查得的试样溶液中 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>浓度(mg/L);  $V$  为试样溶液体积(mL);  $m$  为试样取样量(g)。

## 4 不确定度来源

离子色谱法测定香肠中亚硝酸盐的相对不确定度主要来源有:样品溶液中 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>浓度  $C$  的不确定度

$\mu(C)$ ; 定容体积  $V$  的不确定度  $\mu(V)$ ; 称样量  $m$  的不确定度  $\mu(m)$ ; 回收率带来的不确定度  $\mu(R)$ 。

## 5 各分量不确定度的评定

### 5.1 质量的不确定度

用分度值为 0.01 g 的天平称取 2 g 香肠样品,经检定的天平,其最大允许差为  $\pm 0.01$  g,按均匀分布处理,由此引入的标准不确定度为:  $\mu(m) = 0.01 / \sqrt{3} = 0.0058$  g

### 5.2 体积的不确定度

本方法实际定容体积为 100mL,经检定的 A 级 100mL 容量瓶的最大允差为  $\pm 0.01$  mL<sup>[12]</sup>,按均匀分布处理,由此引入的标准不确定度为:  $\mu_1(V) = 0.01 / \sqrt{3} = 0.0058$  mL。

实验室的温度在  $20 \pm 4$  °C 变化,由此引入的标准不确定度为:

$$\mu_2(V) = 1 \times 4 \times 2.1 \times 10^{-4} / \sqrt{3} = 4.85 \times 10^{-4} \text{ mL}$$

所以样品提取液的标准不确定度为:

$$\mu(V) = \sqrt{\mu_1(V)^2 + \mu_2(V)^2} = \sqrt{(0.0058)^2 + (4.85 \times 10^{-4})^2} = 4.6 \times 10^{-3} \text{ mL}$$

### 5.3 样品溶液中相对标准不确定度 $\mu(C)$

#### 5.3.1 标准溶液浓度的不确定度 $\mu(C_1)$

用移液管吸取 1.0mL 100mg/L  $\pm 2$  mg/L 的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 标准溶液于 100mL 容量瓶中,用超纯水定容,配成 1mg/L 的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 标准稀释液。经检定的 A 级 1mL 移液管 100mL 容量瓶的最大允差分别为  $\pm 0.008$  mL,  $\pm 0.10$  mL,按均匀分布处理,其标准不确定度分别为:

$$\mu(V_1) = 0.008 / \sqrt{3} = 0.0046 \text{ mL};$$

$$\mu(V_{100}) = 0.10 / \sqrt{3} = 0.058 \text{ mL}$$

由于稀释时,移液管和容量瓶中的溶液处于几乎相同的温度下,因此可忽略温度带来的影响。

NO<sub>2</sub>-N 标准溶液的校准不确定度为:  $2 / \sqrt{3} = 1.2$  mg/L。

从 100mg/L 稀释至 1mg/L 时引入的不确定度为

$$\begin{aligned} \mu(C_1) &= C_1 \sqrt{\left[ \frac{\mu(C_s)}{C_s} \right]^2 + \left[ \frac{\mu(V_1)}{V_1} \right]^2 + \left[ \frac{\mu(V_{100})}{V_{100}} \right]^2} \\ &= 1.0 \times \sqrt{\left( \frac{1.2}{100} \right)^2 + \left( \frac{0.0046}{1} \right)^2 + \left( \frac{0.058}{100} \right)^2} \\ &= 4.9 \times 10^{-3} \text{ mg/L} \end{aligned}$$

5.3.2 标准曲线拟合过程中产生的不确定度  $\mu(C_2)$

对 5 个浓度水平的  $\text{NO}_2\text{-N}$  标准溶液使用离子色谱法分别测试三次, 得到相应的峰面积列于表 1。

用最小二乘法拟合, 得到线性回归方程  $A=b \cdot C+a=2.7306 \cdot C-0.0115 \quad r=0.9999$

按实验方法对样品溶液测定 3 次,  $\text{NO}_2$  的含量为 2.47mg/kg, 由标准曲线所带来的不确定度计算如下:

$$\begin{aligned} \mu(C_2) &= \frac{s(A)}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_1 - \bar{C}_b)^2}{\sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C}_b)^2}} \\ &= \frac{0.00236}{2.7306} \sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{15} + \frac{(1.0 - 0.10)^2}{\sum_{j=1}^n (C_j - 0.10)^2}} \\ &= 5.1 \times 10^{-3} \text{ mg/L} \end{aligned}$$

其中, 残差标准偏差为:  $s(A) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (a + bC_j)]^2}{n-2}}$   
 $= 0.00236$

5.4 峰面积的不确定度

标准使用液峰面积的偏倚由仪器的校准引入。标准证书给出了衰减器的相对误差为 0.5%, 按均匀分布处理, 峰面积的相对标准不确定度为  $\mu(As) = 0.5\% / \sqrt{3} = 2.89 \times 10^{-3} \mu\text{s} \cdot \text{min}$  样品峰面积的不确定度同标准使用液峰面积为  $\mu(A) = 2.89 \times 10^{-3} \mu\text{s} \cdot \text{min}$ 。

5.5 平均回收率及其不确定度评定

采用加标回收实验, 将适当浓度(本实验采用 1.0mg/L)的亚硝酸根离子标准溶液, 添加到被测香肠样品中, 重复分析 10 个香肠样品得到如下结果

$$\begin{aligned} \mu(y) &= y \times \sqrt{\left[\frac{\mu(C_1)}{C_1}\right]^2 + \left[\frac{\mu(C_2)}{C_b}\right]^2 + \left[\frac{\mu(As)}{As}\right]^2 + \left[\frac{\mu(A)}{A}\right]^2 + \left[\frac{\mu(V)}{V}\right]^2 + \left[\frac{\mu(m)}{m}\right]^2 + \left[\frac{\mu(\bar{R})}{\bar{R}}\right]^2} \\ &= 2.47 \times \sqrt{\left(\frac{4.9 \times 10^{-3}}{1.0}\right)^2 + \left(\frac{5.1 \times 10^{-3}}{0.10}\right)^2 + (2.89 \times 10^{-3})^2 + (2.89 \times 10^{-3})^2 + \left(\frac{4.6 \times 10^{-3}}{100}\right)^2 + \left(\frac{0.0058}{2.00}\right)^2 + \left(\frac{0.089}{0.867}\right)^2} \\ &= 2.47 \times 5.16 \times 10^{-2} \\ &= 0.13 \text{ mg/kg} \end{aligned}$$

扩展不确定度:

取包含因子  $k = 2$ ,  $y$  的扩展不确定度为

$$\mu = k \times \mu(y) = 2 \times 0.13 = 0.26 \text{ mg/kg}$$

7 不确定度结果报告

测量结果报告为<sup>[13]</sup>

$$\bar{C} = \frac{\sum_{i=1}^n (C_i - C_s)}{n} = \frac{8.67}{10} = 0.867 \text{ mg/L}$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = 6.21 \times 10^{-3} \text{ mg/L}$$

$$\bar{R} = \frac{\bar{C}}{C_2} = \frac{0.867}{1.0} = 0.867$$

$\bar{R}$  - 平均回收率;  $S$  标准偏差; - 重复分析香肠样品中加入亚硝酸根离子浓度;  $C_2$  - 亚硝酸根离子理论浓度

$$\begin{aligned} \mu_1(\bar{R}) &= \bar{R} \times \sqrt{\frac{S^2}{n \times C^2} + \left[\frac{\mu(C_1)}{C_1}\right]^2} \\ &= 0.867 \times \sqrt{\frac{(6.21 \times 10^{-3})^2}{10 \times 0.917^2} + \left(\frac{0.0509}{1.0}\right)^2} = 0.04413 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

使用  $t$ -检验平均回收率与其期望值 1 之间的差异, 构造统计量。

$$T = \frac{|1 - \bar{R}|}{\mu_1(\bar{R})} = \frac{1 - 0.867}{0.04413} = 3.01$$

在 95% 的置信水平下,  $T > 2.26$ , 说明存在显著性偏倚, 若对测量结果不进行校正, 则平均回收率的标准不确定度为:

$$\begin{aligned} \mu(\bar{R}) &= \sqrt{\left[\frac{1 - \bar{R}}{K}\right]^2 + \mu_1^2(\bar{R})} = \sqrt{\left[\frac{1 - 0.867}{\sqrt{3}}\right]^2 + (0.04413)^2} \\ &= 0.089 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

6 相对合成标准不确定度与扩展不确定度

不确定度的合成:

$$y = (2.47 \pm 0.26) \text{ mg/kg} \quad k=2$$

参考文献

[1] 王 晶, 王 林, 黄晓荣. 食品安全快速检测技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.  
 Wang J, Wang L, Huang XR. Food safety rapid detection

- technology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2002
- [2] Claudia P. Nitrate, nitrite and volatile nitrosamines in whey—containing food products[J]. *J Agile Chem*, 1995, 43(4): 967–969 .
- [3] 中国实验室国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2002. Laboratory accreditation council for national in China. Guide for evaluation of uncertainty in chemical analysis [M]. Beijing: China Metrology Press, 2002.
- [4] 刘长增. 动力学催化光度法测定痕量亚硝酸根[J]. *分析化学*, 2000, 28(11): 1362–1365. Liu CZ. Kinetics of catalytic spectrophotometric determination of trace nitrite [J]. *J Anal Chem*, 2000, 28 (11): 1362–1365.
- [5] 潘志信. 副品红褪色光度法测定海水中的 NO[J]. *分析化学*, 2000, 28(11): 1447–1447. Pan ZX. Fade pararosaniline spectrophotometry in the seawater NO[J]. *J Anal Chem*, 2000, 28(11): 1447–1447.
- [6] 沈乃葵, 秦学祥. 分光光度法测定水、土壤和蔬菜中的 NO[J]. *分析化学*, 1979, 5(5): 332–334. Sheng NK, Qin XX. Spectrophotometric method for determination of NO in water, soil, and vegetables [J]. *J Anal Chem*, 1979, 5(5): 332–334.
- [7] 李建, 李菊开. 8-羟基喹啉极谱法测定 NO 的研究[J]. *分析试验室*, 1998, 17(1): 37–40. Li J, L JK. 8 - hydroxyquinoline polarographic determination of NO [J]. *J Anal Lab*, 1998, (1): 37–40.
- [8] 李琳. 利用液相色谱仪测定水中氟离子、氯离子、硫酸根[J]. *物探与化探*, 1999, 23(6): 474–476. Li L. Using liquid chromatography determination of fluorine ions in water, chloride ion, sulfate [J]. *J Geophy Geochem Explor*, 1999, 23(6): 474–476.
- [9] 关翠林, 孟双明, 郭永. 离子色谱法测定水果中亚硝酸盐和硝酸盐[J]. *理化检验: 化学分册*, 2008, 44(8): 765–767. Guan CL, Meng SM, Guo Y. Fruit ion chromatography determination of nitrite and nitrate [J]. *J Phy Chem Inspect: Chem Pathol*, 2008, 44(8): 765–767.
- [10] 朱岩. 离子色谱仪器[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007. ZHU Yan. Ion chromatography instrument[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [11] GB 5009. 33-2010 食品安全国家标准食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S]. GB5009.33- 2010 The national food safety standards of food on the determination of nitrite and nitrate [S].
- [12] JJG196—2006 常用玻璃量具检定规程[S]. JJG196-2006 Commonly used measuring glass verification regulations [S].
- [13] JJF1059—1999 测量不确定度评定与表示[S]. JJF1059-1999 The measurement uncertainty evaluation and said [S].

(责任编辑: 白洪健)

## 作者简介



于 丽, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: yl9862@sina.com