

离子色谱法测定香菇中葡萄糖含量的 不确定度评定

于 丽*, 顾俊杰, 徐宜宏, 郭 松, 裴程程
(沈阳海关, 沈阳 110016)

摘 要: **目的** 评定离子色谱法测定香菇中葡萄糖含量的不确定度。**方法** 依据 JJF 10591.1-2012《测量不确定度评定与表示》, 考察称量、标准溶液配制、标准曲线拟合、回收率等主要因素引入的不确定度, 并对不确定度的各分量进行计算和合成。**结论** 当香菇中葡萄糖添加量为 3.29 mg/kg 时, 在 95% 的置信区间下, 其扩展不确定度为 0.30 mg/kg ($k=2$)。评定结果表明, 实验过程的不确定度主要来源于校准曲线以及回收率。**结论** 该方法准确可靠, 适用于离子色谱法测定香菇中葡萄糖含量的不确定度评定, 对检测结果准确度的提高具有指导意义。

关键词: 不确定度; 离子色谱法; 香菇; 葡萄糖

Uncertainty evaluation of determination of glucose in mushroom by ion chromatography

YU Li*, GU Jun-Jie, XU Yi-Hong, Guo song, PEI Cheng-Cheng
(Shenyang Customs, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty of determination of glucose in mushroom by ion chromatography. **Methods** According to JJF 1059.1-2012 *Measurement uncertainty evaluation and presentation*, the uncertainty of main factors such as weighing, standard solution preparation, standard curve fitting and recovery were investigated, and the components of uncertainty were calculated and synthesized. **Results** When the content of glucose in mushroom was 3.29 $\mu\text{g/kg}$, the extended uncertainty was 0.30 $\mu\text{g/kg}$ ($k=2$) under the 95% confidence interval. The evaluation results showed that the uncertainties of the experiment were mainly derived from curves calibration and recovery rates. **Conclusion** The evaluation method is accurate and reliable, which is suitable for the evaluation of uncertainty of determination of glucose in mushroom by ion chromatography. It has guiding significance to improve the accuracy of test results.

KEY WORDS: uncertainty; ion chromatography; mushroom; glucose

1 引 言

糖按分子结构一般分为单糖、双糖及多糖, 它们的营养意义相同, 只是吸收有快有慢而已。葡萄糖是单糖的一

种, 甜度高, 吸收速度快, 食后立即进入血液, 在水果、蔬菜中含量丰富。葡萄糖是活细胞的能量来源和新陈代谢的中间产物, 即人体的主要供能物质, 加强对葡萄糖的检测意义重大^[1-4]。测量不确定度是反映检测结果可信度和准确

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

*Corresponding author: YU Li, Senior Engineer, Shenyang Customs, Shenyang 110016, China. E-mail: yl9862@sina.com

性的重要参数,一份完整的检测报告应包含测量不确定度分析^[5]。离子色谱法是高效液相色谱法的一种,是分析阴阳离子的一种液相色谱法^[6],该方法具有选择性好、灵敏、快速、简便等优点。

测量不确定度从词义上理解,意味着对测量结果可信性、有效性的怀疑程度或不肯定程度,是定量说明测量结果的质量的一个参数。实际上由于测量不完善和人们的认识不足,所得的被测量值具有分散性,即每次测得的结果不是同一值,而是以一定的概率分散在某个区域内的许多个值。虽然客观存在的系统误差是一个不变值,但由于我们不能完全认知或掌握,只能认为它是以某种概率分布存在于某个区域内,而这种概率分布本身也具有分散性。测量不确定度就是说明被测量之值分散性的参数,它不说明测量结果是否接近真值^[7-12]。不确定度的评定研究较为成熟,但目前关于离子色谱法测定香菇中葡萄糖的含量进行了不确定度评定的报道相对较少。

本文依据 NY/T 2279-2012《食用菌中岩藻糖、阿糖醇、海藻糖、甘露醇、甘露糖、葡萄糖、半乳糖、核糖的测定离子色谱法》^[13]和 JJF 10591.1-2012《测量不确定度评定与表示》^[14]对离子色谱法测定香菇中葡萄糖的含量进行了不确定度评定,分析了测试误差的来源,确定分析结果的报告值,为正确评价和使用检测数据提供参考依据。

2 材料与方法

2.1 试剂、仪器与材料

氢氧化钠(优级纯,北京百灵威科技有限公司);葡萄糖(纯度 99%,国家标准物质中心);标准品使用液:用葡萄糖标准物质配制系列标准溶液(0.10、0.50、1.0、2.0、4.0、10 mg/L)。

ICS-5000 型离子色谱仪(赛默飞世尔科技中国有限公司);JA 2003 型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司);KQ-1000DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Milli-Q 去离子水发生器(美国 Millipore 公司)。

香菇购自于当地市场。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

将香菇试样剪碎后,准确称取 5.00 g 试样,精确至 0.01 g,置于 100 mL 容量瓶中,加入 80 mL 水,搅拌均匀,超声提取 30 min,定容,摇匀,静置后取上清液进样,上机测定。

2.2.2 仪器条件

色谱柱:糖离子交换柱(4 mm×250 mm)+保护柱(4 mm×50 mm);柱温:30 ℃;流动相:100 mmol/L 的氢氧

化钠,流速:0.4 mL/min;进样量:20 μL;检测器:电化学检测器;Au 工作电极,Ag/AgCl 参比电极。

2.3 数学模型

试样中葡萄糖含量的计算:

$$Y = \frac{C \times V \times 1000}{\bar{R} \times m \times 1000}$$

式中:Y 为试样中葡萄糖含量,mg/kg;C 为从标准曲线上查得的试样溶液中葡萄糖浓度,mg/L;V 为试样溶液体积,mL;m 为试样取样量,g; $\bar{R}$ 为回收率。

3 结果与分析

3.1 测量不确定度来源

离子色谱法测定香菇中葡萄糖的不确定度主要来源有:样品溶液中葡萄糖浓度 C 的不确定度 $u(C)$;定容体积 V 的不确定度 $u(V)$;称样量 m 的不确定度 $u(m)$;回收率 $\bar{R}$ 带来的不确定度 $u(\bar{R})$ 。

3.2 分量不确定度的评定

3.2.1 质量的不确定度

用百分之一的天平称取 5.00 g 香菇样品,经检定校准的天平,其最大允差为±0.01 g,如果按均匀分布处理,引入的标准不确定度为: $u(m) = 0.01/\sqrt{3} = 0.0058$ g。

3.2.2 体积的相对不确定度

1) 100 mL 容量瓶校准引入的不确定度

该方法最终定容体积为 100 mL,经检定校准的 A 级 100 mL 容量瓶的最大允差为±0.1 mL^[14],如果按均匀分布处理,引入的标准不确定度为: $u(V) = 0.1/\sqrt{3} = 0.0058$ mL。

2) 实验室的温度引入的不确定度

在(20±4) ℃变化,引入的标准不确定度为:

$$u_2(V) = 1 \times 4 \times 2.1 \times 10^{-4} / \sqrt{3} = 4.85 \times 10^{-4} \text{ mL}$$

样品提取液的标准不确定度为:

$$u(V) = \sqrt{u_1(V)^2 + u_2(V)^2} = \sqrt{(0.0058)^2 + (4.85 \times 10^{-4})^2} = 4.6 \times 10^{-3} \text{ mL}$$

3.2.3 样品溶液中浓度的不确定度 $u(C)$

1) 标准物质的不确定度 $u(C_{10})$

称取葡萄糖标准物质 0.10 g(精确至 0.1 mg)于小烧杯中,用超纯水溶解,转移至 100 mL 容量瓶中,并用超纯水定容至刻度,配制成的标准储备液为 1000 mg/L。用移液管(1 mL)移取 1.0 mL 葡萄糖标准储备液,置于 100 mL 容量瓶中,用超纯水定容至刻度,配制成的标准稀释液为 10 mg/L。经检定的 1 mL 移液管(A 级)、100 mL 容量瓶(A 级)的最大允差分别为±0.008,±0.10 mL,如果按均匀分布处理,其标准不确定度分别为^[15]:

$$u(V_1) = 0.008/\sqrt{3} = 0.0046 \text{ mL}; u(V_{100}) = 0.10/\sqrt{3} = 0.058 \text{ mL}$$

由于稀释标准液时,移液管和容量瓶中的溶液处于

几乎相同的温度, 因此温度带来的影响可忽略不计。

葡萄糖标准物质的校准不确定度为: $0.5/\sqrt{3}=0.289\%$ 。

从称取 0.10 g 到配制成 1000 mg/L 引入的不确定度为:

$$\begin{aligned} u(C_{1000}) &= C_{1000} \sqrt{\left(\frac{u(m_s)}{m_s}\right)^2 + \left(\frac{u(V_1)}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{100})}{V_{100}}\right)^2} \\ &= 1000 \sqrt{\left(\frac{0.289}{100}\right)^2 + \left(\frac{0.0046}{1}\right)^2 + \left(\frac{0.058}{100}\right)^2} = 5.46 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

再稀释至 10 mg/L 时引入的不确定度为:

$$\begin{aligned} u(C_{10}) &= C_{10} \sqrt{\left(\frac{u(C_{1000})}{C_{1000}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_1)}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{100})}{V_{100}}\right)^2} \\ &= 10 \sqrt{\left(\frac{5.46}{1000}\right)^2 + \left(\frac{0.0046}{1}\right)^2 + \left(\frac{0.058}{100}\right)^2} = 0.0716 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

2) 标准曲线二次拟合过程中产生的不确定度 $u(C_2)$

对 6 个浓度水平的葡萄糖标准溶液使用离子色谱仪分别测试 3 次, 得到相应的峰面积列于表 1。用最小二乘法拟和, 线性回归方程为: $A=b \cdot C+a=4.3556 \cdot C+1.0343$, $r=0.9990$ 。

按检测标准对样品溶液测定 3 次, 葡萄糖的含量为 3.29 mg/kg, 标准曲线所带来的不确定度计算如下:

$$\begin{aligned} u(C_2) &= \frac{s(A)}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_{10} - \bar{C}_b)^2}{\sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C}_b)^2}} \\ &= \frac{0.00351}{4.3556} \sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{18} + \frac{(10 - 2.93)^2}{\sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C}_b)^2}} = 7.25 \times 10^{-3} \text{ mg/L} \end{aligned}$$

其中, 残差标准偏差为:

$$s(A) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (a + bC_j)]^2}{n - 2}} = 0.00351 \text{ mg/L}$$

3.2.4 峰面积引入的不确定度

检测标准使用液时测得的峰面积的偏倚由仪器的校准引入。标准检定证书给出了衰减器的相对误差为 0.5%, 按照均匀分布处理, 峰面积引入的标准不确定度为

$$u(As) = 0.5\% / \sqrt{3} = 2.89 \times 10^{-3} \text{ us} \cdot \text{min}$$

样品峰面积的不确定度为

$$u(A) = 2.89 \times 10^{-3} \text{ us} \cdot \text{min}。$$

3.2.5 回收率及 不确定度评定

将适当浓度的葡萄糖标准溶液(本实验采用 10 mg/L), 添加到被测香菇样品中, 采用加标实验, 重复检测 10 个香菇样品, 结果如下

$$\bar{C} = \frac{\sum_{i=1}^n (C_i - C_s)}{n} = \frac{92.8}{10} = 9.28 \text{ mg/L};$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = 5.32 \times 10^{-3} \text{ mg/L};$$

$$\bar{R} = \frac{\bar{C}}{C_2} = \frac{92.8}{10} = 0.928 \text{ mg/L}。$$

其中: R ——平均回收率; S 标准偏差; C ——重复分析香菇样品中加入葡萄糖浓度, mg/L; C_2 ——葡萄糖理论浓度, mg/L

$$\begin{aligned} u_1(\bar{R}) &= \bar{R} \times \sqrt{\frac{S^2}{n \times \bar{C}^2} + \left[\frac{u(C_{10})}{C_{10}}\right]^2} \\ &= 0.928 \times \sqrt{\frac{(5.32 \times 10^{-3})^2}{10 \times 2.93^2} + \left[\frac{0.0716}{10}\right]^2} = 6.67 \times 10^{-3} \text{ mg/L}。 \end{aligned}$$

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。

$$T = \frac{|1 - \bar{R}|}{u_1(\bar{R})} = \frac{1 - 0.928}{6.67 \times 10^{-3}} = 10.8 \text{ mg/L}。$$

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, 回收率的标准不确定度为:

表 1 标准溶液峰面积的测量值
Table 1 Measured value of the peak area of standard solution

葡萄糖	标液浓度 (mg/L)	峰面积/(us*min)			平均 A (us*min)
		A1	A2	A3	
STD 1	0.10	0.5003	0.5093	0.4991	0.5029
STD 2	0.50	3.3258	3.4219	2.3882	3.3453
STD 3	1.0	4.8142	5.2263	5.0147	5.0184
STD 4	2.0	10.6327	11.2581	10.9163	10.9357
STD 5	4.0	18.5328	19.1377	18.7646	18.8117
STD 6	10	43.4268	45.0329	44.2915	44.2504

$$u(\bar{R}) = \sqrt{\left[\frac{1-\bar{R}}{K}\right]^2 + u_1^2(\bar{R})}$$

$$= \sqrt{\left[\frac{1-0.928}{\sqrt{3}}\right]^2 + (6.67 \times 10^{-3})^2} = 0.0421 \text{ mg/L}。$$

3.3 相对合成标准不确定度

综合以上影响不确定度的因素, 合成的相对标准不确定度:

$$u_{\text{rel}}(Y) = Y \times \sqrt{\left[\frac{u(C_{10})}{C_{10}}\right]^2 + \left[\frac{u(C_2)}{C_2}\right]^2 + \left[\frac{u(A_s)}{A_s}\right]^2 + \left[\frac{u(A)}{A}\right]^2 + \left[\frac{u(V)}{V}\right]^2 + \left[\frac{u(m)}{m}\right]^2 + \left[\frac{u(\bar{R})}{\bar{R}}\right]^2}$$

$$= 3.29 \times \sqrt{\left[\frac{0.0716}{10}\right]^2 + \left[\frac{0.00725}{2.93}\right]^2 + [0.00289]^2 + [0.00289]^2 + \left[\frac{0.058}{100}\right]^2 + \left[\frac{0.0058}{5.00}\right]^2 + \left[\frac{0.0421}{0.928}\right]^2}$$

$$= 0.152 \text{ mg/L}$$

3.4 扩展不确定度与测量结果

离子色谱法测定香菇中葡萄糖含量, 取包含因子 $k = 2$, 在 95% 的置信区间下, 扩展不确定度:

$$U = k \times u_{\text{rel}}(Y) = 2 \times 0.152 = 0.30 \text{ mg/kg}。$$

香菇中葡萄糖的含量和扩展不确定度为^[16]:

$$X = (3.29 \pm 0.30) \text{ mg/kg}, \text{ 取包含因子 } k=2。$$

4 结 论

香菇中葡萄糖的相对扩展不确定度由各不确定度分量评定结果可以看出, 校准曲线和回收率的不确定度分量较大。提高校准曲线制作精度和提高回收率是离子色谱法检测香菇中葡萄糖的重要质控点。在检测中, 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。通过对香菇中葡萄糖含量的测量不确定度的评定, 检测结果给出一个区间, 提供一个更加合理的检测结果, 提高了检测结果的可信度; 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定起到了一定的指导意义。

参考文献

- [1] 张威, 何红波, 张明. 糖腈乙酰酯衍生气相色谱法测定土壤水解性单糖[J]. 土壤通报, 2008, 39(4): 913-916.
- Zhang W, He HB, Zhang M. Sugar nitrile acetyl ester derivative gas chromatography determination of monosaccharides hydrolyzed sex soil [J]. Chin J Soil Sci, 2008, 33(4): 913-916.
- [2] 吴黎明, 薛晓峰, 周晓, 等. 蜂花粉中糖的高效液相色谱分析[J]. 食品科学, 2008, 29(6): 335-338.

Wu LM, Xue XF, Zhou X, *et al.* Determination of sugars in bee pollen by HPLC [J]. Food Sci, 2008, 29(6): 335-338.

- [3] 余娜, 周光明, 朱娟. 离子色谱法检测蜂蜜和葡萄酒中的蔗糖、葡萄糖和果糖[J]. 食品科学, 2010, 31(16): 188-191.
- Yu N, Zhou GM, Zhu J. Determination of sucrose, glucose and fructose in honey and wine by ion chromatography [J]. Food Sci, 2010, 31(16): 188-191.
- [4] 邹晓莉, 江水, 郑波. 高效阴离子色谱法分离测定蜂蜜和保健食品多糖水解产物中的单糖组成[J]. 四川大学学报: 医学版. 2008, 39(5): 836-838.
- Zou XL, Jiang S, Zheng B. Determination of monosaccharides in honey and polysaccharide hydrolyzate of functional food by high performance anion exchange chromatography [J]. J Sichuan Univ: Med Sci, 2008, 39(5): 836-838.
- [5] 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.
- China Laboratory National Accreditation Committee. Guidelines for the evaluation of uncertainty in chemical analysis [M]. Beijing: China Metrology Publishing House, 2002.
- [6] 朱岩. 离子色谱仪器[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- Zhu Y. Ion chromatograph [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [7] 于丽. 离子色谱法测定香肠中亚硝酸盐含量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(2): 695-698.
- Yu L. Uncertainty evaluation of nitrite content in sausage by ion chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(2): 695-698.
- [8] 胡才龙, 李丹, 李晓磊. 高效阴离子交换色谱测定蜂蜜中葡萄糖和果糖的研究[J]. 长春大学学报, 2011, 21(10): 56-59.
- Hu CL, Li D, Li XL. Determination of glucose and fructose in honey by high anion exchange chromatography [J]. J Changchun Univ, 2011, 21(10): 56-59.
- [9] 张磊, 周光明, 熊建飞. 离子色谱法检测水果、饮品中的蔗糖、葡萄糖和果糖[J]. 食品科学, 2012, 33(8): 159-162.
- Zhang L, Zhou GM, Xiong JF. Determination of sucrose, glucose and fructose in fruits and drinks by ion chromatography [J]. Food Sci, 2012, 33(8): 159-162.
- [10] 熊建飞, 周光明, 何强. 离子色谱法测定玄参中的单糖和低聚寡糖[J]. 食品工业科技, 2012, 33(7): 340-343.
- Xiong JF, Zhou GM, He Q. Determination of monosaccharides in radix scrophulariae and low poly oligosaccharide field by ion chromatography [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, 33(7): 340-343.
- [11] 赵丹霞, 王力清, 黄秋研. 离子色谱-脉冲安培法测定婴幼儿配方乳粉中葡萄糖等质量浓度[J]. 中国乳品工业, 2014, (11): 44-46.
- Zhao DX, Wang LQ, Huang QY. Determination of glucose, fructose, lactose and sucrose in infant formula powder by ions chromatography and pulsed amperometric detection [J]. J China Dairy Ind, 2014, (11): 44-46.
- [12] 余娟, 王桂华, 李家威, 等. 离子色谱-脉冲安培法测定口香糖中单双糖[J]. 食品与发酵科技, 2010, 46(5): 46-49.

- Yu J, Wang GH, LI JW, *et al.* Determination of monosaccharides and disaccharides in chewing gum by ions chromatography and pulsed amperometric detection [J]. Food Ferment Technol, 2010, 46(5): 46-49.
- [13] NY/T 2279—2012 食用菌中岩藻糖、阿糖醇、海藻糖、甘露醇、甘露糖、葡萄糖、半乳糖、核糖的测定 离子色谱法[S].
- NY/T 2279—2012 Determination of rock algae sugar, altol, trehalose, mannitol, mannose, glucose, galactose, and ribose in edible fungi-Ion chromatography [S].
- [14] JJF 1059.1-2012 测量不确定度评定与表示[S].
- JJF 1059.1-2012 Measurement uncertainty evaluation and representation [S].
- [15] JIG 196—2006 常用玻璃量具检定规程[S].
- JIG 196—2006 Common standards for measuring glass [S].

- [16] JJF 1059-1999 测量不确定度评定与表示[S].
- JJF 1059-1999 Measurement uncertainty evaluation and representation [S].

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



于 丽, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: yl9862@sina.com

“色谱技术在食品分析中的应用”专题征稿函

食品不仅是维持人体生命活动所必需的各种营养物质和能量的最主要来源, 而且以其色、香、味、质地及口感给人们以愉悦的感官享受。随着食品工业和食品科学技术的不断发展, 民众对食品品质和卫生要求也越来越高。因此, 对食品质量的控制与安全保障尤为重要, 而这在很大程度上依赖于先进的分析检测技术。色谱技术是一种分离和分析方法, 在分析化学、有机化学、生物化学等领域有着非常广泛的应用。

鉴于此, 本刊特别策划了“色谱技术在食品分析中的应用”专题, 主要围绕柱色谱法、薄层色谱法、气相色谱法、液相色谱法、色谱与其他方法联用法等在食品检测与质量安全控制领域的应用, 阐述色谱技术的原理、特点、适用范围、优势与局限性、色谱新方法的研究, 展示色谱技术在食品安全检测中的应用实例, 本专题计划在 2019 年 4 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编吴永宁研究员及编辑部全体编辑特别邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述及研究论文均可, 请在 2019 年 2 月 20 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

同时, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com(注明专题文章)

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部