

罐装鱼挥发性盐基氮定量测定能力验证 结果与分析

郭有辉, 胡露, 王利娜*, 彭伟, 周娟

(成都市食品药品检验研究院, 成都 610100)

摘要: **目的** 通过食品分析水平评估计划(food analysis performance assessment scheme, FAPAS)能力验证, 提高实验室理化分析检测能力。**方法** 采用国标中半微量定氮法、自动凯氏定氮仪法对鱼罐头中挥发性盐基氮(total volatile base nitrogen, TVB-N)测定进行方法比对, 结合 FAPAS 能力验证报告对检测方法进行评价。**结果** 通过对鱼罐头中挥发性盐基氮的测定, 2种方法的检测数据均能满足实验室质量控制规范, 自动凯氏定氮法的精密性、准确性、操作便利性都高于半微量定氮法, FAPAS 样品的 TVB-N 测定结果为 32.4 mg/100 g, |Z| 值为 1.1。**结论** 实验检测能力评价为满意, 表明本实验室对食品中 TVB-N 项目检测能力较好。**关键词:** 罐装鱼; 挥发性盐基氮; FAPAS 能力验证

Capability verification results and analysis of quantitative determination of total volatile basic nitrogen in canned fish

GUO You-Hui, HU Lu, WANG Li-Na*, PENG Wei, ZHOU Juan

(Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610100, China)

ABSTRACT: Objective To improve the laboratory physical and chemical analysis and detection ability by FAPAS (food analysis performance assessment scheme) ability verification. **Methods** The semi micro determination method of nitrogen in national standard and automatic Kjeldahl nitrogen analyzer were used to determine the total volatile basic nitrogen (TVB-N) in canned fish. The test method was evaluated with FAPAS capacity verification report. **Results** Through the determination of volatile basic nitrogen in canned fish, the detection data of both methods could meet the criterion on quality control of laboratories. The precision, accuracy and operation convenience of automatic Kjeldahl method were higher than those of semi micro method. The TVB-N of FAPAS was 32.4 mg/100 g, and the value of |Z| was 1.1. **Conclusion** The evaluation of the experimental detection ability is satisfactory, which indicates that our laboratory has good detection ability for TVB-N project in food.

KEY WORDS: canned fish; total volatile basic nitrogen; FAPAS ability verification

1 引言

挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen, TVB-N)指动物性食品由于酶和细菌的作用, 在腐败过程中, 使蛋白

质分解而产生氨以及胺类等碱性的含氮物质^[1]。此类物质具有挥发性, 其含量越高, 表明氨基酸被破坏的越多, 特别是蛋氨酸和酪氨酸, 食物营养价值大受影响。TVB-N 项目是评价动物性食品质量和新鲜度的一个重要指标, 因此

*通讯作者: 王利娜, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全与质量检测。E-mail: 418087411@qq.com

*Corresponding author: WANG Li-Na, Senior Engineer, Chengdu Institute for Food and Drug Control, No. 16 Xingmao street, Longquanyi, Chengdu 610100, China. E-mail: 418087411@qq.com

TVB-N 项目检测结果的准确性就显得尤为重要^[2-4]。

能力验证实验是一项利用实验室间的比对, 按照相应标准评价参加实验室检测能力的活动, 也是实验室内部和外部质量控制的保证^[5-7]。由英国政府食品和乡村事务部的自执行机构英国食品与环境研究院组织的食品分析水平评估计划(food analysis performance assessment scheme, FAPAS), 是目前全球最权威的实验室能力验证^[8,9]。能力验证的结果已成为评定、判断和监控实验室检验检测能力的有效手段, 是实验室认可评审技术的重要补充。对于参与者可利用各实验室之间的检测结果比对找到自身存在的差距, 促进实验室改进优化检验检测技术, 是其能力提高的有效途径^[10-12]。为了检验并提高实验室对食品理化检测能力, 本实验室参加了 FAPAS 能力验证, 本次能力验证项目 TVB-N 主要采用自动凯氏定氮法测定, 通过对能力验证结果进行总结分析, 以及对检测过程中的关键点和质控措施的分析讨论, 有助于确保实验室质量管理体系持续改进并促进实验室检测能力不断提升, 对加强实验室质量控制起到积极作用, 以期对相关实验室在该项目检测工作中提供参考。

2 材料与方法

2.1 材料

能力验证样品罐装鱼(测试编号 Faps25177); TVB-N 分析质控样(编号 CFAPA-QC346A-A 指定值 29.8 mg/100 g, 标准差 3.1 mg/100 g)。

2.2 仪器与试剂

2.2.1 实验仪器

Kjeltec-8400 FOSS 全自动凯氏定氮仪(丹麦福斯分析仪器公司); HR2166 搅拌机(飞利浦中国投资有限公司); ME204E 分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); 1765 半微量玻璃定氮装置(上海昕沪实验设备有限公司)。

2.2.2 试剂

氧化镁(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 硼酸、三氯乙酸(分析纯, 成都科隆化学品有限公司); 硫酸(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 甲基红指示剂(分析纯, 崇明县裕安裕西试剂厂); 溴甲酚绿指示剂(分析纯, 天津市化学试剂研究所)、95%乙醇(优级纯)、无水碳酸钠(分析纯, 重庆川东化工有限公司); 硫酸铵(优级纯, 天津市光伏精细化工研究所); 盐酸(优级纯, 四川西陇科学有限公司); 实验用水为蒸馏水。

2.3 实验方法

2.3.1 溶液配制

氧化镁混悬液(10 g/L): 称取 10 g 氧化镁, 加 1000 mL 水, 振摇成混悬液。

硼酸溶液(20 g/L): 称取 20 g 硼酸, 加水溶解后并稀释至 1000 mL。

三氯乙酸溶液(20 g/L): 称取 20 g 三氯乙酸, 加水溶解后并稀释至 1000 mL。

盐酸标准滴定溶液(0.1 mol/L): 量取 9 mL 盐酸注入 1000 mL 水中, 摇匀, 使用前需用无水碳酸钠进行标定。

甲基红乙醇溶液(1 g/L): 称取 0.1 g 甲基红, 溶于 95% 乙醇, 用 95% 乙醇稀释至 100 mL。

溴甲酚绿乙醇溶液(1 g/L): 称取 0.1 g 溴甲酚绿, 溶于 95% 乙醇, 用 95% 乙醇稀释至 100 mL。

混合指示液(V:V):1 份甲基红乙醇溶液与 5 份溴甲酚绿乙醇溶液, 临用时混合。

2.3.2 试样处理

将试样开罐后放入搅拌机绞碎搅匀, 称取搅匀试样约 10 g, 精确至 0.001 g, 置于具塞锥形瓶中, 准确加入 50.0 mL 三氯乙酸溶液, 振摇, 使试样在样液中分散均匀, 浸渍 30 min 后过滤。滤液应及时使用(不能及时使用的滤液置冰箱冷藏备用)。

2.3.3 半微量定氮法

向接收瓶内准确加入 10 mL 硼酸溶液, 5 滴混合指示剂, 使冷凝管下端插入液面下, 准确吸取 10.0 mL 上述滤液及 10 mL 水于反应室内, 再向反应室内注入 5 mL 氧化镁混悬液, 立即将玻塞盖紧, 并加水于小玻杯以防漏气。夹紧螺旋夹, 开始蒸馏。蒸馏 5 min 后移动接收瓶, 液面离开冷凝管下端, 再蒸馏 1 min。然后用少量水冲洗冷凝管下端外部, 取下蒸馏液接收瓶。以盐酸标准滴定溶液滴定至紫红色终点。同时做试剂空白。

2.3.4 自动凯氏定氮仪法

称取制备混匀的试样约 10 g(精确至 0.001 g)于蒸馏管内, 加入 75 mL 水, 振摇, 使试样在样液中分散均匀, 浸渍 30 min。在装有已处理试样的蒸馏管中加入 1 g 氧化镁, 立刻连接到定氮仪上(应首先进行试剂空白测定, 得到空白值), 按照仪器设定的条件和仪器操作说明书的要求开始测定。

仪器设定为加碱、加水体积为 0 mL, 硼酸接收液加入设定为 30 mL(1 L 硼酸接收液加入 15 mL 混合指示液), 蒸馏设定为蒸馏时间 180 s 或蒸馏体积为 200 mL, 以先到者为准, 滴定终点采用颜色方式判断终点。

2.4 质量控制措施

为确保检测数据的准确性, 本次能力验证实验采用以下质量控制措施含方法比对、平行实验、质控样品实验、硫酸铵含氮量回收, 质量控制措施具体内容如下:

(1) 仪器性能查验: 采用硫酸铵含氮量回收(含氮量为 21.19%±0.2%)来检验仪器的蒸馏、加碱、滴定各步骤是否正确以及标准溶液的准确性^[13]。

(2) 平行实验: 采用 6 平行, 即称取 6 份样品进行实验分析, 计算平行结果的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD), 分析检测结果的精密性。

(3) 质控样品实验: 选用了与能力验证样品基质一样

的鱼罐头分析标准物质(编号 CFAPA-QC346A-A)作为质控样品进行实验, 检验样品在处理 and 检测过程中的准确度。

(4) 方法比对、仪器比对、人员比对: 比对实验以方法比对为主, 对半微量定氮法(第一法)、自动凯氏定氮仪法(第二法)进行比对实验, 另外根据实验室条件, 对自动凯氏定氮仪法进行 8400-1 和 8400-2 之间的仪器比对实验, 选择具有 10 年以上食品检测工作经验的人员 2 人, 用半微量定氮法进行人员比对实验。通过比对实验, 检验测定方法、仪器性能和实验人员能力的可靠性, 实验序号见表 1, 以下结果分析按照此分组分析。

表 1 能力验证实验序号
Table 1 Number of capacity verification experiment

实验序号	实验人员	实验仪器	测定方法
1	A	Z2872	第一法
2	B	Z2872	第一法
3	B	8400-1	第二法
4	B	8400-2	第二法

3 结果与分析

3.1 仪器性能查验

实验前采用硫酸铵含氮量回收率来验证自动凯氏定

氮仪(8400-1、8400-2)和半微量玻璃定氮器(Z2872)蒸馏的气密性及滴定的准确性。准确称取 0.2 g 经 110 °C 烘干的硫酸铵代替试样处理液, 进行蒸馏滴定操作, 检验硫酸铵含氮量是否在技术要求以内, 否则应检查仪器蒸馏、加碱、滴定各步骤是否正确以及标准溶液是否准确。3 台仪器测得硫酸铵含氮量回收率见表 2。结果表明 3 台仪器性能均满足回收率技术要求(99.05%~100.94%), 自动凯氏定氮仪性能优于玻璃定氮器。

3.2 精密度实验

称取 6 份制备混匀的能力验证样品分别按上述不同实验方法进行测定, 检验仪器及方法的精密度, 同时进行半微量定氮法人员比对和自动凯氏定氮仪法仪器比对实验(因能力验证样品限量, 此方法采用平行实验), 检测结果见表 3。数据表明采用半微量定氮法和自动凯氏定氮仪法测定结果的 RSD 都小于 3%, 精密度满足 GB/T 27404-2008 《实验室质量控制规范食品理化检测》^[14] 的要求, 该含量水平的实验室内变异系数 100~1000 mg/kg(5.3%~3.8%)。

3.3 质控样品实验

称取质控样品与能力验证样品同时进行试样处理跟蒸馏滴定, 质控样品的检测结果见表 4。结果表明采用半微量定氮法和自动凯氏定氮仪法测定结果均满足质控分析要求, 相对偏差在 1% 以下, $|Z| < 1$, 测试结果满意。说明 2 种实验方法对挥发性盐基氮含量进行测定, 其结果都是准确的。

表 2 硫酸铵含氮量检测结果(%)
Table 2 Test results of ammonium sulfate nitrogen content (%)

仪器编号	含氮量测定值			理论值	含氮量回收率			平均回收率	RSD
8400-1	21.10	21.15	21.15	21.19	99.58	99.81	99.81	99.73	0.1
8400-2	21.12	21.10	21.12	21.19	99.67	99.58	99.67	99.64	0.1
Z2872	21.01	21.10	21.04	21.19	99.15	99.56	99.29	99.33	0.2

表 3 精密度实验结果(n=6)
Table 3 Resultsof precision test (n=6)

实验序号	平行实验测定值/(mg/100 g)						平均值/(mg/100 g)	RSD/%
	1	2	3	4	5	6		
1	30.10	30.62	30.95	31.98	30.08	32.10	30.97	2.88
2	31.35	30.87	/	/	/	/	31.11	/
3	32.45	32.38	32.37	32.40	32.34	32.46	32.40	0.14
4	32.38	32.56	/	/	/	/	32.47	/

表 4 质控样品实验结果
Table 4 Results of reference material

实验序号	质控样品测定值 (mg/100 g)	质控样品参考值 (mg/100 g)	质控样品标准差 (mg/100 g)	相对偏差/%	Z
1	28.2	29.8	3.1	-0.05	0.5
2	28.1	29.8	3.1	-0.02	0.2
3	29.8	29.8	3.1	0.00	0.0
4	29.5	29.8	3.1	-0.01	0.1

3.4 方法比对、仪器比对、人员比对

对照表 3~4 实验序号 2、3 两组实验结果可知, 方法比对的的结果平均值相对误差为 4.1%, 质控样品测定值相对误差为 5.9%, 方法比对的的结果差异小于 10%, 表明测定结果受到实验方法差异的影响较小。

对比表 3~4 实验序号 3、4 两组实验结果可知, 2 台自动凯氏定氮仪比对的的结果相对误差为 0.2%, 质控样品测定值相对误差为 1.0%, 仪器比对的的结果差异小于 2%, 表明两台仪器对于样品测定结果差异较小。

对比表 3~4 实验序号 1、2 两组实验结果可知, 人员比对的的结果平均值相对误差为 0.5%, 质控样品测定值相对误差为 0.4%, 人员比对结果差异小于 1%, 表明检测结果受到实验室人员差异的影响较小。

3.5 能力验证样品中 TVB-N 含量值的确定与评价

通过对仪器性能的检查, 以及质控样品的测定, 对比表 2~4 的实验数据可知, 自动凯氏定氮仪性能优于半微量玻璃定氮器, 质控检测结果更接近指定值, 硫酸铵含氮量回收较高, 因此以自动凯氏定氮仪法检测结果为准。对比表 2~4 实验序号 3、4 两组实验数据可知, 第 3 组实验仪器 8400-1 的回收更高, 质控检测结果与指定值一致, 精

密度实验 RSD 值最低, 因此本次能力验证实验的数据以组 3 的平均值 32.4 mg/100 g 作为能力验证的样品中挥发性盐基氮含量测定结果值报出, 本实验室挥发性盐基氮项目 |Z| 值为 1.1(见图 1, 实验室代码为 27), 结果满意。

FAPAS 公布的此次能力验证的结果显示, 本次 FAPAS 能力验证罐装鱼样品共有 58 家实验室参加, 41 家实验室结果满意, 通过率为 71%, 表现出较高的检测水平, 在一定程度上反映出目前相关实验室对罐装鱼中挥发性盐基氮的检测能力。而此次 29% 的实验室未取得满意结果, 按本实验室检测经验分析, 可能有以下几方面造成了实验结果的偏差:

样品的均匀性。前处理过程中, 样品应采用搅拌机充分打碎混匀, 制备后应立即试验, 若不及时使用需冷冻保存。

蒸馏仪器稳定性和气密性。样品检测前可提前采用硫酸铵含氮量回收率或者质控样品来检验仪器的稳定性和气密性, 同时也可采用人员或者仪器间比对来验证结果的准确性。

浸提过程中样品分散性。因样品特性, 在制备过程中会粘在一起, 因此在浸提过程中应保证样品在水相中分散均匀, 避免样品结块, 浸提不完全, 加入氧化镁溶液后应立即进行试验, 以防损失。

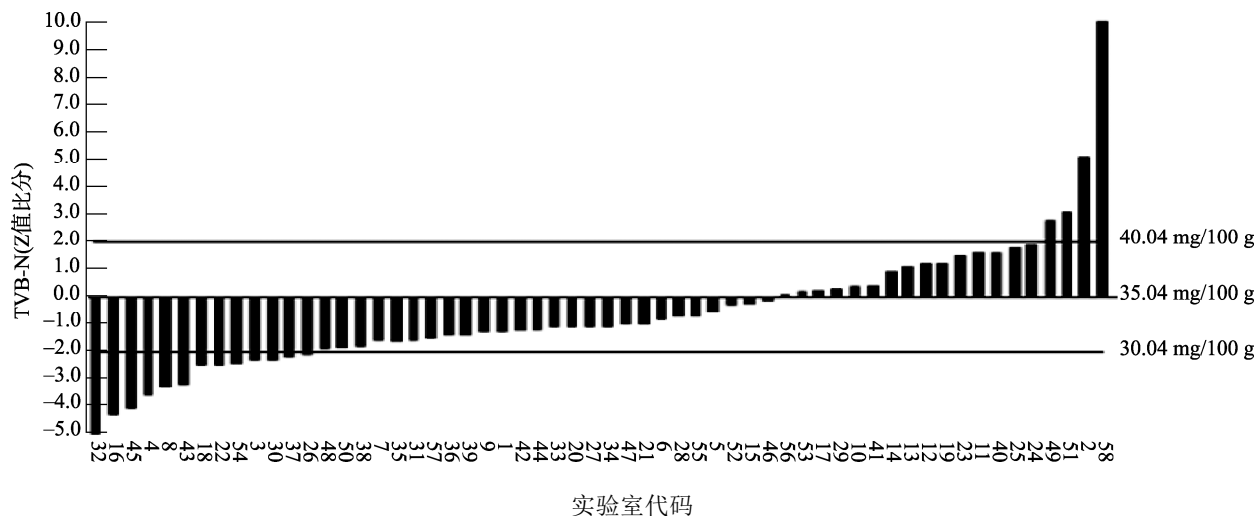


图 1 FAPAS 25177 中 TVB-N 的 Z 值分布柱状图

Fig.1 Histogram of TVB-N Z value distribution in FAPAS 25177

4 结 论

本次 FAPAS 能力验证实验,对罐装鱼挥发性盐基氮(TVB-N)含量测定结果为 32.4 mg/100 g, $|Z|$ 值为 1.1, 结果满意,实验数据表明对于 TVB-N 含量的测定结果,含氮量回收、质控样品实验、仪器比对、方法比对和人员比对的评价基本一致,测定结果满足准确度和精密度的要求,但自动凯氏定氮法精密度、重现性、操作便利性都高于半微量定氮法,结果更加准确,因此实验室在条件许可下应首选自动凯氏定氮法进行蒸馏测定。通过本次能力验证,实验室的方法、仪器的有效性和准确性都得到了确认,实验人员也积累了经验,检测水平得到了提升。

参考文献

- [1] GB 5009.228-2016 食品安全国家标准食品中挥发性盐基氮的测定[S]. GB 5009.228-2016 National food safety standard-Determination of volatile base nitrogen in food [S].
- [2] 杨春婷,赵晓娟,陈国梅,等. 冷鲜猪肉挥发性盐基氮值与感官品质的差异研究[J]. 食品工业, 2018, 39(3): 197-199.
Yang CT, Zhao XJ, Chen GM, *et al.* Differences research on volatile basic nitrogen value and sensory quality of chilled pork [J]. Food Ind, 2018, 39(3): 197-199.
- [3] 方靖,徐清霞,洗灿标. 半自动凯氏定氮仪法测定挥发性盐基氮含量[J]. 广州化工, 2019, 47(7): 123-124, 171.
Fang J, Xu QX, Xian CB. Determination of volatile base nitrogen in pork by semi-automatic Kjeldahl method [J]. Guangzhou Chem Ind, 2019, 47(7): 123-124, 171.
- [4] 邵金良,杨芳,杜丽娟,等. 肉与肉制品中挥发性盐基氮测定方法的改进[J]. 肉类研究, 2009, 23(10): 58-60.
Shao JL, Yang F, Du LJ, *et al.* Determine TVB-N in meat and meat products by improved means [J]. Meat Res, 2009, 23(10): 58-60.
- [5] 李夏莹,肖晓琳,张飞燕,等. 转基因玉米成分定性检测能力验证结果与分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(16): 5414-5420.
Li XY, Xiao XL, Zhang FY, *et al.* Proficiency testing results and analysis of qualitative detection of genetically modified component in maize [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(16): 5414-5420.
- [6] Sykes M, Croucher J, Smith RA. Resolution of vitamin A cis/trans isomers resolves proficiency test assessments [J]. Food Chem, 2013, 141(3): 1597-1602.
- [7] 唐凌天,符斌. 实验室能力验证的发展[J]. 中国无机分析化学, 2013, 3(4): 11-15.
Tang LT, Fu B. Development of laboratory proficiency testing [J]. Chin J Inorg Anal Chem, 2013, 3(4): 11-15.
- [8] 陈雨欣,朱荣,石建华. 牛肉粉末中猪源性成分定性检测 FAPAS 能力验证结果与分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(20): 58-61.
Chen YX, Zhu R, Shi JH. Validation results and analysis of FAPAS capability for qualitative detection of porcine-derive components in beef powder [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(20): 58-61.
- [9] 吴维群,汪国权,卢大胜,等. FAPAS 实验室能力比对的质量控制水平分析[J]. 环境与医学, 2008, 25(4): 371-374.
Wu WQ, Wang GQ, Lu DS, *et al.* The quality control level analysis of FAPAS examining lab's performance assessments [J]. J Environ Occup Med, 2008, 25(4): 371-374.
- [10] 席静,张思群,刘静宇,等. 论能力验证活动对实验室能力建设的作用和意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(6): 1576-1578.
Xi J, Zhang SQ, Liu JY, *et al.* On the role and significance of proficiency testing activities for laboratory capacity building [J]. Chin J Health Lab Technol, 2011, 21(6): 1576-1578.
- [11] 李晶,项新华,张河战. 实验室比对统计分析方法的比较[J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(2): 139-143.
Li J, Xiang XH, Zhang HZ. Comparison evaluation of statistical analysis methods for inter-laboratory comparison statistical analysis methods [J]. Chin Pharm J, 2016, 51(2): 139-143.
- [12] GB/T 27043-2012 合格评定能力验证的通用要求[S].
GB/T 27043-2012 Conformity assessment-General requirements for proficiency testing [S].
- [13] GB/T 6432-2018 饲料中粗蛋白测定凯氏定氮法[S].
GB/T 6432-2018 Determination of crude protein in feeds-Kjeldahl method [S].
- [14] GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范食品理化检测[S].
GB/T 27404-2008 Criterion on quality control of laboratories-Chemical testing of food [S].

(责任编辑:李磅礴)

作者简介

郭有辉,工程师,主要研究方向为食品安全与质量检测。
E-mail: 402807074@qq.com

王利娜,博士,高级工程师,主要研究方向为食品安全与质量检测。
E-mail: 418087411@qq.com