

燃烧法测定保健品中蛋白质含量的不确定度评定

秦晓娟*, 李 锦, 刘玉欣, 燕 阔, 卢振敏

(河北省疾病预防控制中心, 石家庄 050021)

摘 要: **目的** 评定燃烧法测定保健品中蛋白质含量的不确定度。**方法** 采用燃烧法测定保健食品中蛋白质含量, 依据实验方法建立数学模型, 并依据 JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》, 分析不确定度的来源, 计算扩展不确定度。**结果** 燃烧法测定某品牌保健品中蛋白质含量为 (13.8 ± 0.2) g/100 g, $k=2$ 。**结论** 不确定度的主要来源为重复性测定。实验中可通过增加平行测定的次数等来减小不确定度。

关键词: 燃烧法; 保健品; 蛋白质; 不确定度

Uncertainty evaluation for determination of protein in health care products by combustion method

QIN Xiao-Juan*, LI Jin, LIU Yu-Xin, YAN Kuo, LU Zhen-Min

(Hebei Province Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050021, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty for determination of protein in health care products by combustion method. **Methods** The content of protein in health care products was determined by combustion method. A mathematical model was established based on the experiment method. According to JJF 1059.1—2012 *Evaluation and expression of uncertainty in measurement*, the sources of uncertainty were analyzed and the extended uncertainty was calculated. **Results** The content of protein in the brand health care product determined by combustion method was (13.8 ± 0.2) g/100 g, $k=2$. **Conclusion** The main source of the uncertainty is repeatability measurement. In the experiment, the uncertainty can be reduced by increasing the number of parallel measurement.

KEY WORDS: combustion method; health care products; protein; uncertainty

0 引 言

蛋白质是人体重要营养物质。食物是人体摄入蛋白质的主要来源。GB 5009.5 规定食品中蛋白质的测定方法有凯氏定氮法、分光光度法和燃烧法, 实际工作中常用凯氏定氮法^[1-2]和燃烧法^[3-4]。凯氏定氮法通过样品消化、蒸馏、滴定等操作对含氮量进行定量, 操作较烦琐, 试剂用量多; 燃烧法具有试剂用量少、操作简单快速等优点^[5-6]。目前关于凯氏定氮法测定食品中蛋白质不确定度分析的报道较多^[7-13], 而燃烧法测定蛋白质不确定度的

分析鲜有报道。本研究用燃烧法测定某保健品中蛋白质的含量, 并根据 JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》^[14], 对其不确定度进行分析, 对各不确定度分量进行评定, 提出了该测量方法的合成不确定度, 如实地反映蛋白质检测结果的准确性, 以期改进实验方法、提高结果准确度提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

Rapid N cube 氮分析仪(德国 Elementar 公司);

*通信作者: 秦晓娟, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为食品理化检验。E-mail: lanye1987032@126.com

*Corresponding author: QIN Xiao-Juan, Master, Technician, Hebei Province Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050021, China. E-mail: lanye1987032@126.com

AL204-IC 分析天平(美国 Mettler Toledo 公司); 天门冬氨酸(99.9%, 美国 Aldrich 公司); 奶粉中蛋白质标准物质(编号为 BW3832-1, 中国计量科学院)。

供试样品为市售某品牌调节血脂类保健品, 标签注明蛋白质含量为 13.5 g/100 g。

1.2 实验原理

依据 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》^[15]中第三法, 对某保健品中蛋白质的含量进行测定。试样在 900~1200 °C 高温富氧环境中燃烧, 燃烧过程中产生混合气体, 其中的碳、硫等干扰气体和盐类被还原管吸收, 氮氧化物被全部还原成氮气, 形成的氮气气流通过热导检测器进行检测。

1.3 实验方法

1.3.1 测试条件

燃烧管: 960 °C; 二级燃烧管: 800 °C; 还原管: 815 °C。

1.3.2 仪器校准

称量基准物质天门冬氨酸 100 mg(精确至 0.1 mg), 用锡箔纸包裹压片后置于样品盘上, 试样进入燃烧管, 在高纯氧中充分燃烧, 燃烧生成的气体被载气送至二级燃烧管和还原管, 经还原生成氮气后进行检测。根据测试结果对仪器进行校准。天门冬氨酸含氮量(以 N 计)理论值为 10.52%, 在仪器软件中输入此数值, 并设置 N 测试允许偏差为 5%。

1.3.3 样品测定

称量混合均匀的试样 100 mg(精确至 0.1 mg), 用锡箔纸包裹压片后置于样品盘上, 经燃烧还原生成氮气, 进行检测。用测得的含氮量乘以折算系数, 计算其中蛋白质的含量。

1.3.4 建立数学模型

试样中测定项目含量按以下公式(1)模型进行计算:

$$X = c \times F \quad (1)$$

式中: X—试样中蛋白质的含量, g/100 g;

c—试样中氮的含量, g/100 g;

F—氮换算为蛋白质的系数, 本研究中为 6.25。

2 结果与分析

2.1 不确定度来源分析

从测量过程和数学模型分析, 样品中蛋白质含量测定的不确定度主要来自于以下几个方面: (1)基准物质校准仪器引入的不确定度; (2)样品称量引入的不确定度; (3)重复性测量引入的不确定度, 包括样品的均匀性、处理过程的一致性、进样的重复性、仪器波动以及人员操作等重复性过程引入的不确定度; (4)转化率引入的不确定度, 转化率即样品中氮氧化物转化成氮气的部分所占的百分数; (5)

数值修约引入的不确定度; (6)仪器本身带来的不确定度。

2.2 不确定度分量评定

2.2.1 基准物质校准仪器引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(F)$

基准物质引入的不确定度主要包括基准物质的纯度、称量引入的不确定度。

(1)天门冬氨酸纯度引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(P)$

天门冬氨酸的纯度为 0.999±0.001, 按照均匀分布 ($k = \sqrt{3}$), 则相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(P) = \frac{0.001}{\sqrt{3} \times 0.999} \times 100\% = 0.058\%。$$

(2)天门冬氨酸称量引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(m_0)$

应用感量为 0.1 mg 的分析天平, 称量样品 100.0 mg, 精确到小数点后第一位, 查阅天平检定证书, 在 0~50 g 范围内, 天平的误差为 0.05 mg, 该标准不确定度需计算 2 次。由天平称量引入的不确定度按均匀分布 ($k = \sqrt{3}$)

为: $u(m_0) = \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.0289 \text{ mg}$, 相对标准不确定度

为: $u_{\text{rel}}(m_0) = \frac{\sqrt{0.0289^2 + 0.0289^2}}{100.00} \times 100\% = 0.041\%。$

对上述不确定度分量进行合成, 得到天门冬氨酸校准仪器引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(F) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(P) + u_{\text{rel}}^2(m_0)} \times 100\% = 0.071\%。$$

2.2.2 样品称量引入的相对标准不确定度

计算方法同 2.2.1。样品称量引入的相对标准不确定度: $u_{\text{rel}}(m) = 0.041\%。$

2.2.3 重复性测量引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(\bar{X})$

对样品进行 6 次重复测定, 结果如表 1 所示。

表 1 样品中蛋白质含量的重复测定结果($n=6$)
Table 1 Results of repeated determination of protein in reference substance ($n=6$)

编号	1	2	3	4	5	6
含量 X_i (g/100 g)	13.9	13.5	13.9	13.8	13.5	13.9
平均值 \bar{X} (g/100 g)	13.8					

6 次重复测定引入的标准不确定度为

$$u(\bar{X}) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n(n-1)}} = 0.0837 \text{ g/100 g}, \text{ 相对标准不确定度}$$

$u_{\text{rel}}(\bar{X}) = \frac{u(\bar{X})}{\bar{X}} \times 100\% = 0.61\%。$

2.2.4 转化率引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(\bar{R})$

样品中的氮氧化物是否被全部还原成氮气并通过热导检测器进行检测, 直接关系到测定结果准确与否, 即样

品在这一检测过程中, 有多少能够转化为待测物, 这一转化率的大小直接影响到测定结果不确定度的大小。这一不确定度的大小通过标准物质的测定结果来衡量。平行称量 6 份奶粉中蛋白质标准物质进行测定, 测定结果见表 2。在结果处理时, 将标准物质的测定值与标准证书给定的标准值比值当作转化率来进行运算。对于转化率引入的不确定度采取回收率不确定度的计算方法。实验标准偏差

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (R_i - \bar{R})^2}{n-1}} = 0.75\%, \text{ 相对标准不确定度为}$$

$$u_{\text{rel}}(\bar{R}) = \frac{S_R}{R \times \sqrt{n}} \times 100\% = 0.31\%。$$

表 2 奶粉中蛋白质含量的平行测定结果(n=6)
Table 2 Results of parallel determination of protein in milk powder (n=6)

编号	1	2	3	4	5	6
测量值/(g/100 g)	18.430	18.119	18.367	18.256	18.158	18.502
标准值/(g/100 g)	18.44					
转化率 R/%	99.95	98.26	99.60	99.00	98.47	100.00
平均值 \bar{R} /%	99.21					

2.2.5 数值修约引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(\bar{X}_{\text{修}})$

数据修约会引入不确定度, 其大小与修约间隔有关。样品测量结果均保留小数点后一位, 因此数值修约间隔为 0.1, 由此引入的不确定度可按半宽的均匀分布处理, $u(\bar{X}_{\text{修}}) = \frac{0.1}{2 \times \sqrt{3}} = 0.0289$, 相对标准不确定度为

$$u_{\text{rel}}(\bar{X}_{\text{修}}) = \frac{0.0289}{13.8} \times 100\% = 0.21\%。$$

2.2.6 仪器本身的不确定度

校准证书上给出的仪器的不确定度为 0.13%(k=2), 则其相对标准不确定度为 $u_{\text{rel}} = \frac{0.13\%}{2} = 0.065\%$ 。

2.3 合成不确定度

2.3.1 合成标准不确定度计算

将 2.2 中的各不确定度分量进行合并, 得到合成相对标准不确定度

$$u_{\text{rel}}(X) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(F) + u_{\text{rel}}^2(m) + u_{\text{rel}}^2(\bar{X}) + u_{\text{rel}}^2(\bar{R}) + u_{\text{rel}}^2(\bar{X}_{\text{修}}) + u_{\text{rel}}^2} \times 100\% =$$

$$\sqrt{0.00071^2 + 0.00041^2 + 0.0061^2 + 0.0031^2 + 0.0021^2 + 0.00065^2} \times 100\% = 0.72\%。$$

合成标准不确定度: $u(X) = u_{\text{rel}}(X) \times \bar{X} = 0.72\% \times 13.8 \text{ g/100 g} = 0.1 \text{ g/100 g}$ 。

2.3.2 测量结果表示

95%置信度下取包含因子 $k=2$, 则扩展不确定度为 $U = 2 \times u(X) = 2 \times 0.1 \text{ g/100 g} = 0.2 \text{ g/100 g}$ 。

燃烧法测定某品牌保健品中蛋白质的含量为 $(13.8 \pm 0.2) \text{ g/100 g}$, $k=2$ 。

2.3.3 不确定度分量汇总

燃烧法测定保健品中蛋白质的各不确定度分量汇总见表 3。由表 3 可知影响燃烧法测定蛋白质不确定度的主要因素为重复性测量。

表 3 相对标准不确定度分量汇总表
Table 3 Summary table of the relative standard uncertainty components

不确定度分量	相对标准不确定度/%
基准物质	0.071
样品称量	0.041
重复性测量	0.61
转化率	0.31
数值修约	0.21
仪器本身	0.065

2.3.4 相对标准不确定度分布

燃烧法测定保健品中蛋白质的各相对标准不确定度分布见图 1。由图 1 可知影响燃烧法测定蛋白质不确定度的主要因素是重复性测量。

3 结论与讨论

通过以上不确定度的分析可知, 影响燃烧法测定蛋白质不确定度的主要因素为重复性测量, 其次为转化率和数值修约, 基准物质、样品称量和仪器本身引起的不确定度较小。在测定过程中, 可以增加平行测定的次数来减小重复性测量引入的不确定度。还原管填充银丝、钨丝、铜等以还原氮氧化物并吸收样品燃烧产生的硫和卤素, 为提高样品转化率, 应保证样品在燃烧管中充分燃烧并在还原管中全部被还原, 及时更换还原管填充物钨丝等, 同时应保证样品的均匀性, 加强实验人员操作的规范性等来降低方法的不确定度, 进一步提高测定结果的准确性。

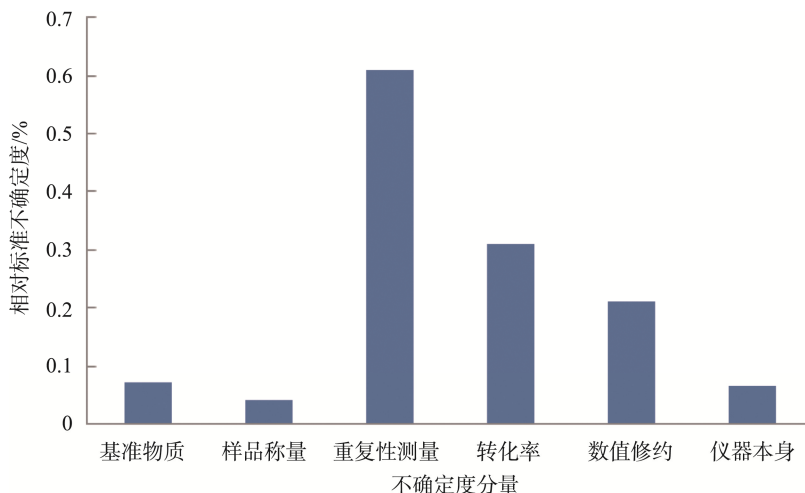


图1 相对标准不确定度分布

Fig.1 Distribution of relative standard uncertainty

参考文献

- [1] 万凌燕. 凯氏定氮法测定食品中蛋白质的探讨[J]. 计量与测试技术, 2012, 39(8): 89-90.
WAN LY. Discussion on determination of protein in food by Kjeldahl method [J]. Metrol Meas Tech, 2012, 39(8): 89-90.
- [2] 李花觉. 凯氏定氮法检测奶粉中蛋白质质量控制及注意事项[J]. 中国卫生产业, 2019, 16(10): 162-163.
LI HJ. Quality control and precautions on the determination of protein in milk powder by Kjeldahl method [J]. Chin Health Ind, 2019, 16(10): 162-163.
- [3] 何杏宗, 冯雪雅, 赵悦, 等. 杜马斯燃烧法测定饼干中蛋白质的方法研究[J]. 食品工业, 2018, 39(12): 169-171.
HE XZ, FENG XY, ZHAO Y, *et al.* Study on the determination of protein in biscuits by Dumas combustion method [J]. Food Ind, 2018, 39(12): 169-171.
- [4] 徐丽, 翟丽娜, 刘亚楠, 等. 杜马斯燃烧法测定牛奶中的蛋白质含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(12): 3903-3905.
XU L, ZHAI LN, LIU YN, *et al.* Determination of the protein content in milk by Dumas combustion method [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(12): 3903-3905.
- [5] 方亚敏, 冯蓓健, 杨滨. 食品中蛋白质两种测定方法比较[J]. 上海预防医学杂志, 2009, 21(8): 381-382.
FANG YM, FENG BJ, YANG B. Comparison of two methods for determination of protein in food [J]. Shanghai J Prev Med, 2009, 21(8): 381-382.
- [6] 唐静, 罗玥, 黄萍, 等. 全自动凯氏定氮仪测定蛋白饮料中蛋白质的不确定度分析[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(7): 152-154.
TANG J, LUO Y, HUANG P, *et al.* Uncertainty analysis on determination of protein in protein drinks with Kjeldahl 8400 protein analyzer [J]. Anhui Agric Sci, 2018, 46(7): 152-154.
- [7] 徐志飞, 李芳. 凯氏定氮法测定蛋白粉中蛋白质含量的不确定度分析[J]. 中国卫生工程学, 2015, 14(4): 361-362.
XU ZF, LI F. Evaluation of uncertainty for determination of protein in protein powder by Kjeldahl method [J]. Chin J Pub Health Eng, 2015, 14(4): 361-362.
- [8] 戴飞, 吴贝贝, 关敬媛, 等. 凯氏定氮法测定固体饮料中蛋白质含量的不确定度评定[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(7): 76-78.
DAI F, WU BB, GUAN JY, *et al.* Evaluation of uncertainty in determination of protein content by Kjeldahl method in solid beverage [J]. Anhui Agric Sci, 2017, 45(7): 76-78.
- [9] 陈辉, 刘振林, 张忠义. 凯氏定氮法测定牛奶中蛋白质的不确定度分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(3): 373-374.
CHEN H, LIU ZL, ZHANG ZY. Uncertainty analysis on determination of protein in milk by Kjeldahl method [J]. Chin J Health Lab Technol, 2004, 14(3): 373-374.
- [10] 梁冰华, 周晶, 倪霞, 等. 凯氏定氮法测定保健品螺旋藻中蛋白质的不确定度分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(1): 216-217.
LIANG BH, ZHOU J, NI X, *et al.* Uncertainty analysis on determination of protein in health care product spirulina by Kjeldahl method [J]. Chin J Health Lab Technol, 2009, 19(1): 216-217.
- [11] 李芳. 凯氏定氮法测定食品中蛋白质的不确定度分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(5): 623-624.
LI F. Uncertainty analysis on determination of protein in food by Kjeldahl method [J]. Chin J Health Lab Technol, 2006, 16(5): 623-624.
- [12] 黄燕萍. 奶粉中蛋白质含量(以 N 计)测量的不确定度分析[J]. 中国药事, 2010, 24(2): 178-181.
HUANG YP. Uncertainty analysis on determination of proteins (N) in milk powder [J]. Chin Pharm Affairs, 2010, 24(2): 178-181.
- [13] 林荆, 林永辉, 陈竞秀. 凯氏定氮法测定大豆粉中蛋白质的不确定度评定[J]. 福建分析测试, 2015, 24(6): 27-29.
LIN J, LIN YH, CHEN JX. Uncertainty evaluation of determination of

protein in soyabean powder by Kjeldahl method [J]. Fujian Anal Test, 2015, 24(6): 27-29.

(责任编辑: 于梦娇)

[14] JJF 1059.1—2012 测量不确定度评定与表示[S].

作者简介

JJF 1059.1—2012 Evaluation and expression of uncertainty in measurement [S].

[15] GB 5009.5—2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S].

GB 5009.5—2016 National food safety standard-Determination of protein in food [S].



秦晓娟, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为食品理化检验。

E-mail: lanye1987032@126.com



“食品化学性风险及安全控制研究”专题征稿函

农作物在生长过程中可能受到外来化学物质的污染, 包括环境中的污染物、生长过程中使用的农药和肥料等; 食物在从农场到餐桌的过程中经过加工也可能会发生一系列衍生性反应, 产生新的有害物质; 另外, 不法商贩的非法添加和成品的包装污染也会给食品带来化学性风险。由此可见, 加强宣传, 普及科学知识, 实施食品安全战略, 让全民参与到维护食品安全中来, 全面提升食品质量安全刻不容缓。

鉴于此, 本刊特别策划“食品化学性风险及安全控制研究”专题, 主要围绕食品化学性危害; 食品化学性风险、安全; (环境污染物、天然动植物毒素、食品供应链过程产生的污染和人为使用的非法物质等。)等或您认为本领域有意义问题展开讨论, 计划在 2021 年 3/4 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编国家食品安全风险评估中心 吴永宁 研究员特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 2021 年 3 月 30 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式(注明专题食品化学性风险及安全控制研究):

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者

登录-注册投稿-投稿栏目选择“2021 专题: 食品化学性风险及安全控制研究”)

邮箱投稿: E-mail: jfoodsq@126.com(备注: 食品化学性风险及安全控制研究专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部