

高效液相色谱法测定鸡蛋中角黄素的 不确定度评定

刘淑华*, 张宜文, 王冰玥, 赵少雷, 赵海波

(北京市计量检测科学研究院, 北京 100029)

摘要: **目的** 评定高效液相色谱法测定鸡蛋中角黄素含量的不确定度。**方法** 样品经乙腈水浴超声提取和离心, 取上清液用正己烷脱脂, 再用旋转蒸发器浓缩后, 乙腈定容, 经 C_{18} 色谱柱分离, 流动相等度洗脱, 采用高效液相色谱仪(紫外-可见检测器)在波长 471 nm 进行测定。外标法定量测定鸡蛋中角黄素含量。依据 JJF 1135—2005《化学分析测量不确定度评定》和 JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》, 考察整个测量过程不确定度来源(如称重、试样定容体积、标准溶液配制、标准曲线拟合、样品重复性和回收率); 并对各个因素引入的不确定度进行计算和合成; 最后给出扩展不确定度。**结果** 当鸡蛋中角黄素检测结果为 0.39 mg/kg 时, 扩展不确定度为 0.017 mg/kg, $k=2$ 。**结论** 实验过程中的不确定度主要来源于标准曲线配制、标准曲线拟合和样品测量, 需要在测量过程中重点控制进而降低测量结果的不确定度。

关键词: 鸡蛋; 角黄素; 高效液相色谱法; 不确定度

Uncertainty evaluation of the determination of canthaxanthin in eggs by high performance liquid chromatography

LIU Shu-Hua*, ZHANG Yi-Wen, WANG Bing-Yue, ZHAO Shao-Lei, ZHAO Hai-Bo

(Beijing Institute of Metrology, Beijing 100029, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty in determination of canthaxanthin in eggs by high performance liquid chromatography. **Methods** The sample was extracted by acetonitrile in a water bath and centrifuged. The supernatant was degreased with *n*-hexane, after concentrated with rotary evaporator, the volume was fixed with acetonitrile. The sample was analyzed by chromatography column C_{18} with flow equivalence elution, the sample was analyzed by high performance liquid chromatography (UV-Vis detector) at the wavelength of 471 nm. The target was quantified with external standard curve. According to JJF 1135—2005 *Assessment of uncertainty in measurement of chemical analysis* and JJF 1059.1—2012 *Assessment and expression of uncertainty in measurement*, sources of uncertainty in the whole measurement process were investigated (such as weighing, constant volume of sample, preparation of standard solution, standard curve fitting, sample repeatability and recovery rate). The uncertainty introduced by each factor was calculated and synthesized. Finally, the extended uncertainty was given. **Results** When the determination result of canthaxanthin in eggs was 0.39 mg/kg, the expanded uncertainty was

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFF0216700)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFF0216700)

*通信作者: 刘淑华, 计量工程师(中级), 主要研究方向为食品检测和仪器计量检测。E-mail: 870544199@qq.com

*Corresponding author: LIU Shu-Hua, Metrological Engineer (Intermediate), Beijing Institute of Metrology, No.10 Road, Lishuiqiao, Chaoyang District, Beijing 100029, China. E-mail: 870544199@qq.com

0.017 mg/kg ($k=2$). **Conclusion** The uncertainty in the experimental process mainly comes from standard curve preparation, standard curve fitting and sample measurement. In the process of measurement, it is important to control and reduce the uncertainty of measurement results.

KEY WORDS: eggs; canthaxanthin; high performance liquid chromatography; uncertainty

0 引言

角黄素, 即斑蝥黄, 是一种分布在常见的甲鱼、鱼类、藻类和昆虫体内, 很重要的类胡萝卜素, 是一种功能性着色因子^[1-6]。角黄素具有抑制多不饱和脂肪酸的氧化、改善视力、免疫调节活性、促进色素形成等重要的生物学功能, 但其在生物体内的含量甚微^[1-6]。人工合成的角黄素在水产、家禽养殖等动物饲料添加剂方面的使用, 有利于使蛋黄的颜色及亮度变成人们喜爱的橙红色^[1-5]。鸡蛋是人类饮食中最重要的食物之一, 不仅营养丰富, 还富含多种生物活性成分^[6-7]。消费者通常会根据蛋黄颜色判断鸡蛋的质量, 蛋黄颜色越丰富的鸡蛋被认为营养越丰富^[6-7]。依据原农业部发布的第 2045 号《饲料添加剂品种目录(2019)》中, 角黄素可以作为着色剂在家禽饲料中添加使用。但不法商贩将着色剂超量饲喂家禽现象依然存在, 给食品质量安全带来隐患。近年来的研究表明, 人体吸收角黄素后会积累在视网膜上, 从而造成视力减退等眼疾^[6,8]。欧盟规定每日可接受的角黄素摄入量(acceptable daily intake, ADI)为每公斤体重 0.03 mg 角黄素^[7]。依据资料显示, 目前角黄素残留量的检测方法主要有液相色谱法^[9-11]和液相色谱-质谱法^[12-15]。但是各种方法检测过程中, 当测定结果和限量值接近时, 就必须进行不确定度的评估确保检测结果的准确性。在食品检测中角黄素没有定量限制, 不确定度的评定可以提高检测结果的准确性和可靠性。测试的可靠性和分析结果通常取决于不确定性的程度, 测量不确定度越小, 表明检测结果越准确可靠^[16-20]。

本研究根据 SN/T 2327—2009《进出口动物源性食品中角黄素、虾青素的检测方法》中液相色谱法测定鸡蛋中角黄素含量进行测量。并根据 JJF 1135—2005《化学分析测量不确定度评定》和 JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》对整个实验过程中所产生的各个不确定因素分析和计算, 确定各个因素对结果的影响, 并为优化和判定结果准确性提供方法和依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

LC-20AD 液相色谱仪(配有 SPD-20A 紫外-可见检测器)(日本岛津公司); KQ5200DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); SEPX6870D 研磨仪(美国 SPEX 公司); RV8 旋转蒸发器(德国 IKA 公司); 3K15 离心机(日本 Sigma 公司); XPE205DR 电子天平 0.01 mg (瑞士 METTLER 公司)。

乙腈、正己烷、甲醇(色谱纯, 德国默克公司); 容量瓶: 5、25 和 200 mL, A 级, 经检定合格后使用; 超纯水: 由 MiLLipore 自制去离子水, 电阻率 18.25 MΩ·cm; 无水硫酸钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 色谱条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (4.6 μm×100 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水(95:5, V:V), 流速: 1.0 mL/min, 检测器波长: 471 nm, 进样量: 50 μL。

1.3 测定方法

根据 SN/T 2327—2009 中称取试样(煮熟冷冻干燥并粉碎, 混合均匀后)约 5 g (精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入 30 mL 乙腈提取剂及 10 g 无水硫酸钠后, 涡旋混合 1 min。35 °C 水浴超声提取 10 min。再以 3000 r/min 离心 5 min。将上清液移入置有 20 mL 正己烷的 125 mL 分液漏斗中。振摇 0.5 min 后, 静置分层; 收集下层乙腈相, 正己烷相留在分液漏斗中。按上述步骤对离心管中的样品每次用 20 mL 乙腈提取剂再重复提取 2 次, 所得上层提取液用留在分液漏斗的正己烷相依次脱脂。合并 3 次脱脂后所收集的下层乙腈相, 加入 5 mL 正丙醇。在 40 °C 的条件下旋转蒸发浓缩至干。用乙腈溶解并定容至 5 mL, 过 0.22 μm 有机滤膜过滤, 滤液待测。测定操作应避免强光、连续进行, 同时做方法空白。

1.4 标准溶液的配制

1.4.1 标准储备溶液的制备

准确称取 5.00 mg 角黄素标准品, 置于 200 mL 棕色容量瓶中, 用乙腈溶解, 定容, 得到质量浓度为 25 μg/mL 的角黄素标准储备液。

1.4.2 标准工作溶液

分别用 1.0 mL 的吸量管移取 0.1、0.2、0.5、1.0 mL 和用 5.0 mL 的吸量管移取质量浓度为 25 μg/mL 标准储备溶液置于 25 mL 容量瓶中, 用乙腈准确稀释成质量浓度为 0.1、0.2、0.5、1.0、5.0 μg/mL 的角黄素标准系列溶液。

1.5 数学模型

样品中角黄素的含量按如公式(1)进行计算:

$$X = \frac{C \times V}{M} \quad (1)$$

其中,

X—样品中角黄素的含量, mg/kg;

C—标准工作液中角黄素的质量浓度, μg/mL;

V—定容体积, mL;

M —样品的质量, g; 将检测数据代入公式得到鸡蛋中斑螫换的含量:

$$X = \frac{0.39 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 5 \text{ mL}}{5 \text{ g}} = 0.39 \text{ mg/kg}。$$

1.6 不确定度的评定

鸡蛋中角黄素检测结果不确定度的来源分析见图 1。

2 结果与分析

2.1 样品称量产生的不确定度 u_m

称重引入的不确定度主要来源为天平称量的最大允许误差、天平称量偏载和浮力影响。在常规状态下称重, 浮力影响可忽略不计。由电子天平检定证书可知, 称重的最大允差为 $\pm 0.05 \text{ mg}$, 称量偏载为 $\pm 0.015 \text{ mg}$, 净重由 2 次称量操作所得, 一次为皮重, 另一次为重重。2 次操作相互独, 按均匀分布。

$$u_m = \frac{\sqrt{2 \times (0.05^2 + 0.015^2)}}{\sqrt{3}} = 0.043 \text{ mg}。$$

其中标准品 5 mg 和样品称重 5 g 的相对不确定度

$\frac{u_{m1}}{m_1}$ 和 $\frac{u_{m2}}{m_2}$ 分别为:

$$\frac{u_{m1}}{m_1} = \frac{0.043 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} = 0.0086。$$

$$\frac{u_{m2}}{m_2} = \frac{0.043 \text{ mg}}{5000 \text{ mg}} = 0.0000086。$$

故称量引起的相对不确定度为:

$$\frac{u_m}{m} = \sqrt{0.0000086^2 + 0.0086^2} = 0.0086。$$

2.2 试样提取溶液定容体积产生的不确定度 u_v

容量瓶定容体积产生的不确定度主要有 3 个部分: 校准容量瓶时产生的不确定度 $u(V_1)$ 、操作者定容的重复性产生的不确定度 $u(V_2)$ 和定容时与容量瓶体积校准时温度差异产生的不确定度 $u(V_3)$ 。

(1)校准容量瓶内部体积产生的不确定度 $u(V_1)$

20 °C 时 5 mL A 级容量瓶的容量允差为 $\pm 0.02 \text{ mL}$, 属于 B 类不确定度。因此假设均匀分布, 则校准容量瓶内部体积产生的不确定度为:

$$u(V_1) = \frac{0.025}{\sqrt{3}} = 0.014 \text{ mL}。$$

则相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_1) = \frac{0.014}{5} = 0.0028。$$

(2)重复性产生的不确定度 $u(V_2)$

通过对 5 mL A 级容量瓶充满 10 次并称量, 其结果分别为: 4.9983、4.9754、4.9892、4.9408、4.9787、4.9685、4.9697、4.9914、4.9678 和 4.9759 g, 属于 A 类不确定度, 故重复性产生的相对标准不确定度为

$$u_{\text{rel}}(V_2) = \frac{1}{m} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (m_i - \bar{m})^2}{n-1}} = 0.0031。$$

(3)定容时温差产生的不确定度 $u(V_3)$

该容量瓶在 20 °C 校准过, 而实验室内温度在 $\pm 5 \text{ °C}$ 之间波动。温度差异产生的不确定度可以依据该温度波动的体积膨胀系数来进行计算。乙腈的体积膨胀系数为 $1.37 \times 10^{-3} \text{ °C}^{-1}$, 产生的体积变化为 $\pm 5 \times 1.37 \times 10^{-3} = \pm 0.03425 \text{ mL}$, 属于 B 类不确定度, 则定容时温差产生的相对标准不确定度为:

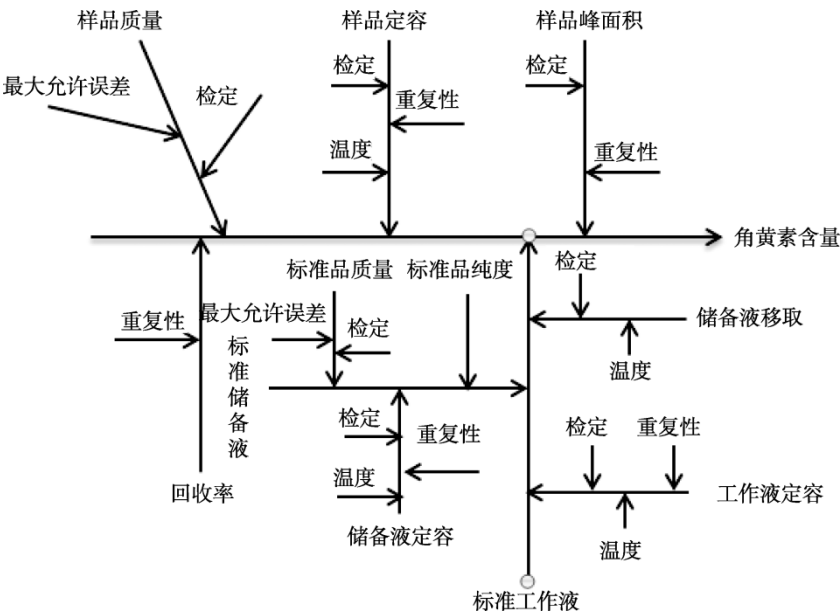


图 1 不确定度的分量图

Fig.1 Component diagram of uncertainty

$$u_{\text{rel}}(V_2) = \frac{0.03425}{5 \times \sqrt{3}} = 0.0040。$$

因此, 试样提取容量瓶定容产生的相对不确定度为:

$$\frac{u_v}{V} = \sqrt{u_{\text{rel}}(V_1)^2 + u_{\text{rel}}(V_2)^2 + u_{\text{rel}}(V_3)^2} = 0.0058。$$

2.3 待测试样中角黄素浓度引入的不确定度 u_c

2.3.1 标准品纯度的不确定度 u_p

根据标准证书, 角黄素纯度为(99±1)%, 假定均匀分布, 其包含因子 k 为 $\sqrt{3}$, 则 $u_p = \frac{1\%}{\sqrt{3}} = 0.58\%$ 。

则其相对标准不确定为 $u_{\text{rel}}(P) = \frac{u_p}{\rho} = \frac{0.58\%}{99\%} = 0.0059$ 。

2.3.2 标准工作曲线配制产生的不确定度 $u(c_2)$

根据 1.4 标准溶液配制过程可知, 该过程中不确定度主要有称重、玻璃器皿的校准、人为定容和环境温度变化引入的^[18-20]。又因称重在 2.1 已经计算考虑, 不再重复计算。依据玻璃器皿检定证书获得玻璃器具的最大允许误差, 按

均匀分布 $k = \sqrt{3}$ 。标准储备液和标准曲线均由乙腈配制, 实验的温度一般在(20±5) °C变化, 20 °C下乙腈的体积膨胀系数为 $1.37 \times 10^{-3} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$, 远大于硼硅玻璃的体积膨胀系数 $1.0 \times 10^{-5} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ 。故环境温度变化体积主要有溶剂体积变化产生, 按均分分布 $k = \sqrt{3}$; 人为定容产生的不确定度只有通过容量瓶重复性来反映, 计算得出标准配制过程中计量器具的不确定见表 1 和表 2。

200 mL 容量瓶定容体积的合成不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{200}) = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2} = \sqrt{0.000433^2 + 0.000102^2 + 0.00395^2} = 0.0040。$$

25 mL 容量瓶定容体积的合成不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{25}) = \sqrt{u_4^2 + u_5^2 + u_6^2} = \sqrt{0.000693^2 + 0.000609^2 + 0.00395^2} = 0.0041。$$

容量瓶体积的相对合成不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(\text{容}) = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2 + u_5^2 + u_6^2} = 0.0041。$$

表 1 标准溶液配制过程中容量瓶(校准、人为因素和环境温度)的不确定度分析					
Table 1 Uncertainty introduced by calibration (human factors and environmental temperature change of measuring vessels during preparation of standard solution)					
器皿	类型	最大允许误差	均匀分布	标准不确定度/mL	相对不确定度
200 mL	计量器具校准	±0.15 mL	$\sqrt{3}$	0.087	$u_1=0.000433$
	重复性	-	—	0.020	$u_2=0.000102$
	温度差异	±5 °C	$\sqrt{3}$	0.791	$u_3=0.00395$
25 mL	计量器具校准	±0.030 mL	$\sqrt{3}$	0.017	$u_4=0.000693$
	重复性	-	—	0.015	$u_5=0.000609$
	温度差异	±5 °C	$\sqrt{3}$	0.0898	$u_6=0.00395$

表 2 标准溶液配制过程中分度吸量管(校准和环境温度)的不确定度分析							
Table 2 Uncertainty introduced by calibration and environmental temperature change of indexing pipettes during preparation of standard solution							
器皿	次数	类型	移取体积/mL	最大允许误差	均匀分布	标准不确定度/mL	相对不确定度
1 mL	1	计量器具校准	0.1	±0.008 mL	$\sqrt{3}$	0.000462	$u_7=0.00462$
	1	温度差异	0.1	±5 °C	$\sqrt{3}$	0.000395	$u_8=0.00395$
1 mL	1	计量器具校准	0.2	±0.008 mL	$\sqrt{3}$	0.000462	$u_9=0.00231$
	1	温度差异	0.2	±5 °C	$\sqrt{3}$	0.000791	$u_{10}=0.00395$
1 mL	1	计量器具校准	0.5	±0.008 mL	$\sqrt{3}$	0.000462	$u_{11}=0.00924$
	1	温度差异	0.5	±5 °C	$\sqrt{3}$	0.00198	$u_{12}=0.00395$
1 mL	1	计量器具校准	1	±0.008 mL	$\sqrt{3}$	0.000462	$u_{13}=0.000462$
	1	温度差异	1	±5 °C	$\sqrt{3}$	0.00395	$u_{14}=0.00395$
5 mL	1	计量器具校准	5	±0.25 mL	$\sqrt{3}$	0.0144	$u_{15}=0.00289$

1	温度差异	5	±5 °C	$\sqrt{3}$	0.0198	$u_{16}=0.00395$
---	------	---	-------	------------	--------	------------------

分度吸量管定容体积的相对合成不确定度为:

$$u_{\text{rel(分)}} = \sqrt{\frac{u_7^2 + u_8^2 + u_9^2 + u_{10}^2 + u_{11}^2 + u_{12}^2}{u_{13}^2 + u_{14}^2 + u_{15}^2 + u_{16}^2}} = \sqrt{\frac{0.00462^2 + 5 \times 0.00395^2 + 0.00231^2}{0.000924^2 + 0.000462^2 + 0.00289^2}} = 0.011。$$

故标准工作曲线配制产生的不确定度 $u(C_2)$ 为:

$$\frac{u_{C_2}}{C_2} = \sqrt{u_{\text{rel容}}^2 + u_{\text{rel分}}^2} = \sqrt{0.0041^2 + 0.011^2} = 0.012。$$

2.3.3 标准曲线拟合产生的不确定度 $u(C_3)$

采用除空白外 5 个浓度水平的标准点在本实验的色谱条件下进行测定,液相色谱仪分析得到以浓度为横坐标,纵坐标为峰面积,用最小二乘法作出拟合曲线,见表 3。

表 3 标准工作曲线表
Table 3 Standard operating curve sheet

标准溶液浓度 $C_i/(\mu\text{g/mL})$	峰面积	线性方程 A	平均浓度 $\bar{C}$ $/(\mu\text{g/mL})$
0.1	11946	$A_i=138011C_i-37.2047$	1.36
0.2	25290		
0.5	63225		
1	149391		
5	688435		

其中,斜率 a 为 138011,截距 b 为-37.2047,则拟合工作曲线的标准偏差按如下公式计算:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_i - (a + bC_i)]^2}{n - 2}} = 7266.71。$$

本实验中鸡蛋提取液进行 3 次测定,由拟合曲线方程得到角黄素的浓度 $C=0.39 \mu\text{g/mL}$,则标准曲线拟合引入的不确定度按如下公式计算:

$$u(c_3) = \frac{s}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C - \bar{C})^2}{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}} = \frac{7266.71}{138011} \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{15} + \frac{(0.39 - 1.36)^2}{\sum_{i=1}^n (C_i - 1.36)^2}} = 0.040 \mu\text{g/mL}。$$

上式中: S - 拟合工作曲线的标准偏差;

b - 拟合工作曲线的斜率;

n - 拟合工作曲线曲线的次数, $n=15$;

p - 测定每个点次数, $p=3$;

C_i - 标准系列浓度, $\mu\text{g/mL}$;

$\bar{C}$ - 标准系列浓度的平均值, $1.36 \mu\text{g/mL}$;

故相对不确定度为: $\frac{u_{C_3}}{C_3} = \frac{0.040}{0.39} = 0.010。$

2.4 样品测量引入的不确定度 $u(C_4)$

试样峰面积测量引起的不确定度主要由进样峰面积测量重复性和高效液相色谱仪产生的不确定度组成。

2.4.1 峰面积重复性引入的不确定度 u_A

将样品连续进样 6 次,测得鸡蛋中角黄素的峰面积分别为: 53787.9、54015.5、54309.5、53987.6、54025.5、53789.5,其平均值为 53985.9,用贝塞尔公式计算得到单次测量峰

面积的标准偏差 $s_{xi} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} = 192.32$, 其峰面积

测量平均值标准不确定度为 $u_A = \frac{s_{xi}}{\sqrt{n}} = 78.51$, 则其相对不

确定度 $\frac{u_A}{C_A} = \frac{u_A}{x} = \frac{78.51}{53985.9} = 0.0015。$

2.4.2 高效液相色谱仪引入不确定度 u_{lc}

实验过程使用岛津液相色谱仪,根据仪器证书,取最大允许误差 1%,以均匀分布 $k = \sqrt{3}$ 考虑,由液相色谱仪引起的不确定 $u_{lc} = \frac{1\%}{\sqrt{3}} = 0.00577$, 其相对不确定度

$\frac{u_{lc}}{A} = \frac{0.00577}{53985.9} = 0.000000107。$

综上,故由峰面积测量引入的相对不确定度为:

$$\frac{u_{c4}}{c_4} = \sqrt{0.0015^2 + 0.000000107^2} = 0.0015。$$

因此,待测试样中角黄素浓度引入的不确定度 u_C

$$\frac{u_c}{c} = \sqrt{\left(\frac{u_p}{p}\right)^2 + \left(\frac{u_{c2}}{c_2}\right)^2 + \left(\frac{u_{c3}}{c_3}\right)^2 + \left(\frac{u_{c4}}{c_4}\right)^2} = \sqrt{0.0059^2 + 0.012^2 + 0.010^2 + 0.0015^2} = 0.017。$$

2.5 加标回收率 R 的不确定度 u_R

实际测试过程中,通过加标回收的方式,可以进行评估试样过程人为因素和提取效率引入的不确定度。在鸡蛋中加 $50 \mu\text{g}$ 角黄素标准。加标回收率平均值为 94.9%。依据贝塞尔公式得到单次测量回收率的标准偏差

$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} = 0.73$, 其回收率测量平均值标准不

确定度为 $u_{(R)} = \frac{S_R}{\sqrt{n}} = 0.30$, 则其相对不确定度 $\frac{u_R}{R} = \frac{u_R}{R} =$

$\frac{0.30}{94.9} = 0.0032。$

依据化学分析中不确定度的评估指南, 须对平均回收率进行采用 t 检验进行显著性检验, 以确定回收率是否在计算公式中采用。 $t = \frac{|1-0.949|}{0.0032} = 15.9$, 大于临界值 $t_{(95,5)}=2.571$ 时, 说明回收率与 1 有显著性差异, 则回收率必须在公式中采用以对结果进行修正。

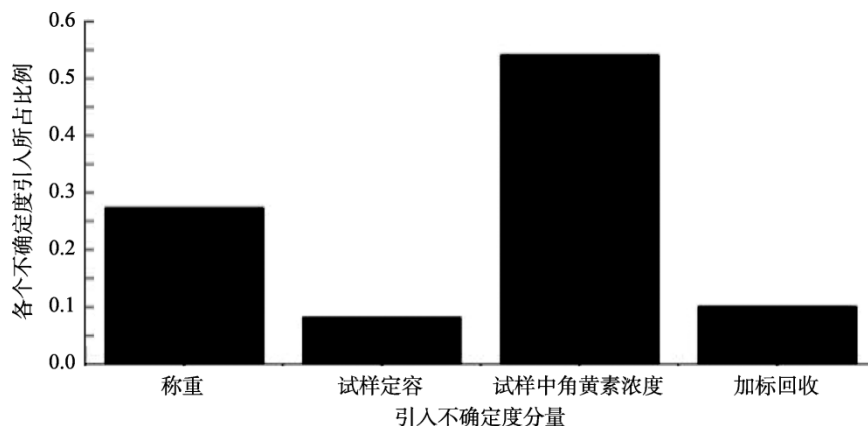


图 2 各个输入量对合成不确定度的比例
Fig.2 Ratio of each input to the resultant uncertainty

本实验色谱条件下, 测得鸡蛋中角黄素的含量 0.39 mg/kg, 合成标准不确定度为 $u_X = X \times u_{\text{rel}}(X) = 0.039 \times 0.021 = 0.0082 \text{ mg/kg}$ 。

置信概率为 95%时, 取包含因子 k 为 2, 则本次测试的扩展不确定度计算结果为:

$$U = 2 \times u_X = 0.017 \text{ mg/kg}。$$

故鸡蛋样品中角黄素的测试结果可表示为:

$$X = (0.39 \pm 0.017) \text{ mg/kg}, k=2。$$

3 结 论

采用液相色谱方法对鸡蛋中角黄素的不确定度进行了分析, 得到检测结果的扩展不确定度为 0.017 mg/kg ($k=2$)。通过对影响实验结果的各个因素进行了分析, 标准曲线配制、标准曲线拟和样品测量对测量结果影响较大, 需要在测量过程中重点控制进而降低测量结果的不确定度。

参考文献

- [1] 汪洪涛, 徐学明, 金征宇. 角黄素的性质与开发应用[J]. 粮食与饲料工业, 2003, (6): 31-32.
WANG HT, XU XM, JIN ZY. Properties and applications of canthaxanthin [J]. Cere Feed Ind, 2003, (6): 31-32.
- [2] 项学兵, 王平. 类胡萝卜素产业的研究分析[J]. 化学管理, 2020, (14): 166-170.
XIANG XB, WANG P. Research and analysis of carotenoid industry [J].

2.6 合成标准不确定度和扩展标准不确定度

根据以上不确定度分量的数值和各个输入量对合成不确定度的比例见图 2, 各元素的合成标准不确定度为:

$$\begin{aligned} \frac{u_X}{X} &= \sqrt{\left(\frac{u_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{u_V}{V}\right)^2 + \left(\frac{u_C}{C}\right)^2 + \left(\frac{u_R}{R}\right)^2} \\ &= \sqrt{(0.0086)^2 + (0.0058)^2 + (0.017)^2 + (0.0032)^2} = 0.021。 \end{aligned}$$

Chem Enter Manage, 2020, (14): 166-170.

- [3] 郑裕国, 王远山, 薛亚平. 抗氧化剂的生产及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
ZHENG YG, WANG YS, XUE YP. Production and application of antioxidants [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2014.
- [4] 罗瑜, 田洋, 肖蓉, 等. 加丽素红在市售鸡蛋中残留情况的研究[J]. 中国食品与营养, 2013, 19(8): 16-19.
LUO Y, TIAN Y, XIAO R, et al. Study on the residue of carophyll red in fresh eggs [J]. Food Nutr China, 2013, 19(8): 16-19.
- [5] 李红霞, 徐聪, 唐海彦, 等. 饲用着色剂加丽素红污染现状调查[J]. 云南畜牧兽医, 2015, (2): 30-31.
LI HX, XU C, TANG HY, et al. Investigation on the status of carophyllred contamination in feed [J]. Yunnan J Anim Sci Vet Med, 2015, (2): 30-31.
- [6] XUE XT, FAN LX, DONG YJ, et al. Evaluation of canthaxanthin in eggs and its subsequent dietary risks to Chinese consumers [J]. J Food Addit Contam, 2021, 38(2): 255-260.
- [7] JIANG H, HE J, WU XQ, et al. Survey of canthaxanthin content in commercial chicken eggs sampled from Hunan province, China [J]. J IOP Conference Series: Earth Environ, 2020, 559(1): 12.
- [8] Opinion on canthaxanthin scientific committee on food [EB/OL]. [1997-07-13]. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scindex_en.html [2021-04-12].
- [9] 何康昊, 邹晓莉, 刘祥, 等. 反相高效液相色谱-二极管阵列检测蛋黄中的角黄素和虾青素[J]. 四川大学学报(医学版), 2012, 43(1): 113-117.
HE KH, ZHOU XL, LIU X, et al. Determination of canthaxanthin and astaxanthin in egg yolk by reversed phase high performance liquid

- chromatography and diode array detection [J]. *J Sichuan Univ (Med Sci Ed)*, 2012, 43(1): 113–117.
- [10] 侯晓林, 孙英健, 吴国娟, 等. 基质固相分散术-UPLC法检测禽蛋中对位红和苏丹红[J]. *食品科学*, 2010, 31(24): 285–288.
- HOU XL, SUN YJ, WU GJ, *et al.* Use of matrix solid-phase dispersion and ultra performance liquid chromatography for determination of para red and Sudan in egg yolk [J]. *Food Sci*, 2010, 31(24): 285–288.
- [11] 余孔捷, 钱疆, 杨方, 等. 高效液相色谱法测定动物源性食品中角黄素、虾青素的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2008, 34(3): 145–148.
- YU KJ, QIAN J, YANG F, *et al.* Determination of canthaxanthin and astaxanthin in food of animal origin by high performance liquid chromatography [J]. *Food Ferment Ind*, 2008, 34(3): 145–148.
- [12] 许晖. 高效液相色谱法测定饲料中角黄素[J]. *福建分析测试*, 2017, 26(1): 36–39.
- XU H. Determination of canthaxanthin in feed by high performance liquid chromatography [J]. *Fujian Anal Test*, 2017, 26(1): 36–39.
- [13] 刘俊, 朱吕, 陆春燕. 超高效液相色谱串联质谱法同时检测禽蛋中的角黄素、对位红和苏丹红I~IV[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(18): 4953–4958.
- LIU J, ZHU L, LU CY. Simultaneous determination of canthaxanthin, parared and Sudan I-IV in egg by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(18): 4953–4958.
- [14] 薄海波, 星玉秀, 雒丽丽, 等. 河豚鱼、鳗鱼和烤鳗中角黄素残留的超高效液相色谱法测定和超高效液相色谱-串联质谱法确证[J]. *分析试验室*, 2009, 28(11): 48–52.
- BO HB, XING YX, LUO LL, *et al.* Ultra performance liquid chromatographic determination and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric confirmation of anthaxanthin residues in fugu [J]. *Chin J Anal Lab*, 2009, 28(11): 48–52.
- [15] 陈庚超, 叶李扬, 黄智娟, 等. 土鸡蛋中添加剂斑螫黄的色谱质谱联用检测方法研究[J]. *现代食品*, 2021, (6): 177–180.
- CHEN GC, YE LY, HUANG ZJ, *et al.* Study on the detection method of additive canthaxanthin in free range eggs by chromatography-mass spectrometry [J]. *Mod Food*, 2021, (6): 177–180.
- [16] 姬翔宇, 杨继业, 陈书明, 等. 阿朴酯和斑螫黄对产蛋后期鸡生产性能、蛋品质、肝肾功能及抗氧化机能的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2020, 56(5): 122–126.
- JI XY, YANG JY, CHEN SM, *et al.* Effects of apoester and canthaxanthin on productive performance, egg quality, hepatorenal function and antioxidant function of laying hens during late period of laying [J]. *Chin J Anim Sci*, 2020, 56(5): 122–126.
- [17] 陈东洋, 张昊, 冯家力, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定禽蛋中斑螫黄和叶黄素[J]. *中国食品卫生杂志*, 2020, 32(1): 45–49.
- CHEN DY, ZHANG H, FENG JL, *et al.* Determination of canthaxanthin and xanthophyll in eggs by SPE-high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Food Hyg*, 2020, 32(1): 45–49.
- [18] 张瑞刚, 杨永坛, 钱承敬. 高效液相色谱法测定饮料中富马酸二甲酯的不确定度评定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, (10): 4044–4050.
- ZHANG RG, YANG YT, QIAN CJ. Uncertainty evaluation of the determination of dimethyl fumarate in beverage by high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, (10): 4044–4050.
- [19] 刘红卫. 食品安全检测实验室测量不确定度的评定与应用[J]. *现代食品*, 2020, (22): 94–95.
- LIU HW. Evaluation and application of measurement uncertainty in food safety testing laboratory [J]. *Mod Food*, 2020, (22): 94–95.
- [20] 王权帅, 孙卫明. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中壬基酚残留量方法及不确定度评定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(24): 9214–9220.
- WANG QS, SUN WM. Determination of nonylphenol in milk by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and the evaluation of the uncertainty [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(24): 9214–9220.

(责任编辑: 王 欣 郑 丽)

作者简介



刘淑华, 计量工程师(中级), 主要研究方向为食品检测和仪器计量检测。
E-mail: 870544199@qq.com