

高效液相色谱法测定巴氏杀菌乳中糠氨酸不确定度的评定

李东刚 李春娟 吴 凡 胡友波

(黑龙江省质量监督检测研究院,哈尔滨 150050)

摘要 利用高效液相色谱法测定了巴氏杀菌乳中糠氨酸含量,对糠氨酸测量不确定度的来源进行了分析和量值评定。巴氏杀菌乳中糠氨酸含量为45.2 mg/(100 g 蛋白质)时,测量结果的扩展不确定度为5.2 mg/(100 g 蛋白质)($k=2$)。

关键词 巴氏杀菌乳 糠氨酸 高效液相色谱法 测量不确定度

测量不确定度描述了测量结果的可疑程度,在检测/校准实验室的质量管理中有重要作用。《实验室资质认定评审准则》中明确规定:在不确定度与检测结果的有效性或应用有关,客户要求,或不确定度会影响到对结果符合性的判定时,检测报告必须包括不确定度的信息^[1]。糠氨酸(ϵ -N-2-呋喃甲基-L-赖氨酸)是牛奶在加热过程中因蛋白质和糖类发生梅拉德反应而生成的特定产物,在一定程度上反映了加热过程中牛奶质量的变化。

笔者根据文献^[2]利用高效液相色谱法测定了乳制品中糠氨酸,分析了不确定度来源,并对糠氨酸的测量不确定度进行了评定^[3]。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

高效液相色谱仪:Waters 600型,配二元泵,2487双波长紫外检测器,美国Waters公司;

电子天平:BS224S型,美国赛多利斯公司;

糠氨酸标准物质:99.0% ±0.5%。

1.2 测定方法

巴氏杀菌乳在8.0 mol/L 盐酸介质、110℃加热条件下水解,以C₁₈固相萃取小柱富集水解液中的糠氨酸,解析后利用高效液相色谱仪在280 nm进行检测,单点外标法定量测定糠氨酸含量。

1.3 数学模型

糠氨酸含量按式(1)计算:

$$W = \frac{cS_2}{S_1M} \times 600 \quad (1)$$

式中:W——巴氏杀菌乳中糠氨酸含量,mg/(100 g 蛋白质);

c——糠氨酸标准工作溶液浓度,mg/L;

S₁——标准工作液中糠氨酸色谱峰面积;

S₂——样品水解液中糠氨酸色谱峰面积;

M——样品水解液中蛋白质含量,mg/mL;

600——测定时样品稀释倍数。

2 测量不确定度来源

糠氨酸测量不确定度的来源主要有以下几个方面:

- (1) 糠氨酸标准工作溶液配制引入的不确定度;
- (2) 色谱峰面积测量引入的不确定度;
- (3) 样品水解液中蛋白质含量测定引入的不确定度;
- (4) 样品重复性测定引入的不确定度。

3 不确定度评定

3.1 糠氨酸标准工作溶液配制引入的不确定度

糠氨酸标准工作溶液配制如下:准确称取0.0100 g 的糠氨酸标准物质,以3 mol/L 盐酸溶解定容于100 mL 容量瓶中,此储备液中糠氨酸的浓度为100 mg/L;然后取此储备液2.00 mL 以3 mol/L 盐酸定容于100 mL,此溶液中糠氨酸的浓度为2.00 mg/L。

糠氨酸标准工作溶液的浓度按式(2)计算:

$$c = \frac{mV_2}{V_1V_3} \quad (2)$$

式中:c——糠氨酸标准工作溶液浓度,mg/L;

m——糠氨酸标准物质的称样量,g;

V₁——初次定容体积,mL;

V₂——移取储备液体积,mL;

V₃——最终定容体积,mL。

(1) 电子天平校准引入的不确定度

由于采用0.0001 g 精度的电子天平称取标准物质,因此由电子天平校准引入的不确定度忽略。

(2) 糠氨酸标准物质的标准不确定度

按照标准物质证书提供,其相对标准不确定度

为: $u_{\text{rel}}(m) = 0.5\%$ 。

(3) 稀释过程引入的不确定度

根据玻璃仪器检定证书, 100 mL 容量瓶的不确定度为 $u_1(V_1) = u_2(V_3) = 0.0782 \text{ mL}$; 2 mL 刻度吸管的不确定度为 $u_3(V_2) = 0.0184 \text{ mL}$ 。

因此糠氨酸标准物质溶液配制过程引入的合成相对标准不确定度为:

$$\begin{aligned} u_{\text{rel}}(c) &= \sqrt{\frac{u_{\text{rel}}(m)^2 + \frac{u_1(V_1)^2}{V_1} + \frac{u_2(V_3)^2}{V_3} + \frac{u_3(V_2)^2}{V_2}}{1}} \\ &= 0.0105 \end{aligned}$$

3.2 色谱峰面积测量引入的不确定度

标准工作溶液的不确定度由紫外检测器的校准引入的 B 类不确定度、手动进样器引入的 B 类不确定度(由于是采用定量环进样, 故不确定度可忽略)和重复测量引入的 A 类不确定度构成; 而试样的重复测量引入的不确定度包含于平行样品的重复实验中, 因此对于试样色谱峰面积的测量只分析检测器校准的 B 类不确定度。

(1) 根据紫外检测器校准证书: $U = 5\%$, $k = 2$, 液相色谱仪器峰面积测量引入的相对不确定度为:

$$u_4(S_1) = u_{\text{rel}}(S_2) = 5\% / 2 = 0.025$$

(2) 标准物质溶液重复测量引入的不确定度

对标准工作溶液进样 6 次分析, 获得标准工作溶液中糠氨酸峰面积的相对标准偏差为 0.95%, 因此标准工作溶液的重复测量引入的相对不确定度为:

$$u_5(S_1) = 0.95\% / 2 = 0.00475$$

标准工作溶液峰面积测量引入的合成相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(S_1) = \sqrt{u_4^2(S_1) + u_5^2(S_1)} = 0.0254$$

3.3 样品水解液中蛋白质含量测定引入的不确定度

样品水解液中的蛋白质的测定过程如下: 准确移取水解液 2.00 mL, 依据文献 GB/T 5413.1-1997^[4] 处理, 以 0.1 mol/L 盐酸进行滴定。

样品水解液中蛋白质的含量按式(3)计算:

$$M = \frac{14c_1V_5K}{V_4} \quad (3)$$

式中: c_1 —— 盐酸标准溶液的浓度, mol/L;

V_5 —— 盐酸标准溶液消耗的体积, mL;

14 —— 氮原子的摩尔质量, g/mol;

K —— 氮换算成为蛋白质的系数;

V_4 —— 移取样品水解液的体积, mL。

不确定度的主要来源有样品的移取、0.1 mol/L 盐酸标准物质溶液标定过程、重复性试验、酸式滴定管检定、温度效应等。

经过对各个分量的分析, 样品水解液中蛋白质含量测定结果为: $M = (7.32 \pm 0.16) \text{ mg/mL}$, $k = 2$; 相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(M) = 0.0109$ 。

3.4 重复性测量引入的不确定度

依据所述方法, 对试验样品平行测定 2 次, 测定结果分别为 43.8、46.6 mg/(100 g 蛋白质), 平均值为 $\bar{W} = 45.2 \text{ mg}/(100 \text{ g 蛋白质})$, 极差为 2.8 mg/(100 g 蛋白质)。因此, 测定糠氨酸重复性的标准偏差为:

$$u(\text{rep}) = 2.8 / \sqrt{2} = 1.98 \text{ mg}/(100 \text{ g 蛋白质})$$

由平行样品重复性实验引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(\text{rep}) = 1.98 / 45.2 = 0.0438$$

4 合成相对标准不确定度

测定乳制品中糠氨酸的合成相对标准不确定度为:

$$\begin{aligned} u_{\text{rel}}(\bar{W}) &= \sqrt{u_{\text{rel}}^2(c) + u_{\text{rel}}^2(S_1) + u_{\text{rel}}^2(S_2) + u_{\text{rel}}^2(M) + u_{\text{rel}}^2(\text{rep})} \\ &= 0.0585 \end{aligned}$$

标准不确定度为: $u(W) = u_{\text{rel}}(\bar{W}) \times \bar{W} = 2.6 \text{ mg}/(100 \text{ g 蛋白质})$

5 扩展不确定度与测量结果表示

取包含因子 $k = 2$, 则扩展不确定度为:

$$U = k \times u(W) = 5.2 \text{ mg}/(100 \text{ g 蛋白质})$$

糠氨酸测量结果为:

$$W = (45.2 \pm 5.2) \text{ mg}/(100 \text{ g 蛋白质}), k = 2$$

6 结语

对糠氨酸测量结果不确定度贡献较大的分量有重复性测量、标准工作溶液色谱峰面积、水解液中蛋白质含量测定引入的不确定度。当平行试验增加至 4 次时, 重复性测量引入的相对标准不确定度为 0.0285, 扩展不确定度为 4.2 mg/(100 g 蛋白质), 可有效地降低测量不确定度。

参 考 文 献

- [1] 国家认证认可监督管理委员会. 实验室资质认定工作指南 [M]. 北京: 中国计量出版社, 2007; 235.
- [2] NY/T 939-2005 巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中复原乳的鉴定 [S].
- [3] JJF 1059-1999 测量不确定度的评定与表示 [S].
- [4] GB/T 5413.1-1997 婴幼儿配方食品和乳粉 蛋白质的测定 [S].

EVALUTION OF UNCERTAINTY OF MEASUREMENT OF FUROSINE IN PASTEURIZED MILK BY HPLC

Li Donggang, Li Chunjuan, Wu Fan, Hu Youbo

(The Academy of Quality Inspection and Research in Heilongjiang Province, Harbin 150050, China)

ABSTRACT The content of furosine in pasteurized milk was determined by HPLC. The sources of uncertainty of measurement were analysed. When the content of furosine in pasteurized milk was 45.2 mg/(100 g protein), the expanded uncertainty was 5.2 mg/(100 g protein) ($k=2$).

KEYWORDS pasteurized milk, furosine, HPLC, uncertainty of measurement

我国将严格国家质检中心统一命名

从国家质检总局获悉,我国将严格国家质检中心统一命名。按照规定,国家质检中心统一命名为“国家XX质量监督检验中心”,必要时后缀区域名,并与实际检测能力和业务范围相符。产品质量检测机构未经批准不得冠以“中国”、“全国”或“国家”等容易与国家质检中心相混淆的名称。

技术机构筹建国家质检中心,符合国家质检总局规划设立国家质检中心相关条件的,可以向当地省级质量技术监督部门提出申请,提交可行性报告和《申报国家质检中心基本情况表》,省级质量技监部门负责对可行性报告进行初审,国家质检总局主管部门对申报材料进行审查。批准筹建后,省级质量技术监督部门应协调成立以地方政府主管领导为组长、省级质量技术监督部门主管领导为副组长的筹建工作领导小组,并且应由5人以上国内享有盛誉的专家、学者组成专家组,其中应当聘请院士、教授级或特殊津贴的专家担任顾问,由承担筹建国家质检中心的单位(以下简称承建单位)等部门组成筹建办公室。筹建工作领导小组应负责编制筹建任务书,在批准筹建后3个月内上报国家质检总局;同时,组织提供支持和保障条件,使国家质检中心在批准筹建后18个月内完成筹建任务,取得授权并通过验收。

承建单位完成各项筹建工作后,由国家质检总局主管部门组织开展筹建验收工作。质检总局收到验收申请,经审查符合要求的,在5个工作日内组织专家组,按照《国家质检中心能力建设与评估指南》、《国家质检中心能力建设验收实施细则》、《国家质检中心能力建设评价指标》及筹建任务书进行验收,对省级质量技术监督部门自评情况进行核实,承建单位按筹建任务书完成各项筹建工作的,由国家质检总局批准成立相应的国家质检中心,并挂牌对外开展工作。未经验收或未通过验收的,不得以国家质检中心的名义对外开展工作。承建单位未通过验收的,应认真整改,整改期原则上为12个月。整改完成后申请整改验收,整改未通过的予以撤销。

据介绍,根据国家质检总局规划方案,国家质检中心的设立应符合“全国统一规划布局、地方政府重视支持、具备筹建技术基础、拥有产业集群优势、避免同类重复建设、建设方案科学合理”等要求。规划和布局要突出重点,体现特色。重点建设与人民群众生命健康密切相关的安全、卫生、环保领域,关系国计民生的重点产业领域,以及新兴产业、高新技

术产品等领域的国家质检中心。同时,国家质检中心应与当地或区域主导产业结合紧密,在相关专业领域具有显著的优势和特色并综合考虑当地支柱产业发展水平以及相关产品市场占有份额。
(高)

GE 车载传感器与检测科技亮相北京车展

全球著名的多元化企业GE(通用电气)旗下——GE传感与检测科技,亮相第十届北京国际汽车展零配件展区。在展会上,GE传感与检测科技展示了世界领先水平的车载传感器、无损检测以及微焦点X射线和工业CT技术,强调了将持续致力于为中国汽车及零部件厂商提供高品质的传感与检测技术解决方案,帮助中国的汽车制造和世界水平同步提升。

在展览上,GE所展示的车载传感器在保障车辆安全、车厢舒适、控制废气排放、空调系统等方面提供了出色的解决方案,充分体现出“安全、舒适、环保”的设计和制造理念。

在车辆安全方面,GE推出了新一代胎压监测系统(TPMS)传感器。该传感器集成了基于MEMS技术的GE Nova扩散硅压力传感器和加速度传感器,并具有内置温度、电压测量功能的低功耗ASIC,满足TPMS测量的精度和长时效运行的要求。在清洁排放方面,GE车用传感器通过系统温度、压力、气体等参数的精确测量,帮助达到对动力总成的精准控制。为帮助中国汽车厂商达到更严格的排放法规(欧4/欧5)标准,GE还即将推出Nox(氮氧化物)传感器和HT(高温)传感器等新产品,用于监测柴油发动机的尾气排放。在舒适驾驶方面,GE车用传感器通过对车内温湿度、空气质量以及二氧化碳浓度的实时监控,以及通过对车内阳光强度的补偿,帮助自动空调系统进行车内环境调节,从而实现舒适驾驶。

同时展示的GE的X射线检测技术可用于汽车轮毂、发动机部件和安全部件等进行无损检测,还有专为汽车点焊设计的超声波探伤仪USLT2000系列,已经广为国内外知名汽车厂商选用。特别值得一提的是2007年10月刚加入GE大家庭的德国Phoenix X射线公司,其微焦点X射线技术和计算机断层扫描被广泛应用于失效分析,也可应用于质量保证或产品控制。它可以检测几乎所有种类的汽车部件,包括机械件、铸件、焊接件、电子元件、复合材料。Phoenix X射线的二维和三维X射线技术世界领先,为汽车、电子等行业提供全面的、客户定制的系统检测解决方案。
(高)