

分光光度法测定酸菜中亚硝酸盐含量的不确定度评定

吴迪¹, 刘笑笑^{1,2}, 王莹^{1,2}, 魏春雁^{1,2*}

(1. 吉林省农业科学院, 长春 130033; 2. 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(长春), 长春 130033)

摘要:依据JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》和CNAS-GL-06《化学分析中不确定度的评估指南》,建立了分光光度法测定酸菜中亚硝酸盐含量的不确定度评定数学模型。分析测定过程中各不确定度的来源,计算各不确定度分量,合成相对不确定度和扩展不确定度。评定结果表明,分光光度法测定酸菜中亚硝酸盐含量平均值为6.21 mg/kg,扩展不确定度为0.322 mg/kg,取值结果为 $X=(6.21\pm0.322)\text{mg/kg}$;不确定度的主要来源是标准曲线绘制,在测定酸菜中亚硝酸盐的过程中,选择标准曲线的相关系数 $r\geq0.997$ 。

关键词:不确定度评定;酸菜;亚硝酸盐含量;分光光度法

中图分类号:TS255

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2020)05-0107-05

Uncertainty Evaluation of Determination of Nitrite Content in Pickled Cabbage by Spectrophotometry

WU Di¹, LIU Xiaoxiao^{1,2}, WANG Ying^{1,2}, WEI Chunyan^{1,2*}

(1. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033; 2. Risk Assessment Lab of Agro-products Quality and Safety (Changchun), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Changchun 130033, China)

Abstract: According to JJF1059.1-2012 *Evaluation and Expression of Measurement Uncertainty* and CNAS-GL-06 *Evaluation Guide of Uncertainty in Chemical Analysis*, a mathematical model for the evaluation of uncertainty in the determination of nitrite in pickled cabbage by spectrophotometer was established. The sources of uncertainty in the process of measurement were analyzed, and the components of uncertainty were calculated, and the relative uncertainty and the expanded uncertainty were synthesized. The results showed that the mean value of nitrite in spectrophotometer was 6.21 mg/kg, the expanded uncertainty was 0.322 mg/kg, and the value was $X(6.21\pm0.322)\text{mg/kg}$. The main source of uncertainty is the drawing of standard curve. In the process of determining nitrite in pickled cabbage, the correlation coefficient $r\geq0.997$ is selected.

Key words: Uncertainty evaluation; Pickled cabbage; Nitrite content; Spectrophotometry

亚硝酸盐是公认的一种强促癌物质^[1],许多国家在食品加工行业严格控制其使用量,并积极寻求降低食品中亚硝酸盐含量的方法与途径。酸菜是深受东北人民喜爱的蔬菜发酵品,但发酵过程中形成亚硝酸盐是不可避免的^[2-3]。因此,从食品安全的角度,掌握酸菜中亚硝酸盐含量、对酸菜中亚硝酸盐含量进行准确测定及对测定方法的不确定度进行评定十分必要。

测量不确定度评定与检测结果的合格判定直

接相关^[4],对量值溯源和方法确认具有重要意义^[5]。国家标准《检测和校准实验室能力的通用要求》^[6]规定,当客户有需求,必须提供测定结果的不确定度。

本文依据JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》^[7]和CNAS-GL-06《化学分析中不确定度的评估指南》^[8]规定的方法和程序,对分光光度法测定酸菜中亚硝酸盐含量的不确定度进行评定,分析影响测定结果准确性的各种因素,以期在相关检测过程中尽量减少不准确影响,提高检测质量。

1 材料与方

1.1 材料

收稿日期:2019-05-15

基金项目:吉林省农业科技创新工程项目(CXGC2018ZY004)

作者简介:吴迪(1988-),女,研究实习员,硕士,主要从事农产品质量安全研究。

通讯作者:魏春雁,女,博士,研究员,E-mail: wchy@yeah.net

表1 酸菜中亚硝酸盐含量测定结果

检测参数	重复次数P									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
亚硝酸盐	6.20	6.23	6.21	6.20	6.23	6.21	6.20	6.22	6.21	6.23
平均值:6.21 mg/kg 标准偏差:0.012 6 mg/kg										

由表1计算 $\mu(f)$ 和 $U_{rel}(f)$ 为:

$$\begin{aligned}\mu(f) &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10}(X_i - \bar{X})^2}{10 \times (10 - 1)}} = \sqrt{\frac{0.001\,44}{90}} \\ &= 0.004\,(\text{mg/kg}) \\ U_{rel}(f) &= \frac{0.004}{6.21} = 0.000\,644\end{aligned}$$

2.2.2 样品称量引入的不确定度

样品称量引入的不确定度主要是电子天平。电子天平最大允许误差为 $\pm 0.15\text{ mg}$, 按矩形分布计算, 则电子天平引入的不确定度 $\mu(M_1)$ 为:

$$\mu(M_1) = \frac{a}{k} = \frac{0.15\text{ mg}}{\sqrt{3}} = 0.086\,6\text{ mg}$$

电子天平引入的相对不确定度 $U_{rel}(M_1)$ 为:

$$U_{rel}(M_1) = \frac{\mu(M_1)}{m_1} = \frac{0.086\,6\text{ mg}}{500\,0\text{ mg}} = 0.000\,017\,2$$

2.2.3 提取过程引入的不确定度

提取过程中引入的不确定度主要是容量器具(1 mL 吸管、5 mL 吸管、50 mL 具塞比色管、50 mL

量筒和 200 mL 容量瓶), 根据 JJG 196-2006《常用玻璃量器检定规程》^[9], 其不确定度和相对不确定度计算结果见表 2。

$$U_{rel}(C_{\text{提}}) =$$

$$\begin{aligned}&\sqrt{[U_{rel}(v_{1\text{吸}})]^2 + [U_{rel}(v_{5\text{吸}})]^2 + [U_{rel}(v_{50\text{具}})]^2 + [U_{rel}(v_{200\text{容}})]^2} \\ &= 0.009\,39\end{aligned}$$

2.2.4 标准曲线绘制引入的不确定度

2.2.4.1 标准品纯度引入的不确定度

由亚硝酸钠标准物质证书可知, 亚硝酸钠标准品纯度 $\geq 98\%$, 按正态分布计算, 取 $\sqrt{3}$ 。标准品纯度引入的相对不确定度 $U_{rel}(\rho_1)$ 为:

$$U_{rel}(\rho_1) = \frac{100\% - 98\%}{\sqrt{3}} = 0.011\,6$$

2.2.4.2 标准储备液引入的不确定度

称量 0.100 g 亚硝酸钠引入的相对不确定度 $U_{rel}(m)$, 计算方法同 2.2.2。

$$U_{rel}(m) = \frac{0.086\,6\text{ mg}}{100\text{ mg}} = 0.000\,866$$

表2 容量器具引入的相对不确定度

项目	容量允差	容量校正不确定度(mL),	温度变化引入体积变化的不确定度	相对不确定度
	(mL)	$V_{(\text{容量})}$, 按正态分布, 取 $\sqrt{3}$	(mL), $V_{(\text{温度})}$,	$U_{rel}(\text{标定}) = \frac{\sqrt{V_{(\text{容量})}^2 + V_{(\text{温度})}^2}}{V}$
1 mL 吸管	0.007	0.004 04	0.000 63	0.004 09
5 mL 吸管	0.015	0.008 66	0.003 15	0.001 84
50 mL 量筒	0.50	0.288 68	0.031 50	0.005 81
50 mL 具塞比色管	0.50	0.288 68	0.031 50	0.005 81
200 mL 容量瓶	0.15	0.086 603	0.121 24	0.000 745
500 mL 容量瓶	0.25	0.144 338	0.303 109	0.000 671

配制标准储备液使用了 500 mL 容量瓶, 引入的相对不确定度 $U_{rel}(v_{500})$ 见表 2。

$$U_{rel}(v_{500}) = 0.000\,671$$

$$\begin{aligned}U_{rel}(\rho_2) &= \sqrt{[U_{rel}(m)]^2 + [U_{rel}(v_{500})]^2} \\ &= \sqrt{0.000\,866^2 + 0.000\,671^2} = 0.001\,10\end{aligned}$$

2.2.4.3 标准工作液配制引入的不确定度

配制标准曲线过程中使用了 1 mL 吸管、5 mL

吸管和 50 mL 具塞比色管, 各自引入的相对不确定度见表 2。配制标准工作液引入的相对不确定度 $U_{rel}(\rho_3)$ 为:

$$\begin{aligned}U_{rel}(\rho_3) &= \sqrt{[U_{rel}(v_{1\text{吸}})]^2 + [U_{rel}(v_{5\text{吸}})]^2 + [U_{rel}(v_{50\text{具}})]^2} \\ &= 0.007\,34\end{aligned}$$

2.2.4.4 标准曲线及标准曲线拟合引入的不确定度

亚硝酸盐标准曲线见图 2, 当亚硝酸盐质量在 0

~ 12.5μg 时, $y=0.0121x+0.0035$, $r=0.9984$, 线性关系良好。

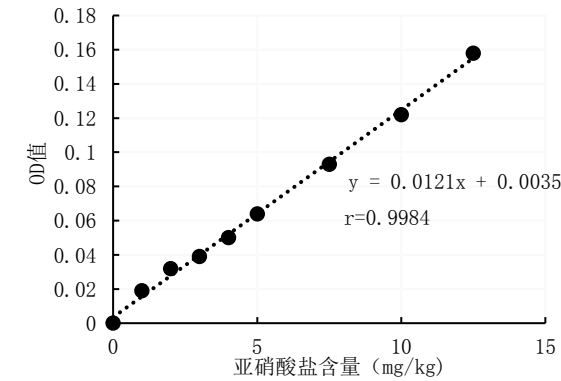


图2 亚硝酸盐标准曲线

采用最小二乘法对拟合标准曲线引入的不确定度进行评定,标准溶液中亚硝酸盐质量—吸光度结果及计算见表3。

$\bar{M}_{0i}=5\mu\text{g}$

标准曲线剩余标准差为:

$$SR = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{Y}_{0i} - Y_{0i})^2}{n - 2}} = 0.08679$$

标准曲线拟合引入的不确定度为:

表3 标准溶液中亚硝酸盐质量—吸光度结果及计算

序号	$M_{0i}(\mu\text{g})$	$\bar{Y}_{0i}$	Y_{0i}	$(M_{0i}-\bar{M}_{0i})^2$	$(\bar{Y}_{0i}-Y_{0i})^2$
1	0	0.00	0.003 5	25	0.000 012 3
2	1	0.019	0.003 7	16	0.000 233 2
3	2	0.032	0.003 9	9	0.000 790 3
4	3	0.039	0.004 0	4	0.001 227 0
5	4	0.05	0.004 1	1	0.002 106 4
6	5	0.064	0.004 3	0	0.003 567 1
7	7.5	0.093	0.004 6	6.25	0.007 810 1
8	10	0.122	0.005 0	25	0.013 694 6
9	12.5	0.158	0.005 4	56.25	0.023 283 2

注: $\bar{M}$:待测样品溶液质量平均值(μg); $\bar{M}_{0i}$:标准曲线系列质量平均值(μg); M_{0i} :各标准溶液质量值(μg); P :样品测定重复次数($P=10$); n :工作曲线的点数($n=9$); $\bar{Y}_{0i}$:各标准溶液的实际测定值平均值; Y_{0i} :各标准溶液的吸光度计算值

$$\mu(C_{\text{拟}}) = \frac{SR}{b} \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{M} - \bar{M}_{0i})^2}{\sum_{i=1}^n (M_{0i} - \bar{M}_{0i})^2}} = 0.1229$$

标准曲线拟合引入的相对不确定度为:

$$U_{\text{rel}}(C_{\text{拟}}) = \frac{\mu(C_{\text{拟}})}{C} = 0.01979$$

绘制标准曲线合成相对不确定度为:

$$U_{\text{rel}}(C_{\text{标}}) = \sqrt{U_{\text{rel}}^2(\rho_1) + U_{\text{rel}}^2(\rho_2) + U_{\text{rel}}^2(\rho_3) + U_{\text{rel}}^2(C_{\text{拟}})} = 0.0241$$

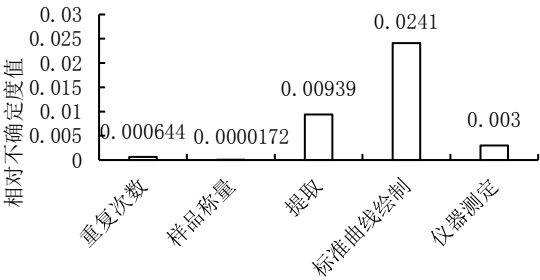
2.2.5 仪器测量引入的不确定度

由仪器检定证书可知,透射比 0.06%($K=2$),仪器引入的相对不确定度为:

$$U_{\text{rel}}(C_{\text{仪}}) = \frac{0.006}{2} = 0.003$$

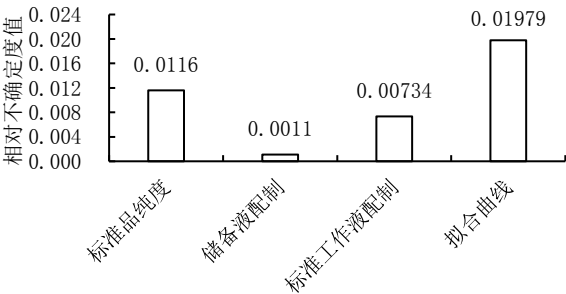
2.3 酸菜中亚硝酸盐含量测定的合成不确定度和扩展不确定度

合成不确定度 $U_{\text{rel(总)}}$ 为:



合成相对不确定度分量

图3 合成相对不确定度分量比较



标准曲线绘制相对不确定度分量

图4 绘制标准曲线相对不确定度分量比较

$$U_{rel(总)} = \sqrt{U_{rel}^2(f) + U_{rel}^2(M_1) + U_{rel}^2(C_{提}) + U_{rel}^2(C_{标}) + U_{rel}^2(C_{校})} = 0.0260$$

酸菜中亚硝酸盐含量为 6.21 mg/kg,合成标准不确定度为:

$$U_{rel(合成)} = X \times U_{rel(总)} = 6.21 \times 0.0260 = 0.161(\text{mg/kg})$$

扩展不确定度 U 为:

$$U = kU_{rel(合成)} = 2 \times 0.161 = 0.322(\text{mg/kg})$$

2.4 不确定度分量影响比较

各不确定度分量的比较结果见图 3 和图 4。

3 结 论

分光光度法测定酸菜中亚硝酸盐含量结果为 6.21 mg/kg ($n=10$),扩展不确定度为 0.322 mg/kg,取值范围为 $X=(6.21 \pm 0.322)\text{mg/kg}$ 。

测定过程中引入不确定度的各分量因素所占比例顺序为:标准曲线绘制>提取>仪器测量>重复次数>样品称量。

标准曲线绘制引入的不确定度是导致扩展不

确定度较高的主要原因。而拟合曲线在绘制标准曲线过程中引入的不确定度所占比例最大,因此,在测定酸菜中亚硝酸盐含量的过程中,选择标准曲线的相关系数 $r \geq 0.997$ 。

参考文献:

- [1] 吴慧昊,牛 锋,陈珊珊,等.高效降亚硝酸盐乳酸菌的驯化复筛及菌株鉴定[J].食品科学,2016,37(19):160-165.
- [2] 黄丽慧,张 雁,陈干陇,等.发酵蔬菜中亚硝酸盐消长规律及调控技术的研究进展[J].食品科学,2013,34(5):303-307.
- [3] 万素英,李 琳,王慧君,等.食品防腐和食品防腐剂[M].北京:中国轻工业出版社,2000:110-118.
- [4] 华晶忠,于 丽,刘笑笑,等.发酵樱菜中菌落总数平板计数结果不确定度的评定[J].东北农业科学,2019,44(3):71-73.
- [5] 刁银军,刘 莉,肖珊美,等.UPLC-MS/MS法测定元胡中4种有机磷农药残留的不确定度评定[J].安徽农业科学,2018,46(6):157-161.
- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标

(上接第 74 页)肌肉细胞仍然存活,但血液循环停止,氧气不足,只能启动糖酵解供能,而糖酵解生成丙酮酸可导致肌肉 pH 下降^[8]。当 $\text{pH}_{24} > 6.0$ 时,肉色发紫且表面干燥,判定为 DFD 肉^[9]。本地黑猪与集鲜黑猪 pH_{24} 均小于 6.0,在正常范围。大理石纹影响肌肉的嫩度、口感等指标,与肌内脂肪呈正相关,大理石纹评分越高,肌内脂肪含量越高,肌肉越嫩。肌内脂肪含量对肌肉的风味、嫩度和多汁性等食用品质有重要影响^[10]。本研究中,集鲜黑猪大理石纹评分、肌内脂肪含量、嫩度较本地黑猪稍有降低,但均保持相关性。可能是集鲜黑猪中含有巴克夏猪基因的缘故。也有研究表明很难单纯提高胴体的瘦肉率而不降低肌内脂肪含量^[11],现在育种工作只能使瘦肉率与肌内脂肪更趋于一个合理的范围。

4 结 论

巴克夏猪血统的导入提高了集鲜黑猪的生长速度,同时提高了瘦肉率,降低背膘厚,改变了集安本地猪体质过肥,生长速度慢,料肉比高的缺点,同时又保留了集安本地猪肉质好的优点,使集鲜黑猪向优质瘦肉型猪品种方向发展。

参考文献:

- [1] 张书亮.生猪延迟出栏原因及对策[J].中国畜牧兽医文摘,2013,29(2):80.
- [2] 陶 璇,杨雪梅,梁 艳,等.巴克夏猪选育进展报告[J].畜牧与兽医,2014,46(8):46-49.
- [3] 李文通,刘 颖,周 荣,等.江泉黑猪与杜长大三元杂交猪屠宰性能及肉质性状比较分析[J].中国畜牧兽医,2017,44(7):2057-2064.
- [4] 张树敏.松辽黑猪种质特性的研究[D].长春:吉林大学,2007.
- [5] 和军飞,黄 涛,孙艳洋,等.影响杜长大商品猪胴体评级的性状分析[J].畜牧与兽医,2020,52(5):1-6.
- [6] 巫婷婷,赵书红,胡军勇,等.猪肌肉颜色测定方法与结果表述的研究[J].河南农业科学,2018,47(10):125-129.
- [7] 周 波,黄瑞华,曲 亮,等.色差仪和肉色板在猪肉肉色评定中的应用[J].江苏农业科学,2007(2):121-124.
- [8] 刘秋风,张龙超,侯欣华,等.宰后猪肌肉糖酵解与肉质性状的相关性分析[J].黑龙江畜牧兽医,2019(22):34-37,41.
- [9] 朱 吉,谢菊兰,刘 建,等.巴克夏与湘村黑猪正反交后代肉质性状及肉品成分的比较分析[J].养猪,2016(4):57-59.
- [10] 李 娜,李兆华,赵晓东,等.吉松配套系选育研究初报[J].吉林农业科学,2010,35(5):41-42,45.
- [11] 于永生,李兆华,罗晓彤,等.松辽黑猪肌内脂肪沉积相关基因的筛选[J].东北农业科学,2016,41(1):91-94.

(责任编辑:王丝语)