

# 高效液相色谱法测定饮料中糖精钠含量的不确定度评定

曹丽芬, 姚黎霞, 茹巧美\* (浙江省杭州市余杭区农产品监测中心, 浙江杭州 311119)

**摘要** [目的]对饮料中糖精钠含量测定的不确定度进行评定。[方法]采用高效液相色谱法测定饮料中糖精钠含量, 分别对测定过程中标准溶液浓度、标准溶液峰面积、试样峰面积、试样定容体积以及试样称量等影响糖精钠含量测定结果的因素进行不确定度分析评定。[结果]分析表明, 检测结果的不确定度主要来源于标准溶液浓度引入的不确定度。当  $K=2$  (95% 置信水平) 时, 糖精钠的测定结果为  $(21.7 \pm 0.4) \text{ mg/kg}$ 。[结论] 该评定方法可用于高效液相色谱法测定饮料中添加剂含量的不确定度分析, 使测定结果更加可靠。

**关键词** 不确定度; 糖精钠; 高效液相色谱; 饮料

中图分类号 S509.9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)08-02457-03

**Uncertainty Evaluation for Determination of Saccharin Sodium Content in Drinks by High Performance Liquid Chromatography**  
CAO Li-fen, RU Qiao-mei et al (Yuhang District of Hangzhou City, Zhejiang Province of agricultural products monitoring center, Hangzhou, Zhejiang 311119)

**Abstract** [Objective] Uncertainty of determining saccharin sodium in drinks was evaluated. [Method] Saccharin sodium in drinks was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The uncertainty was finally obtained by synthesizing the uncertainties of variables including standard solution concentration, peak area of standard solution, sample peak area, sample volume and sample weigh. [Result] The results showed that the major factors of uncertainty in measurement were standard solution concentration. When  $K=2$  (The confidence level of 95%), the determination of saccharin sodium result was  $(21.7 \pm 0.4) \text{ mg/kg}$ . [Conclusion] This method can be used to determine the uncertainty analysis of saccharin sodium in drinks by HPLC, to make the determination results more reliable.

**Key words** Uncertainty; Saccharin sodium; High performance liquid chromatography; Drinks

糖精钠作为最古老的甜味剂, 有 80 多年的应用历史, 糖精的甜度为蔗糖的 300 ~ 500 倍, 在各种食品生产过程中都很稳定, 因此被广泛应用与各类加工食品中。但由于食用糖精对人体健康有害无益, 我国食品添加剂使用卫生标准 GB2760-2007 对糖精钠的添加限量有明确规定, 饮料中限量值为  $0.15 \text{ g/kg}$ <sup>[1]</sup>。

不确定度是一个衡量分析测量结果的尺度, 不确定度越小, 分析结果越靠近真值, 其质量越高, 数据越可靠<sup>[2]</sup>, 因此不确定度的测定具有十分重要的意义。目前我国也有不少对不确定度研究的报道<sup>[3-7]</sup>。笔者针对高效液相色谱法测定食品中糖精钠 (GB/T5009.28-2003《食品中糖精钠的测定》<sup>[8]</sup>) 进行不确定度的测量和评定, 确定其影响因素, 并对各个不确定度分量进行了评估, 得出了该法的合成不确定度, 以期对评定测量结果质量提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 供试饮料, 市售。主要仪器: Agilent 1200 高效液相色谱仪, 配有四元泵、DAD 紫外检测器和自动进样器, 安捷伦科技有限公司; KQ5200 超声波清洗仪, 昆山市超声仪器有限公司; ML204/02 分析天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; Milli-Q 超纯水处理器, 美国 Millipore 公司。主要试剂: 甲醇, HPLC 级; 乙酸铵, 分析纯。

**1.2 仪器条件** 色谱柱: Athena C<sub>18</sub>-wp 分析柱 (150.0 mm × 4.6 mm, 5.0 μm); 流动相: 乙酸铵: 甲醇 = 95:5; 柱温: 30 °C; 流速: 1 ml/min; 检测波长: 230 nm。

**1.3 测量过程** 按照 GB/T5009.28-2003《食品中糖精钠的测定》进行<sup>[8]</sup>。称取 5.00 g 试样, 置于 50 ml 容量瓶中, 加

入蒸馏水定容, 超声提取 15 min, 过滤后供液相色谱分析。保留时间定性, 用单点法校准定量测定。

## 2 不确定度评定

**2.1 数学模型的建立** 试样中糖精钠含量依下式进行计算:

$$W = \frac{S_{\text{样}} \times C_{\text{标}} \times V \times 1\,000}{S_{\text{标}} \times m \times 1\,000}$$

式中,  $W$  为试样中糖精钠的含量 (mg/kg);  $C_{\text{标}}$  为标准溶液中糖精钠的浓度 (μg/ml);  $S_{\text{标}}$  为标准溶液中糖精钠的峰面积 (mAu · s);  $S_{\text{样}}$  为试样中糖精钠的峰面积 (mAu · s);  $V$  为试样的定容体积 (ml);  $m$  为试样的质量 (g)。

**2.2 识别不确定度的来源** 液相色谱法检测饮料中糖精钠含量测定的标准不确定度  $u_{(W)}$  主要来源: ①标准溶液浓度引入的标准不确定度  $u_{(C_{\text{标}})}$ ; ②标准溶液峰面积测量引入的标准不确定度  $u_{(S_{\text{标}})}$ ; ③试样峰面积测量引入的标准不确定度  $u_{(S_{\text{样}})}$ ; ④试样定容体积测量引入的标准不确定度  $u_{(V)}$ ; ⑤试样称量测量引入的标准不确定度  $u_{(m)}$ 。从测量方法看, 各影响参数相对独立, 合成标准不确定度可用相对标准不确定度合成:

$$u_{rel(W)} = \sqrt{u_{rel(C_{\text{标}})}^2 + u_{rel(S_{\text{标}})}^2 + u_{rel(S_{\text{样}})}^2 + u_{rel(V)}^2 + u_{rel(m)}^2}$$

## 3 量化不确定度分量

**3.1 糖精钠标准溶液配制引起的相对不确定度  $u_{rel(C_{\text{标}})}$  评定** 配制过程: 用 1 ml 单标线移液管吸取 1 ml 糖精钠标准母液, 置于 100 ml 容量瓶 (A 级) 中, 用蒸馏水定容至刻度, 制成 10 μg/ml 糖精钠标准使用液。

**3.1.1 糖精钠标准溶液纯度引入的相对标准不确定度  $u_{rel(1)}$  评定。** 糖精钠标准贮备液 [GBW(E)100008] 由国家标准物质研究中心提供, 已知证书给出标准物质的相对扩展不确定度为 1%,  $K=2$ , 则:

作者简介 曹丽芬 (1987-), 女, 浙江余杭人, 助理工程师, 从事农产品检测研究。\* 通讯作者, 高级工程师, 从事农产品质量安全检测研究。

收稿日期 2014-02-13

$$u_{rel(1)} = \frac{U_{(1)}}{K} = \frac{1\%}{2} = 0.005\ 00$$

**3.1.2 吸取糖精钠标准母液体积引入的相对标准不确定度  $u_{rel(2)}$  评定。**

**3.1.2.1 单标线 1 ml 移液管合成体积标准不确定度  $u_{rel(a)}$  评定。**根据 JJG196-2006《常用玻璃量器》规定:1.0 ml 单标线吸管的容量允许差为  $\pm 0.007$  ml。按矩形分布处理(属于 B 类评定):

$$u_{rel(a)} = \frac{0.007\ \text{ml}}{\sqrt{3} \times 1.0\ \text{ml}} = 0.004\ 04$$

**3.1.2.2 温度引入的相对标准不确定度  $u_{rel(b)}$  评定。**温度的波动范围为  $\pm 4$  °C, 设为矩形分布, 水的膨胀系数为  $2.1 \times 10^{-4}/\text{°C}$ , 视温度变化为均匀分布  $K = \sqrt{3}$  (属于 B 类评定):

$$u_{rel(b)} = \frac{1.0\ \text{ml} \times 4\ \text{°C} \times 2.1 \times 10^{-4}/\text{°C}}{\sqrt{3} \times 1.0\ \text{ml}} = 0.000\ 48$$

综上, 吸取糖精钠标准母液体积引入的相对标准不确定度  $u_{rel(2)}$  合成:

$$\begin{aligned} u_{rel(2)} &= \sqrt{u_{rel(a)}^2 + u_{rel(b)}^2} \\ &= \sqrt{(0.004\ 04)^2 + (0.000\ 48)^2} \\ &= 0.004\ 07。 \end{aligned}$$

**3.1.3 糖精钠标准使用液定容体积引入的相对标准不确定度  $u_{rel(3)}$  评定。**

**3.1.3.1 容量瓶引入的相对标准不确定度  $u_{rel(c)}$  评定。**根据 JJG196-2006《常用玻璃量器》规定:单标线 100 ml 容量瓶的容量允许差为  $\pm 0.10$  ml。按矩形分布处理(属于 B 类评定):

$$u_{rel(c)} = \frac{0.10\ \text{ml}}{\sqrt{3} \times 100\ \text{ml}} = 0.000\ 58$$

**3.1.3.2 温度引入的相对标准不确定度  $u_{rel(d)}$  评定。**同“3.1.2.2”, 得到温度影响不确定度(属于 B 类评定):

$$u_{rel(d)} = \frac{100\ \text{ml} \times 4\ \text{°C} \times 2.1 \times 10^{-4}/\text{°C}}{\sqrt{3} \times 100\ \text{ml}} = 0.000\ 48$$

综上, 糖精钠标准使用液定容体积引入的相对标准不确定度  $u_{rel(3)}$  合成:

$$\begin{aligned} u_{rel(3)} &= \sqrt{u_{rel(c)}^2 + u_{rel(d)}^2} \\ &= \sqrt{(0.000\ 58)^2 + (0.000\ 48)^2} \\ &= 0.000\ 75 \end{aligned}$$

则有糖精钠标准溶液引入的相对标准不确定度  $u_{rel(C_{\text{标}})}$  合成:

$$\begin{aligned} u_{rel(C_{\text{标}})} &= \sqrt{u_{rel(1)}^2 + u_{rel(2)}^2 + u_{rel(3)}^2} \\ &= \sqrt{(0.000\ 50)^2 + (0.004\ 07)^2 + (0.000\ 75)^2} \\ &= 0.006\ 49 \end{aligned}$$

**3.2 标准溶液峰面积测量的相对标准不确定度  $u_{rel(S_{\text{标}})}$  评定**

**3.2.1 标准使用液重复测定产生的相对标准不确定度  $u_{rel(4)}$  评定。**标准使用液 6 次重复测定的峰面积依次为 235.433、233.956、234.858、233.195、232.693、234.855 mAu·s, 平均峰面积 234.165 mAu·s ( $n=6$ ), 则有:

$$SD_{S_{\text{标}}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_{\text{标}i} - \bar{S}_{\text{标}})^2}{n-1}} = 1.069\ \text{mAu} \cdot \text{s}$$

标准不确定度:

$$u_{(S_{\text{标}})} = \frac{SD_{S_{\text{标}}}}{\sqrt{n}} = \frac{1.069\ \text{mAu} \cdot \text{s}}{\sqrt{6}} = 0.436\ \text{mAu} \cdot \text{s}$$

相对标准不确定度:

$$u_{rel(4)} = \frac{u_{(S_{\text{标}})}}{\bar{S}_{\text{标}}} = \frac{0.436\ \text{mAu} \cdot \text{s}}{234.165\ \text{mAu} \cdot \text{s}} = 0.001\ 86$$

**3.2.2 仪器引入的相对标准不确定度  $u_{rel(5)}$  评定。**根据仪器检定证书提供信息, 相对标准偏差为  $RSD_6 = 0.08\%$ , 属于 A 类评定。则仪器引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel(5)} = \frac{RSD_n}{\sqrt{n}} = \frac{0.08\%}{\sqrt{6}} = 0.000\ 33$$

综上, 标准溶液峰面积测量引入的相对标准不确定度  $u_{rel(S_{\text{标}})}$  合成:

$$\begin{aligned} u_{rel(S_{\text{标}})} &= \sqrt{u_{rel(4)}^2 + u_{rel(5)}^2} \\ &= \sqrt{(0.001\ 86)^2 + (0.000\ 33)^2} \\ &= 0.001\ 89 \end{aligned}$$

**3.3 样品 6 次重复测定产生的相对标准不确定度  $u_{rel(S_{\text{样}})}$  评定**

**3.3.1 试样峰面积重复测量引入的相对标准不确定度  $u_{rel(6)}$  评定。**样品 6 次重复测定的峰面积依次为 50.254、50.875、51.263、50.974、49.811、51.067 mAu·s, 平均峰面积 50.707 mAu·s ( $n=6$ )。则有:

$$SD_{S_{\text{样}}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_{\text{样}i} - \bar{S}_{\text{样}})^2}{n-1}} = 1.556\ \text{mAu} \cdot \text{s}$$

标准不确定度:

$$u_{(S_{\text{样}})} = \frac{SD_{S_{\text{样}}}}{\sqrt{n}} = \frac{1.556\ \text{mAu} \cdot \text{s}}{\sqrt{6}} = 0.227\ \text{mAu} \cdot \text{s}$$

相对标准不确定度:

$$u_{rel(6)} = \frac{u_{(S_{\text{样}})}}{\bar{S}_{\text{样}}} = \frac{0.227\ \text{mAu} \cdot \text{s}}{50.707\ \text{mAu} \cdot \text{s}} = 0.004\ 48$$

**3.3.2 仪器引入的相对标准不确定度  $u_{rel(7)}$  评定。**根据仪器检定证书提供信息, 定量重复性误差为  $RSD_6 = 0.08\%$ , 属于 A 类评定。则仪器引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel(7)} = \frac{RSD_n}{\sqrt{n}} = \frac{0.08\%}{\sqrt{6}} = 0.000\ 33$$

综上可得, 试样峰面积测量引入的相对标准不确定度  $u_{rel(S_{\text{样}})}$  合成:

$$\begin{aligned} u_{rel(S_{\text{样}})} &= \sqrt{u_{rel(6)}^2 + u_{rel(7)}^2} \\ &= \sqrt{(0.004\ 48)^2 + (0.000\ 33)^2} \\ &= 0.004\ 49 \end{aligned}$$

**3.4 试样定容引入的相对标准不确定度  $u_{rel(V)}$  评定**

**3.4.1 容量瓶引入的相对标准不确定度  $u_{rel(8)}$  评定。**根据 JJG196-2006《常用玻璃量器》规定:单标线 50.0 ml 容量瓶的容量允许差为  $\pm 0.05$  ml。按矩形分布处理(属于 B 类评定):

$$u_{rel(8)} = \frac{0.05 \text{ ml}}{\sqrt{3} \times 50.0 \text{ ml}} = 0.000 58$$

**3.4.2 温度引入的相对标准不确定度  $u_{rel(9)}$  评定。**温度的波动范围为  $\pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$ , 设为矩形分布, 水的膨胀系数为  $2.1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C}$ , 视温度变化为均匀分布  $K = \sqrt{3}$  (属于 B 类评定):

$$u_{rel(9)} = \frac{50.0 \text{ ml} \times 4 \text{ }^\circ\text{C} \times 2.1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C}}{\sqrt{3} \times 50.0 \text{ ml}} = 0.000 48$$

综上可得, 试样定容引入的相对标准不确定度  $u_{rel(V)}$  合成:

$$\begin{aligned} u_{rel(V)} &= \sqrt{u_{rel(8)}^2 + u_{rel(9)}^2} \\ &= \sqrt{(0.000 58)^2 + (0.000 48)^2} \\ &= 0.000 75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} u_{rel(W)} &= \sqrt{u_{rel(C_{\text{标}})}^2 + u_{rel(S_{\text{标}})}^2 + u_{rel(S_{\text{样}})}^2 + u_{rel(V)}^2 + u_{rel(m)}^2} \\ &= \sqrt{(0.006 49)^2 + (0.001 89)^2 + (0.004 49)^2 + (0.000 75)^2 + (0.001 15)^2} \\ &= 0.008 23 \end{aligned}$$

取包含因子  $K = 2$  (95% 置信度), 则饮料中糖精钠含量测定的相对扩展不确定度为:

$$\begin{aligned} U_{(W)} &= u_{rel(W)} \times K \\ &= 0.008 23 \times 2 \\ &= 0.016 46 \end{aligned}$$

由试验数据平均值计算饮料中糖精钠含量的最佳估计值为  $21.7 \text{ mg/kg}$ 。按照国际惯例, 取 95% 置信水平, 包含因子  $K = 2$ , 则扩展不确定度为:

$$U = W \times U_{(W)} = 21.7 \text{ mg/kg} \times 0.016 46 = 0.4 \text{ mg/kg}。$$

结果得出, 饮料中糖精钠含量的液相色谱法测定结果为  $(21.7 \pm 0.4) \text{ mg/kg}$ ,  $K = 2$ 。

## 5 讨论

采用高效液相色谱法测定饮料中糖精钠的含量时, 影响测量不确定的主要因素为: 标准溶液浓度 (C)、试样峰面积 ( $S_{\text{标}}$ )、标准峰面积 ( $S_{\text{样}}$ )、样品量 (m)、试样定容体积 (V)。通过该研究的不确定度分析得到, 影响饮料中糖精钠含量测定的最主要因素是标准溶液浓度 (C), 其次是试样峰面积

(上接第 2451 页)

糖含量具有良好效果。其中磷酸氢二铵反应降糖效果最好, 相对于空白制备样品中的还原糖含量降低了 36.87%; 赖氨酸和甘氨酸效果其次, 相对于空白制备样品中的还原糖含量分别降低了 21.42% 和 13.22%; 脯氨酸也具有一定的降糖能力, 相对于空白制备样品中的还原糖降低了 12.10%, 效果良好。该技术方法对生产过程中降低烟草薄片中原糖含量具有重要的指导作用。

## 参考文献

[1] 吴宇航, 李思东. 造纸法烟草薄片的研究进展[J]. 广东化工, 2012(5):

**3.5 试样称量引入的相对标准不确定度  $u_{rel(m)}$  评定** 试样称量所用天平最小分度值为  $0.01 \text{ g}$  电子天平, 准确称量  $m = 5.00 \text{ g}$ , 由于天平精度不是很高, 数显非常稳定, 故称量重复性引入的不确定度忽略不计。该准确级的天平在  $(0 \sim 500 \text{ g})$  称量范围的最大允许误差为  $\pm 0.01 \text{ g}$ , 由称量误差导致的相对标准不确定度按矩形分布计算 (B 类评定):

$$u_{rel(m)} = \frac{0.01 \text{ g}}{\sqrt{3} \times 5.00 \text{ g}} = 0.001 15$$

## 4 相对标准不确定度的合成和相对扩展不确定度的计算

因各不确定度分量相互独立, 因此样品中糖精钠测定结果的相对标准不确定度为:

( $S_{\text{标}}$ ), 标准峰面积 ( $S_{\text{样}}$ )、样品量 (m) 引入的误差相对很小, 定容体积 (V) 引入的误差基本可以忽略不计。因此, 在样品检测过程中应严格控制采购的标准溶液的纯度, 以减小测定结果的不确定度。

## 参考文献

- [1] 王茂起, 王竹天, 陈君石, 等. GB2760-2007. 食品添加剂使用卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007: 70-71.
- [2] 臧慕文. 分析测试不确定度的评定与表示[J]. 分析试验室, 2005, 24(11): 74-79.
- [3] 尚德军, 王军. 测量不确定度的研究和应用进展[J]. 理化检验-化学分册, 2004, 40(10): 627-628.
- [4] 饶毅, 夏川川, 周海滨, 等. 高效液相色谱法测定白芍总苷的不确定度分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 89-93.
- [5] 杨洋, 徐春祥, 车文军. 高效液相色谱法测定奶粉中的三聚氰胺及其不确定度分析[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 250-253.
- [6] 白福军, 窦鑫鑫, 胡连荣, 等. 高效液相色谱法测定黄曲霉毒素 B1 的不确定度评定[J]. 粮食科技与经济, 2013, 38(5): 27-29.
- [7] 魏惠珍, 饶毅, 李鑫勇, 等. 气相色谱内标法测定牡荆油胶丸中  $\beta$ -丁香烯含量的不确定度评定[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(11): 1881-1885.
- [8] 辽宁省卫生防疫站. GB/T5009.28-2003. 食品中糖精钠的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 223-230.

90-92.

- [2] 陈超. 甘草废渣在造纸法烟草薄片纸基中的应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- [3] 杨俊, 刘江生, 蔡继宝, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定烟草中的水溶性糖[J]. 分析化学研究简报, 2005, 11(33): 1596-1598.
- [4] 张弘韬, 郝辉, 邵明, 等. 烟草中水溶性糖的分析方法研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(2): 718-719.
- [5] 王军, 陆益敏, 刘百战, 等. Amadori 化合物合成方法综述[J]. 烟草科技, 2006(6): 53-55.
- [6] CAMMERER B, KROH L W. Investigation of the Contribution of Radicals to the Mechanism of the Early Stage of the Maillard Reaction [J]. Food Chemistry, 1996, 57(2): 217-221.