

气相色谱法分析中不确定度的评定

薛刚,张进,张均媚,刘伟娟,马文宏,张燕,王宜生

(天津市乳品食品检测中心,天津 300381)

摘要:主要论述了以气相色谱法测定甜蜜素为例,计算及评定分析中不确定度的方法。

关键词:气相色谱法;甜蜜素;不确定度

1 主要仪器设备、试剂和试验方法

1.1 仪器设备、试剂

安捷伦 GC6890N 气相色谱仪,进样量 1 μ L,电子天平,容量瓶 A 级,100 \times (1 \pm 2 \times 10⁻³)mL,50 \times (1 \pm 2 \times 10⁻³)mL;刻度移液管,分度值 0.01 mL;甜蜜素标样,质量分数为 99.0%,标注偏差 S 为 0.01%(n=5)。

称取甜蜜素标样(试样)0.1 g(准确至 0.2 mg),用

作者简介:薛刚(1973-),男(汉),工程师,本科,研究方向:食品分析。

正己烷配成 100 mL 溶液,作为储备液。准确移去此标液(试样)溶液 2 mL 于 50 mL 容量瓶中,以正己烷定容,摇匀后测定。

1.2 实验方法

相对标准不确定度的评定

设试样中甜蜜素的质量分数为 X, 则其测定结果的相对标准不确定度 $U_{(X)}$ 分项包括: U_1 (试样), $U_2(U_3)$: 标样(试样)溶液峰面积, $U_4(U_5)$: 标样(试样)质量, U_6 : 标准曲线非线性引起的输入量, U_7 : 待测成分在色谱柱等

$r=0.998$, 说明荧光强度与相应的浓度线性显著相关。空白对照液进行 11 次平行测定,根据 $3\sigma/N$ 计算,此方法的检出限为 8.14×10^{-10} mol/L。

2.4 样品测定及回收率实验

按实验方法测定干红葡萄酒中的白藜芦醇,并对样品溶液进行平行测定,其结果见表 1。

为检验本方法,在样品溶液中加入白藜芦醇标样进行回收率实验,其结果见表 2。由表 2 可知,样品溶液的加标回收率在 96.8%~97.9% 之间。

表 1 干红葡萄酒中白藜芦醇含量的测定结果

干红葡萄酒	测定值(%)			平均值(%)	平均偏差(%)
1	0.304	0.302	0.305	0.304	0.98
2	0.344	0.345	0.340	0.343	1.75

表 2 样品回收率实验结果

干红葡萄酒	原浓度(μ g/mL)	加入量(μ g/mL)	测定值(μ g/mL)	回收率(%)
1	4.25	1.92	6.13	97.9
2	4.11	1.92	5.98	97.4
3	2.85	0.96	3.78	96.9
4	2.57	0.96	3.50	96.8

3 结论

研究表明,采用分子荧光分析法检测干红葡萄酒中白藜芦醇含量的回归方程为 $\text{Int}(\text{荧光强度}) = 18.70 \times$

$\text{Conc}(\text{浓度 } \mu\text{g/mL}) + 3.98$, 相关系数 $r=0.998$, 检出限为 8.14×10^{-10} mol/L, 加标回收率在 96.8%~97.9% 之间。实验中 Al^{3+} 与白藜芦醇形成络合物, 静置 40 min 有利于络合反应进行, 增强了荧光强度的稳定性。该方法操作简单, 成本低, 并且准确度高, 重现性好, 检测结果可靠, 可广泛应用于白藜芦醇的实验研究和生产过程中的检测。

参考文献:

- [1] 冯永江, 许实波. 白藜芦醇药理作用研究进展 [J]. 国外医药(植物分册), 1996, 11(4): 155~157.
- [2] 卢汝梅, 陈燕军, 等. HPLC 法测定国产葡萄酒中白藜芦醇的含量 [J]. 天然产物研究与开发, 2002, 14(2): 40~42.
- [3] 吴平谷, 丁刚强. 葡萄酒中游离白藜芦醇的气相色谱质谱测定法 [J]. 营养学报, 2003, 25(2): 145~148.
- [4] 五永山, 沈志君, 等. 丙肝宁颗粒中白藜芦醇的含量测定 [J]. 南京中医药大学学报, 1998, 14(6): 340~358.
- [5] 童平, 唐盈. 中药虎杖中白藜芦醇含量测定的研究 [J]. 中草药, 1987, 21(11): 16~17.
- [6] 李小妹, 李娜, 等. 白藜芦醇低聚体类似物的光谱特征, 生源与生物活性 [J]. 药理学, 2002, 37(1): 69~74.
- [7] 白杨, 潘钧丽. 白藜芦醇与白藜芦醇甙的研究进展 [J]. 中药材, 2004, 27(1): 55~58.
- [8] 夏锦尧. 实用荧光分析法 [M]. 北京: 中国人民公安大学出版社, 1993.

收稿日期: 2006-06-15

部件中的滞留,故 $U_{(x)} = f(U_1, U_2, U_3, U_4, U_5, U_6, U_7)^{[1]}$ 。

2 不确定度的计算及表述

2.1 标样的相对标准不确定度 U_1

因标样中甜蜜素的质量分数的标准偏差 $S=0.01\%$ ($n=5$),服从正态分布,则其标准不确定度: $U_{11}=0.01/5^{1/2}=4.5 \times 10^{-3}$ (B类),自由度 $\nu_{11}=4$ 。容量瓶的制造误差为 2×10^{-3} ,服从正态分布,则溶液稀释时引起的标准不确定度 $U_{12}=1.4 \times 10^{-3}$ (包含因子 $k=3$) (B类),自由度 $\nu_{12}=\infty$ 。因此 $U_1=(U_{11}^2+U_{12}^2)^{1/2}/w=4.9 \times 10^{-3}$ 。

2.2 标样(试样)溶液峰面积的相对标准不确定度 U_2 (U_3)

$U_2(U_3)$ 主要由进样器进样体积、容量瓶和刻度移液管体积、峰面积测定重复性的标准不确定度共同引起。进样器进样体积的不确定度为 1% ,若按均匀分布的规律考虑,其标准不确定度 $U_{21}=U_{31}=1\%/3^{1/2}=5.8 \times 10^{-3}$ (B类), $\nu_{21}=\nu_{31}=\infty$ 。容量瓶的标准不确定度为 $U_{22}=U_{32}=1.4 \times 10^{-3}$ (包含因子 $k=3$) (B类), $\nu_{22}=\nu_{32}=\infty$ 。刻度移液管,分度值为 0.01 mL,若按三角形分布的规律考虑,其置信区间的半宽度 $a=0.005$ mL, $k=6^{1/2}$,则其标准不确定度 $U_{23}=U_{33}=0.005/6^{1/2}=2.1 \times 10^{-3}$ (B类), $\nu_{23}=\nu_{33}=\infty$ 。同一标样溶液重复 5 次测定的峰面积平均值为 $6\ 504.26$ mAU·min,标准偏差 $S_1=5.59$ mAU·min,则其相对标准不确定度 $U_{24}=S_1/(6^{1/2} \times 6\ 504.26)=3.9 \times 10^{-4}$ (A类), $\nu_{24}=4$; 同一试样溶液重复 5 次测定的峰面积平均为 $3\ 568.36$ mAU·min,标准偏差 $S_2=6.28$ mAU·min,则其相对标准不确定度 $U_{34}=S_2/(5^{1/2} \times 3\ 568.36)=8.6 \times 10^{-4}$ (A类), $\nu_{34}=4$ 。因此 $U_2=U_{21}^2+U_{22}^2+U_{23}^2+U_{24}^2)^{1/2}=6.4 \times 10^{-3}$; $U_3=(U_{31}^2+U_{32}^2+U_{33}^2+U_{34}^2)^{1/2}=6.4 \times 10^{-3}$ 。

2.3 标样(试样)质量的相对标准不确定度 $U_4(U_5)$

$U_4(U_5)$ 主要由天平不确定度和标样(试样)称重读数重复性不确定度组成。由检定证书中查得天平不确定度 $U_{99}=0.000\ 2$ g, $k=3$,服从正态分布,则其标准不确定度 $U_{41}=U_{51}=6.7 \times 10^{-4}$ (B类), $\nu_{41}=\nu_{51}=\infty$ 。称重时,重复称量 10 次,得极差值 $0.000\ 2$ g,按极差法计算其标准不确定度 $U_{42}=U_{52}=2.1 \times 10^{-3}$ (A类), $\nu_{42}=\nu_{52}=9$ 。因此 $U_4=(U_{41}^2+U_{42}^2)^{1/2}/m_1 \approx 7.1 \times 10^{-4}$, $U_5=(U_{51}^2+U_{52}^2)^{1/2}/m_2 \approx 7.1 \times 10^{-4}$ (其中

m_1 和 m_2 分别代表标样和试样的质量)^[2]。

2.4 标准曲线非线性引起输入量的相对标准不确定度 U_6

配制甜蜜素标准溶液与测得的峰面积与浓度的线性关系。由测定结果的相对误差值得不确定度区间的半宽度 $a=0.51\%$,服从正态分布。取 $k=3^{1/2}$,则 $U_6=a/k=3 \times 10^{-3}$ (A类), $\nu_6=(\Delta U_6/U_6)^2/2$ 。估计 $(\Delta U_6/U_6)$ 为 0.1 ,则 $\nu_6=50$ 。

2.5 待测成分在色谱柱等滞留引起的相对标准不确定度 U_7

采用标准加入法测定回收值。由测定结果的相对误差值得到该项不确定度区间的半宽度 $a=0.83\%$,服从正态分布,取 $k=3^{1/2}$,则 $U_7=a/k=4.8 \times 10^{-3}$ (A类), $\nu_7=(\Delta U_7/U_7)^2/2$ 。估计 $(\Delta U_7/U_7)$ 为 0.1 ,则 $\nu_7=50$ 。

2.6 最高峰标准不确定度的其它因素

仪器不稳定、环境温度、湿度、各成分的分离效果、检测器的灵敏度等也会给测定结果带来不确定度。仪器不锋利之末和环境温度所带来的不确定度,计算时已将其纳入峰面积测定重复性的不确定度中;湿度所带来的不确定度,并入质量不确定度中;检测器灵敏度所带来的不确定度很小,故忽略不计。

2.7 相对标准不确定度的合成

因各分项相对标准不确定度相互独立不相关,灵敏度系数绝对值为 1 ,故相对标准不确定度合成 $U(x)=(U_1^2+U_2^2+U_3^2+U_4^2+U_5^2+U_6^2+U_7^2)^{1/2}=1.1 \times 10^{-2}$;自由度 $\nu(x)=U^4(x)/(\sum U_i^4/\nu_{ij}) \approx 74$,取 $\nu(x)=50^{[3]}$ 。

2.8 相对标准不确定度的扩展

取置信概率 $p=95\%$,按有效自由度 $\nu=50$,查 t 分布表得 $t_p=t_{95}=2.086$,则扩展不确定度 $U=t_p \cdot U(x)=2.3\%$ 。

参考文献:

- [1] 国家质量技术监督局供量司.测定不确定度评定与表示指南[M].北京:中国计量出版社,2003.
- [2] 测定不确定度评定与表示JJF1059-1999[S].
- [3] 刘立.量化分析测量不确定度指南[M].北京:中国计量出版社,2003.

收稿日期:2006-07-11

欢迎浏览“中国天津食品网”

www.tjfood.com.cn