

高效液相色谱法测定白酒中安赛蜜、糖精钠的不确定度分析

陈俊, 黄琼, 万红梅, 陈红

(四川省德阳市产品质量监督检验所 德阳 618000)

摘要: 通过高效液相色谱法对白酒中安赛蜜、糖精钠测定的结果进行不确定度分析,建立了不确定度来源分析因果图和数学模型,表达了合成标准不确定度和扩展不确定度,为白酒中安赛蜜、糖精钠的测定结果提供了科学、公正、同时可溯源的数据。

关键词: 白酒;安赛蜜;糖精钠;液相色谱法

中图分类号: O657.7⁺2 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 150.2540

Determination of acesulfame potassium and saccharin sodium in white spirit analysis of uncertainty by HPLC

Chen Jun, Huang Qiong, Wan Hongmei, Chen Hong

(Deyang Supervision and Inspection for Product Quality, Deyang 618000, China)

Abstract: Determination of acesulfame potassium and saccharin sodium in white spirit analysis of uncertainty by HPLC, sources of uncertainty in cause and effect diagram and mathematical model are established, combined standard uncertainty and expanded uncertainty are expressed. It is provided a scientific, equitable, and traceable data for determination results in white spirit.

Key words: white spirit; acesulfame potassium; saccharin sodium; HPLC

1 引言

安赛蜜、糖精钠是食品中常用的甜味剂,安赛蜜、糖精钠甜度约为蔗糖的450~550倍,其十万分之一的水溶液即有甜味感。当食用较多的甜味剂时,会影响肠胃消化酶的正常分泌,降低小肠的吸收能力,使食欲减退,会对肝脏和神经系统造成危害。一些白酒企业为了追求白酒的口感而故意添加,也有个别企业在添加酒类添加剂时被带入。在我国GB2760-2011《国家食品卫生标准》中明确规定:配制酒可以添加糖精钠但其用量不得大于0.15 g/kg^[1],不得添加安赛蜜。

蒸馏酒是安赛蜜和糖精钠都禁止添加,因此对白酒中安赛蜜、糖精钠进行准确的检测为白酒企业质量控制和相关监管部门规范市场行为提供了重要依据。自20世纪80年代以来,不确定度已在世界各国的许多实验室和计量机构使用,随着食品质量要求的不断提高和市场竞争日益激烈,不确定度在检测实验室的质量管理和质量保证中显得尤为重要。目前我国正按ISO/IEC 17025《检测和校准实验室能力的通用要求》的规定,开展实验室认可活动来规范实验室管理、保证检测工作质量。要求指出,当不确定度与检测结果的有效性或应用有关、客户的指令中有要求,或当不确定度影响到对规范限度的符合性时,检测报告

中还需要包括有关不确定度的信息^[2]。因此当检测结果处于产品标准要求的临界值,有可能判定被检测产品不合格时,应该给出测量不确定度。在分析过程中采用经扩展确认的国标方法再结合我们的具体检测条件对高效液相色谱法测定白酒中的安赛蜜、糖精钠的测定进行不确定度分析,可以保证检验结果的有效性和合理性。对此类关系到人民身体健康的食品添加剂的质量控制提供科学公正、可溯源的检测数据。

2 材料与方 法

2.1 仪器与试剂

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪;氮吹仪;安赛蜜、糖精钠标准品(中国标准物质中心);含有安赛蜜、糖精钠的白酒样品。

2.2 实验方 法

称取白酒样品 10 g(精确到 0.001 g)置于 20 mL 离心管中,在 50 °C 水温下用氮气吹干,然后定容至 10 mL,摇匀,再经 0.45 μm 滤膜过滤以备测定。

另配制一系列不同浓度的安赛蜜、糖精钠标准溶液进行测定,可建立浓度——峰面积标准曲线,从此曲线上可得到被测定样液的安赛蜜、糖精钠峰面积所对应的浓度,再将被测样液换算成样品的质量分数。

3 结果与分 析

3.1 数学模型的建立

建立工作曲线:

$$y = ax + b \tag{1}$$

由此可得到被测样液的安赛蜜、糖精钠的峰面积所对应的浓度。

$$x = \frac{y - b}{a} \tag{2}$$

式中: y 为安赛蜜、糖精钠的峰面积, x 为被测溶液中安赛蜜、糖精钠的浓度 a 为工作曲线的斜率 b 为截距。

由式(2)可以推导出 $w_s = \frac{x_s v_s}{m_s}$ (3)

式中: w_s 为样品中安赛蜜、糖精钠的质量分数

(mg/kg); x_s 为由标准曲线得出的样液中安赛蜜、糖精钠的浓度分数($\mu\text{g/mL}$); v_s 为样液定容体积(mL); m_s 为样品质量(g)。公式(3)的关系式可写作 $w_s = f(x_s, v_s, m_s)$ 则样品中的安赛蜜、糖精钠的质量分数的合成不确定度为:

$$\mu_{(w_s)} = \sqrt{\left(\frac{\partial f}{\partial x}\right)^2 \mu(x_s) + \left(\frac{\partial f}{\partial v}\right)^2 \mu(v_s) + \left(\frac{\partial f}{\partial m}\right)^2 \mu(m_s)} \tag{4}$$

3.2 确定和分析不确定度的来源

安赛蜜、糖精钠测定相关不确定度来源,如图 1 所示。

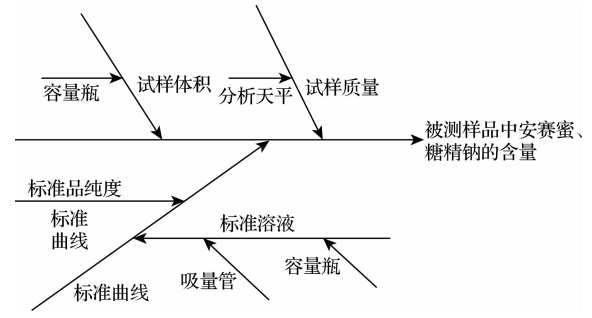


图 1 安赛蜜、糖精钠测定相关不确定度来源见因果图

Fig. 1 The uncertainty source of acesulfame potassium and saccharin sodium

液相色谱法测定安赛蜜、糖精钠是通过建立标准曲线,然后由测定样品中安赛蜜、糖精钠的峰面积在标准曲线上找出对应的安赛蜜、糖精钠的质量分数而计算出的。由于设备是自动进样器定量,在一定程度上消除了进样条件的变化所引起的误差。

3.3 不确定度分析评定

3.3.1 A 类不确定度分析

取同一被测样品,在同样的条件下测定 10 次测定,结果如表 1 所示。

由贝赛尔公式^[3]得出 10 次测定的实验标准偏差的相对不确定度为:

$$S_{\text{安赛蜜}} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n S_i^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0.135\ 942\ 09}{9}} = 0.122\ 9$$

表1 精密度测定结果 (n = 10)
Table 1 The results of precision

组分名称	测定值/ mg · kg ⁻¹										平均值
安赛蜜	8.938 4	8.961 0	8.842 5	8.994 5	8.796 3	8.821 1	8.695 7	9.012 4	8.993 6	9.102 2	8.915 8
糖精钠	20.775 5	20.838 2	20.791 2	20.875 5	20.784 9	20.759 8	20.864 7	20.874 5	20.901 1	20.802 5	20.827 8

$$S_{\text{糖精钠}} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^m S_i^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0.022\ 477\ 89}{9}} = 0.050\ 0$$

3.3.2 B类不确定度的分析评定

B类不确定度由标准曲线产生的不确定度,样品的定容体积和称样质量产生的不确定度组成。制作标准曲线的标准溶液的不确定度由两部分组成:标准溶液的纯度和稀释条件产生的不确定度。由标准物质证书得知,安赛蜜、糖精钠的标准偏差为1%,则 $\mu v_1 = \frac{0.01}{\sqrt{3}} = 0.005\ 77$ 。标准溶液由1 000.0 μg/ mL稀释成100.0 μg/mL,用到了100 mL容量瓶和10 mL(A)移液管,100 mL容量瓶20℃时标准偏差为±0.05 mL,按矩形分布计算容量瓶的容量误差的标准不确定度为 $\mu v_2 = \frac{0.01}{\sqrt{3}} = 0.028\ 87$;10 mL移液管,20℃时的标准偏差为±0.020 mL,其标准不确定度也

按矩形分布则有 $\mu v_3 = \frac{0.020}{\sqrt{3}} = 0.0115\ 5$ 。标准

溶液合成不确定度为: $\mu s_1 = \sqrt{\mu v_1 + \mu v_2 + \mu v_3} = 0.005\ 772 + 0.028\ 892 + 0.011\ 552 = 0.031\ 62$ 。

标准曲线产生的不确定度来源于其残差的标准差,残差为测量值与标准曲线拟合值之差的绝对值 $|x - \hat{x}|$ ^[4]。配制五种浓度分别为1 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL的标准溶液,进行测量后建立的标准曲线的回归方程及相关系数见表2。

表2 安赛蜜、糖精钠的标准曲线的回归方程及相关系数
Table 2 The regression equation and correlation of standard curves of acesulfame potassium and saccharin sodium

组分	回归方程	相关系数
安赛蜜	$y = 0.000\ 052\ 534x + 0.257\ 418$	1.0000
糖精钠	$y = 0.000\ 256\ 374x + 0.259\ 478$	1.0000

表2中安赛蜜、糖精钠的标准曲线的测量值(x)和拟和值(\hat{x})和拟和值(\hat{y})以及所得残差($x - \hat{x}$)如表3所示。

表3 标准曲线的测量值(x)和拟和值(\hat{x})和以及残差值($x - \hat{x}$)

Table 3 The measured value, curve fitting value and residual value of standard curve

y	x _{安赛蜜}	x _{糖精钠}	\hat{x} _{安赛蜜}	\hat{x} _{糖精钠}	$ x - \hat{x} $ _{安赛蜜}	$ x - \hat{x} $ _{糖精钠}
1	18 491.3	5 334.6	14 135.3	2 888.4	4 356.0	2 446.2
5	91 216.5	17 473.4	90 276.4	18 490.7	940.1	1 017.3
10	186 009.1	37 335.2	185 452.9	37 993.4	556.2	658.2
20	376 409.2	75 642.5	375 805.8	76 998.9	603.4	1 356.4
50	936 613.6	194 508.7	937 864.5	194 015.5	1 250.9	493.2
100	1 905 707.2	389 135.1	1 898 629.1	389 043.0	7 078.1	92.1

标准曲线的残差标准差为:

$$S_{\text{安赛蜜}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \hat{x})^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{72196224.41}{8}} =$$

$$S_{\text{糖精钠}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \hat{x})^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{9543570.58}{8}} = 1092.2$$

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n} = \frac{186}{6} = 31$$

$$\bar{x}_{\text{安赛蜜}} = \frac{\sum_{i=1}^n x}{n} = \frac{2\,577\,833.3}{6} = 431\,455.6$$

$$\bar{x}_{\text{糖精钠}} = \frac{\sum_{i=1}^n x}{n} = \frac{719\,429.5}{6} = 119\,904.9$$

由拟合引起的相对不确定度:

$$\mu = \frac{s}{b x} \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{P} + \frac{(x - \bar{y})}{\sum_{k=1}^i (x_i - \bar{x})^2}}$$

式中: b 为斜率, N 为测量标准溶液的总次数, P 为测量样品的总次数。代入数据计算得到安赛蜜、糖精钠的拟合不确定度:

$$\mu_{s_2 \text{安赛蜜}} = \frac{s_{\text{安赛蜜}}}{b x} \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{P} + \frac{(x - \bar{y})}{\sum_{k=1}^i (x_i - \bar{x})^2}} =$$

$$\frac{3\,004.1}{0.257\,418 \times 431\,455.6} \times$$

$$\sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{10} + \frac{(431\,455.6 - 31)}{2.805\,4 \times 10^{12}}} = 0.014\,0$$

$$\mu_{s_2 \text{糖精钠}} = \frac{s_{\text{糖精钠}}}{b x} \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{P} + \frac{(x - \bar{y})}{\sum_{k=1}^i (x_i - \bar{x})^2}} =$$

$$\frac{1\,092.2}{0.259\,478 \times 119\,904.9} \times$$

$$\sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{10} + \frac{(119\,904.9 - 31)}{7.628\,1 \times 10^{11}}} = 0.009\,4$$

由分析天平的检定证书可知样品称取产生的不确定度,分析天平的误差范围为 $\pm 0.000\,2\text{ g}$,

按矩形分布 $k = \sqrt{3}$, 则 $\mu_{s_3} = \frac{0.000\,2}{\sqrt{3}} = 0.000\,1$ 。

样品稀释体积为 100 mL 。容量瓶 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 时误差为 0.020 mL 。也按矩形分布计算: $k = \sqrt{3}$ 则

$$\mu_{s_4} = \frac{0.020}{\sqrt{3}} = 0.011\,5\text{ g}$$

3.3.3 合成不确定度

$$\mu = \sqrt{\mu_{s_1}^2 + \mu_{s_2}^2 + \mu_{s_3}^2 + \mu_{s_4}^2} \quad (5)$$

将数据代入公式(5)计算得到安赛蜜、糖精钠的合成不确定度:

$$\mu_{\text{安赛蜜}} = \sqrt{0.031\,62^2 + 0.057\,2^2 + 0.000\,1^2 + 0.014\,0^2} = 0.059\,7 = 5.96\%$$

$$\mu_{\text{糖精钠}} = \sqrt{0.031\,62^2 + 0.057\,2^2 + 0.000\,1^2 + 0.009\,4^2} = 0.066\,4 = 6.64\%$$

3.3.4 扩展不确定度的计算

取置信度 $P = 0.95$, 自由度 $\nu = n - 1 = 9$, 按 t 分布查得其 α 分位数表得到 $k = 1.833$ 。由扩展不确定度公式 $U_p = k_p \mu(\bar{x})$ 得到: $U_{p \text{安赛蜜}} = 1.833 \times 0.059\,7 \times 8.915\,8 = 0.975\,7\text{ mg/kg}$, $U_{p \text{糖精钠}} = 1.833 \times 0.066\,4 \times 20.827\,8 = 2.535\,0\text{ mg/kg}$ 。由此得到样品中的安赛蜜、糖精钠测量结果及扩展不确定度为:

$$w_{\text{安赛蜜}} = 8.915\,8 \pm 0.975\,7\text{ mg/kg}$$

$$w_{\text{糖精钠}} = 20.827\,8 \pm 2.535\,0\text{ mg/kg}$$

参考文献

- [1] 国家标准化管理委员会. 食品添加剂使用卫生标准(GB2760-2007)[S]. Standardization Administration of China. Hygienic standards for uses of food additives (GB2760-2007) [S].
- [2] 中国实验室国家认可委员会. CNAL/AC01: 2005 检验和校准实验室能力认可准则[S]. China National Accreditation Board for Laboratories. CNAL/AC01: 2005 Accreditation criteria for the competence of testing and calibration laboratories[S].
- [3] 国家质量技术监督局计量司. 测量不确定度评定与表示指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2005. Department for Measurement of State Bureau of Quality Technical Supervision. Guide to the expression of uncertainty in measurement [M]. Beijing: China Metrology Press, 2005.
- [4] 杨秀培, 肖丹, 林桂云, 等. 白酒中己酸乙酯测定的不确定度评估[J]. 食品科学, 2006 (7): 214-217. YANG X P, XIAO D, LIN G Y, et al. The evaluation of uncertainty in determination of ethyl caproate in Chinese spirits[J]. Food Science, 2006 (7): 214-217.

作者简介

陈俊(1972-), 长期从事食品检测工作。

Email: chenjunxiansheng@163.com

Chen Jun(1972-), long engaged in food test.