白酒中己酸乙酯测定的不确定度评估

杨秀培[1,2]，肖 丹[2]，山桂云[1]，周在德[2]
(1.西华师范大学化学化工学院,四川 南充 637002;2.四川大学化学学院,四川 成都 610045)

摘 要：参照国家标准GB/T10781-89，采用气相色谱法测定白酒中己酸乙酯含量。通过对己酸乙酯的测定进行测量不确定度的评估实验，介绍了一种内标定量法的测量不确定度评估方法，表达出了合成标准不确定度和扩展不确定度，为白酒质量控制提供有效、可靠、可溯源的测量数据。

关键词：白酒；己酸乙酯；不确定度；气相色谱法；计量学

The Evaluation of Uncertainty in Determination of Ethyl Caproate in Chinese Spirits

YANG Xiu-pei[1,2], XIAO Dan[2], SHAN Gui-yun[1], ZHOU Zai-de[2]
(1.College of Chemistry and Chemical Engineering, China West Normal University, Nanchong 637002, China;
2.College of Chemistry, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: To base on GB/T10781.8-89, the content of ethyl caproate can be determined with gas chromatography. By the experiment of the uncertainty measurement of the ethyl caproate in Chinese spirits this paper expounded a method to evaluate the uncertainty measurement for inner standard method. At last the combined standard uncertainty and the expanded uncertainty are expressed, which provide the effective and credible quality data to the quality control.

Key words: Chinese spirits; ethyl caproate; uncertainty; gas chromatography; metrology
中图分类号：O657.7 文献标识码：A 文章编号：1002-6630(2006)07-0214-05

收稿日期：2005-08-16
作者简介：杨秀培(1970-)，男，副教授，博士研究生，主要从事食品分析技术研究。

出版社, 1993.
[2] A Paugam, M L Pennec, et al. Immunological recognition of marine bivalve larvae from plankton samples[J]. J Shellfish Res, 2000, 19: 325-331.
[3] J H McDonald, R Seed, et al. Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the northern and southern hemispheres[J]. Mar Biol, 1991, 111: 323-333.
[4] E Kenchington, K S Naidu, et al. Use of biochemical genetic markers to discriminate between adductor muscles of the sea scallop (*Placopecten magellanicus*) and the iceland scallop (*Chlamys islandica*)[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1993, 50: 1222-1228.
[5] C Andre, M Lindegarth, et al. Species identification of bivalve larvae using random amplified polymorphic DNA (RAPD): differentiation between *Cerastoderma edule* and *C. lamarcki*[J]. J Mar Biol Ass UK, 1999, 79: 563-565.
[6] J E Toro. Molecular identification of four species of mussels from southern Chile by PCR-based nuclear markers: the potential use in studies involving planktonic surveys[J]. J Shellfish Res, 1998, 17: 1203-1205.
[7] A Fernandez, T Garcia, et al. PCR-RFLP analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region for identification of 3 clam species[J]. J Food Sci, 2001, 66: 657-661.
[8] M J Lopez-Pinon, A Insua, et al. Identification of four scallop species using PCR and restriction analysis of the ribosomal DNA internal transcribed spacer region[J]. Mar Biotechnol, 2002, (4): 495-502.
[9] Council regulation (EC) No 104/2000 of 17 December 1999 on the common organisation of the markets in fishery and aquaculture products [J]. Official Journal of the European Communities, 2000, L17: 22-52.
[10] M J Chapela, C G Sotelo, et al. Molecular identification of cephalopod species by FINS and PCR-RFLP of a cytochrome b gene fragment[J]. Eur Food Res Technol, 2003, 217: 524-529.
[11] G L Hold, V J Russell, et al. Validation of a PCR-RFLP based method for the identification of salmon species in food products[J]. Eur Food Res Technol, 2001, 212: 385-389.
[12] 唐伯平, 周开亚, 庆大祥, 等. 核rDNA ITS区序列在无脊椎动物分子系统学研究中的应用[J]. 动物学杂志, 2002, 37: 67-73.
[13] E T Yu, M A Juinio-Menez, et al. Sequence variation in the ribosomal DNA internal transcribed spacer of *Tridacna crocea*[J]. Mar Biotechnol, 2000, (2): 511-516.

自20世纪80年代以来，不确定度已在世界各国许多实验室和计量机构使用。随着国际贸易的不断发展，市场竞争日益激烈，不确定度在实验室的质量管理和质量保证中显得尤为重要。目前，我国正在按照ISO/IEC 17025[1]“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，保证检验工作质量，实现检测结果国际互认的目标[2]。规定指出，当检测结果处于产品质量标准的临界值，有可能判定被检产品不合格时，应该给出测量结果的不确定度。己酸乙酯是浓香型白酒的主体香味成分，参照国家标准GB/T10781-89检验方法，结合实验室日常分析实际情况和具体条件，对气相色谱法测定白酒中己酸乙酯含量进行测量不确定度分析和评定[3,4]，从而保证检测结果的有效性和合理性，为白酒质量控制提供有效、可靠、可溯源的测量数据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

SC-2000型气相色谱仪(配FID检测器) 重庆川仪九厂；SC-97色谱工作站 成都智能仪器设备研究所。

己酸乙酯(色谱纯，99.5%)、乙酸正丁酯(色谱纯，99.5%)、无水乙醇(分析纯，99.7%)。

60%乙醇溶液：在500ml容量瓶中加入300ml无水乙醇，用重蒸馏水定容至刻度，混匀，用色谱仪检查无杂质峰。

己酸乙酯标准储备液 精密称取己酸乙酯1.8074g于容量瓶中，添加60%乙醇溶液至刻度，混匀，得18.074mg/ml的己酸乙酯标准储备液。

乙酸正丁酯内标溶液 精密称取乙酸正丁酯1.7648g于容量瓶中，添加60%乙醇溶液至刻度，混匀，得17.648mg/ml的乙酸正丁酯内标溶液。

1.2 分析条件

20% DNP+7%吐温/Chromosorb W(80～100目)不锈钢填充柱，2m×3mmi.d；载气(N_2)流速为50ml/min，燃气(H_2)流速为45ml/min，空气流速为400ml/min；柱温为98℃，检测器温度为150℃，进样口温度为140℃，进样量为1.0μl。

2 结果与分析

2.1 数学模型

取己酸乙酯标准储备液，用60%乙醇溶液配制成0.1807、0.3615、0.9037、1.8074、3.6148mg/ml的标准溶液。吸取标准溶液各5.0ml于具塞试管中，分别加入内标溶液0.2ml，混匀后，进样测定，建立校准曲线的回归方程。校准曲线的回归方程为：$y=bx+a$。酒样中己酸乙酯的浓度为 $x=\frac{y-a}{b}$，式中y为己酸乙酯峰面积与内标峰面积的比值(A_s/A_i)，x为质量浓度(ρ，mg/ml)，b为斜率，a为截距。

2.2 酒样中己酸乙酯测定值

吸取白酒样品5.0ml两份于具塞试管中，分别加入内标溶液0.1ml，混匀后，进样测定。两次平行测定白酒样品中己酸乙酯的质量浓度为1.5891和1.6128mg/ml，平均值为1.6010mg/ml。相对相差为1.5%。

2.3 确定和分析不确定度来源

由于测定结果是通过测量内标及被测组分的峰面积的相对值来进行计算的，因而在一定程度上消除了操作条件等的变化所引起的误差，因此忽略了进样量的不确定度。己酸乙酯测定相关不确定度来源见因果图1。

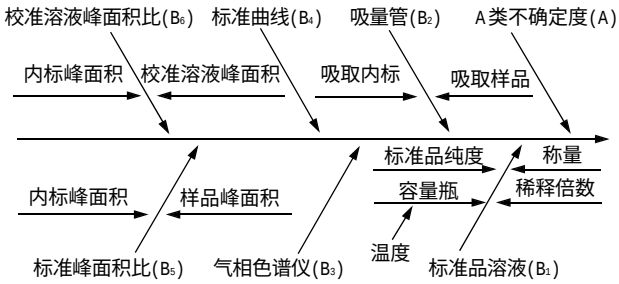

图1 己酸乙酯测定相关不确定度来源因果图

Fig.1 The cause and effect figure of mutuality uncertainty in determination of determination of ethyl caproate

2.4 不确定度分量的计算

不确定度分量可分为A类和B类。A类不确定度分量是由统计确定的标准不确定度分量，以平均值的实验标准偏差表征。B类不确定度分量是用非统计方法确定的标准不确定度分量。

2.4.1 A类不确定度

两次测定结果的标准偏差及平均值的相对标准不确定度为：

$$s=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(\rho_i-\bar{\rho})^2}{n-1}}$$

$$=\sqrt{\frac{(1.6128-1.6010)^2+(1.5891-1.6010)^2}{2-1}}$$

=0.0168

$$u_{rel}(A)=\frac{s}{\bar{\rho}\sqrt{n}}=\frac{0.0168}{1.6010\times\sqrt{2}}=7.40\times10^{-3}$$

2.4.2 B类不确定度

2.4.2.1 标准溶液浓度的不确定度：标准液浓度ρ的

不确定度取决于纯度P、质量m、体积V的不确定度。

(1)纯度P产生的不确定度

色谱纯己酸乙酯含量为99.5%，假设为矩形分布，则其标准不确定度为：

$$u(P)=\frac{0.05}{\sqrt{3}}=2.89\times10^{-3}$$

(2)称量产生的不确定度

天平检定证书中实际分度值为0.0001mg，按均匀分布计算，其标准不确定度：

$$u(m_1)=\frac{0.0001}{2\sqrt{3}}=2.89\times10^{-6}$$

天平称量误差0.2mg，按正态分布计算，其标准不确定度：

$$u(m_2)=\frac{0.0002}{3}=6.67\times10^{-5}$$

天平6次实验重复性误差0.2mg，其标准不确定度：

$$u(m_3)=\frac{0.0002}{\sqrt{6}}=8.16\times10^{-5}$$

天平的合成标准不确定度及相对合成标准不确定度分别为：

$$u(m)=\sqrt{u^2(m_1)+u^2(m_2)+u^2(m_3)}$$

$$=\sqrt{(2.89\times10^{-6})^2+(6.67\times10^{-5})^2+(8.16\times10^{-5})^2}$$

$$=1.09\times10^{-4}$$

$$u_{rel}(m)=\frac{\sqrt{2}\times u(m)}{1.8074}=8.53\times10^{-5}$$

(3)容量瓶产生的不确定度

100ml容量瓶检定实际容量为100.04ml，按矩形分布，其容量误差的标准不确定度为：

$$u(V_1)=\frac{0.04}{\sqrt{3}}=2.31\times10^{-2}$$

容量瓶容量6次重复性实验标准偏差0.014，其标准不确定度：

$$u(V_2)=\frac{0.014}{\sqrt{6}}=5.72\times10^{-3}$$

温度变化引起的液体体积变化明显大于容量瓶的体积膨胀，因此，只考虑前者即可。已知水的体积膨胀系数为2.1×10^{-4}/℃，1容量瓶是在20℃温度下校准的，假设温度在20±2℃之间波动，按矩形分布计算的标准不确定度为：

$$u(V_3)=\frac{2.1\times10^{-4}}{\sqrt{3}}\times2\times100=2.42\times10^{-2}$$

容量瓶合成标准不确定度及相对合成标准不确定度分别为：

$$u(V)=\sqrt{u^2(V_1)+u^2(V_2)+u^2(V_3)}$$

$$=\sqrt{(2.31\times10^{-2})^2+(5.72\times10^{-3})^2+(2.42\times10^{-2})^2}$$

$$=3.39\times10^{-2}$$

$$u_{rel}(V)=\frac{u(m)}{100}=3.39\times10^{-4}$$

(4)稀释标准溶液用吸量管产生的不确定度

10ml吸量管检定实际容量为10.01ml，按矩形分布，其容量误差的标准不确定度为：

$$u(V_1')=\frac{0.01}{\sqrt{3}}=5.77\times10^{-3}$$

吸量管6次重复性实验标准偏差0.0075，其标准不确定度：

$$u(V_2')=\frac{0.0075}{\sqrt{6}}=3.06\times10^{-3}$$

温度变化引起不确定度为：

$$u(V_3')=\frac{2.1\times10^{-4}}{\sqrt{3}}\times2\times10=2.42\times10^{-3}$$

吸量管合成标准不确定度及相对合成标准不确定度分别为：

$$u(V')=\sqrt{u^2(V_1')+u^2(V_2')+u^2(V_3')}$$

$$=\sqrt{(5.77\times10^{-3})^2+(3.06\times10^{-3})^2+(2.42\times10^{-3})^2}$$

$$=6.97\times10^{-3}$$

$$u_{rel}(V')=\frac{u(m)}{10}=6.97\times10^{-4}$$

2.4.2.2 取样量器产生的不确定度

(1)取酒样用吸量管产生的不确定度

5ml吸量管检定实际容量为5.003ml，按矩形分布，其容量误差的标准不确定度为：

$$u(V_1'')=\frac{0.003}{\sqrt{3}}=1.73\times10^{-3}$$

吸量管6次重复性实验标准偏差0.0008，其标准不确定度：

$$u(V_2'')=\frac{0.0008}{\sqrt{6}}=3.27\times10^{-4}$$

温度变化引起不确定度为：

$$u(V_3'')=\frac{2.1\times10^{-4}}{\sqrt{3}}\times2\times5=1.21\times10^{-3}$$

吸量管合成标准不确定度及相对合成标准不确定度分别为：

$$u(V'')=\sqrt{u^2(V_1')+u^2(V_2'')+u^2(V_3')}$$

$$=\sqrt{(1.73\times10^{-3})^2+(3.27\times10^{-4})^2+(1.21\times10^{-3})^2}$$

$$= 2.14\times10^{-3}$$

$$u_{rel}(V'') = \frac{u(m)}{5} = 4.28\times10^{-4}$$

(2)取内标用移液器产生的不确定度

吸取内标使用100μl移液器，检定相对标准偏差为0.12%，相对标准不确定度为：

$$u_{rel}(V''') = \frac{0.0012}{\sqrt{6}} = 8.98\times10^{-4}$$

2.4.2.3 气相色谱产生的不确定度

气相色谱检定相对标准偏差为1.62%，则相对标准不确定度为：

$$u_{rel}(GC) = \frac{0.0162}{\sqrt{6}} = 6.61\times10^{-3}$$

2.4.2.4 校准曲线产生的不确定度

实验测得校准曲线回归方程为：

y=3.4176x+0.0215，r=0.9999。

校准曲线产生的不确定度源于其残差的标准差，残差为测定值(y)与校准曲线拟合值($\hat{y}$)之差的绝对值($|y-\hat{y}|$),残差的计算见表1。

表1 校准曲线的残差计算结果

Table 1 The computation results of remnant difference for calibration curve

x	y	$\hat{y}$	$\lvert y-\hat{y}\rvert$	$(y-\hat{y})^2$
0.1807	0.6852	0.6391	0.0461	2.125×10^{-3}
0.3615	1.3215	1.2570	0.0645	4.106×10^{-3}
0.9037	3.0260	3.1100	0.0840	7.056×10^{-3}
1.8074	6.1207	6.1985	0.0778	6.053×10^{-3}
3.614	12.424	12.3727	0.0513	2.632×10^{-3}

校准曲线的残差标准差为：

$$s_E = \sqrt{\frac{\sum(y-\hat{y})^2}{N-2}} = \frac{2.203\times10^{-2}}{5-2} = 7.34\times10^{-3}$$

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^{n} y_i}{N} = \frac{23.577}{5} = 4.715$$

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{N} = \frac{6.867}{5} = 1.373$$

$$s_{xx} = \sum_{i=1}^{N}(x_i-\bar{x})^2 = 7.876$$

$$u_{rel}(\bar{x}) = \frac{s_E}{b\bar{x}}\sqrt{\frac{1}{n}+\frac{1}{N}+\frac{(\bar{y}-\bar{x})}{s_{xx}}}$$

$$= \frac{7.34\times10^{-3}}{3.4176\times1.373}\sqrt{\frac{1}{2}+\frac{1}{5}+\frac{(4.715-1.373)}{7.876}}$$

$$= 1.66\times10^{-3}$$

2.4.2.5 样品及标准溶液峰面积比产生的不确定度

由于色谱数据处理系统对样品及标准溶液的峰面积进行自动积分，且有效数字达6～7位，虽然最后一位数字可能带来误差，但此分量的贡献十分小，因此，该分量不确定度忽略不计。

2.5 合成标准不确定度的计算

根据己酸乙酯测定相关不确定度来源因果图1，己酸乙酯测定的相对合成不确定度：

$$u_{rel}(\rho) = \sqrt{u_{rel}^2(A)+u_{rel}^2(B_1)+\cdots u_{rel}^2(B_6)}$$

现将己酸乙酯测定相对标准不确定度分量的评定列于表2。按合成不确定度的等数量级原则和1/3原则，计算合成不确定度时对贡献较小者可忽略不计。因此可得：

$$u_{rel}(\rho) = \sqrt{u_{rel}^2(A)+u_{rel}^2(GC)+u_{rel}^2(P)+u_{rel}^2(P)u_{rel}(\bar{x})}$$

$$= 0.0105$$

2.6 扩展不确定度的计算

取包含因子k=2，则扩展不确定度：

U=k×u_{rel}(ρ)=2×1.05×10^{-2}=0.0210

表2 己酸乙酯测定相对标准不确定度分量的评定

Table 2 The evaluation of mutuality uncertainty component in determination of determination of ethyl caproate

不确定度类别	来源	相对标准不确定度符号	相对标准不确定度数值
A	测量结果	u_{rel}(A)	7.40×10^{-3}
	标准品纯度	u(P)	2.89×10^{-3}
B_1	天平称量	u_{rel}(m)	8.53×10^{-5}
	容量瓶	u_{rel}(V)	3.39×10^{-4}
	稀释标准溶液用吸量管	u_{rel}(V?	6.97×10^{-4}
B_2	取酒样用吸量管	u_{rel}(V校)	4.28×10^{-4}
	取内标用移液器	u_{rel}(V校?	8.98×10^{-4}
B_3	气相色谱	u_{rel}(GC)	6.61×10^{-3}
B_4	校准曲线	$u_{rel}(\bar{x})$	1.66×10^{-3}
B_5	样品峰面积比	忽略不计	—
B_6	标准溶液峰面积比	忽略不计	—

3 测量不确定度报告

该酒样中己酸乙酯含量不确定度报告如下：

ρ=1.6010mg/ml，U=0.0210mg/ml，k=2。

4 结 论

通过对气相色谱法测量白酒中己酸乙酯含量的不确定度来源进行分析，并对其不确定度分量进行评定，得出该分析方法的测量不确定度为0.0210mg/ml，包含因子k=2；同时可以看出，气相色谱法测量白酒中己酸乙酯的不确定度主要来自人员的重复操作、气相色谱仪和标准品纯度等。因此，在测试样品时，必须严格按照操

室温下5分钟快速测定玉米中的蛋白质

鲁秀恒[1]，鲁金昌[2]，朱梅梦[1]
(1.吉林粮食高等专科学校食品系，吉林 长春 130062；
2.广西玉林师范学院化学与生物系，广西 玉林 537000)

摘 要：依据玉米醇溶蛋白质溶于90%～93%乙醇的特性，在室温下采用90%乙醇做玉米蛋白质的抽提剂，用碱性硫酸铜显色，在550nm处测定吸光度。本文研究了该体系的最佳反应条件，成功地建立了一个玉米蛋白质快速测定的新方法。结果表明：①与其他快速方法相比，该方法不用加热、不用离心、不用抽滤，操作简便快速，经济安全。②该方法精密度高(RSD为0.38%)，结果准确，与国标凯氏法基本一致，回收率为97.0%～101%。
关键词：玉米；蛋白质；室温；快速测定

At Room-temperature in 5 Minutes, A Rapid Method for the Determinaion of Protein in Corn

LU Xiu-heng[1], LU Jin-chang[2], ZHU Mei-meng[1]
(1.Department of Food, Jinlin Grain College, Changchun 130062, China;
2.Department of Chemistry and Biology, Yulin Normal University, Yulin 537000, China)

Abstract: According to the characteristics that protein in corn is soluble in alcohol (90%～93%). The protein in corn was extracted with alcohol (90%) and coloured with basic solution of $CuSO_4$ the absorbance was measured at 550nm. The optimum reaction of protein in the system was studied and a new rapid method, at room-temperature, for determining protein in corn was developed. The results showed two facts: ①The method needs no heating, centrifuging or suction and the test is simple and rapid, economical and safe in comparison with other rapid methods. ②The method has a high precision (RSD 0.38%), and fair reclamation (97.0%～101%). The results obtained by this method agree well with those obtained by the kjeldahl method.
Key words: corn; protein; room-temperature; rapid determination
中图分类号：TS210.7 文献标识码：A 文章编号：1002-6630(2006)07-0218-04

玉米是世界三大谷物之一。据国家粮油信息中心发布的9月份供需报告预计，2005年我国玉米产量预计可达1.27～1.35亿吨。预计2005～2006年度国内玉米消费总量达1.28亿吨。在如此巨大量的消费过程中，玉米不论做何种用途，在质量监测过程中蛋白质的测定都是首选项目。目前，粮油食品行业的蛋白质测定国家标准方法仍是经典的凯氏法。凯氏法虽准确可靠，但操作繁杂，现虽有凯氏自动测定仪器大量使用，但也尚需数小时，满足不了现场快速检测和基层例行分析的需要。在蛋白质的快速测定方法中，虽有近红外分析仪测定时间短，结果准确，但因其价格昂贵，不能普及。双缩脲法也是常用快速测定方法之一，但在大多数双缩脲法中，不是需要加热，就是需要离心或者抽滤，也尚需时间而且麻烦。FREDERICK·CSTRDNG III[1]等人

收稿日期：2005-12-30
作者简介：鲁秀恒(1953-)，女，副教授，主要从事粮油食品分析与检验工作。

作规范，并且使用合格的计量器具。

参考文献：

[1] ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibrationlaboratories[S].1999.
[2] 中国实验室国家认可委员会. 化学分析中的不确定度评估指南[M]. 北京：中国计量出版社，2002.
[3] JJF1059-1999. 测量不确定度评估与表示[M]. 北京：中国计量出版社，2000.
[4] 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，2000.