

야채음료 중 비타민 C 분석에 있어서의 측정불확도 추정

김영준* · 김현위
오뚜기 중앙연구소

Estimation of Measurement Uncertainty in Vitamin C Analysis from Vegetable and Fruit Juice

Young-Jun Kim* and Hyeon-Wee Kim
Ottogi Reserch Center

This study aimed to determine the amount of vitamin C from vegetable & fruit juice by high performance liquid chromatography (HPLC). Components for estimation of measurement uncertainty associated with the analysis of vitamin C, such as standard weight, purity, molecular weight, dilution of standard solution, calibration curve, recovery, and precision, were importantly applied. The estimation of uncertainty obtained with systematic and random error based on the GUM (Guide to the expression of uncertainty in measurement) and EURACHEM document with mathematical calculation and statistical analysis. The components, evaluated by either Type A or Type B methods, were combined to produce an overall value of uncertainty known as the combined standard uncertainty. An expanded uncertainty was obtained by multiplying the combined standard uncertainty with a coverage factor (k) calculated from the effective degree of freedom. The content of vitamin C from vegetable and fruit juice was 27.53 mg/100 g and the expanded uncertainty by multiplying by the coverage factor (k, 2.06) was 0.63 mg/100 g at a 95% confidence level. It was concluded that the main sources were, in order of recovery and precision, weight and purity of the reference material, dilution of the standard solution, and calibration curve. Careful experiments on other higher uncertainties is further needed in addition to better personal proficiency in sample analysis in terms of accuracy and precision.

Key words: uncertainty, measurement, vitamin C, juice

서 론

측정불확도⁽¹⁾는 측정 대상으로부터 합리적으로 추정된 값들의 분산된 상태를 규정하는 측정결과와 관련된 매개변수를 의미하며 사전적 의미로는 의심, 불확실함을 뜻한다. 즉, 분석결과가 참값에 얼마나 근접하느냐에 따른 의심과 타당함에 대한 의심을 뜻한다. 식품 중 각종 성분 에 대한 분석의 경우 시험원이 공인된 방법에 따라 정확한 실험을 실시함에도 불구하고 완벽하게 동일한 분석결과를 얻기란 어렵다. 결국 참값에 가까운 결과를 얻기 위해서 여러 번의 실험한 결과를 평균 또는 적절한 방법으로 산출하여 가장 근접하게 추정한 값을 참값일 것이라고 믿고 싶어하는 게 사실이다. 이와 같이 불확도가 표시되어 있지 않는 분석결과에 신뢰도에 관한 정량적인 지표가 없으므로 어느 정도를 신뢰

하여야 하는지에 대한 의문이 생기게 마련이다. 이러한 미심쩍음 정도와 여러 가지 오차 등 일련의 과정을 GUM(Guide to the expression of Uncertainty in Measurement)⁽¹⁾과 EURACHEM^(2,3)에 근거하여 수학적 처리 및 통계방법을 이용하여 측정불확도를 추정할 수가 있다. 1993년 국제표준화기구(ISO)는 국가간의 시험분석 및 교정에 대한 신뢰성을 높이고자 측정결과와 품질을 하나의 통일된 척도인 불확도로 표현하고자, 국제도량형국(BIPM), 국제전기기술위원회(IEC), 국제임상화학연합회(IFCC), 국제순수 및 응용화학연합회(IUPAC), 국제순수 및 응용물리연합회(IUPAP) 그리고 국제법정계량기구(OIML) 등과 합동으로 모든 측정현장에서 통일적으로 적용할 수 있는 “측정불확도 표현지침(GUM)”을 발간하였다. 이 지침은 1970년대부터 국제도량형위원회(CIPM)가 중심이 되어 국제적으로 동의를 얻을 수 있는 측정불확도 표현방법을 검토하던 끝에 발간된 것으로 현재로서는 측정불확도 평가와 표현에 있어 가장 적절한 접근방법으로 인정 받고 있기 때문에 세계적으로 널리 채택되어 확대 적용⁽⁴⁾되고 있다. 또한, 국내의 교정시험기관 등의 측정 현장에서 쉽게 사용할 수 있는 새로운 지침의 필요성 제기로 한국표준과학연구원에서 1998년 표현지침⁽⁵⁾을 발간하였으며, 기술

*Corresponding author : Young-Jun Kim, Ottogi Research Center, 166-4 Pyeongchon-dong, Dongan-gu, Anyang, Kyeonggi-do 430-070, Korea
Tel: 82-31-421-2139
Fax: 82-31-421-2133
E-mail: yjkim@ottogi.co.kr

표준원에서 운영하는 한국시험·검사기관인증기구(Korea Laboratory Accreditation Scheme, KOLAS)는 불확도 산출을 의무화하고 있다. 이와 같이 최근의 국내 및 국제사회에서는 분석결과와 더불어 불확도를 표시함으로써 분석결과에 대한 신뢰성을 향상시키고자 연구하고 있다. 또한, 시험소가 교정이나 시험을 하여 증명서나 성적서를 발행하는 경우, 국제비교나 공동시험에 있어서 그 결과를 공표하는 경우, 기준인증이나 제조물 책임(PL)의 문제에 대한 신뢰성을 확보하고자 하는 경우 등에 그 필요성이 있다고 할 수 있다. 최근의 불확도와 관련된 연구이론으로는 Woo 등^(6,7,8,9)은 국제규범(GUM)에 맞는 불확도 산출 및 표현을 위한 표준불확도, 합성표준 불확도, 확장불확도 등에 대한 적용방법과 측정 및 분석 결과의 불확도 총설을 보고하였고, 불확도와 관련하여 King⁽¹⁰⁾은 소급성, Aleksandrov⁽¹¹⁾는 오차, Dome 등⁽¹²⁾ 불확도 요인, Shu 등⁽¹³⁾은 검정곡선, Yates⁽¹⁴⁾는 표현방법에 대하여 보고하였다. 이런 이론 및 배경을 바탕으로 적용된 식품분석과 관련된 국내연구로는 Kim 등⁽¹⁵⁾은 옥수수유 중의 미량 pp'-DDE의 정량분석에 대한 불확도를 Jang 등⁽¹⁶⁾은 내부표준물질을 이용하여 GC로 담배 중 멘톨분석에 대한 불확도를 추정하였다. 또한, EURACHEM⁽³⁾의 경우 산-염기 적정, 빵 중의 유기인계 농약 잔류량, 육류 중의 단백질 함량 등에 대한 보고가 있었고, 한국의 KOLAS에 해당되는 싱가포르의 SINGLAS(Singapore Laboratory Accreditation Scheme)⁽¹⁷⁾에서는 분유 중의 지방산분석, 팜유의 산가 측정에 대하여 보고하고 있다. Grande 등⁽¹⁸⁾은 HPLC의 DAD(Diode Array Detector)를 이용한 Sulfamethazine과 Trimethoprim의 동시분석에 대한 불확도, Gardner⁽¹⁹⁾는 UV 측정, Ambrus⁽²⁰⁾, Alder 등⁽²¹⁾은 잔류농약 분석과 비교속련도 시험에서의 불확도 측정에 대하여 보고하였다. 이외의 Hayashi 등⁽²²⁾은 품질관리 측면의 불확도, Lee 등⁽²³⁾은 pH 속련도시험에서의 계통효과에 의한 오차 등과 같이 불확도 추정에 관하여 보고하였다. 따라서, 본 연구에서는 변형된 일본위생시험법⁽²⁴⁾과 이 등⁽²⁵⁾의 방법으로 분석 중 소실되기 쉬운 야채음료 중의 비타민 C 함량을 분석할 때 불확도 인자로서 표준품, 측정표준, 시험편 및 분석값, 분석장비, 분석법, 환경, 시험원, 실수 등이 적용되며, 표준용액 제조시 원자별, 분자량 등의 요인과 분석시에는 재현성, 반복성, 검정곡선의 측정불확도 산출 등이 중요한 파라미터로 작용되므로 이를 합성추정하고 수치화하여 각각의 불확도 인자들이 전체 불확도에 미치는 영향을 산출하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 시료는 주식회사 오뚜기에서 제공받은 시금치, 파슬리, 셀러리, 아스파라거스, 양상치, 사과, 오렌지, 그레이프후르츠, 레몬과 같은 야채 및 과일의 혼합품으로 설탕, 인공색소 및 보존료가 무첨가된 야채음료로서 일반성분은 탄수화물 8.0%, 단백질 0.3%, 지방 0%, 열량 33 kcal이었다.

시료 전처리 및 분석조건

비타민 C는 일본위생시험법⁽²⁴⁾과 이 등⁽²⁵⁾의 방법을 이용하

여 HPLC(Agilent 1100series, Agilent, USA)로 분석하였다. 즉, 시료 약 10 g을 취하여 10^{-3} M(molarity) EDTA(ethylene diaminetetraacetate)를 첨가한 4배에 해당되는 양의 2% 메타인산용액을 가하고 현탁 후, 원심분리를 행하여 추출하고 상등액을 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 HPLC 분석용 시료로 하였다. 컬럼은 Eclipse XDB-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μ m)을 사용하였고, 이동상으로 0.05 M KH₂PO₄/Acetonitrile (60:40, v/v) 혼합액을 이용하여 분리하였으며, multi wavelength detector로 254 nm에서 검출하였다. 정량은 표준품 비타민 C(A-5960, Sigma Co.)를 이용하여 외부표준법으로 계산하였다.

불확도 추정방법

GUM⁽¹⁾과 EURACHEM^(2,3)에 근거하여 모델관계식을 설정하고, 각각의 불확도 요인들로부터 불확도를 추정하였다.

모델 관계식 설정

검정선에서 분석된 시험용액의 비타민 C의 농도는 식(1)과 같이 산출하였으며, 이로부터 야채음료의 농도(C_s)를 전체적으로 불확도가 전파될 수 있도록 수학적 모델관계식 (2)로 설정하였다. 전체적인 불확도 요인 및 인자들에 대한 세부 내용과 약어는 Table 1에 나타내었고, 이를 Fig. 1과 같이 도식화하였다.

$$C_{spl} = \frac{(A_j - B_o)}{B_1} \quad (1)$$

A_j : j^{th} measurement of the area of the i^{th} calibration standard

B_1 : Slope of the calibration curve

B_o : Intercept of the calibration curve

$$C_s = \frac{C_{spl} \times FW_{spl}}{W_{spl}} \times 100 = \frac{(A_j - B_o) \times FW_{spl}}{W_{spl} \times B_1} \times 100 \quad (2)$$

C_s : Concentration of sample (mg/100 g)

C_{spl} : Concentration of sample in the extraction solution (mg/g)

FW_{spl} : Final weight of sample (g)

W_{spl} : Weight of sample (g)

요인별 측정값과 표준불확도(standard uncertainty, $u(x_i)$)

여러 번 측정하여 구한 평균값을 해당 요인의 측정값으로 사용할 경우, 평균값의 표준편차를 A type 표준불확도로, 저울과 플라스크, 피펫 등의 교정시험검사결과는 B type 표준불확도로 평가하였다.

검정선의 불확도(uncertainty of calibration curve)

식품 중의 미량성분 분석의 경우 분석시료의 농도를 구하기 위하여 모표준품 용액을 여러 개의 농도로 희석하여 검정선을 작성한 후 분석하였으며, 검정선은 linear least square fitting⁽²⁾을 이용하여 1차 선형 회귀식 식(3)으로 나타내었다. 이 때 상대표준불확도는 식(4)와 같이 구하였으며, 이는 식(5)와 식(6)을 이용하여 산출하였다.

Table 1. Overall uncertainty sources in the analysis of vitamin C from vegetable and fruit juice

Description	Parameter (abbreviation)	Source	Source of data
Preparation of standard solution	Weight of vitamin C (W_{vit-C})	Calibration	Balance calibration certificate
		Repeatability	Repeated balance analysis
		Resolution	Suppliers specification
	Purity of vitamin C (P_{vit-C})	Purity	Suppliers specification
	Formula weight of vitamin C (F_{vit-C})	Molecular weight	IUPAC table
	Dilution (1st, 2nd, 3rd) of vitamin C ($STD0\sim3_{VP}$)	Calibration Repeatability Temperature	Calibration certificate Repeated balance analysis Replicate volume analysis
Clean-up of sample	Weight of sample (W_{spl})	Calibration Repeatability Resolution	Balance calibration certificate Repeated balance analysis Suppliers specification
	Final weight of sample (FW_{spl})	Calibration Repeatability Resolution	Balance calibration certificate Repeated balance analysis Suppliers specification
Calibration curve	Linearity (Δ_{cal})	Calibration	Linear least square method
Analysis of sample	Concentration of sample in the extraction solution (C_{spl})	Repeatability	Replicate analysis of sample across 6 batches
Recovery & precision	Recovery and precision of matrix (R_{matrix})	Recovery Precision	Replicate analysis of sample across 10 batches

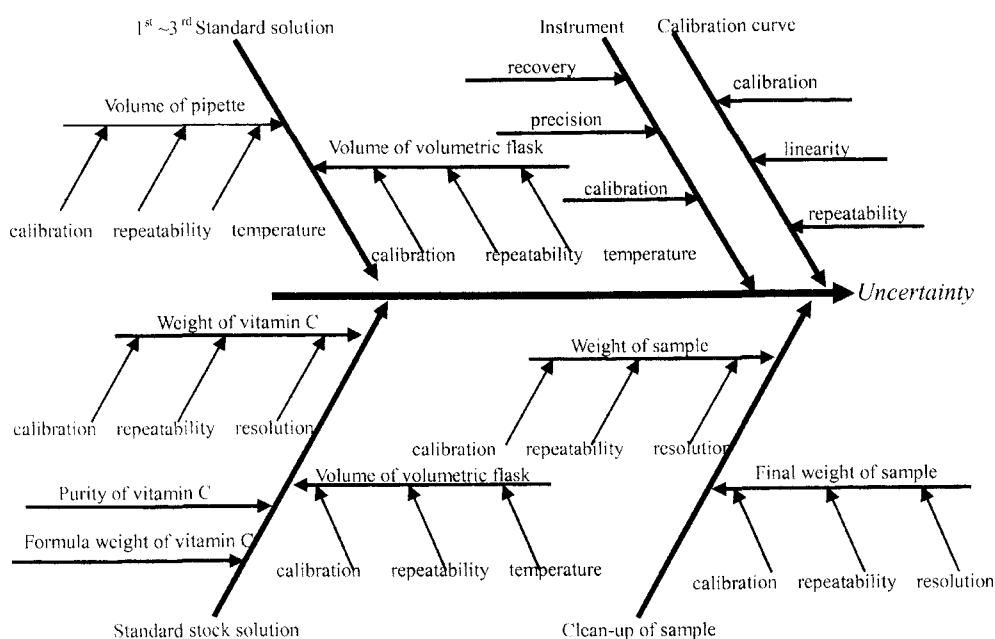


Fig. 1. Fish bone diagram of uncertainty sources in vitamin C analysis.

$$A_j = C_i \times B_1 + B_o \quad (3)$$

A_j : j^{th} measurement of the area of the i^{th} calibration standard
 C_i : Concentraion of the i th calibration standard
 B_1 : Slope of the calibration curve
 B_o : Intercept of the calibration curve

$$u(C_o) = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_o - \bar{C})^2}{S_{xx}}} \quad (4)$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_j - (B_o + B_1 C_j)]^2}{n - 2}} \quad (5)$$

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2 \quad (6)$$

p : Number of measurements to determine C_o

n : Number of measurements for the calibration

C_o : Concentration of Ascorbic acid in the extraction solution

\bar{C} : Mean value of the different calibration standards (n number of measurements)

i : Index for the number of calibration standards

j : Index for the number of measurements to obtain the calibration curve

감응계수(sensitive coefficient)

감응계수는 각 측정량의 불확도 인자가 전체 결과값에 미치는 영향을 나타내는 것으로 식(7)과 같이 구하였다.

$$c_i \equiv \frac{\partial f}{\partial x_i} \approx \frac{(\Delta y)_i}{\Delta x_i} \quad (7)$$

합성표준불확도(combined standard uncertainty, $U_c(y)$)

측정결과가 여러 개의 다른 입력량으로부터 구해질 때 이 측정결과와 표준불확도를 합성표준불확도라고 하며, 합성은 불확도 전파의 법칙(law of propagation of uncertainty)(8)을 이용하여 구하였다.

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^2 u^2(x_i)} \quad (8)$$

포함인자(coverage factor, k)

포함인자 k 를 구하기 위해서는 합성표준불확도의 유효자유도를 추정하여야 하는데 이 유효자유도를 ν_{eff} 라고 표현하며, 구하는 방법은 Welch-Satterthwaite 공식(9)을 이용하여 추정하였다.

$$\nu_{eff} = \frac{u_c^4(y)}{\sum_{i=1}^n \frac{[c_i u(x_i)]^4}{\nu_i}} \quad (9)$$

확장불확도(expanded uncertainty, U)

산출된 합성표준불확도에 신뢰수준에 상당하는 포함인자 k 를 곱하여 식(10)과 같이 확장불확도를 구하였다.

$$U = k u_c(y) \quad (10)$$

결과 및 고찰

표준품 무게 측정

표준품의 무게(W_{VTC}) 0.1 g을 측정시 저울에 대한 교정성적서 상의 불확도, 측정반복성, 저울의 분해능이 불확도 요인으로 고려되어야 한다. 즉, 표준품의 무게 측정시 저울에 대한 교정 성적서상의 불확도는 95% 신뢰수준에서 ± 0.00014 g의 불확도를 가지고 있으므로 표준불확도는 0.00007이 된다. 측정하는데 있어서의 반복성은 표준물질의 질량과 동량의 무게를 가진 분동을 이용하여 10회 측정된 값의 표준편차 0.00241 g

을 반복성에 대한 불확도로 사용한다. 또한, 저울(Mettler AT 400, Swiss)의 분해능은 0.0001 g이며, 분해능에 대한 불확도는 0.00003 g이다. 저울의 합성 표준불확도($u(W_{VTC})$)는 각 표준불확도에 대한 제곱합의 제곱근으로 0.00025 g이 된다. 따라서, 비타민 C 표준물질의 측정시 상대 표준불확도($u(W_{VTC})/W_{VTC}$)는 0.00253(0.00025/0.1)이 된다. 이 때 자유도는 측정횟수가 10이므로 9이다.

표준품 순도

표준품의 순도(P_{VTC})에 대한 불확도를 산출하기 위해서 시약 제조사의 규격에서 비타민 C는 99%로 표시되어 있으므로 0.99 ± 0.01 로 가정하고, 신뢰구간이 정해져 있지 않으므로 직사각형분포로 간주하여 $\sqrt{3}$ 으로 나누면 순도에 대한 표준불확도($u(P_{VTC})$)는 0.00577이고, 상대 표준불확도($u(P_{VTC})/P_{VTC}$)는 0.00583(0.00577/0.99)이다.

표준품 분자량

비타민 C의 분자량(F_{VTC})은 176.12이고, 구조식은 $C_6H_8O_6$ 이다. IUPAC⁽²⁶⁾에서 발표된 탄소, 수소, 산소의 원자 1개의 불확도는 각각 ± 0.008 , ± 0.00007 , ± 0.0003 이고, 표준불확도는 직사각형 분포를 가정하여 $\sqrt{3}$ 으로 나누면 0.00046, 0.00004 및 0.00017이다. 여기에 원자개수를 각각 곱하면, 0.00277, 0.00032 및 0.00104이다(Table 2). 원자에 대한 표준불확도($u(F_{VTC})$)를 제곱합의 제곱근으로 계산하면 0.00298이고, 따라서 비타민 C의 분자량에 대한 상대 표준불확도($u(F_{VTC})/F_{VTC}$)는 0.00002(0.00298/176.12)이다.

모표준용액 제조

모표준용액($STD0_v$)제조시 즉, 표준품 0.1 g을 100 mL volumetric flask에 옮긴 후 용해시 부피 측정에 대한 불확도는 플라스크의 교정성적서 상에 나타난 불확도, 눈금읽기에 대한 시험원의 측정반복성에 의한 불확도, 온도에 따른 물의 변화에 대한 불확도 등이 불확도 요인으로 고려되어야 한다. 즉, 100 mL volumetric flask의 교정성적서 상의 불확도는 95% 신뢰수준에서 ± 0.013 mL의 불확도를 가지고 있으므로, 이 값을 2로 나누어 줌으로써 표준불확도는 0.0065 mL가 된다. 100 mL volumetric flask의 눈금 맞추기에 따른 시험원의 불확도는 플라스크에 대한 10회 반복실험으로 측정하였다. 이에 대한 부피 측정시 표준편차 0.00876 mL을 불확도로 사용하였다. 또한, 실험실의 온도변화가 $\pm 4^\circ\text{C}$ 이고, 물의 부피 팽창계수는 $0.00021/^\circ\text{C}$ 이다. 따라서, 온도변화에 따른 부피의 불확도는 $\pm V \times 4 \times 0.00021$ 이며, 신뢰구간이 주어지지 않으므로 직사각형 분포로 간주하여 이에 대한 불확도는 0.084 mL이고 표준불확도는 0.04850 mL이 된다. 플라스크의 합성 표준불확도($u(STD0_v)$)는 각 표준불확도에 대한 제곱합의 제곱근으로 0.04971이 된다. 따라서, 비타민 모표준용액 제조에 사용된 100 mL volumetric flask에 대한 상대 표준불확도($u(STD0_v)/STD0_v$)는 0.0005(0.04971/100)이 된다. 이 때 자유도는 측정횟수가 10이므로 9이다.

표준품 희석

모표준품(0.99 mg/mL)으로부터 10 mL 피펫을 이용하여 100

Table 2. Uncertainty of vitamin C molecular weight

Element	Atomic weight	Quoted uncertainty	Standard uncertainty	The number of atoms	Calculated weight	Uncertainty contributed
C	12.0107	±0.0008	0.00046	6	72.0642	0.00277
H	1.0079	±0.00007	0.00004	8	8.06352	0.00032
O	15.9994	±0.0003	0.00017	6	95.9964	0.00104

volumetric flask에 희석하여 0.1 mg/mL(STD1)를 제조하고, 다시 5배씩 희석하여 0.02 mg/mL(STD2), 0.004 mg/mL(STD3)의 표준용액을 제조한다. 모표준용액과 같은 방법으로 피펫과 플라스크에 대한 합성 표준불확도($u(STD1\sim3_v)$)를 산출하면 10 mL 피펫은 0.0836, 50 mL volumetric flask는 0.02499이며, 상대 표준불확도($u(STD1\sim3_v)/STD1\sim3_v$)는 각각 0.0084 (0.0835/10), 0.0005(0.02499/50)이 된다. 이 때 자유도는 측정횟수가 10이므로 각각9이다.

시료 전처리

야채음료 중의 비타민 C를 정량 분석하기 위해서 시료 12.5108 g을 취하여 2% 메타인산 용액(1 mM EDTA 첨가)으로 희석하여 최종 측정할 무게는 48.9477 g이 되었다. 앞서 표준품의 무게측정시와 같은 방법으로 시료의 무게(W_{spl})와 희석용매를 넣은 최종무게(FW_{spl})의 합성 표준불확도($u(W_{spl})$, $u(FW_{spl})$)를 산출하면, 시료무게는 0.0001, 희석한 최종시료무게는 0.0001이며, 상대 표준불확도($u(W_{spl})/W_{spl}$, $u(FW_{spl})/FW_{spl}$)는 각각 0.00001(0.0001/12.5108), 0.000002(0.0001/48.9477)이 된다. 이 때 자유도는 무게 측정횟수가 10이므로 9이다.

검정곡선

모표준용액으로부터 희석된 3개의 표준용액 농도를 3회 반복 측정하였으며, 상관성(Δ_{cal})은 0.999로 높은 상관성을 나타내었다. 검정곡선은 linear least square fitting을 이용하여 산출하였으며, 검정곡선 작성에 표준불확도($u(\Delta_{cal})$)는 식 (3)~(6)을 이용하여 계산하면, 0.00015이며, 이 때 상대 표준불확도($u(\Delta_{cal})/\Delta_{cal}$)는 0.0015(0.00015/0.9999)이 된다. 이 때 자유도는 측정횟수9회이며, 2를 빼므로 7이다.

시료의 측정

HPLC를 이용하여 시료를 6회 반복 분석한 결과 평균값(C_{spl}) 0.0702이며, 표준편차는 ±0.0004이다. A type의 표준오차로 산출된 표준불확도($u(C_{spl})$)는 0.0002이며, 상대 표준불확도($u(C_{spl})/C_{spl}$)는 0.0025(0.0002/0.0702)이 된다. 이 때 자유도는 측정횟수가 6이므로 5이다.

회수율 및 정밀성

매질이 비슷한 시료에 표준물을 첨가하여 산출한 자료로 회수율 시험이 10회 행해졌을 때 평균(R_{matrix}) 98.69%와 표준편차 0.82%였으며, 이에 대한 표준불확도($u(R_{matrix})$)는 표준편차로서 0.0082이다. 따라서, 회수율 및 정밀성의 상대 표준불확도($u(R_{matrix})/R_{matrix}$)는 0.00835(0.0082/0.9869)이 된다. 이 때 자유도는 측정횟수가 10이므로 9이다.

합성 표준불확도

각 불확도 인자들의 상대 표준불확도 값을 불확도 전파의 법칙(law of propagation of uncertainty)(8)에 따라 제곱합의 제곱근으로 합성하여 합성 상대표준불확도를 산출한다. 즉, 합성 상대표준불확도($u(C_s)/C(s)$)는 0.01103이 된다. 또한, 시료의 희석배수를 곱한 분석결과는 27.53 mg/100 g이므로 합성 표준불확도는 0.3037(0.01103×27.53) mg/100 g이 된다.

확장불확도

포함인자 k를 구하기 위해서는 합성표준불확도 $U_c(y)$ 의 유효자유도를 추정하여야 하는데 이 유효자유도를 ν_{eff} 라고 표현하며, 구하는 방법은 Welch-Satterthwaite 공식(9)을 이용하여 추정하였다. 요인별 입력 표준편차의 자유도와 감응계수(식 7)로부터 유효자유도를 산출하면 25.06으로서, 이에 따른 95% 신뢰수준에서의 $t_{0.95}$ 값은 2.06이므로 포함인자(k)는 2.06이다. 따라서 확장불확도(U)는 식(10)과 같이 산출하면, 0.63(2.06×0.3037) mg/100 g이다.

결과 표현 및 요인별 불확도 분석

야채음료의 비타민 C 함량은 27.53±0.63 mg/100 g(95% 신뢰도 구간)와 같이 표현한다. 즉, 분석결과 값과 비교할 때 2.29%(=0.63/27.53×100)가 불확도인 것으로 산출되었다. 또한, 각각의 불확도 인자들이 전체 불확도에 미치는 영향을 상대 표준불확도의 총합에 대한 각 불확도 인자의 %값으로 표현하였다(Table 3). 분석시의 회수율과 반복성에 따른 불확도가 가장 크게 나타났으며, 표준품의 순도, 표준용액 희석시, 표준품 무게, 시료 기기분석시, 검정곡선 순이었으나, 표준품의 분자량과 시료의 무게 측정시에는 영향이 적은 것으로 산출되었다(Fig. 2). 그러므로, 시험원의 분석과정 중 불확도가 높게 산출된 실험과정에 대해서는 좀더 세심한 주의가 요구되며, 시료의 반복 실험시 재현성있는 결과가 산출될 수 있도록 숙련도를 높일 필요가 있다. 또한, 재료 및 기기적인 측면에서 불확도가 표현된 순도가 높은 표준품, 검증된 volumetric flask와 pipette, 분해능이 높고 불확도가 낮은 저울, 유효화된 분석기기 등의 적절한 이용이 불확도를 최소화시킬 수 있는 방안이라고 할 수 있다.

요 약

분석 중 소실되기 쉬운 야채음료의 비타민 C 함량을 HPLC를 이용하여 측정하였으며, 불확도인자로서 표준품의 무게, 순도, 분자량, 희석 등과 시료의 무게, 검정곡선, 회수율 및 정밀성 등이 작용하였다. 이러한 미시적은 정도와 더불어 계통오차와 우연오차 등 일련의 과정을 GUM(Guide to the

Table 3. Intermediate values and uncertainties for vitamin C analysis

Parameter	Value	Standard uncertainty	Sensitivity coefficient	Degree of freedom	Relative standard uncertainty	Effective degree of freedom
(x_i)	x_i	$u(x_i)$	$c_i(\partial C_x/\partial x_i)$	ν	$u(x_i)/x_i$	$[c_i u(x_i)]^2/\nu_i$
W_{vit-C}	0.10	0.000	2.75	9	0.00253	2.6E-14
P_{vit-C}	0.99	0.006	0.28	-	0.00583	0.0E+00
F_{vit-C}	176.12	0.003	0.00	-	0.00002	0.0E+00
$STD0_v$	100.00	0.050	0.00	9	0.00050	3.9E-17
$STD1_p$	10.00	0.008	0.03	9	0.00084	3.1E-16
$STD1_v$	100.00	0.050	0.00	9	0.00050	3.9E-17
$STD2_p$	10.00	0.008	0.03	9	0.00084	3.1E-16
$STD2_v$	50.00	0.025	0.01	9	0.00050	4.0E-17
$STD3_p$	10.00	0.008	0.03	9	0.00084	3.1E-16
$STD3_v$	50.00	0.025	0.01	9	0.00050	4.0E-17
W_{spl}	12.51	0.000	0.02	9	0.00001	2.9E-24
FW_{spl}	48.95	0.000	0.01	9	0.00000	1.4E-26
Δ_{cal}	1.00	0.002	0.28	7	0.00151	4.3E-15
C_{spl}	0.07	0.002	3.91	5	0.00174	6.0E-15
R_{matrix}	0.99	0.008	0.28	9	0.00835	3.1E-12

W_{vit-C} : weight of vitamin C, P_{vit-C} : purity of vitamin C, F_{vit-C} : formula weight of vitamin C, STD; dilution of standard solution, W_{spl} : weight of sample, FW_{spl} : final weight of sample, Δ_{cal} : linearity of calibration curve, C_{spl} : concentration of sample in the extraction solution, R_{matrix} : recovery and precision of matrix.

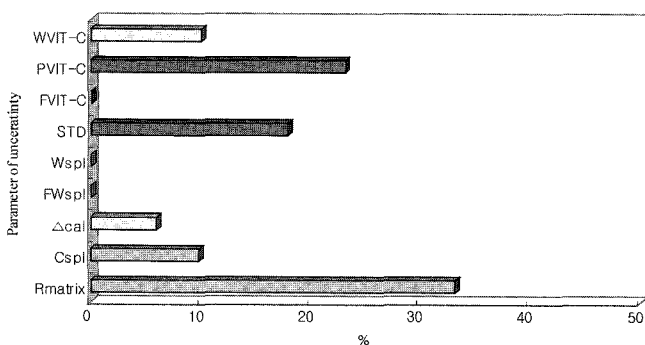


Fig. 2. Uncertainty contributions in vitamin C analysis

W_{vit-C} : weight of vitamin C, P_{vit-C} : purity of vitamin C, F_{vit-C} : formula weight of vitamin C, STD; dilution of standard solution, W_{spl} : weight of sample, FW_{spl} : final weight of sample, Δ_{cal} : linearity of calibration curve, C_{spl} : concentration of sample in the extraction solution, R_{matrix} : recovery and precision of matrix.

expression of Uncertainty in Measurement)과 EURACHEM에 근거하여 수학적 처리 및 통계방법을 이용하여 측정불확도를 추정하였다. 추정방법은 각각의 인자들에 대하여 A-type 또는 B-type으로 산출된 표준불확도 값을 합성하여 합성표준불확도를 산출하고, 확장불확도는 유효자유도로 산출된 포함인자를 곱하여 계산하였다. 야채와 과일이 혼합된 음료 중 비타민 C 함량은 27.53 mg/100 g이었으며, 포함인자(2.06)를 곱한 확장불확도는 0.63 mg/100 g로서 95% 신뢰도구간에서의 비타민C의 결과는 27.53 ± 0.63 mg/100 g(95% 신뢰도 구간)과 같이 수치화하여 표현하였다. 비타민 C 분석의 경우 HPLC를 이용한 시료 분석의 회수율 및 정밀성(33%), 표준품 순도(23%), 표준용액 희석시(18%), 표준품 무게(10%), 시료 측정시(10%), 검정곡선(6%) 순으로 불확도를 추정할 수 있었

다. 또한, 이를 통해서 시험원의 분석과정 중 불확도가 높게 산출된 실험과정에 대해서는 좀더 세심한 주의가 요구되며, 시료의 반복실험 시 재현성 있는 결과가 산출될 수 있도록 숙련도를 높일 필요가 있다.

문헌

- Anonymous. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurements. International Organization for Standardization (ISO), Switzerland (1993)
- Anonymous. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements. EURACHEM, England (1995)
- Anonymous. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements 2nd. EURACHEM, England (2000)
- Anonymous. Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results. NIST Technical Note 1297, NIST, Korea (1993)
- Anonymous. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. KRIS, Korea (1998)
- Woo, J.C. Uncertainty in measurements and analysis (I). J. Anal. Sci. Technol. 13: 19-26 (2000)
- Woo, J.C. Uncertainty in measurements and analyses (II). J. Anal. Sci. Technol. 13: 49-56 (2000)
- Woo, J.C. Uncertainty in measurements and analyses (III). J. Anal. Sci. Technol. 13: 57-69 (2000)
- Woo, J.C., Suh, J.K. and Moon, D.M. Uncertainty in measurements and analyses (IV). J. Anal. Sci. Technol. 13: 79-87 (2000)
- King, B. Meeting the measurement uncertainty and traceability requirements of ISO/IEC standard 17025 in chemical analysis. Fre. J. Anal. Chem. 371: 714-720 (2001)
- Aleksandrov, Y. I. and Belyakov, V. I. Error and uncertainty in the results of chemical analysis. J. Anal. Chem. 57: 94-103 (2002)
- Dome, J.L., Walton, K. and Renwick, A.G. Uncertainty factors for chemical risk assessment. Food Chem. Toxicol. 39: 681-696 (2001)
- Shu, J.K., Woo, J.C., Moon, D.M. and Park, M.S. An error

- model for the evaluation of uncertainty in calibration process. *Bull. Korean Chem. Soc.* 22: 251-252 (2000)
14. Yates, P.C. A simple method for illustrating uncertainty analysis. *J. Chem. Edu.* 78: 770 (2001)
15. Kim, B.J., Kim, D.H., Choi, J.O. and So, H.Y. Quantitative analysis of trace pp'-dde in corn oil by isotope dilution mass spectrometry: uncertainty evaluations. *Bull. Korean Chem. Soc.* 20: 910-916 (1999)
16. Jang, G.C., Lee, U.C., Baik, S.O. and Han, S.B. Uncertainty in determination of menthol from mentholated cigarette. *J. Korea Soc. Tobacco Sci.* 22: 91-99 (2000)
17. Anonymous. A Guide on Measurement Uncertainty in Chemical Analysis. Singapore Accreditation Council, Singapore (2000)
18. Grande, B.C., Falcon, M.S.G., Comesana, M.R. and Gandara, J.S. Determination of sulfamethazine and trimethoprim in liquid feed premixes by hplc and diode array detection, with an analysis of the uncertainty of the analytical results. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3145-3150 (2001)
19. Gardner, J.L. Uncertainty estimation in color measurement. *Color Res. Application* 25: 349-355 (2000)
20. Ambrus, A. Measurement of uncertainty in pesticide residue analysis: Implications in legal limits. *Italian J. Food Sci.* 12: 259-278 (2000)
21. Alder, L., Korth, W., Patey, A.L. van der Schee, H.A. and Schoeneweiss, S. Estimation of measurement uncertainty in pesticide residue analysis. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 84: 1569-1578 (2001)
22. Hayashi, Y. and Matsuda, R. Measurement of uncertainty and discrimination limit in purity tests of drug quality. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 15: 697-708 (1997)
23. Lee, H.S., Kim, M.S. and Choi, J.O. A study on the proficiency test of pH measurement. *J. Anal. Sci. Technol.* 14: 230-237 (2001)
24. Pharmaceutical Society of Japan. Standard Method of Analysis for Hygienic Chemists. Pharm. Soc. Japan, Tokyo, Japan (2000)
25. Lee, S.M., Yu, R.N., Rhee, S.H. and Park, K.Y. Effects of carrot on the stability of vitamin C in (green-yellow) vegetable juices. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 582-587 (1997)
26. Anonymous. IUPAC commission on atomic weight and isotopic abundances. *J. Pure Appl. Chem.* 69: 2471-2473 (1997)

(2003년 8월 13일 접수; 2003년 10월 30일 채택)