

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.21.018

原子吸收分光光度法测定考核盲样中铅含量的测量不确定度评定*

杨 柳¹, 武静文¹, 王道权², 张 璞¹, 李 莎¹, 范能全^{1△}

(1. 重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121; 2. 重庆华森制药有限公司药物研究院, 重庆 401120)
摘要:目的 评定考核盲样中铅含量的测量不确定度。方法 采用原子吸收分光光度法测定考核盲样中的铅含量, 并根据 JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》建立数学模型, 从样品前处理、标准溶液、测量重复性等方面进行测量不确定度的分析与评定。结果 考核盲样中铅含量为 132.61 μg/L, $k=2$ (95% 置信度), 扩展不确定度为 11.06 μg/L, 测量结果为 $(132.61 \pm 11.06) \mu\text{g/L}$ 。铅元素的相对标准不确定度在 0.23% ~ 4.15% 之间。结论 该方法的不确定度主要来自样品的测量重复性。
关键词:原子吸收分光光度法; 测量不确定度; 考核盲样; 铅

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)21-0066-04

Evaluation of the Measurement Uncertainty in Content Determination of Lead in the Test Blind Sample by Atomic Absorption Spectrophotometry

YANG Liu¹, WU Jingwen¹, WANG Daoquan², ZHANG Pu¹, LI Sha¹, FAN Nengquan¹

(1. Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing, China 401121; 2. The Pharmaceutical Research Institute of Chongqing Pharscin Pharma Co., Ltd., Chongqing, China 401120)

Abstract: **Objective** To evaluate the measurement uncertainty in content determination of lead in the test blind sample. **Methods** The content of lead in the test blind sample was determined by the atomic absorption spectrophotometry. The mathematical model was established according to JJF1059.1-2012 *Evaluation and Expression of Uncertainty in Measurement*, and the measurement uncertainty was analyzed and evaluated from the aspects of sample pretreatment, standard solution, measurement repeatability and so on. **Results** The content of lead in the test blind sample was 132.61 μg/L, $k=2$ (95% CI), the extended uncertainty was 11.06 μg/L, the result of the measurement was $(132.61 \pm 11.06) \mu\text{g/L}$, and the relative standard uncertainty of lead was in the range of 0.23% - 4.15%. **Conclusion** The uncertainty of this method mainly comes from the measurement repeatability of the sample.

Key words: atomic absorption spectrophotometry; measurement uncertainty; test blind sample; lead

铅是一种严重危害人体健康的重金属元素。人或动物接触铅可对中枢神经、生殖、发育、免疫、心血管和肾脏健康产生影响^[1-3]。测量不确定度是表示被测量值分散性的参数, 不确定度评定的开展可确认测量结果的可靠性^[4]。根据 ISO/IEC 17025-2017《检测和校准实验室能力的通用要求》, 检验实验室或校准实验室必须制定测量不确定度的评估程序^[5]。校准实验室出具的证书或报告都应包括测量不确定度的说明; 检测实验室则应有能力对所检测结果进行不确定度评定, 尤其应在能力验证、实验室比对中使用测量不确定度来进行评定。原子吸收分光光度法具有灵敏度高、精密度好、测定结果准确、稳定等优点^[6-8]。本研究中采用 2020 年版《中国药典(四部)》通则 2321 项下铅、镉、砷、汞、铜测定法^[9]的标准操作程序, 考核盲样中铅的含量, 并按 JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》^[10]的评定方法找出影响不确定度的来源, 对不确定度进行分析, 确保测定结果控制在规定的置信水平内, 以提高实验室铅的检测能力。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

iCAP7400 型原子吸收分光光度计(Thermo Fisher 公司); MARS6 型微波消解仪(美国 CEM 公司); EHD-16 型赶酸器(北京东航科仪仪器有限公司); Milli-Q Advantage A10 型 Millipore 超纯水机(美国 Millipore 公司); 移液管(A 级, 规格分别为 1, 2, 5 mL); 容量瓶(A 级, 规格分别为 25, 50, 100 mL)。器具均按 JJG196-2006 常用玻璃量器检定规程要求^[11]进行检定, 结果见表 1。

表 1 玻璃量器检定结果

Tab. 1 Verification result of glass measuring device

器具名称	检定项目	允差误差(mL)	器具名称	检定项目	允差误差(mL)
移液管(A 级)	1 mL	±0.007	容量瓶(A 级)	25 mL	±0.03
	2 mL	±0.010		50 mL	±0.05
	5 mL	±0.015		100 mL	±0.10

1.2 试剂

硝酸(Merck 公司, 批号为 K49249156729); 水为自制纯化水; 铅标准溶液(GBW08619, 中国计量科学研究

*基金项目: 重庆市科研机构绩效激励引导专项项目[cstc2019jxjl130040]。

第一作者: 杨柳, 女, 硕士, 工程师, 研究方向为药品包装材料, (电子信箱) yangliu891204@163.com。

△通信作者: 范能全, 男, 硕士, 工程师, 研究方向为药品包装材料, (电子信箱) fannqeq@163.com。

院,批号为18103,质量浓度为1 000 $\mu\text{g/mL}$ 。实验室间比对盲样(中国检验检疫科学研究院,编号为2019Y004)。

2 方法与结果

2.1 检测条件

光源:铅空心阴极灯;测定波长:283 nm;灯电流:10 mA;进样量:20 μL ;背景校正:塞曼;经优化的石墨炉升温程序见表2。

表2 石墨炉升温程序

Tab. 2 Temperature program of GFAAS

阶段	温度($^{\circ}\text{C}$)	时间(s)	气体流量(L/min)	阶段	温度($^{\circ}\text{C}$)	时间(s)	气体流量(L/min)
干燥	100	30.0	0.2	原子化	1400	3.0	
灰化	800	20.0	0.2	清洗	2500	3.0	0.2

2.2 溶液制备

将铅标准溶液(批号为18103,质量浓度为1 000 $\mu\text{g/mL}$)按表3的程序逐级稀释为工作标准溶液(质量浓度为50 $\mu\text{g/L}$),取液用移液管,定容用容量瓶,仪器自动配制标准曲线溶液。精密量取考核盲样2.0 mL,置微波消解罐中,参照2020年版《中国药典(四部)》通则2321项下铅、镉、砷、汞、铜测定法制备样品和试剂空白溶液,定容至25 mL容量瓶中,即得供试品溶液。

表3 铅工作标准溶液配制程序

Tab. 3 Preparation program of lead working standard solution

质量浓度($\mu\text{g/mL}$)	溶液量(mL)	定容量(mL)	新配制标准溶液质量浓度($\mu\text{g/L}$)
1 000	1	50	2×10^4
20	5	100	1×10^3
1	5	100	5×10^1

2.3 建立数学模型

$$X = \frac{C \times V_2}{V_1}$$

式中, X 为试样中铅的质量浓度($\mu\text{g/L}$); C 为由校准曲线查得的待测元素的质量浓度($\mu\text{g/L}$); V_1 为试样取样量(mL); V_2 为试样定容量(mL)。

2.4 不确定度来源分析

测量不确定度由若干分量组成,其中根据一系列测量值的统计分布的按不确定度A类进行评定,另一些基于经验或其他概率函数按不确定度B类进行评定。其中,A类不确定度来源于样品重复测量,B类不确定度来源于两方面:1)样品制备过程引入的不确定度,包括样品取样和样品消解后定容量引入的不确定度;2)标准物质引入的不确定度包括贮备标准溶液定值、工作标准溶液稀释及标准曲线拟合过程引入的不确定度。各不确定度的因果关系见图1。

2.5 标准不确定分量评定

2.5.1 样品前处理过程引入的不确定度 [$u_{\text{rel}}(A)$]

取样:精密移取供试品溶液2 mL,由表1可知,移

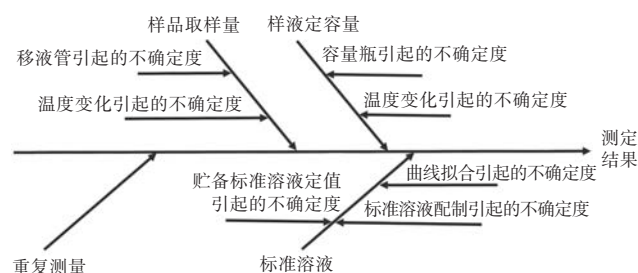


图1 各不确定度分量的因果关系

Fig. 1 Causality of each uncertainty component

液管允差误差为 ± 0.010 mL,按三角分布处理, k 取 $\sqrt{6}$ ^[12-13],由移液管允差引入的不确定度为 $u(V_{2\text{ mL}}) = 0.010 / \sqrt{6} = 0.0041$ mL。本研究中实验温度控制在 $(20 \pm 5)^{\circ}\text{C}$,定容溶液中主要为水,20 $^{\circ}\text{C}$ 时水的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4}/^{\circ}\text{C}$,按均匀分布 $k = \sqrt{3}$ ^[14],2 mL移液管因温度变化带来的体积变化引起的不确定度为 $u(T_{2\text{ mL}}) = (t \times r \times V) / \sqrt{3} = (5 \times 2.1 \times 10^{-4} \times 2.0) / \sqrt{3} = 0.0012$ mL。由样品取样引入的标准不确定度为 $u(V_1) = \sqrt{u(V_{2\text{ mL}})^2 + u(T_{2\text{ mL}})^2} = 0.0043$ mL;其相对标准不确定度为 $u_{\text{rel}}(V_1) = 0.0043 / 2.0 = 0.22\%$ 。

样品消解定容:本研究中定容使用的是A级的25 mL容量瓶,假定为三角分布处理, k 取 $\sqrt{6}$ ^[12-13],由容量瓶允差引入的不确定度为 $u(V_{25\text{ mL}}) = 0.03 / \sqrt{6} = 0.0122$ mL。实验室的温度在 $\pm 5^{\circ}\text{C}$ 之间变化,25 mL容量瓶因温度变化带来的体积变化引起的不确定度假定为均匀分布, k 取 $\sqrt{3}$ ^[14],其引起的不确定度为 $u(T_{25\text{ mL}}) = (\Delta t \times r \times V) / \sqrt{3} = (5 \times 2.1 \times 10^{-4} \times 25) / \sqrt{3} = 0.0152$ mL;标准不确定度为 $u(V_2) = \sqrt{u(V_{25\text{ mL}})^2 + u(T_{25\text{ mL}})^2} = 0.0195$ mL;其相对标准不确定度为 $u_{\text{rel}}(V_2) = 0.0195 / 25 = 0.08\%$ 。

样品前处理过程:引入的不确定度为 $u_{\text{rel}}(A) = \sqrt{u_{\text{rel}}(V_1)^2 + u_{\text{rel}}(V_2)^2} = 0.23\%$ 。

2.5.2 标准溶液引入的不确定度

贮备标准溶液定值:铅标准溶液质量浓度为 $(1\,000 \pm 2)\mu\text{g/mL}$, $k = 2$,则铅标准溶液引入的不确定度为 $u_{\text{rel}}(\text{标}) = 2 / (2 \times 1\,000) = 0.10\%$ 。

工作标准溶液配制:铅工作标准溶液的配制程序见表3,移液管和容量瓶的允差误差见表1。容量瓶的允差误差引入的不确定度假定为三角分布处理, k 取 $\sqrt{6}$ ^[12-13];本实验温度控制在 $(20 \pm 5)^{\circ}\text{C}$,20 $^{\circ}\text{C}$ 时水的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4}/^{\circ}\text{C}$,按均匀分布 $k = \sqrt{3}$ ^[14],则1 mL移液管的合成相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(V_{\text{移}1\text{ mL}}) = \sqrt{\left(\frac{0.007}{1.0 \times \sqrt{6}}\right)^2 + \left(\frac{5 \times 2.1 \times 10^{-4} \times 1.0}{1.0 \times \sqrt{3}}\right)^2} = 0.29\%$$

同理,5 mL 移液管、50 mL 容量瓶、100 mL 容量瓶的合成相对标准不确定度分别为 0.14%,0.07%,0.07%。标准溶液配制引入的不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(B_{\text{标}}) = \sqrt{u_{\text{rel}}(V_{\text{移}1\text{ mL}})^2 + 2u_{\text{rel}}(V_{\text{移}5\text{ mL}})^2 + u_{\text{rel}}(V_{\text{容}50\text{ mL}})^2 + 2u_{\text{rel}}(V_{\text{容}100\text{ mL}})^2} = 0.37\%$$

标准曲线拟合:本研究中所用铅标准溶液质量浓度分别为 5,10,15,25 $\mu\text{g/L}$,分别测定 2 次,得相应吸光度(A),结果见表 4。用最小二乘法拟合得到线性回归方程 $A=0.01016C+0.0060$ ($r=0.9998$)。

表 4 系列标准溶液吸光度测定值

Tab. 4 Absorbance values of standard solution

质量浓度($\mu\text{g/L}$)	1	2	$\bar{X}$
5	0.057 8	0.058 5	0.058 2
10	0.107 5	0.108 2	0.107 9
15	0.160 2	0.156 1	0.158 2
20	0.207 6	0.214 2	0.210 9
25	0.247 6	0.268 9	0.258 2

本研究中共测量 2 次样品,求得平均质量浓度为 $\bar{C}=10.608 \mu\text{g/L}$ 。故由校准曲线拟合带来的标准不确定度为:

$$u(\text{曲线}) = \frac{S_y}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{C}_0 - \bar{C})^2}{\sum_{i=1}^n (C_{0i} - \bar{C}_0)^2}}$$

式中, S_y 为回归方程的剩余标准差; b 为回归方程的斜率; p 为待测样品的重复测定次数($p=2$); n 为标准溶液的测定总次数, $n=10$ (每个标准溶液质量浓度测量 2 次,共 10 次); $\bar{C}$ 为待测样品质量浓度的平均值; $\bar{C}_0$ 为回归方程各点浓度的平均值; C_{0i} 为各标准液质量浓度。

$$\bar{C}_0 = \frac{\sum_{i=1}^n C_{0i}}{n} = \frac{(5+10+15+20+25) \times 2}{10} = 15 \mu\text{g/L}$$

$$S_y = \frac{\sum_{i=1}^n [A_{0i} - (a + bC_{0i})]^2}{n-2} = 0.000001 \mu\text{g/L}$$

式中, A_{0i} 为各标准液的实际响应值; $a+bC_{0i}$ 为根据回归方程算出来的理论值。

$u(\text{回归方程}) =$

$$\frac{0.000001}{0.01016} \sqrt{\frac{1}{2} + \frac{1}{10} + \frac{(15-10.608)^2}{250}} = 0.0001 \mu\text{g/L}$$

$$u_{\text{rel}}(\text{回归方程}) = 0.0001 \div 10.608 = 0.0001\%$$

标准溶液引入的不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(B) = \sqrt{u_{\text{rel}}(\text{标})^2 + u_{\text{rel}}(B_{\text{铅}})^2 + u_{\text{rel}}(\text{曲线})^2} = 0.38\%$$

2.5.3 重复测量引入的不确定度 [$u_{\text{rel}}(C)$]

对样品进行 2 次重复测量,结果分别为 10.168,

11.049 $\mu\text{g/L}$ 。

重复测量结果的算术平均值为:

$$\bar{C} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n C_i = 10.608 \mu\text{g/L}$$

单次测定结果的实验标准差为:

$$S(C) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}{n-1}} = 0.6230 \mu\text{g/L}$$

重复测量结果的标准不确定度为:

$$u(C) = \frac{S(C)}{\sqrt{n}} = \frac{0.6230}{\sqrt{2}} = 0.4405 \mu\text{g/L}$$

相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(C) = \frac{u(C)}{\bar{C}} = \frac{0.4405}{10.608} = 4.15\%$$

2.6 合成标准不确定度及扩展不确定度

2.6.1 各不确定度分量的合成

采用原子吸收分光光度法测定考核盲样中铅的不确定度,由样品前处理过程引入的不确定度、标准溶液引入的不确定度和重复测量引入的不确定度合成。

合成相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(X) = \sqrt{u_{\text{rel}}(A)^2 + u_{\text{rel}}(B)^2 + u_{\text{rel}}(C)^2} = \sqrt{0.23\%^2 + 0.38\%^2 + 4.15\%^2} = 4.17\%$$

样品中铅含量为 $X=132.61 \mu\text{g/L}$,合成标准不确定度为 $u(X)=132.61 \mu\text{g/L} \times 4.17\% = 5.53 \mu\text{g/L}$ 。

2.6.2 扩展不确定度的评定

当包含因子 $k=2$ 时,则扩展不确定度为 $U(X)=2u(X)=11.06 \mu\text{g/L}$ 。

2.6.3 报告结果

铅含量的结果为 $X=(132.61 \pm 11.06) \mu\text{g/L}$, $k=2$ 。

3 讨论

本研究中对石墨炉原子吸收法测定铅含量的测量不确定度进行分析与评定发现,铅元素的相对标准不确定度在 0.23%~4.15% 之间,可满足实验室日常检测的正常需求。比较各分量大小,可以看出检测结果不确定度主要来自测量重复性。因此,可通过提高仪器的稳定性,增加样品的重复测量次数,以减小由此引入的不确定度。

在日常样品检测中,每个步骤都可能存在误差,各种误差的累积最终会造成测量结果的不确定性。因此,有必要分析测量不确定度的来源,确定影响测定结果的主要因素,优化实验方案,确保测量结果的可靠性与准确性,为实验室质量控制提供科学依据和参考。

参考文献

[1] 林林. 石墨炉原子吸收分光光度法检测双黄连注射液