

微波消解 - 火焰原子吸收法测定鲜果中钙含量的不确定度评定

毋永龙, 聂继云*, 李 静, 李海飞, 徐国锋, 覃 兴, 李志霞

(中国农业科学院果树研究所, 农业部果品及苗木质量监督检验测试中心(兴城), 辽宁 兴城 125100)

摘 要: 分析微波消解 - 火焰原子吸收法测定鲜果中钙含量的过程, 建立相应数学模型。对数学模型中各个参数进行不确定度来源分析, 分别对 A 类不确定度(用对观测列进行统计分析的方法来评定的不确定度)或 B 类不确定度(用不同于对观测列进行统计分析的方法来评定的不确定度)进行评定。按照 JJF 1059 — 1999《测量不确定度评定与表示》对各不确定度分量合成和扩展, 当取置信概率为 95%, 包含因子 $k = 2$, 则其扩展不确定度为 1.18mg/kg。通过对不确定度的分析, 指出标准溶液配制和标准曲线拟合是不确定度的主要来源, 而称量和消解液的定容过程对最终不确定度结果影响不大, 并提出了质量控制改进方法。

关键词: 微波消解 - 原子吸收法; 鲜果; 钙; 不确定度

Uncertainty Evaluation of Calcium Determination in Fruits by Microwave Digestion-Flame Atomic Absorption Spectrometry

WU Yong-long, NIE Ji-yun*, LI Jing, LI Hai-fei, XU Guo-feng, QIN Xing, LI Zhi-xia

(China Supervision and Testing Center of Fruits and Nursery Stocks Quality (Xingcheng), Ministry of Agriculture, Institute of Pomology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xingcheng 125100, China)

Abstract: A mathematic model for evaluating the uncertainty in the determination procedure for calcium content in fruits by microwave digestion-flame atomic absorption spectrometry (FAAS) was established. The uncertainty sources for each parameter in the model were analyzed. The uncertainties of type A (based on the calculation of the statistical distribution of the determination results) type B (based on the estimation by experience and the probability distribution of other information) were evaluated. According to JJF 1059-1999, the component uncertainties were synthesized and extended. An expanded uncertainty of 1.18 mg/kg was obtained at the confidence probability of 95% and coverage factor of $k=2$. Based on the analysis of uncertainty, the preparation of standard solutions and the fitting of standard curves were the major sources of uncertainty, while sample weighing and the preparation of digestion solution revealed little effect on the final uncertainty. Meanwhile, some strategies for improving quality control were proposed.

Key words: microwave digestion-flame atomic absorption spectrometry; fruits; calcium; uncertainty

中图分类号: O657.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)04-0182-04

一切测量结果都不可避免地具有不确定度^[1]。测量不确定度是测量系统最基本也是最重要的特性指标, 是测量质量的重要标志^[2]。测量结果与参考值比较或测量结果之间比较时, 其差异只有用不确定度才能说明。JJF1059 — 1999《测量不确定度评定与表示》标准颁发已有多, 但国内对测量不确定度的评定, 仍只存在于校准实验室, 几乎所有检测实验室在提供测量结果

时, 仍没有给出测量不确定度, 同时, 大多数技术人员对测量不确定度也缺乏了解。对测量结果进行不确定度的评定不仅是不同学科之间交往的需要, 也是全球市场经济发展的需要, 使涉及测量的技术领域和部门, 可以用统一的准则对测量结果及质量进行评定、表示和比较^[3]。钙对果实生长发育和品质形成具有重要作用^[4-5], 是新鲜水果的重要营养成分。微波消解可以避免常规消

收稿日期: 2011-03-17

作者简介: 毋永龙(1978 —), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为果品质量安全及其检测技术。E-mail: wuyulong1227@sina.com

* 通信作者: 聂继云(1970 —), 男, 研究员, 博士, 研究方向为果品质量安全及其标准。E-mail: jiyunnie@163.com

解样品易损失、易污染、耗时等缺点^[6], 火焰原子吸收法测定水果中钙含量, 灵敏度高、快速高效, 是目前测定水果中钙含量最普遍的一种方法^[6-7]。本实验采用微波消解技术, 以新鲜水果为试材, 火焰原子吸收法测定其钙含量, 并对其测定过程的不确定度进行评定和分析, 以期建立火焰原子吸收法测定鲜果中钙含量不确定度评定的通用模型, 为鲜果测定方法不确定度的评定提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 材料、试剂与仪器

依据 GB/T 8855—2008《新鲜水果和蔬菜: 取样方法》, 选取新鲜苹果 3 kg, 用纯净水洗净、晾干, 果实十字切开, 去掉果核, 取对角部分果实切碎混匀, 放入高速组织捣碎机, 捣碎 2 min, 装入塑料瓶中备用。

硝酸(优级纯)、钙标准溶液 国家标准物质研究中心; 过氧化氢(优级纯)、氧化镧溶液(20 g/L)。

AAS-6300 原子吸收分光光度计 日本岛津公司; MARS-5 微波消解仪 美国 CEM 公司。

1.2 方法

参照 GB/T 5009.92—2003《食品中钙的测定》, 原子吸收分光光度法进行测定。测定空白溶液及系列标准物质, 根据测得的吸光度, 仪器自动建立线性方程, 仪器对样品溶液进行测定, 并利用该线性方程读出浓度值^[8-10], 计算其结果。

表 1 微波消化条件

Table 1 Microwave digestion conditions

步骤	功率	程序升温时间/min	温度/℃	保持时间/min
1	1200W(100%)	10	140	5
2	1200W(100%)	6	200	10

2 结果与分析

2.1 数学模型

根据实验原理, 分析原子吸收法测定鲜果中钙含量的过程, 当测定结果以 mg/kg 表示时, 对测定结果和有关的参数建立如下函数关系:

$$X = \frac{(C_1 - C_0) \times V \times 1000}{m \times 1000} \quad (1)$$

式中: X 为试样中钙的含量/(mg/kg); C_1 为样品溶液中钙的质量浓度/($\mu\text{g/mL}$); C_0 为试剂空白溶液中钙的质量浓度/($\mu\text{g/mL}$); V 为样品定容体积/mL; m 为样品质量/g。

2.2 测量不确定度来源分析

依据测定过程, 对可能产生的各种不确定度分量进行分类。从以上数学模型可以看出, 影响鲜果中钙含量测定的不确定度分量包括测量用样品溶液中钙含量的不确定度、试剂空白溶液中钙含量的不确定度、样品定容体积的不确定度、样品称量的不确定度。

测量用样品溶液钙含量的不确定度与钙标准溶液的质量浓度、吸光度拟合直线方程求钙含量的不确定度、钙标准溶液和配制标准工作溶液时的不确定度等有关。试剂空白溶液中钙含量的不确定度来源与测量用样品溶液中钙含量的不确定度等有关。样品定容体积的不确定度与定容用容量瓶体积的不确定度、定容变动性的不确定度、定容温度与校正温度不同引起体积变动的不确定度等有关。样品称量质量的不确定度与样品称量的最大允许差和重复性误差有关。

2.3 不确定度分量的评定

2.3.1 测量用样品溶液质量中钙含量的不确定度评定 $u(C_i)$

2.3.1.1 钙标准溶液浓度与吸光度拟合直线方程求样品中钙含量的不确定度评定 $u(C_{1.1})$

钙标准溶液(1000 $\mu\text{g/mL}$), 配制成相应的标准系列溶液, 对该系列标准溶液进行 3 次重复测定, 测定结果见表 2。

表 2 标准系列溶液测定结果

Table 2 Determination results of standard solutions

标准溶液质量浓度/($\mu\text{g/mL}$)	吸光度			平均值
0.000	0.0004	0.0011	0.0014	0.0010
1.000	0.0711	0.0709	0.0709	0.0710
2.000	0.1427	0.1444	0.1437	0.1436
3.000	0.2097	0.2079	0.2076	0.2084
4.000	0.2745	0.2743	0.2726	0.2738
5.000	0.3392	0.3406	0.3389	0.3396

仪器根据 3 次测定的平均吸光度自动拟合直线方程为 $y = 0.0676x + 0.0039$, 回归系数 $r = 0.9995$ 。

对样品溶液中钙含量进行 10 次测定, 测定结果分别为 2.117、2.127、2.133、2.115、2.133、2.124、2.120、2.135、2.124、2.154 $\mu\text{g/mL}$, 均值 2.128 $\mu\text{g/mL}$ 。

$u(C_{1.1})$ 的标准不确定度由下式求得^[11]:

$$u(C_{1.1}) = (s/a) [1/N + 1/n + (\bar{\rho}_1 - \bar{x})^2 / \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2]^{1/2}$$

式中: $s = \{[1/(n-2)] \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2\}^{1/2} = 0.0087$, 其中 $N = 10$, $a = 0.0676$, $\bar{x} = 2.5 \mu\text{g/mL}$ (标准系列溶液的平均质量浓度), $\bar{\rho}_1 = 2.128 \mu\text{g/mL}$, $n = 18$ (标准系列每个质量浓度进行 3 次测量, 共 $3 \times 6 = 18$)。

即 $u(C_{1.1}) = (0.0087/0.0676) [1/10 + 1/18 + (2.128 - 2.5)^2/52.5]^{1/2} = 0.052 \mu\text{g/mL}$

2.3.1.2 钙标准溶液以及配制钙标准系列溶液所带来的不确定度评定 $u(C_{1.2})$

钙国家标准溶液 1000 $\mu\text{g/mL}$ (GSB G 62012—90) 样品证书上注明其不确定度为 4 $\mu\text{g/mL}$, 未说明其置信区间, 假设其置信水平为 95%, $k=2$, 按其正态分布有 $u(C_{1.2})=0.4\%/2=0.002 \mu\text{g/mL}$ 。

由 1000 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液配制成标准系列步骤如表 3 所示。

表 3 标准系列溶液配制
Table 3 Preparation of standard solutions

标准溶液质量浓度/ $(\mu\text{g/mL})$	吸取体积/mL	定容体积/mL	溶液质量浓度/ $(\mu\text{g/mL})$
1000	10.00	100	100.00
100	0.50	50	1.00
100	1.00	50	2.00
100	1.50	50	3.00
100	2.00	50	4.00
100	2.50	50	5.00

由 100 $\mu\text{g/mL}$ 标准储备液配制成 1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 $\mu\text{g/mL}$ 标准系列溶液带来的不确定度可以忽略不计^[10], 由表 2 可知, 从 1000 $\mu\text{g/mL}$ 钙标准溶液配制成 100 $\mu\text{g/mL}$ 标准储备液过程中, 需要 1 只 100mL 容量瓶(A 级, $(100 \pm 0.10)\text{mL}$), 1 支 10.00mL 的移液管(A 级, $(10 \pm 0.02)\text{mL}$)。10mL 移液管和 100mL 容量瓶其不确定度按均匀分布换算成标准偏差分别为: $0.02/\sqrt{3}=0.012\text{mL}$, $0.1/\sqrt{3}=0.058\text{mL}$ 。因此:

$$u(C_{1.2})=[(0.012/10)^2+(0.002/1000)^2+(0.058/100)^2]^{1/2}=0.0013 \mu\text{g/mL}$$

由于 $u(C_{1.1})$ 、 $u(C_{1.2})$ 相互独立, 所以 $u(C_1)=[(0.05)^2+(0.13)^2]^{1/2}=0.05 \mu\text{g/mL}$ 。

2.3.2 试剂空白溶液中钙含量的不确定度评定 $u(C_0)$

2.3.2.1 钙标准溶液浓度与吸光度拟合直线方程求试剂空白含量的不确定度评定 $u(C_{0.1})$

$u(C_{0.1})$ 的计算方法同 $u(C_{1.1})$, 但需要将 C_1 换成 C_0 , 所以:

$$u(C_{0.1})=(0.0087/0.0676)[1/10+1/18+(0.061-2.5)^2/52.5]^{1/2}=0.067 \mu\text{g/mL}$$

2.3.2.2 钙标准溶液以及配制钙标准系列溶液所带来的不确定度评定 $u(C_{0.2})$

$$u(C_{0.2})=u(C_{1.2})=0.0013 \mu\text{g/mL}$$

由于 $u(C_{0.1})$ 、 $u(C_{0.2})$ 相互独立, 所以 $u(C_0)=[(0.067)^2+(0.0013)^2]^{1/2}=0.067 \mu\text{g/mL}$ 。

2.3.3 样品定容体积的不确定度 $u(V)$

2.3.3.1 容量瓶体积校正的不确定度

样品消化液和空白消化液定容用 50.00mL 容量瓶 2 个(A 级, $(50.00 \pm 0.05)\text{mL}$), 属均匀分布, 该过程带来的不确定度为 $(0.05 \times 2)/\sqrt{3}=0.058\text{mL}$ 。

2.3.3.2 定容重复性的不确定度

由于定容的变化引起的不确定度可通过该容量瓶的典型样品的重复性实验来评估。连续向 50mL 容量瓶充满纯水 10 次并定容, 用天平称量每次定容后的纯水质量, 可计算出 10 次结果的标准偏差为 0.062mL。这可直接用作标准不确定度。

2.3.3.3 容量瓶和溶液温度与容量瓶体积校准时温度不同引起体积变动的不确定度

根据制造商提供的信息, 该容量瓶已在 25 $^{\circ}\text{C}$ 校准, 而实验室的温度在 $\pm 4^{\circ}\text{C}$ 之间变动。该影响引起的不确定度可通过估算该温度范围和体积膨胀系数来进行计算。液体的体积膨胀明显大于容量瓶的体积膨胀, 因此只需考虑前者即可。水的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4}\text{C}^{-1}$, 因此产生的体积变化为 $(\pm 50 \times 4 \times 2.1 \times 10^{-4})=\pm 0.042\text{mL}$, 转换成标准偏差为 $0.021/\sqrt{3}=0.024\text{mL}$ 。

因此: $u(V)=(0.058^2+2 \times 0.062^2+2 \times 0.024^2)^{1/2}=0.088\text{mL}$ 。

2.3.4 样品称量质量的不确定度 $u(m)$

天平的最大允许误差和重复性误差分别为 0.7mg 和 0.2mg (天平检定证书提供), 前者属于均匀分布, 标准偏差为 $0.7 \times 10^{-3}/\sqrt{3}=0.40\text{mg}$; 后者由于在实际工作中只称量一次, 其标准偏差为 $0.2 \times 10^{-3}=0.20\text{mg}$ 。所以 $u(m)=(0.40^2+0.20^2)^{1/2}=0.45\text{mg}$ 。

2.4 合成不确定度分量的评定

根据式(1)的数学模型计算各传播系数如下:

$$C(C_1)=\partial X/\partial C_1=V/m=50/5=10\text{mL/g}$$

$$C(C_0)=\partial X/\partial C_0=-V/m=-50/5=-10\text{mL/g}$$

$$C(V)=\partial X/\partial V=(c_1-c_0)/m=(2.128-0.061)/5=0.4134\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{mL})$$

$$C(m)=\partial X/\partial m=-(c_1-c_0)V/m^2=-(2.128-0.061) \times 50/5^2=-4.134\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{g})$$

因此:

$$U(X_1)=|C(C_1)| \times u(C_1)=10 \times 0.05=0.5\text{mg/kg}$$

$$U(X_2)=|C(C_0)| \times u(C_0)=10 \times 0.067=0.67\text{mg/kg}$$

$$U(X_3)=|C(V)| \times u(V)=0.4134 \times 0.088=0.036\text{mg/kg}$$

$$U(X_4)=|C(m)| \times u(m)=4.134 \times 0.00045=0.002\text{mg/kg}$$

合成不确定度:

$$U(X)=[U(X_1)^2+U(X_2)^2+U(X_3)^2+U(X_4)^2]^{1/2}=0.84\text{mg/kg}$$

表4 测量不确定度汇总

Table 4 Summary of uncertainties for calcium determination

符号	来源	种类	不确定度
$u(C_i)$	钙标准溶液的浓度与吸光度	A	0.052
	拟合直线方程求钙含量的不确定度		
	钙标准溶液的不确定度	B	0.002
$u(C_0)$	配制标准工作溶液时的不确定度	B	0.0013
	钙标准溶液的浓度与吸光度拟合直线方程求试剂空白钙含量的不确定度	A	0.067
$u(V)$	容量瓶体积校正不确定度	B	0.058
	体积定容的重复性误差	A	0.062
	温度误差	B	0.088
$u(m)$	天平不确定度	B	0.0002
	称量的重复性误差	A	0.0004

2.5 扩展不确定度分量的给出

检测实验室在日常检测过程中,一般要求每个样品做两次平行测定,所以 $U(X) = U(\bar{x}) = 0.84/\sqrt{2} = 0.59\text{mg/kg}$,取置信水平为 95%,包含因子 $k = 2$,所以扩展不确定度为 $0.59 \times 2 = 1.18\text{mg/kg}$ 。

2.6 结果表示

$X = (2.128 - 0.061) \times 50/5 = 20.67\text{mg/kg}$,结果表示为: $(20.67 \pm 1.18)\text{mg/kg}$ 。

3 讨论

在 ISO/IEC17025《校准和检测实验室能力的通用要求》中,指明实验室的每个证书或报告,必须包含有关校准或测试结果不确定度评定的说明。本实验以新鲜苹果为试材原子吸收法测定其钙的含量,对测定结果的不确定度进行探讨。从结果可以看出:依据 GB/T 5009.92—2003 的方法测定鲜果中的钙含量,测定结果的不确定度就可以按上述方法得到。该不确定度评定所用方法同样适用于以线性回归标准曲线法获得测定结果不确定度的评估。

分析测量不确定度的来源一般应从人员、环境、方法、试剂、设备、被测量、取样方法、样本离散性 8 个方面考虑不确定度来源^[12-15]。在同一方法,同样环境条件下,不确定度的主要来源就是分析测试的过程。其他来源的不确定度因在实验中加以控制而忽略,

如实验人员操作过程、测试设备、试剂、取样方法及样品均匀性等。从不确定度的整个评定过程中可以看出,影响最终不确定度结果的主要是标准溶液的配制和标准曲线校准过程,而称重和消解液的定容过程对最终不确定度结果影响不大。所以,要控制好原子吸收法测定水果中总钙含量的质量,就必须严格的控制好标准溶液的配制和标准曲线校准过程,减少由于曲线拟合带来的不确定度,并对样品进行多次的平行测定等。因此应加强对实验仪器的保养,保持稳定的状态;尽量选择不确定度分量小的标准物质,加强实验过程的控制以及加强基本操作、标准操作训练,以减少人为因素对标准溶液的配制和标准曲线校准过程的影响。

参考文献:

- [1] JJF 1059—1999 中华人民共和国国家计量技术规范[S].
- [2] 古成昕. 不确定度的分析与计算[J]. 计量与测试技术, 2008, 35(1): 15-16.
- [3] 李宣, 慕俊泽, 张斌, 等. 塑料中镉的测定不确定度评定[J]. 分析实验室, 2007, 26(2): 71-75.
- [4] 刘剑锋, 程云清, 彭抒昂. 梨果肉与种子中钙与内源激素含量变化关系研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(2): 269-272.
- [5] 袁庆华. 苹果生长期中钙元素含量的测定[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(30): 13110-13111.
- [6] 杨风华. 微波消解-AAS 法测定食品中铅、镉、铁、锰、铜和锌及其不确定度评估[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(7): 1440-1443.
- [7] 李茵萍, 关明, 杜为军, 等. 微波消解-火焰原子吸收法测定新疆野蔷薇果中金属元素[J]. 食品科学, 2010, 31(8): 143-145.
- [8] 王斗文, 牛兴荣, 张明霞, 等. 分析测试实验室内部质量控制中移动极差合并统计监控技术下的不确定度动态测量评估[J]. 分析测试学报, 2004, 23(5): 32-37.
- [9] 张朝燕. 测量不确定度评定及其数学模型的建立[J]. 长春师范学院学报, 2003, 22(2): 7-8.
- [10] 杨锚, 刘肃, 钱永忠, 等. ICP-AES 法测定蔬菜、水果中锌含量的不确定度评定[J]. 分析测试学报, 2006, 25(4): 104-107.
- [11] 中国实验室国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2002.
- [12] 姜诚, 张平. 用原子荧光法测定银耳中汞的不确定度[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 493-496.
- [13] 陈祥, 张晓艳. 原子吸收法测定土壤中铜和锌的不确定度评定[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(14): 5964-5965.
- [14] 姜连阁, 刘永成, 白政忠. HPLC法含量测定不确定度分析及实例[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(11): 1803-1805.
- [15] 陆美斌, 王步军. 分光光度法测定食品中二氧化钛的不确定度评定[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 206-209.