

液相色谱-原子荧光光谱法测定三七花中亚砷酸根和砷酸根含量的不确定度评价

李承蹊, 段志敏, 徐丹先*

(云南省疾病预防控制中心, 昆明 650022)

摘要: **目的** 评定液相色谱-原子荧光光谱法(high performance liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry, HPLC-AFS)测定三七花中亚砷酸根和砷酸根含量(以 As 计)的不确定度。**方法** 根据 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》对各不确定度进行分析、确认及计算,合成扩展不确定度。**结果** 三七花中亚砷酸根的平均值为 0.1314 mg/kg, 相对标准偏差为 1.23%, 扩展不确定度为 0.0097 mg/kg, 砷酸根的平均值为 0.1467 mg/kg, 相对标准偏差为 3.02%, 扩展不确定度为 0.0144 mg/kg。**结论** 在测定三七花中亚砷酸根和砷酸根含量过程中, 不确定度主要来源于标准曲线测定及拟合过程。

关键词: 三七花; 液相色谱-原子荧光光谱法; 亚砷酸根; 砷酸根; 不确定度

Evaluation of uncertainty of arsenite and arsenate content in the flower of *Panax notoginseng* by high performance liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry

LI Cheng-Xi, DUAN Zhi-Min, XU Dan-Xian*

(Yunnan Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty in determination of arsenite and arsenate (As) content in the flower of *Panax notoginseng* by high performance liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry (HPLC-AFS). **Methods** According to JJF 1059.1-2012 *Evaluation and expression of uncertainty in measurement*, the measurement uncertainty was analyzed, determined and evaluated, the combined expanded uncertainty was calculated. **Results** The average content of arsenite was 0.1314 mg/kg, the relative standard deviation was 1.23% and the extended uncertainty was 0.0097 mg/kg. The average content of arsenate was 0.1467 mg/kg, the relative standard deviation was 3.02% and the extended uncertainty was 0.0144 mg/kg. **Conclusion** In the process of the determination of arsenite and arsenate content in the flower of *Panax notoginseng*, the uncertainty are mainly derived from the determination and fitting of the standard curve.

KEY WORDS: flower of *Panax notoginseng*; high performance liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry; arsenite; arsenate; uncertainty

*通讯作者: 徐丹先, 副主任技师, 主要研究方向为理化检验。E-mail: 284598664@qq.com

*Corresponding author: XU Dan-Xian, Associate Chief Technician, Yunnan Center for Disease Control and Prevention, No.158, Dongsu Street, Kunming 650022, China. E-mail: 284598664@qq.com

1 引言

砷在食品中以许多形态存在, 不同的食品中砷的形态不尽相同, 主要包括亚砷酸根 AsO_3^{3-} 、砷酸根 AsO_4^{3-} 、一甲基砷[monomethylated arsenic, MMA(V)]、二甲基砷[dimethylated arsenic, DMA(V)]、三甲基砷酸{trimethylarsinic acid, TMAO[As(V)]}、砷甜菜碱{arsenobetaine, AsB[As(V)]}、砷胆碱{arsenocholine, AsC[As(V)]}、三甲基砷{trimethylarsine, TMA[As(V)]}等^[1], 不同的砷形态化合物之间毒性差异较大, 其毒性大小: 亚砷酸根 $\text{As(III)} > \text{砷酸根 As(V)} > \text{MMA [As(V)]} > \text{DMA [As(V)]} > \text{AsC} > \text{AsB}^{[2,3]}$ 。我国在 GB 2762-2017《食品安全国家标准 食品中污染物限量标准》中对不同食品中总砷及无机砷的限量值有不同的规定^[4], 限量值范围在 0.1~0.5 mg/kg, 此标准并没有规定三七花这类具有地方特色的药食同源物质中的无机砷限值。因此, 了解其测量不确定度的来源和贡献, 在检验方法优化以及地方标准制修订等方面都具有极其重要的意义。并且目前关于液相色谱-原子荧光光谱法测定三七花中亚砷酸根和砷酸根含量的不确定度评价研究相对较少。

本研究按照 ISO/IEC 17025《测试和校准实验室能力的通用要求》要求^[5], 检测实验室要建立相关检测工作的测量不确定度评估程序。依照 GB 5009.11-2014《食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定》中液相色谱-原子荧光光谱法^[6]对云南省市售三七花中的亚砷酸根和砷酸根进行检测, 根据 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》^[7]对检测结果进行不确定度分析, 确认各项不确定度及其来源。通过计算各项不确定度分量, 明确其贡献程度, 从而合成扩展不确定度, 为相关检测单位使用液相色谱-原子荧光光谱法准确测定三七花中亚砷酸根和砷酸根含量提供参考。

2 材料与方法

2.1 试剂与仪器

亚砷酸根溶液标准物质(以 As 计 $75.7 \pm 1.2 \mu\text{g/g}$, GBW 08666)、砷酸根溶液标准物质(以 As 计 $17.5 \pm 0.4 \mu\text{g/g}$, GBW 08667)、一甲基砷溶液标准物质(以 As 计 $25.1 \pm 0.8 \mu\text{g/g}$, GBW08668)、二甲基砷溶液标准物质(以 As 计 $52.9 \pm 1.8 \mu\text{g/g}$, GBW08669)(中国计量科学研究院); 硝酸(痕量金属级, 美国 Fisher Chemical 公司); 盐酸(Optima 级, 美国 Fisher Chemical 公司); 氢氧化钾(优级纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司); 硼氢化钾(优级纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 磷酸氢二铵(优级纯, 天津市轩昂科工贸有限公司); 甲酸(超纯级, 韩国 DUKSAN 公司); 实验室用水电阻率为 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 。

SAP-20 形态分析预处理装置(北京吉天仪器有限公司); AFS-8230 原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司); DHG-9070 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司); SIGMA 3-18K 高速冷冻离心机(德国 SIGMA 公司); SI-234 电子天平(美国 DENVER 公司); Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准曲线配制

按照 GB 5009.11-2014《食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定》^[8]配制各标准物质的标准使用溶液、混合标准使用溶液及标准曲线。

亚砷酸根标准使用溶液: 称取亚砷酸根溶液标准物质 0.3307 g 于 25 mL 容量瓶中, 用纯水定容至刻度($1.0 \mu\text{g/mL}$, 以 As 计); 砷酸根标准使用溶液: 称取砷酸根溶液标准物质 1.4289 g 于 25 mL 容量瓶中, 用纯水定容至刻度($1.0 \mu\text{g/mL}$, 以 As 计); 一甲基砷标准使用溶液: 称取一甲基砷溶液标准物质 0.9960 g 于 25 mL 容量瓶中, 用纯水定容至刻度($1.0 \mu\text{g/mL}$, 以 As 计); 二甲基砷标准使用溶液: 称取二甲基砷溶液标准物质 0.4731 g 于 25 mL 容量瓶中, 用纯水定容至刻度($1.0 \mu\text{g/mL}$, 以 As 计)。

混合标准使用溶液: 准确吸取一甲基砷标准使用溶液 2.50 mL 、二甲基砷标准使用溶液 2.50 mL 、亚砷酸根标准使用溶液 2.50 mL 和砷酸根标准使用溶液 5.00 mL 于 25 mL 容量瓶, 用纯水定容至刻度(其中, 亚砷酸根 $0.10 \mu\text{g/mL}$, 砷酸根 $0.20 \mu\text{g/mL}$, 均以 As 计)。

取混合标准使用溶液 0.0 、 0.5 、 1.0 、 2.0 、 3.0 、 5.0 、 10.0 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用纯水定容至刻度后测定标准曲线。

2.2.2 仪器条件

色谱条件: HAMILTON 79433 PRP-X100 柱($250 \text{ mm} \times 4.1 \text{ mm}$, $10 \mu\text{m}$); 保护柱: HAMILTON 79446 PRP-X100 保护柱; 流动相: 15 mmol/L 磷酸氢二铵溶液(用 10% 甲酸溶液调节 pH 至 6.0); 进样量: $100 \mu\text{L}$; 洗脱模式: 等度洗脱; 流速: 1 mL/min ; 柱温: 室温。

原子荧光检测器条件: 负高压: 270 V ; 总电流: 70 mA ; 辅电流: 30 mA ; 原子化器温度: 室温; 载气流量: 400 mL/min ; 屏蔽气流量: 600 mL/min ; 测量方法: 标准曲线法。外标峰面积法定量。

载液浓度: $7\%(V/V)$ 盐酸溶液; 还原剂浓度: 40 g/L 硼氢化钾溶液(3.5% 氢氧化钾溶液作溶剂)。

2.2.3 样品前处理

样品经干燥、匀质、过筛后, 样品粒度达 55 目以上, 装入洁净聚丙烯离心管中, 密封备用。

取出匀质好的样品, 称取约 1.0 g (精确至 0.001 g) 样品于 50 mL 塑料离心管中, 加入 20 mL 0.15 mol/L 硝酸溶液, 混匀后放置过夜。于 90°C 恒温箱中热浸提 2.5 h , 每 0.5 h

振摇 1 次。提取完毕后,取出冷却至室温,10000 r/min 离心 10 min。取上层清液,经 0.22 μm 尼龙滤膜过滤后进行测定。按同一操作方法,在不加入样品的条件下做空白试验。

2.2.4 检测方法

使用 GB 5009.11-2014《食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定》中液相色谱-原子荧光光谱法^[6]分别测定 6 份平行样品中亚砷酸根和砷酸根的含量。

2.3 数学模型

$$X = X_1 + X_2, \quad X_n = \frac{(c - c_0) \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000}$$

式中, X —样品中总无机砷的含量(以 As 计),mg/kg; X_n —样品中亚砷酸根或砷酸根的含量(以 As 计),mg/kg; c_0 —空白溶液中亚砷酸根或砷酸根的浓度,mg/mL; c —测定溶液中亚砷酸根或砷酸根的浓度,mg/mL; V —试样消化液体积,mL; m —试样质量,g;1000—换算系数。

3 结果与分析

3.1 不确定度的分量来源

根据标准曲线配制和样品前处理等测定步骤以及计算无机砷含量的数学模型,确定在测定三七花无机砷含量过程中的不确定因素包括:(1)标准物质浓度引入的相对标准不确定度;(2)标准物质称量过程中引入的相对标准不确定度;(3)标准物质稀释过程中玻璃量器引入的相对标准不确定度;(4)标准曲线溶液定容过程中温度引入的相对标准不确定度;(5)标准曲线测定及拟合过程中引入的相对标准不确定度;(6)样品称量引入的相对标准不确定度;(7)样品消解液引入的相对标准不确定度;(8)重复测定引入的相对标准不确定度^[8-11]。

3.2 相对标准不确定度计算

3.2.1 标准物质浓度引入的相对标准不确定度 u_1

本实验采用中国计量科学研究院的亚砷酸根(AsO_3^{3-})

溶液标准物质和砷酸根(AsO_4^{3-})溶液标准物质,根据其所提供的标准物质证书,亚砷酸根溶液标准物质和砷酸根溶液标准物质的扩展不确定度分别为 $u(c_s(\text{AsO}_3^{3-})) = 1.2 \text{ μg/g}$ 和 $u(c_s(\text{AsO}_4^{3-})) = 0.4 \text{ μg/g}$ 。采用矩形分布,由标准物质浓度引入的相对标准不确定度为:

$$u_1(\text{AsO}_3^{3-}) = \frac{1.2}{\sqrt{3} \times 75.7} = 9.15 \times 10^{-3}$$

$$u_1(\text{AsO}_4^{3-}) = \frac{0.4}{\sqrt{3} \times 17.5} = 1.32 \times 10^{-2}$$

3.2.2 标准物质称量过程中引入的相对标准不确定度 u_2

实验中分别称取亚砷酸根溶液标准物质 0.3307 g、砷酸根溶液标准物质 1.4289 g,根据检定证书电子天平的最大允许误差为±0.5 mg。采用矩形分布,由标准物质称量过程引入的相对标准不确定度为:

$$u_2(\text{AsO}_3^{3-}) = \frac{0.5}{\sqrt{3} \times 330.7} = 8.73 \times 10^{-4}$$

$$u_2(\text{AsO}_4^{3-}) = \frac{0.5}{\sqrt{3} \times 1428.9} = 2.02 \times 10^{-4}$$

3.2.3 标准物质稀释过程中玻璃量器引入的相对标准不确定度 u_3

在配制标准曲线过程中,对标准物质进行稀释时所使用到的玻璃量器包括:25 mL 单标线容量瓶(A 级)、10 mL 单标线容量瓶(A 级)、5 mL 分度吸量管(A 级)和 1 mL 分度吸量管(A 级)。根据 JJG 196-2006《常用玻璃量器检定规程》^[12]得到上述玻璃量具的容量允差。分度吸量管采用矩形分布,单标线容量瓶采用三角分布,亚砷酸根标准溶液配制结果见表 1,砷酸根标准溶液配制结果见表 2。

根据表 1 中的数据合成亚砷酸根标准物质稀释过程中玻璃量器引入的相对标准不确定度为:

$$u_3(\text{AsO}_3^{3-}) = \sqrt{u_{3\text{rel}}^2(V_1) + 7 \times u_{3\text{rel}}^2(V_2) + \dots + 3 \times u_{3\text{rel}}^2(V_8)} = 1.57 \times 10^{-2}$$

表 1 亚砷酸根标准溶液配制过程中玻璃量器引入的相对标准不确定度

Table 1 Relative standard uncertainty introduced by glass gauge during the preparation of arsenite standard solution

名称	容量允差/mL	包含因子	使用体积/mL	相对标准不确定度	使用次数
25 mL 单标线容量瓶(A 级)	±0.030	$\sqrt{6}$	25.0	4.90×10^{-4}	1
10 mL 单标线容量瓶(A 级)	±0.020	$\sqrt{6}$	10.0	8.16×10^{-4}	7
5 mL 分度吸量管(A 级)	±0.025	$\sqrt{3}$	2.5	5.77×10^{-3}	1
1 mL 分度吸量管(A 级)	±0.008	$\sqrt{3}$	0.5	9.24×10^{-3}	1
1 mL 分度吸量管(A 级)	±0.008	$\sqrt{3}$	1.0	4.62×10^{-3}	1
5 mL 分度吸量管(A 级)	±0.025	$\sqrt{3}$	2.0	7.22×10^{-3}	1
5 mL 分度吸量管(A 级)	±0.025	$\sqrt{3}$	3.0	4.81×10^{-3}	1
5 mL 分度吸量管(A 级)	±0.025	$\sqrt{3}$	5.0	2.89×10^{-3}	3

表 2 砷酸根标准溶液配制过程中玻璃量器引入的相对标准不确定度
Table 2 Relative standard uncertainty introduced by glass gauge during the preparation of arsenate standard solution

名称	容量允差/mL	包含因子	使用体积/mL	相对标准不确定度	使用次数
25 mL 单标线容量瓶(A 级)	±0.030	$\sqrt{6}$	25.0	4.90×10^{-4}	1
10 mL 单标线容量瓶(A 级)	±0.020	$\sqrt{6}$	10.0	8.16×10^{-4}	7
5 mL 分度吸量管(A 级)	±0.025	$\sqrt{3}$	5.0	2.89×10^{-3}	1
1 mL 分度吸量管(A 级)	±0.008	$\sqrt{3}$	0.5	9.24×10^{-3}	1
1 mL 分度吸量管(A 级)	±0.008	$\sqrt{3}$	1.0	4.62×10^{-3}	1
5 mL 分度吸量管(A 级)	±0.025	$\sqrt{3}$	2.0	7.22×10^{-3}	1
5 mL 分度吸量管(A 级)	±0.025	$\sqrt{3}$	3.0	4.81×10^{-3}	1
5 mL 分度吸量管(A 级)	±0.025	$\sqrt{3}$	5.0	2.89×10^{-3}	3

根据表 2 中的数据合成砷酸根标准物质稀释过程中玻璃量器引入的相对标准不确定度为:

$$u_3(\text{AsO}_4^{3-}) = \sqrt{u_{3\text{rel}}^2(V_1') + 7 \times u_{3\text{rel}}^2(V_2') + \dots + 3 \times u_{3\text{rel}}^2(V_8')}$$
$$= 1.48 \times 10^{-2}$$

3.2.4 标准曲线溶液定容过程中温度引入的相对标准不确定度 u_4

液体膨胀系数大于玻璃量器膨胀系数, 标准曲线溶液定容过程在室温条件下进行, 实验室温度变化范围为 (20±5) °C, 纯水在 20 °C 的膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$, 假定温度分布为均匀分布, 由此可计算标准曲线溶液定容过程中温度引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}4} = \frac{5 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 6.06 \times 10^{-4}$$

$$u_4(\text{AsO}_3^{3-}) = u_4(\text{AsO}_4^{3-}) = \sqrt{7 \times u_{\text{rel}4}^2} = 1.60 \times 10^{-3}$$

3.2.5 标准曲线测定及拟合过程中引入的相对标准不确定度 u_5

对标准曲线进行测定, 每个浓度测定 3 次, 采用最小二乘法对标准曲线溶液的质量浓度和峰面积进行拟合, 标准曲线测定结果见表 3。

根据表 3 中的数据, 以浓度和峰面积平均值为横纵坐标, 经最小二乘法拟合, 得到 AsO_3^{3-} 和 AsO_4^{3-} 标准曲线:

$$\text{AsO}_3^{3-}: y = 7432.96x + 5437.01, R = 0.9999$$

$$\text{AsO}_4^{3-}: y = 4511.19x + 1096.70, R = 0.9999$$

同时, 对 6 份平行样品进行测定, 数据见表 4。根据数据计算得到亚砷酸根含量的相对标准偏差为 1.23%, 砷酸根含量的相对标准偏差为 3.02%。

由表 4 得出, 阳性样品中 $C_0(\text{AsO}_3^{3-}) = 6.2157$, $C_0(\text{AsO}_4^{3-}) = 7.5143$ 。

由标准曲线拟合引入的相对标准不确定度进行计算公式如下^[13]:

$$u(C) = \frac{S(A)}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{m \times n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{cc}}}$$

其中:
$$S(A) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (A_{ij} - A_i)^2}{m \times n - 2}}$$

$$\bar{C} = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m C_{ij}}{m \times n}$$

$$S_{cc} = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (C_{ij} - \bar{C})^2$$

式中, b —标准曲线斜率; C_0 —阳性样品测定质量浓度的平均值; p —测试样品的次数, $p=6$; m —标准曲线各浓度点的测定次数; n —标准溶液校准点的总数; $\bar{C}$ —标准溶液各校准点 C_{ij} 的质量浓度的平均值; A_{ij} —各质量浓度点测定的峰面积; A_i —由标准曲线计算得到的各质量浓度点的峰面积; C_{ij} —标准溶液各校准点的浓度。

表 3 标准曲线测定结果
Table 3 Results of the determination of standard curves

浓度/(μg/L)		峰面积			
		1	2	3	平均值
AsO ₃ ³⁻	5.0	45559.5	45245.4	45707.3	45504.1
	10.0	78910.6	79362.0	79735.4	79336.0
	20.0	155062.7	156146.0	155201.2	155470.0
	30.0	228025.6	227515.4	228575.4	228038.8
	50.0	381784.6	380935.2	381970.9	381563.6
	100.0	744285.8	747147.3	747266.3	746233.1
AsO ₄ ³⁻	10.0	45096.2	45386.4	45444.7	45309.1
	20.0	90118.8	90523.5	91146.3	90596.2
	40.0	184003.9	184391.3	185115.6	184503.6
	60.0	275994.5	276144.3	274392.2	275510.3
	100.0	447836.4	448764.6	445741.9	447447.6
	200.0	904066.7	905487.3	902810.0	904121.3

根据上述各项公式, 计算由亚砷酸根标准曲线引入的相对标准不确定度为:

$$\text{AsO}_3^{3-}: \bar{C}(\text{AsO}_3^{3-}) = 35.9552, S_{cc}(\text{AsO}_3^{3-}) = 18507.12, S(A) = 2725.71$$

$$u(\text{AsO}_3^{3-}) = \frac{2725.71}{7432.96} \times \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{3 \times 6} + \frac{6.2157 - 35.9552}{18507.12}}$$

$$= 0.1960$$

$$u_5(\text{AsO}_3^{3-}) = \frac{0.1960}{6.2157} = 3.15 \times 10^{-2}$$

由砷酸根标准曲线引入的相对标准不确定度为:

$$\text{AsO}_4^{3-}: \bar{C}(\text{AsO}_4^{3-}) = 71.7072, S_{cc}(\text{AsO}_4^{3-}) = 74552.96, S(A) = 3100.99$$

$$u(\text{AsO}_4^{3-}) = \frac{3100.99}{4511.19} \times \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{3 \times 6} + \frac{7.5143 - 71.7072}{74552.96}} = 0.3234$$

$$u_5(\text{AsO}_4^{3-}) = \frac{0.3234}{7.5143} = 4.30 \times 10^{-2}$$

3.2.6 样品称量引入的相对标准不确定度 u_6

在实验中称取约 1.0 g(精确到 0.001 g)的样品, 根据检定证书电子天平的最大允许误差为 ± 0.5 mg。采用矩形分布, 由样品称量引入的相对标准不确定度为:

$$u_6(\text{AsO}_3^{3-}) = u_6(\text{AsO}_4^{3-}) = \frac{0.5}{\sqrt{3} \times 1000.0} = 2.89 \times 10^{-4}$$

3.2.7 样品消解液引入的相对标准不确定度 u_7

样品称量完成后, 需加入 20 mL 0.15 mol/L 硝酸溶液作为消解液进行消解, 使用 10 mL A 级单标线吸量管的容量允差为 ± 0.020 mL。由消解液移取过程引入的相对标准不确定度为:

$$u_{7rel}(V) = \frac{0.020}{\sqrt{3} \times 10} = 1.15 \times 10^{-3}$$

同时, 移取消解液的 A 级单标线吸量管在 20 °C 进行检定, 实验室温度变化范围为(20 $\pm$ 5) °C, 液体膨胀系数明显大于单标线吸量管膨胀系数, 所以仅考虑前者的影响。由于消解液中硝酸的含量仅为 0.15 mol/L, 可忽略其对消解液体膨胀系数的影响, 纯水在 20 °C 的膨胀系数为 2.1 $\times 10^{-4}$ °C⁻¹, 由样品消解液受温度影响引入的相对标准不确定度为:

$$u_{7rel}(T) = \frac{5 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 6.06 \times 10^{-4}$$

由此可计算样品消解液引入的相对标准不确定度为:

$$u_7(\text{AsO}_3^{3-}) = u_7(\text{AsO}_4^{3-}) = \sqrt{2 \times u_{7rel}^2(V) + 2 \times u_{7rel}^2(T)}$$

$$= 1.84 \times 10^{-3}$$

3.2.8 样品重复测定引入的相对标准不确定度 u_8

实验对 6 份平行样品的测定结果见表 5。

根据贝塞尔公式^[7]计算 AsO_3^{3-} 和 AsO_4^{3-} 重复测定的不确定度, 从而合成总无机砷重复测定的相对标准不确定度为:

$$u_8(\text{AsO}_3^{3-}) = \frac{0.00162}{\sqrt{6} \times 0.1314} = 5.04 \times 10^{-3}$$

$$u_8(\text{AsO}_4^{3-}) = \frac{0.00443}{\sqrt{6} \times 0.1467} = 1.23 \times 10^{-2}$$

3.3 合成扩展不确定度

综合上述各不确定度分量结果, 根据下列公式计算相对合成标准不确定度。

表 4 6 份平行样品的测定结果
Table 4 Test results of 6 parallel samples

样品标号	称样量/g	消化液体积/mL	亚砷酸根峰面积 信号值	亚砷酸根 回归值	亚砷酸根含量 /(mg/kg)	砷酸根峰面积 信号值	砷酸根回归值	砷酸根含量 /(mg/kg)
空白	/	20.0	0.0	-0.7315	/	0.0	-0.2431	/
1	1.0500	20.0	50355.2	6.0431	0.1290	33356.4	7.1510	0.1408
2	1.0592	20.0	51391.4	6.1825	0.1306	34788.8	7.4686	0.1456
3	1.0555	20.0	51347.9	6.1767	0.1309	34780.6	7.4667	0.1461
4	1.0538	20.0	51994.6	6.2637	0.1328	34206.9	7.3396	0.1439
5	1.0613	20.0	52647.2	6.2521	0.1316	36410.2	7.8280	0.1521
6	1.0642	20.0	52831.1	6.3762	0.1336	36427.4	7.8318	0.1518

表 5 样品中亚砷酸根和砷酸根含量
Table 5 Arsenite and arsenate content of the samples

名称	1	2	3	4	5	6	平均值 $\bar{X}$	标准偏差 $S(X)$
AsO_3^{3-}	0.1290	0.1306	0.1309	0.1328	0.1316	0.1336	0.1314	0.00162
AsO_4^{3-}	0.1408	0.1456	0.1461	0.1439	0.1521	0.1518	0.1467	0.00443

$$u_{rel}(\text{AsO}_3^{3-}) = \sqrt{u_1^2(\text{AsO}_3^{3-}) + u_2^2(\text{AsO}_3^{3-}) + \dots + u_8^2(\text{AsO}_3^{3-})}$$
$$= 3.68 \times 10^{-2}$$
$$u_{rel}(\text{AsO}_4^{3-}) = \sqrt{u_1^2(\text{AsO}_4^{3-}) + u_2^2(\text{AsO}_4^{3-}) + \dots + u_8^2(\text{AsO}_4^{3-})}$$
$$= 4.90 \times 10^{-2}$$

3.4 合成扩展不确定度

依据公式 $U = k \times u_c(X)$ 合成扩展不确定度。在 95% 置信水平下, 取包含因子 $k=2$ 时^[14], 计算合成结果见表 6。

表 6 不确定度结果
Table 6 Results of the uncertainty

名称	相对合成 标准不确定度 u_{rel}	平均含量 $\bar{X}$ /(mg/kg)	合成标准 不确定度 u_c /(mg/kg)	扩展 不确定度 U /(mg/kg)
AsO_3^{3-}	3.68×10^{-2}	0.1314	0.00484	0.0097
AsO_4^{3-}	4.91×10^{-2}	0.1467	0.00720	0.0144

3.5 测量不确定度报告

在 95% 置信水平下, 包含因子 $k=2$, 则三七花中亚砷酸根和亚砷酸根含量可表示为:

$$C(\text{AsO}_3^{3-}) = 0.1314 \pm 0.0097 \text{ mg / kg, } k = 2$$
$$C(\text{AsO}_4^{3-}) = 0.1467 \pm 0.0144 \text{ mg / kg, } k = 2$$

4 结 论

本文通过对三七花样品中亚砷酸根和砷酸根含量的测定, 较全面的分析了测定过程中不确定度的来源, 计算了各项不确定度分量, 最终合成扩展不确定度。以本实验中三七花样品为例, 其亚砷酸根的平均值为 0.1314 mg/kg, 扩展不确定度为 0.0097 mg/kg; 其砷酸根的平均值为 0.1467 mg/kg, 扩展不确定度为 0.0144 mg/kg。同时, 对各项不确定度进行比较可以看出, 标准曲线测定及拟合过程对不确定度的影响最大, 标准物质浓度、标准物质稀释过程中所用玻璃量器、样品重复测定过程等对不确定度的影响次之。

参考文献

[1] Sadee B, Foulkes ME, Hill SJ. Coupled techniques for arsenic speciation in food and drinking water a review [J]. J Anal At Spectrom, 2015, 30: 102–118.

[2] Akter KF, Owens G, Davey DE, et al. Arsenic speciation and toxicity in biological systems [J]. Rev Environ Contam Toxicol, 2005, 184: 97–149.

[3] Wang Y, Wang S, Xu PP, et al. Review of arsenic speciation, toxicity and metabolism in microalgae [J]. Rev Environ Sci Biotechnol, 2015, 14: 427–451.

[4] GB 2762-2017 食品安全国家标准 食品中污染物限量标准[S]. GB 2762-2017 National food safety standards-Contaminant limit in food [S].

[5] 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, 2003.

State Bureau of Quality and Technical Supervision. Guide for evaluation and representation of uncertainty in measurement [M]. Beijing: China Measurement Press, 2003.

[6] GB 5009.11-2014 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定[S]. GB 5009.11-2014 National food safety standards-Determination of total arsenic and inorganic arsenic in food [S].

[7] JJF 1059.1-2012 测量不确定度评定与表示[S]. JJF 1059.1-2012 Evaluation and expression of uncertainty in measurement [S].

[8] 刘建辉, 段毅宏, 李彦生. 气相色谱-质谱联用法测定啤酒中 N,N-二甲基亚硝胺的不确定度评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(10): 3850–3853.

Liu JH, Duan YH, Li YS. Evaluation of measurement uncertainty for determination of N-nitrosodimethylamine in beer by gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(10): 3850–3853.

[9] 刘付英, 邵志凌, 李彩霞. 液相色谱-原子荧光联用法测定粮食中无机砷含量的不确定度评定[J]. 粮油食品科技, 2018, 26(4): 45–49.

Liu FY, Shao ZL, Li CX. Evaluation of uncertainty in determination of inorganic arsenic in grain by liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry [J]. Sci Technol Cere Oil Food, 2018, 26(4): 45–49.

[10] Saxena SK, Karipalli AA, Krishnan AA, et al. Determination and uncertainty analysis of inorganic arsenic in husked rice by solid phase extraction and atomic absorption spectrometry with hydride generation [J]. J AOAC Int, 2017, 100(3): 598–602.

[11] 张建辉, 石国荣, 杨代明, 等. 超声波提取-原子荧光光度法测定食品中无机砷计不确定度的评估[J]. 食品与机械, 2009, 25(5): 117–120.

Zhang JH, Shi GR, Yang DM, et al. Evaluation of uncertainty in measurement of inorganic arsenic in foods by ultrasonic-atomic fluorescence spectrometry [J]. Food Mach, 2009, 25(5): 117–120.

[12] JJG 196-2006 常用玻璃仪器检定规程[S]. JJG 196-2006 Verification regulation of common glass instruments [S].

[13] CNAS-GL 06 化学分析中不确定度的评估指南[S]. CNAS-GL 06 Guidance on evaluating the uncertainty in chemical analysis [S].

[14] JJF 1135-2005 化学分析测量不确定度评定[S]. JJF 1135-2005 Evaluation of uncertainty in chemical analysis measurement [S].

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



李承蹊, 硕士, 检验技师, 主要研究方向为重金属、元素形态检测工作。
E-mail: 318713501@qq.com



徐丹先, 副主任技师, 主要研究方向为食品理化检验。
E-mail: 284598664@qq.com