

高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法研究 标准曲线质量浓度范围对虾油中无机砷测量 不确定度评定的影响

李建荣¹, 张学玲², 陈兵兵¹, 舒士倡¹, 康建¹, 解鹤¹

(1. 宁夏理工学院 理学与化学工程学院, 宁夏 石嘴山 753000; 2. 宁夏回族自治区食品检测研究院, 银川 750000)

摘要:通过建立高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定虾油中无机砷含量, 建立数学模型对测试过程系统产生的不确定度进行计算、评定。按 GB 5009.11—2014《食品中总砷及无机砷的测定》测定虾油中无机砷含量, 采用3种质量浓度范围的标准系列溶液测试相同样品的无机砷含量, 研究标准曲线质量浓度范围对虾油中无机砷不确定度的影响。结果表明:3种标准系列溶液测得的相同样品的质量浓度和无机砷测试过程中系统产生的不确定度分别为 (0.56 ± 0.536) ng/mL、 (0.56 ± 0.115) ng/mL 和 (0.55 ± 0.030) ng/mL, 相对扩展不确定度分别为 191.4%、41.1% 和 10.9%。研究表明, 随着标准曲线质量浓度范围的扩大, 不确定度随之增大, 测定结果的准确性降低。

关键词: 虾油; 无机砷; 不确定度; 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法

中图分类号: TS225; TS227

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2020)04-0138-07

Influence of mass concentration range of standard curve on uncertainty of determination of inorganic arsenic in krill oil by HPLC-ICP-MS

LI Jianrong¹, ZHANG Xueling², CHEN Bingbing¹, SHU Shichang¹, KANG Jian¹, XIE He¹

(1. School of Science and Chemical Engineering, Ningxia Institute of Technology, Shizuishan 753000,

Ningxia, China; 2. Ningxia Hui Autonomous Region Food Inspection and Research

Institute, Yinchuan 750000, China)

Abstract: The determination of inorganic arsenic in krill oil was established by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. The mathematical model was established to calculate and evaluate the uncertainty of the test process system. The content of inorganic arsenic in krill oil was determined according to GB 5009.11—2014 *Determination of total arsenic and inorganic arsenic in food*. Inorganic arsenic content of the same sample was tested in the standard series of three concentration ranges, and the effect of the mass concentration of standard curve on the uncertainty of inorganic arsenic in krill oil was evaluated. The results showed that the mass concentration and uncertainty of the same sample measured under the three standard series were (0.56 ± 0.536) ng/mL, (0.56 ± 0.115) ng/mL and (0.55 ± 0.030) ng/mL respectively, and the relative expansion certainty were 191.4%, 41.1% and 10.9%, respectively. The research showed that as the mass concentration range of the standard curve increased, the uncertainty evaluation results increased, and the accuracy of the measurement results was lower.

Key words: krill oil; uncertainty; inorganic arsenic; HPLC-ICP-MS

收稿日期: 2019-09-12; 修回日期: 2020-01-06

基金项目: 宁夏高等学校科学技术研究项目(NGY2017210); 宁

夏青年教师教育教学改革项目(NXJG2017072)

作者简介: 李建荣(1989), 男, 工程师, 硕士, 主要从事食品检验技术研发工作(E-mail) lijianrong3616@163.com。

虾油中含有丰富的不饱和脂肪酸、磷脂及虾青素等^[1-2], 具有降血脂、抗氧化、健脑益智、抗衰老等

多种生理功能,在保健品、食品等多个领域得到应用^[3]。由于虾油中无机砷含量较高,影响其在保健品、食品中的应用^[4-5]。为了检测过程中测试结果准确,更能反映食品中重金属含量的真实值,可建立数学模型对测试过程系统产生的不确定度进行计算、评定^[6-8]。测量不确定度用来评定实验数据准确度,测量结果的可靠性与其不确定度密切相关,不确定度越小,测量结果的准确性越高。目前,对于虾油中无机砷含量测定的不确定度评定研究较少,本研究采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法(HPLC-ICP-MS)对虾油中无机砷含量进行测定,根据GB 5009.11—2014《食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定》和JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》建立数学模型,对虾油中无机砷含量测定的不确定度进行测量和评定^[9-12]。在实验过程中不确定度的来源不同,在评定过程中对总体不确定度的影响不同。本文通过研究不同标准曲线质量浓度对同一样品含量测定的不确定度进行研究,确定最合理的标准曲线质量浓度范围,以减小对检测结果的影响,以为检测工作者提供检测过程中标准曲线选定的依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

三价砷(As(Ⅲ))和五价砷(As(V))的标准储备溶液(质量浓度均为1 000 μg/mL);虾油,来自国家食品药品检测研究院。

无水乙酸钠、硝酸钠、磷酸二氢钠、乙二胺四乙酸二钠、氨水、无水乙醇为分析纯;硝酸为优级纯;实验用水为超纯水(电导率为18.2 MΩ·cm);氩气(Ar)(纯度≥99.999%)。

Agilent7700e 电感耦合等离子体质谱仪,Agilent 高效液相色谱仪,高速离心机,恒温烘箱。

1.2 实验方法

1.2.1 标准系列溶液配制

标准曲线系列1 配制过程:分别用1.0 mL 单标线吸管准确吸取1.0 mL As(Ⅲ)标准储备液、1.0 mL As(V)标准储备液于100 mL 容量瓶中,加水稀释定容至刻度,As(Ⅲ)、As(V)混合标准使用液质量浓度为10.0 μg/mL。分别用0.5 mL 分度吸管准确吸取As(Ⅲ)、As(V)混合标准使用液0、0.025、0.050、0.10、0.50 mL 于100 mL 容量瓶中,用水定容至100 mL。用1.0 mL 单标线吸管准确吸取As(Ⅲ)、As(V)混合标准使用液1.0 mL 于100 mL 容量瓶中,用水定容至100 mL。则标准系列溶液的质量浓度分别为0、2.5、5.0、10.0、50.0、100.0 ng/mL。

标准曲线系列2 配制过程:分别用0.1 mL 分度吸管准确吸取0.1 mL As(Ⅲ)标准储备液、0.1 mL As(V)标准储备液于100 mL 容量瓶中,加水稀释定容至刻度,As(Ⅲ)、As(V)混合标准使用液质量浓度为1 000 ng/mL。分别用0.5 mL 分度吸管准确吸取As(Ⅲ)、As(V)混合标准使用液0、0.05、0.10、0.50 mL 于100 mL 容量瓶中,用水定容至100 mL。用1.0、2.0 mL 单标线吸管准确吸取As(Ⅲ)、As(V)混合标准使用液1.0、2.0 mL 于100 mL 容量瓶中,用水定容至100 mL。则标准系列溶液的质量浓度分别为0、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0 ng/mL。

标准曲线系列3 配制过程:分别用0.1 mL 分度吸管准确吸取0.1 mL As(Ⅲ)标准储备液、0.1 mL As(V)标准储备液于100 mL 容量瓶中,加水稀释定容至刻度,As(Ⅲ)、As(V)混合标准中间液质量浓度为1 000 ng/mL;用10.0 mL 单标线吸管准确吸取10.0 mL As(Ⅲ)、As(V)混合标准中间液于100 mL 容量瓶中,加水稀释定容至刻度,As(Ⅲ)、As(V)混合标准使用液质量浓度为100 ng/mL。分别用0.5 mL 分度吸管准确吸取As(Ⅲ)、As(V)混合标准使用液0、0.1、0.5 mL 于100 mL 容量瓶中,用水定容至100 mL。用1.0 mL 单标线吸管准确吸取As(Ⅲ)、As(V)混合标准使用液1.0 mL 于100 mL 容量瓶中,用水定容至100 mL。用5.0 mL 分度吸管准确吸取As(Ⅲ)、As(V)混合标准使用液2.0、4.0 mL 于100 mL 容量瓶中,用水定容至100 mL。则标准系列溶液的质量浓度分别为0、0.1、0.5、1.0、2.0、4.0 ng/mL。

1.2.2 样品处理

称取虾油1.000 g 于50 mL 塑料离心管中,加入0.15 mol/L 硝酸溶液20 mL,放置过夜。于90℃ 恒温烘箱中提取2.5 h,每0.5 h 振摇1 min。提取完毕,取出,冷却至室温,以8 000 r/min 离心15 min。取上清液5 mL 置于离心管中,加入正己烷5 mL,振摇1 min 后,以8 000 r/min 离心15 min,弃去上层正己烷,重复操作1次,吸取下清液,经C₁₈小柱净化及0.45 μm 有机滤膜过滤后进行HPLC-ICP-MS分析。同时作空白实验。

1.2.3 HPLC-ICP-MS 分析条件

HPLC:HM79433 型阴离子交换色谱分析柱(250 mm×4.1 mm,10 μm);流动相A 为含10 mmol/L 无水乙酸钠、3 mmol/L 硝酸钠、10 mmol/L 磷酸二氢钠、0.2 mmol/L 乙二胺四乙酸二钠缓冲液的混合溶液(用氨水调节pH 为10),流动相B 为无水乙醇,混合流动相为流动相A-流动相B(体积比99:1);洗脱方式

为等度洗脱;进样体积 40 μL ,流速 1.0 mL/min。

ICP-MS:射频功率 1 550 W,射频电压 1.80 V,同心雾化器,采样深度 8.0 mm,采样模式为 TRA,采集时间 720 s;等离子气流量 15 L/min,载气为高纯氩气,载气流量 1.0 L/min,辅助气流量 1.0 L/min,泵速 0.3 r/min;检测质量数(m/z)75(As)。

1.2.4 虾油中无机砷含量计算

虾油中无机砷含量参照 GB 5009.11—2014 按公式(1)计算。

$$X = \frac{(C - C_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000 \times 1\,000} \quad (1)$$

式中: X 为试样中无机砷含量,mg/kg; C 为试样消化液中无机砷的测定质量浓度,ng/mL; C_0 为成样空白消化液中无机砷的测定质量浓度,ng/mL; V 为试样定容体积,mL; m 为试样质量,g;

总无机砷含量等于三价砷(As(III))、五价砷(As(V))含量的加和。

2 结果与分析

2.1 实验数据标准不确定度的评定

不确定度主要来源有:①标准物质 $u(\text{sta})$;②天平称量过程中的最大允许误差(MPE);③定容体积校准 $u_{\text{rel}}(\text{pre})$;④重复性实验(随机)变化 $u_{\text{rel}}(\bar{Y})$;

⑤最小二乘法拟合标准曲线校准得出 C_0 时所产生的不确定度 $u_{\text{rel}}(C_0)$ 。

2.1.1 标准物质的不确定度评定

2.1.1.1 标准溶液对不确定度评定的影响

实验使用同一种标准溶液,标准溶液对不确定度评定影响相同。

As(III)标准溶液质量浓度为 1 000 $\mu\text{g/L}$,标准证书给出扩展不确定度为 3%, $k=2$,则 As(III)标准溶液的标准不确定度为 $u_{\text{rel}}(P_C)_{\text{As(III)}} = \frac{3\%}{2} = 0.015$ 。

As(V)标准溶液质量浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$,标准证书给出扩展不确定度为 2%, $k=2$,则 As(V)标准溶液的标准不确定度为 $u_{\text{rel}}(P_C)_{\text{As(V)}} = \frac{2.0\%}{2} = 0.01$ 。

2.1.1.2 稀释过程对不确定度评定的影响

3种不同质量浓度的标准曲线分别是由 As(III)、As(V)标准溶液逐级稀释配制而成,使用玻璃量具配制标准溶液时,稀释过程会对不确定度评定产生影响。按照 JJG 196—2006《常用玻璃量器检定规程》要求,均有相应的最大允差,按照三角分布考虑, $k=\sqrt{6}$,由此估算相对不确定度分量,见表 1~表 3。

表 1 无机砷标准曲线系列 1 配制量具校准引起的不确定度

玻璃量具	最大允差/mL	标准不确定度	移取、定容体积/mL	相对标准不确定度
1.0 mL 单标线吸管 A 级	± 0.007	0.002 9	1.0	$U_1 = 2.9 \times 10^{-3}$
1.0 mL 单标线吸管 A 级	± 0.007	0.002 9	1.0	$U_2 = 2.9 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	± 0.10	0.040 8	100.0	$U_3 = 4.1 \times 10^{-4}$
0.5 mL 分度吸管 A 级	± 0.005	0.002 0	0.025	$U_4 = 8.0 \times 10^{-2}$
100 mL 单标线 A 级	± 0.10	0.040 8	100.0	$U_5 = 4.1 \times 10^{-4}$
0.5 mL 分度吸管 A 级	± 0.005	0.002 0	0.050	$U_6 = 4.0 \times 10^{-2}$
100 mL 单标线 A 级	± 0.10	0.040 8	100.0	$U_7 = 4.1 \times 10^{-4}$
0.5 mL 分度吸管 A 级	± 0.005	0.002 0	0.10	$U_8 = 2.0 \times 10^{-2}$
100 mL 单标线 A 级	± 0.10	0.040 8	100.0	$U_9 = 4.1 \times 10^{-4}$
0.5 mL 分度吸管 A 级	± 0.005	0.002 0	0.50	$U_{10} = 4.0 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	± 0.10	0.040 8	100.0	$U_{11} = 4.1 \times 10^{-4}$
1.0 mL 单标线吸管 A 级	± 0.007	0.002 9	1.0	$U_{12} = 2.9 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	± 0.10	0.040 8	100.0	$U_{13} = 4.1 \times 10^{-4}$

表 2 无机砷标准曲线系列 2 配制量具校准引起的不确定度

玻璃量具	最大允差/mL	标准不确定度	移取、定容体积/mL	相对标准不确定度
0.1 mL 分度吸管 A 级	± 0.002	0.000 8	0.1	$U_1 = 8.0 \times 10^{-3}$
0.1 mL 分度吸管 A 级	± 0.002	0.000 8	0.1	$U_2 = 8.0 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	± 0.10	0.040 8	100.0	$U_3 = 4.1 \times 10^{-4}$
0.5 mL 分度吸管 A 级	± 0.005	0.002 0	0.05	$U_4 = 4.0 \times 10^{-2}$

续表 2

玻璃量具	最大允差/mL	标准不确定度	移取、定容体积/mL	相对标准不确定度
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_5 = 4.1 \times 10^{-4}$
0.5 mL 分度吸管 A 级	±0.005	0.002 0	0.10	$U_6 = 2.0 \times 10^{-2}$
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_7 = 4.1 \times 10^{-4}$
0.5 mL 分度吸管 A 级	±0.005	0.002 0	0.50	$U_8 = 4.0 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_9 = 4.1 \times 10^{-4}$
1.0 mL 单标线吸管 A 级	±0.007	0.002 9	1.0	$U_{10} = 2.9 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_{11} = 4.1 \times 10^{-4}$
2.0 mL 单标线吸管 A 级	±0.010	0.004 1	2.0	$U_{12} = 2.0 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_{13} = 4.1 \times 10^{-4}$

表 3 无机砷标准曲线系列 3 配制量具校准引起的不确定度

玻璃量具	最大允差/mL	标准不确定度	移取、定容体积/mL	相对标准不确定度
0.1 mL 分度吸管 A 级	±0.002	0.000 8	0.1	$U_1 = 8.0 \times 10^{-3}$
0.1 mL 分度吸管 A 级	±0.002	0.000 8	0.1	$U_2 = 8.0 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_3 = 4.1 \times 10^{-4}$
10.0 mL 单标线吸管 A 级	±0.020	0.008 2	10.0	$U_4 = 8.2 \times 10^{-4}$
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_5 = 4.1 \times 10^{-4}$
0.5 mL 分度吸管 A 级	±0.005	0.002 0	0.1	$U_6 = 2.0 \times 10^{-2}$
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_7 = 4.1 \times 10^{-4}$
0.5 mL 分度吸管 A 级	±0.005	0.002 0	0.5	$U_8 = 4.0 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_9 = 4.1 \times 10^{-4}$
1.0 mL 单标线吸管 A 级	±0.025	0.010 2	1.0	$U_{10} = 5.1 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_{11} = 4.1 \times 10^{-4}$
5.0 mL 分度吸管 A 级	±0.025	0.010 2	4.0	$U_{12} = 2.6 \times 10^{-3}$
100 mL 单标线 A 级	±0.10	0.040 8	100.0	$U_{13} = 4.1 \times 10^{-4}$

由表 1 中数据合成的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_1)$:

$$u_{\text{rel}}(C_1) = \sqrt{U_1^2 + U_2^2 + U_3^2 + U_4^2 + U_5^2 + U_6^2 + U_7^2 + U_8^2 + U_9^2 + U_{10}^2 + U_{11}^2 + U_{12}^2 + U_{13}^2} = 0.091 9$$

由表 2 中数据合成的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_2)$:

$$u_{\text{rel}}(C_2) = \sqrt{U_1^2 + U_2^2 + U_3^2 + U_4^2 + U_5^2 + U_6^2 + U_7^2 + U_8^2 + U_9^2 + U_{10}^2 + U_{11}^2 + U_{12}^2 + U_{13}^2} = 0.046 4$$

由表 3 中数据合成的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_3)$:

$$u_{\text{rel}}(C_3) = \sqrt{U_1^2 + U_2^2 + U_3^2 + U_4^2 + U_5^2 + U_6^2 + U_7^2 + U_8^2 + U_9^2 + U_{10}^2 + U_{11}^2 + U_{12}^2 + U_{13}^2} = 0.024 0$$

温度对容量瓶和溶液体积的影响:本实验是在 20 ℃ 的条件下进行的,因此容量瓶和溶液温度与校准时温度不同引起的不确定度为零。当温度不为 20 ℃ 时,则考虑温度对体积的影响。

2.1.1.3 标准物质产生的不确定度

$$u_1(\text{sta}) = \sqrt{[u_{\text{rel}}(P_C)_{\text{As(III)}}]^2 + [u_{\text{rel}}(P_C)_{\text{As(V)}}]^2 + [u_{\text{rel}}(C_1)]^2} = 0.093 7$$

$$u_2(\text{sta}) = \sqrt{[u_{\text{rel}}(P_C)_{\text{As(III)}}]^2 + [u_{\text{rel}}(P_C)_{\text{As(V)}}]^2 + [u_{\text{rel}}(C_2)]^2} = 0.049 8$$

$$u_3(\text{sta}) = \sqrt{[u_{\text{rel}}(P_C)_{\text{As(III)}}]^2 + [u_{\text{rel}}(P_C)_{\text{As(V)}}]^2 + [u_{\text{rel}}(C_3)]^2} = 0.030 0$$

2.1.2 样品制备过程对不确定度评定的影响

2.1.2.1 取样

取样时,将液体虾油样品充分超声混匀后,得到均匀样品,随机取样。取样产生的不确定度忽略不计。

2.1.2.2 称重

虾油样品的称取量为 1.000 g,称量天平的最小

量程为 0.1 mg。根据 JJG 1036—2008《电子天平检定规程》,天平的准确级在 $-0.01 \sim 50$ g 称量范围的 MPE 为 $\pm 0.5e$ ($e = 1.0$ mg),两次称量的差值(差量法)为样品质量,天平线性 MPE 满足矩形分布,差量法称量天平的 MPE 产生的不确定度为 $u_{\text{rel}}(m)$ 。称重相对不确定度 $u(m) = (\sqrt{2} \times 0.000 5) /$

$\sqrt{3}=0.000\ 408$, 则 $u_{\text{rel}}(m) = u(m)/m = 0.000\ 408/1.0 = 0.000\ 408$ 。

2.1.2.3 定容体积产生的不确定度

实验中用 50 mL 容量瓶定容, 50 mL 单标线容量瓶允许误差为 ± 0.05 mL, 假定是三角分布, 定容体积产生的不确定度 $u_{\text{rel}}(V)$ 为: $u_{\text{rel}}(V) = 0.05/(50\sqrt{6}) = 0.000\ 41$ 。

2.1.2.4 样品制备过程产生的不确定度

由于是对同一虾油样品中的无机砷含量进行测定, 则样品制备过程产生的不确定度相同。

$$u_{\text{rel}}(\text{pre}) = \sqrt{[u_{\text{rel}}(m)]^2 + [u_{\text{rel}}(V)]^2} = 0.000\ 58$$

2.1.3 样品质量浓度的不确定度

实验过程中采用 6 个不同质量浓度梯度的无机砷混合标准溶液, 用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法平行测定 3 次得到相应的比率 IR (离子强度(Cps)/内标强度)。采用最小二乘法拟合进行标准曲线校准, 以 IR 为纵坐标, 质量浓度(C)为横坐标得到线性方程($y = aC + b$)及相关系数(r), 见表 4~表 9。

表 4 标准曲线系列 1 最小二乘法拟合 As(III) 标准溶液质量浓度-比率结果

$C/(\text{ng/mL})$	IR_1	IR_2	IR_3
2.5	49 204	50 150	56 552
5.0	90 243	77 881	94 883
10.0	176 584	189 718	174 626
50.0	888 591	888 822	869 222
100.0	1 730 569	1 712 258	1 705 498

注: $y = 17\ 141C + 9\ 425.1$, $r = 0.999\ 99$ 。

表 5 标准曲线系列 1 最小二乘法拟合 As(V) 标准溶液质量浓度-比率结果

$C/(\text{ng/mL})$	IR_1	IR_2	IR_3
2.5	63 755	61 251	66 866
5.0	90 023	99 771	119 420
10.0	171 180	183 764	178 515
50.0	925 088	922 866	905 260
100.0	1 777 868	1 743 465	1 747 957

注: $y = 17\ 488C + 17\ 571$, $r = 0.999\ 7$ 。

本实验对样品溶液进行了 10 次重复测量, 由 As(III)、As(V) 的线性方程分别求得平均质量浓度 $C_{\text{As(III)}} = 0.00$ ng/mL, $C_{\text{As(V)}} = 0.56$ ng/mL; C_0 产生的不确定度按公式(2)计算。

$$u(C_0) = \frac{s(y)}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{s_{\text{cc}}}} \quad (2)$$

式中: $u(C_0)$ 为样品检测结果产生的不确定度; $s(y)$ 为比率残差的标准差; b 为标准曲线的斜率; n 为标准溶液的测量次数, 此处为 15; p 为 C_0 的测量

次数, 此处为 10; C_0 为样品中无机砷的测定质量浓度, ng/mL; \bar{C} 为样品中无机砷的平均测定质量浓度, ng/mL; s_{cc} 为测定质量浓度残差的平方和。

由公式(2)计算 C_0 的标准不确定度为: $u(C_{\text{As(III)}}) = 0.368$ ng/mL, $u(C_{\text{As(V)}}) = 0.533$ ng/mL。标准溶液比率残差的标准差按公式(3)计算。

$$s(y) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [y_j - (a + bC_j)]^2}{n-2}} \quad (3)$$

式中: y_j 为比率。

则 $s_{\text{As(III)}}(y) = 12\ 362.580$, $s_{\text{As(V)}}(y) = 18\ 476.178$ 。标准溶液平均质量浓度按公式(4)计算。

$$\bar{C} = \frac{\sum_{j=1}^n C_j}{n} \quad (4)$$

式中: C_j 为测定质量浓度; n 为测定次数, $n = 10$ 。

则 $\bar{C}_{\text{As(III)}} = 33.5$ ng/mL, $\bar{C}_{\text{As(V)}} = 33.5$ ng/mL。标准溶液质量浓度残差的平方和(s_{cc})按公式(5)计算。

$$s_{\text{cc}} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2 \quad (5)$$

则 $s_{\text{cc As(III)}} = 7\ 020$, $s_{\text{cc As(V)}} = 7\ 020$ 。标准曲线产生的相对不确定度按公式(6)计算。

$$u_{\text{rel}}(C_0) = \frac{u(C_0)}{C_0} \quad (6)$$

则 $u_{\text{rel}}(C_{\text{As(III)}}) = 0.00$, $u_{\text{rel}}(C_{\text{As(V)}}) = 0.952$, $u_{\text{rel}}(C_1) = \sqrt{[u_{\text{rel}}(C_{\text{As(III)}})]^2 + [u_{\text{rel}}(C_{\text{As(V)}})]^2} = 0.952$ 。

表 6 标准曲线系列 2 最小二乘法拟合 As(III) 标准溶液质量浓度-比率结果

$C/(\text{ng/mL})$	IR_1	IR_2	IR_3
0.5	9 840	10 030	11 310
1.0	18 049	15 576	18 977
5.0	88 292	94 859	87 313
10.0	177 718	177 764	173 844
20.0	346 114	342 452	341 099

注: $y = 17\ 116C + 2\ 600.2$, $r = 0.999\ 9$ 。

表 7 标准曲线系列 2 最小二乘法拟合 As(V) 标准溶液质量浓度-比率结果

$C/(\text{ng/mL})$	IR_1	IR_2	IR_3
0.5	12 751	12 250	13 373
1.0	18 005	19 954	23 884
5.0	85 590	91 882	89 258
10.0	185 018	184 573	181 052
20.0	355 574	348 693	349 591

注: $y = 17\ 458C + 3\ 987.1$, $r = 0.999\ 7$ 。

本文对样品溶液进行了 10 次重复测量, 由 As(III)、As(V) 的线性方程分别求得平均质量浓度

$C_{As(III)} = 0.00 \text{ ng/mL}, C_{As(V)} = 0.56 \text{ ng/mL}$;由公式(2)计算 C_0 的标准不确定度为: $u(C_{As(III)}) = 0.099 \text{ ng/mL}; u(C_{As(V)}) = 0.112 \text{ ng/mL}$ 。

由公式(3)计算标准溶液比率的残差的标准差: $s_{As(III)}(y) = 3\ 072.108, s_{As(V)}(y) = 3\ 717.693$ 。

由公式(4)计算标准溶液平均质量浓度: $\bar{C}_{As(III)} = 7.3 \text{ ng/mL}, \bar{C}_{As(V)} = 7.3 \text{ ng/mL}$ 。

由公式(5)计算标准溶液质量浓度残差的平方和: $s_{cc As(III)} = 259.8, s_{cc As(V)} = 259.8$ 。

由公式(6)计算得到 $u_{rel}(C_{As(III)}) = 0.00, u_{rel}(C_{As(V)}) = 0.200$ 。

则 $u_{rel}(C_2) = \sqrt{[u_{rel}(C_{As(III)})]^2 + [u_{rel}(C_{As(V)})]^2} = 0.200$ 。

表8 标准曲线系列3最小二乘法拟合As(III)标准溶液质量浓度-比率结果

$C/(ng/mL)$	IR_1	IR_2	IR_3
0.1	1 968	2 006	2 262
0.5	9 024	7 788	9 488
1.0	17 658	18 972	17 463
2.0	35 544	35 553	34 769
4.0	69 223	68 490	68 219

注: $y = 17\ 090C + 585.61, r = 0.999\ 9$ 。

本文对样品溶液进行了10次重复测量,由As(III)、As(V)的线性方程分别求得平均质量浓度

$C_{As(III)} = 0.00 \text{ ng/mL}, C_{As(V)} = 0.55 \text{ ng/mL}$;由公式(2)计算 C_0 的标准不确定度为: $u(C_{As(III)}) = 0.023 \text{ ng/mL}, u(C_{As(V)}) = 0.024 \text{ ng/mL}$ 。

表9 标准曲线系列3最小二乘法拟合As(V)标准溶液质量浓度-比率结果

$C/(ng/mL)$	IR_1	IR_2	IR_3
0.1	2 550	2 450	2 674
0.5	9 002	9 977	11 942
1.0	17 118	18 376	17 852
2.0	37 003	36 914	36 210
4.0	71 115	69 739	69 918

注: $y = 17\ 353C + 1\ 145.6, r = 0.999\ 5$ 。

由公式(3)计算标准溶液比率的残差的标准差: $s_{As(III)}(y) = 673.524, s_{As(V)}(y) = 954.36$ 。

由公式(4)计算标准溶液平均质量浓度: $\bar{C}_{As(III)} = 1.52 \text{ ng/mL}, \bar{C}_{As(V)} = 1.52 \text{ ng/mL}$ 。

由公式(5)计算标准溶液质量浓度的残差的平方和: $s_{cc As(III)} = 9.708, s_{cc As(V)} = 9.708$ 。

根据公式(6)计算得到 $u_{rel}(C_{As(III)}) = 0.00, u_{rel}(C_{As(V)}) = 0.044$ 。

则 $u_{rel}(C_3) = \sqrt{[u_{rel}(C_{As(III)})]^2 + [u_{rel}(C_{As(V)})]^2} = 0.044$ 。

2.1.4 重复性实验相对标准不确定度

在相同条件下,对虾油中无机砷含量进行了10次独立性测试,结果见表10。

表10 虾油中无机砷含量重复测定值

项目	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均值
系列1 测定As(III)含量	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
系列1 测定As(V)含量	0.55	0.56	0.55	0.57	0.57	0.57	0.56	0.55	0.56	0.56	0.56
无机砷含量	0.55	0.56	0.55	0.57	0.57	0.57	0.56	0.55	0.56	0.56	0.56
系列2 测定As(III)含量	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
系列2 测定As(V)含量	0.56	0.56	0.56	0.57	0.55	0.55	0.56	0.58	0.56	0.57	0.56
无机砷含量	0.56	0.56	0.56	0.57	0.55	0.55	0.56	0.58	0.56	0.57	0.56
系列3 测定As(III)含量	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
系列3 测定As(V)含量	0.55	0.55	0.56	0.54	0.55	0.55	0.56	0.55	0.54	0.55	0.55
无机砷含量	0.55	0.55	0.56	0.54	0.55	0.55	0.56	0.55	0.54	0.55	0.55

在相同条件下,不同标准系列重复10次测定虾油中无机砷含量,算数平均值为:

$$\bar{Y}_1 = \frac{\sum Y_i}{n} = 0.56 \text{ ng/mL}, \bar{Y}_2 = \frac{\sum Y_i}{n} = 0.56 \text{ ng/mL},$$

$$\bar{Y}_3 = \frac{\sum Y_i}{n} = 0.55 \text{ ng/mL}。$$

不同标准系列单次测量的标准偏差为: $u(Y_i) =$

$$S(Y_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2}{n-1}}, \text{ 则 } u(Y_1) = 0.007\ 7,$$

$$u(Y_2) = 0.008\ 7, u(Y_3) = 0.006\ 3。$$

不同标准系列算术平均值的不确定度: $u(\bar{Y}) =$

$$\frac{S(Y_i)}{\sqrt{n}} = \frac{S(Y_i)}{\sqrt{10}}, \text{ 则 } u(\bar{Y}_1) = 0.002\ 4, u(\bar{Y}_2) = 0.002\ 8,$$

$$u(\bar{Y}_3) = 0.002\ 0。$$

相对标准不确定度 $u_{rel}(\bar{Y}) = \frac{u(\bar{Y})}{\bar{Y}} = u(f_{rep})$, 则

$$u_{rel}(\bar{Y}_1) = 0.004\ 3, u_{rel}(\bar{Y}_2) = 0.005\ 0, u_{rel}(\bar{Y}_3) = 0.003\ 6。$$

2.2 不确定度分量

虾油中无机砷各不确定度分量见表 11。

表 11 标准曲线系列无机砷不确定度分量

序号	分量类别	来源	评定方法/分布	标准曲线系列 1	标准曲线系列 2	标准曲线系列 3
1	$u_{\text{rel}}(\text{sta})$	标准储备液校准稀释过程	B 类/三角分布	0.093 7	0.049 8	0.031 1
2	$u_{\text{rel}}(\text{pre})$	样品制备过程	B 类/三角分布	0.000 58	0.000 58	0.000 58
3	$u_{\text{rel}}(C_0)$	曲线拟合	A 类	0.952 0	0.200 0	0.044 0
4	$u_{\text{rel}}(\bar{Y})$	重复性	A 类	0.004 3	0.005 0	0.003 6

2.3 合成标准不确定度

虾油中无机砷合成标准不确定度:

$$u_c(Y_1) = \bar{Y}_1 \sqrt{[u_{\text{rel}}(\text{sta})_1]^2 + [u_{\text{rel}}(\text{pre})_1]^2 + [u_{\text{rel}}(C_0)_1]^2 + [u_{\text{rel}}(\bar{Y})_1]^2} = 0.56 \times 0.957 = 0.536(\text{ng/mL})$$

$$u_c(Y_2) = \bar{Y}_2 \sqrt{[u_{\text{rel}}(\text{sta})_2]^2 + [u_{\text{rel}}(\text{pre})_2]^2 + [u_{\text{rel}}(C_0)_2]^2 + [u_{\text{rel}}(\bar{Y})_2]^2} = 0.56 \times 0.206 = 0.115(\text{ng/mL})$$

$$u_c(Y_3) = \bar{Y}_3 \sqrt{[u_{\text{rel}}(\text{sta})_3]^2 + [u_{\text{rel}}(\text{pre})_3]^2 + [u_{\text{rel}}(C_0)_3]^2 + [u_{\text{rel}}(\bar{Y})_3]^2} = 0.55 \times 0.054 = 0.030(\text{ng/mL})$$

2.4 扩展不确定度

标准曲线系列 1:取包含因子 $k=2$, 扩展不确定度 $U(Y) = k \times u_c(Y_1) = 2 \times 0.536 = 1.072(\text{ng/mL})$; 相对扩展不确定 $U_{\text{rel}}(Y) = U(Y)/0.56 \times 100\% = 191.4\%$ 。

标准曲线系列 2:取包含因子 $k=2$, 扩展不确定度 $U(Y) = k \times u_c(Y_2) = 2 \times 0.115 = 0.23(\text{ng/mL})$; 相对扩展不确定度 $U_{\text{rel}}(Y) = U(Y)/0.56 \times 100\% = 41.1\%$ 。

标准曲线系列 3:取包含因子 $k=2$, 扩展不确定度 $U(Y) = k \times u_c(Y_3) = 2 \times 0.030 = 0.060(\text{ng/mL})$; 相对扩展不确定度 $U_{\text{rel}}(Y) = U(Y)/0.55 \times 100\% = 10.9\%$ 。

3 结论

采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定虾油中无机砷含量,对 3 种不同质量浓度梯度的标准溶液进行曲线拟合,3 种标准系列溶液测得的相同样品的质量浓度和无机砷测试过程中系统产生的不确定度分别为 $(0.56 \pm 0.536) \text{ng/mL}$ 、 $(0.56 \pm 0.115) \text{ng/mL}$ 和 $(0.55 \pm 0.030) \text{ng/mL}$, 包含因子 $k=2$, 相对扩展不确定度分别为 191.4%、41.1% 和 10.9%。

从研究结果可以看出,采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定虾油中无机砷含量时,标准曲线拟合产生的不确定度最大。随着标准曲线质量浓度范围的扩大,不确定度评定结果随之增大,测量结果的准确性降低。由朗博比尔定律可知:当未知组分浓度落在标准曲线中间时,测试结果更准确、更可靠,可降低误判的风险。在检验检测工作中,建议先对未知样品进行预测定,再根据未知样品

的质量浓度选择标准曲线范围,从而得到准确、可靠的结果。

参考文献:

- [1] 周莉,杨富. 南极虾油磷脂的分离纯化及其对核桃油的氧化稳定性的影响[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(8):73-77.
- [2] 任雅慧,王超众. 南极磷虾油氟化物测定方法的研究[J]. 现代食品, 2019, 20(5):160-163.
- [3] 李建荣. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定虾油中 2 种无机砷[J]. 理化检验-化学分册, 2019, 55(2): 238-240.
- [4] 王松,崔鹤,王境堂,等. 南极磷虾油中总砷含量及砷形态分析[J]. 分析化学, 2016, 44(5):767-772.
- [5] 卢坤俊,吴继魁,汪之和,等. 南极磷虾中重金属含量的测定[J]. 食品工业科技, 2013(2):64-67.
- [6] 杨建兴. 电感耦合等离子体质谱法测定鸡肉粉标准物质中总砷的不确定度评定[J]. 中国调味品, 2017, 42(9):138-141.
- [7] 高琳. 气相色谱法测定枸杞籽油中 α -亚麻酸的含量及其不确定度评定[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(2): 176-177.
- [8] 汤丽华. 液相色谱-串联质谱法测定牛奶中地塞米松残留量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(13): 3259-3262.
- [9] 冯秀娟. 肉制品中 N-二甲基亚硝胺测定及不确定度评定[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(6): 153-179.
- [10] 岳苑. 食品中单核细胞增生李斯特氏菌的测量不确定度评定[J]. 生物加工过程, 2018, 16(2): 87-92.
- [11] 检测实验室中常用不确定度评定方法与表示:GB/T 27411—2012 [S]. 北京:中国标准出版社, 2012.
- [12] 检测和校准实验室能力的通用要求:GB/T 27025—2008 [S]. 北京:中国标准出版社, 2008.