

# 原子荧光法测量饲料中总砷含量及其不确定度评定

张艳春<sup>1</sup> 李 喆<sup>2\*</sup>

1.辽宁省营口市食品药品检验检测中心,辽宁营口 115000;2.辽宁省农业科学院,沈阳 110161

**摘要** 本文根据原子荧光光度法测定饲料中总砷的含量,并分析检测过程中主要的测量不确定度来源。本试验主要的不确定度来源有测量结果重复性所引入的标准不确定度、样品质量所引入标准不确定度、样品定容体积所引入的标准不确定度、标准溶液配制所引入的标准不确定度、标准曲线拟合过程中所引入的标准不确定度和样品空白所引入的标准不确定度,经计算所得结果为(0.023 5±0.005 8) mg/kg。

**关键词** 原子荧光光度法;总砷;不确定度

相较于银盐法检测饲料中的总砷含量,原子荧光法更简单、更高效、更灵敏,是近年来发展较快的一种检测分析技术。本试验依据国标 GB/T 13079-2006 中的氢化物原子荧光光度法,测定肉鹅配合饲料中的总砷含量,分析试验过程中不确定度的来源,并对其不确定度做评定。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

1)待测饲料。肉鹅配合饲料。

2)试验试剂。盐酸溶液、硝酸镁溶液、氢氧化钾、硼氢化钾、硫脲、抗坏血酸、砷标准溶液。

3)试验器材。电子分析天平、电炉、箱式电阻炉、原子荧光分光光度计(北京普析 PF-52)、容量瓶、移液管。

### 1.2 试验方法

称取约 2 g 的试样 6 份(精确到 0.1 mg)于 6 个瓷坩埚中,准确加入 5 mL 硫酸镁溶液,炭化完全后转移至箱式电阻炉进行干灰化,其灰化温度控制在 550 ℃左右,时间 4 h,冷却后加入 10 mL 盐酸

溶解,煮沸冷却后转移至 50 mL 容量瓶中,加入 25 mL 硫脲并定容。同时做样品空白 6 份,样品空白的处理与试样一致,处理后的样品溶液与标准系列比较定量总砷元素的含量。

## 2 试验结果

### 2.1 计算公式

$$x = \frac{(c - c_0) \times v_A}{m \times 1000} \times f$$

式中: $x$ ——试样中总砷的含量,mg/kg;

$C$ ——测定样液中总砷的含量,ng/mL;

$C_0$ ——样品空白中总砷的含量,ng/mL;

$V_A$ ——试样消解液的定容总体积,mL;

$m$ ——样品质量,g;

$f$ ——稀释倍数。

根据公式所得结果如表 1 所示。表 1 中显示了本次试验 6 个平行所称取的样品质量、定容体积。处理后的样品溶液通过原子荧光光度计分析得空白样品和试验样品的荧光值,与标准系列比较如图 1 定量试验样品总砷元素的含量,是评定不确定度

收稿日期:2020-04-22

基金项目:辽宁省昌图县眼鹅健康养殖科技特派团项目(2019JH5/10100003);乡村振兴产业提升项目(1205314)

\* 通讯作者:李 喆,女,1979 年生,研究员,主要从事动物营养与动物育种研究。

张艳春,女,1983 年生,硕士,畜牧师。

所需量值。

### 2.2 标准曲线

标准曲线见图 1。

## 3 不确定度评定

### 3.1 测量模型

$$Y = f(rep, m, V_A, C_0, C_n, S_0)$$

式中:  $Y$ ——试样中总砷含量;

$rep$ ——测量重复性;

$m$ ——样品质量;

$V_A$ ——样品定容体积;

$C_0$ ——标准溶液;

$C_n$ ——标准曲线拟合;

$S_0$ ——样品空白。

### 3.2 识别测量中不确定度来源

由 3.1 的测量模型描述可知, 不确定度的来源主要由 6 个输出量来评定, 用因果图表示(图 2)。

### 3.3 不确定度分量评定

1) 评定  $rep$  的相对标准不确定度  $urel(rep)$ 。称取试验样品 6 份, 按照同样的测量条件进行平行测定, 测定结果见表 2, 平均值  $\bar{x} = 0.0235 \text{ mg/kg}$ , 标准偏差  $s(x) = 0.0003785$ 。则  $u(rep)$  为:

$$u(rep) = \sqrt{\frac{1}{n(n-1)} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} = \frac{s(x)}{\sqrt{n}} = \frac{0.0003785}{\sqrt{6}} = 0.00015 \text{ mg/kg}$$

$$Urel(rep) \text{ 为: } u_{rel}(rep) = \frac{u(rep)}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0.00015}{0.0235} = 0.6382\%$$

2) 评定  $m$  的相对标准不确定度  $urel(m)$ 。样品质

表 1 试验结果

序号	样品质量/g	定容体积/ mL	样品浓度/ (ng/mL)	样品荧光值	样品空白/ (ng/mL)	样品空白平均/ (ng/mL)	样品空白 荧光值	砷含量/ (mg/kg)
1	2.174 0	50.00	1.264 6	259.13	0.249 5		36.95	0.023 3
2	2.192 4	50.00	1.280 0	262.50	0.245 9		36.17	0.023 5
3	2.156 8	50.00	1.228 1	251.15	0.258 6		38.94	0.022 6
4	2.128 6	50.00	1.227 4	250.99	0.251 8	0.249 0	37.46	0.022 9
5	2.125 3	50.00	1.274 8	261.37	0.248 9		36.83	0.024 1
6	2.184 2	50.00	1.330 3	273.51	0.239 5		34.76	0.024 7

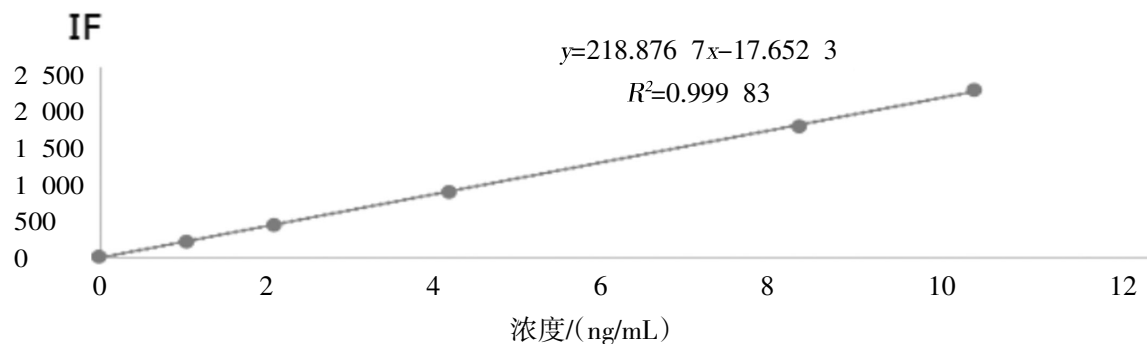


图 1 标准曲线图

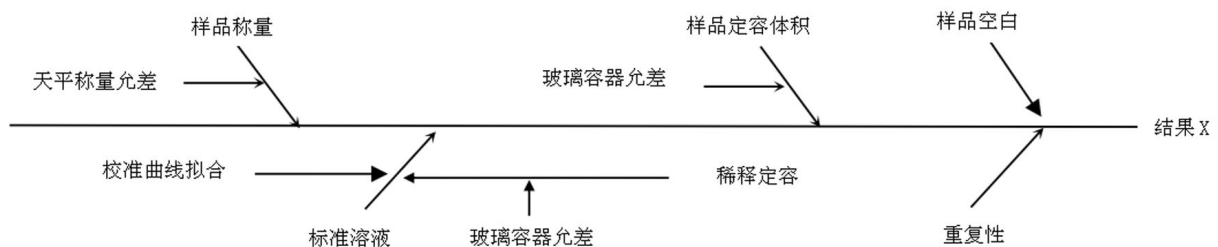


图 2 不确定度来源

量的标准不确定度主要影响量为天平最大允许误差,查得天平检定证书的最大允许误差为 $\pm 0.1$  mg。实际操作中使用电子天平是自动显示数字的天平,由一次回零称取试样约 2 g,精确到 0.1 mg,按照均匀分布( $k = \sqrt{3}$ ),则  $u(m)$ 为:

$$u(m) = \frac{0.1}{k} = \frac{0.1}{\sqrt{3}} = 0.058 \text{ mg}$$

$u_{rel}(m)$ 为:

$$u_{rel}(m) = \frac{u(m)}{m} \times 100\% = \frac{0.058}{2 \times 10^3} \times 100\% = 0.0029\%$$

3) 评定  $V_A$  的相对标准不确定度  $u_{rel}(V_A)$ 。 $u_{rel}(V_A)$ 来自样品前处理后中的容量瓶,本试验使用的是 50 mL 容量瓶,容量瓶的标准不确定度包括容量瓶的容量允许误差  $u(V_A)$ 引入的不确定度和温度影响引起的误差  $u(V_C)$ 引入的不确定度组成,本次测量过程实验室温度为 20 °C,因此  $u(V_C)$ 未参与计算。经查询标准 JJG 196-2006《常用玻璃量器》规定,20 °C时 50 mL 容量瓶(A 级)的容量最大允许误差为 $\pm 0.05$  mL。按照均匀分布( $k = \sqrt{3}$ ),则

$$u(V_A) \text{为: } u(V_A) = \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.02886 \text{ mL}$$

$u_{rel}(V_A)$ 为:

$$u_{rel}(V_A) = \frac{u(V_A)}{50} \times 100\% = \frac{0.02886}{50} \times 100\% = 0.0577\%$$

4) 评定砷标准溶液的相对标准不确定度  $u_{rel}(C_0)$ 。标准溶液引入的不确定度由标准物质证书的不确定度  $u(C_s)$ 和标准储备液配制过程引入的不确定度  $u(C_p)$ 组成。本试验所用砷标准溶液采用的是国家标准物质 GBW08611,标准值为 1 000  $\mu\text{g/mL}$ ,证书中给出的不确定度为  $U = \pm 1 \mu\text{g/mL}$ ,包含因子  $k=2$ ,则其标准不确定度为:

$$u(C_1) = \frac{U}{k} = \frac{1}{2} = 0.5 \mu\text{g/mL}$$

标准物质引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(C_s) = \frac{u(C_1)}{C} \times 100\% = \frac{0.5}{1000} \times 100\% = 0.05\%$$

标准溶液配制过程引入的不确定度:

①标准溶液储备液配制:取 1.0 mL 总砷标准溶液稀释至 100 mL,浓度为 10  $\mu\text{g/mL}$ 。

②标准稀释液配制:取 1.0 mL 标准储备液(10  $\mu\text{g/mL}$ )稀释至 100 mL,浓度为 100  $\text{ng/mL}$ 。

③标准使用液:取 10 mL 标准中间液,加入浓

盐酸 5 mL,5%的硫脲和 5%抗坏血酸 10 mL,定容至 100 mL,配制成 10  $\text{ng/mL}$  的砷标准工作液。由仪器自动稀释成浓度为 0、1、2、4、8、10  $\text{ng/mL}$  的标准曲线(根据仪器需要配制)。

计算公式:标准使用液第  $n$  点

$$C_p = \frac{1000 \times V_{\text{吸管 } 1\text{mL}} \times V_{\text{吸管 } 10\text{mL}} \times V_{\text{吸管 } 1-5\text{mL}}}{V_{\text{容量瓶 } 100} \times V_{\text{容量瓶 } 100} \times V_{\text{容量瓶 } 100}}$$

JJG 196-2006《常用玻璃量器》规定,20 °C时 100 mL 容量瓶(A 级)的容量最大允许误差为 $\pm 0.1$  mL; $\pm 1.0$ 、 $\pm 5.0$ 、 $\pm 10$  mL 单标线吸管(A 级)的容量最大允许误差分别为 $\pm 0.007$ 、 $\pm 0.015$ 、 $\pm 0.020$  mL,按照均匀分布( $k = \sqrt{3}$ ),则定容到 100 mL 容量瓶引入的相对标准不确定度:

$$u_{rel}(V_{\text{容量瓶 } 100\text{mL}}) = \frac{u(V_{100\text{mL}})}{100} \times 100\% = \frac{0.1/\sqrt{3}}{100} \times 100\% = 0.0577\%$$

1.0 mL 分度吸管引入的相对标准不确定度:

$$u_{rel}(V_{\text{吸管 } 1\text{mL}}) = \frac{u(V_{\text{吸管 } 1\text{mL}})}{1} \times 100\% = \frac{0.007/\sqrt{3}}{1} \times 100\% = 0.4041\%$$

5.0 mL 单标线吸管引入的标准不确定度:

$$u_{rel}(V_{\text{吸管 } 5\text{mL}}) = \frac{u(V_{\text{吸管 } 5\text{mL}})}{5} \times 100\% = \frac{0.015/\sqrt{3}}{5} \times 100\% = 0.1732\%$$

10.0 mL 单标线吸管引入的标准不确定度:

$$u_{rel}(V_{\text{吸管 } 10\text{mL}}) = \frac{u(V_{\text{吸管 } 10\text{mL}})}{10} \times 100\% = \frac{0.020/\sqrt{3}}{10} \times 100\% = 0.1154\%$$

标准溶液配制过程引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(C_p) = \sqrt{(3 \times u_{rel}(V_{\text{容量瓶 } 100\text{mL}}))^2 + (2 \times u_{rel}(V_{\text{吸管 } 1\text{mL}}))^2 + u_{rel}^2(V_{\text{吸管 } 5\text{mL}}) + (2 \times u_{rel}(V_{\text{吸管 } 10\text{mL}}))^2} \\ = \sqrt{(3 \times 0.0577\%)^2 + (2 \times 0.4041\%)^2 + 0.1732\%^2 + (2 \times 0.1154\%)^2} = 0.8754\%$$

标准溶液引入的相对标准不确定度

$$u_{rel}(C_0) = \sqrt{u_{rel}(C_s)^2 + u_{rel}(C_p)^2} = \sqrt{0.05\%^2 + 0.8754\%^2} = 0.8768\%$$

5) 评定砷标准曲线拟合引入的相对标准不确定度  $u_{rel}(C_n)$ 。标准曲线浓度点分别为( $\text{ng/mL}$ ):0、1、2、4、8、10。上机测定 2 次,得到的数据见表 2,用最小二乘法拟合,得出标准曲线方程为  $y = 218.8767x - 17.6523$ ,则  $y_j$  见表 2,单一样品溶液测定: $p=2, n=12$ 。

根据表 2 计算标准曲线剩余标准差:

$$s(y) = \sqrt{\frac{1}{(n-2)} \sum_{i=1}^n (y_i - y_j)^2} = 41.9422$$

式中: $y_i$ ——标准溶液各浓度点对应的荧光值;

$y_j$ ——根据标准曲线算出的理论荧光值;

$n$ ——标准曲线的点数。

表 2 计算  $u_{rel}(C_n)$  的数据

序号	$y_i$	$b_0$	$b$	$y_j$	$c_d$	$c_j$	$\bar{c}_i$
1	0.000 0			0.080 6		0	
2	0.000 0			0.080 6		0	
3	195.61			0.974 3		1	
4	197.43			0.982 6		1	
5	415.67			1.979 7		2	
6	415.73	17.652 3	218.876 7	1.980 0	0.023 5	2	4.166 7
7	848.58			3.957 6		4	
8	850.1			3.964 5		4	
9	1 713.17			7.907 7		8	
10	1 711.65			7.900 8		8	
11	2 190.75			10.089 7		10	
12	2 192.47			10.097 5		10	

标准曲线拟合引入的标准不确定度

$$u(C_n) = \frac{s(y)}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_d - \bar{c}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (c_j - \bar{c}_i)^2}} = 0.1527 \text{ ng/mL}$$

式中： $s(y)$ ——校正标准曲线剩余标准差，相当于标准曲线上的荧光值；

$b$ ——校正标准曲线斜率；

$p$ ——单一样品溶液测量次数(2 次)；

$c_d$ ——单一待测样品(上机液)浓度的平均值,ng/mL；

$n$ ——测定的校正标准曲线的点数；

$c_j$ ——标准曲线各点浓度理论值,ng/mL；

$\bar{c}_i$ ——标准曲线各点浓度平均值,ng/mL。

标准曲线拟合引入的相对标准不确定度：

$$u_{rel}(C_n) = \frac{u(C_n)}{c_d} = \frac{0.1527}{1.2675} \times 100\% = 12.0492\%$$

6) 评定  $S_0$  引入的相对标准不确定度  $u_{rel}(S_0)$ 。平行做 6 个样品空白,不加样品,其余操作同测量过程。样品空白测定结果的荧光值见表 1,平均值  $\bar{s}_0=36.851 6$ ,标准偏差  $S(S_0)=1.384 2$ 。

样品空白的标准不确定度：

$$u(s_0) = \sqrt{\frac{1}{n(n-1)} \sum_{i=1}^n (s_{0i} - \bar{s}_0)^2} = \frac{s(s_0)}{\sqrt{6}} = \frac{1.3842}{\sqrt{6}} = 0.5651$$

样品空白的相对标准不确定度：

$$u_{rel}(s_0) = \frac{u(s_0)}{s_0} = \frac{0.5651}{36.8516} \times 100\% = 1.5334\%$$

### 3.4 计算相对合成标准不确定度和合成标准不确定度

相对合成标准不确定度为：

$$u_{rel}(y) = \sqrt{u_{rel}^2(rep) + u_{rel}^2(m) + u_{rel}^2(V_A) + u_{rel}^2(C_0) + u_{rel}^2(C_n) + u_{rel}^2(S_0)} = 12.1948\%$$

试样中总砷含量的测定结果平均值为  $\bar{x} = 0.023 5 \text{ mg/kg}$ ,因此,合成标准不确定度为：

$$u_c(y) = \bar{x} u_{rel}(y) = 0.0235 \times 12.1948\% = 0.0029 \text{ mg/kg}$$

### 3.5 扩展不确定度

按国际惯例,95%置信概率下取包含因子  $k=2$ ,将合成标准不确定度乘以包含因子计算得到测量结果的扩展不确定度为：

$$U = k u_c(y) = 2 \times 0.0029 = 0.0058 \text{ mg/kg}$$

### 3.6 报告测量结果

测定结果报告为： $(0.0235 \pm 0.0058) \text{ mg/kg}$ 。

## 4 结 论

原子荧光法测定饲料中总砷含量需要注意：所使用的试剂均要求至少优级纯；注意硼氢化钾和氢氧化钾的配置比例；抗坏血酸要现用现配；容量瓶需用稀硝酸浸泡；标准溶液需逐级稀释,不可一步到位以及原子荧光光度计的预热和维护等都需注意。含量检测的测量不确定度的来源应该根据实际检测过程中的实际情况进行具体分析,本次试验忽略了仪器本身的不确定度,又由于试验温度在  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ,因此温度变化引入的不确定度也未参与评定。所以本次试验中不确定度是主要从测量重复性、样品质量、样品定容体积、标准溶液配制、标准曲线拟合和样品空白 6 个方面引入的标准不确定度来进行评定。