

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.05.019

原子吸收分光光度计测定槟榔中钙元素含量的不确定度评定

Uncertainty evaluation in determination of Ca in Areca
by atomic absorption spectrophotometer

康志娇^{1,2} 赵志友^{1,2} 袁 河^{1,2} 刘 佳^{1,2} 夏延斌³

KANG Zhi-jiao^{1,2} ZHAO Zhi-you^{1,2} YUAN He^{1,2} LIU Jia^{1,2} XIA Yan-bin³

(1. 湖南省槟榔加工与食用安全工程技术研究中心, 湖南 湘潭 411100; 2. 湖南宾之郎

食品科技有限公司, 湖南 湘潭 411100; 3. 湖南农业大学食品科技学院, 湖南 长沙 410128)

(1. Hunan Areca Processing and Edible Safety Engineering Technology Research Center, Xiangtan, Hunan 411100, China; 2. Hunan Bingzhilang Food Science and Technology Co., Ltd., Xiangtan, Hunan 411100, China; 3. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

摘要:为提高测量结果的准确度,依据 JJF 1059.1—2012《测量不确定度的评定与表示》,对原子吸收分光光度计测定槟榔中 Ca 元素含量的不确定度进行评价,建立了槟榔中钙元素含量测定的数学模型,并对其不确定度来源进行分析和量化,最终计算出合成不确定度及扩展不确定度。结果表明,标准曲线拟合及原子吸收分光光度计引入的不确定度影响较大,当槟榔中 Ca 元素的含量为 3.16 mg/kg 时其扩展不确定为 0.04 mg/kg ($k=2$, 置信区间 95%)。

关键词: 槟榔; 钙; 不确定度; 原子吸收分光光度计

Abstract: In order to improve the accuracy in measurement, the uncertainty of determination of Ca in *Areca* by atomic absorption spectrophotometer (AAS) was evaluated according to “JJF 1059.1—2012 Evaluation and Expression of Uncertainty in Measurement”. First, a mathematical model of determination of Ca in *Areca* was established at first. Then, the source of uncertainty was analyzed and the uncertainty components were quantified. Finally, the synthetic uncertainty and expanded uncertainty were calculated. The uncertainties of standard curve fitting and AAS had a greater influence on the expanded uncertainty. When the content of Ca in *Areca* was 3.16 mg/kg, the expanded uncertainty was 0.04 mg/kg ($k=2$, $P=95\%$).

Keywords: *Areca*; Ca; uncertainty; atomic absorption spectrophotometer

钙元素对人体有至关重要的作用,不仅是人体骨骼的主要组成成分,同时还可调节人体内多种酶的活性、体内激素的分泌,参与神经递质的释放、肌肉的活动、血液凝固,钙还具有调节心律、降低心血管的通透性等重要作用^[1-3],但体内钙含量过高亦不利于人体健康,会导致心肌细胞损伤及死亡,引发人体结石等^[4-5]。槟榔产于南亚、东南亚、热带太平洋地区和东非部分地区^[6],含有多种独有的生物碱和多酚物质,具有一定的神经兴奋作用,适量食用后可使思维活跃^[7-9],深受广大司机消费者的欢迎。而钙在槟榔的神经兴奋作用中扮演着至关重要的角色,实践经验表明咀嚼槟榔后的轻快感只有在钙离子存在的情况下才能更易体现。目前已有关于原子吸收分光光度计测量薏苡、奶粉等食品中钙含量测定不确定度评价的报道^[10-11],但未见针对槟榔中钙含量测定的不确定度评价。本研究采用原子吸收分光光度计测定槟榔中钙元素含量,分析影响测定结果的不确定度分量,根据影响较大的不确定度分量提出改进措施,以提高槟榔中钙元素含量测定的准确度。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

槟榔:老湘潭,批号 20181207X 广 5491,湖南宾之郎食品科技有限公司;

钙标准溶液:1 000 $\mu\text{g/mL}$,国家有色金属及电子材

基金项目:长株潭国家自主创新示范区专项(编号:2017SK2430);湖南省科技创新计划项目(编号:2017TP2028,2017ZK3138)

作者简介:康志娇(1989—),女,湖南宾之郎食品科技有限公司工程师,硕士。E-mail: kzjiao@126.com

收稿日期:2019-02-03

料分析测试中心；

其它主要试剂：分析纯，国药集团。

1.1.2 仪器

原子吸收光谱仪：AA-6880F/AAC 型，日本岛津公司；

马弗炉：SX-4-10 型，天津市泰斯特仪器有限公司；

分析天平：AR224CN 型，奥豪斯仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的配制 用移液管移取适量钙标准溶液至容量瓶中，用 5% 硝酸溶液定容后摇匀配制成浓度为 100 μg/mL 的钙标准中间液；再用 5 mL 移液管分别准确移取 2.5、2.0、1.5、1.0、0.5 mL 钙标准中间溶液至 10 mL 容量瓶中，在各容量瓶中加入 0.5 mL 镧溶液（20 g/L），用 5% 硝酸溶液定容至刻度即为钙标准工作液。

1.2.2 样品的前处理 准确称取已切碎的槟榔样品约 0.5 g 置坩埚中，先炭化，再于 550 °C 灰化 3~4 h，至试样呈白灰状；若试样未灰化完全则加数滴硝酸后小火蒸干继续灰化 1~2 h 至试样灰化完全；用 50% 的硝酸溶液溶解转移已灰化试样至 100 mL 容量瓶中，加 5 mL 镧溶液后用水定容至刻度，摇匀，制成镧溶液浓度为 1 g/L 的待测溶液，平行操作 6 份，同时做试剂空白试验。

1.2.3 光谱条件 波长 422.7 nm，狭缝 0.7 nm，灯电流 10 mA，氘灯扣背景模式，空气流量 15.0 L/min，乙炔流量 2.0 L/min。

1.3 数学模型的建立

槟榔中钙含量均按式(1)计算：

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V}{m} \quad (1)$$

式中：

X——试样中被测元素含量，mg/g；

ρ——测试液中元素的质量浓度，mg/L；

ρ₀——测定空白试液中元素的质量浓度，mg/L；

V——样液体积，mL；

m——试样的质量，g。

计算结果保留 3 位有效数字。

2 结果与分析

2.1 不确定度来源分析

因果图可直观表述影响不确定度的各分量，故其在不确定度评价中应用广泛。根据不确定度评价的一般步骤，通过对槟榔中钙含量测定过程的分析，其测量结果的不确定度来源见图 1，主要包括标准曲线引入的不确定度、样品质量引入的不确定度、定容体积引入的不确定度、样品测量重复性引入的不确定度及仪器设备引入的不确定度。

2.2 各分量标准不确定度评价

2.2.1 标准曲线引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(C)$ 标

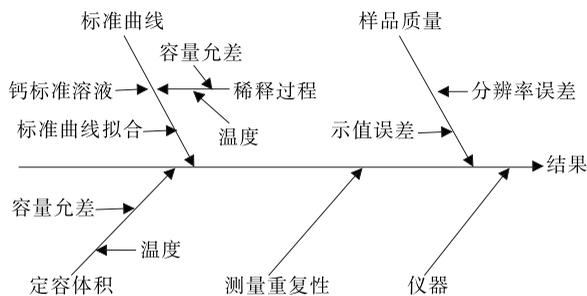


图 1 不确定度来源因果图

Figure 1 The causal diagram of the source of uncertainty

准曲线引入的不确定度由标准曲线拟合引入的不确定度、标准溶液的不确定度及配置稀释过程引入的不确定度组成。

(1) 钙标准溶液引入的不确定度 $u_{rel}(\rho)$: Ca 标准溶液标准物质证书给出钙标准溶液浓度为 1 000 μg/mL，其相对扩展不确定度为 0.7% ($k=2$)，则其相对标准不确定度为：

$$u_{rel}(\rho) = 0.007 \div 2 = 0.00350。$$

(2) 标准溶液稀释过程引入的相对不确定度 u_{rel} (稀释)：在由钙标准溶液稀释配制成钙标准工作液的过程中 5 mL 移液管使用 2 次，50 mL 容量瓶及 10 mL 容量瓶各使用 1 次，其不确定度均包含容量允差引入的不确定度及温度引入的不确定度。

① 容量允差引入的不确定度：所用玻璃器具均为 A 级，经查 JJG 196—2006，5 mL 移液管、50 mL 及 10 mL 容量瓶在室温下的容量允差分别为 0.025、0.050、0.020 mL，故此类容量器皿引入的容量允差为：

$$u_{5.00}(V) = \frac{0.025 \times \sqrt{2}}{5.00 \times \sqrt{3}} = 0.00289；$$

$$u_{50.00}(V) = \frac{0.050}{50.00 \times \sqrt{3}} = 0.000577；$$

$$u_{10.00}(V) = \frac{0.020}{10.00 \times \sqrt{3}} = 0.00115。$$

② 温度引入的不确定度：JJG 196—2006《常用玻璃量器检定规程》中规定容量瓶及移液管的标准温度为 20 °C，实验室温度为 (20 ± 5) °C，水的体积膨胀系数为 $2.08 \times 10^{-4} \text{ °C}^{-1}$ ，则 5 mL 移液管、50 mL 容量瓶、10 mL 容量瓶由温度差引起的水的体积变化分别为 $5.00 \text{ mL} \times 5 \text{ °C} \times 2.08 \times 10^{-4} \text{ °C}^{-1} = 0.00520 \text{ mL}$ 、 $50.00 \text{ mL} \times 5 \text{ °C} \times 2.08 \times 10^{-4} \text{ °C}^{-1} = 0.0520 \text{ mL}$ 、 $10.00 \text{ mL} \times 5 \text{ °C} \times 2.08 \times 10^{-4} \text{ °C}^{-1} = 0.0104 \text{ mL}$ ，取矩形分布，则温度对 5 mL 移液管、50 mL 容量瓶、10 mL 容量瓶的影响所引入的相对标准不确定度为：

$$u_{5.00}(T) = \frac{0.00520 \times \sqrt{2}}{5.00 \times \sqrt{3}} = 0.000849；$$

$$u_{50.00}(T) = \frac{0.0520}{50.00 \times \sqrt{3}} = 0.000600;$$

$$u_{10.00}(T) = \frac{0.0104}{10.00 \times \sqrt{3}} = 0.000600.$$

在标准溶液稀释过程 5 mL 移液管、50 mL 容量瓶、10 mL 容量瓶引入的相对标准不确定度分别为:

$$u_{rel\ 5.00} = \sqrt{0.00289^2 + 0.000849^2} = 0.00301;$$

$$u_{rel\ 50.00} = \sqrt{0.000577^2 + 0.000600^2} = 0.000832;$$

$$u_{rel\ 10.00} = \sqrt{0.00115^2 + 0.000600^2} = 0.00130.$$

故标准溶液稀释过程引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(\text{稀释}) = \sqrt{0.00301^2 + 0.000832^2 + 0.00130^2} = 0.00312.$$

(3) 最小二乘法拟合标准曲线引入的相对不确定度 $u_{rel}(q)$: 配制一系列钙标准工作液, 每个浓度平行操作 3 份, 注入原子吸收分光光度计测定相应的吸光度值 (表 1), 用最小二乘法对浓度和吸光值进行拟合得标准曲线方程 $y = 0.0541x + 0.0337, r^2 = 0.9999$.

表 1 标准工作液浓度及其响应值

Table 1 The concentration and absorbance of standard working solution

钙浓度/ (mg · L ⁻¹)	吸光度值			
	1	2	3	平均值
4	0.2496	0.2424	0.2434	0.2451
6	0.3653	0.3547	0.3584	0.3595
8	0.4837	0.4659	0.4730	0.4742
10	0.5837	0.5726	0.5726	0.5763
12	0.6825	0.6746	0.6762	0.6778

本试验对待测试样平行测定了 6 次, 最终计算出待测溶液中钙浓度 c_0 的标准不确定度为:

$$u(q) = \frac{s(A)}{a} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_0 - \bar{c})^2}{S_{cc}}}, \quad (2)$$

式中:

S_{cc} ——标准溶液浓度的残差的平方和, $S_{cc} =$

$$\sum_{j=1}^n (c_j - \bar{c})^2;$$

$s(A)$ ——标准工作液吸光度值的残差的标准差;

\bar{c} ——标准工作液的平均浓度, mg/L;

c_0 ——试样中钙元素浓度, mg/L;

a ——标准曲线斜率;

b ——标准曲线截距;

n ——标准溶液的测量次数, 本试验为 15;

p —— c_0 的测量次数, 本试验为 6.

故标准曲线引入 c_0 的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(q) = \frac{u(c_0)}{c_0}. \quad (3)$$

标准曲线拟合引入的标准不确定度 $u(q)$ 和相对标准不确定度 $u_{rel}(q)$ 见表 2:

表 2 相对标准不确定度 $u_{rel}(q)$ 计算表

Table 2 The calculation sheet of relative standard uncertainty $u_{rel}(q)$

组分	$c_0 /$ (mg · L ⁻¹)	$s(A)$	S_{cc}	$u(q)$	$u_{rel}(q)$
钙	5.4264	0.007383	40.00	0.08619	0.0159

故标准曲线引入的相对不确定度:

$$u_{rel}(C) = \sqrt{u_{rel}^2(p) + u_{rel}^2(\text{稀释}) + u_{rel}^2(q)} = \sqrt{0.00350^2 + 0.00312^2 + 0.0159^2} = 0.00469.$$

2.2.2 样品质量引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(M)$ 样品质量引入的相对标准不确定度包括天平分辨率误差引入的不确定度以及天平示值误差引入的不确定度, 由于天平检定证书给出其示值误差为 0 mg, 所以样品质量引入的不确定度即为天平分辨率误差引入的不确定度.

核桃中钙的含量测定方法要求称取样品 0.5 g, 精确到 0.0001 g, 使用天平的最小分度为 0.0001 g, 取矩形分布, 故由天平分辨率误差引入的不确定度为:

$$u(M) = \frac{0.1 \div 2}{\sqrt{3}} = 0.02887 \text{ mg};$$

$$u_{rel}(M) = \frac{0.02887}{500} = 0.0000577.$$

2.2.3 定容体积引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(V)$

(1) 容量允差引入的不确定度: 待测液采用 100 mL 容量瓶配制, 经查 JJG 196—2006, 100 mL A 级容量瓶在室温下的容量允差为 ± 0.1 mL, 故 100 mL 容量瓶的容量允差为:

$$u(V_5) = \frac{0.1}{\sqrt{3}} = 0.0577 \text{ mL};$$

$$u_{rel}(V_5) = \frac{0.0577}{100.00} = 0.000577.$$

(2) 温度对定容体积影响所引入的不确定度: 100 mL 容量瓶试验和校准温差最大为 5 °C, 温度引起的体积最大变化为 $100.00 \text{ mL} \times 5 \text{ °C} \times 2.08 \times 10^{-4} \text{ °C}^{-1} = 0.104 \text{ mL}$, 其不确定度取矩形分布, 结果为:

$$u(V_{t3}) = \frac{0.104}{\sqrt{3}} = 0.0600 \text{ mL};$$

$$u_{rel}(V_{t3}) = \frac{0.0600}{100.00} = 0.000600.$$

因此提取液体积的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(V) = \sqrt{u_{rel}^2(V_5) + u_{rel}^2(V_{t3})} = 0.000832.$$

2.2.4 样品重复测量引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(\omega_{rep})$ 样品重复测量引入的相对标准不确定度即为试验过

程中随机效应所引入的相对标准不确定度。本试验中同一样品平行测定 6 次, 得待测样中钙含量的平均值 ω 以及单次测量的标准不确定度 $s(\omega_{rep})$, 取矩形分布, 则钙平均含量的标准不确定度及相对标准不确定度按式(4)、(5)计算, 最终样品测量重复性引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(\omega_{rep})$ 为 0.001 82。

$$u(\omega_{rep}) = s(\omega_{rep}) \div \sqrt{6}, \quad (4)$$

$$u_{rel}(\omega_{rep}) = u(\omega_{rep}) \div \omega. \quad (5)$$

2.2.5 仪器设备引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(Y)$ 试验所用原子吸收分光光度计的校准证书显示其扩展不确定度为 0.005 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($k=2$), 因此原子吸收分光光度计的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(Y) = \frac{0.005}{2} = 0.002\ 50.$$

2.3 合成相对标准不确定度

待测样中钙含量测定结果的相对合成标准不确定度为:

$$u_c(\text{Ca}) = \sqrt{u_{rel}^2(C) + u_{rel}^2(M) + u_{rel}^2(V) + u_{rel}^2(\omega_{rep}) + u_{rel}^2(Y)} = \sqrt{0.004\ 69^2 + 0.000\ 057\ 7^2 + 0.000\ 832^2 + 0.001\ 82^2 + 0.002\ 50^2} = 0.005\ 68;$$

$$u_c(\text{Ca}) = u_{rel}(\text{Ca}) \times \omega = 0.005\ 68 \times 3.16 = 0.018\ 0.$$

2.4 扩展不确定度

在没有特殊要求的情况下, 按国际惯例, 取扩展因子 $k=2$, 则槟榔中钙含量的扩展不确定度为:

$$U_{\text{Ca}} = k \times u_c(\text{Ca}) = 0.04.$$

槟榔中钙含量为: (3.16 ± 0.04) mg/kg ($k=2$, 置信区间 95%)。

3 结论

槟榔中钙元素含量测定结果的不确定度来源于标准曲线、样品质量、定容体积、测量重复性以及测量仪器。评价结果表明在不确定度各分量中标准曲线引入的不确定度贡献最大, 贡献率为 47.38%, 其中标准曲线引入的不确定主要来源于标准曲线拟合; 其次为仪器和测量重

复性, 贡献率分别为 25.25%, 18.38%; 质量引入的不确定度影响最小, 基本可忽略。在今后的检测工作中, 可通过使用精密度更高的器具配制标准溶液、增加标准曲线各浓度点的测定次数等降低标准曲线引入的不确定度; 可通过加强原子吸收分光光度计的维护和保养、及时对原子吸收分光光度计进行检定校准、保证原子吸收分光光度计置于适宜的温湿度环境中等方法降低仪器的不确定度; 可通过加强试验人员的动手能力等降低测量重复性引入的不确定度。

参考文献

[1] 叶强, 葛毅强. 钙作用机理及钙制剂的研究[J]. 食品研究与开发, 1998, 19(1): 26-29.

[2] 卓丽玲, 刘宗平. 钙对成骨细胞活性、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 及 GJIC 的影响[J]. 中国兽医学报, 2011, 31(9): 1 343-1 347.

[3] 丰美福, 史玉玲, 王又明, 等. 巨噬细胞激活及钙作用的初步研究[J]. 生物物理学报, 1993, 9(2): 226-233.

[4] 李俊平, 郭丽丽, 陈中, 等. 钙超载与心肌缺血再灌注损伤及中药干预策略[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(11): 2 168-2 173.

[5] 邓华, 杨义, 陆丽兰, 等. 结石类型与年龄、性别的相关性研究[J]. 临床泌尿外科杂志, 2018, 33(12): 968-971.

[6] 杨连珍, 刘小香, 李增平. 世界槟榔生产现状及生产技术研究[J]. 世界农业, 2018, 7(471): 121-128.

[7] 王斌, 杨大伟, 匡理. 槟榔生理活性及危害控制研究进展[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(10): 219-224.

[8] CHU Nai-shin. Effects of Betel chewing on the central and autonomic nervous systems [J]. Journal of Biomedical Science, 2001, 8(3): 229-236.

[9] CHU Nai-shin. Neurological aspects of areca and betel chewing[J]. Addiction Biology, 2002, 7(1): 111-114.

[10] 梁艺馨, 刘康书, 蔡秋, 等. 连续光源火焰原子吸收法同时测定苾苳中铜、铁、钙和锰的不确定度评价[J]. 食品科学, 2016, 37(12): 134-138.

[11] 胡利敏, 苏运聪, 李飞, 等. 原子吸收火焰法测定婴幼儿奶粉中钙质量分数的不确定度评估[J]. 中国乳品工业, 2018, 46(8): 48-50.

信息窗

欧盟批准维生素 D₃ 作为活性物质用于 14 型产品的生物农药

据欧盟官方公报消息, 2019 年 4 月 24 日, 欧盟委员会发布(EU)2019/637 号条例, 批准维生素 D₃ 作为活性物质用于 14 型产品的生物农药。

据了解, 维生素 D₃ 又称胆钙化醇, 是人类生命的基本元素, 主要是由人体自身合成的, 也可来自动物性

食物, 如肝类, 尤其是由海产类的鱼肝中提炼的鱼肝油。当其用作杀鼠剂时, 与抗凝血活性物质相比, 预计对人类的风险较低。

本法规在欧盟官方公报上公布后的第 20 天生效。

(来源: <http://news.foodmate.net>)