

魏燕丽. 固相萃取-高效液相色谱法测定水中苯并(a)芘含量及不确定度评定[J]. 净水技术, 2025, 44(11): 204-211.

WEI Y L. Determination and uncertainty evaluation for benzo(a) pyrene in water by SPE-HPLC method [J]. Water Purification Technology, 2025, 44(11): 204-211.

固相萃取-高效液相色谱法测定水中苯并(a)芘含量及不确定度评定

魏燕丽*

(韶关市科源水质检测有限公司, 广东韶关 512000)

摘要 【目的】通过固相萃取-高效液相色谱荧光检测法准确测定水体(出厂水与地表水)中强致癌物苯并(a)芘(BaP)的含量,并系统地评定整个测量过程引入的不确定度。分析研究试验过程每个操作步骤引入的不确定度分量对总测量结果偏差的贡献,规范试验操作,降低水体中 BaP 测量过程不确定度的量值,提高试验测量结果的准确性和可信赖程度。【方法】依据国家标准方法,采用固相萃取对水样进行富集与净化,高效液相色谱分离荧光检测 BaP,以外标法定量。基于国家计量技术规范,对测量全过程进行不确定度评定。【结果】在 95%置信区间,包含因子 $k=2$ 时,本试验出厂水和地表水加标试样的测量结果分别为 $(8.18 \pm 1.08) \text{ ng/L}$ 和 $(8.24 \pm 1.08) \text{ ng/L}$, 2 种试样的扩展不确定度均为 $\pm 1.08 \text{ ng/L}$ 。【结论】测量仪器和标准溶液配制是主导测量不确定度的关键来源,两者贡献超 60%;样品前处理过程和标准曲线拟合虽贡献次之,但在低浓度定量中仍需关注;重复性测量引入的不确定度相对较小。为有效降低总不确定度,应优先选用更精准的测量仪器、更高精度(允差更小)的 A 级量器,精确控制实验室温度变化范围[如 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$],严格执行量具的定期检定/校准与期间核查,加强试验人员标准化操作的培训与考核,以达到试验结果更加精确的目的。

关键词 苯并(a)芘 不确定度评定 固相萃取-高效液相色谱法 标准曲线 误差传递

中图分类号: TU991 文献标志码: A 文章编号: 1009-0177(2025)11-0204-08

DOI: 10.15890/j.cnki.jsjs.2025.11.023

Determination and Uncertainty Evaluation for Benzo(a) pyrene in Water by SPE-HPLC Method

WEI Yanli*

(Shaoguan Keyuan Water Quality Testing Co., Ltd., Shaoguan 512000, China)

Abstract [Objective] To accurately determine the content of the potent carcinogen benzo(a) pyrene (BaP) in water (finished water and surface water) using solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography-fluorescence detection (SPE-HPLC-FLD), and to systematically evaluate the uncertainty introduced throughout the entire measurement process. Analyze the contribution of uncertainty components from each operational step to the total measurement deviation, standardize experimental procedures, reduce the magnitude of uncertainty in BaP measurement, and enhance the accuracy and reliability of experimental result. [Methods] Based on the national standard method, water samples were enriched and purified by solid-phase extraction. BaP was separated by HPLC, detected via fluorescence, and quantified by external standard method. Uncertainty was evaluated for the entire measurement process according to national metrological specifications. [Results] At a 95% confidence interval with a coverage factor $k=2$, the measured result for spiked finished water and surface water samples were $(8.18 \pm 1.08) \text{ ng/L}$ and $(8.24 \pm 1.08) \text{ ng/L}$, respectively. The expanded uncertainty for both sample types was $\pm 1.08 \text{ ng/L}$. [Conclusion] The measurement instruments and preparation of standard solutions are the key sources dominating measurement uncertainty, collectively accounting for over 60% of the total. Although sample pretreatment and standard curve fitting contribute less significantly, they still require attention in low-concentration quantification. The uncertainty introduced by repetitive measurements is relatively minor. To effectively reduce overall

[收稿日期] 2025-08-05

[通信作者] 魏燕丽(1970—),女,主要从事实验室质量管理工作,E-mail:sgsharon@163.com。

uncertainty, priority should be given to using more precise measurement instruments and higher-accuracy (smaller tolerance) class A volumetric glassware, strictly controlling laboratory temperature variations [e. g., $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$], rigorously implementing regular verification/calibration and intermediate checks of measuring tools, and enhancing the training and assessment of standardized operations for laboratory personnel. These measures aim to achieve more accurate test result.

Keywords benzo(a)pyrene uncertainty evaluation solid phase extraction-high performance liquid chromatography (SPE-HPLC) standard curve error transmission

苯并(a)芘,化学式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{12}$,是一种多环芳烃类化合物^[1]。苯并(a)芘具有很强的致癌性、致畸性和致突变性^[2]。苯并(a)芘广泛存在于人类生存的环境中,可通过水、空气、土壤等途径进入到食品,对人体健康产生巨大威胁。我国《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)规定,集中式生活饮用水地表水源地特定项目苯并(a)芘的限值为 2.8 ng/L ^[3],《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2022)则严控至 10 ng/L ^[4]。准确评估水体中苯并(a)芘的含量,特别是接近限值的低浓度水平,对保障饮用水安全和环境监测至关重要。高效液相色谱-荧光检测法因选择性好、灵敏度高,成为水体苯并(a)芘检测的主流方法^[5]。然而,高效液相色谱-荧光法虽然灵敏度高,但其测量结果的可靠性高度依赖于整个分析流程的精确性和可控性。标准曲线建立过程中的微小误差(如标准品稀释、曲线拟合)、复杂样品前处理步骤(如固相萃取的回收率波动、浓缩倍数的控制)以及仪器本身的精密度,都会引入显著的不确定度,影响最终结果的置信度。尤其在低浓度区间,这些不确定度分量可能占据主导地位,使得测量结果的分散性变大,难以满足严格的质量控制和法规符合性判断的需求。

近年来,环境监测、食品安全等不同领域纷纷开展对苯并(a)芘含量及不确定度评定的研究^[6-13],冯静等^[6]研究发现,当地下水中苯并(a)芘质量浓度低于 1 ng/L 时,超60%误差由标准曲线拟合和重复性贡献;褚琳琳等^[7]研究地表水中苯并(a)芘的不确定度超80%的贡献来源于前处理过程和标准曲线拟合,两者贡献分别为35%和52%。这些研究多聚焦于特定步骤或单一基质(如地下水或地表水),缺乏对固相萃取-高效液相色谱法(SPE-HPLC)测定水中苯并(a)芘全过程不确定度进行系统、定量化评定的研究,特别是针对不同水体基质(如出厂水与地表水)的比较研究更为少见。因此,明确识别并量化整个分析流程中各环节引入的不确

定度分量,确定其相对贡献大小,对于理解方法的关键误差来源,评估当前测量结果的可靠性范围,针对性优化试验操作以降低总不确定度,为实验室质量控制和质量保证提供依据,具有重要的实际意义和应用价值。

本试验参照《生活饮用水标准检验方法 第8部分:有机物指标》(GB/T 5750.8—2023)^[14]方法测定水体苯并(a)芘含量,并基于《测量不确定度评定与表示》(JJF 1059.1—2012)^[15]、《化学分析测量不确定度评定》(JJF 1135—2005)^[16]等规范,对测量全过程的不确定度进行系统评定。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:高效液相色谱仪(Agilent 1260 infinity II,美国 Agilent),配荧光检测器,配自动进样器(Agilent 1260 infinity II,货号 G7129A),反相色谱柱(Agilent ZORBAX Eclipse PAH C_{18} , $4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$ 不锈钢柱);全自动柱膜通用固相萃取仪(SepathsUP-6V,莱伯泰科),配固相萃取柱 PAH C_{18} (6 mL , 500 mg);高通量真空平行浓缩仪(RayKol MPE-16,温控 $\pm 1^\circ\text{C}$,浓缩样品容量为 $1 \sim 200 \text{ mL}$);超纯水机(Synergy[®] UV RemoteKit CN,美国 Millipore); 1 mL 单标移液管(允差: $\pm 0.007 \text{ mL}$); $100 \mu\text{L}$ 微量进样针(允差: $\pm 0.080 \mu\text{L}$); 10 mL 容量瓶(允差: $\pm 0.02 \text{ mL}$); 1 mL 分度吸量管(允差: $\pm 0.008 \text{ mL}$); 1000 mL 容量瓶(允差: $\pm 0.4 \text{ mL}$);终点浓缩杯(允差: $\pm 0.010 \text{ mL}$)。

标准物质:苯并(a)芘标准溶液(批号为445202,标准值为 $100 \mu\text{g/mL}$),购于上海安谱实验科技股份有限公司。

试剂:乙腈(色谱纯,默克);二氯甲烷(色谱纯,默克);甲醇(色谱纯,默克);异丙醇(色谱纯,默克);硫代硫酸钠(优级纯);抗坏血酸(优级纯);超纯水。

1.2 标准系列溶液配制

1.2.1 标准中间溶液配制

吸取 $100 \mu\text{L}$ 标准溶液($100 \mu\text{g/mL}$)至 10 mL

容量瓶用甲醇定容至刻度线,所得标准中间溶液质量浓度为 $1 \mu\text{g/mL}$ 。

1.2.2 标准使用溶液配制

吸取 20、50、100 μL 及 0.2、0.4、0.5 mL 标准中间溶液 ($1 \mu\text{g/mL}$) 至不同的 10 mL 容量瓶中,用甲醇分别定容至刻度线,所得 6 个标准点的标准使用溶液质量浓度分别为 2、5、10、20、40、50 ng/mL 。

1.3 样品前处理

(1) 地表水试样。柱活化:将 10 mL 二氯甲烷以 1~2 滴/s 的流速缓慢加入反相固相萃取柱 (PAH C_{18} 柱),在溶剂全部流出柱体后,再以相同的流速用 6 mL 甲醇和 6 mL 纯水对 PAH C_{18} 柱重复活化,确保 PAH C_{18} 柱充分润湿和充分活化。萃取:量取 1 000 mL 水样,以 3~6 mL/min 的流速使水样通过活化好的 PAH C_{18} 固相萃取柱进行富集,用 4 mL 二氯甲烷分 2 次洗脱 (流速 $\leq 1 \text{ mL/min}$) 吸附在 PAH C_{18} 固相萃取柱上的苯并(a)芘。浓缩:将洗脱液合并至终点浓缩杯中,用高通量真空平行浓缩仪将洗脱液浓缩至近干后,用甲醇定容至 1 mL 待测,浓缩倍数为 1 000 倍。

(2) 出厂水试样:柱活化、萃取、浓缩方法与地表水试样操作一致。

(3) 加标试样:分别在地表水、出厂水试样中选出苯并(a)芘含量为未检出的试样,进行苯并(a)芘加标,加标量均为 10 ng/L ,制备成 2 种不同基质的加标试样,2 种试样各做 6 个平行,其余步骤按上述处理方法进行柱活化、萃取、浓缩。

1.4 色谱条件

色谱柱采用规格为 4.6 mm \times 150 mm,5 μm 的反相 C_{18} 不锈钢色谱柱;流动相为乙腈/纯水 (体积比为 90:10),流速为 1.5 mL/min;柱温设为 35 $^{\circ}\text{C}$;荧光检测器的激发波长和发射波长分别为 297 nm 和 405 nm;洗脱条件为等度洗脱;进样量为 10 μL 。

1.5 样品检测

依次自动进样检测标准使用溶液和待测样品。

2 不确定度来源分析

2.1 数学模型

试样实测的浓度计算如式(1)。

$$\rho = \frac{\rho_0 V_0}{V} \times 1\,000 \quad (1)$$

其中: ρ ——试样实测的质量浓度, ng/L ;

ρ_0 ——标准曲线的理论质量浓度, ng/mL ;

V_0 ——试样前处理后定容体积,mL;

V ——试样的体积,mL;

1 000——单位换算值。

2.2 不确定度来源

分析测量方法和测量全过程,不确定度主要来源于标准曲线建立过程的标准系列溶液配制与标准曲线拟合、样品前处理的萃取浓缩过程、为排除误差对样品的重复性测量以及测量仪器本身精密度的几方面。

3 不确定度计算

3.1 标准溶液配制引入的不确定度

标准溶液配制涉及标准物质、容量器具和溶剂,不确定主要由标准物质纯度、校准体积及温度效应等因素引入。

3.1.1 标准物质纯度引入的不确定度

标准物质纯度引入的不确定度指标准物质本身的标称纯度与实际纯度存在偏差,该偏差会直接影响测量结果,导致量值的不确定性,按 B 类不确定度评定 [$u_{\text{rel}}(\text{纯})$], 计算如式(2)。

$$u_{\text{rel}}(\text{纯}) = \frac{U}{k} \quad (2)$$

其中: U ——相对扩展不确定;

k ——置信因子。

本试验标准品认证证书显示, $U=5\%$, $k=2$,则相对标准不确定度为 0.025 0。

3.1.2 中间液配制引入的不确定度

容量器具生产校准时的标称容量与实际容量的误差会引起的测量误差,按 B 类不确定度评定。溶剂体积因试验温度波动产生变化引起定容的偏差,按 B 类不确定度评定。计算如式(3)~式(4)。

$$u_{\text{rel}}(V) = \frac{\Delta V}{kV} \quad (3)$$

$$u_{\text{rel}}(P) = \sqrt{f \times \left(\frac{P \Delta T}{k} \right)^2} \quad (4)$$

其中: $u_{\text{rel}}(V)$ 、 $u_{\text{rel}}(P)$ ——校准体积、温度效应引入的相对标准不确定度;

ΔV ——允差的绝对值;

k ——置信因子,分布类型呈三角分布时

$k = \sqrt{6}$ 、呈矩形分布时 $k = \sqrt{3}$;

f ——使用次数;

p ——溶剂的膨胀系数, $^{\circ}\text{C}^{-1}$;

ΔT ——温度效应的变化范围, $^{\circ}\text{C}$ 。

1) 标准中间溶液制备时, 使用了 10 mL 容量瓶和 100 μL 微量进样针, 假设呈矩形分布, 由校准体积引入的不确定度按式(3)计算得, $u_{\text{rel}}(V_{10\text{ mL}}) = 0.001\ 15$, $u_{\text{rel}}(V_{100\ \mu\text{L}}) = 0.000\ 46$ 。

2) 10 mL 容量瓶和 100 μL 微量进样针各使用了 1 次, 20 $^{\circ}\text{C}$ 时, 甲醇的膨胀系数 $p = 1.2 \times 10^{-3}\ ^{\circ}\text{C}^{-1}$, 温度在 $(20 \pm 3)^{\circ}\text{C}$ 变化, 假设呈矩形分布, 由温度引入的不确定度按式(4)计算得, $u_{\text{rel}}(P_{10\text{ mL}}) = 0.002\ 08$, $u_{\text{rel}}(P_{100\ \mu\text{L}}) = 0.002\ 08$ 。

3) 计算上述校准体积和温度效应引入的各相对标准不确定度分量的平方和根, 得到中间液配制引入的合成相对标准不确定 $u_{\text{rel}}(ZJ)$ 为 0.003 19, 如式(5)。

$$u_{\text{rel}}(ZJ) = \sqrt{\frac{u_{\text{rel}}^2(V_{10\text{ mL}}) + u_{\text{rel}}^2(V_{100\ \mu\text{L}}) + u_{\text{rel}}^2(P_{10\text{ mL}}) + u_{\text{rel}}^2(P_{100\ \mu\text{L}})}{}} = 0.003\ 19 \quad (5)$$

3.1.3 使用液配制引入的不确定度

标准使用液配制用微量进样针或分度吸量管吸

表 2 使用液配制温度引入的相对标准不确定度

Tab. 2 Relative Standard Uncertainty Introduced by Temperature

容量器具	使用次数	试验温度/ $^{\circ}\text{C}$	甲醇膨胀系数/ $(^{\circ}\text{C}^{-1})$	相对标准不确定度
100 μL 微量进样针	3	20 ± 3	1.2×10^{-3}	0.003 60
1 mL 分度吸量管	3	20 ± 3	1.2×10^{-3}	0.003 60
10 mL 容量瓶	6	20 ± 3	1.2×10^{-3}	0.005 09

3) 计算表 1 和表 2 各相对标准不确定度分量的平方和根, 得到合成相对标准不确定 $u_{\text{rel}}(SY)$ 为 0.028 41。

综上, 计算标准物质纯度、中间液配制、使用液配制 3 个分量相对标准不确定度的平方和根, 得到标准溶液配制引入的相对标准不确定度 (u_1) 为 0.037 98, 如式(6)。

$$u_1 = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(\text{纯}) + u_{\text{rel}}^2(ZJ) + u_{\text{rel}}^2(SY)} = 0.037\ 98 \quad (6)$$

3.2 标准曲线拟合引入的不确定度

标准曲线拟合引入的不确定度主要指标准曲线本身是通过有限个、带有测量误差的标准点拟合得

取标准中间溶液至容量瓶后用甲醇定容, 由此引入不确定度的因素与 3.1.2 节中间液制备相同, 按 B 类不确定度评定。

1) 标准使用溶液制备时使用了 100 μL 微量进样针和 1 mL 分度吸量管移取标准中间溶液至 10 mL 容量瓶, 取液体积如表 1 所示。由校准体积引入的相对标准不确定度按式(3)计算, 结果如表 1 所示。

表 1 使用液配制校准体积引入的相对标准不确定度

Tab. 1 Relative Standard Uncertainty Introduced by Volumetric Apparatus

容量器具	取液体积	最大允差	相对标准不确定度
100 μL 微量进样针	20 μL	$\pm 0.080\ \mu\text{L}$	0.001 44
100 μL 微量进样针	50 μL	$\pm 0.080\ \mu\text{L}$	0.000 58
100 μL 微量进样针	100 μL	$\pm 0.080\ \mu\text{L}$	0.000 29
1 mL 分度吸量管	0.2 mL	$\pm 0.008\ \text{mL}$	0.023 09
1 mL 分度吸量管	0.4 mL	$\pm 0.008\ \text{mL}$	0.011 55
1 mL 分度吸量管	0.5 mL	$\pm 0.008\ \text{mL}$	0.009 24
10 mL 容量瓶	10 mL	$\pm 0.020\ \text{mL}$	0.001 15

2) 100 μL 微量进样针、1 mL 分度吸量管和 10 mL 容量瓶的使用次数如表 2 所示, 由温度引入的不确定度按式(4)计算, 结果如表 2 所示。

到的数学模型, 使用标准曲线进行定量分析时, 由标准曲线本身的不确定性所引起的测量结果的偏差, 按 A 类不确定度评定, 如式(7)~式(9)。

$$u_{\text{rel}}(Q) = \frac{S}{b} \times \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{N} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}} \quad (7)$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^p (Y_i - y_i)^2}{p - 2}} \quad (8)$$

$$u_2 = \frac{u_{\text{rel}}(Q)}{x_0} \quad (9)$$

其中: $u_{\text{rel}}(Q)$ ——标准曲线拟合标准不确定;
 S ——标准曲线的标准偏差;
 b ——标准曲线的斜率;
 P ——试样的测量次数;
 N ——标准曲线点数量;
 x_0 ——试样的平均质量浓度, ng/mL;
 \bar{x} ——标准曲线点的平均质量浓度, ng/mL;
 x_i ——标准曲线第 i 点的质量浓度, ng/mL;
 Y_i ——标准曲线第 i 点的峰面积;
 y_i ——第 i 点对应的实测峰面积。

1) 标准系列溶液经高效液相色谱仪检测, 通过 Agilent 1260 infinity II 软件, 拟合出苯并(a)芘标准曲线方程: $y = 1.748\ 93x - 0.254\ 702$, 相关系数 $R^2 = 0.999\ 96$, 标准偏差 $S = 0.350\ 72$ (表 3、图 1)。

2) 2 种试样分别进样检测, 测得峰面积经标准曲线方程计算得到的质量浓度如表 4 所示。

上述各相关数据分别代入式(4)、式(6)计算结果如表 5 所示, 出厂水加标试样标准曲线拟合标准不确定度为 0.150 61, 地表水加标试样的标准不确

表 3 标准系列溶液浓度与峰面积线性关系表
Tab. 3 Linear Relationship between Standard Series Solution Concentration and Peak Area

$x_i / (\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	Y_i
2	3.433
5	8.348
10	17.296
20	34.211
40	69.449
50	87.594

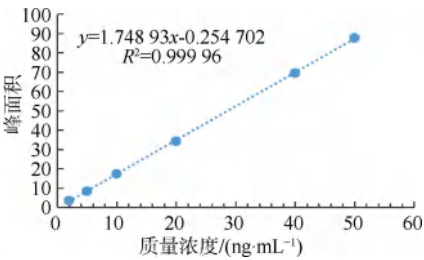


图 1 拟合的苯并(a)芘标准曲线

Fig. 1 Fitted Standard Curve of Benzo(a)pyrene

定度为 0.150 61, 出厂水加标试样标准曲线拟合相对标准不确定度 u_2 为 0.018 41, 地表水加标试样相对标准不确定度 u_2 为 0.018 28。

表 4 加标试样的含量结果
Tab. 4 Determination Results of Spiked Samples

样品	质量浓度/ $(\text{ng} \cdot \text{L}^{-1})$						平均质量浓度/ $(\text{ng} \cdot \text{L}^{-1})$
	1	2	3	4	5	6	
出厂水加标试样	8.55	7.93	8.17	8.37	7.47	8.58	8.18
地表水加标试样	8.20	9.04	8.28	7.91	8.01	7.99	8.24

表 5 加标试样平均含量的不确定度
Tab. 5 Uncertainty of Average Content of Spiked Samples

样品	平均质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	标准不 确定度	相对标准 不确定
出厂水加标试样	8.18	0.150 61	0.018 41
地表水加标试样	8.24	0.150 61	0.018 28

3.3 前处理过程引入的不确定度

前处理过程的不确定度主要由试样量取、萃取浓缩、浓缩定容等方面引入。

3.3.1 试样量取引入的不确定度

1) 试样萃取液量取使用 1 000 mL 容量瓶, 已知其校准的最大允差为 $\pm 0.4\ \text{mL}$, 假设呈矩形分布, 则相对标准不确定度按式(2)计算, 得结果为 0.000 23。

2) 1 000 mL 容量瓶使用了 1 次, 20 $^{\circ}\text{C}$ 时, 水的膨胀系数 $p = 2.1 \times 10^{-4}\ ^{\circ}\text{C}^{-1}$, 温度在 $(20 \pm 3)\ ^{\circ}\text{C}$ 变化, 假设呈矩形分布, 按式(3)计算得, 结果为 0.000 36。

3) 合成的试样量取引入不确定度为 0.000 43。

3.3.2 萃取浓缩引入的不确定度

萃取浓缩操作过程较为复杂, 包含柱活化、富集、洗脱、浓缩等步骤, 每个操作步骤都会引起不确定度, 难以逐一评定, 可通过回收率的相关数据对萃取浓缩过程引起的不确定度进行评估, 计算如式(10)。

为评估平均回收率是否具有显著性, 必须对回收率均值 \bar{R} 与总体均值 100% 之间差异进行 t 检验, 如式(11)。

$$u_{\text{rel}}(R) = \frac{u(R)}{\bar{R}} = \frac{S(R)}{\sqrt{n}\bar{R}} = \frac{1}{\sqrt{n}\bar{R}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (R_i - \bar{R})^2}{n-1}} \quad (10)$$
$$t = \frac{|100\% - \bar{R}|}{S(R)} \quad (11)$$

其中: $u_{\text{rel}}(R)$ ——平均回收率相对标准不确定度;

$u(R)$ ——平均回收率标准不确定度;

$S(R)$ ——回收率的试验标准差;

n ——测量次数;

R_i ——第 i 次测得的回收率;

\bar{R} ——回收率平均值。

重复性条件下,用 n 次独立测量确定一个被测量时,自由度 $\nu=n-1$ ^[15]。若 t 检验值分布在置信区间(通常在 95% 置信区间)与自由度的临界值之上 [$t \geq t_{(95\%, \nu)}$], 则两组均值存在显著差异,表示回收率引入的不确定度具有显著性,应将回收率归入不确定度的一个分量考虑。反之,若 t 检验值小于临界值,则表示两组均值无显著差异,不具有统计学意义,回收率不必作为校正因子修正结果。

2 种不同基体加标试样的加标回收率结果如表 6 所示。

表 6 2 种不同基体加标试样平行试验的加标回收率
Tab. 6 Recoveries of Two Different Samples at Parallel Tests

样品	加标回收率					
	1	2	3	4	5	6
出厂水加标试样	85.5%	79.3%	81.7%	83.7%	74.7%	85.8%
地表水加标试样	82.0%	90.4%	82.8%	79.1%	80.1%	79.9%

表 7 加标回收率的不确定和 t 检验结果
Tab. 7 Uncertainty of Standard Recovery Rate and t Check Results

样品	平均回收率	标准偏差	标准不确定度	相对标准不确定	t 检验统计量
出厂水加标试样	81.8%	0.042 42	0.017 32	0.021 17	4.29
地表水加标试样	82.4%	0.041 65	0.017 00	0.020 64	4.23

出厂水加标试样和地表水加标试样的平均回收率 \bar{R} 分别为 81.8%、82.4%; 平均加标回收率标准偏差分别为 0.042 42、0.041 65。本试验平行测量 6 次, 则自由度 $\nu=5$, 在 95% 置信区间, 查 t 分布在不同置信概率与自由度时 t 值表, 得 $t_{(95\%, 5)}=2.57$, 按式(11)计算, t 值分别为 4.29 和 4.23, 均大于 2.57, 可见回收率引入的不确定度具有显著性, 由此相对标准不确定度按式(10)计算, 分别得: 出厂水加标试样回收率相对标准不确定度为 0.021 17, 地表水加标试样相对标准不确定度为 0.020 64(表 7)。

3.3.3 浓缩定容引入的不确定度

(1) 萃取液在终点浓缩杯浓缩定容至 1 mL, 终点浓缩杯的允差为 ± 0.010 mL, 按式(2)计算得, 不确定度为 0.005 77。

(2) 使用终点浓缩杯定容 1 次, 试验温度在 $(20 \pm 3)^\circ\text{C}$ 变化, 假设呈矩形分布, 甲醇溶剂试验温度引起的溶剂体积变化在按式(3)计算得, 不确定

度为 0.002 08。

(3) 浓缩定容引入的合成不确定度为 0.006 13。

3.3.4 前处理过程的合成相对标准不确定度

出厂水和地表水 2 种试样前处理过程的合成相对标准不确定度 u_3 分别为 0.022 04 和 0.021 54。

3.4 测量仪器引入的不确定度

测量仪器不确定度由高效液相色谱仪本身测量系统引入, 属 B 类不确定度, 则测量仪器相对标准不确定度计算公式与前述标准物质纯度相对标准不确定度相同, 即式(1)。

本试验高效液相色谱仪, 经检定合格, 荧光检测器准确度测量结果扩展不确定度 $U=9\%$, $k=2$, 则测量仪器相对标准不确定度 u_4 为 0.045。

3.5 重复性测量引入的不确定度

为验证试验结果的一致性, 排除试验误差对结果的影响, 对样品进行重复性试验引入不确定度, 重

复性测量相对标准不确定度计算如式(12)。

$$u_5 = \frac{u_{\text{rel}}(\text{rep})}{\bar{\rho}} = \frac{S}{\sqrt{n} \times \bar{\rho}} = \frac{\sqrt{\frac{1}{n-1} \times \sum_{i=1}^n (\rho_i - \bar{\rho})^2}}{\sqrt{n} \times \bar{\rho}} \quad (12)$$

其中: $u_{\text{rel}}(\text{rep})$ 、 u_5 ——重复性测量的标准不确定度、相对标准不确定度;

$\bar{\rho}$ —— n 次测得值的算术平均值, ng/L。

两种加标试样分别重复进样测量 $n = 6$ 次, 测得出厂水加标试样结果为 8.25、8.30、8.50、8.60、8.30、8.10 ng/L, 平均值 $\bar{\rho} = 8.34$ ng/L, 地表水加标试样结果为 8.60、8.75、8.70、8.70、8.24、8.58 ng/L, 平均值 $\bar{\rho} = 8.60$ ng/L。各相关数值分别代入式(10)计算, 得出表8。出厂水和地表水2种试样由重复性测量引入的相对标准不确定度(u_5)分别为0.008 8、0.008 8。

表8 重复性测量的不确定

Tab. 8 Uncertainty of Repeatability Measurement

试样名称	平均值/ (ng · L ⁻¹)	标准偏差/ (ng · L ⁻¹)	标准不 确定度	相对标准 不确定度
出厂水加标	8.34	0.180	0.021 6	0.008 8
地表水加标	8.60	0.186	0.021 6	0.008 8

3.6 合成不确定度

测定水中苯并(a)芘含量的合成相对标准不确定度 u_{rel} , 如式(13)。

$$u_{\text{rel}} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2 + u_5^2} \quad (13)$$

2种试样的不确定度分量分别代入式(13)计算, 出厂水试样和地表水试样的合成相对标准不确定度分别为0.066 1和0.065 9。

3.7 扩展不确定度

在95%置信水平, 取包含因子 $k = 2$, 则扩展不确定度 U_{rel} 如式(14)。

$$U_{\text{rel}} = u_{\text{rel}} \times k \times x_0 \quad (14)$$

其中: u_{rel} ——合成相对标准不确定度;

x_0 ——试样的平均质量浓度, ng/L。

2种试样按式(14)计算, 出厂水试样的扩展不确定度为1.08 ng/L, 出厂水试样中苯并(a)芘结果为(8.18±1.08) ng/L($k=2$)。地表水试样的扩展不

确定度为1.08 ng/L, 地表水试样中苯并(a)芘结果为(8.24±1.08) ng/L($k=2$)。

表9 2种试样的不确定度及报告结果

Tab. 9 Uncertainty and Report Results of 2 Samples

项目	加标试样量值	
	出厂水	地表水
u_1	0.037 98	0.037 98
u_2	0.018 41	0.018 28
u_3	0.022 04	0.021 54
u_4	0.045	0.045
u_5	0.008 8	0.008 8
合成相对标准不确定度	0.066 1	0.065 9
扩展不确定度	1.08	1.08
平均质量浓度/(ng · L ⁻¹)	8.18	8.24
结果/(ng · L ⁻¹)	8.18±1.08	8.24±1.08

4 讨论与结论

本试验出厂水加标苯并(a)芘样品结果为(8.18±1.08) ng/L, 地表水加标苯并(a)芘样品结果为(8.24 ± 1.08) ng/L, 扩展不确定度均为±1.08 ng/L。计算表9中水样苯并(a)芘测量不确定度来源5个分量对总测量结果偏差的贡献, 测量仪器和标准溶液配制的贡献率为34%和29%, 两者贡献超60%, 引起的测量不确定度较大; 样品前处理过程和标准曲线拟合的贡献率为16%和14%, 两者贡献率在15%左右, 引起的测量不确定度次之; 样品重复性测量的测量不确定度较小, 贡献率低于7%。为有效降低总不确定度, 尽可能选择准确度更高的测量仪器, 在配制标准工作液时, 尽可能选择更精密(允差更小)的量器, 精确控制实验室温度变化[如(20±1)℃], 定期找有资质的公司检定或校准量器及测量仪器, 及时进行仪器期间核查; 加强人员培训及考核, 让技术人员更加规范使用仪器; 优化样品前处理, 增加活化步骤柱平衡时间, 控制洗脱流速提升回收率, 以减少不确定度的引入, 达到提高试验结果的更准确更可靠的目的。

参考文献

- [1] 孔蒙蒙, 黄忠民, 潘志利, 等. 食品中致癌物质苯并芘检测方法研究进展[J]. 食品与营养科学, 2018, 7(4): 251-256.
KONG M M, HUANG Z M, PAN Z L, et al. Research progress on detection methods of benzo [a] pyrene as a carcinogen in food [J]. Hans Journal of Food and Nutrition Science, 2018, 7(4):

- 251–256.
- [2] 王路. 食品烟熏液的制备和精制工艺研究及香气成分的分析[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2012.
- WANG L. Preparation and refining technology reasearch of food fumeol analysis of the aroma components [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2012.
- [3] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 生活饮用水卫生标准: GB 5749—2022[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022.
- State Administration for Market Regulation of China, National Standardization Administration of China. Standards for drinking water quality: GB 5749—2022 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2022.
- [4] 国家环境保护总局, 国家质量监督检验检疫总局. 地表水环境质量标准: GB 3838—2002[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- State Environmental Protection Administration, General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine. Environmental quality standard for surface water: GB 3838—2002 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2002.
- [5] 孙俊永, 黄克靖, 刘彦明, 等. 分子荧光探针在一氧化氮分析中的应用进展[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2008, 21(1): 155–160.
- SUN J Y, HUANG K J, LIU Y M, et al. Research progress of the application of fluorescence probe in determination of nitric oxide [J]. Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition), 2008, 21(1): 155–160.
- [6] 冯静, 王海娇, 何超君, 等. 高效液相色谱法测定地下水中苯并(a)芘的不确定度评定[J]. 岩矿测试, 2011, 30(5): 617–622.
- FENG J, WANG H J, HE C J, et al. Uncertainty evaluation for the determination of benzo(a) pyrenees in groundwater samples by high performance liquid chromatography [J]. Rock and Mineral Analysis, 2011, 30(5): 617–622.
- [7] 褚琳琳, 吕晓昊, 耿冬梅, 等. SPE-HPLC 双检测器法同时测定地表水中的苯并(a)芘和阿特拉津含量及不确定度评定[J]. 首都师范大学学报(自然科学版), 2023, 44(2): 35–42.
- CHU L L, LÜ X H, GENG D M, et al. Simultaneous determination of Benzo[a] pyrene and Atrazine in surface water by SPE-HPLC dual detector and evaluation of uncertainty [J]. Journal of Capital Normal University (Natural Science Edition), 2023, 44(2): 35–42.
- [8] 黄丹丹, 段云鹏, 付滔, 等. 评定高效液相色谱法测定植物油中苯并芘的不确定度[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(20): 7011–7014.
- HUANG D D, DUAN Y P, FU T, et al. Evaluate the uncertainty of determination of benzo(a) pyrene in vegetable oil by high performance liquid chromatography[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(20): 7011–7014.
- [9] 金雪锋, 薛昆鹏, 任兴发, 等. 串联分子印迹固相萃取-高效液相色谱法测定食用油中苯并(a)芘[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(9): 2697–2701.
- JIN X F, XUE K P, REN X F, et al. Determination of benzo(a) pyrene in cooking oil by tandem molecularly imprinted solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(9): 2697–2701.
- [10] 聂凤莲, 王丽华, 张蜀冀, 等. 金标准溶液配制的不确定度评定[J]. 黄金科学技术, 2009, 17(3): 56–59.
- NIE F L, WANG L H, ZHANG S J, et al. Uncertainty evaluation for preparation of the gold standard solution[J]. Gold Science and Technology, 2009, 17(3): 56–59.
- [11] 袁国文, 沈海波, 方剑儒, 等. 液-液萃取液相色谱荧光检测油脂中苯并(a)芘的测量不确定度评定[J]. 中国食品添加剂, 2021(1): 72–80.
- YUAN G W, SHEN H B, FANG J R, et al. Evaluation of measurement uncertainty for determination of benzo[a] pyrene in oil by liquid chromatography with liquid-liquid extraction pretreatment [J]. China Food Additives, 2021(1): 72–80.
- [12] 王邱, 刘德群, 周铭林, 等. 高效液相色谱法对食品中苯并芘含量测定的不确定度评定[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(1): 173–179.
- WANG Q, LIU D Q, ZHOU M L, et al. Uncertainty evaluation of benzopyrene determination in foods by HPLC[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(1): 173–179.
- [13] 杨敏娜, 王来梁, 高孝礼, 等. 液液萃取-高效液相色谱法测定水中苯并(a)芘[J]. 地质学刊, 2010, 34(4): 412–414.
- YANG M N, WANG L L, GAO X L, et al. Determination of benzopyrenees in water by liquid-liquid extraction-high performance liquid chromatography [J]. Journal of Geology, 2010, 34(4): 412–414.
- [14] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 生活饮用水标准检验方法 第8部分: 有机物指标: GB/T 5750.8—2023[S]. 北京: 中国标准出版社, 2023.
- State Administration for Market Regulation of China, National Standardization Administration. Standard examination methods for drinking water—Part 8: Organic indices: GB/T 5750.8—2023 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2023.
- [15] 国家质量监督检验检疫总局. 测量不确定度评定与表示: JJF 1059.1—2012[S]. 北京: 中国质检出版社, 2013.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Evaluation and expression of uncertainty in measurement: JJF 1059.1—2012 [S]. Beijing: China Quality Inspection Press, 2013.
- [16] 国家市场监督管理总局. 化学分析测量不确定度评定: JJF 1135—2005[S]. 北京: 中国计量出版社, 2005.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Evaluation of uncertainty in chemical analysis measurement: JJF 1135—2005 [S]. Beijing: China Metrology Press, 2005.