

磷钼蓝分光光度法测定玉米籽粒中磷含量的不确定度评估

武巍, 蔡玉红, 樊慧梅, 张国辉, 杨建, 王巍巍, 魏春雁*

(吉林省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所/农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(长春), 长春130033)

摘要:为明确磷钼蓝分光光度法测定玉米籽粒中磷含量测量结果的可靠性,依据食品安全国家标准GB 5009.87-2016《食品中磷的测定》和JJF1059.1-2012《化学分析中不确定度的评估指南》的规定和要求,识别分析了不确定度的来源,并对各不确定度分量进行了合成和扩展。结果表明:试样制备、标准溶液配制对合成不确定度的贡献较大,在测定过程中应给予足够重视,改进试验手段,降低不确定度。该结果对用磷钼蓝分光光度法测定其他农产品中磷含量的不确定度评定具有参考意义。

关键词:磷钼蓝分光光度法;玉米籽粒;磷;不确定度

中图分类号:TS213.4;O657.32

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2020)04-0101-04

Evaluation on Uncertainty of Measuring the Phosphorus in Maize Grain by Spectrophotometry with Phosphorus Molybdenum Blue

WU Wei, CAI Yuhong, FAN Huimei, ZHANG Guohui, YANG Jian, WANG Weiwei, WEI Chunyan*

(Institute of Agricultural Quality Standard and Testing Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences / Risk Assessment Lab of Agro-products Quality and Safety (Changchun), Ministry of Agriculture and Rural, Changchun 130033, China)

Abstract: In order to determine the reliability standard of the result of measuring the phosphorus in maize grain by spectrophotometry with phosphorus molybdenum blue, uncertainty sources of this method was identified and analyzed according to the requirement and method of GB 5009.87-2016 *Nation Food Safety Standards: Determination of Phosphorus in Foods* and JJF1059.1-2012 *Guidance on Evaluating the Uncertainty in Chemical Analysis*. Each uncertainty component was synthesized and extended. The results showed that the preparation of sample and preparation of standard solution were larger contribution to the uncertainty of synthesis. In the process of determination, enough attention should be paid to improve the test method and reduce the uncertainty. The results provide references for the evaluation on uncertainty of measuring the phosphorus in other agricultural products by spectrophotometry with phosphorus molybdenum blue.

Key words: Spectrophotometry with phosphorus molybdenum blue; Maize grain; Phosphorus; Uncertainty

不确定度(Uncertainty)是一个表征测量值分散性的参数,是判断测量结果可靠性的重要依据。GB/T 27025-2008《检测和校准实验室能力的通用要求》中明确规定,当用户有要求或检测结果恰为临界值时,必须出具包含不确定度的检测报告^[1-5]。

玉米是我国三大主粮作物之一,也是优质饲

料的主要原料。富含蛋白质、脂肪、维生素、纤维素、微量元素等^[6]。玉米籽粒中磷含量是玉米的重要测定指标,关于玉米中磷含量的测定方法方面的文章有很多,如《紫外分光光度法测定玉米浆中溶磷含量》^[7]《分光光度法测定不同食品中磷含量及结果分析》^[8]等,但是没有相关的玉米中磷测定的不确定度评估方面的文章,本团队采用食品安全国家标准GB 5009.87-2016《食品中磷的测定》^[9],对玉米籽粒中磷的含量进行测定,本文对测定过程的不确定度进行评定,为改进实验手段,提高测量结果的可靠性提供了依据。

收稿日期:2019-03-08

基金项目:吉林省科技发展计划项目(20180414076GH)

作者简介:武巍(1968-),女,助理研究员,硕士,主要从事农产品质量安全与检测技术研究工作。

通讯作者:魏春雁,女,博士,研究员,E-mail: weichy@yeah.net

1 材料与方 法

1.1 试验材料

玉米籽粒: 采自吉林省农业科学院公主岭试验站。

1.2 仪器与试剂

仪器: 电子天平(感量 1 mg, $U=3$ mg)(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); T6 新悦可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); 单标吸管、刻度吸管、容量瓶、具塞试管(天津市天波玻璃仪器有限公司), A 级。

试剂: 磷标准溶液(北京坛墨质检科技有限公司), 1 000 mg/L ($U=1\%$, $k=2$); 硫酸、高氯酸、硝酸(优级纯)(北京化工厂), 钼酸铵、对苯二酚、无水亚硫酸钠等(分析纯)(国药集团化学试剂有限公司), 水: 实验室用三级水。

1.3 试样溶液制备与测定

1.3.1 试样准备

将干燥的玉米籽粒粉碎, 过 0.25 mm 筛, 干燥器中储存备用。

1.3.2 试样的消解

准确称取试样约 0.2 g (精确至 0.001 g) 于带刻度消化管中, 依据 GB 5009.87-2016 第一法钼蓝分光光度法 5.2.1 项湿法消解后, 定容 100 mL, 平行制备 8 份试样溶液, 同时做空白对照。

1.3.3 试样的测定

按照 GB 5009.87-2016 中 5.3.1.2 项测定。

1.4 标准曲线绘制

1.4.1 磷标准储备液

准确吸取 1 000 mg/L 磷标准溶液 1 mL 于 100 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得 10.0 mg/L 磷标准储备液。

1.4.2 标准曲线绘制

用 5 mL 单线刻度吸管, 分别吸取磷标准工作液 0、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL, 相当于含磷量 0、5.00、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0 μg 的系列标准工作液, 分别置于 25 mL 具塞试管中, 依次加入摇匀, 静置。加入 50 g/L 钼酸铵溶液 2 mL, 加 200 g/L 亚硫酸钠溶液 1 mL、对苯二酚溶液 1 mL, 摇匀, 加水至刻度, 再摇匀。静置 0.5 h 后, 用 1 cm 比色杯, 在 660 nm 波长处, 以零管作参比, 测定吸光度, 以测出的吸光度对磷含量绘制标准曲线, 建立回归方程。

2 不确定度分析

2.1 试样中磷含量计算

计算公式为:

$$X = \frac{(m_1 - m_0) \times V_1}{m \times V_2} \times \frac{100}{1000}$$

X —试样中磷的含量 (mg/100 g); m_1 —测定用试样溶液中磷的质量 (μg); m_0 —测定用空白溶液中磷的质量 (μg); V_1 —试样消解液定容体积 (mL); m —试样的质量 (g); V_2 —测定用试样消化液的体积 (mL); 100—换算系数; 1 000—换算系数。

2.2 不确定度来源的识别

根据实验过程和计算公式, 不确定度的主要来源有以下几个方面^[10-14], 具体包括: ①试样前处理引入的不确定度, 包括天平称量、容量瓶、移液管和环境温度; ②磷系列标准曲线制作引入的不确定度, 包括购买的磷标准品纯度、配制过程中所用量具及实验操作人员的经验和对实验的熟练程度; ③最小二乘法拟合曲线引入的不确定度; ④样品重复测定引入的不确定度; ⑤仪器本身引入的不确定度; ⑥其他可能引入不确定度的分量均包含在扩展不确定度中。如图 1 所示。

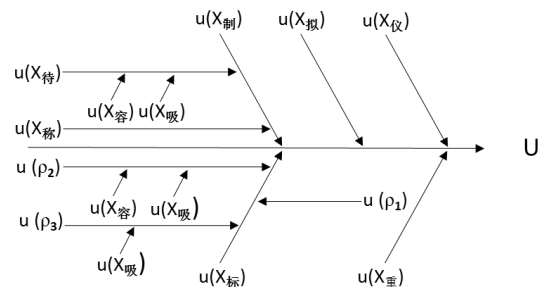


图 1 不确定度来源与分析

2.3 不确定度分量引入的相对不确定度

2.3.1 试样制备过程中引入的相对不确定度 $u_{rel}(X_{制})$

试样制备过程包括试样的称量、消解、定容三个步骤, 期间使用了电子天平、1 mL 单标吸管、5 mL 刻度吸管、25 mL 具塞试管、100 mL 容量瓶。由于本试验标准曲线绘制采用的是溶液中磷的质量 (μg), 25 mL 具塞试管不参与浓度计算, 对测量不确定度没有贡献, 所以不做评定。

2.3.1.1 试样称量引入的相对不确定度 $u_{rel}(X_{称})$

检定证书给出天平的置信区间 ± 3.0 mg, $k=2$

$$(1) \text{称量重复性: } u(X_{称1}) = \frac{a}{k} = \frac{3 \text{ mg}}{2} = 1.5 \text{ mg}$$

(2) 天平校准: 服从矩形分布,

$$u(X_{称2}) = \frac{a}{k} = \frac{3 \text{ mg}}{\sqrt{3}} = 1.732 \text{ mg}$$

称量带来的不确定度为:

$$u(X_{\text{称}}) = \sqrt{u(X_{\text{称}1})^2 + u(X_{\text{称}2})^2}$$

$$= \sqrt{1.5^2 + 1.732^2} = 2.291(\text{mg})$$

称量带来的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(X_{\text{称}}) = \frac{u(X_{\text{称}})}{m} = \frac{2.291}{200} = 0.011455$$

2.3.1.2 制备试样待测液引入的不确定度 $u_{\text{rel}}(X_{\text{待}})$

包括消解、稀释定容、显色引入的相对不确定度,根据JJG196-2006常用玻璃量器检定规程^[15]规定计算,制备试样待测液所用容量器具引入的相对标准不确定度见表1。

表1 量具引入的相对不确定度

项目	温度允差 (20℃)	容量允差(mL) $X_{\text{容}} = \frac{\Delta T}{\sqrt{3}}$	温度变化(mL) $X_{\text{温}} = \frac{V \times 2.1 \times 10^{-4} \times 3}{\sqrt{3}}$	相对标准不确定度 $X_{\text{rel}} = \frac{\sqrt{X_{\text{容}}^2 + X_{\text{温}}^2}}{V}$
1 mL单标吸管	0.007	0.004 041	0.000 364	0.004 057
5 mL刻度吸管	0.025	0.014 434	0.001 819	0.002 91
100 mL容量瓶	0.10	0.057 735	0.036 373	0.000 682

制备试样待测液引入的相对不确定度如下:

试样消解用100 mL容量瓶1次,用100 mL的容量瓶定容后,又用1 mL单标吸管吸取1 mL消解液于25 mL具塞试管定容,稀释1次,由于25 mL具塞试管不涉及浓度,对不确定度没有贡献,不做评定。

$$u_{\text{rel}}(X_{\text{待}}) = \sqrt{0.004057^2 + 0.000682^2} = 0.004114$$

试样制备过程产生的相对不确定度如下:

$$u_{\text{rel}}(X_{\text{制}}) = \sqrt{u_{\text{rel}}(X_{\text{称}}) + u_{\text{rel}}(X_{\text{待}})}$$

$$= \sqrt{0.011455^2 + 0.004114^2}$$

$$= 0.012171$$

2.3.2 标准溶液引入的相对不确定度 $u_{\text{rel}}(X_{\text{标}})$

包括购买的有证磷标准溶液及由此稀释配制一系列标准溶液过程中引入的不确定度。

2.3.2.1 磷标准溶液 $u_{\text{rel}}(\rho_{\text{标}})$

1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$,由证书得知,扩展不确定度为0.01(k=2)。

相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(\rho_{\text{标}}) = \frac{u(\rho)}{k} = \frac{0.01}{2} = 0.005$$

2.3.2.2 所用容量器具相对不确定度 $u_{\text{rel}}(\rho_{\text{器}})$

依据GB 5009.87-2016标准中5.3.2.1标准曲线的制作步骤,配制系列浓度磷标准溶液,所用

容量器具不确定度见表1。

(1)配制标准储备液引入的相对不确定度 $u_{\text{rel}}(\rho_{\text{储}})$

配制标准储备液使用1 mL吸管1次、100 mL容量瓶1次。

$$u_{\text{rel}}(\rho_{\text{储}}) = \sqrt{0.004057^2 + 0.000682^2} = 0.004114$$

(2)配制磷系列标准工作液引入的相对不确定度 $u_{\text{rel}}(\rho_{\text{工}})$

配制过程使用5 mL刻度吸管6次,由于在工作曲线的测量时平行测定2次,并设计了8次样品重复,在此,不再重复评定。

$$u_{\text{rel}}(\rho_{\text{工}}) = 0.00291$$

$$u_{\text{rel}}(\rho_{\text{器}}) = \sqrt{0.004114^2 + 0.00291^2} = 0.00503$$

标准溶液引入的合成相对标准不确定度:

$$u_{\text{rel}}(X_{\text{标}}) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(\rho_{\text{标}}) + u_{\text{rel}}^2(\rho_{\text{器}})}$$

$$= \sqrt{0.005^2 + 0.00503^2}$$

$$= 0.00709$$

2.3.3 校准曲线拟合产生的相对不确定度 $u_{\text{rel}}(X_{\text{测}})$

标准溶液各点测定2次,取平均值,用最小二乘法进行拟合^[16],得到磷标准溶液浓度与吸光度值的回归方程: $y=0.0047X-0.0005$ 和相关系数 $R^2=0.9999$,系列标准溶液浓度与其对应吸光度值绘

表2 标准曲线浓度—吸光度结果及计算

序号	磷浓度 $X_{0i}(\mu\text{g})$	\bar{Y}_{0i}	Y_0	$(C_{0i} - \bar{C}_{0i})^2$	$(\bar{Y}_{0i} - Y_0)^2$
0	0	0	0.0005	490.306116	0.00000025
1	5.00	0.023	0.023	293.877546	0
2	10.0	0.046	0.047	147.448976	0.000001
3	20.0	0.093	0.094	4.591836	0.000001
4	30.0	0.138	0.141	61.734696	0.000009

续表 2

序号	磷浓度 $X_{0i}(\mu\text{g})$	\bar{Y}_{0i}	Y_0	$(C_{0i} - \bar{C}_0)^2$	$(\bar{Y}_{0i} - Y_0)^2$
5	40.0	0.185	0.188	318.877 556	0.000 009
6	50.0	0.234	0.235	776.02 041	0.000 001

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{Y}_{0i} - Y_0)^2}{n - 2}} = 0.001 882$$

制标准工作曲线,见表 2。

\bar{C} :待测试样溶液浓度的平均值; \bar{C}_0 :工作曲线各点的浓度平均值; S_R :工作曲线的剩余标准差; C_{0i} :各标准溶液浓度值; P :待测试样重复测定次数($P=8$); n :工作曲线的点数($n=14$); \bar{Y}_{0i} :各标准溶液的实际响应值平均值。 Y_0 :各标准溶液的吸光度计算值。

$$\bar{C}_{0i} = 22.142 857\mu\text{g}$$

磷标准曲线拟合引入的不确定度计算:

(1)残差标准偏差

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{Y}_{0i} - Y_0)^2}{n - 2}} = \sqrt{\frac{0.000 004}{14 - 2}} = 0.001 882$$

(2)标准曲线拟合引入的不确定度

$$u(X_{\text{拟}}) = \frac{S_R}{b} \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{C} - \bar{C}_0)^2}{\sum_{i=1}^n (C_{0i} - \bar{C}_0)^2}}$$

$$= \frac{0.001 882}{0.004 7} \sqrt{\frac{1}{8} + \frac{1}{14} + \frac{(39.574 468 - 22.142 857)^2}{2 092.857 143}}$$

$$= 0.234 042$$

标准曲线拟合引入的不确定度为:

$$u(X_{\text{拟}}) = 0.234 042$$

标准曲线拟合引入的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(X_{\text{拟}}) = \frac{u(X_{\text{拟}})}{\bar{C}} = \frac{0.234 042}{39.574 468} = 0.005 914$$

2.3.4 重复性测定样品引入的相对不确定度

$$u_{\text{rel}}(X_{\text{重}})$$

试样待测液重复测定 8 次,吸光度值代入直线方程,计算待测液浓度,通过公式计算得出样品中磷素的平均含量为 1 978.723 mg/100 g,测定结果重复性引入的不确定度见表 3。

重复测定样品引入的不确定度:

表 3 试样重复测定结果及标准偏差

测定值(mg/100 g)(n=8)							
1 984.042 6	1 984.042 6	1 973.404 3	1 962.766 0	1 984.042 6	1 984.042 6	1 984.042 6	1 973.404 3
平均值:1 978.723 mg/100 g; 标准偏差:8.041 799							

$$u(X_{\text{重}}) = \frac{8.041 799}{\sqrt{8}} = 2.843 205(\text{mg}/100 \text{ g})$$

重复测定样品引入的相对标准不确定度:

$$u_{\text{rel}}(X_{\text{重}}) = \frac{2.843 205}{1 978.723} = 0.001 44$$

2.3.5 仪器本身引入的相对不确定度 $u_{\text{rel}}(X_{\text{仪}})$

试验所用可见分光光度计,由计量鉴定证书可知,透射比为 $U=0.6\%$ ($k=2$)。

$$u_{\text{rel}}(X_{\text{仪}}) = \frac{0.006}{2} = 0.003$$

2.4 试样含量的合成标准不确定度

$$u_{\text{rel}}(X) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(X_{\text{制}}) + u_{\text{rel}}^2(X_{\text{标}}) + u_{\text{rel}}^2(X_{\text{拟}}) + u_{\text{rel}}^2(X_{\text{重}}) + u_{\text{rel}}^2(X_{\text{仪}})}$$

$$= \sqrt{0.012 171^2 + 0.007 09^2 + 0.005 914^2 + 0.001 44^2 + 0.003^2}$$

$$= 0.0153$$

试样含量的合成标准不确定度为:

已知试样平均含量 1 978.723 mg/100 g,所以试样含量的合成相对标准不确定度为

$$u(X) = X \times u_{\text{rel}}(X) = 1 978.723 \times 0.015 3 = 30.274(\text{mg}/100 \text{ g})$$

2.5 扩展不确定度

$$U = ku = 2 \times 30.274 = 60.549(\text{mg}/100 \text{ g})$$

2.6 检测结果

$$X = 1 978.723 \pm 60.549(\text{mg}/100 \text{ g})$$

2.7 各不确定度分量比较

采用磷钼蓝分光光度法测定了玉米籽粒中磷的含量,并对影响测定结果的各个分量不确定度进行了评定,各分量不确定度对测定结果的影响

中要关注企业与当地产业的结合度以及对当地农民的示范带动作用,发展壮大涉农企业。

(3)园村镇一体化发展是优化大荔农业园区产业空间布局的有效途径。“高端在内,基地在外”的产业布局是园区发展的重要模式,在三产融合发展的趋势下,用“园村镇一体化发展”的发展思路来培育现代农业园区可使资源得到最佳配置,更大地促进产业融合。作为第一产业生产功能的生产基地可布局在园区外,充分发挥基地对村镇一级的示范作用;以加工为标志的第二产业和以农业社会化服务为代表的第三产业集中在园区内,充分利用集群优势进行技术创新。

参考文献:

- [1] 张骁勇,景 喆.以产业集群促进县域经济发展的战略思考[J].吉林农业科学,2008,33(2):63-65.
- [2] 汤宝荣.都市型农业园区建设与发展研究(以余杭为例)[D].杭州:浙江大学,2004.
- [3] 汪子倩,黄明华.苏州现代农业园产业升级路径研究[J].小城镇建设,2013(11):82-85.

- [4] 景 丽,上官彩霞,张 颖,等.农业科技园区三产融合发展的有益探索—河南鹤壁国家农业科技园区的解读与启示[J].中国农学通报,2017,33(2):160-164.
- [5] 刘国斌,陆 健.新时代就地就近城镇化产业培育研究[J].东北农业科学,2019,44(1):63-69.
- [6] 习近平.决胜全面建成小康社会夺取新时代中国特色社会主义伟大胜利—在中国共产党第十九次全国代表大会上的报告[M].北京:人民出版社,2017.
- [7] 李书峰,毛世平.生态与经济耦合背景下涉农企业的技术创新需求分析[J].农业经济,2018(11):18-20.
- [8] Moore J H. A Measure of Structural Change in Output[J]. Review of Income and Wealth, 1978, 24: 105-118.
- [9] 王林梅,邓 玲.我国产业结构优化升级的实证研究—以长江经济带为例[J].经济问题,2015(5):39-43.
- [10] 刘 培.产业升级测算及其影响因素研究[D].南京:南京财经大学,2015.
- [11] 梁亚民,杨燕燕,韩 君.产业结构变动测算方法的多维度研究[J].开发研究,2018(4):38-44.
- [12] 刘志彪,安同良.中国产业结构演变与经济增长[J].南京社会科学,2002(1):1-4.
- [13] 西蒙·库兹涅茨.各国经济的增长[M].常 勋,等译.北京:商务印书馆,2005:171-220.

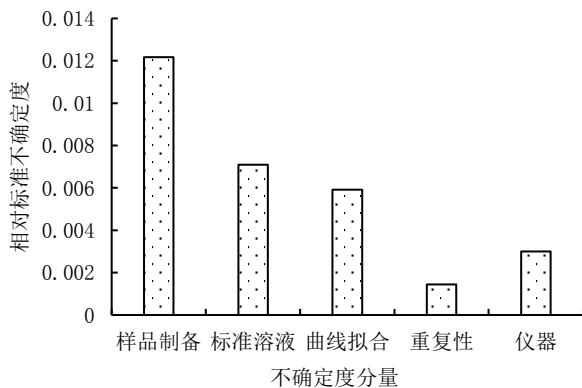


图2 各不确定度分量比较率

如图2所示。

3 讨 论

从不确定度评定结果可以看出,待测液制备对不确定度贡献最大,千分之一天平引入的不确定度较高,可以考虑改用万分之一天平;标准溶液配制引入的不确定度排在第二位,(下转第118页)(上接第104页)

由标准溶液稀释,配制标准工作液时,稀释倍数引入的不确定度较高,在稀释倍数相同的情况下,可以换用大刻度吸管和容量瓶,以降低不确定度;重复性对不确定度的贡献率最低,可以不予评估。

参考文献:

- [1] 国家质量监督检验检疫总局.中华人民共和国国家计量技术规范 JJF1001-2011 通用计量术语及定义[S].北京:中国质检出版社,2011.
- [2] 臧慕文.分析测试不确定度的评定与表示(1)[J].分析实验室,2005,24(11):74-79.
- [3] 国家质量监督检验检疫总局.JJF1059.1-2012 测量不确定度评定与表示[S].北京:中国标准出版社,2013.
- [4] 国家质量监督检验检疫总局和中国国家标准化委员会.GB/T 27025-2008 检测和校准实验室能力的通用要求[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [5] 中国实验室国家认可委员会.CNAS-GL06 化学分析中不确定度的评估指南[S].北京:中国计量出版社,2006.
- [6] 石明亮,薛 林,胡加加,等.玉米和特用玉米的营养保健作用及加工利用途径[J].中国食物与营养,2011(2):66-71.
- [7] 张金霞,包洁华,张 萍,等.紫外分光光度法测定玉米浆中溶磷含量[J].中兽医学杂志,2014(10):5-6.
- [8] 李 蓉,曹向卉,杨 伟,等.分光光度法测定不同食品中磷含量及结果分析[J].食品安全质量检测学报,2018,9(7):1706-1710.
- [9] 国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.GB/T 5009.87-2016 食品安全国家标准 食品中磷的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [10] 蔡玉红,张之鑫,宋志锋,等.红小豆中总黄酮含量的不确定度评估[J].食品研究与开发,2018,39(9):103-107.
- [11] 蔡玉红,张之鑫,武 巍,等.不同东北黑木耳中硒含量测量的不确定度评估比较[J].食品研究与开发,2018,39(8):107-112.
- [12] 郭晶晶,王岚云.土壤中总磷测定的不确定度评定[J].现代农业科技,2015(20):155-156.
- [13] 华晶忠,于 丽,刘笑笑,等.发酵樱桃中菌落总数平板计