

[文章编号]1004-8685(2003)06-765-02

紫外可见分光光度计的测量不确定度分析

李秀兰, 关皓菁

(广州市海珠区疾病预防控制中心, 广东 510288)

[中图分类号]O657.32

[文献标识码]C

ISO/ICE 导则 25 关于校准和检测实验室资格的通用要求中,明确地指出实验室出具的证书或报告,必须包含有关评定校准或测试结果的不确定度说明,测量不确定度的计算从而成为按照该导则对实验室认可的重要内容。本文以紫外可见分光光度计测量矿泉水中亚硝酸盐氮为例,探讨了分析不确定度的方法和步骤,以及报告中应包括的完整内容。

1 测量方法

1.1 使用紫外可见分光光度计进行测量时,通过对空白溶液及一系列已知浓度的标准溶液 x_i 的测定,读出一系列响应值 y_i ,由一系列已知浓度值和响应值计算出线性方程,然后利用该回归方程求出其它被测量的浓度值:当 y 对 x 有线性关系时,通过分析回归方程 $y = a + bx$ 中 y 、 a 和 b 的不确定度,就可求出被测量 x 的不确定度。

根据朗伯—比尔定律: $A = kcL$,将 A 与 c 的关系定义为线性方程: $y = a + bx$ (A 、 y 为物质的吸光度, c 、 x 为物质的量的浓度, k 为物质的吸光系数, L 为液层的厚度, a 、 b 为常数)。

1.2 根据测量数据 (x_i, y_i) 验证 y 和 x 的线性关系。

1.2.1 计算相关系数 r ,若 $r > 0.995$,则表明 y 与 x 存在线性关系。

1.2.2 计算斜率 b 和截距 a ,从而得出回归直线 $y = a + bx$

2 根据 y 对 x 的回归直线求出被测量 x 的数学模型:

$$x = \frac{y - a}{b}$$

3 根据数学模型求方差和传播系数

$$\text{方差: } u_c^2(x) = c^2(y)u^2(y) + c^2(a)u^2(a) + c^2(b)u^2(b)$$

$$\text{传播系数: } c(y) = \frac{\partial x}{\partial y} = \frac{1}{b}$$

$$c(a) = \frac{\partial x}{\partial a} = -\frac{1}{b}$$

$$c(b) = \frac{\partial x}{\partial b} = -\frac{y - a}{b^2} [y = \bar{y} = (\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m y_{ij}) / n \cdot m]$$

4 计算分量方程标准不确定度

本实验是通过 1601 型紫外可见分光光度计采用重氮偶合分光光度法测定一系列亚硝酸盐氮溶液,用纯水作参比,分别对五种亚硝酸盐氮标准液进行 3 次重复测定,测量数据如表 1。

表 1 测量结果一览表

$x_i (\mu\text{g/ml})$	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10
$y_i (A)$	0.071	0.138	0.208	0.275	0.339
$\bar{y}$	0.071	0.139	0.208	0.274	0.338
$\bar{y}$	0.070	0.140	0.139	0.276	0.338
$\bar{y} (A)$	0.071	0.139	0.208	0.275	0.338

4.1 根据测量数据及线性回归法求出回归直线:

$$a = 0.0052$$

$$b = 3.35$$

$$r = 0.9998$$

故回归直线(即标准曲线)为: $y = 0.0052 + 3.35x$

4.2 计算回归直线的标准偏差 $S_{y/x}$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (y_{ij} - y_i)^2}{n \cdot m - 2}}$$

其中: y_{ij} —仪器的各点响应值;

y_i —回归直线的计算值;

m —测量点的个数;

n —每个测量点重复测量的次数;

$n \cdot m - 2$ —自由度。

$$\text{得: } S_{y/x} = 1.36 \times 10^{-3} A$$

自由度: $n \cdot m - 2 = 13$

4.3 计算斜率 b 的标准偏差 S_b

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = \frac{1.36 \times 10^{-3}}{\sqrt{0.004}} = 2.15 \times 10^{-2} A/\mu\text{g/ml}$$

4.4 计算截距 a 的标准偏差 S_a

$$S_a = S_{y/x} \cdot \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n \cdot m \sum (x_i - \bar{x})^2}} = 1.36 \times 10^{-3} \cdot \sqrt{\frac{0.022}{5 \times 3 \times 0.004}} = 8.23 \times 10^{-4} A$$

4.5 计算分量标准不确定度 使用线性最小二乘法回归直线的前提是假定横坐标的量的不确定度远小于纵坐标的量的不确定度,因此通常被测量浓度的不确定度的计算程序仅与吸光度的不确定度有关,不与从同一溶液逐次稀释产生必然的相关性,因此这里不考虑标准溶液稀释过程产生的不确定度。

$$4.5.1 \quad u(y) = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2}$$

(1) u_1 是 y 残差的标准偏差 $S_{y/x}$,按正态分布属 A 类,

$$u_1 = S_{y/x} = 1.36 \times 10^{-3} A$$

$$\text{传播系数: } c(y) = 1/b = 0.30 \mu\text{g/ml}/A$$

自由度: $v_1 = n \cdot m - 2 = 13$

(2) 仪器读数的标准不确定度 u_2

仪器读数变化的最小一个显示值 $\pm 0.001A$,可考虑为均匀分布属 B 类

$$u_2 = 0.001/\sqrt{3} = 5.77 \times 10^{-4} A$$

自由度: $v_2 = \infty$

$$\text{传播系数: } c(y) = 1/b = 0.30 \mu\text{g/ml}/A$$

(3) 标准样品的不确定度 u_3

证书上给出该标准溶液的不确定度为 2%,按正态分布属

B 类, 取 $k=2$

$$u_3 = (b \times 2\%) / 2 = 3.35 \times 10^{-2} A$$

标准溶液由国家环保总局标准样品研究所提供, 经科技工作者的反复测定验证, 很可靠, 故自由度: $V_3 = \infty$

$$\text{传播系数: } c(y) = 1/b = 0.30 \mu\text{g/ml/A}$$

(4) 测量重复性标准不确定度 u_4

重复测量五种标准溶液各 6 次, 按贝塞尔公式算出各自的实

$$\text{验标准偏差 } S_i, \text{ 则测量过程的合并样本方差 } S_p = \sqrt{\frac{1}{m} \sum_{i=1}^m s_i^2} =$$

$$\sqrt{\frac{1}{(m(n-1))} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2} = 7.07 \times 10^{-4} A$$

重复性标准不确定度应使用平均值的标准偏差计算, 本次测量时对每种标准溶液测 3 次, 得

$$u_4 = \frac{S_p}{\sqrt{m}} = \frac{7.07 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 4.08 \times 10^{-4} A$$

各测量值是随机量作 A 类, 自由度

$$v_4 = m(n-1) = 5 \times (6-1) = 25$$

$$\text{传播系数: } c(y) \frac{1}{b} = 0.30 \mu\text{g/ml/A}$$

因 u_1, u_2, u_3, u_4 各自独立, 故

$$u_{(y)} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2} =$$

$$\sqrt{(1.36 \times 10^{-3})^2 + (5.77 \times 10^{-4})^2 + (3.35 \times 10^{-2})^2 + (4.08 \times 10^{-4})^2} = 3.35 \times 10^{-2} A$$

$$4.5.2 \quad u(b) = S_b = 2.15 \times 10^{-2} A / \mu\text{g/ml}$$

按正态分布变化属 A 类, 自由度 $v = n \cdot m - 2 = 13$

$$\text{传播系数: } c(b) = -\frac{\bar{y} - a}{b^2} = -\frac{0.2062 - 0.0052}{3.35^2} = -1.79$$

$$\times 10^{-2} (\mu\text{g/ml})^2 / A$$

$$4.5.3 \quad u(a) = S_a = 6.19 \times 10^{-4} A$$

按正态分布变化属 A 类, 自由度 $v = n \cdot m - 2 = 13$

$$\text{传播系数: } c(a) = -1/b = -0.30 \mu\text{g/ml/A}$$

5 标准不确定度 见表 2

表 2 标准不确定度一览表

标准不确定度分量	不确定度来源	数值	分布	类型	传播系数	标准不确定度	自由度
$u(y)$	y 残差的标准偏差 $S_{y/x}$	1.36×10^{-3}	正态	A 类	0.30	$u_2 = S_{y/x} = 1.36 \times 10^{-3} A$	13
	仪器读数的标准偏差	0.001	均匀	B 类	0.30	$u_2 = \frac{0.001}{\sqrt{3}} = 5.77 \times 10^{-4} A$	∞
	标准溶液的扩展不确定度	2%	正态	B 类	0.30	$u_3 = \frac{b \cdot 2\%}{2} = 3.35 \times 10^{-2} A$	∞
	测量重复性的标准偏差	7.07×10^{-4}	正态	A 类	0.30	$u_4 = \frac{\sigma}{\sqrt{m}} = 4.08 \times 10^{-4} A$	25
$u(a)$	a 的标准偏差	8.23×10^{-4}	正态	A 类	-0.30	$u(a) = 8.23 \times 10^{-4} A$	13
$u(b)$	b 的标准偏差	2.15×10^{-2}	正态	A 类	-1.79×10^{-3}	$u(b) = 2.15 \times 10^{-2} A / \mu\text{g/ml}$	13

6 合成标准不确定度

$$u_c(x) = \sqrt{c^2(y)u^2(y) + c^2(a)u^2(a) + c^2(b)u^2(b)}$$

$$= \sqrt{0.30^2 \times (3.35 \times 10^{-2})^2 + (-0.30)^2 \times (8.23 \times 10^{-4})^2 + (-1.79 \times 10^{-2})^2 \times (2.15 \times 10^{-2})^2} = 1.10 \times 10^{-3} \mu\text{g/ml}$$

7 有效自由度 V_{eff}

依韦尔奇—萨特思韦特公式计算 V_{eff}

$$V_{\text{eff}} = \frac{u_c^4}{\sum \frac{u_i^4}{v_i}} = \frac{u_c^4}{\frac{[c(y)u_1]^4}{13} + \frac{[c(y)u_2]^4}{\infty} + \frac{[c(y)u_3]^4}{\infty} + \frac{[c(y)u_4]^4}{25} + \frac{[c(a)u(a)]^4}{13} + \frac{[c(b)u(b)]^4}{13}} = 603$$

8 扩展不确定度

取置信水平 $p=95\%$, 查 t 分布表, 得 $k = t_p(v) = t_{0.95}(603)$

$= 2$

$$U = k u_c(x) = 2 \times 1.10 \times 10^{-3} = 2.20 \times 10^{-3} \mu\text{g/ml}$$

报告: 紫外可见分光光度计测量纯水中亚硝酸盐氮(浓度在 $0.01 \sim 0.10 \mu\text{g/ml}$ 范围)的扩展不确定度是: $U = 2.20 \times 10^{-3} \mu\text{g/ml}$ 。

9 讨论

在实际工作中, 如果能估算到有效自由度充分大时, 可直接取 $k=2$ 。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国国家计量技术规范 JJF1059-1999 测量不确定度评定与表示, 1999: 15-24.
- [2] 宣湘主编, 测量不确定度评定与表示实例, 北京: 中国计量出版社, 2001: 349-359.
- [3] 施昌彦主编, 测量不确定度评定与表示指南, 北京: 中国计量出版社, 2000: 54-61, 105-117.
- [4] 中华人民共和国卫生部卫生法制监督司, 生活饮用水卫生规范, 327-328.
- [5] 中国国家出入境检验检疫实验室认可委员会, 化学分析中不确定度评估指南, 2002: 87-88.

(收稿日期: 2003-07-04)