

# 流动注射分光光度法测定水中氨氮测量不确定度评定

姚 斌

苏州见远检测技术有限公司 江苏 苏州 215000

**摘 要：**随着时代的进步，人们对水质的要求越来越高，各类河道水的日常检测项目都包含了氨氮测试，每次河道的排查都是成千上百条进行测试，传统的分光测定水中氨氮的方法太耗费人力和物力，现在先进的自动化仪器已经普及至各个实验室，流动注射仪就是高效实验仪器的代表，此次探究主要通过分析各类引发不确定度的因素，找出产生此类事件的主要原因，并且对其主要因素进行确认，从而客观的反应出测定值的真实性，从而减少误差。

**关键词：**水中氨氮；流动注射；不确定度

## 1 概述

流动注射仪以简单高效，快速准确著称，无需对水样进行前期处理，因此在检测单位都是较为追捧的一种新型实验仪器。全自动的仪器的精准度和数据有效性，需要我们实验人员通过各种验证实验及计算，对数据进行核实与校准。为了保证测量结果准确有效，不确定度是一个非常重要的指标，国家为此也制定了相关的标准对此程序有严格的要求。本文将对用流动注射分光光度法测定的水中氨氮的不确定度进行相关分析。

## 2 实验部分

针对此次实验其检测方法依据为：《水质 氨氮的测定 流动注射-水杨酸分光光度法》(HJ 666-2013)<sup>[1]</sup>，

此法是专为流动注射中水中氨氮制定的国家标准，此法详细的规定了各类操作规程以及注意事项，特别针对标准曲线的绘制，每次实验之前必须绘制其特有的标准曲线，否则对实验结果的偏离度将会非常的大。

### 2.1 测试原理

水样在在碱性介质中，试剂中的氨、铵离子与次氯酸根反应生成氯胺。在 50℃ 和亚硝基铁氰化钠存在条件下，氯胺与水杨酸盐反应形成蓝绿色化合物，于 660nm 波长处测量吸光度。<sup>[1]</sup>

### 2.2 检测方法

将所需标准溶液及样品放入样品盘相应位置，按照仪器软件说明书设置好样品测试参数和样品序列后进行测量，检测流程见图 1。

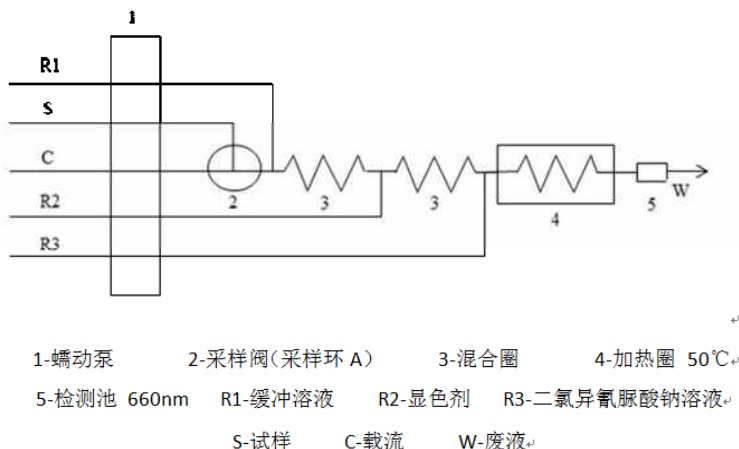


图 1 流动注射-分光光度法测定氨氮方法的流程图

流动注射检测每次检测都需要配制各类溶液和药剂，例如配制标准使用溶液，配制标准曲线。另外样品都需要做一定比例平行双样，保证检测数据良好的重现性。平行双样的检测率应 >10% 每批样品检测时，都需要测定 2 个及 2 个以上的空白样品，需保证空白样品的数值小于检测限，否则需排查问题后，重新检测直至数值小于检测限为止。加标样品应保证每批样不低于 10%，加标回收率应保证在 80%-120% 之间。

### 2.3 测试的数学模型

氨氮浓度公式为： $y = a + bx$ ，  
式中， $x$  —— 样品氨氮的质量浓度，mg /L；  
 $y$  —— 峰面积；  
 $b$  —— 标准曲线斜率；  
 $a$  —— 标准曲线截距。

### 2.4 不确定度来源及分析

根据上述数学模型以及流动注射检测过程，其中不确定度主要内容由以下 5 个方面组成：

1) 不确定度  $u(c_{\text{氨氮}})$ ：标准样品贮备液的质量浓

度。

2) 不确定度  $u(f_{\text{稀释}})$  : 标准溶液浓度较高, 每次使用都需要进行稀释, 有些浓度也需要进行多级稀释, 此次验证实验检测主要内容有如下:

a. 不确定度  $u(f_{10})$  : 是由于配置 50mg/1 的氨氮标准中间液需将标准贮备液稀释 10 倍, 引发不确定度。

b. 不确定度  $u(f_5)$  : 是由于配置 10mg/1 的氨氮使用液需将中间液稀释 5 倍, 引发不确定度。

3) 测量不确定度  $u(V_{\text{系列}})$ : 是由于配制标准曲线需配置 6 个递进浓度点造成的。

4) 测量不确定度  $u(m_{\text{称量}})$ : 是由于最终水样中氨氮的含量需将曲线进行拟合计算后得到其值, 从而引发不确定度。

5) 不确定度  $u(m_{\text{称量}})$ : 样品都需要做一定比例的平行双样, 保证检测数据良好的重现性, 因此在测量过程中样品的重复性, 也会引起不确定。

### 3 评定部分

#### 3.1 标准不确定度的评定

1) 不确定度  $u(c_{\text{氨氮}})$ : 由于每个标准储备液的不确定度都存在一定的差异, 因此将其纳入不确定度范围, 本次验证实验标液的出厂的质量浓度是: 500mg /L,  $k=2$ 。根据以上信息得出  $u_{rel}(c_{\text{氨氮}}) =$

$$= \frac{0.02}{2} = 0.01$$

2) 不确定度  $u(f_{\text{稀释}})$ : 储备液稀释至 10mg/1 的中间液在其过程中会发生一些体积上的变化, 主要内容有如下:

a. 不确定度  $u(f_{10})$  : 是由于氨氮标准贮备液稀释为标准中间液过程造成的。配制质量浓度为 50mg /L 的氨氮标准中间液需如下步骤: 移取 10.00mL 标准溶液到 100mL 的玻璃容量瓶 (A 级) 中, 然后用去离子水稀释定容。此步骤需要用到的器皿为: 10ml 玻璃移液管 (B 类), 100mL 的玻璃容量瓶 (A 级)。

在实验过程中, 需要用到各种玻璃器皿, 主要仪器有: 容量瓶, 移液管, 玻璃器皿本身就存在一定的误差, 根据玻璃器皿检定规程, 此次实验所使用的玻璃器皿都已经过规范的检定流程, 以保证数据的有效性。

不确定度  $u_{rel}(V_{10.00})$  : 10ml 的玻璃移液管 (B 类) 其相对最大允差为  $\pm 0.4\%$ , 然后按照其均匀分布:  $k=33$ , 即有  $u_{rel}(V_{10.00}) = 0.004/3 = 0.00231$ 。

不确定度  $u_{rel}(V_{100.0})$ : 100mL 的玻璃容量瓶由于温度产生波动导致的不确定度 /mL:

$$\frac{100 \cdot 2 \cdot 2.1 \cdot 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 0.02422;$$

估读器皿刻度产生的不确定度 /mL:

$$\frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.0289;$$

容量允差的不确定度 /mL:

$$\frac{0.10}{\sqrt{3}} = 0.0577;$$

则  $u(V_{100}) = \sqrt{0.02422^2 + 0.02892^2 + 0.05772^2} = 0.0689\text{mL}$ ;  
稀释 10 倍的标准不确定度分量  $u_{rel}(f_{10})$  的合成:

$$u_{rel}(V_{100}) = \frac{u(V_{100})}{V_{100}} = 6.89 \times 10^{-4};$$

$$u_{rel}(f_{10}) = \sqrt{U_{rel}^2(V_{10.00}) + U_{REL}^2(V_{100})}$$

$$= \sqrt{0.00231^2 + 0.000689^2} = 0.00241.$$

b. 不确定度  $u_{rel}(f_5)$ : 是由于氨氮标准中间液稀释为标准使用液过程造成的。配制质量浓度为 10mg /L 的氨氮标准使用液需如下步骤: 移取标准中间液 50.00mL 到 250mL 容量瓶 (A 级) 中, 用去离子水标定至标线即可。此步骤需要用到的器皿为: 50ml 的玻璃移液管 (B 类), 250mL 的玻璃容量瓶 (A 级)。

不确定度  $u_{rel}(V_{50})$ : 50ml 移液管 (B 类) 的相对标准不确定度最大允差为  $\frac{0.002}{\sqrt{3}}$  (2%), 按均匀分布考虑  $k=3$ , 即有  $u_{rel}(V_{50}) = \frac{0.002}{\sqrt{3}} = 0.00115$ 。

不确定度  $u_{rel}(V_{250})$ : 250mL 玻璃容量瓶 (A 级) 产生的不确定度, 主要分为三个方面, 这三个方面都为客观原因:

$$\text{器皿容量的允差 /mL: } \frac{0.15}{\sqrt{3}} = 0.0866;$$

$$\text{器皿刻度线预估读值的误差 /mL: } \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.0289;$$

$$\text{温度产生差异造成的误差 /mL:}$$

$$\frac{250 \cdot 2 \cdot 2.1 \cdot 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 0.0606.$$

$$\text{则 } u(V_{250}) = \sqrt{0.0866^2 + 0.0289^2 + 0.0606^2} = 0.110\text{mL};$$

$$u_{rel}(V_{250}) = u(V_{250})/V_{250} = 0.110\text{mL}/250\text{mL} = 4.4 \times 10^{-4};$$

稀释 5 倍的标准不确定度分量  $u_{rel}(f_{250})$  的合成:

$$u_{rel}(f_5) = \sqrt{U_{rel}^2(V_{50}) + U_{rel}^2(V_{250})} = \sqrt{0.00115^2 + 0.00044^2} = 0.00123.$$

c. 稀释体积  $u_{rel}(f_{\text{稀释}})$ : 因氨氮标准溶液需多级稀释, 因此体积产生的误差会引起不确定度:

$$u_{rel} = \sqrt{u_{rel}^2 f_{10} + u_{rel}^2 f_5} = \sqrt{0.00241^2 + 0.00123^2} = 0.00271.$$

3) 测量不确定度  $u(V_{\text{系列}})$ : 是由于配制标准曲线需配置 6 个递进浓度点造成的, 现以配制 0.05mg /L 的氨氮标准曲线为例, 用 10mg /L 的标准使用溶液配制 6 个递进浓度点, 然后计算配制标准系列的测量不确定度  $u_{rel}(V_{\text{系列}})$ , 在这个过程中需要用到的仪器有: 25.00mL 移液管和 10.00mL 分度吸管; 1ml 分度吸液管和 50mL 容量瓶。则不确定度有以下 4 各项目组成:

a. 不确定度  $u_{rel}(V_{25})$ : 25ml 移液管 (B 类) 的相对最大允差:  $\pm 0.24\%$  其相对应的,  $k=\sqrt{3}$ , 即有  $u_{rel}(V_{50.00}) = \frac{0.0024}{\sqrt{3}} = 0.00138$ 。



b. 不确定度  $u(V_{10.00})$ : 使用 10.00ml 的分度吸管 (B 类) 其最大的允差为  $\pm 0.4\%$ , 按均匀分布考虑, 取  $k=33$ , 即有  $u_{rel}(V_{10.00})=0.004/3=0.00231$ 。

c. 不确定度为  $u(V_{1.00})$ : 使用 1ml 移液管 (B 类) 其最大允差为  $\pm 1.5\%$ ,  $k=\sqrt{3}$ , 即有  $u_{rel}(V_{1.00})$

$$=0.015/\sqrt{3} = 0.00866。$$

d. 不确定度为  $u(V_{50.00})$ : 使用 50ml 容量瓶 (A 级) 的相对最大允差为  $\pm 0.1\%$ ,  $k=\sqrt{3}$ , 即有  $u_{rel}(V_{10.00})=0.001\sqrt{3} = 0.000577$ 。

$$u_{rel}(V_{系列}) = \sqrt{u_{rel}^2 V_{25.00} + u_{rel}^2 V_{0.00} + u_{rel}^2 V_{1.00} + u_{rel}^2 V_{0.0}} \\ = \sqrt{0.00138^2 + 0.00231^2 + 0.00866^2 + 0.000577^2} = 0.00908。$$

4) 测量不确定度  $u(m_{拟合})$  :

表 1 标准曲线相关数据

xi(mg/L)	0.00	0.05	0.20	0.50	1.00	2.00	5.00
峰面积	1.2844	2.7890	7.4896	18.1607	35.5675	71.1863	181.5450
$y_i$	1.2844	2.7890	7.4896	18.1607	35.5675	71.1863	181.5450

计算得:

$$a=0.2978, b=36.1070, r^2=0.9998;$$

则数学模型为:  $y=36.1070x+0.2978$ ; ;

根据计算其标准差为:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - (a + b x_i)]^2}{n-2}} = 0.938 \text{ mg/L};$$

浓度的方差和为:

$$s_x = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 = 19.355。$$

公式中的字母表示如下

a----- 表示校准曲线的截距;

b----- 表示校准曲线的斜率;

$x_i$ ----- 表示第 i 个浓度的溶液质量浓度, mg/L;

$y_i$ ----- 表示各个浓度点的峰面积。

则  $u(m_{拟合})$  计算公式表示为:

$$u(m_{拟合}) = \frac{S}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(x' - \bar{x})^2}{s_x}} = 0.04272 \text{ mg/L}。$$

测量不确定度  $u(m_{拟合})$ : 是由于最终水样中氨氮的含量需将曲线进行拟合计算后得到其值, 从而引发不确定度。其不确定度见如下公式:

$$u_{rel}(m_{拟合}) = \frac{u(m_{拟合})}{m} = \frac{0.04272}{1.01} = 0.04229。$$

5) 由于样品测定需要进行重复测试, 因此在其过程中产生的不确定度  $u_{rel}(m_{样品})$ , 水样中的氨氮含量详见表 2:

表 2 氨氮的响应值及浓度 (mg/L)

测定序号	1	2	3	4	5	6	均值 $\bar{x}$ (mg/L)
氨氮含量 (mg/L)	0.998	0.992	1.014	1.011	1.023	1.019	1.01
标准曲线	$y = 36.1070x + 0.2978 \quad r^2 = 0.9998$						

由表 2 得  $n=6$ ,  $\bar{x}' = 1.01$ , 标准偏差 0.0383, 则样品测定的重复性, 其相对标准不确定度:

$$S_{x'} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}')^2} =$$

$$u_{rel}(m) = \frac{S_{x'}}{x' \sqrt{n}} = \frac{0.0383}{1.0 \sqrt{6}} = 0.0155 \text{ mg/L}。$$

### 3.2 合成不确定度

流动注射法测定水中氨氮的合成相对标准不确定度

为:

$$u_{rel}(c) =$$

$$\sqrt{U_{rel}^2(C_{andan}) + U_{rel}^2(f_{xishi}) + U_{rel}^2(V_{xilie}) + U_{rel}^2(m_{nihe}) + U_{rel}^2(m)} \\ = \sqrt{0.01^2 + 0.00271^2 + 0.00908^2 + 0.04229^2 + 0.0155^2}$$

$$= 0.0471。$$

样品氨氮的合成标准不确定度为:

$$u(c) = 1.01 \times 0.0471 = 0.0475 \text{ mg/L}。$$

### 3.3 扩展不确定度

在一般实验室的检测分析中, 包含因子为  $k=2$  (95% 置信概率), 通过计算得到扩展不确定度应为:

$$U_C = k u(c) = 2 \times 0.0475 = 0.095 \text{ mg/L}$$

### 3.4 结果报告

样品中氨氮的含量为  $1.01 \pm 0.095 \text{ mg/L}$ , ( $k=2$ )。

## 4 结论

通过此次对流动注射分光光度法水中氨氮的计算和分析, 在周围环境条件较为稳定的情况下, 影响不确定度主要是人为原因带入的, 其中最主要的两个原因是: 标准曲线的拟合过程, 其次是标准溶液配制中发生的重



复过程，由于仪器引发的不确定度很小，可以考虑不计其中。因此在试验期间需要工作人员有较高的技术水平和严谨的操作流程，需要将实验过程中的问题进行确认，并找到解决方案，并得以实施。才能更好的保证试验的准确性。

设备仪器虽然不考虑其不确定性造成的误差，但是长期使用后会残留一些样品或者溶液，所以也需要定期

的清洗，保证仪器的清洁。必要时需进行相关检查，避免在实验过程中将不必要的误差带入其中，从而造成数据产生偏差。

**参考文献：**

[1] HJ 666-2013, 水质 氨氮的测定 流动注射 - 水杨酸分光光度法 [S]. 2013.