

高效液相色谱法测定防腐木材中戊唑醇含量的不确定度评估^{*}

李怡欣 陈利芳 李兴伟 马红霞 何雪香

(广东省林业科学研究院 广东省森林培育与保护利用重点实验室, 广东 广州 510520)

摘要 利用高效液相色谱法测定了防腐木材中的戊唑醇含量。分析了测定过程中由样品称取质量、样品前处理定容体积、标准溶液质量浓度、液相色谱仪定量重复性、平行试验重复性产生的不确定度的计算方法, 确定了防腐木材样品中戊唑醇含量不确定度的最终合成与表示为 $(494 \pm 64) \mu\text{g/g}$ ($k=2$)。

关键词 高效液相色谱法; 防腐木材; 戊唑醇; 不确定度

中图分类号: S781.72 **文献标识码**: A **文章编号**: 2096-2053(2016)06-0025-04

The Evaluation of Uncertainty for the Determination of Tebuconazole in Preservative-treated Woods by High Performance Liquid Chromatography

LI Yixin CHEN Lifang LI Xingwei MA Hongxia HE Xuexiang

(Guangdong Academy of Forestry, Guangdong Provincial Key Laboratory of Silviculture,
Protection and Utilization, Guangzhou, Guangdong 510520, China)

Abstract In this paper, the content of tebuconazole in preservative-treated woods was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The methods of calculating the uncertainty of sample weight, sample volume, standard solution concentration, liquid chromatograph repeatability and parallel test repeatability were analyzed. The final synthesis and expression of the uncertainty of the tebuconazole content in preservative-treated woods is described as $(494 \pm 64) \mu\text{g/g}$ with $k=2$.

Key words high performance liquid chromatography; preservative-treated woods; tebuconazole; uncertainty

随着国内木材防腐行业的快速发展, 产品质量在防腐木材生产企业之间的竞争中显得越来越重要, 相关方均迫切希望检测方法和由此出具的检测报告可以客观真实地衡量产品质量。不确定度是对测量结果质量的定量表征, 是检测质量重要而直观的数学表述, 能合理地评估被测量值的分散性。其数值反映了测量结果的可信性, 为测定结果的判定提供参考依据, 因此建立并应用不确定度评估程序

成为评价分析方法的必要步骤^[1-3]。

戊唑醇是目前我国常用铜唑(CuAz)木材防腐剂中的主要有机成分^[4]。本文建立防腐木材中戊唑醇含量的不确定度评定方法, 既利于提高防腐木材检测质量, 也可促进检测数据互认。

1 材料与方法

^{*} 基金项目: 广东省科技计划项目“木材防腐产品质量监控与服务体系建设”(2014B040404055)、广东省林业科技创新项目“合成树脂增强木材保护技术研究”(2014KJCX014)。

第一作者: 李怡欣(1990—), 女, 见习, 主要从事林产品检测研究, E-mail: yixinli2016@163.com。

通信作者: 陈利芳(1976—), 女, 高级工程师(教授级), 主要从事木材保护技术研究, E-mail: chenlf2000@126.com。

1.1 材料与仪器

高效液相色谱仪(安捷伦 1120 型, C_{18} 柱: 150 mm × 4.6 mm, 2.5 μ m); 分析天平(赛多利斯 BS 224 S 型, 感量为 0.000 1 g); 超声波清洗机(科导 SK3210HP 型)。

1.2 测定方法

1.2.1 系列标准溶液配制 准确移取 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00 mL 的 100 μ g/mL 戊唑醇标准溶液, 用甲醇定容到 5 mL, 配制成浓度分别为 5、10、20、30、40 μ g/mL 的系列标准溶液。

1.2.2 待测样品的制备 样品中戊唑醇的提取方法如下: 准确称取 2.500 0 g 经粉碎、过 30 目标准筛的木粉样品于具塞锥形瓶中, 加入 50 mL 甲醇, 放在超声波仪器中超声 3 h, 每隔 30 min 摇晃一次, 过滤, 用甲醇定容至 100 mL, 摇匀待测定。

1.2.3 测定条件 参考 GB/T 23229—2009^[5] 的方法进行测定。色谱柱: C_{18} 柱 250 mm × 4.6 mm, 2.5 μ m; 流动相: $V_{\text{乙醇}}:V_{\text{甲醇}} = 90:10$, 流速 1.5 mL/min; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 检测波长: 225 nm; 进样体积: 20 μ L。

1.3 数学模型的建立

木材中戊唑醇的质量分数的计算公式如下:

$$\omega = \frac{C \times V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式(1)中 ω 为木材样品中戊唑醇的质量分数, μ g/g; C 为测定液中戊唑醇的质量浓度, μ g/mL; V 为测定样品总的定容体积, mL; m 为样品质量, g。

考虑各种随机因素对不确定度的影响, 引入反映随机影响的重复性系数 f_{rep} , 其数值等于 1。评定不确定度的数学模型如下:

$$\omega = \frac{C \times V}{m} f_{rep} \dots\dots\dots (2)$$

1.4 测量不确定度来源

根据检测过程和数学模型, 不确定度的主要来源有:

(1) 称取样品质量产生的相对标准不确定度 $u_r(m)$;

(2) 试样前处理定容体积引起的相对标准不确定度 $u_r(V)$;

(3) 标准溶液质量浓度引起的相对标准不确定度 $u_r(C)$;

(4) 液相色谱仪定量重复性产生的相对标准不确定度 $u_r(LC)$;

(5) 平行试验重复性产生的相对标准不确定度 $u_r(f_{rep})$ 。

合成相对标准不确定度计算公式如下:

$$u_r(\omega) = \sqrt{u_r(m)^2 + u_r(V)^2 + u_r(C)^2 + u_r(LC)^2 + u_r(f_{rep})^2} \dots\dots\dots (3)$$

2 结果与分析

2.1 由样品称量过程引入的相对标准不确定度 $u_r(m)$

2.1.1 取样 本实验采用的木材样品经磨碎、过 30 目标准筛之后均匀混合。随机取样可认为样品均一且具有充分的代表性, 因此由采样产生的不确定度可忽略不计。

2.1.2 称量 用减量法两次准确称取 2.500 0 g 样品。电子天平经过检定合格, 检定证书结论为天平的最大允许误差为 $U = \pm 0.3$ mg, $k = \sqrt{3}$, 则由称量产生的相对标准不确定度为:

$$u_r(m) = \frac{0.0003 \times \sqrt{2}}{\sqrt{3} \times 2.5000} = 0.000098$$

2.2 由定容体积引入的相对标准不确定度 $u_r(V)$

2.2.1 由温度变化引入的相对标准不确定度 $u_r(V_1)$ 实验室的温度在 ± 4 $^{\circ}$ C 之间变动, 考虑溶液温度与校正时温度差引起的不确定度。甲醇体积膨胀系数为 $1.20 \times 10^{-3}/^{\circ}$ C, 假设温度变化按矩形分布, 甲醇产生的体积变化引起的相对标准不确定度为:

$$u_r(V_1) = \frac{4 \times 0.00120 \times 100}{\sqrt{3} \times 100} = 0.00277$$

2.2.2 由容量瓶体积引入的相对标准不确定度 $u_r(V_2)$ 本试验采用 100 mL A 级容量瓶进行样品定容, 按照 JJG 196—2006^[6], 容量瓶最大容量允差为 ± 0.10 mL。按三角形分布考虑, 由此引入的相对标准不确定度为:

$$u_r(V_2) = \frac{0.10}{100.0 \times \sqrt{6}} = 0.000408$$

合成得到样品定容体积的相对标准不确定度为:

$$\begin{aligned} u_r(V) &= \sqrt{u_r(V_1)^2 + u_r(V_2)^2} \\ &= \sqrt{0.00277^2 + 0.000408^2} = 0.0028 \end{aligned}$$

2.3 由戊唑醇标准溶液质量浓度引入的相对标准不确定度 $u_r(C)$

2.3.1 标准物质引入的相对标准不确定度 $u_r(C_1)$

根据戊唑醇标准物质证书，戊唑醇溶液标准物质的标准值为 100 $\mu\text{g/mL}$ ，不确定度为 $\pm 0.26 \mu\text{g/mL}$ 。因此其相对标准不确定度为：

$$u_r(C_1) = \frac{0.26}{100} = 0.0026$$

2.3.2 由戊唑醇标准液稀释配制工作液产生的相对标准不确定度 $u_r(C_2)$ 用 1 mL 移液枪分别移取 100 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液 250、500 μL 、1.0、1.5、2 mL 至 5 mL A 级容量瓶中，定容，配制成 5、10、20、30、40 g/mL 的戊唑醇标准系列工作液，产生相对标准不确定度 $u_r(C_2)$ 。

同 2.2.1，溶液温度与校正时温度差引起的相对标准不确定度为 0.002 77。

1 mL 移液枪允差 $\pm 0.6\%$ ，按矩形分布，由此引入的相对标准不确定度为：

$$\frac{0.006}{1 \times \sqrt{3}} = 0.00346$$

按照 JJG 196—2006，5 mL A 级容量瓶的最大容量允差为 $\pm 0.020 \text{ mL}$ 。按三角形分布考虑，由此引入的相对标准不确定度为

$$\frac{0.020}{5 \times \sqrt{6}} = 0.00163$$

上述不确定度互不相关，合成得：

$$u_r(C_2) = \sqrt{0.00277^2 + 0.00346^2 + 0.00163^2} = 0.00472$$

2.3.3 校准曲线拟合引入的相对标准不确定度 $u_r(C_3)$ 制备 5 个质量浓度(c_i)的戊唑醇标准溶液，每个浓度测定 3 次，得 15 组浓度值-峰面积(c_{ij} , A_{ij})，测定结果见表 1。

表 1 戊唑醇标准溶液校准曲线

质量浓度 $/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}, n=5)$	峰面积 $A_{ij} (m=3)$			
	1	2	3	平均值
5	1904717	1454081	1388594	1582464
10	2643786	2748095	2810432	2734104
20	6685015	6107251	6475832	6422699
30	10355457	10194595	9739281	10096444
40	12829177	12965047	12965047	12919757

用最小二乘法拟合，斜率 $b = 3.34788 \times 10^5$ ，截距 $a = -2.79453 \times 10^5$ ，得标准曲线 $A_{ij} = 3.34788 \times 10^5 c_{ij} - 2.79453 \times 10^5$ ($R^2 = 0.9968$)。

实际测定中，对待测样品测定 2 次 ($P=2$)，响应值分别为 3 910 518 和 3 805 033，代入公式，求得预估浓度值 $\bar{x} = 12.36 \mu\text{g/mL}$ 。

由标准工作曲线求 c 产生的标准偏差 $s(A)$ 为：

$$s(A) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [A_{ij} - (bc_{ij} + a)]^2}{nm - 2}} = 333213$$

则标准曲线引入的相对标准不确定度为：

$$u_r(C_3)' = \frac{s(A)}{b} \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{nm} + \frac{(\bar{x} - \bar{c})^2}{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (c_{ij} - \bar{c})^2}} =$$

$$0.769 \mu\text{g/mL}$$

其中， P 为样品重复测定次数， $\bar{x}$ 为样品质量浓度的平均值， $\bar{c}$ 为标准系列各点质量浓度的平均

值， c_{ij} 为标准系列各点浓度。

相对标准不确定度为

$$u_r(C_3) = \frac{0.769}{12.36} = 0.0622$$

2.3.4 戊唑醇标准溶液的相对标准不确定度 $u_r(C)$ 将上述不确定度分量合成，得到戊唑醇标准溶液引起的相对标准不确定度为：

$$u_r(C) = \sqrt{u_r(C_1)^2 + u_r(C_2)^2 + u_r(C_3)^2} = \sqrt{0.0026^2 + 0.00472^2 + 0.0622^2} = 0.062$$

2.4 由高效液相色谱仪引入的相对标准不确定度 $u_r(LC)$

由校准证书可知，高效液相色谱仪的定量重复性误差为 1.0%，按矩形分布计算，则液相色谱仪的相对标准不确定度为：

$$u_r(LC) = \frac{0.01}{\sqrt{3}} = 0.0058$$

2.5 由测试过程随机效应产生的相对标准不确定度 $u_r(f_{rep})$

已知 2 次样品测量的浓度值分别为 12.52、12.20 μg/mL，平均值 $\bar{x} = 12.36$ μg/mL，查 JJF1059.1—2012^[7]表得极差系数为 $R = 1.13$ ，则随机效应产生的相对标准不确定度为：

$$u_r(f_{rep}) = \frac{12.52 - 12.20}{1.13 \times \sqrt{2} \times 12.36} = 0.016$$

2.6 相对标准不确定度的合成

上述各项相对不确定度分量(表 2)互相独立，则戊唑醇的相对合成标准不确定度为

$$u_r(\omega) = \sqrt{u_r(m)^2 + u_r(V)^2 + u_r(C)^2 + u_r(LC)^2 + u_r(f_{rep})^2} = \sqrt{0.000098^2 + 0.0028^2 + 0.062^2 + 0.0058^2 + 0.016^2} = 0.065$$

表 2 戊唑醇相对标准不确定度分量

来源	相对标准不确定度 $u_r(x)$
称取样品质量(m)	0.000098
试样定容体积(V)	0.0028
标准溶液质量浓度(C)	0.062
液相色谱仪(LC)	0.0058
平行实验重复性(f_{rep})	0.016

2.7 扩展不确定度及结果

不确定度各分量按正态分布处理，取 $k = 2$ ，置信水平 $p = 95\%$ ，计算相对扩展不确定度 $U_r = u_r(\omega) \times k = 0.065 \times 2 = 0.13$ 。戊唑醇质量分数为

$$\omega = \frac{C \times V}{m} f_{rep} = \frac{12.36 \times 100}{2.5000} \times 1 = 494 \text{ } \mu\text{g/g}$$

$$494 \times 0.13 = 64 \text{ } \mu\text{g/g}$$

防腐木材中的戊唑醇质量分数的平均值及不确定度表示为 $(494 \pm 64) \text{ } \mu\text{g/g}$ ， $k = 2$ 。

3 结论

本实验参考 GB/T 23229—2009《水载型木材防

腐剂分析方法》，测定了防腐木材中戊唑醇的质量分数，并从样品质量、定容体积、标准溶液浓度、液相色谱仪定量重复性、平行试验重复性等方面分析和计算了不确定度，确定了戊唑醇质量分数的表示为 $(494 \pm 64) \text{ } \mu\text{g/g}$ ， $k = 2$ ，置信水平 95%。从对不确定度的分析可知，利用高效液相色谱法测定戊唑醇含量的过程中，由标准溶液引入的不确定度为方法不确定度的主要来源，其次为测量重复性和液相色谱仪引入的不确定度。为提高木材铜唑防腐剂检测的准确度，应控制测定标准溶液的准确性，以降低该方法不确定度分量的影响。

参考文献

[1] 官咏仪，邱志超，宋阳，等. 高效液相色谱法测定葡萄酒中山梨酸含量的不确定度评定[J]. 食品科学，2015，36(16)：231-235.

[2] 彭彩华，尹平河. ICP-AES 分析茶叶中 Mg 和 K 含量的不确定度评定[J]. 光谱实验室，2011，28(1)：196-200.

[3] 薛忠，徐冰，刘倩，等. 不确定度评估在中药近红外定量分析中的应用[J]. 光谱学与光谱分析，2014，34(10)：2657-2661.

[4] 国家质量监督检验检疫总局国家标准化管理委员会. 木材防腐剂：GB/T 27654—2011[S]. 北京：中国标准出版社，2012.

[5] 国家质量监督检验检疫总局国家标准化管理委员会. 水载型木材防腐剂分析方法：GB/T 23229—2009[S]. 北京：中国标准出版社，2009.

[6] 国家质量监督检验检疫总局. 常用玻璃量器检定规程：JJG 196—2006[S]. 北京：中国计量出版社，2007.

[7] 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，2012.