

分析化学中的不确定度及其降低策略探讨

张东东¹, 漆红兰², 张成孝^{2,*}

¹ 西安交通大学药学院, 西安 710061

² 陕西师范大学化学化工学院, 西安 710062

摘要: 国际标准化组织(ISO)在制定的测量不确定度表示指南中, 测量不确定度定义为一个与测量结果相关联、表征可以合理归因于被测值离散度的参数。在国内分析化学和药物分析教材中很少涉及不确定度的定义和定量表述。本文介绍了不确定度的定义和量化表达式, 剖析了不确定度的内在特征及其影响因素, 提出了降低不确定度的一些策略。

关键词: 测量不确定度; 误差; 置信区间; 分析化学; 药物分析

中图分类号: G64; O6

Definition and Decreasing Strategies of Uncertainty in Analytical Chemistry

Dongdong Zhang¹, Honglan Qi², Chengxiao Zhang^{2,*}

¹ School of Pharmacy, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China.

² School of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China.

Abstract: Measurement uncertainty is defined by the International Organization for Standardization (ISO) as a parameter related with the measurement result that characterizes the dispersion reasonably attributed to the measurand. The definition and quantitative representation of measurement uncertainty, however, are rarely discussed in the textbooks for Analytical Chemistry and Pharmaceutical Analysis in China. This paper presents the definition and the quantitative expression of measurement uncertainty, and analyzes its intrinsic characteristics and influencing factors, and proposes strategies to decrease measurement uncertainty.

Key Words: Measurement uncertainty; Errors; Confidence interval; Analytical chemistry; Pharmaceutical analysis

国际标准化组织(ISO)制定的“测量不确定度表示指南”中, 定义“不确定度”(Uncertainty)为一个与测量结果相关联的参数, 该参数表征了可以合理归因于被测值的离散度^[1,2]。我国合格评定国家认可委员会也制定了“测量不确定度要求的实施指南”^[3]。尽管我国分析化学教科书^[4,5]、药物分析教科书^[6]、国外分析化学教科书^[7]对测量不确定度有一些介绍, 相关文献对测量不确定度及其溯源和降低策略有一些讨论^[8,9], 但是讨论并不系统和深入。我们前期对检出限与灵敏度及影响因素^[10]和选择性及提高选择性策略^[11]进行了探讨。测量不确定度是分析化学评价测量结果的一个重要参数。因

收稿: 2024-07-24; 录用: 2024-10-16; 网络发表: 2024-10-30

*通讯作者, Email: cxzhang@snnu.edu.cn

基金资助: 国家自然科学基金(22274126); 教育部国家级一流本科课程-仪器分析(2020131417); 陕西省本科和高等继续教育教学改革研究项目(23BY031)

此, 本文将介绍测量不确定度的定义和量化表达式, 剖析测量不确定度的内在特征及其影响因素, 提出降低化学测量过程中不确定度的一些策略, 旨在抛砖引玉, 提高读者对测量不确定度及其降低策略的认识。

1 不确定度的定义和量化表达式

1.1 不确定度的定义

武汉大学主编的《分析化学》(第6版)教材中, 指出“不确定度为测量不确定度的简称, 指分析结果的正确性或准确性的可疑程度。不确定度是合理地表征测量值或其误差离散的一个参数”^[5], 该定义是比较完整的。国际标准化组织(ISO)制定的“测量不确定度表示指南”中, 定义“uncertainty (of measurement) is parameter, associated with the result of a measurement, that characterizes the dispersion of the values that could reasonably be attributed to the measurand”, 即定义“测量不确定度”为一个与测量结果相关联的参数, 该参数表征了可以合理归因于被测值的离散度^[1]。该指南并给出以下标注: 标注1, 例如, 该参数可以表示为标准偏差或其给定的倍数, 也可以表示为给定置信水平下置信区间宽度之半。标注2, 一般来说, 该参数由许多分量组成, 一些分量可以根据一系列测量结果的一定统计学分布规律来评估, 一些分量也可以根据经验或其他信息从假设的概率分布规律来评估。标注3, 不言而喻, 测量结果是对被测值的最佳估计, 而所有不确定度的分量(也包括由系统误差引起的不确定度分量, 例如, 与校正和参考标准有关的不确定度的分量)都对测量结果的离散度有贡献^[1]。国际标准化组织(ISO)不仅给予测量不确定度的定义, 而且也对其合理归因进行了标注。简言之, 分析化学测量结果的表述应包括测量结果平均值与分散性两部分^[1], 类同于“置信区间”, 即在一定置信度下测量结果落在某一定区间。不确定度越小测量结果与被测量的真值越接近。此外, 对于定性分析不要求对不确定度进行评估^[6]。

1.2 不确定度的量化表达式

按照国际标准化组织(ISO)制定的“测量不确定度表示指南”, 测量不确定度的评估程序主要包括剖析不确定度的来源、评定不确定度分量、计算合成标准不确定度(combined standard uncertainty, $u_c(y)$)、确定扩展不确定度(expanded uncertainty, U_c)和报告不确定度^[1-3]。在此, 重点介绍合成标准不确定度、确定扩展不确定度和报告不确定度的计算。

总体不确定度的量化计算可以通过对每个来源进行单独评估以及随后对这些不确定度进行方差计算(即自下而上的方法)或直接在测量结果中确定几个或所有来源的组合不确定度(即自上而下的方法)来进行^[2,12]。通常, 自下而上的方法是将分析过程中每个步骤的系统误差和随机误差结合起来, 能够识别一些最重要的不确定度来源, 这有助于有效控制或降低总体不确定度, 但这种方法费时费力, 需要获得足够多的信息来评估合成和扩展不确定度; 而自上而下的方法则只需要较少的信息来评估合成和扩展不确定度, 这种方法相对省力, 但无法量化每个不确定度来源的单独贡献。

不确定度通常可能含有多个分量, 当用标准偏差表示时, 不确定度分量称为标准不确定度^[1]。为了综合评估不同来源的不确定度, 通常采用A类和B类两种评估方法^[13]。A类评估法是基于重复性实验的测量结果, 通过统计学的方法对标准不确定度进行评估; B类评估法是基于经验或其他信息, 通过非统计学的方法对标准不确定度进行评估。

1.2.1 标准不确定度的计算^[1]

(1) A类评估中标准不确定度的计算。

对某一样本用某一种分析方法进行 n 次独立测量, 可得到一组测量值 x_1, x_2, \dots, x_n , 在定量分析化学中, 测定值通常为被测定物质的浓度或质量, 其值可以根据测量信号经过一定的定量关系计算而得。

通过式(1)可计算测定结果的算术平均值(\bar{x})

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (1)$$

在无系统误差的情况下, \bar{x} 为真值 μ 的最可信赖值。

增加测量次数和测定组数可以减小不确定度 $u_A(x)$, 通常 n 为7-21。

通过式(2)可计算某一样本一组测量值的标准偏差 $s(x)$ 。

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

以某一样本一组测量值的标准偏差来估计总体平均值的标准偏差(standard deviation of mean), 可通过式(3)计算。

$$s_{\bar{x}} = \frac{s(x)}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

对于同一总体的多样本(即多组, j 个)使用同一种分析方法进行有限次(总次数为 N 次)的测量, 通过式(4)可计算测定结果合并标准偏差(pooled standard deviation) [7]。

$$s_p = \sqrt{\frac{\sum (x_{i1} - \bar{x}_1)^2 + (x_{i2} - \bar{x}_2)^2 + \cdots + \sum (x_{ij} - \bar{x}_j)^2}{N-j}} \quad (4)$$

式(4)中, $\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_j$ 为 j 个系列分析中各组测定结果的平均值, $x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ij}$ 为在各系列中单次测定值。 N 为总测量次数, 等于 $(N_1 + N_2 + \cdots + N_j)$ 。如果进行五组样本分析, 每组进行20次测量, 则 $j=5, N=100$ 。每组样本的测量次数可以不相等。 $N-j$ 是从 $(N_1 - 1) + (N_2 - 1) + \cdots + (N_j - 1)$ 中获得的自由度; 每个子集都会损失一个自由度。该方程表示每组数据的标准偏差方程的组合。显然, 合并标准偏差优于总体平均值的标准偏差。

总的来说, A类标准不确定度与标准偏差的关系可归纳如下:

对于某一样本进行 n 次独立测量的标准偏差 $u_A(x) = s(x)$

对于某一样本进行 n 次独立测量的总体平均值标准偏差 $u_A(x) = s_{\bar{x}}$

对于同一总体进行多样本(即多组, j 个)有限次(总次数为 N 次)的测量 $u_A(x) = s_p$

(2) B类评估中标准不确定度的计算。

根据经验或其他信息(如校准证书、生产说明书、检定证书等)判断测量值 x 处于区间 $(\mu \pm a)$ 的概率 p 。B类标准不确定度 u_B 可由式(5)计算。

$$u_B = \frac{a}{k} \quad (5)$$

式(5)中, a 为置信区间半宽度(一般可由经验或其他信息得到); k 为根据测得量误差的概率分布获得相应的包含因子(coverage factor)。对于如正态分布、矩形(均匀)分布、三角分布等的概率分布获得相应的因子不同。在此简要介绍 k 的取值。

对于正态分布, 分析化学教材中已经介绍[4], 从正态分布概率积分表可知, 当概率 p 为90%、95%、99%和99.74%, 对应的包含因子 k 分别为1.64、1.96、2.58和3。

对于矩形分布的概率密度函数 $p(x)$ 为

$$p(x) = \begin{cases} 0 & |x - \mu| > a \\ 1/2a & |x - \mu| \leq a \end{cases}$$

其方差为

$$s(x)^2 = \int_{-\infty}^{+\infty} (x - \mu)^2 p(x) dx = \frac{1}{2a} \int_{\mu-a}^{\mu+a} (x - \mu)^2 d(x - \mu) = \frac{a^2}{3}$$

因此, 对于矩形分布的包含因子 k 为

$$k = \frac{a}{s(x)} = \frac{a}{\sqrt{\frac{a^2}{3}}} = \sqrt{3}$$

对于三角分布的概率密度函数 $p(x)$ 为

$$p(x) = \begin{cases} 0 & |x - \mu| > a \\ \frac{a - |x - \mu|}{a^2} & |x - \mu| \leq a \end{cases}$$

其方差为

$$s(x)^2 = \int_{-\infty}^{+\infty} (x-u)^2 p(x) dx = \frac{2}{a^2} \int_{\mu}^{\mu+a} (x-\mu)^2 (a-x+\mu) dx = \frac{2}{a^2} \int_0^a x^2 (a-x) dx = \frac{a^2}{6}$$

因此, 对于三角分布的包含因子 k 为

$$k = \frac{a}{s(x)} = \frac{a}{\sqrt{\frac{a^2}{6}}} = \sqrt{6}$$

总之, k 值取决于被测量值的概率分布类型。通常在实际应用中, 若被测量服从正态分布或 t 分布, 则 $u_B = a/2$; 若被测量服从矩形分布, 则 $u_B = a/\sqrt{3}$; 若被测量服从三角分布, 则 $u_B = a/\sqrt{6}$ 。

1.2.2 合成标准不确定度的计算^[1]

在指南中^[1,3], 对于合成标准不确定度的计算, 均使用输入量(input values)与被测量函数关系的公式计算。设被测量与各输入量之间的函数关系为 $y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$, 则合成标准不确定度 $u_c(y)$ 是其合成方差 $u_c^2(y)$ 的正平方根, $u_c(y)$ 可根据式(6)计算。

$$u_c(y) = \sqrt{\left[\frac{\partial f}{\partial x_1} u_c(x_1)\right]^2 + \left[\frac{\partial f}{\partial x_2} u_c(x_2)\right]^2 + \dots + \left[\frac{\partial f}{\partial x_n} u_c(x_n)\right]^2} \quad (6)$$

其中, x_1, x_2, \dots, x_n 为输入量, 并非前述的浓度或质量, $\frac{\partial f}{\partial x_1}, \frac{\partial f}{\partial x_2}, \frac{\partial f}{\partial x_n}$ 表示灵敏系数(也称为不确定度传播系数), 式(6)也被称为不确定度传播律^[3]。灵敏系数由所建立的数学模型 $y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$ 对 x_1, x_2, \dots, x_n 求偏导数得到, 也可以由实验测量得到^[3]。为了便于理解, 可认为灵敏系数是各参量对被测量(如前述的浓度或质量)方差的贡献。因此, 式(6)可简写为

$$u_c(y) = \sqrt{[A_1 u_c(x_1)]^2 + [A_2 u_c(x_2)]^2 + \dots + [A_n u_c(x_n)]^2} \quad (7)$$

当不确定度直接表示其对被测量的影响时, 灵敏系数为1, 此时, 式(7)可简化为式(8)。

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n u_i^2} \quad (8)$$

其中, n 为互不相关的标准不确定度分量的个数, $i = 1, 2, 3, \dots, n$ 。

【例1】通过还原磷酸盐生成特征蓝色磷钼酸络合物的分光光度法测定尿液中磷的含量。磷酸盐标准溶液磷的浓度分别为1.00, 2.00, 3.00和4.00 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 测得标准溶液的吸光度依次为0.205, 0.410, 0.615和0.820, 尿样的吸光度为0.625。(1) 根据实验数据绘制吸光度-磷的浓度标准曲线, 确定线性最小二乘法的拟合曲线方程; (2) 计算尿样中磷的浓度; (3) 计算最小二乘法回归曲线斜率和截距的不确定度, 以及该尿样中磷浓度的不确定度。

解: (1) 软件绘图法。

以磷浓度为自变量 x , 测得吸光度为因变量 y , 使用Excel软件绘制散点图, 并进行线性拟合(标准曲线图略)。由标准曲线图确定一元线性回归方程及其回归系数为:

$$y = 0.205x \quad (x \text{ 单位为 } \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) - 4 \times 10^{-16}, \quad r^2 = 1.000$$

即标准曲线的斜率 = $0.205/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$, 截距 = 4×10^{-16} 。

(2) 根据实验所得样品的吸光度和回归方程式, 可计算尿样中磷的浓度。

$$x = \frac{A}{0.205} = \frac{0.625}{0.205} = 3.05 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$$

(3) 尿样中磷浓度的不确定度的计算^[4]。

先计算信号值(吸光度, y_i)的标准偏差(s_y)。因为尿样中磷浓度的计算是基于一元线性回归方程中的斜率和截距并根据样品吸光度的逆运算而得的。由于测定值与预估值之间可能存在偏差, 就会导致某样品中特定分析物的未知浓度计算结果的不确定度。这个未知浓度的不确定度取决于线性回归方程斜率和截距的标准偏差。根据误差传递公式(即: 加减法中, 结果的绝对方差等于各参数绝对方差之和; 乘除法中, 结果的相对方差等于各参数相对方差之和), 未知浓度的不确定度可由线性回归方程式中斜率 m 和截距 b 的标准偏差进行计算。最小二乘法回归线上的每个数据点都表现出关于 y

轴上的线的正态(高斯)分布。每个 y_i 与直线的偏差为 $y_i - y_1 = y - (mx_i + b)$ 。这些 y 轴偏差中的每一个点的标准偏差由类似于样本标准偏差的公式进行计算, 不同之处在于由于在定义斜率和截距时使用了两个自由度, 此处的自由度少了两个, 所以, 信号值的标准偏差 s_y 为

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - (mx_i + b)]^2}{n-2}}$$

为了便于计算, 将上式进行变换, 并带入实验数据,

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - (mx_i + b)]^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{[\sum_{i=1}^n y_i^2 - (\sum_{i=1}^n y_i)^2/n] - m^2[\sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2/n]}{n-2}}$$

$$= \sqrt{\frac{(1.261 - \frac{4.202}{4}) - 0.042 \times (30 - \frac{100}{4})}{4-2}} = \pm 0.016$$

回归曲线斜率的不确定度(s_m)为:

$$s_m = \sqrt{\frac{s_y^2}{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}} = \sqrt{\frac{s_y^2}{\sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2/n}} = \sqrt{\frac{(\pm 0.016)^2}{30 - \frac{100}{4}}} = \pm 0.007$$

回归曲线截距 b 的不确定度(s_b)为:

$$s_b = s_y \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2}} = s_y \sqrt{\frac{1}{n - (\sum_{i=1}^n x_i)^2 / \sum_{i=1}^n x_i^2}} = 0.016 \times \sqrt{\frac{1}{4 - \frac{100}{30}}} = \pm 0.020$$

应用误差传递原理, 该尿样中磷浓度的不确定度(s_x)为:

$$s_x = \frac{s_y - s_b}{s_m} = \frac{(0.625 \pm 0.016) - (0 \pm 0.020)}{0.205 \pm 0.007} = 3.049 \pm 0.283$$

1.2.3 扩展不确定度的计算

在分析化学的大多数应用中, 扩展不确定度 U_e 提供了一个区间(半宽度), 当测量值落在该区间内时测量结果具有更高的置信度, 可通过式(9)计算 U_e 。

$$U_e = k u_c(y) \quad (9)$$

式(9)中, k 为包含因子或称为扩展系数; $u_c(y)$ 为合成标准不确定度。

对于正态分布, 如前所述按概率 p 来确定 k 。对于 t 分布, k 值可根据式(10)得到。

$$k = t_{\alpha, f} \quad (10)$$

其中, $t_{\alpha, f}$ 可根据置信水平 α 和自由度 f , 由 t 分布界值表查得; 若自由度 f 未知时, 通常取包含因子 $k=2$, 因为此时95%的置信水平可满足多数要求, 而当 $k=3$ 时, 置信水平达99%以上。

当合成标准不确定度的概率分布不是正态分布, 而是接近矩形分布或三角分布, k 值如前所述取 $\sqrt{3}$ 或 $\sqrt{6}$ 。总之, 应根据不同分布类型和应用要求选取更合理的 k 值, 但采用扩展不确定度时必须注明 k 值。

1.2.4 不确定度的报告形式

不确定度的报告形式一般有两种, 即扩展不确定度 U_e 和相对扩展不确定度 U_{rel} ^[1]。 U_{rel} 通过式(11)计算得到。

$$U_{rel} = U_e / |\bar{x}| \quad (11)$$

需要注意的是, 无论报告扩展不确定度 U_e 还是相对扩展不确定度 U_{rel} , 有效数字最多两位且须同时报告 k , $u_c(y)$ 和 α 。

2 不确定度的内在特征

为了深入理解测量的不确定度的内在特征,我们将对不确定度与准确度、精密度和误差(包括系统误差和随机误差)的关系以及影响不确定度的因素进行简单地讨论。

2.1 准确度与不确定度的关系

准确度(accuracy)是指测量结果与真实值之间的接近程度,常用相对误差来表示。准确度的高低可以直接反映测量结果的可靠性和有效性^[4,5]。在实际工作中,真值无法真正获得。从数理统计的角度讲,在消除系统误差的前提下,多次测量结果的算术平均值是最可信赖值,视为真值。因此,人们通常采用多次测量结果的算术平均值简单地表述测定最终结果。由于测量中误差不可避免,因此这种表述测定结果的方式不准确。在分析化学教材中,常利用测定结果平均值的置信区间来表述最终测定结果。但是,平均值的置信区间对于剖析测定结果的误差来源较难,故也用[算术平均值 \pm 不确定度]表述最终测定结果。由此可见,准确度与不确定度是两个不同的指标,有一定的相关性。

2.2 精密度与不确定度的关系

精密度(precision)是指使用同一仪器同一分析方法对同一样品进行多次测定所得测定结果的一致程度^[4]。常用重复性(repeatability)来量度,用标准偏差 s 或相对标准偏差表示,标准偏差 s 或相对标准偏差越大则方法的精密度越差。如前所述,不确定度是根据使用的分析方法精密度赋予一定阈值(倍数)所求得的(见上述公式)。因此,不确定度与精密度是两个直接相互关联但又不完全相同的参数。

2.3 误差与不确定度的关系

误差(error)表示的是测量结果偏离真实值的程度。如前所述真值无法真正获得,因此在分析化学中常用测量结果与测定结果的平均值的偏离程度表征误差。误差可用绝对误差和相对误差来表示。误差根据其性质分为系统误差和随机误差两类。系统误差由一些固定原因所产生,而随机误差产生的原因并不一定明确,但其服从一定的统计学规律。只有在认为消除了系统误差的前提下,测量结果的误差分布规律才能按随机误差分布的规律进行处理。误差与不确定度是两个直接相互关联但又不完全相同的参数。武汉大学主编的分析化学教材^[5]中,对误差与不确定度的关系进行了比较详细的讨论,因此在此不再赘述。

2.4 影响不确定度的因素

影响测量不确定度的因素诸多,主要包括采样、测量过程、测量仪器、测量方法,测量人员,试剂、校准品及其更换批次的频率等^[14]。每个因素或其不同的组合都会影响测量不确定度。为了便于理解,在此,以影响测定结果精密度或标准偏差的因素,对影响不确定度的因素进行简单的讨论。

2.4.1 测试样本

只有分析所采样品能代表样品总体,其测定结果才可靠。以测定室温种植的生菜中硝酸盐浓度为例^[9],作者使用同一采样的方式沿着两种不同的“W”形采样路线进行重复取样(采样点为10个),然后使用同一高效液相色谱法对每个所采样本进行两次分析。结果表明抽样不确定度($518 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)明显大于分析不确定度($148 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),这说明采样对整体测量不确定度的贡献更大,占据主导地位。因此,应降低采样不确定度以提高分析结果的准确度。如果分析的样品为均匀的液体,其抽样的代表性比较好;而分析的样品为固体时,其抽样的代表性应进行考察;不同样本之间的随机变化和抽样程序的变化等都可能影响最终结果的不确定度。

2.4.2 测量方法

影响测量方法标准偏差的因素都会影响测量方法的不确定度。某一分析方法的不确定度,如称量、溶液体积量取、仪器读数等,有可能对测定结果的不确定度(可重复性标准偏差)有较大的贡献或超出了一定阈值,则应予以考虑;如果测定结果的偏差或所用参考值的不确定性以及与偏差检查相关的精度与可重复性标准偏差相比都很小,则不需要对该分析方法的不确定度进行考虑。

2.4.3 测量仪器

影响测量仪器标准偏差的因素都会影响测量仪器的不确定度。仪器的分辨力、灵敏度、稳定性

等性能指标都会对测量仪器的不确定度产生影响。因此,影响仪器分辨力和灵敏度及稳定性等性能指标的因素,如使用年限,使用频率,关键器件的功能、环境因素等均可能会对测量仪器的不确定度产生影响。

2.4.4 测量环境

实验室测量环境,如温度、湿度、光照、电场、磁场、污染物等因素,都会影响测量环境的不确定度。如果实验结果标准偏差或不确定度超出测量环境允许的范围,应予以考虑;如果这些影响已被调查并证明在其全部允许范围内是微不足道的,则不需要考虑。

2.4.5 测量人员

测量人员在操作精度、读数习惯等方面可能具有差异性,测量人员间存在一定的不确定。另外,不同实验室人员和仪器的不同,引起分析方法再现性(reproducibility)的差异,这也是测量不确定度的重要来源之一。例如,3个不同实验室对同一患者群体同一批次血液样品中的谷丙转氨酶水平(IU·L⁻¹)进行分析,测量结果($\bar{x} \pm U_c$)分别为(35.5 ± 4.9)、(34.1 ± 5.3)和(33.1 ± 4.7) IU·L⁻¹,3个实验室的平均结果为(34.2 ± 4.9)^[14]。该实例说明不同实验室间存在差异,如果扩展不确定度允许在±5.0之内,则认为3个实验室间的不确定度在允许范围内,可以不考虑;如果扩展不确定度允许在±4.5之内,说明不同实验室间存在差异。

2.4.6 其他

试剂在均一性、稳定性、纯度、储存条件、生产批次等可能存在差异,这些因素也可能对测定结果产生一定的不确定度。如果这些因素引起的不确定性超出了不确定度的阈值,就需要考虑。例如,文献^[15]利用高效液相色谱质谱法(HPLC-MS/MS)测定血浆中抗病毒药物瑞德西韦(remdesivir)的活性代谢物GS-441524 (Nuc)时,通过向血浆样品中添加了一系列浓度的Nuc标准品来绘制标准曲线,用该标准曲线测定100 ng·mL⁻¹ Nuc。分析了测定过程中,计算了标准曲线、HPLC-MS/MS、回收率、样品制备、溶液制备、称重、方法重复性的不确定度,并计算了各不确定度分量在总不确定度中的比例。由于标准曲线的不确定度占总不确定度的65%,其占比远远高于其他不确定度分量,占主导地位,应予以考虑。该研究表明在用空白生物样品制作标准曲线时,其标准曲线产生的不确定度应予以特别重视。

3 降低不确定度的策略

如前所述,测量不确定度有可能影响人们对测定结果的误判;测量不确定度的大小受多种因素的影响,在此基础上,我们拟对降低不确定度的一些策略进行如下讨论。

3.1 选择合适的采样方式,扩大样本量,进行多次测量

在分析化学中,我们往往采集一定量的样品进行分析,而所采样品是否能代表测定总体是十分重要的,因此,需要选择合适的采样方式。对于简单样品,如样品同质或非常相似,可采取简单随机抽样的方法;对于复杂样品如固体,生物样品,应采用分层采样,分时段采样等方式,以提高采样的代表性和精密度^[16]。

在选择合适的采样方式后,使用某种分析方法,扩大样本量往往能降低不确定度,这可由前述的合并标准偏差 s_p 公式来理解,即样本数 j 增加,则 s_p 减小。

对于一个样品的单次测定,可以通过增大重复测量次数,减小样本的标准偏差和不确定度。

3.2 选择合适的测量方法

对于某一样品中分析物的测定,不同测定方法测定结果不同,其不确定度也不同。应选择准确度高、精密度高、选择性好以及线性范围宽的分析方法。

3.3 校准分析仪器

分析仪器,如pH计、分析天平、移液器、温度计、控制仪器、专业分析仪器等,在使用前应按照标准程序对仪器进行校准,调整参数将分析仪器造成的测量不确定度控制在可接受范围内;并进

行适当的维护, 当连续测量过程中引起的仪器劳损及温度变化对测量性能的影响不可忽略时, 应尽量避免长时间使用。以保证仪器测量的准确性和精密度, 减小由分析仪器产生的不确定度。

3.4 控制测量环境的条件

若测量仪器、试剂、标准品、样品对上述环境因素如温度、湿度、光照、电场、磁场、污染物等因素敏感, 则应严格控制这些测量环境条件, 以避免这些因素造成不确定度的增大。例如, 样品/分析物的稳定性在分析过程中可能由于受热解、潮解或光解作用的变化而改变, 应防止样品/分析物的热解、潮解或光解。

3.5 加强操作人员的专业水平

对测量人员进行充分的专业化培训, 规范测量相关的操作, 如容量瓶正确使用、滴定管正确读数、滴定终点的正确判断、专业仪器的正确操作、数据的正确处理等, 以提高操作人员的专业水平。可以通过一个或多个典型样品进行多次分析所得的标准偏差或不确定度是否超出规定值, 检验该分析人员操作水平。

4 结语

本文详细介绍了测量学和分析化学中不确定度的定义、定量表达式和内在特征; 剖析了不确定度的影响因素; 提出了分析化学中降低测量不确定度的一些策略。测量不确定度在测量学中已经广泛使用, 在分析化学中应用也越来越多。本文就不确定度也只是简要薄浅的介绍, 旨在抛砖引玉, 帮助分析化学领域的研究人员、教师和学生正确理解不确定度并降低不确定度, 提高测量结果的质量。有关不确定度的深入学习, 读者可学习本文引文中的相关文献, 进一步提高对测量不确定度的认识。

参 考 文 献

- [1] ISO/IEC Guide 98-3 (2008). *Uncertainty of measurement—part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM: 1995)*. Geneva: ISO, 2008.
- [2] Eurachem/CITAC Guide. *Quantifying uncertainty in analytical measurement*; Ellison, S. L. R., Williams, A. Eds.; 3rd ed.; Eurachem: Bucharest, Romania, 2012.
- [3] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL05 测量不确定度要求的实施指南. 2011.
- [4] 华中师范大学等. 分析化学(下册). 第5版. 北京: 高等教育出版社, 2024: 9-11.
- [5] 武汉大学. 分析化学(上册). 第6版. 北京: 高等教育出版社, 2016: 103-106.
- [6] 贺浪冲. 工业药物分析. 第3版. 北京: 高等教育出版社, 2018: 187-191.
- [7] Christian, G. D. *Analytical Chemistry*, 6th ed.; Wiley: New York, USA, 2003; pp. 93-96.
- [8] Analytical Methods Committee. *Anal. Methods* **2021**, 13 (24), 2728.
- [9] Analytical Methods Committee. *Anal. Methods* **2022**, 14 (40), 4025.
- [10] 漆红兰, 李佳妮, 张成孝. 大学化学, **2021**, 36 (9), 2107008.
- [11] 师亮, 漆红兰, 张璐, 张成孝. 大学化学, **2022**, 37 (1), 22111012.
- [12] Medeiros, K. A. R.; Brandão, L. P.; Atilio, N. C.; Oliveira, E. C. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2023**, 53 (8), 1605.
- [13] Traple, M. A. L.; Saviano, A. M.; Francisco, F. L.; Lourenço, F. R. *J. Pharm. Anal.* **2014**, 4 (1), 1.
- [14] Coskun, A.; Theodorsson, E.; Oosterhuis, W. P.; Sandberg, S. *Clin. Chim. Acta* **2022**, 531, 352.
- [15] Du, P.; Wang, G.; Yang, S.; Li, P.; Liu, L. *Anal. Bioanal. Chem.* **2021**, 413 (23), 5811.
- [16] Braga, F.; Panteghini, M. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2020**, 58 (9), 1407.