

环境监测领域校准曲线的建立和要求

陈燕梅 贾瑞杨
四川省环境监测总站

DOI:10.32629/eep.v2i2.127

[摘要] 在环境监测工作中,大多数项目都涉及到使用校准曲线进行定量,因此正确建立和使用校准曲线是我们获得准确结果的前提。本文讨论了校准曲线的建立,截距、斜率、相关系数、试验点数、溯源性等要求,对于项目分析中建立和优化校准曲线具有一定的参考价值和指导意义。

[关键词] 环境监测; 校准曲线; 建立

前言

《标准样品工作导则(9)分析化学中的校准和有证标准样品的使用》(GB/T15000.9-2004)中将校准程序分为I、II和III类,其中“类型I为使用分析过程中测量得到的有关物理、化学参数、通过包含这些参数的计算公式给出预期结果;II类为利用有关工作领域的相应特性得到认可的检测系统,将分析样品和含量与一系列已知含量的校准样品进行比较,通过样品信号对校准样品影响曲线的内插法测定样品含量值;III类采用为不仅对待分析元素或分子的含量,而且对基体的差别都公认是灵敏的检测系统,将样品与一系列校准样品进行比较”。其中第II方法即校准曲线是环境监测最常见的校准方法。

通过测量某种物理量(信号) X 来求出待测物质的浓度 C 或绝对质量 q 。 X 与 C (或 q)之前存在一定的函数关系 $X=f(C)$ 或系 $X=f(q)$,这一函数关系就是分析方法的校准曲线^[1];根据样品测定值从校准曲线计算样品中待测物浓度。校准曲线看似简单,但需要注意环境监测领域中校准曲线建立和使用过程中特殊要求。

1 校准曲线的分类

1.1 工作曲线和标准曲线

校准曲线分为工作曲线和标准曲线两类^[1],标准曲线是用标准溶液系列直接测量,没有经过水样的预处理过程(对于废水样品或集体复杂的水样往往造成较大误差);工作曲线是指所使用的标准溶液经过了与水样相同的消解、净化、测量等全过程^[2]。

在环境监测标准方法中,主要涉及吹扫捕集、热脱附、柱前衍生等前处理方法,多数建立工作曲线,其他则以标准曲线为主。但是《环境空气苯系物的测定固体吸附热脱附-气相色谱法》(HJ583-2010)和《环境空气挥发性有机物的测定吸附管采样-热脱附气相色谱-质谱法》(HJ644-2013)方法中还可以采用液体进样方式建立标准曲线。

通常情况下,不能以直接进样的标准曲线取代工作曲线,但经过方法证实,可以用工作曲线代替标准曲线,如挥发酚、总氰化物的测定,其标准方法中采用标准曲线,但实验证实蒸馏的过程中存在一定的损失,工作曲线与标准曲线相比,

斜率有所下降,使用标准曲线,结果偏低,因此最好使用工作曲线^[3]。也有例外,如《环境空气苯系物的测定活性炭吸附/二硫化碳解吸-气相色谱法》(HJ584-2010)。

1.2 内标法、外标法和标准加入法

根据定量方式的不同,校准曲线还可分为内标法、外标法、标准加入法等。环境监测常规理化项目方法中以外标法使用较多,而在有机项目方法中内标法较为常见,标准加入法相对较少。

根据《环境水质监测质量保证手册》中,内标法是指在几份含等量已知待测组分的样品中加入不同量的内标化合物,配制成不同比例的混合样品,再对其进行色谱分析,从色谱图上求出各自的峰面积,以待测组分的含量 C_x 与内标物的含量比值 C_s 的比值 C_x/C_s 为横坐标,以待测组分的峰面积 A_x 与内标物的峰面积 A_s 的比值 A_x/A_s 为纵坐标,绘制一条校准曲线。如《水质挥发性有机物的测定吹扫捕集气相色谱-质谱法》(HJ639-2012)、《土壤和沉积物多氯联苯的测定气相色谱-质谱法》;《水质梯恩梯、黑索今、地恩梯的测定气相色谱法》(HJ600-2011)等。

在《色谱定性与定量》中,外标法定义为标准曲线法也称为外标法或直接比较法,用标准样品配制成不同浓度的标准系列,在与待测组分相同的色谱条件下,等体积准确量进样,测量各峰面积或峰高,用峰面积或峰高对样品浓度绘制标准工作曲线。

在《气相色谱方法及应用》中标准加入法是在未知样品中加入待测物的标准品,然后根据峰面积或峰高的增加量来进行定量计算。如《水质氟化物的测定离子选择电极法》(GB7484-87)。

2 我国环境监测标准及规范中对校准曲线的规定

2.1 校准曲线的建立

2.1.1 校准点数

《化学分析方法验证确认和内部质量控制要求》GB/T32465-2015中:“应在校准曲线浓度范围内均匀布置6个或以上的校准标准点(包括空白或一个低浓度标准点)”。

《地表水和污水监测技术规范》(HJ/T91-2002)中要求:“根据方法的测量范围(直线范围)配制一系列浓度的标准溶液,

系列的浓度值应较均匀分布在测量范围内,系列点 ≥ 6 个(包括零浓度)。环境监测分析方法对校准曲线的点数一般至少5个点(不含零点)进行曲线回归。在非线性曲线的定量计算中,要求采用至少6个浓度点进行校准(不含零点),如《土壤和沉积物挥发性卤代烃的测定顶空-气相色谱-质谱法》(HJ736-2015)。实际检测工作中,校准曲线的点数应在符合标准要求的前提下结合仪器性能、被测物含量及密度要求等因素来确定^[4]。

2.1.2 重复测量

《基于标准样品的线性校准》(GB/T22554-2010)规定:“每个标准样品应至少测量2次(建议实际中尽可能多次重复),所有标准样品的重复数应相等。”《化学分析方法验证确认和内部质量控制要求》GB/T32465-2015也有相同的规定。在环境监测分析标准方法中,一般不对测定次数做出要求,通常在能快速分析的仪器分析软件中有重复测量次数的选项,如红外测油仪、原子吸收分光光度计等。

2.1.3 斜率和截距

按照《环境监测质量管理技术导则》(HJ630-2011)规定:“必要时,对校准曲线的相关性、精密度和置信区间进行统计分析,检验斜率、截距和相关系数是否满足标准方法的要求。若不满足,需从分析方法、仪器设备、量器、试剂和操作等方面查找原因,改进后重新绘制校准曲线。”

斜率(b)表示校准曲线的灵敏度。一般而言,分子吸收分光光度法要求其相对差值小于5%,而原子吸收分光光度法则要求其相对差值小于10%等^[4]。截距(a)用于评价校准曲线的准确度,理想情况截距为零,即理论上应该过零点,但实际工作中,由于实验用水、仪器、试剂、操作等系统误差、随机误差、空白值误差和拟合失真等问题的存在^[5-6],截距不可能为零,即校准曲线偏离坐标原点,产生截距。截距由各种误差产生,误差是不可能完全消除的,但必须控制在规定的范围内,故一般要求 $a \leq 0.005$,当 $a > 0.005$ 时,应做截距的显著性检验^[7]。

如《环境空气二氧化硫的测定甲醛吸收-副玫瑰苯胺分光光度法》(HJ482-2009)规定:在给定的条件下校准曲线的斜率应为 0.042 ± 0.004 ,截距一般要求小于0.005。环境空气氮氧化物(一氧化氮和二氧化氮)的测定盐酸萘乙二胺分光光度法(HJ479-2009)标准曲线斜率控制在0.960~0.978吸光度·ml/ μ g,截距控制在0.000~0.005之间。

2.1.4 相关系数

《地表水和污水监测技术规范》(HJ/T91-2002)中要求:“用线性回归方程计算出校准曲线的相关系数,截距和斜率,应符合标准方法中规定的要求,一般情况相关系数(r)应 ≥ 0.999 。”而环境监测方法标准中,相关系数的大小与基本分析方法相关,一般分光光度法要求0.999以上,气相色谱、气相色谱质谱、液相色谱、液相色谱质谱等一般在0.995以上。

在有机项目大型仪器分析中,常使用平均相应因子进行计算,此时对校准曲线的相关性要求的指标为相对响应因子

的相对标准偏差,如《土壤和沉积物半挥发性有机物的测定气相色谱-质谱法》(HJ834-2017):“初始校准曲线中目标化合物相对响应因子的相对标准偏差应不大于30%,或相关系数大于等于0.990。”《水质挥发性有机物的测定吹扫捕集气相色谱-质谱法》(HJ639-2012):“初始校准校准曲线目标化合物相对响应因子的RSD应小于等于20%,或者校准曲线相关系数大于等于0.990。校准曲线中,四种化合物的最小相对响应因子应满足:1,1-二氯乙烷 ≥ 0.10 、溴仿 ≥ 0.10 、氯苯 ≥ 0.30 、1,1,2,2-四氯乙烷 ≥ 0.30 ”。

2.1.5 数据保留

按照《环境监测质量管理技术导则》(HJ630-2011)中:“校准曲线相关系数只舍不入,保留到小数点后第一个非9数字。如果小数点后多于4个9,最多保留4位。校准曲线斜率的有效位数,应与自变量的有效数字位数相等。校准曲线截距的最后一位数,应与因变量的最后一位数取齐”。

2.2 校准曲线的使用

2.2.1 结果计算

在环境监测分析方法中,通常分光光度法、离子色谱法、原子吸收法、电感耦合原子发射光谱法、电感耦合等离子体发射质谱法、电极法等一般明确规定结果需要扣除实验室空白,而气相色谱、气相色谱质谱法、液相色谱、液相色谱质谱法等分析方法一般不扣除实验室空白。部分特殊方法,如《固定污染源废气酞酸酯的测定气相色谱法》(HJ869-2017)、《环境空气酞酸酯的测定高效液相色谱法》(HJ868-2017)、《环境空气酞酸酯的测定气相色谱-质谱法》(HJ867-2017)等可以在结果中扣除实验室空白中目标化合物的测定值。

2.2.2 线性范围

按照《环境监测质量管理技术导则》(HJ630-2011)的规定:“采用校准曲线法进行定量分析时,仅限在其线性范围内使用”。一般情况下,当样品浓度超出校准曲线的线性范围时,将样品稀释至校准曲线线性范围内再测定,如《水质阿特拉津的测定气相色谱法》(HJ754-2015),个别分析方法规定可以将待测样品稀释后再测定,如《环境空气二氧化硫的测定甲醛吸收-副玫瑰苯胺分光光度法》(HJ482-2009)中使用试剂空白液对样品溶液进行稀释,但要求稀释倍数不要大于6。在4-氨基安替比林萃取分光光度法中,对挥发酚浓度含量低于0.605mg/L的水样,可采用氯仿稀释法测定^[8]。

2.2.3 曲线校核

按照《环境监测质量管理技术导则》(HJ630-2011)的规定:“校准曲线不得长期使用,不得相互借用。一般情况下校准曲线应与样品测定同时进行”。但我国的个别监测分析方法中对不与样品同时进行测定的特殊情况进行了规定,在实际环境监测中,对于校准曲线斜率稳定的分析项目,批间误差较小,在样品分析中可以使用原校准曲线,但应在样品分析同时,带两个空白试验和一个中间标准点^[7]。主要可以分为两类: