

表 2 异槲皮苷加样回收实验结果 ( $n=6$ )

取样量/ g	原有量	加入量 mg	测得量	回收率/ %
0.100 9	0.376 1	0.381 7	0.742 4	95.96
0.099 8	0.372 0	0.381 7	0.730 7	93.97
0.125 6	0.468 1	0.477 1	0.954 9	102.03
0.130 9	0.487 9	0.477 1	0.967 6	100.54
0.156 7	0.584 0	0.572 5	1.140 1	97.14
0.160 1	0.596 7	0.572 5	1.139 8	94.86

### 3 讨论

芦丁、异槲皮苷、槲皮素分别相差一个葡萄糖基,固定比例洗脱很难分离,特别是芦丁和异槲皮苷,保留时间非常接近,容易造成误判,笔者通过多次洗脱实验,最终确定上述梯度洗脱程序,实现了有效分离。同时,

笔者发现,芦丁含量较低,且芦丁和异槲皮苷之间存在另一个独立未知物色谱峰,该未知物有待进一步鉴定。

在一定条件下,异槲皮苷水解后产生槲皮素<sup>[3]</sup>。在稳定性实验中,笔者确认了 0~12 h 内异槲皮苷在实验过程中保持稳定,12 h 以后异槲皮苷是否产生水解有待进一步考证。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:258-259.
- [2] 王玲玲,刘斌,石任兵,等. 荷叶黄酮类化合物成分研究[J]. 北京中医药大学学报,2008,31(2):116.
- [3] 邵晓鸥,熊英. 荷叶质量标准研究[J]. 现代中药研究与实践,2004,18(4):27-29.

DOI 10.3870/yydb.2012.11.038

## 原子吸收分光光度法测定 明胶空心胶囊中铬的不确定度分析

曹琳,周征,黄朝辉,罗淑青,陈仲益

(浙江省宁波市药品检验所,315048)

**摘要** 目的 分析原子吸收分光光度法测定明胶空心胶囊中铬的不确定度,明确影响不确定度的因素。方法 建立原子吸收分光光度法测定明胶空心胶囊中铬的数学模型,确定影响不确定度的因素,并根据《测量不确定度评定与表示》(JJF1059-1999)中有关规定,量化各不确定度分量,计算合成不确定度,从而得出测定结果的扩展不确定度。结果 测定结果合成不确定度为  $0.05 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,扩展不确定度为  $0.10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,明胶空心胶囊中铬的含量为  $(1.65 \pm 0.10) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  ( $K=2$ )。结论 测定结果不确定度主要来源于供试液中铬浓度的测定影响,因此,原子吸收分光光度仪的稳定性是测量准确与否的关键。所建立的不确定度评估方法适用于原子吸收分光光度法测定明胶空心胶囊中铬含量的不确定度分析。

**关键词** 明胶空心胶囊;铬;原子吸收分光光度法;不确定度分析

中图分类号 R917;R927.2

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)11-1507-03

《中华人民共和国药典》2010 年版二部明胶空心胶囊标准中采用原子吸收分光光度法测定铬含量<sup>[1]</sup>,限度不得超过百万分之二,以控制工业明胶的混入。笔者在本实验根据《测量不确定度评定与表示》(JJF1059-1999)<sup>[2]</sup>中有关规定,建立了其测量不确定度的评估方法,从而保证了检测结果的有效性和合理性,为明胶空心胶囊质量控制提供有效、可靠、可溯源的测量数据。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** Agilent AA 240 原子吸收分光光度仪,微

波消解仪(培安公司),METTLER TOLEDO XS 205 电子天平。

**1.2 试剂** 铬元素标准溶液(GBW08614,  $1\ 000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,中国计量科学研究院),硝酸(优级纯,国药集团化学试剂有限公司),明胶空心胶囊(批号:20111001,规格:0#,某胶囊生产企业)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 供试品溶液的制备** 按照《中华人民共和国药典》2010 年版二部<sup>[1]</sup>,取样品  $0.507\ 0\ \text{g}$ ,置聚四氟乙烯消解罐内,加硝酸  $5\ \text{mL}$ ,混匀,浸泡溶散,盖上内盖,旋紧外套,置微波消解炉内消解。消解完全后,取消解内罐置电热板上缓缓加热至红棕色蒸气挥尽并近

收稿日期 2012-05-29 修回日期 2012-07-02

作者简介 曹琳(1977-),女,湖北应城人,副主任药师,硕士,主要研究方向:药品检验。电话:0574-87848341, E-mail:

portial104@yahoo.com.cn。

干,用水转移至 50 mL 量瓶,并用水稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。同法制备试剂空白溶液。

**2.1.2 标准溶液的制备** 量取铬元素标准溶液 1.0 mL,置 100 mL 量瓶,加 2% 硝酸稀释至刻度,摇匀;量取 1.0 mL,置 500 mL 量瓶,加 2% 硝酸稀释至刻度,摇匀,作为标准储备液(20 ng · mL<sup>-1</sup>)。临用时,分别用 2% 硝酸溶液稀释制成每毫升含铬 0,4,8,12,16,20 ng 系列标准溶液。

**2.2 仪器条件** 微波消解程序:5 min 升温至 120 °C,维持 3 min,6 min 由 120 °C 升温至 150 °C,维持 2 min,6 min 由 150 °C 升温至 180 °C,维持 20 min。

原子吸收分光光度仪:Cr 灯,狭缝:0.2 nm,灯电流:7.0 mA。取供试品溶液与对照品溶液,以石墨炉为原子化器,在 357.9 nm 波长处测定,计算,即得。

**2.3 测量不确定度的评估<sup>[3-5]</sup>**

**2.3.1 数学模型的建立及不确定度的表示** 原子吸收分光光度法测定铬含量的计算公式为:  $Y = \frac{CV}{1\ 000 \times m}$  ①

式中  $Y$  为试样中铬含量( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ); $C$  为供试液铬浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ); $m$  为称取试样量(g); $V$  为试样定容体积(mL)。公式①中的 3 个变量彼此独立,依据不确定度传播定律得到  $Y$  的相对合成标准不确定度为:

$$\frac{u(Y)}{Y} = \sqrt{\left[\frac{u(m)}{m}\right]^2 + \left[\frac{u(V)}{V}\right]^2 + \left[\frac{u(C)}{C}\right]^2} \quad \text{②}$$

**2.3.2 标准不确定度分量的评定** ①样品称量导致的相对标准不确定度  $u(m)/m$ :称量样品 0.507 0 g,所用电子分析天平的允差  $a = \pm 0.1$  mg,按均匀分布<sup>[7]</sup>,取包含因子  $k = \sqrt{3}$ ,由于称量时有去皮和称量两次操作,分量应计算两次,则  $u(m) = \sqrt{\left(\frac{a}{k}\right)^2 + \left(\frac{a}{k}\right)^2} = \sqrt{2} \times \frac{0.1}{\sqrt{3}} = 0.082$  (mg),  $\frac{u(m)}{m} = \frac{0.082}{0.507\ 0 \times 10^3} = 1.62 \times 10^{-4}$ 。

② 试样定容导致的相对标准不确定度  $u(V)/V$ :1 量瓶允差引入的标准不确定度  $u_1(V)$ :试样消解后定容采用 A 级单标线容量瓶为 50 mL,允差  $a = \pm 0.05$  mL,按均匀分布<sup>[6]</sup>,取包含因子  $k = \sqrt{3}$ ,则  $u_1(V) = \frac{a}{k} = \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 2.887 \times 10^{-2}$  (mL);

③温度变化引入的标准不确定度  $u_2(V)$ :实验中测量温度为 25 °C,容量校正温度为 20 °C,水的体积膨胀系数为  $2.1 \times 10^{-4}/\text{°C}$ ,按均匀分布<sup>[6]</sup>,取包含因子  $k = \sqrt{3}$ ,则  $u_2(V) = \frac{2.1 \times 10^{-4} \times 5 \times 50}{\sqrt{3}} = 3.031 \times$

$$10^{-2} \text{ (mL)}, \frac{u(V)}{V} = \frac{\sqrt{u_1^2(V) + u_2^2(V)}}{50} = 8.37 \times 10^{-4};$$

④供试液中铬的质量浓度导致的相对标准不确定度  $u(C)/C$ :此项标准不确定度来源于由拟合曲线求得样品质量浓度  $C$  时引入的标准不确定度  $u_1(C)$ 、由配制标准溶液引入的标准不确定度  $u_2(C)$  及由测量重复性引入的标准不确定度  $u_3(C)$ 。

采用最小二乘法作出拟合曲线,求得样品质量浓度( $C$ )过程中引入的标准不确定度  $u_1(C)$ :以系列标准溶液的质量浓度为横坐标,原子吸收分光光度法所测得的吸光度值为纵坐标,拟合标准曲线。由拟合曲线计算供试液中铬的质量浓度。其测量值及计算见表 1。①建立拟合曲线方程: $A_f = 0.028\ 23C_i + 0.025\ 89$  ( $r = 0.999\ 6$ )③

式中, $C_i$  为标准溶液中铬的质量浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ); $a$  为拟合曲线的截距, $a = 0.025\ 89$ ;  $b$  为拟合曲线的斜率, $b = 0.028\ 23$ ;  $A_f$  为由拟合曲线方程计算所得的吸光度值。

$A_i$  为原子吸收分光光度法测定系列标准溶液所对应的吸光度值。由表 1 中数据计算得  $\bar{C} = 10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $\sum (A_i - A_f)^2 = 19.355 \times 10^{-5}$ ;  $\sum (C_i - \bar{C})^2 = 280$ 。②样品测定:3 次测得供试液吸光度平均值为 0.541 5,空白吸光度值为 0.069 5,由拟合曲线计算得供试液中铬的质量浓度( $C$ )为  $16.723 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  (已扣除空白),则明胶空心胶囊中铬的含量为  $Y = \frac{CV}{1\ 000 \times m} = \frac{16.723 \times 50}{1\ 000 \times 0.507\ 0} = 1.65 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ;③拟合曲线不确定度分析:

$$u_1(C) = \frac{s}{B} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C - \bar{C})^2}{\sum (C_i - \bar{C})^2}} \quad \text{④}$$

表 1 6 组浓度的吸光度值及计算结果

$C_i/$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	吸光度 ( $A_i$ ) <sup>*1</sup>	$A_f$	( $A_i -$ $A_f$ ) <sup>2</sup>	( $C_i - \bar{C}$ ) <sup>2</sup>
0	0.017 8	0.025 9	6.561E-5	100
4.000	0.141 7	0.138 8	8.410 E-6	36
8.000	0.257 3	0.251 7	3.136 E-5	4
12.000	0.371 9	0.364 6	5.329 E-5	4
16.000	0.474 8	0.477 6	7.840 E-6	36
20.000	0.585 3	0.590 5	2.704 E-5	100

式中  $b$  为拟合曲线的斜率( $b = 0.028\ 23$ ); $p$  为样品的测定次数( $p = 3$ ); $n$  为标准溶液的测定次数( $n =$

6);  $c$  为样品溶液中铬的浓度,  $c = 16.723 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $\bar{c}$  为标准溶液中铬质量浓度的平均值,  $\bar{c} = 10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $c_i$  为标准溶液中铬的系列质量浓度 ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ );  $s$  为拟合曲线的标准偏差。

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_i - (a + bC_i)]^2}{n - 2}} = \sqrt{\frac{\sum (A_i - A_f)^2}{n - 2}} \quad (5)$$

将  $\sum (A_i - A_f)^2$ ,  $n$  带入公式(5), 得  $s = 6.956 \times 10^{-3}$ 。

将  $s$ 、 $b$  等的数值带入公式(4), 得  $u_1(C) = 0.2004 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

由配制标准溶液引入的标准不确定度  $u_2(C)$ : 标

$$\frac{u(C_x)}{C_x} = \sqrt{\left[\frac{u(C_s)}{C_s}\right]^2 + \left[\frac{u(V_1)}{V_1}\right]^2 + \left[\frac{u(V_2)}{V_2}\right]^2 + \left[\frac{u(V_3)}{V_3}\right]^2 + \left[\frac{u(V_4)}{V_4}\right]^2} = \sqrt{\left[\frac{U(C_s)}{KC_s}\right]^2 + \left[\frac{a_1}{kV_1}\right]^2 + \left[\frac{a_2}{kV_2}\right]^2 + \left[\frac{a_3}{kV_3}\right]^2 + \left[\frac{a_4}{kV_4}\right]^2} \quad (7)$$

将  $U(C_s)$ 、 $K$ 、 $V_1$ 、 $k$  等的数值带入公式(7), 得  $u(C_x)/C_x = 5.773 \times 10^{-3}$ ,  $u_2(C) = u(C_x) = 0.005773 \times 20 = 0.1155 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

由测量重复性引入的标准不确定度  $u_3(C)$ : 重复测量供试液 3 次 (极差系数  $C = 1.69$ ), 测得结果分别为  $16.914, 16.814, 16.441 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  (已扣除空白), 并以其平均值  $16.723 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  作为测量结果, 利用极差法计算, 则  $u_3(c) = \frac{C_{\max} - C_{\min}}{C} = \frac{16.914 - 16.441}{1.69} = 0.4730 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

综上可得出供试液中铬的质量浓度导致的相对标准不确定度  $u(C)/C$ , 其计算公式为:

$$\frac{u(C)}{C} = \frac{\sqrt{u_1^2(C) + u_2^2(C) + u_3^2(C)}}{16.723} \quad (8)$$

将  $u_1(C)$ 、 $u_2(C)$ 、 $u_3(C)$  的数值带入公式(8), 得  $u(C)/C = 3.15 \times 10^{-2}$

**2.3.3 合成标准不确定度的评定** 将  $u(m)/m$ 、 $u(V)/V$ 、 $U(C)/C$  的数值带入公式(2), 得  $u(Y)/Y = 3.15 \times 10^{-2}$ ,  $u(Y) = 0.0315 \times 1.65 = 0.05 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

**2.3.4 扩展不确定度** 取包含因子  $k = 2$  (置信概率为 95%),  $U(Y) = 2u(Y) = 0.10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

**2.3.5 报告与表示** 当测定铬的含量为  $1.65 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  时, 其扩展不确定度  $U(Y) = 0.10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} (k = 2)$ 。故可表示为:  $Y = (1.65 \pm 0.10) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} (k = 2)$ 。

准溶液质量浓度计算公式为  $C_x = \frac{1000 \times C_s V_1 V_3}{V_2 V_4}$  (6)。

式中,  $c_x$  为标准溶液中铬的质量浓度 ( $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ );  $C_s$  为铬单元素标准溶液中铬的质量浓度 ( $1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 由标准物质证书得知扩展不确定度  $U(C_s)$  为  $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} (k = 2)$ ;  $V_1$  为吸取铬单元素标准溶液的移液管取样体积 ( $1 \text{ mL}$ , 允差  $a_1 = \pm 0.007 \text{ mL}^{[7]}$ );  $V_2$  为初次定容体积 ( $100 \text{ mL}$ , 允差  $a_2 = \pm 0.10 \text{ mL}^{[7]}$ );  $V_3$  为稀释时移液管取样体积 ( $1 \text{ mL}$ , 允差  $a_3 = \pm 0.007 \text{ mL}^{[7]}$ );  $V_4$  为最后定容体积 ( $500 \text{ mL}$ , 允差  $a_4 = \pm 0.25 \text{ mL}^{[7]}$ )。

均按均匀分布<sup>[8]</sup>, 取包含因子  $k = \sqrt{3}$ , 相对标准不确定度表示为:

### 3 讨论

笔者在本实验中建立原子吸收分光光度法测定明胶空心胶囊中铬含量的测量不确定度的评估方法, 从而保证了检测结果的有效性和合理性, 为明胶空心胶囊质量控制提供有效、可靠、可溯源的测量数据<sup>[8]</sup>。

根据本实验分析, 采用原子吸收分光光度法测定明胶空心胶囊中铬的含量时, 其测量不确定度主要来源于供试液中铬的质量浓度, 而样品称量和定容引入的不确定度可忽略不计, 因此, 原子吸收分光光度仪的稳定性是测量准确与否的关键所在。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (二部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 1204-1206, 附录 24-25.
- [2] 国家质量技术监督局. JJF1059-1999 测量不确定度评定与表示 [S]. 北京: 中国计量出版社, 1999.
- [3] 任慧. 原子吸收光谱法的不确定度评定 [J]. 粮油食品科技, 2011, 19(5): 48-49.
- [4] 王敏嘉. 原子吸收光谱法测定酱油中铅的不确定度评定 [J]. 光谱实验室, 2009, 26(2): 418-422.
- [5] 王中宇, 刘智敏, 夏新涛, 等. 测量误差与不确定度评定 [M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [6] 中国实验室国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评价指南 [M]. 北京: 中国计量出版社, 2006: 8.
- [7] 国家质量监督检验检疫总局. JJG196-2006 常用玻璃量器检定规程 [S]. 北京: 中国计量出版社, 2006.