

明胶空心胶囊铬元素 AAS 法测定不确定度评定研究

石晶萍, 梁元太, 徐开祥 (扬子江药业集团, 泰州 225321)

摘要 目的: 建立原子吸收法测定明胶空心胶囊中铬元素不确定度评定的方法。方法: 采用《中国药典》2015年版收载明胶空心胶囊铬元素测定的方法, 找出影响测定结果的各个分量并量化各组成标准不确定度, 评定测定结果的不确定度。结果: 原子吸收测定明胶空心胶囊铬元素的不确定度为 $1.395 \pm 0.08487 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($k = 2$)。结论: 本方法简便易行, 可用于原子吸收法测定明胶空心胶囊中铬元素的不确定度评定。

关键词: 原子吸收法; 明胶胶囊; 铬元素测定; 不确定度评定

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2017)01-0037-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2017.01.008

Uncertainty Evaluation on Chromium Determination of Vacant Gelatin Capsules by Atomic Absorption Spectrometry

Shi Jingping, Liang Yuantai, Xu Kaixiang (Yangtze River Pharmaceutical Group, Taizhou 225321, China)

Abstract Objective: To establish a method for uncertainty evaluation on chromium determination of vacant gelatin capsules by the atomic absorption spectrometry. **Methods:** With the method for chromium determination of vacant gelatin capsules in Chinese Pharmacopoeia 2015 edition, the factors influencing the measurement results were found out and the standard uncertainty of each component was quantified to assess the uncertainty of the measurement results. **Results:** The expanded standard uncertainty for the chromium determination of vacant gelatin capsules with AAS was $1.395 \pm 0.08487 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($k = 2$). **Conclusion:** The method appears to be easily operated and suitable for assessment of uncertainty in chromium measurement of vacant gelatin capsules with Atomic Absorption Spectrometry.

Keywords: AAS; gelatin capsules; chromium determination; measurement uncertainty

随着科学技术和社会生产的发展, 对测量的要求越来越高。而测量是靠测量系统控制的, 测量系统质量的高低直接影响测量结果的好坏。为确保检测质量, 国家质量技术监督局先后发布了《检测与校验实验室能力的通用要求》^[1]、《测量不确定度的评定与表示》^[2]、《测量不确定度评定与表示指南》^[3]等指导方案和国家标准, 明确规定了测量不确定的定义和评价结果的适用范围。本文通过对原

子吸收法测定明胶空心胶囊中铬元素不确定度的研究, 基于测量系统分析和误差溯源, 对测量系统进行了不确定度评定, 以反映测量结果的准确性, 为制定产品的质量控制线提供科学依据。

1 仪器与试剂

德国耶拿仪器公司ZEEnit®700P型原子吸收光谱仪, CEM公司MARS6微波消解仪, 瑞士Mettler Toledo公司XS205型电子天平。

铬单元素标准溶液 (1000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 中国计量科学研究院), 明胶空心胶囊 (扬子江药业集团有限公司, 批号: 12050701、12050702), 硝酸为色谱纯 (Merck公司), 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 试验方法^[3]

2.1 对照品溶液的制备

精密量取铬单元素标准溶液 (1000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 50 μL , 置50 mL量瓶中, 加2%硝酸溶液稀释至刻度, 摇匀, 制成每1 mL中含铬1.0 μg 的铬标准贮备液; 临用时, 分别精密量取铬标准贮备液0、1.0、2.0、4.0 mL, 置50 mL量瓶中, 加2%硝酸溶液稀释至刻度, 摇匀, 制成每1 mL中分别含铬0、20、40、80 ng的对照品溶液, 即得。

2.2 供试品溶液的制备

取本品约0.5 g, 精密称定, 置聚四氟乙烯消解罐内, 加硝酸10 mL, 混匀, 浸泡过夜, 盖好内盖, 旋紧外套, 置微波消解搅拌炉内进行消解。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干, 用2%硝酸溶液转移置50 mL量瓶中, 用2%硝酸溶液稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液, 即得。

2.3 铬元素测定

取供试品溶液和对照品溶液适量, 以石墨炉为原子化器, 照原子吸收分光光度法^[4] (《中国药典》2015年版四部通则0406第一法), 在357.9 nm波长处测定, 计算, 即得。

3 不确定度来源

3.1 测量计算公式

空心胶囊中铬元素含量以 r 表示:

$$r = \frac{p_0 \times V_L}{M_0} \times d$$

式中: p_0 为供试品溶液中铬的质量浓度; V_L 为供试品溶液体积; d 为样品的稀释系数; M_0 为供试品质量。

3.2 数学模型

根据不确定度传播公式其数学模型:

$$\text{公式1: } [u(r)/r]^2 = [u(p_0)/p_0]^2 + [u(V_L)/V_L]^2 + [u(M_0)/M_0]^2$$

$$\text{求得: } u^2(r)_{rel} = u^2(p_0)_{rel} + u^2(V_L)_{rel} + u^2(M_0)_{rel}$$

由于目前尚无有证标准物质可用于评价化验室的操作, 因此, 所有可能的影响因子均须考虑。在研究各分项影响因子基础上, 增加样品均匀性分项, 最终得出不确定度数学模型:

$$\text{公式2: } u^2(r)_{rel} = u^2(p_0)_{rel} + u^2(V_L)_{rel} + u^2(M_0)_{rel} + u^2(f_{av})_{rel}$$

3.3 不确定度主要来源^[5-6]

经过对公式2的分析, 供试品含量测定的不确定度主要由下面几个方面组成, 见表1。

4 各不确定度分量评定

4.1 样品均匀度引入不确定度

检验结果是表征所代表物质全部特性, 因此, 样品均匀程度对结果有很大影响, 按A类评定, 取同一批号 (批号: 12050701) 10份样品量在同一条件下进行检测, 结果见表2。

表1 不确定度影响因素组成

影响因素	表达符号
样品均匀度	$u(f_{av})_{rel}$
供试品溶液 50 mL 定容	$u(V_{L01})_{rel}$
对照品溶液 50 μL 吸取	$u(p_{01})_{rel}$
对照品溶液 50 mL 定容	$u(V_{L02})_{rel}$
供试品称量值	$u(M_0)_{rel}$
标准曲线拟合	$u(p_{02})_{rel}$
测试样品方法准确度	$u(p_{03})_{rel}$

表2 样品均匀度检测结果

样品编号	结果 (x_i) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
1	1.408
2	1.409
3	1.410
4	1.415
5	1.411
6	1.418
7	1.410
8	1.419
9	1.412
10	1.419

供试品含量测试平均值: $\bar{x}=1.413 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 含量测试值不确定度公式:

$$u(f_{av}) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

代入公式测得样品均匀度引入不确定度:

$$u(f_{av})_{rel} = u(f_{av}) \div \bar{x} = 0.003029。$$

4.2 供试品溶液50 mL定容引入不确定度 $u(V_{L01})_{rel}$

包括容量瓶本身误差引入不确定度 $u_1(V_{L01})$ 和温度波动引入不确定度 $u_2(V_{L01})$ 。

4.2.1 容量瓶本身误差 $u_1(V_{L01})$

方法中使用容量瓶50 mL, 按B类评定^[6], 依据《JJG 196-2006 常用玻璃量器检定规程》^[7], 体积最大误差为 $\pm 0.05 \text{ mL}$, 假定为三角分布, 则引入的标准不确定度: $u_1(V_L) = 0.05 \div \sqrt{6} = 0.02041 \text{ mL}$ 。

4.2.2 温度波动引入不确定度 $u_2(V_{L01})$

实验室的温度在 $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ 之间变动, 水体膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ mL} \cdot \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, 假定为均匀分布, 2%硝酸水溶液视为水溶液, 因此, 由温度控制不充分而产生的标准不确定度:

$$u_2(V_L) = (50 \times 5 \times 2.1 \times 10^{-4}) \div \sqrt{3} = 0.03031 \text{ mL}。$$

4.2.3 总结

因此, 50 mL容量瓶定容引入的不确定度:

$$u(V_{L01}) = \sqrt{0.02041^2 + 0.03031^2} = 0.03654 \text{ mL};$$

$$u(V_{L01})_{rel} = u(V_L) \div 50 = 0.0007308。$$

4.3 对照品溶液50 μL 吸取引起的不确定度 $u_i(p_{01})$

包括体积引入不确定度 $u_1(p_{01})$ 和温度波动引入不确定度 $u_2(p_{01})$ 。

4.3.1 体积引入不确定度 $u_1(p_{01})$

在实验室 $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 体积最大误差为 $\pm 0.04 \mu\text{L}$, 按B类评定^[4], 均匀分布, 则引入的标准不确定度:

$$u_1(p_{01}) = 0.04 \div \sqrt{3} = 0.02309 \mu\text{L}。$$

4.3.2 温度波动引入不确定度 $u_2(p_{01})$

实验室的温度在 $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ 之间变动, 水的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ mL} \cdot \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, 假定为均匀分布, 2%硝酸水溶液视为水溶液, 因此, 由温度控制不充分而产生的标准不确定度:

$$u_2(p_{01}) = (50 \times 5 \times 2.1 \times 10^{-4}) \div \sqrt{3} = 0.00003031 \mu\text{L}。$$

4.3.3 总结

因此, 对照品溶液50 μL 吸取引入的不确定度:

$$u(p_{01}) = \sqrt{0.02309^2 + 0.00003031^2} = 0.02309 \mu\text{L};$$

$$u(p_{01})_{rel} = u(p_{01}) \div 50 = 0.0004618。$$

4.4 对照品溶液50 mL定容引入的不确定度 $u(V_{L02})_{rel}$

包括容量瓶本身误差引入不确定度 $u_1(V_{L02})$ 和温度波动引入不确定度 $u_2(V_{L02})$ 。

4.4.1 容量瓶本身误差 $u_1(V_{L02})$

方法中使用到容量瓶50 mL, 按B类评定^[6], 依据《JJG 196-2006 常用玻璃量器检定规程》^[7], 体积最大误差为 $\pm 0.05 \text{ mL}$, 假定为三角分布, 则引入的

标准不确定度:

$$u_1(V_{L02})=0.05 \div \sqrt{6}=0.02041 \text{ mL}。$$

4.4.2 温度波动引入不确定度 $u_2(V_{L02})$

实验室温度在 $\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ 之间变动,水的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ mL} \cdot \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$,假定为均匀分布,2%硝酸水溶液视为水溶液,因此,由温度控制不充分而产生的标准不确定度:

$$u_2(V_{L02})=(50 \times 5 \times 2.1 \times 10^{-4}) \div \sqrt{3}=0.03031 \text{ mL}。$$

4.4.3 总结

因此,50 mL容量瓶定容引入的不确定度:

$$u(V_{L01})=\sqrt{0.02041^2+0.03031^2}=0.03654 \text{ mL};$$

$$u(V_{L02})_{rel}=u(V_{L02}) \div 50=0.0007308。$$

4.5 供试品称量值引入的不确定度 $u(M_0)_{rel}$

包括称量重复性引入不确定度 $u_1(M_0)$ 和天平误差引入不确定度 $u_2(M_0)$ 。

4.5.1 称量重复性引入不确定度 $u_1(M_0)$

称量重复性分度值引入的不确定度已包含在重复性中,因此,可以不考虑分度值引入的不确定度,天平的重复性误差为 $0.1 \text{ mg}^{[6]}$,假设矩形分布,该不确定度分量: $u_1(M_0)=0.1 \div \sqrt{3}=0.05774 \text{ mg}。$

4.5.2 天平误差引入不确定度 $u_2(M_0)$

天平的最大允许误差为 $\pm 0.1 \text{ mg}$,按均匀分布,该不确定度分量:

$$u_2(M_0)=0.1 \div \sqrt{3}=0.05774 \text{ mg}。$$

4.5.3 总结

二项分量合成得到一次称量标准不确定度:

$$u'(M_0)=\sqrt{0.05774^2+0.05774^2}=0.00008166 \text{ g}。$$

因为称量采用的是减量法,最佳称量引入不确定度:

$$u(M_0)=u'(M_0) \div \sqrt{2}=0.00005774 \text{ g};$$

则由称量引入的相对标准不确定度:

$$u(M_0)_{rel}=u'(M_0) \div 0.5000=0.0001155。$$

4.6 标准曲线拟合引入的不确定度 $u(p_{02})_{rel}$

4.6.1 测定过程

取供试品溶液和对照品溶液适量,以石墨炉为原子化器,照原子吸收分光光度法^[4](《中国药典》2015年版四部通则0406第一法),在357.9 nm波长处测定,制作校准曲线,计算出铬的质量浓度 p_{02} 及其标准不确定度 $u(p_{02})$;在本次实验中用浓度为 $1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的铬标准溶液,配制出质量浓度为0、20、40、80 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的校准标准溶液。由于对照品溶液质量浓度的不确定度小到足够可以忽略,因此,在采用最小二乘法拟合校准曲线时,计算得到的供试品溶液中铬质量浓度 p_{02} 不确定度仅与吸光度的测量不确定度有关,而与校准对照品溶液的不确定度无关;同时也不考虑4种标准溶液质量浓度之间的相关性。

对4种标准溶液各测量3次,共计12次,测量得到的吸光度A值见表3。

表3 校准标准溶液的吸光度测量结果

校准标准溶液浓度 / ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	吸光度 A 值		
	1	2	3
0	0.009906	0.009907	0.009905
20	0.2261	0.2260	0.2263
40	0.4345	0.4343	0.4342
80	0.6610	0.6612	0.6615

拟合校准曲线方程: $A_i=B_0+B_1p_i$;拟合直线的斜率 B_1 和截距 B_0 分别为 $B_1=0.2162$, $B_0=0.008561$;同时得出吸光度测量的实验室标准差: $s(A)=0.005731$ 。

4.6.2 测量结果及标准曲线引入不确定度

对被测样品的供试品溶液(批号:

12050702)共测量3次,即 $p=3$ 。测得溶液浓度为 $p_0=1.395 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,根据公式:

$$u(p_{02})=\frac{s(A)}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p}+\frac{1}{n}+\frac{(p_0-\bar{p})^2}{S_{xx}}}$$

计算标准曲线引入不确定度为:

$u(p_{02})=0.01799 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;

$u(p_{02})_{rel}=u(p_{02}) \div p_0=0.01290$ 。

4.7 测试样品方法准确度引入的不确定度 $u(p_{03})_{rel}$

4.7.1 采用标准加入法测量方法准确度引入的不确定度 $u(p_{03})_{rel}$ ^[8-11]

取供试品溶液(批号: 12050702, 浓度 $1.395 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 分别加入1、2、3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液, 按照原子吸收分光光度法^[4](《中国药典》

2015年版四部通则0406第一法), 在357.9 nm波长处测定, 重复测试3次, 计算回收率, 结果见表4。

4.7.2 测量结果及测试样品方法准确度引入的不确定度

供试品含量测试平均值 $\bar{x}=97.33\%$, 标准差值 $u(p_{03})=0.02663$ 。

评价其测试样品方法准确度引入的不确定度:

$u(p_{03})=0.02663$; $u(p_{03})_{rel} = u(p_{03}) \div \bar{x} = 0.02736$ 。

表4 样品回收率检测结果

样品浓度 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	测得铬含量 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 (x_i)/%
2.395	2.258	94.30
2.395	2.266	94.61
2.395	2.280	95.20
3.395	3.291	96.94
3.395	3.267	96.23
3.395	3.283	96.70
4.395	4.431	100.82
4.395	4.421	100.59
4.395	4.423	100.64

4.8 测量结果

4.8.1 合成标准不确定度

$$u_c = \sqrt{0.003029^2 + 0.0007308^2 + 0.00004618^2 + 0.0007308^2 + 0.00001155^2 + 0.01290^2 + 0.02736^2}$$

$$= 0.0304$$

4.8.2 扩展不确定度^[2]

实验测得每克明胶空心胶囊中铬元素含量, 以 r 表示, 实验测得 r 为 $1.395 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 取扩展因子 $k=2$, 则扩展不确定度:

$$U_r = 2 \times u_c \times r = 0.08487 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$$

5 结论

按照原子吸收分光光度法^[4](《中国药典》2015年版四部通则0406第一法)测定明胶空心胶囊中铬元素, 以 r 表示为 $1.395 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 其扩展不确定度为 $U_r=0.08487 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 表明明胶空心胶囊中铬元素含量为 $1.395 \pm 0.08487 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($k=2$)。

上述数据合成得到明胶空心胶囊中铬元素含量测定结果的不确定度:

6 讨论

本文对采用原子吸收分光光度法^[4](《中国药典》2015年版四部通则0406第一法)测定明胶空心胶囊中铬元素含量, 进行了不确定度评定, 对各个影响不确定度的分项如样品均匀度、供试品溶液及对照品溶液的定容及转移、进样体积的精度、供试品称量值精度、校正曲线拟合、测定方法准确度等影响因素分别进行评定, 得出的结果比较全面, 可作为明胶空心胶囊铬元素含量监控上、下警戒线使用。

本文通过对不确定度中影响因子的评定, 发

现影响最大的仍然来自仪器性能（稳定性和灵敏度）、方法准确度，以及样品操作过程中定容的次数。

参考文献：

- [1] 国家质量技术监督局. GB/T 27025-2008 idt ISO/IEC 17025 检测与校准实验室能力的通用要求[S]. 2005.
- [2] 国家质量技术监督局. JJF1069-1999 测量不确定度评定与表示[S]. 1999.
- [3] 国家质量技术监督局. 测量不确定度评定与表示指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2001.
- [4] 中国药典: 四部[S]. 2015: 522- 523.
- [5] 中国实验室国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南[M].北京: 中国计量出版社, 2002.
- [6] 栗晓黎, 李冠民, 金少鸿. 药品检验一般检测项目不确定度评定研究-1.B类评定[J].药物分析杂志, 2005, 25 (6): 699-705.
- [7] JJG 196-1990 常用玻璃量器计量检定规程[S]. 2000: 4.
- [8] 姜义, 张春雨, 陈虹, 等.火焰原子吸收光谱法测定白酒中铅的不确定度分析[S].职业与健康, 2011, 27 (13): 1481-1482.
- [9] 金红宇, 田金改, 林瑞超. 原子吸收法测定中药材重金属及有害元素[J]. 中国医药标准, 2005, 6 (4): 4-6.
- [10] 孙楠, 金红宇, 薛健. 原子吸收法测定中药材6种重金属及有害元素的残留量[J].药物分析杂志, 2007, 27 (2): 256-258.
- [11] 罗丽娟, 黄浩, 黄诺嘉. 火焰原子吸收光谱法测定化妆品中铅的不确定度评定[J].中国药事, 2010, 24 (5): 489-499.

(收稿日期 2016年8月1日 编辑 王雅雯)