

## 高效液相色谱法测定白芍总苷的不确定度分析

饶毅<sup>1\*</sup>, 夏川川<sup>2</sup>, 周海滨<sup>3</sup>, 魏惠珍<sup>1</sup>, 刘玲<sup>2</sup>, 王跃生<sup>1</sup>

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006;  
2. 江西中医学院, 南昌 330004; 3. 宁波立华制药有限公司, 浙江 宁波 315174)

**[摘要]** 目的: 建立高效液相色谱法同时测定白芍总苷中的芍药苷和芍药内酯苷的不确定度评定方法。方法: 采用高效液相色谱法测定芍药苷和芍药内酯苷含量, 分析影响其不确定度的因素来源, 对各个不确定度因素进行评定, 并计算合成不确定度, 最终给出测量结果的扩展不确定度和置信水平。结果: 不确定度评估芍药苷为  $\pm 1.48\%$ 、芍药内酯苷为  $\pm 0.66\%$ 。结论: 方法可用于高效液相色谱法测定药物含量的不确定度分析, 使测定结果更加可靠。

**[关键词]** 高效液相色谱; 白芍总苷; 芍药苷; 芍药内酯苷; 测量不确定度

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0089-05

## Uncertainty Analysis for Total Glucosides of Paeony with High Performance Liquid Chromatography Method

RAO Yi<sup>1\*</sup>, XIA Chuan-chuan<sup>2</sup>, ZHOU Hai-bin<sup>3</sup>, WEI Hui-zhen<sup>1</sup>, LIU Ling<sup>2</sup>, WANG Yue-sheng<sup>1</sup>

(1. The National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China; 2. Jiangxi Traditional Medicine, Nanchang 330004, China; 3. Ningbo Liwah Pharmaceutical Co., Ltd, Ningbo 315174, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a high performance liquid chromatography method for uncertainty analysis of paeoniflorin and albiflorin of TGP. **Method:** HPLC method was established to determine the content of paeoniflorin and albiflorin. Each active component of uncertainty was calculated the variable parameters among the procedures. The combined uncertainty and extended uncertainty and confidence were finally obtained by synthesized the uncertainties of various component variables. **Result:** Uncertainty evaluation for paeoniflorin was  $\pm 1.48\%$  and albiflorin is  $\pm 0.66\%$ . **Conclusion:** The established mathematic model is reasonable and reliable, it is applicable to the uncertainty analysis of high performance liquid chromatography method in the determination of drugs.

**[Key words]** high performance liquid chromatography; TGP; paeoniflorin; albiflorin; measurement uncertainty

测量不确定度是表征合理地赋予被测量之值的分散性与测量结果相关联系的参数<sup>[1]</sup>, 是被测量客观值在某一量值范围内的一个评定, 其大小决定了测量结果的实用价值。不确定度越小, 测量结果的质量越高, 使用价值越大。由于测量不确定度是对测量结果的定量表征, 中国合格评定认可委员会

(CNAL) 在对实验室进行认可时, 都要求开展测量不确定度的评定<sup>[2]</sup>。目前, 测量不确定度的理论已在国家计量基准、标准物质的研究及仪器校准、化工生产、产品检验等领域得到大力的推广应用<sup>[3]</sup>, 因此正确表达和评定测量方法的测量不确定度正逐步成为国际通行的要求。

本文根据《测量不确定度评定与表示》(JJF1059-1999) 中有关规定对白芍总苷中芍药苷、芍药内酯苷含量的测量不确定度进行了分析, 以找出影响不确定度的因素, 对不确定度进行评估, 为评

**[收稿日期]** 20110310(006)

**[通讯作者]** \* 饶毅, 教授, 博士, 从事中药质量控制研究工作, Tel: 0791-7119609, E-mail: raoyi99@126.com

价检测报告提供科学依据,建立高效液相色谱测定法的不确定度评定方式。

### 1 材料

1.1 仪器 岛津 LC-10 高效液相色谱仪, KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), 岛津 AUW220 1/10 万电子天平, AB104-N 型 1/10 万天平(梅特勒-托利多), 所用玻璃仪器均为天玻牌 A 级。

1.2 试药 芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110736-200732), 芍药内酯苷对照品(深圳市美荷生物科技有限公司), 白芍总苷原料(浙江宁波立华制药有限公司提供, 批号 091102), 乙腈(色谱纯, 山东禹王实验有限公司化工分公司), 磷酸(优级纯, 天津精细化学品开发有限公司), 95% 乙醇(分析纯, 上海振兴化工一厂), 所用试剂水均为超纯水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 白芍总苷中芍药苷和芍药内酯苷的 HPLC 测定

2.1.1 色谱条件 Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(12:88), 体积流量 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 230 nm, 柱温 25 °C, 进样量 10 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备 取芍药苷约 23 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀即得芍药苷对照品储备液。取芍药内酯苷约 3 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀即得芍药内酯苷对照品储备液; 分别精密吸取芍药苷、芍药内酯苷对照品储备液各 2 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品约 0.1 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加稀乙醇约 35 mL, 超声处理 15 min, 取出, 放冷, 加稀乙醇至刻度, 摇匀。精密吸取 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.4 样品测定 分别精密吸取对照品溶液、与供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定, 按外标法(峰面积)计算, 结果白芍总苷中芍药苷的质量分数为 42.42% (n=3), 芍药内酯苷的质量分数为 12.57% (n=3)。

2.2 数学模型 根据实验过程, 建立含量测定数学

模型  $x = \frac{m_i A_s V_s}{A_i V_i m_s} \times 100\%$ , 其中  $m_i$  为对照品的质量,

$A_s$  为样品的峰面积,  $V_s$  为样品的稀释体积,  $A_i$  为对照品的峰面积,  $V_i$  为对照品的稀释体积,  $m_s$  为样品的称样量。

2.3 分析不确定度来源 根据数学模型分析, 单份供试品含量测定的不确定度主要来源于  $m_i, V_s, m_s, V_i, A_i, A_s$  6 个分量<sup>[4-5]</sup>。经过对实验整个过程的不确定因素分析, 并对上述 6 个因素进行归纳, 其不确定度可以归纳为 4 个方面: 对照品峰面积的不确定度、对照品溶液浓度的不确定度、样品峰面积的不确定度、样品溶液浓度的不确定度<sup>[6]</sup>。每一个不确定度分量中又应考虑每一个影响因素, 直至影响因素变得足够小, 对结果的影响可以忽略时为止。图 1 列出了本实验的所有不确定度分量的因果关系图, 有利于更直观地分析所有的不确定度来源<sup>[7]</sup>。

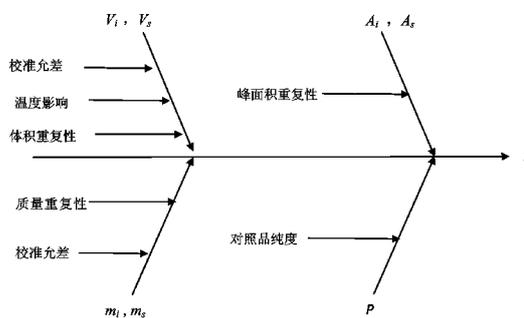


图 1 不确定度分量示意

### 3 不确定度分量的量化

3.1 对照品纯度的不确定度  $u(p_i)$  芍药苷和芍药内酯苷对照品证书提供的纯度大于 98%, 按矩形分布计算, 其对照品纯度引入的不确定度  $u(p_i) = \frac{1 - 0.98}{2\sqrt{3}} = 5.77 \times 10^{-3}$ , 相对标准不确定度  $\frac{u(p)}{p} = \frac{5.77 \times 10^{-3}}{1} = 5.77 \times 10^{-3}$ 。

#### 3.2 质量类不确定度 ( $m_i, m_s$ )

3.2.1 对照品称量质量的相对不确定度  $u(m_i)$  主要有 2 个来源, 包括 ① 电子天平称量示值的不确定度  $u(m_{i1})$ : 电子天平经检定为一级, 允许误差为 ± 0.1 mg, 按正态分布计算  $u(m_{i1}) = 0.1/3 = 0.033$  mg。② 称量由天平重复性代入的不确定度  $u(m_{i2})$ : 根据天平的检定证书重现性标准偏差为 0.05 mg。由于对照品芍药苷取样量为 22.83 mg, 对照品芍药内酯苷取样量 3.23 mg, 则相对标准不确定度中芍药

$$\text{芍药苷} \frac{u(m_i)}{m_i} = \sqrt{\left[\frac{u(m_{i1})}{m_i}\right]^2 + \left[\frac{u(m_{i2})}{m_i}\right]^2} = 0.262\%$$

$$\text{芍药内酯苷} \frac{u(m_i)}{m_i} = \sqrt{\left[\frac{u(m_{i1})}{m_i}\right]^2 + \left[\frac{u(m_{i2})}{m_i}\right]^2} = 1.85\%$$

3.2.2 样品质量的不确定度  $u(m_s)$  主要来源有2种①电子天平称量示值的不确定度  $u(m_{s1})$ :天平称量允差为  $\pm 0.001$  g,按正态分布换算成标准偏差为  $u(m_{s1}) = 0.001/3 = 0.333$  mg;②电子天平称量重复性的不确定度  $u(m_{s2})$ :根据天平的检定证书重现性标准偏差为 0.3 mg,即  $u(m_{s2}) = 0.3$  mg。因此,合成不确定度为  $u(m_s) = \sqrt{u^2(m_{s1}) + u^2(m_{s2})} = \sqrt{0.333^2 + 0.3^2} = 0.448$  mg,样品称样量为 0.104 4 g,相对标准不确定度  $\frac{u(m_s)}{m_s} = \frac{0.448}{104.4} = 0.43\%$ 。

因此质量类引入的不确定度

$$u_{\text{芍药苷}}(m) = \sqrt{\left[\frac{u(m_i)}{m_i}\right]^2 + \left[\frac{u(m_s)}{m_s}\right]^2} = \sqrt{0.00262^2 + 0.00448^2} = 0.504\%$$

$$u_{\text{芍药内酯苷}}(m) = \sqrt{\left[\frac{u(m_i)}{m_i}\right]^2 + \left[\frac{u(m_s)}{m_s}\right]^2} = \sqrt{0.0185^2 + 0.00448^2} = 1.899\%$$

### 3.3 体积类不确定度 ( $V_i, V_s$ )

3.3.1 配制对照品时由玻璃器皿带入的相对不确定度  $u(V_i)$  芍药苷对照品配制过程中使用了 25 mL 量瓶、2 mL 移液管,这些玻璃仪器引入的不确定度  $u(V_i)$  有以下情况。25 mL 量瓶  $u(V_{i1})$  来源主要有3种①校准: A 级 25 mL 单标量瓶示值允差  $\pm 0.03$  mL,取  $k = \sqrt{3}$ ,则  $u(V_{i11}) = \frac{0.03}{\sqrt{3}} = 0.0173$  mL;

②重复性:重复测定 10 次,测得  $u(V_{i12}) = 0.024$  mL;③温度:由于实验温度变化范围为  $(20 \pm 5)$  °C,甲醇的膨胀系数为  $1.10 \times 10^{-3}/\text{°C}$ ,按矩形分布计算,则温度影响的不确定度  $u(V_{i13}) = \frac{25 \times 5 \times 1.10 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0.0794$  mL。 $u(V_{i1}) =$

$$\sqrt{u^2(V_{i11}) + u^2(V_{i12}) + u^2(V_{i13})} = \sqrt{0.0173^2 + 0.024^2 + 0.0794^2} = 0.085 \text{ mL}$$

2 mL 移液管  $u(V_{i3})$  主要来源有3种:①校准: A 级 2 mL 单标线移液管示值允差  $\pm 0.010$  mL,取  $k =$

$$\sqrt{3} \mu(V_{i31}) = \frac{0.010}{\sqrt{3}} = 0.00577 \text{ mL};$$

②重复性:重复测定 10 次,计算得  $u(V_{i32}) = 0.008$  mL;③温度:由于实验温度变化范围为  $(20 \pm 5)$  °C,甲醇的膨胀系数为  $1.10 \times 10^{-3}/\text{°C}$ ,按矩形分布计算,则温度影响的不确定度  $u(V_{i33}) = \frac{2 \times 5 \times 1.10 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}} =$

$$0.00635 \text{ mL}。$$

因此芍药苷对照品合成标准相对不确定度为

$$u(V_{i3}) = \sqrt{u^2(V_{i31}) + u^2(V_{i32}) + u^2(V_{i33})} = \sqrt{0.00577^2 + 0.008^2 + 0.00635^2} = 0.012 \text{ mL}。$$

25 mL 量瓶  $u(V_{i2})$  所测结果同  $u(V_{i1})$ :

$$u(V_{i1}) = \sqrt{u^2(V_{i11}) + u^2(V_{i12}) + u^2(V_{i13})} = \sqrt{0.0173^2 + 0.024^2 + 0.0794^2} = 0.085 \text{ mL}$$

因此芍药苷对照品合成标准相对不确定度为

$$\frac{u(V_i)}{V_i} = \sqrt{\left[\frac{u(V_{i1})}{V_{i1}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{i2})}{V_{i2}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{i3})}{V_{i3}}\right]^2} = \sqrt{0.0034^2 + 0.006^2 + 0.0034^2} = 0.77\%$$

芍药内酯苷对照品配制过程中使用了 10 mL 量瓶、2 mL 移液管、25 mL 量瓶,这些玻璃器皿带入的不确定度  $u(V_i)$  有以下情况。10 mL 量瓶  $u(V_{i4})$  来源主要有3种①校准: A 级 10 mL 单标线量瓶示值允差  $\pm 0.020$  mL,取  $k = \sqrt{3}$ ,则  $u(V_{i41}) = \frac{0.020}{\sqrt{3}} =$

0.0115 mL;②重复性:重复测定 10 次,测得  $u(V_{i42}) = 0.017$  mL;③温度:由于实验温度变化范围为  $(20 \pm 5)$  °C,按矩形分布计算,甲醇的膨胀系数为  $1.10 \times 10^{-3}/\text{°C}$ ,则温度影响的不确定度。

$$u(V_{i43}) = \frac{10 \times 5 \times 1.10 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0.0318 \text{ mL},$$

$$u(V_{i4}) = \sqrt{u^2(V_{i41}) + u^2(V_{i42}) + u^2(V_{i43})} = \sqrt{0.0115^2 + 0.017^2 + 0.0318^2} = 0.038 \text{ mL}。$$

25 mL 量瓶  $u(V_{i5})$  所测结果同  $u(V_{i1})$ :

$$u(V_{i1}) = \sqrt{u^2(V_{i11}) + u^2(V_{i12}) + u^2(V_{i13})} = \sqrt{0.0173^2 + 0.024^2 + 0.0794^2} = 0.085 \text{ mL}。$$

2 mL 移液管  $u(V_{i6})$  所测结果同  $u(V_{i3})$ :

$$u(V_{i3}) = \sqrt{u^2(V_{i31}) + u^2(V_{i32}) + u^2(V_{i33})} = \sqrt{0.00577^2 + 0.008^2 + 0.00635^2} = 0.012 \text{ mL}。$$

因此芍药内酯苷对照品合成标准相对不确定度

$$u(V_i) = \sqrt{\left[\frac{u(V_{i4})}{V_{i4}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{i5})}{V_{i5}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{i6})}{V_{i6}}\right]^2} = \sqrt{0.003^2 + 0.003^2 + 0.006^2} = 0.79\%$$

**3.3.2 样品稀释时玻璃器皿带入的不确定度** 样品稀释时使用了 50 mL 量瓶、5 mL 移液管, 这些玻璃仪器使用引入的不确定度  $u(V_s)$  (1) 50 mL 量瓶  $u(V_{s1})$  来源主要有 3 种: ①校准: A 级 50 mL 单标线量瓶示值允差  $\pm 0.05$  mL, 取  $k = \sqrt{3}$ , 则  $u(V_{s11}) = \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.0289$  mL; ②重复性: 重复测定 10 次, 测得  $u(V_{s12}) = 0.052$  mL; ③温度: 由于实验温度变化范围为  $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ , 按矩形分布计算, 稀乙醇的膨胀系数为  $1.50 \times 10^{-3}/^\circ\text{C}$ , 则温度影响的不确定度  $u(V_{s13}) = \frac{50 \times 5 \times 1.50 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0.216$  mL。

$$u(V_{s1}) = \sqrt{u^2(V_{s11}) + u^2(V_{s12}) + u^2(V_{s13})} = \sqrt{0.0289^2 + 0.052^2 + 0.216^2} = 0.22 \text{ mL}$$

(2) 5 mL 移液管  $u(V_{s2})$  主要来源有 3 种 ①校准: A 级 5 mL 单标线移液管示值允差  $\pm 0.015$  mL, 取  $k = \sqrt{3}$ ,  $u(V_{s21}) = \frac{0.015}{\sqrt{3}} = 0.00866$  mL; ②重复性: 重复测定 10 次, 测得  $u(V_{s22}) = 0.016$  mL; ③温度: 由于实验温度变化范围为  $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ , 按矩形分布计算, 稀乙醇的膨胀系数为  $1.50 \times 10^{-3}/^\circ\text{C}$ , 则温度影响的不确定度  $u(V_{s23}) = \frac{5 \times 5 \times 1.50 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0.0216$  mL。

$$u(V_{s2}) = \sqrt{u^2(V_{s21}) + u^2(V_{s22}) + u^2(V_{s23})} = \sqrt{0.00866^2 + 0.016^2 + 0.0216^2} = 0.028 \text{ mL}$$

(3) 50 mL 量瓶  $u(V_{s3})$  所测结果同  $u(V_{s1})$ :  $u(V_{s3}) = \sqrt{u^2(V_{s31}) + u^2(V_{s32}) + u^2(V_{s33})} = \sqrt{0.0289^2 + 0.052^2 + 0.216^2} = 0.22 \text{ mL}$ 。

因此样品稀释引起的相对标准不确定度为:

$$\frac{u(V_s)}{V_s} = \sqrt{\left[\frac{u(V_{s1})}{V_{s1}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{s2})}{V_{s2}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{s3})}{V_{s3}}\right]^2} = \sqrt{0.00432^2 + 0.0056^2 + 0.00432^2} = 0.83\% \text{。因此由体积类引入的不确定度为 } u_{\text{芍药苷}}(V) = \sqrt{\left[\frac{u(V_i)}{V_i}\right]^2 + \left[\frac{u(V_s)}{V_s}\right]^2} = \sqrt{0.0077^2 + 0.0083^2} = 1.13\%$$

$$u_{\text{芍药内酯苷}}(V) = \sqrt{\left[\frac{u(V_i)}{V_i}\right]^2 + \left[\frac{u(V_s)}{V_s}\right]^2} =$$

$$\sqrt{0.0079^2 + 0.0083^2} = 1.15\%$$

### 3.4 峰面积类不确定度 ( $A_i, A_s$ )

#### 3.4.1 对照品测得的峰面积的不确定度 $u(A_i)$

①芍药苷: 对照品液 6 次重复进样测得量的峰面积为 897 897, 893 055, 904 581, 905 667, 902 443, 894 803。  $\bar{A} = 899 741$  标准不确定度按贝赛尔公式计算

$$s = \sqrt{\frac{\sum(A_i - \bar{A})^2}{n-1}} = 5 259.86 \text{。则相对不确定度 } u$$

$$(A_i) = \frac{s}{\bar{A}} = 0.58\%$$

②芍药内酯苷: 对照品液 6 次进样重复测得量的峰面积为 281 380, 281 094, 278 524, 280 019, 278 502, 277 746。  $\bar{A} = 279 544$ , 标准不确定度按贝赛尔公式计算  $s = \sqrt{\frac{\sum(A_i - \bar{A})^2}{n-1}} =$

$$1 507.18 \text{。则相对不确定度 } u(A_i) = \frac{s}{\bar{A}} = 0.54\%$$

$$1 507.18 \text{。则相对不确定度 } u(A_i) = \frac{s}{\bar{A}} = 0.54\%$$

#### 3.4.2 样品测得的峰面积的相对不确定度 $u(A_s)$

样品重复测定 6 次结果的标准不确定度按贝赛尔公式计算  $s_{\text{芍药苷}} = \sqrt{\frac{\sum(A_i - A)^2}{n-1}} = 9 324.81$ ;  $s_{\text{芍药内酯苷}} =$

$$\sqrt{\frac{\sum(A_i - A)^2}{n-1}} = 3 123.19 \text{。}$$

$$\sqrt{\frac{\sum(A_i - A)^2}{n-1}} = 3 123.19 \text{。}$$

$$\text{相对不确定度 } u_{\text{芍药苷}}(A_s) = \frac{s_{\text{芍药苷}}}{A} = 0.91\%$$

$$u_{\text{芍药内酯苷}}(A_s) = \frac{s_{\text{芍药内酯苷}}}{A} = 1.14\%$$

因此由峰面积类引入的不确定度为

$$u_{\text{芍药苷}}(A) = \sqrt{0.0058^2 + 0.0091^2} = 1.08\%$$

$$u_{\text{芍药内酯苷}}(A) = \sqrt{0.0054^2 + 0.0114^2} = 1.26\%$$

### 4 不确定度的合成与评定

**4.1 不确定度分量汇总表** 将所有的不确定度分量进行汇总(表 1), 有利于更加直观地分析各分量的大小。

**4.2 合成标准不确定度** 芍药苷合成不确定度 =

$$\sqrt{u^2(p) + u^2(m) + u^2(V) + u^2(A)} = \sqrt{0.577\%^2 + 0.504\%^2 + 1.13\%^2 + 1.08\%^2} =$$

$$0.0174 \text{ 芍药内酯苷合成不确定度 =}$$

$$\sqrt{u^2(p) + u^2(m) + u^2(V) + u^2(A)} = \sqrt{0.577\%^2 + 1.899\%^2 + 1.15\%^2 + 1.26\%^2} = 0.0262 \text{。}$$

表 1 不确定度各分量分布

分量	不确定度来源	分布	类型	相对标准不确定度	
				芍药苷	芍药内酯苷
$u(p)$	对照品纯度不确定度	矩形	B 类	$5.77 \times 10^{-3}$	$5.77 \times 10^{-3}$
$u(m_i)$	天平示值不确定度	正态	B 类	$2.62 \times 10^{-3}$	$1.85 \times 10^{-2}$
	天平称量重复性不确定度	正态	A 类		
$u(m_s)$	天平示值不确定度	正态	B 类	$4.30 \times 10^{-3}$	$4.30 \times 10^{-3}$
	天平称量重复性不确定度	正态	A 类		
$u(V_i)$	标准量瓶的不确定度	三角	B 类	$7.70 \times 10^{-3}$	$7.90 \times 10^{-3}$
	定容重复性的不确定度	正态	A 类		
$u(V_s)$	标准量瓶的不确定度	三角	B 类	$8.30 \times 10^{-3}$	$8.30 \times 10^{-3}$
	定容重复性的不确定度	正态	A 类		
$u(A_i)$	对照品溶液进样重复性的不确定度	正态	A 类	$5.80 \times 10^{-3}$	$5.40 \times 10^{-3}$
$u(A_s)$	样品溶液进样重复性的不确定度	正态	A 类	$9.10 \times 10^{-3}$	$1.14 \times 10^{-2}$

4.3 扩展不确定度及报告不确定度 取包含因子  $k=2$ , 则芍药苷扩展不确定度  $U_r(S) = 42.42\% \times 0.0174 \times 2 = 1.48\%$ ; 芍药内酯苷扩展不确定度  $U_r(S) = 12.57\% \times 0.0262 \times 2 = 0.66\%$ , 本次含量测定质量分数的结果可表示为芍药苷  $(42.42 \pm 1.48)\%$ , 芍药内酯苷  $(12.57 \pm 0.66)\%$ 。

### 5 讨论

由于被测样品为原料粉末, 主成分测定过程中不受辅料和杂质的影响, 且其样品非均匀性引入的不确定度可忽略。本测定方法采用 HPLC 对白芍总苷中芍药苷和芍药内酯苷进行含量测定, 由于 HPLC 仪本身对测定结果影响因素很多, 难以一一评估。在实际测定中, HPLC 仪误差引起的不确定度体现在色谱峰面积的测量结果中, 所以对 HPLC 仪的进样精密性、体积流量和流量精密性等各因素的不确定度分量不作细化讨论。同时对照品溶液的配制中采用甲醇为溶剂, 其膨胀系数约为水的膨胀系数的 5.2 倍。故在试验过程中应尽量降低实验操作温度的偏差, 以减少由于溶液定容引入的不确定度。

本实验不确定度评估中, 从表 1 各标准分量的不确定可以看出, 本方法测量芍药苷结果的各分量不确定度均较小, 测量芍药内酯苷结果的不确定度主要来自对照品称量和样品溶液进样重复性的不确定度。在分析了上述影响测量不确定度的原因后,

采取相应措施, 测量结果的不确定度可以得到进一步减小。本文所建立的方法考虑了 HPLC 测定过程中产生不确定度的大部分因素, 为同类实验提供了有益的参考。

### [参考文献]

- [1] 测量不确定度评定与表示 [S]. JF 1059-1999, 1999.
- [2] ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of calibration and testing laboratories [S]. Geneva, 2005: 9.
- [3] 魏慧珍, 李新南, 龚建平, 等. 紫外分光光度法测定罗银胶囊中总黄酮含量的不确定度评定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 39.
- [4] 刘永利, 李冬梅, 冯丽, 等. 复方丹参片含量测定的不确定度分 [J]. 药物分析杂志, 2005, 27(11): 1800.
- [5] 胡震, 王义明, 罗国安, 等. 栀子药材中三种有效成分 HPLC 定量分析结果不确定度的评定 [J]. 中药材, 2005, 28(11): 991.
- [6] 王笑飞, 余玲, 光新兰. 高效液相色谱法测定芍药苷含量测不确定度分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(9): 758.
- [7] 金鹏飞, 邹定, 姜文清, 等. 格列吡嗪片高效液相法含量测定结果的不确定度评定 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(7): 1136.

[责任编辑 蔡仲德]