

· 论 著 ·

气相色谱法测定复方樟脑搽剂中樟脑与薄荷脑含量及其不确定度评估

倪晓霞, 刘晓玲, 叶财发, 王庆芬 (解放军 175 医院/厦门大学附属东南医院制剂科, 福建 漳州 363000)

[摘要] **目的** 建立测定复方樟脑搽剂中主要成分樟脑和薄荷脑含量的气相色谱(GC)法,并探讨不确定度评估方法。**方法** 采用 GC 法,以萘为内标物, Thermo TG-WAXMS 毛细管柱(30.0 m × 0.25 mm, 涂层厚 0.5 μm), FID 检测器; 分析测量过程不确定度的来源, 建立数学模型, 计算合成标准不确定度和扩展不确定度。**结果** 樟脑和薄荷脑分别在 8.56~85.6 μg/ml、11.2~112.0 μg/ml 质量浓度范围内线性关系良好, 樟脑平均加样回收率 100.20%、RSD 为 0.892% (n=9), 薄荷脑平均加样回收率 99.65%、RSD 为 1.369% (n=9); 扩展不确定度分别为 0.630 mg/ml (k=2)、0.656 mg/ml (k=2), 樟脑含量为 (20.74±0.630) mg/ml、薄荷脑含量为 (20.48±0.656) mg/ml。**结论** 气相色谱方法准确、灵敏、重现性好, 可用于复方樟脑搽剂中樟脑和薄荷脑含量测定; 不确定度评定有利于进一步提高含量测定的准确性。

[关键词] 气相色谱法; 复方樟脑搽剂; 含量测定; 不确定度评估

[中图分类号] R927

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2018)06-0522-07

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.06.010

Determination of camphor and menthol in compound camphor liniment by GC and evaluation of uncertainty

NI Xiaoxia, LIU Xiaoling, YE Caifa, WANG Qingfen (The Pharmacy Department, the 175th Hospital of PLA, the Affiliated Southeast Hospital of Xiamen University, Zhangzhou 363000, China)

[Abstract] **Objective** To establish a gas chromatography (GC) method to determine the contents of camphor and menthol in compound camphor liniment and to evaluate the uncertainty. **Methods** Thermo TG-WAXMS (30.0 m × 0.25 mm, 0.5 μm) and FID were used with naphthalin as internal standard. The uncertainty sources of measurement were analyzed and a mathematical model was established to calculate the combined standard uncertainty and the expanded uncertainty. **Results** A good linear relationship was observed in the concentration range of 8.56-85.6 μg/ml for camphor and 11.2-112.0 μg/ml for menthol, the average recoveries were 100.20% and 99.65% with RSD 0.892% and 1.369% (n=9). The expanded uncertainty U_{95} were 0.630 mg/ml (k=2), 0.656 mg/ml (k=2), The content of camphor was (20.74±0.602) mg/ml and menthol was (20.48±1.336) mg/ml. **Conclusion** The method is accurate, sensitive. It has good repeatability for controlling the quality of camphor and menthol in compound camphor liniment. The mathematic model of uncertainty can be used to improve the assay accuracy.

[Key words] GC; compound camphor liniment; content determination; measurement uncertainty

复方樟脑搽剂又称复方樟脑酯收载于《中国人民解放军医疗机构制剂规范》^[1](简称《规范》),其主要成分为樟脑、薄荷脑、液化苯酚等,具有清凉、止痒、消毒作用,临床常用于皮肤瘙痒症。该制剂中主要成分常温下比较不稳定,在生产、使用、储存过程中有必要进行质量控制,但目前《规范》中该制剂质量标准相对简单,没有含量测定项。测量不确定度是表征被测量物质真值所处的量值范围的评定结

果,是与测量结果相关联的参数^[2],也是计量认证或实验室认证评定的重要内容^[3,4],随着人们对检验结果的可靠性要求不断提高,测量不确定度在药物分析领域得到广泛应用。为进一步加强制剂质量控制,确保临床用药安全。笔者参考有关文献^[5-13],建立 GC 法测定复方樟脑搽剂中樟脑和薄荷脑含量,并进行不确定度评估以提高测定结果的准确性与可靠性,现报道如下。

1 仪器与试剂

TRACE 1300 气相色谱仪(FID 检测器,Thermo Scientific); 复方樟脑搽剂(本院自制,批号 20171017、20171113、20171223); 樟脑对照品

[作者简介] 倪晓霞,主管药师,在读研究生,研究方向:制剂质量控制, Tel: (0596)2925796, Email: lanxuewein@163.com

[通讯作者] 王庆芬,主管药师,研究方向:医院制剂、药物分析及天然活性产物研究, Email: 58221899@qq.com

(110747-201409)、薄荷脑对照品(110728-200506)、
萘对照品(111673-200803)(均购自中国食品药品检
定研究院);无水乙醇(分析纯,纯度 $\geq 99.7\%$,西陇
科学股份有限公司);水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Thermo TG-WAXMS (30.0 m \times
0.25 mm, 0.5 μ m)毛细管柱;柱温:程序升温,初始
温度 100 $^{\circ}$ C,保持 1min,以 8 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至
200 $^{\circ}$ C,保持 1min;载气:高纯 N₂,流速 40 ml/min,
空气流速 350 ml/min,氢气流速 35 ml/min;分流
比:10:1;检测器温度:250 $^{\circ}$ C;进样口温度:
250 $^{\circ}$ C;进样方式:直接液体进样,进样量为 1 μ l。

2.2 溶液的制备

2.2.1 内标溶液

精密称取萘对照品 0.012 8 g,置 50 ml 量瓶
中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 对照品储备溶液

精密称取樟脑对照品 0.010 7 g,置 50 ml 量瓶
中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得浓度为
0.214 mg/ml的樟脑储备液;精密称取薄荷脑对照品

0.014 0 g,置 50 ml 量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,
摇匀,即得浓度为 0.280 mg/ml 的樟脑储备液。

2.2.3 混合对照品溶液

分别精密量取樟脑储备液与薄荷脑储备液各
5 ml,置 25 ml 量瓶中,精密加入内标溶液 3 ml,用
水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 供试品溶液

精密量取本品 1.0 ml,置 100 ml 量瓶中,用无
水乙醇稀释至刻度,摇匀,再精密量取该溶液 5 ml,
置 25 ml 量瓶中,加入内标溶液 3 ml,无水乙醇稀释
至刻度,摇匀,即得。

2.2.5 阴性对照溶液

按照复方樟脑搽剂处方及工艺,配制不含樟脑
和薄荷脑的阴性样品溶液,精密量取阴性样品 1 ml,
按“2.2.4”项下方法配制,即得。

2.3 系统适用性和专属性试验

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液与阴性
对照溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色
谱图(图 1)。结果表明,樟脑、薄荷脑和内标(萘)的
理论板数均大于 100 00,分离度大于 20,出峰时间
依次为 8.408 min、9.690 min 和 11.583 min,均无
杂质干扰。

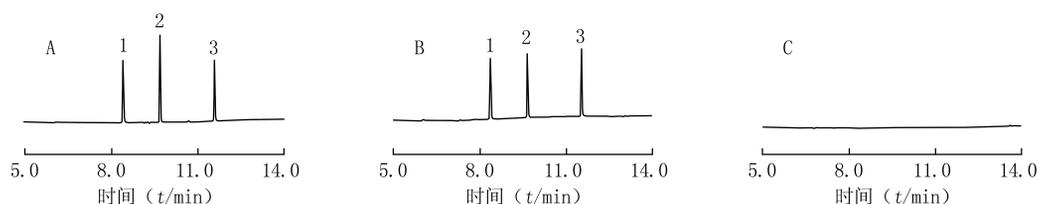


图 1 复方樟脑搽剂气相色谱图

A. 对照品溶液;B. 供试品溶液;C. 阴性对照品溶液;
1. 樟脑;2. 薄荷脑;3. 萘

2.4 线性关系的考察

依次分别精密吸取樟脑和薄荷脑对照品储备液
1.0、3.0、5.0、8.0、10.0 ml,置 25 ml 量瓶中,分别
加入 3.0 ml 内标溶液,用无水乙醇稀释至刻度,摇
匀,按“2.1”项下色谱条件进样,测定峰面积。以浓
度(C,mg/ml)为横坐标,樟脑或薄荷脑与内标物的
峰面积比(Y)为纵坐标进行线性回归,结果得樟脑的
回归方程, $Y=24.719C-0.0109(r=0.99998)$;

薄荷脑的回归方程,

$$Y=25.164C-0.0206(r=0.99993);$$

结果表明,樟脑在 8.56~85.6 μ g/ml、薄荷脑
在 11.2~112.0 μ g/ml 浓度范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

取“2.2.3”项下混合对照品溶液,按“2.1”项下

色谱条件连续进样 6 次,测定峰面积,计算樟脑或薄
荷脑与内标物的峰面积比。结果樟脑 RSD 为
0.613%、薄荷脑 RSD 为 0.732%,表明仪器精密度
良好。

2.6 重复性试验

取同一批复方樟脑搽剂(批号:20171223)样品,
按“2.2.4”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按
“2.1”项下色谱条件进样。结果樟脑的平均含量为
20.74 mg/ml,RSD 为 0.093%;薄荷脑的平均含量
为 20.48 mg/ml,RSD 为 0.512%,表明该方法的重
复性良好。

2.7 稳定性试验

取供试品溶液(批号:20171223),按“2.2.4”项
下方法制备供试品溶液,分别于 0、3、6、9、18、24 h

按“2.1”项下色谱条件进样,测定峰面积,计算樟脑或薄荷脑与内标物的峰面积比。结果樟脑 RSD 为 0.815%、薄荷脑 RSD 为 0.699%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验

精密量取已知含量的复方樟脑搽剂(樟脑: 20.74 mg/ml,薄荷脑: 20.48 mg/ml;批号: 20171223)1.0 ml,共 9 份,置 100 ml 量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,精密量取该溶液 2 ml,共

9 份,置 25 ml 量瓶中,按供试品进样浓度的 80%、100%、120%^[12],分别加入不同量樟脑或薄荷脑对照品储备液,再分别精密加入 3.0 ml 内标溶液,用无水乙醇稀释至刻度,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表 1。

2.9 样品含量测定

取复方樟脑搽剂 3 批,按照“2.2.4”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算含量,结果见表 2。

表 1 加样回收率试验结果

成分	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
樟脑	0.414 7	0.428	0.850 5	0.435 7	101.80	100.20	0.892 4
	0.414 7	0.428	0.838 4	0.423 6	98.98		
	0.414 7	0.428	0.841 2	0.426 4	99.64		
	0.414 7	0.642	1.056 8	0.642 0	100.00		
	0.414 7	0.642	1.058 6	0.643 8	100.28		
	0.414 7	0.642	1.051 2	0.636 5	99.14		
	0.414 7	0.856	1.272 8	0.858 1	100.25		
	0.414 7	0.856	1.277 2	0.862 5	100.75		
	0.414 7	0.856	1.278 8	0.864 1	100.95		
薄荷脑	0.409 6	0.560	0.953 7	0.544 2	97.17	99.65	1.368 6
	0.409 6	0.560	0.980 0	0.570 4	101.86		
	0.409 6	0.560	0.974 0	0.564 4	100.79		
	0.409 6	0.840	1.236 4	0.826 8	98.43		
	0.409 6	0.840	1.247 6	0.838 0	99.76		
	0.409 6	0.840	1.240 9	0.831 3	98.96		
	0.409 6	1.120	1.533 7	1.124 1	100.37		
	0.409 6	1.120	1.525 1	1.115 5	99.60		
	0.409 6	1.120	1.528 1	1.118 5	99.87		

表 2 样品含量测定结果

样品批号	樟脑			薄荷脑		
	含量 (mg/ml)	平均含量 (mg/ml)	RSD (%)	含量 (mg/ml)	平均含量 (mg/ml)	RSD (%)
20171017	20.484 9	20.422 6	0.486 1	20.413 8	20.205 0	0.964 6
	20.474 9			20.173 5		
	20.308 2			20.027 8		
20171113	20.458 1	20.530 7	0.451 4	20.246 7	20.218 1	0.600 1
	20.499 1			20.085 1		
	20.635 1			20.322 6		
20171223	20.731 5	20.736 9	0.279 0	20.494 4	20.479 8	0.344 9
	20.682 0			20.541 9		
	20.797 3			20.403 0		

3 不确定度评估^[13]

3.1 数学模型的建立

按照“2.4”项下方法建立标准曲线,以质量浓度(C,mg/ml)为横坐标,樟脑或薄荷脑与内标萘的峰

面积比(Y)为纵坐标进行线性回归,得标准曲线方程 $Y = a + bC$,由此得出复方樟脑搽剂中樟脑或薄荷脑的含量的计算公式为:

$$W = \frac{(Y - a)}{bV} \times 25 \div 5 \times 100\%$$

式中, W:样品中樟脑或薄荷脑含量(mg/ml);
C:供试品溶液中樟脑或薄荷脑测定浓度(mg/ml);
V:样品取样量(ml)。

3.2 不确定分量的主要来源分析

根据数学模型和含量测定过程分析,复方樟脑搽剂中樟脑或薄荷脑含量测定的不确定度主要来源:①测量重复性引入的不确定度;②标准曲线引入的不确定度(包括曲线的线性拟合及测定过程);③对照品溶液引入的不确定度(包括对照品的纯度及

配制过程);④供试品溶液引入的不确定度(包括供试品均匀性、量取体积、配制过程等);⑤内标物浓度引入的不确定度;⑥气相色谱定量重现性引入的不确定度等。

3.3 各不确定度分量评估

3.3.1 测量重复性不确定度 u(A)

取同一批复方樟脑搽剂(批号:20171223),按照“2.2.4”项下方法制备供试品溶液6份,按“2.1”项下色谱条件进样,测定并计算含量,结果见表3。

表3 重复性试验结果

编号	1	2	3	4	5	6	平均含量 (mg/ml)
樟脑峰面积	0.749 3	0.742	0.756 1	0.741 9	0.754 9	0.749 0	
薄荷脑峰面积	0.748 2	0.736 1	0.754 5	0.736 9	0.746 6	0.740 3	
内标峰面积	0.772 3	0.765 3	0.778 8	0.764 2	0.779 0	0.773 2	
樟脑含量(mg/ml)	19.84	19.83	19.86	19.86	19.82	19.81	19.84
薄荷脑含量(mg/ml)	19.82	19.68	19.82	19.72	19.61	19.59	19.70

由上表中数据,单次测定的实验标准偏差的计算公式: $S(X_i) = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$;通常检测报告以2次含量测定结果的平均值为准,因此测量结果的实验标准差为 $u(A) = S(x) = \frac{s(X_i)}{\sqrt{n}}$,测量重复性引入的相对不确定度 $u_{rel}(A) = u(A)/x$ 。

由此可得: $u_{rel樟脑}(A) = S(X_i)_{樟脑} / \sqrt{2} / 19.84 = 0.000 652$

$u_{rel薄荷脑}(A) = S(X_i)_{薄荷脑} / \sqrt{2} / 19.70 = 0.003 58$

3.3.2 标准曲线引入的不确定度 u(C₀)

按照“2.4”项下方法可得樟脑的回归方程 $Y = 24.719C - 0.010 9 (r = 0.999 98)$;薄荷脑的回归方程 $Y = 25.164C - 0.020 6 (r = 0.999 93)$,由于拟合标准曲线具有不确定性,采用拟合的标准曲线计算供试品中樟脑或薄荷脑浓度所引入的标准不确定度计算公式为:

$$u(C_0) = \frac{S(Y)}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}}$$

$$S(Y) = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{i=1}^n [Y_i - (a + bC)]^2}$$

其中,p:平行测定次数;n:拟合直线数据对总数;Y_i:样品测量响应值(p个)的平均值;Y:绘制标准曲线响应值(n个)的平均值;C_i:绘制标准曲线所用系列对照品浓度值;C:绘制标准曲线 C_i (n个)的平均值;C₀:采用标准曲线测定样品浓度的均值;b:标准曲线斜率。根据上述公式可算得2种对照品溶液标准曲线引入的不确定度(表4)。

表4 2种对照品溶液标准曲线引入的不确定度分析结果

成份	n	p	b	C ₀	S(Y)	u(C ₀)
樟脑	5	2	24.719	0.039 71	0.004 127	0.000 141
薄荷脑			25.164	0.039 04	0.010 281	0.000 364

进而可算得:标准曲线引入的相对不确定度分别为

$$u_{rel樟脑}(C_0) = u(C_0) / C_0 = \frac{0.000 141}{0.039 071} = 0.003 55$$

$$u_{rel薄荷脑}(C_0) = u(C_0) / C_0 = \frac{0.000 364}{0.039 04} = 0.009 314$$

3.3.3 对照品溶液引入的不确定度 u(C_R)

对照品溶液的相对不确定度主要由纯度、称量、吸取量、稀释体积的标准不确定度组成,由于本试验中所使用的樟脑、薄荷脑及萘对照品均购于中国食品药品检定研究院,供国家药品标准检验用,且均未表明其质量分数,因此,由对照品纯度引入的不确定度予以忽略。

(1)对照品称量引入的相对标准不确定度 $u_{rel}(W_R)$

对照品的称量有3个不确定来源^[2]:重复性、可读性(数字分辨率)以及天平校准产生的不确定度分量,其中天平校准产生的不确定分量包括灵敏度和校准函数的线性,由于对照品的称量使用的是同一架天平,且称量范围很窄,故忽略灵敏度。

称量重复性引入的不确定度 $u(W_{R1})$,根据电子天平(d=0.1 mg)检定证书中给出的重复性误差

为±0.2 mg,假定为矩形分布,故 $u(W_{R1}) = \frac{0.2}{\sqrt{3}} = 0.1155 \text{ mg}$

天平可读性(数字分辨率)引入的不确定度 $u(W_{R2})$,试验所用电子天平最小有效数字为0.01 mg,假定为矩形分布,故

$$u(W_{R2}) = \frac{0.01/2}{\sqrt{3}} = 0.002887 \text{ mg}$$

天平校准函数的线性引入的不确定度 $u(W_{R3})$,根据电子天平($d=0.01 \text{ mg}$)检定证书中给出的最大允差为±0.1 mg,假定为矩形分布,故

$$u(W_{R3}) = \frac{0.1}{\sqrt{3}} = 0.05774 \text{ mg}$$

$u(W_R) = \sqrt{u(W_{R1})^2 + u(W_{R2})^2 + u(W_{R3})^2} = 0.1296 \text{ mg}$.

由此可得:对照品称量引入的相对不确定度分别为

$$u_{\text{rel樟脑}}(W_R) = u(W_R) / W_R = \frac{0.1296}{10.70} = 0.01211;$$

$$u_{\text{薄荷脑}}(W_R) = u(W_R) / W_R = \frac{0.1296}{14.0} = 0.009257.$$

(2)对照品溶液配制引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_R)$

按照“2.2”项下方法配制混合对照液,樟脑与薄荷脑对照品分别为0.0107 g与0.0140 g,定容至50 ml,再分别精密量取5 ml,精密加入内标溶液

$$u_{\text{rel}}(X_R) = \sqrt{\left[\frac{u(V_{X1})}{V_{X1}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{X2})}{V_{X2}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{X3})}{V_{X3}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{X4})}{V_{X4}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{X5})}{V_{X5}}\right]^2 + 5\left[\frac{u(V_{X6})}{V_{X6}}\right]^2}$$

$$= \sqrt{\left[\frac{0.007}{\sqrt{6}}\right]^2 + \left[\frac{0.015}{3\sqrt{6}}\right]^2 + \left[\frac{0.015}{5\sqrt{6}}\right]^2 + \left[\frac{0.020}{10\sqrt{6}}\right]^2 + \left[\frac{0.050}{8\sqrt{6}}\right]^2 + 5\left[\frac{0.03}{5\sqrt{6}}\right]^2} = 0.004713$$

综上,由对照品溶液引入的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(C_R) = \sqrt{[u_{\text{rel}}(W_R)]^2 + [u_{\text{rel}}(V_R)]^2 + [u_{\text{rel}}(T_R)]^2 + [u_{\text{rel}}(X_R)]^2}$$

$$u_{\text{rel樟脑}}(C_R) = \sqrt{[0.01211]^2 + [0.002464]^2 + [0.003175]^2 + [0.004713]^2} = 0.01360$$

$$u_{\text{rel薄荷脑}}(C_R) = \sqrt{[0.009257]^2 + [0.002464]^2 + [0.003175]^2 + [0.004713]^2} = 0.01114$$

3.3.4 供试品溶液引入的不确定度 $u(C_S)$

按照“2.2.4”项下方法配制供试品溶液,供试品的均匀性与测定重复性及温度变化相关,温度变化对供试品溶液的影响与对照品溶液一致即 $u_{\text{rel}}(T_S) = u_{\text{rel}}(T_R) = 0.003175$;供试品配制稀释过程使用的1 ml、5 ml单线标移液管,25 ml、100 ml容量瓶,移取内标溶液的3 ml单线标移液管所引入的不确定度,玻璃量具允许的最大容量误差分别为±0.007 ml、±0.015 ml、±0.03 ml、±0.10 ml,

3 ml,用无水乙醇稀释至25 ml,摇匀。配制规程所使用3 ml、5 ml的单线标移液管及规格为25 ml、50 ml的容量瓶,经检定均为A级,允许的最大容量误差分别为±0.015 ml、±0.015 ml、±0.03 ml和0.05 ml,假定为均匀分布,故 $u_{\text{rel}}(V_R)$

$$= \sqrt{\left[\frac{u(V_{r1})}{V_{r1}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{r2})}{V_{r2}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{r3})}{V_{r3}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{r4})}{V_{r4}}\right]^2}$$

$$= \sqrt{\left[\frac{0.015}{3\sqrt{6}}\right]^2 + \left[\frac{0.05}{50\sqrt{6}}\right]^2 + \left[\frac{0.015}{5\sqrt{6}}\right]^2 + \left[\frac{0.003}{25\sqrt{6}}\right]^2}$$

$$= 0.002464$$

(3)温度变化导致对照品溶液浓度的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(T_R)$

实验室温度变化在±5℃,20℃时溶剂无水乙醇的膨胀系数为 $1.10 \times 10^{-3} / ^\circ\text{C}$,假定为矩形分布,故 $u_{\text{rel}}(T_R) = \frac{5 \times 1.10 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 0.003175$ 。

(4)系列对照品溶液稀释过程引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(X_R)$ ^[14]

按“2.4”项下方法配制系列对照品溶液,对照品储备液稀释过程,所使用玻璃仪器为1、3、5、10 ml单线标移液管;10 ml分刻度吸量管(移取8 ml);规格为25 ml容量瓶(5次)经检定均为A级,允许的最大容量误差分别为±0.007 ml、±0.015 ml、±0.015 ml、±0.020 ml、±0.050 ml和±0.03 ml,假定为均匀分布,故

假定为均匀分布;故供试品溶液引入的相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(C_S) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left[\frac{u(V_i)}{V_i}\right]^2 + [u_{\text{rel}}(T_S)]^2} =$$

$$\sqrt{\left[\frac{0.007}{5\sqrt{6}}\right]^2 + \left[\frac{0.015}{25\sqrt{6}}\right]^2 + \left[\frac{0.03}{100\sqrt{6}}\right]^2 + [0.003175]^2}$$

$$= 0.00449$$

3.3.5 内标溶液引入的不确定度 $u(C_I)$

按照“2.2.1”项下方法配制内标溶液,由于测定

过程中对照品溶液与供试品溶液使用相同体积的同一份内标溶液,内标加入体积 3ml 所引入的误差已体现在对照品溶液及供试品溶液配制过程中,故由内标溶液所引入的不确定度不予重复考虑。

3.3.6 气相色谱仪引入的不确定度 $u(GC)$

气相色谱仪检定证书提供定量重复性 $RSD=0.688\%$,置信概率为 95% 时,包含因子 $k_p=1.960$,故气相色谱仪引入相对不确定度为:

$$u_{rel}(GC) = \frac{RSD}{k_p} = \frac{0.688\%}{1.960} = 0.00351$$

3.4 合成相对标准不确定度

各种相对标准不确定度的分量及大小汇总结果见表 5。

$$u_{rel}(C) = \sqrt{[u_{rel}(A)]^2 + [u_{rel}(C_0)]^2 + [u_{rel}(C_R)]^2 + [u_{rel}(C_S)]^2 + [u_{rel}(C_f)]^2 + [u_{rel}(GC)]^2}$$

$$u_{樟脑}(C) = \sqrt{[0.00652]^2 + [0.00355]^2 + [0.01360]^2 + [0.00449]^2 + [0.000351]^2} = 0.0152$$

$$u_{薄荷脑}(C) = \sqrt{[0.00358]^2 + [0.00931]^2 + [0.01114]^2 + [0.00449]^2 + [0.000351]^2} = 0.0160$$

本试验中复方樟脑搽剂(批号:20171223)中樟脑和薄荷脑含量分别为 20.74 mg/ml、20.48 mg/ml,则含量测定结果的合成标准不确定度为:

$$u_{樟脑}(C) = 20.74 \text{ mg/ml} \times 0.0152 = 0.315 \text{ mg/ml}$$

$$u_{薄荷脑}(C) = 20.48 \text{ mg/ml} \times 0.0160 = 0.328 \text{ mg/ml}$$

3.5 扩展不确定度

取包含因子 $k=2$,则 95% 置信概率时,含量测定结果的扩展不确定度为:

$$U_{樟脑}(C) = k u_{樟脑}(C) = 2 \times 0.315 \text{ mg/ml} = 0.630 \text{ mg/ml}$$

$$U_{薄荷脑}(C) = k u_{薄荷脑}(C) = 2 \times 0.328 \text{ mg/ml} = 0.656 \text{ mg/ml}$$

3.6 报告不确定度

采用气相色谱内标曲线法测定复方樟脑搽剂(批号:20171223)中樟脑、薄荷脑含量,取 1 份供试品,平行测定 2 次,则测定结果表示为樟脑(20.74 ± 0.630) mg/ml ($k=2$);薄荷脑(20.48 ± 0.656) mg/ml ($k=2$)。

4 讨论

4.1 气相色谱条件的选择

本文中摸索并建立气相色谱法测定复方樟脑搽剂中樟脑与薄荷脑含量的方法。首先,前期参考有关文献^[14-16]并结合预实验结果,固定载气为高纯

表 5 樟脑和薄荷脑含量测定的各种相对标准不确定度汇总表^[15]

输入量	来源	相对标准不确定度 $u_{rel}(X)$	
		樟脑	薄荷脑
A	测量重复性	0.00065	0.00358
C ₀	标准曲线	0.00355	0.00931
C _R	对照品溶液	0.01360	0.01114
C _S	供试品溶液	0.00449	0.00449
C _f	内标溶液	0	0
GC	气相色谱仪	0.00351	0.00351

上述各分量相互独立不相关,复方樟脑搽剂中樟脑与薄荷脑含量测定结果的合成相对标准不确定度为:

N_2 ,流速 40 ml/min,空气流速 350 ml/min,氢气流速 35 ml/min;分流比:10:1;检测器温度:250℃;进样口温度:250℃。其次进行柱温选择考察,试验考察不同温度时恒温法及程序升温法,恒温法樟脑与薄荷脑分离效果不理想,峰形不理想,最终确定为程序升温,初始温度 100℃,保持 1 min,以 8℃/min 的速率升温至 200℃,保持 1 min。最后进行色谱柱的选择,GC 法常用色谱柱有毛细管柱法和填充柱法,前期考察发现,填充柱法柱效及分离效率不如毛细管柱法,因此本实验选择毛细管柱作为色谱柱。综上所述,本文所建立的方法准确可靠、重现性好,可用于复方樟脑搽剂中樟脑与薄荷脑含量的测定。

4.2 不确定度评估分析

通过仔细分析影响气相色谱测定复方樟脑搽剂中两组份含量标准不确定度的各环节,鉴别不确定度的所有来源并对各不确定度分量进行评估。由于合成标准不确定度的数值大小几乎完全取决于重要的不确定度分量,表 5 中各相对标准不确定度分量的大小及所占比例表明:应用 GC 法测定樟脑含量的各个环节中,不确定度贡献率最大的是对照品溶液与供试品溶液的配制;而测定薄荷脑含量时,不确定度贡献率最大的是标准曲线的线性拟合及对照品溶液配制。因此,日常质控时,严格遵守各项检验操作规程,规范实验操作,进一步加强气相色谱仪的维护保养,保证其工作状态的稳定性;以降低上述不确定度分量。

【参考文献】

- [1] 中国人民解放军总后勤部卫生部. 中国人民解放军医疗机构制剂规范(2002年版)增补本[M]. 北京:人民军医出版社, 2007:35.
- [2] 全国法制计量管理技术委员会. 测量不确定度评定与表示(JJF1059.1-2012)[S]. 北京:中国计量出版社, 2013.
- [3] 中国合格评定国家认可委员会. 测量不确定度要求的实施指南(CNAS-GL05;2011)[S]. 北京:中国计量出版社, 2011.
- [4] 中国合格评定国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南(CNAS-GL06;2006)[S]. 北京:中国计量出版社, 2006.
- [5] 国家质量监督检验检疫总局. 常用玻璃量器检定规程(JJG196-2006)[S]. 北京:中国计量出版社, 2006.
- [6] 盖静, 王俊丽, 安宝文, 等. HPLC-DAD法测定复方樟脑搽剂中樟脑和苯酚的含量[J]. 西北国防医学杂志, 2015, 36(2): 87-89.
- [7] 陆松伟, 宋洪杰, 陈方剑. HPLC法同时测定复方樟脑搽剂中苯酚和樟脑含量[J]. 药实践杂志, 2011, 29(5):347-349.
- [8] 盖静, 盖丽, 张焯. 变换波长法测定复方樟脑搽剂中樟脑和苯酚的含量[J]. 中兽医医药杂志, 2017, 36(2):42-44.
- [9] 凌云, 杨杨, 傅秋生, 等. 复方樟脑搽剂中三组分的含量测定[J]. 解放军药学报, 2014, 30(5):431-434.
- [10] 谷娜, 郭胜才. 高效液相色谱法测定复方樟脑搽剂中苯酚的含量[J]. 实用药物与临床, 2013, 16(4):316-317.
- [11] 王俊丽, 李加恒, 盖静. 毛细管气相色谱法同时测定复方樟脑搽剂中樟脑、薄荷脑含量[J]. 西北国防医学杂志, 2016, 37(3):164-165.
- [12] 高梅, 张耀, 贾茹. 顶空气相色谱法测定咳速停糖浆中薄荷脑的不确定度[J]. 广东化工, 2015, 42(7):155-171.
- [13] 黄诗前. 顶空气相色谱法测定十滴水中的乙醇量[J]. 中国医院用药评价与分析, 2010, 10(5):466-448.
- [14] 李燕, 吴皓东, 郝宇薇, 等. GC法测定唇香草挥发油中薄荷酮的含量[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(9):1136-1141.
- [15] 姚鑫, 程宗琦, 姜玮, 等. 气相色谱法测定复方薄荷脑滴鼻液中樟脑与薄荷脑的含量[J]. 西北药学杂志, 2017, 32(5): 594-596.
- [16] 吴查青, 王发英, 关晓娟. 顶空气相色谱法测定厚朴中 β -桉油醇含量的方法研究[J]. 中国生化药物杂志, 2017, 37(9):29-33.

[收稿日期] 2018-01-19 [修回日期] 2018-09-14
[本文编辑] 陈盛新

(上接第517页)

过程中无需使用十二烷基硫酸钠等离子对试剂, 分析时间仅5 min, 溶剂消耗小, 同时抗干扰能力强, 解决了中药复方样品存在下对维生素检测的干扰。本研究弥补了目前针对复方三维右旋泛酸钙中5种维生素同时测定方法的空白, 同时也可为其他复方或者含复杂基质的样品中维生素的检测提供一种新的解决方案。

【参考文献】

- [1] 国家药品监督管理局. 国家药品标准(试行)[S]. WS-10001-(HD-0950)-2002.
- [2] 翁水旺, 高祖钦. RP-HPLC法测定复方三维右旋泛酸钙糖浆中烟酰胺的含量[J]. 药科学进展, 2006, 30(10):457-460.
- [3] 翁水旺. RP-HPLC法测定复方三维右旋泛酸钙糖浆中维生素B₁和维生素B₆的含量[J]. 药物分析杂志, 2004, 24(6): 645-647.
- [4] 陈华龙, 刘旺培. HPLC法测定复合维生素B片中维生素B₁、维生素B₂、烟酰胺的含量及含量均匀度[J]. 海峡药学, 2016, 28(2):63-65.
- [5] 陈彩云, 魏鲜娥, 蔡伟江, 等. 高效液相色谱法同时测定保健食品中泛酸、烟酰胺、维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(5):1866-1871.
- [6] 李彩霞, 苏智阳, 袁文杰. HPLC法测定维生素B族片中3种组分的含量[J]. 海峡药学, 2017, 29(6):54-57.
- [7] 解瑞辉. HPLC与UV法测定维生素B₁注射液中维生素B₁含量的比较[J]. 海峡药学, 2017, 29(8):47-49.
- [8] 郭强胜, 刘明珂, 禹珊, 等. 定量核磁共振法同时测定复合维生素B片中B₁、B₂、烟酰胺和泛酸钙[J]. 波谱学杂志, 2016, 33(3):442-451.
- [9] 刘俊杰, 耿春梅, 郭曦, 等. 人血清水溶性维生素B₁、B₂、B₆和B₉高效液相色谱串联质谱联用技术测定方法的建立和验证[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(7):617-620.
- [10] 梁瑞强, 王聪, 曹进, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定保健食品中10种水溶性维生素[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(3):966-974.
- [11] 金小青, 姚立新, 薛昆鹏. 亲水作用色谱的发展概述[J]. 化工管理, 2014(27):70-71.
- [12] 仇岐枢, 冯建新. 复合维生素B溶液处方的改进及稳定性考察[J]. 中国医院药学杂志, 1997, 17(3):126-127.
- [13] 宋永美, 吴玉林. 复合维生素B溶液的化学稳定性分析[J]. 数理医药学杂志, 2005, 18(4):364-366.
- [14] 李嘉霖, 高宗华. 维生素B₂片中维生素B₂的测定及稳定性[J]. 光谱实验室, 2012, 29(4):2576-2578.
- [15] 孙美玲. 贮存时间、湿度、铜源和添加剂来源对预混料中B族维生素稳定性的影响[D]. 沈阳农业大学, 2016.

[收稿日期] 2018-05-11 [修回日期] 2018-10-09
[本文编辑] 陈盛新