

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2017.5.07

气相色谱内标法测定双甲脒溶液含量的不确定度评定

董玲玲,于晓辉,杨星,马秋冉,赵富华,杨秀玉*

(中国兽医药品监察所,北京 100081)

[收稿日期] 2016-06-27 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2017) 05-0033-04 [中图分类号] S859.2

[摘要] 建立了气相色谱内标法测定双甲脒溶液的含 量不确定度的评定方法。利用数学模型分析不确定度的来源,并对各分量进行计算,最后得到测定结果的不确定度报告。本实验的测定结果不确定度为 $(105.9\pm 2.4)\%$,影响不确定度的主要因素为内标的加入及重复测量。

[关键词] 双甲脒;不确定度;气相色谱内标法

Evaluation of Uncertainty of Determination of Amitraz Solution by the GC Internal Standard Method

DONG Ling-ling, YU Xiao-hui, YANG Xing, MA Qiu-ran, ZHAO FU-hua, YANG Xiu-yu*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: YANG Xiu-yu, E-mail: yangxiuyu@ivdc.org.cn

Abstract: To evaluate the uncertainty of determination of amitraz solution by the GC internal standard method, a mathematical model was established and the sources of uncertainty were analyzed and evaluated during the whole determination procedure. Finally the expanded uncertainty was calculated and the result of content determination can be expressed as $(105.9\pm 2.4)\%$ ($k=2$). It showed that the main sources of measurement uncertainty came from the addition of internal standard and measurement repeatability.

Key words: amitraz; uncertainty; GC internal standard method

测量不确定度是表征合理地赋予被测量之值的分散性,与测量结果相联系的参数^[1]。目前测量不确定度评定已成为检测和校准实验室必不可少的工作之一。通过对实验过程各个环节引入的不确定度进行评估,分析各因素对测定结果的影响,可在实际工作中起到指导作用。气相色谱内标法是中国兽药典、美国药典规定的双甲脒溶液含量测定的方法。内标法是气相色谱定量分析中的一种

重要技术,能在一定程度上消除操作条件等的变化所引起的误差,因而测定的结果较为准确,但操作繁琐是其缺点。本实验依据中国合格评定国家认可委员会 CNAS-CL07:2011《测量不确定度评估和报告的通用要求》^[2]和 CNAS-GL06:2006《化学分析中不确定度的评估指南》^[3],对双甲脒溶液含量测定的不确定度进行了分析与评估,以期提高检验检测水平,确保检验结果的科学公正。

作者简介:董玲玲,硕士研究生,从事兽药检验工作。

通讯作者:杨秀玉。E-mail: yangxiuyu@ivdc.gov.cn

1 仪器和方法

1.1 仪器与试剂 梅特勒 AT201/IVDC-HY-021, E2 级;气相色谱仪:Aglient 7890A;容量瓶(100 mL) A 级;容量瓶(10 mL) A 级;移液管(5 mL) A 级。双甲脒溶液(某市售商品,批号为 20140826);双甲脒对照品(USP,批号 C106518);角鲨烷(Fluka, 1216A);乙酸乙酯为分析纯。

1.2 测定方法 按照《中国兽药典》2010 年版一部“双甲脒溶液”含量测定项下方法测定^[4]。具体如下:取供试品 3 瓶,混匀,取约 400 mg(约相当于双甲脒 50 mg),精密称定,置 10 mL 量瓶中,精密加内标溶液 5 mL 使溶解,加乙酸乙酯溶解并稀释至刻度,摇匀,得供试品溶液;另取双甲

脒对照品约 50 mg,同法操作,得对照品溶液;取供试品溶液和对照品溶液各 1 μ L,注入气相色谱仪,进行测定;另取本品,同时测定其相对密度(ρ),计算,即得。

内标溶液:取角鲨烷 1083 mg($W_{内}$),置 100 mL 量瓶中,加乙酸乙酯溶解并稀释至刻度,即得。

重复性试验溶液:取双甲脒对照品 226 mg,置 5 mL 量瓶中,加乙酸乙酯溶解并稀释至刻度,分别取 0.8、1.0、1.2 mL 至 10 mL 量瓶中,各精密加入 5 mL 内标溶液,加乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,即得相当于 80%、100%和 120%的对照品溶液。

1.3 测定结果 本实验中双甲脒溶液的含量为 105.9%。结果如表 1 所示。

表 1 测定结果表

Tab 1 Results of the Amitraz solution

测量结果	1	2	平均值/%
对照品(50 mg 相当)中双甲脒峰面积		18468	
对照品(50 mg 相当)中内标峰面积		28955	
供试品的称样量/mg	402.3	398.6	
供试品中双甲脒峰面积	18561	18662	
供试品中内标峰面积	27165	27434	105.9
相对密度 ρ		0.998	
对照品含量/%		99.4	
规格		12.5%	
结果/%	105.66	106.17	

2 不确定度分析与评价

2.1 数学模型 双甲脒标示量的百分含量计算公式为:

$$X = f \times \frac{A_{供}}{A_{内(供)}} \times \frac{W_{供} \times \rho \times \text{规格}}{C_{内}} \times \text{对照品含量} \times 100\%$$

$$\text{其中校正因子 } f = \frac{A_{内(对)}}{A_{对}} \times \frac{C_{对}}{C_{内}} = \frac{A_{内(对)}}{A_{对}} \times$$

$$\frac{W_{对} / \text{对照品稀释倍数}}{C_{内}}$$

$$\text{故 } X = \frac{A_{供} / A_{内(供)}}{A_{对} / A_{内(对)}} \times \frac{W_{对} \times \text{对照品含量}}{W_{供} / \rho \times \text{规格}} \times 100\%$$

式中 $A_{供}$ 为供试品中双甲脒的峰面积, $A_{内(供)}$ 为供试品中内标的峰面积, $A_{对}$ 为对照品中双甲脒的

峰面积, $A_{内(对)}$ 为对照品中内标的峰面积, $W_{供}$ 为供试品的称样量(mg), ρ 为供试品的相对密度, $C_{内}$ 为内标物的浓度(mg/mL)。

2.2 不确定度的来源分析 双甲脒含量测定的结果受数学模型中各参数的影响,因此分析双甲脒含量测定不确定度的来源主要有以下几个方面:称量;测量;加入内标量;供试品相对密度测量;其他因素。

2.2.1 称量引入的不确定度 在双甲脒溶液含量测定的过程中涉及到供试品的称量以及对照品的称量,二者都会引入不确定度。供试品称量引入的不确定度主要是天平校正产生的。按检定证书给出的最大允许误差为 ± 0.1 mg,按矩形分布估算,不

确定度为： $0.1/\sqrt{3}=0.058\text{ mg}$ 。

由于称量过程中使用减重法，两次称重得到供试品重量，且两次称重均为独立观测结果，线性影响不相关，因此，上述分量需计算 2 次：

$$u(W_{供}) = \sqrt{2 \times (0.058)^2} = 0.082\text{ mg}$$

供试品称量引起的相对不确定度：

$$u_r(W_{供}) = u(W_{供})/W_{供} = 0.082/400 = 0.0002$$

对照品称量引入的不确定度分析与供试品的一致，相对不确定度为：

$$u_r(W_{对}) = u(W_{对})/W_{对} = 0.082/50 = 0.0016$$

2.2.2 测量过程引入的不确定度 测量过程引入的不确定度可以分为两个方面：一是气相色谱仪测

定引入；二是重复测量引入。考虑到本实验采用的是内标法，以供试品与对照品峰面积的比值参与计算，气相色谱仪测量引入的不确定度可忽略不计，因此，只考虑重复测量引入的不确定度。

取重复性试验溶液各 1 μL ，注入气相色谱仪，进行测定，结果如表 2 所示。

$n=6$ ，则重复性测量的标准不确定度为：

$$u(R) = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^n (x_k - \bar{x})^2}{n-1}} = 7.0 \times 10^{-3}\text{ g}$$

重复性测量的相对不确定度为：

$$u_r(R) = (7.0 \times 10^{-3})/1.2368 = 0.0057$$

表 2 重复性测量结果表

Tab 2 Results of the Measurement Repeatability

重复性测量	80%	100%	120%	平均
双甲脒峰面积	14561	14667	18491	18211
内标峰面积	26710	27073	27439	27033
校正因子(f)	1.2249	1.2326	1.2386	1.2391
				1.2437
				1.2421
				1.2368

2.2.3 加入内标引入的不确定度 加入内标引入的不确定度主要来源于内标物的称量、稀释定容和内标液的移取等。由于供试品与对照品共用一瓶内标溶液，内标物的称量和稀释定容在计算过程中抵消，则对双甲脒含量测定有影响的不确定因素主要是内标溶液的移取引入的。测定过程中使用 5 mL 移液管(A 级)，最大允差为 $\pm 0.015\text{ mL}$ ，按照三角分布计算，移液管引入的不确定度为：

$$u(V_{内1}) = 0.015/\sqrt{6} = 0.0061\text{ mL}$$

另外，试验温度与校正温度不同也会引入不确定度，校正温度为 20 $^{\circ}\text{C}$ ，使用温度为 $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，呈均匀分布，水的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4}/^{\circ}\text{C}$ ，则温度差异引入的不确定度为：

$$u(V_{内2}) = 5 \times 2 \times 2.1 \times 10^{-4} / \sqrt{3} = 0.0012\text{ mL}$$

合并上述 2 项，供试品中加入内标量引入的不确定度为： $u(V_{内}) = \sqrt{(u(V_{内1}))^2 + (u(V_{内2}))^2} = \sqrt{(0.0061)^2 + (0.0012)^2} = 0.0062\text{ mL}$

相对不确定度为：

$$u_r(V_{内}) = u(V_{内})/5 = 0.0062/5 = 0.0012$$

同理，对照品对照品中加入内标量引入的相对

不确定度 $u_r(V_{对}) = 0.0012$ 。

2.2.4 供试品相对密度测量引入的不确定度

相对密度 $\rho = W_{供}/W_{水}$ ，称量及测量温度是引入相对密度不确定度的主要因素。由于供试品和水的称量均采用减重法，已知天平校正产生的不确定度为 0.058 mg，则称量引入的不确定度为：

$$u(W) = \sqrt{4 \times (0.058)^2} = 0.116\text{ mg}$$

相对不确定度为： $u_r(W) = 0.116/(50 \times 10^3) = 2.3 \times 10^{-6}$

附温比重瓶的实际使用温度和检定温度均为 20 $^{\circ}\text{C}$ ， $U=0.10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ， $k=2$ ，测量温度引入的不确定度为： $u(t) = 0.10/2 = 0.05\text{ }^{\circ}\text{C}$

相对不确定度为： $u_r(t) = 0.05/20 = 0.0025$

合并上述 2 项，供试品相对密度测定引入的不确定度为： $u_r(\rho) = \sqrt{(u_r(W))^2 + (u_r(t))^2} = \sqrt{(2.3 \times 10^{-6})^2 + (0.0025)^2} = 0.0025$ 。

2.2.5 其他因素引入的不确定度 因为双甲脒含量测定过程中对照品与供试品的稀释过程相同，所以公式中不体现稀释倍数，但稀释过程中供试品与对照品分别使用了不同的容量瓶，引入了不确定度。10 mL 容量瓶(A 级)的最大允差为

$\pm 0.020 \text{ mL}^{[5]}$, 按三角分布估算, 标准偏差为 $0.020/\sqrt{6} = 0.0082 \text{ mL}$; 试验温度与校正温度不同引入不确定度, 校正时温度为 $20 \text{ }^\circ\text{C}$, 使用温度为 $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, 呈均匀分布, 水的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4}/^\circ\text{C}$, 标准偏差为: $10 \times 2 \times 2.1 \times 10^{-4}/\sqrt{3} = 0.0024 \text{ mL}$ 。合并上述 2 项, 其他因素引入的不确

定度为 $u(V) = \sqrt{(0.0082)^2 + (0.0024)^2} = 0.0085 \text{ mL}$, 相对不确定度为: $u_r(V) = 0.0085/10 = 0.00085$ 。

2.2.6 合成不确定度的计算 合成标准不确定度是将所有测量不确定度分量合成为总体方差的正平方根, 是测量结果标准差的估计值。本实验的合成不确定度为: $u = 105.9\% \times 0.0067 = 0.7\%$ 。

$$u_r = \sqrt{(u_r(W_{供}))^2 + (u_r(W_{对}))^2 + (u_r(R))^2 + (u_r(V_{供}))^2 + (u_r(V_{对}))^2 + (u_r(\rho))^2 + (u_r(V))^2}$$

$$= \sqrt{(0.0002)^2 + (0.0016)^2 + (0.0057)^2 + (0.0012)^2 + (0.0012)^2 + (0.0025)^2 + (0.0085)^2} = 0.0067$$

2.2.7 扩展不确定度 将合成标准不确定度乘以包含因子(k)即得到扩展不确定度, 其表征被测量值以一个较高的置信水平存在的区间宽度。本实验选择 95% 的置信水平, 根据 t 分布表查得 $k = 2$ 。则双甲脞溶液含量测定的扩展不确定度 $U = 2 \times 0.7\% = 1.4\%$ 。

2.3 测定结果不确定度报告 $X = (105.9 \pm 1.4)\%$, 结果表明: 当置信概率为 95% 时, 双甲脞溶液含量的分散区间为 $(105.9 \pm 1.4)\%$ 。

3 讨论与小结

通过对不确定度的分析与评估发现, 采用气相色谱内标法测定双甲脞溶液含量时, 各因素对测定结果不确定度影响由大到小依次为: 加入内标, 重复测量, 供试品相对密度的测定, 称量以及稀释过程。这就提示在实验操作过程中应注意内标加入环节。本文分析了气相色谱内标法测定双甲脞溶液含量的不确定度, 清楚直观的表达了测定结果的

准确度及其影响因素, 从而为改进实验方法, 提高结果的准确性提供了理论依据。

参考文献:

[1] JJF1001-2011 通用计量术语及定义 [S]. JJF1001-2011 General measurement terms and definitions [S].

[2] CNAS-CL07:2011 测量不确定度评估和报告的通用要求 [S]. CNAS-CL07: General requirements for measurement uncertainty assessment and reporting 2011 [S].

[3] CNAS-GL06:2006 化学分析中不确定度的评估指南 [S]. CNAS-GL06: Guidelines for Evaluating Uncertainty in Chemical Analysis 2006 [S].

[4] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 二〇一〇年版一部 [S]. Chinese Veterinary Pharmacopoeia Commission. China Veterinary Pharmacopoeia 2010 edition of I [S].

[5] JJF1059.1-2012. 玻璃仪器检定规程 [S]. JJF1059.1-2012. Test procedure for glass instruments [S].

(编辑: 侯向辉)