

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)04-0076-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.04.018



南葶苈子膨胀度的不确定度评定

翁雪萍, 李惠敏, 朱文娟

(广东省惠州市食品药品检验所, 广东 惠州 516003)

摘要:目的 建立中药南葶苈子膨胀度测定的不确定度评定方法。方法 按2020年版《中国药典(四部)》通则2101膨胀度测定法测定膨胀度,分析测定过程中的不确定度来源,量化不确定度分量。结果 测定过程中的不确定度来源于药材样品膨胀后的体积、称量、水分测量的相对不确定度,以及膨胀度测量重复性的标准不确定度。所得扩展不确定度为0.3 mL/g,南葶苈子膨胀度为 (5.5 ± 0.3) mL/g。结论 在现行膨胀度测定法的基础上,建议修订膨胀度测定管的刻度分度(如由0.2 mL改为0.1 mL)，“称定质量”项由精确至0.01 g改为0.001 g,以提高南葶苈子膨胀度测定结果的可靠性。

关键词: 南葶苈子; 膨胀度; 不确定度; 扩展不确定度

Uncertainty Evaluation of Swelling Degree of Descurainiae Semen

WENG Xueping, LI Huimin, ZHU Wenjuan

(Huizhou Institute for Food and Drug Control, Huizhou, Guangdong, China 516003)

Abstract: Objective To establish an uncertainty evaluation method for the swelling degree of Descurainiae Semen. **Methods** The swelling degree was determined based on the general rule 2101 (swelling degree determination) of the *Chinese Pharmacopoeia* (2020 Edition, Volume IV), the uncertainty sources during the determination process were analyzed, and the uncertainty components were quantified. **Results** The uncertainty in the determination process were from the relative uncertainty of the volume swelling of the medicinal materials, the weighing and the measurement of moisture, as well as the standard uncertainty of the repeatability of

第一作者: 翁雪萍, 女, 大学本科, 主任中药师, 研究方向为药品检验和药品质量标准, (电子信箱)434578516@qq.com。

典和文献[5-7],考察了乙腈、水2个流动相的多种梯度洗脱比例,发现人参皂苷 R_{b1} 出峰时间较长,且随着分析时间的延长,乙腈比例增加,洗脱的杂峰也增多,并干扰所测成分,故采用了人参皂苷 R_e 取代。但人参皂苷 R_e 与人参皂苷 R_{g1} 的出峰时间非常接近,以往研究中也发现这2个成分的色谱峰较难分离^[8]。经过多次试验优化,最终以乙腈-水为流动相进行梯度洗脱,基线平稳,且峰形良好,阴性对照无干扰。

采用现代质量控制技术,对医院制剂质量标准进行研究和提升^[9-11],不仅能促进其高质量发展,也可为临床疗效提供可靠保障,从而让更多的患者受益。本研究建立了HPLC法同时测定三七中主要成分三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 的含量,该方法用于三七的含量控制,灵敏度高,操作简便,经济快捷,重复性较好。同时,徐长卿、细辛、威灵仙3味药材的TLC鉴别方法经反复验证,最终分离效果均良好,不受其余成分干扰,斑点清晰。综上,本研究中所建立的定性定量方法可为骨奇泰搽剂的质量标准提升提供参考。

参考文献

- [1] 何成章,张广兴,陆中海. 骨奇泰搽剂皮肤刺激性实验[J]. 广西医学,2009,31(11):1703-1704.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2020:59-60.
- [3] 付恩桃,李会婷,汤洁,等. 不同提取方法对金匱肾气片中丹皮酚、黄芩苷含量的影响[J]. 广州化工,2021,49(6):77-79.
- [4] 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,2020:143,157,194,276.
- [5] 叶慧,李敏. 颈舒颗粒中有效成分含量测定[J]. 中国药业,2020,29(13):76-80.
- [6] 袁铭铭,周国平,熊晓丽,等. 高效液相色谱法测定虎力散片中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 的含量[J]. 药品评价,2021,18(21):1289-1292.
- [7] DAI SY, XU B, ZHANG Y, et al. Robust design space development for HPLC analysis of five chemical components in *Panax notoginseng* saponins [J]. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 2016, 39(10):1198914.
- [8] 郑阿旭,鲁晓光. HPLC法同时测定致康胶囊中三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 的含量[J]. 上海医药,2020,41(7):71-74.
- [9] 李洁,张磊,张虹. 桃仁膝康丸质量标准的提升研究[J]. 陕西中医,2018,39(9):1311-1315.
- [10] 李得堂,刘翠珍,宛鑫,等. 医院中药制剂生产与质量控制要点浅析[J]. 中国医药导刊,2022,24(5):454-459.
- [11] 祁骏升,计雅纯,陈宇,等. 2019年湖北省66家医疗机构医院制剂生产与使用情况分析[J]. 海峡药学,2021,33(11):210-213.

(收稿日期:2023-03-29;修回日期:2023-09-23)

the swelling degree measurement. The determined expanded uncertainty was 0.3 mL / g, and the swelling degree of *Descurainiae Semen* was (5.5 ± 0.3) mL / g. **Conclusion** Based on the current swelling degree measurement method, it is suggested that we should revise the scale division of the swelling degree measurement tube (such as changing from 0.2 mL to 0.1 mL), improve the accuracy of the "mass measurement" from 0.01 g to 0.001 g to increase the reliability of the swelling degree measurement of *Descurainiae Semen*.

Key words: *Descurainiae Semen*; swelling degree; uncertainty; expanded uncertainty

中药葶苈子为十字花科植物播娘蒿(南葶苈子) *Descurainia sophia*(L.)webb. ex Prantl或独行菜(北葶苈子) *Lepidium virginicum* L. 的干燥成熟种子。始载于《神农本草经》,具有泻肺平喘、行水消肿功效。膨胀度是药品膨胀性质的指标^[1],葶苈子的膨胀度数值是区分其品种来源的重要指标。本研究以南葶苈子为例,按2020年版《中国药典(四部)》通则2101膨胀度测定法测定膨胀度,对该方法的测量结果不确定度来源及大小进行分析和评定^[2],以期找出影响不确定度的因素,保证测量结果的可靠性,为评价葶苈子药材质量提供科学依据。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

XS204型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,量程220 g,实际分度值和检定分度值分别为0.0001,0.001 g或0.001,0.01 g);ED-53型电热干燥箱(宾得环境试验设备<上海>有限公司);膨胀度测定管(全长160 mm,内径16 mm,刻度部分125 mm,分度0.2 mL)。

1.2 试药

南葶苈子药材(经本所黄丹莹副主任中药师鉴定为正品);水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 膨胀度测定

在环境温度为20.2℃,相对湿度≤75%条件下进行。取药材样品2.5 g,精密称定,按2020年版《中国药典(四部)》通则0832水分测定法第二法(烘干法),测得含水量6.8%。取药材样品0.6 g,精密称定,按2020年版《中国药典(四部)》通则2101膨胀度测定法,以干燥品计算药材样品的膨胀度(S , mL / g),公式为 $S = V / W = V / [W'(1 - H)] = V / (W'H')$ 。其中, V (mL)为药材样品膨胀后的体积; W (g)为药材样品按干燥品计算的质量; W' (g)为药材样品称取量; H (%)为药材样品含水量; H' (%)为干燥品比率(即100% - 水分含量)。结果 S 为5.5 mL / g。

2.2 不确定度来源分析

考虑供试品测量重复性后,膨胀度测量模型可表示为 $S' = S + R_s$ 。其中, S' (mL / g)为考虑药材样品的测量重复性影响后的膨胀度; R_s (mL / g)为药材样品的测量重复性影响的修正值(其值视为零,不确定度非零)。

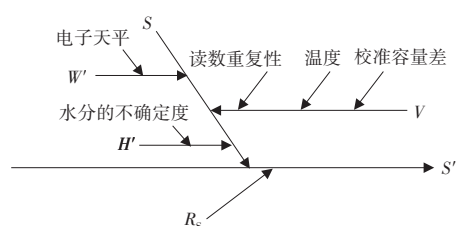


图1 不确定度来源分析鱼骨图

Fig. 1 Fishbone diagram of uncertainty sources analysis

最终的不确定度来源分析见图1。

2.3 不确定度分量评定计算

2.3.1 V 产生的相对不确定度 $u_{\text{rel}}(V)$ ^[3]

膨胀度测定管的容量差异引入的标准不确定度 $u_1(V)$:取10支膨胀度测定管,考虑药材样品膨胀后体积读数在3 mL,故以3 mL为校准点,校准容量的标准差为0.018 7 mL,实际检验取3个平行样的平均值报告测得值,得 $u_1(V) = 0.018 7 / \sqrt{3} = 0.010 8$ mL。

温差影响引起的标准不确定度 $u_2(V)$:膨胀度测定管校准温度为18.7℃,与试验环境温度的温差为1.5℃,水的体积热膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C}$,估计药材样品的体积热膨胀系数为水的10倍(因查无资料,且本实验室检测体积热膨胀系数的条件不足,此处仅凭经验估计)^[4],假设温度引起药材样品体积变化是矩形分布,膨胀体积约为3 mL,得 $u_2(V) = (3 \times 2.1 \times 10^{-4} \times 10 \times 1.5) / \sqrt{3} = 0.005 46$ mL。

肉眼读数引起的体积示值的重复性标准不确定度 $u_3(V)$:取同一膨胀度测定管加水至3.0 mL,称定质量(m),重复10次。硼硅玻璃温度修正系数 $K(t)$ 为1.002 62 mL / g^[5],故膨胀度测定管实际容量 $V_{i(20)} = m \times K(t)$,则10次操作的实际容量分别为3.063 0, 3.066 5, 3.066 9, 3.003 2, 3.045 2, 3.073 1, 3.013 1, 3.043 2, 3.013 7, 3.056 5 mL,平均值为 $\bar{V}_i = 3.044 44$ mL。以单次读数为测量值,按Bessel公式计算,得 $u_3(V) = \sqrt{1/(n-1) \sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V}_i)^2} = \{1/(10-1)[(3.063 0 - 3.044 44)^2 + \dots + (3.056 5 - 3.044 44)^2]\}^{0.5} = 0.025 6$ 。

上述3项分量的线性叠加,即: $u_{\text{rel}}(V) = [u_1^2(V) + u_2^2(V) + u_3^2(V)]^{0.5} / V = (0.010 8^2 + 0.005 46^2 + 0.025 6^2)^{0.5} / 3 = 0.009 44$ 。

2.3.2 W' 产生的相对不确定度 $u_{\text{rel}}(W')$

$u_{\text{rel}}(W')$ 主要来自电子天平的测量分散性,主要考虑为允许误差和重复性限(含长期变化量)^[3]2项,其标准不确定度分别为 $u_{\text{允差}}(W')$ 和 $u_{\text{重复性}}(W')$,线性叠加得 $u_{\text{rel}}(W')$ 。试验所用电子天平检定证书和检定规程写明,0~50 g量程段的示值允差为 ± 0.005 g,重复性最大允差限为0.015 g,按矩形分布计算,常规检验取3份,称取量分别为0.605,0.606,0.616 g,平均值为 $W' = 0.609$ g,则 $u_{\text{rel}}(W') = u_{\text{天平}}(W') / W'_{\text{平均}} = [u_{\text{允差}}^2(W') + u_{\text{重复性}}^2(W')]^{0.5} / W'_{\text{平均}} = [(0.005 / \sqrt{3})^2 + (0.015 / \sqrt{3})^2]^{0.5} / 0.609 = 0.0150$ 。

2.3.3 水分测量产生的相对不确定度 $u_{\text{rel}}(H')$

膨胀度是以药材样品的干燥品计算,称样质量须扣除水分 H ,其水分测定方法为烘干法。

水分的计算公式为 $H(\%) = (m_1 + m_2 - m_3) / m_1 \times 100\%$ 。其中, $H(\%)$ 为药材样品的水分, $m_1(\text{g})$ 为药材样品称取量(用于水分测定); $m_2(\text{g})$ 为恒重时称量瓶质量, $m_3(\text{g})$ 为(称量瓶+供试品)干燥至恒重时的质量。考虑供试品测量重复性后,测量模式为 $H'' = H + R_H$ 。其中, $H''(\%)$ 为考虑药材样品的测量重复性影响后的水分; $H(\%)$ 为药材样品的水分; $R_H(\%)$ 为药材样品的测量重复性影响的修正值(其值视为零,不确定度非零)。

按测量模型和测定方法,水分(烘干法)不确定度来源主要来自电子天平的测量分散性及测量重复性^[6-8]。每次称量(水分测定)均使用同一台天平,因此称量引起的标准不确定度即 $u(m_1) = u(m_2) = u(m_3)$,查试验所用电子天平检定证书和检定规程,0~50 g量程段的示值允差为 ± 0.0005 g,重复性最大允差为0.001 g,正常检验取2份平行样品的平均值计算,求得: $u_{\text{rel}}(m_1) = u_{\text{天平}}(m_1) / \overline{m}_1 = [u_{\text{允差}}^2(m_1) + u_{\text{重复性}}^2(m_1)]^{0.5} / 2.5153 = [(0.0005 / \sqrt{3})^2 + (0.001 / \sqrt{3})^2]^{0.5} / 2.5153 = 0.000257$; $u_{\text{rel}}(m_2) = u_{\text{天平}}(m_2) / \overline{m}_2 = 0.0006455 / 28.95265 = 0.0000223$; $u_{\text{rel}}(m_3) = u_{\text{天平}}(m_3) / \overline{m}_3 = 0.0006455 / 31.2964 = 0.0000206$ 。

为提高自由度(增强可靠性),取10份平行样品做A类标准不确定度的预评估,得 $H = [1 / (n - 1) \sum_{i=1}^n (H_i - \overline{H})^2]^{0.5} = 0.0233\%$,由于常规做水分测定时,只做2个平行样品,故 $u(R_H) = H / \sqrt{2} = 0.0233\% / \sqrt{2} = 0.0165\%$ 。

上述4项分量合成,即 $u_c(H'') = [u^2(H) + u^2(R_H)]^{0.5} = (0.000257^2 + 0.0000223^2 + 0.0000206^2 + 0.0165^2)^{0.5} = 0.0165\%$ 。

一般测量可取包含因子 $k = 2$,则扩展不确定度 $U = u_c(H'') \times 2 = 0.0165 \times 2 = 0.033\%$ 。本研究中药材样品水分测得值 H 为6.8%,则 $u_{\text{rel}}(H') = 0.033\% / 2 / 6.8\% =$

0.00243。综合可得,合成相对不确定度 $u_{\text{rel}}(S) = [u_{\text{rel}}^2(V) + u_{\text{rel}}^2(W') + u_{\text{rel}}^2(H')]^{0.5} = (0.00944^2 + 0.0150^2 + 0.00243^2)^{0.5} = 0.0179$ 。

膨胀度测定的标准不确定度 $u(S) = u_{\text{rel}}(S) \times S = 0.0179 \times 5.5 = 0.0984 \text{ mL/g}$ 。

2.3.4 膨胀度测量重复性的标准不确定度 $u(R_S)$

按正常检验,只做3份平行样品,以平均值作为报告检验结果。为提高自由度(增强可靠性),取10份平行样品做A类标准不确定度的预评估,得数据5.4,5.7,5.3,5.5,5.7,5.6,5.5,5.4,5.4,5.6,则 $s = [1 / (n - 1) \sum_{i=1}^n (S_i - \overline{S})^2]^{0.5} = 0.137 \text{ mL/g}$,由于正常做膨胀度检验时,只做3个平行样,故 $u(R_S) = s / \sqrt{3} = 0.137 / \sqrt{3} = 0.0791 \text{ mL/g}$ 。

2.3.5 计算合成标准不确定度的数值

$u_c(S') = [u^2(S) + u^2(R_S)]^{0.5} = (0.0984^2 + 0.0791^2)^{0.5} = 0.126 \text{ mL/g}$ 。

2.3.6 评定扩展不确定度

按JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》的规定,一般测量可取包含因子 $k = 2$,取1位有效数字,则扩展不确定度 $U = u_c(S') \times 2 = 0.126 \times 2 = 0.3 \text{ mL/g}$ 。

2.4 测量结果

各项不确定度汇总见表1。药材样品膨胀度的测量结果为 $(5.5 \pm 0.3) \text{ mL/g}$ 。

表1 测量不确定度分量表

Tab.1 Determination of uncertainty components

不确定度分量	不确定度来源	不确定度数值
$u(S)$	药材样品膨胀度测定的标准不确定度	0.0984 mL/g
$u_{\text{rel}}(V)$	膨胀体积的相对标准不确定度	0.00944
$u(V)$	膨胀体积的标准不确定度	0.0283 mL
$u_1(V)$	膨胀度测定管容量差异的标准不确定度	0.0108 mL
$u_2(V)$	温度影响的标准不确定度	0.00546 mL
$u_3(V)$	肉眼读数误差的标准不确定度	0.0256 mL
$u_{\text{rel}}(W')$	药材样品称样量的相对标准不确定度	0.0150
$u(W')$	药材样品称样量的标准不确定度	0.00913 g
$u_{\text{允差}}(W')$	天平允差标准不确定度	0.00289 g
$u_{\text{重复性}}(W')$	天平重复性标准不确定度	0.00866 g
$u_{\text{rel}}(H')$	水分测量的相对标准不确定度	0.00243
$u(R_S)$	测量重复性标准不确定度	0.0791 mL/g
$u_c(S')$	合成标准不确定度	0.126 mL/g
U	扩展不确定度	0.3 mL/g

3 讨论

3.1 评定不确定度的必要性

膨胀度测定主要应用于含黏液质、胶质和半纤维素类的天然药物,测定结果通常用于评价药材的优劣^[9-13],随着不确定度评定在药物分析领域应用越来越广泛^[14-19],在药品检验过程中,测试结果出现临界值时需进行符合性判定时,有必要开展测量不确定度评定,分析测定过程的不确定度来源,找出主要的不确定度分量,以便于正确解释测量结果,并在可接受的风险水平上作出合格与否的判定,从而降低实验室误判的风险。

3.2 不确定度来源分析

膨胀度测定前应先将膨胀度测定管进行校准。由于2020年版《中国药典》没有规定膨胀度测定管的准确度等级,且JJG196-2006《常用玻璃量器检定规程》(以下简称《规程》)中尚未收载膨胀度测定管的检定方法。本研究使用的膨胀度测定管是参照《规程》附录A中容量瓶检定方法A.3.1衡量法进行实验室内部校准(硼硅玻璃),选择与药材样品膨胀后的体积读数接近的数值作为校准点进行校准的,并建议在日常检验操作中尽可能使用校准体积接近的3支测定管,以减少膨胀度测定管之间的差异导致的不确定度。

水分测定为独立测试项目。膨胀度是以干燥品计算,评定时需同时进行水分测定的不确定度评定。采用烘干法测定水分,在不确定度分量中,测量的重复性占主导地位,而由天平产生的不确定度影响相对较小。

供试品粉碎粒度大小对测定结果会产生影响。范燕楠等^[20]在进行哈蟆油膨胀度检查时采用徒手撕碎过筛的方法将碎块直径控制在约3 mm;徐芊娟等^[21]认为每一个品种应视含黏液质多少分别规定取样量和粉碎程度。本研究中所用南葶苈子药材呈长圆形(略扁),长0.8~1.2 mm,宽约0.5 mm^[22],按标准规定直接取供试品测定,无需粉碎。若在其他品种(如菟丝子、胖大海等)建立膨胀度测定方法时,建议应考察供试品的粉碎程度,以减少对测量结果的影响。

3.3 对现行膨胀度测定法的建议

2020年版《中国药典》规定的膨胀度测定管刻度分度为0.2 mL,并在操作方法中要求“至连续2次读数的差异不超过0.1 mL为止”,从研究结果看,膨胀度测定管读数是较大的不确定度分量来源,为准确读取数值,建议将膨胀度测定管刻度分度改为0.1 mL,从而减少肉眼读数误差产生的不确定度。

膨胀度测定法项下要求的供试品取样量为“称定重量”,即需准确称取至所取重量的1%,而供试品称样量的不确定度随着样品取样量增加,精度较低的天平即可满足“称定重量”的要求,但由此产生的不确定度

则会增大,因此建议将“称定重量”(精确至0.01 g)修改为“精密称定”(精确至0.001 g),以减少供试品称量时产生的不确定度,提高测量结果的可靠性。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 231.
- [2] JJF1059.1-2012, 测量不确定度评定与表示[S].
- [3] CNAS-GL006, 化学分析中不确定度的评估指南[S].
- [4] 罗卓雅. 食品药品检测测量不确定度评定实例(二)[M]. 北京: 中国质检出版社, 2016: 126-132.
- [5] JJG196-2006, 常用玻璃量器检定规程[S].
- [6] 张舒. 钩藤水分测定的不确定度分析[J]. 广州化工, 2020, 48(16): 100-101.
- [7] 龙阳, 马新华, 侯翠丽, 等. 不确定度评定在油菜籽水分测定中的应用[J]. 粮油仓储科技通讯, 2013(6): 44-45.
- [8] 田树兴, 丁艳谱, 周崇富, 等. 红景天配方颗粒水分和浸出物测定的不确定度评定[J]. 海峡药学, 2021, 33(11): 92-96.
- [9] 税丕先, 张显, 孙琴. 哈蟆油与蟾蜍卵管的鉴别[J]. 天津药学, 2004, 16(2): 17-18.
- [10] 孙宝惠, 段吉平, 袁浩, 等. 对盐车前子膨胀度的质疑[J]. 中国药品标准, 2005, 6(6): 37-38.
- [11] 王东, 袁昌鲁, 林力. 车前子膨胀度的分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(6): 192.
- [12] 肖雷雷, 姜大成. 贮藏年限对哈蟆油质量影响的初步研究[J]. 吉林中医药, 2010, 30(4): 338-340.
- [13] 张嵩, 王维宁, 陈芳芳, 等. 哈蟆油与类似品和伪品的质量评价[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(12): 951-958.
- [14] 翁雪萍, 黄丹莹. GC法测定冰片中龙脑含量的不确定度的评定[J]. 现代测量与实验室管理, 2010, 18(5): 26-29.
- [15] 翁雪萍, 黄丹莹. HPLC法测定保健食品中芦荟苷含量不确定度的评定[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(6): 1193-1196.
- [16] 郑艳青, 刘向国, 冯德民, 等. 维C银翘颗粒中维生素C含量的测量不确定度分析[J]. 中国药业, 2013, 22(18): 58-59.
- [17] 杨柳, 武静文, 王道权, 等. 原子吸收分光光度法测定考核盲样中铅含量的测量不确定度评定[J]. 中国药业, 2021, 30(21): 66-69.
- [18] 肖亭, 王晨, 姚尚辰, 等. 测量结果不确定度评定在我国药物分析领域中的应用[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(11): 1851-1859.
- [19] 刘文杰, 井良义, 郝运伟, 等. 板蓝根颗粒需氧菌总数测定不确定度分析[J]. 中国药业, 2022, 31(20): 69-72.
- [20] 范燕楠, 卢江燕, 王春媛, 等. 哈蟆油膨胀度检查法的实验改进[J]. 中南药学, 2014, 12(2): 175-177.
- [21] 徐芊娟, 刘翔山. 影响几种中药膨胀度测定结果的因素[J]. 湖北中医杂志, 1999, 21(9): 427-428.
- [22] 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, 2020: 348.

(收稿日期: 2023-03-13; 修回日期: 2023-08-26)