

紫外分光光度法测定维生素 B₁₂ 注射液含量的不确定度分析

秦立¹, 陈诗慧², 范亚刚¹

(1. 云南省食品药品检验所, 云南昆明 650011; 2. 云南中医学院, 云南昆明 650500)

摘要: 目的 分析 UV 法测定维生素 B₁₂ 注射液含量的测量不确定度。方法 建立 UV 法测定含量的数学模型, 分析测量不确定度的来源并对各分量进行量化分析和评估, 合成标准测量不确定度, 给出扩展测量不确定度报告。结果 UV 法测定维生素 B₁₂ 注射液含量的扩展测量不确定度为 1.0%, 测量结果表示为 (98.4±1.0)%, $k=2$ 。结论 分析产生不确定度的主要来源, 为有效地控制该含量测定方法的准确性提供可靠的理论依据。

关键词: 不确定度; 紫外分光光度法; 维生素 B₁₂; 含量测定

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2013)06-0019-03

测量不确定度是合理地表征赋予被测量值分散性的非负参数^[1], 与测量误差有着本质区别。测量误差表示测量结果对真值的偏离, 是一个确定的差值, 在数轴上表示为一个点。测量不确定度表示被测量值的分散性, 以分布区间的半宽度表示, 在数轴上表示为一个区间。在相同的条件下进行测量时, 合理赋予被测量的任何值, 均具有相同的测量不确定度, 即测量不确定度仅与测量方法有关^[2]。

维生素 B₁₂ 注射液是《中国药典》2010 年版二部收载品种^[3], 为抗贫血药。维生素 B₁₂ 参与体内甲基转换及叶酸代谢, 主要用于巨幼细胞性贫血, 也可用于神经炎的辅助治疗。维生素 B₁₂ 注射液的含量测定方法为 UV 吸收系数法。本文根据《测量不确定度评定与表示》(JJF1059.1-2012) 及有关规定^[4-5]并参考相关文献^[6-8], 对 UV 法测定维生素 B₁₂ 注射液含量的测量不确定度进行评估, 分析影响不确定度的各因素, 为客观评价维生素 B₁₂ 注射液的含量测定结果提供科学依据。

1 仪器与试药

UV-2550 紫外-可见分光光度计, sartorius CAP224S 型电子分析天平, A 级 100mL 容量瓶、A 级 5mL 单标线移液管, 维生素 B₁₂ 注射液(昆明制药集团股份有限公司, 批号 13BP11); 水为超纯水。

2 测定方法

避光操作。精密量取本品 (规格 1mL:0.5mg)

5mL, 置 100mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀。照紫外-可见分光光度法, 在 361nm 的波长处测定吸光度。按 C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P 的吸收系数 ($E_{1cm}^{1\%}$) 为 207 计算, 即得。

3 测量不确定度分析

3.1 数学模型

根据测定原理和过程, 样品的标示百分含量计算公式为:

$$X = \frac{A \times V_2}{V_1 \times E_{1cm}^{1\%} \times 100 \times \text{标示量}} \times 100\%$$

X : 供试品中维生素 B₁₂ (C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P) 的标示百分含量; A : 供试品的吸光度值; V_1 : 供试品取样体积 (mL); V_2 : 供试品定容体积 (mL); $E_{1cm}^{1\%}$: 维生素 B₁₂ 在 361nm 的吸收系数; 标示量: 1mL:0.5mg

3.2 识别测量不确定度的来源

有关测量不确定度的来源见图 1。

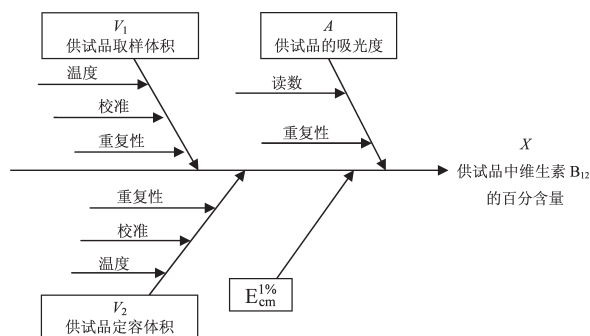


图 1 测量不确定度分量因果图

收稿日期: 2013-10-24 修回日期: 2013-11-11

作者简介: 秦立(1973~), 女, 四川成都人, 副主任药师, 研究方向为药物质量分析。

3.3 测量不确定度分量的量化分析

3.3.1 供试品溶液稀释的相对标准不确定度 $u_{rel}(V)$ 分别来源于 V_1 和 V_2

(1) 供试品溶液取样量的相对标准不确定度 $u_{rel}(V_1)$

主要有 3 个不确定度来源:①校准:属 B 类不确定度。查阅《常用玻璃量器检定规程》JJG-2006^[9],A 级 5mL 单标线移液管的允差为 $\pm 0.015\text{mL}$,按三角分布计算, $u(V_{11})=\frac{0.015}{\sqrt{6}}=6.12\times 10^{-3}$ 。②重复

性:属 A 类不确定度。将同一 5mL 单标线移液管吸取 5mL 水放入量瓶,称量,重复操作 10 次,用贝塞尔公式法评定^[1],得到标准偏差为 0.0185mL,

则不确定度 $u(V_{12})=\frac{0.0185}{\sqrt{10}}=5.85\times 10^{-3}\text{mL}$ 。③温

度:属 B 类不确定度。5mL 单标线移液管在 20℃ 校准,实验室环境温度为 23.4℃,水的体积膨胀系数为 2.1×10^{-4} ,按矩形分布计算,则不确定度 $u(V_{13})=\frac{2.1\times 10^{-4}\times 5\times (23.4-20)}{\sqrt{3}}=2.06\times 10^{-3}\text{mL}$ 。

由以上 3 项合成得到

$$u(V_1)=\sqrt{(6.12\times 10^{-3})^2+(5.86\times 10^{-3})^2+(2.06\times 10^{-3})^2}=8.72\times 10^{-3}\text{mL}, \text{则 } u_{rel}(V_1)=\frac{8.72\times 10^{-3}}{5}=1.74\times 10^{-3}。$$

(2) 供试品溶液定容的相对标准不确定度 $u_{rel}(V_2)$

①校准:属 B 类不确定度。查阅《常用玻璃量器检定规程》JJG-2006^[9],100mL A 级量瓶的容量允差为 $\pm 0.10\text{mL}$,按三角分布计算, $u(V_{21})=\frac{0.10}{\sqrt{6}}=4.08\times 10^{-2}$ 。

②重复性:属 A 类不确定度。将 100mL 量瓶加水至刻度,称量,重复操作 10 次,用贝塞尔公式法评定,得到标准偏差为 0.0485mL,则不确定度 $u(V_{22})=\frac{0.0485}{\sqrt{10}}=1.53\times 10^{-2}\text{mL}$ 。③温度:属

B 类不确定度。100mL 量瓶在 20℃ 下校准,实验室环境温度为 23.4℃,水的体积膨胀系数为 2.1×10^{-4} ,按矩形分布计算,则不确定度 $u(V_{23})=\frac{2.1\times 10^{-4}\times 100\times (23.4-20)}{\sqrt{3}}=4.12\times 10^{-2}\text{mL}$ 。

由以上 3 项合成得到

$$u(V_2)=\sqrt{(4.08\times 10^{-2})^2+(1.53\times 10^{-2})^2+(4.12\times 10^{-2})^2}=6.00\times 10^{-2}\text{mL}, \text{则 } u_{rel}(V_2)=\frac{6.00\times 10^{-2}}{100}=6.00\times 10^{-4}。$$

由 $u_{rel}(V_1)$ 、 $u_{rel}(V_2)$ 可计算出:

$$u_{rel}(V)=\sqrt{u_{rel}^2(V_1)+u_{rel}^2(V_2)}=1.84\times 10^{-3}$$

3.3.2 吸光度测定的相对标准不确定度 $u_{rel}(A)$

主要来源于 2 部分:①紫外分光光度计透射比示值误差的不确定度 $u(A_1)$:属于 B 类不确定度。仪器检定证书给出的透射比示值误差为 $\pm 0.4\%$,按矩形分布计算, $u(A_1)=\frac{0.4\%}{\sqrt{3}}=2.31\times 10^{-3}$ 。吸光度读数

为 0.509,则 $u_{rel}(A_1)=\frac{2.31\times 10^{-3}}{0.509}=4.54\times 10^{-3}$ 。②紫外

分光光度计测量重复性的不确定度 $u(A_2)$:属于 A 类不确定度。测定同一供试品溶液的吸光度,重复 10 次,用贝塞尔公式法评定,得到吸光度的标准偏差为 9.00×10^{-4} ,平均吸光度为 0.510,则不确定度 $u(A_2)=\frac{9.00\times 10^{-4}}{\sqrt{10}}=2.85\times 10^{-4}$,相对标准不确定度

$$u_{rel}(A_2)=\frac{2.85\times 10^{-4}}{0.510}=5.58\times 10^{-4}。$$

由 $u_{rel}(A_1)$ 、 $u_{rel}(A_2)$ 可计算出: $u_{rel}(A)=\sqrt{u_{rel}^2(A_1)+u_{rel}^2(A_2)}=4.57\times 10^{-3}$

3.3.3 吸收系数($E_{cm}^{1\%}$)的相对标准不确定度 $u_{rel}(E_{cm}^{1\%})$

吸收系数($E_{cm}^{1\%}$)是常数,其不确定度视为 0。

3.4 计算合成相对标准不确定度 $u_{c,rel}$

不确定度各分量的分析结果见表 1。

表 1 相对标准不确定度一览表

分量	不确定度来源	分布	类型	相对标准不确定度
$u_{rel}(V)$	校准	三角	B 类	1.84×10^{-3}
	重复性	正态	A 类	
	温度	矩形	B 类	
$u_{rel}(A)$	透射比示值	矩形	B 类	4.57×10^{-3}
	测量重复性	正态	A 类	
$u_{rel}(E_{cm}^{1\%})$	/	/	/	0

合成相对标准不确定度

$$u_{c,rel}=\sqrt{u_{rel}^2(V)+u_{rel}^2(A)}=4.93\times 10^{-3}$$

实验测得维生素 B₁₂ 的百分含量 $X=98.4\%$,则合成标准不确定度为:

$$u_c(X)=u_{c,rel}\times X=4.93\times 10^{-3}\times 98.4\%=0.48\%$$

3.5 给出扩展不确定度 U

测量结果符合正态分布,取置信概率为95%,包含因子 $k=2$,则:

$$U=ku_c(X)=2\times0.48\%=1.0\%$$

3.6 测量不确定度报告

UV法测定维生素B₁₂注射液的含量为 $X=98.4\%\pm1.0\%$, $k=2$ 。

4 讨论

不确定度的评定是一份完整的药品检验报告书应包括的内容,任何检验方法都不可避免会引入不确定度。不确定度对检测结果临界值的判断和检验方法的确认具有重要意义。由上述不确定度的分析评定结果可知,UV法测定维生素B₁₂注射液含量的不确定度主要来源于紫外分光光度计,其次是小容量量器即5mL移液管。因此在日常检验工作中,定期做好仪器的计量检定和期间核查工作,使仪器的技术性能处于良好状态是保证测定结果准确的重要手段。此外应该合理的使用量取与定容的体积,避免使用过小体积的移液管与容量瓶,降低稀释过程引入的不确定度对测定结果的影响。

参考文献

- [1] 全国法制计量管理计量技术委员会. JJF1059. 1-2012. 测量不确定度评定与表示[S]. 北京:中国质检出版社,2013.
- [2] 倪育才. 实用测量不确定度评定[M]. 北京:中国计量出版社,2004.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010.
- [4] 全国法制计量管理计量技术委员会. JJF1135-2005. 化学分析测量不确定度评定[S]. 北京:中国计量出版社,2005.
- [5] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL06. 化学分析中不确定度的评估指南[S]. 北京:中国计量出版社,2006.
- [6] 袁国文,金文丽,隆旭红,等. 紫外-可见分光光度法测定盐酸雷尼替丁胶囊含量的不确定度评定[J]. 药物分析杂志,2011,31(3):579.
- [7] 刘学杰,姜慧祯,林娜. 茵栀黄注射液含量测定的不确定度分析[J]. 西北药学杂志,2010,25(1):13.
- [8] 腾南燕,刘向红,桑彤. 紫外吸收系数法测定小儿氨酚黄那敏颗粒含量的不确定度评定[J]. 中国药师,2011,14(3):426.
- [9] 全国流量容量计量技术委员会. JJG196-2006. 常用玻璃量器检定规程[S]. 北京:中国计量出版社,2006.

(编辑:李平)

Evaluation of Uncertainty for the Content Determination of Vitamin B₁₂ Injection by UV

QIN Li¹, CHEN Shi-hui², FAN Ya-gang¹

(1. Yunnan Institute for Food and Drug Control, Kunming Yunnan 650011, China;

2. Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** To evaluate the measurement uncertainty for the content determination of Vitamin B₁₂ injection by UV. **Methods** The model of content determination by UV was established. The uncertainty sources had been analyzed. Each active component of uncertainty was calculated, and the extended uncertainty was obtained. **Results** The extended uncertainty for the UV determination of Vitamin B₁₂ was 1.0%, the result of content determination was $(98.4\pm1.0)\%$, $k=2$. **Conclusion** The main sources of uncertainty were analyzed, which provided a reliable theoretical basis for effectively controlling of this method.

KEY WORDS: uncertainty; UV; Vitamin B₁₂ injection; content determination