

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2024.02.08

氟苯尼考可溶性粉含量测定的不确定度分析

翟宏旭, 王晓晨, 刘艳*

(辽宁国托检测有限公司, 辽宁大连 116000)

[收稿日期] 2023-03-15 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2024) 02-0050-08 [中图分类号] S859.83

[摘要] 为分析评定氟苯尼考可溶性粉含量测定的不确定度, 通过高效液相色谱(HPLC)法进行测定, 选用 C₁₈ 色谱柱, 乙腈-水-冰醋酸(100:197:3)为流动相, 224 nm 波长下检测, 并建立 HPLC 法测定氟苯尼考可溶性粉含量的数学模型。分析各因素引入的标准不确定度, 评定置信概率 95% 时测定结果的扩展不确定度, 给出不确定度评定报告。测定结果表明, 含量测定的不确定度主要源于称量、溶液配制及峰面积测定过程。含量测定的标准不确定度为 1.16%, 扩展不确定度为 2.32%。含量测定结果表示为 $(97.3 \pm 2.32)\%$, 包含因子 $k=2$ 。该方法适用于 HPLC 法测定氟苯尼考可溶性粉含量的不确定度评定, 可为氟苯尼考可溶性粉的质量控制和客观评价提供参考。

[关键词] 不确定度; 氟苯尼考可溶性粉; 高效液相色谱法

Evaluate the Uncertainty of the Content Determination of Florfenicol Soluble Powder

ZHAI Hong-xu, WANG Xiao-chen, LIU Yan*

(Liaoning GuoTuo Testing Co., LTD Dalian Liaoning 116000, China)

Corresponding author: LIU Yan, E-mail: 40554368@qq.com

Abstract: In order to analyze and evaluate the uncertainty in the determination of florfenicol soluble powder, high performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the content of florfenicol soluble powder, C₁₈ column was selected, Acetonitrile - Water - Glacial Acetic acid (100:197:3) was used as the mobile phase, and the detection wavelength was 224 nm. At the same time, a mathematical model for the determination of florfenicol soluble powder by HPLC was established. Analyze the standard uncertainty components introduced by various factors, evaluate the expanded uncertainty of the measurement results in the 95% confidence interval, and give the uncertainty evaluation result report. The results show that the uncertainty of content determination mainly comes from weighing, solution preparation and peak area determination. The standard uncertainty of content determination is 1.16% and the extended uncertainty is 2.32%. The content determination result is $(97.3 \pm 2.32)\%$, including factor $k=2$. This method is suitable for the uncertainty evaluation of the content determination

作者简介: 翟宏旭, 工程师, 从事农药、兽药分析测定工作。

通讯作者: 刘艳, E-mail: 405543681@qq.com

of florfenicol soluble powder by HPLC, and can provide reference for the quality control and objective evaluation of florfenicol soluble powder.

Key words: uncertainty; florfenicol soluble powder; high performance liquid chromatography

氟苯尼考(Florfenicol), 又称氟洛芬、氟甲砜霉素。作为一种兽医专用的酰胺醇类抗菌药物^[1], 具有高效、低毒、抗菌谱广、体内吸收性好等特点, 对大多数酰胺醇类药物、土霉素等耐药的菌株仍然敏感, 且抗菌活性优于其他酰胺醇类药物^[2]。主要用于治疗敏感细菌引起的猪、鸡、鱼的细菌性疾病及支原体感染, 对呼吸系统感染和肠道感染的治疗具有显著效果, 在兽医临床具有广阔应用前景^[3]。

质量和有效性是研发及评价一款兽药产品的基本准则, 而质量控制是保证产品安全有效的前提基础。在兽药检验中, 含量测定是判断兽药质量是否合格及安全有效的主要依据, 其检测过程涉及的每一环节都会引起误差产生, 从而影响检测结果的准确性^[4]。能够正确的表达含有误差的检测结果并对结果的可信度作出评价, 可提高检测结果及结论的准确性、科学性。试验结果和误差分析采用测量不确定度表示, 可克服传统误差理论的弊端, 更全面、科学地反映检测结果可信度^[5-6]。

测量不确定度是根据所获信息, 表征赋予被测量值分散性的非负参数, 由若干分量组成, 其大小说明赋予被测量的值的可信程度^[7]。测量不确定度在检测结果临界值的判断、检测方法的确认和测量结果与国际接轨等方面具有重要意义。本试验根据 CNAS - G106: 2006《化学分析中不确定度的评估指南》, 参考其他相关规定, 查阅文献, 对氟苯尼考可溶性粉含量测定(HPLC法)的不确定度进行分析评价, 探讨其在兽用药品质量检验中的应用, 提高检验结论的准确性和科学性^[8-10]。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 高效液相色谱仪(LC-40); 电子天平(FA2004); 100 mL 单标线容量瓶(A级); 50 mL 单标线容量瓶(A级); 10 mL 单标线容量瓶(A级); 5 mL 单标线移液管(A级)。

乙腈(色谱纯, 欧普森色谱试剂); 冰醋酸(天

津市大茂化学试剂厂); 水(一级水); 氟苯尼考对照品(99.1%, 批号: K0301703, 中国兽医药品监察所), 氟苯尼考可溶性粉(山东鲁抗舍里乐药业有限公司, 规格 30%)。

1.2 色谱条件 色谱柱: Agilent ZORBAX SB - C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温: 30 °C; 检测器: 紫外检测器; 检测波长: 224 nm; 流动相: 乙腈 - 水 - 冰醋酸(100: 197: 3); 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL。

1.3 溶液配制 对照品溶液: 称取 10 mg 氟苯尼考对照品, 置于 100 mL 容量瓶, 加入适量的流动相使其溶解, 定容至刻度, 摇匀, 制得浓度为 100 μg/mL 的标准贮备液。精密量取 5 mL 标准贮备液, 置于 10 mL 容量瓶, 加流动相定量稀释至刻度, 制成每 1 mL 中约含氟苯尼考 50 μg 的标准使用液。

供试品溶液: 称取适量氟苯尼考可溶性粉(约相当于氟苯尼考 25 mg), 置于 50 mL 容量瓶, 加入适量流动相使其溶解, 定容至刻度, 摇匀, 经 0.22 μm 滤膜过滤; 精密量取 5 mL 续滤液, 置于 50 mL 容量瓶, 加流动相定量稀释至刻度, 制成每 1 mL 中约含氟苯尼考 50 μg 的供试品溶液。

1.4 数学模型 本试验数学模型为: $P_{(标示量\%)} = \frac{A_X \times W_R \times P_R \times f_X}{A_R \times W_X \times f_R \times S} \times 100\%$ 。

P : 供试品中氟苯尼考含量占标示量的比(%); A_X : 供试品溶液中氟苯尼考的峰面积(μV·s); A_R : 对照品溶液中氟苯尼考的对照峰面积(μV·s); W_R : 称取对照品的质量(g); W_X : 称取供试品的质量(g); P_R : 对照品纯度(99.1%); f_R : 对照品稀释倍数; f_X : 试品稀释倍数; S : 标示量(供试品规格: 30%)。

1.5 测定步骤 按照上述色谱条件, 设置仪器参数, 对供试品溶液和对照品溶液进行分析, 外标法定量, 根据公式计算氟苯尼考含量占标示量的比(图 1)。

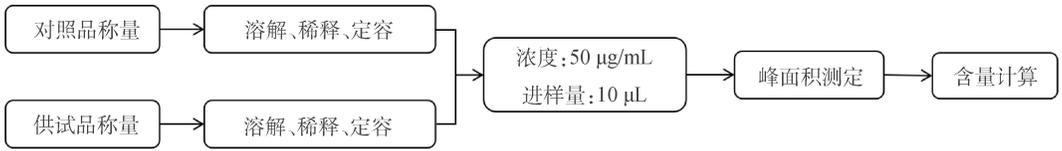


图 1 氟苯尼考可溶性粉含量测定步骤

Fig 1 The content determination steps of Florfenicol Soluble Powder

2 结果与分析

2.1 测量不确定度的来源分析 试验过程的每一环节如所用的试剂、对照品、称量、定容、人员操作、仪器设备、环境等均可引入不确定度。

根据试验测定步骤,结合数学模型,分析得出本试验测定过程中的不确定度来源:对照品纯

度引起的不确定度(P_R);对照品、供试品称量过程引起的不确定度(W);对照品、供试品溶液稀释倍数引起的不确定度(f);对照品、供试品峰面积测定过程引起的不确定度(A)。供试品规格 $S(30\%)$ 为标识量,无需考虑其不确定度(图 2)。

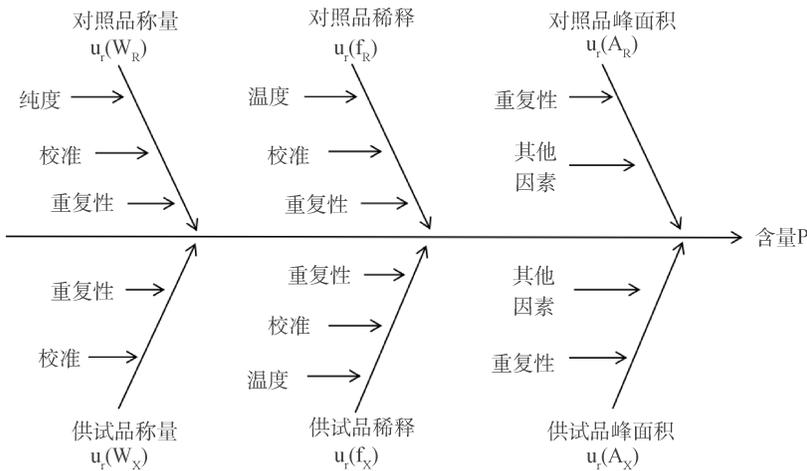


图 2 不确定度来源分析

Fig 2 Analysis of uncertainty sources

2.2 不确定度分量的量化

2.2.1 对照品纯度引入的测量不确定度 本试验所用的氟苯尼考对照品购买自中国兽药药品监察所,其纯度为 99.1%,未标明不确定度。结合文献参考^[11],假定其分散区间半宽度为 $\alpha = 0.25\%$,按照矩形均匀分布计算,包含因子为 $\sqrt{3}$ 。

对照品纯度的标准不确定度为: $u(P_R) = \frac{0.25\%}{\sqrt{3}} = 1.44 \times 10^{-1}\%$ 。

对照品纯度的相对标准不确定度为: $u_r(P_R) = \frac{1.44 \times 10^{-1}\%}{99.1\%} = 1.50 \times 10^{-3}$ 。

2.2.2 称量过程引入的测量不确定度 称量过程采用减重法,称量对照品 16.5 mg,供试品 101.5 mg。因对照品与供试品使用同一天平称量,天平称量范围内产生的系统漂移可相互抵消,由天平灵敏度引起的不确定度忽略不计,其标准不确定度由天平校准误差和称量的重复性引起。

一次完整的称量过程包括 1 次皮重及 1 次毛重的称量,两次称量值均为独立观测结果,无线性相关性,因此天平校准的示值误差应计算两次。根据天平检定证书,天平校准误差为 ± 0.2 mg,重复性误差为 ± 0.1 mg,按照矩形均匀分布计算,包含因子为 $\sqrt{3}$ 。

天平校准的标准不确定度为： $u(W)_1 = \frac{0.2}{\sqrt{3}} \times$

$$\sqrt{2} = 1.63 \times 10^{-1} \text{mg}。$$

称量重复性的标准不确定度为： $u(W)_2 = \frac{0.1}{\sqrt{3}} =$

$$5.77 \times 10^{-2} \text{mg}。$$

对照品称量的相对标准不确定度为：

$$u_r(W_R) = \sqrt{\left[\frac{u(W)_1}{W_R}\right]^2 + \left[\frac{u(W)_2}{W_R}\right]^2} =$$

$$\sqrt{\left(\frac{1.63 \times 10^{-1}}{16.5}\right)^2 + \left(\frac{5.77 \times 10^{-2}}{16.5}\right)^2} = 1.05 \times 10^{-2}。$$

供试品称量的相对标准不确定度为：

$$u_r(W_X) = \sqrt{\left[\frac{u(W)_1}{W_X}\right]^2 + \left[\frac{u(W)_2}{W_X}\right]^2} =$$

$$\sqrt{\left(\frac{1.63 \times 10^{-1}}{101.5}\right)^2 + \left(\frac{5.77 \times 10^{-2}}{101.5}\right)^2} = 1.70 \times 10^{-3}。$$

2.2.3 稀释倍数引入的测量不确定度 稀释倍数的测量不确定度主要来源于溶液配制、稀释过程中使用的单标线移液管、单标线容量瓶的不确定度，其标准不确定度由玻璃量具校准、重复读数及温度体积偏差的不确定度引起。

在溶液配制及稀释过程中使用到的玻璃量具有 100、50、10 mL 单标线容量瓶，5 mL 单标线移液管。

根据检定校准证书，20 ℃ 校准温度下，A 级 100、50、10 mL 容量瓶的允许误差分别为 ± 0.1、

± 0.05、± 0.02 mL，A 级 5 mL 移液管的允许误差为 ± 0.015 mL，按照三角均匀分布计算，包含因子为 $\sqrt{6}$ ^[12]。

100 mL 容量瓶校准的标准不确定度为：

$$u(V_1)_1 = \frac{0.1}{\sqrt{6}} = 4.08 \times 10^{-2} \text{mL}。$$

50 mL 容量瓶校准的标准不确定度为：

$$u(V_2)_1 = \frac{0.05}{\sqrt{6}} = 2.04 \times 10^{-2} \text{mL}。$$

10 mL 容量瓶校准的标准不确定度为：

$$u(V_3)_1 = \frac{0.02}{\sqrt{6}} = 8.20 \times 10^{-3} \text{mL}。$$

5 mL 移液管校准的标准不确定度为：

$$u(V_4)_1 = \frac{0.015}{\sqrt{6}} = 6.10 \times 10^{-3} \text{mL}。$$

容量瓶定容及移液管移取时，因体积读数引入的不确定度可根据重复性试验结果进行评价。重复测定溶剂定容至刻度线后容量瓶的重量，根据质量密度公式，得出重复测定的体积结果。在试验操作中，容量瓶会盖上磨口瓶塞称重，故与操作人员对刻度读数判断产生的误差相比，溶剂挥发性影响产生的误差可忽略不计。溶液配制、稀释所需溶剂组成多样，故用水代替溶剂，同一个容量瓶经水定容至刻度或经 5 mL 移液管移取后称重，测定 10 次重复，按照水的密度为 1.0 g/mL 计算体积。测定结果如表 1、表 2 所示。

表 1 容量瓶重复量取测定结果 (n = 10)

Tab 1 The results of repeated measuring of volumetric flask (n = 10)

量取次数 The number of measuring	100 mL 容量瓶 V ₁ /mL Volume/mL	50 mL 容量瓶 V ₂ /mL Volume/mL	10 mL 容量瓶 V ₃ /mL Volume/mL
1	100.0132	49.9859	9.9887
2	99.9974	49.9766	9.9814
3	100.0489	49.9890	9.9555
4	99.9824	50.0059	9.9618
5	99.9777	50.0061	9.9634
6	99.9988	49.9958	10.0012
7	100.0017	49.9782	9.9771
8	99.9984	49.9861	9.9641
9	99.9958	49.9923	9.9890
10	100.0201	50.0189	9.9914

表 2 5 mL 移液管重复量取测定结果 ($n=10$)Tab 2 The results of repeated measuring of 5 mL pipette ($n=10$)

	次数 number									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
体积/mL Volume/mL	4.9852	5.0025	4.9841	4.9814	4.9867	4.9778	4.9845	4.9837	5.0008	4.9942

读数重复性根据 A 类不确定度评定方法进行评价,标准偏差可直接用作标准不确定度。

$$100 \text{ mL 容量瓶: } \overline{V}_{1i} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V_{1i} = 100.0034 \text{ mL}。$$

重复读数的标准不确定度为: $u(V_1)_2 = S$

$$(V_{1i}) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (V_{1i} - \overline{V}_1)^2} = 1.92 \times 10^{-2} \text{ mL}。$$

$$50 \text{ mL 容量瓶: } \overline{V}_{2i} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V_{2i} = 49.9935 \text{ mL}。$$

重复读数的标准不确定度为: $u(V_2)_2 = S$

$$(V_{2i}) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (V_{2i} - \overline{V}_2)^2} = 1.27 \times 10^{-2} \text{ mL}。$$

$$10 \text{ mL 容量瓶: } \overline{V}_{3i} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V_{3i} = 9.9754 \text{ mL}。$$

重复读数的标准不确定度为: $u(V_3)_2 = S$

$$(V_{3i}) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (V_{3i} - \overline{V}_3)^2} = 1.46 \times 10^{-2} \text{ mL}。$$

$$5 \text{ mL 移液管: } \overline{V}_{4i} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V_{4i} = 4.9881 \text{ mL}。$$

重复读数的标准不确定度为: $u(V_4)_2 = S$

$$(V_{4i}) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (V_{4i} - \overline{V}_4)^2} = 7.80 \times 10^{-3} \text{ mL}。$$

温度体积偏差的不确定度按照 B 类不确定度进行评定。乙腈的体积膨胀系数为 1.37×10^{-3} , 水的体积膨胀系数为 2.08×10^{-4} , 冰醋酸的体积膨胀系数为 1.10×10^{-3} 。按照流动相条件乙腈-水-冰醋酸 = 100:197:3 进行计算, 20 °C 时, 流动相的体积膨胀系数为 6.04×10^{-4} 。

不同温度下, 液体的体积膨胀系数不同; 玻璃量具的校准温度是 20 °C, 实验室环境温度大多为 25 °C; 玻璃量具校准温度在 (20 ± 5) °C 范围内变化近似矩形分布, 包含因子为 $\sqrt{3}$ 。

100 mL 容量瓶温度的标准不确定度为:

$$u(V_1)_3 = \frac{100 \times 6.04 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} \times 5 = 1.74 \times 10^{-1} \text{ mL}。$$

50 mL 容量瓶温度的标准不确定度为:

$$u(V_2)_3 = \frac{50 \times 6.04 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} \times 5 = 8.72 \times 10^{-2} \text{ mL}。$$

10 mL 容量瓶温度的标准不确定度为:

$$u(V_3)_3 = \frac{10 \times 6.04 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} \times 5 = 1.74 \times 10^{-2} \text{ mL}。$$

5 mL 移液管温度的标准不确定度为:

$$u(V_4)_3 = \frac{5 \times 6.04 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} \times 5 = 8.70 \times 10^{-3} \text{ mL}。$$

根据溶液配制及稀释过程中玻璃量具的使用情况, 对照品及供试品溶液因 5 ml 单标线移液管温度引起的体积偏差可抵消, 故由此引入的不确定度忽略不计。

将上述分量进行合成得 100 mL 容量瓶的标准不确定度为:

$$\begin{aligned} u(V_1) &= \sqrt{[u(V_1)_1]^2 + [u(V_1)_2]^2 + [u(V_1)_3]^2} \\ &= \sqrt{(4.08 \times 10^{-2})^2 + (1.92 \times 10^{-2})^2 + (1.74 \times 10^{-1})^2} \\ &= 1.80 \times 10^{-1} \text{ mL}。 \end{aligned}$$

50 mL 容量瓶的标准不确定度为:

$$\begin{aligned} u(V_2) &= \sqrt{[u(V_2)_1]^2 + [u(V_2)_2]^2 + [u(V_2)_3]^2} \\ &= \sqrt{(2.04 \times 10^{-2})^2 + (1.27 \times 10^{-2})^2 + (8.72 \times 10^{-2})^2} \\ &= 9.05 \times 10^{-2} \text{ mL}。 \end{aligned}$$

10 mL 容量瓶的标准不确定度为:

$$\begin{aligned} u(V_3) &= \sqrt{[u(V_3)_1]^2 + [u(V_3)_2]^2 + [u(V_3)_3]^2} \\ &= \sqrt{(8.20 \times 10^{-3})^2 + (1.46 \times 10^{-2})^2 + (1.74 \times 10^{-2})^2} \\ &= 2.41 \times 10^{-2} \text{ mL}。 \end{aligned}$$

5 mL 移液管的标准不确定度为:

$$\begin{aligned} u(V_4) &= \sqrt{[u(V_4)_1]^2 + [u(V_4)_2]^2} = \\ &= \sqrt{(6.10 \times 10^{-3})^2 + (7.80 \times 10^{-3})^2} \\ &= 9.90 \times 10^{-3} \text{ mL}。 \end{aligned}$$

对照品稀释倍数的相对标准不确定度为:

$$u_r(f_R) = \sqrt{\left[\frac{u(V_1)}{V_1}\right]^2 + \left[\frac{u(V_3)}{V_3}\right]^2 + \left[\frac{u(V_4)}{V_4}\right]^2}$$

$$= \sqrt{\left(\frac{1.80 \times 10^{-1}}{100}\right)^2 + \left(\frac{2.41 \times 10^{-2}}{10}\right)^2 + \left(\frac{9.90 \times 10^{-3}}{5}\right)^2}$$

$$= 3.60 \times 10^{-3}。$$

供试品稀释倍数的相对标准不确定度为:

$$u_r(f_X) = \sqrt{\left[\frac{u(V_2)}{V_2}\right]^2 \times 2 + \left[\frac{u(V_4)}{V_4}\right]^2}$$

$$= \sqrt{\left(\frac{9.05 \times 10^{-2}}{50}\right)^2 \times 2 + \left(\frac{9.90 \times 10^{-3}}{5}\right)^2}$$

$$= 3.20 \times 10^{-3}。$$

2.2.4 峰面积测定过程引入的测量不确定度 峰面积测定的不确定度来源主要有仪器稳定性(泵流速、检测器响应等)、进样重复性、分离重复性等。含量测定试验中被检测浓度远远高于检测限,因此峰面积测定过程中只考虑由重复性引起的不确定度,忽略由仪器等其他因素引入的不确定度,属于 A 类不确定度。

分别取对照品和供试品溶液,依据 1.2 中色谱条件,连续进样 10 次,测定峰面积,应用贝塞尔公式法计算,以峰面积标准偏差表示峰面积测定重复性标准不确定度。

$$\text{对照品峰面积: } \overline{A_R} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n A_{R_i} = 1388473 \mu V \cdot s。$$

$$\text{标准不确定度为: } u(A_R) = S(A_{R_i}) =$$

$$\sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (A_{R_i} - \overline{A_R})^2} = 2251.0287 \mu V \cdot s。$$

$$\text{供试品峰面积: } \overline{A_X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n A_{X_i} = 1006783.80$$

$$u_{r,c} = \sqrt{u_r(P_R)^2 + u_r(W_R)^2 + u_r(W_X)^2 + u_r(f_R)^2 + u_r(f_X)^2 + u_r(A)^2}$$

$$= \sqrt{(1.50 \times 10^{-3})^2 + (1.05 \times 10^{-2})^2 + (1.70 \times 10^{-3})^2 + (3.60 \times 10^{-3})^2 + (3.20 \times 10^{-3})^2 + (2.00 \times 10^{-3})^2}$$

$$= 1.19 \times 10^{-2}。$$

根据计算公式,测得氟苯尼考可溶性粉中氟苯尼考含量为:

$$P_{(\text{标示量}\%)} = \frac{A_X \times W_R \times P_R \times f_X}{A_R \times W_X \times f_R \times S} \times 100\%$$

$$= \frac{1006784 \times 0.0165 \times 99.1\% \times 500}{1388473 \times 0.1015 \times 200 \times 30\%} \times 100\%$$

$\mu V \cdot s。$

$$\text{标准不确定度为: } u(A_X) = S(A_{X_i}) =$$

$$\sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (A_{X_i} - \overline{A_X})^2} = 1109.3988 \mu V \cdot s。$$

峰面积测定的相对标准不确定度为:

$$u_r(A) = \sqrt{\left[\frac{u(A_R)}{A_R}\right]^2 + \left[\frac{u(A_X)}{A_X}\right]^2} =$$

$$\sqrt{\left(\frac{2251.0287}{1388473}\right)^2 + \left(\frac{1109.3988}{1006783.80}\right)^2}$$

$$= 2.00 \times 10^{-3}。$$

2.2.5 计算合成标准不确定度 合成标准不确定度 U_c 是由测量模型中各输入量的测量标准不确定度获得的输出量的测量标准不确定度,该值是将所有测量不确定度分量合成为总体方差的正平方根。将上述所有不确定度分量汇总,具体信息见表 3。

表 3 不确定度分量表

Tab 3 Component Table of Uncertainty		
不确定度分量 Uncertainty component	不确定度来源 Sources of uncertainty	相对标准不确定度 u_r Relative standard uncertainty
P_R	对照品纯度 (%)	1.50×10^{-3}
W_R	对照品称量 (mg)	1.05×10^{-2}
W_X	供试品称量 (mg)	1.70×10^{-3}
f_R	对照品稀释 (mL)	3.60×10^{-3}
f_X	供试品稀释 (mL)	3.20×10^{-3}
A	峰面积测定 ($\mu V \cdot s$)	2.00×10^{-3}

对各个分量的相对标准不确定度进行合成,得到氟苯尼考可溶性粉含量测定合成相对标准不确定度:

$= 97.3\%$ 。故氟苯尼考可溶性粉含量测定合成标准不确定度为:

$$u_c = u_{r,c} \times P_{(\text{标示量}\%)} = 0.0119 \times 97.3\% = 1.16\%。$$

2.2.6 扩展不确定度与测量不确定度报告 扩展不确定度分为 U 和 U_p 两种。在给出测量结果时,一般报告扩展不确定度 U , U 为合成标准不确定度

U_c 与包含因子 k 的乘积,通常测量中包含因子 k 取 2,对应的置信概率为 95%。

氟苯尼考可溶性粉含量测定的扩展不确定度为: $U = u_c \times k = 0.0116 \times 2 = 0.0232$,测量结果使用测定值 \pm 扩展不确定度来表示^[13]。故氟苯尼考可溶性粉含量测定结果最终可表示为: $P = (97.3 \pm 2.32)\%$, $k = 2$ 。

3 讨论

通过评定测量过程中的不确定度,掌握测量过程中影响结果准确度的关键因素,可以为检测方法 & 检测结果的准确性、可靠性提供参考。引入测量不确定度后,检测结果不再是单一的数值,而是被测值可能分布的区间范围,以“检测值 \pm 扩展不确定度(U)”来表示。若该值在限值内,则检测结果判定为合格;若不在限值内,则判定为不合格;若横跨在限值两侧,则判定存在不确定性,具有一定风险,可选择更有经验的检验人员重复检验,确保检测结果的准确性。对反复验证后,“检测值 $\pm U$ ”仍横跨在限值两侧,可在判定为符合规定的同时给出风险提示^[14-15]。

本试验根据《中华人民共和国兽药典》2020 年版一部,采用高效液相色谱法测定氟苯尼考可溶性粉中氟苯尼考的含量。根据 CNAS - GL06:2006 《化学分析中不确定度的评估指南》及相关规定,并参考相关文献,对高效液相色谱法测定氟苯尼考可溶性粉含量的不确定度进行评价。根据不确定度评定结果可知,HPLC 法测定氟苯尼考可溶性粉含量不确定度主要来源于对照品纯度及称量、稀释、峰面积测定三个过程,其中对照品的称量及对照品、供试品稀释过程对测量不确定度的贡献较大。为进一步提高检验结果的准确性,应该重点控制这几个环节中的不确定度来源。

对照品的称取量极小,属于毫克级,该过程存在较大的误差,为减小称量引入的不确定度,可根据精度和量程范围选择适宜的天平,在允许范围内,尽可能多的称取,以减少不确定度的引入。溶液配制过程中,玻璃器具中量器的体积越小引入的不确定度越大,稀释频次越多引入的不确定度越

大,因此我们可使试验温度接近玻璃器具校准温度、选用 A 级大容量器具来减少误差,以减少此过程不确定度。除此之外,峰面积测定过程中使用自动进样,为减少重复进样引起的不确定度,我们应增加对液相色谱仪的日常保养,以确保仪器良好的工作状态。试验环境、人员等方面的因素,均可通过规范的操作及环境监控等有效措施来减少误差的产生。

不确定度评定可为评估测定结果的可信度、规定质量控制范围提供科学依据,是一份完整药品检验报告书不可或缺的内容。本试验为高效液相色谱法测定氟苯尼考可溶性粉含量不确定度的评价提供了可靠方法,并为类似产品的质控、含量测定结果的准确性提供了参考。

参考文献:

- [1] 宋宇迎,李洁,丰东升,等. 浅谈兽药氟苯尼考[J]. 上海畜牧兽医通讯,2020(04):49-50.
Song Y Y, Li J, Feng D S, et al. Discussion on veterinary drug florfenicol [J]. Shanghai animal husbandry and veterinary communication, 2020(04):49-50.
- [2] 余虹,李逐波. 国内氟苯尼考的合成与开发进展[J]. 畜牧兽医科技信息,2007(02):14-15.
Yu H, Li Z B. Progress in synthesis and development of florfenicol in China [J]. Animal Husbandry and Veterinary Science and Technology Information, 2007(02):14-15.
- [3] 万进,麻红利,孙少辉,等. 氟苯尼考及其制剂研究进展[J]. 中国兽药杂志,2022,56(10):54-59.
Wan J, Ma H L, Sun Sh H, et al. Research progress of florfenicol and its preparations [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2022, 56(10):54-59.
- [4] 林珍,姚文松,吴娜梅,等. HPLC 法测定拉米夫定片剂含量的不确定度评定[J]. 中国药房,2015,26(21):2968-2970.
Lin Zh, Yao W S, Wu N M, et al. Evaluation of uncertainty in the determination of lamivudine tablets by HPLC [J]. China Pharmacy, 2015, 26(21):2968-2970.
- [5] 王耿. 化学实验教学中的测量不确定度[J]. 化学教育, 2014(20):21-23.
Wang G. Uncertainty of measurement in chemical experiment teaching [J]. Chemistry Education, 2014(20):21-23.
- [6] 姚文松,孙剑川,林珍. 不确定度在药品含量测定误差教学

- 中的应用 [J]. 宁德师范学院学报(自然科学版), 2020, 32 (03): 331 - 336.
- Yao W S, Sun J Ch, Lin Zh. Application of uncertainty in error teaching of drug content determination [J]. Journal of ningde normal university (Natural Science Edition), 2020, 32 (03): 331 - 336.
- [7] 国家质量监督检验检疫总局. 中华人民共和国国家计量技术规范 JJF1059 - 2012 测量不确定度评定与表示 [S]. AOSIO. JJF1059 - 2012 Evaluation and Expression of Uncertainty in Measurement [S].
- [8] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS - CL06 化学分析中不确定度的评估指南 [M]. 北京: 中国计量出版社, 2006: 34. CNAS. CNAS - CL06 Guidance on Evaluating the Uncertainty in Chemical Analysis [M]. Beijing: China metrology press, 2006: 34.
- [9] 农业部兽药评审中心. 兽药国家标准汇编 [S]. IVDC. The national standard of veterinary medicine [S].
- [10] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 2020 年版 [S]. Chinese veterinary Pharmacopoeia Committees. Chinese veterina - ry Pharmacopoeia, 2020 edition [S].
- [11] 孙婷, 韩雪静, 姜建国, 等. HPLC 测定注射用长春西汀含量的不确定度评定 [J]. 华西药学杂志, 2013, 28(4): 4013. Sun T, Han X J, Jiang J G, *et al.* Evaluation of uncertainty in determination of vinpocetine for injection by HPLC [J]. Huaxi Pharmaceutical Journal, 2013, 28 (4): 4013.
- [12] 国家质量监督检验检疫总局. JJG 196: 常用玻璃量器检定规程 [S]. 2006. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine. JJG 196: Verification Regulation of Common Glass Meters [S]. 2006.
- [13] 倪玉才. 实用测量不确定度评定 [M]. 第 3 版, 北京: 中国计量出版社, 2009: 103 - 113. Ni Y C. Practical measurement uncertainty evaluation [M]. third edition, Beijing: China metrology press, 2009: 103 - 113.
- [14] 马秋冉, 张璐, 于晓辉, 等. 紫外分光光度法测定维生素 B1 注射液含量的不确定度评价 [J]. 中国兽药杂志, 2016, 50 (11): 40 - 43. Ma Q R, Zhang L, Yu X H, *et al.* Evaluate the Uncertainty of Determination the Content of Vitamin B1 Injection by Ultraviolet Spectrophotometry [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2016, 50(11): 40 - 43.
- [15] 张璐, 龚旭昊, 范强. 金霉素注射液含量测定的不确定度分析 [J]. 中国兽药杂志, 2018, 52(01): 56 - 62. Zhang L, Gong X H, Fan Q. Uncertainty analysis of Jinqinshao injection [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2018, 52 (01): 56 - 62.

(编辑: 侯向辉)