

原子吸收火焰法测定药用辅料山梨醇中的镍元素及其不确定度评价

吕尚¹, 魏惠珍¹, 饶毅^{1*}, 罗晓健², 饶小勇¹

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006; 2. 江西中医学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的:以原子吸收火焰法测定药用辅料山梨醇中的镍元素,并建立其不确定度评价。方法:药用辅料山梨醇经甲基异丁酮提取后,采用火焰-原子吸收光谱法测定镍元素,并同时对该方法进行不确定度评价。结果:对 2 个厂家共 12 批样品进行测定,镍含量分别为 0.035 1, 0.027 3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 0.54%, 定量检测限为 0.02 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 回收率 100.15%, 专属性试验表明阴性样品无干扰。供试品溶液及原子吸收光谱仪不确定度贡献率分别为 84.01%, 15.99%。结论:方法具有操作简单、灵敏度高、重现性好等优点,能满足镍元素的测定要求,为药用辅料山梨醇的质量控制提供依据。

[关键词] 火焰-原子吸收法;山梨醇;镍;不确定度

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0052-04

Determination of Niccolum in Officinal Accessories Sorbitol with Flame-atomic Absorption Spectroscopy and Measurement Uncertainty of the Method

LV Shang¹, WEI Hui-zhen¹, RAO Yi^{1*}, LUO Xiao-jian², RAO Xiao-yong¹

(1. The National Plarmaceutical Engineering Cenrer for Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To determine niccolum in sorbitol with flame-atomic absorption spectroscopy, and

[收稿日期] 20110321(001)

[基金项目] 中医药行业科研专项项目(200807032)

[通讯作者] * 饶毅,教授,研究方向:中药复方质量控制, Tel:0791-7119609, E-mail:raoyi99@126.com

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2005: 89.
- [2] 葛跃伟,高慧敏,王智民.姜黄属药用植物研究进展[J].中国中药杂志,2007,32(23):2462.
- [3] Xiao Y, Yang F Q, Ling S P. Furanodiene induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis through MAPK signaling and mitochondria-caspase pathway in human hepatocellular carcinoma cells [J]. Cancer Bio. & Ther., 2007, 6(7):1044.
- [4] Makabe H, Maru N, Kuwabara A, et al. Anti-inflammatory sesquiterpenes from *Curcuma zedoaria* [J]. Nat Prod Res, 2006, 20:680.
- [5] Sun X, Liu Z, Zheng Y, et al. Studies on the chemical constituents of sesquiterpenoids from *Curcuma wenyujin* [J]. Instrum. Anal, 2006, 25: 27.
- [6] 何欢,马双成,田颂九,等. HPLC 测定莪术油及其注射液中 6 种成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35 (5): 593.
- [7] 何欢,马双成,张启明,等. HPLC 替代对照品法同时测定莪术油及其注射液中 6 种成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29 (11): 1892.
- [8] Nicolas B, Felix T, Joseph C. Identification and quantitative determination of furanodiene, a heat-sensitive compound, in essential oil by ¹³C-NMR [J]. Phytochem. Anal, 2001, 12: 58.
- [9] 林观样,潘晓军,蔡进章. 低温冷藏对原料用温莪术中挥发油的影响[J]. 天津药学, 2006, 18(3): 4.

[责任编辑 蔡仲德]

set up measurement uncertainty of the method. **Method:** Niccolum in sorbitol distilled by methylisobutylketone was determined by flame-atomic absorption spectroscopy, and set up measurement uncertainty of the method simultaneously. **Result:** Nickel content is 0.035 1, 0.027 3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ with RSD 0.54%, limit of quantitation is 0.02 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, recovery is 100.15%. Specificity test showed no impurity disturbances. The percent of uncertainty of sample solution and atomic absorption spectrometer is 84.01% and 15.99%. **Conclusion:** This method possesses excellence of simplify manipulation, high veracity and nicer repeatability. It can content the need of niccolum determination and offer basis for quality control of officinal accessories sorbitol.

[**Key words**] flame-atomic absorption spectroscopy; sorbitol; niccolum; measurement uncertainty

山梨醇由法国 Boussingault 等从山草莓中分离而得,故名山梨醇,1958 年 Boye 等合成成功。目前已载入中、澳、比、英、捷、欧洲、法、德、匈、意、新西兰、葡、瑞士等药典。山梨醇的用途十分广泛,其分子中含有 6 个羟基,故具有多元醇的性质,可发生脱水、氧化、酯化、醚化等化学反应,还具有吸水、保湿、保鲜的作用,因而在医药、食品、糖果、轻化、日化、表面活性剂、合成树脂等领域的应用不断得到新的开发^[1]。山梨醇具有独特的保湿性,可使添加后的产品保持湿度稳定;它是优良的乳化剂并有抑制微生物防止腐败的作用;它还是合成其他化合物(如维生素 C 等)的中间体,因而在制药、日用化工、烟草、食品、造纸、纺织、涂料等工业领域中得到越来越广泛的应用。

山梨醇应用日益普遍,因此山梨醇的安全性越来越受到人们的重视。由于山梨醇无臭、无毒、有甜味,2000 年 6 月已被联合国添加剂委员会批准为用量不受限制的食品添加剂。但在工业上在高压下以镍为催化剂,将葡萄糖或玉米糖氢化或电解还原制得山梨醇,镍元素可能在山梨醇中存在残留,从而对人体照成危害。故应对其中的镍含量进行考察,并严格规定限量。《中国药典》2010 年版中收录的山梨醇尚没有镍的检查项^[2],本文参考《美国药典》31-NF26 中原子吸收-火焰法^[3]对市售 2 个厂家共 12 批次山梨醇样品中的重金属 Ni 含量进行测定,并对此方法进行不确定度评价,为其质量标准的提高和改善提供依据。

1 仪器和试剂

日立 Z-5000 型原子吸收分光光度计,Mini-Q 超纯水仪。冰醋酸(广东汕头西陇化工厂,AR)、甲基异丁酮(广东汕头西陇化工厂,AR)、吡咯烷二硫代氨基甲酸铵(上海试剂三厂,AR)、镍标准液(国家钢铁材料测试中心,批号 10031832)。

2 方法和结果

2.1 方法

2.1.1 标液的配制 精密量取 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的镍标准液 1 mL 至 100 mL 量瓶,以去离子水稀释至刻度,作为标准储备液 1。取标准储备液 1,精密量取 10 mL 至 100 mL 量瓶,以去离子水稀释至刻度,作为标准储备液 2。取标准储备液 2,分别精密量取 0, 5, 10, 20, 40, 50 mL 至 6 个 50 mL 量瓶中,以去离子水稀释至刻度,得 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 标准液系列。

2.1.2 供试品溶液制备 于稀醋酸中溶解 20.0 g 山梨醇,然后以去离子水稀释至 150 mL。加入 2.0 mL 吡咯烷二硫代氨基甲酸铵溶液(10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)和 10.0 mL 甲基异丁酮,振摇 30 s。避光保存。静置分层,取甲基异丁酮层,即得。

2.1.3 仪器工作条件 检测波长 12.0 nm,灯电流 0.2 mA,狭缝宽 10 nm,氧化剂 15.0 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$,燃料 2.2 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

2.2 结果

2.2.1 线性关系 按 2.1.1 项下的选定的工作条件进行测定,绘制工作曲线。以吸光度 A 和浓度 C 进行线性回归,镍元素在 0.0 ~ 1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好,其线性回归方程为 $A = 20.943C + 0.0016$ ($r = 0.999$)。

2.2.2 样品测定 按方法中处理山梨醇样品,注入原子吸收分光光度计,每批取 3 份,每份平行测定 3 次,并计算其中镍元素的含量。结果见表 1。

2.2.3 专属性 分别按样品前处理方法制备 3 份阴性样品,注入原子吸收分光光度计进行测定,结果显示阴性样品对测定无干扰。

2.2.4 方法检测限 以广西南宁 2008 年-1 的供试品溶液作为待测溶液,重复 6 次分析,计算 RSD 为 0.001 2%,由单侧 t 分布表查出 99% 置信水平,自

表 1 山梨醇中镍含量测定

样品	Conc. of Solution /mg·L ⁻¹	镍元素 /μg·g ⁻¹	样品	Conc. of Solution /mg·L ⁻¹	镍元素 /μg·g ⁻¹
广西南宁 2008 年-1	0.102 1	0.032 5	华北制药 2008 年-1	0.087 5	0.025 1
广西南宁 2008 年-2	0.103 2	0.033 0	华北制药 2008 年-2	0.083 3	0.023 0
广西南宁 2009 年-1	0.107 4	0.035 1	华北制药 2009 年-1	0.082 2	0.022 5
广西南宁 2009 年-2	0.122 0	0.042 4	华北制药 2009 年-2	0.088 5	0.025 6
广西南宁 2010 年-1	0.095 8	0.029 3	华北制药 2010 年-1	0.106 3	0.034 5
广西南宁 2010 年-2	0.113 6	0.038 2	华北制药 2010 年-2	0.103 2	0.033 0

由度 $f=5$ 时的 t 值 ($t=3.34$), 则此方法检测限为 $0.001 2 \times 3.34 = 0.004 0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2.5 定量检测限 美国的水与废水标准分析方法^[4]认为实际定量检测限一般为方法检测限的 5 倍, 则定量检测限为 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。供试品溶液的测定结果均在 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 上下, 则此定量检测限完全符合测定要求。

2.2.6 回收率 精密称取已知各待测样品 (Sample ID 1) 20.0 g, 共 5 份, 按 2.1.2 项下供试品溶液制备方法制备, 精密加入 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 镍对照品溶液 10.0 mL, 按 2.1.3 工作条件下进行分析测定, 计算回收率和 RSD。见表 2。

表 2 回收率测定

测得量 /μg·g ⁻¹	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.082 1	99.52		
0.082 8	100.36		
0.082 2	99.64	100.15	0.54
0.082 9	100.48		
0.083 1	100.73		

注: 样品中镍元素含量均为 $0.032 5 \text{ μg} \cdot \text{g}^{-1}$, 加入量均为 $0.050 0 \text{ μg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 原子吸收火焰法测定药用辅料山梨醇中的镍元素不确定度评价 (GUN 法)^[5-6]

根据测定原理和过程, 山梨醇中镍元素含量的计算公式为:

$$C = (20.943A + 0.0016) / V \times m$$

A: 吸光度测定值; V: 供试品溶液体积; m: 供试品取样量。

根据上述公式分析, 单份供试品中镍元素含量测定的不确定度来源于供试品溶液配制过程 U (Sample) 和原子吸收分光光度计测定过程 U (AAS)。

3.1 供试品质量的相对不确定度 $u(m)/m$

3.1.1 1/万天平的示值不确定度 根据天平附带资料, 天平称量允许误差为 $\pm 0.001 \text{ g}$, 按矩形分布计算, 则示值不确定度 $= 0.001 / \sqrt{3} = 5.78 \times 10^{-4} \text{ g}$ 。

3.1.2 称量由天平重复性带入的不确定度 天平通过 10 次重复测量, 计算得出标准偏差为 $\pm 0.000 3 \text{ g}$, 则重复性带入的不确定度 $= 3 \times 10^{-4} \text{ g}$ 。

由于供试品山梨醇取样量为 $20.003 6 \text{ g}$, 则经计算

$$u(m)/m = \sqrt{(5.786 \times 10^{-4})^2 + (3.0 \times 10^{-4})^2} / 20.000 36 = 2.98 \times 10^{-3}$$

3.2 供试品制备体积的相对不确定度 $u(V)/V$ 制备供试品山梨醇溶液过程中, 使用了 10 mL 移液管及 1 mL 移液管。

3.2.1 10 mL 移液管使用不确定度 10 mL 量瓶 (A 级) 的允许偏差为 $\pm 0.02 \text{ mL}$, 按三角分布计算, 则 10 mL 量瓶校正带入的不确定度 $= 0.02 / \sqrt{6} = 0.008 \text{ mL}$ 。用 10 mL 移液管重复吸量蒸馏水 6 次, 并称重计算标准偏差为 0.017 mL , 则其重复性不确定度 $= 0.017 \text{ mL}$ 。由于实验室温度变化范围为 $(20 \pm 5) \text{ }^\circ\text{C}$, 按矩形分布计算, 甲基异丁酮的膨胀系数为 $2.02 \times 10^{-3} / \text{ }^\circ\text{C}$, 则温度影响的不确定度 $= (10 \times 5 \times 2.02 \times 10^{-3}) / \sqrt{3} = 0.040 \text{ mL}$ 。

$$10 \text{ mL 移液管使用引入的不确定度} = \sqrt{0.008^2 + 0.017^2 + 0.040^2} = 0.044 \text{ mL}$$

3.2.2 1 mL 移液管使用不确定度 1 mL 移液管的允许偏差为 $\pm 0.007 \text{ mL}$, 按三角分布计算, 则 1 mL 移液管校正带入的不确定度 $= 0.007 / \sqrt{6} = 2.86 \times 10^{-3} \text{ mL}$ 。用 1 mL 移液管 (A 级) 重复吸量蒸馏水 6 次, 并称重计算标准偏差为 0.007 mL , 则其重复性不确定度 $= 0.007 \text{ mL}$ 。由于实验室温度变化范围为 $(20 \pm 5) \text{ }^\circ\text{C}$, 按矩形分布计算, 去离子水的膨胀系数为 $1.80 \times 10^{-3} / \text{ }^\circ\text{C}$, 则温度影响的不确定度 $= (1 \times 5$

$$\times 1.80 \times 10^{-3}) / \sqrt{3} = 3.98 \times 10^{-3} \text{ mL}。$$

$$1 \text{ mL 移液管使用引入的不确定度} = \sqrt{(2.86 \times 10^{-3})^2 + 0.017^2 + (3.98 \times 10^{-3})^2} = 8.54 \times 10^{-3} \text{ mL}。$$

供试品制备体积引起的相对标准不确定度。

$$u(V)/V = \sqrt{\left(\frac{0.407}{100}\right)^2 + \left(\frac{0.044}{10}\right)^2 + \left(\frac{8.54 \times 10^{-3}}{1}\right)^2} = 0.0104$$

3.3 原子吸收分光光度计不确定度 U (AAS) 原子吸收分光光度计的不确定度来通过重复进样结果

进行考察。原子吸收光谱的检查结果以吸光度 AAS 来表示,将供试品溶液重复进样 6 次,计算相对标准偏差为 0.47,因而原子吸收检测山梨醇供试品溶液吸光度的相对不确定度 = 0.0047。

3.4 合成不确定度

$$u(W)/W = \sqrt{\left[\frac{u(m)}{m}\right]^2 + \left[\frac{u(V)}{V}\right]^2 + U^2(ABS)} = 0.0118$$

4 讨论

不确定度评定结果见表 3。

表 3 不确定度评定

不确定度分量		相对标准不确定度 $u(y_i)/y_i$	不确定度贡献率 ¹⁾ /%
供试品溶液不确定度 U (Sample)	供试品称量 $U(m)/ms$	0.0029	6.01
	供试品制备 $u(V)/V$	0.0104	78.00
原子吸收光谱仪不确定度 U (AAS)	供试品测定 $u(As)/As$	0.0047	15.99
	合成不确定度 $U(W)$	0.0118	100

注: ¹⁾ 不确定度贡献率计算方法: $\frac{\left[\frac{u(y_i)}{y_i}\right]^2}{\sum_{i=1}^n \left[\frac{u(y_i)}{y_i}\right]^2}$ 。

由表 3 中各标准不确定度分量所占比例可以看出,应用原子吸收火焰法对山梨醇中镍元素含量测定过程中,其不确定度贡献率最大的为供试品溶液的不确定度 U (Sample),其中供试品溶液的制备是不确定度的主要来源。因此在含量测定的溶液配制过程中,减少移液管的使用次数或降低溶液的移取定容配制次数,是降低溶液配制不确定度的主要途径,其次,尽量使用容量大的玻璃量具也是降低配制过程不确定度的有效方法。

进展[J]. 化工中间体,2007,12:21.

[2] 中国药典. 二部[S]. 2010:32.
 [3] USP31-NF26(美国药典).
 [4] 《standard methods for the examination of water and wastewater 20th edition》(美国水和废水标准检测方法)[M]. 2001.
 [5] 国家质量技术监督局计量司. 测量不确定度评价体系与表示指南[M]. 北京:中国计量出版社,2001:24.
 [6] 李慎安. 测量不确定度与检验[M]. 北京:中国计量出版社,1989:15.

[参考文献]

[责任编辑 蔡仲德]

[1] 徐三魁,王向宇,李利民. 山梨醇的生产技术研究开发