

沉香中沉香四醇的测量不确定度评估

冯剑, 陈德力, 吕俊辰, 郑威, 张妮雪, 刘洋洋*
(中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所 海南分所, 海口 571103)

[摘要] 目的:建立 HPLC 定量分析沉香药材中沉香四醇含量的测量不确定度的评定方法,找出影响不确定度的因素,为沉香药材质量控制提供科学依据。方法:用 HPLC 方法测定沉香四醇的含量,并根据《测量不确定度评定与表示》(JJF 1059.1-2012)中的规定评估其不确定度,通过统计分析,量化不确定分量,最终确定测量结果的扩展不确定度和置信水平。结果:5 批沉香药材中沉香四醇含量测定的不确定度评估结果为 (2.80 ± 0.45) , (5.13 ± 0.82) , (13.86 ± 2.21) , (74.86 ± 11.87) , (125.71 ± 19.94) $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。发现测量不确定度的主要影响因素有沉香样品的均匀性、称量、配制浓度及高效液相色谱仪性能 4 个类型,通过严格按照四分法取样沉香样品、确保称量介质保持干燥、正确或规范使用玻璃器皿和精密仪器、可有效减少样品痕量分析的误差。结论:该方法可用于 HPLC 法测定沉香药材中沉香四醇含量的不确定度分析,方法简便,测量结果不确定度纳入标准制定,有利于标准痕量更加合理,对沉香药材痕量分析方法的建立和质量标准的制定具有重要意义。

[关键词] 测量不确定度; 高效液相色谱法; 沉香; 沉香四醇
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2017)13-0086-06
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017130086
[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170324.1444.076.html>
[网络出版时间] 2017-03-24 14:44

Evaluation of Measurement Uncertainty for Determination of
Agarotetrol in Aquilariae Lignum Resinatum

FENG Jian, CHEN De-li, LYU Jun-chen, ZHENG Wei, ZHANG Ni-xue, LIU Yang-yang*
(Hainan Branch, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of
Medical Sciences & Peking Union Medical College, Haikou 571103, China)

[Abstract] **Objective:** To find out the impacting factors on uncertainty by establishing a HPLC method for a quantitative analysis of agarotetrol, in order to provide the evidence for quality control of traditional Chinese medicinal materials of Aquilariae Lignum Resinatum. **Method:** Agarotetrol in Aquilariae Lignum Resinatum was determined by HPLC, and the uncertainty was evaluated according to JJF1059.01-2012. The uncertainty components were quantified through a statistical analysis, and extended uncertainty and confidence level were finally determined. **Result:** The uncertainty evaluation results for the content determination of agarotetrol from five samples was (2.80 ± 0.45) , (5.13 ± 0.82) , (13.86 ± 2.21) , (74.86 ± 11.87) , (125.71 ± 19.94) $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. Sample homogeneity, weighing, compound concentration and HPLC property were the major factors to measure the uncertainty. The error of sample trace analysis could be reduced by quartering samples, drying weighing medium and correctly or regularly using glassware and precision instruments. **Conclusion:** The method can be used for uncertainty analysis of content of agarotetrol in Aquilariae Lignum Resinatum, which makes the standard trace amount more rational and significant to establish uncertainty analysis methods and quality standard for Chinese

[收稿日期] 20170417(018)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81403055);海南省重大科技计划项目(ZDKJ2016004)
[第一作者] 冯剑,硕士,研究实习员,从事南药质量控制工作,Tel:0898-31589000,E-mail:jianfenghn@126.com
[通讯作者] *刘洋洋,硕士,副研究员,从事南药质量控制工作,Tel:0898-31589007,E-mail:eadchris@163.com

medicinal materials of *Aquilariae Lignum Resinatum*.

[**Key words**] measurement uncertainty; HPLC; Agarwood; agarotetrol

沉香气味独特^[1],燃烧香气浓烈^[2],是药用价值极高的名贵药材。具有行气止痛、温中止呕、纳气平喘之功效,主治胸腹胀满疼痛、胃寒呕吐、肾虚气逆等症状^[3],也有抗炎、镇静安神等多种活性^[4-8]。2015 年版《中国药典》^[9]首次将沉香四醇的含量测定作为质控指标,指标成分的定量分析是建立沉香药材有效质量评价体系的重要组成部分,采用高效液相色谱外标法测定沉香四醇检测或测量结果正确性因素比较多,而过程控制尤为重要。因此,引入测量不确定度(Mesurement uncertainty)的评定既可以保证沉香四醇含量检测结果的准确性,又可明确过程控制的重要关键点。

测量不确定度是与测量结果相关联的参数,用于表征被测量值的分散程度,也是定量说明测量结果质量的重要参数^[10-11]。通常不确定度采用统计学方法定量给出测量分散性及可信区间,其大小可以决定测量结果的可靠性,不确定度值越小,说明测量水平越高,实用价值也越大。在中药材质量控制(如人参^[12]、三七^[13]、苦杏仁^[14]、虎杖^[15]和甘遂^[16]等),药物分析(天麻素^[17]、比沙可啶^[18]、芍药苷^[19]、伪麻黄碱^[20]和淫羊藿苷^[21]等),药品检测(如桉叶止咳糖浆^[22]、复方丹参片^[23]、降糖宁胶囊^[24]、罗红霉素^[25]、头孢克肟胶囊^[26]和妥布霉素地塞米松眼膏^[27]等)及实验室认可^[28]及医疗诊断^[29]等领域中,测量不确定度得到深入研究和广泛应用,但在沉香等芳香类药材的质量控制和检测中引入 HPLC 测量不确定度却少见报道。本文以高效液相色谱测定沉香中沉香四醇含量为例,找到不确定因素,探讨数据测量不确定度的过程,以便提高测量结果的准确性和可靠性,可为评价沉香的质量提供科学依据。

1 材料

BREEZ 1725 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),CP114 型 1/1 万电子天平(奥豪斯仪器有限公司),PL203 型 1/1 000 电子天平(梅特勒-托利多上海仪器有限公司),PS-40 型超声波清洗机(深圳市洁威超声波洗净设备有限公司),所用玻璃器皿均为 Bomex 牌 A 级。

沉香四醇对照品(批号 111980-201501,纯度 96.8%),沉香对照药材(批号 121222-201102),均购自中国食品药品检定研究院;其他 4 批沉香药材

(批号分别为 130412QZ01, 120506XS01, 131230BY02,140902QZ06,经实验室自测浸出物质质量分数依次为 15.90%, 21.64%, 26.15%, 23.70%)。所用药材经中国医学科学院药用植物研究所海南分所刘洋洋副研究员鉴定均为瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis* 中含有树脂的木材,凭证标本保存于中国医学科学院药用植物研究所海南分所沉香鉴定中心标本馆。乙腈(色谱纯,赛默飞世尔科技中国有限公司),甲酸(分析纯,西陇化工股份有限公司),95% 乙醇(分析纯,广东光华股份有限公司),实验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 沉香中沉香四醇的 HPLC 测定方法^[9]

2.1.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸溶液(B),梯度洗脱(0~10 min,15%~20% A;10~19 min,20%~23% A;19~21 min,23%~33% A,21~25 min,33% A;25.1~35 min,95% A),流速 0.7 mL·min⁻¹,检测波长 252 nm,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备 取沉香四醇 1.5 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加乙醇溶解,并定容至刻度,摇匀,即得。

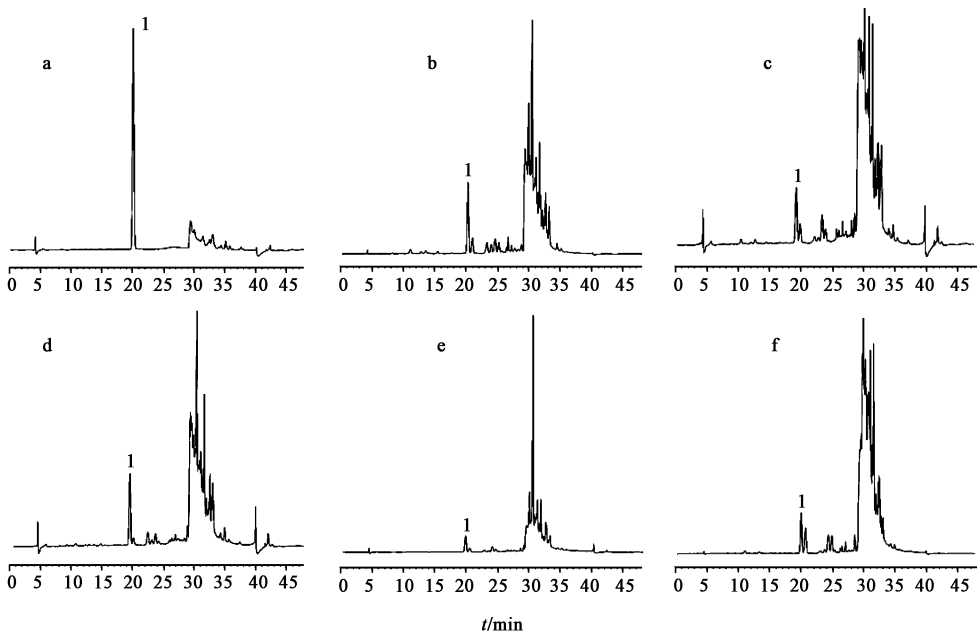
2.1.3 供试品溶液的制备 分别取沉香药材样品粉末(过 3 号筛)0.2 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入乙醇 10 mL,称定质量,浸泡 0.5 h,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)1 h,放冷后,再称定质量,用乙醇补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液滤过,取续滤液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.1.4 样品测定 分别精密吸取沉香四醇对照品溶液、沉香供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,测定,按外标法(峰面积)计算,HPLC 图谱见图 1。

2.2 不确定度分析 沉香中沉香四醇的 HPLC 定量方法的测量不确定度评定可通过数学模型建立(测量过程分析),分析不确定度来源,量化不确定度分量,计算合成不确定度及扩展不确定度^[11]。

2.2.1 建立数学模型 根据沉香样品的提取和分析过程,考虑样品的不均匀性,沉香四醇的含量测定模型公式:

$$X = \frac{A_s}{A_0} \times C_0 \times \frac{V_s}{m_s} \times F_{Hom} \times W \times 100\%$$



a. 对照品;b. 121222-201102 沉香样品;c. 130412QZ01 沉香样品;d. 120506XS01 沉香样品;e. 131230BY02 沉香样品;f. 140902QZ06 沉香样品;
1. 沉香四醇

图 1 沉香四醇及沉香样品 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of agarotetrol and samples

公式中, X 为供试品中沉香四醇的质量分数; A_s 为供试品溶液中沉香四醇色谱峰面积; A_0 为对照品溶液沉香四醇的色谱峰面积; C_0 为对照品溶液中沉香四醇的浓度($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); m_s 为沉香样品的取样量(mg); V_s 为沉香样品溶液的最终或稀释体积(mL); F_{Hom} 为样品均匀性因子; W 为高效液相色谱仪的引入的因子。

2.2.2 分析不确定度来源 根据建立的数学模型分析,考虑高效液相色谱仪的影响,沉香四醇含量测定的不确定度主要来源于 $A_s, A_c, C_0, m_s, V_s, F_{\text{Hom}}$ 和 W 共 7 个分量。经过对整个过程的不确定度因素分析,每个不确定度因素均考虑多个影响因素。HPLC 法测定沉香中沉香四醇含量的测量不确定度因果关系。见图 2。

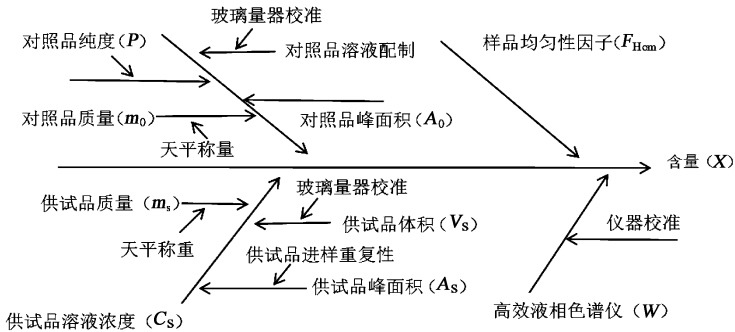


图 2 沉香四醇含量测量不确定度因果关系

Fig. 2 Evaluation plot of measurement uncertainty of content determination of agarotetrol

2.3 对照品溶液浓度 C_0 引起的合成相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_0)$

对照品溶液浓度计算公式: $C_0 = \frac{m_0}{v_0} \times P$

m_0 为对照品的称样量(mg); v_0 为对照品溶液的体积(mL); P 为对照品的含量。此不确定度来源主要有以下几部分。

2.3.1 由对照品含量引起的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(P)$ 沉香四醇对照品由中国食品药品检定研究院提供,纯度为 96.8%,未提供不确定度。参考基准物质的不确定度,属于 B 类不确定,假定分布区间为 $\pm 0.05\%$,符合矩形分布,取包含因子 $k = \sqrt{3}$,则相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(P) = \frac{\Delta}{\sqrt{3}} = \frac{0.0005}{\sqrt{3} \times 0.968} = 3.0 \times 10^{-5}$$

2.3.2 由对照品称量引起的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(m_0)$ 电子天平校准证书查到 $d=0.1\text{ mg}$, 示值误差 Δ 为 $\pm 0.5\text{ mg}$, 重复性为 1.0 mg 。按矩形分布, 单次称量天平示差引起的标准不确定度 $u_{m01} = \frac{0.5}{\sqrt{3}} = 0.288\text{ 7 mg}$, 重复性引起的标准不确定度 $u_{m02} = \frac{1}{\sqrt{3}} = 0.577\text{ 4 mg}$, 则由对照品称量引起的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(m_0) = \frac{\sqrt{u_{m01}^2 + u_{m02}^2}}{m_0} = \frac{0.645\text{ 5}}{15} = 0.043$ 。

2.3.3 配制对照品溶液引起的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_0)$ 从 A 级 25 mL 单线量瓶校准证书上查的示值误差 Δ 为 $\pm 0.03\text{ mL}$, 按矩形分布则, $u_{V131} = \frac{\Delta}{\sqrt{3}} = \frac{0.03}{\sqrt{3}} = 0.02\text{ mL}$; 通过多次实验统计得 25 mL 单线量瓶刻度的变动性为 0.01 mL , 则变动性不确定度为 $u_{V132} = 0.01\text{ mL}$; 在实验中测量温度 $T_1 = 27\text{ }^\circ\text{C}$, 量瓶校准温度 $T_0 = 25\text{ }^\circ\text{C}$, 查到乙醇和玻璃体积膨胀系数 (α) 分别为 1.04×10^{-3} 和 1.5×10^{-5} , $\Delta V = V_{T1} - V_{T0} = (\alpha_{\text{乙醇}} - \alpha_{\text{玻}}) \times V_{T0} \times (T_1 - T_0) = 5.13 \times 10^{-2}$, $u_{V133} = \frac{\Delta}{2} = 2.6 \times 10^{-2}\text{ mL} (k=2)$ 。则配制对照品溶液的相对标准不确定度为: $u_{\text{rel}}(V_0) = \frac{\sqrt{u_{V131}^2 + u_{V132}^2 + u_{V133}^2}}{V_0} = 0.001\text{ 2}$ 。因此, 对照品溶液浓度 C_0 引起的合成相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_0) = 0.043$ 。

2.4 供试品溶液制备过程中相对标准不确定度

2.4.1 供试品称量的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(m_s)$

从电子天平校准证书查到 $d=1\text{ mg}$, 示值误差 Δ 为 $\pm 5\text{ mg}$, 重复性为 10.0 mg 。同 2.3.2 项下方法, 按矩形分布, 单次称量天平示差引起的标准不确定度 $u_{ms1} = \frac{5}{\sqrt{3}} = 2.887\text{ mg}$, 重复性引起的标准不确定度 $u_{ms2} = \frac{1}{\sqrt{3}} = 5.774\text{ mg}$, 则由对照品称量引起的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(m_s) = \frac{\sqrt{u_{ms1}^2 + u_{ms2}^2}}{m_s} = \frac{6.455}{15} = 0.032$ 。

2.4.2 供试品溶液配制体积相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_s)$ (1) 加入 95% 乙醇的相对标准不确定度

$u_{\text{rel}}(V_{22})$: 实验用 A 级 10 mL 移液管, 校准证书上示值误差为 $\pm 0.05\text{ mL}$, 符合矩形分布, 其校准不确定度为 $u(V_{221}) = \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.028\text{ 9 mL}$, 实验过程中温度引起的不确定度计算方法同 2.3.3, 则 $u_{V222} = 0.010\text{ 3 mL}$ 。加入 95% 乙醇的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_{22}) = \frac{\sqrt{u_{V221}^2 + u_{V222}^2}}{V_{22}} = 0.003\text{ 1}$ 。

(2) 加入 95% 乙醇, 2 次称定质量引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_{23})$: 实验过程中加入 95% 乙醇, 前后称量供试品溶液 2 次, 称定用电子天平检定证书示值误差为 $\pm 5\text{ mg}$, 按照矩形分布, 1 次称量的不确定度为 $u_{v231} = 2.887\text{ mg}$, 2 次称量的不确定度为 $u(V_{232}) = \sqrt{2 \times u_{V231}^2} = 4.083\text{ mg}$ 。95% 乙醇 10 mL 和精密称取供试品的质量为 $8.186 \times 10^3\text{ mg}$, 则 $u_{\text{rel}}(V_{23}) = \frac{u(V_{232})}{8.186 \times 10^3} = 4.38 \times 10^{-4}$ 。供试品溶液配制体积相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_s) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(V_{22}) + u_{\text{rel}}^2(V_{23})} = 0.003\text{ 1}$ 。

2.4.3 供试品溶液均匀性 沉香四醇, 化学性质较为稳定, 在沉香药材中的各部位均有分布。Ellison (2000)^[11] 测量不确定度分析样品均匀性引起的相对标准不确定度取估计值 0.05 , $u_{\text{rel}}(F_{\text{Hom}}) = 0.05$ 。

2.5 峰面积引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(A_0)$ 和 $u_{\text{rel}}(A_s)$ 沉香四醇对照品和沉香药材溶液各进样 2 次, 测量结果及相对不确定度见表 1。采用极差法计算峰面积引入的不确定度, 当 $n=2$ 时, 极差系数 $C=1.13$, 峰面积引入的不确定度按 $u_{\text{rel}}(A) = \frac{R}{C \times A}$ 计算。对照品峰面积引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(A_0)$ 为 4.03×10^{-5} 。5 批供试品峰面积引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(A_s)$ 分别为 7.11×10^{-3} , 4.04×10^{-3} , 8.11×10^{-3} , 1.33×10^{-3} , 2.13×10^{-3} 。

2.6 高效液相色谱仪引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(W)$ Waters BREEZ 1725 型高效液相色谱仪 (检定证书给出的不确定度为 $u_r = 6\%$, $k=2$), 相对标准不确定度为 $u_{\text{rel}}(W) = 6\% / 2 = 0.03$ 。

2.7 合成标准不确定度及扩展不确定度 沉香药材中沉香四醇的 HPLC 定量方法的相对不确定度合成按公式 $[u_{\text{rel}}(C)]^2 = u_{\text{rel}}^2(A_s) + u_{\text{rel}}^2(A_c) + u_{\text{rel}}^2(C_0) + u_{\text{rel}}^2(V_s) + u_{\text{rel}}^2(m_s) + u_{\text{rel}}^2(F_{\text{Hom}}) + u_{\text{rel}}^2(W)$ 计算, 按公式 $u(C) = u_{\text{rel}}(C) \times C$ 计算合成标准不确定度。设置 95% 置信概率, 取扩展因子

表 1 沉香样品中沉香四醇含量的测量结果及相对不确定度($n=2$)

Table 1 Measurement results and relative uncertainty content determination of agarotetrol in Agarwood ($n=2$)

批次	峰面积	RSD/%	极差 (R)	u_{rel}
沉香四醇	1 908 445. 5	0. 9	87	$4. 03 \times 10^{-5}$
130412QZ01	89 472. 5	0. 6	719	$7. 11 \times 10^{-3}$
120506XS01	164 124. 5	0. 3	751	$4. 04 \times 10^{-3}$
131230BY02	443 211. 0	0. 6	4 060	$8. 11 \times 10^{-3}$
140902QZ06	2 393 063. 5	0. 1	3 585	$1. 33 \times 10^{-3}$
121222201102	4 018 581. 0	0. 2	9 682	$2. 13 \times 10^{-3}$

$k=2$, 计算扩展标准不确定度 $u=k \times u(C)$, 同时进行数据修约及结果表示见表 2。

表 2 沉香中沉香四醇合成标准不确定度及扩展不确定度

Table 2 Synthetic standard uncertainty and extended uncertainty agaroterol in Agarwood

批次	$u_{\text{rel}}(C)$	合成标准不确定度 $u(C)$	扩展不确定度 u	质量分数 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
130412QZ01	0. 079 6	0. 222 8	0. 445 6	$2. 80 \pm 0. 45$
120506XS01	0. 079 4	0. 407 7	0. 815 4	$5. 13 \pm 0. 82$
131230BY02	0. 079 7	1. 105 0	2. 210 0	$13. 86 \pm 2. 21$
140902QZ06	0. 079 3	5. 936 5	11. 873 0	$74. 86 \pm 11. 87$
121222201102	0. 079 3	9. 969 0	19. 938 0	$125. 71 \pm 19. 94$

采用高效液相色谱法测定 5 批沉香药材中沉香四醇的含量过程中测量不确定度的 7 个不确定因素中, 沉香样品的均匀性 $u_{\text{rel}}(F_{\text{Hom}})$, 沉香四醇对照品浓度 $u_{\text{rel}}(C_0)$, 沉香样品的质量 $u_{\text{rel}}(m_s)$ 及高效液相色谱仪 $u_{\text{rel}}(W)$ 4 个类型的相对标准不确定度对含量测定的影响很大。其中样品均匀性的影响最大, 5 批样品中 $u_{\text{rel}}(F_{\text{Hom}})$ 所占的比重在 30. 08% ~ 31. 35%, 因所用沉香药材为粉末态, 需要严格注意药材取样的标准方法, 如 2015 年版《中国药典》四部通则 0211 规定的药材和饮片取样方法, 同时沉香样品在精确称量中有介质(称量纸等)的残留, 也影响测量过程。沉香四醇对照品溶液配制过程中引入的相对标准不确定度分量 $u_{\text{rel}}(C_0)$ 占的比重在 26. 02% ~ 26. 96%, 这与对照品的纯度、天平称量和玻璃量器的使用关联密切, 保证规范操作, 使用具有校准或检定的量具器皿, 此外还有高效液相色谱仪进样精密度、体积流量及流量精密度等因素都会影响测量的结果, 沉香四醇和沉香药材样品色谱峰面积引入的相对标准不确定度分量占的比例小, $u_{\text{rel}}(A_0)$ 基本稳定在 0. 2% ~ 0. 3%, 而 5 批沉香药材的 $u_{\text{rel}}(A_s)$ 在 0. 83% ~ 4. 88%, 差异显著, 可能是因

不同样品浸出物含量或是组分差所致。见表 3。

表 3 沉香中沉香四醇测定过程中各标准不确定度所占比重

Table 3 Proportion of standard uncertainty of agrotetrol determination

批次	$u_{\text{rel}}(C_0)$	$u_{\text{rel}}(m_s)$	$u_{\text{rel}}(V_s)$	$u_{\text{rel}}(A_0)$	$u_{\text{rel}}(A_s)$	$u_{\text{rel}}(F_{\text{Hom}})$	$u_{\text{rel}}(W)$
130412QZ01	26. 02	19. 36	1. 88	0. 02	4. 30	30. 25	18. 15
120506XS01	26. 51	19. 73	1. 91	0. 02	2. 49	30. 83	18. 50
131230BY02	25. 86	19. 25	1. 86	0. 02	4. 88	30. 08	18. 05
140902QZ06	26. 96	20. 07	1. 94	0. 03	0. 83	31. 35	18. 81
121222201102	26. 83	19. 97	1. 93	0. 03	1. 33	31. 20	18. 72

3 讨论

5 批沉香药材沉香四醇含量在 $2. 80 \sim 125. 71 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 相应修约的扩展标准不确定度为 $0. 45 \sim 19. 94$, 此测量范围可以满足送检沉香样品的检测限值。此外, 经统计分析, 影响沉香四醇含量测定过程中的 7 个分量与测定沉香四醇含量之间存在相关性, 其中 $u_{\text{rel}}(m_s)$, $u_{\text{rel}}(V_s)$ 与 $u_{\text{rel}}(A_s)$ 之间, $u_{\text{rel}}(F_{\text{Hom}})$ 与 $u_{\text{rel}}(C_0)$, $u_{\text{rel}}(m_s)$, $u_{\text{rel}}(V_s)$ 和 $u_{\text{rel}}(A_s)$ 之间可达到极显著正相关($P < 0. 01$)。测量过程中各因素间相互关联, 应采取相应的措施, 减小测量结果的不确定度。综合了沉香四醇含量测定中各因素的不确定度分析后, 以下建议可有效地减少操作误差: ①沉香样品均一性, 样品取样必须严格按照四分法取样, 粉碎后过 3 号筛; ②称量过程中保证称量纸等介质保持干燥(必要时存放于硅胶干燥器内); ③玻璃器皿的正确或规范使用, 保证刻度准确读数; ④精密仪器需要定期维护保养。本文建立的方法考虑了 HPLC 测量过程中产生不确定度的大部分因素, 使用浸出物含量不同的沉香样品, 方法简便, 可用于沉香四醇含量测定结果的评估。将测量结果不确定度纳入标准制定, 有利于标准限量更加合理。

【参考文献】

[1] Hassan N H, Ali N A M, Zainudin F, et al. Effect of 6-benzylaminopurine (BAP) in different basal media on shoot multiplication of *Aquilaria hirta* and detection of essential oils in the *in vitro* shoots[J]. A J Biotechnol, 2011, 10(51): 10500-10503.

[2] 田燕泽, 秘效媛, 朴香兰. 沉香的化学成分、药理活性与临床应用研究进展[J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2010, 19(1): 77-81.

[3] 黄俊卿, 魏建和, 张争, 等. 沉香结香方法的历史记载、现代研究及通体结香技术[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(3): 302-306.

[4] 林焕泽,李红念,梅全喜. 沉香叶与沉香药材抗炎作用的对比研究[J]. 中华中医药学刊,2013,31(3): 548-549.

[5] 安娜贝拉,陈颖,许敏,等. 沉香的质量评价及药理活性研究进展[J]. 中国野生植物资源,2014,33(2): 1-5.

[6] 李红念,梅全喜,林焕泽,等. 沉香叶与沉香药材镇痛作用的对比研究[J]. 时珍国医国药,2012,23(8): 1958-1959.

[7] 吴秀荣,李红念,梅全喜,等. 沉香叶与沉香药材平喘作用的对比研究[J]. 今日药学,2013,23(6): 346-347.

[8] Takemoto H,Ito M,Shiraki T. Sedative effects of vapor inhalation of agarwood oil and spikenard extract and identification of their active components[J]. J Nat Med, 2008,62(1): 41-46.

[9] 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,2015:185.

[10] 国家质量技术监督局计量司组. 测量不确定度评定与表示指南[M]. 北京:中国计量出版社,2001.

[11] Ellison S R,Rosslein M, Williams A, et al. Eurachem/ CITAC Guide CG4. Quantifying Measurement Uncertainty in Analytical Measurement [M]. 3rd edition. London; UK National Measurement System,2012.

[12] 胡坪,罗国安,赵中振,等. 人参中人参皂苷 HPLC 定量方法的测量不确定度的评定[J]. 药学学报,2005, 40(1): 49-53.

[13] 张公信,周学进,李晓芬,等. 三七总皂苷含量测定不确定度的评估[J]. 中国农学通报,2011,27(25): 235-239.

[14] 周政政,郭永辉,杨德智,等. 苦杏仁苷纯度标准物质研制和纯度标准值及不确定度分析方法研究[J]. 医药导报,2013,32(4): 504-510.

[15] 刘淑聪,张宝喜,杨世颖,等. 虎杖中虎杖苷和白藜芦醇含量标准值与不确定度评估分析方法研究[J]. 中国药业,2013,22(18): 33-36.

[16] 王磊,姚令文,程显隆,等. 甘遂中大戟二烯醇 HPLC 定量方法的测量不确定度评定[J]. 中国药事,2015, 29(2):147-152.

[17] 张丽,周政政,杨德智,等. HPLC 法对天麻素纯度标准物质的定值与不确定度研究[J]. 中国药师,2014, 17(6): 925-928.

[18] 郭永辉,姜建国,闫凯,等. 两种方法测定比沙可啶纯度及不确定度评定[J]. 中国药房,2014,25(41): 3916-3918.

[19] 饶毅,夏川川,周海滨,等. 高效液相色谱法测定白芍总苷的不确定度分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(19): 89-93.

[20] 陈华,马仕洪,张河战. 高效液相色谱法测定伪麻黄碱含量的不确定分析[J]. 药物分析杂志,2005,25 (2): 201-204.

[21] 陶松,刘旭海,刘玲,等. HPLC 测定补肾口服液中淫羊藿苷的不确定分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(13): 111-114.

[22] 寇光,刘玲,陶松,等. HPLC 测定桉叶止咳糖浆中盐酸麻黄碱的不确定评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013,19(17): 41-43.

[23] 刘永利,李冬梅,冯丽,等. 复方丹参片含量测定的不确定度分析[J]. 药物分析杂志,2007,27(11): 1800-1802.

[24] 凌霄,解斐,吴敬德. HPLC 法测定降糖宁胶囊中格列本脲含量的不确定度分析[J]. 山东大学学报:医学版,2009,47(11): 124-127.

[25] 左登平,何亚琼,汪正宇. HPLC 法测定罗红霉素分散片含量的测量不确定度分析[J]. 中国药房,2010,32 (21): 3067-3069.

[26] 王玮. HPLC 法测定头孢克肟胶囊含量的不确定的评价[J]. 安徽医药,2010,14(11): 1284-1285.

[27] 张红梅,张广宏,姜潇. HPLC 法测定妥布霉素地塞米松眼膏中妥布霉素含量的不确定度分析[J]. 中国抗生素杂志,2013,38(10): 3-6.

[28] 陆明,范国荣,汪杨,等. 测量不确定度在药品检测领域的研究进展[J]. 中国药事,2013,27(5): 485-492.

[29] 顾志荣,金岩,师富贵. 不确定度评定在中药质量控制中的应用研究进展[J]. 亚太传统医药,2014,10 (4): 79-81.

[责任编辑 顾雪竹]