

中图分类号: R927.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)22-0094-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.22.020



红景天含量测定能力验证结果评价与分析

李志远¹, 荣娜娜¹, 张景仪¹, 王思琪¹, 李哲媛¹, 黄欢²

(1. 云南省食品药品监督检验研究院工业和信息化部产业技术基础公共服务平台, 云南 昆明 650106; 2. 华测检测认证集团股份有限公司标准物质研究中心, 广东 深圳 518000)

摘要:目的 提高云南省药品生产企业及其他相关检测机构的检测能力和质量管理水平。方法 根据中国合格评定国家认可委员会相关文件要求, 设计“样品对”方案验证各实验室的红景天含量测定能力, 检验样品 A、B、C、D 的均匀性和稳定性。采用稳健统计方法分析报道结果, 以实验室间和实验室内 Z 比分数(Z_B 和 Z_W)评价检测结果。结果 117 家参试实验室, 115 家报送结果(Z_B 为 $-2.91 \sim 11.39$, Z_W 为 $-5.82 \sim 16.02$), 90 家结果满意, 整体满意率 78.26%, 样品对 AB 及样品对 CD 的结果满意率相当(78.33% 比 78.18%)。结论 云南省大部分实验室具备红景天含量测定的检测能力, 建议相关实验室加强人员培训、质量监督和质量控制, 以提升机构的检测能力和质量管理水平。

关键词:能力验证; 红景天; 含量测定; 结果评价; 稳健统计法

Evaluation and Analysis of Proficiency Testing for Salidroside Determination in Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma

LI Zhiyuan¹, RONG Nana¹, ZHANG Jingyi¹, WANG Siqi¹, LI Zheyuan¹, HUANG Huan²

(1. MIIT Public Service Platform for Industrial Technology Foundation, Yunnan Institute for Food and Drug Control, Kunming, Yunnan, China 650106; 2. Research Center for Certified Reference Materials, Centre Testing International Group Co., Ltd., Shenzhen, Guangdong, China 518000)

Abstract: Objective To improve the testing capability and quality management level of pharmaceutical manufacturing enterprises and other relevant testing institutions in Yunnan Province. **Methods** According to the requirements of the relevant documents of the China National Accreditation Service for Conformity Assessment, the proficiency testing for salidroside determination in Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma of relevant laboratories was performed based on the “sample pairs” scheme, and the uniformity and stability of samples A, B, C, and D were tested. The submitted data were analyzed by the robust statistical method, and the testing results were evaluated based on the inter-laboratory and intra-laboratory Z-scores (Z_B and Z_W). **Results** Out of 117 participating laboratories, 115 submitted data (Z_B was in the range of $-2.91 \sim 11.39$, Z_W was in the range of $-5.82 \sim 16.02$); 90 laboratories achieving satisfactory outcomes, with an overall satisfaction rate of 78.26%; the satisfaction rates for sample pair AB and sample pair CD were comparable (78.33% vs. 78.18%). **Conclusion** The majority of laboratories in Yunnan Province demonstrated the capability to determine the salidroside content in Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma. It is recommended that relevant laboratories strengthen personnel training, quality supervision and quality control to improve their testing capability and quality management level.

Key words: proficiency testing; Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma; content determination; result evaluation; robust statistical method

第一作者: 李志远, 男, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为药物分析及实验室质量管理, (电子邮箱)li_zy0308@126.com。

- [14] WANG C, WEN M, BAI L, et al. Auto-classification for confocal back-scattering micro-spectrum at single-cell scale using principal component analysis [J]. Optik - Int J Light Electron Optics, 2015, 127(3): 1007-1010.
- [15] 李月婷, 刘慧, 蒙文莎, 等. UPLC-MS/MS 同时测定云实皮中 8 种成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(3): 692-700.
- [16] 刘颖, 王青, 王放, 等. 苦碟子注射液 HPLC 指纹图谱与化学模式识别分析[J]. 中国药学杂志, 2013, 48(24): 2097-2101.
- [17] 林秀敏, 岳丽丹, 张振凌, 等. GC-IMS 法比较不同方法炮制酒当归特异气味成分差异[J]. 中草药, 2020, 51(17): 4464-4472.
- [18] 韩晴雯, 周斌, 李玉平, 等. HPLC 指纹图谱技术结合模式识别分析评价参莲胶囊的质量[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(7): 1300-1308.
- [19] 侯玉洁, 祝文君, 陈长功, 等. 基于气相色谱-质谱联用技术的乙型肝炎血清代谢标志物的探究[J]. 色谱, 2015, 33(4): 383-388.
- [20] TRIBA MN, MOYEC LL, AMATHIEU R, et al. PLS/OPLS models in metabolomics: The impact of permutation of dataset rows on the K-fold cross-validation quality parameters[J]. Mol Biosyst, 2014, 11(1): 13-19.

(收稿日期: 2024-03-08; 修回日期: 2024-07-27)

红景天别名蔷薇红景天^[1],主要活性成分为红景天苷,后者具有抗心肌缺血、抗缺氧、抗衰老、抗病毒、抗肿瘤、保护心脑血管、调节内分泌等药理作用^[2-5],可用于糖尿病、高血压、风湿等多种慢性疾病的治疗^[6-7]。云南省中药材资源丰富种类繁多,中药饮片和中成药生产企业数量居全国前列,但生产规模和检测能力参差不齐。为切实掌握省内药品生产企业检测能力,确保检测结果的准确性和可追溯性,保证中药饮片和中成药的质量,通过组织实施能力验证,以期找出本省生产企业的差异,现参考2020年版《中国药典(四部)》^[8],现根据中国合格评定国家认可委员会(CNAS)相关文件要求,采用当前药品检测最常用的高效液相色谱法测定,基于“样品对”设计方案,以实验室间和实验室内 Z 比分数(Z_B 和 Z_W)评价检测结果,并分析不满意结果,以达到提高实验室检测能力的目的,同时也可对红景天含量测定的监管提供参考。现报道如下。

1 方案设计与方法

1.1 方案设计

本次能力验证方案设计按照GB/T 27043—2012《合格评定能力验证的通用要求》、CNAS—GL003:2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》、CNAS—GL002:2018《能力验证结果的统计处理和评价指南》、GB/T 28043—2019《利用实验室间比对进行能力验证的统计方法》及国家认证认可监督管理委员会关于能力验证的相关要求进行^[9-12]。本次能力验证编号为YNSY—20—03,由云南省药品监督管理局组织,云南省食品药品监督检验研究院与华测检测认证集团股份有限公司(CNAS能力验证提供者资质证书编号为PT0028)共同实施,云南省内具备相关检测能力的药品生产企业必须参加,其他检测实验室遵循自愿原则参加。

1.2 方法

1.2.1 样品制备与检验

样品制备:能力验证样品为市场自购红景天,经筛选颜色、外观性状等无明显差异后,研磨过筛,制备红景天苷目标含量分别为0.80%、1.05%、1.40%、2.55%的样品A、B、C、D,充分混匀,按10.0 g/瓶用塑料瓶分装,分别编号A001—A100、B101—B200、C201—C300、D301—D400,粘贴标签。

样品检验:1)均匀性检验。从整批样品中随机抽取样品A、B、C、D各10份,按2020年版《中国药典(一部)》红景天含量测定项下方法测定^[7],平行操作2次。采用单因素方差分析法, $F_{\text{实验值}} < F_{\text{临界值}}$ 为满足要求,反之则为不满足要求。2)稳定性检验。以均匀性检验结果作为第1次结果,分别随机抽取在50℃下放置7 d后和回收

能力验证结果后的样品各3份,按均匀性检验项下方法检测,作为第2次和第3次稳定性检验结果。采用 t 检验法中“平均值一致性检验”法,与均匀性测试结果比较。 $t < t_{\alpha(n_1+n_2-2)}$,则判定样品在整个能力验证过程中稳定,反之则判定为不符合规定。

1.2.2 机构分组与样品发放

共117家实验室报名参加,其中111家来自药品生产企业,3家来自获资质认定第三方检测机构,2家来自药检机构,1家来自医院药剂科检验室。每家实验室赋唯一代码,后续样品分发与结果填报均以代码传递。随机分为两组,第一组代码为001—060,第二组代码为061—117。

向第一、第二组实验室分别发放样品A、B及样品C、D,作为样品对,样品均为统计样,由快递公司按标签要求的存储运输条件发送。参试实验室确认样品状态和收样时间后,发送回执和调查问卷,并在截止日期前按作业指导书要求报送检测结果。

1.2.3 检测方法

按2020年版《中国药典(四部)》通则0512与2020年版《中国药典(一部)》红景天含量测定项规定的方法和《红景天苷含量测定能力验证作业指导书》(简称《作业指导书》)进行测定,必要时需对所采用的方法进行验证。红景天苷含量(%)按干燥品计算,测试结果保留3位有效数字。

1.3 统计设计和评价

本次能力验证采用稳健技术统计处理检测结果,基于“结果对”的和与差值,以实验室间 Z 比分数(Z_B)和实验室内 Z 比分数(Z_W)评价每个实验室的检测结果。涉及统计量包括结果数(N)、中位值 med 、标准化四分位距($NIQR$)、稳健变异系数($Robust CV$)及 Z_B 和 Z_W ^[13-15],计算内容如下。

1)计算所有参加者的 S 和 D 。 $S = (A + B) / \sqrt{2}$; $D = (A - B) / \sqrt{2}$

2)计算 S 和 D 的中位值 $med(S)$ 、 $med(D)$ 和 $NIQR(S)$ 、 $NIQR(D)$ 。

3)计算 Z_B 和 Z_W 。 $Z_B = [S - med(S)] / [NIQR(S)]$; $Z_W = [D - med(D)] / [NIQR(D)]$

Z_B / Z_W 值代表实验室的 S / D 与 $med(S)$ 的偏离程度,反映了测试结果的系统/随机误差;并采用R语言制作尧敦图可视化;“+”“-”代表与 $med(S)$ 的偏离方向;由于采用加和的形式,因此 Z_B 值对结果偏离的反应较单个样品灵敏。 $|Z_W| \geq 3$ 表明2个结果的差值太大。对于“样品对”, $Z_B \geq 3.0$ 表明该样品对的两个结果均偏

高; $Z_B \leq -3.0$ 表明均偏低。 $|Z_B|$ 和 $|Z_W|$ 均不超过2.0及均不小于3.0时结果分别评定为满意、离群,其他情况评定为结果为可疑。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 样品检验

4个样品的均匀性和稳定性良好。详见表1和表2。

表1 样品均匀性检验数据(%)

Tab.1 Results of the uniformity test of samples (%)

样品	双样测定结果平均值		10份样品测定结果平均值	不均匀性标准偏差	$F_{\text{实验值}}$	$F_{\text{临界值}}$
	1	2	平均值			
A	0.770	0.765	0.768	0.005 3	1.08	3.02
B	1.05	1.06	1.06	0.006 9	1.25	
C	1.36	1.36	1.36	0.023	2.08	
D	2.50	2.53	2.52	0.023	1.57	

表2 样品稳定性检验数据表(%, $n = 2$)

Tab.2 Results of the stability test of samples (%, $n = 2$)

样品	值1	值2	值3	$t_{1,2}$	$t_{1,3}$	$t_{a(n_1 + n_2 - 2)}$
A	0.768	0.783	0.780	1.32	1.05	2.06
B	1.06	1.05	1.04	1.33	1.83	
C	1.36	1.34	1.38	1.10	1.08	
D	2.52	2.55	2.54	1.76	1.06	

2.2 能力验证

2.2.1 实验室来源分布

除编码088和111外的115家实验室报告检测结果,绝大多数来自药品生产企业。详见图1。

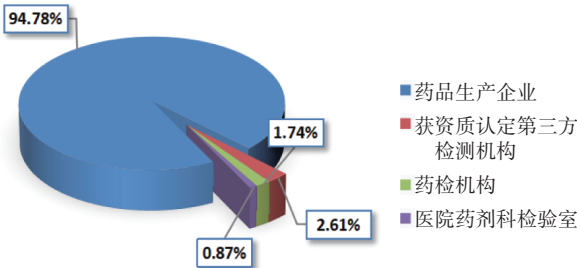


图1 参加实验室来源分类

Fig.1 Source classification of participating laboratories

2.2.2 检测含量

分析115家报送结果,包括统计样品的结果数,指定值(X)及其不确定度,能力评定标准差, CV ,以及 X 的最小值($X_{\min}$)、最大值($X_{\max}$)和极差(R),详见表3。用Origin 2021统计软件对报送的红景天苷含量测定结果(%)进行分析。结果4个样品均呈正态分布, med 分别为0.758%,1.02%,1.34%,2.51%,且与样品均匀性检验结果无显著差异。详见图2。

2.2.3 结果满意程度

药品生产企业满意实验室远低于其他来源实验

表3 含量检测结果统计

Tab.3 Results of content determination of salidroside

参数	样品A	样品B	样品C	样品D
结果数(个)	60	60	55	55
med (%)	0.759	1.02	1.34	2.51
$NIQR$ (%)	0.059	0.073	0.096	0.14
CV (%)	7.77	7.16	7.19	5.46
$X_{\min}$ (%)	0.49	0.80	1.13	2.19
$X_{\max}$ (%)	1.19	1.50	2.20	4.61
R (%)	0.70	0.70	1.13	2.19

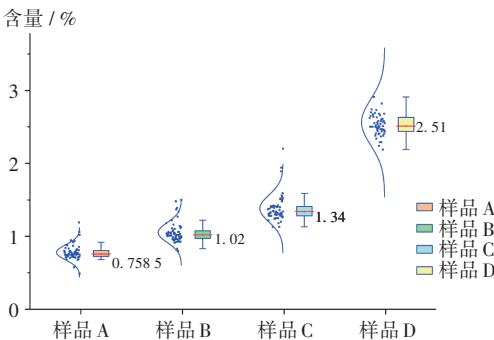


图2 红景天苷含量正态分布图

Fig.2 Normal distribution of salidroside content

表4 各实验室类型分类

Tab.4 Classification of laboratory types

实验室类型	总数(家)	满意(家)	可疑(家)	离群(家)	满意率(%)
药品生产企业	109	84	13	12	77.06
药检机构	2	2	0	0	100.00
获资质认定第三方检测机构	3	3	0	0	100.00
医院药剂科药检室	1	1	0	0	100.00

室。详见表4。各实验室中,90家满意(78.26%),13家(11.30%)可疑,12家(10.43%)离群;其中样品对AB的结果满意率为78.33%,样品对CD为78.18%。详见表5(#为可疑结果;*为离群结果)、图3。

2.2.4 技术分析

尧敦图见图4,图中内椭圆与外椭圆分别表示95%和99%概率的置信水平,内椭圆内、外椭圆外的数据点相当于 $|Z_{(B/W)}| < 2$ 或 > 3 的值。5家机构的结果在内外椭圆及非重叠区内,4家处于外椭圆外的右上象限,说明该机构存在系统性正偏离,1家机构的结果处于外椭圆外的左上象限,说明改机构存在随机性正偏离^[16-17]。

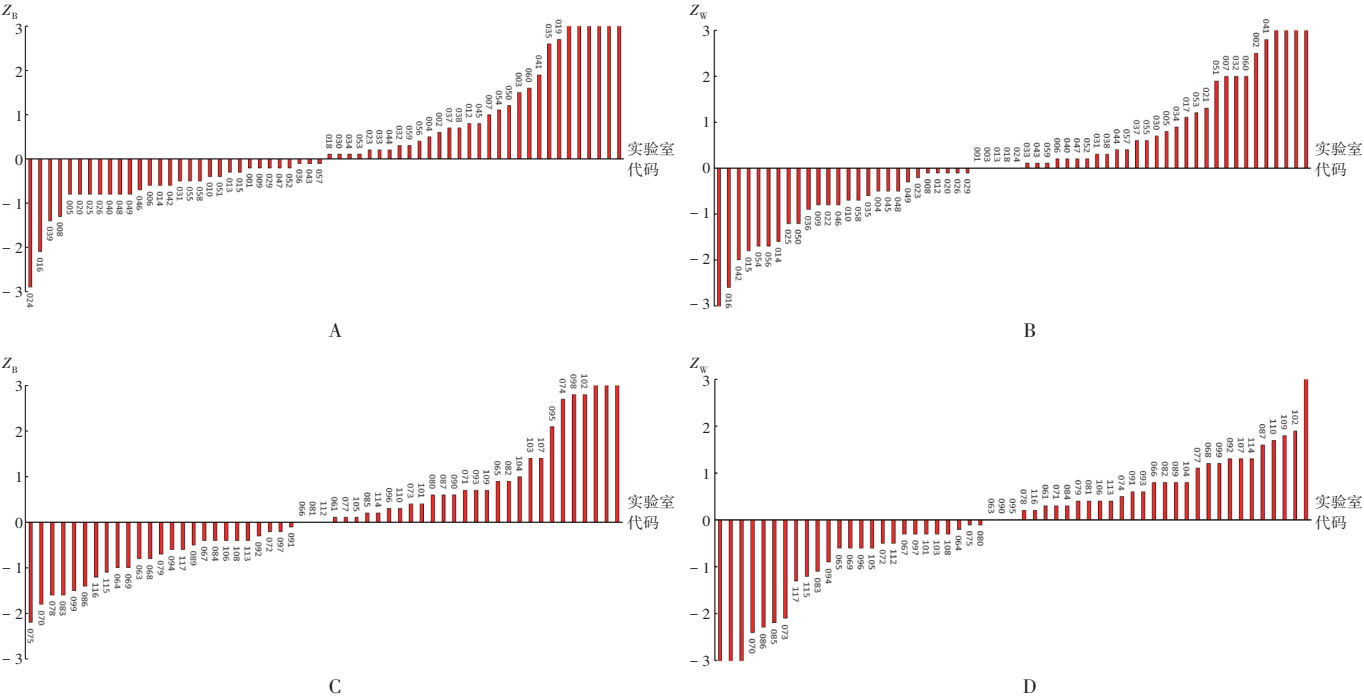
3 讨论

分析不满意实验室提交的报告和相关记录,其产生不满意结果的原因如下。1)本次能力验证采用高效液相色谱法,系统适用性试验对检测结果的准确性起到决定性影响,此次考核共有11家实验室因系统适用

表 5 Z_B 和 Z_W 统计结果

Tab. 5 Data of Z_B and Z_W

实验室代码	Z_B	Z_W	实验室代码	Z_B	Z_W	实验室代码	Z_B	Z_W	实验室代码	Z_B	Z_W	实验室代码	Z_B	Z_W
001	-0.23	-0.02	024	-2.91 [#]	-0.02	047	-0.16	0.16	070	-1.85	-2.45 [#]	094	-0.65	-0.93
002	0.58	2.48 [#]	025	-0.81	-1.19	048	-0.83	-0.53	071	0.70	0.34	095	2.10 [#]	0.00
003	1.50	0.00	026	-0.79	-0.13	049	-0.78	-0.33	072	-0.20	-0.51	096	0.35	-0.59
004	0.50	-0.53	027	4.04 [#]	3.14 [*]	050	1.16	-1.23	073	0.45	-2.11 [#]	097	-0.20	-0.34
005	-0.80	0.81	028	4.51 [#]	5.68 [*]	051	-0.37	1.86	074	2.70 [#]	0.51	098	2.85 [#]	-5.14 [*]
006	-0.65	0.22	029	-0.18	-0.11	052	-0.17	0.18	075	-2.25 [#]	-0.10	099	-1.50	1.18
007	0.98	1.99	030	0.06	0.68	053	0.13	1.16	076	11.39 [*]	16.02 [*]	100	3.55 [*]	-3.12 [*]
008	-1.34	-0.10	031	-0.48	0.27	054	1.08	-1.70	077	0.15	1.10	101	0.45	-0.25
009	-0.23	-0.78	032	0.34	2.02	055	-0.54	0.62	078	-1.60	0.17	102	2.80 [#]	1.85
010	-0.41	-0.70	033	0.19	0.10	056	0.40	-1.68	079	-0.75	0.42	103	1.40	-0.34
011	4.31 [*]	6.73 [*]	034	0.13	0.86	057	-0.10	0.37	080	0.65	-0.10	104	1.00	0.84
012	0.78	-0.14	035	2.59 [#]	-0.62	058	-0.52	-0.67	081	-0.05	0.42	105	0.15	-0.59
013	-0.29	-0.05	036	-0.10	-0.88	059	0.34	0.11	082	0.95	0.76	106	-0.45	0.42
014	-0.61	-1.59	037	0.72	0.60	060	1.62	1.97	083	-1.65	-1.10	107	1.40	1.35
015	-0.35	-1.85	038	0.72	0.30	061	0.10	0.34	084	-0.40	0.34	108	-0.40	-0.34
016	-2.12 [#]	-2.56 [#]	039	-1.39	5.84 [*]	062	5.05 [*]	-5.82 [*]	085	0.20	-2.19 [#]	109	0.75	1.77
017	4.59 [*]	1.07	040	-0.82	0.16	063	-0.80	0.00	086	-1.45	-2.28 [#]	110	0.30	1.69
018	0.08	0.00	041	1.87	2.75 [#]	064	-1.00	-0.17	087	0.65	1.60	112	0.00	-0.51
019	2.70 [#]	-4.03 [*]	042	-0.61	-1.99	065	0.95	-0.59	089	-0.55	0.76	113	-0.45	0.42
020	-0.81	-0.14	043	-0.13	0.10	066	0.00	0.84	090	0.60	0.00	114	0.20	1.35
021	3.36 [*]	1.32	044	0.17	0.45	067	-0.45	-0.25	091	-0.15	0.59	115	-1.10	-1.18
022	6.33 [*]	-0.84	045	0.82	-0.54	068	-0.80	1.18	092	-0.35	1.26	116	-1.20	0.17
023	0.19	-0.22	046	-0.65	-0.81	069	-1.05	-0.59	093	0.75	0.59	117	-0.60	-1.35



A,B. 样品A及样品B C,D. 样品C和样品D

图3 Z 比分数柱状图

A,B. Samples A and B C,D. Samples C and D

Fig. 3 Bar charts of Z - score

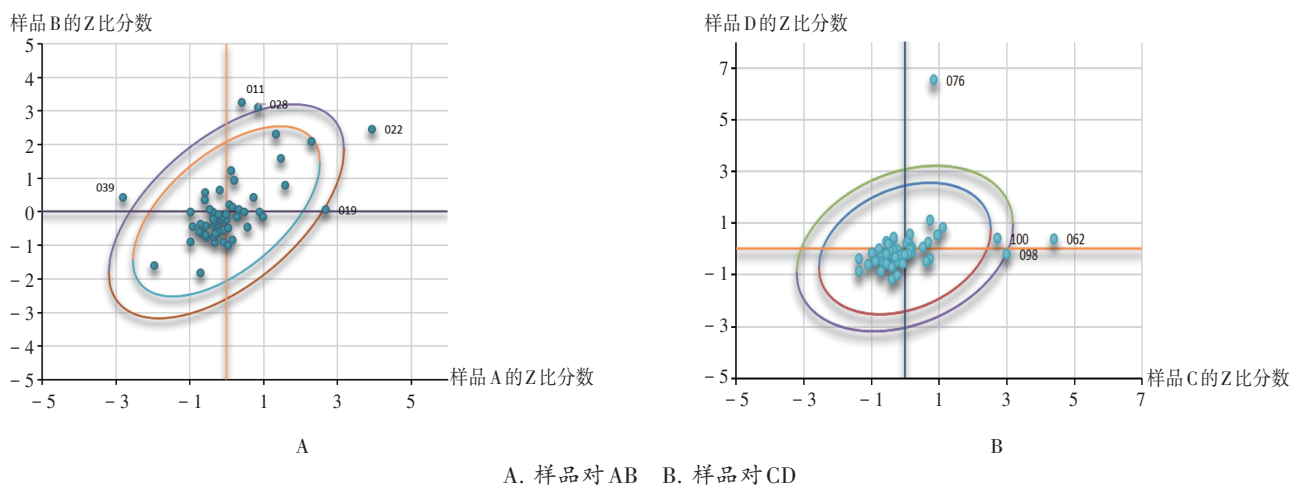


图4 尧敦图

A. Sample pair AB B. Sample pair CD

Fig. 4 Youden plot

性试验不满足2020年版《中国药典(四部)》通则0512的要求导致结果不满意。其中9个实验室的原始记录中色谱峰分离度小于1.5,2个实验室的色谱峰理论板数小于规定值(2 000),3个实验室色谱峰拖尾因子小于0.95,1个实验室色谱峰拖尾因子大于1.05。2)未严格按照《作业指导书》及相关要求进行检测。2020年版《中国药典(一部)》红景天含量测定项规定的进样体积为10 μL ,3个实验室进样体积为5 μL ,1个实验室对照品溶液仅使用2次进样结果进行定量分析。3)未严格按照《作业指导书》要求出具结果,数字修约概念模糊。《作业指导书》要求保留3位有效数字,4个实验室实际保留了4位有效数字。4)试验室系统误差导致不满意。16个实验室 $|Z_w| \geq 2$,表明实验室内人员操作误差导致检测结果偏离。影响红景天苷含量测定结果的因素包括人员、设备、环境条件等,除对以上环节进行控制外,实验室应在样品检测过程中进行适当的质控,如采取质控样、人员比对、仪器比对、回收率等方式。

本次能力验证结果表明,大部分参测实验室具备红景天苷含量测定的检测能力,少数实验室检测能力较差。药品生产企业要不断加强检测人员的综合业务技能的培训,重视方法验证、随行质控样及原始记录的重要性,确保检测数据的溯源性及准确可靠性。建议相关实验室启动偏差调查程序,建立相应的纠正预防措施,不断提升内部质量控制及质量管理水平。同时,应该加强人员培训和人员能力的持续确认,确保人员能力符合要求并得到持续提升,在日常工作中严格按照作业指导及相关要求完成检验检测。

参考文献

[1] 高贝贝,鲁同所,张弘尧. 红景天属植物研究进展[J]. 中华中医药杂志,2023,38(8):3740-3743.

- [2] 南星梅,于洋,杨进,等. 唐古特红景天化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中草药,2023,54(16):5433-5441.
- [3] 王笑妍,李玫,沈志纲,等. 红景天苷药理作用研究进展[J]. 中成药,2022,44(12):3932-3935.
- [4] 王彤,苏鑫. 红景天苷药理作用研究进展[J]. 内蒙古中医药,2018,37(2):102-104.
- [5] 吴秀专,毕晓华,王燕芳,等. 红景天苷药理作用研究进展概述[J]. 中国药师,2018,21(8):1460-1462.
- [6] 李春宇,付岩松,李腾越,等. 红景天苷的最新研究进展[J]. 吉林医药学院学报,2018,39(3):223-225.
- [7] 杨海燕,郭书台,张志鹏,等. 红景天标准汤剂及配方颗粒高效液相色谱特征图谱研究[J]. 中国药业,2023,32(6):47-50.
- [8] 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,2020:61.
- [9] CNAS-GL02,能力验证结果的统计处理和评价指南[S].
- [10] CNAS-GL03,能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S].
- [11] GB/T 28043-2019,利用实验室间比对进行能力验证的统计方法[S].
- [12] GB/T 27043-2012/ISO/IEC 17043:2010,合格评定能力验证的通用要求[S].
- [13] 肖璜,戴翬,周发友,等. 基于板蓝根颗粒需氧菌总数计数的药品微生物检测能力验证研究[J]. 中国药业,2021,30(13):60-63.
- [14] 寻延滨,敖红光,刘利群,等. 关于药品检验能力验证Z比分数判定方法改进的探讨[J]. 中南药学,2023,21(10):2784-2786.
- [15] 李玲,朱爱丽,荆知敏. 从实验室间比对和能力验证分析基层药检机构的发展[J]. 中国药事,2022,36(11):1239-1245.
- [16] 黄欢,张哲,张春艳. 土壤中铅含量的测定能力验证结果分析[J]. 化学分析计量,2021,30(11):85-89.
- [17] 赵燕君,田霖,仪忠勋,等. 我国15家检验检测机构洁净环境风速检测能力验证[J]. 中国药业,2023,32(18):77-80.

(收稿日期:2023-11-15;修回日期:2024-06-27)