

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.04.08

费休氏法水分测定的兽药检测实验室能力验证

戴 青, 杨秀玉, 赵 晖, 王 轩, 韩宁宁*

(中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2020-01-29 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 04-0047-05 [中图分类号] S859.79

[摘 要] 为进一步加强兽药检测机构能力建设, 提升兽药检验水平, 确保兽药检验质量, 组织了兽药检测实验室等相关机构开展费休氏法水分测定能力验证。依据《中国兽药典》2015 年版一部附录 0832 第一法容量滴定法以及中国合格评定国家认可委员会 (CNAS) 规定的程序进行本次能力验证。采用单因子方差分析对制备的测试样品进行均匀性检验, 采用 t 检验对样品进行稳定性考察, 采用 Z 比分数评价各参加实验室的测试结果, 以理论计算值作为指定值。报告检测结果的 50 家兽药检测实验室中, 39 家的结果为满意, 4 家结果有问题, 7 家结果为不满意。通过研究, 制备了均匀性和稳定性均符合能力验证要求的测试样品, 并采用适当的统计方法评估了兽药检测实验室的水分检测能力。

[关键词] 费休氏法水分测定; 能力验证; Z 比分数

Laboratory Proficiency Testing of Veterinary Drug Inspection for Moisture Determination by Karl Fischer Method

DAI Qing, YANG Xiu-yu, ZHAO Hui, WANG Xuan, HAN Ning-ning*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: HAN Ning-ning, E-mail: hnn19841001@126.com

Abstract: In order to further strengthen the capacity building of veterinary drug testing institutions, improve veterinary drug testing level, and ensure veterinary drug testing quality, veterinary drug testing and other relevant institutions were organized to carry out the proficiency testing of water determination ability of Karl Fischer method. This proficiency testing was carried out according to the volumetric titration method of appendix 0832 of the Chinese Veterinary Pharmacopoeia (2015 edition) and the procedure prescribed by China National Accreditation Service for Conformity Assessment (CNAS). The homogeneity of the samples was tested by one-way ANOVA, and the stability of the samples was examined by t -test which met the requirements. The Z -score was used to evaluate the test results of the participating laboratories. The theoretical calculated values were used as the specified values. Of the 50 veterinary drug testing laboratories that reported the results, 39 laboratories were

作者简介: 戴 青, 硕士, 从事抗生素检验检测工作。

通讯作者: 韩宁宁。E-mail: hnn19841001@126.com

problematic, 4 laboratories were problematic and 7 laboratories were unsatisfactory. Through the research, homogeneous and stable test samples were prepared, and the water detection ability of veterinary drug testing system laboratory was evaluated by appropriate statistical methods.

Key words: moisture determination; proficiency testing; Z -score

水分是兽用药品检验中常见的检测项目,在药品检测领域有着广泛的应用,检测实验室进行水分测定的水平可以客观地、较有代表性地反映出该实验室的药品检测能力。目前,费休氏法是测定药物和液体化学试剂中水分含量最常用的方法^[1-2]。药品中水分测定的影响因素较多,需要较高的技术能力^[3]。

能力验证是实验室质量保证体系中的一个重要组成部分^[4]。参加能力验证活动是评价实验室检测水平,锻炼人员技术能力,促进实验室认可和国际交流的重要手段^[5-6]。在检测和校准实验室的国家认可制度中对实验室参加能力验证并取得满意结果提出了明确要求^[7]。本次研究通过组织费休氏法水分测定的能力验证计划可以使参加实验室识别实验室间存在的差异,促进实验室共同提高水平。本研究对中国 50 家兽药检测机构的水分测定能力进行测试,其中省级兽药检测机构 29 家,第三方检测机构 3 家,兽药企业 18 家,研究水分测定能力验证的样品制备、均匀性与稳定性、结果统计、能力评价等情况,并对测试结果进行讨论。

1 材料与方法

1.1 材料 卡氏水分仪(701KF 型,瑞士万通公司);费休氏试液(分析纯,Fluka 公司);无水甲醇(分析纯,Honeywell 公司);液体水分标准物质(来源/标准值/批号:中国计量科学研究院/1.000%/201801)。

1.2 方法

1.2.1 样品制备 经调研,中国计量科学研究院的液体水分标准物质是由高纯度有机试剂(包括丁醇和二甲苯等)加入去离子水制成的混合溶液^[8]。丁醇和二甲苯沸点均高于 100 ℃,性质稳定,不易挥发,向其中再定量添加去离子水,配制成本次能力验证的样品,即可有效保证样品的均一稳定。因

此,购买了同一批次的液体水分标准物质,将去离子水定量添加至上述溶液中,混合均匀,在 25 ± 2 ℃、相对湿度 $\leq 50\%$ 的环境下分装至棕色安瓿,即制得本次能力验证样品。采用上述方法配制两批能力验证样品,其水分值分别为 2.41% (低浓度)和 3.62% (高浓度)(其水分值为通过计算精密称定加入的去离子水重量和标准物质重量而得的理论计算值)。提供给各参加单位样品 A 和样品 B 各一支(每支装量均约为 1.5 mL),采用棕色安瓿包装。

1.2.2 样品均匀性和稳定性考察 从两组能力验证样品中各随机抽取 10 支进行均匀性检验,每支测定两次。为考察样品的稳定性,在正式制备本次能力验证的样品前,配制两份小试样品(计算理论值分别为 2.57% 和 3.52%)各 10 支,分别用于考察样品在高湿环境和高温环境下的稳定性。为考察开封后的样品对高湿环境的耐受性,将小试样品(计算理论值为 2.57%)开封后,放置于实验室允许的最大湿度(相对湿度 70%)条件下,分别放置 10、30、60 min 后测定。为考察样品对运输过程中高温的耐受性,将小试样品(计算理论值为 3.52%)放置于可能接触到的最高温度(40 ℃)下,分别放置 3、5、7 d 后测定。

1.2.3 评定方法及标准 根据 CNAS-GL002《能力验证结果的统计处理和能力评价指南》要求,采用稳健统计法计算各参加实验室的 Z 值^[9]。本次能力验证的样品为将去离子水定量添加至液体水分标准物质中配制而得,具有理论计算值,为保证指定值具有更小的不确定度,将该理论计算值作为指定值(X)。采用标准化四分位距(NIQR)作为变动性度量值(目标标准偏差)。将各实验室报告的两种样品的各两次测定结果计算平均值作为实验室测试结果(x),根据以下公式计算实验室 Z 比分数。

$$Z = (x - X) / \text{NIQR}$$

以 Z 比分数评价各实验室结果,即:若同一实验室两份样品的 Z 比分数均满足 $|Z| \leq 2$,检测结果为满意结果;若同一实验室两份样品的 Z 比分数有 1 个或两个满足 $2 < |Z| < 3$,检测结果为有问题;若同一实验室两份样品的 Z 比分数有 1 个或两个满

足 $|Z| \geq 3$,检测结果为不满意结果或离群值。

2 结果与分析

2.1 样品均匀性结果 采用单因子方差分析法计算统计量 F 值(表 1),两种样品的 F 值均小于给定显著性水平 $\alpha = 0.05$ 时的临界值 $F_{0.05(9,10)}$,表明两种样品的均匀性均符合要求。

表 1 能力验证样品均匀性考察结果表

Tab 1 Results of homogeneity test of proficiency testing samples								
样品理论值	$\bar{X}$	n	ms_1	ms_2	f_1	f_2	F	$F_{0.05(9,10)}$
2.41%	2.41	20	2.006×10^{-4}	3.050×10^{-5}	9	10	2.470	3.02
3.62%	3.62	20	1.383×10^{-4}	3.250×10^{-4}	9	10	0.426	3.02

2.2 样品稳定性结果 采用单一样本 t 检验的方法对测定结果的平均值与计算理论值(2.57%)进行比较(表 2 – 表 5),结果显示 t 值小于查表值,二者无显著性差异,表明样品对高温和高湿环境耐受性良好。

表 2 小试样品高湿环境耐受性测定结果

Tab 2 Results of high humidity environmental tolerance test of small samples			
小试样品 (计算理论 值为 2.57%)	相对湿度 70% 放置 10 min	相对湿度 70% 放置 30 min	相对湿度 70% 放置 60 min
	样品水分值	样品水分值	样品水分值
样品 1	2.57%	2.57%	2.59%
样品 2	2.57%	2.57%	2.58%

表 5 小试样品高温环境测定结果的单一样本 t 检验

Tab 5 t – test for determination results of high temperature environment of small samples					
$\bar{X}$	μ	n	s	t	$t_{0.05(5)}$
3.52	3.52	6	1.03×10^{-2}	0.722	2.571

2.3 能力验证结果 以实验室 Z 比分数柱状图表示各参加实验室 Z 值(图 1 – 图 2)。在 Z 比分数的统计中,有 39 家的结果为满意,有 4 家的结果有问题,7 家的结果为不满意或离群值,各占总数的 78.0%、8.0%、14.0%。

对参加能力验证的省级兽药检测机构、兽药企业及第三方检测机构的结果进行了对比(图 3),发现省级兽药检测机构的满意率(93.1%)高于兽药企业(61.1%)。这表明省级兽药检测机构整体具有较高水平的检测能力,同时应注意加强对企业进行相关检测项目的培训与指导。

表 3 小试样品高湿环境测定结果的单一样本 t 检验

Tab 3 t – test for determination results of high humidity environment of small samples					
$\bar{X}$	μ	n	s	t	$t_{0.05(5)}$
2.58	2.57	6	7.12×10^{-3}	1.920	2.571

表 4 小试样品高温环境耐受性测定结果

Tab 4 Results of high temperature environmental tolerance test of small samples			
小试样品 (计算理论 值为 3.52%)	40 ℃ 放置 3 d	40 ℃ 放置 5 d	40 ℃ 放置 7 d
	样品水分值	样品水分值	样品水分值
样品 1	3.51%	3.51%	3.53%
样品 2	3.51%	3.53%	3.51%

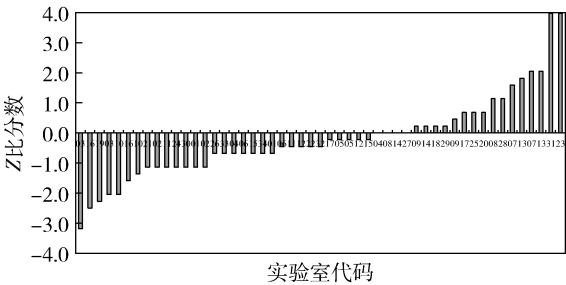


图 1 低浓度组(2.41%)各实验室 Z 比分数分布图
Fig 1 Distribution of Z – score of laboratories in 2.41% sample groups

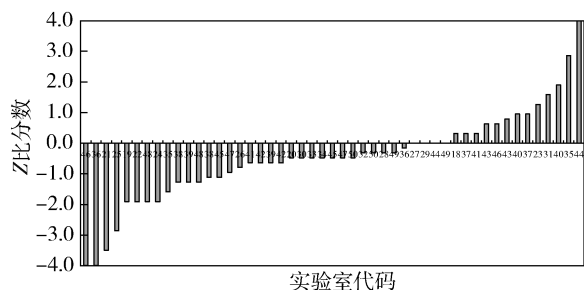


图2 高浓度组(3.62%)各实验室Z比分数分布图

Fig 2 Distribution of Z-score of laboratories in 3.62% sample groups

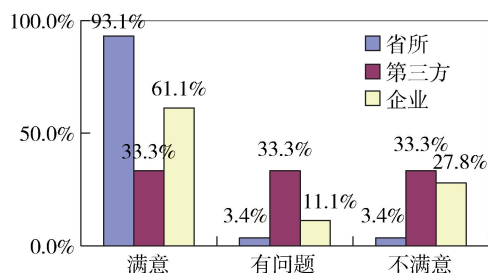


图3 各检测机构满意率对比

Fig 3 Comparisons of satisfaction rates among testing institutions

3 讨论与结论

《中国兽药典》一部附录 0832 第一法 A 规定^[10]:精密称定纯化水后用水分测定仪进行标定,标定过程应精密称取纯化水 10 mg ~ 30 mg。水分标定所得 F 值的相对平均偏差越小,表明仪器状态越稳定^[11]。实验室在日常检验过程中应对水分标定这一关键步骤加强重视。药典凡例中明确规定:“精密称定”系指称取重量应准确至所取重量的千分之一。由此可推算而得:精密称取纯化水的操作应使用感量为十万分之一的天平,即读数至 0.01 mg。有 16 家实验室使用了感量为万分之一的天平,未达到精密称定的要求,有 3 家实验室未按照作业指导书要求操作,称取水分重量小于 10 mg。上述两种操作均会导致纯化水取样量不准确,从而使测定结果的不准确性增大^[12]。

费休氏试液滴定度太低或太高对滴定的准确性也有一定的影响^[13]。当滴定度较低时,需要消

耗大量的滴定液,使滴定时间延长,在滴定过程中也可能更多地引入空气中的水分,从而影响结果的准确性;滴定度太高有可能使消耗的滴定液过少,滴定体积的微量变化就可能影响结果,造成偏差。

本研究首次对中国 50 家兽药检测机构的水分测定能力进行了测试,为了能更真实、更全面地反映出各单位的实际检测能力,本次能力验证采用当前国际上主要实验室认可机构最常用的实验室间检测能力验证方法——分割水平检测样品进行,既能客观地评价实验室系统误差,也能客观地评价实验室随机误差,更有利于分析查找结果异常产生的原因。通过稳健统计法计算各参加实验室的 Z 值,测试结果的满意率为 78.0%,表明国内大部分兽药检测实验室具备水分检测能力,并客观地反映出各参加实验室的检测水平,推动实验室检测技术和实验室管理水平等方面的进一步提高,对促进行业检验检测工作高质量发展具有重要意义。

参考文献:

- [1] Corredor C C, Bu D S, Both D. Comparison of near infrared and microwave resonance sensors for at-line moisture determination in powders and tablets [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 696: 84-93.
- [2] Krasucka D M, Kos K, Cybulski W A. Karl Fisher determination of residual moisture in veterinary vaccines - practical implementation in market monitoring [J]. *Acta Pol Pharm*, 2012, 69(6): 1364-1367.
- [3] 陆明,沈漪,孙梦宇,等.药品中水分测定的实验室能力验证[J].*药物分析杂志*, 2014, 34(12): 2235-2239.
Lu M, Shen Y, Sun M Y, et al. Laboratory proficiency testing for moisture determination in pharmaceuticals [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2014, 34(12): 2235-2239.
- [4] 陈茵茵,陈科.浅谈食品药品检验检测机构开展能力验证的质量控制[J].*食品与发酵科技*, 2018, 54(3): 97-100.
Chen Y Y, Chen K. Discussion on the quality control of the ability verification of the food and drug inspection and testing organization [J]. *Food and Fermentation Sciences & Technology*, 2018, 54(3): 97-100.
- [5] 戴妙妙,马红青,王婷婷,等.浅析实验室能力建设中的能力验证提供者认可[J].*标准科学*, 2017, 54(1): 53-55.
Dai M M, Ma H Q, Wang T T, et al. Study on proficiency testing provider accreditation in laboratory capacity building [J].

- Standard Science, 2017, 54(1): 53–55.
- [6] Patricia M, Alfredo U. Accreditation: A challenge for a research laboratory [J]. Mol Genet Metab, 2019, 126: 102.
- [7] Macchi S V V, Ribeiro J L D. Obtaining laboratory accreditation-required activities [J]. Int J Health Care Qual Assur, 2019, 32: 71–83.
- [8] Wang H F, Ma K, ZHANG W, *et al.* Production of three certified reference materials for water content based on mixed solutions of butanol, xylene and propylene carbonate [J]. Accred Qual Assur, 2012, 17: 589–596.
- [9] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS – GL002:能力验证结果的统计处理和能力评价指南. 2018 [Z].
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS – GL002: Guidance on statistic treatment of proficiency testing results and performance evaluation[Z]. 2018.
- [10] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典一部 2015 年版[S].
Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. The First Volume of Chinese Veterinary Pharmacopoeia 2015 Edition [S].
- [11] Zhi X T, Wang H F, Liu B J, *et al.* Determination of water content of nitrogen containing hydrogen sulfide by Karl Fischer coulometric titration [J]. Anal Sci, 2019, 35: 777–782.
- [12] Almeida F C, Biazon C L, Oliveira E C. Uncertainty evaluation and validation of the test specimen size reduction in the determination of water content in crude oils by coulometric Karl Fischer titration [J]. Petrol Sci Technol, 2017, 35: 1135–1140.
- [13] Carrie M C, Joseph C N, Rodney A K, *et al.* The use of a custom – built coulometric Karl Fischer instrument for the determination of water content in chocolate [J]. Food Anal Method, 2015, 8:929–936.

(编辑:李文平)