doi:10.11751/ISSN.1002 - 1280.2021.7.05

溶液 pH 值测定的兽药检测实验室能力验证

戴 青,韩宁宁,王 轩,范 强*

(中国兽医药品监察所,北京 100081)

[**收稿日期**] 2020 - 12 - 22　[**文献标识码**] A　[**文章编号**] 1002 - 1280 (2021) 07 - 0030 - 05 [**中图分类号**] S851.66

[**摘　要**]　为进一步提升实验室检测技术能力,加强实验室的质量管理,确保日常检验检测结果的准确性和可靠性,组织开展了全国省级兽药检验机构实验室间溶液 pH 值测定的能力验证。依据《中国兽药典》2015 年版一部附录 0631 pH 值测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,以稳健统计的中位值作为指定值。参加本次能力验证的 35 家兽药检测实验室结果均为满意,表明承担兽药监督抽检和风险监测任务的单位整体具有较强的检验检测能力。

[**关键词**]　pH 值测定;能力验证;*Z* 比分数

Laboratory Proficiency Testing of Veterinary Drug Inspection for Determination of pH Value of Solutions

DAI Qing, HAN Ning - ning, WANG Xuan, FAN Qiang*

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

Corresponding author: *FAN Qiang*, *E - mail*: *tcmfanqiang@126.com*

Abstract: In order to further improve the laboratory testing technology ability, strengthen the laboratory quality management, and ensure the accuracy and reliability of the daily test results, veterinary drug testing and other relevant institutions were organized to carry out the proficiency testing of pH value determination. This proficiency testing was carried out according to appendix 0631 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 median values of robust statistics were used as the specified values. The results of 35 veterinary drug testing laboratories participating in this proficiency test were all satisfactory. The results showed that the units undertaking the tasks of veterinary drug random inspection and risk monitoring had strong inspection and detection ability.

作者简介: 戴 青,硕士,从事抗生素检验检测工作。

通讯作者: 范 强。E - mail: tcmfanqiang@126.com

Key words: pH value determination; proficiency testing; Z - score

pH 值是溶液中氢离子浓度的负对数值,是衡量溶液酸、碱程度的指标[1],pH 值测定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 pH 值测定的水平可以客观反映出该实验室的药品检测能力。能力验证是利用实验室间比对,依据预先制定的准则评价参与者的能力,是外部质量评价与自我监控的结合,通过能力验证,可以帮助检验检测机构发现问题,提高检测能力和水平[2-3]。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的要求[4]。本研究对中国 35 家兽药检测机构的溶液 pH 值测定能力进行测试,其中省级兽药检测机构 29 家,市级兽药检测机构 2 家,第三方检测机构 3 家,兽药生产企业 1 家,并对测试结果进行讨论。

1 材料与方法

1.1 材 料 pH 计(HI9017 型,意大利 HANNA 公司);标准缓冲液(阿法埃莎化学有限公司)。

1.2 方 法

1.2.1 样品制备 经调研,阿法埃莎化学有限公司生产的标准缓冲液性质稳定,可溯源至美国国家标准与技术研究院(NIST)的标准物质。因此,将市售阿法埃莎公司生产的 pH 4.01 与 pH 6.86 两种标准缓冲液按照不同比例混合均匀,制备两种不同 pH 值的样品,在 25 ±2 ℃、相对湿度≤50% 的环境下分装至安瓿,每支装量约为 15 mL,熔封,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,样品 pH 值分别约为 5.21 与 5.74,提供给各参加单位样品 A 和样品 B 各一支。

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,每支样品在重复性条件下测定两次。为考察环境温度对 pH 值测定的影响,分别将两组样品在 15、25、30 ℃环境中放置 120 min,然后分别在该温度环境下测定溶液的 pH 值。为考察样品对运输过程中高温的耐受性,将两组样品放置于 50 ℃下,分别放置 1、3、5、7、14 d 后测定。为考察样品对高湿环境的耐受性,将每组样品开封后,放置于相对湿度 80% 条件下,分别放置 1、3、5、7、14 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[5]。本次能力验证采用稳健统计的中位值作为指定值(X),其能力评定标准差(σ)为 0.03,该值由专家实验室测定结果的重复性标准差与再现性标准差合并计算而得[6-7]。将各单位报告的两种样品的各三次测定结果平均值作为其测试结果(x),根据以下公式计算实验室 Z 比分数。

$$Z=(x-X)/\sigma$$

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 $|Z|\leqslant 2$,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 $|Z|\geqslant 3$,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	$\bar{x}$	n	ms_1	ms_2	f_1	f_2	F	$F_{0.05(9,10)}$
pH 5.21 样品	5.22	20	4.222×10^{-5}	3.000×10^{-5}	9	10	1.41	3.02
pH 5.74 样品	5.74	20	8.944×10^{-5}	4.500×10^{-5}	9	10	1.99	3.02

2.2　样品稳定性结果　采用单一样本 t 检验的方法对高温、高湿条件测定结果的平均值与第 0 天均匀性检验样品测定结果进行比较(表 2 ~ 表 6),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。根据 $|\bar{X}-\bar{Y}| \leqslant 0.3\sigma$ 准则,15 ℃和 30 ℃环境下的测定结果较 25 ℃测得结果相差均不超过 0.01,本次能力验证的标准差为 0.03,测定结果的差值不大于 0.3 倍标准差,因此在 15 ℃至 30 ℃环境下测得的结果均是可靠的,无明显差异。

表 2　不同环境温度下样品 pH 值测定结果

Tab 2　Results of pH value of samples at different ambient temperatures

样品	15 ℃放置 120 min 样品 pH 值	25 ℃放置 120 min 样品 pH 值	30 ℃放置 120 min 样品 pH 值
pH 5.21 样品 1	5.22	5.21	5.21
pH 5.21 样品 2	5.22	5.22	5.21
pH 5.74 样品 1	5.74	5.74	5.73
pH 5.74 样品 2	5.75	5.75	5.74

表 3　样品高温环境耐受性测定结果

Tab 3　Results of high temperature environmental tolerance test of samples

样品	50 ℃放置 1 d 样品 pH 值	50 ℃放置 3 d 样品 pH 值	50 ℃放置 5 d 样品 pH 值	50 ℃放置 7 d 样品 pH 值	50 ℃放置 14 d 样品 pH 值
pH 5.21 样品 1	5.22	5.22	5.21	5.21	5.22
pH 5.21 样品 2	5.21	5.22	5.21	5.21	5.21
pH 5.74 样品 1	5.74	5.75	5.75	5.75	5.75
pH 5.74 样品 2	5.73	5.75	5.75	5.74	5.75

表 4　样品高温环境测定结果的单一样本 t 检验

Tab 4　T – test for determination results of high temperature environment of samples

	x_1	x_2	n_1	n_2	s_1	s_2	t	$t_{0.05(28)}$
pH 5.21 样品	5.216	5.214	20	10	5.98×10^{-3}	5.16×10^{-3}	0.901	2.048
pH 5.74 样品	5.742	5.746	20	10	8.13×10^{-3}	6.99×10^{-3}	1.327	2.048

表 5　样品高湿环境耐受性测定结果

Tab 5　Results of high humidity environmental tolerance test of samples

样品	相对湿度 80% 放置 1 d 样品 pH 值	相对湿度 80% 放置 3 d 样品 pH 值	相对湿度 80% 放置 5 d 样品 pH 值	相对湿度 80% 放置 7 d 样品 pH 值	相对湿度 80% 放置 14 d 样品 pH 值
pH 5.21 样品 1	5.21	5.22	5.22	5.22	5.23
pH 5.21 样品 2	5.22	5.21	5.21	5.23	5.22
pH 5.74 样品 1	5.75	5.75	5.75	5.74	5.74
pH 5.74 样品 2	5.74	5.75	5.74	5.74	5.75

表 6　样品高湿环境测定结果的单一样本 t 检验

Tab 6　T – test for determination results of high humidity environment of samples

	x_1	x_2	n_1	n_2	s_1	s_2	t	$t_{0.05(28)}$
pH 5.21 样品	5.216	5.219	20	10	5.98×10^{-3}	7.38×10^{-3}	1.198	2.048
pH 5.74 样品	5.742	5.745	20	10	8.13×10^{-3}	5.27×10^{-3}	1.056	2.048

2.3　能力验证结果　对 35 家实验室的结果进行数据统计(表 7),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,35 家实验室结果均为满意,满意率为 100% 。

表 7　检测结果统计量汇总表

Tab 7　Summary of test results statistics

样品	中位值	标准差	最大值	最小值	极差
pH 5.21 样品	5.21	0.03	5.24	5.18	0.06
pH 5.74 样品	5.74	0.03	5.79	5.69	0.10

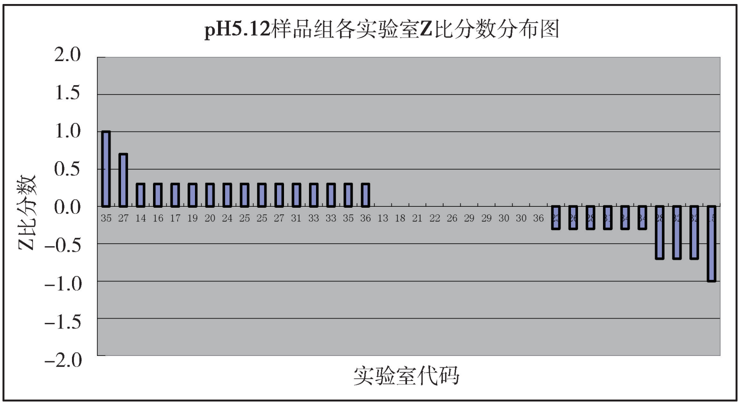

图 1　pH 5.21 样品组各实验室 Z 比分数分布图

Fig 1　Distribution of *Z* – score of laboratories in pH 5.21 sample groups

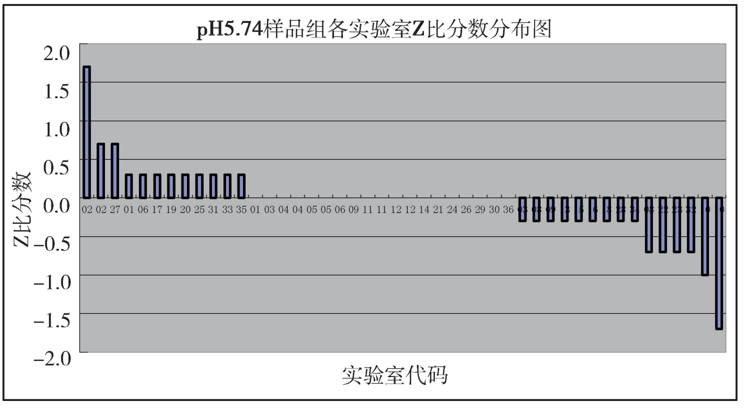

图 2　pH 5.74 样品组各实验室 Z 比分数分布图

Fig 2　Distribution of *Z* – score of laboratories in pH 5.74 sample groups

3　讨论与结论

《中国兽药典》一部附录 0631 规定[8]:测定前应选择两种 pH 值约相差 3 个 pH 单位的标准缓冲液对 pH 计进行校正,仪器显示值与标准缓冲液规定值不能大于 0.02,并使供试品的 pH 值处于二者之间。根据各实验室返回的结果报告单,所有参加实验室均对 pH 计进行了校正。标准缓冲液一旦打开,需在短期内使用完毕,实验室对标准缓冲液进行合理的贮存,如发现有浑浊、发霉或沉淀等现象时,不能继续使用。pH 计属于精密仪器,是国家实行强制检定的计量器具之一,规定每年应进行计量检定。

标准缓冲液在不同温度下测得的 pH 值是不同的,因此测定待测溶液时,其温度应与校正用标准缓冲液保持一致,否则会影响结果的准确性。本次能力验证重点考察环境温度对 pH 值测定的影响,

试验表明在 15 ℃至 30 ℃环境下测得的结果无明显差异。样品混匀后,取出适量,用于测定,每次更换标准缓冲液或供试品之前,均应用纯化水充分淋洗电极,然后用滤纸吸干,再将电极浸入待测溶液中进行测定。在测定 pH 值时,最好将电极在待测溶液中平衡 10 ~ 20 min 后再测量读数,以减少测量误差。仪器的使用、维护、校准、环境温湿度控制、电极的清洗等都是测量准确的前提条件,各实验室应根据自身情况按照要求制定自己的标准操作细则。

本研究首次对中国 35 家兽药检测机构的溶液 pH 值测定能力进行了测试,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 100% ,表明承担兽药监督抽检和风险监测任务的单位具有较高的溶液 pH 值测定能力。各检测机构应进一步完善质量管理,加强基础理论与实操培训,确保检验结果的准确性,不断提高实验室检测技术和实验室管理水平,为行业发展提供有力支撑。

参考文献:

[1] 李可人,姜佳君,张 弛,等. 不同种类食品中 pH 值测定方法[J]. 吉林农业, 2017(14): 106.
Li K R, Jiang J J, Zhang C, *et al*. Determination of pH value in different kinds of food [J]. Agriculture of Jilin, 2017(14): 106.

[2] 丁有学,秦 玺,张河战,等. 重组蛋白溶液 pH 测定的能力验证结果分析[J]. 中国药师,2019, 22(9): 1722 - 1724.
Ding Y X, Qing X, Zhang H Z, *et al*. Proficiency testing analysis of the pH determination of recombinant protein solution [J]. China Pharmacist, 2019, 22(9): 1722 - 1724.

[3] 徐 璐,夏应菊,张乾义,等. 猪瘟病毒抗体 ELISA 检测国家级能力验证结果与分析[J]. 畜牧兽医学报, 2020, 51(9): 2250 - 2256.
Xu L, Xia Y J, Zhang Q Y, *et al*. Analysis of national proficiency testing program for classical swine fever virus antibody detection by ELISA [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2020, 51(9): 2250 - 2256.

[4] Macchi S V V, Ribeiro J L D. Obtaining laboratory accreditation - required activities [J]. Int J Health Care Qual Assur, 2019, 32: 71 - 83.

[5] 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. [Z].
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS - GL002: Guidance on Statistic Treatment of Proficiency Testing Results and Performance Evaluation [Z].

[6] 赵新玥,赵 文,陈 华. pH 测定检验能力验证及评价新方法的应用[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(3): 545 - 550.
Zhao X Y, Zhao W, Chen H. Application of new methods to the proficiency testing project of pH determination and its evaluation [J]. Chin J Pharm Anal, 2018, 38(3): 545 - 550.

[7] 毛 歆,项新华,肖 镜,等. 2013 年食品药品系统实验室能力验证结果分析[J]. 中国药事, 2015, 29(11): 1145 - 1150.
Mao X, Xiang X X, Xiao J, *et al*. Proficiency testing results of food and drug laboratories in 2013[J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 2015, 29(11): 1145 - 1150.

[8] 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].

(编 辑:侯向辉)