

配位滴定法测定枸橼酸铋钾胶囊含量 各类实验室能力验证的结果与分析*

杨仪雪¹, 黄丹¹, 王叶茹¹, 吴凤如¹, 刘逸韬¹,
贝琦华¹, 严全鸿^{1**}, 项新华^{2**}

(1. 广东省药品检验所, 广州 510163; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要 目的: 设计组织枸橼酸铋钾胶囊含量测定的能力验证项目(编号为 NIFDC-PT-183), 评价参加能力验证实验室配位滴定法的检测能力和水平, 并提供技术分析与建议。方法: 制备 2 组浓度不同的能力验证样品; 采用单因子方差分析进行均匀度检验, 采用 *t* 检验考察稳定性, 均符合要求; 样品分 3 种组合方式随机发放给 279 家实验室, 参考《中国药典》2015 年版二部枸橼酸铋钾胶囊的含量测定项方法测定样品含量, 对结果回收后采用中位值和标准化四分位距法的稳健统计分析, 用 *Z* 比分数评价各参加实验室的测试结果。结果: 279 家实验室中 240 家结果满意, 23 家结果可疑, 16 家结果不满意, 满意率为 86.0%。结论: 国内实验室枸橼酸铋钾胶囊含量测定检测能力总体较好, 但部分实验室仍有待提高。

关键词: 能力验证; 配位滴定法; 枸橼酸铋钾胶囊; 含量测定; 稳健统计; *Z* 比分数

中图分类号: R 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2024)01-0030-05

doi: 10.19778/j.chp.2024.01.005

Results and discussion on various laboratories proficiency-testing for assays of bismuth potassium citrate capsules by complexometric titration*

YANG Yixue¹, HUANG Dan¹, WANG Yeru¹, WU Fengru¹,
LIU Yitao¹, BEI Qihua¹, YAN Quanhong^{1**}, XIANG Xinhua^{2**}

(1. Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou 510663, China;

2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract Objective: To design the proficiency testing (PT) project (No. NIFDC-PT-183) for assays of bismuth potassium citrate capsules and organize to assess the proficiency of complexometric titration in laboratories, and provide some technical analyses and advices. **Methods:** Two groups of samples with different concentration were prepared. The uniformity was evaluated with one-way analysis of variance and the stability was confirmed with *t*-test, whose results all conformed the requirements. The samples with three combinations were randomly distributed to 279 laboratories. The determination was performed according to the assays of bismuth potassium citrate capsules in Volume II of the *Chinese Pharmacopoeia* 2015. The median value and normalized interquartile range (NIQR) of

* 基金项目: 国家药品监督管理局 2019 年药品检验能力验证计划(NIFDC-PT-183)

第一作者简介: 杨仪雪, 药师; 研究方向: 药品质量与标准。Tel: 020-32447921; E-mail: 1226438510@qq.com

** 通讯作者简介: 严全鸿, 主任药师; 研究方向: 药品质量与标准。Tel: 020-32447920; E-mail: 23036138@qq.com

项新华, 主任药师; 研究方向: 能力验证。Tel: 010-67095943; E-mail: xiangxh@nifdc.org.cn

robust statistical analysis was adopted and Z-scores were used to evaluate the results from each of laboratories.

Results: Among 279 laboratories, 240 laboratories results were satisfactory, 23 were questionable, and the other 16 were unsatisfied. The satisfaction rate was 86.0%. **Conclusion:** The overall capacity of national laboratories for assays of bismuth potassium citrate capsules is good while a portion of participants require further improvement.

Key words: proficiency testing; complexometric titration; bismuth potassium citrate capsules; assay; robust statistics; Z-score

容量分析法是化学定量分析中最重要与广泛应用的方法之一,常作为化学原料药含量测定的首选方法,具有快速、准确、精密度高等优点,其中配位(络合)滴定法是以络合反应为基础的容量分析方法^[1-3]。枸橼酸铋钾胶囊是一种胃粘膜保护类非处方药,《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)2015年版二部标准中,其含量测定项采用配位滴定法进行测定^[4]。乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)滴定液能与多种金属离子定量反应,形成稳定的可溶性络合物,用已知浓度的EDTA-2Na滴定液直接或间接滴定,根据指示剂的颜色变化指示滴定终点,通过消耗的EDTA-2Na滴定液的浓度和体积计算被测药物的含量。

能力验证是利用实验室间比对,按照预先制定的准则评价确定实验室的检测能力^[5]。参加能力验证活动是证明申请认可和获准认可的实验室技术能力的必要方式,是客观考察质量控制能力的国际通用手段^[6,7]。

影响配位滴定测定结果的因素较多,如指示剂指示滴定终点的判断,滴定液的配制、标定与贮藏等,而各参加实验室的检验人员对于容量分析的检验能力也有所差异。本研究设计组织枸橼酸铋钾胶囊含量测定的能力验证项目(NIFDC-PT-183),能客观评价参加实验室容量分析法的检测能力,帮助实验室查找原因并采取措施,促进实验室容量分析法检定能力的提高,同时为合格评定机构提供参加能力验证和证明其能力的途径。

1 能力验证计划方案

1.1 样品设计与制备

采用“分割水平”样品设计,制备了2组浓度不同的样品(命名为样品A和样品B)^[8],样品为枸橼酸铋钾胶囊,由枸橼酸铋钾、甘露醇、重质碳酸镁、玉米淀粉、羧甲基纤维素钠、硬脂酸镁等原辅料制备而成的,均采用铝塑板包装。按参考处方准备好各自500板(每板10粒,每粒约0.4g)所需原辅料,过筛,根据工艺流程将原辅料处理后依次进行湿法制

粒、湿整粒、干燥和干整粒,添加辅料进行总混,最后填充胶囊,进行铝塑板包装。制备过程中仅使两个样品的枸橼酸铋钾投入量不同,从而使胶囊内容物中主成份百分比含量有所差异。样品可在常温处保存,要求实验室开封后尽快进行检测。

1.2 样品发放

将参加实验室随机分为3个组别(即AA组、AB组和BB组),向每个实验室提供2份胶囊样品,每份样品均标注了样品编号。

1.3 作业指导书检测方法

本计划要求实验室按照日常检测程序和方法检测样品中铋的含量。推荐检测方法为滴定法,操作过程参考《中国药典》2015年版二部枸橼酸铋钾胶囊的含量测定项。取本品10粒内容物,混合均匀,取约0.73g,精密称定,加稀硝酸18mL,充分振摇,使枸橼酸铋钾溶解,加水50mL,混匀,加二甲酚橙指示液3滴,用EDTA-2Na滴定液($0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)滴定至溶液显黄色,每1mL EDTA-2Na滴定液($0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)相当于10.45mg的铋。计算每g内容物含铋的量(mg),最终结果以 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示。

1.4 样品均匀性与稳定性考察

样品均匀性考察:分别随机抽取能力验证样品A、B各15板,按“1.3”项下方法进行测定,每板样品平行测定2次。

样品稳定性考察:考察样品在①低温条件($5\text{ }^{\circ}\text{C}$)下放置15d;②高温高湿条件($40\text{ }^{\circ}\text{C}$,75%RH)下放置15d;③室温条件(约 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$)下放置15d;④室温(约 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下放置至发样前;⑤室温(约 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下放置至所有结果回收时的稳定性,以确保样品在计划周期内及运输过程中的稳定性。分别随机抽取以上条件下放置的能力验证样品A、B各6板,对其进行测定。

1.5 结果统计方法与评价原则

根据参加实验室的总体分布特征^[9,10],结合CNAS指南^[11],本次能力验证采用稳健(Robust)统计技术分别处理A、B两组样品数据,以中位值为指定值,标准化四分位距(NIQR)为能力评定标准差,

按下式计算各实验室结果的 Z 比分数,未提交与计算错误的结果未列入统计。若 $|Z| \leq 2$, 结果为满意;若 $2 < |Z| < 3$, 结果为可疑;若 $|Z| > 3$, 结果为不满意。

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

其中, x 为各参加实验室测试结果; X 为指定值。

统计参加实验室各自 2 份样品的结果,当 2 份样品结果均为满意时,实验室评价结果为满意;当有 1 份样品结果为不满意时,实验室评价结果为不满意;当有 1 份样品结果可疑,另 1 份为满意,或 2 份样品均为可疑时,实验室评价结果为可疑。

2 结果

2.1 样品均匀性检测结果

参照 CNAS-GL003《能力验证样品均匀性和稳

定性评价指南》^[12],采用单因子方差分析法对检验结果进行统计分析。A 组样品铋的总平均值为 $269.52 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 方差分析 F 值为 1.44; B 组样品铋的总平均值为 $266.11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 方差分析 F 值为 1.22。两组样品的 F 值均小于临界值 $F_{0.05(14,15)} = 2.42$, 表明在 $P < 0.05$ 显著性水平时, A、B 两组样品在置信度 95% 时均匀性均满足要求。

2.2 样品稳定性检测结果

采用 t 检验法对样品稳定性检验结果进行统计分析, A 组样品结果见表 1, B 组样品结果见表 2。所有条件下, A、B 两组样品的检测结果 t 值均小于临界值 $t_{0.05,40} = 2.02$, 表明在 $P < 0.05$ 显著性水平时, 两组样品各条件下测量的平均值与各自浓度样品的均匀性检验的平均值之间无显著性差异, 即样品 A 与样品 B 在各放置条件下稳定。

表 1 A 组样品稳定性检测结果

Tab. 1 Stability test results ingroup A samples

放置条件 (storage condition)	总体平均值 (mean) / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	标准偏差 SD	t 值
低温 15 d (low temperature for 15 days)	269.39	0.941	0.40
高温高湿 15 d (high temperature and humidity for 15 days)	270.01	1.381	1.31
室温 15 d (room temperature for 15 days)	269.55	0.908	0.10
室温至发样前 (room temperature until sample distribution)	269.56	0.854	0.14
室温至结果回收后 (room temperature until all results received)	269.04	0.456	1.59

表 2 B 组样品稳定性检测结果

Tab. 2 Stability test results ingroup B samples

放置条件 (storage condition)	总体平均值 (mean) / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	标准偏差 SD	t 值
低温 15 d (low temperature for 15 days)	266.05	0.698	0.21
高温高湿 15 d (high temperature and humidity for 15 days)	266.17	0.941	0.20
室温 15 d (room temperature for 15 days)	266.30	0.843	0.68
室温至发样前 (room temperature until sample distribution)	265.95	0.808	0.54
室温至结果回收后 (room temperature until all results received)	265.69	1.149	1.31

2.3 参加实验室概况

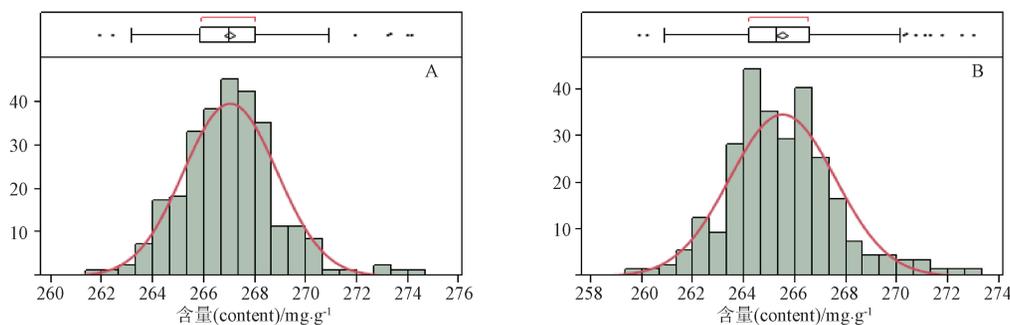
本次能力验证计划共有 280 家实验室报名参加, 其中, 1 家实验室因重复报名退出, 不做判定; 1 家未按要求提交结果报告, 5 家实验室因原始记录中结果计算错误导致在平台提交的结果错误, 判定为不满意。最终本次能力验证计划的参加实验室以 279 家计, 列入结果统计分析的实验室为 273 家。

本次能力验证计划 279 家参加实验室分布于 30 个省 (自治区、直辖市), 参加者除了食品药品检验机构外, 包括科研院所、企业实验室等其他机构。省级药检机构占 9.7%, 地市级药检机构占 79.2%,

其他机构占 11.1%, 计划覆盖面较广。

2.4 含量测定能力验证结果

本次能力验证计划共收回 273 家实验室的有效检测结果, 2 份样品均为样品 A (AA 组) 的有 92 家, 2 份样品分别为样品 A 和样品 B (AB 组) 的有 91 家, 2 份样品均为样品 B (BB 组) 的有 90 家。将“AB 组”与“AA 组”的样品 A (共 275 个样品)、“AB 组”与“BB 组”的样品 B (共 271 个样品) 的测定结果分别进行统计分析, 并进行正态拟合。A 样品与 B 样品测定结果频数分布见图 1, 两组样品回收的检验结果均近似服从正态分布, 可采用稳健统计技术进行数据分析, 统计量汇总见表 3。



A. 样品 A 组 (samples in group A) B. 样品 B 组 (samples in group B)

图 1 参加实验室测定结果频数分布

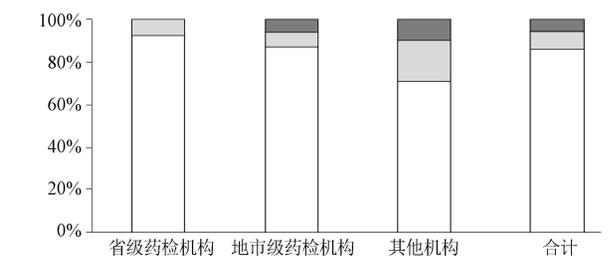
Fig. 1 Frequency distribution of participating laboratories' results

表 3 结果统计量汇总表

Tab. 3 Summary of statistics results

组别 (sample group)	结果数 (count)/ 个	平均值 (mean)/ (mg · g ⁻¹)	中位值 (median)/ (mg · g ⁻¹)	标准 四分位距 (NIQR)	稳健变异系数 (robust CV)/ %	最大值 (max)/ (mg · g ⁻¹)	最小值 (min)/ (mg · g ⁻¹)	极差 (range)/ (mg · g ⁻¹)
样品 A (sample A)	275	266.69	267.00	1.605	0.60	274.13	261.85	12.28
样品 B (sample B)	271	265.47	265.31	1.753	0.66	272.97	259.85	13.12

按“1.5”项评价原则,279 家实验室(包括 6 家直接判定不满意的实验室)中 240 家结果满意,结果满意率为 86.0%;23 家结果可疑,结果可疑率为 8.2%;16 家结果不满意,结果不满意率为 5.7%。按实验室类型分类分析,结果见图 2,省级食品药品检验机构的满意率最高,为 92.6%;地市级食品药品检验机构的满意率为 87.3%;其他机构的满意率最低,为 71.0%。



□ - 满意(satisfactory) □ - 可疑(questionable) ■ - 不满意(unsatisfied)

图 2 不同类型实验室测定结果

Fig. 2 Results of participating laboratories from different classification

3 技术分析与建议

根据各实验室反馈的测定结果和提供的原始记录,结合配位滴定法的特点进行分析,本次项目测试结果的影响因素主要包括滴定液、滴定操作和结果计算等。结果可疑或不满意的实验室均出现了其中

1 个或多个问题,部分因素无法从反馈的原始记录中考证,建议实验室结合容量分析法检测过程充分考虑,认真分析出现离群数据的原因,有针对性地加以改进。

3.1 滴定液的配置与标定

EDTA-2Na 滴定液是配位滴定分析法中应用最广的滴定液,EDTA-2Na 不易即时完全溶解,若配置后未完全溶解即开始标定,将影响检测结果,建议采用加热促使其完全溶解,或在配制放置数日后再行标定。

EDTA-2Na 滴定液的标定操作较为复杂,配制标定溶液时应注意以下内容:① 氧化锌在空气中能缓缓吸收二氧化碳形成碳酸锌,对标定用的基准氧化锌应在 800 °C 灼烧至恒重,使碳酸锌分解成氧化锌和二氧化碳;② EDTA-2Na 与金属离子配位化合产生的内配位化合物的稳定度与介质中的氢离子浓度有密切的关系,pH 愈高配位化合物愈稳定,但 pH 过高可致金属离子形成氢氧化物沉淀,因此在基准氧化锌加稀盐酸 3 mL(不宜过多)溶解并加水 25 mL 稀释后,应以 0.025% 甲基红-乙醇溶液为指示剂,滴加氨试液以中和多余的稀盐酸,而后再加水 25 mL 与氨-氯化铵缓冲液(pH 10.0)10 mL,才能控制溶液的 pH 为 10 左右,以适合于铬黑 T 的颜色变化和配位化反应;③ 铬黑 T 在水或醇溶液中不稳定,故规定采用固体粉末状的铬黑 T 指示剂,而不可采用指示液。

标定滴定液时,所采用的滴定管、移液管应经检定合格,并将其校正体积在计算中予以补偿;接近滴定终点时,标定液要逐滴加入并充分摇匀,以防终点滴过;标定过程中加入的试剂可能混有金属离子而消耗滴定液,因此需将滴定结果用空白试验校正。

3.2 滴定液的 F 值

《中国药品检验标准操作规范》2010年版对滴定液浓度值有严格要求,规定滴定液 F 值应在 0.95~1.05 之间,如标定时发现 F 值超出范围,应加入适量的溶质或溶剂予以调整。从收集到的反馈信息看,绝大多数参加实验室 EDTA-2Na 滴定液的 F 值均满足要求,但有个别实验室超出范围,如代码 169 实验室的 F 值为 0.74(结果满意),代码 979 实验室的 F 值为 1.074(结果不满意)等。建议相关实验室应规范滴定液配制与标定,保证检验结果的准确性。

3.3 滴定液的贮藏

滴定液的贮藏如不规范,也会影响测定结果。橡皮中含有氧化锌等填料,能与 EDTA-2Na 发生反应而使滴定液浓度发生改变,故本滴定液应放置于玻璃塞瓶中,避免与橡胶塞、橡皮管等接触。

3.4 滴定操作

二甲酚橙与金属离子的络合物均为紫红色,本次能力验证所用配位滴定终点颜色是由红色变黄色,检验者对滴定终点的判断不准确会造成实验结果的偏差。此外,滴定增量、滴定速度、搅拌速度也会影响实验结果。手动滴定所用的滴定管的体积是否经过校准,将直接影响测定结果的准确性。

3.5 结果计算

共有 5 家实验室出现平台结果报告填写错误或原始记录计算错误,导致结果为不满意。

3.6 未按照作业指导书操作

1 家实验室未认真阅读作业指导书,开展部分实验后才发现操作错误,导致其中 1 个编号的样品被消耗完,无法继续按正确操作进行分析,最终只提交了 1 个样品结果。可见个别实验室存在检验程序不规范、人员培训不到位等问题,需进一步加强质量管理。

4 结论

参加本次能力验证的实验室来自全国 30 个省(自治区、直辖市),覆盖省级、地市级药检机构、科研院所和企业实验室等,一定程度上可以反映我国实验室的枸橼酸铋钾胶囊含量测定检测能力。根据不同类型实验室的满意率情况进行分析,国内实验室能力总体较好,省级食品药品检验机构的结果没

有出现不满意情况,能力较强,但不同机构的容量分析检验能力还存在较大的差异。

参考文献

- [1] 岳素雪,孙学志,李丽丽,等. 滴定分析法在现行药品质量标准中的应用[J]. 中国伤残医学, 2014, 22(7):302.
YUESX, SUN XZ, LI LL, *et al.* Application of titration analysis in current pharmaceutical quality standards[J]. Chin J Trauma Dis Med, 2014, 22(7):302.
- [2] 赵海宇. 电位滴定法与手动滴定法测定药品含量的比较[J]. 质量安全与检验检测, 2021, 31(3):86.
ZHAO HY. Comparison of potentiometric titration and manual titration for determination of drug content[J]. Qual Saf Insp Test, 2021, 31(3):86.
- [3] 张建平,王栋,高寒,等. 滴定分析法在矿物药质量控制中的应用[J]. 海峡药学, 2021, 33(6):42.
ZHANG JP, WANG D, GAO H, *et al.* Application of titration analysis in quality control of mineral medicine[J]. Strait Pharm J, 2021, 33(6):42.
- [4] 中华人民共和国药典 2015 年版. 二部[S]. 2015:728.
ChP 2015. Vol II [S]. 2015:728.
- [5] GB/T27043-2012/ISO/IEC17043:2010 合格评定能力验证的通用要求[S]. 2010.
GB/T27043-2012/ISO/IEC17043:2010 Conformity assessment general requirement for proficiency testing [S]. 2010.
- [6] CNAS-RL01 实验室认可规则[S]. 2018.
CNAS-RL01 Rules for the Accreditation of Laboratories [S]. 2018.
- [7] CNAS-RL02 能力验证规则[S]. 2018.
CNAS-RL02 Rules for Proficiency Testing[S]. 2018.
- [8] CNAS-CL03 能力验证提供者认可准则[S]. 2010.
CNAS-CL03 Accreditation Criteria for Proficiency Testing Providers[S]. 2010.
- [9] 赵新玥,陈华. 药品检验领域能力验证统计方法研究[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(4):320.
ZHAO XY, CHEN H. Review on the statistic methods used in the proficiency testing in the drug control field[J]. Chin Pharm J, 2017, 52(4):320.
- [10] 李晶,项新华,张河战. 实验室比对统计分析方法的比较[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(2):139.
LI J, XIANG XH, ZHANG HZ. Comparison evaluation of statistical analysis methods for inter-laboratory comparison statistical analysis methods[J]. Chin Pharm J, 2016, 51(2):139.
- [11] CNAS-GL002 能力验证结果的统计处理和评价指南[S]. 2018.
CNAS-GL002 Guidance on Statistic Treatment of Proficiency Testing Results and Performance Evaluation [S]. 2018.
- [12] CNAS-GL003 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S]. 2018.
CNAS-GL003 Guidance on Evaluating the Homogeneity and Stability of Samples Used for Proficiency Testing[S]. 2018.

(收稿日期:2023-06-21)