

保健食品中格列本脲含量测定的能力验证研究

高文超¹, 王海燕², 金绍明², 宁霄², 高家敏², 曹进^{2*}, 董亚蕾^{2*}

(1. 中国民航科学技术研究院, 北京 100028; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: 目的 设计组织保健食品中格列本脲含量测定能力验证项目, 评价实验室检测保健食品中格列本脲的技术能力和水平。**方法** 对考核样品通过实施能力验证计划, 来自 27 个省(自治区)、直辖市 80 家实验室的测定结果进行稳健统计分析, 通过稳健 Z 比分数评价实验室检测能力。**结果** 考核样品中的格列本脲在 $P < 0.05$ 显著水平时是均匀的, 且在整个计划周期内稳定, 满足能力验证的要求。在 80 家参加实验室中, 满意结果数为 68 家, 满意率为 85.0%; 可疑结果数为 6 家, 可疑率为 7.5%; 不满意结果数为 6 家, 不满意率为 7.5%。**结论** 多数参加的实验室检测能力结果满意, 表明保健食品中格列本脲检测水平总体良好。

关键词: 能力验证; 保健食品; 格列本脲; 结果评价

Study on the capability verification of determination of glibenclamide in health food

GAO Wen-Chao¹, WANG Hai-Yan², JIN Shao-Ming², NING Xiao², GAO Jia-Min²,
CAO Jin^{2*}, DONG Ya-Lei^{2*}

(1. China Academy of Civil Aviation Science and Technology, Beijing 100028, China;
2. National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: Objective To design and organize a project to verify the determination ability of glibenclamide in health food and to evaluate the technical ability and level of glibenclamide in health food. **Methods** Examining sample was conducted through the implementation of the plan of ability test and verify, 80 laboratories from 27 provinces and the autonomous region were measured and the results were conducted for robust statistical analysis, robust Z ratio fraction was used for laboratory testing capability. **Results** The glibenclamide in the test samples was uniform at the significant level of $P < 0.05$ and stable throughout the planning period, meeting the requirements of ability verification. Among the 80 participating laboratories, 68 were satisfied with the results, and the satisfaction rate was 85.0%. The number of suspicious results was 6, and the suspicious rate was 7.5%. The number of dissatisfied results was 6, and the dissatisfaction rate was 7.5%. **Conclusion** The majority of the participant laboratories passed the test with satisfactory results, indicating that the determination of glibenclamide in health food showed a overall good level.

KEY WORDS: proficiency testing; health food; glibenclamide; result evaluation

*通讯作者: 曹进, 研究员, 主要研究方向为食品分析。E-mail: caojin@nifdc.org.cn

董亚蕾, 副研究员, 主要研究方向为食品化妆品安全检测。E-mail: dongyalei@nifdc.org.cn

*Corresponding author: CAO Jin, Professor, National Institutes of Food and Drug Control, No.2, Tiantan Xili, Dongcheng District, Beijing 100050, China. E-mail: caojin@nifdc.org.cn

DONG Ya-Lei, Associate Professor, National Institutes of Food and Drug Control, No.2, Tiantan Xili, Dongcheng District, Beijing 100050, China. E-mail: dongyalei@nifdc.org.cn

1 引言

在快节奏和高强度的现代社会中,亚健康状态人群扩大,保健食品正逐步向消费者日常生活中渗透,国人对保健食品的需求量越来越大^[1]。但保健食品市场日趋庞大的同时,也出现了产品质量参差不齐,甚至在保健食品中非法添加以达到保健效果的现象。格列本脲是一种磺酰脲类降血糖药物^[2],但具有一定的副作用^[3,4]。有些不法商家为了达到降糖效果,将格列本脲掺入保健食品中^[5,6]。消费者在不知情的情况下,大量服用,将造成严重后果。

能力验证相关结果可作为管理部门、评价机构判定实验室能力的参考依据,同时作为实验室内部质量控制的有效补充^[7-9]。参加单位可通过对结果的反馈、分析,达到提高该项目检验水平的目的。能力验证样品的均一性和稳定性是确保能力验证计划结果可控性的必需条件^[7],因此,所用的样品均通过了均匀性和稳定性检验。

保健食品中格列本脲的检测是日常监管的重要技术监测内容,其测定能力和准确性,也反映出了检测机构的基本检验能力和素质。为保证相关检验检测的准确性,并对参与检验的机构进行能力评价,中国食品药品检定研究院组织并实施了本次能力验证工作。本次组织的能力验证共分为设计和制备样品,分发可靠样品,获得检测结果,评价参加者出具数据的可靠性等步骤,为客观评价实验室的检测能力提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

G6460A 液相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司); Waters ACOUITY UPLC BEH 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm, 美国 Waters 公司)。

格列本脲标准品(10035-201105, 纯度 99.5%, 中国食品药品检定研究院)。

2.2 能力验证样品

委托专业公司生产样品,样品为粉末状,辅料为山药提取物、生地黄提取物、玉米淀粉等,经过筛、配料、制粒、干燥、整粒、包装等步骤制备,样品中格列本脲含量约 10 mg/kg。样品用 20 mL 棕色玻璃瓶包装,铝塑真空封膜,每瓶不少于 10 g,密封,标记,寄送前常温保存。

2.3 均匀性考察

根据 CNAS—GL03:2006《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》^[10]的建议,从分装到最小包装的样品中随机抽取样品 11 瓶,另将每瓶样品取 3 份,测定格列本脲的含量,采用单因子方差分析法对样品进行均匀性考察。当测定结果的 F 值 $< F_{\alpha}(\gamma_1, \gamma_2)$ 时,认为样品是充分均匀的。

2.4 稳定性考察

稳定性检验的样品模拟能力验证样品的实际状态,即常温保存。样品制样完毕后,对样品的各待测特性量进行稳定性检验。方法为将上述均匀性测定结果作为第一次稳定性数据,然后在实际保存状态下,分别在随后的 4、8、12 周各随机抽取 3 瓶样品进行测定,以此作为第 2、3 和 4 次稳定性数据,考察时间覆盖了整个计划周期。检验结果与均匀性结果比较,采用 t 检验法考察样品的稳定性。

2.5 样品发送

本次能力验证设计样品标识为 NIFDC-PT-N-XX(N 为本次能力验证代码;XX 表示实验室代码)。按随机原则向每个实验室发放样品 1 瓶。

2.6 检测方法

推荐采用《药品检验补充检验方法和检验项目批准件编号 2009029》^[11]方法,并使用液相色谱-质谱法定量。

2.7 评价依据

根据 CNAS—GL02:2006《能力验证结果的统计处理和评价指南》^[12,13]对能力验证结果进行评价,采用 Z 比分数(Z -score)作为评价其结果满意度的依据。 Z 比分数的大小反映了实验室结果与中位值的偏离程度, Z 比分数的符号“+”和“-”代表与中位值的偏离方向,“+”表示结果大于中位值,“-”表示结果小于中位值。 $|Z| \geq 3$ 为离群结果,要求开展纠正措施。 $2 < |Z| < 3$ 为可疑结果,鼓励实验室复查他们的结果。 $|Z| \leq 2$ 为满意结果。

2.8 统计学处理

本次能力验证计划的统计采用稳健(robust)统计方法,以处理各参加实验室测试结果。本计划涉及的统计量有结果数、中位值(M)、标准化四分位距($NIQR$)、变异系数(coefficient of variation, CV)、最小值、最大值和极差等。

3 结果与分析

3.1 能力验证样品的均匀性和稳定性

3.1.1 均匀性分析

按照 CNAS—GL03:2006《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》^[10]的要求进行均匀性实验,结果表明:均匀性检验计算的 F 值 $<$ 临界值 $[F_{0.05}(10,22)=2.30]$ 。这表明,在 $P < 0.05$ 显著性水平时,瓶间及瓶内样品中的格列本脲含量是均匀的,确保了参加实验室检测结果的可评价性。

3.1.2 稳定性分析

按照 CNAS—GL03:2006《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》^[10]的要求进行稳定性实验。将稳定性数据进行 t 检验, t 值均小于 95%置信区间查表值,表明在本计划实施期间测试样品中的格列本脲是稳定的。

3.2 能力验证的统计结果

3.2.1 测试结果的频率分布和正态概率检验

本次能力验证共回收 80 个实验室的检测结果, 统计测定结果数据的频率, 根据测定结果及频率做直方图(图 1)。频率分布图表明, 除个别异常数据外, 在 95%置信度下, 本次能力验证结果数据基本服从正态分布, 可以用基于正态分布的稳健中位统计技术进行数据处理。

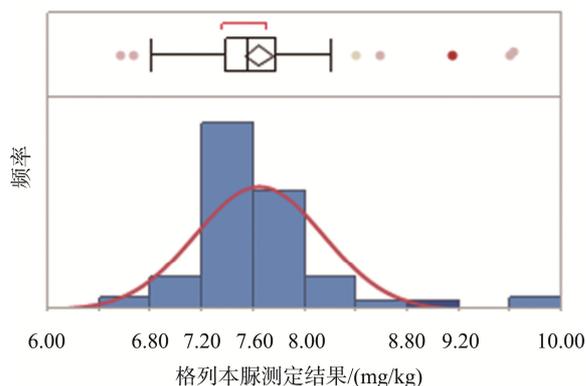


图 1 结果正态分布直方图
Fig.1 Normal distribution histogram of results

3.2.2 能力验证的总体统计量

对能力验证总体情况进行了统计, 具体见表 1。

表 1 检测结果统计量汇总表
Table 1 Summary table of test result statistics

项目	结果个数	中位值/(mg/kg)	标准四分位间距/(mg/kg)	变异系数/%	最大值/(mg/kg)	最小值/(mg/kg)	极差/(mg/kg)
格列本脲	80	7.56	0.39	6.55	9.62	6.57	3.05

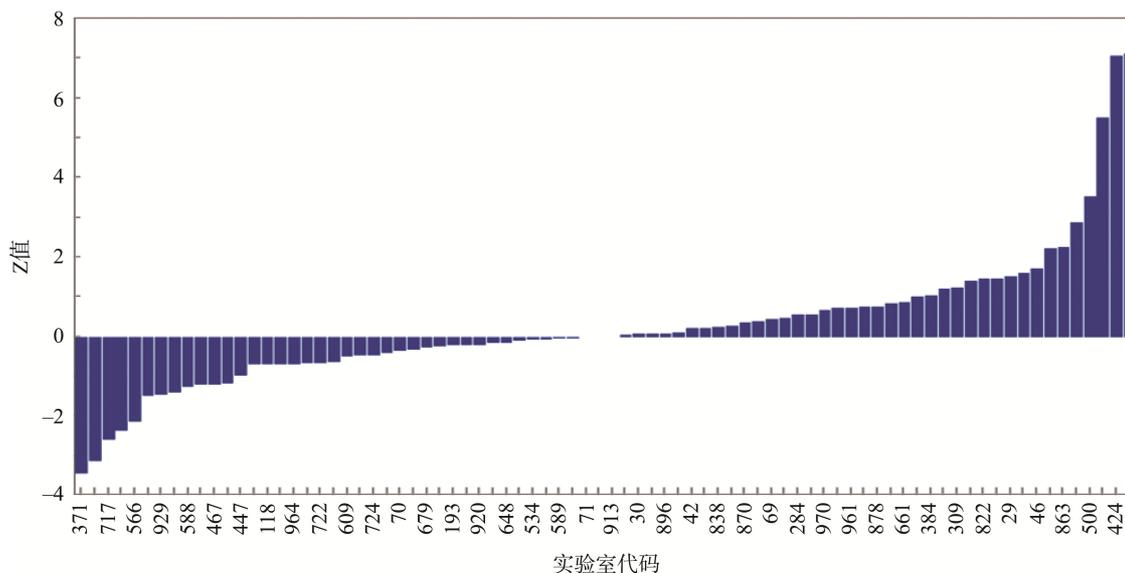


图 2 结果 Z 值分布柱状图
Fig.2 Histogram of Z value of proficiency test

3.2.3 实验室的能力评价

本次能力验证 Z 值分布结果见图 2(红色线 $|Z|=3$, 黄色线 $|Z|=2$), 80 家参加单位, 格列本脲测定满意结果为 68 家, 满意率为 85.0%, 可疑结果率 7.5%, 不满意结果率 7.5%。

3.3 结果分析

本次能力验证计划规定了推荐方法, 但没有规定必须使用推荐方法。根据实验室反馈的结果和相关记录, 大多采用推荐方法检测。下面从以下几个方面分析结果存在差异的可能原因。

3.3.1 参加单位级别、类型差异

80 个参加实验室分布于 27 个省(自治区)、直辖市, 其中食品药品检验机构共有 71 家, 占参加者数量的 88.75%, 第三方检测机构 6 家, 占参加者数量的 7.5%, 其他类型 3 家。按实验室类别分类的参加者满意率见表 2。

表 2 表明, 各层级实验室对保健食品中格列本脲的测定都具有较高的检测水平, 其中省级机构的检测水平整体较高。近年来我国大力发展第三方检测机构, 从本次能力验证来看, 第三方检测结构的检测水平也较强。

从参加单位地域上看, 某省份共 4 家参加单位, 有 1 家结果为可疑, 三家结果为不满意, 三家单位结果均偏低, 存在省内实验室数据互相串通的可能性。在今后的能力验证组织工作中应注意设计合理的方案, 可以有效抑制一些参加者串通或伪造数据, 保障能力验证工作的有效性^[14,15]。

表 2 按类别分类统计表
Table 2 Statistical table by category

实验室层级	总数量	满意结果数	满意率/%
省级食品药品检验机构	22	21	95.5
地市级食品药品检验机构	49	41	83.7
第三方检测机构	6	5	83.3

由于各地参试实验室在数量上和行业上存在差异,此结果并不能完全反映该地区的检测能力,但仍可以作为相关部门评价分析的参考。

3.3.2 对照品

对照品方面,73家实验室使用了中检院生产的对照品,这其中4家使用对照品的批号为100135-200404,代码为500的单位使用了过期的对照品,结果偏高不满意。69家使用的对照品批号为100135-201105,60家结果满意;5家实验室使用的Dr. E对照品;2家实验室没有对对照品品牌进行说明。建议参加单位注意对照品的有效期或中检院发布的标准物质停用通知,及时更新实验中使用的对照品,以免因为使用过期对照品对测定结果造成影响^[16]。

3.3.3 前处理方法

提取溶剂方面,大部分实验室采用甲醇对样品进行溶解、提取,1家实验室使用三氯甲烷溶解后用甲醇进行溶剂置换,结果为满意,1家实验室使用乙腈+水(70+30)作为提取溶剂,结果不满意。称样量方面,通过统计,称样量大于1.0g的参加单位结果满意率为75.0%,称样量小于1.0g的参加单位结果满意率为86.8%,这种差异来源可能为较大的称样量不利于样品的充分提取,从而降低测定结果的准确率。由此建议在本次实验中的称样量以小于1.0g为宜。

3.3.4 仪器

在提交结果的80家单位中,有78家单位使用了作业指导书中要求的液质方法,2家单位使用高效液相方法。这两家使用高效液相方法的实验室中,一家结果为满意,一家为不满意。

3.3.5 定量方法

此次能力验证有66家实验室使用标准曲线法定量,56家实验室满意,满意率为84.8%;13家实验室使用外标一点法定量,11家结果满意,满意率为84.6%。可见,在本次实验中,两种定量方法的准确率相当。但在实际测定过程中,样品含量未知或多个不同浓度水平样品情况下,建议使用标准曲线法进行定量检测。

4 结论

本次结果在一定程度上反映了目前我国相关检测实验室对保健食品中格列本脲的检测能力。结果显示,85%参加实验室提交的测定结果较好,表现出较高的检测水平,

检测能力评价为满意,为我国降糖类保健食品非法添加的监督执法提供了强有力的支持。本次能力验证的参加单位多集中在省、市级食品药品检验机构,第三方检测机构数量仅占7.5%,无法科学的评估第三方检测机构在该项目上的检测能力。未来,将加大对能力验证项目的宣传工作,鼓励第三方实验室共同参与,全面提升各类型实验室的质量控制技术能力。

参考文献

- [1] 王静文,曹进,王刚力,等.保健食品中非法添加药物检测技术研究进展[J].药物分析杂志,2014,34(1):1-11.
Wang JW, Cao J, Wang GL, et al. Research progress on determination technologies for illegally added drugs in health food [J]. Chin J Pharm Anal, 2014, 34(1): 1-11.
- [2] Fernandes RDS, Costa FSL, Valderrama P, et al. Non-destructive detection of adulterated tablets of glibenclamide using NIR and solid-phase fluorescence spectroscopy and chemometric methods [J]. J Pharm Biomed Anal, 2012, 66: 85-90.
- [3] 王慧,魏宁漪,朱炯.降血糖类保健食品市场质量状况与监管[J].食品安全质量检测学报,2017,8(6):2298-2302.
Wang H, Wei NY, Zhu J. Market quality status and supervision of hypoglycemic health food [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(6): 2298-2302.
- [4] 高会敏,尚勇.糖尿病药物治疗常见的不良反应[J].临床医药文献杂志,2016,3(2):219-220.
Gao HM, Shang Y. Common adverse reactions of diabetic drug treatment [J]. J Clin Med, 2016, 3(2): 219-220.
- [5] 周春燕,唐彬彬,郗存显,等.固相萃取/高效液相色谱法同时测定保健食品中7种磺脲类降血糖药物[J].分析测试学报,2013,32(10):1212-1216.
Zhou CY, Tang BB, Xi CX, et al. Simultaneous determination of seven sulfonylurea hypoglycemic agents in health care products by solid phase extraction /high performance liquid chromatography [J]. J Instrum Anal, 2013, 32(10): 1212-1216.
- [6] 林芳,李涛,王一欣.高效液相色谱法同时测定降糖类保健食品中非法添加的13种化学药物[J].食品科学,2016,37(18):178-184.
Lin F, Li T, Wang YX. Simultaneous determination of 13 illegally added chemical drugs in hypoglycemic health foods by ultra performance liquid chromatography [J]. Food Sci, 2016, 37(18): 178-184.
- [7] GB/T 27043-2012/ISO/IEC17043: 2010 合格评定能力验证的通用要求[S].
GB/T 27043- 2012/ISO/IEC17043: 2010 Conformity assessment general requirements for capability verification [S].
- [8] CNAS-RL 02 能力验证规则[S].
CNAS-RL 02 Rules for proficiency testing [S].
- [9] CNAS-CL 03 能力验证提供者认可准则[S].
CNAS-CL 03 Accreditation criteria for proficiency testing providers [S].
- [10] CNAS-GL 03 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S].
CNAS- GL 03 Guidance on evaluating the homogeneity and stability of samples used for proficiency testing [S].
- [11] 批准件编号: 2009029 降糖类中成药中非法添加化学药品补充检验方法[S].
Grant No: 2009029 Supplementary test method for illegally added

- chemicals in antidiabetic Chinese patent medicines [S]
- [12] CNAS-GL 02 能力验证结果的统计处理和评价指南[S].
CNAS-GL 02 Guidance on statistic treatment of proficiency testing results and performance evaluation [S].
- [13] 吴孝槐. 定量食品微生物能力验证统计方法比较研究[J]. 中国检验检疫, 2018, (6): 34-37.
Wu XH. Comparative study on the statistical methods of microbial capacity verification of quantitative food [J]. Chin Insp Body Lab, 2018, (6): 34-37.
- [14] 李丽莉, 卢大伟. 体外诊断试剂能力验证应用策略探讨[J]. 中国药事, 2018, 32(10): 1400-1405.
Li LL, Lu DW. Discussion on proficiency testing strategy for in vitro diagnostic reagents [J]. Chin Pharm Aff, 2018, 32(10): 1400-1405.
- [15] 柳乃奎. 统计方法在抑制能力验证计划的数据串通问题中的应用[J]. 理化检验-化学分册, 2013, 49(8): 988-990.
Liu NK. The application of statistical method to the problem of data collusion in the inhibition capacity verification plan [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2013, 49(8): 988-990.
- [16] 杨文凤, 张慧文, 李薇. 食品药品能力验证可疑或不满意结果风险点分析与对策[J]. 中国药事, 2018, 32(4): 480-484.
Yang WF, Zhang HW, Li W. Analysis of risk points and countermeasures for suspicious or unsatisfactory results of food and drug proficiency test

[J]. Chin Pharm Aff, 2018, 32(4): 480-484.

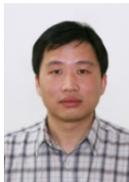
(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



高文超, 主管药师, 主要研究方向为化学品安全分析检测。

E-mail: anishehe@sina.com.cn



曹进, 研究员, 主要研究方向为食品分析。

E-mail: caojin@nifdc.org.cn

董亚蕾, 副研究员, 主要研究方向为食品化妆品安全检测。

E-mail: dongyalei@nifdc.org.cn