人参皂甙和褪黑素分析的质量控制

韩宏伟　王竹天　杨祖英　杨大进　方从容　宋书锋
(卫生部食品卫生监督检所,北京　100021)

摘　要:为提高保健食品功效成分检验工作的水平,卫生部食品卫生监督检所组织全国 22 个保健食品功效成分检验实验室参加了人参皂甙和褪黑素测定的质量控制,对质量控制结果进行了评价。质控结果显示,"人参皂甙"试样的检验结果的离散程度比较大,3 个浓度水平均出现了离群值。有 6 个测定结果在 3 倍标准偏差($\bar{x}\pm3s$)范围之外。"褪黑素"试样的检验结果的离散程度比较小,两个浓度水平仅出现了一个离群值。大多数实验室有较高的检测水平,可以完成保健食品功效成分的检测任务。

关键词:营养保健品　质量控制　人参皂甙　褪黑激素
中图分类号:R15;TS218　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1004 - 8456(2001)03 - 0011 - 05

开展分析质量控制研究、制定分析质量措施是保障分析数据准确的重要手段。[1~3]《保健食品管理办法》颁布以来,卫生部已批准三千多种保健食品,由于功效成分测定方法相对滞后,导致分析结果的重现性和可比性较差,使功效成分的测定结果不能满足保健食品评审的要求和监督监测的需要,削弱了国家对保健食品的监督管理力度,影响保健食品的发展。为了提高检验工作的质量,促进保健食品检验方法向法制化、规范化方向发展,保障功效成分测定方法的可靠性和分析数据的准确性,开展功效成分分析质量控制研究有很重要的意义。为此 2000 年 5~6 月,在卫生部食检所组织下,全国 22 个保健食品功效成分检验室联合进行了质量控制。

1　材料和方法

1.1　**参加成员**　卫生部食品卫生监督检验所、北京、天津、上海、黑龙江、吉林、辽宁、河北、山东、陕西、四川、重庆、河南、江苏、浙江、江西、湖北、湖南、福建、广东、广西等省、市、自治区卫生防疫站(或食品卫生监督检验所、卫生防病中心、疾病控制中心等)及华西医科大学公共卫生学院,共计 22 个单位参加此次分析质量控制。

1.2　**项目选择、试样制备**　根据保健食品产品的覆盖面及分析方法的难易,在几十个功效成分测定方法中,筛选"人参皂甙"和"褪黑素"作为质控项目。这是因为褪黑素和人参产品在全国各省市均有,绝大多数保健食品功效成分检验实验室都开展了这两个项目的检验工作;这两个项目的测定方法都经过了各自协作组的验证,褪黑素的标准方法还通过了 1998 年全国食品卫生标准化委员会的评审,具有一定的科学性和可行性。根据所选项目,卫生部食品卫生监督检验所在有关单位的配合下,制备了两种质控试样。

"人参皂甙"试样的制备　分别取西洋参粉剂配制成"高"、"低"两种浓度的原液,测定其含量,然后定量加入苯甲酸、白砂糖、水,混合均匀后配制成含有"高"、"低"两个浓度水平人参皂甙及定量苯甲酸、白砂糖的口服液试样,同时配制空白试样,也作为一个浓度水平的质控试样,即共有"高"、"低"、"空"三个浓度水平的试样。

"褪黑素"试样的制备　将"P"、"G"两个浓度水平的固体试样分别经粉碎、混匀、过筛(20 目)后制备成。

两种试样进行分装、封口、编号、分组、密码标记等工作制备成质控试样。

1.3　**试样分发**　2000 年 5 月进行了试样分发,人参皂甙质控试样每个浓度提供 20 mL,褪黑素每个浓度约 5 g。卫生部食品卫生监督检验所提供了《样品使用说明》和《参考检验方法》,为保障质控质量,卫生部食检所同时提供了"人参皂甙 Re"和"褪黑素"高纯度标准对照品。

1.4　**质控结果计算方法**[4,5]

1.4.1　用 T 临界值检验法剔除离群值

T 临界值检验法即是将检验结果按从小到大的顺序排列,然后计算平均值($\bar{x}$)和标准偏差(s),

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{n} \qquad s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

用如下的统计量检验最大或最小离群值:

最大值: $T_n = \frac{x_n - \bar{x}}{s}$

最小值: $T_1 = \frac{\bar{x} - x_1}{s}$

经查《T的临界值表》,若 T 的计算值大于临界值,则在给定的显著性水平下 x_n 或 x_1 是离群值,应剔除。

1.4.2 计算剔除离群值后的平均值($\bar{x}$)、标准偏差(s)和变异系数(CV %)

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{n} \qquad s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$CV\ \% = \left(\frac{s}{\bar{x}}\right) \times 100\ \%$$

1.4.3 计算 z-值

z 值的大小代表了某一实验室的某个检验结果与平均值的离散程度,z 的平均值和范围大小代表了某一实验室的全部检验结果的总体偏离情况。

$$z = \frac{(x_i - \bar{x})}{\sigma_t} \qquad \sigma_t = b \cdot \bar{x}$$

$$b = \frac{RSD_R}{100} \qquad RSD_R = 2^{(1-0.5\log\bar{x})}$$

2 结果

2.1 **试样稳定性、均匀性测试** 对已制备的质控试样进行了稳定性、均匀性测试,经过2000年4～5月的多次测定,试样在常温、密闭状况下稳定,能够满足质控的要求(见表1)。

表1 质控样品稳定性、均匀性测试数据表

项目	皂甙 mg/100mL			褪黑素 g/Kg	
	高	低	空	P	G
测定次数	12	7	5	12	12
平均值	22.70	13.00	2.40	6.00	8.00
相对偏差	0.70	0.78	0.11	0.14	0.19
CV %	3.10	6.06	4.58	2.39	2.32

2.2 **检验结果** 全国22个保健食品功效成分检验实验室均报告了人参皂甙和褪黑素试样的检测结果,见表2。按照质控结果计算方法对质量控制的结果进行了汇总、计算,见表3、4、5。

2.3 **绘制质量控制图**(图1、图2)

3 讨论

3.1 **质控结果及统计**

3.1.1 **"人参皂甙"试样质控结果及统计** "人参皂甙"试样有3个浓度水平的试样,即"高"、"低"、"空"。22个实验室中20个实验室正确区分出了试样的浓度水平,只有两个实验室未能正确的区分出试样的浓度水平。结果见表2。

表2 保健食品质量控制检验结果报告表

实验室编号	皂甙 mg/100mL			褪黑素 g/Kg	
	高	低	空	P	G
1	21.6	10.5	1.9	6.1	8.1
2	38.0	27.0	26.0	5.5	6.4
3	25.2	11.6	3.1	6.2	7.7
4	25.0	13.0	<2.0	5.6	7.4
5	30.0	21.0	3.0	6.4	7.9
6	39.0	25.0	<5.0	5.7	7.8
7	30.9	20.7	2.1	5.9	7.3
8	25.0	11.2	2.5	5.9	8.2
9	20.0	12.0	3.4	6.0	7.7
10	34.5	19.6	未检出	5.7	7.7
11	27.0	14.0	空白	7.1	8.8
12	39.8	19.9	2.5	5.8	7.7
13	38.0	25.0	15.0	5.4	7.2
14	32.0	20.0	3.0	6.7	7.8
15	25.0	15.0	未检出	5.9	7.5
16	25.7	13.6	未检出	6.8	8.6
17	35.0	15.0	<1.0	6.7	7.7
18	26.0	13.0	<1.0	6.4	7.7
19	85.0	84.0	130.0	6.6	7.6
20	38.0	26.0	5.4	6.5	8.5
21	38.0	23.0	9.0	5.8	7.8
22	23.0	13.8	1.7	6.0	8.0

"人参皂甙"试样的检验结果的离散程度比较大,3个浓度水平均出现了离群值,而且"空"水平竟有4个离群值。有6个测定结果在3倍标准偏差($\bar{x} \pm 3s$)范围之外,占9.09 %。"高"、"低"、"空"3个浓度水平的试样的测定结果在剔除离群值后的变异系数 CV %分别为20.89 %、30.15 %、80.01 %,结果见表3。

"高"浓度水平的试样的测定结果经用 T 临界值检验法检验后发现有一个离群值,在剔除离群值后的平均值为32.80 mg/100 mL,标准偏差为6.33。测定结果在1倍标准偏差($\bar{x} \pm s$)范围内的实验室有12个,占54.55 %;测定结果在2倍标准偏差($\bar{x} \pm$

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

$2s$)范围内的实验室有 21 个,占 95.45 %;测定结果在 3 倍标准偏差($\bar{x} \pm 3s$)范围内的实验室也为 21 个,占 95.45 %;仅有 1 个实验室测定结果在 3 倍标准偏差($\bar{x} \pm 3s$)范围之外,占 4.55 %。结果见表 3。

表 3 保健食品质量控制检验结果汇总表

项目		皂甙 mg/100mL			褪黑素 g/Kg	
		高	低	空	P	G
平均值(全部)		32.80	20.63	14.89	6.12	7.78
剔除离群值(括号内为实验室编号)		85.0(19)	84.0(19)	130.0(19),26.0(2),15.0(13),9.0(21)		6.4(2)
平均值 $\bar{x}$(剔除离群值后)		30.32	17.61	2.03	6.12	7.84
标准差 $s(n-1)$		6.49	5.44	1.67	0.46	0.40
CV %		21.41	30.90	82.33	7.56	5.15
分布范围、实验室数量、百分率(%)	$\bar{x} \pm s$	12(54.6 %)	12(54.6 %)	11(50.0 %)	14(63.6 %)	15(68.2 %)
	$\bar{x} \pm 2s$	21(95.4 %)	21(95.4 %)	17(77.3 %)	21(95.4 %)	20(90.9 %)
	$\bar{x} \pm 3s$	21(95.4 %)	21(95.4 %)	18(81.8 %)	22(100 %)	21(95.4 %)

表 4 z-值 表

实验室编号	皂甙								褪黑素						z 总平均值	z 总范围
	高		低		空		z 平均值	z 的范围	P		G		z 平均值	z 的范围		
	结果	$z=(x_i-x)/\sigma_t$	结果	$z=(x_i-x)/\sigma_t$	结果	$z=(x_i-x)/\sigma_t$			结果	$z=(x_i-x)/\sigma_t$	结果	$z=(x_i-x)/\sigma_t$				
1	21.6	-24.03	10.5	-31.09	1.9	-3.46	19.53	27.63	6.1	-0.22	8.1	2.26	1.24	2.48	12.21	34.53
2	38.0	21.17	27.0	41.04	26.0	657.96	240.06	636.79	5.5	-6.66	6.4	-12.52	9.59	5.86	147.87	670.49
3	25.2	-14.11	11.6	-26.29	3.1	29.47	23.29	55.76	6.2	0.42	7.7	-1.13	0.78	1.55	14.28	43.58
4	25.0	-14.66	13.0	-20.16	2.0	-0.72	11.84	19.44	5.6	-5.59	7.4	-3.83	4.71	1.76	8.99	27.66
5	30.0	-0.88	21.0	14.81	3.0	26.73	14.14	27.61	6.4	2.99	7.9	0.52	1.75	2.47	9.18	27.61
6	39.0	23.93	25.0	32.30	5.0	81.62	45.95	57.69	5.7	-4.52	7.8	-0.35	2.44	4.17	28.54	86.14
7	30.9	1.60	20.7	13.50	2.1	0.93	5.34	12.57	5.9	-2.37	7.3	-4.70	3.53	2.33	4.62	25.40
8	25.0	-14.66	11.2	-28.21	2.5	12.18	18.35	40.39	5.9	-2.05	8.2	2.69	2.37	4.74	11.96	26.84
9	20.0	-28.44	12.0	-24.54	3.4	37.71	30.23	66.14	6.0	-1.3	7.7	-1.22	1.26	0.08	18.64	66.14
10	34.5	11.53	19.6	8.69	0.0	-55.61	25.27	67.13	5.7	-4.41	7.7	-0.96	2.69	3.45	16.24	75.21
11	27.0	-9.14	14.0	-15.79	0.0	-55.61	26.85	46.46	7.1	10.51	8.8	8.34	9.43	2.17	19.88	69.61
12	39.8	26.13	19.9	10.00	2.5	12.46	16.20	16.13	5.8	-3.44	7.7	-1.22	2.33	2.22	10.65	29.57
13	38.0	21.17	25.0	32.30	15.0	356.07	136.51	334.90	5.4	-7.74	7.2	-5.57	6.65	2.17	84.57	363.81
14	32.0	4.64	20.0	10.44	3.0	26.73	13.93	22.09	6.7	6.21	7.8	-0.35	3.28	6.56	9.67	27.08
15	25.0	-14.66	15.0	-11.42	0.0	-55.61	27.23	44.19	5.9	-2.37	7.5	-2.96	2.67	0.59	17.40	70.61
16	25.7	-12.73	13.6	-17.54	0.0	-55.61	28.62	42.88	6.8	7.07	8.6	6.34	6.71	0.73	19.86	69.21
17	35.0	12.90	15.0	-11.42	0.0	-55.61	26.64	68.51	6.7	6.21	7.7	-1.22	3.72	7.43	17.47	70.61
18	26.0	-11.90	13.0	-20.16	1.0	-28.16	20.07	16.26	6.4	2.99	7.7	-1.22	2.11	4.21	12.89	41.16
19	85.0	150.71	84.0	290.24	130.0	3512.25	1317.73	3361.55	6.6	5.14	7.6	-2.09	3.62	7.23	792.09	3514.34
20	38.0	21.17	26.0	36.67	5.4	92.60	50.15	71.42	6.5	4.07	8.5	5.73	4.90	1.66	32.05	88.53
21	38.0	21.17	23.0	23.55	9.0	191.40	78.71	170.23	5.8	-3.66	7.8	-0.44	2.05	3.22	48.04	195.06
22	23.0	-20.22	13.8	-16.67	1.7	-10.05	15.65	10.18	6.0	-1.3	8.0	1.39	1.34	2.69	9.93	34.02

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

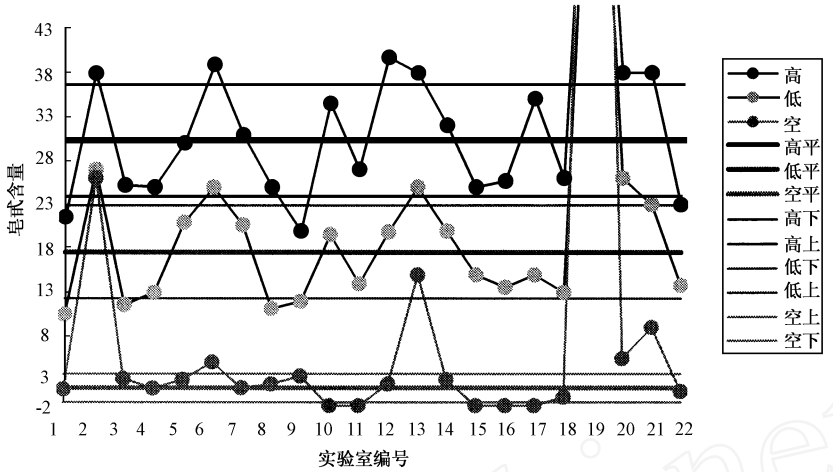

图 1　人参皂甙质控结果图

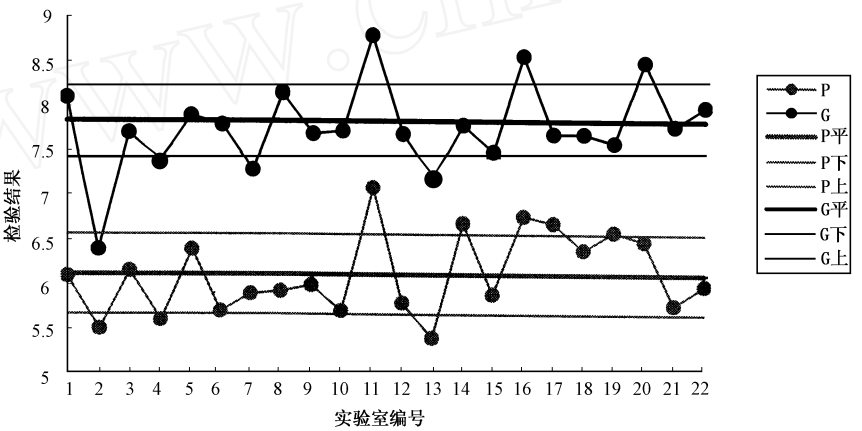

图 2　褪黑素质控结果图

“低”浓度水平的试样的测定结果经用 T 临界值检验法检验后发现有一个离群值,在剔除离群值后的平均值为 17.61 mg/100 mL,标准偏差为 5.31。测定结果在 1 倍标准偏差($\bar{x} \pm s$)范围内的实验室有 12 个,占 54.55 %;仅有一个实验室测定结果在 2 倍标准偏差($\bar{x} \pm 2s$)同时也在 3 倍标准偏差($\bar{x} \pm 3s$)范围之外,占 4.55 %。结果见表 3。

“空”浓度水平的试样的测定结果经用 T 临界值检验法检验后发现有 4 个离群值,在剔除离群值后的平均值为 2.03 mg/100 mL,标准偏差为 1.62。测定结果在 1 倍标准偏差($\bar{x} \pm s$)范围内的实验室有 11 个,占 50 %;测定结果在 2 倍标准偏差($\bar{x} \pm 2s$)范围内的实验室有 17 个,占 77.27 %;测定结果在 3 倍标准偏差($\bar{x} \pm 3s$)范围内的实验室有 18 个,占 81.82 %;有 4 个实验室测定结果在 3 倍标准偏差($\bar{x} \pm 3s$)范围之外,占 18.18 %。结果见表 3。

z-值统计结果　在 3 个浓度水平的试样统计结果中,“空”浓度水平的 z-值范围最大,为 - 55.61 至 3512.25,而正是此水平被剔除的离群值最多。在各个实验值的 z-值统计结果中可以看到,一般其 3 个水平的 z-值均为负值或正值,即都表现为负偏差或正偏差,这在质控图上也可看到(见图 1),这说明各个实验室对测定方法的掌握程度不同,出现了系统误差,结果见表 4。

3.1.2　“褪黑素”试样质控结果及统计

“褪黑素”试样有两个浓度水平的样品,即“P”、“G”。22 个实验室全部正确的区分出了试样的浓度水平。结果见表 2。

“褪黑素”试样的检验结果的离散程度比较小,两个浓度水平仅出现了 1 个离群值,占 2.27 %。“P”、“G”两个浓度水平的试样的测定结果在剔除离群值后的变异系数(CV %)分别为 7.37 %、5.06 %,结果见表 3。

“P”浓度水平的试样的测定结果经用 T 临界值检验法检验后发现没有离群值,平均值为 6.13 mg/g,标准偏差为 0.45。测定结果在 1 倍标准偏差

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

($\bar{x} \pm s$)范围内的实验室有 14 个,占 63.64 %;实验室测定结果在 2 倍标准偏差($\bar{x} \pm 2s$)范围内的实验室有 21 个,占 95.45 %;在 3 倍标准偏差($\bar{x} \pm 3s$)范围之内的实验室有 22 个,占 100 %,结果见表 3。

"G"浓度水平的试样的测定结果经用 T 临界值检验法检验后发现有 1 个离群值,在剔除离群值后的平均值为 7.85 mg/g,标准偏差为 0.40。测定结果在 1 倍标准偏差($\bar{x} \pm s$)范围内的实验室有 15 个,占 68.18 %;实验室测定结果在 2 倍标准偏差($\bar{x} \pm 2s$)范围内的实验室有 20 个,占 90.91 %;在 3 倍标准偏差($\bar{x} \pm 3s$)范围之内的实验室有 21 个,占 95.45 %,仅有 1 个实验室测定结果在 3 倍标准偏差($\bar{x} \pm 3s$)范围之外,占 4.55 %,结果见表 3。

z-值统计结果"褪黑素"试样的检验结果的离散程度比较小,z-值的范围比较小,说明测定方法的系统误差较小。结果见表 4。

3.2 对测定方法的讨论

3.2.1 人参皂甙的测定方法为比色法。从测定方法看,去除干扰的步骤比较复杂,对此方法的掌握有一定难度。从测定的结果分析,多数检验单位掌握了此分析方法,能准确区分质控试样的浓度水平,但少数检验单位仍然没有掌握分析方法的关键控制步骤和区分试样的梯度,导致了检验结果偏差较大。从检验人员反应情况看,本方法操作比较复杂,柱层析去糖不易掌握,如造成"空白"试样有一定的阳性误差,需要改进分析方法。

3.2.2 褪黑素的测定方法为液相色谱法,较为成熟,而且试样较为简单,方法易于掌握,试样的检验结果的离散程度比较小。

3.3 总结 通过对保健食品功效成分检测实验室的"人参皂甙"和"褪黑素"试样质量控制,大多数的检验实验室具有比较高的检测水平,具备相应的检测能力,可以完成保健食品功效成分的检测任务。但是也有个别实验室未能达到质量控制的要求,存在一些问题,需要进一步进行改进、提高,以求尽快达到较高的检测水平,完成保健食品功效成分的检测任务。总之,今后的质控工作中不仅要提供"参考检验方法",而且方法要经过广泛的验证,必要时进行培训,使之成为"标准操作程序(SOP)",从而减小方法的误差,达到质量控制的目的。

参考文献:

[1] 蒋子刚,顾雪梅. 分析检验的质量保证和计量认证[M]. 上海:华东理工大学出版社,1998.

[2] 钱耆生,沈国超. 化工产品质量保证——标准化·计量·质量管理[M]. 北京:中国计量出版社,1994.

[3] Manual of Food Quality Control 14. Quality Assurance in the Food Control Chemical Laboratory[M]. Rome: Food and Agriculture Organization of The United Nations, 1993.

[4] 潘秀荣. 分析化学准确度的保证和评价[M]. 北京:中国计量出版社,1987.

[5] Report on the joint WHO/GTZ analytical quality assurance study of pesticide residues in orange powder[R]. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1999.

Quality assurance of determining ginsenoside and melatonin/**Han Hongwei**, **Wang Zhutian**, **Yang Zuying**, **et al**. //**Chinese Journal of Food Hygiene**. 2001, 13(3): 11～15

Abstract: For increasing the level of determining health food's efficacy component, the Institute of Food Safety Control and Inspection, Ministry of the Public Health, PRC have organized the quality assurance, 22 laboratories of determining health food's efficacy component have joined in, and the quality control results have been appraised. The quality control results of Ginsenoside have bigger dispersion digree. There are six outlier results beyond $\bar{x} \pm 3s$. The quality control results of Melatonin have smaller dispersion digree. There is only one outlier results beyond $\bar{x} \pm 3s$. Most of the laboratories have the higher checkout level and can complete the task of determining health food's efficacy component.

Author's address: Han Hongwei, the Institute of Food Safety Control and Inspection, Ministry of the Health, 100021 PRC.

Key Words: Dietary Supplements Quality Control Panaxosides Melatonin

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net