

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

М.С. Ларькина, Т.В. Кадырова

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Практикум по фармацевтической химии

Под ред. Е.В. Ермиловой

Томск
Издательство СибГМУ
2016

УДК 616.1/4.07:543.06](075.8)

ББК 52.8я73+35.66я73

Л 259

Ларькина М. С. Кадырова Т. В.

Л 259 Стандартизация лекарственных средств: практикум по фармацевтической химии / М. С. Ларькина, Т. В. Кадырова; под ред. Е. В. Ермиловой. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2016. – 83 с.

Практикум подготовлен по дисциплине «Фармацевтическая химия» в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом высшего профессионального образования для студентов, обучающихся по основным образовательным программам по специальности «Фармация».

Представлен материал по двум темам раздела «Стандартизация лекарственных средств»: «Статистическая обработка результатов количественного анализа» и «Валидационная оценка методик анализа лекарственных средств».

Для каждой темы приведен теоретический материал для самостоятельной подготовки студентов к занятию, вопросы для самоконтроля, тестовые задания, даны методические указания к проведению лабораторной работы.

Предложенная структура издания помогает выделить главные аспекты изучаемых тем, организовать и конкретизировать учебный процесс.

УДК 616.1/4.07:543.06](075.8)

ББК 52.8я73+35.66я73

Рецензент:

Л.А. Дрыгунова – канд. хим. наук, доцент кафедры химии СибГМУ Минздрава России.

Утверждено и рекомендовано к печати Учебно-методической комиссией фармацевтического факультета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 3 от 19 апреля 2016 г.).

© Издательство СибГМУ, 2016

© Ларькина М.С., Кадырова Т.В., 2016

ПРЕДИСЛОВИЕ

Одной из задач дисциплины «фармацевтическая химия» является формирование у студентов профессиональных компетенций в области контроля качества лекарственных средств.

Настоящее руководство включает темы, которые отражают содержание программы специалитета по разделу «Стандартизация лекарственных средств».

Предлагаемый теоретический материал для самостоятельной подготовки включает современные требования, предъявляемые к методам, используемым в контроле качества лекарственных средств.

Вопросы для самоконтроля и тестовые задания помогут студенту успешно подготовиться к каждому практическому занятию. Для более глубокого изучения теоретического материала каждая тема содержит по две лабораторные работы, которые рассчитаны на получение студентами экспериментальных данных, их статистическую обработку и интерпретацию.

Работы подобраны с учетом доступности исследуемого материала, реактивов и оборудования, возможности выполнения в отведенное для занятий время.

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе значительно расширилось само понятие качества фармацевтического продукта. Ранее оно сводилось в основном к соответствию требованиям фармакопейных стандартов. В настоящее время можно дать более широкое определение этого понятия.

Качество – совокупность признаков, определяющих свойство готового продукта, его соответствие предназначенному применению и условиям изготовления, включенным в регистрационные материалы. Только в этом случае можно полагать, что изготовленная лекарственная форма будет обладать ожидаемым терапевтическим или профилактическим эффектом, отраженным в инструкции по применению.

Контроль качества – часть GMP, связанная с отбором проб и проведением испытаний, а также с организацией, документированием и процедурами выдачи разрешений, которые гарантируют, что необходимые испытания проведены и что сырье и материалы не будут разрешены для использования, а продукция не будет разрешена для продажи до тех пор, пока их качество не будет признано удовлетворительным.

Улучшение качества и повышение уровня стандартизации лекарственных средств (ЛС) связаны с разработкой системного подхода к выбору метода для соответствующего фармакопейного испытания, сравнения исходного и альтернативного методов и унификации методик.

В соответствии с современными требованиями к производству лекарственных средств, необходимо использование валидированных аналитических методов. Валидация аналитического метода проводится как при внедрении новой методики при разработке новых лекарственных средств, так и при изменении условий анализа лекарственных средств.

Практической ценностью валидации является то, что в процессе разработки новых методик можно своевременно выявить их недостатки и на ранних стадиях существенно улучшить методику. Практика валидационных экспериментов дает понимание сути методики и осознание необходимости строгого соблюдения ее параметров. В ре-

зультате, при последующей эксплуатации валидированной методики значительно снижается вероятность ошибок.

Требования к правилам проведения валидации на фармацевтическом производстве установлены рядом нормативных документов:

- ГОСТ Р52249-2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств».
- ГОСТ-53434-2009 «Принципы надлежащей производственной практики».
- ГОСТ-Р-ИСО-5725-2002 «Точность (правильность, прецизионность) методов и результатов измерений».
- Стандарт ИСО 9000.
- Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств, 2007.
- ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик».
- Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 N 916 "Об утверждении Правил организации производства и контроля качества лекарственных средств" (Зарегистрировано в Минюсте России 10.09.2013, N 29938).

Валидации подлежат методики количественного определения, в том числе методики определения примесей и методики определения предела содержания.

Различные методы проведения количественных измерений преследуют, как правило, цель уменьшения вклада систематической либо случайной ошибки в результат анализа. При этом для каждого метода характерны свои особенности, ведущие к понижению какой-либо ошибки; с другой стороны, для каждого метода необходимо выполнение определенных требований, ведущих к уменьшению ошибки. Это достигается при помощи статистической обработки полученных экспериментальных данных.

Основным нормативным документом для проведения статистической обработки данных является ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» (ГФ XIII), в которой изложены основные критерии, применяемые при статистической обработке результатов химического эксперимента.

Таким образом, знание особенностей статистической обработки результатов химического эксперимента и валидации аналитических методик является необходимым для будущего провизора.

ТЕМА 1

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ
ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ

1.1. Измерение. Классификация измерений

Фармацевтический анализ связан с различного рода измерениями (измерение объема, массы) и расчетами количественного содержания действующих веществ и примесей в лекарственных субстанциях и препаратах.

Измерение – познавательный процесс, который заключается в сравнении путем физического эксперимента данной физической величины с известной физической величиной, принятой за единицу.

Классификация измерений по видам

1. По характеристике точности (по условиям измерений).

Равноточные измерения – ряд измерений какой-либо величины, выполненных одинаковыми по точности средствами измерений в одних и тех же условиях.

Неравноточные измерения – ряд измерений какой-либо величины, выполненных различными по точности средствами измерений и (или) в разных условиях.

2. По числу измерений в серии.

Однократное (двукратное, трехкратное) измерение – измерение, выполненное один раз (два раза, три раза).

Многократное измерение – измерение, состоящее из ряда последовательных однократных измерений. При четырех измерениях и более измерение можно считать многократным, т.к. при $n > 4$ ряд измерений может быть обработан в соответствии с требованиями математической статистики.

3. По отношению к изменению измеряемой величины.

Статическое измерение – измерение физической величины, принимаемой за неизменную на протяжении времени измерения.

Динамическое измерение – измерение физической величины, размер которой с течением времени меняется.

4. По метрологическому назначению.

Технические измерения – измерения при помощи рабочих средств измерений с целью контроля параметров изделий, технологических процессов и т. д.

Метрологические измерения – измерения при помощи эталонов и образцовых средств измерений с целью воспроизведения единиц физических величин или передачи их размера рабочим средствам измерений.

5. По выражению результата.

Абсолютное измерение – измерение, приводящее к значению измеряемой величины, выраженному в ее единицах.

Относительное измерение – измерение отношения величины к одноименной величине, играющей роль единицы.

6. По общим приемам (по способу) получения результатов измерения.

Прямое измерение – измерение, при котором искомое значение величины находят непосредственно по показаниям прибора (измерение микрометром, измерительной линейкой).

Косвенное измерение – измерение, при котором искомое значение величины определяют на основании известной зависимости между этой величиной и величинами, подвергаемыми прямым измерениям.

Совокупные измерения проводятся путем одновременного измерения нескольких одноименных величин, при которых искомое значение находят решением системы уравнений. Для вычисления искомой величины число уравнений должно быть не меньше числа величин.

Совместные измерения – это одновременное измерение двух или нескольких неоднородных физических величин для определения зависимости между ними.

7. По связи с объектом (изделием) – контактное и бесконтактное.

1.2. Погрешности измерений и их классификация

При практическом использовании тех или иных измерений важно оценить их точность.

Точность измерений – степень приближения результатов измерения к некоторому действительному значению.

Даже самые точные приборы не могут показать действительного значения измеряемой величины. Обязательно существует погрешность измерения, причинами которой могут быть различные факторы. Полностью исключить погрешности практически невозможно, а вот

установить пределы возможных погрешностей измерения и, следовательно, точность его выполнения, необходимо.

Погрешность измерения – это разница между результатом измерения и истинным (действительным) значением измеряемой величины.

Погрешности измерений могут быть классифицированы:

1. По форме числового выражения (способу выражения): абсолютные, относительные, приведенные.
2. По закономерностям (характеру) проявления: систематические, случайные, грубые, промахи.
3. По источнику (месту) возникновения: инструментальные погрешности, субъективные погрешности.
4. По условиям изменения измеряемой величины: статические, динамические.
5. По влиянию внешних условий: основная, дополнительная и др.

Количества факторов, влияющих на точность измерения, достаточно много, и любая классификация погрешностей измерения в известной мере условна, так как различные погрешности в зависимости от условий измерительного процесса проявляются в различных группах. Поэтому для практических целей достаточно рассмотреть случайные и систематические составляющие погрешности измерений, а также грубые погрешности и промахи.

Систематическая погрешность измерения – составляющая погрешности, которая остается постоянной или закономерно изменяется при повторных измерениях одной и той же физической величины.

Примером систематической погрешности может служить отклонение от нормальной температуры измерения; измерение прибором, у которого указатель смещен относительно нулевой отметки (настройка прибора). В ряде случаев систематическая погрешность может быть исключена путем устранения источников погрешности до начала измерений (профилактика погрешности), а в процессе измерений – путем внесения известных поправок в результаты измерений.

Случайная погрешность измерения – составляющая погрешности измерения, которая изменяется случайным образом при повторных измерениях одной и той же величины.

Примером случайной погрешности может быть округленная погрешность при считывании показаний прибора, вариации показаний прибора. Их нельзя исключить из результатов измерений путем введения поправки, однако их можно существенно уменьшить. Для

уменьшения случайной погрешности есть два пути: или повышать точность измерений, или увеличивать число измерений (n). Значение случайной погрешности заранее неизвестно, оно возникает из-за множества неуточненных факторов. Выявить величину случайной погрешности можно только на основе проведения многократных измерений и обработки результатов на основе правил теории вероятности. Их значения не могут быть предсказаны, а может быть выделена лишь зона рассеивания с некоторой вероятностью.

К случайным погрешностям относят грубые погрешности и промахи.

Грубые погрешности (промахи) возникают из-за ошибочных действий оператора, неисправности средств измерения или резких изменений условий результатов измерений. Грубые погрешности измерений могут сильно исказить доверительный интервал, поэтому их исключение обязательно. Обычно они сразу видны в ряду полученных результатов, но в каждом конкретном случае это необходимо доказать.

Для исключения из результатов измерений грубых погрешностей необходимо проделать соответствующие статистические обоснования.

Для обнаружения грубых ошибок измерений анализа разработан ряд методов:

1. **Критерий $3s$** . Данный критерий надежен при $n \geq 20$. В этом случае считается, что результат, возникающий с вероятностью $P \leq 0,003$, малореален и его можно квалифицировать промахом, т. е. сомнительный результат x отбрасывается, если $|\bar{x} - x_i| > 3s$. Величины x и s вычисляют без учета x_i .

2. **Критерий Шовине**. Используют, если число измерений невелико (до 10). В этом случае промахом считается результат x_i , при котором разность $|\bar{x} - x_i|$ в зависимости от числа измерений (n) превышает значения $k \cdot s$:

$$1,6 \cdot \sigma \text{ при } n = 3$$

$$1,7 \cdot \sigma \text{ при } n = 6$$

$$1,9 \cdot \sigma \text{ при } n = 8$$

$$2 \cdot \sigma \text{ при } n = 10$$

При проведении химических и физико-химических анализов перед химиком-аналитиком стоит задача не только получения результата анализа на необходимом уровне чувствительности, но и оценка правильности и надежности этого результата. Различные методы проведения количественных измерений преследуют, как правило, цель уменьшения вклада систематической либо случайной ошибки в результат анализа. При этом для каждого метода характерны свои осо-

бенности, ведущие к понижению какой-либо ошибки и, с другой стороны, для каждого метода необходимо выполнение определенных требований, ведущих к уменьшению ошибки.

Как правило, погрешности измерения (если исключить систематическую) подчиняются нормальному закону распределения.

Согласно классической теории ошибок, надежную оценку точности определений (измерений) можно сделать только на основании бесконечно большого числа параллельных измерений.

1.3. Метрологические характеристики методики

При статистической обработке результатов анализа определяют ряд метрологических характеристик метода:

1. n – количество опытов ($n > 3$), (или объем выборки, или количество измерений);

2. f – число степеней свободы: $f = n - 1$;

3. μ – истинное значение измеряемой величины (по ГФ или ФС);

4. P – доверительная вероятность (надежность) – доля случаев, в которых среднее (арифметическое) при данном числе определений будет лежать в определенных пределах;

5. x – результат измерения (опыта);

6. \bar{x} – среднее арифметическое из результатов, полученных при всех измерениях;

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n}$$

7. S^2 – выборочная дисперсия – рассеяние результатов относительно среднего значения;

$$S^2 = \frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 \dots (x_n - \bar{x})^2}{n - 1(f)}$$

8. S – средняя квадратичная ошибка отдельного определения (или стандартное отклонение);

$$S = \sqrt{S^2}$$

S (стандартное отклонение) – характеризует воспроизводимость метода. Чем меньше S , тем воспроизводимей метод.

9. $S_{\bar{x}}$ – средняя квадратичная ошибка среднего арифметического (или стандартное отклонение среднего результата);

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{S^2}{n}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

10. $\Delta_{\bar{x}}$ – доверительный интервал среднего значения (или точность прямого измерения);

$$\Delta_{\bar{x}} = t(P, f) * S_{\bar{x}},$$

где $t(P, f)$ – коэффициент нормированных отклонений (критерий Стьюдента) при $P = 95 \%$ и $f = n - 1$ (число степеней свободы) (табл. 1). Находят по специальным таблицам ГФ.

Таблица 1

Числовые значения критерия Стьюдента

f	Критерий Стьюдента		
	90 %	95 %	99 %
2	6,31	12,70	63,70
3	2,92	4,30	9,92
4	2,35	3,18	5,84
5	2,13	2,78	4,60
6	2,01	2,57	4,03
7	1,94	2,45	3,71
8	1,89	2,36	3,50

Обычно для расчетов доверительного интервала пользуются значением $P = 95 \%$; иногда $P = 90 \%$, но при ответственных измерениях требуется **более высокая** надежность ($P = 99 \%$).

Если $P = 95 \%$, $f = n - 1 = 3 - 1 = 2$, то $t(P, f) = 4,30$.

Чем меньше $\Delta_{\bar{x}}$, тем точнее метод.

Величины, вычисляемые описанным выше способом, характеризуют только влияние случайных, но не систематических ошибок. Анализ может оказаться неправильным, несмотря на хорошую воспроизводимость, т. е. на малую величину S (стандартное отклонение), если при анализе были допущены какие-либо систематические ошибки. Отсутствие систематических ошибок может быть установлено сопоставлением разницы между полученным при анализе средним арифметическим \bar{x} и истинным содержанием μ определяемого вещества.

11. Δ – достоверность (правильность): $\Delta = |\bar{x} - \mu|$, где μ – находят по ГФ или ФС.

Если $\Delta < \Delta_{\bar{x}}$, то систематические ошибки отсутствуют. Если $\Delta \geq$

$\Delta \bar{x}$, то имеют место систематические ошибки.

12. $\varepsilon_{отн.}$ – относительная ошибка опыта, выражается в %:

$$\varepsilon_{отн.} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} * 100\%$$

При определении ошибки анализа следует иметь в виду, что число значащих цифр в ошибке не должно быть больше двух, а в конечном результате, представляющем значение ошибки, лучше ограничиться одной цифрой. При этом в измеряемой величине порядок последней значащей цифры должен быть равен порядку последней цифры в абсолютной ошибке.

Например:

$0,01236 \pm 0,00036$ г/см³, или лучше

$0,0124 \pm 0,0004$ г/см³;

$2,75 \pm 0,32$ г/л, или

$2,8 \pm 0,4$ г/л.

При проведении «промежуточных» расчетов можно оставлять «запасные» цифры.

13. $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$ – интервальное значение определяемой величины (или граничные значения доверительного интервала среднего результата).

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Характеристика фармацевтического анализа.
2. Аналитические приемы в фарманализе и их характеристика.
3. Измерение. Виды измерений.
4. Источники ошибок в анализе лекарственных средств.
5. Классификация ошибок методов анализа.
6. Теория ошибок и статистическая обработка результатов анализов.
7. Метрологические параметры методики и их характеристика.
8. Факторы, влияющие на правильность результатов анализа.
9. Надежность измерений, систематические и случайные погрешности.
10. Грубые погрешности и методы их выявления.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Лабораторные работы №1-2 Статистическая обработка результатов количественного титриметрического анализа

Цель: освоение статистической обработки экспериментальных данных и закрепление навыков работы по выбору метода количественной оценки качества лекарств.

План работы

1. Количественное определение лекарственного вещества двумя различными методами минимум в шести повторах.
2. Статистическая обработка результатов анализа по двум методам, оформление протоколов и отчетов о выполненной работе.

Методики количественного определения лекарственных веществ

1. Раствор кальция хлорида 10 % (*М. м. 19,08*).

1.1. Комплексометрическое определение. 10 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. 10 мл полученного раствора переносят в колбу для титрования, добавляют 15 мл воды, 5 мл аммиачного буферного раствора, 0,12 г индикаторной смеси или 7 капель раствора кислотного хром темно-синего и титруют раствором эдетата натрия (0,05 моль/л) до сине-фиолетового окрашивания.

1.2. Аргентометрическое определение. К 5 мл разведения прибавляют 1–2 капли калия хромата и титруют раствором серебра нитрата (0,1 моль/л) до появления красноватого осадка.

2. Раствор пероксида водорода 3 % (*М.м. пероксида водорода 34,01*)

10 мл раствора пероксида водорода помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки.

2.1. Перманганатометрическое определение.

К 10 мл разведения прибавляют 5 мл кислоты серной разведенной и титруют раствором калия перманганата (0,1 моль/л) до слабо-розового окрашивания.

2.2. Йодиметрическое определение. 10 мл разведения помещают в склянку с притертой пробкой, добавляют 5 мл 10 % раствора калия йодида, 5 мл кислоты серной разведенной и оставляют в темном месте на 10 мин. Титруют раствором натрия тиосульфата (0,1 моль/л) до обесцвечивания (индикатор – крахмал).

3. Магния оксид (М.м. 40,32)

Около 0,5 г препарата (точная навеска) растворяют в 40 мл раствора кислоты хлороводородной (0,1 моль/л) в мерной колбе вместимостью 250 мл и доводят объем раствора водой до метки.

3.1. Комплексометрическое определение. К 25 мл полученного разведения добавляют 20 мл воды, 10 мл аммиачного буферного раствора и титруют при энергичном перемешивании раствором эдетата натрия (0,05 моль/л) до синего окрашивания (индикатор – кислотный хром черный специальный).

3.2. Алкалиметрическое определение. К 20 мл разведения прибавляют 2–3 капли раствора метилового оранжевого и титруют раствором натрия гидроксида (0,1 моль/л) до желтого окрашивания.

Содержание магния оксида рассчитывают по формуле:

$$x\%_{MgO} = \frac{T_{HCl/MgO} \times (V_{HCl} Kn_{HCl} - V_{NaOH} Kn_{NaOH}) \times 100}{a}$$

4. Кислота аскорбиновая (М. м 176,13)

Около 0,3 г препарата (т.н.) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают.

4.1. Иодатометрическое определение.

К 10 мл разведения прибавляют 0,5 мл 1 % раствора калия иодида, 2 мл раствора крахмала и 1 мл 2 % раствора кислоты хлороводородной и титруют раствором калия йодата (0,1 моль/л) до появления стойкого слабо-синего окрашивания.

4.2. Алкалиметрическое определение. К 20 мл разведения прибавляют 5–7 капель раствора фенолфталеина и титруют раствором натрия гидроксида (0,1 моль/л) до розового окрашивания.

4.3. Иодометрическое определение. К 10 мл разведения прибавляют 1–2 мл крахмала и титруют раствором йода (0,1 моль/л) до синего окрашивания.

5. Новокаин (М.м. 272,8.)

5.1. Нитритометрическое определение. Около 0,1 г препарата (точная навеска) растворяют в 3 мл воды и 3 мл разведенной кислоты хлороводородной. Добавляют воды до общего объема 25 мл, 0,3 г калия бромида, 3 капли нейтрального красного и при постоянном перемешивании медленно титруют раствором натрия нитрита (0,1 моль/л) от малиновой окраски до голубой, либо используют индикатор – 4 капли раствора тропеолина 00 и 2 капли метиленовой сини, титруют от красно-фиолетовой окраски до голубой.

5.2. Аргентометрическое определение. Около 0,1 г препарата (точная навеска) растворяют в 10 мл воды, прибавляют 2–3 капли раствора бромфенолового синего и по каплям – кислоту уксусную разведенную до перехода фиолетового окрашивания в зеленовато-желтое; титруют раствором серебра нитрата (0,1 моль/л) до фиолетового окрашивания.

5.3. Алкалиметрическое определение. Около 0,3 г препарата (точная навеска) растворяют в 10 мл воды, прибавляют 5 мл нейтрализованной по фенолфталеину смеси спирта этилового с хлороформом (1:2), 3–5 капель раствора фенолфталеина и титруют при перемешивании раствором натрия гидроксида (0,1 моль/л) до слабо-розового окрашивания водного слоя.

Оформление результатов количественного определения лекарственных веществ

1. По каждому методу количественного определения написать: уравнение, лежащее в основе метода; обоснование метода; расчет фактора эквивалентности; расчет титра и содержания массовой доли лекарственного вещества в процентах.
2. Провести статистическую обработку результатов анализа по обоим методам и данные представить в виде таблицы по предлагаемой форме (табл. 2).

Таблица 2

Результаты анализа

Название метода	Навеска вещества, а	Объем титранта, V(мл)	Содержание, х %	Метрологические характеристики						
				\bar{x}	S ²	$\frac{S}{\bar{x}}$	$\Delta \bar{x}$	Δ	$\epsilon_{отн.}$	$\bar{x} + \Delta \bar{x}$
1 метод	a ₁ -	V ₁ -	X ₁ -							
	a ₂ -	V ₂ -	X ₂ -							
	a ₃ -	V ₃ -	X ₃ -							
	a ₄ -	V ₄ -	X ₄ -							
	a ₅ -	V ₅ -	X ₅ -							
	a ₆ -	V ₆ -	X ₆ -							
2 метод	a ₁ -	V ₁ -	X ₁ -							
	a ₂ -	V ₂ -	X ₂ -							
	a ₃ -	V ₃ -	X ₃ -							
	a ₄ -	V ₄ -	X ₄ -							
	a ₅ -	V ₅ -	X ₅ -							
	a ₆ -	V ₆ -	X ₆ -							

3. Охарактеризовать методы анализа согласно приведённым ниже требованиям к ним и заполнить таблицу 3.

Таблица 3

Сравнение результатов анализа

п/п	Требования к методам анализа	Методы	
		Метод 1	Метод 2
	Специфичность		
	Селективность (избирательность)		
	Унификация		
	Правильность (достоверность) ($\Delta = \bar{x} - \mu$). Чем меньше Δ , тем достовернее метод		

4. Сделать заключение.

Требования к методам количественного определения

1. **Правильность (достоверность)** – степень близости результата анализа к действительному содержанию вещества. Правильность отражает разницу среднего арифметического и истинного содержания определяемого вещества ($\Delta = \bar{x} - \mu$). В литературе правильность часто называют систематическими ошибками. Возникают последние постоянно и вызываются неточностью аппаратуры, мерной посуды. Их устраняют, проверяя и калибруя аппаратуру и посуду, а также с помощью стандартных образцов.
2. **Воспроизводимость (точность)** – характеризует отклонение отдельных измерений от их среднего арифметического значения. Часто воспроизводимость называют случайной ошибкой, так как она возникает вследствие случайных причин. Среди случайных отклонений выделяют промахи – отклонения с большими значениями, резко отличающиеся от других, но их не берут в расчет при обработке результатов.
3. **Унификация** – определение нескольких лекарственных веществ (чаще всего одной группы) по единой методике.
4. **Количественное определение** должно проводиться по фармакологически активной части молекулы лекарственного вещества (специфичность метода).
5. **Селективность (избирательность)** – возможность определения лекарственного вещества в присутствии других компонентов лекарственной формы.
6. **Чувствительность метода** – позволяет определять малые количества вещества.

7. Безвредность, доступность и устойчивость реагента.
8. Экономичность (дешевизна) реагентов и анализа.
9. Простота методики выполнения.
10. Экспрессность (быстрота выполнения анализа).

ТЕМА 2

ВАЛИДАЦИОННАЯ ОЦЕНКА МЕТОДИК АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ
ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ

2.1. Определение, задачи и виды валидации

В соответствии с современными требованиями к производству лекарственных средств, необходимо использование валидированных аналитических методов.

Валидация аналитической методики – это экспериментальное доказательство того, что методика пригодна для решения предполагаемых задач.

Задача валидации методики – экспериментальное доказательство того, что данная методика пригодна в данной лаборатории для решения предназначенных целей.

Необходимость валидации:

- при проведении валидации в процессе разработки новых методик можно своевременно выявить их недостатки и на ранних стадиях существенно улучшить методику.
- при грамотно и качественно выполненной работе появляется уверенность и в методике, и в качестве анализируемого препарата.
- практика валидационных экспериментов дает понимание сути методики и осознание необходимости строгого соблюдения ее параметров.

Валидация делится на следующие виды:

- перспективная;
- сопутствующая;
- ретроспективная;
- ревалидация.

Перспективная валидация проводится центральной заводской лабораторией (ЦЗЛ) и отделом контроля качества (ОКК) на этапе подготовки проекта фармакопейной статьи (ФСП) на новые лекар-

ственные средства (ЛС) или при пересмотре ФСП, если вводятся новые аналитические методики (АМ). АМ, разработанные ЦЗЛ для проектов ФСП на ЛС, вначале валидируются в ЦЗЛ, а затем в ОКК для подтверждения и сравнения результатов валидации.

При валидации каждой АМ в ОКК необходимо повторить основную часть валидационных исследований, используя эксперименты на точность и правильность.

Сопутствующая валидация проводится в ЦЗЛ и ОКК на этапе подготовки проекта ФСП взамен существующей ФС (ВФС), если ранее валидационные исследования для АМ, включенных в ФС (ВФС), не проводились.

Все методы при проведении валидационных исследований должны демонстрировать отсутствие влияния других компонентов исследуемого образца на результаты определения анализируемого вещества.

Ретроспективная валидация проводится в ОКК с использованием метода карт контроля качества. Данный тип валидации АМ используется при условии, что состав ЛС, ведение технологического процесса и методики контроля качества останутся неизменными.

Ревалидация АМ (повторная валидация) осуществляется в ряде случаев, когда происходят изменения в синтезе лекарственного вещества, в составе готового ЛС и в самой методике. Ревалидация разделяется на две категории:

- 1) ревалидация после известного изменения, которое может повлиять на качество продукции (включая перенос процесса с одного предприятия на другое или с одного участка на другой);
- 2) периодическая ревалидация, проводимая по графику через определенные промежутки времени.

Ревалидация проводится в случае изменений:

- а) поставщиков исходного сырья (изменение физических свойств исходного сырья, таких как плотность, вязкость, размер частиц и др., может влиять на механические свойства сырья и, как следствие, неблагоприятно повлиять на процесс или целевой продукт);
- б) материалов первичной упаковки (например, использование полимерных материалов вместо стекла может потребовать внесения изменений в процесс упаковки, использования другого оборудования, проведения изучения стабильности и т.д.);
- в) регламентирующих требований к качеству готового продукта;
- г) объема серии;

- д) состава готового продукта;
- е) критериев оценки процесса;
- ж) в ходе технологического процесса;
- з) оборудования (замена оборудования и его ремонт; перепланировка и/или ремонт производственных помещений и инженерных систем).

Ревалидация должна производиться также:

- при появлении отклонений, выявленных при серийном выпуске продукции;
- при переносе процесса на другое производство или на другой участок;
- в случае неожиданных изменений, которые могут быть выявлены при проведении самоинспекции.

2.2. Виды документации по валидации

- Протоколы валидации (валидационный план);
- Методики проведения валидационных испытаний;
- Результаты испытаний и отчеты по валидации.

Валидационные протоколы включают следующие положения, информацию, документы:

1. Цель валидации.
2. Объект валидации и его идентификация, дата и место проведения.
3. Вид, стадия и этап валидации.
4. Идентификация валидаторов (Ф.И.О., должность, подпись, дата), сведения о привлеченных организациях или экспертах.
5. Распределение ответственности за подготовку, согласование, утверждение и хранение протокола.
6. Термины и определения.
7. Процедуры и методы валидации (применительно к объекту).
8. Конкретные параметры, подлежащие оценке, и их приемлемые значения.
9. Нормативная документация (ГОСТы, ОСТы, регламент, МУ и др.).
10. Формы для регистрации хода валидационных испытаний и полученных результатов.
11. Сведения о калибровке/поверке средств измерений, применяемых при проведении квалификации и валидации.

Отчет о проведении валидации включает следующие положения, информацию, документы:

1. Объект валидации и его идентификация, дата (период) и место проведения.
2. Цель и вид валидации.
3. Идентификация валидаторов (Ф.И.О., должность, подпись, дата).
4. Исходная информация:
 - 4.1. общая характеристика объекта, включая критические параметры;
 - 4.2. перечень документации (регламенты, фармстатьи, проектная документация, инструкции, спецификации, сертификаты, паспорта и др.);
 - 4.3. перечень методик проведения испытаний (измерений, отбора проб и др.) и критериев оценки результатов;
 - 4.4. сведения о привлеченных организациях или экспертах.
5. Сведения о калибровке/поверке:
 - 5.1. Средств измерений (приборы, датчики, весы и др.).
6. Документы:
 - 6.1. валидационные протоколы всех стадий квалификации или ссылка на них с указанием места хранения;
 - 6.2. протоколы (отчеты и др.) с данными и результатами испытаний, отбора проб и др.
7. Анализ полученных результатов, в том числе по:
 - 7.1. проверке критических условий и параметров;
 - 7.2. выявленным отклонениям (изменениям), требующим действий по корректировке;
 - 7.3. условиям охраны труда и технике безопасности.
8. Вывод по результатам валидации.
9. Сроки проведения повторной плановой валидации.

2.3. Виды валидируемых аналитических методик

Валидация аналитического метода проводится как при внедрении новой методики при разработке новых лекарственных средств, так и при изменении условий анализа лекарственных средств.

Валидации подвергаются аналитические методы, применяемые для:

- Идентификации лекарственного вещества.

- Установления пределов содержания примесей родственных соединений, тяжелых металлов, остаточных органических растворителей.
- Количественного определения лекарственного вещества, (веществ) в составе лекарственных форм, индивидуальных примесей и суммы примесных продуктов, консервантов.

Краткая характеристика рассматриваемых испытаний

Испытания на идентификацию предназначены для подтверждения подлинности анализируемого вещества в образце. Обычно это достигается путем сравнения каких-либо свойств (например, спектральных характеристик, хроматографического поведения, химической реакционной способности и т. д.) испытуемого и стандартного образцов.

Испытания, предназначенные для контроля примесей, могут быть как количественными, так и предельными. Назначение обоих испытаний – характеризовать чистоту образца. Для валидации количественных и предельных испытаний необходимы различные валидационные характеристики.

Количественное определение предназначено для определения количества анализируемого вещества в образце. При валидации методик количественного определения действующих веществ и других компонентов лекарственного препарата применяют одинаковые валидационные характеристики. Такие же валидационные характеристики могут быть применимы к методике количественного определения, связанной с другим испытанием (например, «Растворение»).

При валидации проводится оценка аналитической методики по перечисленным ниже характеристикам, выбираемым с учетом типовых рекомендаций, приведенных в табл. 4:

- специфичности (specificity);
- пределу обнаружения (detection limit);
- пределу количественного определения (quantitation limit);
- аналитической области (range);
- линейности (linearity);
- правильности (trueness);
- прецизионности (precision);
- устойчивости (robustness).

Последовательность рассмотрения валидационных характеристик отражает процесс, по которому может разрабатываться и оцениваться аналитическая методика. Однако целесообразно планировать экспе-

римент так, чтобы соответствующие валидационные характеристики изучались одновременно, обеспечивая правильное и полное понимание возможностей аналитической методики, например: специфичность, линейность, диапазон применения, правильность и прецизионность.

Таблица 4

Характеристики методик, определяемые при валидации

Наименование характеристики	Основные типы методик				
	Испыта- ние на подлин- ность	Посторонние примеси		Количественные определения	
		Количес- твенные методики	Предел содер- жания	Основного действую- щего веще- ства, норми- руемых ком- понентов	Действую- щего вещества в тесте «Рас- творение»
Специфич- ность**)	Да	Да	Да	Да	Да
Предел обнаружения	Нет	Нет	Да	Нет	Нет
Предел количе- ственного определения	Нет	Да	Нет	Нет	Нет
Аналитическая область	Нет	Да	Нет	Да	Да
Линейность	Нет	Да	Нет	Да	Да
Правильность	Нет	Да	*	Да	Да
Прецизионность: – повторяемость (сходимость) – промежуточная (внутри лабора- торная) прецизи- онность	Нет	Да	Нет	Да	Да
	Нет	Да	Нет	Да	Нет
Устойчивость	Нет	*	*	*	*
*) может определяться при необходимости; **) отсутствие специфичности одной аналитической методики может быть компенсировано применением другой аналитической методики					

2.4. Характеристики валидационных параметров и особенности их определения

Специфичность

Специфичность – это способность аналитической методики однозначно оценивать определяемое вещество в присутствии сопутствующих компонентов.

Доказательство специфичности валидируемой методики обычно основывается на рассмотрении полученных с ее использованием данных анализа модельных смесей известного состава.

Специфичность валидируемой методики может быть доказана также соответствующей статистической обработкой результатов анализов реальных объектов, выполненных с ее использованием и, параллельно, с использованием другой, заведомо специфичной, методики (методики, специфичность которой доказана).

Специфичность для методик испытаний на подлинность

Валидируемая методика (или совокупность методик) должна обеспечивать достоверную информацию о присутствии данного действующего вещества в субстанции или лекарственной форме при наличии в ее составе предусмотренных рецептурой компонентов, что подлежит экспериментальному подтверждению. Подлинность действующего вещества в фармацевтической субстанции или лекарственном препарате устанавливают в сравнении со стандартным образцом или по физико-химическим или химическим свойствам, не характерным для других компонентов.

Специфичность для методик количественного определения и испытания на примеси

Для валидируемой методики количественного определения и испытаний на примеси применяют одинаковые подходы – должна быть оценена ее специфичность в отношении определяемого вещества, т. е. должно быть экспериментально подтверждено, что присутствие сопутствующих компонентов не влияет непредусмотренным образом на результат анализа.

Допускается оценка специфичности валидируемой методики как путем анализа модельных смесей известного состава, содержащих определяемое вещество, так и путем сравнения результатов анализов реальных объектов, полученных одновременно с использованием валидируемой и другой, заведомо специфичной, методики. Результаты

соответствующих экспериментов должны быть статистически обработаны.

Недостаток специфичности испытания может быть компенсирован другим (другими) дополнительным испытанием.

При валидации методик, если это целесообразно, могут использоваться образцы лекарственных средств, подвергнутые, с целью накопления в них примесей, воздействию экстремальных условий (света, температуры, влажности) или химически модифицированные любым подходящим способом.

Для хроматографических методик показывают разрешение между двумя наиболее близко элюирующимися веществами при соответствующих концентрациях.

Предел обнаружения

Предел обнаружения (ПО) – это наименьшее количество (концентрация) определяемого вещества в образце, которое может быть обнаружено (или приближенно оценено) с использованием валидируемой методики.

Предел обнаружения в случаях, указанных в табл. 4, обычно выражается как концентрация определяемого вещества (в % относительных или долях на миллион – ppm).

В зависимости от типа методики (визуальная или инструментальная) используют разные способы определения ПО.

Предел обнаружения для методик с визуальной оценкой результата анализа

Проводят испытания образцов с различными известными количествами (концентрациями) определяемого вещества и устанавливают минимальное значение, при котором результат анализа может быть оценен визуально. Это значение является оценкой ПО.

Предел обнаружения для методик с инструментальной оценкой результата анализа

По соотношению сигнал/шум

Этот подход применим к методам, для которых наблюдается шум базовой линии. Сравнивают величины сигналов, полученных для контрольного опыта и для образцов с низкими концентрациями анализируемого вещества. Устанавливают минимальное количество (концентрацию) определяемого вещества в образце, при котором величина отношения аналитического сигнала к уровню шумов равна 3.

Найденная величина является оценкой ПО.

По величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика

Предел обнаружения находят по уравнению:

$$ПО = 3,3S/b,$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала; b – коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала к определяемой величине (тангенс угла наклона калибровочной кривой).

При наличии экспериментальных данных в широком диапазоне измеряемой величины S и b могут быть оценены методом наименьших квадратов.

Для линейного калибровочного графика значение S принимают равным стандартному отклонению S_a свободного члена уравнения этого графика. Полученное значение ПО при необходимости может быть подтверждено прямым экспериментом при количествах (концентрациях) определяемого вещества, близких к найденному значению ПО.

Как правило, если имеются данные о пригодности методики для надежного определения вещества в концентрациях, лежащих как выше, так и ниже нормы его содержания, установленной спецификацией, определять реальный ПО для такой методики не требуется.

Предел количественного определения

Предел количественного определения (ПКО) – это наименьшее количество (концентрация) вещества в образце, которое может быть количественно оценено с использованием валидируемой методики с требуемой правильностью и внутрилабораторной (промежуточной) прецизионностью.

ПКО является необходимой валидационной характеристикой методик, применяемых для оценки малых количеств (концентраций) веществ в образце и, в частности, для оценки содержания примесей.

В зависимости от типа методики используют следующие способы нахождения ПКО:

Предел количественного определения для методик с визуальной оценкой результата анализа

Проводят испытания образцов с различными известными количествами (концентрациями) анализируемого вещества и устанавливают минимальное значение, при котором результат анализа может быть

получен визуально требуемой правильностью и внутрилабораторной (промежуточной) прецизионностью.

Предел количественного определения для методик с инструментальной оценкой результата анализа

По соотношению сигнал/шум

Устанавливают минимальную концентрацию определяемого вещества в образце, при которой величина отношения аналитического сигнала к уровню шума составляет около 10:1.

По величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика

ПКО рассчитывают по уравнению:

$$\text{ПКО} = 10S/b,$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала; b – коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала к определяемой величине.

При наличии экспериментальных данных в широком диапазоне измеряемой величины S и b могут быть оценены методом наименьших квадратов.

Для линейного калибровочного графика значение S принимают равным стандартному отклонению S_a свободного члена уравнения этого графика. Полученное значение ПКО при необходимости может быть подтверждено прямым экспериментом при количествах (концентрациях) определяемого вещества, близких к найденному значению ПКО.

Если имеются данные о способности методики надежно определять анализируемое вещество в концентрации выше и ниже установленной в спецификации нормы его содержания, определять реальное значение ПКО для такой методики, как правило, не требуется.

Аналитическая область методики

Аналитическая область методики – это интервал между верхним и нижним значениями аналитических характеристик определяемого компонента в объекте анализа (его количества, концентрации, активности и т. п.). В этом интервале результаты, получаемые с использованием валидируемой методики, должны иметь приемлемый уровень правильности и внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности.

К величине аналитической области методик предъявляются следующие требования:

- методики количественного определения должны быть применимы в интервале от 80 до 120 % от номинального значения определяемой аналитической характеристики;
- методики оценки однородности дозирования должны быть применимы в интервале от 70 до 130 % от номинальной дозы;
- методики количественного определения, применяемые при проведении теста «Растворение», обычно должны быть применимы в пределах от 50 до 120 % от ожидаемой концентрации действующего вещества в среде растворения;
- методики испытаний на чистоту должны быть применимы в интервале от «Предела количественного определения» или «Предела обнаружения» до 120 % от допустимого содержания определяемой примеси.

Аналитическая область методики может быть установлена по диапазону экспериментальных данных, удовлетворяющих линейной модели.

Линейность

Линейность методики – это наличие линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации или количества определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики.

При валидации методики ее линейность в аналитической области проверяют экспериментально измерением аналитических сигналов для не менее чем 5 проб с различными количествами или концентрациями определяемого вещества. Экспериментальные данные обрабатывают методом наименьших квадратов с использованием линейной модели:

$$y = bx + a,$$

где x – количество или концентрация определяемого вещества; y – величина отклика; b – угловой коэффициент; a – свободный член (ОФС «Статистическая обработка результатов химического эксперимента», приложение 1).

Должны быть рассчитаны и представлены величины b , a и коэффициент корреляции r . В большинстве случаев используют линейные зависимости, отвечающие условию $|r| \geq 0,99$, и только при анализе следовых количеств рассматривают линейные зависимости, для которых $|r| \geq 0,9$.

Правильность

Правильность методики характеризуется отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное.

Валидируемая методика признается правильной, если значения, принимаемые за истинные, лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних результатов анализов, полученных экспериментально по данной методике.

Правильность изучают в пределах диапазона применения аналитической методики.

Количественное определение активной субстанции

Могут использоваться следующие способы определения правильности:

- а) применение аналитической методики к образцу с известной степенью чистоты, например, к стандартному образцу;
- б) сравнение результатов анализа, полученных с использованием валидируемой методики и арбитражного метода, правильность и прецизионность которого известны;
- с) заключение о правильности можно сделать после того, как установлены прецизионность, линейность и специфичность.

Количественное определение готового лекарственного препарата

Могут использоваться следующие способы определения правильности:

- а) применение методики к искусственным смесям, к которым были добавлены известные количества анализируемого вещества;
- б) если невозможно получить образцы всех компонентов лекарственного препарата, возможно применение метода добавок или арбитражной методики, правильность которой доказана;
- с) заключение о правильности можно сделать после того, как установлены прецизионность, линейность и специфичность.

Количественное определение примесей

Правильность изучают на образцах (субстанции или готового лекарственного препарата) с добавленным известным количеством примесей. Если примеси или продукты разложения недоступны, применяют арбитражный метод. Если примеси неизвестны, то чувствительность их определения может быть принята равной чувствительности определения субстанции. Если чувствительность определения субстанции и примеси существенно различается, то вводят коэффи-

циент пересчета. Должен быть указан конкретный способ нормирования содержания отдельной примеси или суммы примесей, например, в массовых процентах, в процентах по отношению к площади пика основного анализируемого компонента или др.

Представление данных

Правильность оценивают **не менее чем для девяти определений**, охватывающих весь диапазон применения (например, три концентрации и три определения для каждой). Определения должны включать все стадии методики. Правильность выражают в процентах найденного значения от введенного количества или как разность между средним и истинным значениями с учетом соответствующих доверительных интервалов.

Прецизионность

Прецизионность методики характеризуется рассеянием результатов, получаемых с ее использованием, относительно величины среднего результата. Мерой такого рассеяния является величина стандартного отклонения результата отдельного определения, полученная для выборки достаточно большого объема.

Прецизионность оценивается для любой методики количественного определения по результатам не менее трех определений для каждого из трех уровней определяемых величин (нижнего, среднего и верхнего), лежащих в пределах аналитической области методики. Повторяемость также может оцениваться для любой методики количественного определения по результатам не менее шести определений для образцов с содержанием определяемого вещества, близким к номинальному. Во многих случаях оценка прецизионности может быть проведена по результатам обработки экспериментальных данных методом наименьших квадратов, как указано в ОФС «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» (Приложение 1).

Прецизионность должна исследоваться на однородных образцах и может оцениваться в трех вариантах:

- как повторяемость (сходимость);
- как внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность;
- как межлабораторная прецизионность (воспроизводимость).

Результаты оценки методики анализа по каждому из вариантов прецизионности обычно характеризуются соответствующим значением величины стандартного отклонения результата отдельного определения. Обычно при разработке оригинальной методики определя-

ется повторяемость (сходимость) результатов, получаемых с ее использованием. При необходимости включения разработанной методики в нормативную документацию дополнительно определяется ее внутрिलाбораторная (промежуточная) прецизионность. Межлабораторная прецизионность (воспроизводимость) методики оценивается при предполагаемом ее включении в проект общей фармакопейной статьи, фармакопейной статьи или в нормативную документацию на фармакопейные стандартные образцы.

Повторяемость (сходимость)

Повторяемость аналитической методики оценивают по независимым результатам, полученным в одинаковых регламентированных условиях в одной лаборатории (один и тот же исполнитель, одно и то же оборудование, один и тот же набор реактивов) в пределах короткого промежутка времени.

Сходимость изучают, выполняя:

а) не менее девяти определений, охватывающих диапазон применения методики (например, три концентрации / три определения для каждой);

б) для образцов с содержанием анализируемого вещества, близким к номинальному – не менее шести определений.

Внутрिलाбораторная (промежуточная) прецизионность

Внутрिलाбораторная (промежуточная) прецизионность валидируемой методики оценивается в условиях работы одной лаборатории (разные дни, разные исполнители, разное оборудование и т. д.).

Межлабораторная прецизионность (воспроизводимость)

Межлабораторная прецизионность (воспроизводимость) валидируемой методики оценивается при проведении испытаний в разных лабораториях.

Воспроизводимость должна быть изучена при стандартизации аналитической методики, например при включении методики в фармакопею.

Эти данные не включают в регистрационное досье.

Представление данных

При изучении прецизионности следует представлять: стандартное отклонение, относительное стандартное отклонение и доверительный интервал.

Устойчивость

Устойчивость валидируемой методики – это способность сохранять найденные для нее в оптимальных (номинальных) условиях характеристики, при вероятных небольших отклонениях от этих условий.

Устойчивость методики не следует определять по отношению к легко контролируемым условиям проведения анализа. Это резко сокращает необходимость в специальном изучении устойчивости.

Устойчивость должна изучаться только в тех случаях, когда валидируемая методика основана на использовании особо чувствительных к внешним условиям методов анализа, таких как различные виды хроматографии и функционального анализа. При необходимости оценка устойчивости методики проводится на стадии ее разработки. Если вероятна невысокая устойчивость методики, проверка ее пригодности осуществляется в обязательном порядке непосредственно в процессе практического использования.

Проверка пригодности аналитической системы

Проверка пригодности аналитической системы – это проверка выполнения основных требований, предъявляемых к ней. Система, пригодность которой проверяется, представляет собой совокупность конкретных приборов, реактивов, стандартов и анализируемых образцов. Требования к такой системе обычно конкретизированы в общей фармакопейной статье на соответствующий аналитический метод. Таким образом, проверка пригодности аналитической системы становится процедурой, включаемой в валидируемую методику.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Определение валидации, виды валидации.
2. Основные нормативные документы, характеризующие процесс валидации.
3. План валидации. Отчет по валидации.
4. Перечень аналитических методик, подлежащих валидации.
5. Валидационные характеристики методики.
6. Процедура определения специфичности аналитических методик.
7. Определение линейности.
8. Определение предела обнаружения.
9. Определение правильности.

10. Определение прецизионности: повторяемость; внутрилабораторная прецизионность; межлабораторная прецизионность.
11. Определение устойчивости.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Лабораторные работы № 3-4 Валидация аналитической методики

Цель: валидация методики определения количественного содержания нитрофурала в лекарственной форме экстенпорального изготовления фотоэлектроколориметрическим методом.

План работы

1. Составить план проведения валидации методики.
2. Провести валидацию методики по показателям «линейность» и «сходимость» (из 6 серий лекарственной формы). Все полученные значения занести в табл. 5 и 9.
3. Провести валидацию методики по показателям внутрилабораторной прецизионности (используя данные других групп, табл. 9) и правильности (заполнить таблицы 7, 8 и 10).
4. Сделать расчеты и провести статистическую обработку результатов.
5. Оформить отчет по валидации.

Объект: лекарственный препарат состава

Нитрофурала – 0,02

Раствора натрия хлорида 0,9 % – 100 мл

Методика количественного определения нитрофурала: в сухую пробирку точно отмеривают 0,5 мл лекарственной формы, 8 мл воды очищенной, перемешивают и добавляют 1,5 мл 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида. Содержимое пробирки вновь перемешивают и через 20 мин. измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 450 ± 10 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения – вода.

Параллельно в тех же условиях проводят измерение оптической плотности раствора, приготовленного из 0,5 мл стандартного раствора нитрофурала по указанной выше методике.

Приготовление исходного стандартного раствора фурациллина

Навеску нитрофурала 0,0200 г растворяют в 70–80 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане

при 70–80 °С. После охлаждения объем доводят до метки. В 1 мл стандартного раствора содержится 0,0002 г нитрофурала. Раствор устойчив в течение месяца при хранении в защищенном от света месте.

Рассчитывают содержание нитрофурала в лекарственной форме.

Определение валидационных параметров

Специфичность. Объяснить специфичность методики, исходя из физико-химических свойств нитрофурала и других компонентов лекарственного препарата.

Линейность. Параметр линейность определяют путем измерения пяти стандартных растворов нитрофурала с возрастающей концентрацией.

Методика приготовления стандартных растворов. Используют исходный стандартный раствор (1 мл стандартного раствора содержит 0,0002 г нитрофурала). В сухие пробирки точно отмеривают 0,3, 0,4, 0,5, 0,7, 0,9 мл исходного стандартного раствора, 8,2, 8,1, 8,0, 7,8, 7,6 мл воды очищенной соответственно, перемешивают и добавляют 1,5 мл раствора натрия гидроксида (0,1 моль/л). Содержимое пробирок вновь перемешивают и через 20 мин. измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 450 ± 10 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения – вода. Вносят данные в табл. 5.

Таблица 5

Определение линейности

Номера стандартных растворов нитрофурала	1	2	3	4	5
Концентрация стандартного раствора, С, г/мл					
Оптическая плотность, А					

На основании полученных данных (табл. 5) строят градуировочный график зависимости $A = f(C)$ в программе Excel ($f_x = \text{КОРЕЛ}(B1:B5;A1:A5)$), выводят уравнение линейной зависимости и коэффициент корреляции (рис. 1).

Делают заключение о линейности методики.

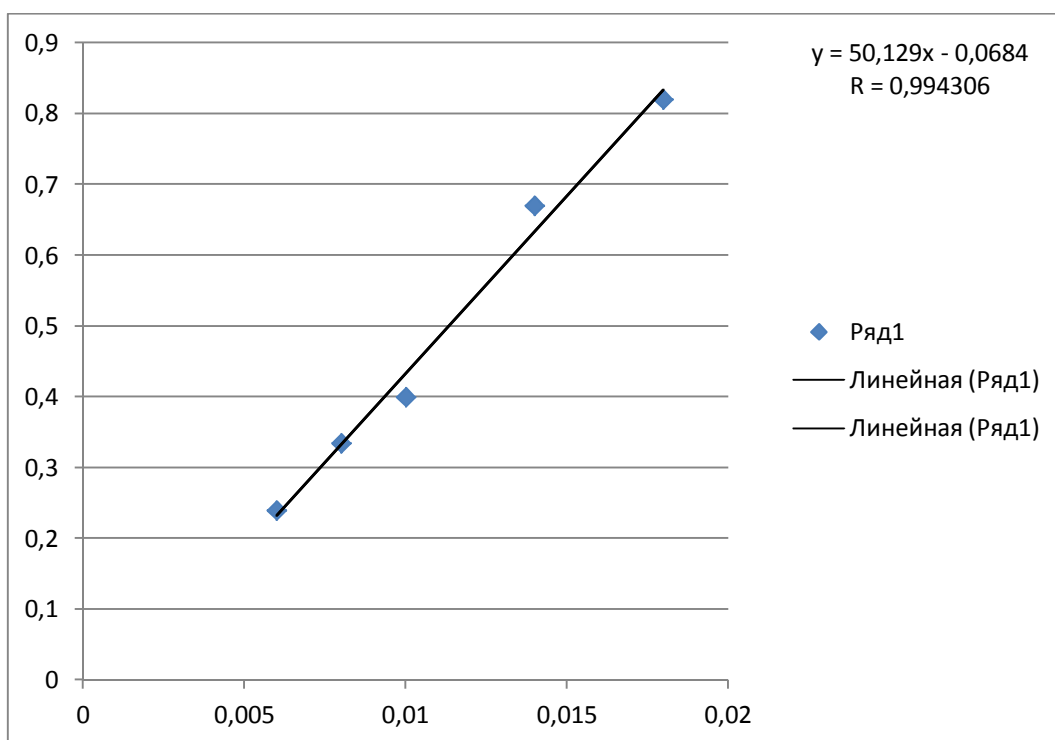


Рис. 1. Пример градуировочного графика

Правильность. Для определения правильности используют метод добавок. Определение проводят трижды на трёх уровнях концентраций (80 %, 100 %, 120 %).

Для этого:

1. Готовят 3 модельных раствора, используя в качестве добавки раствор нитрофурала с концентрацией 0,0002 г/мл (табл. 6).

Таблица 6

Приготовление модельных растворов для определения правильности

Номер модельного раствора	Объем лекарственного препарата, мл	Объем раствора добавки нитрофурала, мл	Объем воды очищенной, мл	Объем 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида, мл	Условное содержание нитрофурала, %
1	0,2/0,2/0,2	0,2/0,2/0,2	8	1,6	80
2	0,25/0,25/0,25	0,25/0,25/0,25	8	1,5	100
3	0,3/0,3/0,3	0,3/0,3/0,3	8	1,4	120

2. Определяют оптическую плотность полученных растворов;

3. Рассчитывают содержание нитрофурала и заполняют табл. 7.

Процент нахождения нитрофурала рассчитывают исходя из того, что теоретическое содержание нитрофурала в препарате принимают за 100 % (итого 9 значений результатов измерений).

Таблица 7

Результаты определения правильности методики

Условное содержание нитрофура, %	Теор. содержание нитрофура в препарате, г	Найдено нитрофура, г	Ошибка абсолютная, г	Ошибка относительная, %	Процент нахождения нитрофура, %
80	0,016 / 0,016 / 0,016	? / ? / ?	? / ? / ?	? / ? / ?	? / ? / ?
100	0,02 / 0,02 / 0,02	? / ? / ?	? / ? / ?	? / ? / ?	? / ? / ?
120	0,024 / 0,024 / 0,024	? / ? / ?	? / ? / ?	? / ? / ?	? / ? / ?

Для оценки правильности полученные результаты (процент нахождения нитрофура, девять измерений) подвергают статистической обработке и заполняют табл. 8.

Таблица 8

Метрологические характеристики методики количественного определения нитрофура в лекарственной форме

f	\bar{x} , %	S	S \bar{x}	P	$t_{(p,f)}$	Δx	ε , %
8							

Примечание: f – число степеней свободы; \bar{x} – значение среднего результата; S – стандартное отклонение; P – доверительная вероятность; $t_{(p,f)}$ – критерий Стьюдента (табличное значение); ε , % – относительная ошибка; Δx – доверительный интервал среднего значения; S \bar{x} – стандартное отклонение среднего результата.

4. Делают заключение о правильности методики.

Сходимость и внутрилабораторная прецизионность

Для оценки сходимости:

1. Используют 6 серий лекарственных препаратов;
2. Готовят растворы по описанной выше методике, измеряют оптическую плотность, результаты анализа заносят в табл. 9 и 10 (аналитик № 1).

Также вносят данные (аналитик № 2, аналитик № 3), полученные другими учебными группами (табл. 9).

3. Полученные результаты подвергают статистической обработке.
4. Делают заключение о сходимости и внутрилабораторной прецизионности.

Таблица 9

Набор данных для определения параметра сходимости студентами разных групп

Номер группы	Аналитик	Дата	Значения оптической плотности					
			A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆
3---	Аналитик № 1							
3---	Аналитик № 2							
3---	Аналитик № 3							
3---	Аналитик № 4							
3---	Аналитик № 5							
3---	Аналитик № 6							
3---	Аналитик № 7							
3---	Аналитик № 8							

Таблица 10

Оценка внутрилабораторной прецизионности методики определения содержания нитрофура в лекарственной форме

	A	x	\bar{x}	S	S \bar{x}	t _(p,f)	Δx	$\varepsilon, \%$	f
Аналитик № 1									
Аналитик № 2									
Аналитик №3 (в другой день)									

Заключение

Оформляется отчет по валидации, который включает:

1. Полное описание используемого оборудования / приборов.
2. Полное описание валидируемой методики.
3. Описание серий продуктов, стандартного образца.
4. Первичные данные, полученные при выполнении испытаний.
5. Все вычисленные характеристики (значения, параметры).
6. Табличное представление результатов.
7. Фамилии сотрудников, принимавших участие в проведение валидации.
8. Резюме.
9. Оценку, включая заключение о том, выдержала ли аналитическая методика валидацию.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов.

1. ВАЛИДАЦИЯ – ЭТО ПРОЦЕСС ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОДТВЕРЖДЕНИЯ ТОГО, ЧТО АНАЛИТИЧЕСКАЯ МЕТОДИКА ОБЕСПЕЧИВАЕТ ПОЛУЧЕНИЕ НЕОБХОДИМОЙ И ДОСТОВЕРНОЙ ИНФОРМАЦИИ ОБ ОБЪЕКТЕ АНАЛИЗА

- 1) и пригодна для практического использования
- 2) и является универсальной
- 3) и пригодна в течение 1 года
- 4) и необходима ее проверка раз в полгода

2. ВАЛИДАЦИИ ПОДЛЕЖАТ МЕТОДИКИ

- 1) количественного определения,
- 2) определения примесей
- 3) подлинности
- 4) только спектрофотометрического анализа

3. ВАЛИДАЦИОННЫЙ ПАРАМЕТР «СПЕЦИФИЧНОСТЬ» ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ

- 1) при испытании на подлинность
- 2) при количественном определении действующего вещества
- 3) при количественном определении действующего вещества в тесте «Растворение»
- 4) при определении посторонних примесей

4. ВАЛИДАЦИОННЫЙ ПАРАМЕТР «ЛИНЕЙНОСТЬ» ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ

- 1) при испытании на подлинность
- 2) при количественном определении действующего вещества
- 3) при количественном определении действующего вещества в тесте «Растворение»
- 4) при количественном определении – определение посторонних примесей

5. ВАЛИДАЦИОННЫЙ ПАРАМЕТР «ПРАВИЛЬНОСТЬ» ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ

- 1) при испытании на подлинность
- 2) при количественном определении действующего вещества
- 3) при количественном определении действующего вещества в тесте «Растворение»
- 4) при количественном определении – определение посторонних примесей

6. ВАЛИДАЦИОННЫЙ ПАРАМЕТР «СХОДИМОСТЬ» ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ

- 1) при испытании на подлинность
- 2) при количественном определении действующего вещества
- 3) при количественном определении действующего вещества в тесте «Растворение»
- 4) при количественном определении – определение посторонних примесей

7. ВАЛИДАЦИОННЫЙ ПАРАМЕТР «ПРОМЕЖУТОЧНАЯ ПРЕЦИЗИОННОСТЬ» ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ

- 1) при испытании на подлинность
- 2) при количественном определении действующего вещества
- 3) при количественном определении действующего вещества в тесте «Растворение»
- 4) при количественном определении – определение посторонних примесей

8. РЕВАЛИДАЦИЮ (ПОВТОРНУЮ ВАЛИДАЦИЮ) МЕТОДИК ПРОВОДЯТ

- 1) при изменении технологии получения объекта анализа
- 2) при изменении состава лекарственного средства (объекта анализа)
- 3) при изменении ранее утвержденной методики анализа
- 4) ежегодно

9. СПЕЦИФИЧНОСТЬ – ЭТО ВАЛИДАЦИОННЫЙ ПАРАМЕТР, КОТОРЫЙ ПОКАЗЫВАЕТ

- 1) способность аналитической методики давать правильный результат определения вещества в присутствии сопутствующих компонентов
- 2) наибольшее количество (концентрацию) определяемого вещества в пробе, которое может быть хотя бы приближенно оценено с использованием валидируемой методики
- 3) способность аналитической методики давать правильный результат определения вещества в отсутствие сопутствующих компонентов
- 4) наименьшее количество (концентрацию) определяемого вещества в пробе, которое может быть хотя бы приближенно оценено с использованием валидируемой методики

10. ПРЕЦИЗИОННОСТЬ ДОЛЖНА ИССЛЕДОВАТЬСЯ НА ОДНОРОДНЫХ ОБРАЗЦАХ И МОЖЕТ ОЦЕНИВАТЬСЯ В ТРЕХ ВАРИАНТАХ

- 1) как повторяемость (сходимость)
- 2) как робастность
- 3) как внутрिलाбораторная (промежуточная) прецизионность
- 4) как межлабораторная прецизионность (воспроизводимость)

11. ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ – ЭТО

- 1) наибольшее количество (концентрация) определяемого вещества в образце, которое может быть обнаружено с использованием валидируемой методики
- 2) наименьшее количество (концентрация) определяемого вещества в образце, которое может быть обнаружено с использованием валидируемой методики
- 3) определение подлинности определяемого вещества в образце, которое может быть проведено с использованием валидируемой методики
- 4) определение устойчивости определяемого вещества в образце, которое может быть проведено с использованием валидируемой методики

12. ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ ДЛЯ МЕТОДИК С ВИЗУАЛЬНОЙ ОЦЕНКОЙ РЕЗУЛЬТАТА АНАЛИЗА ОПРЕДЕЛЯЮТ

- 1) по испытаниям образцов с различными известными количествами определяемого вещества и устанавливают минимальное значение, при котором результат анализа может быть оценен визуально
- 2) по испытаниям образцов с минимальными известными количествами определяемого вещества и устанавливают минимальное значение, при котором результат анализа может быть оценен визуально
- 3) по испытаниям образцов с различными неизвестными количествами определяемого вещества и устанавливают минимальное значение, при котором результат анализа может быть оценен визуально
- 4) по испытаниям образцов с различными известными количествами определяемого вещества и устанавливают минимальное значение, при котором результат анализа может быть оценен инструментально

13. ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ ДЛЯ МЕТОДИК С ИНСТРУМЕНТАЛЬНОЙ ОЦЕНКОЙ РЕЗУЛЬТАТА АНАЛИЗА ОПРЕДЕЛЯЮТ

- 1) по соотношению сигнал/шум
- 2) по величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика
- 3) по величине стандартного отклонения среднего значения
- 4) по испытаниям образцов с различными известными количествами определяемого вещества и устанавливают минимальное значение, при котором результат анализа может быть оценен визуально

14. ПРЕДЕЛ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ – ЭТО

- 1) наибольшее количество вещества в образце, которое может быть количественно оценено с использованием валидируемой методики с требуемой правильностью и внутрилабораторной прецизионностью
- 2) наименьшее количество вещества в образце, которое может быть количественно оценено визуально

3) наименьшее количество вещества в образце, которое может быть количественно оценено с использованием любой методики

4) наименьшее количество вещества в образце, которое может быть количественно оценено с использованием валидируемой методики с требуемой правильностью и внутрилабораторной прецизионностью

15. ВАЛИДАЦИОННЫЙ ПАРАМЕТР «ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ» ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ

1) при испытании на подлинность

2) при количественном определении действующего вещества

3) при количественном определении действующего вещества в тесте «Растворение»

4) при определении посторонних примесей

16. ВАЛИДАЦИОННЫЙ ПАРАМЕТР «ПРЕДЕЛ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ» ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ

1) при испытании на подлинность

2) при количественном определении действующего вещества

3) при количественном определении действующего вещества в тесте «Растворение»

4) при количественном определении – определение посторонних примесей

17. К ОБЯЗАТЕЛЬНЫМ ВАЛИДАЦИОННЫМ ПАРАМЕТРАМ ОТНОСЯТСЯ

1) устойчивость

2) линейность

3) правильность

4) промежуточная прецизионность

18. ВАЛИДАЦИОННЫЙ ПАРАМЕТР «АНАЛИТИЧЕСКАЯ ОБЛАСТЬ» ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ

1) при испытании на подлинность

2) при количественном определении действующего вещества

3) при количественном определении действующего вещества в тесте «Растворение»

- 4) при количественном определении – определение посторонних примесей

19. АНАЛИТИЧЕСКАЯ ОБЛАСТЬ МЕТОДИКИ – ЭТО

- 1) наименьшее количество вещества в образце, которое может быть количественно оценено с использованием валидируемой методики
- 2) соотношение сигнал/шум
- 3) интервал между верхним и нижним значениями аналитических характеристик определяемого компонента в объекте анализа
- 4) величина стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика

20. ПРИ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДИКИ, ЕЕ ЛИНЕЙНОСТЬ В АНАЛИТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ ПРОВЕРЯЮТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИЗМЕРЕНИЕМ АНАЛИТИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ ДЛЯ

- 1) не менее чем 5 проб с различными количествами или концентрациями определяемого вещества
- 2) не менее чем 10 проб с различными количествами или концентрациями определяемого вещества
- 3) не менее чем 9 проб с различными количествами или концентрациями определяемого вещества
- 4) не менее чем 11 проб с различными количествами или концентрациями определяемого вещества

21. ЗНАЧЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТА КОРРЕЛЯЦИИ (R) ПРИ ЛИНЕЙНОЙ ЗАВИСИМОСТИ АНАЛИТИЧЕСКОГО СИГНАЛА ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ОПРЕДЕЛЯЕМОГО ВЕЩЕСТВА В АНАЛИЗИРУЕМОЙ ПРОБЕ В ПРЕДЕЛАХ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ МЕТОДИКИ СОСТАВЛЯЕТ

- 1) $|r| \geq 0,95$
- 2) $|r| \geq 0,90$
- 3) $|r| \geq 0,99$
- 4) $|r| \geq 0,50$

22. К ВЕЛИЧИНЕ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ МЕТОДИК ПРЕДЪЯВЛЯЮТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ

- 1) методики количественного определения должны быть применимы в интервале от 50 до 100 % от номинального значения определяемой аналитической характеристики
- 2) методики количественного определения должны быть применимы в интервале от 80 до 120 % от номинального значения определяемой аналитической характеристики
- 3) методики оценки однородности дозирования должны быть применимы в интервале от 70 до 130 % от номинальной дозы
- 4) методики оценки однородности дозирования должны быть применимы в интервале от 50 до 110 % от номинальной дозы

23. К ВЕЛИЧИНЕ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ МЕТОДИК ПРЕДЪЯВЛЯЮТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ

- 1) методики количественного определения, используемые при проведении теста «Растворение», обычно должны быть применимы в пределах от 50 до 120 % от ожидаемой концентрации действующего вещества в среде растворения
- 2) методики испытаний на чистоту должны быть применимы в интервале от «Предела количественного определения» или «Предела обнаружения» до 120 % от допустимого содержания определяемой примеси
- 3) методики количественного определения, используемые при проведении теста «Растворение», обычно должны быть применимы в пределах от 80 до 110 % от ожидаемой концентрации действующего вещества в среде растворения
- 4) методики испытаний на чистоту должны быть применимы в интервале от «Предела количественного определения» или «Предела обнаружения» до 80 % от допустимого содержания определяемой примеси

24. ПРАВИЛЬНОСТЬ МЕТОДИКИ ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ

- 1) отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения первого измерения
- 2) отклонением единичного результата определения, выполненного с ее использованием, от среднего значения

- 3) отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное
- 4) отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное, не менее 10 %

25. МОГУТ ИСПОЛЬЗОВАТЬСЯ СЛЕДУЮЩИЕ СПОСОБЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРАВИЛЬНОСТИ ДЛЯ АКТИВНОЙ СУБСТАНЦИИ

- 1) применение аналитической методики к образцу с известной степенью чистоты, например, к стандартному образцу
- 2) сравнение результатов анализа, полученных с использованием валидируемой методики, и арбитражного метода, правильность и прецизионность которого известны
- 3) заключение о правильности можно сделать после того, как установлены прецизионность, линейность и специфичность
- 4) сравнение результатов анализа, полученных с использованием валидируемой методики, и определенного титриметрического метода

26. МОГУТ ИСПОЛЬЗОВАТЬСЯ СЛЕДУЮЩИЕ СПОСОБЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРАВИЛЬНОСТИ ДЛЯ ГОТОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА

- 1) применение методики к искусственным смесям, к которым были добавлены неизвестные количества анализируемого вещества
- 2) применение методики к искусственным смесям, к которым были добавлены известные количества анализируемого вещества
- 3) если невозможно получить образцы всех компонентов лекарственного препарата, возможно применение метода добавок или арбитражной методики, правильность которой доказана
- 4) заключение о правильности можно сделать после того, как установлены прецизионность, линейность и специфичность

27. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРАВИЛЬНОСТИ В КОЛИЧЕСТВЕННОМ СОДЕРЖАНИИ ПРИМЕСЕЙ ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ

- 1) изучением на образцах (субстанции или готового лекарственного препарата) с добавленным известным количеством примесей
- 2) если примеси или продукты разложения недоступны, применяют арбитражный метод
- 3) если примеси неизвестны, то чувствительность их определения может быть принята равной чувствительности определения субстанции
- 4) если примеси известны, то определение правильности их количественного содержания не проводится

28. ПРАВИЛЬНОСТЬ ОЦЕНИВАЮТ

- 1) не менее чем для шести определений, охватывающих весь диапазон применения (например, три концентрации по два определения для каждой)
- 2) не менее чем для одиннадцати определений, охватывающих весь диапазон применения
- 3) не менее чем для девяти определений, охватывающих весь диапазон применения (например, три концентрации и три определения для каждой)
- 4) не менее чем для пятнадцати определений, охватывающих весь диапазон применения (например, три концентрации и пять определений для каждой)

29. ПРЕЦИЗИОННОСТЬ МЕТОДИКИ ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ

- 1) рассеянием результатов, получаемых с ее использованием, относительно истинного значения результата
- 2) отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения первого измерения
- 3) отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное
- 4) рассеянием результатов, получаемых с ее использованием, относительно величины среднего результата

30. МЕЖЛАБОРАТОРНАЯ ПРЕЦИЗИОННОСТЬ (ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ) МЕТОДИКИ ОЦЕНИВАЕТСЯ

- 1) при предполагаемом ее включении в проект общей фармакопейной статьи
- 2) при предполагаемом ее включении в проект фармакопейной статьи
- 3) при предполагаемом ее включении в нормативную документацию на фармакопейные стандартные образцы
- 4) при предполагаемом ее включении в научную статью

31. ОСНОВНАЯ ЗАДАЧА ГОСУДАРСТВЕННОЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ – ЭТО

- 1) разработка теории измерения
- 2) проверка измерительных приборов и инструментов
- 3) обеспечение единообразия средств измерений и единства измерений
- 4) получение стандартных образцов физических и физико-химических констант

32. ПРАВИЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА ОТРАЖАЮТ ОШИБКИ

- 1) грубые
- 2) систематические
- 3) случайные
- 4) единичные

33. РАБОЧИЕ СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ – ЭТО

- 1) дополнительно очищенные вещества
- 2) эталонные вещества
- 3) образцы серийных лекарственных веществ
- 4) химически чистые вещества

34. В ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТАХ ДОЛЖНЫ БЫТЬ ИСКЛЮЧЕНЫ

- 1) промахи и систематические погрешности
- 2) все виды ошибок
- 3) только промахи
- 4) случайные погрешности

35. К ПРОМАХАМ ОТНОСЯТСЯ РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА, КОТОРЫЕ

- 1) отличаются от \bar{x} более чем на 3δ
- 2) отличаются от \bar{x} более чем на 1δ
- 3) отличаются от \bar{x} более чем на 5δ
- 4) отличаются от \bar{x} более чем на 10δ

36. ФОРМУЛА, ПО КОТОРОЙ ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ СРЕДНЕЕ АРИФМЕТИЧЕСКОЕ

- 1) $\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} Xi$
- 2) $\varepsilon_{\text{отн.}} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} * 100\%$
- 3) $S^2 = \frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 \dots (x_n - \bar{x})^2}{n-1(f)}$
- 4) $S = \sqrt{S^2}$

37. ОТНОСИТЕЛЬНУЮ ОШИБКУ (ПОГРЕШНОСТЬ МЕТОДА) ОПРЕДЕЛЯЮТ ПО ФОРМУЛЕ

- 1) $\varepsilon_{\text{отн.}} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} * 100\%$
- 2) $S^2 = \frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 \dots (x_n - \bar{x})^2}{n-1(f)}$
- 3) $S = \sqrt{S^2}$
- 4) $S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{S^2}{n}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$

38. СРЕДНЕЕ КВАДРАТИЧНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ ОТДЕЛЬНОГО РЕЗУЛЬТАТА ОТ СРЕДНЕГО АРИФМЕТИЧЕСКОГО (СТАНДАРТНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ) ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ ПО ФОРМУЛЕ

- 1) $\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} Xi$
- 2) $S^2 = \frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 \dots (x_n - \bar{x})^2}{n-1(f)}$
- 3) $S = \sqrt{S^2}$

$$4) S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{S^2}{n}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

39. СРЕДНЯЯ КВАДРАТИЧНАЯ ОШИБКА СРЕДНЕГО АРИФМЕТИЧЕСКОГО (ИЛИ СТАНДАРТНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ СРЕДНЕГО РЕЗУЛЬТАТА) РАССЧИТЫВАЕТСЯ ПО ФОРМУЛЕ

$$1) \bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} X_i$$

$$2) S^2 = \frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 \dots (x_n - \bar{x})^2}{n-1(f)}$$

$$3) S = \sqrt{S^2}$$

$$4) S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{S^2}{n}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

40. ЧЕМ МЕНЬШЕ S, ТЕМ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

- 1) воспроизводимее
- 2) точнее
- 3) надёжнее
- 4) избирательнее

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ

Номер задания	Номер ответа	Номер задания	Номер ответа
1	1	21	3
2	1, 2, 3	22	2, 3
3	1, 2, 3, 4	23	1, 2
4	2, 3, 4	24	3
5	2, 3, 4	25	1, 2, 3
6	1, 2, 4	26	2, 3, 4
7	2, 4	27	1, 2, 3
8	1, 2, 3	28	3
9	1	29	4
10	1, 3, 4	30	1, 2, 3
11	2	31	3
12	1	32	2
13	1, 2	33	3
14	4	34	1
15	4	35	1
16	4	36	1
17	2, 3	37	1
18	2, 3, 4	38	3
19	3	39	4
20	1	40	1

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМ	– аналитическая методика
ГФ	– Государственная фармакопея
ИО	– испытательное оборудование
ЛС	– лекарственные средства
НД	– нормативная документация
ОКК	– отдел контроля качества
СО	– стандартный образец
СИ	– средства измерения
ФС	– фармакопейная статья
ФСП	– фармакопейная статья предприятия
ЦЗЛ	– центральная заводская лаборатория

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная:

1. Беликов, В. Г. Фармацевтическая химия / В. Г. Беликов. – М.: Медпресс, 2008. – 616 с.
2. Фармацевтическая химия: учеб. пособие / под ред. А. П. Арзамасцева. – 2-е изд., испр. – М., ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 640 с.

Дополнительная:

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XII-е изд., ч. 1 – М.: изд-во «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2007. – 704 с.
2. Краснов, Е. А. Стандартизация лекарственных средств: учеб. пособие / Е. А. Краснов, Т. В. Кадырова. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2008. – 172 с.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Статистическая обработка результатов
химического эксперимента
с. 199–221.

ОФС.1.1.0013.15
Взамен ст. ГФ XI, в.1,

Требования данной общей фармакопейной статьи распространяются на методы, используемые при статистической обработке результатов химического эксперимента.

Обозначения:

- A – измеряемая величина;
 a – свободный член линейной зависимости;
 b – угловой коэффициент линейной зависимости;
 F – критерий Фишера;
 f – число степеней свободы;
 i – порядковый номер варианты;
 L – фактор, используемый при оценке сходимости результатов параллельных определений;
 m, n – объемы выборки;
 P, \bar{P} – доверительная вероятность соответственно при дву- и односторонней постановке задачи;
 Q_1, Q_n – контрольные критерии идентификации грубых ошибок;
 R – размах варьирования;
 r – коэффициент корреляции;
 s – стандартное отклонение;
 s^2 – дисперсия;
 $s_{\bar{x}}$ – стандартное отклонение среднего результата;
 $s_{\bar{x}, \%}$ – относительное стандартное отклонение среднего результата (коэффициент вариации);
 s_{\lg} – логарифмическое стандартное отклонение;
 s_{\lg}^2 – логарифмическая дисперсия;

$s_{\lg \bar{g}}$	– логарифмическое стандартное отклонение среднего геометрического результата;
s_0^2, s_b^2, s_a^2	– общая дисперсия и дисперсия коэффициентов линейной зависимости;
t	– критерий Стьюдента;
U	– коэффициент для расчета границ среднего результата гарантии качества анализируемого продукта;
x, y	– текущие координаты в уравнении линейной зависимости;
X_i, Y_i	– вычисленные, исходя из уравнения линейной зависимости, значения переменных x и y ;
\bar{x}, \bar{y}	– средние выборки (координаты центра линейной зависимости);
x_i, y_i	– i -тая варианта (i -тая пара экспериментальных значений x и y);
$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	– граничные значения доверительного интервала среднего результата;
$x_i \pm \Delta x$	– граничные значения доверительного интервала результата отдельного определения;
d, Δ	– разность некоторых величин;
α	– уровень значимости, степень надежности;
Δx	– полуширина доверительного интервала величины;
δ	– относительная величина систематической ошибки;
$\varepsilon, \bar{\varepsilon}$	– относительные ошибки соответственно результата отдельного определения и среднего результата;
μ	– истинное значение измеряемой величины;
\sum	– знак суммирования (сумма);
χ^2	– критерий хи-квадрат.

Примечание. Термины «доверительная вероятность», P , и «уровень значимости (степень надежности)», α , взаимозаменяемы, поскольку их сумма равна либо 1, либо 100 %.

Метрологические характеристики методов и результатов, получаемых при статистической обработке данных эксперимента, позволяют проводить оценку и сравнение, как методик аналитического эксперимента, так и исследуемых при таком эксперименте объектов, и на этой основе решать ряд прикладных задач.

1. ОСНОВНЫЕ СТАТИСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОДНОРОДНОЙ ВЫБОРКИ И ИХ ВЫЧИСЛЕНИЕ

Проверка однородности выборки. Исключение выпадающих значений вариант. Термином «выборка» обозначают совокупность статистически эквивалентных найденных в эксперименте величин (вариант). В качестве такой совокупности можно, например, рассматривать ряд результатов, полученных при параллельных определениях содержания какого-либо вещества в однородной по составу пробе.

Допустим, что отдельные значения вариант выборки объема n обозначены через x_i ($1 \leq i \leq n$) и расположены в порядке возрастания:

$$x_1; x_2; \dots x_i; \dots x_{n-1}; x_n \quad (1.1)$$

Результаты, полученные при статистической обработке выборки, будут достоверны лишь в том случае, если эта выборка однородна, т. е. если варианты, входящие в нее, не отягощены грубыми ошибками, допущенными при измерении или расчете. Такие варианты должны быть исключены из выборки перед окончательным вычислением ее статистических характеристик. Для выборки небольшого объема ($n < 10$) идентификация вариант, отягощенных грубыми ошибками, может быть выполнена, исходя из величины размаха варьирования R (см. уравнения 1.12, 1.13 а, б). Для идентификации таких вариант в выборке большого объема ($n \geq 10$) целесообразно проводить предварительную статистическую обработку всей выборки, полагая ее однородной, и уже затем, на основании найденных статистических характеристик, решать вопрос о справедливости сделанного предположения об однородности (см. выражение 1.14).

В большинстве случаев среднее выборки \bar{x} является наилучшей оценкой истинного значения измеряемой величины μ , если его вычисляют как среднее арифметическое всех вариант:

$$\bar{x} = \frac{\sum_1^n x_i}{n}. \quad (1.2)$$

При этом разброс вариант x_i вокруг среднего \bar{x} характеризуется величиной стандартного отклонения s . В количественном химическом анализе величина s часто рассматривается как оценка случайной ошибки, свойственной данному методу анализа. Квадрат этой величины s^2 называют дисперсией. Величина дисперсии может рассмат-

риваться как мера воспроизводимости результатов, представленных в данной выборке. Вычисление величин (оценок) s и s^2 проводят по уравнениям 1.5 и 1.6. Иногда для этого предварительно определяют значения отклонений d_i и число степеней свободы (число независимых вариантов) f :

$$d_i = x_i - \bar{x} \quad (1.3)$$

$$f = n - 1 \quad (1.4)$$

$$s^2 = \frac{\sum_1^n d_i^2}{f} = \frac{\sum_1^n x_i^2 - n \cdot \bar{x}^2}{f} \quad (1.5)$$

$$s = \sqrt{s^2} \quad (1.6)$$

Стандартное отклонение среднего результата $s_{\bar{x}}$ рассчитывают по уравнению:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (1.9)$$

Отношение $s_{\bar{x}}$ к \bar{x} , выраженное в процентах, называют относительным стандартным отклонением среднего результата или коэффициентом вариации $s_{\bar{x}, \%}$.

Примечание 1.1. При наличии ряда из g выборок с порядковыми номерами k ($1 \leq k \leq g$) расчет дисперсии s целесообразно проводить по формуле:

$$s^2 = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} \sum_{i=1}^{i=n_k} d_{ik}^2}{f} = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} [(n_k - 1)s_k^2]}{f} = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} \left(\sum_{i=1}^{i=n_k} x_{ik}^2 - n_k \bar{x}_k^2 \right)}{f} \quad (1.7)$$

При этом число степеней свободы равно:

$$f = \sum_{k=1}^{k=g} (n_k - 1) \quad (1.8)$$

где: x_k — среднее k -той выборки;
 n_k — число вариантов в k -той выборке;
 x_{ik} — i -тая варианта k -той выборки;
 s_k^2 — дисперсия k -той выборки;
 d_{ik} — отклонение i -той варианты k -той выборки.

Необходимым условием применения уравнений 1.7 и 1.8 является отсутствие статистически достоверной разницы между отдельными значениями s_k^2 . В простейшем случае сравнение крайних значений s_k^2 проводят, исходя из величины критерия F , которую вычисляют по уравнению 3.4 и интерпретируют, как указано в разделе 3.

Примечание 1.2. Если при измерениях получают логарифмы искомым вариант, среднее выборки вычисляют как среднее геометрическое, используя логарифм вариант:

$$\lg \bar{x}_g = \frac{\sum_1^n \lg x_i}{n} \quad (1.10)$$

откуда

$$\bar{x}_g = \sqrt[n]{x_1 \cdot x_2 \cdot \dots \cdot x_n} = \text{antilg} (\lg \bar{x}_g) \quad (1.11)$$

Значения s^2 , s и $s_{\bar{x}}$ в этом случае также рассчитывают, исходя из логарифмов вариант, и обозначают соответственно через s_{\lg}^2 , s_{\lg} и $s_{\lg \bar{x}_g}$.

Пример 1.1. При определении содержания стрептоцида в образце линимента были получены следующие данные.

Номер опыта i	1	2	3	4	5
$x_i, \%$	9,52	9,55	9,83	10,12	10,33

$$n = 5; f = n - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$x = \frac{\sum_1^n x_i}{n} = \frac{9,52 + 9,55 + 9,83 + 10,12 + 10,33}{5} = 9,87.$$

$$d_i = |x_i - \bar{x}| = |x_i - 9,87|, \text{ т. е. } d_{i=1} = |9,52 - 9,87| = 0,35 \text{ и т. д. до } i = 5$$

$$s^2 = \frac{\sum_1^n d_i^2}{f} = \frac{\sum_1^n x_i^2 - n\bar{x}^2}{f} = \frac{(9,52^2 + 9,55^2 + 9,83^2 + 10,12^2 + 10,33^2) - 5 \cdot 9,87^2}{4} =$$

$$= 0,1252;$$

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{0,1252} = 0,3538;$$

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0,3538}{\sqrt{5}} = 0,1582.$$

Как было указано выше, значения x , s^2 , s и $s_{\bar{x}}$ могут быть признаны достоверными, если ни одна из вариант выборки не отягощена грубой ошибкой, т. е. если выборка однородна. Проверка однородности выборок малого объема ($n < 10$) осуществляется без предварительного вычисления статистических характеристик, с этой целью после представления выборки в виде 1.1 для крайних вариант x_1 и x_n рассчитывают значения контрольного критерия Q , исходя из величины размаха варьирования R :

$$R = |x_1 - x_n| \quad (1.12)$$

$$Q_1 = \frac{|x_1 - x_2|}{R} \quad (1.13a)$$

$$Q_n = \frac{|x_n - x_{n-1}|}{R} \quad (1.13б)$$

Выборка признается неоднородной, если хотя бы одно из вычисленных значений Q превышает табличное значение $Q(\bar{P}, n)$, найденное для доверительной вероятности \bar{P} (см. табл. I Приложения). Варианты x_1 или x_n , для которых соответствующее значение $Q > Q(\bar{P}, n)$, отбрасываются, и для полученной выборки уменьшенного объема выполняют новый цикл вычислений по уравнениям 1.12 и 1.13(а, б) с целью проверки ее однородности. Полученная в конечном счете однородная выборка используется для вычисления \bar{x} , s^2 , s и s_x .

Примечание 1.3. При $|x_1 - x_2| < |x_2 - x_3|$ и $|x_n - x_{n-1}| < |x_{n-1} - x_{n-2}|$ уравнения 1.13а и 1.13б принимают соответственно вид:

$$Q_1 = \frac{|x_2 - x_3|}{R}; \quad Q_n = \frac{|x_{n-1} - x_{n-2}|}{R}.$$

Пример 1.2. При проведении девяти ($n = 9$) определений содержания общего азота в плазме крови крыс были получены следующие данные (в порядке возрастания):

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$x_i, \%$	0,62	0,81	0,83	0,86	0,87	0,90	0,94	0,98	0,99

По уравнениям 1.12 и 1.13а находим:

$$R = |x_1 - x_n| = |0,62 - 0,99| = 0,37;$$

$$Q_1 = \frac{|x_1 - x_2|}{R} = \frac{|0,62 - 0,81|}{0,37} = 0,51.$$

По табл. I Приложения находим:

$$Q(9; 95 \%) = 0,46 < Q_1 = 0,51;$$

$$Q(9; 99 \%) = 0,55 > Q_1 = 0,51.$$

Следовательно, гипотеза о том, что значение $x_1 = 0,62$ должно быть исключено из рассматриваемой совокупности результатов измерений как отягощенное грубой ошибкой, может быть принята с доверительной вероятностью 95 %, но должна быть отвергнута, если выбранное значение доверительной вероятности равно 99 %.

Для выборок большого объема ($n \geq 10$) проверку однородности проводят после предварительного вычисления статистических характеристик \bar{x} , s^2 , s и s_x . При этом выборка признается однородной, если для всех вариантов выполняется условие:

$$|d_i| \leq 3s \quad (1.14)$$

Если выборка признана неоднородной, то варианты, для которых $|d_i| > 3s$, отбрасываются как отягощенные грубыми ошибками с доверительной вероятностью $P > 99,0 \%$. В этом случае для полученной выборки сокращенного объема повторяют цикл вычислений статистических характеристик по уравнениям 1.2, 1.5, 1.6, 1.9 и снова проводят проверку однородности. Вычисление статистических характеристик считают законченным, когда выборка сокращенного объема оказывается однородной.

Примечание 1.4. При решении вопроса об однородности конкретной выборки небольшого объема также можно воспользоваться выражением 1.14, если известна оценка величины s , ранее найденная для данного метода измерения (расчета) вариант.

2. ДОВЕРИТЕЛЬНЫЕ ИНТЕРВАЛЫ И ОЦЕНКА ИХ ВЕЛИЧИНЫ

Если случайная однородная выборка конечного объема n получена в результате последовательных измерений некоторой величины A , имеющей истинное значение μ , то среднее этой выборки \bar{x} следует рассматривать лишь как приближенную оценку величины A . Достоверность этой оценки характеризуется величиной доверительного интервала $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, для которой с заданной доверительной вероятностью P выполняется условие:

$$(\bar{x} - \Delta\bar{x}) \leq \mu \leq (\bar{x} + \Delta\bar{x}) \quad (2.1)$$

Следует отметить, что данный доверительный интервал не характеризует погрешность определения величины μ , поскольку найденная величина \bar{x} может быть в действительности очень близка к истинному значению μ . Полученный доверительный интервал характеризует степень неопределенности истинного значения μ величины A по результатам последовательных измерений выборки конечного объема n . Поэтому правильно говорить о «неопределенности результатов анализа» (которая характеризуется доверительным интервалом) вместо «погрешность результатов анализа», которое нередко не совсем корректно используется.

Расчет граничных значений доверительного интервала проводят по Стьюденту, предполагая, что варианты, входящие в выборку, распределены нормально:

$$(\bar{x} \pm \Delta\bar{x}) = \bar{x} \pm \frac{t(P, f) \cdot s}{\sqrt{n}} \quad (2.2)$$

Здесь $t(P, f)$ – табличное значение критерия Стьюдента (см. табл. II Приложения).

Если при измерении одним и тем же методом двух близких значений A были получены две случайные однородные выборки с объемами n и m , то при $m < n$ для выборки объема m справедливо выражение:

$$\bar{x}_{(m)} \pm \Delta\bar{x}_{(m)} = \bar{x}_{(m)} \pm \frac{t(P, f_{(n)}) \cdot s_{(n)}}{\sqrt{m}} \quad (2.3)$$

(индекс указывает принадлежность величин к выборке объема m или n).

Выражение 2.3 позволяет оценить величину доверительного интервала среднего $\bar{x}_{(m)}$, найденного, исходя из выборки объема m . Иными словами, доверительный интервал среднего $\bar{x}_{(m)}$ для выборки относительно малого объема m может быть сужен благодаря использованию известных величин $s_{(n)}$ и $t(P, f_{(n)})$, найденных ранее для выборки большего объема n (в дальнейшем индекс n будет опущен).

Примечание 2.1. Если $n \leq 15$, а $\frac{m+n}{n} > 1,5$, величины s и f целесообразно вычислять как указано в примечании 1.1.

Подставляя $n = 1$ в выражение 2.2, или $m = 1$ в выражение 2.3, получаем:

$$x_i \pm \Delta x = x_i \pm t(P, f) \cdot s \quad (2.4)$$

Этот интервал является доверительным интервалом результата единичного определения. Для него с доверительной вероятностью P выполняются взаимосвязанные условия:

$$x_i - \Delta x \leq \mu \leq x_i + \Delta x \quad (2.5)$$

$$\mu - \Delta x \leq x_i \leq \mu + \Delta x \quad (2.6)$$

Значения $\Delta\bar{x}$ и Δx из выражений 2.2 и 2.4 используют при вычислении относительных погрешностей отдельной варианты (ε) и среднего результата ($\bar{\varepsilon}$), выражая эти величины в %:

$$\varepsilon = \frac{\Delta x}{x} \cdot 100\% \quad (2.7)$$

$$\bar{\varepsilon} = \frac{\Delta\bar{x}}{\bar{x}} \cdot 100\% \quad (2.8)$$

Пример 2.1. В результате определения содержания хинона в стандартном образце хингидрона были получены следующие данные ($n = 10$).

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
x_i	49,80	49,83	49,87	49,87	49,92	50,01	50,05	50,06	50,10	50,11

Расчеты по формуле 1.2, 1.4, 1.5, 1.6, 1.9 дали следующие результаты:

$$\bar{x} = 49,96; f = 9; s^2 = 0,01366; s = 0,1169; s_{\bar{x}} = 0,03696.$$

Доверительные интервалы результата отдельного определения и среднего результата при $P = 90\%$ получаем согласно 2.4 и 2.2:

$$x_i \pm \Delta x = x_i \pm t(P, f) \cdot s = x_i \pm t(90\%, 9) \cdot s = x_i \pm 1,83 \cdot 0,1169 = x_i \pm 0,21;$$

$$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = \bar{x} \pm \frac{t(P, f) \cdot s}{\sqrt{n}} = 49,96 \pm \frac{1,83 \cdot 0,1169}{\sqrt{10}} = 49,96 \pm 0,07.$$

Тогда относительные погрешности ε и $\bar{\varepsilon}$, согласно 2.7 и 2.8, равны:

$$\varepsilon = \frac{\Delta x}{x} \cdot 100\% = \frac{0,21}{49,96} \cdot 100\% = 0,42\%;$$

$$\bar{\varepsilon} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} \cdot 100\% = \frac{0,07}{49,96} \cdot 100\% = 0,14\%.$$

Обозначая истинное содержание хинона в хингидроне через μ , можно считать, что с 90% доверительной вероятностью справедливы неравенства:

$$\mu - 0,21 \leq x_i \leq \mu + 0,21;$$

$$x_i - 0,21 \leq \mu \leq x_i + 0,21 \text{ (при любом } i);$$

$$\mu - 0,07 \leq \bar{x} \leq \mu + 0,07; \bar{x} - 0,07 \leq \mu \leq \bar{x} + 0,07 \text{ (при } n = 10).$$

Примечание 2.2. Вычисление доверительных интервалов для случая, описанного в примечании 1.2, проводят, исходя из логарифмов вариантов. Тогда выражения 2.2 и 2.4 принимают вид:

$$\lg \bar{x} \pm \Delta \lg \bar{x} = \lg \bar{x} \pm \frac{t(P, f) \cdot s_{\lg}}{\sqrt{n}}; \quad (2.9)$$

$$\lg x_i \pm \Delta \lg x_i = \lg x_i \pm t(P, f) \cdot s_{\lg}. \quad (2.10)$$

Потенцирование выражений 2.9 и 2.10 приводит к несимметричным доверительным интервалам для значений \bar{x} и x_i .

$$\text{antilg}(\lg \bar{x} - \Delta \lg \bar{x}) \leq \bar{x} \leq \text{antilg}(\lg \bar{x} + \Delta \lg \bar{x}); \quad (2.11)$$

$$\text{antilg}(\lg x_i - \Delta \lg x_i) \leq x_i \leq \text{antilg}(\lg x_i + \Delta \lg x_i), \quad (2.12)$$

$$\text{где: } \Delta \lg \bar{x} = \frac{t(P, f) \cdot s_{\lg}}{\sqrt{n}};$$

$$\Delta \lg x_i = t(P, f) \cdot s_{\lg}.$$

При этом для нижних и верхних границ доверительных интервалов \bar{x} и x_i имеем:

$$\bar{\varepsilon} = \left[\frac{|\text{antilg}(\lg \bar{x} \pm \Delta \lg \bar{x}) - \bar{x}|}{\bar{x}} \right] \cdot 100\%; \quad (2.12a)$$

$$\varepsilon = \left[\frac{|\text{antilg}(\lg x_i \pm \Delta \lg x_i) - x_i|}{x_i} \right] \cdot 100\% \quad (2.12б)$$

3. МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА АНАЛИЗА. СРАВНЕНИЕ ДВУХ МЕТОДОВ АНА- ЛИЗА ПО ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ

С целью получения метрологической характеристики метода проводят совместную статистическую обработку одной или нескольких выборок, полученных при анализе образцов с известным содержанием определяемого компонента μ . Результаты статистической обработки представляют в виде табл. 3.1.

Таблица 3.1

Метрологические характеристики метода анализа

μ	f	\bar{x}	s^2	s	P	$t(P, f)$	Δx	ε	δ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10*

*– Графа 10 заполняется в том случае, если реализуется неравенство 3.2.

Примечание 3.1. При проведении совместной статистической обработки нескольких выборок, полученных при анализе образцов с разным содержанием определяемого компонента μ , данные в графах 1, 2, 3, 4, 9 и 10 табл. 3.1 приводят отдельно для каждой выборки. При этом в графах 2, 4, 5, 7, 8 в последней строке под чертой приводят обобщенные значения $f, s^2, s, t, \Delta x$, вычисленные с учетом примечания 1.1.

Если для выборки объема m величина $|\mu - \bar{x}| > 0$, следует решить вопрос о наличии или отсутствии систематической ошибки. Для этого вычисляют критерий Стьюдента t :

$$t = \frac{|\mu - \bar{x}| \cdot \sqrt{m}}{s} \quad (3.1)$$

Если, например, при $P = 95\%$ и $f = m - 1$, реализуется неравенство

$$t > t(P, f), \quad (3.2)$$

то полученные данным методом результаты отягощены систематической ошибкой, относительная величина которой δ вычисляется по формуле:

$$\delta = \frac{|\bar{x} - \mu|}{\mu} \cdot 100\%. \quad (3.3)$$

Следует помнить, что если величина A определена как среднее \bar{x} некоей выборки, полученной эталонным методом, критерий Стьюдента t может рассчитываться по уравнению 4.5.

При сравнении воспроизводимости двух методов анализа с оценками дисперсий s_1^2 и s_2^2 ($s_1^2 > s_2^2$) вычисляют критерий Фишера F :

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}. \quad (3.4)$$

Критерий F характеризует при $s_1^2 > s_2^2$ достоверность различия между s_1^2 и s_2^2 . Вычисленное значение F сравнивают с табличным значением $F(P, f_1, f_2)$, найденным при $P = 99\%$ (см. табл. III Приложения). Если для вычисленного значения F выполняется неравенство:

$$F > F(P, f_1, f_2), \quad (3.5)$$

различие дисперсий s_1^2 и s_2^2 признается статистически значимым с вероятностью P , что позволяет сделать заключение о более высокой воспроизводимости второго метода. Если выполняется неравенство:

$$F \leq F(P, f_1, f_2), \quad (3.5a)$$

различие значений s_1^2 и s_2^2 не может быть признано значимым и заключение о различии воспроизводимости методов сделать нельзя ввиду недостаточного объема информации.

Примечание 3.2. Для случая, описанного в примечании 1.2, в табл. 3.1 вместо величин μ , \bar{x} , s^2 и s приводят величины $\lg \mu$, $\lg \bar{x}_g$, s_{\lg}^2 и s_{\lg} . При этом в графу 8, согласно примечанию 2.2, вносят величину $\Delta \lg x$, а в графу 9 – максимальное по абсолютной величине значение ε . Аналогичные замены проводят при вычислении t по уравнению 3.1 и F – по уравнению 3.4.

Для сравнения двух методов анализа результаты статистической обработки сводят в табл. 3.2.

Таблица 3.2

Данные для сравнительной метрологической оценки двух методов анализа

Метод, № п/п	μ	f	\bar{x}	s^2	s	P	$t(P, f)$ (табл.)	Δx	ε	$t_{\text{выч}}$	$F(P, f_1, f_2)$ (табл.) при $P=99\%$	$F_{\text{выч}}$	δ	Примечания
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1														
2														

Метрологическое сравнение методов анализа желательно проводить при $\mu_1 = \mu_2$, $f_1 > 10$ и $f_2 > 10$. Если точные значения μ_1 и μ_2 неизвестны, величины δ и $t_{\text{выч}}$ не определяют.

Пример 3.1. Пусть для двух выборок аналитических данных (1 и 2), характеризующих, например, различные методы анализа, получены метрологические характеристики, приведенные в графах 1–10 табл. 3.3.

Таблица 3.3

Данные для сравнительной метрологической оценки двух методов анализа

Номер выборки	μ	f	\bar{x} , %	s^2	S	P, %	$t(P, f)$ (табл.)	Δx	ε	$t_{\text{выч}}$	F(P, f_1, f_2) (табл.) при P = 99 %	$F_{\text{выч}}$	δ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	100	20	100,13	0,215	0,464	95	2,09	0,97	0,97	1,28	3,36	17,92	-
2	100	15	98,01	0,012	0,110	95	2,13	0,23	0,24	72,36			1,99

Для заполнения графы 11 вычислим значения $t_{\text{выч}(1)}$ и $t_{\text{выч}(2)}$:

$$t_{\text{выч}(1)} = \frac{|\mu - \bar{x}_1| \sqrt{m_1}}{s_1} = \frac{|100 - 100,13| \cdot \sqrt{20+1}}{0,464} = 1,28;$$

$$t_{\text{выч}(2)} = \frac{|\mu - \bar{x}_2| \sqrt{m_2}}{s_2} = \frac{|100 - 98,01| \cdot \sqrt{15+1}}{0,110} = 72,36;$$

Поскольку $t_{\text{выч}(1)} = 1,28 < t_1(95\%, 20) = 2,09$, гипотеза $|\mu_1 - \bar{x}_2| \neq 0$ может быть отвергнута, что позволяет считать результаты выборки 1 свободными от систематической ошибки. Напротив, поскольку $t_{\text{выч}(2)} = 72,36 \gg t_2(95\%, 15) = 2,13$, гипотезу $|\mu_2 - \bar{x}_2| \neq 0$ приходится признать статистически достоверной, что свидетельствует о наличии систематической ошибки в результатах выборки 2. В графу 14 вносим вычисленное значение δ_2 :

$$\delta_2 = \frac{|\mu_1 - \bar{x}_1|}{\mu} \cdot 100\% = \frac{|100 - 98,01|}{100} \cdot 100\% = 1,99\%.$$

Заполним графы 12 и 13:

$$F(99\%; 20; 15) = 3,36;$$

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{0,215}{0,012} = 17,92;$$

$$F = 17,92 \gg F(99\%; 20; 15) = 3,36.$$

Следовательно, при $P = 99\%$ гипотезу о различии дисперсий s_1^2 и s_2^2 следует признать статистически достоверной.

Выводы:

- результаты, полученные первым методом, являются правильными, т. е. они не отягощены систематической ошибкой;
- результаты, полученные вторым методом, отягощены систематической ошибкой;

в) по воспроизводимости второй метод существенно превосходит первый метод.

4. МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СРЕДНЕГО РЕЗУЛЬТАТА. СРАВНЕНИЕ СРЕДНИХ РЕЗУЛЬТАТОВ ДВУХ ВЫБОРОК

Если с помощью данного метода анализа (измерения) следует определить значение некоторой величины A , то для полученной экспериментально однородной выборки объема m рассчитывают значения величин, необходимые для заполнения табл. 4.1. Так поступают в том случае, если применяемый метод анализа (измерения) не был ранее аттестован метрологически. Если же этот метод уже имеет метрологическую аттестацию, графы 2, 4, 5, 7, 8 и 9 табл. 4.1 заполняются на основании данных табл. 3.1, полученных при его аттестации. При заполнении табл. 4.1 следует при необходимости учитывать примечания 2.1 и 3.1.

Таблица 4.1

Метрологические характеристики среднего результата

m	f	\bar{x}	s ²	S	s _x ⁻	P	t(P, f)	Δx	Δx̄ или x̄ ± Δx̄	ε̄
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

Таким образом, на основании выражения 2.1 для измеряемой величины A в предположении отсутствия систематической ошибки с вероятностью P выполняется условие:

$$\bar{x} - \Delta\bar{x} \leq A \leq \bar{x} + \Delta\bar{x}, \quad (4.1)$$

то есть величина A при отсутствии систематической ошибки лежит в пределах:

$$A = \bar{x} \pm \Delta\bar{x}. \quad (4.2)$$

Примечание 4.1. В случае, предусмотренном в Примечании 1.2, в графе 9 табл. 4.1 приводят величину $\Delta \lg \bar{x}$, а каждую из граф 3, 10 и 11 разбивают на две (а, б). В графе 3а приводят значение \bar{x}_g , в графе 3б – значение $\lg \bar{x}_g$, в графах 10а и 10б – соответственно значения нижней и верхней границ доверительного интервала для \bar{x}_g (см. уравнения 2.11, 2.12). Наконец, в графе 11 приводят максимальное по абсолютной величине значение $\bar{\varepsilon}$ (см. уравнение 2.12а).

Если в результате измерений одной и той же величины A получены две выборки объема n_1 и n_2 , причем $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$, может возникнуть необходимость проверки статистической достоверности гипотезы:

$$\bar{x}_1 = \bar{x}_2, \quad (4.3)$$

т. е. значимости величины разности $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$.

Такая проверка необходима, если величина A определялась двумя разными методами с целью их сравнения или если величина A определялась одним и тем же методом для двух разных объектов, идентичность которых требуется доказать. Для проверки гипотезы 4.3 следует установить, существует ли статистически значимое различие между дисперсиями s_1^2 и s_2^2 . Эта проверка проводится так, как указано в разделе 3 (см. выражения 3.4, 3.5, 3.5а). Рассмотрим три случая.

1. Различие дисперсий s_1^2 и s_2^2 статистически недостоверно (справедливо неравенство 3.5а). В этом случае средневзвешенное значение s^2 вычисляют по уравнению 1.7, а дисперсию s_p^2 разности $|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|$ – по уравнению 4.4:

$$s_p^2 = \frac{s^2(n_1 + n_2)}{n_1 \cdot n_2} \quad (4.4)$$

$$s_p = \sqrt{s_p^2}. \quad (4.4а)$$

Далее вычисляют критерий Стьюдента:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_p} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}, \quad (4.5)$$

$$\text{при } f = n_1 + n_2 - 2. \quad (4.5а)$$

Если при выбранном значении P (например, при $P = 95\%$)

$$t > t(P, f), \quad (4.6)$$

то результат проверки положителен – значение $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ является значимым и гипотезу $\bar{x}_1 = \bar{x}_2$ отбрасывают. В противном случае надо признать, что эта гипотеза не противоречит экспериментальным данным.

2. Различие значений s_1^2 и s_2^2 статистически достоверно (справедливо неравенство 3.5). Если $s_1^2 > s_2^2$, дисперсию s_1^2 разности $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ находят по уравнению 4.7, а число степеней свободы f' – по уравнению 4.8:

$$s_p^2 = \frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}; \quad (4.7)$$

$$f' = (n_1 + n_2 - 2) \left(0,5 + \frac{s_1^2 \cdot s_2^2}{s_1^4 + s_2^4} \right). \quad (4.8)$$

Следовательно, в данном случае

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_p} = |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \cdot \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_2 \cdot s_1^2 + n_1 \cdot s_2^2}}. \quad (4.9)$$

Вычисленное по уравнению 4.9 значение t сравнивают с табличным значением $t(P, f')$, как это описано выше для случая 1.

Рассмотрение проблемы упрощается, когда $n_1 \approx n_2$ и $s_1^2 \gg s_2^2$. Тогда в отсутствие систематической ошибки среднее \bar{x}_2 выборки объема n_2 принимают за достаточно точную оценку величины A , т. е. принимают $\bar{x}_2 = \mu$. Справедливость гипотезы $\bar{x}_1 = \mu$, эквивалентной гипотезе 4.3, проверяют с помощью выражений 3.1, 3.2, принимая $f_1 = n_1 - 1$. Гипотеза 4.3 отклоняется как статистически недостоверная, если выполняются неравенство 3.2.

3. Известно точное значение величины A . Если $A = \mu$, проверяют две гипотезы: $\bar{x}_1 = \mu$ (4.3а) и $\bar{x}_2 = \mu$ (4.3б). Проверку выполняют так, как описано в разделе 3 с помощью выражений 3.1 и 3.2 отдельно для каждой из гипотез. Если гипотезы 4.3а и 4.3б статистически достоверны, то следует признать достоверной и гипотезу 4.3. В противном случае гипотеза 4.3 должна быть отброшена.

Примечание 4.2. В случае, предусмотренном примечанием 1.2, при сравнении средних используют величины $\lg \bar{x}_g$, s_{\lg}^2 и S_{\lg} .

Когда разность $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ оказывается значимой, определяют доверительный интервал для разности соответствующих генеральных

средних \hat{X}_1 и \hat{X}_2 :

$$|\bar{x}_1 - \bar{x}_2| - t(P, f) \cdot s_p \leq \left| \hat{X}_1 - \hat{X}_2 \right| \leq |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| + t(P, f) \cdot s_p \quad (4.10)$$

Пример 4.1. При определении содержания основного вещества в двух образцах препарата, изготовленных по разной технологии, получены метрологические характеристики средних результатов, приведенные в табл. 4.2.

Таблица 4.2

Метрологические характеристики среднего результата

Номер образца	n	f	$\bar{x}, \%$	s^2	s	$s_{\bar{x}}$	$P, \%$	$t(P, f)$	Δx	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\varepsilon}, \%$
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	8	7	99,10	0,25	0,50	0,18	95	2,36	1,18	0,42	0,42
2	6	5	98,33	0,31	0,56	0,23	95	2,57	1,44	0,59	0,60

Требуется решить, является ли первый образец по данному показателю лучшим в сравнении со вторым образцом. Поскольку

$$F = \frac{s_2^2}{s_1^2} = \frac{0,31}{0,25} = 1,24 < F(99 \%, 5, 7) = 7,46,$$

то, согласно неравенству 3.5а, статистически достоверное различие величин s_1^2 и s_2^2 отсутствует. Следовательно, гипотеза $\bar{x}_1 = \bar{x}_2$ (4.3) проверяется с помощью уравнений 1.7, 1.8, 4.4 и 4.5.

$$s = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} [(n_k - 1) \cdot s_k^2]}{\sum_{k=1}^{k=g} (n_k - 1)} = \frac{f_1 s_1^2 + f_2 s_2^2}{f_1 + f_2} = \frac{7 \cdot 0,25 + 5 \cdot 0,31}{7 + 5} = 0,275;$$

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{0,275} = 0,524.$$

$$s_p^2 = \frac{s^2(n_1 + n_2)}{n_1 \cdot n_2} = \frac{0,275(8 + 6)}{8 \cdot 6} = 0,0802;$$

$$s_p = \sqrt{s_p^2} = \sqrt{0,0802} = 0,283.$$

$$f = n_1 + n_2 - 2 = 8 + 6 - 2 = 12.$$

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_p} = \frac{|99,10 - 98,33|}{0,283} = 2,72.$$

$$t = 2,72 > t(95 \%; 12) = 2,18.$$

$$t = 2,72 < t(99 \%; 12) = 3,08.$$

Следовательно, с доверительной вероятностью $P = 95 \%$ гипотеза $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$ может быть принята. Однако с доверительной вероятностью $P = 99 \%$ принять эту гипотезу нельзя из-за недостатка информации.

Если гипотеза $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$ принята, то определяют доверительный интервал разности генеральных средних \hat{x}_1 и \hat{x}_2 (уравнение 4.10):

$$|\bar{x}_1 - \bar{x}_2| - t(P, f) \cdot s_p \leq \left| \hat{x}_1 - \hat{x}_2 \right| \leq |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| + t(P, f) \cdot s_p$$

$$(P = 95 \%; f = 12);$$

$$|99,10 - 98,33| - 2,18 \cdot 0,283 \leq \hat{x}_1 - \hat{x}_2 \leq |99,10 - 98,33| + 2,18 \cdot 0,283$$

$$0,15 \leq \hat{x}_1 - \hat{x}_2 \leq 1,39$$

5. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Оценка сходимости результатов параллельных определений.

При рядовых исследованиях аналитик обычно проводит два-три, реже четыре параллельных определения. Варианты полученной при этом упорядоченной выборки объема m , как правило, довольно значительно отличаются друг от друга. Если метод анализа метрологически аттестован, то максимальная разность результатов двух параллельных определений должна удовлетворять неравенству:

$$|x_1 - x_n| < L(P, m) \cdot s \quad (5.1)$$

где $L(P, m)$ – фактор, вычисленный по Пирсону при $P = 95 \%$.

M	2	3	4
$L(95 \%, m)$	2,77	3,31	3,65

Если неравенство 5.1 не выполняется, необходимо провести дополнительное определение и снова проверить, удовлетворяет ли величина $|x_1 - x_n|$ неравенству 5.1.

Если для результатов четырех параллельных определений неравенство 5.1 не выполняется, одна из вариантов (x_1 или x_n) должна быть отброшена и заменена новой. При невозможности добиться выполнения неравенства 5.1 следует считать, что конкретные условия анализа привели к снижению воспроизводимости метода и принятая оценка величины s применительно к данному случаю является заниженной. В этом случае поступают, как указано в разделе 1.

Определение необходимого числа параллельных определений.

Если необходимо получить средний результат \bar{x} с относительной погрешностью $\bar{\varepsilon} \leq \varphi$, причем метод анализа метрологически аттестован, необходимое число параллельных определений m находят учетом с уравнений 2.3 и 2.4:

$$m \geq \left(\frac{\Delta x \cdot 100}{\varphi \cdot \bar{x}} \right)^2 \quad (5.2)$$

Гарантия качества продукции. Предположим, что качество продукции регламентируется предельными значениями a_{\min} и a_{\max} величины A , которую определяют на основании результатов анализа. Примем, что вероятность соответствия качества продукта условию

$$a_{\min} < A < a_{\max} \quad (5.3)$$

должна составлять $\bar{P} \%$.

Пусть величину A находят экспериментально как среднее выбор-

ки объема m , а метод ее определения метрологически аттестован. Тогда условие 5.3 будет выполняться с вероятностью \bar{P} , если значение $\bar{x} = A$ будет лежать в пределах

$$a_{\min} + \Delta\bar{A} < A < a_{\max} - \Delta\bar{A} \quad (5.4)$$

где:

$$\Delta\bar{A} = \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}}. \quad (5.5)$$

Значения коэффициента U для вероятности $\bar{P} = 95\%$ и $\bar{P} = 99\%$, соответственно равны 1,65 и 2,33. Иными словами, для гарантии качества наблюдаемые пределы изменения величины A на практике следует ограничить значениями:

$$A_{\min} = a_{\min} + \Delta\bar{A} = a_{\min} + \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}} \quad (5.6)$$

$$A_{\max} = a_{\max} - \Delta\bar{A} = a_{\max} - \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}}. \quad (5.7)$$

Наоборот, если заданы значения A_{\min} и A_{\max} , значения a_{\min} , и a_{\max} , входящие в неравенство 5.3, могут быть найдены путем решения уравнений 5.6 и 5.7. Наконец, если заданы пары значений A_{\min} , a_{\min} , и A_{\max} , a_{\max} , то уравнения 5.6 и 5.7 могут быть решены относительно m . Это может быть использовано для оценки необходимого числа параллельных определений величины A .

Примечание 5.1. В уравнениях 5.5, 5.6 и 5.7 величина коэффициента $U(\bar{P})$ должна быть заменена величиной $t(\bar{P}, f)$, если значение f , определенное по уравнениям 1.4 или 1.8, < 15 .

Примечание 5.2. Для случая, предусмотренного примечанием 1.2, описанные в разделе 5 вычисления проводят с использованием величин $lg \bar{x}_g$, $lg x_i$, s_{lg} и т. п.

Пример 5.1. Рассмотрим данные табл. 3.3, относящиеся к выборке 1, как метрологическую характеристику используемого метода анализа.

а) Пусть $a_{\min} = 98\%$, $a_{\max} = 100,50\%$. Тогда для испытуемого образца продукта средний результат анализа \bar{A} при проведении трех параллельных определений ($m = 3$) должен находиться в пределах:

$$a_{\min} + \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}} < A < a_{\max} - \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}}.$$

При $\bar{P} = 99\%$:

$$98 + \frac{2,33 \cdot 0,464}{\sqrt{3}} < A < 100,5 - \frac{2,33 \cdot 0,464}{\sqrt{3}};$$

$$98,62 < A < 99,88.$$

При $\bar{P} = 95 \%$:

$$98 + \frac{1,65 \cdot 0,464}{\sqrt{3}} < A < 100,5 - \frac{1,65 \cdot 0,464}{\sqrt{3}};$$
$$98,44 < A < 100,06.$$

б) Реальный средний результат анализа образца испытуемого продукта $A = 99 \%$ (при $m = 3$). Тогда определение пределов a_{\min} и a_{\max} , гарантированно характеризующих качество данного образца с заданной доверительной вероятностью \bar{P} , проводим, исходя из уравнений 5.6 или 5.7, полагая

$$A_{\min} = A_{\max} = A$$
$$a_{\min} = A - \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}}$$
$$a_{\max} = A + \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}}$$

При $\bar{P} = 99 \%$:

$$a_{\min} = 99 - \frac{2,33 \cdot 0,464}{\sqrt{3}} = 98,38\%;$$
$$a_{\max} = 99 + \frac{2,33 \cdot 0,464}{\sqrt{3}} = 99,62\%.$$

При $\bar{P} = 95 \%$:

$$a_{\min} = 99 - \frac{1,65 \cdot 0,464}{\sqrt{3}} = 98,56\%;$$
$$a_{\max} = 99 + \frac{1,65 \cdot 0,464}{\sqrt{3}} = 99,44\%.$$

Полученные оценки a_{\min} и a_{\max} близки к границам доверительного интервала $A \pm \Delta \bar{x} = A \pm \frac{\Delta x}{\sqrt{m}} = 99 \pm \frac{0,97}{\sqrt{3}} = 99 \pm 0,56$, что соответствует примечанию 5.1.

6. РАСЧЕТ И СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ ЛИНЕЙНОЙ ЗАВИСИМОСТИ (ЛИНЕЙНОЙ РЕГРЕССИИ)

При использовании ряда химических и физико-химических методов количественного анализа непосредственному измерению подвергается некоторая величина y , которая рассматривается как линейная функция искомой концентрации (количества) x определяемого вещества или элемента. Иными словами, в основе таких методов анализа лежит экспериментально подтвержденная линейная зависимость:

$$y = bx + a, \quad (6.1)$$

где: y – измеряемая величина;

x – концентрация (количество) определяемого вещества или элемента;

b – угловой коэффициент линейной зависимости;

a – свободный член линейной зависимости.

(Здесь b и a рассматриваются как коэффициенты (параметры) линейной регрессии y на x).

Для использования зависимости 6.1 в аналитических целях, т. е. для определения конкретной величины x по измеренному значению y , необходимо заранее найти числовые значения констант b и a , иными словами, провести калибровку. Если константы зависимости (6.1) рассматриваются с учетом их физического смысла, то, при необходимости, их значения могут оцениваться с учетом доверительных интервалов.

Если калибровка проведена и значения констант a и b определены, величину X_i , находят по измеренному значению y_i ;

$$X_i = \frac{1}{b} y_i - \frac{a}{b}. \quad (6.2)$$

При калибровке величину x рассматривают как аргумент, а величину y – как функцию.

Наличие линейной зависимости между x и y целесообразно подтверждать расчетным путем. Для этого по экспериментальным данным, полученным при калибровке, оценивают достоверность линейной связи между x и y с использованием корреляционного анализа и лишь затем рассчитывают значения констант a и b зависимости (6.1) и их доверительные интервалы. В первом приближении судить о достоверности линейной связи между переменными x и y можно по эмпирической величине коэффициента корреляции r , который вычисляют по уравнению:

$$r = \frac{m \sum_1^m x_i y_i - \sum_1^m x_i \sum_1^m y_i}{\sqrt{\left[m \sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i \right)^2 \right] \left[m \sum_1^m y_i^2 - \left(\sum_1^m y_i \right)^2 \right]}} \quad (6.3)$$

исходя из экспериментальных данных, представленных в табл. 6.1. Чем ближе значение $|r|$ к единице, тем менее наблюдаемая линейная зависимость между переменными x и y может рассматриваться как случайная. В аналитической химии в большинстве случаев использу-

ют линейные зависимости, отвечающие условию $|r| \geq 0,98$, и только при анализе следовых количеств рассматривают линейные зависимости, для которых $|r| \geq 0,90$. При столь близких к 1 значениях величины $|r|$ формальное подтверждение наличия линейной связи между переменными x и y проводить не следует.

Коэффициенты a и b и метрологические характеристики зависимости 6.1 рассчитывают с использованием регрессионного анализа, т. е. методом наименьших квадратов по экспериментально измеренным значениям переменной y для заданных значений аргумента x . Пусть в результате эксперимента найдены представленные в табл. 6.1 пары значений аргумента x и функции y .

Таблица 6.1

Пары значений аргумента x и функции y

i	x_i	y_i
1	x_1	y_1
2	x_2	y_2
...
m	x_m	y_m

Тогда:

$$b = \frac{m \sum_1^m x_i y_i - \sum_1^m x_i \sum_1^m y_i}{m \sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i \right)^2} \quad (6.4)$$

$$a = \frac{\sum_1^m y_i - b \sum_1^m x_i}{m}; \quad (6.5)$$

$$f = m - 2. \quad (6.6)$$

Если полученные значения коэффициентов a и b использовать для вычисления значений y по заданным в табл. 6.1 значениям аргумента x согласно зависимости 6.1, то вычисленные значения y обозначают через $Y_1, Y_2, \dots, Y_i, \dots, Y_n$. Разброс значений Y_i , относительно значений y_i , характеризуется величиной дисперсии s_0^2 , которую вычисляют по уравнению:

$$s_0^2 = \frac{\sum_1^m (y_i - Y_i)^2}{f} = \frac{\sum_1^m y_i^2 - a \sum_1^m y_i - b \sum_1^m x_i y_i}{f}. \quad (6.7)$$

В свою очередь, дисперсии констант b и a находят по уравнениям:

$$s_b^2 = \frac{ms_0^2}{m \sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i \right)^2}; \quad (6.8)$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{m} \sum_1^m x_i^2. \quad (6.9)$$

Стандартные отклонения s_b и s_a и величины Δb и Δa , необходимые для оценки доверительных интервалов констант уравнения регрессии, рассчитывают по уравнениям:

$$s_b = \sqrt{s_b^2}; \quad (6.10)$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2}; \quad (6.11)$$

$$\Delta b = t(P, f) \cdot s_b; \quad (6.12)$$

$$\Delta a = t(P, f) \cdot s_a. \quad (6.13)$$

Уравнению 6.1 с константами a и b обязательно удовлетворяет точка с координатами \bar{x} и \bar{y} , называемая центром калибровочного графика:

$$\bar{x} = \frac{\sum_1^m x_i}{m}; \quad (6.14)$$

$$\bar{y} = \frac{\sum_1^m y_i}{m}. \quad (6.15)$$

Наименьшие отклонения значений y_i от значений Y_i , наблюдаются в окрестностях центра графика. Стандартные отклонения s_y и s_x величин Y и X , рассчитанных соответственно по уравнениям 6.1 и 6.2, исходя соответственно из известных значений x и y , определяются с учетом удаления последних от центра графика:

$$s_y = \sqrt{s_0^2 \left[\frac{1}{m} + \frac{m(x - \bar{x})^2}{b^2 \left[m \sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i \right)^2 \right]} \right]}; \quad (6.16)$$

$$s_x = \sqrt{\frac{s_0^2}{b^2} \left[\frac{1}{n_j} + \frac{1}{m} + \frac{m(\bar{y}_j - \bar{y})^2}{b^2 \left[m \sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i \right)^2 \right]} \right]}, \quad (6.17)$$

где \bar{y}_j – среднее значение для n_j вариант y , по которым вычислено искомое значение X .

При $x = \bar{x}$ и $\bar{y}_j = \bar{y}$:

$$s_y = \sqrt{\frac{s_0^2}{m}}; \quad (6.16a)$$

$$s_x = \sqrt{\frac{s_a^2}{b^2} \left[\frac{1}{n_j} + \frac{1}{m} \right]}. \quad (6.17a)$$

С учетом значений s_y и s_x могут быть найдены значения величин ΔY и ΔX :

$$\Delta Y = s_y \cdot t(P, f); \quad (6.18)$$

$$\Delta X = s_x \cdot t(P, f). \quad (6.19)$$

Значения s_x и ΔX , найденные при $n_j = 1$, являются характеристиками воспроизводимости аналитического метода, если x – концентрация (количество), а y есть функция x .

Обычно результаты статистической обработки по методу наименьших квадратов сводят в таблицу (табл. 6.2).

Таблица 6.2

Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении линейной зависимости вида $y = bx + a$

f	\bar{x}	\bar{y}	b	a	$t(P; f)$ при $P = 95 \%$	Δb	Δa	s_0^2	r	s_x при $n_j = 1$, $y_j = \bar{y}$	ΔX	$\frac{\Delta X \cdot 100}{\bar{x}}$, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

Примечание 6.1. Если целью экспериментальной работы являлось определение констант b и a , графы 11, 12 и 13 табл. 6.2 не заполняются.

Примечание 6.2. Если $y = b \cdot \lg x + a$, вычисления, описанные в разделе 6, выполняют с учетом примечаний 1.2 и 2.2.

Примечание 6.3. Сравнение дисперсий s_0^2 , полученных в разных условиях для двух линейных зависимостей, может быть проведено как указано в разделе 3 (см. выражения 3.4, 3.5 и 3.5а).

7. РАСЧЕТ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ ФУНКЦИИ НЕСКОЛЬКИХ СЛУЧАЙНЫХ ПЕРЕМЕННЫХ

Описанные в разделах 1–6 настоящей Общей фармакопейной статьи расчеты доверительных интервалов результатов методик анализа применимы лишь в том случае, если измеряемая величина (концентрация, содержание и т.д.) является функцией только одной случайной переменной. Такая ситуация обычно возникает при использо-

вании прямых методов анализа (титрование, определение сульфатной золы, тяжелых металлов и т.д.). Однако большинство методик количественного определения в фармакопейном анализе являются косвенными, т.е. используют стандартные образцы. Следовательно, измеряемая величина является функцией как минимум двух случайных переменных – аналитических сигналов (оптическая плотность, высота или площадь пика и т.д.) испытуемого и стандартного образцов. Кроме того, нередко возникает проблема прогнозирования неопределенности аналитической методики, состоящей из нескольких стадий (взвешивание, разбавление, конечная аналитическая операция), каждая из которых является по отношению к другой случайной величиной.

Таким образом, возникает общая проблема оценки неопределенности косвенно измеряемой величины, зависящей от нескольких измеряемых величин, в частности, как рассчитывать неопределенность всей аналитической методики, если известны неопределенности отдельных ее составляющих (стадий)?

Если измеряемая на опыте величина y является функцией n независимых случайных величин x_i , т. е.

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_n) , \quad (7.1)$$

и число степеней свободы величин x_i одинаковы или достаточно велики (>30 , чтобы можно было применять статистику Гаусса, а не Стьюдента), то дисперсия величины y связана с дисперсиями величин x_i соотношением (правило распространения неопределенностей):

$$s_y^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \cdot s_{x_i}^2 . \quad (7.2)$$

Однако на практике степени свободы величин x_i обычно невелики и не равны друг другу. Кроме того, обычно интерес представляют не сами дисперсии (стандартные отклонения), а доверительные интервалы, рассчитать которые, используя уравнение (7.2), при небольших и неодинаковых степенях свободы невозможно. Поэтому для расчета неопределенности величины y (Δ_y) предложены различные подходы, среди которых можно выделить два основных: линейная модель и подход Уэлча-Сатертуэйта.

7.1. Линейная модель

Если случайные переменные x_i статистически независимы, то доверительный интервал функции Δ_y связан с доверительными интервалами переменных Δ_{x_i} соотношением (доверительные интервалы берутся для одной и той же вероятности):

$$\Delta_y^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \cdot \Delta_{x_i}^2 . \quad (7.3)$$

Данное соотношение является обобщением соотношения (7.2).

В фармакопейном анализе измеряемая величина y представляет собой обычно произведение или частное случайных и постоянных величин (масс навесок, разбавлений, оптических плотностей или площадей пиков и т.д.), т.е. (K – некая константа):

$$y = \frac{K \cdot x_1 \cdot x_2 \cdot \dots \cdot x_m}{x_{m+1} \cdot x_{m+2} \cdot \dots \cdot x_n} . \quad (7.4)$$

В этом случае соотношение (7.2) принимает вид:

$$\Delta_{y,r}^2 = \sum_{i=1}^n \Delta_{x_i,r}^2 , \quad (7.5)$$

где использованы относительные доверительные интервалы.

Соотношение (7.4) применимо при любых (разных) степенях свободы (в том числе и бесконечных) для величин x_i . Его преимуществом является простота и наглядность. Использование абсолютных доверительных интервалов приводит к гораздо более громоздким выражениям, поэтому рекомендуется использовать относительные величины.

При проведении фармакопейного анализа в суммарной неопределенности ($\Delta_{AS,r}$) анализа обычно всегда можно выделить такие типы неопределенностей: неопределенность пробоподготовки ($\Delta_{SP,r}$), неопределенность конечной аналитической операции ($\Delta_{FAO,r}$) и неопределенность аттестации стандартного образца ($\Delta_{RS,r}$). Величина $\Delta_{RS,r}$ обычно столь мала, что ею можно пренебречь. Учитывая это, а также то, что анализ проводится и для испытуемого раствора (индекс "smp") и для раствора сравнения (индекс "st"), выражение (7.5) можно представить в виде:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{[(\Delta_{sp,r}^{smp})^2 + (\Delta_{sp,r}^{st})^2] + [(\Delta_{FAO,r}^{smp})^2 + (\Delta_{FAO,r}^{st})^2]} . \quad (7.6)$$

При этом каждое из слагаемых рассчитывается из входящих в него компонентов по формуле (7.5).

Если число степеней свободы величин x_i одинаковы или достаточно велики (>30), выражение (7.5) дает:

$$s_{y,r}^2 = \sum_{i=1}^n s_{x_i,r}^2 . \quad (7.7)$$

Это же соотношение получается при тех же условиях и из выражения (7.2).

7.2. Подход Уэлча-Сатертуэйта

В этом подходе дисперсию величины y (s_y^2) рассчитывают по соотношению (7.2), не обращая внимания на различие в степенях свободы (ν_i) величин x_i . Для полученной дисперсии s_y^2 рассчитывают некое «эффективное» число степеней свободы ν_{eff} (которое обычно является дробным), на основе которого затем по таблицам для заданной вероятности находят интерполяцией значений критерия Стьюдента. На основе его далее рассчитывают обычным путем доверительный интервал величины y (Δ_y)

$$\nu_{eff} = \frac{s_y^4}{\sum_{i=1}^n \frac{\left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^4 \cdot s_{x_i}^4}{\nu_i}} \quad (7.8)$$

В фармакопейном анализе для определяемой величины y обычно выполняется уравнение (7.4). В этом случае в подходе Уэлча-Сатертуэйта соотношение (7.2) переходит в выражение (7.7), и соотношение (7.8) принимает более простой вид:

$$\nu_{eff} = \frac{s_{y,r}^4}{\sum_{i=1}^n \frac{s_{x_i,r}^4}{\nu_i}} \quad (7.9)$$

Здесь величина $s_{y,r}^4$ рассчитывается из соотношения (7.7).

Подход Уэлча-Сатертуэйта обычно дает более узкие доверительные интервалы, чем линейная модель. Однако он гораздо сложнее в применении и не позволяет выделить так просто неопределенности разных этапов (с последующими рекомендациями по их минимизации) как линейная модель в форме выражения (7.6).

При прогнозе неопределенности анализа используются генеральные величины (с бесконечным числом степеней свободы). В этом случае подход Уэлча-Сатертуэйта совпадает с линейной моделью.

Приложение 2

Таблица Ё

Критические значения контрольного критерия $Q(P, n)$

n	Q		
	$P = 90 \%$	$P = 95 \%$	$P = 99 \%$
3	0,89	0,94	0,99
4	0,68	0,77	0,89
5	0,56	0,64	0,76
6	0,48	0,56	0,70
7	0,43	0,51	0,64
8	0,40	0,48	0,58
9	0,38	0,46	0,55

Таблица 2

Критические значения критерия Стьюдента

f	Доверительная вероятность			f	Доверительная вероятность		
	$P = 95 \%$	$P = 99 \%$	$P = 99,9 \%$		$P =$	$P = 99 \%$	$P = 99,9 \%$
1	12,71	63,60		21	2,08	2,83	3,82
2	4,30	9,93	31,60	22	2,07	2,82	3,79
3	3,18	5,84	12,94	23	2,07	2,81	3,77
4	2,78	4,60	8,61	24	2,06	2,80	3,75
5	2,57	4,03	6,86	25	2,06	2,79	3,73
6	2,45	3,71	5,96	26	2,06	2,78	3,71
7	2,37	3,50	5,41	27	2,05	2,77	3,69
8	2,31	3,36	5,04	28	2,05	2,76	3,67
9	2,26	3,25	4,78	29	2,04	2,76	3,66
10	2,23	3,17	4,59	30	2,04	2,75	3,65
11	2,20	3,11	4,44	40	2,02	2,70	3,55
12	2,18	3,06	4,32	50	2,01	2,68	3,50
13	2,16	3,01	4,22	60	2,00	2,66	3,46
14	2,15	2,98	4,14	80	1,99	2,64	3,42
15	2,13	2,95	4,07	100	1,98	2,63	3,39
16	2,12	2,92	4,02	120	1,98	2,62	3,37
17	2,11	2,90	3,97	200	1,97	2,60	3,34
18	2,10	2,88	3,92	500	1,96	2,59	3,31
19	2,09	2,86	3,88	∞	1,96	2,58	3,29
20	2,09	2,85	3,85				
f	$p = 0,05$	$p = 0,01$	$p = 0,001$	f	$p =$	$p = 0,01$	$p = 0,001$
	Уровень значимости				Уровень значимости		

$t = 1,958788 + 2,429953f + 2,189891f^2 + 4,630189f^3 + 1,398179f^9$ при $P = 95 \%$;

$t = 2,5638 + 5,49059f + 2,72654f^2 + 31,2446f^3 + 21,6745/f^{10}$ при $P = 99 \%$.

Таблица 3

Критические значения критерия Фишера

f_2 – число степеней свободы для меньшей дисперсии	f_1 – число степеней свободы для большей дисперсии									
	1	2	3	4	5	6	7	8	20	∞
3	10,13 34,12	9,55 30,81	9,28 29,46	9,12 28,71	9,01 28,24	8,94 27,91	8,88 27,67	8,84 27,49	8,66 26,69	8,53 26,12
6	5,99 13,74	5,14 10,92	4,76 9,78	4,53 9,15	4,39 8,75	4,28 8,47	4,21 8,26	4,15 8,10	3,87 7,39	3,67 6,88
9	5,12 10,56	4,26 8,02	3,86 6,99	3,63 6,42	3,48 6,06	3,87 5,80	3,29 5,62	3,23 5,47	2,93 4,80	2,71 4,31
12	4,75 9,33	3,89 6,93	3,49 5,95	3,26 5,41	3,11 5,06	3,00 4,82	2,91 4,64	2,85 4,50	2,54 3,86	2,30 3,36
15	4,54 8,68	3,68 6,36	3,29 5,42	3,06 4,89	2,90 4,56	2,79 4,32	2,71 4,14	2,64 4,00	2,33 3,37	2,07 2,87
20	4,35 8,10	3,49 5,85	3,10 4,94	2,87 4,43	2,71 4,10	2,60 3,87	2,51 3,70	2,45 3,56	2,12 2,94	1,84 2,42
30	4,17 7,56	3,32 5,39	2,92 4,51	2,69 4,02	2,53 3,70	2,42 3,47	2,33 3,30	2,27 3,17	1,93 2,55	1,62 2,01
60	4,00 7,08	3,15 4,98	2,76 4,13	2,53 3,65	2,37 3,34	2,25 3,12	2,17 2,95	2,10 2,82	1,75 2,20	1,39 1,60
∞	3,84 6,63	3,00 4,61	2,60 3,78	2,37 3,32	2,21 3,02	2,10 2,80	2,01 2,64	1,94 2,51	1,57 1,88	1,00 1,00

F для $P = 95\%$ напечатаны жирным шрифтом, а F для $P = 99\%$ – обычным.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
ВВЕДЕНИЕ.....	4
Тема 1. СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА.....	6
1.1. Измерение. Классификация измерений.....	6
1.2. Погрешности измерений и их классификация.....	7
1.3. Метрологические характеристики методики.....	10
1.4. Лабораторные работы №1-2.....	13
Тема 2. ВАЛИДАЦИОННАЯ ОЦЕНКА МЕТОДИК АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ	18
2.1. Определение, задачи и виды валидации.....	18
2.2. Виды документации по валидации.....	20
2.3. Виды валидируемых аналитических методик.....	21
2.4. Характеристики валидационных параметров и особенности их определения.....	24
2.5. Лабораторные работы № 3-4.....	33
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ	39
ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ.....	51
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	52
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА.....	53
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	54
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....	80

Учебно-практическое издание

**Мария Сергеевна Ларькина,
Татьяна Владимировна Кадырова**

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

**Практикум
по фармацевтической химии**

Редактор Суханова Н.А.
Технический редактор Коломийцева О.В.

Издательство СибГМУ
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107
тел. 8(382-2) 51-41-53
E-mail: otd.redaktor@ssmu.ru

Подписано в печать 10.10.2016 г.
Формат 60x84 $\frac{1}{6}$. Бумага офсетная.
Печать ризограф. Гарнитура «Times». Печ. лист 5,2
Тираж 100 экз. Заказ №

Отпечатано в Издательстве СибГМУ
634050, Томск, ул. Московский тракт, 2
E-mail: lab.poligrafii@ssmu.ru