

北欧国家方法验证委员会替代专有化学方法 验证指南

岳振峰* 译

(深圳出入境检验检疫局食品检验检疫技术中心, 深圳市食品安全检测技术研发重点实验室, 深圳 518045)

摘要: 本文全文译自北欧国家方法验证委员会(NordVal)2010年5月26日批准的“替代专有化学方法验证指南”(NordVal第2号规程)。NordVal由北欧部长理事会下属的北欧食品议题高级官员委员会创建,并将评估替代微生物方法和替代化学方法的性能和适用范围作为其工作目标,涵盖北欧国家范围内的食品、水、饲料、动物粪便和食品环境样本的分析。本文可作为我国食品分析专业人员研发和验证化学检测方法或与北欧检测机构交流的参考。

关键词: 北欧国家方法验证委员会; 替代专有化学方法; 验证; 指南

NordVal guide in validation of alternative proprietary chemical methods

YUE Zhen-Feng*

(Key Laboratory of Detection Technology R & D on Food Safety, Food Inspection and Quarantine Center, Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518045, China)

ABSTRACT: This paper is fully translated from *Guide in Validation of Alternative Proprietary Chemical Methods* (NordVal Protocol No.2, approved 26 May 2010). NordVal was created in 1999 by the Nordic Committee of Senior Officials for Food Issues under the Nordic Council of Ministers. The Committee adopted the following objective for NordVal: NordVal evaluates the performance and field of application of alternative microbiological and chemical methods. This includes analyses of food, water, feed, animal faeces and food environmental samples in the Nordic countries. The objective of this paper is to provide a reference for chinese food analyst to develop and validate chemical methods or communicate with Nordic inspection organization.

KEY WORDS: NordVal; alternative proprietary chemical methods; validation; guide

1 范围

本NordVal规程描述了专有化学方法(试剂盒)的验证,其目标是为专家实验室、NordVal技术委员会及NordVal的领导小组在验证、评估和认证试剂盒时提供指导。本规

程包括以下两部分:定性专有方法的验证和评估及定量专有方法的验证和评估。验证替代方法的最佳方式是参与方法进行比对。但是,如果没有参与方法,可以使用有证参比物质、对照物质或在各种基质中以不同浓度水平加标的样品进行验证。

基金项目: 国家质检总局科技计划基金项目(2013IK197)、公益性行业科研专项(2012104020、2012104003)

Fund: Supported by the Science and Technology Fund of AQSIQ of China (2013IK197) and Fund for Public Benefit Project of Quality Supervision of AQSIQ of China (2012104020、2012104003)

*通讯作者: 岳振峰, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: yuezhenfeng@163.com

*Corresponding author: YUE Zhen-Feng, Professor, Room 1313, CIQ Building A, 1011, Fuqiang Road, Futian District, Shenzhen 518045, China. E-mail: yuezhenfeng@163.com

2 定义

2.1 相对准确度

相对准确度是采用专有方法和参比方法检测人工污染样品所得响应值之间的一致程度,或是加标样品的“预期结果/真实结果”比值。

2.2 分析物

分析物是通过分析方法证实或测定的成分。

2.3 中间研究

至少另外一个独立实验室对专有方法性能的研究。

2.4 临界浓度

临界浓度是筛选试验中表明样品中含有等于或大于目标筛选浓度的物质的响应或信号。如超出临界浓度,应在其后进行确证实验。在初始验证过程中(即对比测试,如果尚未在制造商的研发项目中测定),可以通过分析基质空白样品和以目标筛选浓度加标(强化)的重复样品建立临界浓度。

2.5 检测能力(CC_{β})

检测能力(CC_{β})是指错误概率为 β 时在样品中能被检测、鉴定或定量的最小的物质含量。 β 错误是指测量结果表示合格但所测样品确实不合格的情况。对于筛选测试, β 错误(即假合格率)应小于5%。

2.6 假阴性和假阳性

假阴性率是含有分析物的样品测试结果为阴性的概率。假阳性率是分析物含量不超过筛选浓度水平的样品测试结果为阳性的概率。

2.7 包容性

包容性是指能够从广泛的来源中检测到目标分析物或一组目标分析物的相关成员,比如检测来自亚洲以及来自美国的大豆或花生。

2.8 检出限(LOD)

样品中能够可靠地检测到(但未必量化)的分析物最低量或浓度。

2.9 定量限(LOQ)

可以在严密定义的置信度上定量测定的分析物最低量。

2.10 方法比较研究

由专家实验室对照参比方法对专有方法进行的研究。

2.11 负偏差

当参比方法给出阳性结果而专有方法给出阴性结果时,称专有方法呈现负偏差。

2.12 正偏差

当参比方法给出阴性结果而专有方法给出阳性结果时,称专有方法呈现正偏差。

2.13 精密度

在特定情况下所得独立分析结果之间的一致程度。

2.14 专有方法

专有方法是指某一方或物权人对方法具有私有权。

2.15 定性方法

定性方法是指以分析物在一定量的样品中存在或不存在作为响应的分析方法。

2.16 定量方法

定量方法是指以在一定量的样品中直接或间接测得的分析物的量作为响应的分析方法。

2.17 参比方法

参比方法是指国际认可和接受的方法(如 NMKL、ISO、CEN 和 AOAC Intl 的方法,在欧盟国家法律中以及在具有同等地位的某些国家标准中的方法)。

2.18 重复性

重复性是在相同条件下(设备、操作者、实验室、时间间隔短)使用相同方法对同一材料进行连续、独立的测试所得结果之间的一致程度。

2.19 重复性限(r)

在重复性条件下得到的两个测试结果之间的绝对差值预期有95%的概率小于或等于重复性限值。

注:如果两个结果之间的差异超过 r ,其结果应被视为可疑。

2.20 重复样品

在本文件中,术语“重复样品”是指“复制样品”,即基质和浓度水平都相同并作为单独样品处理的样品。

2.21 再现性(内部再现性)

内部再现性是指在相同实验室不同日期使用相同方法对同一材料得到的单一测试结果之间的一致程度。

2.22 内部再现性限(R)

在内部再现性条件下得到的两个测试结果之间的绝对差值预期有95%的概率小于或等于再现性限值。

2.23 耐用度

分析方法对方法实验条件的轻微偏离的敏感程度。不受到这一轻微偏离影响的方法被认为针对这些实验条件是耐用的。

2.24 半定量方法

半定量方法对分析物浓度做出估计。虽然数值结果可能无法用于报告,但仍有助于分析人员决定后续(定量)确证测试的校准范围。(例如酶联免疫吸附实验,其中包括一个校准曲线。)

2.25 灵敏度

在指定测试条件下,灵敏度代表含有分析物并在测试中给出阳性响应的测试样品的比例。

相对灵敏度是指专有方法相对于参比方法检测分析物的能力。

2.26 特异性

在此特异性定义为分析方法在样品中区分待测分析物与其他物质的能力。

在指定测试条件下,特异性是指不含有分析物并在测试中给出阴性响应的测试样品的比例。

2.27 加标样品

加标样品是以尽量不改变原始样品基质的方式添加了已知浓度的特定分析物的样品。对每一加标样品应当提及相应的加标溶液以及加标体积。

2.28 正确度

样品中特定分析物的真实含量与分析结果之间的一致程度。

2.29 专有方法的验证

专有方法的验证是证实专有方法是否给出恰当的结果以及与其描述相符的程序。

3 定性专有方法的验证与评价

3.1 方法比较研究

3.1.1 耐用性

分析方法的性质将决定所需测试的参数。最常测试的可能对分析方法有关键影响的耐用性参数包括:

- ✓ 样品组成
- ✓ pH值
- ✓ 每一(测定)步骤的用时
- ✓ 温度
- ✓ 潜在干扰物质的存在(如:鞣酸或其它络合剂、不同浓度的脂类、内源性酶)

可以将空白样品用于耐用性测试从而揭示由基质或化学批次所引起影响。可以利用从耐用性测试中得到的信息指定方法的使用条件。

3.1.2 批次间差异

专家实验室就制造商如何确保其产品没有重大批次间差异检查产品说明和文档。

3.1.3 方法性能特征

仅由专家实验室进行方法比较研究。应对照参比方法测试专有方法,如没有可用的参比方法,可以将专有方法与认证标准物质(CRM)、对照物质和/或不同的加标样品的“预期结果”相对比。应对定性方法做出估计的性能特征包括:

- ✓ 应用领域, 浓度范围
- ✓ 检出限
- ✓ 灵敏度
- ✓ 准确度
- ✓ 包容性
- ✓ 特异性
- ✓ 假阳性
- ✓ 假阴性
- ✓ 方法间一致性

如可能的话,应当使用真实的残留样品进行方法比较以决定所关注的浓度水平,否则应使用人为污染的样品进行方法比较。如果要求对所有食品基质进行验证,应至少选择 5 个相关的食品基质。对于其他基质类别,应选择相应数量的基质。所测浓度应包括低、中、高以及一个盲样,即不含目标分析物的样品基质。重复样品数量应在 10 个左右。

3.1.4 包容性

在相关情况中应当分析来自不同地区/国家的样品,如分析来自不同国家的大豆或花生,以确定方法是否不仅能检测到不同食品中的分析物也能检测到来自不同地区/国家的食品中的分析物,从而检查方法的包容性。应检查类属特异性测试对该类化合物(例如 β 内酰胺类或磺胺类抗生素)所有相关成员的检测性能。

3.1.5 浓度范围和检出限(LOD)

首先通过分析一系列样品检查方法适用的浓度范围,其中包括一个空白样品和含有不同浓度的分析物的样品。建议在每个浓度水平上进行至少 10 次平行测定。将阳性结果的值作为 y 轴并将浓度作为 x 轴绘制响应曲线,然后即可从曲线中读出使方法不再可靠的阈值浓度。

在下面的例子中,当浓度低于 100 $\mu\text{g/g}$ 时候检测方法的可靠性不再是 100%。

表 1 在不同浓度水平上的结果 – 测定浓度范围和 LOD
Table 1 Results at different levels – for the determination of the concentration range and LOD

浓度 ($\mu\text{g/g}$)	测试次数 <i>N</i>	阳性	阴性	阳性/阴性 (%)
25	10	0	10	0
50	10	1	9	11
75	10	5	5	50
100	10	10	0	∞
200	10	10	0	∞

3.1.6 检测能力(CC_{β})

应对照方法声称的筛选/阈值限测试检测能力(CC_{β})。为每一基质分析至少 20 个空白材料和 20 个以浓度为筛选限的分析物强化的空白样品。分析这些样品并鉴定分析物。最多只允许一个样品出现假阴性($\beta = 5\%$, 95%置信度)。

方法或加标样品之间的一致性、灵敏度、准确度、特异性、假阳性、假阴性、方法间一致性

如下所示的交叉表是用于估计除检出限之外所有其它方法性能特征的一个有用的工具。

表 2 比较两个定性方法或比较实测结果与预期结果
Table 2 Comparing two qualitative methods or obtained versus expected results

		专有方法(方法 1) 实测结果		总和
		阳性/ 检出	阴性/ 未检出	
参比方 法或预 期结果 (方法 2)	阳性/ 检出	N_{11}	N_{12}	N_{1-}
	阴性/ 未检出	N_{21}	N_{22}	N_{2-}
总和		N_{-1}	N_{-2}	$N = N_{1-} + N_{2-}$ $N = N_{-1} + N_{-2}$

其中:

N_{11} = 两种方法均呈阳性的样品数量

N_{12} = 方法 1 呈阴性但方法 2 呈阳性的样品数量

N_{21} = 方法 1 呈阳性但方法 2 呈阴性的样品数量

N_{22} = 两种方法均呈阴性的样品数量

在许多情况下, 参比方法是定量方法而非定性方法, 并很可能会比专有方法更灵敏。因此, 对参比方法而言, 阴性样品可定义为实测结果等于或低于专有方法检出限 (LOD) 的样品, 而阳性样品可定义为分析物浓度高于专有方法 LOD 的样品。

3.1.7 灵敏度(SE)

灵敏度即预期结果为阳性的样品中实测结果为阳性的数目除以预期结果为阳性的样品总数, 根据下式计算:

$$SE = \frac{N_{11}}{N_{1-}}, \text{ 相对灵敏度 } SE(\%) = \frac{N_{11} \cdot 100}{N_{1-}}$$

灵敏度一定程度上依赖于浓度水平。在检测水平上灵敏度应为约 50%。在对替代方法的验证中, 如果整体灵敏度为 95%或更高, 一般都认为方法是可以接受的。

3.1.8 相对准确度(RA)

相对准确度是两种不同方法所得响应之间的对应程度:

$$RA = \frac{N_{11} + N_{22}}{N}, \text{ 相对准确度 } RA(\%) = \frac{(N_{11} + N_{22}) \cdot 100}{N}$$

3.1.9 假阴性率(FN)

预期结果为阳性的样品中实测结果为阴性的数目除以预期结果为阳性的样品总数:

$$FN = \frac{N_{12}}{N_{1-}} = 1 - SE$$

因为 FN 等于 $1 - SE$, 如果 SE 已知, 则 FN 并不提供额外信息。

3.1.10 特异性率(SP)

预期结果为阴性的样品中实测结果为阴性的数目除以预期结果为阴性的样品总数:

$$SP = \frac{N_{22}}{N_{2-}}, \text{ 相对特异性 } SP(\%) = \frac{N_{22} \cdot 100}{N_{2-}}$$

对免疫测定法而言, 特异性尤为复杂, 因为加标样品将不包含可能会发生交叉反应并影响到响应的前体或代谢物。因此, 如若可行仍应尽量分析实际的残留样品。

3.1.11 假阳性率(FP)

预期结果为阴性的样品中实测结果为阳性的数目除以预期结果为阴性的样品总数:

$$FP = N_{21}/N_{2-} = 1 - SP$$

因为 FP 等于 $1 - SP$, 如果 SP 已知, 则 FP 并不提供额外信息。

3.1.12 利用 kappa 检查一致性

一致性的程度可以通过 kappa 值(κ 值)量化。如果所有的观测值均位于交叉表的对角线上, 说明两种方法完全一致。反之, 处于交叉表对角线以外的值越多, 说明方法之间的一致性越低。可以通过计算科恩 κ 值估计方法之间的一致性:

$$\text{已观察到的一致, 即准确度, 为: } RA = p_0 = \frac{N_{11} + N_{22}}{N}$$

预期一致的频率, 即预期准确度或随机重复性, 为:

$$p_e = \frac{(N_{1-} \cdot N_{-1}) + (N_{2-} \cdot N_{-2})}{N^2}$$

为了测量方法之间的一致性, 可以采用科恩 κ 值:

$$\kappa = \frac{p_0 - p_e}{1 - p_e}$$

一般情况下 κ 值按照以下解释:

- κ 0.20 → 一致性差
- κ {0.21 - 0.40} → 一致性一般
- κ {0.41 - 0.60} → 一致性中等
- κ {0.61 - 0.80} → 一致性好
- $\kappa > 0.80$ → 一致性非常好

对方法验证而言, 考虑到整体一致性(测试结果的数目比较多), 通常要求“非常好的一致性”, 即 $\kappa > 0.80$ 。

3.2 中间研究

中间研究的目的是为了在至少一个额外的实验室确证所得结果。

应使用在 3 个浓度水平(低、中、高)上人为污染的至少三个相关食品原料以及一个阴性控制样, 其中最低浓度水平应接近检测/筛选水平。如果仅在一个额外的实验室进行中间研究, 每个基质的重复样品数量应至少为 5 个。样

品浓度水平对于实验室应当是未知的。

如果专有方法包括不止一个方法程序,应当为每个程序选择一个相关食品基质加以研究。使用比较研究中同样的方式(见表 2)进行计算。

3.3 解释

将所得结果的准确度、灵敏度、特异性和 κ 值与比较研究的结果相对比。

4 定量专有方法的验证和评估

4.1 方法比较研究

4.1.1 耐用性

分析方法的性质将决定所需测试的参数。最常测试的可能对分析方法有关键影响的耐用性参数包括:

- ✓ 样品组成
- ✓ pH值
- ✓ 每一(测定)步骤的用时
- ✓ 温度
- ✓ 潜在干扰物质的存在(如:鞣酸或其它络合剂、不同水平的脂类、内源性酶)

可以将空白样品用于耐用性测试从而揭示由基质或化学批次所引起影响。可以利用从耐用性测试中得到的信息指定方法的使用条件。

4.1.2 批次间差异

专家实验室就制造商如何确保其产品没有重大批次间差异检查产品说明和文档。

4.1.3 方法性能特征

仅由专家实验室进行方法比较研究。应对照参比方法测试专有方法,如没有可用的参比方法,可以将专有方法与有证标准物质(CRM)、对照物质和/或不同的加标样品的“预期结果/真实结果”相对比。应当为定量方法做出估计的性能特征除耐用性以外还包括:

- ✓ 应用领域, 浓度范围
- ✓ 定量限
- ✓ 特异性
- ✓ 包容性
- ✓ 正确度
- ✓ 重复性
- ✓ 回收率

如可能的话,应当使用真实的残留样品进行方法比较以决定所关注的浓度水平,否则应使用人为污染的样品进行方法比较。

4.1.4 应用领域, 浓度范围

如果要求对所有食品基质进行验证,应至少选择 5 个相关的食品基质。对于其他基质类别,应选择相应数量的基质。所测浓度应包括低、中、高以及一个盲样,即不含

目标分析物的样品基质。有些方法的工作范围很窄,因此定义适用的浓度范围是十分重要的。

4.1.5 包容性

在相关情况中应当分析来自不同地区/国家的样品,如分析来自不同国家的大豆或花生,以确定方法是否不仅能检测到不同食品中的分析物也能检测到来自不同地区/国家的食品中的分析物,从而检查方法的包容性。应检查类属特异性测试对该类化合物(例如 β -内酰胺类或磺胺类抗生素)所有相关成员的检测性能。

4.1.6 定量限(LOQ)

分析数个空白样品。定量限为空白样品平均值标准偏差的 10 倍。

或者,也可以通过以等于或接近试剂盒宣称的定量限浓度添加了分析物的样品的标准偏差确定定量限。

如果可能的话,使用不包含目标分析物的实际样品,而非空白样品。这将是最好的选择。

对于完全禁止的化合物,LOD 应估计为空白样品平均值标准偏差的 3 倍。

4.1.7 检测能力(CC_{β})

应对照方法声称的筛选/阈值限测试检测能力(CC_{β})。为每一基质应分析至少 20 个空白材料和 20 个以浓度为筛选限的分析物强化的空白样品。分析这些样品并识别分析物。最多只允许一个样品出现假阴性($\beta = 5\%$, 95%置信度)。

4.1.8 特异性

分析空白样品以及添加了已知量分析物的一个或多个样品以确定分析物不受到样品中其它化合物的干扰,如降解产物、代谢物或已知添加剂。在某些情况下,如在农药分析中,可以分析空白样品的浓缩提取物以确定没有响应信号。

最好通过与基于其它分析原理的其它方法相比较以检查方法的特异性。也可以通过在疑似干扰物质的存在下进行测定以检查特异性。然而,分析员必须意识到在样品中的分析物可能以不止一种化学形式存在。

4.1.9 内部再现性

为了检查方法的可靠性,在每种食品类型中至少需要测定三档不同浓度的分析物。对于水平方法,需要 5 种食品类型。所选浓度应覆盖目标范围(低、中以及最高)。专有方法和参比方法在每档浓度上均应进行 5 次分析。为了计算内部再现性,应在不同日期进行分析。

如表 3 所示,计算每一基质每档浓度的均值、标准偏差以及内部再现性。

为每个基质逐一作图。使用电子表格程序。以浓度作为 x 轴,均值作为 y 轴,将参比方法和专有方法的结果加入图中。为图中参比方法的每档浓度标注其置信区间($\pm 2s$)。如果专有方法的均值结果处于参比方法相关置信区间内,也即如果参比方法和专有方法的标准偏差是符合要求的,则说明方法之间没有显著差异。

如果没有可用的参比方法,那么加标样品的“预期/真实结果”应处于专有方法的置信区间中。

4.1.10 精密度验收标准

HorRat 值应当不超过 2。表 4 中给出了对不同浓度水平下精密度验收标准的指导意见。对于一些采用先进技术的分析,完全可能获得更好的精密度。

4.1.11 回收率

通常利用加标样品估计回收率。但是,通过加标样品

获得的回收率信息具有一定的局限性。最重要的一点在于通常情况下无法保证外加分析物和原有分析物的行为表现相同。原有的分析物可能通过物理或化学的方式与样品基质相结合,而这一点对于外加分析物的可能性则更低。因此,即使样品中的原有分析物不能全部回收,以下公式中的回收率也可能显示为 100%。这一点可能对校正后的分析结果造成负偏差。

表 3 对每一基质每档浓度进行的计算
Table 3 Calculations to be made on each level and matrix

日期 Day	在 A 档浓度上的重复 Replicates for level A					计算 Calculations	均值 Mean
1	X ₁₁	X ₁₂	X ₁₃	X ₁₄	X ₁₅	$s_1 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^5 (x_i - \bar{x})^2}{4}}$	$\bar{y}_1 = \sum_{i=1}^5 \frac{x_i}{5}$
2	X ₂₁	X ₂₁	X ₂₃	X ₂₄	X ₂₅	$s_2 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^5 (x_i - \bar{x})^2}{4}}$	$\bar{y}_2 = \sum_{i=1}^5 \frac{x_i}{5}$
⋮						⋮	⋮
N	X _{n1}	X _{n2}	X _{n3}	X _{n4}	X _{n5}	$s_n = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^5 (x_i - \bar{x})^2}{4}}$	$\bar{y}_n = \sum_{i=1}^5 \frac{x_i}{5}$
	计算 s ² 之和					$s^2 = s_1^2 + s_2^2 + \dots + s_n^2$	
	计算重复性 s _r ²					$s^2/5n$	
	计算均值						$m = \Sigma y/n$
	计算 y 的标准偏差					s_y	
	y 的标准偏差的平方					s_y^2	
	计算系列间差异					$s_L^2 = s_y^2 - (s_r^2/2)$	
	计算内部再现性差异					$S_R^2 = s_L^2 + s_r^2$	
	计算重复性标准偏差 s _r 和 内部再现性标准偏差 s _R						
	计算重复性相对标准偏差 RSD _r 和 内部再现性相对标准偏差 RSD _R					$RSD_r = (s_r/m) \cdot 100$ $RSD_R = (s_R/m) \cdot 100$	
	计算重复性限 r 和内部再现性限 R					$r = 2.8 \cdot s_r$ $R = 2.8 \cdot s_R$	
	计算 RSD _R 的理论值,其中 C 为浓度比率(如: mg/kg = 10 ⁻⁷)。此 处适用于 C ≥ 10 ⁻⁷ 的情况;若 C < 10 ⁻⁷ ,则(RSD _R) _{理论} = 22%。					$(RSD_r) = 2C^{-0.1505}$	
	计算 HorRat 值(对 C ≥ 10 ⁻⁷ 适用)					$(RSD_R)_{实际}/(RSD_r)$	

表 4 基于 Horwitz/Thompson 等式在不同浓度上的精密度要求
Table 4 Precision requirement at different concentrations based on the Horwitz/Thompson equation.

	Thompson		Horwitz 公式(2C ^{-0.1505})Horwitz equation(2C ^{-0.1505})						
浓度比率 (C)	<10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻¹	1
浓度单位 (t)	< 0.1 mg/kg	0.1 mg/kg	1 mg/kg	10 mg/kg	0.1 g/kg	1 g/kg	10 g/kg	100 g/kg	1000 g/kg
RSD _r (%)	=22	22	16	11	8	6	4	3	2
RSD _R (%)	44	44	32	22	16	12	8	6	4

然而, 回收率信息是测试分析方法偏差(系统误差、正确度)和探明在整个分析过程中不稳定分析物的来龙去脉的重要工具。

如果没有可用的有证标准物质, 应使用强化空白基质通过实验测定回收率, 如按照如下步骤:

选择 18 个等分的空白材料, 将每 6 个等分分别以要求性能限值的 1 倍、1.5 倍和 2 倍进行强化, 然后计算回收率(以 R 表示)如下:

$$R = \frac{Q_{\text{实测}}}{Q_{\text{初始}}}$$

其中 $Q_{\text{实测}}$ 是处理样品后回收得到的分析物的量, $Q_{\text{初始}}$ 是已知的原始量。如果通过标准添加或掺样计算回收率, 则依照以下公式:

$$R = \frac{Q_{\text{实测}} - Q_{\text{初始样品}}}{Q_{\text{添加}}}$$

其中 $Q_{\text{实测}}$ 是测得的分析物含量(包括原始分析物含量以及添加量), $Q_{\text{初始样品}}$ 是原始样品中测得的分析物含量, $Q_{\text{添加}}$ 是分析物的添加量。有关预期回收率范围见表 5。

表 5 逐级递增的不同目标浓度上的方法标准

Table 5 Illustration of method criteria for levels of interest at increasing orders of magnitude

浓度 单位	0.001 mg/kg	0.01 mg/kg	0.1 mg/kg	1 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg	1 g/kg	10 g/kg
浓度比 率(C)	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
回收率 (%)*	40~120	60~115	80~110	80~110	80~110	90~107	95~105	97~103

*有关特定分析领域中的预期回收率范围可见于其他指南。对于回收率随基质而变化的情况, 可以采用其他指定的要求。

4.1.12 正确度

在某些情况下, 没有可用的(有证)参比物质。可以通过与参比方法相比较或通过使用(有证)参比物质测定专有方法的正确度。通常利用 z 值估计正确度, 如下所示:

$$Z_{\text{值}} = \frac{(\bar{X}_{\text{实测}} - X_{\text{有证标样}})}{\left\{ \frac{X_{\text{有证标样}}}{100} \times 2(X_{\text{有证标样}} \times C)^{-0.1505} \right\}}$$

其中 C = 浓度比率, 如: % = 0.01, mg/kg = ppm = 1×10^{-6} , $\mu\text{g}/\text{kg}$ = ppb = 1×10^{-9} 。

使用 HorRat 的 z 值正常情况下应低于 2。由此给出对方法偏差的初步估计。偏差的重要性应具体情况具体分析。

4.2 中间研究

应当由一个独立的实验室检验对比研究的结果。主办单位应选择涵盖所有相关基质的样品以解决第二个实验室证实范围、实验室内精密度和正确性的要求。如条件允许, 独立实验室应至少接收一些由筹办实验室测定过的同一样品, 从而可以得到实验室间精密数据。如果这一点不能实现, 那么取决于所涉及的样品数目, 至少一半样品应当是已知的(参比物质)或曾用其它方法测定过。

应使用在 3 个浓度水平(低、中、高)上人为污染的至少三个相关食品原料以及一个阴性控制, 其中最低浓度水平应接近检测/筛选水平。如果仅在一个额外的实验室进行中间研究, 每个基质的重复样品数量应至少为 5。样品浓度水平对于实验室应当是未知的, 同时应为独立实验室提供练习样品使得分析员可以熟悉方法。

参考文献

- [1] Guide in Validation of Alternative Proprietary Chemical Methods. NordVal Protocol No. 2, [S]. 2010.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



岳振峰, 研究员, 主要研究方向为食品质量安全检测。

E-mail: yuezhenfeng@163.com