



中华人民共和国国家标准

GB/T 27417—2017

合格评定 化学分析方法确认和验证指南

Comformity assessment—Guidance on validation and verification of
chemical analytical methods

2017-09-07 发布

2018-04-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

目 次

| | |
|----------------------------------|----|
| 前言 | I |
| 引言 | II |
| 1 范围 | 1 |
| 2 规范性引用文件 | 1 |
| 3 术语和定义 | 1 |
| 4 方法确认要求 | 4 |
| 4.1 总则 | 4 |
| 4.2 确认方法的特性参数 | 4 |
| 4.3 确认方法特性参数的选择 | 4 |
| 5 方法特性参数的确认 | 5 |
| 5.1 选择性 | 5 |
| 5.2 测量范围 | 6 |
| 5.3 线性范围 | 6 |
| 5.4 检出限和定量限 | 6 |
| 5.5 正确度 | 8 |
| 5.6 精密度 | 9 |
| 5.7 稳健度 | 10 |
| 5.8 测量不确定度 | 10 |
| 6 方法验证要求 | 10 |
| 6.1 总则 | 10 |
| 6.2 定量分析 | 10 |
| 6.3 定性分析 | 11 |
| 附录 A (资料性附录) 方法回收率偏差范围 | 12 |
| 附录 B (资料性附录) 实验室内变异系数 | 13 |
| 附录 C (资料性附录) 重复性和再现性自由度对照表 | 14 |
| 参考文献 | 15 |

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国认证认可标准化技术委员会实验室认可分技术委员会(SAC/TC 261/SC 1)提出并归口。

本标准起草单位:中国合格评定国家认可中心、浙江出入境检验检疫局、上海市计量测试技术研究院。

本标准起草人:张明霞、杨耀武、霍江莲、王亚宁、鲍晓霞、潘涵舜、牟德海、陈胜、褚庆华、戴骐、郭文萍。

引 言

随着科学技术的进步和国际贸易的发展,国内外对实验室化学分析方法和检测数据的质量也提出了更高的要求。目前,国外已经发布了一些关于化学分析方法的确认规范,但我国尚未发布关于化学分析实验室方法确认和验证的标准或指南性文件,在实验室的实际检测工作中,经常遇到现行的检测标准无法与快速发展的检测手段相适应的情况。为了提供更准确、高效率的检测服务,实验室往往需要采用自己制定或改进的检测方法,特别是在化学分析领域,越来越多的实验室使用标准以外的检测方法,但如何确保这些检测方法的适宜性和可靠性,一直有争议。此外,实验室根据客户的不同需求,需要选用新的标准方法,实验室如何证明具有新标准检测方法的技术能力,确保检测结果的准确性和可靠性,也没有统一的做法。

本标准是实验室对化学分析方法进行方法确认和方法验证的指南性文件,旨在提高实验室化学分析方法和检测数据的质量,确保化学分析实验室所提供数据的有效性、公正性和可靠性。

合格评定 化学分析方法确认和验证指南

1 范围

本标准给出了实验室对化学分析方法进行方法确认和方法验证一般性原则。

本标准适用于实验室对非标准方法、实验室制定的方法,超出其预定范围使用的标准方法、扩充和修改过的标准方法的方法确认,以及实验室对新引入标准方法正式使用前的方法验证。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

ISO/IEC 指南 99:2007 国际计量学词汇—基本和通用概念及相关术语[International vocabulary of metrology—Basic and general concepts and associated terms (VIM)]

3 术语和定义

ISO/IEC 指南 99:2007 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为了便于使用,以下重复列出了 ISO/IEC 指南 99:2007 中的某些术语和定义。

注:本标准主要适用对象为实验室,按照 ISO/IEC 17025 确定的原则,当对同一术语有不同的定义时,优先使用 ISO/IEC 指南 99:2007 的定义。

3.1

方法确认 method validation

实验室通过试验,提供客观有效证据证明特定检测方法满足预期的用途。

注 1:方法确认宜建立方法的性能特性和使用的限制条件,并识别影响方法性能的因素及影响程度,确定方法所适用的基质,以及方法的正确度和精密度。

注 2:改自 ISO/IEC 指南 99:2007,定义 2.45。

3.2

方法验证 method verification

实验室通过核查,提供客观有效证据证明满足检测方法规定的要求。

注:改自 ISO/IEC 指南 99:2007,定义 2.44。

3.3

实验室内方法确认 in-house method validation

在一个实验室内,在合理的时间间隔内,用一种方法在预定条件下对相同或不同样品进行的分析试验,以证明特定检测方法满足预期的用途。

3.4

实验室间方法确认 interlaboratory method validation

在两个或多个实验室之间实施的方法确认。实验室依照预定条件用相同方法对同样品的测定,以证明特定检测方法满足预期的用途。

3.5

定性方法 qualitative method

根据物质的化学、生物或物理性质对其进行鉴定的分析方法。

3.6

定量方法 quantitative method

测定被分析物的质量或质量分数的分析方法,可用适当单位的数值表示。

3.7

确证方法 confirmatory method

能提供目标物全部或部分信息,依据这些信息可以明确定性,在必要时可在关注的浓度水平上进行定量的方法。

[EN 2002/657/EC,定义 1.10]

3.8

筛选方法 screening method

具有高效处理大量样品的能力,用于检测一种物质或一组物质在所关注的浓度水平上是否存在的方法。

注:这些方法用于筛选大量样品可能的阳性结果,并用来避免假阴性结果。此类方法所获得的检测结果通常为定性结果或半定量结果。

3.9

容许限 permitted limit; PL

对某一定量特性规定和要求的物质限值。

注:如:最大残留限、最高允许浓度或其他最大容许量等。

3.10

关注浓度水平 level of interest

对判断样品中物质或分析物是否符合法规规定和要求的有决定性意义的浓度(如:容许限浓度)。

3.11

选择性 selectivity

测量系统按规定的测量程序使用并提供一个或多个被测量的测得的量值时,每个被测量的值与其他被测量或所研究的现象、物体或物质中的其他量无关的特性。

[ISO/IEC 指南 99:2007,定义 4.13]

3.12

线性范围 linearity of calibration

对于分析方法而言,用线性计算模型来定义仪器响应与浓度的关系,该计算模型的应用范围。

3.13

检出限 limit of detection; LOD

由给定测量程序获得的测得的量值,其对物质中不存在某种成分的误判概率为 β ,对物质中存在某种成分的误判概率为 α 。

注 1:国际理论化学和应用化学联合会(IUPAC)推荐 α 和 β 的默认值为 0.05。

注 2:检出限往往分为两种:方法检出限和仪器检出限。

[ISO/IEC 指南 99:2007,定义 4.18]。

3.14

定量限 limit of quantification; LOQ

样品中被测组分能被定量测定的最低浓度或最低量,此时的分析结果应能确保一定的正确度和精密度。

3.15

精密度 precision

在规定条件下,对同一或类似被测对象重复测量所得示值或测得的量值间的一致程度。

[ISO/IEC 指南 99:2007,定义 2.15]

3.16

灵敏度 sensitivity

测量系统的示值变化除以相应被测量的量值变化所得的商。

注 1: 测量系统的灵敏度可能取决于被测量的量值。

注 2: 所考虑的被测量的量值变化宜大于测量系统的分辨力。

[ISO/IEC 指南 99:2007,定义 4.12]

3.17

测量区间 measuring interval

在规定条件下,由具有一定的仪器的测量不确定度的测量仪器或测量系统能够测量出的一组同类量的量值。

注 1: 测量区间的下限不宜与“检出限”相混淆。

注 2: 在某些领域,该术语也称“测量范围”,考虑到化学分析实验室的使用惯例,在本标准中采用“测量范围”。同时,后面的描述也改为“测量范围”。

[ISO/IEC 指南 99:2007,定义 4.7]

3.18

重复性测量条件 repeatability condition of measurement

相同测量程序、相同操作者、相同测量系统、相同操作条件和相同地点,并在短时间内对同一或相类似的被测对象重复测量的一组测量条件。

[ISO/IEC 指南 99:2007,定义 2.20]

3.19

重复性 repeatability

在一组重复性测量条件下获得的测量精密度。

[ISO/IEC 指南 99:2007,定义 2.21]

3.20

再现性测量条件 reproducibility condition of measurement

不同地点、不同操作者、不同测量系统,对同一或相类似被测对象重复测量的一组测量条件。

[ISO/IEC 指南 99:2007,定义 2.24]

3.21

再现性 reproducibility

在再现性测量条件下获得的测量精密度。

[ISO/IEC 指南 99:2007,定义 2.25]

3.22

自由度 degrees of freedom

和的项数减去和中诸项数的约束数。

[GB/T 3358.1—2009,定义 2.54]

3.23

正确度 trueness

无穷多次重复测量所得测得的量值的平均值与一个参考量值间的一致程度。

[ISO/IEC 指南 99:2007,定义 2.14]

3.24

偏倚 bias

系统测量误差的估计值。

[ISO/IEC 指南 99:2007, 定义 2.18]

3.25

准确度 accuracy

被测量的测得的量值与其真值间的一致程度。

注 1: 概念“测量准确度”不是一个量,也不给出量的数值。当测量给出较小的测量误差时,该测量更准确。

注 2: 术语“测量准确度”不宜用于表示“测量正确度”,“测量精密度”不宜用于表示“测量准确度”,尽管测量准确度与这两个概念有关。

注 3: 测量准确度有时被理解为赋予被测量的测得的量值之间的一致程度。

[ISO/IEC 指南 99:2007, 定义 2.13]

3.26

稳健度 ruggedness

实验条件变化对分析方法的影响程度。

注: 这些条件在方法中规定,或根据规定稍加改动,包括样品种类、基质、保存条件、环境或样品制备条件等。所有在实践中可能影响分析结果的实验条件(例如:试剂稳定性、样品组成、pH、温度等)的任何变化都应当指明。

4 方法确认要求

4.1 总则

实验室应对非标准方法、实验室制定的方法、超出其预定范围使用的标准方法、扩充和修改过的标准方法的确认制定程序。对于确认过的方法,实验室应制定作业指导书。

4.2 确认方法的特性参数

实验室可在综合考虑成本、风险和技术可行性基础上,并根据预期的用途来进行方法确认。实验室进行方法确认的内容应完整,包括但不限于以下方法特性:

- a) 方法的选择性;
- b) 方法适用范围;
- c) 检出限和/或定量限;
- d) 测量范围和/或线性范围;
- e) 精密度(重复性和/或再现性);
- f) 稳健度;
- g) 正确度;
- h) 准确度;

注: 测量结果的准确度由正确度和精密度两个指标进行表征。

- i) 灵敏度;
- j) 结果的测量不确定度。

4.3 确认方法特性参数的选择

4.3.1 方法确认的典型特性参数

方法确认首先应明确检测对象特定的需求,包括样品的特性、数量等,并应满足客户的特殊需要,同时应根据方法的预期用途,选择需要确认的方法特性参数。典型的需要确认的方法特性参数见表 1。

表 1 典型方法确认参数的选择

| 待评估性能参数 | 确证方法 | | 筛选方法 | |
|-------------------|------|------|------|------|
| | 定量方法 | 定性方法 | 定量方法 | 定性方法 |
| 检出限 ^a | √ | √ | √ | — |
| 定量限 | √ | — | √ | — |
| 灵敏度 | √ | √ | — | — |
| 选择性 | √ | √ | √ | √ |
| 线性范围 | √ | — | √ | — |
| 测量范围 | √ | — | √ | — |
| 基质效应 ^b | √ | √ | √ | — |
| 精密度(重复性和再现性) | √ | — | √ | — |
| 正确度 | √ | — | — | — |
| 稳健度 | √ | √ | √ | √ |
| 测量不确定度(MU) | √ | — | — | — |

注：√：表示正常情况下需要确认的性能参数；
—：表示正常情况下不需要确认的性能参数。

^a 被测物的浓度接近于“零”时需要确认此性能参数。
^b 化学分析中，基质指的是样品中被分析物以外的组分。基质经常对分析物的分析过程有显著的干扰，并影响分析结果的准确性。例如，溶液的离子强度会对分析物活度系数有影响，这些影响和干扰被称为基质效应。

4.3.2 实验室内方法确认

通常情况下，需要确认的技术参数包括方法的选择性、检出限、定量限、线性范围、正确度、精密度和稳健度等。

4.3.3 实验室间方法确认

通常情况下，对于定性方法，至少应确认方法的检出限和选择性；对于定量方法，至少应确认方法的适用对象、线性范围、定量限和精密度。

注：参与实验室间方法确认的实验室，相关的或类似的检测项目建议通过 GB/T 27025 认可或具有其他等同资质，并具有确认活动所需要的人员、设备和设施等资源。

5 方法特性参数的确认

5.1 选择性

一般情况下，分析方法在没有重大干扰的情况下应具有一定的选择性。对于化学分析方法，在有干扰的情况下，如：基质成分、代谢物、降解产物、内源性物质等，保证检测结果的准确性至关重要。实验室可联合使用但不限于下述两种方法检查干扰：

- 分析一定数量的代表性空白样品，检查在目标分析物出现的区域是否有干扰(信号、峰等)；
- 在代表性空白样品中添加一定浓度的有可能干扰分析物定性和/或定量的物质。

5.2 测量范围

方法的测量范围通常应满足以下条件:

- a) 方法的测量范围应覆盖方法的最低浓度水平(定量限)和关注浓度水平;
- b) 至少需要确认方法测量范围的最低浓度水平(定量限)、关注浓度水平和最高浓度水平的正确度和精密度,必要时可增加确认浓度水平;
- c) 若方法的测量范围呈线性,还需满足 5.3 条款的要求。

5.3 线性范围

线性范围通常可参照相关国家标准或国际标准,尽量满足如下要求:

- a) 采用校准曲线法定量,并至少具有 6 个校准点(包括空白),浓度范围尽可能覆盖一个或多个数量级,每个校准点至少以随机顺序重复测量 2 次,最好是 3 次或更多;对于筛选方法,线性回归方程的相关系数不低于 0.98;对于准确定量的方法,线性回归方程的相关系数不低于 0.99。
- b) 校准用的标准点应尽可能均匀地分布在关注的浓度范围内并能覆盖该范围。在理想的情况下,不同浓度的校准溶液应独立配制,低浓度的校准点不宜通过稀释校准曲线中高浓度的校准点进行配制。
- c) 浓度范围一般应覆盖关注浓度的 50%~150%,如需做空白时,则应覆盖关注浓度的 0%~150%。
- d) 应充分考虑可能的基质效应影响,排除其对校准曲线的干扰。实验室应提供文献或实验数据,说明目标分析物在溶剂中、样品中和基质成分中的稳定性,并在方法中予以明确。通常各种分析物在保存条件下的稳定性都已有很好的研究,监测保存条件应作为常规实验室确认系统的一部分。对于缺少稳定性数据的目标分析物,应提供能分析其稳定性的测定方法和确认结果。

5.4 检出限和定量限

5.4.1 需要评估检出限(LOD)和定量限(LOQ)的情况

通常情况下,只有当目标分析物的含量在接近于“零”的时候才需要确定方法的检出限(LOD)或定量限(LOQ)。当分析物浓度远大于 LOQ 时,没有必要评估方法的 LOD 和 LOQ。但是对于那些浓度接近于 LOD 与 LOQ 的痕量和超痕量检测,并且报告为“未检出”时,或需要利用检出限或定量限进行风险评估或法规决策时,实验室应确定 LOD 和 LOQ。不同的基质可能需要分别评估 LOD 和 LOQ。

5.4.2 检出限

5.4.2.1 仪器检出限(IDL)和方法检出限(MDL)

对于多数现代的分析方法来说,检出限(LOD)可分为两个部分,仪器检出限(Instrumental Detection Limit, IDL)和方法检出限(Method Detection Limit, MDL)。

- a) 仪器检出限(IDL):为用仪器可靠地将目标分析物信号从背景(噪音)中识别出来时分析物的最低浓度或量,该值表示为仪器检出限(IDL)。随着仪器灵敏度的增加,仪器噪音也会降低,相应 IDL 也降低。
- b) 方法检出限(MDL):为用特定方法可靠地将分析物测定信号从特定基质背景中识别或区分出来时分析物的最低浓度或量。即 MDL 就是用该方法测定出大于相关不确定度的最低值。确定 MDL 时,应考虑到所有基质的干扰。

注:方法的检出限(LOD)不宜与仪器最低响应值相混淆。使用信噪比可用来考察仪器性能但不适用于评估方法的检出限(LOD)。

5.4.2.2 确定检出限的方法

确定检出限的方法很多,除下面所列方法外,其他方法也可以使用。

a) 目视评价法评估 LOD

目视评价法是通过在样品空白中添加已知浓度的分析物,然后确定能够可靠检测出分析物最低浓度值的方法。即在样品空白中加入一系列不同浓度的分析物,随机对每一个浓度点进行约 7 次的独立测试,通过绘制阳性(或阴性)结果百分比与浓度相对应的反应曲线确定阈值浓度。该方法也可用于定性方法中检出限的确定。

b) 空白标准偏差法评估 LOD

即通过分析大量的样品空白或加入最低可接受浓度的样品空白来确定 LOD。独立测试的次数应不少于 10 次($n \geq 10$),计算出检测结果的标准偏差(s),计算方法参见表 2。

表 2 定量检测中 LOD 的表示方法

| 试验方法 | LOD 的表示方法 |
|---|------------------------------|
| 1) 样品空白独立测试 10 次 ^a | 样品空白平均值+3 s (只适用于标准偏差值非零时) |
| 2) 加入最低可接受浓度的样品空白独立测试 10 次 ^a | 0+3 s |
| 3) 加入最低可接受浓度的样品空白独立测试 10 次 | 样品空白值+4.65 s (此模型来自假设检验) |
| 注 1:“最低可接受浓度”为在所得不确定度可接受的情况下所加入的最低浓度。 | |
| 注 2:假设实际检测中样品和空白应分别测定,且通过样品浓度扣减空白信号对应的浓度进行空白校正。 | |
| ^a 仅当空白中干扰物质的信号值高于样品空白值的 3 s 的概率远小于 1% 时适用。 | |

样品空白值的平均值和标准偏差均受样品基质影响,因此最低检出限也因受样品基质种类的影响而不同。如果利用此条件进行符合性判定时,需要定期用实际检测数据更新精密度数值。

c) 校准方程的适用范围评估 LOD

如果在 LOD 或接近 LOD 的样品数据无法获得时,可利用校准方程的参数评估仪器的 LOD。如果用空白平均值加上空白的 3 倍标准偏差,仪器对于空白的响应即为校准方程的截距 a ,仪器响应的标准偏差即为校准的标准误差($S_{y/x}$)。故可利用方程 $y_{LOD} = a + 3S_{y/x} = a + bx_{LOD}$, 则 $x_{LOD} = 3S_{y/x}/b$ 。此方程可广泛应用于分析化学。然而由于此方法为外推法,所以当浓度接近于预期的 LOD 时,结果就不如由实验得到的结果可靠,因此建议分析浓度接近于 LOD 的样品,应确证在适当的概率下被分析物能够被检测出来。

d) 信噪比法评估 LOD

对于定量方法来说,由于仪器分析过程都会有背景噪音,常用的方法就是利用已知低浓度的分析物样品与空白样品的测量信号进行比较,确定能够可靠检出的最小的浓度。典型的可接受的信噪比是 2:1 或 3:1。

对于定性方法来说,低于临界浓度时选择性是不可靠的。该临界值会随着试验条件中的试剂、加标量、基质等不同而变化。确定定性方法的 LOD 时,可以通过往空白样品中添加几个不同浓度水平的标液,在每个水平分别随机检测 10 次,记录检出结果(阳性或阴性),绘制样品检出的阳性率(%)或阴性率(%)对添加浓度的曲线,临界浓度即为检测结果不可靠时的拐点。定性分析中临界值的确定可参考表 3 进行。如表 3 示例中,当样品中待测物浓度低于 100 $\mu\text{g/g}$ 时,阳性检测结果已经不具备 100% 的可靠性。

表 3 定性分析-确定临界值

| 待测物浓度值 μg/g | 重复次数 次 | 阳性/阴性检出次数 次 |
|----------------|-----------|----------------|
| 200 | 10 | 10/0 |
| 100 | 10 | 10/0 |
| 75 | 10 | 5/5 |
| 50 | 10 | 1/9 |
| 25 | 10 | 0/10 |

5.4.3 定量限

5.4.3.1 与检出限(LOD)相类似,定量限(LOQ)也可以分成两个部分,仪器定量限(Instrumental Quantification Limit,IQL)和方法定量限(Method Quantification Limit,MQL)。

- 仪器定量限(IQL)可定义为仪器能够可靠检出并定量被分析物的最低量。
- 方法定量限(MQL)可定义为在特定基质中在一定可信度内,用某一方法可靠地检出并定量被分析物的最低量。

5.4.3.2 LOQ的确定主要是从其可信性考虑,如:测试是否是基于法规要求、目标测量不确定度和可接受准则等。通常建议将空白值加上10倍的重复性标准偏差作为LOQ,也可以3倍的LOD或高于方法确认中使用最低加标量的50%作为LOQ。如为增加数据的可信性,LOQ也可用10倍的LOD来表示。另外在某些特定测试领域中,实验室也可根据行业规则使用其他参数。特定的基质和方法,其LOQ可能在不同实验室之间或在同一个实验室内由于使用不同设备、技术和试剂而有差异。

5.5 正确度

5.5.1 测量结果的正确度用于表述无穷多次重复性测定结果的平均值与参考值之间的接近程度,正确度差意味着存在系统误差,通常用偏倚表示。而测量结果的偏倚则通过回收试验进行评估。

5.5.2 回收率的测定。

回收试验用于评估偏倚,可通过计算回收率来进行评价。在高偏倚测试中,测定值与参考值会有重大的偏离。在测定加收率时应考虑以下因素:

- 考虑到不同检测批次之间的变化,如果可能的话,可采用覆盖整个浓度测试范围的不同试样评估偏倚。当一个方法不能如预期那样在整个测试范围偏倚一致时,如非线性校准曲线,则需要对不同浓度水平的样品进行测定(至少对高或低含量测试)。否则,实验室应证明在整个测试范围之内具有相同的正确度。
- 最理想的偏倚评估是利用样品的基质匹配且浓度相近的有证标准物质(CRMs)进行测试。如果合适的CRMs无法获得时,需要寻找可替代的物质来评定偏倚。比如采用分析参考物质(RM)来评估回收率(假定基质与待测样品的基质匹配,目标物具有足够的代表性),即:将已知浓度的分析物加到样品中,按照预定的分析方法进行检测,测得的实际浓度减去原先未添加分析物时样品的测定浓度,并除以所添加浓度的百分率。另外,经过协同实验室确定了特征性的物质也可以用于评估偏倚。如果合适CRMs或RMs都无法获得,则偏倚只能通过向基质空白中加入一系列浓度的目标物所得回收率来评估。在这种情况下,回收率(R)可通过如式(1)计算:

$$R = (C_1 - C_2) / C_3 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中：

C_1 ——加标之后测定的浓度；

C_2 ——加标之前测定的浓度；

C_3 ——加入目标物后的理论浓度。

- c) 对于一些测试,如农残分析,实验室可在已确认的空白样品中加入标样。如果无法获得空白样品,也可向含有痕量分析物的样品中加入标样。在这种情况下,偏倚可通过加标样品前后之差进行计算。但同时需要注意,加标样品中待测物的所得率会高于实际样品中待测物的所得率。例如,在饮用水中加入氟离子计算的回收率较为可靠,而在土壤中加入有机氯杀虫剂所计算的回收率则不能很好的反映真实样品的回收率,主要因为被添加与原样品本身就存在的分析物质的萃取效率存在差异。如果可能的话,加标回收数据需要提供多个平均值进行证明。实验室应尽可能参加包括天然存在样品、含有残留物质或受污染的样品的能力验证。
- d) 某些情况下,实验室只能依赖于加标评估其偏倚。在这种情况下,100%的回收率并不一定意味着好的正确度,但差的回收率则一定意味着有偏倚。可利用已知偏倚的国际或国家认可的参考方法来评定另一种方法的偏倚,或者利用两种方法按照相关测试程序对多种基质或浓度的典型样品进行测定,并用 t-检验(t-test)对分析方法间的偏倚显著性进行评估。
- e) 方法回收率的偏差范围可参考附录 A 进行评价。

5.6 精密度

5.6.1 重复性

5.6.1.1 对于在重复性条件下进行的适当的测量数据,可用标准偏差(s)、方差(s^2)和概率分布函数等表示。如果分析方法中涉及到仪器分析,则除了方法重复性外还需确定仪器重复性。重复性体现了测量结果短期变化,同样也适用于评定在单一批次分析中重复测定可能存在的差异。然而,重复性可能会低估在长期正常条件下测量结果的分散性。

5.6.1.2 重复性的测定通常应在自由度至少为 6 的情况下测定。对一个样品测定 7 次;或对 2 个样品,每个样品测定 4 次;或对 3 个样品,每个样品测定 3 次。仪器重复性可通过对校准曲线中标准溶液、加标溶液进样测定 7 次,然后计算平均值、标准偏差。进样应按随机顺序进行以降低偏差。

5.6.1.3 方法重复性可通过准备不同浓度的样品或浓度与做方法回收率研究相近的样品(样品的准备可采用实际样品,也可采用添加了所需分析物的空白溶液或实际样品),然后在较短的时间间隔内由同一个分析员进行分析测定,并计算平均值、标准偏差和相对标准偏差。得到的标准偏差 s 除以平均值后的百分率即得到测试结果变异系数(CV 值),不同含量测试结果的实验室内变异系数 CV 值可参考附录 B 进行评价。

5.6.2 再现性

5.6.2.1 再现性可表示为标准偏差(s)、方差(s^2)和概率分布系数,例如在利用两种以上校准标准溶液在一段时间、测定一定数量的试样。这些条件包括在不同时间内测定,在与日常使用方法中条件差别尽可能小的情况下测定(如不同分析员利用不同设备的测试)。对于受控状态的单个实验室通常使用实验室内再现性或期间精密度等术语来表示其再现性精密度。

5.6.2.2 再现性标准偏差可通过一系列多个样品获得,或多个系列测定结果的合成标准偏差进行计算。测试的自由度可通过系列量和每系列中样品数量进行计算。

5.6.2.3 重复性自由度和再现性自由度的确定可参考附录 C 进行评价。

5.6.2.4 如果测试方法是用于对一系列样品类型进行测定,如不同分析物浓度或样品基质,则精密度的评估需要选择每个类型代表性的样品进行测定。比如:由于一个方法的精密度通常会随着分析物浓度

的降低而变得较差。

5.7 稳健度

稳健度可通过由实验室引入预先设计好的微小的合理变化因素,并分析其影响而得出。分析稳健度时,应关注以下内容:

- a) 需选择样品预处理、净化、分析过程等可能影响检测结果的因素进行预实验。这些因素可以包括分析者、试剂来源和保存时间、溶剂、标准和样品提取物、加热速率、温度、pH 值,以及许多其他可能出现的因素。不同实验室间这些因素可能有一个数量级的变化。因此应对这些因素做适当修改以符合实验室的具体情况。
- b) 确定可能影响结果的因素,对各个因素稍作改变。宜采用正交试验设计进行稳健度试验。
- c) 一旦发现对测定结果有显著影响的因素,应进一步实验,以确定这个因子的允许极限。对结果有显著影响的因素应在标准方法中明确地注明。

5.8 测量不确定度

5.8.1 对化学分析结果的不确定度产生影响的因素有很多,如质量、体积、样品因素和非样品因素等,其中样品因素包含取制样和分析样品的均匀性,而非样品因素包含外部数据(通常包括常数和由其他实验得出并导入的量值,如:分子量、基准试剂纯度、标准物质的标准值以及标准溶液的浓度等)和测试过程(包括关键的测试步骤和原理,如样品的前处理、试剂或溶剂的加入、测试所依据的化学反应等)。样品因素和非样品因素存在于所有化学分析中,重量法分析中必然涉及质量因素,而容量分析中必然涉及体积因素。只需能够明确地给出被测量与对其测量不确定度有贡献的分量之间的关系,而这些分量怎样分组以及这些分量如何进一步分解为下一级分量并不影响不确定度的评估。

5.8.2 测量不确定度的评估应包括以下几点:

- a) 化学分析方法的简要描述,包括用于计算结果的公式等;
- b) 用于评估测量不确定度的数学模型;
- c) 对测量不确定度有贡献的分量(如:可用鱼骨图分析法进行分析);
- d) 对所选方法的每个测量不确定度分量进行分布计算评估;
- e) 用于整合标准不确定度的公式;
- f) 扩展不确定的计算;
- g) 结果报告的示例。

注:对化学分析方法的测量不确定度可参考 EUROCHEM/CITAC 指南 CG4、ISO/IEC 指南 98-3 和 GB/Z 22553。

6 方法验证要求

6.1 总则

6.1.1 在化学分析实验室引入标准方法时,实验室应根据 6.2 和 6.3 所述,验证操作该方法是否满足标准的要求,即证实该方法能在该实验室现有的设施设备、人员、环境等条件下获得令人满意的结果,必要时可参加能力验证或进行实验室间比对。

6.1.2 如果只是对标准方法稍加修改,如使用不同制造商的同类设备或试剂等,必要时也应进行验证,以证明能够获得满意的结果,并将其修改内容制订成作业指导文件。

6.2 定量分析

方法验证过程中关键的参数应取决于方法的特性和可能测到的样品基质的检测范围,至少应测定正确度和精密度(参见条款 5.5 和 5.6)。对于痕量化学分析实验室,实验室还应确保获得适当的 LOD

和 LOQ。通常情况下定量分析方法验证的参数选择可参考表 4。

表 4 典型方法验证参数的选择

| 待评估性能参数 | 方法验证 | |
|---|------|------|
| | 定量方法 | 定性方法 |
| 检出限 ^a | √ | — |
| 定量限 | √ | — |
| 灵敏度 | √ | √ |
| 选择性 | √ | √ |
| 线性范围 | √ | — |
| 测量区间 | √ | — |
| 基质效应 | √ | √ |
| 精密度(重复性和再现性) | √ | √ |
| 正确度 | √ | — |
| 稳健度 | — | — |
| 测量不确定度(MU) | (1) | — |
| 注：√：表示正常情况下需要验证的性能参数； —：表示正常情况下不需要验证的性能参数； (1)：表示如果一个公认测试方法中对不确定度的主要影响因素贡献值和对结果的表达方式有要求，则实验室应该满足于 ISO/IEC 17025 或同类标准的要求。 | | |
| ^a 被测物的浓度接近于“零”时需要。 | | |

6.3 定性分析

定性分析的精密度通常表示为假阳性或假阴性率，其可以用不同的浓度水平来确定。实验室进行方法验证可分析一组阴性或阳性加强样品。如对每个不同的样品基质，两个重复样品在三个含量水平上加以分析。建议的含量水平为空白(无分析物)、低浓度(接近方法的最低适用浓度)和高浓度(接近方法的最高适用浓度)，可用标准加入法得到适当的浓度，即：按照同一个方法实施检测时，将测试样品分成两个或更多部分。一部分进行常规分析，其他部分在分析前加入已知量的标准分析物。加入的标准分析物的量应是样品中分析物估计含量的 2 倍~5 倍，也可以是按照方法定量限、容许限等推算的标准分析物的量。标准添加法可用于衡量方法回收率，其可能受测定样品中分析物的含量和基质等因素影响，也可用于评估在定量限、容许限等水平上的正确度。假阳性或假阴性率应与方法确认的数据相当，才能证明实验室有能力使用该方法。通常情况下定性分析方法验证的参数选择可参考表 4。

附录 A
(资料性附录)
方法回收率偏差范围

方法回收率偏差范围见表 A.1。

表 A.1 方法回收率偏差范围

| 浓度水平范围 mg/kg | 回收率范围 % |
|-----------------|------------|
| >100 | 95~105 |
| 1~100 | 90~110 |
| 0.1~1 | 80~110 |
| <0.1 | 60~120 |

本表引自 GB/T 27404—2008 的附录 F.1。

注：如使用有证标准物质证明了方法在某一浓度水平的正确度，并不代表该方法在整个线性范围内各个浓度水平下均有相似的正确度。

附录 B
(资料性附录)
实验室内变异系数

实验室内变异系数见表 B.1。

表 B.1 实验室内变异系数

| 被测组分含量 | 实验室内变异系数/% |
|-----------------------------|------------|
| 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | 43 |
| 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | 30 |
| 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | 21 |
| 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | 15 |
| 1 mg/kg | 11 |
| 10 mg/kg | 7.5 |
| 100 mg/kg | 5.3 |
| 1 000 mg/kg | 3.8 |
| 1% | 2.7 |
| 10% | 2.0 |
| 100% | 1.3 |

本表引自 GB/T 27404—2008 附录 F.3。

附录 C
(资料性附录)

重复性和再现性自由度对照表

重复性和再现性自由度对照表见表 C.1。

表 C.1 重复性和再现性自由度对照表

| 每系列测试中样品数 n | 系列量 m | 重复性自由度 | 再现性自由度 |
|------------------|------------|------------------|------------------|
| 7 | 1 | 6 | 不适用 |
| 4 | 2 | 6 | 7 |
| 3 | 3 | 6 | 8 |
| 2 | 6 | 6 | 11 |
| n | m | $(n-1) \times m$ | $n \times m - 1$ |

参 考 文 献

- [1] GB/T 3358.1—2009 统计学词汇及符号 第1部分:一般统计术语与用于概率的术语
 - [2] GB/T 6379—2004 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度)
 - [3] GB/T 27025—2008 检测和校准实验室能力的通用要求
 - [4] GB/T 27404—2008 实验室质量控制规范 食品理化检测
 - [5] EURCHEM Guide “The Fitness for Purpose of Analytical Methods-A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics”
 - [6] NATA Technical Note 17, Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods, October 2013
 - [7] Terminology in Analytical Measurement—Introduction to VIM 3, First Edition 2011, published by EUROCHEM
 - [8] IUPAC “Compendium of Analytical Nomenclature”(definitive rules 1997)3rd
 - [9] EN 2002/657/EC Implementing Council Directive 96/23/EC Concerning the Performance of Analytical Methods and the Interpretation of Results 2002
 - [10] AOAC “Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals”
-

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
合格评定 化学分析方法确认和验证指南
GB/T 27417—2017

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

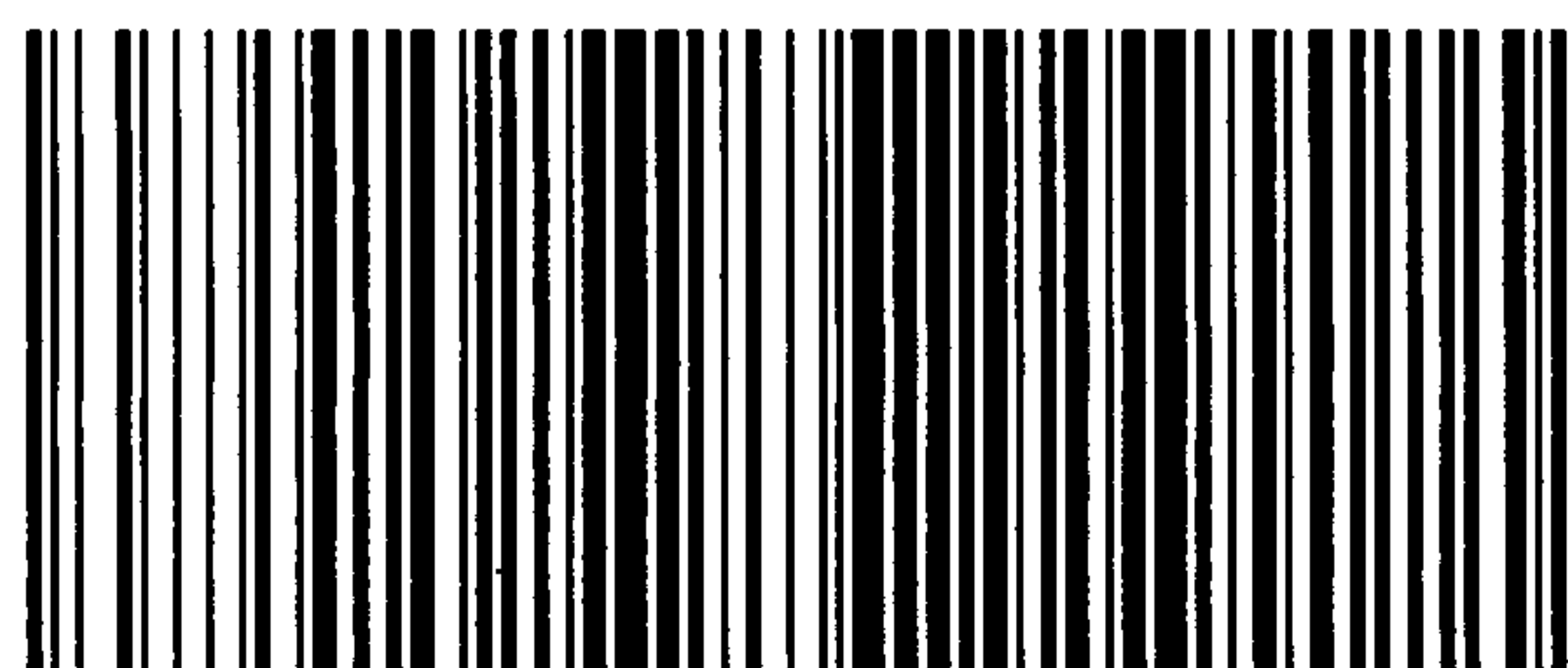
*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 28 千字
2017年9月第一版 2017年9月第一次印刷

*

书号: 155066·1-55311 定价 21.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB/T 27417-2017