

HNNY

湖南省农业技术规程

HNNY375-2023

农产品质量安全检测 方法验证技术规范

Specification for method validation in quality and safety
inspection of agricultural products

2023-06-28 发布

2023-06-28 实施

湖南省农业农村厅发布

目 次

前 言	1
1 范围	2
2 规范性引用文件	2
3 术语和定义	2
4 基本要求	3
5 验证	3
6 验证报告	6
7 档案管理	7

前 言

本文件按照《湖南省农业技术规程制修订与发布管理规范》相关规定起草。

本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由湖南省农业农村厅提出，省农业农村标准化技术委员会技术归口。

本文件起草单位：湖南省农产品质量检验检测中心，湖南省兽药饲料监察所，湖南省水产科学研究所，长沙市农产品质量监测中心，益阳市农产品质量安全检验检测中心。

本文件主要起草人：刘春来，刘照清，贾来，肖怡，熊兴明，彭筱，董蕾，余桐，万译文，隆雪明，蔡智华。

农产品质量安全检测 方法验证技术规范

1 范围

本文件规定了湖南省农产品质量安全检测方法验证的基本要求、验证、验证报告、档案管理。
本文件适用于农产品质量安全检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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。

- GB/T 27417 合格评定 化学分析方法确认和验证指南
- RB/T 063 检验检测机构管理和技术能力评价 方法的验证和确认要求
- RB/T 214 检验检测机构资质认定能力评价 检验检测机构通用要求
- 农产品质量安全检测机构考核办法（农业部令第7号）
- 湖南省农产品质量安全检测机构考核评审细则（湘农办质〔2018〕61号）

3 术语和定义

GB/T 27417、RB/T 063界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1 方法验证

检测机构提供客观有效证据证明满足检验检测方法规定的要求。

3.2 方法检出限

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。确定方法检出限时需考虑到所有基质的干扰。

3.3 定量限

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。

3.4 准确度

样品中被测组分测定的量值与其真值间的一致程度。

3.5 精密度

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定的量值间的一致程度。

4 基本要求

4.1 在引入方法前，应验证能够正确地运用该方法。

4.2 在进行方法验证前，应充分识别标准方法的要求。

4.3 应获得满足标准方法验证的各类资源。

4.4 应使用实际样品对方法性能进行验证，获得的性能指标应满足方法要求。

5 验证

5.1 资源

5.1.1 人员

方法验证人员应经过该方法操作能力的上岗考核，具备操作仪器设备的能力，并获得授权。

5.1.2 设备设施

应配备方法规定所需的设备设施，仪器设备应通过检定/校准和确认，并在有效期内，状态合格。标准物质应满足方法要求。

5.1.3 试剂耗材

应配备标准方法中所需的试剂耗材，且试剂耗材的等级、规格等满足要求，必要时可对试剂耗材进行验证。

5.1.4 环境

开展方法验证的实验室环境条件应满足标准方法规定的要求。

5.1.5 样品

应选择方法覆盖的样品范围，并确保样品对验证项目无干扰。

5.2 性能

5.2.1 方法检出限

a)信噪比法：采用色谱峰进行定量时，在样品中加标的方法进行，按照标准方法给出的不同组分的检出限进行添加，重复3次，再按照标准方法中的规定完成前处理，上机测定，得到该组分色谱峰信噪比大于3，即认为该组分检出限满足方法要求。

b)空白标准偏差法：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方法检出限，独立测试的次数应不小于10次，计算出检测结果的标准偏差（ s ），计算方法参见下表1。

表1 定量检测中检出限的标识方法

试验方法	检出限的表示方法
1)样品空白独立测定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的3 s 的概率远小于1%时适用。	

5.2.2 定量限

采用色谱峰进行定量时，采用在空白样品中加标并计算回收率的方法进行，按照标准方法给出的不同组分的定量限进行添加，重复5次，再按照标准方法中的规定完成前处理，上机测定，得到该组分色谱峰信噪比大于3，同时计算该组分的回收率满足要求，即认为该组分定量限满足方法要求。

采用标准曲线进行定量时，相关系数满足要求的标准曲线能够检测到的最低浓度即为该组分的定量限。

5.2.3 准确度

添加回收率法：选择制备好的空白样品，在样品中添加一种或多种待测组分，添加值选择3个不同浓度水平，至少应包括定量限、定量限的上一个数量级，有限量值的应选择限量值，每个浓度水平重复3次以上，再按照标准方法中的规定完成前处理，上机测定，得到添加组分的回收率应满足方法的规定，如方法未规定回收率的则需满足下表2的要求。

表2 添加回收率范围表

添加浓度水平范围 mg/kg	回收率范围 %
>100	90~105
1~100	90~110

添加浓度水平范围 mg/kg	回收率范围 %
0.1~1	80~110
<0.1	60~120

实测值法：利用样品基质匹配且浓度相近的有证标准物质或采用分析参考物质来进行测试，得到测定结果与已知的含量进行对比，计算偏差，应满足方法规定的允许偏差。

5.2.4 精密度

当精密度与分析浓度有关时，通过重复性限来验证精密度，要求同一个样品在重复性条件下，获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限，重复性限采用线性内插法求得，公式如下：

$$Y = y_1 + \frac{x_2 - x_1}{x_2 - x_1} (y_2 - y_1)$$

式中

Y : 重复性限

x ——两次测试结果的平均值

x_1 ——方法中给出添加浓度的低值

x_2 ——方法中给出添加浓度的高值

y_1 ——方法中给出添加浓度的低值所对应的重复性限

y_2 ——方法中给出添加浓度的高值所对应的重复性限

当精密度用绝对项表示时，根据方法要求，同一个样品在重复性条件下获得两次独立测试结果，计算两次结果的的绝对差值，满足方法中规定的不大于算术平均值的百分比即可。

5.2.5 其他

5.2.5.1 线性范围

方法规定采用标准曲线定量时，配制标准溶液不少于6个有效浓度点，浓度范围应尽可能覆盖多个数量级，且至少应包含定量限，每个浓度点重复测定2次或以上，根据测定结果得到标准曲线方程的相关系数应满足方法的规定。

方法未规定采用标准曲线定量时，，配制标准溶液不少于5个有效浓度点，浓度范围应尽可能覆盖多个数量级，每个浓度点重复测定2次或以上，根据测定结果得到标准曲线方程的相关系数不低于0.99。

5.2.5.2 稳健度

稳健度可通过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。

5.2.5.3 不确定度

对化学分析结果的不确定产生影响的因素很多，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一下级分量并不影响不确定度的评估。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) 用于评估不确定度的数学模型；
- c) 对测定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定不确定度分量进行分布计算评估；
- e) 用于整合标准的不确定度的公式；
- f) 扩展不确定度的计算；
- g) 结果报告的示例。

6 验证报告

每个方法应单独编制验证报告，同时附相关试验的原始记录。方法验证报告至少应包括验证目的、验证内容、验证人员、所需资源与方法要求的比较及结论、开展试验验证的方法、获得的数据及结论、方法验证总结等。原始记录至少应包括试验结果的原始记录、图谱图表等。

7 档案管理

方法验证报告应纳入原始记录管理，方法验证报告编制完成并经技术负责审核批准后，应及时交业务室归档，保存期不少于6年。
