

食品化學檢驗方法之確效規範

一、引言

執行食品衛生相關檢驗時，為證實檢驗方法之適用性及分析結果之正確性，使用之檢驗方法需經確效(validation)或查證(verification)後使用。實驗室使用衛生福利部公告方法、衛生福利部食品藥物管理署(下稱食藥署)公布之建議方法或國際間認可方法，方法經查證後即可使用；實驗室使用修飾之衛生福利部公告方法、修飾之食藥署公布之建議方法或內部(in-house)開發之方法，方法應經過確效後使用。檢驗方法於開發時宜綜整考量法規需求、各式成本花費及檢驗方法之表現並取得平衡，依據不同檢驗目的可選擇適當策略進行確效評估，本確效規範係作為實驗室執行一般食品化學檢驗方法確效之評估依據，屬通則，若有特定檢驗品項之確效規範或執行注意事項等文件，則以該特定檢驗品項之相關文件為準。

二、對象

採用儀器分析之定量檢驗方法。

三、名詞定義

- (一) 適用範圍(scope)：使用該檢驗方法分析樣品中之待測物，於濃度(或量)上限與下限之間距，其檢驗結果具有適當的準確度、精密度及線性關係。
- (二) 專一性(specificity)：該檢驗方法於基質或其他可能物質存在下，能明確評估待測物之能力。
- (三) 線性(linearity)：指在待測物的一定濃度(或量)範圍內，由該檢驗方法分析樣品所得之儀器感應值與待測物濃度(或量)成正比的能力。
- (四) 準確度(accuracy)：顯現所檢測出來的值與一公認真值或一公認對照值間之接近程度。
- (五) 精密度(precision)：顯現自同一均質樣品多重取樣，於規定條件下所得到的一系列檢測值間之接近程度。
- (六) 偵測極限(limit of detection, LOD)：樣品中待測物可與分析儀器訊號值區別之最低量，但未必能定量出標的待測物之正確值。
- (七) 定量極限(limit of quantification, LOQ)：樣品中待測物可被定量測出的最低量，且測定結果具有適當的準確度與精密度。

四、執行方法

(一) 適用範圍

檢驗方法適用不同類別檢體，應就各類檢體選出至少一種代表性基質進行檢驗方法確效。

(二) 專一性

以含類似樣品基質之空白樣品進行試驗，若無空白樣品，則執行試劑空白試驗。依檢驗方法步驟進行空白樣品或試劑空白試驗，需無干擾待測現象，必要時添加可能之干擾物質以測試方法之專一性。

(三) 檢量線

應描述檢量線之數學方程式及線性範圍，一般至少包括5種不同濃度(不包括空白)，線性回歸方程式之相關係數不應低於0.99。檢液中待測物濃度應在檢量線之線性範圍內。定量一般採取外部標準品法(external standard method)，倘有基質效應影響定量，則需配製基質匹配檢量線(matrix-matched calibration curve)或採用內部標準品法(如同位素內標或滯留時間相近之化合物)等。

(四) 準確度

- 將適量之待測物標準品添加於類似樣品基質之空白樣品中，或選取合適濃度之驗證參考物質(certified reference material, CRM)，計算其回收率(%)。添加量包括定量極限及定量極限 2~10 倍(或待測物之管制值)至少 2 種濃度，依檢驗方法分析步驟，各進行 5 重複之檢測。
- 依樣品所含待測物之濃度，其回收率(%)規範如下表：

濃度範圍(mg/kg)	回收率(%)
≥100	85 ~ 110
>10~100	80 ~ 115
>1~10	75 ~ 120
>0.1~1	70 ~ 120
>0.01~0.1	70 ~ 120
>0.001~0.01	60 ~ 125
≤0.001	50 ~ 125

(五) 精密度

- 精密度之評估包括重複性(repeatability)、中間精密度(intermediate precision)及再現性(reproducibility)，依必要性選擇執行。
 - 重複性

重複性係以同一實驗室於同一批次執行該檢驗方法，所得之結果予以評估。
 - 中間精密度

中間精密度代表實驗室內精密度，係以同一實驗室執行該檢驗方法，於不同分析日期、分析人員、分析設備等，所得之結果予以評估。
 - 再現性

再現性代表實驗室間精密度，係以不同實驗室執行該檢驗方法，所得之結果予以評估。
- 將適量之待測物標準品添加於類似樣品基質之空白樣品中，或選取合適濃度之驗證參考物質(certified reference material, CRM)進行 5 重複之檢測。添加量包括定量極限及定量極限 2~10 倍(或待測物之管制值)至少 2 種濃度，依檢驗方法分析步驟，各進行 5 重複之檢測。

依樣品所含待測物之濃度，其變異係數(CV, %)規範如下表：

濃度範圍(mg/kg)	變異係數(CV, %)		
	重複性	中間精密度	再現性
≥1	10	14	16
>0.1~1	15	18	23
>0.01~0.1	20	22	32
>0.001~0.01	30	32	45
≤0.001	35	36	53

(六) 定量極限

定量時能有適當準確度與精密度之最低濃度(或量)。可採以下方法：

1. 量測適當數目($n \geq 7$)的空白樣品或低濃度樣品(約偵測極限之 1-5 倍)之感應值，再計算其感應值之標準差(s)。

$$LOQ = 10 s/m$$

m：檢量線之斜率

2. 訊號/雜訊比(signal/noise ratio, S/N ratio)

含有已知量待測物之低濃度樣品，經前處理後層析圖中待測物波峰之訊號/雜訊比 ≥ 10 。

3. 評估含有已知量待測物之低濃度樣品，其回收率及重複性符合要求。

附註：

1. 多重殘留分析方法或氣體分析等困難度較大之分析品項，其回收率容許範圍可適度擴大，惟其重複性需符合規範。
2. 檢驗方法應用之檢體濃度遠大於方法推估之定量極限時，則無需評估方法之定量極限。
3. 檢量線應選用適當的線性範圍，以確保結果之正確性。殘留量分析時，為避免低濃度之偏差，可適當使用加權線性回歸(如 $1/x$ 等)進行校正。

參考資料：

1. European Commission Directorate General for Health and Food Safety. 2019. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. SANTE/12682/2019. [https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/AqcGuidance_SANTE_2019_12682.pdf]
2. U.S. Food and Drug Administration. 2019. Guidelines for the validation of chemical methods in food, feed, cosmetics, and veterinary products. [<https://www.fda.gov/media/81810/download>]
3. U.S. Food and Drug Administration. 2020. Inductively coupled plasma-mass spectrometric determination of arsenic, cadmium, chromium, lead, mercury, and other elements in food using microwave assisted digestion. [<https://www.fda.gov/media/87509/download>]
4. Codex Alimentarius. 2018. Codex Alimentarius - Joint FAO/WHO Food Standards Programme. [<http://www.fao.org/documents/card/en/c/I8608EN/>]
5. National Association of Testing Authorities. 2018. General guidelines for the validation and verification of chemical test methods. [<https://www.nata.com.au/phocadownload/gen-accreditation-guidance/Validation-and-Verification-of-Quantitative-and-Qualitative-Test-Methods.pdf>]
6. Royal Society of Chemistry. 2008. The estimation and use of recovery factors. [https://www.rsc.org/images/recovery-factors-technical-brief-21A_tcm18-214880.pdf]