

Office for Official Publications of the European Communities

**Настоящий документ имеет значение исключительно как документальное средство и учреждения не принимают какой-либо ответственности за его содержание**

**РЕШЕНИЕ КОМИССИИ**

**от 14 августа 2002 года,**

**вводящее в действие Директиву Совета 96/23/ЕС о проведении аналитических методов и толковании результатов**

*(документ зарегистрирован под номером С(2002) 3044)*

**(Текст не противоречит Закону о стимулировании экспорта)**

**(2002/657/ЕС)**

(OJ L 221, 17.8.2002, p. 8)

Внесены поправки следующими документами:

	Official Journal		
	No	Стр.	Дата
Решение Комиссии 2003/181/ЕС от 13 марта 2003 года	L 71	17	15.3.2003
Решение Комиссии 2004/25/ЕС от 22 декабря 2003 года	L 6	38	10.1.2004

Внесены исправления нижеследующим документом:

Corrigendum, OJ L 239, 6.9.2002, p. 66 (2002/657/ЕС)

## РЕШЕНИЕ КОМИССИИ

от 14 августа 2002 года,

вводящее в действие Директиву Совета 96/23/ЕС о проведении аналитических методов и толковании результатов

(документ зарегистрирован под номером С(2002) 3044)

(Текст не противоречит Закону о стимулировании экспорта)

(2002/657/ЕС)

КОМИССИЯ ЕВРОПЕЙСКОГО СООБЩЕСТВА,

Принимая во внимание Договор, учреждающий Европейское Сообщество,

Принимая во внимание Директиву Совета 96/23/ЕС от 29 апреля 1996 года о мерах контроля над определенными веществами и их остатками в живых животных и продуктах животного происхождения и отменяющую Директивы 85/358/ЕЕС и 86/469/ЕЕС и Решения 89/187/ЕЕС и 91/664/ЕЕС <sup>(1)</sup>, и, в частности, второй подпункт Статьи 15(1),

Поскольку:

- (1) Присутствие остатков в продуктах животного происхождения представляет собой проблему, которая имеет большое значение для здоровья населения.
- (2) Решение Комиссии 98/179/ЕС от 23 февраля 1998 года, устанавливающее подробные правила официального отбора проб для контроля определенных веществ и их остатков в живых животных и продуктах животного происхождения <sup>(2)</sup>, предусматривает, чтобы анализ проб выполнялся исключительно лабораториями, одобренными компетентным национальным органом для осуществления официального контроля остатков.
- (3) Необходимо обеспечивать качество и сопоставимость аналитических результатов, получаемых лабораториями, одобренными для официального контроля остатков. Это должно достигаться посредством использования систем гарантии качества и, в частности, путем применения методов, подтверждаемых в соответствии с общими процедурами и рабочими критериями, а также путем обеспечения систематического выполнения общих стандартов или совместно согласованных стандартов.
- (4) Директива Совета 93/99/ЕЕС от 29 октября 1993 года о вопросе дополнительных мер, касающихся официального контроля пищевых продуктов и Решение 98/179/ЕС <sup>(3)</sup> требуют, чтобы лаборатории, занимающиеся официальным контролем, получали аккредитацию согласно ISO 17025 (1), начиная с января 2002 года. Согласно Решению 98/179/ЕС, одобренным лабораториям необходимо участвовать в признанной различными государствами программе внешней оценки контроля качества и системе аккредитации. Более того, одобренные лаборатории должны подтверждать свою компетенцию регулярным и успешным участием в соответствующих программах проверки специальной подготовки, признанных или организованных национальными справочными лабораториями или справочными лабораториями Сообщества.
- (5) С целью расширения сотрудничества, работает сеть справочных лабораторий Сообщества, национальных справочных лабораторий и национальных контрольных лабораторий согласно Директиве 96/23/ЕС.
- (6) Как результат прогресса в аналитической химии, с принятием Директивы 96/23/ЕС, концепция обычных методов и эталонных методов заменена методами критериев, при которых устанавливаются рабочие критерии и процедуры для одобрения методов скрининга и подтверждающих методов.

(<sup>1</sup>) OJ L 125, 23.5.1996, p. 10.

(<sup>2</sup>) OJ L 65, 5.3.1998, p. 31.

(<sup>3</sup>) OJ L 290, 24.11.1993, p. 14.

- (7) Необходимо определить общие критерии для толкования результатов исследований, выполняемых официальными контрольными лабораториями, чтобы обеспечить гармонизированное выполнение Директивы 96/23/ЕС.
- (8) Необходимо обеспечить постепенное установление минимальных обязательных рабочих пределов (MRPL) аналитического метода для веществ, для которых не установлены допустимые пределы, и, в частности, для тех веществ, использование которых не разрешено или специально запрещено в Сообществе, с целью обеспечения гармонизированного выполнения Директивы 96/23/ЕС.
- (9) Решение Комиссии 90/515/ЕЕС от 26 сентября 1990 года, устанавливающее эталонные методы для обнаружения остатков тяжелых металлов и мышьяка <sup>(1)</sup>, Решение Комиссии 93/256/ЕЕС от 14 мая 1993 года, устанавливающее методы, которые должны использоваться для обнаружения остатков веществ, имеющих гормональное или тиростатическое действие <sup>(2)</sup>, Решение Комиссии 93/257/ЕЕС от 15 апреля 1993 года, устанавливающее эталонные методы и список национальных справочных лабораторий для обнаружения остатков <sup>(3)</sup>, с последними поправками Решением 98/536/ЕС <sup>(4)</sup> были предварительно повторно изучены для того, чтобы учесть развитие научных и технических знаний. Все они были найдены устаревшими в сфере их применения и положений, и, следовательно, должны быть отменены настоящим Решением.
- (10) Для того чтобы была возможность привести методы анализа официальных проб в соответствие с положениями настоящего Решения, необходимо установить переходный период.
- (11) Меры, предусмотренные в настоящем Решении, находятся в соответствии с мнением Постоянного Комитета по пищевой цепи и здоровью животных,

ПРИНЯЛА НАСТОЯЩЕЕ РЕШЕНИЕ:

### *Статья 1*

#### **Предмет и сфера применения**

Настоящее Решение предусматривает нормы для аналитических методов, которые должны использоваться при исследовании официальных проб, взятых согласно Статье 15(1), второе предложение, Директивы 96/23/ЕС, и устанавливает общие критерии толкования аналитических результатов, полученных лабораториями, осуществляющими официальный контроль таких проб.

Настоящее Решение не применяется к веществам, для которых в других нормативах Сообщества установлены более конкретные правила.

### *Статья 2*

#### **Определения**

Для цели настоящего Решения применяются определения, изложенные в Директиве 96/23/ЕС и в Приложении I к настоящему Решению.

---

(<sup>1</sup>) OJ L 286, 18.10.1990, p. 33.

(<sup>2</sup>) OJ L 118, 14.5.1993, p. 64.

(<sup>3</sup>) OJ L 118, 14.5.1993, p. 75.

(<sup>4</sup>) OJ L 251, 11.9.1998, p. 39.

### *Статья 3*

#### **Аналитические методы**

Государства-члены обеспечивают, чтобы официальные пробы, взятые согласно Директиве 96/23/ЕС анализировались с использованием методов, которые:

- (a) документально подтверждены в инструкциях по проведению исследований, предпочтительно, согласно ISO 78-2 (6);
- (b) соответствуют Части 2 Приложения I к настоящему Решению;
- (c) подтверждены согласно процедурам, приведенным в Части 3 Приложения I ;
- (d) удовлетворяют соответствующим минимальным обязательным рабочим пределам (MRPL), которые устанавливаются в соответствии со Статьей 4.

### *Статья 4*

Государства-члены обеспечивают, чтобы аналитические методы, используемые для обнаружения нижеследующих веществ, удовлетворяли минимальным обязательным рабочим пределам (MRPLs), указанным в Приложении II, по сравнению с матрицами, на которые ссылаются в том Приложении:

- (a) хлорамфеникол;
- (b) метаболиты нитрофурана;
- (c) медроксипрогестерон;
- (d) малахит зеленый.

### *Статья 5*

#### **Контроль качества**

Государства-члены обеспечивают качество результатов анализа проб, отбор которых произведен согласно Директиве 96/23/ЕС, в частности, путем мониторинга исследований и/или калибровочных результатов согласно Статье 5.9 ISO 17025 (1).

### *Статья 6*

#### **Толкование результатов**

1. Результат анализа считается несогласующимся, если превышен предел значения подтверждающего метода для аналита.
2. Если для вещества установлен допустимый предел, предел значения представляет собой концентрацию, выше которой может быть решено со статистической достоверностью, равной  $1 - \alpha$ , что допустимый предел действительно превышен.
3. Если для вещества не установлен допустимый предел, предел значения представляет собой самый низкий уровень концентрации, при котором метод может выявить со статистической достоверностью, равной  $1 - \alpha$ , присутствие определенного аналита.
4. Для веществ, перечисленных в Группе А Приложения I к Директиве 96/23/ ЕС, погрешность  $\alpha$  равна 1 % или ниже. Для всех других веществ, погрешность  $\alpha$  равна 5 % или ниже.

## *Статья 7*

### **Отмена**

Решения 90/515/ЕЕС, 93/256/ЕЕС и 93/257/ЕЕС отменяются.

## *Статья 8*

### **Положения переходного периода**

Методы анализа официальных проб веществ, перечисленных в Группе А Приложения I к Директиве 96/23/ЕС, которые удовлетворяют критериям, указанным в Решениях 90/515/ЕЕС, 93/256/ЕЕС и 93/257/ЕЕС, могут использоваться в течение двух лет после вступления в силу настоящего Решения. Методы, применяемые в настоящее время для веществ, перечисленных в Группе В Приложения I к Директиве 96/23/ЕС, будут применяться в соответствии с настоящим Решением не позднее, чем через пять лет после даты применения настоящего Решения.

## *Статья 9*

### **Дата применения**

Настоящее Решение применяется с 1 сентября 2002 года.

## *Статья 10*

### **Адресаты**

Настоящее Решение адресовано всем государствам-членам.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1

### РАБОЧИЕ КРИТЕРИИ, ДРУГИЕ ТРЕБОВАНИЯ И ПРОЦЕДУРЫ ДЛЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

#### 1. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

1.1. **Прецизионность** означает близость согласия между исследуемым результатом и принятым эталонным значением (2). Она определяется посредством определения достоверности и точности.

1.2. **Погрешность альфа ( $\alpha$ )** означает вероятность того, что исследуемая проба является согласующейся, даже если получено несогласующееся значение (ошибочное несогласующееся значение).

1.3. **Аналит** означает вещество, которое должно быть обнаружено, идентифицировано и/или определено количественно и его производные, появляющиеся во время анализа.

1.4. **Погрешность бета ( $\beta$ )** означает вероятность того, что исследуемая проба действительно является несогласующейся, даже если получено согласующееся значение (ошибочное согласующееся значение).

1.5. **Смещение** означает различие между ожиданием результата исследования и принятым эталонным значением (2).

1.6. **Калибровочный стандарт** означает прибор для измерений количества исследуемого вещества, таким образом, который привязывает значение количества вещества к эталонной основе.

1.7. **Разрешенный эталонный материал (CRM)** означает материал, который имеет определенное содержание аналита, соответствующее ему.

1.8. **Комбинированная хроматография** означает процедуру, при которой экстракт делится на две части до стадии(й) хроматографии. Проводится хроматография первой части, как таковой. Часть вторая смешивается со стандартным аналитом, который необходимо измерить. Затем проводится хроматография этой смеси. Количество добавленного стандартного аналита должно быть таким же, как и оцененное количество аналита в экстракте. Этот метод разработан для улучшения идентификации аналита, когда используются хроматографические методы, особенно, когда нельзя использовать подходящий внутренний стандарт.

1.9. **Совместное исследование** означает выполнение анализа одной и той же пробы одним и тем же методом с целью определения рабочих характеристик метода. Исследование выявляет случайную ошибку измерения и лабораторное отклонение.

1.10. **Подтверждающий метод** означает методы, которые дают полную или дополняющую информацию, позволяющую четко идентифицировать вещество и, если необходимо, определять количество вещества на уровне значения.

1.11. **Предел значения ( $СС\alpha$ )** означает предел, при котором и выше которого можно сделать вывод с погрешностью, равной  $\alpha$ , что проба несогласующаяся.

1.12. **Способность обнаружения ( $СС\beta$ )** означает наименьшее содержание вещества, которое может быть выявлено, идентифицировано и/или определено количественно в пробе с погрешностью, равной  $\beta$ . В отношении веществ, для которых не установлен допустимый предел, способность обнаружения представляет собой самую низкую концентрацию, при которой метод может выявить действительно загрязненные пробы при статистической достоверности, равной  $1 - \beta$ . В отношении веществ с установленным

допустимым пределом, это означает, что способность обнаружения представляет собой концентрацию, при которой метод может обнаружить концентрации допустимого предела при статистической достоверности, равной  $1 - \beta$ .

**1.13. Проба обогащенного материала** означает пробу, обогащенную известным количеством аналита, который необходимо обнаружить.

**1.14. Межлабораторное исследование (сравнение)** означает организацию, проведение и оценку исследований одной и той же пробы двумя или более лабораториями в соответствии с заранее установленными условиями с целью определения результатов исследования. В зависимости от цели, исследование может быть классифицировано как совместное исследование или исследование по специальной подготовке.

**1.15. Внутренний стандарт (IS)** означает вещество, не содержащееся в пробе, с физико-химическими свойствами, которые, насколько это возможно, аналогичны свойствам аналита, который необходимо определить и который добавляется к каждой пробе, а также к каждому калибровочному стандарту.

**1.16. Лабораторная проба** означает пробу, подготовленную для отправки в лабораторию и предназначенную для контроля или исследования.

**1.17. Уровень значения** означает концентрацию вещества или аналита в пробе, которая достаточна для определения соответствия нормативам.

**1.18. Минимальный обязательный рабочий предел (MRPL)** означает минимальное содержание аналита в пробе, которое, по крайней мере, должно быть обнаружено и подтверждено. Он направлен на гармонизацию аналитического проведения методов для веществ, для которых не установлены допустимые пределы.

**1.19. Рабочая характеристика** означает функциональное качество, которое можно отнести к аналитическому методу. Например, это могут быть специфичность, прецизионность, достоверность, точность, повторяемость, сходимость результатов, восстановление, способность обнаружения и приближительность).

**1.20. Рабочие критерии** означают требования к рабочей характеристике, согласно которым можно оценивать, что аналитический метод подходит для цели и дает надежные результаты.

**1.21. Допустимый предел** означает максимальный предел остатка, максимальный уровень или другое максимальное отклонение для веществ, установленных в законодательстве Сообщества.

**1.22. Точность** означает точность соответствия между независимыми исследуемыми результатами, полученными согласно оговоренным (заранее установленным) условиям. Мера точности обычно выражается с точки зрения неточности и рассчитывается как стандартное отклонение результата исследования. Меньшая точность определяется большим среднеквадратическим отклонением (2).

**1.23. Исследование по специальной подготовке** означает выполнение анализа одной и той же пробы, позволяющее лабораториям выбирать свои собственные методы, при условии, что эти методы используются при определенных условиях. Исследование должно выполняться в соответствии с руководством ISO 43-1 (3) и 43-2 (4), и может использоваться для оценки сходимости результатов методов.

**1.24. Качественный метод** означает аналитический метод, который идентифицирует вещество на основании его химических, биологических или физических свойств.

**1.25. Количественный метод** означает аналитический метод, который определяет количество или массовую долю вещества, с тем чтобы их можно было выразить как цифровое значение соответствующих единиц.

**1.26. Чистое определение реактива** означает полную аналитическую процедуру, применяемую без исследуемой части, или использующую эквивалентное количество подходящего

растворителя вместо исследуемой части.

1.27. **Восстановление** означает процентное содержание истинной концентрации вещества, полученное вновь во время аналитической процедуры. Оно определяется во время подтверждения, если отсутствует разрешенный эталонный материал.

1.28. **Эталонный материал** означает материал, у которого подтверждено одно или несколько свойств одобренным методом, с тем чтобы его можно было использовать для калибровки прибора или подтверждения метода измерения.

1.29. **Повторяемость** означает точность при условиях повторяемости(2).

1.30. **Условия повторяемости** означают условия, при которых результаты независимого исследования получают с использованием одного и того же метода на идентичных предметах исследования в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором с использованием одинакового оборудования (2).

1.31. **Сходимость результатов** означает точность при условиях воспроизводимости (2)(4).

1.32. **Условия воспроизводимости** означают условия, при которых результаты исследования получают с использованием одного и того же метода на идентичных предметах исследования в различных лабораториях различными операторами, используя различное оборудование (2)(4).

1.33. **Приблизительность** означает чувствительность аналитического метода к изменениям экспериментальных условий, которая может быть выражена как перечень исследуемых материалов, аналитов, условий хранения, условий окружающей среды и/или условий подготовки проб, при которых может применяться метод, как он представлен или с особыми незначительными изменениями. Для всех экспериментальных условий, которые на практике могут подвергаться колебаниям (например, стабильность реактивов, состав пробы, pH, температура), необходимо указывать все изменения, которые могут влиять на аналитический результат.

1.34. **Чистое определение пробы** означает полную аналитическую процедуру, применяемую к исследуемой части, взятой из пробы, в которой отсутствует аналит.

1.35. **Метод скрининга** означает методы, которые используются для обнаружения присутствия вещества или класса веществ на уровне значения. Эти методы имеют способность к высокому воспроизводству пробы и используются для того, чтобы отфильтровать большое количество проб для потенциально несогласующихся результатов. Они специально разработаны для того, чтобы избежать ошибочных согласующихся результатов.

1.36. **Однолабораторное исследование** (внутреннее подтверждение) означает аналитическое исследование, в котором занята одна лаборатория, использующая один метод для проведения анализа одного и того же или различных исследуемых материалов при различных условиях в течение обоснованно длительных интервалов.

1.37. **Специфичность** означает способность метода устанавливать различие между измеряемым аналитом и другими веществами. Эта характеристика в основном является функцией описанной методики измерения, но может изменяться в зависимости от класса соединения или матрицы.

1.38. **Стандартное добавление** означает процедуру, в которой исследуемая проба делится на две (или более) исследуемые части. Одна часть анализируется как таковая, а известное количество стандартного аналита добавляется перед анализом к другим исследуемым частям. Количество добавленного стандартного аналита должно быть от двух до пяти раз больше оцененного количества аналита в пробе. Эта процедура разработана для определения содержания аналита в пробе, учитывая восстановление аналитической процедуры.

1.39. **Стандартный аналит** означает аналит известного и разрешенного содержания и чистоты, который используется в качестве эталона в анализе.



1.40. **Вещество** означает вещество конкретного или определенного химического состава и его метаболиты.

1.41. **Исследуемая часть** означает количество материала, взятого из исследуемой пробы, которая исследуется или наблюдается.

1.42. **Исследуемая проба** означает пробу, приготовленную из лабораторной пробы, и из которой берутся исследуемые части.

1.43. **Достоверность** означает точность соответствия между средним значением, полученным из большой серии результатов исследования, и принятым эталонным значением. Достоверность обычно выражается как отклонение (2).

1.44. **Единицы** означают те единицы, которые приняты в ISO 31 (20) и Директиве 71/354/ЕС (19).

1.45. **Подтверждение** означает подтверждение посредством исследования и представления эффективных доказательств того, что выполняются все требования, необходимые для предполагаемого исследования (1).

1.46. **Внутрилабораторная сходимость результатов** означает точность, полученную в одной и той же лаборатории при оговоренных (заранее установленных) условиях (касательно, например, метода, исследуемых материалов, операторов, окружающей среды) в течение обоснованно длительных интервалов.

## 2. РАБОЧИЕ КРИТЕРИИ И ДРУГИЕ ТРЕБОВАНИЯ К АНАЛИТИЧЕСКИМ МЕТОДАМ

Аналитические методы или сочетания методов, кроме тех, которые описаны ниже, можно использовать для скрининга или подтверждающих целей только в том случае, если можно доказать, что они согласуются с соответствующими требованиями, установленными в настоящем Решении.

### 2.1. ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ

#### 2.1.1. Обработка проб

Пробы получают, обрабатывают и перерабатывают таким образом, чтобы оставалась максимальная вероятность обнаружения вещества. Процедуры обработки проб предотвращают возможность случайного заражения или потери аналитов.

#### 2.1.2. Проведение исследований

##### 2.1.2.1. Восстановление

Во время проведения анализа проб в каждой партии проб определяется восстановление, если используется постоянный поправочный коэффициент восстановления. Если восстановление находится в рамках пределов, тогда можно использовать постоянный поправочный коэффициент. В других отношениях используется фактор восстановления, полученный для определенной партии, если не должен применяться специальный фактор восстановления аналита в пробе, в таком случае для количественного определения аналита в пробе используется процедура стандартного добавления (см. 3.5) или внутреннего стандарта.

##### 2.1.2.2. Специфичность

Метод способен устанавливать различие между аналитом и другими веществами при экспериментальных условиях. Необходимо получить оценку в той степени, в которой это возможно. Необходимо использовать стратегии, чтобы преодолеть любое предполагаемое

искажение вещества, когда используется описанная методика измерения, например, гомологические, аналогичные, метаболические продукты исследуемого остатка. Первостепенное значение имеет изучение интерференции, которая может возникнуть из компонентов матрицы.

## 2.2. МЕТОДЫ СКРИНИНГА

Только те аналитические методики, для которых может быть доказано документами прослеживаемым способом, что они подтверждены и имеют ошибочный согласующийся коэффициент, равный  $< 5\%$  ( $\beta$ -погрешность) на уровне значимости, используются для целей скрининга в соответствии с Директивой 96/23/ЕС. В случае предполагаемого несогласующегося результата, этот результат подтверждается подтверждающим методом.

## 2.3. ПОДТВЕРЖДАЮЩИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ ОРГАНИЧЕСКИХ ОСТАТКОВ И ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ

Подтверждающие методы для органических остатков или загрязнителей дают информацию о химическом строении аналита. Следовательно, методы, основанные только на хроматографическом анализе, самостоятельно, без использования спектрометрического обнаружения, не подходят для использования в качестве подтверждающих методов. Однако, если одной методике не хватает достаточной специфичности, желаемая специфичность может быть достигнута аналитическими процедурами, состоящими из подходящих сочетаний чистого хроматографического(их) анализа(ов) и спектрометрического обнаружения.

Нижеследующие методы или сочетания методов считаются подходящими для идентификации органических остатков или загрязнителей для указанных групп веществ:

**Таблица 1**

**Подходящие подтверждающие методы для органических остатков или загрязнителей**

Методика измерения	Вещества Приложение 1 96/23/ЕС	Ограничения
LC или GC с масс-спектрометрическим обнаружением	Группы А и В	Только после on-line или off-line хроматографического разделения Только если используются полные методики сканирования или, используя, по крайней мере, 3 (группа В) или 4 (группа А) точки идентификации для методик, которые не регистрируют полные масс-спектры
LC или GC с IR спектрометрическим обнаружением	Группы А или В	Необходимо соблюдать специальные требования к поглощению в IR спектрометрии
LC-полное сканир. DAD	Группа В	Необходимо соблюдать специальные требования к поглощению в UV спектрометрии
LC -флюоресценция	Группа В	Только для молекул, которые проявляют естественную флюоресценцию и для молекул, которые показывают флюоресценцию после превращения или после дериватизации
2-D TLC - полное сканир. UV/ VIS	Группа В	Двухразмерный НPTLC и комбинированная хроматография обязательны
GC- обнаружение поглощения электронов	Группа В	Только если используются две колонки различной полярности
LC-иммунограмма	Группа В	Только если используются, по крайней мере, две различные хроматографические системы или второй независимый метод обнаружения
LC-UV/VIS (одна длина волны)	Группа В	Только если используются, по крайней мере, две различные хроматографические системы или второй независимый метод обнаружения

**2.3.1. Общие рабочие критерии и требования**

Подтверждающие методы позволяют получать информацию по химическому составу аналита. Если несколько составов дают одинаковую реакцию, в этом случае метод не может отличить эти составы. Методы, основанные только на хроматографическом анализе без использования спектрометрического обнаружения, самостоятельно не подходят для использования в качестве подтверждающих методов.

Если в методе используется подходящий внутренний стандарт, то он добавляется к исследуемой части в начале процедуры экстрагирования. В зависимости от наличия, используются формы аналита со стабильными мечеными изотопами, которые особенно

подходят для масс-спектрометрического обнаружения, или составы, которые структурно связаны с аналитом.

Когда нельзя использовать подходящий внутренний стандарт, идентификация аналита подтверждается комбинированной хроматографией. В этом случае получают только один максимум, при этом увеличенная высота максимума (или площадь) эквивалентна количеству добавленного аналита. При газовой хроматографии (GC) или жидкостной хроматографии (LC), ширина максимума на высоте половины максимума находится в пределах 90-110 % диапазона первоначальной ширины, и время удерживания одинаковое в пределах 5 %. Для методов тонкослойной хроматографии (TLC) усиливается только пятно, которое по предположению подходит для аналита; новое пятно не появляется и визуальный внешний вид не меняется.

Эталонный или обогащенный материал, содержащий известное количество аналита при допустимом пределе, или рядом с ним, или пределе значения (несогласующаяся контрольная проба), а также согласующийся контрольный материал и полоски с реактивами должны использоваться на протяжении всей процедуры анализа одновременно с каждой партией исследуемых анализируемых проб. Порядок введения экстрактов в аналитический прибор нижеследующий: полоска с реактивом, согласующаяся контрольная проба, проба(ы), которые необходимо подтвердить, снова согласующаяся контрольная проба и, наконец, несогласующаяся контрольная проба. Любое отклонение от этой последовательности должно обосновываться.

### 2.3.2. Дополнительные рабочие критерии и другие требования к количественным методам анализа

#### 2.3.2.1. Достоверность количественных методов

В случае повторных анализов разрешенного эталонного материала, рекомендуемые диапазоны отклонения экспериментально определенных откорректированных средних значений массовой доли восстановления от одобренного значения нижеследующие:

**Table 2**  
**Минимальная достоверность количественных методов**

Массовая доля	Диапазон
$\leq 1 \mu\text{g/kg}$	- 50 % to + 20 %
$> 1 \mu\text{g/kg}$ to $10 \mu\text{g/kg}$	- 30 % to + 10 %
$> 10 \mu\text{g/kg}$	- 20 % to + 10 %

Когда отсутствуют такие одобренные эталонные материалы (CRMs), допустимо, чтобы достоверность измерений оценивалась через восстановление добавлений известных количеств аналита(ов) к чистой матрице. Данные, откорректированные средним значением восстановления, принимаются только в том случае, если они находятся в пределах диапазонов, показанных в Таблице 2.

#### 2.3.2.2. Точность количественных методов

Межлабораторный коэффициент вариации (CV) для повторного анализа эталонного или обогащенного материала при условиях воспроизводимости не превышает уровня, рассчитанного с помощью уравнения Хорвицца. Уравнение:

$$CV = 2(1 - 0,5 \log C)$$

где  $C$  - массовая доля, выраженная как степень (показатель степени), равный 10 (e.g. 1 mg/g =  $10^{-1}$ ). Примеры приведены в Таблице 3.

**Таблица 3**

**Примеры сходимости результатов коэффициентов вариации (CVs) для количественных методов при диапазоне массовой доли аналита**

Массовая доля	Сходимость результатов CV(%)
1 $\mu\text{g/kg}$	(*)
10 $\mu\text{g/kg}$	(*)
100 $\mu\text{g/kg}$	23
1 000 $\mu\text{g/kg}$ (1 mg/kg)	16

(\*) Для массовых долей ниже 100  $\mu\text{g/kg}$  применение уравнение Хорвитца дает неприемлемо высокие значения. Поэтому, коэффициенты вариации (CVs) для концентраций ниже 100  $\mu\text{g/kg}$  будут настолько низкими, насколько это возможно.

Для анализов, выполняемых при условиях повторяемости, межлабораторный CV, как правило, находится между половиной и двумя третями вышеуказанных значений. Для анализов, выполняемых при условиях внутрилабораторной воспроизводимости, внутрилабораторный CV не будет больше CV сходимости результатов.

В отношении веществ с установленным допустимым пределом, метод достигает внутрилабораторной сходимости результатов, которая не больше CV сходимости результатов при концентрации  $0.5 \times$  допустимый предел.

### 2.3.3. Рабочие критерии и другие требования к масс-спектрометрическому обнаружению

Масс-спектрометрические методы подходят для рассмотрения в качестве подтверждающих методов только после on-line или off-line хроматографического разделения.

#### 2.3.3.1. Хроматографическое разделение

Для GC-MS процедур, газовое хроматографическое разделение выполняется с использованием капиллярных колонн. Для LC-MS процедур хроматографическое разделение выполняется с использованием подходящих LC колонн. В любом случае, минимальное приемлемое время удерживания для исследуемого аналита в два раза больше времени удерживания, соответствующего пустому объему колонны. Время удерживания (или относительное время удерживания) аналита в исследуемой части должно соответствовать времени удерживания эталонного стандарта в пределах окна установленного времени удерживания. Окно времени удерживания пропорционально разрешающей способности хроматографической системы. Отношение хроматографического времени удерживания аналита к времени удерживания внутреннего стандарта, т.е. относительное время удерживания аналита, соответствует времени удерживания эталонного раствора при допустимом отклонении, равном  $\pm 0,5\%$  для GC и  $\pm 2,5\%$  для LC.

#### 2.3.3.2. Масс-спектрометрическое обнаружение

Масс-спектрометрическое обнаружение выполняется с использованием MS- методик, таких как регистрация полных масс-спектров (полные сканы), или выборочного мониторинга ионов (SIM), а также MS-MS<sup>n</sup> методик, таких как выборочный мониторинг реакции (SRM), или других подходящих MS или MS-MS<sup>n</sup> методик в сочетании с соответствующими режимами

ионизации. В масс-спектрометрии с высокой разрешающей способностью (HRMS), разрешающая способность, как правило, больше 10 000 для всего масс-диапазона при 10 % долине.

**Полное сканирование:** Когда масс-спектрометрическое определение выполняется посредством регистрации полного сканирования спектров, обязательно присутствие всех измеряемых диагностических ионов (молекулярного иона, характерных аддуктов молекулярного иона, характерных фрагментов ионов и изотопных ионов) при относительной интенсивности свыше 10 % в эталонном спектре калибровочного стандарта.

**S I M :** Когда масс-спектрометрический анализ выполняется посредством фрагментографии, молекулярный ион предпочтительно является одним из избранных диагностических ионов (молекулярного иона, характерных продуктов связывания молекулярных ионов, характерных фрагментов ионов и все их изотопные ионы. Отобранные диагностические ионы не должны исключительно происходить из одной и той же части молекулы. Соотношение импульс-помеха для каждого диагностического иона равен  $\geq 3:1$ .

**Полное сканирование и S I M:** Относительная интенсивность обнаруженных ионов, выраженная как содержание (в процентах) интенсивности самого интенсивного иона или превращения, соответствует таковым калибровочного стандарта, или из калибровочных стандартных растворов, или из пиковых проб, при сравнимых концентрациях, измеряемых при одинаковых условиях в пределах нижеуказанных отклонений:

**Таблица 4**

**Максимальные допустимые отклонения для относительной интенсивности ионов при использовании ряда масс-спектрометрических методик**

Относительная интенсивность (% базового пика)	EI-GC-MS (относительная)	CI-GC-MS, GC-MSn LC-MS, LC-MSn (относительная)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % to 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % to 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 %	± 50 %

**Толкование масс-спектральных данных.** Относительная интенсивность диагностических ионов и/или ионных пар предшественник/продукт должна определяться путем сравнения спектров или путем интегрирования сигналов меченых атомов с одинаковой массой. Если применяется поправка на задний фон, она должна применяться единообразно на протяжении всей партии (см . 2.3.1, параграф 4) и должна быть четко указана.

**Полное сканирование:** Когда регистрируются спектры полного сканирования при спектрометрии с одной массой, присутствует не менее четырех ионов при относительной интенсивности  $\geq 10$  % базового пика. Молекулярный ион включается, если он присутствует в эталонном спектре при относительной интенсивности  $\geq 10$  %. Не менее четырех ионов должно находиться в пределах максимально допустимых отклонений для относительной интенсивности ионов (Таблица 5). Можно воспользоваться информацией в компьютерной библиотеке. В этом случае, сравнение масс-спектральных данных в исследуемых пробах с данными калибровочного раствора должно превышать критический подходящий фактор. Этот фактор определяется во время процесса подтверждения для каждого аналита на основании спектров, для которых выполняются критерии, описанные ниже. Проверяется

изменчивость в спектрах, вызванных матрицей пробы, и характеристикой детектора.

SIM: Когда масс-фрагменты измеряются при использовании других методик, помимо методики полного сканирования, для толкования данных используется система точек идентификации. Для подтверждения веществ, перечисленных в Группе А Приложения I Директивы 96/23/ЕС, требуется не менее 4 точек идентификации. Для подтверждения веществ, перечисленных в Группе В Приложения I Директивы 96/23/ЕС, требуется не менее 3 точек идентификации. Приведенная ниже таблица показывает число точек идентификации, которые может получить каждая из основных масс-спектрометрических методик. Однако для того чтобы определить точки идентификации, обязательные для подтверждения, а также сумму точек идентификации, которая должна быть вычислена:

- (a) измеряется не менее одного отношения ионов, и
- (b) все соответствующие измеренные отношения ионов должны удовлетворять вышеуказанным критериям,
- (c) для достижения минимального числа точек идентификации, можно сочетать не более трех отдельных методик.

**Таблица 5**  
**Соотношение между группой классов масс-фрагментов и полученными точками идентификации**

MS методика	Точки идентификации, полученные на ион
Масс-спектрометрия с низкой разрешающей способностью (LR)	1,0
LR-MS <sup>n</sup> ион-предшественник	1,0
LR-MS <sup>n</sup> продукты перехода	1,5
HRMS	2,0
HR- MS <sup>n</sup> ион-предшественник	2,0
HR-MS <sup>n</sup> продукты перехода	2,5

*Сноски:*

- (1) Каждый ион можно подсчитывать только один раз.
- (2) GC-MS , использующая электронную ударную ионизацию считается методикой, отличающейся от GC-MS , использующей химическую ионизацию.
- (3) Для увеличения числа точек идентификации можно использовать различные анализы только в том случае, если их получают различными химическими реакциями.
- (4) Для веществ в Группе А Приложения 1 к Директиве 96/23/ЕС, если в аналитической процедуре используется одна из нижеследующих методик: HPLC, соединенная со спектрометрией полного сканирования диодной решетки (DAD); HPLC, соединенная с обнаружением флюоресценции; HPLC, соединенная с иммунограммой; двухразмерная TLC, соединенная со спектрометрическим обнаружением; максимум одна точка идентификации может быть внесена, при условии, что выполняются соответствующие критерии для этих методик.
- (5) Продукты перехода включают как дочерние, так и внучатые продукты распада.

**Таблица 6**  
**Примеры числа точек идентификации, полученных для ряда методик**  
**и их сочетаний (n = целому числу)**

Методика(и)	Число ионов	Точки идентификации
GC-MS (EI или CI)	N	N
GC-MS (EI и CI)	2 (EI) + 2 (CI)	4
GC-MS (EI или CI) 2 производных	2 (Производная А) + 2 (Производная В)	4
LC-MS	N	n
GC-MS-MS	1 предшественник и 2 дочери	4
LC-MS-MS	1 предшественник и 2 дочери	4
GC-MS-MS	2 иона-предшественника, каждый с 1 дочерью	5
LC-MS-MS	2 иона-предшественника, каждый с 1 дочерью	5
LC-MS-MS-MS	1 предшественник, 1 дочь и 2 внучки	5,5
HRMS	N	2 n
GC-MS и LC-MS	2 + 2	4
GC-MS и HRMS	2 + 1	4

#### 2.3.4. Рабочие критерии и другие требования к хроматографии, связанной с инфракрасным обнаружением

Адекватные пики: Адекватные пики представляют собой максимумы абсорбции в инфракрасном спектре калибровочного стандарта, удовлетворяющие нижеследующим требованиям.

##### 2.3.4.1. Инфракрасное обнаружение

Максимум абсорбции: Он должен быть в диапазоне волнового числа 4 000-500 см<sup>-1</sup>.

Интенсивность абсорбции: Она должна быть не менее, чем:

(а) удельная молярная способность поглощения, равная 40 относительно пика основной линии; или

(б) относительная способность поглощения, равная 12,5 % способности поглощения самого интенсивного пика в пределах 4 000-500 см<sup>-1</sup>,

когда обе измеряются относительно нулевой способности поглощения, и 5 % способности поглощения наиболее интенсивного пика в пределах 4 000-500 см<sup>-1</sup>, когда обе измеряются относительно их пика основной линии.

Примечание: Хотя с теоретической точки зрения может отдаваться предпочтение адекватным пикам согласно подпункту (а), на практике легче определить адекватные пики согласно подпункту (б).

Число пиков определяется в инфракрасном спектре аналита, частоты которого совпадают с адекватным пиком в спектре калибровочного стандарта в пределах  $\pm 1$  см<sup>-1</sup>.

##### 2.3.4.2. Толкование инфракрасных спектральных данных



Абсорбция присутствует во всех слоях спектра аналита, который совпадает с адекватным пиком в эталонном спектре калибровочного стандарта. В инфракрасном спектре калибровочного стандарта должно быть не менее шести адекватных пиков. Если адекватных пиков менее шести (7), спектр, о котором идет речь, нельзя использовать в качестве эталонного спектра. 'Счет', т.е. содержание (в процентах) адекватных пиков, обнаруженных в инфракрасном спектре аналита, по крайней мере, должен равняться 50. Где отсутствует точное совпадение адекватного пика, соответствующая зона спектра аналита совмещается с наиболее подходящим пиком. Процедура применима только к пикам поглощения в спектре пробы с интенсивностью, которая в три раза больше полной амплитуды помех.

### **2.3.5. Рабочие критерии и другие требования к определению аналита, используя LC с другими методиками обнаружения**

#### *2.3.5.1. Хроматографическое разделение*

Внутренний стандарт используется, если имеется материал, подходящий для этой цели. Предпочтителен родственный стандарт с временем удержания, близким времени удержания аналита.. Аналит вымывается при времени удержания, которое характерно для соответствующего калибровочного стандарта при одинаковых экспериментальных условиях. Минимальное приемлемое время удержания аналита в два раза больше времени удержания, соответствующего пустому объему колонки. Отношение времени удержания аналита к времени удержания внутреннего стандарта, т.е. относительное время удержания аналита, должно быть таким же, как и время удержания калибровочного стандарта в соответствующей матрице, в пределах  $\pm 2,5$  %.

#### *2.3.5.2. Полное сканирование UV/VIS обнаружения*

Необходимо выполнять рабочие критерии для методов LC.

Максимумы абсорбции в спектре аналита находятся на той же длине волн, что и максимумы калибровочного стандарта, в пределах, определяемых при помощи разрешающей способности системы обнаружения. Для обнаружения диодной решетки это обычно в пределах  $\pm 2$  nm. Спектр аналита свыше 220 nm, для тех частей двух спектров с относительной поглощающей способностью  $\geq 10$  %, не будет заметно отличаться от спектра калибровочного стандарта. Критерий соблюдается, во-первых, когда присутствуют одинаковые максимумы, и, во-вторых, когда различие между двумя спектрами в любой наблюдаемой точке, составляет не более 10 % поглощающей способности калибровочного стандарта. В случае, когда поиск и подбор осуществляются с помощью компьютерной библиотеки, сравнение спектральных данных в исследуемых пробах с данными калибровочного раствора, не должно превышать критический подобранный фактор. Этот фактор определяется во время процесса подтверждения для каждого аналита на основе спектров, для которых применяются вышеописанные критерии. Проверяется изменчивость спектров, вызванная матрицей пробы и рабочими характеристиками детектора.

#### *2.3.5.3. Рабочие критерии для флуориметрического обнаружения*

Необходимо выполнять рабочие критерии для методов LC. Они применяются к молекулам, которые имеют естественную флуоресценцию или к молекулам, которые проявляют флуоресценцию после превращения или замещения. Выбор длины волны на стадии возбуждения или эмиссии в сочетании с хроматографическими условиями выполняется таким образом, чтобы свести к минимуму возникновение посторонних компонентов в экстракте чистой пробы.

Самый ближайший максимум пика в хроматограмме отделяется от определенного пика аналита, по крайней мере, шириной одного полного пика при 10 % высоты максимума пика аналита.

#### 2.3.5.4. Рабочие критерии для определения аналита методом LC- иммунограммы

LC иммунограмма самостоятельно не подходит для использования в качестве подтверждающего метода.

Необходимо выполнять соответствующие критерии для методов LC.

Предварительно определенные параметры контроля качества, например, нехарактерная связь, относительная связь контрольных проб, показатель поглощающей способности, должны находиться в пределах, полученных во время подтверждения анализа.

Иммунограмма должна строиться не менее чем из пяти фракций. Каждая фракция должна быть меньше половины ширины пика.

Фракция с максимальным содержанием аналита должна быть одинаковой для подозреваемой пробы, несогласующейся контрольной пробы и стандарта.

#### 2.3.5.5. Определение аналита, используя LC метод с UV/VIS обнаружением (одна длина волны)

LC с UV/VIS обнаружением (одна длина волны) самостоятельно не подходит для использования в качестве подтверждающего метода.

Ближайший максимум пика в хроматограмме отличается от установленного пика аналита, по крайней мере, шириной одного полного пика при 10 % максимума высоты пика аналита.

#### 2.3.6. Рабочие критерии и другие требования к определению аналита методом 2-DTLC, в сочетании с полным сканированием UV/VIS спектрометрического обнаружения

Обязательны двухразмерный HPTLC и комбинированная хроматография.

Значения RF аналита согласуются со значениями RF стандартов в пределах  $\pm 5\%$ .

Визуально внешний вид аналита не должен отличаться от стандарта.

Для пятен одного и того же цвета центр ближайшего пятна должен отделяться от центра пятна аналита, по крайней мере, половиной суммы диаметра пятен.

Спектр аналита визуально не должен отличаться от спектра стандарта, как описано для полного сканирования обнаружения UV/VIS.

Если используется поиск и подбор с помощью компьютерной библиотеки, сравнение спектральных данных в исследуемых пробах с данными калибровочного раствора должно быть выше критического подобранного фактора. Этот фактор определяется в процессе подтверждения для каждого аналита на основании спектров, для которых выполняются критерии, описанные выше. Проверяется изменчивость спектров, вызванная матрицей пробы и рабочими характеристиками детектора.

#### 2.3.7. Рабочие критерии и требования к определению аналита методом GC в сочетании с обнаружением электронной ловушкой (ECD)

Внутренний стандарт используется в том случае, если имеется в наличии материал,

подходящий для этой цели. Предпочтительно, это должно быть родственное вещество с временем удержания, близким к времени удержания аналита. Аналит вымывается при времени удержания, которое характерно для соответствующего калибровочного стандарта при одинаковых экспериментальных условиях. Минимальное приемлемое время удержания аналита должно быть в два раза больше времени удержания, соответствующего пустому объему колонки. Соотношение времени удержания аналита к времени удержания внутреннего стандарта, т.е.. относительное время сохранения аналита, должно быть таким же, как и соответствующего калибровочного стандарта, в пределах  $\pm 0,5 \%$ . Ближайший максимум пика в хроматограмме отличается от определенного пика аналита, по крайней мере, на ширину одного полного пика при 10 % максимума высоты пика аналита. Для получения дополнительной информации можно использовать комбинированную хроматографию.

## 2.4. ПОДТВЕРЖДАЮЩИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ ЭЛЕМЕНТОВ

Подтверждающие анализы для химических элементов основываются на концепции единообразной идентификации и достоверного, а также точного количественного определения посредством физико-химических свойств, характерных для имеющегося в наличии химического элемента (например, характерная длина волны элемента испускаемого и поглощаемого излучения, атомная масса) на уровне значения.

Нижеследующие методы или сочетания методов считаются подходящими для идентификации химических элементов:

**Таблица 7**

### **Подходящие подтверждающие методы для химических элементов**

Методика	Измеряемые параметры
Анодная линейная вольтаметрия с дифференцированным импульсом	Электрический сигнал
Спектрометрия атомного поглощения	
Пламя	Длина волны поглощения
Образование гидрида	Длина волны поглощения
Холодный пар	Длина волны поглощения
Электротермальная атомизация (графитная печь)	Длина волны поглощения
Спектрометрия атомистического излучения	
Индуктивно связанная плазма	Длина волны излучения
Масс-спектрометрия	
Индуктивно связанная плазма	Отношение массы к заряду

### 2.4.1. Общие рабочие критерии и другие требования к подтверждающим методам

Эталонный или обогащенный материал, содержащий известное количество аналита, при максимально допустимом пределе или близко к нему или при пределе значения (несогласующаяся контрольная проба), а также согласующиеся контрольные материалы и реагент-полоски предпочтительно должны использоваться на протяжении всей процедуры одновременно с каждой партией исследуемой пробы. Рекомендуемый порядок для введения экстракта в аналитический прибор нижеследующий: реагент-полоска, согласующаяся контрольная проба, проба, которая должна быть подтверждена, согласующаяся

контрольная проба и, наконец, несогласующаяся контрольная проба. Любые отклонения от этого должны обосновываться.

Как правило, большинство аналитических методик требуют полного разрушения органической основы, чтобы получить растворы до определения аналита. Это можно достичь, используя процедуры микроволновой минерализации, которые уменьшают риск потери и/или загрязнения исследуемых аналитов. Используются дезинфицированные тefлоновые сосуды хорошего качества. Если прибегают к другим методам влажного или сухого разрушения, должна иметься документально подтвержденная информация, чтобы исключить явления потенциальной потери или загрязнения. Как альтернатива разрушению, при определенных обстоятельствах могут быть выбраны процедуры выделения (например, экстрагирования), чтобы выделить аналиты из компонентов матрицы и/или сделать аналиты концентрированными для введения их в аналитическое оборудование.

Что касается калибровки, внешней или основанной на методе стандартного добавления, следует следить за тем, чтобы не превысить рабочий диапазон, установленный для анализа. В случае внешней калибровки, необходимо готовить калибровочные стандарты в растворе, который по своему составу как можно ближе совпадает с раствором пробы. Также применяется коррекция фона, если этого требуют специальные аналитические обстоятельства.

#### **2.4.2. Дополнительные рабочие критерии и другие требования к количественным методам анализа**

##### *2.4.2.1. Достоверность количественных методов*

В случае повторных анализов разрешенного эталонного материала для элементов, отклонение экспериментально определенного среднего содержания от разрешенного значения не должно находиться за пределами  $\pm 10\%$ . Когда отсутствуют разрешенные эталонные материалы (CRMs), допускается, чтобы достоверность измерений оценивалась через восстановление добавлений известных количеств элемента к неизвестным пробам. Обращают внимание на тот факт, что, в отличие от аналита, добавленный элемент химически не связан в фактической матрице, и поэтому результаты, полученные этим методом, имеют меньшую достоверность, по сравнению с результатами, полученными при использовании CRMs. Данные восстановления приемлемы только в том случае, когда они находятся в пределах  $\pm 10\%$  заданной величины.

##### *2.4.2.2. Точность количественных методов*

В случае повторного анализа пробы, выполняемого при условиях внутрилабораторной сходимости результатов, межлабораторный CV средней величины не должен превышать следующих значений:

**Таблица 8****CVs для количественных методов при диапазоне массовой доли элементов**

Массовая доля	CV (%)
$\geq 10 \mu\text{g}/\text{кг} - 100 \mu\text{g}/\text{кг}$	20
$> 100 \mu\text{g}/\text{кг} - 1\,000 \mu\text{g}/\text{кг}$	15
$\geq 1\,000 \mu\text{g}/\text{кг}$	10

#### 2.4.3. Специальные требования к анодной ленточной вольтаметрии с дифференцированным импульсом (DPASV)

Полное разрушение органического вещества в пробах до определений DPASV имеет самое большое значение. На вольтамограммах не видны широкие сигналы из-за присутствия органических материалов. Составные части неорганической матрицы могут влиять на высоту пиков в DPASV. Поэтому, определение количества необходимо выполнять методом стандартного добавления. Образцы типичных вольтамограмм раствора пробы предоставляются вместе с методом.

#### 2.4.4. Специальные требования к спектрометрии атомистического поглощения (AAS)

Эта методика в основном одноэлементная и поэтому требует оптимизации экспериментальных установок, в зависимости от того, какой конкретный элемент должен быть определен количественно. При возможности, результаты проверяются качественно и количественно, прибегая к альтернативным линиям абсорбции (идеально, выбираются две различные линии). Калибровочные стандарты готовятся в матрице раствора, которая как можно близко подходит к матрице измерения раствора пробы (например, кислотная концентрация или другой состав). Чтобы минимизировать искажение чистых значений, все реактивы должны быть самой высокой чистоты. В зависимости от режима, выбранного для того, чтобы выпарить и/или распылить пробу, можно выделить различные типы AAS.

##### 2.4.4.1. Особые требования к пламенной AAS

Установки прибора оптимизируются для каждого элемента. Особенно необходимо проверять газовый состав и скорости потоков. Необходимо использовать корректор скорости потока, чтобы избежать помех, вызванных фоновой абсорбцией. В случае неизвестных матриц, необходимо проверять, требуется или нет фоновая коррекция.

##### 2.4.4.2. Особые требования к графитной печи AAS

Загрязнение в лаборатории часто влияет на достоверность при работе на уровнях ультраследа в графитной печи. Поэтому должны использоваться реагенты высокой очистки, деионизированная вода и посуда из инертного пластика для проб и стандартной обработки. Оптимизируются установки прибора для каждого элемента. Особенно для условий (температура, время) предварительной обработки и распыления. Необходимо проверять изменения матрицы.

Работа при условиях изотермального распыления (например, поперечная раскаленная графитовая трубка, объединенная с платформой Львова (8)) сократит влияние матрицы, связанное с распылением аналита. При сочетании изменения матрицы и коррекции фона Зеемана (9), разрешается определять количества при помощи калибровочной кривой,

полученной на основании измерения водных стандартных растворов.

#### **2.4.5. Особые требования к атомистической абсорбционной спектрометрии с образованием соединений гидридов**

Органические соединения, содержащие элементы, такие как мышьяк, висмут, германий, свинец, сурьма, селен, олово и теллур могут быть очень стойкими и требуют окислительного расщепления, чтобы получить правильные результаты для всего состава элемента. Поэтому, рекомендуется микроволновое расщепление или высокое давление при условиях сильного окисления. С самой большой осторожностью необходимо следить за полным преобразованием воспроизводимых элементов в их соответствующие гидриды.

Образование гидрида мышьяка в растворе хлористоводородной кислоты с NaBH зависит от степени окисления мышьяка (As III: быстрое образование, As V: более длительный период образования). Чтобы избежать потери чувствительности для определения AsV при методике впрыскивания потока с коротким периодом реакции в этой системе, As V превращается в As III после окислительного расщепления. Йодид калия/аскорбиновая кислота или цистеин подходят для этой цели. Полоски, калибровочные растворы и растворы проб должны обрабатываться одинаково. Работа с системой партии позволяет определить оба соединения мышьяка, не нанося ущерба точности. В связи с замедленным образованием гидрида AsV, калибровку необходимо выполнять выделением пиковых зон. Установки прибора должны быть оптимизированы. Особенно большое значение имеет контроль за газовым потоком, который переносит гидрид к распылителю.

#### **2.4.6. Особые требования к атомистической абсорбционной спектрометрии с холодным паром**

Холодный пар используется только для ртути. В связи с потерями элементарной ртути из-за летучести и поглощения, необходимо соблюдать особую осторожность на всем протяжении выполнения анализа. Следует тщательно избегать загрязнения реагентов и окружающей среды.

Органические соединения, содержащие ртуть, требуют окислительного расщепления, чтобы получать правильные результаты по общему содержанию ртути. Для расщепления должны использоваться запечатанные системы при микроволновом излучении или высоком давлении. Особая осторожность требуется при мойке оборудования, которое контактировало с ртутью. Работа с использованием методики впрыскивания потока имеет преимущество. Для более низких пределов значений рекомендуется адсорбция элементарной ртути на золотом/платиновом адсорбере с последующей термальной десорбцией. Следует избегать контакта адсорбера или элемента с влагой, поскольку это искажает измерения.

#### **2.4.7. Особые требования к атомистической эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-AES)**

Атомистическая эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (10) представляет собой многоэлементный метод, который позволяет одновременно проводить измерения нескольких элементов. Чтобы использовать ICP-AES, пробы вначале необходимо разрушить, чтобы разложить органические матрицы. Используются герметичные системы при микроволновом облучении или высоком давлении. Для значимого анализа ICP-AES, калибровка прибора и элемента или выбор длины волны играют существенную роль. Для калибровки прибора, в случае линейных калибровочных кривых, обычно необходимо измерять калибровочные растворы только четырех концентраций, поскольку калибровочные кривые ICP-AES обычно линейные для четырех - шести значений концентрации. Калибровку системы ICP-AES обычно необходимо выполнять с использованием многоэлементного стандарта, который готовится в растворе, содержащем ту же самую кислотную

концентрацию, что и исследуемый раствор. Для линейной кривой проверяются концентрации элементов.

Выбор длины волн для измерения испускания из аналитов уместен для концентраций определяемых элементов. Когда концентрация аналита выпадает за пределы рабочего диапазона линии испускания, используется другая линия испускания. Вначале, выбирается самая чувствительная линия испускания (без помех), затем менее чувствительная линия. Работая при пределе обнаружения или близко к нему, самым лучшим выбором обычно является самая чувствительная линия для соответствующего аналита. Спектральные и фоновые помехи вызывают основные трудности в использовании ICP-AES. Возможными помехами, например, являются простой фоновый сдвиг, смещение наклона фона, прямое спектральное наложение и комплексный фоновый сдвиг. Каждая из этих помех имеет свои причины и способы их устранения. В зависимости от матриц, применяются коррекции помех и оптимизация рабочих параметров. Некоторых помех можно избежать разбавлением или адаптацией матриц. При каждой партии исследуемых проб необходимо обрабатывать эталонный и обогащенный материал, содержащий известное количество аналита(ов), а также чистый материал, таким же способом, как и исследуемые пробы. Для исследования отклонения проверяется стандарт, например, после 10 проб. Все реактивы и плазменный газ должны быть самой высокой степени очистки.

#### **2.4.8. Особые требования к индуктивно связанной масс-спектрометрии (ICP-MS)(11)**

Определение меченых элементов со средней атомной массой, таких как хром, медь и никель может подвергаться сильному влиянию со стороны других изобарических и многоатомных ионов. Этого можно избежать только в том случае, когда имеется разрешающая способность не менее 7 000-8 000 . Трудности, связанные с методиками MS, включают смещение показаний приборов, воздействия матриц и вмешательство молекулярных ионов ( $m/z < 80$ ). Для коррекции смещения показаний приборов и влияний матрицы необходимо многократная внутренняя стандартизация, охватывающая те же самые диапазоны массы, что и массы элементов, которые должны быть определены.

Необходимо полное разрушение органического материала в пробах до измерений ICP-MS. Аналогично методу AAS, после разрушения в герметичных сосудах летучие элементы, например, йод , должны быть стабилизированы путем окисления. Самое сильное вмешательство является результатом комбинаций молекулярных ионов аргона (плазменный газ), водорода, углерода, азота и кислорода (сильные кислоты, примеси плазменного газа и примеси атмосферных газов) и матрицы пробы. Для того чтобы избежать помех, необходимо полное разрушение, фоновые измерения, соответствующий выбор аналитических масс, иногда связанных с меньшим количеством (более низкий предел обнаружения), и сильных кислот, например, азотной кислоты.

Для определяемых элементов должны быть исключены помехи в результате соответствующего выбора специальных аналитических масс, включая подтверждение уровня изотопов. Для каждого измерения и использованием внутренних стандартов проверяются характеристики приборов, с учетом Fano-факторов.

### **3. ПОДТВЕРЖДЕНИЕ**

Подтверждение показывает, что аналитический метод соответствует критериям, применяемым для соответствующих рабочих характеристик.

Различные цели контроля требуют различных методов. Нижеследующая таблица определяет, какие рабочие характеристики подтверждаются и для каких методов.

**Таблица 9**

**Классификация аналитических методов по рабочим характеристикам, которые должны определяться**

		Предел обнаружения ССВ	Предел значения ССа	Достоверность/восстановление	Точность	Избирательность/специфичность	Применимость/приблизительность/стабильность
Качественные методы	S	+	-	-	-	+	+
	C	+	+	-	-	+	+
Количественные методы	S	+	-	-	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+

S = методы скрининга ; C = подтверждающие методы; + = определение обязательно.

**3.1. ПРОЦЕДУРЫ ПОДТВЕРЖДЕНИЯ**

В настоящей главе приводятся примеры и/или ссылки на процедуры подтверждения аналитических методов. Можно использовать другие методики для показа того, что аналитические методы соответствуют рабочим критериям рабочих характеристик, при условии, что они достигают того же уровня и качества информации.

Подтверждение также можно выполнять, проводя межлабораторные исследования, такие, которые установлены Кодексом Алиментариус, ISO или IUPAC (12), или согласно альтернативным методам, таким как исследования в одной лаборатории или внутреннее подтверждение (13)(14). В этой части сосредоточивается внимание на исследованиях в одной лаборатории (на внутреннем подтверждении) с использованием модульного подхода. Этот подход состоит из:

1. набора общих рабочих характеристик, независимо от используемых моделей подтверждения, и
2. более специфичных, зависящих от моделей процедур, которые описаны в Таблице 10.

**Таблица 10**

**Рабочие параметры, не зависящие от модели и зависящие от модели**

Подтверждение		
Рабочие параметры, не зависящие от модели	Рабочие параметры, зависящие от модели	
Общие рабочие характеристики (3.1.1)	Подход условного подтверждения (3.1.2)	Подход внутреннего подтверждения (3.1.3)



Специфичность	Восстановление	Восстановление
Достоверность	Повторяемость	Повторяемость
Приблизительность: незначительные изменения	Внутрилабораторная сходимость результатов	Внутрилабораторная сходимость результатов
	Сходимость результатов	Сходимость результатов
Стабильность	Предел значения ( $CC\alpha$ )	Предел значения ( $CC\alpha$ )
	Способность обнаружения ( $CC\beta$ )	Способность обнаружения ( $CC\beta$ )
	Калибровочная кривая	Калибровочная кривая
	Приблизительность: основные изменения	Приблизительность

### 3.1.1. Не зависящие от модели рабочие характеристики

Независимо от выбранного метода подтверждения, необходимо определять нижеследующие рабочие характеристики. Чтобы свести к минимуму рабочую нагрузку, можно использовать тщательно разработанную и статистически надежную методику, для того чтобы сочетать выполняемые эксперименты для определения различных параметров.

#### 3.1.1.1. Специфичность

Для аналитических методов большое значение имеет способность установления различий между аналитом и тесно связанными веществами (изомеры, метаболиты, продукты распада, эндогенные вещества, составляющие матрицы и т.д.). Для проверки помех необходимы два метода.

Поэтому, необходимо выявить потенциально вмешивающиеся вещества и проанализировать соответствующие чистые пробы с целью обнаружения присутствия возможных помех и оценить влияние этих помех:

—выбрать ряд химически связанных соединений ( метаболитов, производных и т.д.) или других веществ, присутствующих в пробах, которые могут влиять на исследуемые соединения;

—проанализировать соответствующее число репрезентативных чистых проб ( $n \geq 20$ ) и выявить помехи (сигналы, пики, следы ионов) в области исследования, где предполагается выделение контролируемого аналита;

—дополнительно репрезентативные чистые пробы при соответствующей концентрации обогащаются веществами, которые могут влиять на идентификацию и/или определение количества аналита;

—после анализа, исследуйте:

—может ли присутствие привести к ошибочной идентификации,

—затруднена ли идентификация исследуемого аналита присутствием одной или более помех, или

—значительно ли воздействие на определение количества.

#### 3.1.1.2. Достоверность

В настоящем параграфе описывается определение достоверности (один из компонентов вероятности). Достоверность может быть установлена только при помощи разрешенного эталонного материала (CRM). Разрешенный эталонный материал ( CRM ) должен использоваться всякий раз, когда он имеется в наличии. Процедура подробно описана в ISO 5725-4 (5). Ниже приводится пример:

- проанализируйте шесть реплик CRM в соответствии с инструкциями проведения исследований для этого метода,
- определите концентрацию аналита, присутствующего в каждой пробе реплик,
- определите среднее стандартное отклонение и коэффициент вариации (%) для этих концентраций,
- определите достоверность путем деления вычисленной средней концентрации на разрешенное значение (измеренное как концентрация) и умножьте на 100, чтобы выразить результат в процентном содержании.

Достоверность (%) = обнаруженная средняя откорректированная восстановлением концентрация  $\times$  100/разрешенное значение.

Если отсутствует CRM, вместо достоверности можно определять восстановление, как описано ниже согласно 4.1.2.1.

### 3.1.1.3. *Применимость /Приблизительность (незначительные изменения)*

В подобных исследованиях лаборатории намеренно используют введение незначительных разумных вариаций и наблюдение за их последствиями.

До исследований необходимо провести предварительное изучение посредством выбора факторов предварительной обработки, очистки и анализа проб, которые могут влиять на результаты измерений. Такие факторы могут включать аналитика, источник и срок реактивов, растворителей, стандартов и экстракты проб, скорость нагрева, температуру, значение pH, а также многие другие факторы, которые могут иметь место в лаборатории. Эти факторы должны меняться в пределах величины, которая соответствует отклонениям, обычно встречающимся в лабораториях.

- Установить возможные факторы, которые могут влиять на результаты.
- Немного изменить каждый фактор.
- Провести сравнительное тестирование, используя метод Youden (15)(16). (В этом пункте можно использовать другие одобренные методы. Однако, метод Youden сводит время и усилия до минимума). Метод Youden представляет собой дробный факториальный расчет. Взаимодействия между различными факторами не обнаруживаются.
- Если выявляется, что фактор влияет на результаты измерений значительно, проведите новые эксперименты, чтобы принять решение о приемлемых пределах этого фактора.
- Факторы, значительно влияющие на результаты, должны четко определяться в протоколе метода.

Основная идея заключается не в том, чтобы изучить одно изменение в какое-то время, а ввести несколько вариаций сразу. Например, пусть A, B, C, D, E, F, G обозначают номинальные значения для семи различных факторов, которые могут влиять на результаты, если их номинальные результаты меняются незначительно. Пусть их альтернативные значения обозначены соответствующими строчными буквами a, b, c, d, e, f и g. Этот результат  $2^7$  или 128 различных комбинаций.

Можно выбрать подряд из восьми из этих комбинаций, которые имеют соотношение между

заглавными и строчными буквами (Таблица 11). Необходимо сделать восемь определений, в которых используется комбинация из выбранных факторов (A-G). Результаты определений показаны в приведенной ниже Таблице 11 как S-Z.

**Таблица 11**  
**Экспериментальный расчет изучения приблизительности**  
**(незначительные изменения)**

Значение фактора F	Комбинация числа определений							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A/a	A	A	A	A	a	a	a	a
B/b	B	B	b	b	B	B	b	b
C/c	C	c	C	c	C	c	C	c
D/d	D	D	d	d	d	d	D	D
E/e	E	e	E	e	e	E	e	E
F/f	F	f	f	F	F	f	f	F
G/g	G	g	g	G	g	G	G	g
Полученный результат R		T	U	V	W	X	Y	Z

Для расчетов смотри примеры исследования приблизительности в 3.3.

#### 3.1.1.4. Стабильность

Было выявлено, что недостаточная стабильность аналита или составляющих матрицы в пробе во время хранения или анализа может привести к значительным отклонениям в полученном результате анализа. Более того, необходимо проверять стабильность калибровочного стандарта в растворе. Обычно стабильность аналита хорошо характеризуется при различных условиях хранения. Контроль условий хранения составляет часть обычной системы аккредитации лаборатории. Для случаев, когда стабильность неизвестна, ниже приводятся примеры, как можно определить ее.

Стабильность аналита в растворе:

- Приготовьте основные растворы аналита(ов) и растворите его, как указано в инструкциях по проведению исследований, чтобы получить достаточное количество кратных частей (например, 40) каждой выбранной концентрации (около минимального обязательного рабочего предела для веществ, для которых не установлен допустимый предел или около допустимого предела для других веществ. Приготовьте оба раствора аналита, используемые для обогащения и используемые в заключительном анализе раствора, и любой другой раствор, который исследуется (например, производные стандарты).
- Измерьте содержание аналита в свежеприготовленном растворе согласно инструкциям тестирования.
- Отлейте соответствующие объемы в подходящие контейнеры, наклейте этикетку и храните согласно схеме:

Таблица 12

Схема определения стабильности аналита в растворе

	- 20 °С	+ 4 °С	+ 20 °С
Темнота	10 частей	10 частей	10 частей
Свет			10 частей

- Время хранения можно выбирать, равное одной, двум, трем или четырем неделям или больше, если необходимо, например, до регистрации феномена первого ухудшения во время идентификации и/или определения количества. Необходимо регистрировать максимальное время хранения и оптимальные условия хранения.
- Расчет концентрации аналита(ов) в каждой кратной части должен выполняться с использованием на 100 % свежего раствора аналита, приготовленного во время анализа.

$$\text{Аналит } C_{\text{сохраняющийся}} (\%) = C_i \times 100 / C_{\text{свежий}}$$

$C_i$  = концентрация в данное время

$C_{\text{fresh}}$  = концентрация свежего раствора

Стабильность аналита(ов) в матрице

- Когда возможно, необходимо использовать нестабильные пробы. Когда отсутствует нестабильный материал, необходимо использовать матрицу, обогащенную аналитом.
- Когда имеется нестабильный материал, концентрацию материала необходимо определять пока материал свежий. Новые кратные части вещества можно брать спустя одну, две, четыре и 20 недель и определять концентрации. Ткань необходимо хранить при температуре, по крайней мере, минус 20 °С или ниже, если требуется.
- Если нестабильный материал отсутствует, возьмите чистый материал и гомогенизируйте его. Разделите материал на пять равных частей. Обогащите каждую часть аналитом, который желательно приготовить в небольшом количестве водного раствора. Немедленно выполните анализ одной части. Храните оставшиеся части при температуре, по крайней мере, минус 20 °С или ниже, если требуется, и проанализируйте их спустя одну, две, четыре и 20 недель.

3.1.1.5. Калибровочные кривые

Когда калибровочные кривые используются для определения количества:

- не менее пяти уровней (включая ноль) необходимо использовать в построении кривой,
- необходимо описать рабочий диапазон кривой,
- необходимо описать математическую формулу кривой и достоверность данных кривой,
- необходимо описать диапазоны приемлемости для параметров кривой.

Когда необходима серийная калибровка, основанная на стандартном растворе, указываются приемлемые диапазоны для параметров калибровочной кривой, которая может изменяться от серии к серии.

### 3.1.2. Процедуры условного подтверждения

Расчет параметров в соответствии с условными методами требует выполнения нескольких отдельных экспериментов. Каждая рабочая характеристика должна определяться для каждого основного изменения (смотри выше под применимость/вероятность). Для многоаналитных методов одновременно можно анализировать несколько аналитов, с предварительным устранением, насколько возможно, соответствующих помех. Несколько характеристик можно определять аналогичным путем. Так, чтобы уменьшить рабочую нагрузку, рекомендуется по возможности сочетать эксперименты (например, повторяемость и внутрилабораторная сходимости результатов со специфичностью, анализом чистых проб для определения предела значения и исследования на специфичность).

#### 3.1.2.1. Восстановление

Если отсутствует CRM, восстановление необходимо определять при помощи экспериментов с использованием обогащенной чистой матрицы, применяя, например, нижеследующие схемы:

- выберите 18 кратных частей чистого материала и обогатите каждые шесть частей в 1, 1,5 и 2 раза при минимальном обязательном рабочем пределе или в 0,5, 1 и 1,5 раза при допустимом пределе,
- проанализируйте пробы и определите концентрацию, присутствующую в каждой пробе,
- используя приведенное ниже уравнение, определите восстановление для каждой пробы,
- определите среднее значение восстановления и CV из шести результатов на каждом уровне,
- % Восстановление =  $100 \times \text{измеренное содержание/уровень обогащения}$ .

Этот условный метод определения восстановления представляет собой вариант метода стандартного добавления, описанного в 3.5, когда:

- Проба рассматривается как чистая проба вместо анализируемой пробы,
- Считается, что выход <sup>(1)</sup> и восстановление <sup>(2)</sup> одинаковые для двух исследуемых частей,
- Исследуемые пробы имеют одинаковые массы и из исследуемой части извлекаются одинаковые объемы,
- Количество калибровочного стандарта, которое добавляется к второй (каждой последующей) исследуемой части обозначается  $x_{ADD}$ . ( $x_{ADD} = \rho_A \cdot V_A$ ),
- $x_1$  - измеренное значение для чистой и  $x_2$  - измеренное значение для второй (последующей) исследуемой части,
- тогда, % Восстановление =  $100 (x_1 - x_2)/x_{ADD}$

Когда не достигается любое из вышеуказанных (или предполагаемых) условий, необходимо выполнить полную процедуру определения восстановления при помощи метода стандартного добавления, описанного в 3.5.

#### 3.1.2.2. Повторяемость

---

<sup>(1)</sup> Выход: та фракция массы аналита, содержащаяся в пробе, которая присутствует в конечном экстракте.

<sup>(2)</sup> Восстановление (здесь): та фракция массы аналита, добавленная к пробе, которая присутствует в конечном экстракте. В остальной части документа предполагается, что выход и восстановление равны, поэтому используется только термин 'восстановление'.

- Приготовьте набор проб идентичных матриц, обогащенных аналитом, для получения концентраций, эквивалентных 1, 1,5 и 2 раза минимальному обязательному рабочему пределу или 0,5, 1 и 1,5 раза допустимому пределу.
- Для каждого уровня анализ необходимо выполнять не меньше, чем с шестью повторениями.
- Проанализируйте пробы.
- Определите обнаруженную концентрацию в каждой пробе.
- Найдите среднее значение концентрации, стандартное отклонение и коэффициент вариации (%) обогащенных проб.
- Повторите эти этапы, по крайней мере, еще два раза.
- Вычислите общее среднее значение концентрации и коэффициенты вариации (CV) для обогащенных проб.

### 3.1.2.3. Внутрिलाбораторная сходимость результатов

- Приготовьте набор проб установленного исследуемого материала (идентичные или различные матрицы), обогащенного аналитом(ами), чтобы получить концентрации, эквивалентные 1, 1,5 2 раза минимальному обязательному рабочему или 0,5, 1 1,5 раза допустимому пределу.
- На каждом уровне анализ необходимо выполнять не менее, чем с шестью повторениями.
- Повторите эти этапы, по крайней мере, еще два раза с различными операторами и различными условиями окружающей среды, например, различные партии реактивов, растворителей и т.д., различные температуры помещений, различные приборы и т.д., если возможно.
- Проанализируйте пробы.
- Вычислите концентрацию каждой пробы.
- Найдите среднее значение концентрации, стандартное отклонение и коэффициент вариации (%) обогащенных проб.

### 3.1.2.4. Сходимость результатов

Когда необходимо проверить сходимость результатов, лаборатории должны участвовать в совместных исследованиях согласно ISO 5725-2 (5).

### 3.1.2.5. Предел значения (ССα)

Предел значения необходимо устанавливать согласно требованиям идентификации или идентификации плюс количественный анализ, как указано в 'Рабочих критериях и других требованиях к аналитическим методам' (часть 2).

Что касается веществ, для которых не установлен допустимый предел, СС $\alpha$  может быть установлен:

- или при помощи процедуры калибровочной кривой согласно ISO 11843 (17) (здесь ссылаются как на критическое значение переменной чистого состояния). В этом случае используется чистый материал, который обогащается до минимального обязательного рабочего уровня

и выше через эквидистантные шаги. Проанализируйте пробы. После идентификации нанесите значение найденной концентрации. Соответствующая концентрация на  $u$ -отрезке координатной оси плюс 2,33 раза стандартного отклонения внутрилабораторной сходимости результатов отрезка координатной оси равняется пределу значения. Это применимо только к количественным анализам ( $\alpha = 1\%$ ),

- или путем анализа, по крайней мере, 20 чистых материалов на матрице, чтобы была возможность вычислить соотношение между сигналом и шумом во временном окне, в котором ожидается аналит. Соотношение между сигналом и шумом может использоваться в качестве предела значения три раза. Это применимо как к количественным, так и к качественным анализам.

В отношении веществ с установленным допустимым пределом,  $CC\alpha$  может устанавливаться:

- или при помощи процедуры калибровочной кривой согласно ISO 11843 (17) (здесь ссылаются как на критическое значение переменной чистого состояния). В этом случае используется чистый материал, который обогащается около разрешенного предела через эквидистантные шаги. Проанализируйте пробы. После идентификации нанесите значение найденной концентрации. Соответствующая концентрация при допустимом пределе плюс 1,64 раза стандартного отклонения внутрилабораторной сходимости результатов равняется пределу значения ( $\alpha = 5\%$ ),
- или путем анализа, по крайней мере, 20 чистых материалов в матрице, обогащенной аналитом(ами) при допустимом пределе. Концентрация при допустимом пределе плюс 1,64 раза соответствующего стандартного отклонения равны пределу значения ( $\alpha = 5\%$ ).

Смотри также Статью 5 и пункт 3.2.

### 3.1.2.6. Способность к обнаружению ( $CC\beta$ )

Способность к обнаружению должна определяться в соответствии с требованиями к скринингу, идентификации или идентификации плюс определение количества, как указано (смотри часть 2).

В отношении веществ, для которых не установлен допустимый предел,  $CC\beta$  может устанавливаться при помощи:

- процедуры калибровочной кривой согласно ISO 11843 (17) (здесь ссылаются как на минимальное обнаруживаемое значение переменной чистого состояния). В этом случае используется репрезентативный чистый материал, который обогащен при минимальном обязательном рабочем уровне и ниже его через эквидистантные шаги. Проанализируйте пробы. После идентификации нанесите значение найденной концентрации. Соответствующая концентрация при пределе значения плюс 1,64 раз стандартного отклонения внутрилабораторной сходимости результатов среднего значения измеренного содержания при пределе значения равна способности обнаружения ( $\beta = 5\%$ ),
- проведения анализа, по крайней мере, 20 чистых проб материалов на матрице, обогащенной аналитом(ами) при пределе значения. Проанализируйте пробы и определите аналиты. Величина предела значения плюс 1,64 раза стандартного отклонения внутрилабораторной сходимости результатов измеренного содержания равняется способности обнаружения ( $\beta = 5\%$ ),
- где отсутствуют количественные результаты, способность к обнаружению можно определять путем исследования обогащенного чистого материала при вышеуказанном пределе значения и выше

его. В этом случае уровень концентрации, где остается только  $\leq 5$  % ошибочных согласующихся результатов, равен способности обнаружения метода. Поэтому, необходимо выполнять не менее 20 исследований, по крайней мере, для одного уровня концентрации, с целью обеспечения надежной основы для этого определения. В отношении веществ, для которых установлен допустимый предел,  $CC\beta$  может быть установлен:

- или при помощи процедуры калибровочной кривой согласно ISO 11843 (17) (здесь ссылаются как на минимальное обнаруживаемое значение переменной состояния системы). В этом случае используется репрезентативный чистый материал, который обогащен около разрешенного предела через эквидистантные шаги. Проанализируйте пробы и определите аналит(ы). Вычислите стандартное отклонение среднего значения измеренного содержания при пределе значения. Соответствующая концентрация при величине предела значения плюс 1,64 раза стандартное отклонение внутрилабораторной сходимости результатов равно способности обнаружения ( $\beta = 5$  %),
- путем проведения анализа не менее 20 чистых материалов на матрице, обогащенной аналитом(ами) при пределе значения. Величина предела значения плюс 1,64 раза соответствующего стандартного отклонения равна способности обнаружения ( $\beta = 5$  %).

Смотри также раздел 3.2.

#### 3.1.2.7. Приблизительность (значительные изменения)

Аналитический метод необходимо исследовать при различных экспериментальных условиях, которые, например, включают различные виды, различные матрицы или различные условия отбора проб. Вводимые изменения должны быть значительными. Важность этих изменений, например, можно оценивать с использованием метода Youden (15)(16). Каждая рабочая характеристика должна определяться для всех значительных изменений, которые оказывают значительное влияние на выполнение анализа.

#### 3.1.3. Подтверждение в соответствии с альтернативными моделями

Когда применяются процедуры альтернативного подтверждения, основная модель и стратегия с соответствующими предпосылками, предположениями и формулами устанавливаются в протоколе подтверждения или, по крайней мере, должны быть приведены ссылки на их наличие. Ниже приводится пример альтернативного подхода. Применяя, например, модель внутреннего подтверждения, рабочие характеристики определяются таким образом, который позволяет провести подтверждение значительных изменений в пределах той же самой процедуры подтверждения. Это требует разработки экспериментального плана подтверждения.

##### 3.1.3.1. Экспериментальный план

Экспериментальный план должен разрабатываться в зависимости от числа исследуемых различных видов и различных факторов. Следовательно, первый шаг всей процедуры подтверждения рассматривает исследуемые популяции, которые в будущем будут анализироваться в лаборатории, для того чтобы отобрать наиболее важные виды и те факторы, которые могут влиять на результаты измерений. Впоследствии, выбирается диапазон концентрации в зависимости от цели согласно уровню значимости.

Пример:

- одновременно можно исследовать несколько аналитов при помощи подтверждаемого аналитического метода,



- определяются два варианта ведущего фактора (А и В). Ведущие факторы образуются основу, по которой комбинируются уровни факторов. Эти ведущие факторы могут включать такие факторы, как виды или матрица. В этом примере ведущий фактор менялся на двух уровнях, т.е. рассматривались два различных вида (виды А и В). Следовательно, возможно менять ведущие факторы на более чем двух уровнях, что только увеличивает число анализов, которое необходимо выполнить,
- отобранные факторы должны изменяться на двух уровнях (обозначенные как + или -).

**Таблица 13**

**Примеры факторов, которые считаются важными для процедуры подтверждения**

Пол животного	(фактор 1)
Порода	(фактор 2)
Условия перевозки	(фактор 3)
Условия хранения	(фактор 4)
Свежесть пробы	(фактор 5)
Условия откорма	(фактор 6)
Различные операторы с различным опытом	(фактор 7).

**Таблица 14**

**Возможный экспериментальный план для приведенного выше примера**

Вид	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3	Фактор 4	Фактор 5	Фактор 6	Фактор 7	Проба No
А	+	+	+	+	-	+	-	1
А	+	+	-	-	+	-	-	2
А	+	-	+	-	-	-	+	3
А	+	-	-	+	+	+	+	4
А	-	+	+	-	+	+	+	5
А	-	+	-	+	-	-	+	6
А	-	-	+	+	+	-	-	7
А	-	-	-	-	-	+	-	8
В	+	+	+	+	+	-	+	9
В	+	+	-	-	-	+	+	10
В	+	-	+	-	+	+	-	11
В	+	-	-	+	-	-	-	12
В	-	+	+	-	-	-	-	13
В	-	+	-	+	+	+	-	14
В	-	-	+	+	-	+	+	15
В	-	-	-	-	+	-	+	16

Поскольку каждая проба (каждая комбинация уровня фактора) должна быть связана с четырьмя различными концентрациями около уровня значения, и одна чистая проба должна анализироваться для каждого уровня,  $5 \times 16 = 80$  анализов должно быть выполнено для всего эксперимента подтверждения.

Из этих 80 результатов измерений есть возможность вычислить (13)(14).  
Восстановление

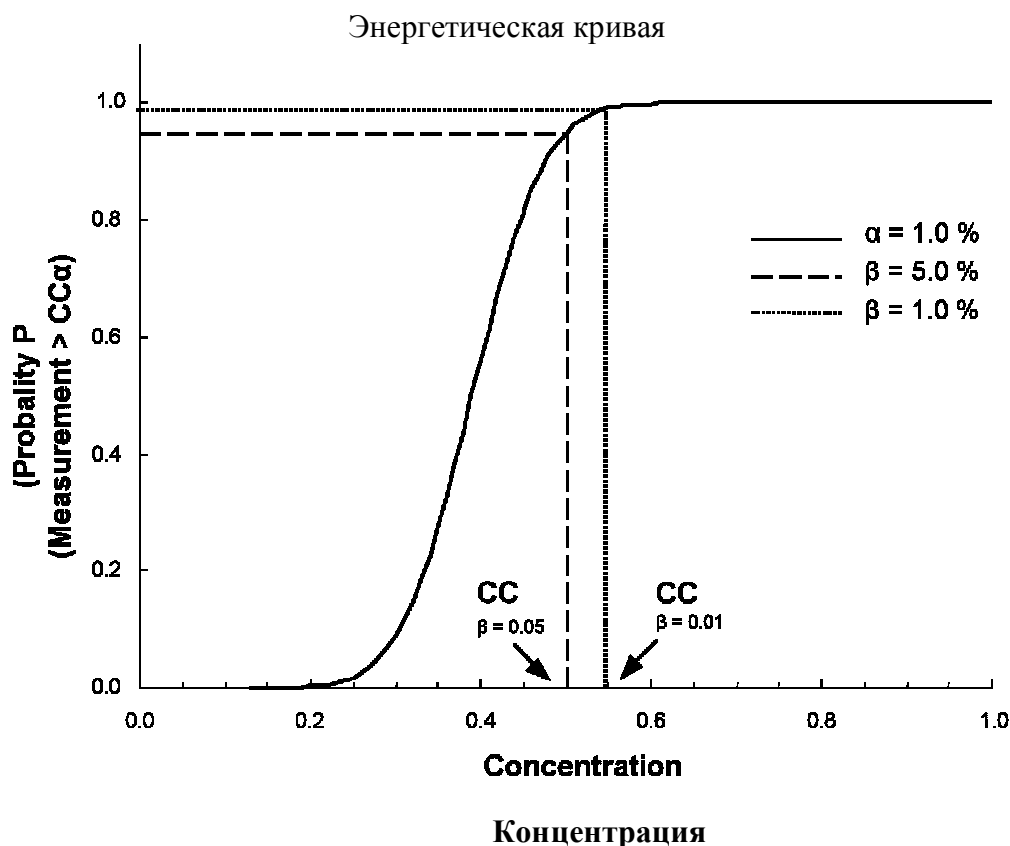
- повторяемость уровня концентрации ( $s$ ),  $ir$
- внутрिलाбораторную сходимость результатов уровня концентрации ( $s$ ),
- предел значения ( $CC\alpha$ ),
- способность обнаружения ( $CC\beta$ ),
- кривую энергии ( $\beta$ -погрешность интенсивности против концентрации (смотри 3.1.3.2),
- приблизительность значительных изменений; приблизительность незначительных изменений могут определяться согласно параграфу 3.1.1.3,
- 16 связанных с пробами калибровочных кривых,
- одна общая калибровочная кривая,
- прогнозируемый интервал общей калибровочной кривой,
- отклонения, вызванные матрицей ( $s$ ),  $mat$
- отклонения, вызванные ходом работы ( $s$ ),  $run$
- влияние отдельных факторов на результаты измерений.

Эти рабочие характеристики позволяют выполнять тщательную оценку качества этого метода, поскольку исследуется не только влияние отдельных факторов, но и соответствующих сочетаний этих факторов. С помощью конструкции этого эксперимента появляется возможность решать, исключается ли один или другой отобранный фактор из общей калибровочной кривой, поскольку он значительно отличается от стандартных отклонений других факторов.

### 3.1.3.2. Энергетическая кривая

Энергетическая кривая предоставляет информацию о способности обнаружения метода в пределах выбранного диапазона концентрации. Она относится к  $\beta$ - погрешности риска при применении исследуемого метода. Энергетическая кривая позволяет рассчитывать способности обнаружения для соответствующих категорий (скрининг, подтверждение) или впов (качественный или количественный) методов для определенной  $\beta$ -погрешности (например, 5 %).

Рисунок 1



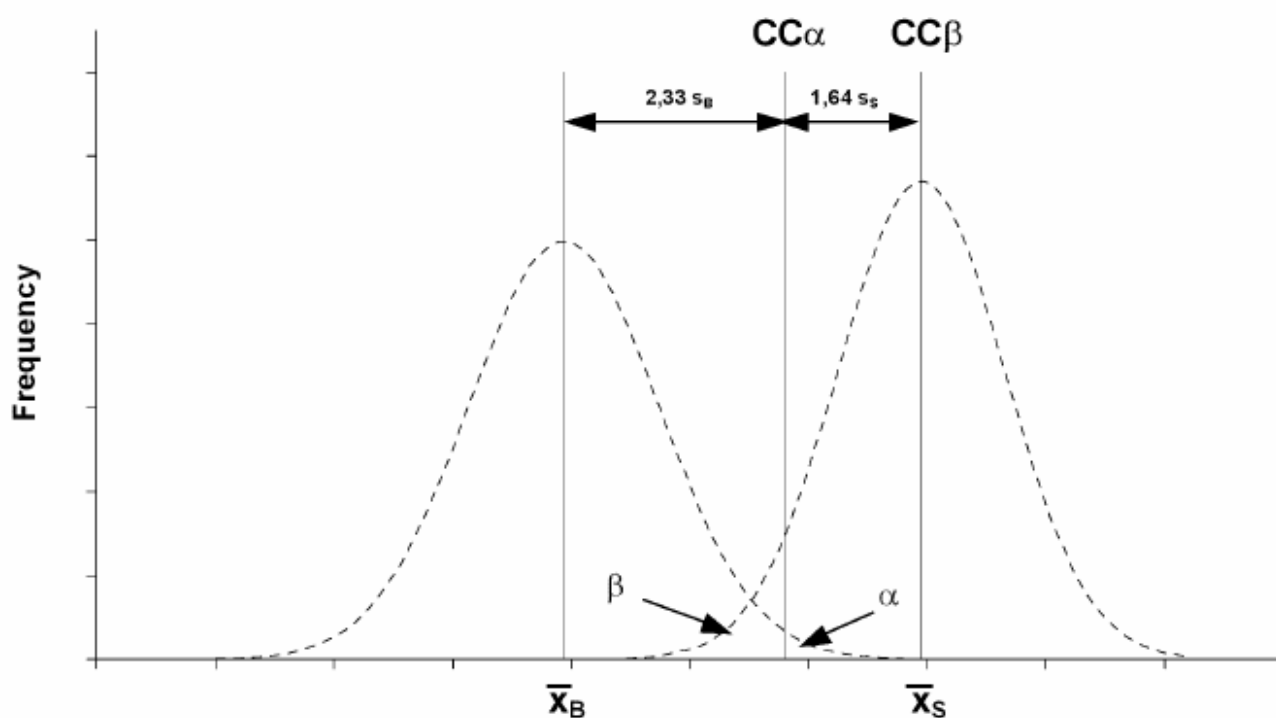
На Рисунке 1 приводится пример графического выполнения способности обнаружения ( $CC\beta$ ) аналитического метода. В этом определенном методе остается риск принятия ошибочного решения, равного 5 % при концентрации  $0,50 \mu\text{g}/\text{kg}$ . При концентрации  $0,55 \mu\text{g}/\text{kg}$  риск принятия ошибочного согласующегося решения уменьшается до 1 %.

### 3.1.3.3. Сходимость результатов

Определение сходимости результатов метода при помощи концепции единичных лабораторных исследований (внутреннее подтверждение) требует повторного участия в исследованиях по специальной подготовке в соответствии с руководством ISO 43-1 (3) и 43-2 (4). Лабораториям разрешается выбирать свои собственные методы, при условии, что эти методы используются при обычных условиях. Стандартное отклонение лаборатории может использоваться для оценки сходимости результатов метода.

### 3.2. ГРАФИЧЕСКОЕ ИСПОЛНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АНАЛИТИЧЕСКИХ ПРЕДЕЛОВ

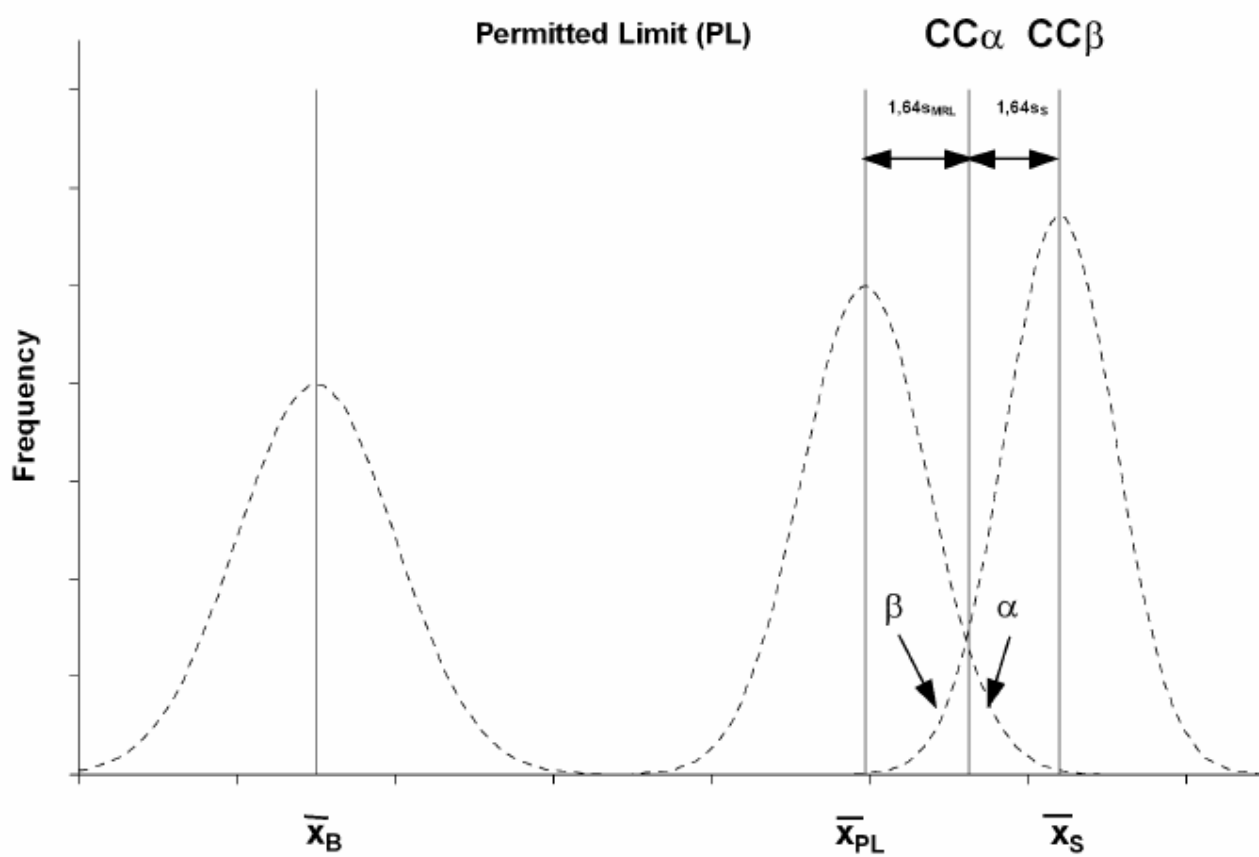
Рисунок 2  
Вещества, для которых не установлен допустимый предел



#### Ответ

- $X_S$  Среднее значение ответа загрязненной пробы
- $S_B$  Стандартное отклонение чистой пробы (определенное при внутрилабораторных условиях сходимости результатов)
- $S_S$  Стандартное отклонение загрязненной пробы (определенное при внутрилабораторных условиях сходимости результатов)
- $S_{PL}$  Стандартное отклонение пробы, содержащей аналит при допустимом пределе (определенное при внутрилабораторных условиях сходимости результатов)
- A Коэффициент ошибочных несогласующихся результатов
- B Коэффициент ошибочных согласующихся результатов
- $CC_\alpha$  Ответ при данной  $\alpha$ -погрешности и 50%  $\beta$ -погрешности
- $CC_\beta$  Ответ при незначительной  $\alpha$ -погрешности и  $\beta$ -погрешности

Рисунок 3  
 Вещества с установленным допустимым пределом



### Концентрация

- $X_B$       средняя 'концентрация' чистой пробы
- $X_{PL}$     средняя концентрация пробы, содержащей аналит при допустимом пределе
- $X_C$       средняя концентрация загрязненной пробы
- $S_{PL}$     Стандартное отклонение пробы, содержащей аналит при допустимом пределе  
 (определенное при внутрилабораторных условиях сходимости результатов)
- $S_S$       Стандартное отклонение содержащейся пробы (определенное при  
 внутрилабораторных условиях сходимости результатов)
- A          Степень ошибочных несогласующихся результатов
- B          Степень ошибочных согласующихся результатов
- $CC_{\alpha}$     Ответ при данной  $\alpha$ -погрешности и 50%  $\beta$ -погрешности
- $CC_{\beta}$     Ответ при незначительной  $\alpha$ -погрешности и данной  $\beta$ -погрешности

### 3.3. ПРИМЕР РАСЧЕТА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИБЛИЗИТЕЛЬНОСТИ НЕЗНАЧИТЕЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В СООТВЕТСТВИИ С МЕТОДОМ YOUNDEN (16)

#### Сравнение средних результатов (А)

$A_A = \sum(A_i)/4$  Сравните средние результаты заглавных букв ( $A_A - A_G$ ) со средними результатами их соответствующих строчных букв ( $A_a - A_g$ ). Если фактор оказывает влияние, различие будет значительно больше, чем различия других факторов.

$A_B = \sum(B_i)/4$

$A_C = \sum(C_i)/4$  На надежный метод не должны влиять изменения, которые почти наверняка присутствуют в лабораториях.

$A_D = \sum(D_i)/4$  Если нет существенного различия, самое реальное измерение случайной погрешности определяется семью различиями.

$A_E = \sum(E_i)/4$

$A_F = \sum(F_i)/4$

$A_G = \sum(G_i)/4$

$A_a = \sum(a_i)/4$

$A_b = \sum(b_i)/4$

$A_c = \sum(c_i)/4$

$A_d = \sum(d_i)/4$

$A_e = \sum(e_i)/4$

$A_f = \sum(f_i)/4$

$A_g = \sum(g_i)/4$

Разница ( $D_i$ )	Квадраты разниц ( $D_i^2$ )
$D_a = A - a = \sum(A_i) - \sum(a_i)$	$D_a^2 = \text{значение } a$
$D_b = B - b = \sum(B_i) - \sum(b_i)$	$D_b^2 = \text{значение } b$
$D_c = C - c = \sum(C_i) - \sum(c_i)$	$D_c^2 = \text{значение } c$
$D_d = D - d = \sum(D_i) - \sum(d_i)$	$D_d^2 = \text{значение } d$
$D_e = E - e = \sum(E_i) - \sum(e_i)$	$D_e^2 = \text{значение } e$
$D_f = F - f = \sum(F_i) - \sum(f_i)$	$D_f^2 = \text{значение } f$
$D_g = G - g = \sum(G_i) - \sum(g_i)$	$D_g^2 = \text{значение } g$

Стандартные отклонения различий  $D_i$  ( $S_{Di}$ ):

$$S_{Di} = \sqrt{2 * \sum(D_i^2 / 7)}$$

Когда  $S_{Di}$  значительно больше стандартного отклонения метода, выполняемого при внутрилабораторных условиях сходимости результатов согласно (смотри выше), делается заранее принятое заключение, что все факторы вместе влияют на результат, даже если каждый отдельный фактор не оказывает значительного влияния, и что это метод не достаточно надежный для выбранных модификаций.

### 3.4. ПРИМЕРЫ РАСЧЕТА ДЛЯ ВНУТРЕННЕЙ ПРОЦЕДУРЫ ПОДТВЕРЖДЕНИЯ

Примеры и расчеты для внутреннего протокола подтверждения, которые описаны в пункте (3.1.3) «Подтверждение в соответствии с альтернативными моделями» (13) (14).

### 3.5. ПРИМЕРЫ ДЛЯ МЕТОДА СТАНДАРТНОГО ДОБАВЛЕНИЯ

Исследуемая проба с содержанием  $T$  аналита делится на две исследуемые части 1 и 2 с соответствующими массами  $m_1$  и  $m_2$ . Исследуемая часть 2 соединяется с объемом  $V_A$  раствора аналита, имеющего концентрацию  $\rho_A$ . Два экстракта исследуемых частей с соответствующими объемами  $V_1$  и  $V_2$  получают после стадий экстрагирования и очищения этого метода. Предполагается, восстановление аналита равно  $rc$ . Оба экстракта анализируются с применением метода измерения чувствительности  $b$ , которые дают аналитическую характеристику, соответственно равную  $x_1$  и  $x_2$ .

Если допустить, что  $rc$  и  $b$  одинаковы для аналита в родной пробе и в соединенной пробе, можно рассчитать содержание  $T$ , как :

$$T = x_1 \cdot V_1 \cdot \rho_A \cdot V_A / (x_2 \cdot V_2 \cdot m_1 - x_1 \cdot V_1 \cdot m_2)$$

Метод позволяет определить  $rc$  восстановления. Затем, в дополнение к описанному выше анализу, часть экстракта исследуемой части 1 (объем  $V_3$ ) соединяется с известным количеством  $\rho_B \cdot V_B$  аналита и анализируется. Аналитический ответ равен  $x_3$ , а восстановление равно:

$$rc = x_2 \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot \rho_B \cdot V_B / [x_3 \cdot V_1 \cdot V_3 (T \cdot m_2 + \rho_A \cdot V_A) - x_2 \cdot V_2 \cdot T \cdot m_1 (V_3 - V_B)]$$

Более того, возможно рассчитать чувствительность  $b$ , как:

$$b = x_1 \cdot V_1 / rc \cdot T \cdot m_1$$

Все условия применения и подробная информация описаны (18).

## 4. ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

AAS	Атомистическая абсорбционная спектрометрия
AES	Атомистическая эмиссионная спектрометрия
АОАС-I	Ассоциация официальных химиков-аналитиков МЕЖДУНАРОДНАЯ
B	Связанная фракция (иммунологические анализы)
CI	Химическая ионизация
CRM	Разрешенный эталонный материал
CV	Коэффициент вариации
2 D	Двухмерный

DAD	Диодное обнаружение
DPASV	Анодная ленточная вольтамметрия с дифференцированным импульсом
ECD	Обнаружение поимкой электронов
EI	Ионизация электронным ударом
GC	Газовая хроматография
HPLC	Жидкостная хроматография высокого разрешения
HPTLC	Тонкослойная хроматография высокого разрешения
HRMS	Высокая разрешающая способность (масс-спектрометрия)
ICP-AES	Индуктивно связанная плазма - атомистическая эмиссионная спектрометрия
ICP-MS	Индуктивно связанная плазма – масс-спектрометрия
IR	Инфракрасный
ISO	Международная организация стандартов
LC	Жидкостная хроматография
LR(MS)	Низкая разрешающая способность (масс-спектрометрия)
MRPL	Минимальный обязательный рабочий предел
MS	Масс-спектрометрия
m/z	Отношение массы к заряду
RF	Относительное движение к фронту растворителя (TLC)
RSDL	Относительные стандартные отклонения лаборатории
SIM	Мониторинг отобранного иона
TLC	Тонкослойная хроматография
UV	Ультрафиолетовый свет
VIS	Видимый свет

## 5. ЛИТЕРАТУРА

- (1) ISO 17025: 1999 General requirement for the competence of calibration and testing laboratories.
- (2) ISO 3534-1: 1993 Statistical Methods for quality control — Vol. 1 vocabulary and symbols.
- (3) (3) ISO Guide 43-1: 1997 Proficiency testing by interlaboratory comparisons — Part 1: Development and operation of proficiency testing schemes.
- (4) ISO Guide 43-2: 1997 Proficiency testing by interlaboratory comparisons — Part 2: Selection and use of proficiency testing schemes by laboratory accreditation bodies.
- (5) (5) ISO 5725: 1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions; ISO 5725-2 Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method; Part 4: Basic methods for the determination of the trueness of a standard measurement method.
- (6) (6) ISO 78-2: 1999 Chemistry — Layouts for standards — Part 2: Methods of chemical analysis.
- (7) (7) W.G de Ruig and J.M Weseman ‘A new approach to confirmation by infrared



spectrometry' J. Chemometrics 4 (1990) 61-77.

- (8) (8) See e.g. May, T.W., Brumbaugh, W.G., 1982, Matrix modifier and L'vov platform for elimination of matrix interferences in the analysis of fish tissues for lead by graphite furnace atomic absorption spectro- metry: Analytical Chemistry 54(7): 1032-1037 (90353).
- (9) (9) Applications of Zeeman Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry in the Chemical Laboratory and in Toxicology, C. Minoia, S. Caroli (Eds.), Pergamon Press (Oxford), 1992, pp. xxvi + 675.
- (10)(10) Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry, A. Montaser, D. W. Golightly (Eds.), VCH Publishers, Inc. (New York), 1992.
- (11)(11) Plasma Source Mass Spectrometry Developments and Applications, G. Holland, S. D. Tanner (Eds.), The Royal Society of Chemistry, 1997, p. 329.
- (12)(12) IUPAC (1995), Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, Pure & Applied Chem, 67, 331.
- (13)(13) Jülicher, B., Gowik, P. and Uhlig, S. (1998) Assessment of detection methods in trace analysis by means of a statistically based in-house validation concept. Analyst, 120, 173.
- (14)(14) Gowik, P., Jülicher, B. and Uhlig, S. (1998) Multi-residue method for non-steroidal anti-inflammatory drugs in plasma using high performance liquid chromatography-photodiode-array detection. Method description and comprehensive in-house validation. J. Chromatogr., 716, 221.
- (15)(15) OAC-I Peer Verified Methods, Policies and Procedures, 1993, AOAC International, 2200 Wilson Blvd., Suite 400, Arlington, Virginia 22201-3301, USA.
- (16)(16) W.J. Youden; Steiner, E.H.; 'Statistical Manual of the AOAC—Association of Official Analytical Chemists', AOAC-I, Washington DC: 1975, p. 35 ff.
- (17)(17) ISO 11843: 1997 Capability of detection — Part 1: Terms and definitions, Part 2: Methodology in the linear calibration case Part 2: Methodology in the linear calibration case.
- (18)(18) R.W. Stephany & L.A. van Ginkel: 'Yield or recovery: a world of difference'. Proceedings Eight Euro Food Chem, Vienna, Austria September 18-20 (1995) Federation of European Chemical Societies, Event 206. ISBN 3-900554-17X, page 2 to 9.
- (19)(19) Directive 71/354/EEC of 18 October 1971 on the approximation of the laws of the Member States relating to units of measurement, OJ L 243, 29.10.1971, p. 29).
- (20) (20) ISO 31-0: 1992 Quantities and units — Part 0: General principles

## ПРИЛОЖЕНИЕ II

### Минимальные обязательные допустимые пределы

Вещество и/или метаболит	Матрицы	MRPL
Chloramphenicol	Мясо Яйцо Молоко Урина Аквакультурные продукты Мед	0,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Medroxyprogesterone acetate	Жир почки свиньи	1 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Метаболиты нитрофурана: — furazolidone — furaltadone — nitrofurantoin — nitrofurazone	Мясо домашней птицы Аквакультурные продукты	1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ для всех
Сумма малахита зеленого и лейко-малахита зеленого	Мясо аквакультурных продуктов	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$