



# 中华人民共和国国家标准

GB XXXX—XXXX

## 食品安全国家标准 微生物学检验方法验证通则

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会  
国家市场监督管理总局 发布

## 目 次

1	范围	1
2	术语和定义	1
3	微生物学检验方法验证一般要求	1
3.1	性能参数的选择	1
3.2	实验室内验证要求	2
3.3	实验室间验证要求	2
3.4	验证样品要求	2
3.5	数据处理要求	2
4	微生物学检验方法性能参数的验证	3
4.1	灵敏度	3
4.2	包容性和排他性	3
4.3	准确度	4
	附录 A 微生物学检验方法验证用食品主类和子类	5
	附录 B 微生物学检验方法验证样品的准备	7
	附录 C 灵敏度计算方法	9
	附录 D 实验室内验证准确度计算方法	10
	附录 E 实验室间验证准确度计算方法	12

# 食品安全国家标准

## 微生物学检验方法验证通则

### 1 范围

本标准规定了食品安全国家标准微生物学检验方法验证的通用要求。  
本标准适用于食品安全国家标准微生物学检验方法标准制定和修订过程的验证。

### 2 术语和定义

#### 2.1 部分检出水平 fractional detection level

测试一组污染水平相同的样品,检出阳性结果数占测试总数的比例大约为50%(25%~75%范围内)。

#### 2.2 定性方法 qualitative method

分析试样是否存在目标微生物的方法。

#### 2.3 定量方法 quantitative method

分析试样目标微生物数量的方法。

#### 2.4 方法验证 method validation

确定方法的性能特征,并提供方法性能要求满足预期用途的客观证据。

#### 2.5 接受参考值 accepted reference value

标准物质的参考值或添加物的测定值,用于近似表示样品的真值。

#### 2.6 配对/非配对分析 paired / unpaired analysis

两种定性方法同时分析同一个样品,第一步增菌方法相同时,使用同一试样进行分析,称为“配对分析”;两种方法第一步增菌方法不同时,对同一样品的不同试样分别进行分析,称为“非配对分析”。

#### 2.7 食品主类 food category

相同来源的食品子类组合。

#### 2.8 食品子类 food type

同一食品主类中,加工方式相似,具有相似的内在特征和微生物生态的一组食品。

### 3 微生物学检验方法验证一般要求

#### 3.1 性能参数的选择

方法研制实验室应根据所研制方法选择合适的性能参数进行验证,并形成实验室验证方案。实验室验证参数一般包括方法的灵敏度、包容性、排他性和准确度。性能参数的选择见表1。

表1 性能参数的选择

方法类型	验证阶段	灵敏度	包容性	排他性	准确度
定性方法	实验室内验证	√	√	√	-
	实验室间验证	√	-	-	-
定量方法	实验室内验证	-	√	√	√
	实验室间验证	-	-	-	√

注1：“√”表示必选性能参数；“-”表示不需要选的性能参数。  
注2：不含确证步骤的定量方法（例如：菌落总数、霉菌和酵母计数）无需验证包容性和排他性。  
注3：MPN法的验证按照定性方法的验证进行。

### 3.2 实验室内验证要求

3.2.1 方法研制实验室负责完成方法标准草案，并设计实验室内验证方案，选择合适的性能参数。

3.2.2 如果待验证方法适用范围为“食品”，应至少选择5种食品主类，如适用范围少于5种食品主类，应全部选择。每种食品主类至少选择1种食品子类。从不同食品主类中选取食品子类时应尽量选取加工方式不同的食品子类。食品类别的选择参见附录A。

3.2.3 方法研制实验室根据所选性能参数完成实验室内验证，且性能参数符合要求后，方可进行实验室间验证。

### 3.3 实验室间验证要求

3.3.1 方法研制实验室负责制定实验室间验证方案，选择合适的性能参数，制备或指导制备实验室间验证的样品，根据验证要求对性能参数进行评价和撰写实验室间验证报告。

3.3.2 如果待验证方法适用范围为“食品”，应至少选择3种食品主类，如适用范围少于3种食品主类，应全部选择。每种食品主类至少选择1种食品子类。从不同食品主类中选取食品子类时应尽量选取加工方式不同的食品子类。选择的食品子类应是实验室内验证已经验证过的食品子类。

3.3.3 验证实验室按照方法研制实验室的方法标准草案和具体操作步骤对方法性能参数进行验证，就方法的适用性及验证过程中出现的问题提出建议，并向方法研制实验室出具验证实验报告。

3.3.4 方法研制实验室需对所有实验室间验证数据进行统计分析，并参认证验单位的意见，对方法进行完善，形成实验室间验证报告。

### 3.4 验证样品要求

#### 3.4.1 检验方法验证样品的一般要求

方法研制实验室应基于方法适用范围选择不少于规定数量的食品主类和食品子类（见附录A）。所选食品主类或食品子类的种类应选择典型基质，应与目标微生物最为相关，优先选取消消费量最大的食品主类和食品子类。样品种类应尽可能多样。

所选食品子类应涵盖不同水平自然背景菌群，包含不同食品加工方式。应尽可能选择地域分布广泛的样品，以降低地方特色食品的限制性。

#### 3.4.2 样品制备

参见附录B制备样品。

### 3.5 数据处理要求

方法研制实验室应仔细审查和评估试验结果，避免因偶然因素产生无效数据。如果是记录或计算引起的无效数据，可以修正使用；其它无法修正的情况引起的无效数据应剔除。剔除后，如果数据数量不满足验证要求的数量，应补充数据。如果不能补充数据，应重做验证试验获得满足验证要求的数

据数量。

微生物计数结果应转换为常用对数值后，再用于后续计算。

#### 4 微生物学检验方法性能参数的验证

##### 4.1 灵敏度

###### 4.1.1 验证方法

灵敏度是指检出概率为50%时样品中目标微生物浓度，即50%检出限（ $LOD_{50}$ ）。

实验室内验证，使用人工污染样品、标准样品或标准物质。每种食品子类至少20个平行样品。如果选择人工污染样品，需确定样品的接受参考值（见附录B中B.5）。

实验室内验证，对于每种食品子类，每个验证实验室测试8个平行样品。

样品污染水平都为部分检出水平。分析时，每种食品子类设空白和阳性（污染水平是部分检出水平10倍以上）对照各1个。

如果验证无参考方法，采用待验证方法进行测试；如果验证有参考方法，分别采用参考方法和待验证方法进行测试。

每一种食品子类分别进行分析和计算。如果验证无参考方法，且阳性结果数占测试总数的比例在25%~75%范围内，按附录C计算 $LOD_{50}$ 。如果验证有参考方法，且参考方法获得的阳性结果数占测试总数的比例在25%~75%范围内，按附录CC.2计算RLOD。

###### 4.1.2 评价

如果验证无参考方法， $LOD_{50}$ 为待验证方法灵敏度的指标。MPN法接受限设定为5 CFU/试样。

如果验证有参考方法，待验证方法的灵敏度采用相对检出限（RLOD）进行评价，其中配对分析的接受限为1.5，非配对分析的接受限为2.5。

如果 $LOD_{50}$ （仅对MPN法适用）或RLOD不超过接受限，则待验证方法的灵敏度符合要求；如果 $LOD_{50}$ （仅对MPN法适用）或RLOD超出接受限，则待验证方法的灵敏度不符合要求。

##### 4.2 包容性和排他性

###### 4.2.1 验证方法

包容性是指方法检出目标微生物的能力，排他性是指方法不受非目标微生物干扰的能力。不含确证步骤的定量方法无需验证包容性和排他性。

包容性和排他性所选用菌株应反映目标微生物和非目标微生物的表型、基因型和（或）血清型的多样性。包容性所选用菌株应尽可能覆盖目标微生物分类单位及其下一级分类单位（如果有）的种类。排他性所选用菌株应尽可能覆盖目标微生物分类单位外同一级的密切相关的种类，还应包含样品通常含有的优势种类（数量不应超过排他性选择菌株总数的1/3）。

包容性需要选择至少30株目标微生物，对于沙门氏菌检验方法的包容性，选择不同血清型的至少50株沙门氏菌，应涵盖主要沙门氏菌血清型。排他性选择至少30株非目标微生物。

目标微生物和非目标微生物应隐藏名称，并打乱顺序进行编号，由另外的实验人员进行测试。每一株纯培养物无需添加任何食品样品，采用待验证方法进行测试。接种水平应为待验证方法检出限（ $LOD_{50}$ ）的10倍至100倍。

###### 4.2.2 评价

包容性检出目标微生物的菌株数量与包容性选择的菌株数量相等，则待验证方法包容性符合要求。否则，待验证方法包容性不符合要求。

排他性未检出目标微生物的菌株数量与排他性选择的菌株数量相等，则待验证方法排他性符合要求。否则，待验证方法排他性不符合要求。

### 4.3 准确度

#### 4.3.1 验证方法

准确度是指在重复性或再现性条件下，待验证方法计数结果与接受参考值（无参考方法）或参考方法计数结果间的一致程度。实验室内验证获得重复性条件下的准确度，实验室间验证获得再现性条件下的准确度。准确度以重复测试结果的预期最大偏倚（ $\beta$ -期望容忍区间， $\beta$ -ETI）来表示。

每种食品子类分别进行验证。每种食品子类选择6个样品，应包括两个低污染水平、两个中污染水平、两个高污染水平。污染水平应涵盖待验证方法定量分析的整个范围（从理论检出限的大约10倍至最高限值的至少100倍）并大致均匀分开。最高限值来自产品标准中规定的限量。如果没有限量，卫生指标菌和致病菌最高污染水平分别设定为大约 $10^7$  CFU/g(mL)和 $10^5$  CFU/g(mL)。

实验室内验证，每个样品取5个试样分别进行测试。实验室间验证，每个样品取1个试样进行测试。

分析时，每种食品子类设1个空白对照。

如果验证无参考方法，采用待验证方法进行测试；如果验证有参考方法，分别采用参考方法和待验证方法进行测试。

对每一种食品子类分别进行分析和计算。实验室内验证和实验室间验证分别按附录 D 和附录 E 计算待验证方法的  $\beta$ -ETI 的上下限，必要时计算新的接受限  $AL_s$ 。

#### 4.3.2 评价

准确度验证的接受限设定为  $\pm 0.5$  对数值。

如果所有样品  $\beta$ -ETI 上限  $U$  和下限  $L$  都不超出接受限，则待验证方法准确度符合要求；如果有样品  $\beta$ -ETI 上限  $U$  或下限  $L$  超出接受限，但都不超出  $AL_s$ ，则待验证方法准确度符合要求；

除上述情况外的其他情况，待验证方法准确度不符合要求。

## 附录 A

## 微生物学检验方法验证用食品主类和子类

表 A.1 列出了方法验证所需的与微生物检验项目相关的主要食品分类，即食品主类和列举的食品子类。方法研制实验室可根据待验证方法的适用范围参考表 A.1 选取与目标微生物相关的食品主类和子类。当表 A.1 中的食品主类或子类不适合待验证方法时，也可选取其他食品类型。

表 A.1 微生物学检验方法验证用食品主类和子类

食品主类	食品子类（举例）
乳及乳制品	生乳
	巴氏杀菌乳
	灭菌乳
	发酵乳
	乳粉
	干酪
冷冻饮品	冰激凌、雪糕类
	风味冰、冰棍类
水果和蔬菜	新鲜水果和蔬菜
	冷冻水果和蔬菜
	水果干和干制蔬菜
	果脯类蜜饯类
	发酵或腌渍蔬菜
	水果和蔬菜罐头
豆类制品	非发酵豆制品
	发酵豆制品
	豆粉
坚果和籽类	新鲜坚果与籽类
	熟制坚果与籽类
	坚果与籽类的泥（酱）
粮食和粮食制品	生湿面制品
	即食谷物
	熟制面食
	方便米面制品
	冷冻米面制品
	生干面制品
	小麦粉
焙烤食品	面包
	糕点
	饼干

表 A.1 (续)

食品主类	食品子类(举例)
肉及肉制品	生鲜肉(禽肉除外)
	酱卤肉(禽肉除外)
	冻肉(禽肉除外)
	发酵肉制品(禽肉除外)
	腌腊肉制品(禽肉除外)
	肉罐头
	生鲜禽肉
	熟禽肉制品
	冻禽肉
水产及其制品	鲜水产
	熟制水产品
	冷冻水产品
	腌制水产品
	水产品罐头
蛋及蛋制品	鲜蛋
	卤蛋皮蛋咸蛋
	蛋制品
甜味料	白糖
	蜂蜜
调味品	酱油
	香辛料
	蛋黄酱、沙拉酱
特殊膳食用食品	婴幼儿配方食品
	婴幼儿辅助食品
	其他特殊膳食用食品
饮料类	鲜果蔬汁(浆)
	果蔬汁(浆)类饮料
	浓缩果蔬汁(浆)
	碳酸饮料
	茶(类)饮料
	咖啡(类)饮料
	固体饮料
可可制品、巧克力和巧克力制品以及糖果	可可制品或巧克力制品
	巧克力
	可可粉或巧克力粉
	糖果



## 附录 B

## 微生物学检验方法验证样品的准备

## B.1 样品的准备方式选择顺序

样品准备方式的选择顺序由先至后依次为：

- B.1.1 自然污染样品。理想的自然污染样品对目标微生物的污染程度接近于所需的样品污染水平。
- B.1.2 混合污染样品。如果自然样品的污染水平过高，可以通过与不含有目标微生物的同类食品样品进行均匀混合，降低样品的污染水平（稀释），达到所需的样品污染水平，制备成混合污染样品。
- B.1.3 人工污染样品。如果无法获得自然污染样品，可制备人工污染样品。
- B.1.4 标准样品或标准物质。如果无法获得自然污染样品，也可使用标准样品或标准物质。

## B.2 样品准备方式的选择

按表 B.1 选择样品准备方式。当有多种样品准备方式可供选择时按附录 B.1 的顺序选择样品准备方式，可以同时选取几种不同的样品准备方式。

表 B.1 样品准备方式的选择

样品准备方式	灵敏度		准确度	
	无参考方法	有参考方法	无参考方法	有参考方法
自然污染样品	-	√	-	√
混合污染样品	-	√	-	√
人工污染样品	√	√	√	√
标准样品或标准物质	√ <sup>a</sup>	√	√	√
注：“√”表示可以选择此样品准备方式；“-”表示不选择此样品准备方式。				
<sup>a</sup> 仅适用于按添加量定值的标准物质。				

## B.3 混合污染样品的制备

将自然污染样品与不含有目标微生物的同种样品按一定比例均匀混合，获得所需污染水平的样品。混合的方式可以采用揉捏、搅拌、均质和（或）震荡等。

混合污染样品在自然污染样品正常的保存温度下存放。在样品测试前至少存放 1 天。

## B.4 人工污染样品的制备

## B.4.1 污染用样品的准备

根据所选食品主类和食品子类准备用于人工污染的样品，尽量选取含背景菌群的样品，应确保样品中不含有目标微生物。

样品如果不利于混合均匀，可单独制备每个样品，将每个样品的量缩小为试样的量，整个样品用于测试。用于非配对分析的样品如果不利于混合均匀，可以分别制备不同的试样，视为同一个样品。

## B.4.2 污染用培养物的准备

优先选择从食品中分离的菌株，不同食品子类验证用的菌株应尽可能分离自相应的食品子类，也可使用其他实验室分离、从菌种保藏机构购买的菌株。所有分离株应经过准确鉴定，原始来源应是已知的、可溯源的。

对于含确证步骤的方法验证，每个样品仅选择一株目标微生物。不同食品子类的样品应

选择相应来源的不同目标微生物。

对于不含确证步骤的定量方法的验证，每个样品应选择多种不同类群的代表微生物，例如，菌落总数的方法验证样品可以选择金黄色葡萄球菌（代表革兰氏阳性菌）、大肠埃希氏菌（代表革兰氏阴性菌）和枯草芽孢杆菌（代表含芽孢细菌）。

按合适的条件培养目标微生物菌株。如果目标微生物有多种，应分别培养，然后大致等量混合这些菌株的纯培养物。

如果样品不含自然背景菌群，必要时，可以添加背景菌群。背景菌群的浓度水平应至少高于目标微生物浓度的 10 倍，可通过适当的平板计数方法确认其浓度水平符合要求。

#### B.4.3 培养物的稀释

培养物用无菌生理盐水稀释至污染样品的合适浓度。如果稀释不能有效去除培养物中的培养基，在稀释前采用生理盐水漂洗和离心 2 次~3 次去除培养基。

将培养物稀释液添加到样品中时，稀释液体积不能影响样品的状态。当稀释液体积可能影响到样品状态时，可以将稀释液制成冻干粉，再添加到样品中。或者将生理盐水漂洗过的培养物制成冻干粉，再与不含培养物的冻干粉混合均匀以稀释至污染样品的合适浓度。冻干状态的稀释培养物不仅有利于样品保持原有状态，而且有利于样品中微生物的稳定性。

将稀释至合适浓度的培养物（稀释液或冻干粉）接种到样品上，混合均匀。

定性方法实验室间验证时，部分检出水平的样品中的目标微生物浓度极低，在运输或保藏过程中不易保证稳定。可以由方法研制实验室和验证实验室共同制备样品，方法研制实验室提供污染用的冻干粉，验证实验室制备样品。

#### B.5 样品接受参考值的确定

如果需要，确定样品的接受参考值。采用适当的平板计数方法测试微生物的浓度。

测试样品制备时用于污染的稀释培养物浓度，换算为样品中目标微生物的浓度作为样品接受参考值。如果此浓度过低（例如，平板上不足 10 个菌落），则测试用于污染的稀释液的前一个稀释度的浓度，再换算为样品接受参考值。

## 附录 C

## 灵敏度计算方法

C.1 计算 LOD<sub>50</sub>

根据式 (C.1) 计算 LOD<sub>50</sub> (单位为 “CFU/试样”) :

$$LOD_{50} = \frac{0.7 \times d \times m}{\ln(n/(n-y))} \dots\dots\dots (C.1)$$

式 (C.1) 中:

*d* ——样品的接受参考值 (单位为 CFU/g(mL)) ;

*m* ——试样量 (单位为 g(mL)/试样) ;

*y* —— 阳性结果数;

*n* —— 测试总数。

## C.2 计算 RLOD

RLOD是待验证方法的LOD<sub>50</sub>与参考方法的LOD<sub>50</sub>的比值。根据式 (C.2) 计算RLOD:

$$RLOD = \frac{\ln(n_{ref}/(n_{ref}-y_{ref}))}{\ln(n_{val}/(n_{val}-y_{val}))} \dots\dots\dots (C.2)$$

式 (C.2) 中:

*y<sub>ref</sub>* —— 参考方法的阳性结果数;

*n<sub>ref</sub>* —— 参考方法的测试总数;

*y<sub>val</sub>* —— 待验证方法的阳性结果数;

*n<sub>val</sub>* —— 待验证方法的测试总数。

## 附录 D

## 实验室内验证准确度计算方法

## D.1 计算偏倚

计算每个样品的偏倚  $B_i = Y_i - X_i$ 。  $Y_i$  是样品  $i$  的待验证方法计数结果（对数值）的中位值，  $X_i$  是样品  $i$  的接受参考值（无参考方法）或参考方法计数结果（对数值）的中位值。

## D.2 计算待验证方法的合成标准差

分别计算待验证方法（无参考方法）和参考方法（如果有）的合成标准差  $S_{val}$  和  $S_{ref}$ 。

$$S_{val,i} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2} \dots \dots \dots (D.1)$$

$$S_{val} = \sqrt{\frac{1}{q} \sum_{i=1}^q S_{val,i}^2} \dots \dots \dots (D.2)$$

$$S_{ref,i} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2} \dots \dots \dots (D.3)$$

$$S_{ref} = \sqrt{\frac{1}{q} \sum_{i=1}^q S_{ref,i}^2} \dots \dots \dots (D.4)$$

式 (D.1) ~ 式 (D.4) 中：

$i$  —— 样品，  $1 \leq i \leq q$ ；

$q$  —— 样品数量，  $q=6$ ；

$j$  —— 重复测试，  $1 \leq j \leq n$ ；

$n$  —— 重复测试数量，  $n=5$ ；

$y_{ij}$  —— 样品  $i$  的待验证方法第  $j$  个重复测试结果；

$\bar{y}_i$  —— 样品  $i$  的待验证方法重复测试结果的平均值；

$S_{val,i}$  —— 样品  $i$  的待验证方法重复测试结果标准差；

$x_{ij}$  —— 样品  $i$  的参考方法第  $j$  个重复测试结果；

$\bar{x}_i$  —— 样品  $i$  的参考方法重复测试结果的平均值；

$S_{ref,i}$  —— 样品  $i$  的参考方法重复测试结果标准差。

D.3 计算每个样品的  $\beta$ -ETI 的上下限

$\beta$  设为 80%，计算每个样品的  $\beta$ -ETI 的上限  $U_i$  和下限  $L_i$ ：

$$U_i = B_i + t_{0.9}(df) \times S_{val} \times \sqrt{1 + \frac{1}{n}} \dots \dots \dots (D.5)$$

$$L_i = B_i - t_{0.9}(df) \times S_{val} \times \sqrt{1 + \frac{1}{n}} \dots \dots \dots (D.6)$$

式 (D.5) 和式 (D.6) 中：

$df$  —— 自由度，为  $q \times (n - 1)$ 。

$t_{0.9}(df)$  —— 自由度  $df$  和概率  $\beta$  的  $t$  分布双侧分位数。可以查  $t$  分布分位数表，或使用相关软件计算获得。

## D.4 绘制准确度图（实验室内）

以  $X$  为横坐标  $B$  为纵坐标绘制折线图，并在图上绘制接受限的 2 条水平线（ $\pm 0.5$  对数值）以及  $\beta$ -ETI 上下限的 2 条折线。

如果验证样品选择的是标准样品或标准物质（无参考方法），且  $\beta$ -ETI 上下限有值超出接受限，在可以获得标准样品或标准物质的重复性标准差的情况下，将此标准差乘以 4 作为新的接受限  $AL_s$ 。

如果验证有参考方法，且  $\beta$ -ETI 上下限有值超出接受限，计算新的接受限  $AL_s$ 。

$$AL_s = \pm 4 \times S_{ref} \dots \dots \dots (D.7)$$

## 附录 E

## 实验室间验证准确度计算方法

## E.1 计算偏倚

对每个污染水平分别进行分析和计算。

计算偏倚  $B = Y - X$ 。Y 是所有验证实验室样品的待验证方法计数结果（对数值）的平均值，X 是样品的接受参考值（无参考方法）或所有验证实验室样品的参考方法计数结果（对数值）的平均值。

## E.2 计算待验证方法的精密度

先计算待验证方法每个验证实验室结果的方差：

$$\bar{y}_k = \frac{\sum_{j=1}^n y_{jk}}{n} \dots\dots\dots (E.1)$$

$$S_k^2 = \frac{\sum_{j=1}^n (y_{jk} - \bar{y}_k)^2}{n-1} \dots\dots\dots (E.2)$$

式 (E.1) 和式 (E.2) 中：

$y_{jk}$  —— 第  $k$  个验证实验室的待验证方法第  $j$  个重复测试结果；

$\bar{y}_k$  —— 第  $k$  个验证实验室的待验证方法重复测试结果的平均值；

$S_k^2$  —— 第  $k$  个验证实验室的待验证方法测试结果的方差；

$n$  —— 重复测试数， $n=2$ 。

再计算待验证方法的重复性标准差  $S_r$ 、实验室间标准差  $S_L$ ：

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^p S_k^2}{p}} \dots\dots\dots (E.3)$$

$$S_L^2 = \frac{1}{p-1} \sum_{k=1}^p (\bar{y}_k - Y)^2 - \frac{S_r^2}{2} \dots\dots\dots (E.4)$$

式 (E.3) 和 (E.4) 中：

$p$  —— 返回有效数据的验证实验室数；

由于受到误差影响，当  $S_L^2 < 0$  时，应将该值设置为零。

然后计算再现性标准差  $S_R$ 、重复性限  $r$  和再现性限  $R$ ：

$$S_R = \sqrt{S_L^2 + S_r^2} \dots\dots\dots (E.5)$$

$$r = 2.8S_r \dots\dots\dots (E.6)$$

$$R = 2.8S_R \dots\dots\dots (E.7)$$

重复性限  $r$  和再现性限  $R$  虽然不参与后续计算，但作为方法的关键性能参数需在验证报告中列出。

E.3 计算每个污染水平的  $\beta$ -ETI 的上下限

先计算待验证方法的容忍区间标准差  $S_{TI}$ ：

$$S_{TI} = S_R \times \sqrt{1 + \frac{n \times S_L^2 + S_r^2}{p \times n \times S_R^2}} \dots\dots\dots (E.8)$$

再计算自由度：

$$df = \frac{(S_R^2/S_r^2)^2}{(S_L^2/S_r^2+1/n)^2/(p-1)+(n-1)/(p \times n^2)} \dots\dots\dots (E.9)$$

$\beta$  设为 80%，计算待验证方法每个污染水平的  $\beta$ -ETI 的上限 U 与下限 L。

$$U = B + t_{0.9}(df) \times S_{TI} \dots\dots\dots (E.10)$$

$$L = B - t_{0.9}(df) \times S_{TI} \dots\dots\dots (E.11)$$

式 (E.10) 和 (E.11) 中：

$df$ ——自由度；

$t_{0.9}(df)$ ——自由度  $df$  和概率  $\beta$  ( $\beta=80\%$ ) 的  $t$  分布双侧分位数。 $df$  不是整数，可以查扩展  $t$  分布分位数表，或使用相关软件计算获得。

#### E.4 绘制准确度图（实验室内）

以  $X$  为横坐标  $B$  为纵坐标绘制折线图，并在图上绘制接受限的 2 条水平线 ( $\pm 0.5$  对数值) 以及  $\beta$ -ETI 上下限的 2 条折线。

如果验证样品选择的是标准样品或标准物质（无参考方法），且  $\beta$ -ETI 上下限有值超出接受限，在可以获得标准样品或标准物质的再现性标准差的情况下，将此标准差乘以 3.3 作为新的接受限  $AL_s$  的数值。

如果验证有参考方法，且  $\beta$ -ETI 上下限有值超出接受限，则计算新的接受限  $AL_s$ ：

$$AL_s = \pm 3.3 \times S_{R,ref} \dots\dots\dots (E.12)$$

$$S_{R,ref} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^q S_{Ri}^2}{q}} \dots\dots\dots (E.13)$$

式 (E.12) 和式 (E.13) 中：

$q$  —— 污染水平数， $q=3$ ；

$S_{R,ref}$  —— 全部污染水平参考方法的合成再现性标准差；

$S_{Ri}$  —— 污染水平  $i$  的参考方法的再现性标准差。