

检出限

富玥



检出限

- 一、概念
- 二、检出限评估方法
- 三、意义

一、概念

- **1.检出限（LOD）的概念：**是衡量一个分析方法及测试仪器灵敏度的重要指标。
- **2.检出限的分类：**有仪器检出限、方法检出限，还会接触测定下限。

一、概念

- **3. 仪器检出限 (LDL) : GB/T 27417-2017**
《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》
(以下简称**27417**) 中仪器检出限是指无样品基质存在, 不考虑任何样品前处理步骤的影响, 在与样品测定完全相同的分析条件下, 用仪器可靠地将目标分析物信号从背景(噪声)中识别出来时分析物的最低浓度或量。仪器检出限一般用于不同仪器的性能比较。跟仪器灵敏度有关。

一、概念

- **方法检出限（MDL）**：GB/T 27417-2017中方法检出限是指在通过某一分析方法全部处理和测定过程后，可靠地将分析物测定信号从特定基质背景中识别或区分出来时分析物的最低浓度。方法检出限是在有样品基质存在，考虑了样品分析前所有前处理过程的影响，是建立分析方法的重要参数，评估一个分析方法对于低浓度样品的检测很重要，因此应考虑到所有基质的干扰。

一、概念

- 《中国药典》2020版 四部 通则 9101 药品质量标准分析方法验证指导原则中检测限系指试样中被测物能被检测出的最低量。药品的鉴别试验和杂质检查方法，均应通过测试确定方法的检测限。检测限仅作为限度试验指标和定性鉴别的依据，没有定量意义。

一、概念

- 测定下限（RQL）：在测定误差能满足预定要求的前提下，用特定方法能准确的定量测定被分析物质的最小浓度。

一、概念

- 定量限（LOQ）也分为两个部分，仪器定量限（IQL）和方法定量限（MQL）
- **仪器定量限（IQL）** 定义为仪器能够可靠检出定量被分析物的最低量。
- **方法定量限（MQL）** 定义为在特定基质中在一定可信度内，用某一方法可靠的检出并定量被分析物的最低量。

一、概念

- 对于浓度接近于LOD与LOQ的痕量和超痕量检测，并且报告为“未检出”时，或需要利用检出限或定量限进行风险评估或法规决策时，实验室应确定LOD和LOQ，不同的基质可能需要分别评估LOD和LOQ。

二、检出限评估方法

- 检出限的计算和表达方法较多，常用的有空白标准偏差、信噪比法、逐步稀释法、检测等，下面介绍几种方法

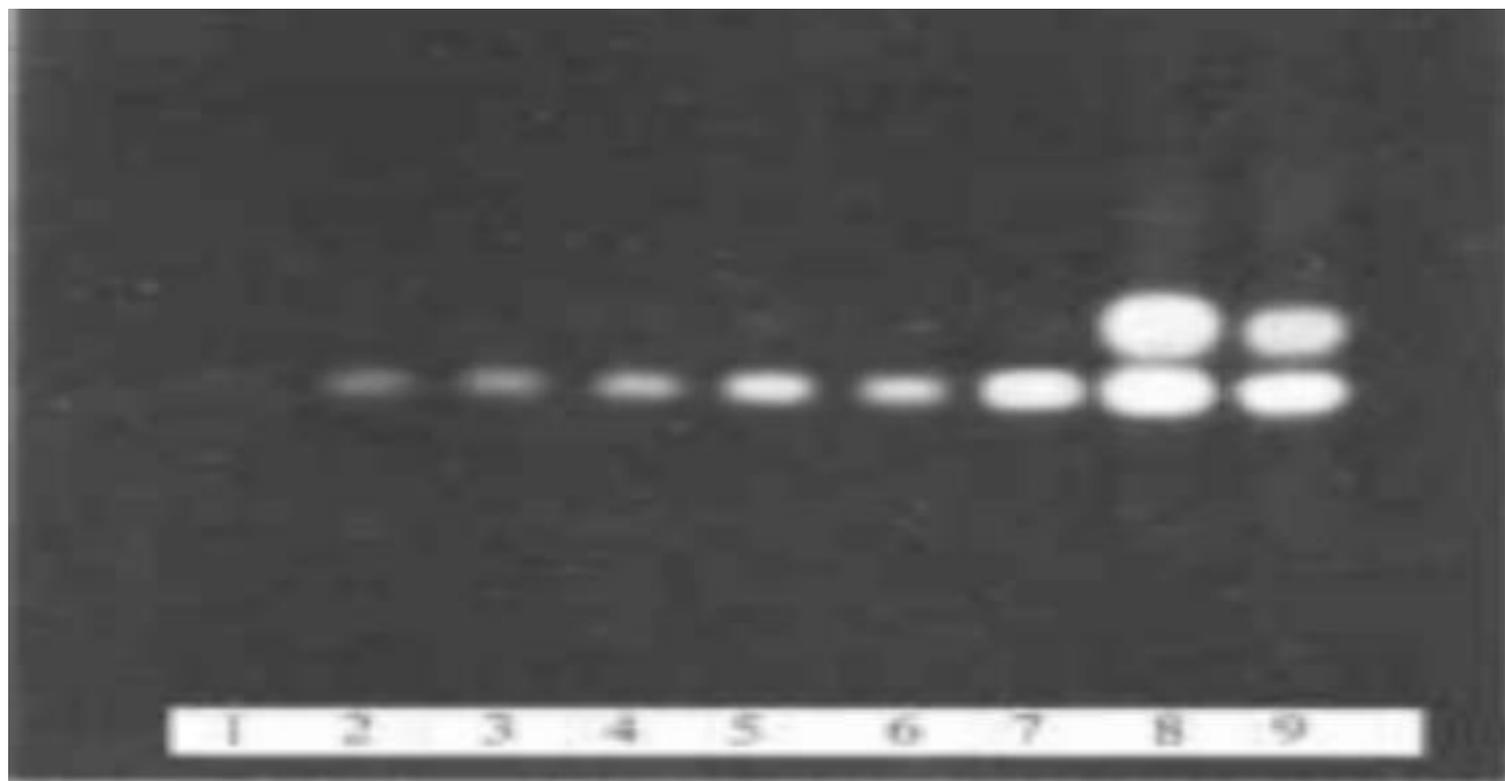
1. 目视评价法评估LOD

- 在GB/T 27417-2017中目视评价法是通过在样品空白中添加已知浓度的分析物，然后确定能够可靠检出分析物最低浓度值的方法，即在样品空白中加入一系列不同浓度的分析物，随机对每个浓度点进行约7次以上的独立测试，通过绘制阳性（或阴性）结果百分比与浓度相对应的反应曲线确定阈值浓度。

1. 目视评价法评估LOD

- 该方法也可用于定性方法中检出限的确定，主要用于非仪器方法检出限的确定。例如薄层色谱法检查盐酸巴马汀的检出限测定：取盐酸巴马汀对照品适量，加乙醇制成每1mL含0.04mg的溶液，作为对照品储备液。取1mL置10mL容量瓶中，加乙醇稀释至刻度，分别点样1-9 μ L，相当于0.004、0.012、0.020、0.028、0.036 μ g；另取对照品储备液点样1 μ L，3 μ L，相当于0.04,0.12 μ g，展开、目测法检视，最低检出限为0.012 μ g。

1. 目视评价法评估LOD



2.空白标准偏差法评估LOD

- 在GB/T 27417-2017中空白标准偏差法评估LOD，通过分析大量的样品空白或加入最低可接受浓度的样品空白来确定LOD，独立测试的次数应该不少于10次（ $n \geq 10$ ），计算出检测结果的标准偏差（ s ），LOD表示为（1）样品空白值+3 s （只适用于标准偏差非零时）；
（2）样品空白值+4.65 s 。

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

2. 空白标准偏差法评估LOD

定量检测中 LOD 的表示方法

| 试验方法 | LOD 的表示方法 |
|-------------------------|--------------------------|
| 1) 样品空白独立测试10次 | 样品空白平均值+3s(只适用于标准偏差值非零时) |
| 2)加入最低可接受浓度的样品空白独立测试10次 | 0+3 s |
| 3)加入最低可接受浓度的样品空白独立测试10次 | 样品空白值+4.655(此模型来自假设检验) |

注1:“最低可接受浓度”为在所得不确定度可接受的情况下所加人的最低浓度。

注2:假设实际检测中样品和空白应分别测定,且通过样品浓度扣减空白信号对应的浓度进行空白校正

2)仅当空白中干扰物质的信号值高于样品空白值的3s的概率远小于1%时适用。

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

3.校准方程的适用范围评估 LOD

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

3.校准方程的适用范围评估 LOD

空白标准偏差的倍数法：

$$X_{\text{LOD}} = \frac{3S_{y/x}}{b}$$

X_{LOD} ——方法的测定低限

$S_{y/x}$ ——空白值标准偏差 ($n \geq 10$)

b ——方法校准曲线斜率

4.可以检出最低浓度评估LOD

- 在样品空白加入一系列不同浓度的被测物质，通过方法前处理，在仪器上可以检出最低浓度；或者在样品空白中加入已知浓度的被测物质，通过方法前处理，将该加标样本不断稀释，直至在仪器上可以检出的最低浓度。一般认为当峰相应达到3倍基线噪声时达到仪器检出浓度。

4.可以检出最低浓度评估LOD

$$D = \frac{3N}{S}$$

N——噪音

S——检测器灵敏度

D——检测限

4.可以检出最低浓度评估LOD

- 例如：GB 5009.28-2016 第一法，在饮料样品中添加苯甲酸标准溶液，使饮料样品中添加的苯甲酸的浓度为0.16 mg/L，混匀后上机进行测定，得到的色谱图信噪比约为4，因此，以 0.16 mg/L(0.004 g/kg)作为方法的检出限，原标准中检出限为0.005g/kg。

4.样品空白加入最低可接受浓度法

- 样品空白加入最低可接受浓度的被测物质，测试次数（ n 大于20次以上），通过方法前处理，确定出能够测定出的最小的浓度，最典型的可接受的信噪比是3:1时，通过计算得出检出限。

5.样品空白加入最低可接受浓度法

- 4.例如：在进行环己基氨基磺酸钠（甜蜜素）液质方法 方法验证时，根据标准GB 5009.97-2016《食品安全国家标准 食品中环己基氨基磺酸钠的测定》第三法 中 给出方法检出限为0.03mg/kg，在进行该方法评估检出限时，每个独立样品空白加入0.03mg/kg（ $n \geq 20$ ），通过样品前处理，色谱仪器得出最低响应值 $S=3N$ 。计算本方法检出限。

5.样品空白加入最低可接受浓度法

加标 (0.03mg/kg)

| 序号 | 样品编号 | 取样量 (g) | 实测 (mg/ kg) | | 回收率 (%) | S/N | 备注 |
|----|----------------|---------|-------------|--------|---------|-----|---|
| | | | | 平均 | | | |
| 1 | qxyangping 001 | 10.0072 | 0.02399 | 0.0250 | 83.3 | 35 | 实测值RSD为: 8.2325%。 根据GB/T27404-2008被测组分含量在0.1 μg/kg时, 实验室内变异系数(CV) 在43%以内。 检出限为: 0.00179mg/kg 回收率范围: 68.3%~87.5% |
| | | | 0.02599 | | | | |
| 2 | qxyangping 002 | 10.0026 | 0.02417 | 0.0253 | 84.3 | 33 | |
| | | | 0.02637 | | | | |
| 3 | qxyangping 003 | 10.0090 | 0.02919 | 0.0255 | 85.0 | 47 | |
| | | | 0.02179 | | | | |
| 4 | qxyangping 004 | 10.0032 | 0.02009 | 0.0222 | 74.1 | 43 | |
| | | | 0.02439 | | | | |
| 5 | qxyangping 006 | 10.0055 | 0.02208 | 0.0233 | 77.8 | 35 | |
| | | | 0.02458 | | | | |
| 6 | qxyangping 007 | 10.0028 | 0.02059 | 0.0206 | 68.6 | 37 | |
| | | | 0.02059 | | | | |
| 7 | qxyangping 008 | 10.0097 | 0.02267 | 0.0227 | 75.6 | 35 | |
| | | | 0.02267 | | | | |
| 8 | qxyangping 009 | 10.0064 | 0.02208 | 0.0220 | 73.3 | 53 | |
| | | | 0.02188 | | | | |
| 9 | qxyangping 010 | 10.0078 | 0.02398 | 0.0232 | 77.3 | 49 | |
| | | | 0.02322 | | | | 46 |

5.样品空白加入最低可接受浓度法

| 加标 (0.03mg/kg) | | | | | | | |
|----------------|-------------------|---------|---------|--------|------|----|--|
| 10 | qxyangping 011 | 10.0033 | 0.02049 | 0.0208 | 69.3 | 43 | 备注 实测值RSD 为: 8.2325%。 根据 GB/T27404- 2008被测组 分含量在 0.1 μg/kg 时,实验室 内变异系数 (CV) 在 43%以内。 检出限为: 0.00179mg/ kg 回收率范围: 68.3%~87.5 % |
| | | | 0.02109 | | | 38 | |
| 11 | qxyangping 012 | 10.0041 | 0.02439 | 0.0231 | 77.0 | 44 | |
| | | | 0.02179 | | | 46 | |
| 12 | qxyangping 013 | 10.0038 | 0.02059 | 0.0210 | 70.1 | 37 | |
| | | | 0.02149 | | | 45 | |
| 13 | qxyangping 014 | 10.0086 | 0.02368 | 0.0237 | 78.9 | 35 | |
| | | | 0.02368 | | | 43 | |
| 14 | qxyangping 016 | 10.0024 | 0.02409 | 0.0235 | 78.5 | 42 | |
| | | | 0.02299 | | | 35 | |
| 15 | qxyangping 017 | 10.0070 | 0.02068 | 0.0205 | 68.3 | 44 | |
| | | | 0.02028 | | | 39 | |
| 16 | qxyangping 018 | 10.0044 | 0.02239 | 0.0223 | 74.5 | 25 | |
| | | | 0.02229 | | | 31 | |
| 17 | qxyangping 019 | 10.0069 | 0.02238 | 0.0229 | 76.3 | 34 | |
| | | | 0.02338 | | | 41 | |
| 18 | qxyangping 020 | 10.0081 | 0.02428 | 0.0258 | 86.1 | 31 | |
| | | | 0.02737 | | | 32 | |
| 19 | qxyangping 021 | 10.0014 | 0.02309 | 0.0220 | 73.5 | 32 | |

6. 样品空白加入预期检出限的1~5倍浓度的标准被测物质

- 样品空白加入预期检出限的1~5倍浓度的标准被测物质，测试次数（n大于6次以上）通过方法前处理，用该已经低浓度的被测物质与空白样品的测量信号进行比较，确定出能够可靠测定出的最小的浓度，最典型的可接受的信噪比是3:1。

5.样品空白加入预期检出限的1~5倍浓度的标准被测物质

- 例如，在进行水果蔬菜中氨基甲酸酯类农药残留检测 液相色谱-柱后衍生法方法验证时，根据NY/T 761-2008 《蔬菜 and 水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》方法中给出涕灭威亚砷方法检出限为0.02mg/kg，在进行该方法评估检出限时，每个独立样品空白加入3倍预期检出限0.06mg/kg（ $n \geq 6$ ），通过样品前处理，色谱仪器得出最低响应值 $S=3N$ 。计算本方法检出限。

6. 样品空白加入预期检出限的1~5倍浓度的标准被测物质

三倍加标限加标为：(0.06mg/kg)

| 序号 | 样品编号 | 取样量 (g) | 实测 (mg/kg) | 回收率 (%) | S/N | 备注 |
|----|------|---------|------------|---------|-----|--|
| 1 | yp13 | 25.2 | 0.0515 | 85.97 | 195 | 实测值RSD为： 5.2552% 根据 GB/T27404-2008被测组分含量在<100 μg/kg时，实验室内变异系数(CV)在15%以内。 回收率范围：75.8%~85.97% 检出限：0.0004mg/kg |
| 2 | yp16 | 25.2 | 0.0476 | 79.4 | 383 | |
| 3 | yp17 | 25.3 | 0.0479 | 79.9 | 538 | |
| 4 | yp18 | 25.1 | 0.0498 | 83.0 | 364 | |
| 5 | yp19 | 25.2 | 0.0510 | 85.1 | 470 | |
| 6 | yp20 | 25.3 | 0.0454 | 75.8 | 368 | |

三、意义

- 检出限界定待测物质的“有无”。因此，在检验检测中尤为重要。“检出”是定性概念，“检出限”是测量计算得出的特定的量值。检出限除表征仪器方法的灵敏度外，在检测结果的判断方面也十分重要。

三、意义

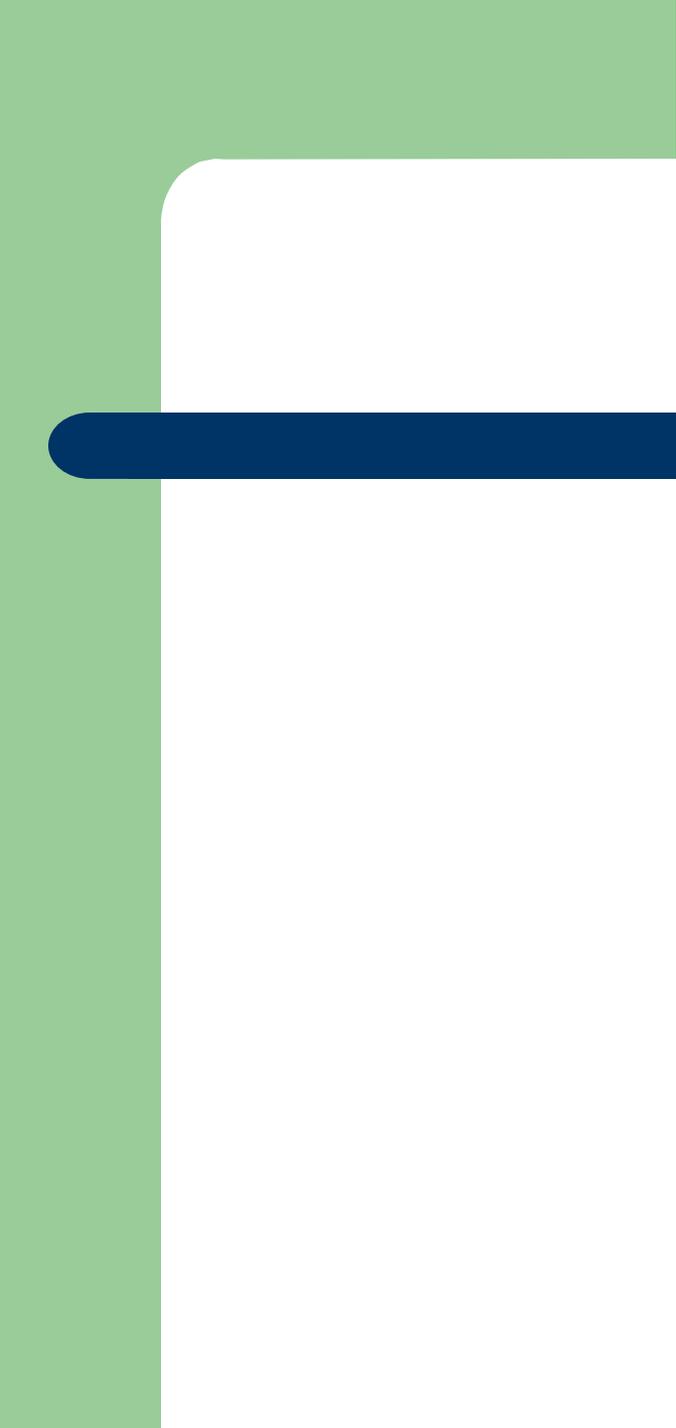
- 在检验检测工作中，低于分析方法检出限的测量值，按“未检出”出具结论，并需要报出检出限的量值。特别是在痕量分析中，如残留物检测。报出的检出限，应该是方法检出限，而不是简单的由仪器信噪比判断的数值。

三、意义

- 在上述方法检出限评估方法中，对于光谱法，2.空白标准偏差法评估LOD较为简单，色谱法来说，第5种方法过程较简单，结果较准确，但是在我们的工作中，根据具体需求选择最适宜的方法去评估检出限。

参考标准或依据

- 1.GB/T 27415-2013 《分析方法检出限和定量限的评估》
- 2.GB/T 27417-2017 《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》
- 3.GB/T 27404-2008 《实验室质量控制规范 食品理化检测》
- 4.GB/T 32465-2015 《化学分析方法验证确认和内部质量控制要求》
- 5. 《中国药典》 2020年版 四部



谢谢