



CNAS-GL05

**实验室内部研制质量控制样品的指南**  
**Guidance for the in-house preparation of**  
**quality control materials (QCM)**

中国合格评定国家认可委员会

## 目 录

引 言 .....	1
1 范围 .....	2
2 规范性引用文件 .....	2
3 术语和定义 .....	2
4 质量控制标准样品 (QCM) .....	3
5 质量控制标准样品 (QCM) 的用途 .....	3
6 质量控制标准样品 (QCM) 的内部研制步骤 .....	4
7 样品的技术要求 .....	4
7.1 基体类型、匹配性及通用性 .....	5
7.2 特性和特性值 .....	5
7.3 单元规格 .....	5
7.4 样品总量 .....	5
8 质量控制样品 (QCM) 的制备 .....	6
8.1 取样 .....	6
8.2 加工处理 .....	6
8.3 分装和包装 .....	8
9 均匀性 .....	9
9.1 概述 .....	9
9.2 分析方法 .....	10
9.3 均匀性数据的统计处理 .....	10
10 定值和赋值 .....	12
11 稳定性 .....	12
11.1 概述 .....	12
11.2 稳定性评价 .....	13
11.3 质控样有效期评定 .....	13
12 运输 .....	13
13 质量控制标准样品 (QCM) 文件 .....	13
13.1 概论 .....	13

13.2 质量控制标准样品（QCM）应有的信息 .....	13
13.3 QCM 单元标签 .....	14
13.4 其他有用信息 .....	14
14 贮存 .....	15
14.1 通则 .....	15
14.2 贮存条件监控 .....	15
15 质控样的使用 .....	15
15.1 概述 .....	15
15.2 最小取样量 .....	15
15.3 混匀程序 .....	15
15.4 干基校正 .....	15
15.5 质控样容器启封后的保存 .....	16
附录 A .....	17
附录 B .....	19
附录 C .....	26
附录 D .....	31
附录 E .....	36
附录 F .....	41

## 引言

测量实验室基于不同目的需要使用标准物质/标准样品 (RM), 并且, 确保针对特定目的使用最适宜的 RM 非常重要。有证标准物质/标准样品 (CRM) 即特性量值及其不确定度由计量有效程序确定的 RM, 主要用于方法确认和提供计量上的校准溯源性。

制备计量质量控制 (例如: 控制测量质量, 而不是产品质量) RM 非常重要, 为日常证明一个特定 (或部分) 测量系统处于统计控制中提供了物质保障。这样的材料不要求测量值具有计量程序上的有效性, 并且可由实验室自己 (如, 由熟悉工作的实验室人员) 制备, 即可满足特定的质量控制要求。

“足够”均匀和稳定的 RM 对于计量质量控制目的是必要的, 比如, 证明测量系统处于统计控制下能提供预期的可信结果, 而测量结果的正确度在此无足轻重。不同行业使用不同的术语描述这一材料 (例如: 室内 RM、质量控制物质、核查样品等)。在本指南中, 使用术语“质量控制样品 (QCM)”。

通常 CRM 由确定的 RM 生产者生产并在市场上可以获得, 而实验室经常自行制备 QCM 以满足实验室内部使用。通常, QCM 仅针对有限的范围内 (特定特性值) 进行测定, 供特定的实验室使用。

如下一个或几个相结合的情形下需要研制质量控制样品:

- 需要一个尽可能接近日常样品的 RM 用于质量控制;
- 需要一个适用于日常的 RM 来补充 CRM;
- 没有合适的 CRM;
- 无需使用 CRM 的所有特性 (即溯源性和规定特性值的不确定度) 的场合。

由于 QCM 是 RM, 因此, 其生产需满足 ISO 指南 34。然而, 如果实验室制备的样品仅限室内所使用, 可放松某些要求 (例如: 运输稳定性)。QCM 的制备与 CRM 相关, 制备 QCM 也可参考 ISO 指南 34 和 35。适用时, 本文件将直接引用这些文件中的相关部分。

许多实验室对于 QCM 的需求是为了把准备材料的时间和付出最小化。由于可利用大量的分析数据, 许多实验室使用真实的产品作为样品。本文件的附录给出了许多案例用来说明这些数据如何处理以确定 QCM 的适用性。

# 实验室内部研制质量控制样品的指南

## 1 范围

本文件适用于实验室内研制质量控制标准样品。本文件汇列了质量控制（QC）标准样品的基本特征，描述了制备过程和基本程序。规定了均匀性研究、稳定性研究和赋值的基本原则。本文件也适用于很稳定的样品（即：在运输过程中所关注的特性值没有显著的变化）。

本文件的基本用户是需要研制特定的质量控制标准样品的实验室人员。如果有运输要求，例如，（公司）实验室有不同的应用地点或评价不同地点实验图，QCM 的研制应该参考 ISO 指南 34 和 35 的相关要求。

ISO 指南 34 和 35 中对标准样品（RM）研制的详细描述，对于“自行”研制 QCM 其要求要少于有证标准样品（CRM）。质量控制标准样品研制主要涉及均匀性和稳定性评估，其相关特性的量值为指示值。ISO 指南 34 和 35 的条款，只要适用，可作为本文件的进一步的指南。本文件涵盖了一些 QCM 的应用指南，如绘制质量控制图，但它不是本标准范围。

本文件在主要章节提供了研制 QCM 的布局 and 结构，在章节和附录中包含了一些研制案例。研制案例并非完整的“操作手册”，但高度集中地包含了研制 QCM 的关键思想。研制案例的复杂程度和详细性不同，它包含了特定行业专业术语，能给研制人员提供一个信息参考范围。

研制 QCM 的各方需要对所研制的样品类型有深入的了解，应熟悉基体效应和污染等方面的潜在问题。

## 2 规范性引用文件

下列标准所包含的条文，通过在本文件中引用而构成本文件的条文。本文件出版时，所示版本均为有效。所有标准都会被修订，使用本文件的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

ISO 指南 30 标准样品-术语和定义

ISO/IEC 指南 99 国际计量学词汇-基本及一般概念和相关术语

ISO 3534-1 统计学-术语及符号：第一部分 通用统计学及概率论术语

## 3 术语和定义

本文件中，ISO 指南 30，ISO / IEC 指南 99 和 ISO 3534-1 中的术语和定义有以下解释。

### 3.1 指示值

量值或特性值（包括在 CRM 证书或其它渠道提供的指示值）仅提供信息而已。即它不是由生产者或权威机构确定的标准值。

注：赋予质量控制标准样品（QCM）的值仅是指示值，不具有计量溯源性。ISO 指南 30:1992 采用术语“非标准值”表示。

## 4 质量控制标准样品（QCM）

术语“质量控制样品”或“QCM”是为简化本规范重复使用“日常用于评估测量程序精密度的标准样品”而设定的。本文件无意定义一种标准样品的新类别。在各种参考文献中，此类样品被称为“室内标准样品”、“质控品”、“核查样”、“标准化样品/设置样品”等等。

在没有合适CRM的前提下，实验室可用QCM来评价测量结果的重复性/中间精密度/再现性。QCM不能用于建立测量结果的计量溯源性或正确度评价。

QCM应符合标准样品的基本要求，除对溯源性和不确定度不做要求外，它们相应的特性应充分均匀和稳定。均匀性水平应小于预期测量过程的标准偏差，或小于一个固定的评判值，此值与实验室性能评价或实验室结果“正常”可接受的要求相对应。QCM的稳定性应至少覆盖预期的应用周期。

## 5 质量控制标准样品（QCM）的用途

QCM的主要功能是给实验室提供一种经济的样品，用于定期（如每天、每周或每月）检查试验程序的精密度。

CRM在所有情形下都能替代QCM，但QCM不能替代CRM；在测量过程中QCM是对CRM有限和特定目的的补充。若需建立计量溯源性，就必须使用CRM。依据指南34原则生产的CRM，对于建立计量溯源性的概念是十分必要的，在标准样品中是最高规格的。对QCM无计量溯源的要求，因此，其不能用于建立计量溯源性或评估不确定度。对于方法确认和不确定度评估，QCM只能在有限的范围内使用（例如，总测量不确定评估中的精密度分量评估）。

QCM的用途包括（但不限于）：

- QC图制作-展示实验室内测量过程控制，或确认实验室质量控制过程的有效性，或在一定周期内证明测量过程控制；
- 结果比较（如：当测量过程有变化时，比较两个或多个相关样品系列、短期或长期结果的变化）
- 方法研究-建立一致性（确认有效性应该使用有证标准样品）；
- 仪器一致性检查；
- 重复性和再现性研究
- 通过在较长的时间周期、仪器、操作人员等不同条件下反复使用（QCM），

评价测量过程或实验室的长期再现性和稳定性；

——作为核查样-例如，确认两个或多个实验室（如提供者和用户）测量结果的等效程度，此处，样品应该很稳定；

——操作人员的变动性监测；

——环境条件（如温度，湿度）影响变化监测。

在确认一个测量程序是否处于统计学可控时，采用该测量程序测量QCM，将结果的变化范围或结果的标准偏差与预先建立起来的标准相比较，来最终判定实验室的试验过程是否可接受。如果结论为不可控，实验室应采取相关行动。最简单的方式是重复进行上述“可疑”测量，可能需要重新校准测量仪器。

QCM应用的深入讨论可参见ISO指南33。

无论何种预期用途，均应评定QCM的均匀性和稳定性。

## 6 质量控制标准样品（QCM）的内部研制步骤

QCM的根本目的是识别波动。研制QCM通常需要用更务实和简便的方法来保证样品的均匀性和稳定性，达到开发成本和预期用途之间的平衡。

任何标准样品的研制，都需要具备一定的技术水平和组织能力。内部研制QCM也是如此，研制人员应有丰富的样品知识并熟悉相关过程。

典型QCM内部研制的关键步骤汇列如图1，更多详细描述可参考文献[12]和[13]。材料可源于第三方，其处理、分装和包装也可由具有一定经验和特定设备的第三方来完成。候选样品还可以是满足用户特定用途的市售产品（例如，从一个独立批次产品中抽取的适当规格的产品）。

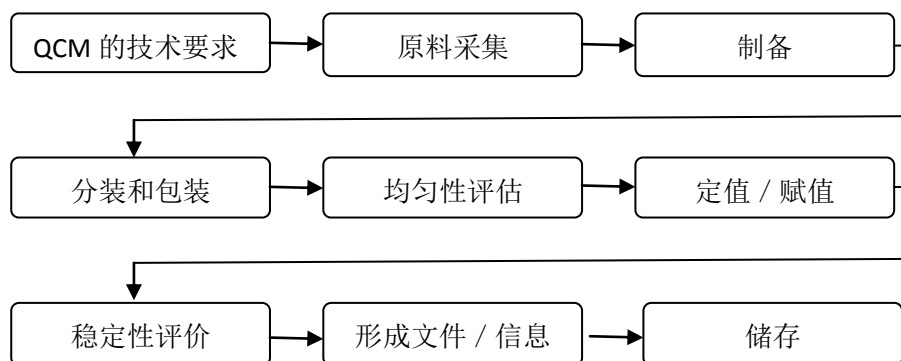


图1. 研制QCM的关键步骤

注：任何步骤都能分包给有技术能力的分包方。

## 7 样品的技术要求

QCM的技术要求和选择的关键标准是基体材料及特性值应尽可能接近实际样本，

且数量充足。

### 7.1 基体类型、匹配性及通用性

标准样品基体的适用性和范围是所有标准样品用户和研制者必须考虑的重要问题。

基体类型是指基体存在的形式。有时，组分相同存在形式不同的同一样品的基体类型是不同的。例如，Fe和C含量相同的灰口生铁与白口生铁基体类型不同。MgO和Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>含量相同的尖晶石和镁砂-刚玉混合粉是两种不同类型的基体。冻干食物与类似含水量的新鲜食物是两种不同类型的基体。相同的基体，当类型不同时，分析特性有时是不同的。因此，基体匹配性不仅仅是基质的匹配，还有类型匹配。

通常，测量结果的不确定度源自测量程序中的两个主要阶段：

- 包含消解、萃取、洗涤等过程的样品制备阶段；
- 采用合适的技术对待测样进行测量的特性值测定阶段。

基体RM的使用范围和适用性是所有RM生产方和使用方均需考虑的因素。

QCM的基体应与日常检测样品的基体相同或尽可能相近，这样QCM的满意结果能够真正指示检测样本的满意结果。基体越接近，测量结果越具代表性。基体匹配需了解日常样品的分析程序，从而可以判断因样品与QCM基体物理/化学性质的差异，带来对特定测量程序的响应不同所造成对分析结果准确性的影响。例如，冻干食物基体与类似的含水量新鲜食物基体不同，其分析表现也不同。

通常，制备QCM都有特定的用途，QCM的特性与要分析的样品的特性密切匹配。

在临床化学领域，替代性具有重要意义，在别处<sup>[14]</sup>已有描述

实际上，经常是在难以找到合适基体的CRM时，才需要研制QCM。QCM研制者会采用实际问题中的特定基体/特性组合，因此匹配性不存在问题。

### 7.2 特性和特性值

正如任何一种RM，QCM也应对日常样品检测中非常重要的特性进行定值。QCM特性应该与预期试验样品的相应特性尽可能相近。因此，需要预先对一定量的候选物进行测量，以确保选择最适合的基体。

### 7.3 单元规格

单元规格是指单一包装单元QCM的样品量。制备QCM时，单元规格根据预期用途确定，即无论样品用于单次还是多次测量分析，单元内所含样品量都应足够。

### 7.4 样品总量

需要估计每批候选物原料的总量。原则上需综合考虑以下因素：

- 实验室每年需要的单元数量；
- 单元规格；
- 制备的产能；
- 样品均匀化处理能力；
- 保证供给时间和样品稳定性特征；

——所需储存设备的类型和规模。

## 8 质量控制样品（QCM）的制备

### 8.1 取样

采集和加工QCM，特别是量大时，初看起来十分困难。然而，有下列方式可供选择：

- 过量取样；
- 准确称量配制。

原材料的加工是QCM制备过程中重要一环，其QCM成本的重要组成部分。因此，使用简单易行是控制加工成本的不二法则。应根据特性值和基体的自身特点编制针对不同QCM的制备程序。

通常，研制液态基体QCM比研制相应的固态样品容易。主要原因是液体样品比较容易混合均匀，特别是通过相关的混匀设备。同时，液体也容易加标、过滤或与添加剂及稳定剂混合。对于固体原料，需经研磨制粉、辗磨、混合和筛选等相应过程，达到均匀相对而言难得多，尤其是批量（>20kg）较大时。当大批量生产时，上述技术需要大量投资研发关键设备。

无论是液体还是固体QCM，在制备过程中防止沾污都非常重要。尤其是要防止对预期测量过程有潜在影响的物质的引入，如相似的材料或空白基体的污染。因此，在整个操作过程中，所有的容器（如瓶、安剖瓶、烧瓶）均应仔细清洗并干燥。

医学实验室要通过生物样品采集制备QCM时，应考虑如下特殊步骤中的问题：

- 制备QCM保留和使用病人剩余样本的伦理问题；
- 制备QCM销售保留（扣留）和使用病人剩余样本的法律责任；
- 医学实验室制备QCM需要保证所选的样品有高度的真实性，避免误用器官；
- 样品应进行潜在的健康风险评估，尤其是制备时涉及使用锋利物品或可能形成气溶胶。

### 8.2 加工处理

#### 8.2.1 概论

取样完成后，在制备过程中，须保证样品均匀性和稳定性满足预期用途。

#### 8.2.2 干燥

除去基体中的水分，样品更容易处理，且有利于改善长期稳定性和短期稳定性。因此土壤及类似基体的干燥温度宜温和或逐渐升温，这取决于待定的特性，因为高温会使得易挥发的组分损失。干燥减少了微生物生长的可能，这在生物样品中是特别重要。冻干是对于处理温度敏感特性或基体的QCM十分有效。

#### 8.2.3 锻压、铣削和研磨

对于固体来说，锻压、破碎、铣削、研磨以及其它减小尺寸的方法，常常是保证颗粒大小一致性从而提升均匀性的有效方法。大批量样品处理过程很慢可能要几天

才能完成。应特别注意加工设备可能带来的污染。当研磨大量的可能含有毒素的特定材料时，应考虑健康和安全问题。处理聚合物、生物、油/脂肪和热不稳定的样品，可考虑在 $-78^{\circ}\text{C}$ （固态 $\text{CO}_2$ ）或 $-196^{\circ}\text{C}$ （液氮）下低温粉碎。

#### 8.2.4 筛分

在铣削和研磨后进行筛分可以改善样品的均匀性。一些特定的材料，如土壤、矿石、灰分及生物样，可用标准筛舍弃过大的颗粒。

然而，要注意筛分有时会改变基体组分，筛除的比例过大和筛去了某一组分，分析物的浓度都会发生变化，基体会失真。在这种情况下不能筛分。

#### 8.2.5 混合

批量固体原料必须利用辊压机、振动筛、圆筒形混匀仪等设备混匀，此步骤通常在研磨、筛分后进行。

混合两种或两种以上基体相似、特性量值不同的原料，可制备特定特性量值的QCM，或制备一系列相似的可以覆盖一定被测物含量范围的QCM。

为得到均匀的混合物，被混合的物料应具有相似的密度和颗粒分布。

#### 8.2.6 过滤

在装瓶之前，对溶液进行过滤，除去影响样品均匀性的颗粒或纤维状固体。然而，要注意的是有些液体不能过滤，原因在于i)粘稠，ii)活性组分被滤膜吸附有潜在的损失，iii)会引入污染。需要评定滤膜的质量以避免活性组分的损失。

通常情况下，在装瓶（或安瓿瓶）前，液体，水和渗滤液用 $0.45\ \mu\text{M}$ 滤膜过滤。

#### 8.2.7 稳定化

有些分析物在溶液中是不稳定的，因此，在制备过程中需要进行稳定化处理。例如，金属在中性或碱性介质中会水解或氧化产生沉淀，一般采取调节溶液的pH值到低于2来解决此问题。铜的浓度在 $1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 可以抑制溶液中藻类生长。不同的样品需要进行不同的探讨，如需要加入抗氧化剂、防腐剂或稳定剂等等。

#### 8.2.8 灭菌

灭菌可用于处理土壤、污水、污泥和生物样品中可能含有的持久性病源体，使其达到稳定。样品中可能含有孢子，在储存过程中会使真菌发霉，因此会引起整批样品或个别单元的组分发生变化。在分成最终单元和包装前，这类有机体需要灭掉。

在对任何待定QCM灭菌前，重要的问题是要考虑对样品进行灭菌处理的影响，尤其是那些升温会降解的样品。

热压灭菌是一种廉价而方便的消毒方法，可用于耐高温的样品（例如沉积物中的金属样品）处理。热压灭菌可以针对整批样品在最终均匀化和分装前进行，也可针对最终样品。然而，重要的是要确保样品中心达到 $121^{\circ}\text{C}$ 。

最终包装单元（如：安瓿瓶，瓶或袋）可采用放射处理安瓿。常温伽马辐照处理是一种便捷的灭菌方法，它引起基体组分的改变比热压灭菌要小。应小心确定放射剂量，以便有效地消除病原体，又对样品无不利影响。但多数实验室不具备伽马辐照的

条件，需要专业的分包方。

### 8.3 分装和包装

#### 8.3.1 概述

整批样品制备完成后，需要分装和包装。为了确保预期使用的充分均匀和稳定，如下章节叙述了分装过程和容器选择的一些供参考的关键点。

#### 8.3.2 容器的选择

要控制QCM的生产成本，应认真考虑选择适当的独立单元容器。如果容器使用不当，样品会很快降解，可能需要花费大量人力物力重新制备。容器的类型选择取决于样品的稳定性和需要保存的时间。有些特殊的样品采用双层（如，塑料袋包瓶）包装可以防止降解和污染。

如下事例说明必须认真考虑容器及其密封

——如果容器密封不严，有机样品既会损失也会吸潮。带螺旋盖和内塞的玻璃容器拧紧盖帽即可密封。密封罐、铝箔袋或隔衬卷曲顶瓶密封更好。

——氧敏感样品应在充气（氮气或氩气）保护下制备和分装。

——含低浓度金属（如mg/kg）的水样不宜用玻璃瓶包装，因为玻璃表面会吸附金属。此时，应该使用带螺旋盖高密度聚乙烯（HDPE）瓶，但水会沿瓶壁挥发损失也是潜在的问题。这一问题可以通过储存在冰箱（而不是在室温下）里来解决，或使用氟处理聚乙烯瓶。

——QCM从容器中浸出杂质而受污染的可能性也应考虑。例如罐头食品QCM的铁含量会增加，因为铁会从罐头壁渗入食物基体。瓶（玻璃或HDPE）装酸性水溶液都会有浸出升高的问题。一般来说，应该在使用前进行适当的容器浸出试验来评估风险。

——对相对稳定的基体，例如土壤和其它干的环境基体或生物基体，旋盖玻璃瓶即能满足要求。棕色玻璃瓶可以防止由于光照而导致的变质。

——含有容易挥发组分QCM，例如，含有机溶剂，包装后需要对玻璃瓶进行“顶帽卷边密封”或用火焰密封安瓿瓶包装。应该使用棕色瓶以免受光的影响。

一开始就应对特定的QCM进行试验，包括空白研究，来甄别最合适的容器。

如果样品需要反复开启使用，那么重复开启和密封的影响也应该进行评估。

如果（单元）一次性使用的，应该考虑加装密封防启标识。

#### 8.3.3 分装步骤

整批样品混匀后，分装过程之关键是要保持样品的均匀性。即分装过程中，或完成全部样品分装的时间内，不应再引入不均匀性。分装引起样品不均匀的情况应该注意。如下列举的是几种真实的分装产生不均匀的情况。

含不同挥发性液体混合物基体（如水中乙醇），在过长的分装过程中，某种组分选择性挥发，会引起从最初单元到最后单元的特性值上升或下降。通过防止样品挥发和在尽可能短的时间内完成分装，可以减小这种影响，这取决于准确度要求。

所有液体和溶液在分装过程中都应连续搅拌。如果颗粒物的存在可能会影响特性

值，分装前应过滤。

固态颗粒物基体，如土壤、沉积物、工业产品等，在分装过程中应确保颗粒不会分层。当从一大堆中抽取样品时，要特别小心，应确保没有垂直分离。筛分自由流动的粉末样品能使每一单元包装的颗粒组分相近。操作得当时，筛分能减小分层，并使单元间的变差减小。使用成品筛分设备分装这类样品不会引入不均匀性。ISO 14488:2007中有更详细的颗粒样品分装和抽样叙述。

含有高脂肪食品基体（如鲑鱼酱），脂肪会慢慢分相。如果产生这种现象应该在不断搅拌下分装和/或在基体中加入添加剂减慢分相。

一般原则是，分装样品工作应该尽快完成，尽可能减小基体变得不均匀的可能性。分装过程中采取适当的步骤，以保持样品的均匀性。可能需要舍弃前面和/或后面部分样品，尤其是容易发生偏析的复杂基体样品。

对于用于痕量分析的QCM，分装要特别注意，不能（如从空气、设备、实验室容器等中）引进杂质，杂质的引入会改变已确定的特性值。

## 9 均匀性

### 9.1 概述

均匀是一个相对概念。QCM所需的均匀性水平，取决于对测量过程中待测样品量的期望变差的理解（见7.3）。在所有情况下，不均匀性水平导致的对测定结果的影响应该小于测量过程的预期变差或低于设定的临界值。

候选QCM分装成最小包装单元后，确认各单元间特性量值是否存在差异是非常重要的。对于某些QCM基体，例如真溶液，如果制备过程中已经过滤（去除颗粒物）且充分混合，原则上无需进行正式的均匀性检验。这种样品公认为本质上均匀。然而，由于存在沾污（例如：包装时引入）或不完善分装的风险，建议进行一个简单的均匀性研究。

对于一些更复杂的基体，如食品、土壤以及固态基体，由于其存在固有的非均匀性问题，因此需要进行正式的均匀性检验。应该选择足够量的有代表性的QCM单元，对选定的特性<sup>[1]</sup>进行分析。在某些情况下可以选择一个有代表性的特性来代表和定量多个类似特性的均匀性。这需要科学的证据或前期试验证明这些特性有类似的均匀性倾向<sup>[13]</sup>或者已知在样品中有很强的均匀分布倾向（如，合金中一些金属）。

对数据进行统计和对充分均匀性的测试用电子制表软件很容易完成（见9.3）。GB/T 15000.3详述了均匀性评估的所有要素并给出了进行均匀性研究的推荐方法和均匀性数据统计处理的所有细节和实例。

均匀性包含两个方面，单元间均匀性和单元内均匀性。单元间均匀性反映样品每一单元之间测量结果的变差。单元内均匀性反映了能代表整个单元的最小取样量。应该确保日常分析的典型取样量比最小取样量大或至少要相等。

## 9.2 分析方法

均匀性评价应该选择重复性很好的经确认的方法。选择的单元数量应该能代表整批的总量并受制于单元总量。

推荐用于每批次多个单元的均匀性检验的抽样原则<sup>[16]</sup>是：对于包含“n”个独立单元的样品，均匀性检验抽取的样品数量为 $3\sqrt[3]{n}$ 。例如，600到1000个单元抽取27到30个单元重复分析。这是很费时和费力的工作。减小QCM均匀性评价抽样数量的影响研究<sup>[2]</sup>表明，在某些情况下抽样量为10个单元重复分析就足够了。因此，制备QCM要降低成本可以减少均匀性检验的抽样量，尽管如此，具体情况还得具体分析。

GB/T15000.3提到了一个实际情况：在某些情况下，检测所有特性的均匀性从技术或经济不可行的。如果只选择几个特性进行均匀性评价，这些特性必须对其它特性具有代表性（例如，基于建立的物理和化学关系）。

合适的均匀性评价方法如下所示：

- 从最终包装单元中随机抽取g份样品， $g \geq 10$ 。
- 采取适于测试样品降低样本间差异的技术将每个样品制备2份。
- 将2g个测试样品随机排序，每个样品得到一个测试结果，在重复性条件下完成所有样品的测试。
- 计算算数平均值 $\bar{x}$ ，单元内标准偏差 $S_w$ 和单元间标准偏差 $S_g$ ，见9.3。

执行测量时应保证能识别批量样品中任何趋势的测量漂移。这可以通过随机顺序或倒序测量重复样品实现。

## 9.3 均匀性数据的统计处理

可以用GB/T15000.3<sup>[2]</sup>的原理对均匀性进行统计评估。

本实例引自GB/T15000.3：2008<sup>[2]</sup>附录B3（土壤中铬）对10个单元重复测试的均匀性研究，数据如下：

表1 10个单元的均匀性研究

单元数	结果 1 $mg \cdot kg^{-1}$	结果 2 $mg \cdot kg^{-1}$	平均值 $mg \cdot kg^{-1}$	变差 $mg \cdot kg^{-1}$
1	121.3	128.74	125.02	27.68
2	120.87	121.32	121.10	0.10
3	122.4	122.96	122.68	0.16
4	117.60	119.66	118.63	2.12
5	110.65	112.34	111.50	1.43
6	117.29	120.79	119.04	6.12
7	115.27	121.45	118.36	19.10
8	118.96	123.78	121.37	11.62
9	118.67	116.67	117.67	2.00
10	126.24	123.51	124.88	3.73

总平均值为 $120.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

需要评估这些数据以确定样品用作QCM是否充分均匀。作为QCM应用时，瓶间标准偏差应小于实验室再现性标准偏差的三分之一（可由现有的控制图数据获得，或，可行时，由现有方法的再现性和重复性数据获得）。这类似于推荐用于能力验证样品<sup>[17]</sup>的均匀性可接受限的方法。

观察这组数据时，应考虑到样品的本质（在本例中是土壤）和这种变差是否在可接受限内。

一个有用的第一步是通过图表来观察这些数据，这可以使任何不一致的特性（例如离群样品、趋势或其他系统影响）轻易识别。

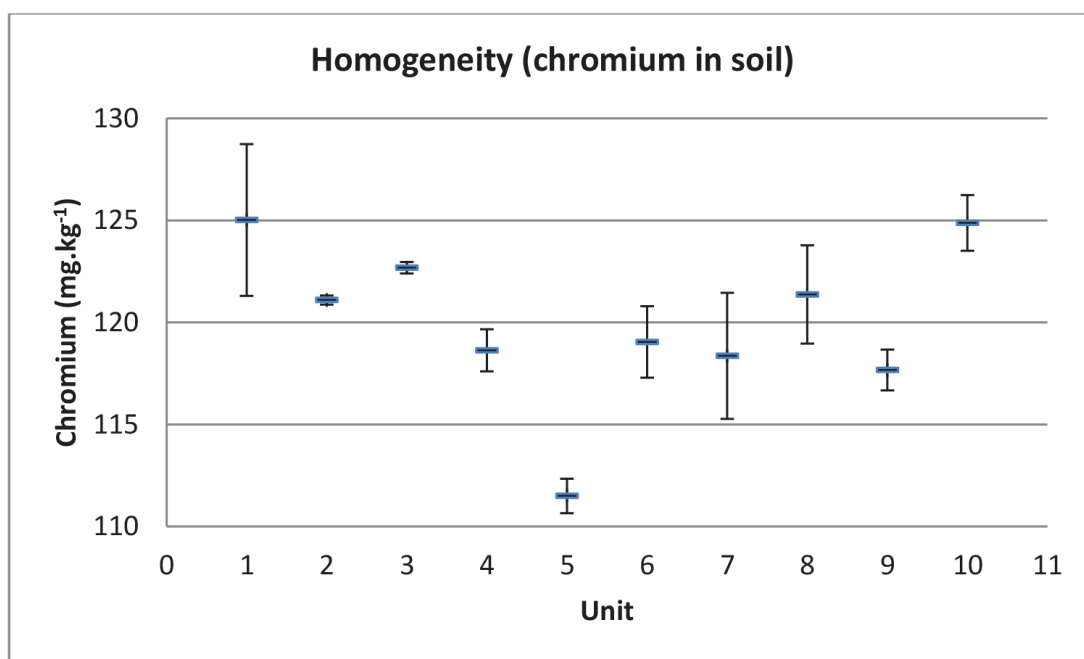


图2 数据图

通过统计分析确定单元内、单元间标准偏差来完善数据的图表分析。使用电子制表软件进行变差的单因素分析给出了表2的数值：

表2 方差的单因素分析结果

变差源	方根和 (SS)	自由度	均方根 (MS)
瓶间	284.94	9	31.67
瓶内	74.05	10	7.41
总和	358.99	19	

瓶间方差用下式估计：

$$s_A^2 = \frac{MS_{among} - MS_{within}}{n_0} = \frac{31.67 - 7.41}{2} = 12.13 \text{mg}^2 \cdot \text{kg}^{-2}$$

瓶间标准偏差为方差的平方根：

$$s_{bb} = \sqrt{12.13} = 3.48 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$$

重复性标准偏差可由下式计算：

$$s_r = \sqrt{MS_{within}} = \sqrt{8.41} = 2.72 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$$

结果显示一个较高的瓶间不均匀性是由单元 5 引起的。如果此不均匀性高于预设的限值并且使 QCM 不再适用，有必要进一步调整样品来提高均匀性。此种情况下，明智的做法是进一步分析单元 5 的数据，确定是否有任何技术原因质疑此数据的有效性，引起数据离群。

其它评估QCM均匀性的例子在附录A—附录F中实例研究中描述。

## 10 定值和赋值

质控样用于监测测量过程的变化。要达到这个目的、用于监测测量过程的质控样需要有指示值，同时也需要指示值展示不同单元间均匀性的变化。

确定指示值的一种有效方法是将均匀性研究的总平均值作为指示值，可用总平均值的偏差来估计指示值的期望区间。均值的偏差还可用于建立控制图警示限。用2倍或3倍标准偏差建立警示限和控制限（也描述为控制限上限和控制下限）。

## 11 稳定性

### 11.1 概述

不同材料具有不同类型的（不）稳定性。有些可通过给出长期历史数据和经验而无需考虑；有些需要考虑但无法检测；有些可检测和评价；另一些则遵循一定的物理和化学规律。

通常可以用ISO指南34和35所述的稳定性研究方法来评定。如果样品不需要运输到研制地点以外的地方，就不需要短期稳定性试验。对材料所有特性量的稳定性评估是一项费时费力的工作，如果有充分的检查和证据表明异常结果来自于错误的检测样品、测量过程中仪器漂移或质控样降解，可以不用对所有的特性量进行稳定性检验。但是，制备质控样时必须权衡稳定性检验成本与研究方法漂移的成本，而实际上这种漂移却是材料降解所引起的。

值得指出的是有些质控样需要重复使用，研究包装单元启封后的稳定性特别重要。

质控样需要有足够的稳定性；如果质控样的稳定性可以达到数年，使用时，用户

可以不去考虑稳定性（特性值变化）对结果的影响。

仔细选择容器可以避免一些影响稳定性的因素（如氧、光、湿度敏感性；组分挥发性）。

有些样品（如冶金样品）本身很稳定，有些样品需要低温保存以延长稳定期。

在制备过程中就失效或意外引入污染/杂质都可显著影响稳定性。

## 11.2 稳定性评价

对标准样品进行全面的稳定性评估耗时耗力，并不适用于本指南中实验室内部制备的质控样。实验室很可能具有用于制备质控样的基体类型的稳定性和特性量值的经验。

但是，如果使用了量值发生显著变化的质控样，则会导致很大的经济损失（例如，放行了不合格的产品，或不放行合格产品）。使用质控样的实验室应该具有当质控样给出不满意结果时采取措施的程序。这些措施包括使用新制备的校准品与有证标准样品比较，反复进行灵敏度检查确认质控样结果的偏离或变化趋势。更多的信息可参照 ISO 关于质控图的标准（如 ISO 7870-1，ISO/IEC 17025）。

必须进行稳定性评定时，可参考 ISO 指南 35。实例见附录 F（案例 6）。

## 11.3 质控样有效期评定

实验室质量体系要求标准样品和试剂标明有效期。标准样品研制中，对有效期的确定最有争议。有效期的评定涉及到根据样品的过去行为预测其未来行为。有效期确定应该基于质控样基体类型和特性值的稳定性经验以及其他背景信息。注明的有效期的不是绝对的。当某个质控样给出了不满意结果时，使用该质控样的分析人员应按实验室的规定采取措施。

特别稳定的样品可以不需要标明有效期，但要有基于样品特别稳定的稳定性描述。典型的描述是：“本品为矿石中元素分析用冶金质控样，矿石自身稳定性极佳，在推荐的保存条件下质控样的稳定性良好”。

## 12 运输

一般，本文件所述的样品是在本地研制和使用（即，无需广泛分发）。还有些样品本身特别稳定，即便运输其特性值也不会有变化。

如果需要运输就应该有运输稳定性评定，具体参照 ISO 指南 35。

## 13 质量控制标准样品（QCM）文件

### 13.1 概论

像实验室试剂一样 QCM 应有合适的标签，应有安全、有效使用的说明。ISO 指南 31 有详细的标准样品证书和标签的描述可参照。

### 13.2 质量控制标准样品（QCM）应有的信息

以下是 QCM 用户应该得到的信息：

- 样品名称和材料的描述；
- 编号和/或批号；
- 制备日期；
- 预期的用途和特别的使用说明（例如，干燥程序或给出干基校正）；
- 指示值（适用时）；
- 得到一致结果的最小取样量（依据均匀性研究的取样量）；
- 贮存说明；
- 有效期信息；
- 用户使用的安全注意事项。

### 13.3 QCM单元标签

每个单元的 QCM 应该有清晰的标签，以使它能够明确联系样品信息。因此，标签包含如下内容：

- 样品名称和材料描述；
- 编号和/或批号；
- 危害性和安全标识，适用时；
- 储存地环境条件包括温度和湿度；
- 制备日期
- 预期的失效日期。

在标签上还可以提供以下附加信息：

- 单元规格（如，20g）；
- 独立单元编号（在出现非期望结果时，这有助于辨别包装时特性量变化的趋势）。

### 13.4 其他有用信息

如果使用 QCM 时遇到疑问或制备新批次材料时，就需要与制备相关的信息。按以下形式保留与制备 QCM 相关的数据档案是一个很好的做法：

- 相关技术指标；
- 整批样品的源地和制备方法；
- 独立包装单元的容器类型；
- 所用的分装方法；
- 对样品所采用的稳定化和灭菌的特殊处理方法；
- 样品的补充数据（如，粒度、水分含量等）；
- 制备样品的所有详细方法；
- 研制新批次和相关 QCM 时，避免高昂代价的特殊经验。

## 14 贮存

### 14.1 通则

完成 QCM 制备后, 要用适当的条件妥善贮存, 以保证样品不变。一般来说是要确保包装容器密封、远离热源避光和防潮。

在避光和适当温度(如室温, 4°C或-18°C)下贮存, 是确保长期稳定性的关键。对于那些基体稳定性不好的 QCM, 如食品基体和水溶液, 推荐在低温下长期贮存。对于特性/基体稳定性较好的样品, 如含金属土壤或 PCBs, 通常可在常温下长期贮存。

### 14.2 贮存条件监控

应定期监测贮存条件并记录, 以确保贮存条件合适, 如温度。推荐的方法是每天监控并记录冰箱和冰柜的温度, 一旦失控, 可及时采取措施(比如, 转移到另外的地方贮存, 如果可能, 对样品还应进行后续适用性评价)。

## 15 质控样的使用

### 15.1 概述

无论是采购的还是自制的标准样品都应有使用说明书。说明书内容应包括保存和处理的详细说明, 包括详细的取子样和干基校正的说明。

### 15.2 最小取样量

所有的标准样品(均匀的溶液和气体除外)本质上是不均匀的, 但对于实际使用来讲, 如果取足够大的样本量就可以将这种不均匀性降低到一个可接受的值。

最小取样量是最小的子样本, 但它仍能代表样本整体的目标性质。通常情况下, 最小取样量用于评估整个样本的均匀性。因此, 说明中给出的最小取样量为保守估计, 而不是绝对的最小量。

### 15.3 混匀程序

长期存放的多组分混合物基体样品, 可能会发生沉淀和离析。因此, 在取子样前充分混合各等分非常重要。通常简单地摇一摇即可。如果需要搅拌才能充分混合样品后使用, 这时应该注意避免引入任何可能干扰测量程序的杂质。

有时, 取子样前目视检查就能辨别样品的不均匀性, 比如团聚。

### 15.4 干基校正

许多特性值都是用每份样品干基含量表示。其优点是潜在水分的吸收不影响特性值, 缺点是特性值取决于干基的检测方法。研究<sup>[21]</sup>表明不同的干燥方法(例如, 烘箱、卡尔费休滴定、真空干燥箱)结果有显著差异, 这不仅是因为它们检测的是不同的物质。

对潮气敏感样品, 合适的包装是控制水分含量的最佳方法。然而, 这种方法并不可行, 并且水分含量可能会随着时间发生变化, 因此, 建议每次使用前采用同一水分

校正方法进行校正。

### 15.5 质控样容器启封后的保存

反复打开标准样品的包装会增加污染的风险。在制备质控样的过程中就应考虑重复开封包装容器和反复冻融对样品稳定性和均匀性的影响。

注：做到这个并不容易，标准样品 BCR-522(牛血裂解液中的氰化血红蛋白) 冻结后就不能正常溶解。

如果可能，包装单元的规格最好根据分析用量来设计。这样，每个单元一旦打开就尽快用完，避免潜在的降解。这种情况下，将质控样制备成一些小的、单次使用的单元是有利的。

如果质控样的包装启封后还要保存，应该选择在对样品稳定性没有影响的条件下保存。这种保存条件应保护样品不受意外污染并在用户指南中给出。

## 附录 A

### 案例 1 煤炭质量控制样品的研制

(资料性附录)

#### A.1 研究目的

根据适用 ISO 标准,某煤炭检测实验室使用某质控样对工业分析和元素分析进行日常质量控制。经测算,包装规格为 1 升的样桶装 1kg 样品,足够进行一周的分析检测,实验室计划在未来一年使用样品,计算可得约需要 100kg 原材料,该批原材料标称最大粒度为 50mm。

实验室希望所用质控标准物质/标准样品与发电厂所用的混煤基体一致。

#### A.2 采样

用机械方法从煤流传送带取样,经破碎和过筛后得到标称最大粒度为 10mm 的煤样,分成 6 份样品,每份质量 10kg。再次重复上述过程。实验室将此包装为 12 个塑料袋,每个塑料袋有 10kg 混煤。

#### A.3 检验材料的适用性

从任意一个塑料袋中取样,分析样品中的挥发分、灰分含量、高位发热量(工业分析),以及碳、氢、氮及硫含量(元素分析)。依据测定参数含量水平和热值分析结果,证明了该煤样的适用性。

#### A.4 样品制备

将样品在室温下干燥去除多余水分,过筛,分成 10 份,再分装。

使用实验室有 10 个分样管的分样器进行分装。为消除不同袋子之间可能存在的差异性,使用表 1 中的分装方法。

表 A.1 分装方法

01	02	03	04	05	06	07	08	09	10		
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓		
01.01	02.02	03.03	04.04	05.05	06.06	07.07	08.08	09.09	10.10	→	A
01.02	02.03	03.04	04.05	05.06	06.07	07.08	08.09	09.10	10.01	→	B
01.03	02.04	03.05	04.06	05.07	06.08	07.09	08.10	09.01	10.02	→	C
01.04	02.05	03.06	04.07	05.08	06.09	07.10	08.01	09.02	10.03	→	D
01.05	02.06	03.07	04.08	05.09	06.10	07.01	08.02	09.03	10.04	→	E
01.06	02.07	03.08	04.09	05.10	06.01	07.02	08.03	09.04	10.05	→	F
01.07	02.08	03.09	04.10	05.01	06.02	07.03	08.04	09.05	10.06	→	G
01.08	02.09	03.10	04.01	05.02	06.03	07.04	08.05	09.06	10.07	→	H
01.09	02.10	03.01	04.02	05.03	06.04	07.05	08.06	09.07	10.08	→	I
01.10	02.01	03.02	04.03	05.04	06.05	07.06	08.07	09.08	10.09	→	J

使用动态分样法,将 10 个袋子(表中第一行)的样本分装成 100 个子样。子样的编号方式表明了其来自哪个样本(第一对数字)和哪个分样管(第二对数字)。子

样的组合方式为：从 A 到 J 的混合样品，均由每个袋中的一个子样和每个动态分样器管路中的一个子样组合而成。

第二步，继续将 A 到 J 10 个混合样品再分为 100 个子样。将样品置于罐内小塑料袋中。在 10 个罐子中，随机选择 2 个子样进行均匀性检验。对这些样品进行瓶间均匀性研究的分析，测定其水分、灰分和高位发热量。

密封装有 100 个子样的罐子并做标签，标签上标明混合日期以及第二次子样的序列号。将装有混合样本 A 到 J 的罐子分别按 1 到 10 进行排序。实验室应考虑从样品制备开始即保存相关记录，以确保在必要的时候进行根本原因分析。

#### A.5 瓶间均匀性研究

对这批 100 个罐子抽取 10 个进行瓶间均匀性研究，每个样品重复测定两次。通过单因素方差分析方法确定瓶间标准偏差<sup>[22]</sup>。根据以往经验，所选参数（如灰分和高位发热量）的瓶间标准偏差不应大于测试的重复性标准偏差。在均匀性研究中，这两个参数目标都达到了。

#### A.6 测定（表征）

实验室使用休哈特（shewhart）控制图进行质量控制。标准偏差通过之前类似混煤样品的质量控制图获得。平均值来自对一个罐子内的样品在连续十天内进行的十次测量。在第 1 天和第 10 天，用类似基体的有证标准物质/标准样品确证实验结果。对数据进行数据分析，若无离群值，将 10 次测量得到的平均值赋值给质量控制样品。

## 附录 B

### 案例 2 地质和冶金质量控制样品的研制 (QCM)<sup>注</sup>

(资料性附录)

#### B.1 总则

研制的材料来源于拥有分析设备的客户使用的各种地质和冶金颗粒样品(基体匹配),通常是 600kg/单元。这些样品包括矿石、精矿、进料、尾矿、矿渣和没有矿物化的岩石、土壤和沉积物,但不仅限于这些。

#### B.2 项目初始化

制备内部标准样品的需求起源于难以找到一种合适的商业的标准样品来分析一种独特基体的样品。

#### B.3 原材料的来源

应考虑下列因素:

——质量控制样品的基体必须与样品尽可能接近。在富矿中混合成分相似的贫矿或者低品矿,研制不同浓度梯度和预设定基体的质控样。一旦材料成分满足要求,即可进入下一步的制备程序。

——根据品级不同,将原材料在不同的设备中储存和制备,以避免交叉污染。贵金属浓缩物需要另外的维护步骤。

——原材料的量必须足够使用一个实验周期或者使用足够长的时间让它可以及时被更新,可以和替代材料有一段同时使用的时间。

——对毒性太大或成本太高的物质应考虑大量制备的安全性、成本及大量获得的难度。

#### B.4 质控样的制备

制备程序是指通过压碎、粉碎、筛选、分离和包装等步骤把固态地质和冶金原材料制备成均匀的矿粉。此处谨慎使用了术语“均匀的”。这些材料通常是由  $100\% \leq 75\mu\text{m}$  或者  $\leq 43\mu\text{m}$  矿物颗粒组成。一般情况下,术语“均匀的”会受到质量的限制,而且经常会依据“适用的某种目的”来评价。

使用的设备包括:

- a) 颚式破碎机,能够将材料 100%破碎至  $\leq 5\text{mm}$ ;
- b) 闭路式研磨机,研磨至  $43\mu\text{m}$ ,过筛率  $\geq 50\%$ ;
- c) 超声摇动筛粉器,具备  $75\mu\text{m}$  或者  $43\mu\text{m}$  筛网;
- d) 大型 10 杯旋转分离器;
- e) 100 升塑料滚筒;
- f) V 型混匀机或者同类机器;

- g) 50 升塑料滚筒;
- h) 大型天平;
- i) 包装机器;
- j) 各种记号笔, 聚乙烯塑料袋, 标签, 包装带。

## B.5 原材料的压碎、混合和磨粉

为减少制样误差, 在制样之前, 需要将用于制备预定浓度的各种原材料压碎到 $\leq 5\text{mm}$  或者更细。压碎过程通常使用颚式破碎机来完成, 也可以使用其他的破碎机来加速压碎过程。

样品抽取本来就很难而且因为偏析容易产生取样误差。可以采用下列步骤使样品达到一个大致的品级:

——从样品堆的不同区间和不同高度随机抽取 30 份子样, 每份大约 500g。尽量从样品堆的中间取样。

——混合所有子样, 然后迅速分成每个 5kg 的样品。

——把样品磨粉然后用常规方法分析。

标准样品的最终预定浓度是由其组份的浓度计算得到。取样过程中的误差决定了组份和混合物浓度计算的准确度。混合物的组份浓度可简单地由下列公式给出:  $i$  元素的浓度为  $c$ ,

$$C_i = \sum C_{ij} W_j$$

其中:  $C_{ij}$  是元素  $i$  在组份  $j$  中的浓度;

$W_j$  是组份  $j$  的质量分数。

例如, 低品的材料含有 Cu 0.50g/t, 进料含有 Cu 4.00g/t, 那么由 100kg 空白和 400kg 进料混组成的混合物计算浓度为:

$$C_i = 0.50 \times 100 / (100 + 400) + 4.00 \times 400 / (100 + 400) = 3.3\text{g/t Cu}$$

在把材料磨粉之前, 计算好每种所需要加入的压碎材料的量, 把压碎的材料在一个混合器或者 V 型混匀机中混合。如果需要混合材料超过了混匀机的容量, 可以分批处理材料来达到所需混合物的成分。

闭路式研磨机兼具混匀功能, 是首选设备。干磨法可以较好的避免原材料的浸取和氧化价态的变化。磨粉容器应在磨一种新的标准样品之前清理干净, 但磨同一种材料的过程中不需要清理。总计研磨了大约 100kg 材料以后, 在研磨结束后开始筛选材料。与硅酸盐或硫化矿相关的物质不同, 多数具有延展性的金属颗粒难以研磨至较小粒度, 因此材料要尽可能筛到所允许的最大粒度。过大的部分返回重新磨粉。通过了筛网的部分用来制备生产质控样。在使用大超声筛网器之前, 需要检查筛网的孔洞是否适合还有筛网的边缘是否破损。筛网在使用前需要仔细清洁。这个步骤需持续到颗粒过大的材料小于 1kg, 多余的材料用一种环保的方法废弃。

## B.6 研磨后材料的混匀

最终筛出来的材料需要被分成质量相同的若干等份，每一份材料都需要 V 型混匀机能够装得下。这些等份被标记为滚筒 1，滚筒 2，滚筒 3，以此类推。注意：如果颗粒大小不适合混匀机的话，那么材料就需要进一步更细筛分。混匀机不能装满否则就不能顺利工作。

在开始混合之前，材料必须保证不含多余的水分，否则会在 V 型混匀机里结成难分解的小块。取一份样品做水分含量测试，在 60℃ 下过夜烘干。如果样品含水率大于 >2%，所有的样品在进行下一步之前都需要在 60℃ 下烘干。记录含水率。样品不能在更高的温度下烘干，以免矿物（例如钛硅纳泥矿或者石膏等）分解为其他物质。

每一个原始的滚筒，滚筒 1，滚筒 2，滚筒 3，以此类推（都是相同质量），都必须在 V 型混匀机中均匀搅拌至少 4 个小时，而且每一份都不能超过混匀机最大刻度。例如 600kg 的标准样品，他们应该被分为 4 个滚筒，每个约 150kg，然后在 100L 容量的 V 型混匀机中搅拌（50 升的混匀机会超出体积）。在每个均匀化滚筒中的材料都是用干净的大型 10 杯旋转分离器来进行分离。旋转分离器的进料速度和旋转速率应该被调整为每杯原材料至少要 30 的量，最好是 35。将每一份分离物称重。如果每次称重的 RSD 超过 2%，这些分离物需要重新混合，再进行混合和分离。每个滚筒的各个分离物被标记为 A, B, C 到 J。把每个滚筒的 A, B, C 等重新组合成 10 份新的混合物，再把这些新的混合物 (A-J) 在 V 型混匀机中搅拌 4 小时。使用 10 杯旋转分离器分离这些均匀化的滚筒，然后再检查每一份的 RSD。从 A, B, C 中分离出的 10 份被标记为 1 到 10。再把从 ABC 中分离出的 1 到 10 号混合成 10 份新的混合物。再重复上述步骤。新的 10 份混合物再重新标记，比如 D1 到 D10。再在 V 型混匀机里混匀 4 小时（见图 B.1）。

对这 10 组混合物进行均匀性检验。如果均匀性检验失败，那么就需要把每个滚筒的试样再重新混匀 4 小时，分离和再混合（重复上述步骤），再对新的试样进行均匀性检验。

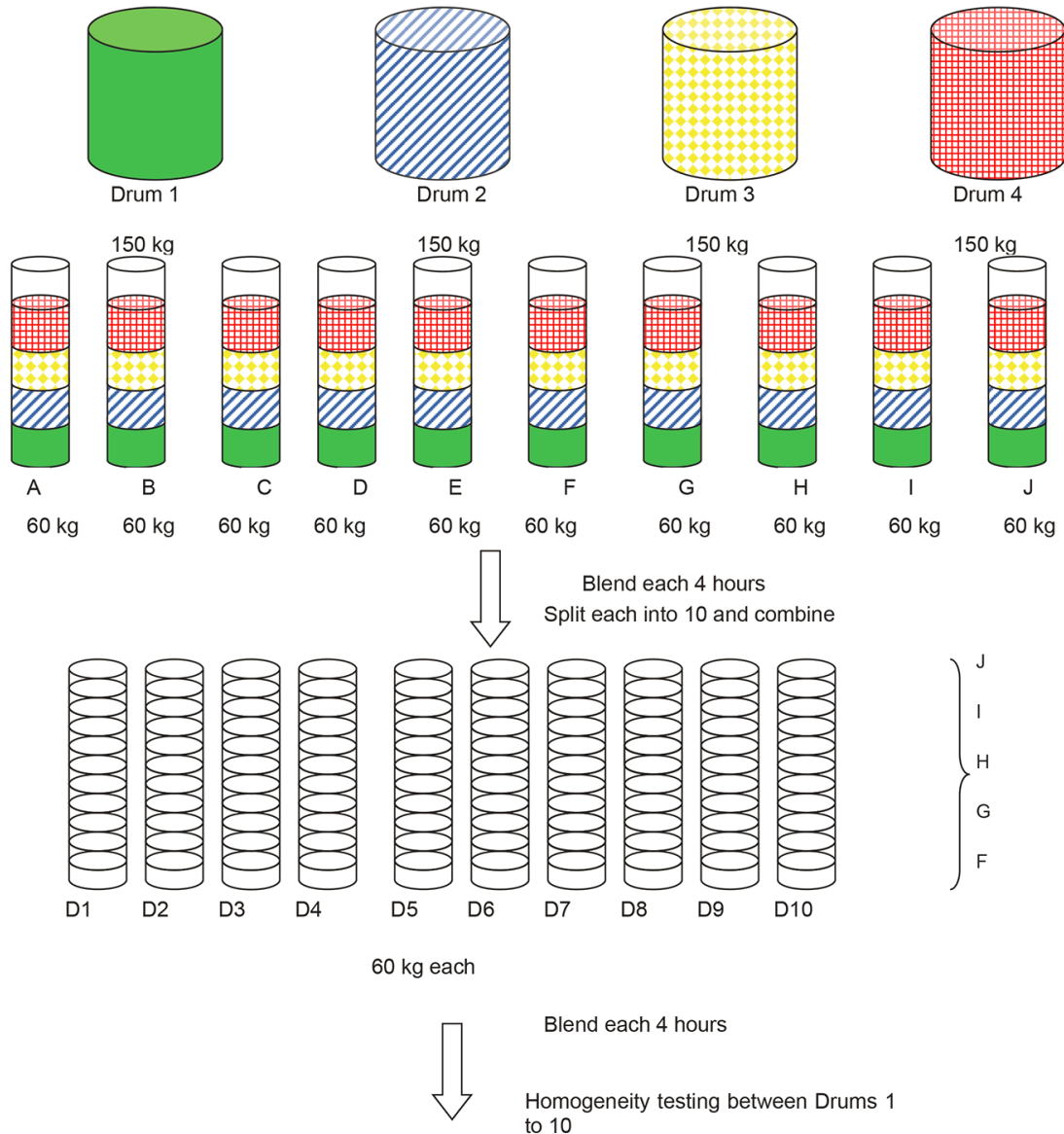


图 B.1 分离和混合的流程图

### B.7 均匀性检验

在每组的 60kg 的分离试样中(D1-D10), 最少应该随机选出 5 个送到实验室检测, 最好是使用材料日常检测方法来进行分析。使用干净的螺旋取样器从样品表面不同的地方和不同的深度取样, 也可以使用其他随机系统的或者随机分层的取样方法。

当样品送入实验室后, 顺序就在工作表上分好了。换句话说, 每个分离物/滚筒的试样都按顺序来分析, 第一个后面接着第二个。如果从分离物中试样按顺序分析, 斜率或者仪器的偏差所产生的统计学差异就和样品的成分无关, 而是由分析过程的误差造成。样品按顺序进行分析。

从实验室得来的数据被转换成 excel 工作表来进行数据处理和统计分析。处理好的数据中的异常值首先用 Chauvenet 定律来分析。

注: Excel 是一种商业化的非常合适的产品。这是为了方便使用者而提供的信息,

并不代表 ISO 对此产品的认可。

表 B.1 用 Excel 来分析 Chauvenet 异常值

目标	Excel 方程
Mean(平均值)	=AVERAGE
Standard deviation(标准偏差)	=STEDV
Count(数目)	=COUNT
Rejection probability(RP) (拒绝概率)	=1/(2*count)
Range (范围)	=-NORMSINV(0.5*RP)
Rejection limit (拒绝限)	=range*stedv
Chauvenet outlier (chauvenet 异常值)	=if(ABS(value-mean)>RL,fail,pass)

根据数据的标准偏差选出异常值。把数据中的异常值删除以后，数据的标准偏差就变化了，接着选出第二轮的异常值然后还有第三次的。移除连续的异常值的时候需要注意，在这个阶段目标是决定数据的分散性而不是确定真值。给出一个粗略的指导建议，如果需要删除 $\geq 10\%$ 的数据量来获得一个可接受的 RSD，在得出最终结果之前必须做重复分析。（删除的数据是有问题或者不好的分析结果）。

如果材料的总体精密度不好（总体的方差大于材料的预期级别和实验室或方法的要求），制备的过程就应该停止然后找出分析结果不好的原因。材料的不均匀可能是由粒径不够细或者混合不均匀造成。在以往的例子中，进一步混合材料不会导致结果中错误的增加。例如，材料总体精确度差可能是由于筛选不好，磨粉/压碎不充足，过度的磨粉/压碎，质量分析不好等原因。材料制备过程需要根据精确度差的原因来调整。一个简单的偏度检验可以用来辨别不好的数据中是正态还是偏态。泊松分布或者对数正态分布会使确认过程复杂化并且还可能会表明不充分的磨粉或者压碎过程。有效的偏度表格限被定为置信概率为 90%。

一个单因子 ANOVA 被用来测试假设在统计学意义上的 2 个或者 2 个以上样品的平均值是相同的，比如从同一个总体上取得的样品平均值是相同的。在 95%的置信限下，只有 5%的几率能指出批量之间的差别。如果 ANOVA 指出滚筒的总体平均数存在差别，那么样品就要重新均匀化（见图 B. 2）。

Drum 1	Drum 2	Drum 3	Drum 4	Drum 5	Drum 6	Drum 7	Drum 8	Drum 9	Drum 10
0.245	0.245	0.237	0.251	0.265	0.228		0.250	0.244	0.242
0.254	0.234	0.252	0.240	0.240	0.248	0.248	0.255	0.249	0.255
0.276	0.245	0.249	0.255	0.250	0.253	0.265	0.243	0.245	0.258
0.261	0.245	0.268	0.254	0.259	0.244	0.250	0.262		0.275
0.254	0.269	0.249	0.236	0.257	0.257	0.237	0.256	0.269	0.253

Anova: Single Factor

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance
Drum 1	5	1.29	0.258	0.000134
Drum 2	5	1.238	0.2476	0.000166
Drum 3	5	1.255	0.251	0.000124
Drum 4	5	1.236	0.2472	7.47E-05
Drum 5	5	1.271	0.2542	9.17E-05
Drum 6	5	1.23	0.246	0.000126
Drum 7	4	1	0.25	0.000133
Drum 8	5	1.266	0.2532	5.07E-05
Drum 9	4	1.007	0.25175	0.000137
Drum 10	5	1.283	0.2566	0.000142

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0.000722	9	8.02E-05	0.686767	0.716084	2.137528
Within Groups	0.00444	38	0.000117			
Total	0.005162	47				

Comment: F<Fcrit (Between Drum Homogeneity Acceptable)

图 B.2 Microsoft Excel ANOVA 测试均匀性检验

若材料通过了上述所有的均匀性检验标准，仅针对均检取样量和均检分析方法，材料是均匀的，并且适用于做均匀性检验时使用的方法，这一点很重要（对于检验方法来说，RSD%是特定的）。进一步来说，计算瓶间不均匀性，可以用 2 个 ANOVA 方案来计算。如果组间 MS 大于组内 MS，那么瓶间方差是用组间 MS 减去组内 MS，然后除以每单元重复测定的次数。瓶间标准偏差是方差的平方根（见 9.3 章节）。如果组间 MS 小于组内 MS，那么瓶间不均匀性的计算就根据案例 4 来计算。可以从 ISO 指南 35 来找到进一步的解释。

## B.8 包装

一旦均匀性检验完成了，材料就可以进行包装。作为内部实验室使用的话，每个滚筒中的试样用旋转分离器分为 10kg 一个的小桶。如果材料需要长时间保存的话，材料的包装必须根据方法的要求来进行，根据不同的基体类型可能的要求有密封，加氮气填充，包装成 150g/单元样品，或者在玻璃瓶中密封。完成包装之后，最少应该随机抽取至少 10 个样品来验证包装过程不会导致样品离析或者成分丢失。这些样品的 RSD 可以与方法要求的 RSD 和原始均匀化测试中的 RSD 进行比对。

作为经常使用的基体的成熟的制备方法,最终包装中随机选择出来的试样分析得出的 RSD 可以用来证明该标准样品足够均匀,满足各种使用目的。

### **B.9 设定接受极限**

作为一种用于监控一个方法的一致性和重复性的材料,可以认为其足以根据溯源性来给其他质量控制样品赋值,甚至包括标准样品赋值和长期方法重复性的验证。在这种情况下,材料必须和一个简单的一页纸的说明书一起使用,说明书包括了平均值和根据 2 个方向的 2 个标准偏差得来的性能标准,最后要由实验室质量管理者签名。

注:本案例的信息来自于 Vicky Anderson of Anglo Research ,8 Schonland Street Theta Johannesburg ,P O Box 106,Crown Mines,2025 南非。

## 附录 C

### 案例 3 叶酸强化面粉质量控制样品 (QCM) 的研制

(资料性附录)

#### C.1 前言

自 2009 年 9 月起, 澳大利亚政府强制规定将叶酸强化面粉用于面包加工产业, 其中叶酸强化量为 2~3mg (叶酸) /kg (面粉)。实验室测定叶酸量的分析方法需在规定的范围内检测并精确定量所添加的叶酸 (成分)。实验室检测结果需与行业整体评估相一致且符合食品标准法则。此处描述的样品是按照能力验证 (PT) 研究样品的程序制备的, 随后被用作内部质控样品。目前, 已将其用于分析方法的开发并用来确保分析不同批次间结果的可比性。在样品制备过程中, 商业叶酸的纯度和叶酸在混合容器壁上的吸附量是两个重要的问题。

在本例中, 制备此样品的同时即开发测定面粉中初始叶酸的分析方法。由于没有可靠的方法测定叶酸在样品中的均匀性, 所以采用另一种测定方法。

碳酸钡通常被用于证明 (验证) 在预期强化水平内混合工艺能否确保混合的均匀性。将碳酸钡 (与预计叶酸相似的浓度) 与不同面粉样品混合, 此方法证明, 一种固体如模拟替代叶酸的碳酸钡可以均匀的分布在面粉基质中。通过电感耦合等离子体质谱 (ICPMS) 分析面粉子样品中钡的含量, 发现其按预期的浓度均匀分布在面粉中。因此, 假定混合工艺能够以预期的浓度制备出均质样品, 即该工艺是被验证过的。

当开发叶酸分析方法时, 也将该工艺用于分析类似步骤制备的叶酸/面粉能力验证研究样品。但是 (研究结果表明), 虽然叶酸能够均匀分布在面粉中, 但却不能达到预期浓度。最终, 物料守恒实验表明, (部分) 叶酸吸附在不锈钢混合容器的表面, 这也是研究样品中叶酸浓度比预期的强化水平低的原因。实际上, 叶酸是淡黄色的, 也使吸附结果更容易判定。进一步的实验表明, 不锈钢容器可能最不适合用于混合叶酸, 聚丙烯容器可能是最好的选择。

#### C.2 样品描述和说明

C.2.1 叶酸强化白面粉, 叶酸浓度 1.86mg/Kg。

#### C.3 制备

质控样品的制备步骤如图 C.1 所示。

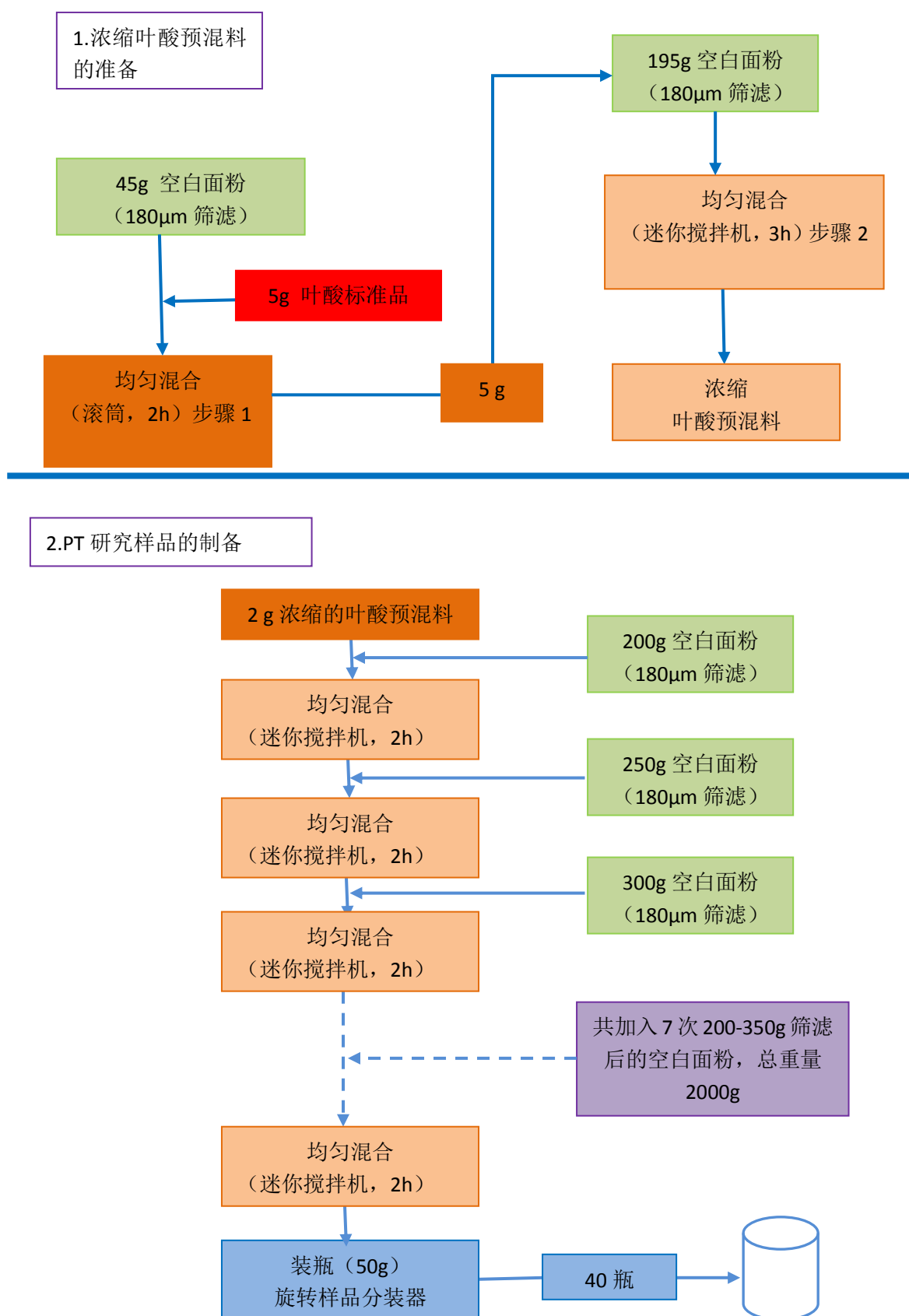


图 C.1 制备步骤

### C.3.1 问题

以下问题需要考虑：

- 用于强化面粉的商业化叶酸的纯度测定；
- 叶酸在混合容器表面的吸附；
- 由于光敏性（文献）造成叶酸的降解；
- 基质（面粉）贮存过程中被昆虫（例如象鼻虫）污染而变质的危险；
- 用一种固体（粉末）强化另一种固体（粉末）；
- 粒度大小的均一性；
- 二次取样。

### C.3.2 方法

下列方法用于解决上述问题：

——*用于强化面粉的商业叶酸的纯度*：一瓶商业来源的叶酸其标签上标明叶酸含量为“约 98%”，但并未明确此含量为质量分数还是摩尔分数。生产商的“分析证书”标明此产品含有 8% 的水分，这表明“约 98%”是指叶酸在有机组分（即叶酸和相似结构的杂质）中的纯度，而不是叶酸在所谓纯物质中的总纯度。在这种情况下，内部纯度评估（定量核磁共振，热重分析和费歇尔滴定法）可用于确定叶酸的总纯度。也可用不同供应商提供的商业化叶酸进行标准比对。

——*光敏性*：在箔纸包盖或其他遮光的容器内进行样品制备。

——*降低由昆虫引起的基质（面粉）变质风险*：将最终产品放置在-80℃环境中过夜存放，以杀死任何可能存在的昆虫幼虫。

——*用一种固体（粉末）强化另一种固体（粉末）*：均匀混合筛滤后的叶酸和白面粉，使用重量分析法制备浓缩的预混料。将适量的预混料与筛滤后的空白面粉均匀混合，制备出终产品。为了确保均匀性，混合过程应分阶段完成。约 200 g 的未强化面粉中加入（适量的）浓缩面粉预混料后，混合物在迷你搅拌机中反复滚动以达到混合均匀的目的。每 2 h 加入约 200 g 的未强化面粉至混合物中直至达到预期浓度。

——*混合容器表面的吸附*：通过重复分析法得出的（采用上述工艺制备的）强化面粉中叶酸浓度低于预期的重量分析结果。随后采用严格的物料守恒方法，通过分析叶酸强化面粉样品制备各阶段中空容器壁的洗出液，来确定制备过程中吸附在各混合容器表面的叶酸量。测试不同材质的容器（有机玻璃、金属、聚丙烯）是否可以减少对样品的吸附量，但并不能避免吸附的问题。因此，重量分析设防水平并不能用于分配叶酸在面粉中的重量分数。

——*粒度的均一性*：混合前的面粉和叶酸都要用 180 $\mu$ m 的筛子过滤。

——*二次抽样*：叶酸强化的材料通过 Retsch PT100 旋转分装器分为 50g 一份。

注：Retsch PT100 旋转分装器是一种适合的商品化的产品。给出这个信息是为了方便用户使用本文件，此产品并非由 ISO 指定。

## C.4 分包和包装（例如任何污染问题，选择性蒸发，特殊的密封要求）

### C.4.1 问题

以下问题需要考虑：

——容器的吸附；

——光敏性。

#### C.4.2 方法

以上问题可如下处理：

——使用有聚乙烯螺帽的容器以减少吸附量，且便于样品材料的取用；

——建议室温避光保存。

#### C.5 均匀性

##### C.5.1 均匀性实现和确认

通过浓缩预混料的连续稀释和完全混匀实现均匀性（见 C. 3. 2）。

数据分析显示在制备均质样品过程中，样品含有预期的钡（重量）浓度。

测试方法中使用碳酸钡是假定叶酸和碳酸钡在混合样品制备过程中有相似的表现。但在制备过程中发现叶酸会吸附在混合容器的容器壁上，因此假设是不成立的（见以上讨论）。

在后续面粉中叶酸的能力验证研究过程中多次检测了此方法制备出的样品的均匀性。在这些研究中，通过分析 7×1 g 一式两份的叶酸子样品来确定样本的均匀性。

（具体方法是）采用精确匹配的同位素稀释液（处理样品后），通过液相色谱串联质谱（LC-MS/MS）在选定的反应模式下检测得出（样品中的）叶酸质量分数。

本方法还采用方差分析（ANOVA）确定了瓶内（分析）和瓶间的方差。

##### C.5.2 数据和数据处理实例

在没有适用的叶酸分析方法的前提下制备了内部质量控制样品（参见前面关于讨论使用碳酸钡均匀性的重新验证）。以下提供的数据是通过研究一种类似的能力验证研究材料、用类似浓度、按描述的步骤强化得到的，用于确定叶酸强化小麦面粉质控材料的同质性（参见图 C. 2）。

研究	S3 叶酸		
	瓶子编码	A	B
	301	2,39	2,36
	306	2,39	2,30
	307	2,35	2,37
	314	2,29	2,45
	317	2,37	2,36
	323	2,32	2,27
	325	2,36	2,42

方差分析：单因素

小结

组别	观测数	求和	平均值	方差
1	2	4,757	2,3785	0,00042
2	2	4,685	2,3425	0,003784
3	2	4,723	2,3615	0,000265
4	2	4,741	2,3705	0,013285

5	2	4,728	2,364	3,2E-05
6	2	4,584	2,292	0,001152
7	2	4,78	2,39	0,001352

方差分析

差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
组间	0,012476	6	0,0020793	0,717365	0,6492	3,865968853
组内	0,02029	7	0,0028986			
<b>总计</b>	<b>0,032766</b>	<b>13</b>				

编制人\_\_\_\_\_

审核人\_\_\_\_\_

图 C.2 制备步骤

为了进一步指导如何计算瓶间非均匀性，两种情况下可能使用方差分析。如果组间均方比组内均方大，那么瓶间方差即为组内均方减组间均方，再除以每个单元做的平行测量次数(案例 2)。瓶间标准偏差是这个瓶间方差的平方根，如 9.3 所示。如果组间均方比组内均方小，则瓶间非均匀性按照案例 4 计算。详解参见 ISO Guide 35。

### C.5.3 稳定性实现和确认

首先，叶酸的稳定性是基于文献而假定的。

面粉的稳定性也是一个关注点，这可以通过在 $-80^{\circ}\text{C}$ 处理最终样品来解决。

样品的稳定性，通过分析一段时期内多批量样品，未观察到任何变化趋势（即为稳定性好）。

### C.6 贮藏和处理

室温下，干燥环境避光贮藏。室温贮藏是基于先前文献的假设并通过实践证明了其可行性。

基于均匀性测试要求，最小样品量为 1g。

安全提示：无毒，仅供实验室使用，禁止食用。

## 附录 D

### 案例 4 铝土矿质量控制样品 (QCM)

(资料性附录)

#### D.1 介绍

铝业实验室使用铝土矿质量控制样品来监控每日和每批次的分析过程。应用控制图法对铝土矿样品中的有效铝、活性硅和主要氧化物含量分析值进行评估,可以检查分析过程的稳定性,评价不同时间不同分析人员的中间精密度标准偏差。

#### D.2 样品描述和说明

D.2.1 含有高含量三水铝矿石的铝土矿洗矿。

#### D.3 制备

##### D.3.1 要求

有如下几点要求:

——样品要有足够量,满足给定时间段内的分析需求,同时要有足够量用于实验室内的样品处理;

——粒度小于  $150\ \mu\text{m}$ ;

——避免样品污染;

——减小质控样单元间的不均匀。

##### D.3.2 方法

按如下方法进行处理:

——每批次约 5kg 铝土矿洗矿经烘干、破碎、研磨,然后过  $150\ \mu\text{m}$  筛。样品混匀后,用旋转式分样器进行分装,分装为 200g/瓶。

——为防止样品污染,使用惰性气体进行填充。

##### D.3.3 包装要求

包装应该:

——用带有螺丝帽的塑料瓶或者玻璃瓶;

——所有的质控样包装单元要贴上明晰的标签。

#### D.4 均匀性

##### D.4.1 均匀性结果和确认

自然界中物质(例如矿石)的组分是不均匀的。在制备过程中需用适当的方法减少批次间的不均匀性。

为了评价均匀性,质控样每批次均要分层随机抽取子样。对于每个抽取的子样,测定指标包括有效氧化铝、活性硅和主要氧化物,在重复性条件下,每个子样进行三重重复测定。

单因素方差分析方法，通过比较单元内和单元间的标准偏差来进行计算。样品的不确定度，可用总平均值的相对标准偏差表示，可以采用单因素方差分析计算得出。

#### D.4.2 数据和数据统计实例

在重复性条件下测定有效氧化铝含量（%），为了消除不同瓶之间的测量漂移，采取随机抽取样品的方式进行测量，见表 D. 1。

表 D.1 有效氧化铝含量的分析结果

瓶编号	有效氧化铝 % m/m		
	3	50.2	50.0
5	50.0	50.2	50.0
6	50.0	50.2	49.8
7	50.0	50.2	49.9
11	50.0	50.2	50.0
13	50.0	50.1	49.9
15	50.0	50.2	49.9
21	50.0	49.9	50.0
23	50.0	50.2	49.9
24	50.1	50.0	49.9

分析方法：

碱融[NaOH (80g/l)；150℃消解，加入 C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>7</sub>Na 和 KF]，HCl 滴定

称样量 0.65g

采用  $h$  和  $k$  统计方法计算数据的一致性。图 D. 1 中的  $h$  图和  $k$  图表明，均匀性检验中瓶与瓶之间数据结果无明显差异。

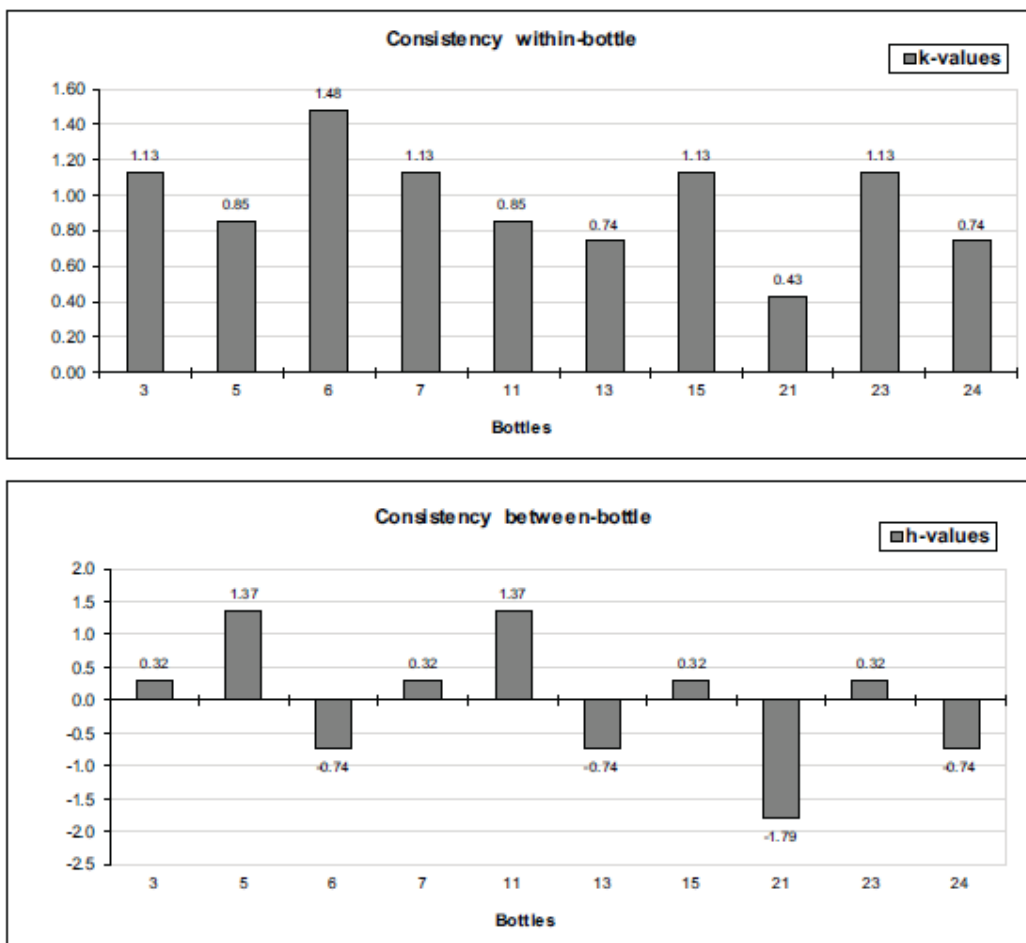


图 D. 1 瓶内和瓶间一致性图

单因素方差分析法通过比较单元内和单元间的标准偏差来进行计算。单元内标准偏差 ( $S_{an}$ ) 即为对分析的标准偏差进行评估，单元间标准偏差 ( $S_{sam}$ ) 即为对样品制备的标准偏差进行评估。见图 D. 2 和图 D. 3。

表 D.2 ANOVA: 单因素

结论				
组	测量次数	总和	平均	方差
瓶 3	3	150.1	50.03333	0.023333
瓶 5	3	150.2	50.06667	0.013333
瓶 6	3	150	50	0.04
瓶 7	3	150.1	50.03333	0.023333
瓶 11	3	150.2	50.06667	0.013333
瓶 13	3	150	50	0.01
瓶 15	3	150.1	50.03333	0.023333
瓶 21	3	149.9	49.96667	0.003333
瓶 23	3	150.1	50.03333	0.023333
瓶 24	3	150	50	0.01

表 D.3 ANOVA: 方差来源

ANOVA						
方差来源	SS (离均差 平方和)	df (自由度)	MS (均方)	<i>F</i>	<i>P</i> 值	<i>F</i> 临界值
组间	0.027	9	0.003	0.163636	0.995792	2.392814
组内	0.3666667	20	0.018333			
合计	0.3936667	29				

$$S_{an}=0.018$$

$$S_{sam}=0$$

使用 ANOVA 进行瓶间不均匀性的评估，有两种计算方法。如果组间 MS 大于组内的 MS，瓶间的 MS 减去瓶内的 MS，再除以每单元重复测定次数即可得到瓶间方差（见附件 3）。瓶间标准偏差即为瓶间方差的平方根，具体见 9.3。如果瓶间 MS 小于瓶内 MS，瓶间不均匀性可由下列公式计算得出，详见 ISO 指南 35。

当分析方法的重复性较差时，由样品制备引入的不确定度分量可由下列公式计算：

$$u_{\text{sam}} = \sqrt{s_{\text{sam}}^2 + \frac{MS_{\text{within}}}{n} \sqrt{\frac{2}{v_{MS_{\text{within}}}}}}$$

$$u_{\text{sam}}=0.044$$

这里

$MS_{\text{within}}$ 是指瓶内均方；

$v_{MS_{\text{within}}}$ 是指各自的自由度。

制样引入的不确定度，以总平均值的百分比来表示，低于 0.1%，因此，认为该标准物质是均匀的。

## D.5 稳定性结果和确认

基于质控样的自然属性，我们认为，在正确的储存和取用条件下，质控样是稳定的。

## D.6 储存和取用

### D.6.1 储存温度和其它环境条件

质控样单元应存储于室温条件下，干燥环境中。

### D.6.2 最小取样量要求

最小取样量是用均匀性检验的称样量评估的，即为 0.65g。

### D.6.3 安全信息

避免扩散到空气中，以免被吸入、眼睛接触或者皮肤接触。

依据无机化学和矿物废物的相关处理规定或要求处置废弃的质控样。

## 附录 E

### 案例 5 药物质控样

(资料性附录)

#### E.1 前言

药物研发和商业化过程中建立质控样是一项非常复杂的任务，需要深入理解（整个过程）。在此过程的起始阶段，制药企业需要考虑建立质控样以评估原材料、加工过程的杂质、中间产物、代谢产物、降解产物和活性药物成分（APIs）等。

候选药物研发的每一个阶段都需要质控样，以保证最终的药物产品具有最高的品质。如果没有官方的质控样，制药企业往往需要建立内部质控样。

用于质控样生产的原料采集和制备是一项非常艰巨的任务，有时需要的量非常大。高品质的质控样要求苛刻、生产昂贵，因此如果通过其他渠道能够得到的话，实验室就不必自己去制备了。然而，如有必要，可为非专业实验室提供指南，指导其制备质控样用于质量控制。需要考虑的关键问题包括：原料的选择（适宜性，本地材料或混合材料，材料制备等）、可追溯性、测试结果、制备和包装（均匀均匀性、受污染程度等），稳定性测试、价值分配活动、不确定性评估、文件记录、赋值审核机制、贮藏与分销等。

需要注意的是生物制剂（大分子）并不在该指南的范围内。

#### E.2 药厂建立质控样时总体的选择准则

##### E.2.1 概述

选择一个材料作为参考质控样的准则非常复杂，依赖于多种因素，目前为止并没有解决这个问题的妙法，每种情况都有差异。以下是选择质控样的总体流程，以及一个药物企业选择标准的特定示例。

原材料收集之后需要经过大量的前处理过程，以保证材料具有合适的均匀性和稳定性以达到预期目标。

通过干燥去掉水分和溶剂是一些普遍的步骤，从而保证材料更容易处理并提高稳定性。去掉水分同时能够降低微生物生长的可能性，尤其是对于生物材料尤其是一个特定的问题，通常会采取冷冻干燥的方式。需要注意的是这篇文章的范畴仅局限于小的有机质控样。

磨样之后过筛是另外一个附加步骤，用于提高材料的均匀性。大体积的固体材料需要通过彻底的混合以保证均匀。

有些分析物可能不太稳定，这需要加入合适的盐来稳定材料。

##### E.2.2 原料的规范

质控样的制备过程须采用最常见的合成工艺，产生最高的纯度和最少的外部成

分，如残留溶剂和重金属等。原材料的物理特性也是非常重要的，应该具有较小的吸湿性、自由流动的晶体结构和最小的聚集性或成块性。

杂质的定义为原料药、药物制剂或辅料在生产或储存过程中所引入的有机物、无机物或残留试剂等。杂质应在生产过程中进行全程控制，加工相关的杂质应尽量保持在最低限度内以避免降解和产生不应有的药理学效应。如易于水解的化合物应完全干燥后去掉水分并贮藏于干燥器皿中。包含高比例有机挥发性杂质的质控样随着溶剂的挥发可能会导致纯度的变化。

如果质控样是存放在盐中的话，必须明确盐的量从而保证纯度的准确性。将分子量引入校正过程中并不能解释合成过程中产生的残留盐。

### E.2.3 原料的采集

由用户、合同制造商或二级公司合成的质控样必须经过鉴定。质控样和原料药最初合成时可能都是同样的步骤。质控样应该有尽可能高的纯度，原料药需要经过进一步纯化后才能成为质控样（原料药的纯化步骤应该完整描述出来并附于管理文档中）。

### E.2.4 加工

如果需要的话，选择的原材料需经过干燥、去溶剂、重结晶或纯化。如果原料易结块的话，应当加一个去结块的步骤。大颗粒可以通过研磨来减小体积。为增加稳定性，不同的盐类或特定的添加剂需要加入原料中。对于纯度小于 95%的原料或混合物，充分的混合或均匀化是必须的，以确保混合物的均匀性。旧的或具有活性药成分批次的样品经过新的测试后也可以继续使用，只要其特性在可接受的范围内。

### E.2.5 评定资质

对于最初批次的样品，一个示范性的资质评定周期第一年时需分别在 3 个月，6 个月和 12 个月开展，之后每年一次。基于此情况，在预期贮藏条件和加速贮藏条件下，开发过程中质控样最好在 3 个月后进行评估。有机杂质分析方法的确认应当在整个加速贮藏条件评估完成后进行。资质重新评定项目的时间取决于质控样的规定使用寿命，稳定性和临床项目的长短。如果最初批次的样品在开始一年内比较稳定的话，接下来的批次只需要进行年度评定即可。在所有的研究情景下，需要建立一个策略来概述质控样、批次、贮藏条件、测试频率、分析步骤、验收标准和报告标准。

**有机杂质。**有机杂质的鉴定是开发合适分析方法中最具挑战性的部分，因为这些杂质对于母体化合物是独一无二的，并且不同的降解途径会产生不同的杂质。在合成、纯化和贮藏过程中产生的实际和潜在的有机杂质应该进行定性定量鉴定。质控样的合成应当进行评估以预测和鉴定原材料中产生的潜在杂质。潜在的降解产物也可能在贮藏过程中产生。开发过程中短期（受迫性降解）和长期（加速条件下的评估）的强制破坏试验应当进行评估。长期胁迫实验的设计依赖于设定的贮藏条件。

有机杂质的量可以通过高效液相色谱和紫外检测方法进行鉴定。降解产物和产品相关的化合物可以通过面积百分比或标准品的相对丰度进行评估。具体采用哪种技术来获得这种数据主要依赖于杂质和相关化合物的数量以及参考质控样的降解途径。

可以考虑采用如下方案以减少采用面积百分比和相对响应因子方法对纯度评估的影响。如果分析结果表明杂质含量为 0.05%，并且杂质的相对响应因子为标准品的一半（如杂质的数量表现出相对于标准品数量的 50%检测信号响应），那么实际杂质含量应为 0.1%，这种水平可能不足以影响总体的纯度结果。如果基于面积百分比得到的杂质含量为 1%，那实际杂质含量应为 2%，这种水平就会影响总体的纯度。

鉴定每种杂质相对响应因子的方法是一个更精确的过程，但需要考虑一些潜在的困难。由于每种组分需要分离出来并逐一鉴定每种的相对响应因子，因此该方法尚需要进一步开发改进。另外，随着质控样使用时间的延长，新的未知杂质会被检测到。新杂质的相对响应因子需要进行鉴定，并且如果新的未知物足够重要而影响纯度的话，则该方法需要进行改进。以上都是原料药开发过程中需要确认的信息。

来自原材料、合成、纯化和贮藏过程中的杂质需要慎重考虑，因为它们可能产生与质控样不相关的检测响应信号。在这种情况下，采用峰百分比的方法进行定量就不合适了，更多的是将杂质分离鉴定，以保证能够使用合适的质控样或者对相对响应因子进行鉴定。若质控样含盐，则阳离子检测响应值不能代表质控样。在这种情况下，阳离子需要有一个特定的参考标准，并且需建立一个单独的定量分析方法。

**无机杂质。**无机杂质如金属和非可燃材料等，传统上是通过药典中的步骤进行评估。如果在初始鉴定中无机杂质少于之前报导的阈值，之后的分析就不再需要了。

**残留溶剂。**原料药开发过程中可能存在的残留溶剂需要进行评估，可以通过检查合成途径进行估算。美国药典（USP）-概述章-残留溶剂中详细记载了评估的通用过程。然而，某些生产过程的残留溶剂可能比较特殊，因此需要特定的测试步骤。另外，如果 USP 中记载的步骤不适于评估的质控样，或合成过程中使用的溶剂并不包括在 USP 中时，也需要采用额外特定的测试步骤。在初始鉴定中，如果残留溶剂（USP 中称为有机挥发性杂质）少于之前报导的阈值，之后的分析就不再需要了。但如果存在的残留试剂量对纯度造成了影响，那接下来的资质再评定阶段就需要进行评估。

## E.2.6 分装和包装

大块的质控样人为地或自动分成小包装。有些物质在容器未紧密封口的情况下会失水或吸潮，因此，采用有隔膜的、顶部有成排褶皱的小瓶比较合适。小瓶最好选择琥珀色以避免光照的影响。每个小瓶的分装量取决于其用途，频繁的开闭盛放质控样的容器会增加污染的风险，重复的冻融样品也会影响样品的稳定性。因此，当分析需要大量的标准品时应该进行分装，避免在大的容器中重复使用。

对于光照敏感样品应当放在琥珀色的小瓶中，高温敏感的样品应置于低温下贮藏，带有大量溶剂的样品需要仔细存放。

内在不均匀的基质材料长期贮藏时可能会引起沉降或分离，因此在分装成小样品时一定要进行充分的混匀，可以通过简单的摇晃容器（瓶子）即可。

对于湿度敏感的样品，适当包装对于控制水分含量是比较适宜的方法。

## E.2.7 均匀性评估

对于纯度小于 95%的材料或混合物，为保证其均匀性，有必要进行充分的混合或均匀化处理。这些混合物需要进行均匀性评估。

### **E.2.8 文件要求**

理想状况下，需要制作一个遵循 ISO 指南 31 的文件以及一个涵盖样品鉴定和赋值的报告。

对于定量用的标准品，应当指定其纯度值，同时基于以往经验和稳定性提供重新测试的日期。对于定性用的标准品（如保留时间标记物或杂质混合物），只要进行了色谱确认以证明检测过杂质后，并不需要指定其纯度值（超过检测限）。

经检验后的质控样会发布一个分析证书（COA），其涵盖了所有的必要信息，包括化学名称、目录号、批号、测试日期、重新测试日期（大部分质控样经重新确认后可继续使用，因此并不需要标注有效期，而是重新测试日期）。其他特殊的操作说明，如危险类别，光照或热敏感性都应包含在 COA 中。

### **E.2.9 贮藏条件**

质控样通常生产成本较高，供应有限，因此要考虑材料如何贮藏、分配和控制是非常重要的。一旦贮藏条件确认之后，质控样应该用一个合适的环境监测系统持续监控。建议将材料贮藏在至少两个不同的地方，以防止出现持续的偏离正常的贮藏条件。材料应该贮藏在安全的环境中，在可控的获取和分配范围内。尽管有些材料在常温下证实是稳定的，但大部分固体或粉末材料最好冷藏或冷冻以保证经过重新测试后货架期能够延长。

### **E.2.10 数量**

在早期的产品研发时代（阶段 3 之前），10g-100g 的样品批次可被定义为质控样。当项目发展至阶段 3 之后，一个中试规模的大量样品（500g-1000g）即被视为质控样。

## **E.3 建立质控样采用的选择准则实例**

### **E.3.1 概述**

下面的例子描述的准则适用于讨论中的特定标准，应该被视为一个选择质控样的指南而不是总体要求。

### **E.3.2 材料的规格**

化合物 X 是一水合物和单丙烯乙二醇，选择目前最常用的合成过程制备得到有代表性批次的样品。该批次纯度较高（大于 99%），仅包含小于 0.1%的残留溶剂。化合物 X 是自由流动的晶体物质，结块和成团部分较少。

### **E.3.3 材料的收集**

材料通过实验室内部供应，早期通过实验室规模的生产得到，后期进行中试规模的生产。

### E.3.4 加工过程

化合物 X 通过合成过程中最终的结晶化步骤被制备成一种晶体材料，平均粒径大小 10-20 微米。该材料容易形成软的结块，因此有时需要采用去结块的步骤。并不需要其他附加的加工步骤。

### E.3.5 分装和包装

大块的质控样人为地或自动分成小包装。每个小瓶的重量为 120 mg，分装于琥珀色小瓶中，用塞子塞住，折边，标记后贮藏于安全的冰箱中。每个批次质控样取最少 2% 的量（最多 500 mg）留存于一个安全的低温贮藏容器中至少 3 年。

### E.3.6 均匀化评估

化合物 X 的生产过程经过优化后得到较高纯度和均匀度的材料。该物质的均匀性通过不同地点的不同分析人员和实验室进行持续监控。独立的均匀化评估过程就不是必须考虑的了。

### E.3.7 文件要求

经初始检验后将会发布一个分析证明书 (COA)，质控样每年测试一次进行资质重新评定，然后发布一个新的 COA。当质控样发给消费者时需要附带提供一个内部物料安全数据表。该化合物既不是光敏感的也不具有吸湿性。不需要其他特殊的操作说明。

### E.3.8 贮藏要求

大包装的标准品贮藏在安全的冷冻柜中，小型瓶装的标准品放入冷藏箱中。

### E.3.9 数量

在早期的产品研发时代 (阶段 3 之前)，10g-100g 的样品批次可被定义为质控样。当项目发展至阶段 3 之后，一个中试规模的大量样品 (500g) 即被视为质控样。

## 附录 F

### 案例 6 “水中溴酸盐”测试样品的制备<sup>注 1</sup>

(资料性附录)

#### F.1 简介

本案例介绍液体测试样品的制备。这看似不重要，但是对工作任务进行详细分析之后就会发现有几个非常重要的问题需要解决。目的是为了制备不同类型的水质溴酸盐低浓度加标样品。

溴酸盐是臭氧消毒剂和水中存在的天然成份反应而形成的副产物，在欧盟饮用水指南（DWD）中规定了限值（最大允许浓度为 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ）。摄入大量的溴酸盐可导致如恶心、呕吐、腹泻、腹痛症状。溴酸盐也是生物体内的活性氧化剂，动物试验研究表明其可导致肿瘤发生率的增加。

显而易见，需要建立欧盟规章规定的浓度水平上的可靠分析方法。本案例涉及五种类型水样均匀性和稳定性的处理和评价，即：软饮用水、硬饮用水、矿物质水、游泳池水和原水。另外，还包括超纯水空白和标准的制备。本案例已用于国际标准化组织在方法更新过程中的内部比对活动。文献29和30也对本案例进行了更为详细的描述。

#### F.2 材料描述与说明

##### F.2.1 软饮用水

##### F.2.2 硬饮用水

##### F.2.3 矿物质水

##### F.2.4 游泳池水

##### F.2.5 原水

##### F.2.6 超纯水介质人工溴酸盐标准溶液

##### F.2.7 用于空白的超纯水（如 F.4 中所述的 1 类水）。

#### F.3 加标液体样品制备中主要考虑的因素

##### F.3.1 称量法制备加标溶液

需要考虑下列因素：

- 使用检验和校准过的天平（溯源至SI）；
- 使用具有足够分辨率的天平；
- 天平不确定度计算公式；
- 购买溴酸盐的纯度及不确定度；
- 溴酸钾中溴酸根的摩尔分数。

##### F.3.2 液体的均匀性检验

需要考虑下列因素：

- 需要确认没有来自于末端容器或处理过程中其他源的污染；
- 需要确认不受充装顺序的影响；
- 需要确认样品之间没有延迟效应或记忆效应的影响；
- 在整个充装过程中必须仔细混匀待充装样品；
- 在制备程序较长的工作中需要防止蒸发，对于挥发性组分和溶液尤其重要。

#### F.4 测试样品的制备

浓缩储备液通过称量法以溴酸钾制备， $\text{KBrO}_3$ 纯度 $>99.8\%$ 的ACS ISO试剂等级（Merck, KGaA, Darmstadt, Germany）<sup>注2</sup>，溶于1类水中（ $18\text{ M}\Omega\text{ cm}$ 、 $0.056\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ； $<10\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  TOC；Millipore N.V.、Belgium）。通过将 $0.638\text{g KBrO}_3$ （ $\text{BrO}_3^-$ 在 $\text{KBrO}_3$ 中的摩尔分数为 $76.58\%$ ）溶于 $486.50\text{g}$  1类水中，制备成浓度为 $1005.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溴酸盐储备液。称取 $53.414\text{g}$ 储备液，用1类水稀释至 $535.62\text{g}$ ，得到 $100.27\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的中间储备液。

饮用水指令规定相关测量的精密度和准确度为 $\pm 25\%$ ，溴酸盐的纯度（ $99.8\%$ ）已经足够。声称纯度和实际纯度之间几个百分数的适度偏差相对于 $25\%$ 来说仍然是很好的。纯度的不确定度是基于专家对供应商提供的有关杂质信息判断得出的（B类不确定度）。该不确定度分量被判定为 $U=0.2\%$ （ $k=2$ ），因为溴酸盐的纯度不会超过 $100\%$ 。另外，采购溴酸盐标准时，应该选择能够获得的质量最好的标准，以制备优质加标液。

在加标之前需要将所有类型的水过 $0.45\ \mu\text{m}$ 的滤膜（Pall, Versaflo filter PN 12131）<sup>注3</sup>。加标时，准确称量部分中间储备液加入约 $25\text{L}$ 已知准确体积的样品中，以获得不同类型水中的最终溴酸盐浓度。获得的浓度即为各类加标水的指定值（参考值）。对于泳池水，不用加标。

所有溶液，包括空白溶液，均要包含浓度为 $50\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乙二胺作为稳定剂，避免溶液制备完成之后由于臭氧的存在使溴转化为额外的溴酸盐。用液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪测定空白溶液，以检查溴酸盐的出现。若溴酸盐的浓度低于定量限（ $\text{LOQ}=0.5\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ），则该样品可以作为空白使用，满足此活动的目的。

充装通常使用安瓿灌封机，Rota R910/PA（Wehr Baden，德国），它带有一种非常精确的活塞泵。这样，略多于 $50\text{mL}$ 不同类型的水被充入 $60\text{mL}$ 窄口聚乙烯安瓿瓶中（PN 2004-0002，Nalgene，USA），在分发之前储存于 $4\ ^\circ\text{C}$ 。着色安瓿用于避免瓶内成份暴露于光照。每种类型的水大约生产 $400$ 份样品。灌封不同类型的水时，先用 $1000\text{mL}$ 的1类水冲洗活塞泵至安瓿之间的传送管，然后再最少弃取前 $300\text{mL}$ 要充装的水样，再开始实际的充装。使用安装于电动机上的不锈钢螺旋桨持续搅拌装有不同加标水的圆筒。在充装前后分别手动取下和盖上聚丙烯旋盖。

注2：提供此信息只是为方便用户使用本指南，而不作为该产品的ISO支持文件。

注3：本案例中提到的商标是商业途径获取合适产品的范例。提供此信息只是为方便用户使用本指南，而不作为此类产品的ISO支持文件。

## F.5 均匀性

除空白之外,对所有水样开展均匀性研究,使用的方法基于带电感耦合等离子体质谱的高效液相色谱(HPLC-ICP-MS)。Perkin Elmer的HPLC-ICP-MS系统包含一个带有真空除气器的四元泵。分析柱是一个Dionex®的阴离子交换柱IonPac AS16 250x4 mm I. D.。注射的样品体积为250  $\mu$ L。使用35mM 的NaOH为洗脱剂以0.3ml.min<sup>-1</sup>进行无梯度洗脱。

用于评价测试样品均匀性的试验设计与ISO13528和IUPAC Harmonized Protocol 设置的要求相符。

ISO 13528描述了判定样品用于能力验证活动是否足够均匀的试验方法。这些试验将瓶间标准偏差与某项活动的目标标准偏差进行比较。在这种特别情况下,应该核查在法规规定的性能限内样品是否足够均匀。因此,每个指定值的目标标准偏差设置为25% (对于每种测试水样),这是DWD规定的精度。两种测试均表明所有测试样品用于溴酸盐分析都足够均匀(表F.1)。

瓶间相对标准不确定度( $zbb$ )从1.0%到6.0%。 $zbb$ 是使用ISO Guide 35所述的方法进行评估的。

表 F.1 均匀性检验

	软水		硬水		矿泉水		泳池水		原水		标准溶液	
测定结果 ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )												
瓶号	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
22	3,00	2,82	10,39	9,97	3,77	3,68	8,62	8,08	7,71	7,49	2,09	2,19
63	2,66	2,64	9,71	10,42	3,52	3,27	8,37	8,52	7,40	6,90	2,24	2,31
119	3,12	2,76	10,01	9,74	3,78	3,59	8,04	8,13	7,33	7,48	2,02	2,21
135	2,55	2,37	10,18	9,85	3,41	3,59	9,42	8,52	7,74	7,77	2,12	2,11
167	2,41	2,86	9,68	9,62	3,25	3,36	8,61	7,84	7,18	7,74	2,12	2,01
240	2,83	2,99	10,42	10,32	2,96	3,41	7,99	7,97	7,26	7,61	2,05	1,99
251	2,51	2,44	10,22	10,43	3,25	3,82	8,24	8,56	8,37	7,70	2,02	2,13
299	2,62	2,52	10,22	10,25	3,08	3,57	9,10	8,59	7,39	7,58	2,15	2,07
325	2,83	2,52	10,15	10,04	3,52	3,66	8,24	9,10	7,79	7,70	2,03	2,02
370	3,32	2,79	10,21	10,06	3,28	3,34	8,46	8,33	7,50	7,25	2,14	2,22
均值	2,73		10,09		3,46		8,44		7,54		2,11	
$\sigma$ (25%)	0,682		2,524		0,864		2,109		1,886		0,528	
按照 ISO 13528 进行均匀性检验 (单位: $\mu\text{g l}^{-1}$ )												
0.3 $\sigma$	0,205		0,757		0,259		0,633		0,566		0,158	
$S_x$	0,210		0,214		0,179		0,315		0,248		0,076	
$S_w$	0,203		0,218		0,217		0,377		0,256		0,068	
$S_s$	0,152		0,147		0,090		0,168		0,170		0,059	
$S_s \leq \sigma$ ?	是		是		是		是		是		是	
检验结果	通过		通过		通过		通过		通过		通过	
按照 IUPAC International Harmonised Protocol 进行均匀性检验 (单位: $\mu\text{g l}^{-1}$ )												
$S^2_{an}$	0,041		0,048		0,047		0,142		0,066		0,005	

发布日期:

实施日期:

$S^2_{\text{Sam}}$	0,023	0,022	0,009	0,028	0,029	0,003
$\sigma_{\text{All}}^2$	0,051	0,573	0,067	0,400	0,320	0,025
临界值	0,137	1,126	0,174	0,896	0,668	0,052
$S^2_{\text{Sam}} \leq$ 临界值?	是	是	是	是	是	是
检验结果	通过	通过	通过	通过	通过	通过

$R_1$ 表示重复1； $R_2$ 表示重复2。表中ILC评价（ $\sigma$ ）的标准偏差是根据均匀性研究得出的平均值的分数（25%）计算的，而不是参考值的分数。

根据ISO 13528:2005:

$S_x$ 为样品平均值的标准偏差；

$S_w$ 为瓶内标准偏差；

$S_s$ 为瓶间标准偏差。

根据IUPAC Harmonized Protocol:

$S^2_{\text{an}}$ 为分析偏差（样品内/瓶）；

$S^2_{\text{Sam}}$ 为样品偏差（样品间/瓶）；

$\sigma^2_{\text{All}}$ 为允许的最大偏差 $(0.3\sigma)^2$ 。

临界值 $C = F_1 + F_2$ ， $F_1$ 和 $F_2$ 为常数，可根据均匀性研究使用的样品瓶数从F检验表中查出。

## F.6 稳定性

获得有关制备的分析基体的稳定性信息是必要的。稳定性研究可以以不同的方式进行，但一种同步稳定性研究具有显著性和精确性的独特优势。测试三种温度水平（4℃、18℃和60℃）的稳定性，其目的为：

——在重复性条件下测定所有样品（这样就无需将重复性与长期重现性条件组合）；

——探求合适的样品运送条件（稳定性数据的线性回归分析表明考察期内的所有温度下样品都具有足够的稳定性）；

——在整个实验室间比对研究的过程中将降解的趋势定量化（大约两个月，即材料的评估寿命）。

使用SoftCRM 2.0软件评估测试材料的稳定性，但也可以通过Excel完成。

已经证明18℃下材料在整个活动开展时间范围内是稳定的。稳定性相对标准不确定度的范围从2.5%到7.3%。

表F.2列出了在18℃时9周保存期限的稳定性研究获得的软饮用水的标准不确定度（ $u_{\text{st}}$ ）。其他水的数据以相同方式计算，并列于表F.3中的稳定性一列中。要求该材料的用户在接到样品之后将样品储存于4℃下。

表 F.2 稳定性检验

瓶	软饮用水
	结果单位： $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$

发布日期:

实施日期:

	周			
	0	3	5	7
1	3.11	2.69	3.18	2.88
2	3.03	2.94	3.19	2.83
斜率 =	-0.014	$u_{st} \mu\text{g.l}^{-1}$		0.12
SE斜率 =	0.026			
截距 =	3.032	$u_{st} (\%)$		4.1
SE截距 =	0.117			
相关系数 =	0.045			
线性回归斜率的显著性 < $\alpha$ = 0 (95%)	不显著			
线性回归斜率的显著性 < $\alpha$ = 0 (99%)	不显著			
检验结果	稳定			

### F.7 参考值和扩展不确定度的评估

根据DWD，饮用水中溴酸盐的最大允许浓度为 $10 \mu\text{g.l}^{-1}$ 。因此，不同水样的溴酸盐浓度应以此制备，即测试水样的加标水平不能超过此值。泳池水由于含有初始溴酸盐，因此不用加标。泳池水中溴酸盐的浓度参考值可以从均匀性检验中获得。

空白样品中不能测出溴酸盐（低于检出限 $0.5 \mu\text{g.l}^{-1}$ ）。该样品被用于检测假阳性。

样品中的溴酸盐浓度用 $X_{\text{ref}}$ 表示，如表F.3所示。

$X_{\text{ref}}$ 用于评价不同测试样品中溴酸盐测定的分析回收率的评估。

这些浓度相关的标准不确定度（ $u_{\text{ref}}$ ）将定值即加标过程（ $u_{\text{char}}$ ）、均匀性（ $u_{\text{bb}}$ ）和稳定性研究（ $u_{\text{st}}$ ）的贡献按照下式合成计算得出的：

$$u_{\text{ref}} = \sqrt{u_{\text{char}}^2 + u_{\text{bb}}^2 + u_{\text{st}}^2}$$

其中：

$u_{\text{char}}$  为定值的标准不确定度（重量法制备）；

$u_{\text{bb}}$  为均匀性研究获得的标准不确定度（瓶间偏差）；

$u_{\text{st}}$  为稳定性研究获得的标准不确定度。

加标材料定值的标准不确定度（ $u_{\text{char}}$ ）的评估是依据《测量不确定度表示指南》(GUM)，将储备液制备过程中引起的不确定度合成，即使用天平不确定度公式、移液管加标和溴酸钾标准物质纯度不确定度。

扩展不确定度 $U_{\text{ref}}$ 的计算使用扩展因子为2，代表的置信水平大约为95%。

对于泳池水， $u_{\text{ref}}$ 是基于实际测量的。因此，定值不确定度的贡献远大于称量法制备的加标样，如表F.3所示。

表F.3 不同测试材料中溴酸盐的浓度及不确定度

样品	称量法（加标）		均匀性	稳定性	合成	$u_{\text{ref}}$	$U_{\text{ref}}$
	$X_{\text{ref}}$ $\mu\text{g.l}^{-1}$	$u_{\text{char}}$ $\mu\text{g.l}^{-1}$	$u_{\text{bb}}$ $\mu\text{g.l}^{-1}$	$u_{\text{st}}$ $\mu\text{g.l}^{-1}$	$u_{\text{ref}}$ $\mu\text{g.l}^{-1}$	%	%

软饮用水	2,68	0,01	0,15	0,12	0,19	7,2	14,4
硬饮用水	10,00	0,02	0,15	0,51	0,53	5,3	10,5
矿泉水	3,00	0,01	0,09	0,16	0,19	6,3	12,7
泳池水	8,44	0,60	0,17	0,21	0,66	7,8	15,6
原水	7,95	0,02	0,17	0,29	0,33	4,2	8,4
标准溶液	1,67	0,01	0,06	0,15	0,17	9,9	19,8

注 1: 该案例基于 Fernando Cordeiro, Inge Verbist, Håkan Emteborg, Jean Charoud-Got, Maria C. Contreras, Philip Taylor, 和 Beatriz de la Calle (JRC-Institute for Reference Materials and Measurements, Retieseweg 和 Franz Schmitz (Landesbetrieb, Hessisches Landeslabor, Wiesbaden, Germany) 提供的信息。