سیستم مدیریت ایزو

www.isomanagement.ir

تماس تلفنی جهت دریافت مشاوره:

۱. مشاور دفتر تهران (آقای محسن ممیز)

۰۹۱۲ ۹۶۳ ۹۳۳۶

۲. مشاور دفتر اصفهان (سرکار خانم لیلا ممیز)

۰۹۱۳ ۳۲۲ ۸۲۵۹

مجموعه **سیستم مدیریت ایزو** با هدف بهبود مستمرعملکرد خود و افزایش رضایت مشتریان سعی برآن داشته، کلیه استانداردهای ملی و بین المللی را در فضای مجازی نشر داده و اطلاع رسانی کند، که تمام مردم ایران از حقوق اولیه شهروندی خود آگاهی لازم را کسب نمایند و از طرف دیگر کلیه مراکز و کارخانه جات بتوانند به راحتی به استانداردهای مورد نیاز دسترسی داشته باشند.

این موسسه اعلام می دارد در کلیه گرایشهای سیستم های بین المللی ISO پیشگام بوده و کلیه مشاوره های ایزو به صورت رایگان و صدور گواهینامه ها تحت اعتبارات بین المللی سازمان جهانی IAF و تامین صلاحیت ایران می باشد.

هم اکنون سیستم خود را با معیارهای جهانی سازگارکنید...

ISO

9001
14001
18001

CE

GMP
GAP
22716

IMS
HSE-MS

22000
HACCP

45001

INSO

15570

1st Edition

2018

جمهوری اسلامی ایران

Islamic Republic of Iran

سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization

استاندارد ملی ایران

۱۵۵۷۰

چاپ اول

۱۳۹۷

خوراک انسان و دام- کنترل کیفیت تجزیه ای و روش‌های اجرایی صحه‌گذاری روش آزمون اندازه گیری باقی‌مانده آفت‌کش ها-راهنما

Food and feed- analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis - Guidance document

ICS:67.100

سازمان ملی استاندارد ایران
تهران - خیابان ولیعصر، ضلع جنوب غربی میدان ونک، پلاک ۲۵۹۲
صندوق پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران- ایران
تلفن:۵-۸۸۸۷۹۴۶۱
دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و۸۸۸۸۷۱۰۳
کرج- شهر صنعتی- میدان استاندارد
صندوق پستی ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج- ایران
تلفن: ۸- ۳۲۸۰۶۰۳۱(۰۲۶))
دورنگار: ۲۸۰۸۱۱۴ ۳(۰۲۶)
رایانامه: standard@isiri.gov.ir
وبگاه: http://www.isiri.gov.ir

Iranian National Standardization Organization (INSO)
No.2592 Valiaser Ave., South western corner of Vanak Sq, Tehran, Iran
P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran
Tel: +98 (21) 88879461-5
Fax: +98 (21) 88887080, 88887103

Standard Square, Karaj, Iran
P.O. Box: 31585-163
Tel: +98 (26)32806031-8
Fax: +98 (26) 32808114

Email: standard @ isiri.gov.ir
Website:http://www.isiri.gov.ir

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به موجب بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفهٔ تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب‌نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانهٔ صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف-کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیتهٔ ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند درکمیته ملی طرح، بررسی و درصورت تصویب، به عنوان استانداردملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد(ISO)[1]،کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)[2] و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی(OIML)[3] است و به عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی(CAC)[5] در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینهٔ مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدورگواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز واسنجی (کالیبراسیون) وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد این‌گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامهٔ تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت میکند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، واسنجی وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization
2- International Electrotechnical Commission
3- International Organization for Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legals)
4-Contact point
5- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

«خوراک انسان و دام- کنترل کیفیت تجزیه ای و روش‌های اجرایی صحه گذاری روش آزمون اندازه گیری باقی‌مانده آفت‌کش‌ها -راهنما»

رئیس:	**سمت و/ یا محل اشتغال:**
یادگاریان، لیندا (دکتری شیمی تجزیه)	دانشگاه آزاد اسلامی- واحد تهران شمال
دبیر:	
محمودی میمند، معصومه (کارشناسی ارشد سم شناسی)	سازمان ملی استاندارد ایران - پژوهشگاه استاندارد پژوهشکده صنایع غذایی و کشاورزی
اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)	
اعلایی، مهدی (کارشناسی ارشد شیمی تجزیه)	آزمایشگاه پرهام گستر فارس
اکبرزاده، علیرضا (کارشناسی ارشد شیمی تجزیه)	شرکت خدماتی، آموزشی و تحقیقاتی مرجعان خاتم (سهامی خاص)
حبیبی، هما (کارشناسی مهندسی شیمی)	موسسه علوم تحقیقاتی امین آزمای شرق (سهامی خاص)
دشت بزرگی، زهرا (دکتری شیمی تجزیه)	سازمان ملی استاندارد ایران - پژوهشگاه استاندارد پژوهشکده سیستم های کیفیت
رفیعی جم، مهدیه (کارشناسی ارشد شیمی تجزیه)	آزمایشگاه هامون آزمای شرق (سهامی خاص)
زایرزاده، احسان (دکتری سم شناسی)	سازمان ملی استاندارد ایران - پژوهشگاه استاندارد پژوهشکده صنایع غذایی و کشاورزی
شجاعی، محمدحسین (دکتری فارماکولوژی)	آزمایشگاه تحقیقاتی علوم حیاتی فاروق (سهامی خاص)
شفیعیان بیدشاهی، هوشنگ (کارشناسی ارشد شیمی تجزیه)	شرکت کاوش پسند نوین (سهامی خاص)

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)	**سمت و/ یا محل اشتغال:**
عشقی، کامران (کارشناسی فیزیک)	شرکت کیمیا شنگرف پارس (سهامی خاص)
فخیره، فریده (کارشناسی علوم تغذیه)	اداره کل استاندارد استان تهران
فراجی، حامد (کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)	موسسه علوم تحقیقاتی امین آزمای شرق (سهامی خاص)
منافی، محمدحنیف (کارشناسی ارشد تجزیه)	شرکت خدماتی، آموزشی و تحقیقاتی مرجعان خاتم (سهامی خاص)
مهدوی، وحیده (دکتری فیتو شیمی)	وزارت جهاد کشاورزی- موسسه تحقیقات گیاه پزشکی
نوربخش، رویا (کارشناسی ارشد سم شناسی)	سازمان ملی استاندارد ایران - پژوهشگاه استاندارد پژوهشکده صنایع غذایی و کشاورزی

ویراستار:	
نوربخش، رویا (کارشناسی ارشد سم شناسی)	سازمان ملی استاندارد ایران - پژوهشگاه استاندارد پژوهشکده صنایع غذایی و کشاورزی

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
پیش گفتار	ح
مقدمه	ط
۱ هدف	۱
۲ دامنه کاربرد	۱
۳ مراجع الزامی	۱
۴ اصطلاحات و تعاریف	۲
۵ مخفف ها (سرنام ها)	۲۱
۶ نمونه برداری، انتقال، قابلیت ردیابی و نگه داری نمونه‌های آزمایشگاهی	۲۱
۶-۱ نمونه برداری	۲۲
۶-۲ انتقال نمونه به آزمایشگاه	۲۲
۶-۳ قابلیت ردیابی	۲۳
۶-۴ نگه داری	۲۳
۷ آنالیز نمونه	۲۳
۷-۱ آماده سازی اولیه و آماده سازی نمونه	۲۳
۷-۲ ادغام نمونه ها	۲۴
۷-۳ استخراج	۲۵
۷-۳-۱ شرایط و کارایی استخراج	۲۵
۷-۴ پاکسازی، تغلیظ/بازسازی و نگه داری عصاره‌ها	۲۵
۷-۵ جداسازی کروماتوگرافی و تعیین مقدار	۲۶
۷-۶ کالیبراسیون برای کمّی کردن	۲۷
۷-۶-۱ الزامات عمومی	۲۷
۷-۶-۲ آنالیت های نماینده برای کالیبراسیون	۲۸
۷-۶-۳ کالیبراسیون منطبق با بافت	۲۹
۷-۶-۴ روش افزایش استاندارد	۲۹
۷-۶-۵ اثرات مخلوط آفت کش ها بر کالیبراسیون	۳۰
۷-۶-۶ کالیبراسیون آفت‌کش هایی که مخلوطی از ایزومرها هستند	۳۰
۷-۶-۷ کالیبراسیون استاندارد منطبق با روش	۳۰
۷-۶-۸ کالیبراسیون با استفاده از استانداردهای محصولات مشتق یا تجزیه شده	۳۱
۷-۶-۹ کاربرد استانداردهای داخلی مختلف	۳۱
۷-۶-۱۰ پردازش داده ها	۳۳
۷-۷ تصدیق عملکرد روش در حال انجام طی آنالیز روزانه	۳۳

عنوان	صفحه
۷-۷-۱ روش های کمّی	۳۲
۷-۷-۱-۱ کنترل روزانه بازیابی	۳۲
۷-۷-۱-۲ معیار قابل قبول برای بازیابی‌های روزانه	۳۴
۷-۷-۲ روش های غربال گری	۳۴
۷-۷-۳ آزمون مهارت	۳۵
۸ شناسایی آنالیت ها و تایید نتایج	۳۵
۸-۱ شناسایی	۳۵
۸-۱-۱ طیف سنج جرمی متصل به کروماتوگراف	۳۵
۸-۲ تایید نتایج	۴۰
۹ گزارش نتایج	۴۰
۹-۱ بیان نتایج	۴۰
۹-۲ محاسبه نتایج	۴۰
۹-۳ گرد کردن داده ها	۴۱
۹-۴ بیان نتایج با عدم قطعیت اندازه گیری	۴۱
۹-۵ تفسیر نتایج برای اهداف اجرایی	۴۳
۱۰ استانداردهای آفت کش‌ها، محلول های ذخیره و محلول‌های استاندارد کالیبراسیون	۴۴
۱۰-۱ شناسایی، خلوص و نگه داری استانداردهای مرجع	۴۴
۱۰-۲ آماده سازی و نگه داری استانداردهای ذخیره	۴۴
۱۰-۳ تهیه، استفاده و نگه داری استانداردهای کاری	۴۵
۱۰-۴ بررسی و جایگزین کردن استانداردها	۴۶
۱۱ صحه گذاری روش آنالیز و معیارهای کارایی	۴۷
۱۱-۱ روش های کمّی	۴۷
۱۱-۲ روش های غربال گری	۴۹
۱۲ توصیه های تکمیلی	۵۱
۱۲-۱ آلودگی	۵۱
۱۲-۲ تداخل	۵۲
پیوست الف طبقه بندی محصولات و محصولات نماینده (آگاهی دهنده)	۵۳
پیوست ب روش اجرایی صحه گذاری روش آزمون (الزامی)	۵۷
پیوست پ مثال هایی از ضرایب تبدیل (آگاهی دهنده)	۶۱
پیوست ت مثال هایی برای تخمین عدم قطعیت نتایج (آگاهی دهنده)	۶۳
جدول ت-۱ نتایج گزارش شده ۲ آزمون مهارت	۶۷

پیش گفتار

استاندارد «خوراک انسان و دام- کنترل کیفیت تجزیه ای و روش های اجرایی صحه گذاری روش آزمون اندازه گیری باقی‌مانده آفت کش‌ها -راهنما» که پیش نویس آن در کمیسیون های مربوط تهیه و تدوین شده است، در هزار و ششصد و چهل و چهارمین اجلاسیه کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده های کشاورزی مورخ ۹۷/۳/۲۸ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می شود.

استانداردهای ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۵ (استانداردهای ملی ایران- ساختار و شیوه نگارش) تدوین می شوند. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدیدنظرخواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی ایران استفاده کرد.

منبع و مأخذی که برای تهیه این استاندارد به کار رفته به شرح زیر است:

1- European Commision SANTE/11813:2017, Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed

مقدمه

مخاطبین این روش اجرایی، آزمایشگاه‌های رسمی کنترل باقی مانده آفت کش‌ها در مواد غذایی و خوراک دام می باشند. این استاندارد، الزامات کنترل کیفیت تجزیه ای[1] و صحه گذاری روش آزمون را تشریح می کند تا از صحت داده های گزارش شده در قالب کنترل رسمی باقی‌مانده آفت کش‌ها حمایت کند و انطباق با بیشینه سطوح باقی‌مانده آفت کش‌ها[2] ، عملکردهای الزامی یا ارزیابی میزان در معرض قرار گرفتن مصرف کننده را بررسی کند.

اهداف کلیدی این استاندارد شامل موارد زیر است:

- ارائه یک سیستم کنترل کیفیت و تضمین کیفیت هماهنگ و مقرون به صرفه
- اطمینان از کیفیت و قابل مقایسه بودن نتایج تجزیه ای
- اطمینان از دست یابی به صحت قابل قبول
- اطمینان نسبت به پیشگیری از نتایج مثبت و منفی کاذب
- حمایت از پیاده سازی و انطباق با استاندارد ISIRI-ISO-IEC۱۷۰۲۵

این استاندارد مکمل و منطبق با الزامات استاندارد ISIRI-ISO-IEC ۱۷۰۲۵است.

در این استاندارد، واژه"توصیه می شود" معادل کلمه **should** می باشد و به معنای پیشنهادی است که می تواند در نظر گرفته نشود، ولی درشرایط خاص (به دلایل معتبر) پیامدهای نادیده گرفتن پیشنهاد و در نظر گرفتن وبررسی کامل قبل از انتخاب یک اقدام متفاوت، الزامی است. همچنین واژه " توصیه نمی شود" معادل کلمه **should not** به معنی پیشنهاد نمی شود است. اگر چه در شرایط خاص می تواند قابل پذیرش باشد، ولی باید پیامدهای نادیده گرفتن پیشنهاد، کاملا درک و سنجیده شود.

1-Analytical Quality Control (AQC)
2-Maximum Residue levels (MRLs)

روش اجرایی کنترل کیفیت تجزیه ای و صحه گذاری روش آزمون برای اندازه گیری باقی مانده آفت کش‌ها در مواد غذایی و خوراک دام

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین روش اجرایی کنترل کیفیت تجزیه ای و صحه گذاری روش آزمون برای اندازه گیری باقی مانده آفت کش ها در مواد غذایی و خوراک دام می باشد.

۲ دامنه کاربرد

این استاندارد، برای آزمایشگاه‌های رسمی کنترل باقی‌مانده آفت کش‌ها در مواد غذایی و خوراک دام، کاربرد دارد.

۳ مراجع الزامی

در مراجع زیر ضوابطی وجود دارد که در متن این استاندارد به صورت الزامی به آن ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب، آن ضوابط جزئی از این استاندارد محسوب می شوند.

در صورتی که به مرجعی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه ها و تجدید نظرهای بعدی آن برای این استاندارد الزام آور نیست. در مورد مراجعی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه های بعدی برای این استاندارد الزام آور است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۳-۱ استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵۰۶۰- واژه نامه مانده آفت کش‌ها

۳-۲ استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۲۱۷۵۳- عملیات خوب آزمایشگاهی برای اندازه گیری باقی مانده آفت کش‌ها- آیین کار

۳-۳ استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۸۳۶۶- آفت کش‌ها- تعیین باقی مانده در محصولات کشاورزی و دامی روش های نمونه برداری

۳-۴ استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۲۲۴۵۰–آفت کش‌ها- تخمین عدم قطعیت نتایج-راهنما

۳-۵ استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۱-۷۴۴۲- درستی (صحت و دقت) روش ها و نتایج اندازه گیری- قسمت اول- تعاریف و اصول کلی

۳-۶ استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۱۳۲۸۳- روش های آماری برای کاربرد در آزمون خبرگی با مقایسه بین آزمایشگاهی

۳-۷ استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۱۰۷۰۰ - خوراک دام، طیور و آبزیان- اندازه گیری مقدار چربی

۳-۸ استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۸۴۳۸ - خوراک دام-اندازه گیری رطوبت و سایر مواد فرار-روش آزمون

۴ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می رود:

۴-۱

صحت

accuracy

نزدیکی توافق بین یک نتیجه تجزیه ای و مقدار درست یا مقدار مرجع پذیرفته شده. به گونه ای که، وقتی برای یک سری از داده ها به کار می رود، شامل ترکیبی از خطای تصادفی (به عنوان دقت محاسبه می شود) و یک خطای سیستماتیک معمول (درستی یا بایاس) می شود (استاندارد ملی ۱-۷۴۴۲).

۴-۲

یون افزوده

adduct ion

یونی که از برهم‌کنش یک یون پیش ساز با یک یا تعداد بیشتری اتم یا مولکول، برای تشکیل یک یون حاوی تمام اتم‌های تشکیل دهنده یون پیش ساز به علاوه اتم‌های اضافی از مولکول‌ها یا اتم‌های مرتبط، به وجود می آید.

۴-۳

آنالیت

analyte

اجزاء شیمیایی که برای آن‌ها غلظت (یا جرم)، تعیین مقدار می گردد. منظور از آنالیت در این استاندارد، آفت کش یا متابولیت، محصول شکست مولکولی یا مشتق یک آفت کش یا یک استاندارد داخلی است.

۴-۴

کنترل کیفیت تجزیه ای

Analytical Quality Control (AQC)

الزامات اندازه گیری و ثبت (فعالیت ها و نتایج آزمایشگاهی) که هدف آن نشان دادن کارایی یک روش آنالیز در فعالیت های روزمره می باشد. اطلاعات مکمل داده‌هایی هستند که در مرحله صحه گذاری روش آزمون، تولید می شوند. داده های AQC می توانند برای صحه گذاری تعمیم روش آزمون برای آنالیت‌ها، بافت‌ها و سطوح غلظتی جدید به کار روند. مترادف با داده های کنترل کیفیت داخلی و تصدیق عملکرد می باشد. داده های AQC هم زمان، داده‌هایی هستند که طی آنالیز یک سری از نمونه ها که شامل نمونه مورد نظرمی باشند، تولید می شوند.

۴-۵

سری (آنالیز)

batch (analysis)

۴-۵-۱

برای استخراج، پاک سازی و فرآیندهای مشابه: دسته ای از نمونه ها هستند که توسط یک آزمون گر (یا گروهی از آزمون گرها) به طور موازی، معمولا در یک روز کاری آزمون می شوند و باید حداقل همراه یک [آزمون] تعیین بازیافت باشند.

۴-۵-۲

برای سیستم تعیین مقدار: دسته ای از اندازه گیری هاست که بدون توقف زمانی معنی دار و با یک منحنی کالیبراسیون، انجام می شود.

در این استاندارد منظور از "سری" مفهومی که در استاندارد کدکس یا IUPAC ارائه شده است و مربوط به سری های تولید کارخانه ای یا کشاورزی است، نمی باشد.

۴-۶

بایاس (گرایش)

bias

اختلاف بین مقدار میانگین اندازه گیری شده برای یک آنالیت، با مقدار مرجع پذیرفته شده برای همان آنالیت، در نمونه می باشد. بایاس (گرایش)، مجموع خطاهای سیستماتیک، در مقابل خطای تصادفی می باشد. ممکن است یک یا چند عامل خطای سیستماتیک در بایاس (گرایش)، مشارکت کنند. اختلاف سیستماتیک بزرگ‌تر از مقدار مرجع پذیرفته شده، نشان دهنده مقدار بایاس (گرایش) بزرگ‌تر می باشد.

۴-۷

شاهد

blank

۴-۷-۱ ماده‌ای (یک نمونه، یا بخشی از یک نمونه یا عصاره یک نمونه) که حاوی سطوح قابل شناسایی از آنالیت(های) مورد جستجو نمی باشد. هم چنین بافت شاهد نیز نامیده می شود.

۴-۷-۲ آنالیز کاملی که تنها با استفاده از حلال‌ها و واکنش‌گرها در غیاب هر نوع نمونه، انجام می شود (آب می تواند به عنوان جایگزین نمونه به کار رود تا آنالیز، واقعی شود). هم چنین به عنوان شاهد واکنش‌گر یا شاهد روش نیز نامیده می شود.

۴-۸

کالیبراسیون براکتی

bracketing calibration

سازماندهی یک سری تعیین مقدار به گونه ای که سیستم شناسایی بلافاصله قبل و بعد از آنالیز نمونه‌ها کالیبره می شود. به طور مثال، استاندارد ۱، استاندارد ۲، نمونه ۱، نمونه n، استاندارد ۱، استاندارد ۲.

۴-۹

کالیبراسیون

calibration

تعیین رابطه بین سیگنال مشاهده شده (پاسخ حاصل از سیستم آشکارسازی) از آنالیت هدف در عصاره نمونه و مقادیر معلوم آنالیت تهیه شده، به عنوان محلول‌های استاندارد می باشد.

یادآوری- در این استاندارد، کالیبراسیون به کالیبراسیون تجهیزات توزین و حجمی، کالیبراسیون جرم طیف سنج های جرمی و مانند آن، اطلاق نمی شود.

۴-۱۰

استاندارد کالیبراسیون

calibration standard

محلولی (یا رقتی) از آنالیت (و استاندارد داخلی، در صورت استفاده) که برای کالیبراسیون سیستم تعیین مقدار به کار می رود. استاندارد کالیبراسیون می تواند از یک استاندارد کاری تهیه شود یا منطبق با بافت باشد.

۴-۱۱

ماده مرجع گواهی شده

Certified Reference Material (CRM)

ماده مرجع را ببینید.

۴-۱۲

خرد کردن

comminution

فرآیند کاهش [اندازه] یک نمونه جامد، به اجزای کوچک تر به وسیله مخلوط کردن، خرد کردن، پودر کردن، آسیاب کردن و مانند آن.

۴-۱۳

تایید

confirmation

تایید، ترکیبی از دو یا چند آزمون است، که در توافق با همدیگر هستند (به طور ایده آل، با استفاده از روش های گزینشی ارتوگونال[1]) که کمینه یکی از آن ها شامل شاخص‌های شناسایی می باشد.

تایید عدم وجود مطلق باقی مانده ها، غیر ممکن است. پذیرش یک "حد گزارش دهی" در "پایین ترین سطح کالیبره شده" موجب جلوگیری از هزینه زیاد تایید وجود یا عدم وجود باقی مانده ها در سطوح غلظتی غیرضروری پایین می شود.

ماهیت و گستره تایید مورد نیاز برای یک نتیجه مثبت، به اهمیت نتیجه و تناوب مشاهده باقی مانده‌های مشابه بستگی دارد.

سنجش‌هایی که بر اساس سیستم آشکارساز الکترون‌گیر انداز[2](ECD) انجام می شوند، به دلیل اختصاصی نبودن، نیازمند تایید هستند. تکنیک‌های طیف سنجی جرمی، اغلب، عملی ترین روش ها هستند که دارای کمترین ابهام برای تایید می باشند. فرآیندهای AQC برای تایید باید بسیار دقیق و کامل باشند.

۴-۱۴

آلودگی

contamination

وجود غیر عمدی یک آنالیت هدف در نمونه، عصاره، محلول استاندارد داخلی و مانند آن، از هر طریق و در هر مرحله از نمونه برداری یا آنالیز نمونه.

.

۴-۱۵

سیستم تعیین مقدار / آشکارسازی

determination/detection system

هر سیستمی که برای آشکارسازی و تعیین مقدار غلظت یا جرم آنالیت، به کار می‌رود. به طور مثال: GC/MS(/MS), GC-FPD, LC-MS/MS, LC-ToF و مانند آن.

۴-۱۶

انحراف محاسبه معکوس[3] غلظت

deviation of back calculated concentration

انحراف محاسبه معکوس غلظت استانداردهای کالیبراسیون با استفاده از معادله کالیبراسیون از غلظت های واقعی

1-Orthogonal
2-Electron Capture Detector (ECD)
3-Back calculated

$$\text{انحراف محاسبه معکوس (درصد)} = \frac{\text{غلظت واقعی} - \text{غلظت اندازه گیری شده}}{\text{غلظت واقعی}} \times 100$$

۴-۱۷

منفی کاذب

false negative

نتیجه ای که به اشتباه نشان می دهد، غلظت آنالیت از یک مقدار مشخص، بیشتر نیست.

۴-۱۸

مثبت کاذب

false positive

نتیجه ای که به اشتباه نشان می دهد، غلظت آنالیت از یک مقدار مشخص، بیشتر است.

۴-۱۹

آشکارساز نورسنج شعله ای و آشکار ساز نورسنج شعله‌ای پالسی[1]

FPD & PFPD

(می تواند اختصاصی برای آشکارسازی گوگرد یا فسفر باشد)

۴-۲۰

یون حاصل از شکست

fragment ion

یون محصولی که حاصل از تفکیک یک یون پیش ساز می باشد.

۴-۲۱

شناسایی

identification

یک نتیجه کمی، حاصل از یک روش توانمند برای تامین اطلاعات ساختاری (به طور مثال، استفاده از آشکارسازی طیف سنجی جرمی) که معیارهای قابل قبول، برای هدف آنالیز را دارا می باشد.

فرآیند تولید شواهد کافی، برای اطمینان از اینکه یک نتیجه برای یک نمونه مشخص، معتبر است. آنالیت باید برای تعیین مقدار، به درستی شناسایی شود. فرآیندهای AQC برای شناسایی باید بسیار دقیق و کامل باشند.

1- Flame-photometric detector **&** pulsed flame photometric detector

۴-۲۲

باقی مانده اجتناب ناپذیر

incurred residue

باقی مانده‌های یک آنالیت در یک بافت که به طور طبیعی انتظار می رود در غلظت های ناچیز به وجود بیایند. این باقی مانده‌ها متفاوت از باقی مانده‌هایی هستند که در آزمایشگاه به نمونه اضافه شده اند. هم چنین شامل باقی مانده‌های تجزیه شده نیز می شود.

۴-۲۳

مزاحمت

interference

یک پاسخ مثبت یا منفی که به وسیله ترکیبی (ترکیباتی) غیر از آنالیت ایجاد شده و در پاسخی که برای آنالیت اندازه گیری شده است، مشارکت می کند یا صحت انتگرال گیری یا قطعیت انتگرال گیری پاسخ آنالیت را کمتر میکند.

مزاحمت به طور غیر دقیق "نویز شیمیایی" نیز نامیده می شود (مجزا از نویز الکترونیکی، نویز شعله و مانند آن). اثرات بافت، شکل غیر واضحی از مزاحمت هستند. برخی از اشکال مزاحمت‌ها را می توان با گزینش پذیری بیشترآشکارساز، کمتر کرد. در صورت عدم امکان حذف یا جبران مزاحمت، بر صحت نتایج تاثیر معنی داری نداشته باشد، اثرات آن می تواند قابل پذیرش باشد.

۴-۲۴

کنترل کیفیت داخلی

Internal Quality Control (IQC)

AQC را ببینید.

۴-۲۵

تجدید پذیری درون آزمایشگاهی

within-laboratory reproducibility

تجدید پذیری را ببینید.

۴-۲۶

استانداردهای داخلی

internal standards

تعاریف در متن استاندارد آمده است.

۴-۲۷

نمونه آزمایشگاهی

laboratory sample

نمونه ای که برا ی آزمون به آزمایشگاه فرستاده و توسط آزمایشگاه دریافت می شود.

۴-۲۸

کروماتوگرافی مایع

liquid chromatography (LC)

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، HPLC وکروماتوگرافی مایع با کارایی فوق العاده،UPLC

۴-۲۹

پایین ترین سطح کالیبره شده

Lowest Calibrated Level (LCL)

کمترین غلظت (یا جرم) آنالیت، که سیستم تعیین مقدار در یک سری نمونه مورد آزمون با موفقیت با آن کالیبره شده است.

یادآوری-"حد گزارش دهی" را نیز ببینید.

۴-۳۰

سطح غلظتی

level

در این استاندارد، به معنی غلظت (به عنوان مثال mg/kg، µg/ml) یا کمیت (به عنوان مثال ng، pg) می باشد.

۴-۳۱

حدتشخیص

Limit of Detection (LOD)

کمترین غلظت آنالیت است که قابل شناسایی می باشد. حد تشخیص، معمولا به کمترین غلظت قابل اندازه گیری آنالیت در نمونه آزمایشگاهی اطلاق می شود و با یک احتمال مشخص نشان می دهد که غلظت آنالیت در آزمونه نسبت به نمونه شاهد، بالاتر است. IUPAC و ISO عبارت اختصاری LD را برای آن توصیه می کنند (تعریف استاندارد ملی ایران شماره ۲۱۷۵۳).

۴-۳۲

حد تعیین مقدار

Limit Of Quantification (LOQ)

کمترین غلظت آنالیت است، که قابل تعیین مقدار می باشد. معمولا به کمترین غلظت آنالیت در نمونه آزمایشگاهی که با دقت (تکرارپذیری) و صحت قابل قبول در شرایط معین آزمون قابل تعیین مقدار است، گفته می شود (تعریف استاندارد ملی ایران شماره ۲۱۷۵۳).

۴-۳۳

صحت جرمی

mass accuracy

صحت جرمی، انحراف جرم صحیح اندازه گیری شده از جرم " دقیق" محاسبه شده یک یون است. می تواند به صورت یک مقدار مطلق بر حسب میلی دالتون (mD) یا به عنوان یک مقدار نسبی بر حسب قسمت در میلیون (ppm) خطا و به صورت زیر محاسبه شود:

(جرم صحیح ـ جرم استخراجی)

مثال:

۲۳۹/۱۵۰۹۸= جرم اندازه گیری شده به صورت تجربی

۲۳۹/۱۵۰۲۸= جرم دقیق یون به صورت نظری (m/z)

صحت جرمی =(۲۳۹/۱۵۰۹۸-۲۳۹/۱۵۰۲۸) =۰/۷ mDa

یا

$۱۰^{۶}$× جرم دقیق/(جرم صحیح – جرم دقیق)

مثال:

۲۳۹/۱۵۰۹۸= جرم اندازه گیری شده به صورت تجربی

۲۳۹/۱۵۰۲۸= جرم دقیق یون به صورت نظری (m/z)

صحت جرمی =(۲۳۹/۱۵۰۹۸-۲۳۹/۱۵۰۲۸)/۲۳۹/۱۵۰۲۸ × $۱۰^{۶}$=۲/۹ ppm

۴-۳۴

پنجره استخراج جرمی

mass extraction window

پهنای دامنه جرمی اطراف جرم دقیق که برای دستیابی به کروماتوگرام‌های یون استخراجی مورد استفاده قرار می گیرد. به عنوان مثال: ±1mD جرم واقعی ، ±5ppm جرم واقعی

۴-۳۵

تفکیک جرمی

mass resolution

تعریف پهنای پیک، FWHM: (m/z)/Δ(m/z)، که Δ(m/z) پهنای کامل پیک پروفایل جرمی در نیمه بیشترین ارتفاع پیک است.

قدرت تفکیک یک دستگاه طیف سنج جرمی، توانایی تشخیص بین دو یون با مقادیر m/z مشابه می باشد (تعریف ۲۰ IUPAC[1]). کوچک ترین اختلاف جرمی بین دو پیک با بزرگی/اندازه یکسان، به گونه ای که فاصله بین آن ها کسر مشخص شده ای از ارتفاع پیک باشد.

۳۶-۴

قدرت تفکیک جرمی

mass resolving power

توانایی طیف سنج جرمی برای ایجاد یک مقدار ویژه تفکیک جرمی را قدرت تفکیک جرمی می گویند (بنابراین یک ویژگی دستگاهی است).

قدرت تفکیک، در بیشینه نیمه عرض کامل پیک، FWHM[2] به صورت $m/\Delta m$ تعریف می شود، که m مقدار m/z اندازه گیری شده و Δm عرض پیک جرمی در نیمه ارتفاع آن می باشند.

یاد آوری۱- برای دستگاه هایی با قطاع مغناطیسی، قدرت تفکیک جرمی با همان رابطه $m/\Delta m$ محاسبه می‌گردد با این تفاوت که در آن Δm تفاوت جرم دو پیک جرمی است، که در ٪۱۰ ارتفاع پیک بزرگ تر از یکدیگر تفکیک شده باشند.

یاد آوری۲- قدرت تفکیک، معمولا با تفکیک جرمی اشتباه می شود، یا این که به اشتباه به جای آن استفاده می شود. برای مثال دستگاهی با قدرت تفکیک جرمی R= ۵۰۰۰ می تواند جرم مولکولی m= ۵۰ را از ۵۰/۰۱ تفکیک نماید، پس تفکیک جرمی برابر Δm =۰/۰۱ است. در صورتی که دستگاه هایی با تفکیک جرمی ۱، می توانند جرم ۵۰ را از ۵۱ جدا کنند.

۳۷-۴

بافت شاهد

matrix blank

به تعریف شاهد مراجعه کنید.

۳۸-۴

اثر بافت

matrix effect

تاثیر دو یا چند ترکیب هم استخراج در نمونه، بر اندازه گیری غلظت یا جرم آنالیت را اثر بافت می گویند. این تاثیر ممکن است، به صورت افزایش یا کاهش پاسخ آشکارساز در مقایسه با پاسخی که از محلول آنالیت در حلال به دست می آید، مشاهده شود. وجود یا عدم وجود چنین تاثیراتی می تواند از مقایسه پاسخ حاصل از آنالیت در یک حلال، با پاسخ حاصل از همان مقدار کمی آنالیت در عصاره نمونه، نشان داده شود.

1-Murray et al. (2013) Pure Appl. Chem., 85:1515–1609
2- Full-Width Half Maximum (FWHM)

۴-۳۹

کالیبراسیون منطبق با بافت/بر اساس بافت

matrix-matched /matrix based calibration

کالیبراسیون با استفاده از استانداردهایی که از عصاره بافت شاهد نمونه (منطبق با بافت[1]) یا هر بافت مشابه با نمونه (بر پایه بافت[2]) تهیه شده اند.

۴-۴۰

روش

method

شامل مجموعه فرآیندها از مرحله دریافت نمونه تا صدور نتیجه نهایی.

۴-۴۱

صحه گذاری روش

method validation

فرآیند تصدیق این که روش برای هدف مورد نظر، مناسب است. نظیر: دامنه کاربرد، اختصاصی بودن، صحت،حساسیت، تکرارپذیری و تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی. این مشخصه ها به استثنای تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی باید قبل از آنالیز نمونه ها تعیین شوند، زیرا اطلاعات مربوط به تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی و افزایش دامنه کاربرد می توانند از کنترل کیفیت تجزیه ای در حین آنالیز نمونه‌ها به دست آیند. در صورت امکان، ارزیابی صحت باید شامل آنالیز مواد مرجع گواهی شده، شرکت در آزمون های مهارت یا سایر مقایسه‌های بین آزمایشگاهی باشد.

۴-۴۲

مرز بیشینه مانده آفت کش ها

Maximum Residue Limit (MRL)

بیشینه قابل اغماض باقی مانده آفت کش در فرآورده های کشاورزی یا خوراک دام است. این مرز از سوی مراجع قانونی و صلاحیت دار کشور[3] بر پایه آگاهی های به دست آمده از عملیات خوب کشاورزی تعیین می گردد.

۴-۴۳

روش چندباقی مانده ای

Multiple Residue Method (MRM)

در آنالیز باقی مانده آفت کش‌ها، به معنی روش چند مانده ای است.

---

1 -Matrix matched

2-Matrix based

۳- مرجع قانونی و ذی صلاح کشور، در حال حاضر وزارت جهاد کشاورزی می باشد.

در طیف سنج جرمی، به کاربرد پایش واکنش انتخابی (SRM) برای چند یون محصول از یک یا چند یون پیش ساز، گفته می شود.

۴۴-۴

طیف سنج جرمی متوالی

MS/MS

این تعریف شامل MS^n نیز می شود و عبارت است از فرآیند طیف سنجی جرمی که در آن یون هایی با یک نسبت جرم به بار انتخابی (m/z) که از یونیزاسیون اولیه حاصل گردیده، ایزوله شده و معمولا با برخورد، شکسته می شود و سپس یون های محصول جدا می شوند (MS/MS یا MS^2).

در طیف سنج های تله یونی، فرآیند می تواند به صورت یک سری متوالی روی یون های محصول اعمال شود (MS^n) (یا فرآیند می تواند به صورت تکرار شونده ای روی یک سری یون های محصول انجام شود)، هر چند این امر برای مقادیر پایین باقی مانده ها، عملی نیست.

۴۵-۴

باقیمانده نامنطبق یا (ناقض)

non-compliant (or violative) residue

باقیمانده ای است، که اختلاف مقدار آن از MRL، بیشتر از عدم قطعیت بسط یافته باشد.

۴۶-۴

آفت کش

pesticide

به هر ماده ای گفته می شود که برای موارد زیر به کار می رود:

پیش گیری کردن، از بین بردن، جذب کردن، دورکردن و یا مبارزه با هر گونه آفت که این آفت در برگیرنده گونه های ناخواسته گیاهان و نیز حیوانات می باشد.

یادآوری۱- آفت کش‌ها ممکن است در حین تولید، نگه داری در انبار، ترابری، پخش و فرآوری مواد غذایی، فرآورده های کشاورزی یا خوراک دام، برای کنترل و مبارزه با انگل های بیرونی جانوران نیز استفاده شود.

یادآوری۲- آفت کش‌ها موادی را که به عنوان تنظیم کننده رشد گیاه، برگ ریز، خشک کننده، تنک کننده میوه یا بازدارنده جوانه زدن گیاه پیش یا پس از برداشت استفاده می شود تا کالا را از فساد در حین ترابری و نگه داری حفاظت کند نیز شامل می شود.

یادآوری۳- آفت کش‌ها معمولا کودها، غذاهای دام، مواد افزودنی غذا و داروهای دامی را در بر نمی گیرد.

۴۷-۴

باقی مانده آفت کش

pesticide residue

به هر ماده مشخصی در غذا، فرآورده های کشاورزی و خوراک دام گفته می شود، که در نتیجه به کار بردن آفت کش ها حاصل شده است. این ماده شامل هر گونه مشتقات یک آفت کش نیز می باشد. مانند هر گونه محصولات تبدیل شده، مواد حاصل از تجزیه آفت کش‌ها و ناخالصی‌هایی که حالت سمی داشته باشند.

۴۸-۴

تایید عملکرد

performance verification

به کنترل کیفیت تجزیه ای مراجعه کنید.

۴۹-۴

دقت

precision

نزدیکی توافق بین نتایج آنالیزهای مستقل که با انجام فرآیند تجربی تحت شرایط ثابت به دست آمده اند. هرچه بخش تصادفی خطای تجربی که نتایج را تحت تاثیر قرار می دهند کوچکتر باشد، فرآیند، دقیق تر است. انحراف استاندارد، برآوردی از دقت (عدم دقت) است[1].

۵۰-۴

یون پیش ساز

precursor ion

یونی است، که برای ایجاد یون های محصول وارد واکنش می شود یا تحت فرآیند از دست دادن بخش خنثی مشخص شده ای قرار می گیرد. واکنش می تواند از انواع مختلفی باشد از جمله: تفکیک مولکولی یکسان، واکنش یونی /مولکولی وتغییر در حالت بار که احتمالا قبل از ایزومریزاسیون رخ می دهد.

۵۱-۴

آماده سازی اولیه (تزریق کننده ها و ستون هایGC)

priming (of GC injectors and columns)

آماده سازی اولیه، اثرات طولانی مدت بافت را که معمولا در کروماتوگرافی گازی مشاهده می شود، شبیه سازی می کند. معمولا قسمتی از عصاره نمونه که پاکسازی نشده است، می تواند یک بار پس از نصب ستون یا لاینر[2] جدید، قبل از شروع کار، تزریق شود. دلیل آن "غیر فعال" نمودن سیستم تزریق کننده

1-Murray et al. (2013) Pure Appl. Chem., 85:1515–1609
2-liner

کروماتوگراف گازی و بیشینه کردن انتقال آنالیت به آشکارساز، می باشد. در برخی موارد، مقادیر زیادی از آنالیت می تواند به همین منظور تزریق شود. در چنین مواردی، بسیار اهمیت دارد که برای اطمینان از عدم وجود بقایای آنالیت، تزریق‌های حلال یا عصاره های شاهد، قبل از آنالیز نمونه ها انجام شود. اثرات آماده سازی اولیه به ندرت دائمی هستند و نمی توانند اثرات بافت را حذف کنند.

۴-۵۲

شاهد منطبق با روش

procedural blank

شاهد را ببینید.

۴-۵۳

یون محصول

product ion

یونی است، که محصول واکنش یک یون پیش ساز ویژه می باشد.

۴-۵۴

استاندارد مرجع

“reference” standard

یک ترکیب جامد، مایع یا گاز که با بیشینه خلوص ممکن تهیه شده است و به نحوی بسته بندی شده است، که پایداری آن را تضمین می کند و امکان حمل و نقل و ذخیره سازی آن را فراهم می سازد. شرایط نگهداری، تاریخ انقضا، درصد خلوص و در صورت لزوم، محتوای آب هیدراته و ترکیب ایزومری آن باید در گواهی ذکر شده باشد.

در صورت خرید محلول استاندارد، باید به عنوان استاندارد ثانویه (به عنوان محلول های ذخیره یا کاری) در نظر گرفته شود.

۴-۵۵

واکنش‌گر شاهد

reagent blank

به شاهد مراجعه کنید.

۴-۵۶

بازیابی (برای یک آنالیت در یک روش تجزیه ای)

recovery (of analyte through an analytical method)

بخش یا درصدی از یک آنالیت است، که پس از استخراج و آنالیز یک نمونه شاهد که غلظت معینی از آنالیت به آن افزوده شده است (نمونه غنی شده یا ماده مرجع)، به دست می آید. بازیابی‌های روزانه (معمول) به تعیین مقدارهای انجام شده همراه آنالیز هر سری از نمونه ها گفته می شود.

۴-۵۷

ماده مرجع

reference material

ماده ای که مقدار آنالیت در آن، همگن می باشد. مواد مرجع گواهی شده[1] معمولا در یک سری آزمایشگاه ها، برای غلظت و همگنی توزیع آنالیت مشخص می شوند. مواد مرجع درون آزمایشگاهی[2] ، مواد مرجعی هستند که مشخصه های آن ها در آزمایشگاه سازنده، تعیین می شوند و ممکن است صحت آن ها نامعلوم باشد.

۴-۵۸

طیف مرجع

reference spectrum

یک طیف جذبی (مثلا UV، IR)، فلورسانس، محصولات یونیزاسیون (MS) و مانند آن است، که از آنالیت به دست می آید و می تواند مشخصه آن باشد. طیف جرمی مرجع، ترجیحا باید از یک استاندارد "خالص" (یا محلولی از استاندارد "خالص") در دستگاهی که برای آنالیز نمونه‌ها از آن استفاده می شود، تهیه شود و استفاده از یون های مشابه در همان شرایط یونی، الزامی است.

۴-۵۹

تکرارپذیری

repeatability (r)

دقت (انحراف استاندارد) اندازه گیری یک آنالیت است، که معمولا از بازیابی یا آنالیز مواد مرجع به دست می آید و با استفاده از یک روش آزمون برای نمونه (های) یکسان در یک آزمایشگاه، در بازه زمانی کوتاه که طی این زمان تفاوتی در مواد و تجهیزات به کار رفته و/یا آزمون‌گر رخ نداده، به دست آمده است. اندازه گیری دقت معمولا با عنوان "عدم دقت" بیان می شود و به صورت انحراف استاندارد نتیجه آزمون محاسبه می شود.

هم چنین ممکن است، به این صورت نیز تعریف شود: کمیتی که انتظار می رود با احتمال مشخصی (به عنوان مثال ٪۹۵) از قدر مطلق اختلاف بین نتایج دو آزمون مستقل روی یک ماده مشخص که تحت شرایط ذکر شده در بالا به دست آمده اند، کوچک تر باشد.

1-Certified reference materials (CRMs)

2-In-house reference materials

۴-۶۰

حد گزارش دهی

Reporting limit (RL)

پایین ترین سطح غلظتی که در آن باقی‌مانده‌ها به صورت مقادیر قطعی گزارش می شوند. حد گزارش دهی برابر یا بزرگ تر از LOQ است.

۴-۶۱

آنالیت نماینده

representative analyte

آنالیتی است، که برای ارزیابی کارایی تجزیه ای احتمالی سایر آنالیت‌هایی که پیش بینی می شود در آنالیز مشاهده شوند، به کار می رود. فرض می شود، داده ها ی پذیرفته شده برای یک آنالیت نماینده نشان دهنده رضایت بخش بودن کارایی روش برای آنالیت‌های زیر مجموعه آن است. آنالیت‌های نماینده باید شامل آنالیت هایی باشند که انتظار می رود بدترین کارایی را داشته باشند.

۴-۶۲

تجدیدپذیری

reproducibility (R)

دقت (انحراف استاندارد) اندازه گیری یک آنالیت است، که معمولا از بازیابی یا آنالیز مواد مرجع به دست می آید و با استفاده از یک روش آزمون در چند آزمایشگاه، توسط چند آزمون‌گر یا در بازه زمانی که منجر به ایجاد تفاوت در مواد و تجهیزات مورد استفاده می شود، به دست می آید. اندازه گیری دقت معمولا با عنوان "عدم دقت" بیان می شود و به صورت انحراف استاندارد نتیجه آزمون محاسبه می گردد.
هم چنین ممکن است به این صورت نیز تعریف شود: کمیتی که می توان انتظار داشت با احتمال مشخصی (به عنوان مثال ٪۹۵) از قدر مطلق اختلاف بین نتایج دو آزمون مستقل روی یک ماده مشخص که تحت شرایط ذکر شده در بالا به دست آمده اند، کوچک تر باشد.

۴-۶۳

پاسخ

response

پاسخ مطلق یا نسبی حاصل از آشکارساز، در حضور آنالیت است.

۴-۶۴

نمونه

sample

یک واژه عمومی با معانی بسیار است، ولی در این استاندارد به نمونه آزمایشگاهی، آزمایه، آزمونه یا بخشی از عصاره گفته می شود.

۴-۶۵

آماده سازی اولیه نمونه

sample preparation

اولین مرحله از دو فرآیندی که ممکن است برای تبدیل نمونه آزمایشگاهی به آزمایه مورد نیاز باشد. به عبارت دیگر، حذف بخش هایی از نمونه که آنالیز نمی شوند (در صورت لزوم).

۴-۶۶

آماده سازی نمونه

sample processing

دومین مرحله از دو فرآیندی که می تواند برای تبدیل نمونه آزمایشگاهی به آزمایه مورد نیاز باشد. این مرحله می تواند شامل فرآیند همگن سازی، آسیاب، مخلوط کردن و مانند آن (در صورت لزوم) باشد.

۴-۶۷

حد تشخیص غربال گری (غربال گری کیفی)

Screening Detection Limit (SDL) (qualitative screening)

کمترین غلظتی است، که مشخص شده است در آن غلظت، یک آنالیت خاص در کمینه ۹۵ درصد نمونه ها (به عبارتی، ٪۵ پاسخ منفی کاذب پذیرفتنی است) قابل شناسایی می باشد (لزوما نباید شامل معیارهای الزامی باشد).

۴-۶۸

گزینش پذیری

selectivity

توانایی استخراج، پاکسازی، مشتق سازی، سیستم جداسازی و (به ویژه) آشکارساز برای تمایز قائل شدن بین آنالیت و سایر ترکیبات را گزینش پذیری گویند. به طور مثال، GC-ECD یک سیستم گزینش پذیر غیر اختصاصی است.

۴-۶۹

ارقام معنی دار

significant figures

(تعداد) ارقام یک عدد که با قطعیت، معلوم هستند به اضافه اولین رقم غیرقطعی را ارقام معنی دار گویند.

مثال: ۳ رقم معنی دار

۰/۱۰۴، ۱/۰۴، ۱۰۴، ۱۰×۱/۰۴

ارقام ۱ و ۰ وسط قطعی و ۴ غیر قطعی ولی معنی دار هستند.

یادآوری- صفرهای اول هیچ گاه معنی دار نیستند. اعداد نمایی تاثیری بر تعداد ارقام معنی دار ندارند.

۴-۷۰

پایش یون انتخابی

Selected Ion Monitoring (SIM)

عملکردی از یک طیف سنج جرمی که به جای کل طیف جرمی، فراوانی چند یون با مقادیر m/z ویژه، ثبت می شوند.

۴-۷۱

پایش واکنش انتخابی

Selected Reaction Monitoring (SRM)

اندازه گیری یون‌های محصول ویژه مربوط به m/z یون های پیش ساز انتخابی که در دو یا تعداد بیشتری از مراحل طیف سنج جرمی (MS^n) ثبت شده اند.

۴-۷۲

رقیق سازی فاز جامد

solid phase dilution

رقیق سازی یک آفت کش با توزیع آن در یک ماده جامد پودری نرم مثل پودر نشاسته است، که معمولا تنها برای آنالیت های نامحلول مثل کمپلکس دیتیوکاربامات‌ها مورد استفاده قرار می گیرد.

۴-۷۳

اختصاصی بودن

specificity

توانایی آشکارساز (در صورت لزوم با گزینش پذیری استخراج، پاکسازی، مشتق سازی یا جداسازی، حمایت می شود) برای ایجاد سیگنال هایی که به طور موثری آنالیت را شناسایی می کند. GC-MS با یونیزاسیون الکترونی، یک سیستم تعیین مقدار نسبتا غیر گزینشی بسیار اختصاصی است. MS و MS^n با تفکیک بسیار می توانند گزینشی و بسیار اختصاصی باشند.

۴-۷۴

غنی سازی با آنالیت

spike or spiking

به اضافه کردن آنالیت به منظور تعیین بازیابی یا تعیین مقدار به روش افزایش استاندارد، گفته می شود.

۴-۷۵

استاندارد

standard

یک عبارت عمومی است، که به یک استاندارد"خالص" ، استاندارد ذخیره، استاندارد کاری یا استاندارد کالیبراسیون گفته می شود.

۴-۷۶

محلول استاندارد ذخیره

stock standard solution

غلیظ ترین محلول (یا جامد رقیق شده و مانند آن) از استاندارد "خالص" یا استاندارد داخلی، که بخش هایی از آن برای تهیه محلول‌های استاندارد کاری یا محلول‌های استانداردهای کالیبراسیون مورد استفاده قرار می گیرد.

۴-۷۷

آزمایه

test sample

نمونه آزمایشگاهی بعد از حذف قسمت هایی از آن که آنالیز نمی شوند، به طور مثال استخوان‌ها، خاک های چسبیده. قبل از برداشتن آزمونه، می توان آزمایه را آسیاب یا مخلوط کرد.

۴-۷۸

آزمونه

test portion

یک نمونه میانی نماینده آزمایه است. به عبارتی بخشی است، که مورد آزمون قرار می گیرد.

۴-۷۹

درستی

trueness

اندازه درستی که معمولا به صورت "بایاس (گرایش)" بیان می شود.

نزدیکی توافق بین مقدار میانگین به دست آمده از یک سری نتایج آزمون (به طور مثال میانگین بازیابی) با یک مقدار مرجع پذیرفته شده یا مقدار درست می باشد.

۴-۸۰

عدم قطعیت اندازه گیری

uncertainty (of measurement)

محدوده ای در اطراف نتیجه گزارش شده که انتظار می رود مقدار واقعی با احتمال مشخصی (سطح اطمینان معمولا ٪۹۵) در آن محدوده باشد. داده ها ی عدم قطعیت باید اندازه درستی (بایاس (گرایش)) و تجدیدپذیری را در برگیرند.

۴-۸۱

واحد (نمونه)

unit (sample)

به یک میوه، سبزی، جانور، دانه غلات، قوطی و مانند آن گفته می شود. به طور مثال یک سیب، یک تکه گوشت با استخوان، یک دانه گندم و یک قوطی کنسرو.

۴-۸۲

تفکیک واحد جرمی

unit mass resolution

تفکیک جرمی به گونه ای که توانایی تشخیص کامل بین پیک مربوط به یک یون از پیک های مجاور آن (معمولا با بیشینه هم پوشانی ۱۰-۵ درصد) با اختلاف یک دالتون را دارد.

۴-۸۳

صحه گذاری

validation

صحه گذاری روش را ببینید.

۴-۸۴

نمونه های حاوی باقیمانده بیشتر از مرز بیشینه مانده (MRL)

violative residue

باقی مانده ای که از اندازه MRL بیشتر شده است یا به هر دلیل دیگری غیر مجاز است.

۴-۸۵

تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی

within-laboratoryreproducibility

تجدیدپذیری را ببینید.

۴-۸۶

محلول استاندارد کاری

working standard solution

عبارتی کلی که برای محلول های رقیق شده از استاندارد ذخیره به کار می رود که به طور مثال، برای غنی سازی نمونه ها با آنالیت به منظور تعیین مقدار بازیابی یا برای تهیه محلول های استاندارد کالیبراسیون، به کار می رود.

۵ مخفف ها (سرنام ها)

در این استاندارد، مخفف ها (سرنام های) زیر کاربرد دارد:

۵-۱

یونیزاسیون شیمیایی برای کروماتوگرافی گازی ـ طیف سنج جرمی (جرمی/جرمی)

CI (Chemical Ionisation for GC-MS(/MS))

۵-۲

آشکارساز ربایش الکترونی

ECD (Electron-Capture Detector)

۵-۳

یونیزاسیون الکترونی

EI (Electron Ionization)

۵-۴

اتحادیه اروپا

EU (European Union)

۵-۵

کروماتوگرافی گازی

GC

۵-۶

جداسازی کروماتوگرافی مایع متصل به آشکارساز طیف سنج جرمی متوالی

LC-MS/MS

۵-۷

طیف سنج جرمی

MS (Mass spectrometry)

۸-۵

آشکارساز نیتروژن ــ فسفر

NPD (Nitrogen-phosphorus detector)

۹-۵

انحراف استاندارد نسبی (ضریب واریانس)

RSD (Relative Standard Deviation) (coefficient of variation)

۱۰-۵

نسبت سیگنال به نویز

S/N (Signal-to-noise ratio)

۱۱-۵

میکرو استخراج فاز جامد

SPME (Solid phase micro-extraction)

۶ نمونه برداری، انتقال، قابلیت ردیابی و نگه‌داری نمونه‌های آزمایشگاهی

۱-۶ نمونه برداری

نمونه های مواد غذایی باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۸۳۶۶ «آفت کش ها- تعیین باقی مانده در محصولات کشاورزی و دامی- روش های نمونه برداری» نمونه برداری شوند.

یادآوری۱- در صورتی که امکان برداشت نمونه های اولیه به صورت تصادفی از یک بهر نباشد، روش نمونه برداری باید ثبت شود.

یادآوری۲-قوانین مربوط به خوراک دام، در پیوست یک استاندارد بین المللی شماره ۲۰۰۹/۱۵۲/EC و اصلاحیه های آن آورده شده اند.

۲-۶ انتقال نمونه به آزمایشگاه

۶-۲-۱ نمونه ها باید در شرایط مناسب، در ظروف تمیز و بسته بندی های محکم به آزمایشگاه منتقل شوند. کیسه‌های پلی اتیلن یا پلی پروپیلن، در صورت لزوم با قابلیت تهویه، برای اکثر نمونه‌ها قابل قبول است، ولی توصیه می شود برای نمونه‌هایی که از نظر باقی مانده سموم تدخینی نیز آنالیز می شوند، از کیسه های با نفوذ پذیری کم (مانند فیلم‌های سلفونی (نایلونی)) استفاده شود. توصیه می شود نمونه‌های محصولاتی که از قبل برای خرده فروشی بسته بندی شده اند، قبل از انتقال به آزمایشگاه از بسته بندی خود خارج نشوند. بهتر است برای جلوگیری از فاسد شدن محصولات بسیار ترد و فاسد شدنی (مانند انواع توت رسیده)، قبل از انتقال، منجمد شده و برای جلوگیری از آب شدن حین انتقال، در یخ خشک یا مانند آن انتقال داده شوند. نمونه‌هایی که در زمان نمونه برداری منجمد هستند، لزوما باید به صورتی انتقال

یابند که حالت انجماد آن ها حفظ شود. نمونه‌هایی که ممکن است در اثر سرد شدن آسیب ببینند (مانند موز) باید هم از دماهای بالا و هم دماهای پایین محافظت شوند.

۶-۲-۲ انتقال سریع به آزمایشگاه، ترجیحا طی یک روز، برای بیشتر محصولات تازه ضروری است. توصیه می شود شرایط نمونه‌های انتقال یافته به آزمایشگاه از نظر یک خریدار آگاه قابل قبول باشد، در غیر این صورت توصیه می شود نمونه‌ها نامناسب برای آنالیز درنظر گرفته شوند.

۶-۳ قابلیت ردیابی

۶-۳-۱ جهت اطمینان از قابلیت ردیابی، نمونه ها باید به صورت واضح و پاک نشدنی، کدگذاری شوند. توصیه می شود از ماژیک های حاوی حلال های آلی برای نشانه گذاری پاکت های حاوی نمونه هایی که از نظرباقی مانده سموم تدخینی آنالیز می شوند، به ویژه در صورت استفاده از آشکارساز ربایش الکترونی، استفاده نکنید.

۶-۳-۲ به محض دریافت هر نمونه آزمایشگاهی، آزمایشگاه باید به هر نمونه، یک کد انحصاری اختصاص دهد.

۶-۴ نگه داری

۶-۴-۱ توصیه می شود، نمونه‌ها در شرایطی نگه داری شوند که فاسد شدن آن ها را به حداقل برساند. هم چنین توصیه می شود محصولات تازه، در یخچال (بیشینه ۵ روز) نگه داری شوند. محصولات خشک را می توان در دمای اتاق نگه‌داری کرد، ولی چنان چه انتظار می رود زمان نگه داری بیش از ۲ هفته باشد، توصیه می شود نمونه میانی[1] از آن ها تهیه شده و در فریزر نگه‌داری شوند.

۷ آنالیز نمونه

توصیه می شود تمام مراحل آماده سازی اولیه و آماده سازی نمونه‌ها در کوتاه ترین زمان ممکن انجام گیرد تا فساد نمونه و از دست رفتن آفت کش‌ها به حداقل برسد. توصیه می شود آنالیز باقی‌مانده آفت کش‌های بسیار ناپایدار یا فرار، ترجیحا در همان روز دریافت نمونه شروع شود و مراحلی که ممکن است منجر به از دست دادن آنالیت شوند در کوتاه ترین زمان ممکن انجام گیرند.

۷-۱ آماده سازی اولیه و آماده سازی نمونه

۷-۱-۱ آماده سازی اولیه نمونه، آماده سازی نمونه و نمونه برداری میانی[2] برای دست یابی به بخش‌های کوچک تر نمونه باید قبل از این که هر گونه فساد قابل مشاهده رخ دهد، انجام پذیرند. قسمت هایی از نمونه که باید آنالیز شوند در پیوست الف ذکرشده اند.

---

1 Sub- sample

2 Sub-samplig نمونه برداری از نمونه ارسالی به آزمایشگاه، برای تهیه آزمایه

۷-۱-۲ عدم وجود تاثیر معنی دار روش آماده سازی و نگه‌داری نمونه بر باقی مانده‌های موجود در نمونه، باید قبلا نشان داده شده باشد. در صورتی که شواهدی وجود داشته باشد مبنی بر این که خرد کردن نمونه (تکه تکه و همگن کردن) در دمای اتاق، تاثیر معنی داری در تجزیه باقی‌مانده آفت کش‌های خاص دارد، توصیه می شود که نمونه‌ها در دمای پایین (به عنوان مثال به حالت یخ زده و/ یا در حضور یخ خشک) همگن شوند. در صورتی که خرد کردن بر باقی‌مانده‌ها (مانند دی تیوکاربامات‌ها و سموم تدخینی) تاثیرگذار باشد و روش های جایگزین عملی در دسترس نباشد، آزمایه باید شامل تمام واحدهای محصول یا بخش هایی که از واحدهای بزرگ جدا شده اند، باشد. برای سایر آنالیزها، تمام نمونه آزمایشگاهی باید خرد شود. برای افزایش کارایی استخراج محصولات با رطوبت پایین (مانند غلات، ادویه جات، گیاهان خشک)، توصیه می شود اندازه ذرات کوچک و ترجیحا کوچک تر از یک میلی متر (mm ۱)، تهیه شود. آسیاب کردن باید به صورتی انجام شود که از گرم شدن بیش از حد نمونه‌ها جلوگیری شود، زیرا گرما می تواند موجب از دست رفتن آفت کش های خاص شود.

۷-۱-۳ توصیه می شود خرد کردن نمونه به صورتی باشد، که از همگن شدن کافی نمونه اطمینان حاصل شود، به نحوی که تفاوت های حاصل از نمونه برداری میانی قابل قبول باشد. در صورتی که این کار امکان پذیر نباشد، توصیه می شود برای دست یابی به تخمین بهتر مقدار صحیح، از آزمونه های بزرگ تر یا آزمونه های تکراری استفاده شود. ممکن است نمونه ها هنگام همگن کردن یا آسیاب کردن، به صورت بخش‌های مختلفی از هم جدا شوند، به طور مثال پالپ، گوشت و پوست میوه ها، سبوس و اندوسپرم غلات. جدا شدن بخش های مختلف نمونه ممکن است به دلیل تفاوت در اندازه، شکل و دانسیته باشد. از آن جا که ممکن است آفت کش‌ها به صورت ناهمگن در بین بخش‌های مختلف نمونه توزیع شده باشند، حصول اطمینان از وجود بخش های مختلف نمونه در آزمونه به همان نسبتی که در آزمایه هستند، اهمیت دارد. توصیه می شود تعداد کافی از نمونه‌های میانی یا آزمونه ها برای تعداد آنالیزها/ تکرار آنالیزها که ممکن است مورد نیاز باشد، در فریزر نگه‌داری شود.

۷-۲ ادغام نمونه ها

۷-۲-۱ ادغام کردن نمونه‌های منفرد یا عصاره‌های نمونه، به شرطی که سیستم آشکارساز به اندازه کافی حساس باشد، می تواند به عنوان یک گزینه برای آنالیز نمونه‌هایی با احتمال کم حضور باقی‌مانده آفت کش‌ها (مانند محصولات ارگانیک یا محصولات حیوانی) در نظر گرفته شود. به طور مثال وقتی ۵ نمونه با هم ادغام می شوند، حد تعیین مقدار (LOQ) و حد تشخیص غربال گری (SDL) الزاما باید کمینه ۵ برابر کوچک تر از حد گزارش دهی باشند.

۷-۲-۲ ادغام کردن نمونه‌های میانی قبل از استخراج، تعداد آنالیزهای مورد نیاز را کاهش می دهد، ولی در برخی موارد، هم زدن یا همگن کردن بیشتر نمونه های میانی ادغام شده، قبل از برداشتن آزمونه

ممکن است ضروری باشد. به عنوان جایگزین، عصاره نمونه ها نیز قبل از تزریق می توانند با هم ادغام شوند. در صورت مشاهده باقی‌مانده آفت کش‌ها در سطوح مربوط به هر آفت کش (LOQ و SDL)، نمونه های اولیه یا عصاره ها باید دوباره آنالیز شوند.

۷-۳ استخراج

۷-۳-۱ شرایط و کارایی استخراج

بازیابی باقی مانده های اجتناب ناپذیر می تواند پایین تر از درصد بازیابی حاصل از نمونه های غنی سازی شده با آنالیت باشد. درصورت عملی بودن، می توان نمونه‌های دارای باقی‌مانده اجتناب ناپذیر را با اعمال تغییرات در شرایط استخراج، مورد آنالیز قرار داد تا اطلاعات بیشتری از کارایی استخراج به دست آید. تعدادی از پارامترها از قبیل آماده‌سازی نمونه، دما، pH، زمان و مانند آن می توانند بر کارایی استخراج و پایداری آنالیت تاثیر بگذارند. برای افزایش کارایی استخراج محصولات با رطوبت پایین (غلات، میوه های خشک)، افزودن آب به نمونه قبل از استخراج توصیه می شود. به منظور جلوگیری از هدررفت غیر قابل قبول آنالیت ها، تاثیر مدت زمان هم زدن (تکان دادن) روی از دست رفتن آنالیت ها باید بررسی شود. در صورتی که تعریف MRL باقی‌مانده یک آفت کش شامل نمک‌های آن نیز شود، مهم است که این نمک‌ها به وسیله روش آنالیز مورد استفاده، تفکیک شوند. این امر معمولا با افزودن آب، قبل یا در حین استخراج، قابل دست یابی است. تغییر در pH نیز ممکن است ضروری باشد. در صورتی که تعریف باقی مانده شامل استرها یا مزدوج های آفت کش [1]باشد که مستقیما قابل آنالیز نمی‌باشند، روش تجزیه ای باید شامل مرحله هیدرولیز (آب کافت) باشد.

۷-۴ پاکسازی، تغلیظ/بازسازی و نگه‌داری عصاره ها

۷-۴-۱ ممکن است برای کاهش تداخل‌های ناشی از بافت و کاهش آلودگی در سیستم دستگاهی، یک مرحله پاک‌سازی یا رقیق‌سازی، ضروری باشد که منجر به بهبود گزینش پذیری و استحکام روش[2]می شود. تکنیک‌های پاک‌سازی از تفاوت‌های ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (مانند قطبیت، حلالیت، اندازه مولکول) بین آفت کش ها و اجزای بافت نمونه بهره می‌گیرند. هر چند که استفاده از یک مرحله پاکسازی[3] در یک روش چند مانده‌ای می تواند باعث از دست رفتن برخی آفت کش ها شود.

۷-۴-۲ تغلیظ عصاره ها می تواند منجر به ته نشین شدن اجزای بافت نمونه و در برخی موارد، هدر رفت آفت‌کش‌ها شود. به طور مشابه، رقیق‌سازی عصاره نمونه‌ها توسط حلالی با قطبیت متفاوت، می تواند به دلیل انحلال پذیری کاهش یافته، منجر به هدر رفت آفت‌کش شود (مانند رقیق کردن عصاره‌های متانولی یا استونیتریلی با آب).

---

1 -Conjugated pesticides
2-Robustness
3- Cleanup

۷-۴-۳ توصیه می شود برای جلوگیری از هدر رفت آفت کش ها طی مراحل تبخیر، دما تا حد ممکن، پایین نگه داشته شود. حجم اندکی از یک حلال با نقطه جوش بالا را می توان به عنوان "نگه‌دارنده" به کار برد. جلوگیری از کف کردن و جوشیدن شدید عصاره‌ها یا پخش شدن قطرات، الزامی است. استفاده از جریان نیتروژن خشک یا تبخیر گردشی تحت خلا[1] عموما به استفاده از جریان هوا برای تبخیر در مقیاس کوچک، ترجیح داده می شوند زیرا استفاده از جریان هوا احتمال اکسید کردن یا ورود آب و سایر آلاینده به عصاره ها را افزایش می‌دهد.

۷-۴-۴ پایداری آنالیت در عصاره باید در حین صحه گذاری، ارزیابی شود. نگه داری عصاره‌ها در یخچال یا فریزر، تجزیه آفت کش‌ها را به حداقل می‌رساند. هدر رفتن آفت‌کش ها در عصاره‌ها در دمای اتاق ممکن است رخ دهد، به عنوان مثال در ویال‌های روی نمونه بردار خودکار دستگاه.

۷-۵ جداسازی کروماتوگرافی و تعیین مقدار

۷-۵-۱ عصاره نمونه‌ها معمولا با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی مویینه (GC) و/یا روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا یا کارایی فوق العاده (HPLC/UPLC) متصل به طیف سنج جرمی (MS) برای شناسایی و تعیین مقدار آفت کش‌ها در نمونه‌های مواد غذایی و خوراک دام، آنالیز می شوند. سیستم های آشکارساز طیف سنج جرمی مختلفی می توانند مورد استفاده قرار گیرند از جمله چهار قطبی تک یا سه گانه[2]، تله یونی[3]، زمان پرواز یا تله اربیتالی[4]. تکنیک‌های یونیزاسیون معمول عبارتند از: یونیزاسیون الکترونی (EI)[5]، یونیزاسیون شیمیایی (CI)[6]، یونیزاسیون شیمیایی فشار اتمسفر (APCI)[7] و یونیزاسیون الکترون افشانه (ESI)[8]. از حالت‌های مختلف دریافت داده ها مانند: پویش کامل[9]، پایش یون یون انتخابی (SIM)[10]، پایش واکنش انتخابی (SRM)[11] و پایش واکنش چندگانه (MRM)[12]، می توان استفاده کرد.

۷-۵-۲ امروزه به دلیل این که آشکارسازهای گزینشی برای GC (مانندNPD, PFPD, FPD, ECD) و LC (فلورسانس و DAD) کمتر اختصاصی هستند، کاربرد محدودی دارند. کاربرد آن ها، حتی همراه با ستون‌های با قطبیت متفاوت، شناسایی قطعی را فراهم نمی کنند. این محدودیت ها ممکن است برای آفت کش‌هایی که به طور معمول یافت می شوند، قابل قبول باشد، به خصوص اگر برخی نتایج با استفاده

1-Vacum centrifugal evaporation
2-Single or triple quadrupole
3- Ion trap
4-Orbitrap
5- Electron Ionization (EI)
6- Chemical Ionisation (CI)
7- Atmospheric Pressure Chemical Ionisation (APCI)
8- Electro Spray Ionisation (ESI)
9- Full-scan
10- Selected Ion Monitoring (SIM)
11- Selected Reaction Monitoring (SRM)
12- Multiple Reaction Monitoring (MRM)

از یک تکنیک آشکارسازی اختصاصی‌تر تایید شوند. در هر صورت، توصیه می شود هنگام گزارش نتایج، به چنین محدودیت‌هایی در میزان شناسایی، اشاره شود.

۷-۶ کالیبراسیون برای کمّی کردن

۷-۶-۱ الزامات عمومی

۷-۶-۱-۱ پایین‌ترین سطح کالیبراسیون (LCL) باید کوچک‌تر یا مساوی سطح کالیبراسیون مربوط به حد گزارش دهی باشد. حد گزارش دهی نباید کوچک‌تر از LOQ باشد.

۷-۶-۱-۲ کالیبراسیون براکتی باید تنها زمانی به کار رود، که نشان داده شود سیستم تعیین مقدار، عاری از هرگونه جابجایی معنی‌دار است به عنوان مثال، با پایش پاسخ یک استاندارد داخلی. توصیه می شود استانداردهای کالیبراسیون حداقل قبل و بعد از یک سری نمونه تزریق شوند. در صورتی که جابجایی بین دو تزریق براکتی در یک استاندارد کالیبراسیون از ٪۳۰ بیشتر شود (با در نظر گرفتن پاسخ بزرگ‌تر به عنوان ٪۱۰۰)، توصیه می شود نمونه های براکت شده حاوی باقی مانده آفت کش، دوباره آنالیز شوند. نتایج نمونه‌هایی که فاقد آنالیت هایی هستند که جابه‌جایی غیر قابل قبول نشان داده‌اند را می توان پذیرفت، به شرطی که به منظور کاهش احتمال پاسخ منفی کاذب، پاسخ کالیبراسیون در سطح RL در تمام سری تزریق، قابل اندازه گیری باشد. توصیه می شود، در صورت لزوم، آماده‌سازی قبلی سیستم GC یا LC قبل از اولین سری محلول‌های استاندارد کالیبراسیون در یک سری آنالیز، انجام گیرد.

۷-۶-۱-۳ توصیه می شود، پاسخ آشکارساز ناشی از آنالیت های نمونه استخراجی در بازه پاسخ محلول های استاندارد کالیبراسیون تزریق شده باشد. در صورت لزوم، عصاره های محتوی باقی‌مانده‌های با سطحی بالاتر از بازه کالیبراسیون، باید رقیق سازی و دوباره تزریق شوند. در صورتی که محلول های استاندارد کالیبراسیون، منطبق با بافت باشند، توصیه می شود غلظت بافت در استاندارد کالیبراسیون نیز به طور متناسبی رقیق شود.

۷-۶-۱-۴ کالیبراسیون چند نقطه ای (با ۳ سطح غلظتی یا بیشتر) ترجیح داده می شود. استفاده از یک تابع کالیبراسیون مناسب الزامیست و توصیه می شود، منحنی کالیبراسیون، بدون دلیل از مبدا عبور داده نشود. به منظور اطمینان از مناسب بودن تابع کالیبراسیون در محدوده غلظتی آفت کش های تشخیص داده شده، ترسیم تابع کالیبراسیون و تایید چشمی آن و/یا محاسبه باقی مانده ها، و عدم اتکاء بیش از حد به ضریب هم‌بستگی، الزامیست. توصیه می شود انحراف محاسبه معکوس غلظت (طبق زیر بند ۴-۱۶) استانداردهای کالیبراسیون از غلظت های واقعی که در منحنی کالیبراسیون استفاده شده است، بیش از ٪۲۰ ± نباشد.

۷-۶-۱-۵ کالیبراسیون با درون‌یابی بین دو سطح غلظتی به شرطی قابل قبول است، که اختلاف غلظت بین دو سطح، بیش از ۱۰ برابر نباشد و ضریب پاسخ استانداردهای کالیبراسیون براکتی در محدوده قابل

قبول باشد. توصیه می شود، ضریب پاسخ استانداردهای کالیبراسیون براکتی در هر سطح بیش از ٪ ۲۰ اختلاف نداشته باشد (با در نظر گرفتن پاسخ بیشتر به عنوان ٪ ۱۰۰).

۷-۶-۱-۶ کالیبراسیون تک نقطه ای نیز می تواند نتایج صحیحی ارائه دهد، در صورتی که پاسخ دتکتور به آنالیت در عصاره نمونه، نزدیک به پاسخ استاندارد کالیبراسیون تک نقطه ای (در محدوده ٪۳۰±) باشد. هرگاه به منظور تعیین بازیابی، آنالیت به نمونه در سطح غلظتی LCL اضافه شود، می توان بازیابی های کوچک تر از ٪۱۰۰ را با استفاده از کالیبراسیون تک نقطه ای در سطح LCL محاسبه نمود. این محاسبه خاص تنها به این دلیل انجام می شود، که عملکرد تجزیه ای به دست آمده در سطح LCL مشخص شود و بدین معنی نیست که باقی مانده های در سطح غلظتی کمتر از LCL باید به این روش تعیین مقدار شوند.

۷-۶-۲ آنالیت های نماینده برای کالیبراسیون

۷-۶-۲-۱ در صورت امکان، تمام آنالیت های هدف باید در هر سری از نمونه‌ها و در سطح غلظتی RL تزریق شوند. وجود پاسخ های کافی در این سطح مورد نیاز است و توصیه می شود برای اجتناب از پاسخ‌های منفی کاذب، کنترل شوند. در صورتی که این امر نیازمند تلاش نامتناسبی باشد، سیستم تعیین مقدار باید با کمترین تعداد آنالیت ها نماینده کالیبره شود. اعتماد به آفت کش‌های نماینده، فقط ریسک ایجاد پاسخ منفی کاذب برای سایر آفت کش‌های غیر نماینده را افزایش می‌دهد. توصیه می شود در انتخاب آنالیت های نماینده آفت کش هایی که احتمال حضور بیشتری در نمونه های مورد آنالیز دارند و هم‌چنین ویژگی های فیزیکوشیمیایی آفت کش‌هایی که آنالیز آن ها مشکل است (ضعیف‌ترین و متغیرترین پاسخ ها را دارند) در نظر گرفته شود. تعداد آنالیت ها نماینده ای که در هر سری نمونه کالیبره می شوند، باید کمینه ۱۵ آفت کش به علاوه ۲۵ درصد از کل تعداد آنالیت هایی باشند، که در دامنه عملکرد روش هر دستگاه تعریف شده اند، به عنوان مثال در صورتی که دامنه عملکرد روش یک دستگاه ۴۰ آنالیت را شامل می شود، کالیبره کردن سیستم تعیین مقدار با کمینه ۲۵ آنالیت نماینده، الزامیست. در صورتی که دامنه عملکرد آنالیز در سیستم تعیین مقدار شامل ۲۰ یا تعداد کمتری آفت کش باشد، تمام آنالیت‌ها باید کالیبره شوند. کمینه دوره کالیبراسیون آنالیت های نماینده و سایر آنالیت‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- کمینه دوره کالیبراسیون

	آنالیت‌ها نماینده	سایر آنالیت‌ها
کمینه دوره کالیبراسیون	در هر سری آنالیز کمینه یک سطح کالیبراسیون متناسب با غلظت RL	در یک برنامه درحال اجرا حداقل هر سه ماه یکبار[1] کمینه یک سطح کالیبراسیون متناسب با غلظت RL به زیربند ۷-۶-۲-۲ مراجعه کنید
۱ کمینه الزامات عبارتند از: الف- در شروع و پایان یک بررسی یا برنامه ب- هرگاه تغییرات معنی‌دار بالقوه در روش اعمال شود.		

۷-۶-۲-۲ هرگاه آنالیتی به جز آنالیت های نماینده در سطح و یا بالاتر از RL، در نمونه شناسایی شود، نمونه باید دوباره با یک روش کمی آنالیز شود. هر گاه نتیجه اولیه از MRL بیشتر شود، نمونه باید دوباره آنالیز شود و همراه آن آزمون بازیابی قابل قبول برای آنالیت آشکارسازی شده انجام شود. هرگاه روش افزایش استاندارد یا روش رقیق سازی ایزوتوپی با افزایش استاندارد داخلی نشان دار شده به آزمونه قبل از انجام استخراج به کار می رود، انجام آزمون بازیابی می تواند حذف شود.

۷-۶-۳ کالیبراسیون منطبق با بافت

۷-۶-۳-۱ اغلب در روش های LC و GC اثرات بافت رخ می‌دهد و توصیه می شود در مرحله صحه گذاری اولیه روش آزمون مورد ارزیابی قرار گیرد، کالیبراسیون منطبق با بافت معمولا برای جبران اثرات بافت، مورد استفاده قرار می‌گیرد. توصیه می شود عصاره‌های بافت شاهد، ترجیحا از همان نوع نمونه، برای کالیبراسیون مورد استفاده قرار گیرد. یک روش جایگزین عملی در آنالیزهای GC برای جبران اثرات بافت، استفاده از محافظ های آنالیت می‌باشد، که به عصاره نمونه ها و محلول‌های استاندارد به منظور متعادل کردن پاسخ آفت کش‌ها در عصاره نمونه ها و استاندارد کالیبراسیون در حلال، اضافه می شود. موثرترین راه برای جبران اثرات بافت، استفاده از روش افزایش استاندارد یا استفاده از استانداردهای داخلی نشان‌دار شده ایزوتوپی میباشد.

۷-۶-۳-۲ در کروماتوگرافی گازی، کالیبراسیون منطبق با بافت نماینده با استفاده از یک بافت نماینده یا مخلوطی از بافت‌ها، می تواند برای کالیبراسیون یک سری از نمونه ها شامل محصولات مختلف، مورد استفاده قرار گیرد. هر چند این روش نسبت به استانداردهای کالیبراسیون در حلال ترجیح داده می شود، در مقایسه با روش منطبق با بافت عصاره استخراجی، به نظر میرسد کالیبراسیون از صحت کمتری برخوردار است. توصیه می شود اثرات نسبی بافت مورد بررسی قرار گیرند و روش، بر اساس آن اصلاح شود.

۷-۶-۳-۳ جبران اثرات بافت در LC-MS سخت تر است زیرا اثرات بافت به شویش هم زمان هر یک از آفت کش‌ها با اجزایی از بافت که هم زمان استخراج شده اند و در محصولات مختلف متفاوت هستند، بستگی دارد. بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از کالیبراسیون منطبق با بافت در مقایسه با GC تاثیر کمتری دارد.

۷-۶-۴ روش افزایش استاندارد

۷-۶-۴-۱ روش افزایش استاندارد یک روش جایگزین برای استانداردهای کالیبراسیونی منطبق با بافت می‌باشد. این روش برای جبران اثرات بافت و مقادیر از دست رفته طی بازیابی، طراحی شده است ولی برای کارایی استخراج یا مزاحمت‌های کروماتوگرافی ناشی از هم پوشانی پیک ها/ پیک های جدا نشده آنالیت ها هم استخراج، طراحی نشده است. این روش نیازمند اطلاعاتی از سطح غلظت احتمالی آنالیت در

نمونه (به عنوان مثال نتیجه به دست آمده از یک آنالیز اولیه) می باشد. بنابراین مقدار آنالیت اضافه شده مشابه همان مقداری از آنالیت است، که در نمونه وجود دارد. به ویژه، توصیه می شود برای تایید آنالیزهای کمّی در مواردی که مقدار باقی مانده از MRL بیشتر است و /یا این که ماده شاهد مناسبی برای تهیه استانداردهای کالیبراسیون منطبق با بافت در دسترس نمی باشد، افزایش استاندارد انجام شود. در روش افزایش استاندارد، آزمایه به سه (یا ترجیحا تعداد بیش تری) آزمونه تقسیم می شود. یک آزمونه مستقیما آنالیز می شود و مقادیر آنالیت از کم به زیاد به آزمونه های دیگر اضافه شده و بلافاصله استخراج انجام می گیرد. توصیه می شود مقدار آنالیت اضافه شده به آزمونه بین یک تا پنج برابر مقدار تخمین زده شده از آنالیت در نمونه باشد. غلظت آنالیت در عصاره نمونه "غنی سازی نشده[1]" از پاسخ‌های نسبی آنالیت در نمونه و عصاره نمونه های غنی سازی شده، محاسبه می شود. در روش افزایش استاندارد، غلظت آنالیت در عصاره نمونه آزمایشی با برون‌یابی به دست می آید، بنابراین یک پاسخ خطی در گستره غلظتی مناسب برای به دست آوردن نتایج، صحیح ضروری است.

۷-۶-۴-۲ گونه ای دیگر از افزایش استاندارد، اضافه کردن کمینه دو مقدار مشخص از آنالیت به بخش هایی از عصاره نمونه به عنوان مثال درست قبل از تزریق، است. در این مورد، تنظیمات تنها برای خطاهای احتمالی تزریق و اثرات بافت می باشد و مربوط به بازیابی پایین نمی شود.

۷-۶-۵ اثرات مخلوط آفت کش ها بر کالیبراسیون

۷-۶-۵-۱ پاسخ آشکارساز به هر یک از آفت کش ها در استانداردهای کالیبراسیون چند آفت کشی ممکن است تحت تاثیر یک یا چند آفت کش دیگر در همان محلول قرار گیرد. توصیه می شود قبل از استفاده، محلول‌های استاندارد کالیبراسیون چند آفت کشی که در حلال خالص تهیه شده اند، با محلول‌های استانداردی که حاوی یک آفت کش (یا تعداد کمتری آفت کش) هستند، برای تایید تشابه پاسخ آشکارساز کنترل شود. در صورتی که تفاوت در پاسخ‌ها معنی دار باشد، تعیین مقدار کمّی باقی مانده‌ها با استفاده از استانداردهای کالیبراسیون منفرد در بافت و یا حتی بهتر از آن به روش افزایش استاندارد، الزامیست.

۷-۶-۶ کالیبراسیون آفت کش هایی که مخلوطی از ایزومرها هستند

۷-۶-۶-۱ برای محلول های استانداردی که مخلوطی از ایزومرها (یا شبیه به آن) هستند، تعیین مقدار می تواند با مجموع سطح زیر پیک ها، یا مجموع ارتفاع پیک ها، یا اندازه گیری یکی از اجزاء (یکی از ایزومرها) که بیشترین صحت را دارد انجام پذیرد.

1- Unspiked sample

۷-۶-۷ کالیبراسیون استاندارد منطبق با روش[1]

۷-۶-۷-۱ استفاده از استانداردهای منطبق با روش، یک روش جایگزین برای کالیبراسیون است. این روش می‌تواند برای جبران اثرات بافت و استخراج های با بازیابی های کم برخی ترکیبات آفت کش /محصول، به ویژه هنگامی که استانداردهای نشان‌دار ایزوتوپی در دسترس نمی باشند یا بسیار گران هستند، به کار رود. این روش تنها زمانی کاربرد دارد، که یک سری از نمونه‌های هم نوع (به عنوان مثال محصولات با منشا حیوانی، محصولات محتوی چربی بالا) در همان سری آنالیز آماده سازی می شوند. استانداردهای منطبق با روش با غنی سازی یک سری از آزمونه های شاهد با مقادیر متفاوتی از آنالیت، قبل از مرحله استخراج، تهیه می شوند. سپس استانداردهای منطبق با روش درست مانند نمونه ها آنالیز می شوند.

۷-۶-۷-۲ در صورت نیاز به مشتق سازی آفت کش‌ها و در دسترس نبودن استانداردهای مرجع یا پایین بودن بازده مشتق سازی و یا بسیار وابسته به بافت بودن، از کالیبراسیون با استانداردهای منطبق با روش، استفاده می شود. در چنین مواردی، توصیه می شود درست قبل از مرحله مشتق سازی، استانداردها به عصاره بافت شاهد اضافه شوند. در این مورد، کالیبراسیون منطبق با روش، نوسانات در بازده مشتق سازی را نیز جبران می‌کند.

۷-۶-۸ کالیبراسیون با استفاده از استانداردهای محصولات مشتق یا تجزیه شده[2]

۷-۶-۸-۱ هر جا که آفت کش به عنوان یک محصول مشتق سازی یا تجزیه شده تعیین مقدار می شود، در صورت در دسترس بودن، محلول استاندارد کالیبراسیون باید از استاندارد مرجع "خالص" محصول مشتق یا تجزیه شده تهیه شود. استانداردهای منطبق با روش باید تنها زمانی به کار روند که تنها گزینه عملی می‌باشند.

۷-۶-۹ کاربرد استانداردهای داخلی مختلف

۷-۶-۹-۱ یک استاندارد داخلی (IS) ترکیبی شیمیایی است، که به آزمونه یا عصاره آن با مقادیر معلوم در مرحله مشخصی از آنالیز به منظور کنترل اجرای صحیح روش تجزیه ای (یا بخشی از آن) اضافه می شود. استاندارد داخلی باید از نظر شیمیایی پایدار باشد و/یا عموما رفتاری مشابه با آنالیت ها هدف داشته باشد.

۷-۶-۹-۲ بسته به مرحله‌ای از روش تجزیه ای که استاندارد داخلی اضافه می شود، اصطلاحات مختلفی برای آن به کار می‌رود. یک استاندارد داخلی تزریقی(I-IS)[3] که استاندارد داخلی دستگاهی[4] نیز نامیده

1-Procedural Standard Calibration

2- Degradation products

3-Injection Internal Standard (I-IS)

4-Instrument Internal Standard

می شود، درست قبل از مرحله تعیین مقدار (تزریق) به عصاره‌های نهایی اضافه می شود. این امر امکان کنترل و تصحیح احتمالی تغییرات درحجم تزریق را فراهم می‌سازد. استاندارد داخلی منطبق با روش-P) IS)[1]استانداردی است، که در ابتدای روش آنالیز برای غلبه بر منابع مختلف خطا در تمام مراحل روش، اضافه می شود. هم چنین استاندارد داخلی می تواند در مرحله متفاوتی از روش تجزیه ای به منظور اصلاح خطاهای سیستماتیک و تصادفی که ممکن است هنگام مرحله ویژه ای از روش تجزیه ای رخ دهد، اضافه شود. توصیه می شود هنگام انتخاب استانداردهای داخلی اطمینان حاصل شود که با آنالیز آنالیت ها هدف تداخل ندارند و احتمال وجود آن ها در نمونه ای که آزمون می شود کمینه باشد.

۷-۶-۹-۳ در صورتی که بازیابی یا آشکارسازیIS اولیه مناسب نباشد، توصیه می شود برای روش های چند مانده ای بیش از یک IS استفاده شود. توصیه می شود در صورتی که استانداردهای داخلی تنها به منظور تنظیم تغییرات حجمی به کار روند. توصیه می شود کمینه مقدار از دست رفتن یا اثرات بافت را نشان دهند. وقتی یک گروه خاصی از آنالیت‌ها با ویژگی های مشابه آنالیز می شوند، IS می تواند به گونه‌ای انتخاب شود که ویژگی‌های رفتاری مشابه با آنالیت‌های مورد نظر را نشان دهد. اگر IS مورد استفاده برای محاسبات به طور معنی داری رفتار متفاوتی (به عنوان مثال از نظر بازیابی یا اثرات بافت) نسبت به یک یا تعداد بیشتری از آنالیت های هدف داشته باشد، این مسئله در تمام محاسبات کمی ایجاد یک خطای مضاعف می نماید.

۷-۶-۹-۴ وقتی که IS به هریک از محلول های استاندارد کالیبراسیون با غلظت مشخص اضافه می شود، نسبت پاسخ آشکارساز آنالیت به پاسخ آشکارساز IS حاصل از محلول های استاندارد کالیبراسیون تزریق شده در مقابل غلظت متناظر آن ها ترسیم می شود. بنابراین غلظت آنالیت با مقایسه نسبت پاسخ آنالیت به IS در عصاره نمونه، از طریق منحنی کالیبراسیون به دست می‌آید.

۷-۶-۹-۵ یک استاندارد داخلی نشان‌دار شده ایزوتوپی[2](IL-IS) استانداردی داخلی با ساختار شیمیایی و ترکیبات عنصری همانند آنالیت هدف است، ولی یک یا تعداد بیشتری از اتم های مولکول آنالیت هدف با ایزوتوپ جایگزین شده اند (مثلا دوتریوم؛^{15}N؛ ^{13}C و ^{18}O). پیش نیاز کاربرد استانداردهای داخلی نشان دار شده ایزوتوپی استفاده از طیف سنج جرمی است که امکان شناسایی هم زمان آنالیت‌های با شویش هم زمان نشان‌دار نشده و IL-IS را فراهم می سازد. کاربرد IL-IS می تواند از دست رفتن آنالیت‌ها و تغییرپذیری حجمی طی فرآیند، هم چنین اثرات بافت و تغییرات پاسخ در سیستم شناسایی کروماتوگرافی را به درستی جبران نماید. از دست رفتن آنالیت‌ها حین نگه داری عصاره (مثلا در اثر تجزیه شیمیایی) نیز با استفاده از IL-IS تصحیح می شود. کاربرد IL-IS استخراج ناقص باقی مانده‌های تحمیلی را جبران نمی‌کند.

1-Procedural Internal Standard (P-IS)
2 -Isotopically labelled Internal standard (IL-IS)

۷-۶-۹-۶ استانداردهای داخلی نشان‌دار شده ایزوتوپی هم چنین می توانند برای تسهیل شناسایی آنالیت‌ها به کار روند، زیرا زمان بازداری و شکل پیک آنالیت هدف و IL-IS مربوط به آن مشابه می باشند.

۷-۶-۹-۷ توصیه می شود استانداردهای داخلی نشان‌دار شده ایزوتوپی کاملا عاری از آنالیت اولیه باشند تا خطر خطای مثبت کاذب را به حداقل برسانند. در مورد استاندارد های دوتره شده، مثلا جایگزین شدن دوتریم با یک اتم هیدروژن حلال، می تواند منجر به پاسخ های مثبت کاذب و یا تاثیرات منفی بر نتایج کمی شود.

۷-۶-۱۰ پردازش داده ها

۷-۶-۱۰-۱ کروماتوگرام ها باید توسط فرد آنالیز کننده مورد بررسی قرار گیرد و در صورت لزوم، مناسب بودن خط زمینه، کنترل و تنظیم شود. هر جا پیک های مزاحم یا دنباله دار وجود داشته باشند، استفاده از یک روش یکسان برای تعیین مکان خط زمینه الزامیست. مساحت پیک یا ارتفاع پیک، هر کدام که نتایج درست تری حاصل نماید، می تواند استفاده شود.

۷-۷ تصدیق عملکرد روش در حال انجام طی آنالیز روزانه

۷-۷-۱ روش های کمی

۷-۷-۱-۱ کنترل روزانه بازیابی

۷-۷-۱-۱-۱ توصیه می شود در صورت عملی بودن، بازیابی های تمام آنالیت های هدف در هر سری آنالیز، اندازه گیری شود. در صورتی که این امر مستلزم تعیین مقدار تعداد زیادی از بازیابی ها باشد، می توان تعداد آنالیت‌ها را کاهش داد. هر چند که توصیه می شود این کاهش، مطابق با کمینه اعداد ذکر شده در جدول ۲ باشد. به این معنی که کمینه ٪۱۰ از آنالیت های نماینده (کمینه ۵ عدد) در سیستم آشکارسازی گنجانده شود.

جدول ۲- کمینه تناوب کنترل های بازیابی (تصدیق عملکرد روش کمی)

	آنالیت های نماینده	سایر آنالیت ها
کمینه تناوب کنترل های بازیابی	٪۱۰ از آنالیت‌های نماینده (کمینه ۵ عدد) برای هرسیستم آشکارسازی، در هر سری آنالیز	در یک برنامه در حال انجام، که دربرگیرنده سایر آنالیت‌ها کمینه هر ۱۲ ماه ولی ترجیحا هر ۶ ماه باشد
	در یک برنامه در حال انجام که شامل تمام آنالیت‌های نماینده و بافت‌های نماینده از گروه های محصولات مختلف، حداقل در سطح حد گزارش دهی باشد.	کمینه در سطح حد گزارش دهی

۷-۷-۱-۱-۲ اگر در مواردی حین اجرای برنامه در حال انجام (جدول۲)، بازیابی یک آنالیت، خارج از محدوده قابل قبول (به زیربند ۷-۷-۱-۲-۱ مراجعه کنید) باشد، تمام نتایج حاصل پس از آخرین بازیابی قابل قبول، باید به طور بالقوه اشتباه در نظر گرفته شوند.

۷-۷-۱-۱-۳ توصیه می شود برای تعیین بازیابی یک آنالیت، غنی سازی در بازه غلظتی حد گزارش دهی و ۱۰-۲ برابر حد گزارش دهی یا مرز بیشینه باقی مانده، یا در سطحی متناسب با نمونه ای که آنالیز می شود، باشد. می توان برای دست یابی به اطلاعات عملکرد تجزیه ای در دامنه ای از غلظت ها، سطح غنی سازی را تغییر داد. به ویژه بازیابی در سطوح مربوط به حد گزارش دهی و مرز بیشینه باقی مانده، دارای اهمیت می‌باشند. در مواردی که مواد شاهد[1]در دسترس نمی باشد (به طور مثال، تعیین مقدار برم معدنی در سطوح پایین)، یا جایی که تنها ماده شاهد در دسترس حاوی یک ترکیب مزاحم باشد، توصیه می شود سطح غنی سازی برای بازیابی، ۳ برابر یا مساوی سطح موجود در ماده شاهد باشد. توصیه می شود غلظت آنالیت (یا ماده مشکوک به آنالیت) در چنین عصاره بافت شاهدی، از چندین آزمایه تعیین شود. در صورت لزوم، بازیابی ها را می توان با استفاده از کالیبراسیون اصلاح شده با پاسخ شاهد[2]، محاسبه کرد، ولی توصیه می شود استفاده از کالیبراسیون اصلاح شده با پاسخ شاهد، همراه نتایج، گزارش شود. تعیین مقدار بازیابی ها از بافت مورد استفاده در آزمون غنی سازی الزامیست و مقادیر اندازه گیری شده در شاهد نباید بیش از ٪۳۰ سطح باقی مانده مربوط به حد گزارش دهی باشند.

۷-۷-۱-۱-۴ زمانی که یک باقی مانده به عنوان یک جزء معمول، تعیین مقدار می شود، بازیابی روزانه می تواند برای جزئی که احتمال حضور آن نسبت به سایر باقی مانده ها بیشتر است یا احتمالا بازیابی پایین تری دارد، تعیین مقدار شود.

۷-۷-۱-۲ معیار قابل قبول برای بازیابی های روزانه

۷-۷-۱-۲-۱ معمولا توصیه می شود حدود قابل قبول برای نتایج هر بازیابی در محدوده میانگین بازیابی$\pm 2x$ RSD باشد. برای هر گروه محصولات (پیوست الف) مقادیر میانگین بازیابی و RSD می تواند از صحه گذاری اولیه روش، یا از نتایج بازیابی در حال انجام (تجدید پذیری درون آزمایشگاهی،RSD_{wR}) استفاده شود. محدوده کاربردی پیش فرض ٪۱۴۰-٪۶۰ می تواند برای بازیابی ها در آنالیز روزانه مورد استفاده قرار گیرد. بازیابی های خارج از محدوده ذکر شده، معمولا آنالیز مجدد سری نمونه را ایجاب می کند، ولی نتایج برای برخی موارد خاص، می‌توانند قابل قبول باشند. به عنوان مثال، زمانی که بازیابی یکی از آنالیت ها به طور غیر قابل قبولی بالا باشد و هیچ باقی مانده ای در نمونه، آشکار نشده باشد، نیازی به آزمون مجدد جهت اثبات نبودن باقی مانده ها نمی باشد. هر چند که بازیابی هایی که همواره بالا هستند یا RSD های خارج از ٪۲۰± باید مورد بررسی قرار گیرند.

1-Blank material
2-Blank subtracted calibration

۷-۷-۱-۲-۲ آنالیز مواد مرجع گواهی شده (CRM) گزینه بهتری برای تامین شواهد عملکرد روش می باشد. هر چند که، مواد مرجع گواهی شده ای که حاوی آنالیت های مربوط در سطوح مناسب هستند، به ندرت در دسترس می باشند. به عنوان جایگزین، مواد مرجع درون آزمایشگاهی[1] (HRM) می‌توانند به طور متناوب آنالیز شوند. در صورت عملی بودن، تبادل چنین موادی بین آزمایشگاه ها، کنترل درستی مستقل و مضاعفی را فراهم می آورد.

۷-۷-۲ روش های غربال گری

۷-۷-۲-۱ ممکن است اندازه‌گیری تمام آنالیت های هدف در هر سری آنالیز، برای روش های چند باقی مانده ای کیفی که هدف آن ها اندازه گیری تعداد زیادی آنالیت می باشد، امکان پذیر نباشد. توصیه می شود برای تصدیق عملکرد کلی روش در هر سری آنالیز، غنی سازی بافت با کمینه ۱۰ آنالیت نماینده (شاخص) (از دامنه صحه گذاری شده) که تمام نقاط بحرانی روش را پوشش می دهد، انجام شود. توصیه می شود در یک برنامه درحال اجرا، عملکرد تمام آنالیت‌های دامنه صحه گذاری شده، مطابق جدول ۳ صحه گذاری شود.

جدول ۳- کمینه تواتر بررسی بازیابی (تصدیق عملکرد روش غربال گری)

	آنالیت های نماینده (شاخص)	سایر آنالیت ها
تعداد آنالیت ها	کمینه ۱۰ آنالیت در سیستم شناسایی که تمام جنبه های بحرانی روش را پوشش می دهد	تمام آنالیت های دامنه کیفی صحه گذاری شده
کمینه تواتر بررسی بازیافت	هر سری	کمینه هر ۱۲ ماه، ترجیحا هر ۶ ماه
سطح	SDL	SDL
معیار	تمام آنالیت های (شاخص های) قابل شناسایی	تمام آنالیت های (صحه گذاری شده) قابل شناسایی

۷-۷-۳ آزمون مهارت

۷-۷-۳-۱ برای تمام آزمایشگاه‌های رسمی کنترل باقی مانده آفت کش‌ها، شرکت منظم در آزمون های مهارت توصیه می شود. توصیه می شود، هنگام گزارش نتایج مثبت کاذب یا منفی کاذب و یا زمانی که صحت (مقادیر Z) به دست آمده در هر یک از آزمون‌های مهارت، غیر قابل قبول و یا مورد تردید باشد، مشکل (مشکلات) مورد بررسی قرار گیرند. نتایج مثبت یا منفی کاذب و یا عملکرد غیر قابل قبول، باید قبل از ادامه دادن تعیین مقدار ترکیب های آنالیت/بافت، اصلاح شوند.

1-In-house reference materials

۸ شناسایی آنالیت ها و تایید نتایج

۸-۱ شناسایی

۸-۱-۱ اسپکترومتری جرمی متصل به کروماتوگراف

طیف سنج جرمی متصل به یک سیستم جداسازی کروماتوگرافی، یک ترکیب قدرتمند برای تشخیص یک آنالیت در عصاره نمونه است. این روش، به طور هم زمان داده هایی چون زمان بازداری، نسبت های جرم/بار (m/z) و فراوانی نسبی (شدت) را فراهم می سازد.

۸-۱-۱-۱ الزامات کروماتوگرافی

۸-۱-۱-۱-۱ کوچک ترین زمان بازداری برای آنالیت (های) مورد آزمون باید کمینه ۲ برابر زمان بازداری مربوط به حجم مرده ستون باشد. زمان بازداری آنالیت در عصاره باید مطابق با زمان بازداری استاندارد کالیبراسیون (ممکن است لازم باشد از نوع منطبق با بافت باشد) با نوسان ۰/۱ min± برای کروماتوگرافی گازی و مایع باشد. زمانی اختلاف های بیش تر در زمان بازداری قابل قبول است، که هم شکل ظاهری پیک و هم زمان بازداری آنالیت با IL-IS مطابقت داشته باشد و یا این که مدرکی بر اساس مطالعات صحه گذاری در دسترس باشد. IL-IS به خصوص در مواردی که فرآیند کروماتوگرافی دچار جابه‌جایی زمان بازداری در اثر بافت نمونه یا تغییرات شکل ظاهری پیک ها می شود، می تواند مفید باشد. غنی سازی نمونه با آنالیتی که وجود آن در نمونه مشکوک است، نیز به افزایش اطمینان در شناسایی کمک می کند.

۸-۱-۱-۲ الزامات طیف سنج جرمی (MS)

۸-۱-۱-۲-۱ آشکار ساز طیف سنج جرمی می تواند اطلاعاتی چون طیف جرمی، الگوهای ایزوتوپی، و/یا سیگنال‌ها را برای یون‌های انتخابی تامین نماید. هر چند طیف‌های جرمی می تواند برای یک آنالیت، بسیار ویژه باشند، میزان تطابق با طیف مرجع، بسته به نوع نرم افزاری که به کار می رود، متفاوت است که این مسئله فراهم کردن راهنمایی کلی برای شناسایی میزان تطابق را غیر ممکن می سازد. بدین معنی که لازم است آزمایشگاه هایی که از تطابق طیفی برای شناسایی استفاده می کنند، معیارهای خود را تعیین نمایند و نشان دهند که این حدود برای هدف مورد نظر مناسب هستند. راهنماهایی که بر اساس شناسایی با استفاده از طیف جرمی باشند تنها به چند توصیه محدود می شوند، در حالی که برای شناسایی بر اساس یون های انتخابی، معیار هایی با جزئیات بیشتر فراهم شده اند.

۸-۱-۱-۳ توصیه هایی برای شناسایی با استفاده از طیف سنج جرمی

۸-۱-۱-۳-۱ توصیه می شود طیف مرجع آنالیت با همان دستگاه و شرایطی که آنالیز نمونه ها انجام می شود، تهیه شود. در صورتی که تفاوت های عمده ای بین طیف منتشر شده (در منابع و مراجع) و طیف به دست آمده در آزمایشگاه مشاهده شود، طیف آزمایشگاه باید صحه گذاری شود. برای جلوگیری از به هم خوردن نسبت یون ها، غلظت یون ها نباید آشکارساز را اشباع[1] کند. طیف مرجع در نرم افزار

1-Overload

دستگاه می تواند از یک تزریق قبلی (بدون حضور بافت نمونه) باشد، ولی ترجیحا بهتر است که از همان سری تجزیه ای، حاصل شده باشد.

۸-۱-۱-۳-۲ در اندازه گیری های پویش کامل[1]، برای اطمینان از این که طیف حاصل از پیک کروماتوگرافی نمایان گر آنالیت مورد نظر است، ممکن است اصلاح دقیق طیف زمینه به صورت دستی یا خودکار، با استفاده از روش واپیچش[2] یا سایر الگوریتم ها لازم باشد. هرگاه تصحیح زمینه انجام شود، باید به طور یکسان برای تمام سری تجزیه ای به کار رود و توصیه می شود به وضوح، ثبت شود.

۸-۱-۱-۴ الزامات شناسایی با استفاده از یون‌های انتخابی

۸-۱-۱-۴-۱ شناسایی به انتخاب صحیح یون‌ها بستگی دارد. این یون‌ها باید برای آنالیت در بافت نمونه ای که آنالیز می شود گزینشی و در محدوده غلظتی مناسبی باشند. یون های مولکولی، مولکول‌های پروتون دار یا پروتون از دست داده، یا یون‌های اضافه شده، برای آنالیت بسیار ویژه (تعیین کننده) هستند و توصیه می شود در صورت امکان، در فرآیندهای اندازه گیری و شناسایی گنجانده شوند. به طور کلی و به خصوص در طیف سنج جرمی تک مرحله ای[3]، یون‌های با m/z بالا نسبت به یون های با m/z پایین (به عنوان مثالm/z کمتر از ۱۰۰) اختصاصی تر هستند. هر چند که، یون های با m/z بالا حاصل از حذف یک مولکول آب یا قطعات معمول مولکول، ممکن است کاربرد کمی داشته باشند. اگر چه یون‌های ایزوتوپی تعیین کننده، به خصوص خوشه‌های[4] Cl و Br می توانند به طور ویژه ای کاربردی باشند، توصیه می شود منشا یون‌های انتخابی فقط از همان قسمت مولکول آنالیت نباشد. انتخاب یون‌ها برای شناسایی ممکن است بسته به تداخل های پس زمینه، تغییر کند. گزینش پذیری هر یون آنالیت، در طیف سنجی جرمی با تفکیک بالا، از طریق باریکی پنجره استخراج جرمی(MEW[5]) که برای به دست آوردن کروماتوگرام یون استخراجی[6] به‌کار می رود، تعیین می شود. هرچه MEW باریکتر باشد، گزینش پذیری بالاتر می رود. به هر حال کمینه MEW قابل استفاده به تفکیک جرمی بستگی دارد.

۸-۱-۱-۴-۲ کروماتوگرام یون های انتخابی نمونه های استخراجی باید دارای پیک‌هایی باشند که از نظر زمان بازداری، شکل پیک و نسبت پاسخ، با پیک‌های حاصل از استانداردهای کالیبراسیون با غلظت متناسب با آن ها در همان سری تزریق، مشابه باشند. هم پوشانی کامل پیک‌های کروماتوگرافی حاصل از یون های انتخابی مختلف یک آنالیت الزامیست. زمانی که یک کروماتوگرام یونی شواهدی از تداخل های کروماتوگرافی معنی دار نشان دهد، به هیچ عنوان نباید برای شناسایی مورد اطمینان قرار گیرد.

1-Full scan
2-Deconvolution
3-Single-stage
4- Clusters
5- Mass Extaction Window(MEW)
6- Extacted ion chromatogram

۸-۱-۱-۴-۳ انواع و حالت‌های مختلف از آشکار ساز های طیف سنج جرمی، درجات متفاوتی ازگزینش پذیری و اختصاصی بودن، تامین می کنند که مربوط به درجه اطمینان در شناسایی می باشند. الزامات شناسایی در جدول ۴ ارائه شده اند. توصیه می شود این الزامات به عنوان معیار راهنما برای شناسایی در نظر گرفته شوند و نه به عنوان معیار قطعی که حضور یا عدم حضور یک آنالیت را تایید می کند.

جدول ۴- الزامات شناسایی برای تکنیک‌های مختلف طیف سنج جرمی

آشکارساز طیف سنج جرمی / مشخصه ها	(مثال‌هایی از) سیستم‌های معمول	نوع اکتساب داده ها	الزامات شناسایی	
			کمینه تعداد یون ها	سایر
تفکیک یون واحد	طیف سنج جرمی تک مرحله ای[1] چهار قطبی، چهار قطبی- تله یونی، زمان پرواز (TOF)	پویش کامل، بازه محدودی از m/z، پایش یون انتخابی (SIM)	۳ یون	$S/N \geq ۳$ [d] هم پوشانی کامل پیک‌های کروماتوگرافی حاصل از یون های انتخابی مختلف آنالیت الزامیست. نسبت یونی در محدوده ۳۰٪± **(نسبی)** میانگین استانداردهای کالیبراسیون همان سری تزریق.
	طیف سنج جرمی متوالی سه چهارقطبی متوالی[2]، تله یونی، چهار قطبی ـ تله یون[3]، چهار قطبی ـ زمان پرواز[4]، چهارقطبی ـ تله اربیتالی[5]	پایش واکنش انتخابی یا چندگانه (SRM,MRM)، تفکیک یونی برای جداسازی یون پیش ساز معادل یا بهتر از تفکیک یون واحد	۲ یون محصول	
اندازه گیری‌های دقیق جرمی	طیف سنج جرمی با تفکیک بالا: چهارقطبی- زمان پرواز چهارقطبی- تله اربیتالی FT-ICR-MS طیف سنجی جرمی قطاعی	پویش کامل، بازه محدود m/z، شکست مولکولی با یا بدون انتخاب یون پیش ساز، یا ترکیبی از آن ها	دو یون با دقت جرمی کم تر یا مساوی ppm ۵ [a، b، c]	$S/N \geq ۳$ هم پوشانی کامل پیک‌های کروماتوگرافی حاصل از یون های انتخابی مختلف آنالیت الزامیست. نسبت یونی: به زیربند ۸-۱-۱-۴-۷ مراجعه کنید.

a ترجیحا شامل یون مولکولی، یون مولکول پروتون دار شده یا پروتون از دست داده یا افزایشی

b شامل کمینه یک یون شکست مولکولی

c کمتر از 1 mDa برای m/z کم تر از ۲۰۰

d توصیه می شود در غیاب نویز، یک سیگنال در ۵ پویش متوالی وجود داشته باشد.

1-Single MS
2- Triple quadrupole
3- Q-trap
4- Q-TOF
5- Q-Orbitrap

۸-۱-۱-۴-۴ شدت های نسبی یا نسبت یون‌های گزینش شده (که به صورت نسبتی از شدیدترین یونی که برای شناسایی به کار می رود، بیان می شوند) باید با نسبت های یونی مرجع، منطبق باشند. نسبت یونی مرجع میانگین حاصل از استانداردهای بر پایه حلال اندازه‌گیری شده در همان توالی و تحت شرایط یکسان با نمونه ها می باشد. می توان از استاندارد های منطبق با بافت در صورتی که نشان داده شود، عاری از تداخلات طیفی با یون های مورد استفاده برای شناسایی آنالیت می باشند، به جای استانداردهای بر پایه حلال استفاده کرد. پاسخ های خارج از محدوده خطی، باید برای تعیین مقدار یون مرجع، حذف شوند.

۸-۱-۱-۴-۵ محدوده‌های مجاز بزرگ تر، ممکن است منجر به درصد بالاتری از نتایج مثبت کاذب شود. به طور مشابهی، در صورت کاهش محدوده های مجاز، احتمال نتایج منفی کاذب، افزایش خواهند یافت. توصیه می‌شود محدوده های ارائه شده در جدول ۴ به عنوان حد قطعی در نظرگرفته نشوند و تفسیر خودکار داده ها بر اساس این معیار بدون تفسیر تکمیلی توسط یک کارشناس با تجربه توصیه نمی شود[۱و۲].

۸-۱-۱-۴-۶ تا زمانی که حساسیت و گزینش پذیری به دست آمده برای یون ها و پاسخ ها در محدوده خطی می باشد، نشان داده شده که نسبت یون ها در تفکیک جرمی واحد MS/MS ثابت می باشند و توصیه می شود از مقادیر مرجع بیش از ٪۳۰ (نسبی) انحراف نداشته باشند.

۸-۱-۱-۴-۷ برای اندازه گیری جرم دقیق/ طیف سنجی جرمی با تفکیک بالا، تغییر پذیری نسبت های جرمی نه تنها تحت تاثیر نسبت سیگنال به نویز پیک ها در کروماتوگرام یون استخراجی می باشد، بلکه ممکن است تحت تاثیر نحوه ایجاد یون های شکسته شده و بافت نمونه باشد. به طور مثال، محدوده یون های انتخابی پیش ساز در یک پویش شکست یونی (همه یون ها، محدوده یون پیش ساز از ۱۰۰، ۱۰ یا یک دالتون) منجر به جمعیت متفاوتی از یون های بافت در سل برخوردی می شود، که ممکن است بر شکست یونی در مقایسه با استاندارد های بر پایه حلال تاثیر بگذارد. علاوه بر این نسبت دو یون ایجاد شده در یک پویش شکست یونی یکسان تمایل به ایجاد نسبت یونی ثابت تری در مقایسه با نسبت یک یون پیش ساز حاصل از یک پویش کامل و یک یون از پویش شکست یونی دارد. به همین دلیل مقدار راهنمای عمومی برای نسبت یونی نمی توان ارائه داد. به دلیل مقدار اضافه شده اندازه گیری جرم دقیق، انطباق نسبت های یونی، کمتر بحرانی هستند.

به هرحال، توصیه می شود به عنوان شاخص به کار روند. توصیه می شود انحراف های بیش از ٪۳۰ مورد بررسی بیشتر قرار گیرند و با احتیاط قضاوت شوند.

۸-۱-۱-۴-۸ برای کسب درجه اطمینان بیشتر در شناسایی، شواهد بیشتری می تواند از اطلاعات اضافی طیف سنج جرمی به دست آیند. به عنوان مثال ارزیابی طیف پویش کامل، الگوی ایزوتوپی، یون‌های

1-H.G.J. Mol, P. Zomer, M. García López, R.J. Fussell, J. Scholten, A. de Kok, A. Wolheim, M. Anastassiades, A. Lozano, A. Fernandez Alba. Analytica Chimica Acta 873 (2015) 1–13

2-S.J. Lehotay,Y. Sapozhnikova, H.G.J. Mol, Trends in Analytical Chemistry 69 (2015) 62–75.

افزوده، یون‌های بیشتر شکست جرمی صحیح[1]، یون‌های محصول بیشتر (در MS/MS) یا جرم دقیق یون‌های تولید شده[2].

۸-۱-۱-۴-۹ پروفایل کروماتوگرافی ایزومرهای یک آنالیت نیز، ممکن است شواهدی فراهم کنند. شواهد بیشتر می تواند با به کاربردن یک سیستم جداسازی کروماتوگرافی متفاوت و/یا یک تکنیک یونیزاسیون طیف سنج جرمی متفاوت به دست آیند.

۸-۲ تایید نتایج

۸-۲-۱ در صورتی که آنالیز اولیه، منجر به شناسایی واضحی نشود و یا الزامات آنالیز کمّی را برآورده نکند، یک آنالیز تاییدی، مورد نیاز است. این آنالیز ممکن است شامل آنالیز مجدد عصاره یا نمونه باشد. در مواردی که نتیجه از MRL بیشتر شده باشد، همیشه یک آنالیز تاییدی آزمونه دیگر لازم است. برای مواردی که ترکیب غیر معمول آفت کش -بافت مشاهده شده است نیز یک آنالیز تاییدی پیشنهاد می شود.

۸-۲-۲ کاربرد تکنیک‌های تعیین مقدار متفاوت و/یا تایید نتایج کیفی و /یا کمی توسط یک آزمایشگاه تخصصی مستقل، شواهد حمایتی بیشتری را فراهم می سازد.

۹ گزارش نتایج

۹-۱ بیان نتایج

۹-۱-۱ نتایج آنالیت های منفرد اندازه گیری شده باید همیشه گزارش شوند و غلظت‌های آن ها با واحد mg/kg نشان داده شود. هرجا که تعریف باقی‌مانده شامل بیش از یک آنالیت می‌باشد (به مثال های پیوست ب مراجعه کنید)، مجموع آنالیت ها باید به صورتی که در تعریف باقی مانده آمده محاسبه و برای بررسی مطابقت با MRL استفاده شود. در صورتی که توانایی های تجزیه ای یک آزمایشگاه امکان تعیین مقدار تمام مجموع باقی‌مانده را به صورتی که در تعریف باقی‌مانده آمده، فراهم نمی‌کند، بخشی از مجموع، می تواند محاسبه شود، ولی توصیه می شود این مسئله به وضوح در گزارش قید شود. در مورد وارد کردن الکترونیکی نتایج برای نمونه هایی که قسمتی از یک برنامه پایشی هستند، غلظت تمام آنالیت های منفرد به همراه مقادیر LOQ آن ها باید ثبت شود.

۹-۱-۲ برای روش های کمّی، باقی مانده آنالیت های منفرد کمتر از RL باید به صورت"<mg/kgRL" گزارش شوند. هرجا روش های غربال گری مورد استفاده قرار می گیرند و آفت کشی تشخیص داده نشده است، باید به صورت "<SDL mg/kg" گزارش شود.

1-Accurate mass fragment ions
2-Accurate mass product ions

۹-۲ محاسبه نتایج

هرگاه یک نمونه همگن شده یکسان با دو تکنیک آنالیز می شود، توصیه می شود نتیجه مربوط به روشی که صحت بیشتر ی دارد، گزارش شود. در صورتی که دو نتیجه حاصل از دو روش که صحت برابری دارند یا دو تکرار اندازه گیری با استفاده از یک تکنیک باشند، توصیه می شود میانگین نتایج گزارش شود. در صورتی که تعداد بیشتری آزمونه (≤۲) آنالیز شوند، توصیه می شود میانگین حسابی نتایج به دست آمده از هر آزمونه، گزارش شود. در صورتی که خرد کردن و/ یا مخلوط کردن نمونه به خوبی انجام شده باشد، RSD نتایج تکرار آزمونه ها معمولا نباید از ٪۳۰ بیشتر شود، به ویژه برای باقی مانده‌هایی که به طور معنی داری بالاتر از RL هستند.

توصیه می شود در موردی که تنها دو تکرار وجود دارد، اختلاف نسبی نتایج منفرد از ٪۳۰ میانگین بیشتر نشود. در مورد نتایج نزدیک به RL، تغییر پذیری ممکن است بیشتر باشد و در تصمیم گیری این که نتیجه از این حد بیشتر شده است یا خیر، احتیاط بیشتری لازم است.

وقتی که میانگین بازیابی‌ها در محدوده ٪۱۲۰- ٪۸۰ هستند و معیار عدم قطعیت بسط یافته اندازه گیری ٪۵۰ برآورده می شود، لازم نیست نتایج باقی‌مانده‌ها با بازیابی اصلاح شوند. در صورتی که نتایج با بازیابی اصلاح می شوند، باید در گزارش نتایج، بیان شود. بیشتر شدن از حد MRL، باید با نتایج قابل قبول هر بازیابی (از همان سری نمونه)، کمینه با تکرار آنالیزهای تاییدی، حمایت شود. در صورتی که بازیابی در این محدوده قابل دست یابی نباشد، الزاما نیاز به اقدام دیگری نیست، ولی ریسک صحت نسبی پایین را باید در نظر گرفت. بنابراین توصیه می شود، از روش افزایش استاندارد یا استانداردهای نشان دار شده با ایزوتوپ، به منظورکالیبراسیون، برای تمام مواردی که از MRL بیشتر شده اند، استفاده شود.

۹-۳ گرد کردن داده ها

حفظ یکنواختی در گزارش نتایج باقی مانده آفت کش‌ها ضروری است. عموما، توصیه می شود نتایج در سطح RL و بالاتر از آن ولی کمتر از mg/kg ۱۰ تا دو رقم معنی دار گرد شوند. نتایج مساوی یا بیشتر از ۱۰mg/kg را می توان تا سه رقم معنی دار یا به یک عدد کامل گرد کرد. RL در سطح کمتر از mg/kg ۱۰، باید تا یک رقم معنی دار و در سطح بزرگ تر یا مساوی ۱۰mg/kg، باید تا دو رقم معنی دار گرد شود. این قوانین گرد کردن لزوما منعکس کننده عدم قطعیت مربوط به داده های گزارش شده نمی‌باشند. به منظور آنالیز آماری (به عنوان مثال، ارزیابی عدم قطعیت اندازه گیری) و هنگام گزارش نتایج آزمون‌های مهارت، ارقام معنی دار بیشتری می توانند ثبت شوند. در برخی موارد ممکن است گرد کردن توسط یا با توافق مشتری/ذی نفع برنامه کنترل یا پایش، تعیین شود. در هر صورت، گرد کردن نتایج هرگز نباید منجر به تصمیم گیری متفاوتی درباره بیشتر شدن از یک حد قانونی مثل MRL شود. بنابراین، توصیه می شود گرد کردن تا ارقام معنی دار بعد از محاسبه نهایی نتایج انجام شود.

۹-۴ بیان نتایج با عدم قطعیت اندازه گیری

۹-۴-۱ یکی از الزامات استاندارد ۱۷۰۲۵ این است که آزمایشگاه ها عدم قطعیت (بسط یافته) اندازه گیری (MU) که با U نشان داده می شود را به همراه نتایج تجزیه ای، تعیین کرده و در دسترس قرار دهند. توصیه می شود آزمایشگاه ها داده های تکرارپذیری/تجدیدپذیری حاصل از صحه گذاری /تصدیق روش، مطالعات بین آزمایشگاهی (مثل آزمون های مهارت) و آزمون های کنترل کیفیت درون آزمایشگاهی[1] که می توانند برای محاسبه عدم قطعیت اندازه گیری مورد استفاده قرار گیرند را به اندازه کافی داشته باشند[2].

عدم قطعیت اندازه گیری، محدوده‌ای در اطراف نتیجه آزمایشگاهی گزارش داده شده را بیان می‌کند که انتظار می‌رود، مقدار درست، با احتمال تعریف شده‌ای (سطح اطمینان) در آن وجود داشته باشد. تمام منابع بالقوه خطا را باید در محدوده‌های عدم قطعیت اندازه گیری در نظر گرفت. تخمین های عدم قطعیت اندازه گیری معمول که بر اساس داده های قبلی هستند ممکن است عدم قطعیت اندازه گیری همراه با آنالیز یک نمونه فعلی را منعکس نکند.

۹-۴-۲ توصیه می شود برای جلوگیری از ایجاد احساس کاذب اطمینان درباره مقدار درست، داده های عدم قطعیت اندازه گیری[3]، با احتیاط به کار روند. تخمین های عدم قطعیت اندازه گیری معمول که بر اساس داده‌های قبلی هستند ممکن است عدم قطعیت اندازه گیری همراه با آنالیز یک نمونه فعلی را منعکس نکنند. عدم قطعیت اندازه گیری معمول، می تواند با استفاده از هر روش بین المللی مانند ISO[4] یا Eurachem[5] تخمین زده شود. انحراف استاندارد نسبی تجدیدپذیری (یا انحراف استاندارد نسبی تکرارپذیری در صورتی که اطلاعات تجدیدپذیری در دسترس نمی باشند) می توانند مورد استفاده قرار گیرند، ولی توصیه می‌شود سهم سایر منابع عدم قطعیت (مثل ناهمگن بودن نمونه آزمایشگاهی که آزمونه از آن برداشته می شود) حاصل از تفاوت در فرآیندهای به کار رفته برای آماده سازی اولیه نمونه، آماده سازی نمونه و نمونه برداری میانی نیز در محاسبات وارد شود. توصیه می شود کارایی استخراج و تفاوت در غلظت استانداردها نیز در نظر گرفته شوند. داده های عدم قطعیت اندازه گیری در درجه اول مربوط به آنالیت و بافت مورد استفاده می باشند و توصیه می شود تنها با احتیاط زیاد به سایر ترکیب های آنالیت /بافت تعمیم داده شوند. عدم قطعیت اندازه گیری در سطوح پایین تر باقی مانده، به خصوص با نزدیک شدن به LOQ تمایل به افزایش دارد. از این رو ممکن است تامین داده ها ی عدم قطعیت

1-In-house quality control tests

۲- استاندارد ملی ایران شماره ۲۲۴۵۰– آفت کش‌ها- تخمین عدم قطعیت نتایج-راهنما

3-L. Alder et al., Estimation of measurement uncertainty in pesticide residue analysis. J. AOAC Intern., 84 (2001) 1569-1577.

4-Anonymous 1995,'Guide to the expression of uncertainty in measurement' ISBN 92-67-10188-9

5-EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying uncertainty in analytical measurement, 3rd Edition, 2012,http://www.eurachem.org/images/stories/guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf

اندازه‌گیری در طیفی از سطوح باقی مانده برای منعکس کردن عدم قطعیت هایی که به طور معمول طی آنالیز متداول یافت می شوند، لازم باشد.

۹-۴-۳ رویکرد عملی دیگری برای یک آزمایشگاه جهت تصدیق تخمین عدم قطعیت اندازه گیری، بر اساس اطلاعات درون آزمایشگاهی، از طریق ارزیابی عملکرد خود در آزمون های مهارت اخیر می باشد (به پیوست پ مراجعه کنید). نتایج آزمون های مهارت می تواند شاخص مهمی از سهم بایاس (گرایش) بین آزمایشگاهی در عدم قطعیت اندازه گیری یک آزمایشگاه را فراهم کند. آنالیزهای تکراری یک نمونه خاص، به همراه تعیین مقدار بازیابی به طور هم زمان، می تواند صحت یک نتیجه آزمایشگاهی و تخمین عدم قطعیت را بهبود بخشد. این داده های عدم قطعیت شامل تکرارپذیری نمونه برداری میانی و آنالیز خواهند بود، ولی اطلاعاتی در مورد بایاس (گرایش) بین آزمایشگاهی ارائه نمی دهند. این اقدام به طور معمول زمانی به کار می‌رود که نتایج تجزیه ای بسیار اهمیت دارند (به عنوان مثال، بررسی انطباق با MRL).

۹-۴-۴ استفاده از حدود گزارش دهی بر اساس پایین ترین سطح غنی سازی صحه گذاری شده طی صحه گذاری روش، لزوم درنظر گرفتن عدم قطعیت همراه سطوح باقی مانده کمتر از RL را حذف می کند.

۹-۵ تفسیر نتایج برای اهداف اجرایی

۹-۵-۱ معمولا ارزیابی این که آیا یک نمونه حاوی باقی مانده ای است که از حد MRL بیشتر شده است، تنها در مواردی مشکل خواهد بود که سطح غلظت، تقریبا نزدیک MRL باشد. تصمیم گیری باید بر اساس داده های کنترل کیفیت هم زمان و نتایج حاصل از آزمونه های تکراری به همراه هرگونه ارزیابی عدم قطعیت، اتخاذ شود. احتمال هدر رفتن باقی مانده یا آلودگی متقاطع که قبلا یا در حین یا بعد از نمونه برداری رخ داده را نیز باید در نظر گرفت.

۹-۵-۲ یک عدم قطعیت بسط یافته اندازه‌گیری پیش فرض ٪۵۰ (مربوط به سطح اطمینان ٪۹۵ و فاکتور تبدیل ۲) از آزمون های مهارت اتحادیه اروپا محاسبه شده است. به طور کلی، این مقدار ٪۵۰ تغییر پذیری بین آزمایشگاهی در میان آزمایشگاه‌های اتحادیه اروپا را پوشش میدهد و توصیه می شود که همین مقدار توسط مقامات نظارتی در موارد تصمیم گیری های اجرایی (بیشتر شدن از MRL) مورد استفاده قرار گیرد. پیش نیاز استفاده از مقدار عدم قطعیت اندازه گیری بسط یافته پیش فرض٪۵۰، این است که آزمایشگاه باید اثبات کند که عدم قطعیت بسط یافته اش **کوچک تراز ٪۵۰ است**. در مواردی که بیشتر شدن از MRL بیشتر شدن از دوز مرجع حاد[1] نیز می‌باشد، یک عدم قطعیت بسط یافته اندازه‌گیری با حد اطمینان پایین تر، می تواند به عنوان یک اقدام محتاطانه به کار رود.

1-Acute reffrence dose

۹-۵-۳ در صورتی که آزمایشگاه ها مواردی از تکرارپذیری و یا تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی RSD_{wR} که به میزان غیر قابل قبولی بالا هستند یا امتیاز z نامطلوب در آزمون‌های مهارت را تجربه می‌کنند، یک مقدار متناسب عدم قطعیت بالاتر باید در نظر گرفته شود. برای نتایج حاصل از روش های تک مانده ای، به خصوص وقتی استانداردهای داخلی نشان دار ایزوتوپی پایدار استفاده شده باشند، عدم قطعیت اندازه‌گیری بسط یافته کوچک تری می تواند موجه باشد، به ویژه در صورتیکه با تجدیدپذیری بین آزمایشگاهی RSD_R پایین تر متناسبی (٪۲۵) پشتیبانی شوند.

۹-۵-۴ در صورت لزوم، نتایج باید به همراه عدم قطعیت اندازه گیری بسط یافته به صورت نتیجه=x±u (واحد) گزارش شودکه x مقدار اندازه‌گیری شده است. برای کنترل رسمی مواد غذایی توسط مقامات نظارتی، بررسی انطباق با MRL با در نظر گرفتن این نکته الزامی است، که بیشتر شدن از حد MRL در صورتی اتفاق می افتد که اگر عدم قطعیت بسط یافته را از مقداراندازه‌گیری شده کم کنیم، عدد حاصل بیشتر از MRL می شود ($x - U > MRL$). با این قانون تصمیم گیری، مقدار باقی مانده باید با کمینه اطمینان ٪۹۷/۵ بالاتر از MRL باشد[1]. بنابراین اگر $x-U > MRL$ ، نمونه غیر آلوده در نظر گرفته می شود. به عنوان مثال در موردی که MRL برابر ۱، نتیجه x =۲/۲ و U = ٪۵۰ باشند،
x-U = ۲/۲-۱/۱ (٪۵۰ از ۲/۲)=۱/۱ که از MRL بزرگ تر است.

۱۰ استانداردهای آفت کش ها، محلول های ذخیره و محلول‌های استاندارد کالیبراسیون

۱۰-۱ شناسایی، خلوص و نگه داری استانداردهای مرجع

۱۰-۱-۱ استانداردهای مرجع آنالیت‌ها باید خلوص مشخصی داشته باشند و باید کد شناسایی انحصاری به آن ها اختصاص داده شود و به گونه ای ثبت شوند که از قابلیت ردیابی کاملا اطمینان حاصل شود (شامل تولید کننده، شماره شناسه، تاریخ دریافت و محل نگه داری). آن ها باید در دمای پایین، ترجیحا در فریزر دور از نور و رطوبت، به عبارتی در شرایطی که تجزیه شدن آن ها را به حداقل برساند، نگه داری شوند. در چنین شرایطی، تاریخ انقضایی که تولید کننده مشخص کرده است، که معمولا بر اساس شرایط نگه داری کم تر سخت‌گیرانه می باشد، می تواند متناسب با هر استاندارد، با تاریخی که اجازه نگه داری آن ها را به مدت ۱۰ سال فراهم می کند، جایگزین نمود. به این ترتیب استاندارد مرجع می تواند همچنان نگه‌داری شود و می توان تاریخ انقضای جدیدی به آن اختصاص داد. در حالت ایده ال، در صورت جدید بودن آنالیت برای آزمایشگاه، هویت شیمیائی استاندارد مرجع تازه خریداری شده باید بررسی شود. تنها برای اهداف غربال گری، استانداردهای مرجع و محلول های حاصل از آن ها را در صورتی که حد گزارش دهی قابل دست یابی باشد، می توان پس از تاریخ انقضاء، استفاده نمود. اگر آفت کش تشخیص داده شود، یک استاندارد جدید یا یک استاندارد مرجع گواهی شده و محلول استاندارد کالیبراسیون ساخته شده از آن، باید برای تعیین مقدار، مورد استفاده قرار گیرد.

1-EURACHEM/CITAC Guide, Use of uncertainty information in compliance assessment, 1st Edition, 2007.

۱۰-۲ آماده سازی و نگه داری استانداردهای ذخیره

۱۰-۲-۱ هنگام تهیه استانداردهای ذخیره (محلول ها، تعلیق ها[1] یا محلول های گازی) از استانداردهای مرجع (آنالیت ها و استانداردهای داخلی) مستندات باید به نحوی ثبت شوند که از قابلیت ردیابی آن ها اطمینان حاصل شود. تاریخ تهیه، هویت، و جرم (یا حجم برای آنالیت های با فراریت بالا) استاندارد مرجع، و نوع و حجم حلال (یا سایر رقیق کننده ها) باید ثبت شوند. حلال (ها) باید مناسب برای آنالیت و روش آنالیز (از نظر حلالیت و عدم واکنش پذیری) باشند. خروج رطوبت حین به تعادل رسیدن دمای استاندارد مرجع تا دمای اتاق قبل از استفاده از آن، الزامیست و غلظت ها باید با خلوص استاندارد مرجع تصحیح شوند.

۱۰-۲-۲ توصیه می شود برای تهیه استانداردهای ذخیره با یک ترازوی ۵ رقم اعشار،کمتر از ۱۰mg از استاندارد مرجع، توزین نشود. توصیه می شود دمای محیط در زمان تهیه، با دمایی که ظروف شیشه ای کالیبره شده اند یکسان باشد، در غیر این صورت آماده سازی استاندارد ذخیره و کاری بر اساس اندازه گیری های جرمی انجام گیرد. آنالیت ها ی مایع فرار باید به صورت حجمی یا وزنی (درصورت معلوم بودن چگالی) مستقیما به درون حلال، پخش شود، آنالیت های گازی (سموم تدخینی) می توانند به درون حلال با تشکیل حباب و توزین جرم انتقال یافته به حلال یا با تهیه محلول های گازی (به طور مثال با استفاده از سرنگ مخصوص انتقال گاز با اجتناب از هر گونه تماس با فلزات واکنش‌گر) پخش شوند.

۱۰-۲-۳ استانداردهای ذخیره باید با یک تاریخ انقضای انحصاری به نحوی که پاک نشود، نشانه گذاری شوند و در دمای پایین درون ظروفی نگه داری شوند که از خروج حلال یا ورود آب به درون آن ها جلوگیری کند. پس از متعادل شدن تا دمای اتاق، هم زدن مجدد محلول‌ها و کنترل حل شدن کامل آنالیت به ویژه در مواردی که حلالیت در دمای پایین کاهش می یابد، الزامی است. استفاده از حلال متفاوت، شرایط نگه داری متفاوت یا تهیه محلول‌های ذخیره با غلظت پایین تر می تواند به غلبه بر این مشکل کمک نماید. پایداری آفت کش‌ها می تواند به حلال مورد استفاده نیز بستگی داشته باشد. در حال حاضر اطلاعات موجود نشان می دهد که محلول‌های ذخیره اکثر آفت کش ها، وقتی درون ظروف شیشه ای با درب محکم در فریزر نگه داری شوند به خوبی به مدت ۵ سال در تولوئن یا استن و کمینه ۳ سال در استونیتریل، متانول یا اتیل استات پایدار هستند.

۱۰-۲-۴ برای سوسپانسیون‌ها (مثلا دی تیوکارباماتها) و محلول‌ها (یا محلول‌های گازی) یا سموم تدخینی با فراریت بالا که باید به صورت تازه تهیه شوند، غلظت محلول آنالیت باید با محلول دومی که مستقلا در همان زمان تهیه شده است، مقایسه شود.

1-Dispersion

۱۰-۳ تهیه، استفاده و نگه داری استاندارد های کاری

۱۰-۳-۱ در هنگام تهیه استانداردهای کاری، ثبت هویت، مقدار تمام محلول‌ها و حلال‌های بکار رفته الزامیست. همانند محلول‌های ذخیره، استفاده از حلال(های) مناسب برای آنالیت و روش آنالیز (از نظر حلالیت و عدم واکنش پذیری) الزامیست. استانداردها باید با یک تاریخ انقضای انحصاری به نحوی که پاک نشود، نشانه گذاری شوند و در دمای پایین و در تاریکی درون ظروفی نگه داری شوند که از خروج حلال یا ورود آب به درون آن ها جلوگیری کند. درب های سپتوم دار (علاوه بر این که منبع آلودگی هستند) به ویژه مستعد از دست رفتن محتویات از راه تبخیر می باشند و در صورتی که محلول‌ها باید نگه داری شوند، بعد از سوراخ شدن سپتوم، در اولین فرصت، تعویض شوند. به دنبال متعادل شدن تا دمای اتاق، هم زدن مجدد محلول‌ها و کنترل حل شدن کامل آنالیت به ویژه در مواردی که حلالیت در دمای پایین کاهش می یابد، الزامیست.

۱۰-۳-۲ در هنگام توسعه یا صحه گذاری روش، یا در مورد آنالیت‌هایی که برای آزمایشگاه جدید هستند، باید نشان داده شود پاسخ آشکارساز شده مربوط به آنالیت است نه ناخالصی یا عوامل مزاحم دیگر. در صورتی که آنالیت حین استخراج، پاکسازی یا جداسازی تجزیه شود و محصول تجزیه به طور معمول در نمونه ها یافت شود ولی در تعریف باقی مانده گنجانده نشده باشد، در این صورت نتایج باید با استفاده از یک روش جایگزین که از این مشکل جلوگیری می کند، تأیید شود.

۱۰-۴ بررسی و جایگزین کردن استانداردها

۱۰-۴-۱ پایداری یک استاندارد مرجع موجود و احتمالا منقضی شده می تواند با تهیه یک استاندارد مرجع تازه و مقایسه پاسخ های آشکارساز کنترل شود. مقایسه باید با استفاده از رقت های مناسب از هر یک از استانداردها به تنهایی یا مخلوطی از استانداردها انجام شود. بررسی اختلاف های غیر قابل توضیح در غلظت‌های قابل انتظار بین استانداردهای قدیمی و جدید الزامیست. اختلاف بین غلظت‌های استاندارد های قدیمی و جدید ممکن است به خاطر فاکتورهایی به جر تجزیه آنالیت به تنهایی باشد (به طور مثال رسوب آنالیت، تبخیر حلال، اختلاف در خلوص استانداردهای مرجع قدیمی و جدید، خطاهای توزین یا خطاهای آنالیز دستگاهی).

۱۰-۴-۲ اختلاف میانگین های کمینه ۵ اندازه گیری تکراری برای هر یک از دو محلول (قدیمی و جدید) به طور معمول نباید بیش از ٪۱۰± باشد. مقدار میانگین محلول جدید ٪۱۰۰ و به عنوان اساس محاسبات درصد اختلاف، در نظر گرفته می شود. زمانی که اختلاف میانگین ها از ٪۱۰± استاندارد جدید بیشتر شود، ممکن است لازم باشد، زمان نگه داری یا شرایط، تنظیم شوند. هر دو استاندارد قدیمی و جدید باید با یک محلول جدید دیگر که مستقل از هر دو تهیه شده است، کنترل شوند.

۱۰-۴-۳ تغییرپذیری (کمینه ۵) تزریق های تکراری (به صورت RSD_r- تکرارپذیری نشان داده می شود) نیز باید در نظر گرفته شود. برای کمینه کردن عدم قطعیت اختلاف غلظت محاسبه شده بین محلول قدیمی و جدید، باید به دنبال به حداقل رساندن تغییرپذیری ها بود. برای به حداقل رساندن تغییرات اندازه گیری، می توان از یک استاندارد داخلی استفاده کرد. علاوه بر این توصیه می شود که استانداردهای قدیمی و جدید را به صورت یک در میان هم تزریق نمود تا هرگونه خطای ناشی از جابجایی سیگنال کاهش یابد.

۱۰-۴-۴ وقتی شواهد کافی (داده های حاصل از ۲ یا آزمایشگاه های بیشتر) مبنی بر پایداری یک آفت کش خاص در شرایط نگه داری خاص (زمان، حلال، دما و مانند آن) وجود داشته باشد، سایر آزمایشگاه هایی که چنین شرایط نگه داری را فراهم می سازند، می توانند بر همین اساس، کنترل های پایداری خود را کاهش دهند. با این حال، کنترل تبخیر احتمالی حلال به طور منظم از طریق محاسبات جرمی الزامیست. ممکن است در برخی موارد لازم باشد افزودنی های خاصی (به عنوان مثال اسیدها) برای جلوگیری از تجزیه آنالیت ها، به استانداردهای ذخیره اضافه شود.

۱۱ صحه گذاری روش آنالیز و معیارهای کارایی

۱۱-۱ روش های کمّی

۱۱-۱-۱ صحه گذاری روش های کمّی

۱۱-۱-۱-۱ به منظور تامین شواهدی دال بر این که روش، برای هدف مورد نظر مناسب است، باید صحه گذاری درون آزمایشگاهی، انجام شود. صحه گذاری روش آزمون، یکی از الزامات مراجع تایید صلاحیت است و باید از طریق تصدیق عملکرد روش در حین آنالیز روزانه، تایید و تمدید شود (کنترل کیفیت تجزیه ای و صحه گذاری روش در حال انجام). در صورت عملی بودن، تمام روش هایی (مراحلی) که طی اجرای روش انجام می شوند، باید صحه گذاری شوند.

۱۱-۱-۱-۲ بافت های نماینده را می توان برای صحه گذاری روش های تک مانده ای و چند مانده ای مورد استفاده قرار داد. بسته به دامنه کاربرد مورد نظر روش، کمینه یک محصول نماینده از هر گروه محصول که در پیوست الف تشریح شده است، باید صحه گذاری شود. وقتی روش برای انواع گسترده ای از بافت ها به کار می رود، داده‌های تکمیلی صحه گذاری باید به دست آید، به عنوان مثال از طریق کنترل کیفیت در حال انجام در حین آنالیز روزانه. یک مثال عملی از فرآیند صحه گذاری در پیوست الف نشان داده شده است.

۱۱-۱-۱-۳ روش باید جهت ارزیابی حساسیت/خطی بودن، میانگین بازیابی به عنوان معیاری از درستی یا گرایش (بایاس)، دقت (به عنوان تکرارپذیری RSD_r) و LOQ مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر جنبه های کمی صحه گذاری، پارامترهای شناسایی مانند نسبت یونی و زمان بازداری نیز، باید مورد ارزیابی قرار

گیرد. کمینه ۵ تکرار، در سطح غلظتی LOQ یا RL مورد نظر و کمینه در یک سطح غلظتی بالاتری، به عنوان مثال ۱۰-۲ برابر LOQ مورد نظر یا MRL، برای بررسی کردن بازیابی و دقت، لازم است. در صورتی که تعریف باقی مانده شامل دو یا تعداد بیشتر ی آنالیت باشد، در صورت امکان، توصیه می شود، روش، برای تمام آنالیت های مشمول تعریف باقی مانده، صحه گذاری شود.

۱۱-۱-۱-۴ در صورتی که طبق روش آنالیز، تعیین مقدار بازیابی امکان پذیر نباشد، (به عنوان مثال آنالیز مستقیم نمونه های مایع، میکرو استخراج فاز جامد (SPME)[1] یا آنالیز فضای فوقانی[2]) بنابراین، فقط دقت (نه صحت یا درستی) از آنالیز تکراری استانداردهای کالیبراسیون تعیین می شود. گرایش (بایاس) معمولا صفر در نظر گرفته می شود، هرچند ممکن است لزوما صحیح نباشد. در SPME و آنالیز فضای فوقانی، درستی و دقت کالیبراسیون ممکن است به میزان تعادل آنالیت نسبت به بافت نمونه بستگی داشته باشد. در صورتی که روش ها به تعادل بستگی داشته باشند، این امر باید هنگام صحه گذاری روش، مشخص شود.

۱۱-۱-۱-۵ در صورت گزارش نتایج بر اساس محتوی چربی یا وزن ماده خشک، توصیه می شود روش مورد استفاده برای تعیین وزن ماده خشک یا محتوی چربی، با یک روش کاملا شناخته شده صحه گذاری شود.

یادآوری- اندازه گیری چربی در خوراک دام باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۷۰۰ " خوراک دام، طیور و آبزیان- اندازه گیری مقدار چربی" و اندازه گیری ماده خشک در خوراک دام باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۸۴۳۸ " خوراک دام-اندازه گیری رطوبت و سایر مواد فرار-روش آزمون" انجام شود

۱۱-۱-۲ معیارهای پذیرش کارایی روش کمّی

۱۱-۱-۲-۱ توصیه می شود برای یک روش آنالیز کمّی در هر دو مرحله اولیه و تکمیلی صحه گذاری، ثابت شود که روش، قادر به تامین مقادیر میانگین بازیابی قابل قبول در سطح غنی سازی شده و کمینه برای یک محصول نماینده از گروه های محصول مرتبط (به پیوست الف و جدول ۵ مراجعه کنید) می‌باشد. برای تمام آنالیت‌های موجود در دامنه کاربرد روش، میانگین بازیابی‌های قابل قبول حاصل از صحه گذاری اولیه در محدوده ٪۱۲۰-٪۷۰ با RSD تکرار پذیری مرتبط (RSD_r) کمتر یا مساوی ٪۲۰ می باشد. LOQ پایین ترین سطح غنی سازی صحه گذاری شده است، که معیارهای پذیرش کارایی روش را برآورده می‌کند. بازیابی های خارج از محدوده ٪۱۲۰- ٪۷۰ در صورتی که ثابت باشند (RSD ≤٪۲۰) و اساس این پایین بودن به خوبی مشخص شده است (به عنوان مثال به دلیل توزیع نامتناسب آنالیت در مرحله تقسیم بین فازها) می توانند قابل قبول باشند، ولی توصیه می شود میانگین بازیابی‌ها کمتر از ٪۳۰ یا بیش از ٪۱۴۰ نباشند. هر چند، در چنین مواردی تصحیح با بازیابی مورد نیاز است، یا این که توصیه می شود در صورت امکان، روشی با صحت بالاتر مورد استفاده قرار گیرد. تجدید پذیری درون

1- Solid Phase Micro Extraction (SPME)
2-Head space analysis

آزمایشگاهی که می تواند از داده‌های کنترل کیفیت در حال اجرا در آنالیز روزانه تعیین شده باشد، با حذف سهم هر گونه ناهمگنی در نمونه، باید کمتر یا مساوی ٪۲۰ باشد.

۱۱-۱-۲-۲ صحه گذاری هم چنین باید برای تصدیق توانایی روش برای شناسایی آنالیت بر اساس الزامات مشخص شده در بند ۸، مورد استفاده قرار گیرد. در موارد تثبیت شده، داده های صحه گذاری می تواند برای تنظیم معیارهای کارایی برای آنالیت ها منفرد به جای استفاده از معیار عمومی ذکر شده در جدول ۴ به‌کار رود.

جدول ۵- پارامترها و معیارهای صحه گذاری

پارامتر	چه/چگونه	معیار	بند یا زیربند مرتبط در این استاندارد
حساسیت/خطی بودن	بررسی خطی بودن برای ۵ سطح غلظتی	انحراف محاسبه معکوس غلظت از غلظت واقعی کمتر یا مساوی ٪۲۰±	۷-۶-۱-۱ تا ۷-۶-۱-۶
اثر بافت	مقایسه پاسخ حاصل از استانداردهای بر پایه حلال و استانداردهای منطبق با بافت	*	۷-۶-۳-۱ تا ۷-۶-۳-۳
LOQ	پایین ترین سطح غلظتی غنی سازی که مطابق با معیارهای کارایی روش برای درستی و دقت باشد	کمتر یا مساوی MRL	۱۱-۱-۲-۱
اختصاصی بودن	پاسخ معیارهای شناسایی واکنشگر شاهد و نمونه های شاهد کنترلی	کمتر از ٪۳۰RL	۷-۷-۱-۱-۳
درستی (گرایش)	میانگین بازیابی برای هر سطح غنی سازی شده ای که آزمون شده اند	٪۱۲۰ - ٪۷۰	۱۱-۱-۱-۳ و ۱۱-۱-۲-۱
دقت (RSD_r)	RSD_r تکرارپذیری برای هر سطح غنی سازی شده ای که آزمون شده اند	کمتر یا مساوی ٪۲۰	۱۱-۱-۱-۳ و ۱۱-۱-۲-۱
دقت (RSD_{wR})	تجدید پذیری درون آزمایشگاهی، حاصل از صحه گذاری/تصدیق روش در حال انجام	کمتر یا مساوی ٪۲۰	۱۱-۱-۱-۳ و ۱۱-۱-۲-۱
استحکام	میانگین بازیابی و RSD_{wR} حاصل از صحه گذاری/تصدیق روش در حال انجام	میانگین بازیابی ٪۱۲۰- ٪۷۰ RSD_{wR} کمتر یا مساوی ٪۲۰	۱۱-۱-۲-۱ ۷-۷-۱-۱-۱ تا ۷-۷-۱-۲-۱
نسبت یونی	بررسی انطباق با الزامات شناسایی برای تکنیک های MS	جدول ۴	بند ۸
زمان بازداری		۰/۱ min ±	۸-۱-۱-۱-۱

* در موردی که کاهش یا افزایش سیگنال بیش از ٪۲۰ می باشد، لازم است، اثرات بافت در کالیبراسیون منظور شود. (زیربندهای ۷-۶-۳-۱ تا ۷-۶-۷-۲)

۱۱-۲ روش های غربال گری

۱۱-۲-۱ صحه گذاری روش های غربال گری

۱۱-۲-۱-۱ روش های غربال‌گری، به ویژه روش‌هایی که شامل آشکارسازی خودکار بر اساس MS هستند، افزایش دامنه کاربرد تجزیه ای آزمایشگاه را برای آنالیت هایی که به طور بالقوه احتمال حضور آن ها در نمونه خیلی کم است، به صورت مقرون به صرفه امکان پذیر می سازد. توصیه می شود شناسایی و اندازه گیری آنالیت هایی که احتمال حضور آن ها بیشتر است، با استفاده از روش های کمّی چند باقی مانده ای صحه گذاری شده، انجام شود.

۱۱-۲-۱-۲ برای روش های غربال گری، اطمینان از تشخیص یک آنالیت در یک سطح غلظتی مشخص باید به اثبات برسد. این امر می تواند با استفاده از روش های غربال گری بر اساس RL حاصل از صحه گذاری یک روش کمّی یا روش های غربال گری بر اساس حد تشخیص غربال گری (SDL)[1] حاصل از صحه گذاری یک روش کمّی، به دست آید.

۱۱-۲-۱-۳ توصیه می شود در هنگام استفاده از یک روش غربال گری، محلول استاندارد کالیبراسیون مربوط به RL یا SDL کمینه در ابتدا و انتهای ترتیب تزریق نمونه ها قرار گیرند، تا اطمینان حاصل شود که آنالیت ها در طول تمام سری تزریق نمونه ها قابل تشخیص باقی می مانند. وقتی یک آنالیت تشخیص داده شد، تنها می تواند به صورت موقت گزارش شود. قبل از گزارش کیفی قابل اعتماد، یک آنالیز تاییدی متعاقب، با استفاده از یک روش کمّی صحه گذاری شده، شامل یک روش کالیبراسیون مناسب، باید انجام شود.

۱۱-۲-۱-۴ صحه‌گذاری یک روش غربال گری بر اساس یک SDL می‌تواند بر قابلیت آشکارسازی متمرکز شود. برای هر گروه محصول (به پیوست الف مراجعه کنید) توصیه می شود:

- صحه گذاری اولیه، شامل آنالیز کمینه ۲۰ نمونه غنی سازی شده در سطح SDL تخمینی.
- محصول نماینده، نماینده چند محصول از همان گروه بوده و شامل کمینه ۲ نمونه برای هر محصول منفرد و نماینده دامنه فعالیت آزمایشگاه باشند.

یادآوری- داده های صحه گذاری تکمیلی را می توان از داده های کنترل کیفیت تجزیه ای در حال انجام و تصدیق عملکرد روش طی آنالیز روزمره جمع آوری نمود.

۱۱-۲-۲ معیارهای پذیرش کارایی روش غربال گری

۱۱-۲-۲-۱ وقتی که روش غربال گری تنها به عنوان یک روش کیفی مورد استفاده قرار گیرد، الزامی به در نظر گرفتن بازیابی آنالیت‌ها نیست. توصیه می شود برای تعیین گزینش پذیری، احتمال حضور تشخیص های کاذب با استفاده از نمونه های غنی سازی نشده (ترجیحا شاهد) بررسی شود. وقتی آنالیت

1- Screening Detection Limit

هایی که به صورت آزمایشی با روش غربال گری تشخیص داده شده اند، با آنالیز مجدد نمونه با استفاده از یک روش تاییدی مناسب، شناسایی و تایید می شوند، نیازی به یک معیار سخت‌گیرانه برای تعداد تشخیص های کاذب مثبت نمی باشد. SDL روش غربال گری کیفی، پایین ترین سطحی است که در آن یک آنالیت در کمینه ٪۹۵ از نمونه ها (به عبارتی یک حد پذیرفته شده منفی کاذب ٪ ۵) تشخیص داده شده است (لزوما معیارهای شناسایی MS را برآورده نمی کند).

۱۱-۲-۲-۲ برای آنالیت هایی که در صحه گذاری اولیه یا صحه گذاری روش در حال انجام قرار نگرفته اند، حد اطمینان تشخیص در یک سطح باقی مانده خاص نامعلوم خواهد ماند. در نتیجه آنالیت های خارج از دامنه کاربرد صحه گذاری می توانند با روش مذکور تشخیص داده شوند ولی نمی توان برای آن ها SDL مشخص کرد.

۱۱-۲-۲-۳ هنگام استفاده از یک روش غربال‌گری کمّی، تنها آنالیت هایی که صحه گذاری شده اند، را می توان به دامنه فعالیت روزانه آزمایشگاه اضافه کرد.

۱۲ توصیه های تکمیلی

۱۲-۱ آلودگی

۱۲-۱-۱ هنگام انتقال نمونه ها به آزمایشگاه و نگه‌داری آن ها، نمونه ها باید از یکدیگر و از سایر منابع احتمالی آلودگی، دور نگه داشته شوند. این امر برای باقی مانده های سطحی یا آنالیت های فرار از اهمیت ویژه ای برخوردار است. نمونه هایی که معلوم است یا تصور می شود چنین باقی مانده هایی را دارند، باید در دو کیسه پلی اتیلن یا نایلونی به صورت محکم بسته بندی شده و غیر قابل نفوذ[1] گردند و به صورت جداگانه منتقل و آماده سازی شوند.

۱۲-۱-۲ ظروف حجمی از قبیل بالن ها، پیپت ها و سرنگ ها، به ویژه قبل از استفاده مجدد باید با دقت زیاد تمیز شوند. توصیه می شود برای جلوگیری از آلودگی متقاطع تا حد ممکن از ظروف شیشه ای جداگانه ای برای استانداردها و نمونه ها استفاده شود. از کاربرد ظروف شیشه ای که زیاد خش دارند یا ترک دارند باید اجتناب شود. توصیه می شود حلال‌های مورد استفاده برای آنالیز باقی مانده سموم تدخینی، برای اطمینان از این که فاقد آنالیت (های) هدف هستند، بررسی شوند.

۱۲-۱-۳ در صورت استفاده از استاندارد داخلی، از آلودگی ناخواسته عصاره ها یا محلول آنالیت ها با استاندارد داخلی یا بر عکس، باید جلوگیری شود.

1- Seal

۱۲-۱-۴ در صورت وجود آنالیت به طور طبیعی، یا به عنوان یک آلودگی، یا تولید آن در هنگام آنالیز (به عنوان مثال بی فنیل درگیاهان، برومید معدنی در تمام محصولات، گوگرد خاک، یا دی سولفید کربن در خانواده کلم[1])، مقادیر کم باقی مانده های حاصل از کاربرد آفت کش ها، قابل تشخیص از مقادیر آلودگی زمینه نمی باشد. وجود طبیعی این آنالیت ها را باید در تفسیر نتایج در نظر گرفت. دی‌تیوکارباماتها، پیش سازهای دی سولفید کربن، اتیلن تیواوره یا دی فنیل آمین ممکن است در برخی از انواع خاص تجهیزات لاستیکی وجود داشته باشند و باید از این منبع آلودگی اجتناب شود.

۱۲-۲ تداخل

۱۲-۲-۱ توصیه می شود تجهیزات، ظروف، حلال ها (شامل آب)، واکنش‌گرها، فیلترهای کمکی و مانند آن، به عنوان منابع احتمالی تداخل، بررسی شوند. وسایل لاستیکی و پلاستیکی (مثل سیل ها[2]، دستکش های محافظتی و بطری های شستشو) پولیش ها و چرب کننده ها منابع معمول تداخل هستند. سپتوم ویال ها، باید از جنس PTFE[3] باشد. عصاره ها باید از تماس با سپتوم ویال ها به خصوص بعد از سوراخ شدن دور نگه داشته شوند، به عنوان مثال با عمودی نگه داشتن ویال ها. درصورت نیاز به آنالیز مجدد عصاره ها، ممکن است نیاز باشد سپتوم ویال ها به سرعت پس از سوراخ شدن، تعویض شوند. آنالیز واکنش‌گر شاهد می تواند جهت تشخیص منابع تداخل در مواد و تجهیزات مورد استفاده به کار رود.

۱۲-۲-۲ اثرات بافت یا مزاحمت های بافت ناشی از ترکیبات طبیعی نمونه ها، بسیار متداول هستند. تداخل ممکن است برای سیستم اندازه گیری مورد استفاده، غیر معمول باشد، شدت و میزان حضور تداخل، متغیر باشد و ماهیت کم اثری داشته باشد. در صورتی که پاسخ تداخل با پاسخ آنالیت هم پوشانی داشته باشد، می توان از روش پاکسازی یا سیستم تعیین مقدار متفاوتی استفاده نمود. اثرات بافت از نظر اثر کاهش دهنده یا افزایش دهنده بر پاسخ آنالیت در زیربند ۷-۶-۳-۱ تشریح شده است. در صورتی که حذف اثرات بافت یا جبران کردن چنین اثراتی با کالیبراسیون منطبق با بافت عملی نباشد، توصیه می شود صحت کلی آنالیز مطابق با معیارهای مشخص شده در زیربند ۱۱-۱-۲-۱ برآورد شود.

1- Brassicaceae
2- Seal
3- PolyTtetra Fluoro Ethylene (PTFE)

پیوست الف
(آگاهی دهنده)
طبقه بندی محصولات و محصولات نماینده[1]

جدول الف-۱ میوه ها و سبزیجات، غلات و غذاهای با منشا حیوانی

گروه های محصولات	طبقه های محصولات متداول درون گروهی	محصولات نماینده متداول درون طبقه
۱- محتوی آب زیاد	میوه های دانه دار	سیب، گلابی
	میوه های هسته دار	زردآلو، گیلاس، هلو
	سایر میوه ها	موز
	پیازیان	پیاز، پیازچه
	صیفی جات/کدو	گوجه، فلفل، خیار، خربزه
	کلم سانان	گل کلم، کلم بروکسل، کلم برگ، بروکلی
	سبزیجات برگی و گیاهان تازه	کاهو، اسفناج، ریحان
	سبزیجات ساقه ای	کرفس، مارچوبه
	حبوبات تازه انواع نخود، لوبیا، باقلا با غلاف	انواع نخود، لوبیا و باقلا تازه با غلاف
	قارچ تازه	قارچ سفید دکمه ای، قارچ صدفی
	سبزیجات ریشه ای و غده ای	چغندر قند، هویج، سیب زمینی، سیب زمینی شیرین
۲- محتوی آب و اسید زیاد	مرکبات	لیمو ترش، نارنگی، پرتقال
	میوه های کوچک و توت ها	توت فرنگی، بلوبری، تمشک، انگور
۳- محتوی شکر زیاد و آب کم[2]	عسل، میوه های خشک	عسل، کشمش، برگه زردآلو، آلو خشک، مربای میوه
۴ - الف- محتوی چربی زیاد و آب بسیار کم	مغز های خوراکی	گردو، فندق، بلوط
	دانه های روغنی	کلزا، تخمه آفتابگردان، دانه پنبه، دانه سویا، بادام زمینی، کنجد و مانند آن
	خمیر مغزهای درختی یا دانه های روغنی	کره بادام زمینی، ارده، خمیر فندق

1-On the basis of OECD Environment, Health and safety Publications, Series on Testing and Assessment, No72 and Series of Pesticides No39

۲- وقتی محصولات گروه ۳ قبل از استخراج با آب مخلوط میشوند تا محتوی آب آنها به بیش از ٪۷۰ برسد، این گروه از محصولات می تواند با گروه ۱ ادغام شود. حدود گزارش دهی باید برای مقادیر کمتری از آزمونه اصلاح شوند (به عنوان مثال اگر ۱۰ گرم از محصولات گروه ۱ و ۵ گرم برای گروه ۳ آزمون میشود، حد گزارش دهی برای گروه ۳ باید دو برابر گروه ۱ شود مگر اینکه محصولی از گروه ۳ با موفقیت در سطح پایین تر صحه گذاری شود).

گروه های محصولات	طبقه های محصولات متداول درون گروهی	محصولات نماینده متداول درون طبقه
۴- ب- محتوی چربی زیاد و آب متوسط	میوه های روغنی و محصولات آن ها	انواع زیتون، آووکادو و خمیر آن ها
۵- محتوی نشاسته و/ یا پروتئین زیاد و آب و چربی کم	حبوبات خشک	باقلای خشک، لوبیا خشک (زرد، سفید/چشم بلبلی، قهوه ای، چیتی)، عدس
	دانه غلات و فرآورده های آن ها	دانه های گندم، چاودار، جو و جو دوسر، ذرت برنج، نان کامل (سبوس دار)، نان سفید، کراکت، غلات صبحانه، پاستا
۶- محصولات منحصر به فرد یا محصولاتی که آنالیز آن ها دشوار است[1]		رازک دانه کاکائو و فرآورده‌های آن، قهوه، چای ادویه‌ها
۷- گوشت (ماهیچه) و غذاهای دریایی	ماهیچه (گوشت) قرمز	گاو،گوسفند، شکار، اسب
	گوشت سفید	مرغ، اردک، بوقلمون
	احشا	جگر، کلیه
	ماهی	سالمون، هادوک، قزل آلا، کاد
۸- شیر و فرآورده‌های آن	شیر	شیر گاو، بز و گاومیش
	پنیر	پنیر گاو و گوسفند و بز
	لبنیات	ماست، خامه
۹- تخم ماکیان	تخم ماکیان	تخم مرغ، اردک، بلدرچین و غاز
۱۰- چربی با منشا حیوانی	چربی گوشت	چربی اطراف کلیه ها، پیه
	چربی شیر[2]	کره

۱- توصیه می شود محصولاتی که آنالیز آن ها دشوار است تنها زمانی به طور کامل صحه گذاری شوند که به طور مکرر آنالیز شوند. در صورتی که به صورت موردی آنالیز می شوند، صحه گذاری می تواند فقط به بررسی حدود گزارش دهی با استفاده از غنی سازی نمونه های شاهد خلاصه شود.

۲- در صورتی که روش تعیین مقدار آفت کش های غیر قطبی در محصولات گروه ۷ بر اساس چربی استخراجی باشد، می توان این محصولات را با گروه ۱۰ ادغام کرد.

جدول الف-۲ خوراک دام

گروه های محصول	طبقه های محصولات متداول درون گروهی[a]	محصولات نماینده متداول درون طبقه
۱- محتوی آب زیاد	علوفه انواع کلم علوفه سیلو شده (سیلاژ) برگ سبزیجات ریشه ای و غده ای ریشه ها و غده ها فرآورده‌های جانبی و ضایعات مواد غذایی	علوفه، یونجه، شبدر، شلغم کلم پیچ/ کلم ذرت، شبدر، علوفه برگ ها و قسمت های فوقانی چغندر قند و علوفه آن چغندر قند، علوفه چغندر قند، انواع هویج و انواع سیب زمینی تفاله سیب، تفاله گوجه فرنگی، پوست سیب زمینی، پالپ و پرک، پالپ چغندر قند و ملاس ها[b]
۲- محتوی اسید و آب زیاد	فرآورده‌های جانبی و ضایعات مواد غذایی	تفاله مرکبات
۳- محتوی روغن/ چربی بالا و آب خیلی کم	دانه های روغنی، میوه های روغنی، فرآورده های و فرآورده های جانبی آن ها چربی/روغن گیاهی و حیوانی	پنبه دانه، تخم کتان،کلزا، کنجد، دانه آفتابگردان، دانه سویا روغن پالم، روغن کلزا، روغن سویا، روغن ماهی، اسید چرب تقطیر شده خوراک دام ترکیبی با محتوای چربی بالا
۴- محتوی چربی متوسط و آب کم	کنجاله دانه روغنی	کنجاله زیتون، کلزا، آفتابگردان، پنبه دانه، سویا
۵- محتوی نشاسته و / یا پروتئین زیاد با آب و چربی کم	دانه غلات، فرآورده ها، فرآورده جانبی و ضایعات آن ها بقولات فرآورده جانبی و ضایعات مواد غذایی	انواع گندم، چاودار، جو و جو دوسر، ذرت، برنج، تریتیکاله و گندم پوست کنده، پرک، زبره آرد و سبوس نان، تفاله تخمیری و تقطیری دانه ها، خوراک دام ترکیبی بر پایه غلات انواع لوبیا، نخود و عدس خشک سبوس دانه
۶-محصولات منحصر به فرد یا محصولاتی که آنالیز آن ها دشوار است	کاه علف خشک فرآورده جانبی و ضایعات مواد غذایی	کاه جو، جو دو سر، ذرت، برنج ، چاودار و گندم علوفه پروتئین سیب زمینی و اسید چرب تقطیرشده
۷- گوشت و غذاهای دریایی	خوراک دام ترکیبی با منشا حیوانی	پودر ماهی

گروه های محصول	طبقه های محصولات متداول درون گروهی[a]	محصولات نماینده متداول درون طبقه
۸- شیر و فرآورده های آن	شیر فرآورده جانبی و ضایعات مواد غذایی	جانشین شیر دامی پودر آب پنیر و کشک
a هرگاه محصولی هم به عنوان ماده غذایی و هم خوراک دام متداول باشد، مانند غلات، تنها یک بار صحه گذاری ضروری است. b به منظور شبیه سازی نمونه با محصول خام برای هر محصول منفرد، باید نسبت مقدار نمونه به آب محتوی رابا افزودن آب قبل از استخراج بهینه سازی نمود.		

پیوست ب
(الزامی)
روش اجرایی صحه گذاری روش آزمون: طرح کلی و مثالی از رویکردها

صحه گذاری به دنبال تکمیل توسعه روش یا پیش از کاربرد روشی که قبلا برای آنالیز روزانه مورد استفاده قرار نگرفته است، انجام می شود. این استاندارد بین صحه گذاری اولیه یک روش آنالیز کمّی که در آزمایشگاه برای اولین مورد استفاده قرار می‌گیرد و بسط دادن یک روش صحه گذاری شده برای آنالیت ها یا بافت های جدید، تمایز قائل می شود.

ب-۱ آنالیز کمی

ب-۱-۱ صحه گذاری کامل اولیه

صحه گذاری لازم است برای موارد زیر انجام پذیرد:

ـ برای تمام آنالیت هایی که در دامنه عملکرد روش قرار دارند؛

ـ برای کمینه یک محصول از هر گروه محصولات (تا جایی که در دامنه عملکرد مورد نظر روش قرار دارند یا تا جایی که بر روی نمونه هایی که در آزمایشگاه آنالیز می شوند، قابل اجرا باشد).

ب-۱-۱-۱ آزمایش عملی:

مثالی متداول از طرح عملی یک صحه گذاری به شرح زیر است:

- سری نمونه (نمونه های میانی حاصل از یک نمونه همگن شده):

واکنشگر شاهد؛

یک نمونه شاهد (غنی سازی نشده)؛

۵ نمونه غنی سازی شده در سطح غلظتی LOQ هدف؛

۵ نمونه غنی سازی شده در سطح غلظتی ۱۰-۲ برابر LOQ هدف.

- سری تزریق به دستگاه:

استانداردهای کالیبراسیون؛

واکنشگر شاهد؛

نمونه شاهد؛

۵ نمونه غنی سازی شده در سطح غلظتی LOQ هدف؛

۵ نمونه غنی سازی شده در سطح ۱۰-۲ برابر LOQ هدف؛

استانداردهای کالیبراسیون.

غنی سازی نمونه ها یک مرحله بسیار مهم در فرآیندهای صحه گذاری می‌باشد. به طورکلی توصیه می شود مرحله غنی سازی تا حد امکان منعکس کننده تکنیک هایی باشد که در کاربرد روزانه روش به کار میروند. به عنوان مثال اگر نمونه ها به صورت برودتی آسیاب می شوند و در شرایط انجماد استخراج می شوند، توصیه می شود غنی سازی نیز روی نمونه های شاهد منجمد انجام شود و بلافاصله استخراج شوند. در صورتی که نمونه ها در دمای اتاق آسیاب می شوند و بعد از ۲۰ دقیقه استخراج می شوند، توصیه می شود غنی سازی نیز در دمای اتاق روی نمونه های شاهد انجام شود و بعد از ۲۰ دقیقه استخراج شوند. به طورکلی، غنی سازی نمونه ها، باقی مانده های اجتناب ناپذیر را شبیه‌سازی نخواهد کرد حتی اگر نمونه ها بعد از غنی سازی به مدت مشخصی کنارگذاشته شوند. برای مطالعه توانایی نسبی استخراج باقی مانده های اجتناب ناپذیر، توصیه می شود نمونه هایی که طی مراحل کشت به این منظور تهیه شده اند، مورد استفاده قرار گیرند.

ب-۱-۱-۲ ارزیابی داده ها

سری نمونه ها را تزریق و آن ها را مطابق با این استاندارد کنترل کیفیت تجزیه ای، تعیین مقدار نمایید. پارامترهای مندرج در جدول ۵ را ارزیابی کنید و آن ها را با معیارهای آن جدول تصدیق نمایید.

ب-۲ توسعه دامنه کاربرد روش: آنالیت های جدید

آنالیت های جدیدی که به یک روش از قبل صحه گذاری شده اضافه شده اند، باید مطابق طرح کلی بالا برای صحه گذاری اولیه، صحه گذاری شوند.

به طور متناوب، صحه گذاری آنالیت های جدید می تواند در فرآیند کنترل کیفیت در حال انجام گنجانده شود. به عنوان مثال، در هر سری از نمونه های روزانه، یک یا چند محصول از محصولات دامنه عملکرد روش در سطح LOQ و یک سطح بالاتر دیگر غنی سازی می شود. بازیابی و هر گونه تداخل های احتمالی را در نمونه غنی‌سازی نشده مربوط تعیین مقدار نمایید. وقتی برای هر دو سطح، مقادیر (۵ تکرار) بازیابی محاسبه شد، بازیابی میانگین و تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی (RSD_{wR}) می توانند تعیین شوند و با معیارهای جدول ۵ مورد ارزیابی قرار گیرند.

ب-۳ توسعه دامنه کاربرد روش: بافت های جدید

یک روش عملی صحه گذاری قابلیت کاربرد روش برای سایر بافت ها از همان گروه محصولات، استفاده از کنترل کیفیت درحال انجام است که هم زمان با آنالیز نمونه ها انجام می شود. به بند ب-۴ مراجعه کنید.

ب-۴ صحه گذاری درحال انجام/ تصدیق عملکرد

هدف از انجام صحه گذاری در حال انجام به شرح زیر است:

ـ اثبات استحکام روش از طریق ارزیابی میانگین بازیابی و تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی (RSD_{wR})

ـ اثبات این که اصلاحات اندک اعمال شده در روش، با گذشت زمان به طور ناپذیرفتنی بر عملکرد روش تاثیر نمی‌گذارد.
ـ اثبات قابلیت کاربرد روش برای سایر محصولات از همان گروه محصولات (به پیوست الف مراجعه کنید).
ـ تعیین حدود قابل قبول برای نتایج بازیابی های منفرد در آنالیز روزانه.

ب-۴-۱ آزمایش عملی

به طور معمول، با هر سری از نمونه هایی که به صورت روزانه آنالیز می‌شوند، یک یا چند نمونه از محصولات مختلف مربوط به گروه محصول کاربردی، با آنالیت ها غنی سازی شده و هم زمان با نمونه ها آنالیز می‌شوند.

ب-۴-۲ ارزیابی داده ها

برای هریک از آنالیت ها، بازیابی و بروز هر گونه تداخل را در نمونه غنی سازی شده مربوط تعیین نمایید. به صورت دوره‌ای (به عنوان مثال، سالیانه) بازیابی میانگین و تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی (RSD_{wR}) را تعیین نمایید و داده های حاصل را با معیارهای جدول ۵ تصدیق کنید. این داده ها هم چنین می توانند برای تنظیم یا به روز نمودن حدود قابل قبول بازیابی هر یک از آنالیت ها به روشی که در زیربند ۱۱-۱-۲-۱ این استاندارد تشریح شده و تخمین عدم قطعیت اندازه گیری، مورد استفاده قرار گیرند.

معیارهای تعیین مقدار: برای زمان بازداری به زیربند ۸-۱-۱-۱-۱ و برای معیارهای MS به جدول ۴ و زیربند ۸-۱-۱-۴-۷ مراجعه کنید.

طرح صحه گذاری اولیه برای روش های کمّی

↓

پروتکل صحه گذاری

↓

۱- تعیین دامنه روش (آفت کش‌ها، بافت ها)

↓

۲- تعیین پارامترهای صحه گذاری و معیارهای پذیرش (به جدول ۵ مراجعه کنید)

↓

۳- تعیین آزمون های صحه گذاری

↓

۴- انجام کامل صحه گذاری داخلی

↓

۵- محاسبه و ارزیابی داده های به دست آمده از صحه گذاری

↓

۶- مستند کردن آزمون های صحه گذاری و نتایج در گزارش صحه گذاری

- تعیین معیارهای برای ارزیابی مجدد
- تعیین نوع و تواتر بررسی کنترل کیفیت تجزیه ای برای آزمون های در حال انجام

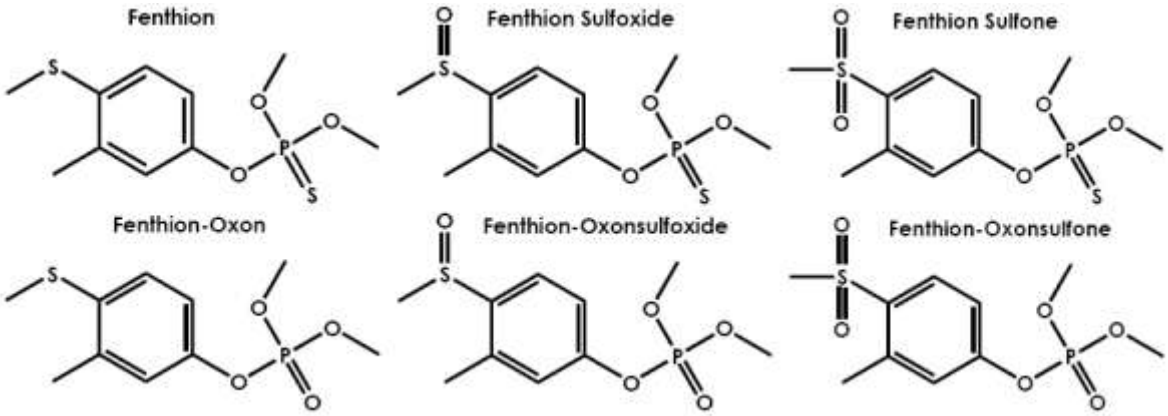
پیوست پ
(آگاهی دهنده)
مثال‌هایی از ضرایب تبدیل

تعریف MRL باقی مانده‌ها برای برخی از آفت کش‌ها تنها شامل آفت کش مادر نمی شود، بلکه شامل متابولیت‌ها یا سایر محصولات تبدیلی آن ها نیز می شود.

در مثال ۱، مجموع چند ترکیب با اعمال اصلاحاتی بر جرم مولکولی آن ها (ضرایب تبدیل) به عنوان فنتیون بیان می شود، در مثال ۲، مجموع تریادیمفون و تریادیمنول به صورت جمع ریاضی آن ها و در مثال ۳ مجموع تیودیکارب و متومیل به عنوان متومیل بیان می‌شود.

مثال های زیر سه نوع متفاوت تجمیع، که به منظور برآورده کردن الزامات تعریف باقی مانده مورد نیاز است را نشان می دهند.

فنتیون، سولفوکساید و سولفوکسون آن و آنالوگ های اکسیژن (اکسونهای) آن ها، همه در تعریف باقی مانده هستند و توصیه می شود همه آن ها در آنالیز گنجانده شوند.



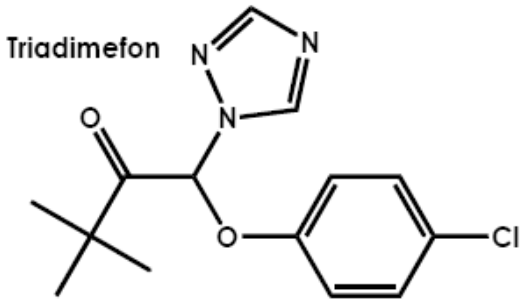
مثالی از محاسبه ضریب تبدیل (Cf)

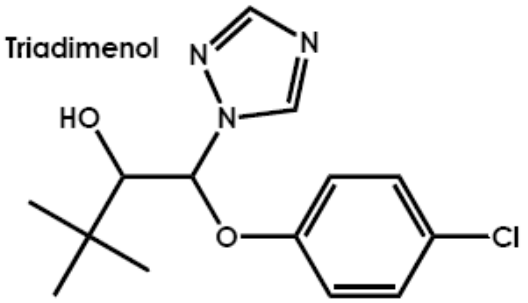
CFenthionSO to Fenthion= MwFenthion/MwFenthionSOx CFenthion SO= 278.3/294.3 x CFenthion SO= 0.946 x CfenthionSO

ترکیبات			جرم مولکولی (Mw)	ضریب تبدیل (Cf)
فنتیون	RR´S	P=S	۲۷۸/۳	۱
فنتیون سولفوکساید	RR´SO	P=S	۲۹۴/۳	۰/۹۴۶
فنتیون سولفون	RR´SO2	P=S	۳۱۰/۳	۰/۸۹۷
فنتیون اکسون	RR´S	P=O	۲۶۲/۳	۱/۰۶
فنتیون اکسون سولفوکساید	RR´SO	P=O	۲۷۸/۳	۱/۰۰
فنتیون اکسون سولفون	R´SO2	P=O	۲۹۴/۳	۰/۹۴۶

مثال ۲

تعریف باقی مانده: تریادیمفون و تریادیمنول (مجموع تریادیمفون و تریادیمنول)

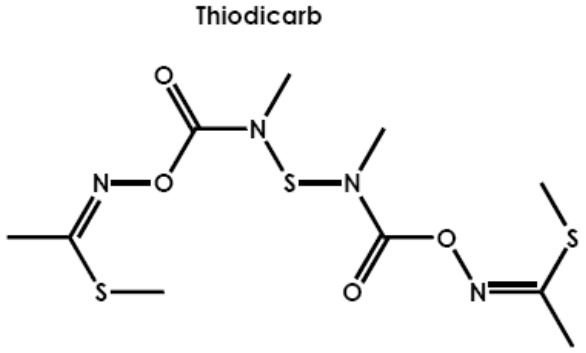


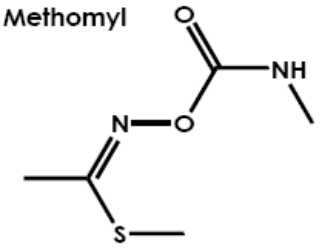


C Triadimefon and triadimenolSum = 1.00 x C Triadimefon +1.00 x C Triadimenol

مثال ۳

تعریف باقی مانده: متومیل و تیودیکارب (مجموع متومیل و تیودیکارب به عنوان متومیل بیان می شود)





CMethomylSum = CMethomyl + C Thiodicarb x (2xMwMethomyl / MwThiodicarb) =
= (2x162.2 / 354.5) x CThiodicarb = 0.915 x C Thiodicarb
C Methomyl Sum = C Methomyl +0.915 * CThiodicarb

پیوست ت
(آگاهی دهنده)
مثال هایی برای تخمین عدم قطعیت نتایج

برای تخمین عدم قطعیت اندازه گیری نتایج برای اندازه گیری باقی مانده آفت کش ها، مستندات زیادی برای مطالعه پیشنهاد شده‌اند که به درک بهتر این موضوع کمک می‌کنند از جمله راهنماهای Eurachem[1]، Nordtest[2] ، Eurolab[3] و Codex[4].

با این حال، ارائه یک پیوست با مثال های واضح، در این استاندارد، مفید به نظر می رسد. دو روش به طور کامل توضیح داده شده اند. در هر دو مثال، ضریب بسط یافته ۲ =k برای محاسبه عدم قطعیت بسط یافته اندازه گیری (که در معادله ۱ با ´U نشان داده شده است) از عدم قطعیت استاندارد نسبی(´u)، برابر ۲ فرض شده است (۲ =k).

$$U' = k \times u' \qquad \text{معادله ۱}$$

ت-۱ رویکرد اول

هرگاه آزمایشگاه در تعدادی آزمون مهارت شرکت نماید و امتیاز z قابل قبولی برای همه (یا تقریبا همه) آفت کش های موجود در ماده آزمون دریافت کند، این رویکرد می تواند به کار گرفته شود.

در این رویکرد، مقدار پیش فرض ٪۵۰ به عنوان عدم قطعیت بسط یافته به کار می رود. این مقدار پیش فرض بر اساس انحراف استانداردهای نسبی میانگین نتایج گزارش شده توسط آزمایشگاه های شرکت کننده در آزمون‌های مهارت برای روش های چند مانده ای در میوه ها و سبزیجات می باشد. این میانگین در حدود ٪ ۲۵ می باشد که یک مقدار عدم قطعیت بسط یافته ٪۵۰ را ایجاد می کند.

$$U' = 2 \times 0.25 = 0.50 \qquad U' = 50\%$$

اولین رویکرد با این شرط مورد قبول قرار می گیرد که عدم قطعیت اندازه گیری آزمایشگاه کوچک تر و مساوی ٪۵۰ باشد و برای نشان دادن این مسئله می توان رویکرد دوم را به کار برد.

ت-۲ رویکرد دوم

در این رویکرد، عدم قطعیت بسط یافته اندازه گیری با استفاده از انحراف استاندارد نسبی تجدید پذیری درون آزمایشگاهی ترکیب شده با تخمینی از گرایش های (بایاس ها) روش و آزمایشگاه، با استفاده از اطلاعات آزمون مهارت، از معادله ۲ محاسبه می شود.

1-EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying uncertainty in analytical measurement, 3rd Edition, 2012, http://www.eurachem.org/images/stories/guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf

2-NORDTEST Report TR 537: Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories, http://www.nordicinnovation.net/nordtestfiler/tec537.pdf, 2nd edition, Espoo, 2004

3-EUROLAB Technical Report 1/2007: Measurement uncertainty revised: alternative approaches to uncertainty evaluation, European Federation of National Associations of Measurement, Testing and Analytical Laboratories, www.eurolab.org, Paris, 2007

۴- استاندارد ملی ایران شماره ۲۲۴۵۰-آفت کش ها- تخمین عدم قطعیت نتایج- راهنما

$$u' = \sqrt{u'(RSD)_{WR}^2 + u'(bias)^2}$$ معادله۲

که در آن:

U´، عدم قطعیت استاندارد ترکیبی است؛

$U'(RSD_{wR})$ تجدیدپذیری درون آزمایشگاهی می‌باشد؛

U´(bias) جزئی از عدم قطعیت مربوط به گرایش های (بایاس ها) روش و آزمایشگاه می باشد که از نتایج آزمونهای مهارت تخمین زده می شود.

توصیه می شود برای محاسبه $U'(RSD_{wR})$ ترجیحا اطلاعات بازیابی کنترل کیفیت طولانی مدت مورد استفاده قرار گیرند؛ هر چند بازیابی های مربوط به اطلاعات صحه گذاری روش نیز می توانند به کار روند.

یادآوری- تغییر پذیری درون آزمایشگاهی حاصل از کالیبراسیون، شامل تغییر پذیری بازیابی کنترل کیفیت طولانی مدت می‌باشد.

انحراف استاندارد تمام درصدهای بازیابی مورد نظر محاسبه می شود.

برای مثالی که در اینجا ذکر شده، بازیابی های صحه گذاری برای تمام آفت کش‌هایی که با روش چند باقی مانده ای یکسان، که آزمایشگاه برای شرکت در آزمون مهارت از آن استفاده کرده است، به کار می‌روند.

هم چنین اطلاعات بازیابی کنترل کیفیت طولانی مدت در بازه ٪۱۴۰- ٪۶۰ در دو سطح متفاوت و برای بافت میوه ها و سبزیجات که به طور معمول در آزمایشگاه آنالیز می‌شوند، در این محاسبه وارد شده اند.

در نظر گرفتن کمینه ۳۱ نتیجه الزامیست. برای دو روش: یکی LC با ۹۳ آفت کش و دیگری GC با ۶۶ آفت کش، انحراف استاندارد تمام درصدهای بازداری ۰/۱۵ می باشد. بنابراین $U'(RSD_{wR})$ برابر ۰/۱۵ می باشد.

جزء U´(bias) همان طور که در بسیاری از راهنماها ذکر شده است، از عملکرد آزمایشگاه در آزمون مهارت محاسبه می شود. شرکت کردن آزمایشگاه‌های اروپایی در آزمون‌های مهارت اتحادیه اروپا اجباریست. بنابراین استفاده از نتایج کمینه ۲ آزمون مهارت، اطلاعات کافی (بیش از ۳۱ نتیجه) را برای انجام این رویکرد فراهم می سازد.

برای این مثال، نتایج گزارش شده ۲ آزمون مهارت مربوط به نتایج جمعا ۳۹ آفت‌کش می باشند. اطلاعاتی که لازم است از این دو آزمون مهارت، مورد استفاده قرار گیرند عبارتند از: مقدار تخصیص یافته یا میانه، پراکندگی واقعی نتایج گزارش شده توسط آزمایشگاه ها برای هر یک از آفت کش های موجود در نمونه (Qn یا انحراف استاندارد استوار) و تعداد آزمایشگاه هایی که نتایج کمّی را برای آن آفت کش ها گزارش کرده‌اند.

جدول ۱ تعداد آزمون‌های مهارتی را که آزمایشگاه در آن ها شرکت نموده است (ستون A)، آفت کش های گزارش شده (ستون B)، غلظت آفت کش گزارش شده توسط آزمایشگاه (ستون C)، مقدار تخصیص یافته یا میانه (ستون D)، مربع گرایش (ستون E) که [(column C - column D) / (column D)] می‌باشد، سپس پراکندگی داده های شرکت کنندگان در آزمون یا Qn (ستون F)، سپس تعداد آزمایشگاه

هایی که نتایج را برای هر یک از آفت کش ها گزارش کرده اند (ستون G)، سپس ریشه دوم ستون G (ستون H) و سپس ضریب بین ستون F و H (ستون I).

سپس معادله ۳ به کار می رود:

$$U' = \sqrt{{RMS'_{bias}}^2 + U'(c_{ref})^2}$$

که در آن :

RMS'_{bias}، همان طور که در معادله ۴ نشان داده شده است، ریشه دوم (جذر) مجموع مربع گرایش‌ها (مجموع ستون E) تقسیم بر تعداد نتایج حاصل از آزمونهای مهارت (m =۳۹) می باشد.

$$RMS'_{bias} = \sqrt{\sum \frac{(bias_i)^2}{m}} = \sqrt{\frac{1.999}{39}} = 0.2263 \qquad \text{معادله۴}$$

که در آن:

$U'(C_{ref})$، تخمینی از میانگین چندین آزمون مهارت است. این مقدار به صورت مجموع خارج قسمت Qn در ریشه دوم تعداد نتایج گزارش شده توسط آزمایشگاه ها برای هر یک از آفت کش ها در دامنه عملکرد (ستون I) و سپس تقسیم بر تعداد نتایج به دست آمده از آزمون های مهارت (m) (در اینجا ۳۹) و ضرب در فاکتور ۱/۲۵۳ (مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۳۲۸۳)، محاسبه می شود. این استاندارد بیان می کند که $U'(C_{ref})$ در صورتی که مقدار ارسال شده برای آزمون مهارت میانه باشد، باید در این فاکتور ضرب شود.

$U'(C_{ref})$ با معادله ۵ محاسبه می شود.

معادله ۵:

$$U'(Cref) = \frac{\sum_i \frac{Qn}{\sqrt{No.}}}{m} \times 1.253 = \frac{0.9326}{39} \times 1.253 = 0.02996$$

وقتی نتایج معادلات ۴ و ۵ را در معادله ۳ قراردهیم، مقدار $u'(bias)$ را به دست می‌آوریم.

$$u'_{(bias)} = \sqrt{{RMS'_{bias}}^2 + u'(C_{ref})^2} = \sqrt{0.2263^2 + 0.02996^2} = 0.2284$$

یادآوری: مقدار $U'(bias)$ می تواند از شرکت آزمایشگاه در آزمون‌های مهارت محاسبه شود.

حال با برگشت به معادله ۲ و قرار دادن مقادیر U´(RSDwR) و U´(bias):

$$u' = \sqrt{u'(RSD)_{WR}^2 + u'(bias)^2} = \sqrt{0.15^2 + 0.2284 =} \; 0.2732$$

بنابراین با برگشت به معادله ۱ و قرار دادن u´ = 0.27 عدم قطعیت بسط یافته برابر خواهد بود با:

$$U' = K \times u' = 2 \times 0.273 = 0.546 U' = 54.6\%$$

هر دو روش نتایج بسیار مشابهی دارند: به ترتیب ٪۵۰ و ٪۵۵.

جدول ت-۱ نتایج گزارش شده ۲ آزمون مهارت (مجموعا ۳۹ آفت کش) و سایر پارامترهای مورد نیاز برای تخمین عدم قطعیت

A	B		C	D	E	F	G	H	I
EUPT-FV	نام لاتین آفت کش	نام فارسی آفت کش	نتایج آزمایشگاهها	مقادیر تخصیص یافته PT	$(bias_i'^2)$	Qn	تعداد نتایج	$\sqrt{\text{تعداد نتایج}}$	$\frac{Qn}{\sqrt{\text{تعداد نتایج}}}$
EUPT-FV-10-carrot	Acetamiprid	استامیپرید	۰/۳۳۷	۰/۴۱۹	۰/۰۳۸۳	۰/۱۸	۸۵	۹/۲۲۰	۰/۰۲۰
	Boscalid	بسکالید	۰/۱۳۹	۰/۲۳۸	۰/۱۷۲۰	۰/۲۲	۷۴	۸/۶۰۲	۰/۰۲۶
	Chlorpyrifos-methyl	کلرپیریفوس-متیل	۰/۰۵۶	۰/۰۷۸	۰/۰۷۹۶	۰/۲۶	۱۲۶	۱۱/۲۲۵	۰/۰۲۳
	Diazinon	دیازینون	۰/۴۱۲	۰/۶۰۳	۰/۱۰۰۳	۰/۲۴	۱۲۵	۱۱/۱۸۰	۰/۰۲۱
	Endosulfan Sulphate	اندوسولفان - سولفات	۰/۰۶۲	۰/۱۰۲	۰/۱۵۳۸	۰/۲۹	۱۱۰	۱۰/۴۸۸	۰/۰۲۸
	Hexythiazox	هگزی تیازوکس	۰/۳۹۶	۰/۵۰۹	۰/۰۴۹۳	۰/۲۹	۸۰	۸/۹۴۴	۰/۰۳۲
	Isofenphos-methyl	ایزوفنفوس متیل	۰/۴۳۶	۰/۴۹۹	۰/۰۱۵۹	۰/۱۷	۶۹	۸/۳۰۷	۰/۰۲۰
	Kresoxim-methyl	کروزوکسیم متیل	۰/۰۲۸	۰/۰۵۰	۰/۱۹۳۶	۰/۲۲	۱۱۳	۱۰/۶۳۰	۰/۰۲۱
	Malathion	مالاتیون	۰/۶۹۷	۰/۷۷۱	۰/۰۰۹۱	۰/۳۲	۱۲۴	۱۱/۱۳۶	۰/۰۲۹
	Methamidophos	متامیدوفوس	۰/۲۴۵	۰/۳۴۲	۰/۰۷۹۸	۰/۳۷	۱۰۳	۱۰/۱۴۹	۰/۰۳۶
	Methiocarb	متیوکارب	۰/۰۹۶	۰/۱۵۷	۰/۱۵۱۰	۰/۳۱	۶۵	۸/۰۶۲	۰/۰۳۸
	Methomyl	متومیل	۰/۵۳۸	۰/۷۳۹	۰/۰۷۴۰	۰/۲۲	۸۸	۹/۳۸۱	۰/۰۲۳
	Oxamyl	اکسامیل	۰/۲۷۴	۰/۳۲۲	۰/۰۲۲۲	۰/۱۹	۹۴	۹/۱۶۵	۰/۰۲۱
	Pendimethalin	پندیمتالین	۰/۰۵۶	۰/۰۷۴	۰/۰۵۹۲	۰/۲۱	۹۶	۹/۷۹۸	۰/۰۲۱
	Phosmet	فوسمت	۰/۱۳۹	۰/۲۳۶	۰/۱۶۸۹	۰/۲۸	۹۵	۹/۷۴۷	۰/۰۲۹
	Quinoxyfen	کوبینوکسیفن	۰/۲۴۴	۰/۲۹۸	۰/۰۳۲۸	۰/۲۳	۹۵	۹/۷۴۷	۰/۰۲۴
	Triadimenol	تریادیمنول	۰/۲۶۵	۰/۳۳۱	۰/۰۳۹۸	۰/۲۷	۱۰۳	۱۰/۱۴۹	۰/۰۲۷
	Vinclozolin	وینکولوزولین	۰/۹۰	۱/۰۴	۰/۰۱۸۱	۰/۲۴	۱۲۴	۱۱/۱۳۶	۰/۰۲۲
	Aldicarb	آلدیکارب	۰/۶۷۹	۰/۶۵۸	۰/۰۰۱۰	۰/۲۰	۹۱	۹/۵۳۹	۰/۰۲۱
EUPT-FV-10-cauliflower	Azinphos-methyl	آزینفوس متیل	۰/۳۴۹	۰/۳۵۵	۰/۰۰۰۳	۰/۲۸	۱۲۸	۱۱/۳۱۴	۰/۰۲۵
	Boscalid	بوسکالید	۰/۳۷۳	۰/۴۱۴	۰/۰۰۹۸	۰/۲۵	۱۰۲	۱۰/۱۰۰	۰/۰۲۵
	Buprofezin	بوپروفیزین	۰/۴۵۳	۰/۶۳۸	۰/۰۸۴۱	۰/۳۰	۱۱۸	۱۰/۸۶۳	۰/۰۲۸
	Cadusafos	کادوافوس	۰/۸۱۰	۰/۶۱۱	۰/۱۰۶۱	۰/۲۴	۷۶	۸/۷۱۸	۰/۰۲۸
	Carbofuran	کاربوفوران	۰/۲۴۵	۰/۲۸۳	۰/۰۱۸۰	۰/۲۰	۱۰۷	۱۰/۳۴۴	۰/۰۱۹
	Deltamethrin	دلتامترین	۰/۱۳۸	۰/۱۵۷	۰/۰۱۴۶	۰/۲۵	۱۳۰	۱۱/۴۰۲	۰/۰۲۲
	Diazinon	دیازینون	۱/۱۴۰	۱/۲۵	۰/۰۰۷۷	۰/۲۶	۱۴۴	۱۲/۰۰۰	۰/۰۲۲
	Isofenphos-methyl	ایزوفنفوس متیل	۰/۴۹۸	۰/۵۴	۰/۰۰۶۰	۰/۲۴	۸۶	۹/۲۷۴	۰/۰۲۶
	Lambda-cyhalothrin	لامبادا-سایهالوترین	۰/۲۱۱	۰/۲۶۶	۰/۰۴۲۸	۰/۲۴	۱۳۸	۱۱/۷۴۷	۰/۰۲۰
	Metalaxyl	متالاکسیل	۰/۴۴۵	۰/۴۵	۰/۰۰۰۱	۰/۲۱	۱۲۲	۱۱/۰۴۵	۰/۰۱۹
	Methamidophos	متامیدوفوس	۰/۳۴۱	۰/۴۰۴۵	۰/۰۲۴۶	۰/۳۳	۱۰۹	۱۰/۴۴۰	۰/۰۳۲
	Methidathion	متیداتیون	۰/۴۵۳	۰/۴۷۲	۰/۰۰۱۶	۰/۲۴	۱۳۶	۱۱/۶۶۲	۰/۰۲۱

	Methomyl	متومیل	۰/۱۹۰	۰/۲۷۷	۰/۰۹۸۶	۰/۱۸	۸۴	۹/۱۶۵	۰/۰۲۰
	Monocrotophos	مونوکروتوفوس	۰/۳۲۲	۰/۴۳۷۵	۰/۰۶۹۷	۰/۲۱	۹۵	۹/۷۴۷	۰/۰۲۲
	Oxamyl	اکسامیل	۰/۲۳۰	۰/۲۴۸۵	۰/۰۰۵۵	۰/۱۷	۸۹	۹/۴۳۴	۰/۰۱۸
	Parathion-methyl	پاراتیون	۰/۲۷۷	۰/۳۲	۰/۰۱۸۱	۰/۲۴	۱۲۹	۱۱/۳۵۸	۰/۰۲۱
	Phosalone	فوزالون	۰/۳۸۳	۰/۳۶۸	۰/۰۰۱۷	۰/۳۰	۱۳۶	۱۱/۶۶۲	۰/۰۲۶
	Procymidone	پروسیمیدون	۰/۷۵۰	۰/۷۸	۰/۰۰۱۵	۰/۲۰	۱۳۶	۱۱/۶۶۲	۰/۰۱۷
	Thiacloprid	تیاکلوپراید	۰/۹۶۱	۰/۸۷۹	۰/۰۰۸۷	۰/۱۵	۸۲	۹/۰۵۵	۰/۰۱۷
	Triazophos	تری آزوفوس	۰/۶۱۲	۰/۵۳۸	۰/۰۱۸۹	۰/۳۰	۱۳۲	۱۱/۴۸۹	۰/۰۲۶
$\sum(bias_i')^2$					**۱/۹۹۹**	$\sum\frac{Qn}{\sqrt{NO.}}$			**۰/۹۳۲۶**
تعداد نتایج (m) = ۳۹						تعداد نتایج (m) = ۳۹			