

A photograph of a laboratory setting. In the foreground, a hand holds a test tube containing a yellow liquid. In the background, a rack of several other test tubes is visible, some containing liquids of different colors. A pipette is also visible on the left side of the frame. The overall scene is brightly lit, typical of a laboratory environment.

VIỆN KIỂM NGHIỆM AN TOÀN VỆ SINH THỰC PHẨM QUỐC GIA

THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP TRONG PHÂN TÍCH HÓA HỌC & VI SINH VẬT



NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT

VIỆN KIỂM NGHIỆM AN TOÀN VỆ SINH THỰC PHẨM QUỐC GIA

THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP TRONG PHÂN TÍCH HÓA HỌC VÀ VI SINH VẬT



NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT
HÀ NỘI

Chủ biên:

DS. Trần Cao Sơn

Nhóm biên soạn:

DS. Trần Cao Sơn

PGS. TS. Phạm Xuân Đà

TS. Lê Thị Hồng Hảo

CN. Nguyễn Thành Trung

Hiệu đính:

PGS. Phạm Gia Huệ

KS. Phạm Thanh Nhã

LỜI GIỚI THIỆU

Cùng với sự phát triển của khoa học công nghệ, kinh tế - xã hội việc chăm sóc và bảo vệ sức khoẻ, nâng cao chất lượng cuộc sống của con người ngày càng được quan tâm, trong đó có vấn đề an toàn thực phẩm. Bảo đảm nguồn thực phẩm an toàn sẽ góp phần bảo vệ và cải thiện sức khoẻ, chất lượng cuộc sống và giống nòi dân tộc. Tuy nhiên, công tác bảo đảm an toàn thực phẩm luôn là một thách thức không chỉ với các nước đang phát triển mà ngay cả với các nước phát triển. Sự đa dạng của các chủng loại thực phẩm, công nghệ, các chất phụ gia, các chất hỗ trợ chế biến, các chất ô nhiễm thực phẩm luôn được cải tiến, bổ sung... là thách thức đối với hệ thống quản lý, kiểm soát an toàn thực phẩm, đặc biệt là đối với các phòng kiểm nghiệm. Do đó, việc nâng cao năng lực hệ thống phòng kiểm nghiệm an toàn thực phẩm đóng vai trò đặc biệt quan trọng trong công tác quản lý an toàn thực phẩm của mỗi quốc gia, nhất là trong giai đoạn hội nhập kinh tế toàn cầu hiện nay.

Tại Việt Nam, trong những năm gần đây công tác bảo đảm an toàn thực phẩm đã được Đảng và Nhà nước đặc biệt quan tâm và đã gặt hái được nhiều thành tựu đáng khích lệ. Hệ thống pháp luật, quản lý đã được hình thành và kiện toàn, trong đó có hệ thống kiểm nghiệm an toàn thực phẩm mà điển hình là sự ra đời của Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia (theo Quyết định số 376/QĐ-TTg ngày 23/3/2009) với chức năng là đơn vị trọng tài quốc gia trong kiểm nghiệm thực phẩm. Tuy nhiên, do nhiều yếu tố và nguồn lực đầu tư chưa đáp ứng, hệ thống kiểm nghiệm thực phẩm của Việt Nam còn gặp rất nhiều khó khăn, ngay cả ở cấp Trung ương. Bởi vì đối với hệ thống kiểm nghiệm thực phẩm, không chỉ cần đầu tư thoả đáng về cơ sở vật chất, trang thiết bị, con người mà cần phải đầu tư các hệ thống quản lý chất lượng, kỹ thuật (phương pháp) phân tích phù hợp.

Hiện nay đa số các phòng kiểm nghiệm thực phẩm của các địa phương sử dụng các phương pháp thử nghiệm khác nhau, chưa được chuẩn

hoá hoặc không thống nhất nên rất khó đánh giá kết quả hoặc kết quả không bảo đảm độ tin cậy ảnh hưởng trực tiếp đến công tác quản lý nhà nước. Nhằm từng bước hướng tới tiêu chuẩn hoá các phòng kiểm nghiệm và phương pháp kiểm nghiệm thực phẩm, Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia ban hành cuốn tài liệu “Thẩm định phương pháp trong phân tích hoá học và vi sinh vật” như một tài liệu tham chiếu cho các phòng kiểm nghiệm thực phẩm. Nội dung cuốn tài liệu gồm hai phần chính là thẩm định phương pháp phân tích hoá học và thẩm định phương pháp phân tích vi sinh vật với những cách bố trí thí nghiệm và cách tính cụ thể có các ví dụ thực tiễn. Ngoài ra cuốn tài liệu cũng giới thiệu cách ước lượng độ không bảo đảm đo và các chương trình bảo đảm chất lượng kết quả thử nghiệm mà các phòng kiểm nghiệm có thể thực hiện được.

Hy vọng cuốn tài liệu nhỏ này sẽ ít nhiều hữu ích đối với bạn đọc. Do lần đầu tiên biên soạn nên cuốn tài liệu sẽ không tránh khỏi thiếu sót, ban soạn thảo rất mong nhận được sự đóng góp của đồng nghiệp xa gần.

Xin trân trọng cảm ơn.

TM. Nhóm biên soạn

PGS.TS. Phạm Xuân Đà

Viện trưởng

**VIỆN KIỂM NGHIỆM AN TOÀN
VỆ SINH THỰC PHẨM QUỐC GIA**

LỜI CẢM ƠN

Xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến những người thầy PGS. Phạm Gia Huệ và KS. Phạm Thanh Nhã - những người đã trực tiếp hỗ trợ và đóng góp ý kiến sửa chữa để hoàn thiện cuốn sách.

Xin chân thành cảm ơn những người thầy, người bạn, đồng nghiệp trong hội đồng khoa học thông qua nội dung cuốn sách PGS.TS. Trần Chương Huyền, PGS.TS. Tạ Thị Thảo, Trường Đại học Quốc gia Hà Nội; PGS.TS. Thái Phan Quỳnh Như, TS. Trần Việt Hùng, Viện Kiểm nghiệm thuốc trung ương; TS. Trần Đăng Ninh, Cục Quản lý chất lượng Nông lâm sản và Thủy sản; ThS. Lê Văn Giang, Cục An toàn vệ sinh thực phẩm và KS. Nguyễn Thị Vân Lan, Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia vì những ý kiến đóng góp quý báu trong quá trình biên soạn cuốn sách.

Xin chân thành cảm ơn các bạn đồng nghiệp tại Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia đã tạo điều kiện hỗ trợ để xuất bản cuốn sách.

Nhóm biên soạn

MỤC LỤC

MỤC LỤC.....	7
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT.....	9
Chương I: CÁC YÊU CẦU CHUNG.....	10
1. Khái niệm về thẩm định phương pháp.....	10
2. Thẩm định phương pháp tiêu chuẩn (method verification).....	11
3. Thẩm định phương pháp không tiêu chuẩn (method validation)	13
4. Thẩm định lại.....	14
Chương II: THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH HÓA HỌC	16
1. Tính đặc hiệu/chọn lọc.....	19
1.1. Định nghĩa	19
1.2. Cách xác định.....	20
1.3. Tính đặc hiệu/chọn lọc đối với phương pháp chuẩn	24
2. Khoảng tuyến tính và đường chuẩn	25
2.1. Định nghĩa	25
2.2. Cách xác định khoảng tuyến tính.....	26
2.3. Xây dựng đường chuẩn	26
2.4. Các lưu ý khi xây dựng đường chuẩn	30
2.5. Giới hạn chấp nhận của đường chuẩn	31
3. Giới hạn phát hiện.....	32
3.1. Định nghĩa	32
3.2. Cách xác định.....	32
4. Giới hạn định lượng.....	36
4.1. Định nghĩa	36
4.2. Cách xác định.....	37
5. Độ chính xác (độ đúng và độ chụm).....	39
5.1. Độ chụm	40
5.2. Độ đúng (trueness)	47
6. Độ ổn định (hay độ vững/độ chắc chắn) của phương pháp.....	58
6.1. Định nghĩa	58

6.2. Cách xác định.....	59
Chương III: THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH VI SINH VẬT	60
1. Các yêu cầu chung	60
1.1. Chuẩn bị thẩm định	60
1.2. Lựa chọn thông số thẩm định	62
2. Thẩm định phương pháp tiêu chuẩn (method verification).....	63
2.1. Phương pháp định tính	63
2.2. Phương pháp định lượng	67
Chương IV: ƯỚC LƯỢNG ĐỘ KHÔNG ĐẢM BẢO ĐO.....	74
1. Khái niệm về độ không đảm bảo đo	74
2. Các nguồn gây ra độ không đảm bảo đo	74
3. Các cách đánh giá độ không đảm bảo đo.....	75
3.1. Cách 1: Ước lượng độ không đảm bảo đo theo hướng dẫn của EURACHEM.....	75
3.2. Cách 2: Ước lượng độ không đảm bảo đo từ dữ liệu phân tích mẫu thực.....	83
4. Công bố độ không đảm bảo đo	85
4.1. Cách viết độ không đảm bảo đo chuẩn tổng hợp.....	86
4.2. Cách viết độ không đảm bảo đo mở rộng.....	86
Chương V: ĐẢM BẢO CHẤT LƯỢNG KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM.....	88
1. Phép thử nghiệm lặp lại.....	89
2. Phép thử nghiệm tái lập.....	89
3. Phép thử nghiệm trên mẫu lưu.....	89
4. Phép thử nghiệm trên mẫu trắng.....	89
5. Phép thử nghiệm trên mẫu chuẩn	90
6. Phép thử nghiệm trên mẫu thêm.....	90
7. Sử dụng các phương pháp khác nhau	91
8. Đánh giá sự phù hợp của hệ thống.....	91
9. Tham gia các chương trình thử nghiệm liên phòng	92
10. Sử dụng biểu đồ kiểm soát	93
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	101
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

AOAC (Association of Official Analytical Chemists)	Hiệp hội các nhà hóa phân tích chính thức
ASTM (American Society for Testing of Materials)	Hiệp hội phép thử Mỹ
CRM (Certified reference material)	Mẫu chuẩn được chứng nhận
DAD (Diod array detector)	Detector mảng diod
GC-MS (Gas chromatography mass spectrometry)	Sắc ký khí khối phổ
HPLC (High performance liquid chromatography)	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HR (High resolution)	Độ phân giải cao
ICH (International Conference on Harmonization)	Hội đồng hòa hợp quốc tế
IP (Identification point)	Điểm nhận dạng
ISO (International Standard Organization)	Tổ chức tiêu chuẩn quốc tế
LC-MS (Liquid chromatography mass spectrometry)	Sắc ký lỏng khối phổ
LOD (Limit of Detection)	Giới hạn phát hiện
LOQ (Limit of Quantification)	Giới hạn định lượng
LR (Low resolution)	Độ phân giải thấp
MRLs (Maximum residue Limits)	Giới hạn tồn dư tối đa
QC (Quality control)	Kiểm tra chất lượng
S/N (Signal to noise ratio)	Tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu
SOP (Standard Operation Procedure)	Quy trình thao tác chuẩn
TCVN	Tiêu chuẩn Việt Nam
USFDA (United States Food and Drug Administration)	Cục Dược phẩm và Thực phẩm Mỹ
USP (United States Pharmacopoeia)	Dược điển Mỹ

Chương I: CÁC YÊU CẦU CHUNG

1. Khái niệm về thẩm định phương pháp

Thẩm định phương pháp là sự khẳng định bằng việc kiểm tra và cung cấp bằng chứng khách quan chứng minh rằng phương pháp đó đáp ứng được các yêu cầu đặt ra (fitness for the purpose). Kết quả của thẩm định phương pháp có thể được sử dụng để đánh giá chất lượng, độ tin cậy của kết quả phân tích. **Thẩm định phương pháp phân tích là một phần không thể thiếu nếu muốn có một kết quả phân tích đáng tin cậy.**

Hiện nay nhiều thuật ngữ khác nhau được sử dụng để chỉ khái niệm trên, như định trị phương pháp, đánh giá phương pháp, xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp, phê duyệt phương pháp. Tất cả các thuật ngữ này đều là cách gọi khác nhau của thẩm định phương pháp (method validation).

Phòng thử nghiệm thường sử dụng nhiều phương pháp khác nhau. Dựa vào nguồn gốc có thể phân loại các phương pháp thành hai nhóm:

- Các phương pháp tiêu chuẩn: các phương pháp thử theo tiêu chuẩn quốc gia, quốc tế, hiệp hội khoa học được chấp nhận rộng rãi trên thế giới như TCVN, ISO, ASTM, AOAC...

- Các phương pháp không tiêu chuẩn hay phương pháp nội bộ (non-standard/alternative/in-house method): là các phương pháp do phòng thử nghiệm tự xây dựng, phương pháp theo hướng dẫn của nhà sản xuất thiết bị, phương pháp theo các tạp chí, tài liệu chuyên ngành...

Theo yêu cầu của ISO 17025, phương pháp phân tích phải được thẩm định hoặc thẩm định lại khi: