

日本食品中农药残留等检测方法评价指南

岳振峰^{1*}, 张志旭² 译

1. 深圳出入境检验检疫局食品检验检疫技术中心, 深圳市食品安全检测技术研发重点实验室, 深圳 518045;
2. 山东出入境检验检疫局食品农产品检测中心, 青岛 266002)

Japan guidance for the evaluation on the validity of the method for testing residues of pesticides and other substances in food

YUE Zhen-Feng^{1*}, ZHANG Zhi-Xu² Translation

1. Key Laboratory of Detection Technology R & D on Food Safety, Food Inspection and Quarantine Center, Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518045, China;
2. The Food and Agricultural Products Testing Agency of Shandong Entry-Exit Inspection And Quarantine Bureau, Qingdao 266002, China)

1 引言

本文全文译自日本厚生劳动省官方网站日文版公开文件“食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について”(食安発 1224 第 1 号 平成 22 年 12 月 24 日), 以作为我国食品安全科技工作者研发残留检测方法或与日本检测机构交流的参考。

2 内容

本指南中的检测方法是指为判断食品是否符合日本食品安全标准, 对其中农药残留等进行检测时使用的方法。本指南规定了日本各检测机构对其使用检测方法进行方法评价的程序。另外, 本指南以仪器分析法为对象。

注: 本指南为检测方法验证的一个例子, 也可以使用被国际上公认的其他方法评价程序。本指南符合 ISO 5724-1994 及 JIS Z 8402-1999, 规定了食品中农兽药残留检测方法的评价程序。

3 适用范围

判断食品是否符合日本食品限量标准时, 对其中的农药、饲料添加剂、兽药残留进行检测时使用的检测方法(告示法^{注1}、通知法^{注2}及其他方法)。

注 1: 食品、添加剂等限量标准(1959 年 厚生省告示第 370 号)第 1 食品部分 A 食品成分标准 5、6、7

注 2: 《食品中农药残留、饲料添加剂及兽药成分物质的检测方法》(2005 年 1 月 24 日食安发第 0124001 号)

4 术语与定义

在本指南中, 术语的定义如下:

(1)“选择性”是指在设想试料中分析物存在的条件下, 正确测定分析物的能力。

(2)“准确度”是指从充分数量试验结果得到的平均值与被验证的标准值(添加浓度)的一致程度。

(3)“精密度”是指在指定的条件下进行反复的相

基金项目: 国家质检总局科技计划基金项目(2013IK197)、公益性行业科研专项(2012104020)

Fund: Supported by the Science and Technology Fund of AQSIQ of China (2013IK197) and Fund for Public Benefit Project of Quality Supervision of AQSIQ of China (2012104020)

*通讯作者: 岳振峰, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: yuezhenfeng@163.com

*Corresponding author: YUE Zhen-Feng, Professor, Room 1313, CIQ Building A, 1011, Fuqiang Road, Futian District, Shenzhen 518045, China. E-mail: yuezhenfeng@163.com

互独立的试验结果间的一致程度。

(4)“重复性”是指对于被认为是同一试料的测定中,利用同一方法、在同一实验室、同一人员利用同一装置,短时间内在独立试验结果条件下(并行条件)所测定结果的精密密度。

(5)“室内精密密度”是指对于被认为是同一试料的测定中,利用同一方法、在同一实验室、获得独立试验结果条件下(室内条件)所测定结果的精密密度。

(6)“定量限”是指在具有一定精确性的基础上,可以检出分析物的最低量或浓度。本指南中,原则上使用通知法所提示的定量限。对于不得检出的物质,使用「关于食品卫生法第 11 条第 3 项实行通知」(2005 年 11 月 29 日食安发的 129001 号食品安全部长通知)中规定的检出限,与定量限同义。

(7)“分支实验”是指只改变 1 个实验条件保持其他实验条件不变的实验计划。

5 评价方法

对各种食品,在不含被测农药的样品(空白样品)中添加被测农药(加标样品),按照检测方法对加标样品进行检测,从得到的检测结果求出以下的参数(选择性、准确度、精密密度、定量限),检验是否与各个目标值相符合。

添加浓度,原则上为该食品相对应的农药残留限量值。对于告示中规定的「不得检出」物质,按照施行通知中规定的检出限(在本指南中也称为定量限)进行添加。

多残留检测方法中,由于各农药的限量值不同,添加浓度无法是各农药的限量值,添加浓度可以为“各农药限量值相近的一定浓度”及“一律标准浓度”(译者注:“一律标准”是日本对既非“豁免物质”也未制定“最大残留限量标准”的农业化学品在食品中的残留制定的统一标准,日本确定的“一律标准”为 0.01 mg/kg)2 个浓度水平。(参考表 1)

(1) 选择性

按照检测方法对空白样品进行检测,验证是否存在对定量造成干扰的峰(干扰峰)。

如果发现有干扰峰,则需要将干扰峰的峰面积(或峰高)同测得限量值或定量限相对应标准溶液的峰面积(或峰高)进行比较,判断是否满足以下要求(参考表 2)。

定量限如果是限量值的 1/3 以下时,则干扰峰的面积(或峰高)应小于限量值对应峰面积(或峰高)的 1/10。

定量限如果超过限量值的 1/3 时,则干扰峰的峰面积(或峰高)应小于相当于定量限浓度的峰面积(或者峰高)的 1/3。

对于告示中规定农药的限量值为「不得检出」时,干扰峰的峰面积(或峰高)应小于相当于施行通知规定的检出限(本指南中称为定量限)浓度的峰面积(或者峰高)的 1/3。

(2) 准确度

对 5 个以上的加标样品,按试验方法进行检测,求出所得到检测结果的平均值,计算与添加浓度的比值,以此为准准确度,准确度的目标值如表 3 所示。

表 1 限量值和添加浓度

Table 1 MRL and fortified concentration

限量值	添加浓度
不得检出	定量限
不得检出以外	限量值,但对于多残留方法为“各农药限量值相近的一定浓度”及一律标准浓度 2 个浓度水平

表 2 干扰峰的允许范围

Table 2 Permitted range of interference peak

定量限与限量值的关系	干扰峰的允许范围
定量限 \leq 限量值的 1/3	< 限量值峰的 1/10
定量限 > 限量值的 1/3	< 检出限峰的 1/3
不得检出	< 检出限峰的 1/3

表 3 准确度以及精密密度目标值

Table 3 Target value of accuracy and precision

浓度(10^{-6})	准确度(回收率)(%)	重复性(RSD%)	室内精密密度(RSD%)
0.001	70~120	<30	<35
0.001~0.01	70~120	<25	<30
0.01~0.1	70~120	<15	<20
0.1 <	70~120	<10	<15

注: 在使用内标(以矫正准确度的变动为目的, 添加在分析试料中的稳定同位素标准品)时, 内标的回收率应在 40% 以上。

(3) 精密度

对加标样品进行重复分析, 求出检测结果的标准偏差以及相对标准偏差, 对重复性以及多个分析者或者分析日期的室内精密度进行评价。重复实验的次数为 4 次以上。准确度、重复性以及室内精密度的目标值如表 3 所示。

(4) 定量限

当限量值与定量限一致时, 或限量值是告示规定的「不得检出」时, 验证是否满足以下条件。

① 对添加样品的实验结果进行分析时, 准确度、重复性以及室内精密度必须满足表 2 的目标值。

② 通过色谱进行的分析, 必须保证定量限相对应的浓度所获得的峰(①得到的峰或者使用空白基质溶液制备的标准溶液等得到的峰)的 $S/N \geq 10$ 。

实验室准备采用的检测方法若已经根据本指南进行了评价或者仅对检测方法进行部分变更时, 部分上述性能指标不必进行再次验证, 此种情况下需要验证的内容详见附件 1。

通过分支实验, 可以对准确度、重复性及室内精密度进行同时验证(参考附件 2)。添加水平符合要求时, 可以从已有的数据中计算准确度、重复性及室内精密度(参考附件 3)。

6 进行添加的食品种类以及添加浓度

(1) 进行添加的食品种类

进行添加的食品, 原则上从检测方法预期适用的食品种类中进行选择。如果考虑一律标准, 则所有的食品都成为对象, 而现实上对所有的食品都进行方法验证是困难的, 因此应选择具有代表性的食品。具体来说, 考虑到成分特性以及提取方法的不同, 根据检测目的, 原则上选择下列种类。

① 农产品

- 谷类(糙米等)
- 豆类(大豆等)
- 籽类
- 蔬菜(菠菜等含有丰富叶绿素的种类、圆白菜等含有硫化化合物的种类以及马铃薯等含有丰富淀粉的种类)

- 果实(柑桔、苹果等)

- 茶
- 啤酒花
- 香辛料等

② 畜水产品

- 牛、猪、鸡等的肌肉
- 牛、猪、鸡等的脂肪
- 牛、猪、鸡等的肝脏
- 牛、猪、鸡等的肾脏
- 鸡蛋
- 牛奶
- 蜂蜜等蜂产品
- 水产品(鳗鱼等脂肪含量丰富的种类)等

(2) 关于加标样品制备的注意事项

① 制备加标样品时, 原则上使用新鲜的食品, 均质后称量并进行待测农药等的添加。

由于冷冻食品或者用冷冻食品均质的样品可能会导致食品成分发生变化, 应尽可能避免使用。蔬菜、水果等除冷冻保存以外其他方法无法长期保存的样品, 可以将其在原始状态下冷冻使用, 但应注意避免重复的冷冻、解冻。

添加农药标准溶液的量应该尽量少, 以样品的 $1/10 \sim 1/20$ 左右为最佳。溶剂要使用可以与样品混合的溶剂。在添加农药等后, 充分进行混合, 放置 30 min 左右再进行提取操作。

② 如分支实验等试验需要进行几天时, 应将均一化的试料进行冷冻保存, 并应注意避免反复进行冻结以及解冻, 在实施试验的当天制备添加样品。

附件 1

使用经过验证的检测方法或者检测方法部分变更时实验室应验证的内容

1 使用经过验证的检测方法时

原则上应对本指南规定的除室内精密度以外的性能指标进行确认。

2 经过验证的检测方法用于未验证食品基质检测时

使用经过验证或确认的检测方法用于同验证食品基质类似的食品检测时, 应对选择性及准确度进行验证, 必要时验证重复性。当限量值同定量限相同时, 或者限量值为「不得检出」时, 还应对定量限

进行验证。

3 部分变更经过验证的检测方法时

实验室部分变更经过验证的检测方法时,可以不验证本指南规定的部分性能指标。但是,选择性和准确度必须进行重新验证。

对于最终定容体积或测定条件(进样量、分析用色谱柱的种类及规格、载气的种类、升温条件、流动相的组成、流速、梯度条件、柱温、MS测定模式及测定离子)改变时,应验证选择性和准确度,必要时验证重复性。当限量值同定量限相同时,或者限量值为「不得检出」时,还应对定量限进行验证。

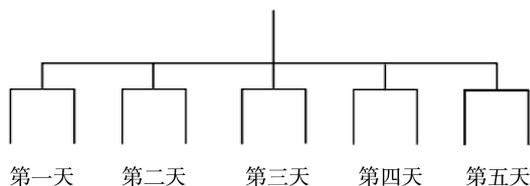
上述条件以外的变更情况,包括方法的选择性、准确度在内的检测方法性能有发生重大变化的可能性,此时不能看作是经过验证检测方法的部分变更,应将其看作新的方法,根据本指南进行全面验证。特别是尽可能避免改变称样量、取样方法、提取溶剂的种类或体积等条件。

附件 2

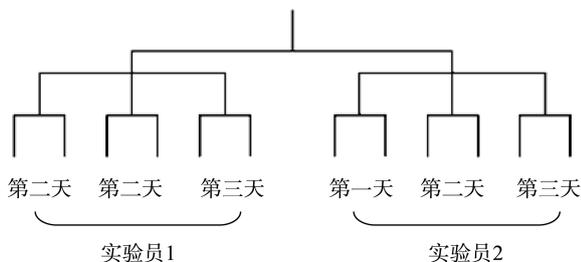
室内精密度验证的实例

验证计划为:一名实验人员,对同一加标样品进行 1 日 1 次(2 平行)测试,共测试 5 天

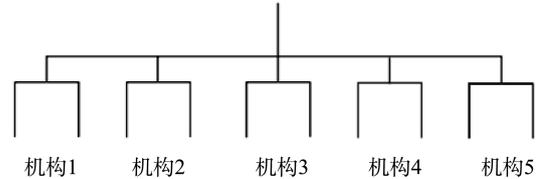
此时可使用重复测试 2 个平行样的内部质控数据或/和检测同时进行的 2 个平行的加标样品的数据。



(例 2)2 名分析者分别对加标样品进行 1 天 1 次(2 个平行)、为期 3 天的方法验证的计划



(例 3)5 个检测机构,使用同一基质进行 1 日 1 次(2 平行)的加标样品测试的验证计划



附件 3

使用已有数据进行方法性能评价

1 使用内部质控数据

食品中农药残留检测的机构,应按照《关于实施食品卫生检测机构业务管理的通知(1996 年 4 月 1 日卫食第 117 号)附件 内部质控通用规定》,实施内部质控管理。如果有相关检测方法的内部质控测试数据时,相关数据可以作为该方法验证数据使用。

在内部质控管理通用规定中规定,检测机构应定期进行阴性对照样品(空白样品)及已知添加浓度水平的样品(加标样品)的测试,同时还应定期进行平行重复 5 次的已知添加浓度的加标回收样品的测试。使用上述数据可以进行方法性能指标的评价:

① 阴性对照样品(空白样品)的结果用于选择性评价。

② 计算定期进行的已知添加浓度加标样品的 5 平行重复测试结果的平均值可以求得准确度,计算标准偏差可以得到室内精密度。如果内部质控得到的结果是确定添加浓度的 2 平行数据,可以按照附件 2 的实例,得到准确度、重复性、室内精密度。

③ 如果有 5 次定期对已知添加浓度的加标样品的 5 平行测试数据,可以从中算出准确度、重复性、室内精密度。

可以将每次检测中的加标回收样品数据作为方法验证数据使用

实际使用待验证检测方法进行了检测,对空白样品进行的已知添加浓度的加标回收样品测试结果可作为方法验证数据使用。

一般进行样品检测的过程中,会同时进行 1~3 个空白样品及已知添加浓度的加标回收试验。此数据可以用于方法评价:

① 空白试验结果可用于评价方法的选择性。

② 每次检测中,得到 2~3 个已知添加浓度的加标回收数据时,使用 5 次以上的数据参考附件 2 实例,计算出准确度、重复性、室内精密度。

③ 每次检测中, 得到 1 个已知添加浓度的添加回收数据时, 使用 5 次以上数据的平均值计算准确度、从标准偏差计算室内精密度。虽然规定重复性需要另外在相同条件下重复进行 5 平行试验计算得出, 但如果室内精密度结果优于重复性的目标值, 可以认为重复性也满足目标值。

(责任编辑: 赵静)

作者简介



岳振峰, 研究员, 主要研究方向为食品质量安全检测。

E-mail: yuezhenfeng@163.com