

食品和饲料中农药残留分析方法性能标准指南

岳振峰*译

(深圳海关食品检验检疫技术中心, 深圳 518045)

摘 要: 本文译自国际食品法典委员会“CAC/GL 90-2017 食品和饲料中农药残留分析方法性能标准指南”。该指南规定了农药残留分析方法的选择和验证原则、分析方法的性能参数、筛选方法的性能指标、定量方法的性能指标、分析物鉴定方法和确证方法的性能标准和定义等。本译文可为我国食品和饲料中农药残留分析专业人员研发和验证化学分析方法或与国外检测机构交流提供参考。

关键词: 国际食品法典委员会; 食品和饲料; 农药残留分析方法; 性能标准; 指南

Guidelines on performance criteria for methods of analysis for the determination of pesticide residues in food and feed

YUE Zhen-Feng* Translation

(Food Inspection and Quarantine Technology Center of Shenzhen Customs District, Shenzhen 518045, China)

ABSTRACT: This paper is fully translated from Codex Alimentarius Commission CAC/GL 90-2017 Guidelines on performance criteria for methods of analysis for the determination of pesticide residues in food and feed. The guideline specifies the selection and verification principles of pesticide residue analysis methods, performance parameters of analysis methods, performance indexes of screening methods, performance indexes of quantitative methods, performance standards and definitions of analytical material identification methods and confirmation methods. It is expected to provide reference for Chinese analyst to develop and validate analysis methods pesticide residues in food and feed or communicate with foreign inspection organization.

KEY WORDS: Codex Alimentarius Commission; food and feed; analysis method for pesticide residues; performance criteria; guidelines

0 引 言

国际食品法典委员会的“CAC/GL 90-2017 食品和饲料中农药残留分析方法性能标准指南”(以下简称“指南”)通过规定特性/参数为适合预期用途的方法或用于可靠的评估国内监测和/或国际贸易食品中农药残留的方法提供科学的可接受置信度^[1]。指南适用于所有食品中目标化合

物的单残留分析方法和多残留分析方法(根据残留物定义)。指南规定了定性分析方法和定量分析方法的性能标准,并规定鉴定和确证方法的性能标准。本文定义和描述了食品和饲料(以下简称食品)中农药残留分析方法应满足的方法性能标准,以期为我国食品和饲料中农药残留分析专业人员研发和验证化学分析方法或与国外检测机构交流提供参考。

基金项目: 国家重点研发计划课题(2017YFC1601603)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Projects of China (2017YFC1601603)

***通信作者:** 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, Food Inspection and Quarantine Technology Center of Shenzhen Customs District, Shenzhen 518045, China. E-mail: yuezhenfeng@163.com

1 方法的选择和验证原则

1.1 确定方法的目的是适用范围

方法的预期用途通常在范围中描述。该范围明确了方法适用的分析物(残留物)、基质和浓度范围,以及是否适用于筛选、定量、鉴定和/或结果的确认。

在官方监管中,最大残留限量(maximum residue limit, MRL)是以残留物定义(标志残留物)来表示的。残留物分析方法应能检测残留物定义的所有成分。

适用性指在技术和资源限制范围内,方法的性能满足最终用户的需求,并符合实验室和最终用户(或客户)之间商定的数据标准(数据质量目标)。适用性标准可以基于本文件中描述的某些特征,但最终将以可接受的合成不确定度表示。

方法的选择基于分析物和分析的预期目的。

1.2 补充食品法典委员会其他指南

食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)发布了进出口食品检测实验室指南(CAC/GL 27-1997),建议此类实验室:

(1)使用内部质量控制程序,如“分析化学实验室内部质量控制协调指南”中所述的程序;

(2)参加符合“国际(化学)分析实验室能力验证协调规程”要求的食品分析能力验证计划(《理论和应用化学》,第78卷,第1期,第145-186页,2006年);

(3)可行时,使用经CAC规则验证的方法。

分析方法应在符合上述质量保证(quality assurance, QA)和质量控制(quality control, QC)文件原则的国际认可实验室质量管理体系内使用。

1.3 方法验证

方法验证的过程旨在证明方法适用于预期目的。这意味着,当由经过适当培训的分析人员使用指定的设备和材料并严格遵循方法步骤进行实验时,可在指定的样本分析统计限值内获得准确、可靠和一致的结果。验证应对分析物进行定性和定量,考虑基质效应,提供回收率的统计特征,并说明假阳性率和假阴性率是否可接受。对于任何有经验的经培训合格的残留分析人员,采用该方法对相同或等效样品材料进行测试,获得的结果应符合方法的既定性能标准。为确保方法性能的长时间适宜性,应持续评估方法验证结果(例如添加回收)。

2 分析方法的性能参数

方法具体性能标准的一般要求总结如下:

2.1 方法文本

验证后,方法文本除了提供性能标准(数据质量目标)

外,还应提供以下信息:

(1)残留物定义中所含分析物的定性特征;

(2)验证的浓度范围;

(3)验证中使用的基质(代表性商品类别,例如基于水分、脂肪和糖含量、pH等特征的类似农产品);

(4)描述设备、试剂、包括允许变化(例如,“(100±5)℃下加热(30±5)min”)的详细操作步骤、校准和质量程序、特殊安全预防措施要求、预期应用和临界不确定度要求等的方法流程;

(5)需要时,定量结果的方法扩展测量不确定度(expanded measurement uncertainty, MU)应在验证程序中计算和报告。

2.2 选择性

理想情况下,应评估选择性以证明不会发生显著影响分析的干扰。针对每种潜在的干扰物进行评估是不切实际的,但要求通过分析每批试剂的试剂空白(过程)来检查常见干扰。当不同批次的样品试剂和/或溶剂发生变化时,需进行额外的试剂空白检查。增塑剂、隔垫泄露、清洁剂、试剂杂质、实验室污染、遗留物等的背景水平往往出现在试剂空白中,出现时应得到分析人员的识别。此外,应通过检查混合标准溶液中的单个分析物来了解分析物间的干扰。通过对已知不含分析物的样品进行分析来评估基质干扰,每批样品都同时分析基质空白或者采用标准添加法进行定量。

作为一般原则,方法的选择性应确保干扰不会影响方法性能。选择性的最终检验包括分析的假阳性率和假阴性率。为在方法验证中评估假阳性率和假阴性率,应在分析物报告水平下分析每种基质(非同一起来源)足够数量的空白以及加标基质。

2.3 校准

除了校准物质制备过程中的误差外,校准误差通常是总不确定度的很小一部分,可以安全地分配到其他类别。例如,校准产生的随机误差是不确定度的一部分,而系统误差则会导致分析偏差,这2种偏差在验证和持续质量控制过程中被作为一个整体进行评估。然而,在方法验证开始时,有一些校准特性是有用的,因为它们会影响最终方案的优化。例如,必须事先知道校准曲线是线性的还是二次方的、是否通过原点、是否受样本基质的影响。本文所述的指南更多与验证有关,验证可能比常规分析期间进行的校准更详细。

需要重复测量提供不确定度的经验估计。建议采用以下校准程序进行初始方法验证:

(1)在5个或更多浓度下进行测定(考虑每个浓度多次进样);

(2)参考标准应在所关注的浓度范围内均匀分布,且校准范围应包括可能遇到的整个浓度范围;

(3)参考标准应分散于整个序列,或包括运行的开始

和结束,以证明整个序列保持校准的完整性;校准功能的适合性应通过绘制曲线以及通过视觉和/或通过计算残差(标准的实际值与计算值之间的差异)来检验,避免过度依赖相关系数。如果校准曲线的残差偏差超过 $\pm 20\% \sim 30\%$ (仪器 LOQ 附近校准浓度残差可达 30%),则应统计考虑异常值;如果不符合质量控制标准,可能导致重新分析标准序列。

2.4 线性

线性可通过检验适当浓度序列响应值对浓度线性回归曲线的残差进行测试。任何曲线模式均会因非线性校准函数而缺乏拟合。对于这种情形,需使用至少 5 种浓度水平测试和应用另外的函数,如二次函数。尽管目前测定系数(R^2)广泛用作拟合质量的指标,但可能会产生误导,因其对浓度较高的标准更为重要。在这种情况下,应考虑适当的加权因子,如 $1/x$ 或 $1/x^2$,以尽量减少相对浓度范围的潜在影响。

一般来说,建议使用加权线性回归或加权二次函数,而不是线性回归来测定低至十亿分之一($\mu\text{g/kg}$)的浓度。尽管校准曲线不应在没有正当理由的情况下强行通过原点,但理想情况下,截距值应接近零,以减少在低浓度下计算残留浓度的误差。

2.5 基质效应

基质匹配校准通常用于补偿基质效应。应使用空白基质提取物(最好与样品类型相同或相似)进行校准。在气相色谱(gas chromatography, GC)分析中,补偿基质效应的另一种实用方法是在样品提取物和校准溶液中添加分析物保护剂,以使溶剂和样品提取物中校准剂中的农药在理想情况下具有相同的响应。补偿基质效应的替代方法包括使用标准加入法、同位素标记内标物(isotopically labeled internal standards, IS)或化学类似物。然而,在多反应监测质谱中,这些方法往往难以执行,因为在不同浓度水平的不同基质中有太多的残留物,无法设计常规程序,且缺乏较多的同位素标记标准物质。理想情况下,如果具有可用的同位素标记标准物质,其应能代表适用范围的目标化合物,回收率应符合采用非同位素标记标准物质加标样品回收率标准。如果只使用溶剂校准,则需测量基质效应,以通过比较溶剂标准和基质匹配标准的响应来证明结果的等效性。

2.6 正确度与回收率

正确度指测试结果与被测属性的可接受参考值之间的一致性。正确度是用“偏倚”来定量描述的,较小的偏倚意味着更高的正确度。偏倚通常通过将方法的响应与经赋值的有证标准物质(如能获得)进行比较确定。理想情况下建议进行多实验室测试。如果参考值中的不确定度不可

忽略,则对结果的评估应考虑标准物质的不确定度以及分析标准物质时的统计变异性。如果没有有证标准物质,指南建议使用标准物质,该标准物质的特性应满足验证研究需要。

回收率指在最终测定结果中分析物的量与样品(通常是空白)提取前添加分析物量的比例,通常以百分比表示。测量误差将导致测量回收率偏离最终实际提取回收率。日常回收率指在每批样品分析中添加质控样品的回收率。

2.7 精密度

精密度指在规定条件下获得的重复独立测试结果之间的一致性。通常用标准偏差(standard deviation, SD)或相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)表示,相对标准偏差也称为变异系数(coefficient of variation, CV)。精密度和偏倚之间的差异取决于分析系统测试目标物的浓度。因此,就单个测试而言,任何影响校准的偏差都被视为偏倚。通过分析人员对一年工作的回顾可知,分析偏倚每天都会有所不同,它类似一个具有精密度的随机变量,合并了估算精密度的所有规定条件。

对于单一实验室验证,2 种类型精密度条件的设定是相关的:(1)重复性,同一分析序列的测量变异性。(2)实验室内再现性,同一样品多组间测试结果的变异性。精密度代表了可能的实验条件。首先,运行中条件的变化应代表实验室常规使用该方法时通常会发生的情况。这可以通过持续的方法性能验证/证实实现。例如,应在持续的质量控制中测量试剂批次、分析员和仪器引起的变化。其次,所用的实验材料应为实际应用中的典型基质和(理想情况下)粉碎状态。

在单一实验室验证中,精密度通常随分析物浓度的变化而变化。典型的假设是:(1)精密度不随分析物浓度而变化;(2)标准偏差与分析物浓度成比例或线性相关。在这 2 种情况下,如果分析物浓度预计会发生很大变化(即当分析物浓度接近定量限时),则需要检查假设。

除了此处所示的最低重复性和不同测试之间的条件外,还可获得各种不同条件下的精密度数据,并且可以适当地获取附加信息。例如,明确不同的操作人员和日间或日内运行效果,或明确使用一个或多个仪器可以达到的精密度,对于结果的评估或改进测试可能是有益的。可用的实验设计和统计分析技术有很多,但在所有这些研究中推荐谨慎的实验设计。初始验证浓度应包括方法的目标定量限(limit of quantification, LOQ)或报告限和至少一个更高浓度,例如 2~10 倍的目标定量限或最大残留限量。

2.8 定量限

根据长期以来分析化学家的定义,定量限是平均信噪比(S/N)等于 10 时分析物的浓度。实际定量限只能估计,因为实际定量限的精确测定需要分析大量加标样品和空白

样品,但由于仪器的性能状态以及其他因素影响,定量限每天均会变化。一些验证指南要求在定量限浓度下进行添加实验,验证定量限是否符合方法性能标准。然而,定量限的日间差异往往迫使分析员过度估计方法的实际定量限,这可能难以实施定量限的严格定义($S/N=10$)。因此,在最低验证浓度(lowest validated level, LVL)处添加是更具描述性和更合适的方法。此外,不应在同一分析序列中进行低于最低验证浓度的分析物定量。最低校准浓度(lowest validated level, LCL)可设置为每个分析序列的系统适用性检查要求,其信噪比需大于等于10(浓度 $\geq$ 定量限)。在每个分析序列中还应包括基质添加质控样品,以验证分析方法报告限(通常执行浓度 $\geq$ LCL)。本质上,验证的重点不是确定定量限,而是证明最低报告浓度满足分析的需要。虽然对定量没有用处,但一些分析人员希望计算检出限(limit of detection, LOD)($S/N=3$),以推断分析物在浓度过低时的存在,从而可以对分析物浓度进行估计。

2.9 分析范围

验证浓度范围指分析方法可以被验证的有效浓度区间。LVL是在验证中符合方法性能标准的最低浓度。重要的是要认识到验证浓度范围不一定与仪器校准浓度范围相同。虽然校准可能覆盖较宽的浓度范围,但验证范围(通常在不确定度方面更重要)通常会覆盖更受限的范围。在实践中,大多数方法将至少验证2个浓度水平。验证范围可作为这些浓度点之间的合理外推,但许多实验室选择验证3个浓度以证明线性。为监测与国际食品法典标准有关的残留物浓度,分析方法需足够灵敏,以保证每个分析物的LVL处于或低于当前国际食品法典最大残留限量(codex maximum residue limit, CXL)。验证范围应包括现有的CXL。当不存在CXL时,至少应验证由国家监管机构建立的MRL。如果给定的分析物/基质不存在CXL或MRL,则通常以0.01 mg/kg或定量限(以较大者为准)作为LVL。在多残留方法中,把在各种代表性商品中的LVL(和报告水平)设置为0.01 mg/kg,并作为典型的分析目标。

2.10 耐用性

分析方法的耐用性(通常是稳健性的同义词)指当与程序中描述的实验条件发生偏差时,分析方法减小分析结果变化的能力。实验参数的限值应在方法文本中规定(尽管在过去并不总是这样做),并且这种允许的偏差(单独或任何组合)不应分析结果产生任何有意义的改变。这里的“有意义的改变”意味着该方法将无法方法“目标适用性”规定的的数据质量目标。应确定可能影响结果的因素以及通过耐用性评估对方法性能的影响。

耐用性测试可以解决的影响因素包括仪器的微小变化、试剂品牌/批次或操作人员的变化、试剂浓度、溶

液的pH值、反应温度、完成过程的时间和/或其他相关因素。

2.11 测量不确定度

测量不确定度评估的正规方法是采用一个方程或数学模型计算出的估计值,依据这个方程或数学模型,可以预期真实值在一个确定的置信水平内。方法验证中描述的程序旨在确保用于评估结果的方程(适当考虑各种随机误差)是可体现对结果可识别的和显著的影响的有效表达方式。关于测量不确定度的进一步考虑和说明见“结果不确定度评估指南”。

测量不确定度宜表示为浓度的函数,并将该函数与实验室和客户或数据最终用户商定的适用性标准进行比较。根据能力验证数据计算测量不确定度是一种可能性。

3 筛选方法的性能指标

筛选方法通常是定性或半定量方法,目标是区分残留物含量不高于阈值(“阴性”)的样品与残留物含量高于阈值(“指示阳性”)的样品。因此,验证策略的重点是建立一个阈值浓度,高于该阈值的结果是“潜在的阳性”,确定基于统计学的假阴性率或假阳性率,测试干扰,并确定适当的使用条件。筛选概念为实验室提供了一种有效的方法,并将其分析范围扩展到样品中存在概率很低的分析物。应继续使用经验证的多残留定量方法监测检出频率更高的分析物。与定量方法一样,筛选方法也应核查选择性和敏感性指标。尽管有些情况下使用商品化试剂盒是可能的,但在实践上和经济上目前的技术很少能满足多残留筛选检测的需求。当在测试前使用色谱或其他分离方法时,方法的选择性和分析范围往往可以得到改善。另一种方法是使用基于质谱(mass spectrometry, MS)检测的筛选方法,这种方法能够区分特定的化学物质。

筛选方法的选择性需能够区分目标化合物(单个或一组)与样品中可能存在的其他物质。筛选方法的选择性通常差于定量方法。筛选方法可以利用一组或一类化合物的共同结构特征,基于免疫分析或分光光度反应进行检测,但不能明确地识别出具体化合物。

基于筛查限(screening detection limit, SDL)的筛选方法的验证应聚焦于可检出性。对于每种代表性基质种类(商品组),至少应验证5个添加SDL浓度目标化合物的样本。上述样品和至少5个基质空白应为不同来源(例如从不同市场或不同农田获得)。更多的样品来源和更多的平行样可以保证更好的验证效果。每种基质应根据方法在实验室的预期使用范围至少验证2种不同样品。可以从日常分析过程中的质量控制数据和方法性能确认中收集额外的验证数据。定性筛选方法的SDL为至少可以在95%样品中检测到

分析物(不一定符合质谱定性标准)的最低浓度水平(例如可接受的假阴性率为 5%)。

4 定量方法的性能指标

选择性是用于食品中农药残留监控计划定量方法的重要性能指标。理想情况下,方法的响应信号应不受样品或样品提取物中可能存在的其他分析物和基质化合物的干扰。基于未完全解析色谱峰的色谱分析方法定量结果不准确。使用能更好地区分特定化合物或结构的元素特异性检测器或不同的检测波长或质谱检测器,并结合色谱分离,可提高定量方法的选择性。

与单残留方法相比,多残留方法要求在一次提取中可回收一系列不同的农药残留,这可能降低方法的选择性。使用选择性较低的提取和净化步骤可能会导致在最终提取液中存在更多的基质共提取成分。对于不同的基质、方法和关注分析物,这类共提取物的性质和数量可能会有显著差异。因此,需谨慎设定多残留方法的精密度和正确度指标,以保证定量不受化学物质干扰的影响。

除方法的选择性外,还应证明方法提供可靠定量结果的能力。理想情况下,平行样的相对标准偏差应小于 20%。

定量分析方法的可接受性标准应在初始验证阶段和使用中验证阶段进行证明,以提供每个加标水平的可接受平均回收率数值。对于方法验证,推荐在方法的目标 LVL、LOQ 或报告限浓度至少分析 5 个平行样以检查回收率和精密度,以及分析至少一个更高的浓度水平,例如 2~10 倍 LVL 或 MRL。如果方法用于符合性测试(即,商品是否符合规定的 MRL),则 MRL(或 CXL)应在验证的浓度范围内。当残留物定义包括 2 种或 2 种以上分析物时,应验证方法适用的所有分析物。

方法的正确度可通过分析有证标准物质与已建立严格性能标准的其他方法(通常是合作研究方法)进行比较或测定空白添加样品的回收率确定。用于执法目的检测方法的可接受平均回收率应在 70%~120%之间,同时 $RSD \leq 20\%$ 。对于较低的浓度(例如 $<0.01 \text{ mg/kg}$),部分实验室可能接受不符合上述标准的方法性能标准(例如,回收率 60%~120%, $RSD < 30\%$)。在特定情况下(通常为多残留方法),可接受超出此范围的回收率,例如回收率较低但一致时(例如,显示出良好的精密度)。如能从化学角度很好地确定回收率系统性偏低的原因(例如,已知分析物在相之间的分配系数),更为合理。但如果可行,应使用更精确的方法。大于 120%的回收率的情况可归因于需要研究的正向干扰或偏差。

鼓励采用实际样品基质进行方法验证。为解释回收率,需认识到添加到测试样品中的分析物可能与经过生物代谢过程的分析物(农药残留)存在差异。在很多情况下,提取出

的农药残留量小于实际的总残留量。这可能是由于提取过程中的损失、残留物的细胞内结合、共轭物的存在或使用空白添加样品的回收实验不能完全代表的其他因素。通常需要使用放射性标记残留物或标准物质评估实际残留物的回收率。

在相对较高的浓度下,分析回收率预计将接近 100%。在较低浓度下,特别是在包括大量提取、分离和浓缩步骤的方法中,回收率可能低于较高浓度下的回收率。无论平均回收率是多少,均要求其变异性低,以便在需要对最终结果进行可靠的回收率校正。

一般来说,当平均回收率在 70%~120%的范围内时,无需对残留分析数据进行回收率校正。回收率校正应与 CAC/GL 37-2001 提供的指南一致。校正函数应基于适当的统计学考虑,并加以记录、存档和提供给客户和审核人员。数据应:(1)清楚地说明是否应用了回收率校正;(2)应包括校正量、校正方法及过程。这将促进数据集的直接可比性。

根据 ISO/IEC 17025,检测实验室应参加能力验证计划。世界各地进行农药残留监测的实验室有许多能力验证计划,也可进行实验室间比对测试。

5 分析物鉴定方法和确证方法的性能标准

到目前为止,总误差(样品制备过程中产生的虚假错误)是质谱方法定性错误的最大来源。因此,所有执法行动(超过 MRL 或该商品没有 MRL 规定)都要求通过重新提取原始样品的备份试样和重新分析来确认结果,最好使用不同的样品制备和/或分析方法。

选择性是鉴定方法的主要考虑因素。方法应具有足够的选择性,以提供明确的鉴定信息。色谱质谱联用法是鉴别样品提取物中分析物的非常有效的方法,它可以提供仅用色谱法无法获得的分析物结构信息。气相色谱质谱联用技术和液相色谱质谱联用技术(全扫描、选择离子模式、高分辨率、串联质谱、杂交系统以及其他先进技术)提供了许多可测量参数,例如保留时间、色谱峰形、离子强度和相对丰度/比率、质量精度和其他有用的参数,以帮助进行分析物鉴定。但是,可以开发和应用基于非质谱技术的鉴定方法(例如,具有光电二极管阵列检测器的高效液相色谱法、具有元素选择性检测器的气相色谱法),特别是在使用替代柱化学法确认测试结果的情况下。

5.1 基于质谱的鉴定方法

没有公认的鉴定标准。表 1 给出了标准示例。

现行的农药残留定性和定量分析通常涉及色谱+选择性离子监测(selected ion monitoring, SIM)或串联质谱技术。使用标准谱库匹配因子和/或全谱内主要离子的相对丰度的全谱质谱也是一种可接受的工具。在下述(1)~(6)鉴定标准中,后一种情况(使用全谱内主要离子的相对丰度)应至

少使用 3 个离子的离子比率。在前一种情况下(使用标准谱库匹配因子), 应将匹配因子用于法定鉴定目的, 并且应使用与样品相同的分析条件和在同一仪器上扣除背景后的高纯度标准建立的参考谱库, 并应满足以下鉴定标准:

(1)根据同时分析(同一批次内)的高浓度基质匹配校准标准确定分析物的保留时间参考值; 然而, 如果已知不存在干扰, 可使用纯溶剂标准溶液。

(2)离子比参考值的设定方法与(1)中的方法相同。用于鉴定的不同离子必须共流出并具有相似的峰形。以校准标准中平均强度较高的离子作为离子比率的分母, 以百分比表示(由于信号波动、基质效应等原因, 离子比率的偏差高达 30%是可以接受的)。

(3)色谱峰的信噪比应大于 3, 和/或与包含关注浓度水平的适当校准标准或质控样的信号相比, 信号应超过阈值强度水平。

(4)出于鉴定目的选择的过渡离子应具有化学物质结构意义(确保所选离子不来源于降解剂、杂质或与分析物不同的化学物质混淆)。

(5)所有试剂和基质空白样品应无响应值大于定量限 20%的残留、污染和/或干扰。对于基质空白样品, 30%的定量限可能也可以接受。

(6)对于质谱分析, 最好监测质/荷比大于 100 的离子。

可接受的分析物最短保留时间应至少为柱空(死)体积对应保留时间的两倍。对于气相色谱法和液相色谱法, 分析物在提取物中的保留时间应在保留时间参考值(1)的 ± 0.2 min 或 0.2%的相对保留时间内, 如果可能, 最好在 ± 0.1 min 内。

高分质谱方法通过精确测量离子的质/荷比来提高可靠性, 而单位分辨率质谱技术无法获得离子的精确质/荷比。不同类型和型号的质谱检测器可提供不同程度的选择性, 这关系到鉴定的可信度。表 1 中提供的鉴定标准示例仅应被视为鉴定指南, 而不应视为证明化合物存在或不存在的绝对标准。

5.2 确 认

如果初次分析没有提供明确的鉴定信息或不满足定量分析的要求, 则需要进行确证分析。这可能涉及对提取液或样品的重新分析。当超过 CXL/MRL 时, 需要对备份样进行确证分析。对于不常见的农药/基质组合, 也建议进行确证分析。

如果初次确证方法不是基于质谱技术, 则确证方法应包括基于质谱的分析物鉴定信息。此外, 确证方法应使用基于不同化学机制(如液相色谱和气相色谱分离)的独立方法。在某些情况下, 宜采用独立实验室进行确证分析。表 2 总结了适用于满足确证分析方法标准的分析技术示例。

表 1 不同质谱技术的鉴定标准
Table 1 Identification criteria for different MS techniques

质谱检测器/特征	典型系统 (示例)	扫描方式	鉴定要求	
			最少离子数	其他要求
单位分辨率质谱	四极杆质谱、离子阱质谱、飞行时间质谱	全扫描, 限定 m/z 范围, 选择离子监测	3 个离子	
二级质谱	三极四极杆质谱、离子阱质谱、四极杆-先行离子阱质谱、四极杆-飞行时间质谱、四极杆-轨道阱质谱	选择离子或多反应监测, 分离前体离子的质谱分辨率等于或高于单位分辨率	2 个子离子	
	高分辨率质谱: 飞行时间质谱或者四极杆-飞行时间质谱	全扫描, 限定 m/z 范围, 选择离子监测 具有或不具有前体离子选择的碎片离子或其组合	2 个离子, 质量精密密度 ≤ 5 ppm ^{a,b,c}	$S/N \geq 3^e$ 提取离子的色谱峰应完全重合 离子比率与同一标准序列的平均离子比率相比, 变化范围不超过 30% ^f
精确质量数质谱	轨道阱质谱或四极杆-轨道阱质谱 傅里叶变换质谱 磁质谱	结合单极质谱和二级质谱, 分离前体离子的质谱分辨率等于或高于单位分辨率	2 个离子 1 个分子离子, (去)质子化分子或者加合离子, 质量精密密度 ≤ 5 ppm ^{a,c} 以及 1 个二级质谱子离子 ^d	

注: a)最好包括分子离子, (去)质子化分子或加合离子; b)包括至少一个碎片离子; c)<1 mDa, m/z <200; d) ≤ 5 ppm; e)如果没有噪音, 至少 5 次后续扫描中应出现信号; f)如果前体离子及其子离子的质量精密密度小于 5 ppm, 离子比率允差是可选的

表 2 适用于确证分析的检测方法示例
Table 2 Examples of detection methods suitable for the confirmatory analysis of substances

检测方法	标准
LC 或 GC 和 MS	应监测到足够数量的碎片离子
液相色谱-二极管阵列检测(liquid chromatography-diode array detection, LC-DAD)	紫外光谱应是特征光谱
LC-荧光	应结合其他技术
二维薄层层析-(分光光度法)	应结合其他技术
气相色谱电子捕获检测、氮磷检测、火焰光度检测	应结合 2 种或 2 种以上的分离技术
LC 免疫亲和力	应结合其他技术
液相色谱-紫外-可见光谱(单波长)	应结合其他技术

6 定 义

- (1)分析物: 样本中的待测化学物质(CXG 72-2009)。
- (2)分析物保护剂: 在气相色谱系统中与活性位点强烈作用以钝化其活性的化合物, 通过减少分析物与活性位点的相互作用, 减少色谱峰拖尾或损失, 从而提高分析物的响应。
- (3)适用性: 分析方法能够令人满意地适用的分析物、基质和浓度(CXG 72-2009)。
- (4)变异系数: 通常称为相对标准偏差, 指定量研究中以不同方式比较多组数据变异性的精密度。
- (5)确证: 2 个或多个相互一致的分析组合, 其中至少一个符合鉴定标准。
- (6)确证方法: 能够提供与先前结果一致的补充信息的方法。理想情况下, 使用与第一次分析不同化学原理的方法分析不同的子样品, 并且其中一种方法满足分析物鉴定标准, 在相关水平上具有可接受的不确定度。
- (7)降解物(降解产物): 由于农药的非生物转化(如热、光、水分、酸碱度等)而商品中产生的农药残留物成分。
- (8)假阳性: 错误地表明分析物存在或超过规定浓度(如法典最高残留限量/最高残留限量或报告水平)的结果。
- (9)假阴性: 错误地表明分析物不存在或不超过规定浓度(如法典最高残留限量/最高残留限量或报告水平)的结果。
- (10)添加: 为了测定回收率而加入分析物(也称为加标)。
- (11)鉴定: 明确确定残留物定义中所有成分或任何成分化学特性的过程。
- (12)实际残留物: 因专门使用农药、动物饲喂或环境污染而在商品中产生的残留物, 与实验室添加样品中的残留物不同。
- (13)干扰: 与仪器、环境、方法或样品有关的电子、化学或其他因素相关, 而与分析物无关的内在或外在响应(如噪声)。

- (14)干扰物: 引起干扰的化学或其他因素。
- (15)内标: 在化学分析中添加到样品和/或标准中的已知量的化学物质, 包括空白和校准标准。以分析物信号与内标信号的比率作为浓度的函数, 可用于校准。利用样品的这一比率可以获得分析物的浓度。所用的内标需要提供一个信号, 该信号在大多数情况下与分析物信号相似, 但有足够的差异, 以便 2 个信号容易区分。
- (16)检出限: 样品中可检出(但不能定量)的分析物最低浓度或质量。实际上, 这通常是平均信/噪比为 3 时的分析物浓度。
- (17)定量限: 可定量的分析物最小浓度。通常定义为在规定的实验条件下, 以可接受的精密度(重复性)和准确度可测定的实验样品中分析物的最小浓度。对于本指南, 通常是平均信/噪比为 10 时的分析物浓度。
- (18)线性: 分析方法在一定范围内提供仪器响应或结果的能力, 与实验样品中测定分析物的量成比例(CXG 72-2009)。
- (19)最低校准水平: 通过分析批成功校准测定系统的最低浓度(或质量)。
- (20)最低验证水平: 经验证满足方法性能标准的最低加标水平。
- (21)基质: 为研究农药残留而取样的材料或成分(如食品)。
- (22)基质空白: 不含可检测浓度的关注分析物的样品或样份。
- (23)基质效应: 样品中一种或多种未检测成分对检测分析物浓度或质量的影响。
- (24)基质匹配标准: 采用与样品相似基质空白的最终提取液制备的标准溶液。
- (25)代谢物: 由于农药在生物系统(如植物、动物)中的生物转化(代谢)而在商品中产生的农药残留成分。
- (26)多残留方法: 通常指能测定来自不同类别的大量

化合物的方法。

(27)精密度: 测量值与平均值相比变化的程度。

(28)定量方法: 能够得出符合既定正确度和精密度标准的分析物浓度(测定)结果的方法。

(29)回收率: 以最初添加到适当基质样品中分析物量(根据残留物定义)的百分比表示, 该基质不包含可检测水平的分析物或包含已知的可检测水平分析物。回收实验提供了正确度和精密度信息, 从而提供了该方法的准确度。

(30)相对标准偏差(RSD): 标准偏差除以测量值算术平均值的绝对值, 以百分比表示。用以表示方法的精密度(也称为变异系数 CV)。

(31)重复性: 在同一实验室内, 由相同的操作人员, 使用相同的测试或测量设备, 并在短期内相同条件下, 重复测试获得的精密度, 通常表示为 RSD(CXG 72-2009)。

(32)再现性: 在不同的测试或测量设施中, 由不同的操作人员, 对相同的测试/测量项目, 使用不同的测试或测量设备和相同的方法获得独立的测试/测量结果, 在不同观察条件下获得的精密度, 通常用 RSD 表示(CXG 72-2009)。

(33)残留物定义: 待测化合物的光谱, 可能包括母体化合物、代谢物、异构体、反应产物和/或降解物。残留物定义通常由监管机构确定。

(34)耐用性: 分析程序不受方法参数各种细小变化影响的能力, 并在正常使用期间提供其可靠性的指示(CXG 72-2009)。

(35)样品制备: 包括试样的提取、清洁和其他步骤, 最终制成用于分析的样品溶液。

(36)筛选检出限(SDL): 在 95%置信水平下确定检出的最低添加水平。

(37)筛选方法: 符合预定标准的情况下, 用于检测在

最低关注浓度或高于最低关注浓度的分析物或一类分析物是否存在的方法。

(38)选择性: 分析方法测定混合物或基质中特定分析物时不受其他具有类似行为成分干扰的程度(CXG 72-2009)。

(39)灵敏度: 测量系统指示变化和被测量值相应变化的商(CXG 72-2009)。

(40)SIM: 选择性离子监测, 1 种质谱检测技术。

(41)单残留方法: 测定单个或一小组具有相似理化性质分析物的方法。

(42)标准加入法: 标准加入法是一种有时在分析化学中使用的定量分析方法, 即将已知量的分析物直接添加到最终提取样液中。

(43)TOF: 飞行时间质谱, 质谱学中使用的检测方法。

(44)正确度: 大量重复测量值的平均值与参考值之间的一致性程度(CXG 72-2009)。

(45)不确定度: 与测量结果关联的参数, 用于表征合理赋予被测量值的分散性。

参考文献

- [1] CAC/GL 90—2017 Guidelines on performance criteria for methods of analysis for the determination of pesticide residues in food and feed [S].

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



岳振峰, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: yuezhenfeng@163.com