

农药残留分析：良好实验室规范导则（CAC/GL 40-1993, Rev.1-2003）

ANALYSIS OF PESTICIDE RESIDUES: GUIDELINES ON GOOD LABORATORY PRACTICE IN PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS (CAC/GL 40-1993, Rev.1-2003)

制定本导则的目的是确保国际贸易中食品农药最大残留限量（MRL）符合性分析结果的可靠性。可靠的分析结果是保护消费者健康和保障国际公平贸易的基础。

除了本导则外，国际食品法典农药残留委员会（CCPR）在国际食品法典农药最高残留限量执行领域的其他相关推荐性标准如下：

- （1）农药最大残留限量符合性测定的推荐取样方法（CAC/GL 33-1999）。
- （2）农药残留分析：最大残留限量适用和分析取样的产品部位（CAC/GL 41-1993）。
- （3）食品中的农药最大残留限量（CAC/MRL 1-2001）。
- （4）农药残留分析：推荐方法（CODEX STAN 229-1993, Rev.1-2003）。
- （5）食品和动物饲料的分类（CAC/MISC 4-1993）。

1. 导言

国际公平贸易依赖于分析结果的可靠性。尤其农药残留分析结果，其不仅取决于可靠有效的分析方法，也取决于分析人员的经验和农药残留分析良好实验室规范的实施。本导则详细说明了农药残留分析的良好操作规范，并具体分成 3 个部分，包括分析人员（第二部分）、设施和设备（第三部分）及分析过程（第四部分）。

设施、管理、人员、质量保证和质量控制、结果文件和原始数据以及相关方面的要求是获得可靠性结果所必需的，在 ISO/IEC 17025（1999）标准和一系列 OECD GLP 操作文件以及相关国家法律法规中均有描述。本导则描述了农药残留分析良好实验室规范最基本的原则和操作要点。

2. 分析人员

残留分析由一系列过程组成，熟练的实验师熟悉或了解大多数过程，但由于分析物的浓度是在 $\mu\text{g/kg}$ ~ mg/kg 范围内，因此必须注意残留分析的细节。分析主管人员应该有相应的职业资格，且经验丰富，并能胜任残留分析工作。此外，每个分析人员在第一次使用选定的分析方法前应该完成附录 IV 中 4.4.5 部分指定的具体测试过程，并在分析样品前阐述所需参数范围内方法的有效性。分析人员必须进行培训，能正确使用仪器设备，并具有相应的实验室技能。分析人员必须理解残留分析的原理和分析质量保证（AQA）系统的要求。分析人员也必须理解所采用方法每个阶段的目的及准确描述方法和记录任何不可避免偏离的重要性。分析人员也必须经过培训，才能对所测数据进行解释和评价。所有分析人员培训和练兵经历的记录必须进行归档。

在建立残留分析实验室时，分析人员应该到已建好的，可以获得一些有用的经验和良好培训的实验室进行培训。如果实验室涉及的农药残留分析范围较广，分析人员还有必要到多个已建好的实验室培训以获得相应经验。

3. 基本装备

3.1 实验室

3.1.1 实验室及其附属设施必须按照相应任务所需要的最佳效果进行设计，以达到最大安全系数和最

小样品污染概率。实验室建造和使用的材料应该耐化学品腐蚀，且样品接收和贮藏、样品处理、样品提取和净化及测定仪器都需要单独的房间。提取和净化的区域必须满足溶剂实验室条件的要求，且必须配备高质量的通风设施。如果分析工作仅仅在残留水平上，样品接收、贮藏和制备可以在同一个房间。满足样品公正性和确保人身安全是农药残留分析设备的最低要求。

3.1.2 考虑紧要残留工作（在其他实验室无法实现）的必要性和更好的条件，也必须保证实验室的安全。在工作区域应严禁吸烟、进食或饮食。工作区域尽量少放溶剂，大量溶剂应该远离工作区域单独贮存。应该尽量少使用高毒或慢性毒性的溶剂和试剂。必须安全贮藏所有废液，倾倒废液时要确保安全和环境保护（根据有效的国家法规）要求。

3.1.3 主要工作区域应该设计和配置一个适当范围的分析溶剂使用区。所有灯、浸渍器和冰箱等设备必须是防火花或防爆的。提取、净化和浓缩应在通风的区域，最好在通风橱中进行。

3.1.4 在真空或压力下使用玻璃仪器时，必须使用安全罩，并配备足够的安全眼镜、手套和防护服、紧急清洗设备以及溅出处理装备。必须有足够可用的灭火装置。分析人员必须知道许多农药具有急性或慢性毒性，而且有必要十分注意所使用的标准参考物质。

3.2 仪器和设备

3.2.1 实验室需要配备足够、可靠的水电设施。足够的试剂、溶剂、玻璃器皿、色谱材料等都是基本配置。

3.2.2 必须对色谱仪器、天平、光度计等仪器设备进行保养，定期校验仪器性能，且要保留所有的仪器维修记录。检测仪器的校准、校准曲线以及与标准的比较都是必要的。

3.2.3 由于标定数值的可能性改变可能对测定的不确定性产生重大影响，因此必须对测定仪器进行定期校准和再校准。天平和自动移液器以及相似仪器必须定期进行校准。应该连续监测或定期检查冰箱和冷冻机的工作温度。应该及时完成并保存所有记录。

3.2.4 仪器必须满足使用目的的要求。

3.2.5 所有实验室都需要大量的已知、可接受的高质量的农药标准物质，其范围应该覆盖所有实验室检测样品的本体化合物和包括在 MRL 中的代谢产物。

3.2.6 所有分析标准样、贮备液和试剂必须有清晰的标识，注明制备日期、分析人员、使用的溶剂、贮藏条件。由于降解过程的影响，标签上还应注明有效期，并将它们贮藏在合适的条件下。同时，也应注意农药标准溶液在贮藏期间的条件，以免在光或热的作用下降解，或由于溶剂挥发而浓缩。

4. 分析过程

测定农药残留的方法一般应该满足附录III中的标准。

4.1 避免污染

4.1.1 农药残留分析显著不同于常量分析的一个主要方面是污染和干扰问题。用于测定阶段的样品，痕量污染就能引起结果错误或可能影响残留分析的灵敏度。采样、样品运输、贮存和分析的每一个阶段都可能引起污染。在玻璃仪器、试剂、有机溶剂和水使用以前，必须通过溶剂空白实验，对可能干扰结果的污染物进行检测。

4.1.2 润肤剂、护肤霜、抗菌肥皂、蚊虫喷雾剂、香水和化妆品均能引起干扰问题，特别是使用电子捕获检测器时干扰尤为突出。除了禁止使用上述物品外，没有更实际解决干扰的办法。

4.1.3 润滑剂、密封剂、塑胶、天然或合成的橡胶、防护手套、来源于日常压缩空气管道的油和套管、滤纸、脱脂棉上的杂质均可引起最后测试溶液的污染。

4.1.4 化学试剂、吸附剂和一般实验溶剂可能包含或吸附干扰分析的化合物。有必要纯化试剂和吸附剂，一般需要使用重蒸的溶剂。去离子水通常也是可疑的，尽管有许多例子说明自来水或井水可以达到满意的结果，但最可取的是重蒸水。

4.1.5 玻璃器皿、进样针和色谱柱污染主要来源于先前的样品或提取物。所有器皿必须用清洁剂洗涤，用蒸馏水（或其他洁净的水）清洗，再用溶剂冲洗。必须单独保存用于残留分析的玻璃器皿，且不能用于其他目的的检测。

4.1.6 农药标准物质应该一直贮存在与残留实验室分开的独立房间，并贮藏在合适的温度下。不能将浓缩的分析标准溶液和提取液保存在相同的区域。

4.1.7 在残留实验室中不允许使用可能是污染源的塑料器具。除了 PTFE（聚四氟乙烯）通常是可接受的外，包含塑料制品中的其他材料都是可疑的，只有在特定的环境下可以接受。贮藏样品的器具也可能引起污染，需要具有塞子的玻璃容器。

分析仪器应该存放于单独的房间。污染的类型和重要性因所用的检测技术类型和所测定农药的残留水平而变化。例如，基于气相色谱或高效液相色谱的方法，污染的影响是重要的，而用分光光度计测定，则污染的影响可能不那么重要。对于相对高水平的残留，溶剂或其他材料的背景干扰与残留结果比，影响可能并不重要，同时也可以通过特定的检测器克服许多污染问题。此外，污染与检测结果互不干扰时则是可以接受的。

4.1.8 残留分析和制剂分析必须完全分开，并且相应的实验设施也应分开。为了避免交叉污染，样品贮存和样品制备不应该在主要残留实验室中，而应该在不同的房间。

4.2 样品的接收和贮存

4.2.1 实验室接收的每一个样品应该附有样品来源、分析要求、样品处理过程中的潜在危险等方面的完整信息。

4.2.2 每个样品接受后，必须立即贴上专门的样品标签，该标签应该伴随样品从分析到结果报告的所有过程。样品的处置必须符合相应的要求，并且保存样品记录。

4.2.3 样品处理和分样必须选用已经证明能够获得一个有代表性的分析部分，并对样品中现存的残留浓度无影响的操作程序进行。

4.2.4 如果样品不能立刻分析、但能在几天内完成分析的，样品应该贮存在 1~5℃ 条件下，并避免阳光直射。然而，接收的深度冷冻的样品必须在 -16℃ 以下贮藏直到分析。如果样品需要贮存更长的时间才能分析，则贮存温度应该在 -20℃ 左右，在这个温度下，农药的酶降解极低。如果进行较长时间的贮藏，应该用在相同时期和相同条件下贮存的添加回收样品校验贮存期间的影响。农药残留贮藏稳定性的相关信息可查阅 FAO/WHO 的农药残留联席会议（JMPR）出版的《农药残留评估》和制造商为支持农药登记呈送的相关资料。

4.2.5 当样品进行冷冻时，为了减少在贮藏期间冰晶分离的可能影响，建议在冷冻前先取出分析子样，且必须注意确保整个子样都用于分析中。

4.2.6 避免贮存样品的容器渗漏，且容器及其盖子或塞子不得带入化学污染物质。

4.3 标准操作规程（SOP）

4.3.1 一个 SOP 应该适用于例行操作的所有过程。SOP 应该包括适用范围、整个实验操作细节的说明、可达到的检测限、内部质量控制要求和结果计算方法等。它也包括方法、标准物质或试剂可能引起的任何危险。

4.3.2 必须记录一个 SOP 的任何偏差，并经分析主管批准。

4.4 方法确认

4.4.1 目前已有不同目的分析程序确认指南出版。本节所述的原则考虑了农药残留分析方法确认的实践和适应性。本导则只是推荐性的。分析人员应该依据方法与目的的符合程度来决定选用，并相应地形成必要的确认数据。例如，MRL 符合性测定和提供数据用于评价检测要求是十分不同的。

4.4.2 分析方法是从小样品接收到最终结果产生的一系列过程。方法确认是方法符合目的确定过程。

方法可以是内部开发的、来自于文献的或从其他途径获得的。方法可以直接被采纳，或为了满足实验室、检测能力和测定目的的要求而被修订。典型的确认伴随着方法的发展过程，同时假定已经满足校准、系统适应性、分析稳定性等的要求。在分析方法的确认和使用时，测定必须是在检测系统校准范围内进行。一般来说，应该在方法应用和样品分析前进行确认，但随后的运行确认是整个确认过程的继续。运行确认的资料要求是方法确认要求的一部分。

实际上，熟练的检测（或其他实验室间检测程序）提供了一个重要的途径去确认结果的准确性和实验室间结果的变异信息。然而，熟练的检测通常不能给出分析物稳定性或处理样品的均一性和可提取性。当需要不确定度数据时，这个信息应该包括运行确认数据，而不单纯依赖方法确认的数据。

4.4.3 实验室承担方法建立和（或）方法修订时，用重现性实验等确定分析变化的影响。在方法涉及的各个方面都必须进行严格控制训练，包括样品大小、体积分配、净化系统运行中的变异，试剂或相应准备的稳定性，光照、温度、溶剂和贮存对提取液中待测物的影响，溶剂、注射器、分离柱、流动相性质（组分和流速）、温度、测定系统、伴生提取物等对检测系统的影响等。最重要的是明确测定信号和分析对象之间的定性和定量关系。

4.4.4 通常应该优先选择能够适应多残留或多基质分析的方法。在方法确认中代表性分析物或基质的使用是十分重要的。为了这个目的，有必要充分区分产品。例如，有些产品可以广泛涵盖很多加工食品、种植业或养殖业农产品。通常，即使有变异，特殊产品的单一变异也可以代表相同产品的其他部分。但也有例外，例如，单个水果或蔬菜品种不能代表所有水果和蔬菜（附录 5）。每个情况必须考虑它的特点，但在方法运行影响方面，一个产品的特殊变异会不同于其他产品，需要分析这些变异。不同种类的产品，方法的准确度和精密度存在差异，特别是在测定步骤。

（1）如果十分相似的产品或样品基质有相似的提取和净化过程，可以采取简化的确认步骤。可以从表 5 中选择出代表性产品代表有相同特性的每组产品去进行过程或方法的确认。附录 V 中，分析产品依据国际食品法典中的“食品和动物饲料的国际食品法典分类”^[2]进行分类。

一些方法确认数据可以拓展到其他产品的例子：

谷物：谷粒的确认结果不能应用于糠或面包，但小麦的确认结果可适用于大麦或小麦粉；

动物源产品：肌肉的确认结果不能应用于脂肪或器官，但鸡脂肪的确认结果可适用于牛脂肪。

水果和蔬菜：整个新鲜产品的确认结果不能应用于干产品，但甘蓝的确认结果可适用于球芽甘蓝。

（2）相似的代表性分析物评价方法也可用于方法的运行确认。被选定的代表性分析物应该涵盖可能用这样方法来测定的分析物的物理和化学性质。应该依据以下的分析目的和范畴来选择代表性分析物：

① 代表性分析物应该选择：具有足够广泛的物理化学特性的化合物；可定期检测或依据结果能做出评价结论的化合物。

② 所有分析物尽可能包含在起始确认过程中，可以进行定期检验，并用这一检测系统同时进行测定。

③ 评价一个方法的代表性分析物的浓度应该覆盖计划分析的所有产品的全部分析物的可接受限（AL，见术语表）。而且，选择的代表性分析物应该包括有高的和低的接受限（AL）。用于代表性分析物和代表性产品检验的添加水平可不必和实际 AL 一致。

4.4.5 如果有合适的数据可用，分析人员不必进行全部确证检测。然而，所有需要的信息必须包括或者出现在确证记录中。依据方法确认状况，附录 I 提供了评价方法确认的参数概要。具体的评价参数和标准列于表 2。评价参数应该限定方法和所应用特定方法的目的。多数情况下，几个参数运行特性可以用 1 个实验同时获得。不同因子同时改变的检验设计（因子设计）有助于减少资源的需要。在 4.5 部分的方法开发和随后的使用过程中，都应该依据附录 III 给出的标准检查分析方法的运行情况。

4.4.6 单残留检测方法应该用所有分析物、待测样品材料或者用实验室检验的代表性样品基质进行充分的确认。

4.4.7 特定类残留方法（GSM）应该用 1 个或多个代表性产品和从产品组中选择的至少 2 个代表性分析物进行确认。

4.4.8 多残留方法（MRM）可以用代表性产品和代表性分析物进行确认。

4.5 运行确认

4.5.1 运行确认的主要目的。

- (1) 在实际使用条件下检测方法的运行情况；
- (2) 考查如样品组分、仪器运转、化学品质量、分析运行和实验室环境不同引起的不可避免的影响等；
- (3) 论证该方法运行特性是否广泛地类似于方法确认时的预期，该方法的偏差是否在统计学的控制范围内，且结果的精确度和不确定度是不符合预期。为了这个目的，方法确认的数据可以随方法定期运行期间的运行确认数据进行不断更新。

内部质量控制结果提供长期重现性的基本信息和方法的其他运行特性，包括方法拓展的分析物和检测产品等。

基本的运行特性测试和适当的检验程序描述见附录 II。

为了有效地进行运行确认，分析样品应结合适当的质量控制程序（空白和回收测定、参考物质等）进行分析。控制表用于检查方法运行趋势和确保维护统计控制。

4.5.2 控制表的构建和应用。

(1) 控制表是阐述方法运行和方法选择参数重现性的有用工具。其中的一个例子是回收率控制表。根据实验室任务来应用控制表。当分析大量同类样品的相同有效组分时，控制表基于方法定期使用的平均回收和标准偏差。当分析少量不同样品的多残留时，控制表不能按常规使用。在这些情况下，初始控制表由代表性基质中的代表性分析物的平均回收率 (Q) 和下述的典型变异系数 (CV_{Atyp}) 组成。当针对单个分析物或样品基质进行的方法确认所获得的平均回收率及其变异系数数据没有统计学差异时，每一个都可作为真实回收率和方法准确度的评估，建立其相应的典型回收率 (Q_{typ}) 和方法典型变异系数 (CV_{Atyp})，并用于建立初始控制表。警告限和控制限分别是 $Q_{typ} \pm 2 \cdot CV_{Atyp} \cdot Q$ 和 $Q_{typ} \pm 3 \cdot CV_{Atyp} \cdot Q$ 。

(2) 当该方法被用于确认时涵盖的不同分析物和基质的正常检测时，单个回收率描述在控制表中。在常规使用中方法重现性可以稍超出方法确认的重现性。如果一些回收率超出了警告限或者偶尔超出控制限，但仍在根据附录 III 指定的 CV_A 值计算出的范围内，则不需要采取特殊的控制措施。

(3) 在方法正常使用时，基于 15~20 次回收率检验，作为运行确认的资料，计算平均或典型回收率和 CV_A ，并组成新的控制表，该表反映出方法应用的长期重现性。建立新的参数必须在附录 III 中具体的可接受范围内。

(4) 如对于有疑问的分析物不能得到这些数值，样品检测结果报告应该说明其准确度和精密度比常规农药测定差。

(5) 方法正常使用时，如果对特殊分析物和样品基质进行 ≥ 10 次回收率测定的平均值与代表性分析物和样品基质获得的回收率平均值明显不同 ($P=0.05$)，则 Q_{typ} 和 CV_{Atyp} 是不可用的。需要运用新的平均回收率和测得的 CV 值为特殊分析物和样品基质计算新的警告限和控制限。

(6) 如果重复进行的运行确认数据超出了警告限 (1/20 以内的数据在警告限之外可以接受)，必须检查方法应用条件，分辨偏差来源，并在方法继续应用以前进行必要的校正。

(7) 如果方法运行确认数据在 (1)~(3) 定义的控制限以外，应该重复分析整批样品 (或者是至少正常发现的分析物残留 $\geq 0.7AL$ 样品及偶尔发现的分析物残留 $\geq 0.5AL$ 样品)。

(8) 阳性样品分析部分的再分析是运行确认的另一有用方法。它们的结果能用于计算针对一般和特殊分析物和样品基质的实验室方法的重现性 (CV_{Ltyp})。这种情况下， CV_{Ltyp} 也包括样品处理过程的不确定度，但不能表示样品处理过程中分析物是否损失。

4.6 确证检验

4.6.1 作为监督目的的检测，在报告样品含有不正常出现在这类产品中的农药残留，或残留量超过 MRL 标准之前，确证检验尤为重要。样品中可能包含被误判为农药的干扰物，如气相色谱电子捕获检测器检测酞酸酯；磷选择性检测器检测含硫和氮的化合物等。首先，如果仅仅一个样品超标，应该用同样的方法重

复分析样品。若残留量结果确认，还应提供结果重复性证据。应该注意支持检测残留量存在的唯一证据由检验运行数据提供。

4.6.2 确证检验可以是定量和（或）定性的，但在大多数情况下，两者都需要。当在检验中遇到 MRL 设在或者大概在检测限附近时，尽管在这个水平很难定量，但也必须提供足够的确认。

4.6.3 是否需要确证检验由样品类型或已知的信息决定。在许多基质中，经常发现某几个残留存在。对于一系列相似来源、包括相同农药残留的样品，随机按比例地选取部分样品进行确证检验就足够了。相似地，当已知一种特定的农药应用于相同的样品基质中，尽管一个随机选择的结果应该得到证实，但一般不必确证检验。在有空白样品可用时，应该用其检查可能存在的干扰物质。

4.6.4 对于定量确证，采用起始选用的测定技术是必要的，但不同的检测技术也是可供选择的。对于定性确证，可以应用质谱或基于不同的物理-化学特性相结合的技术，见附录 VI。

4.6.5 确认检验结果的必要步骤是分析人员的判断，并特别注意应该选择干扰效应最小的方法。根据实验室合适的可用仪器和专业技能来选择分析方法。一些可选择的确证过程见附录 VI。

4.7 质谱法

4.7.1 从质谱获得的残留数据能代表更加完整可靠的证据，质谱是可供选择的的确证技术之一，这个技术也可用于残留筛选。在农药残留分析中，质谱通常与色谱联用，以同时提供保留时间、质/荷比和离子丰度。精确的分离技术、质谱仪、分离技术和质谱之间接口及其所检测的农药范围之间是相互独立的，没有一个适合所有化合物残留检测的联用方法。不稳定分析物在通过质谱系统和接口时常遇到其他检测器相类似的问题。农药残留更加权威性确认是完全由电子轰击离子化质谱（实际上一般从 m/z 50 到超过分子离子范围）获得的。在确证时应该重点考虑谱图中离子的相对丰度和干扰离子的缺失。这种分析模式能避免来自提取和贮存提取溶液产生的污染物的干扰，且选择性最好。大多数质谱数据系统允许一些干扰信号（如由于柱流失等引起的），但要通过扣除背景值来消除干扰信号影响，这一点是非常有用的，但有时可能产生使人误解的结果。通常通过限制质谱扫描范围或选择离子检测范围可以增加灵敏度，但离子（尤其低质量的）检测数越少，产生的数据越不准确。其他可用的确证方法还有：

（1）通过改变色谱柱。

（2）通过改变离子化方式（例如化学离子化方式）。

（3）用串联质谱检测选择性离子进一步反应的产物。

（4）在增加质量分辨率情况下，通过检测选择的离子等。就定量而言，离子检测是更加具体、干扰最小的，并能提供好的信噪比。质谱分析应该满足与其他分析系统相似的分析质量控制的要求。

4.7.2 单独使用 HPLC 进行的残留确证检验一般比使用 GC 问题更多。如果用紫外吸收检测，完整的谱图能很好提供组分存在的证据。然而，一些农药具有与其他化合物相似的官能团或结构，或者提取物中有其他干扰化合物产生另外的问题而很难判断。多波长下产生的紫外吸收数据可以有助于或不利于鉴定，但是一般情况下其本身的特异性是不够充分的。荧光数据可以用来支持紫外吸收获得的数据。LC-MS 能提供好的支持数据，但由于产生的谱图十分简单，出示很少的特征片段，因此 LC-MS 的结果不可能完全确定。LC-MS/MS 则是更有效的技术，结合选择性特性它经常能提供组分存在的证据。LC-MS 技术经常受介质效应影响（尤其抑制作用），定量确认需要使用标准添加或同位素标记物。衍生化法也可以用于 HPLC 法残留检测的确证（参见 4.6.5 条款）。

4.7.3 在一些情况下，用薄层色谱对气相色谱结果进行确证是更方便的。根据 R_f 值和可视化反应两个标准进行确证。当确定化合物类型且共提物影响很小时，基于生物技术的检测方法（如酶反应、真菌生长或叶绿体抑制）特别适用于定性确认。国际理论和应用化学联合会（IUPAC）的农药报告中包含了该技术的大量参考文献[Bátora, V., Vitorovic, S.Y., Thier, H.-P. and Klisenko, M.A.; Pure & Appl. Chem., 53, 1039~1049 (1981)]，报告综述了该技术及其适当的应用。然而，薄层色谱在定量确认方面是有限的。这个技术包括将待测化合物根据 R_f 值以洗脱液在平板上洗脱和进一步的物理或化学方法确证分析。标准溶液应该总是点在样品提取物的旁边，以排除非重复性 R_f 的问题。在提取物上面用农药标准溶液点样也可以提供有用的信息。薄层色谱的优点是分离速度快、费用低并适用于热敏感性物质；缺点是通常比仪器色谱检测器灵敏度低和需要经常更有效的净化。

4.8 衍生化反应

4.8.1 化学反应。

一个经常采用的方法是通过小量的化学反应产生农药的降解、加合或缩合产物，再用色谱技术检测这个产物。反应产生的化合物具有与母体化合物不同的保留时间和（或）检测响应。农药标准物应该和可疑残留物一样处理，以保证对每个结果直接进行对比。为了证实在样品中残留物反应的进行，也应该包括加标提取物。由于衍生试剂的特性，检测衍生物时，可能存在干扰。应用于确证目的的化学反应的综述文章由 Cochrane, W.P. 发表[Chemical derivatisation in pesticide analysis, Plenum Press, NY (1981)]。化学反应具有快速且简易的优点，但需要购买和纯化特殊的试剂。

4.8.2 物理反应。

一个有用的技术是光化学改变使农药形成一个或更多个色谱特性的产物。应该以同样的方式处理加标提取物和农药标准物样品。存在多种农药残留的样品可能存在结果难解释的问题。在这种情况下，在反应前应先选择 TLC、HPLC 或柱分离对上述的农药残留样品进行处理。

4.8.3 其他方法。

许多农药容易被酶降解或转化。对比常规化学反应，这些过程是非常特别的，一般由氧化、水解或脱烷反应组成。母体产生的反应产物具有不同的色谱特性，如果用标准品与反应产物进行对比，可以用来确认结果。

4.9 最低校准水平 (LCL)

4.9.1 当分析的目的是为了监测或核实残留是否符合 MRL 或其他 ALs 时，残留检测方法必须足够灵敏以能可靠地检测出作物和环境样品残留量在 MRL 或 ALs 附近的农药残留。当残留水平很低时，进行残留的检测通常耗费昂贵且难度很大，因此残留测定方法也不必灵敏到可以测定低于 MRL 2 个或更多个数量级的残留水平。采用 LCL（见术语表）有减少获得数据难度的优势，同时也减少花费。以下不同样品的 LCL 建议对残留分析人员选择合适的方法非常有用。

4.9.2 对于有 MRL 的有效成分，LCL 按照 MRL 进行分类。为了便于分析，分类确定方法如下：

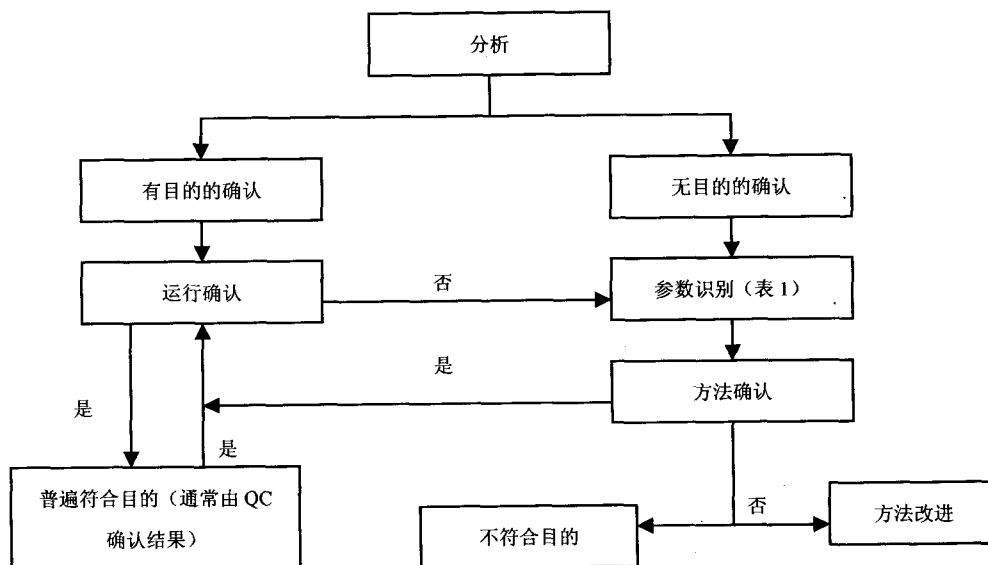
MRL/ (mg/kg)	LCL / (mg/kg)
5或更高	0.5
0.5~5	0.1~0.5
0.05~0.5	0.02~0.1
小于0.05	0.5 ^① MRL

① 当MRL在分析方法的检测限时，LCL也将是这个水平。

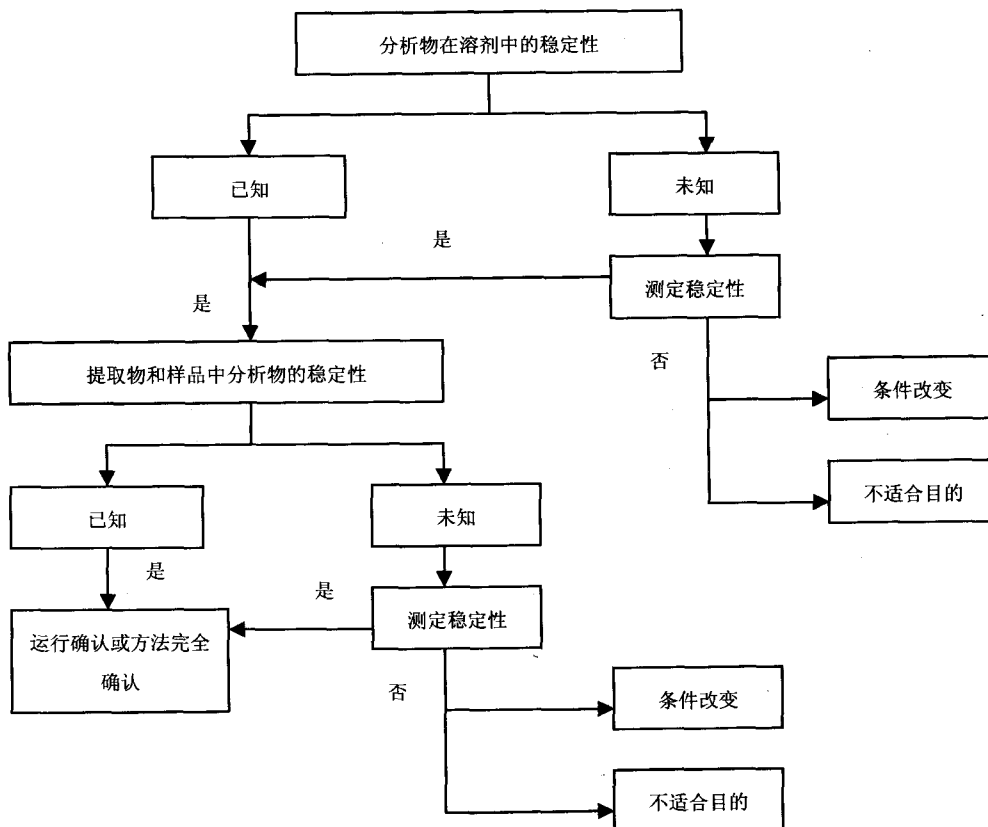
4.10 结果的表述

对于监督目的的检测，仅仅报告已确认的数据，按 MRL 要求进行表述。未检出值应该报告成低于 LCL，而不是用外推法计算的低于一个水平的数据。一般情况下，检测结果不必用回收率校正。仅仅当回收率与 100% 差值显著时，结果需用回收率校正。如果报告结果进行了校正，则均应给出测定值和校正值。也应报告出校正基数。如果从单一检测部分（副样）重复测定（例如用不同色谱柱、用不同检测器或基于不同离子色谱）获得了确认结果，应该报告最低的有效数值。如果从多个检测部分分析获得确认结果，应该报告每个检测部分最低有效数值的算术平均值。考虑到一般情况下 20%~30% 的相对精密度，结果应该用 2 位有效数字表达（例如 0.11、1.1、11 和 1.1×10^2 ）。在低浓度下，精密度在 50% 范围内，低于 0.1 的残留结果应该仅仅用一位有效数字表述。

方法确认概要如下图所示。



分析物稳定性确认程序如下图所示。



附录 I 方法确认参数评估概要

检测参数	现有检测方法，先前参数测试已经显示出其对一个或多个分析物/基质组合是有效的					现有检测方法的改进	还未确认的新方法	可以结合的实验类型
	运行确认 [*]	附加的基质	附加的分析物	较低的分析物浓度	另一个实验室			
专一性（显示出检测信号对应一个化合物，而不是另外的化合物）	否（提供满足基质空白和分析物确认的标准）	是，如果质量控制中基质出现干扰	是	是，如果质量控制中基质出现干扰	不必进行严密检查，如果测定系统的运行相似或好些	是或否。严密检查也许是必要的，如果检测系统运行差异较大或基质干扰程度不确定	是。严密检查也许是必要的，如果对比现存方法，测定系统是不同的或基质干扰程度不确定	
分析范围，提取、净化、衍生化和测定的回收率	是	是	是	是	是	是	是	校准范围 分析范围 LOD/LOQ 基质效应
分析物测定校准范围	否	否	是	是	是，对于代表性分析物	是，对于代表性分析物	是，对于代表性分析物	线性、重现性和信 / 噪比
LOD和LOQ	否	是，（部分，如果基质来源于代表性类别）	是，（部分，对于代表分析物）	是	是	是	是	最低校准水平和低水平添加回收率数据
报告限值，LCL	是	否	否	否	否	否	否	
样品提取物中分析物稳定性 ^{▶▶}	否	是，除非基质来源于代表性类别	是，除非分析物是代表性的	是	否	否，除非提取物/最终溶剂是不同的，或者净化不太严格	是，如果提取溶剂和最后溶剂不同于现存方法，或者对比现存方法净化不太严格	
样品贮藏期间待测物稳定性 ^{▶▲}	是	是	是	理论上	否	否	否	
提取效率 ^{▶▶▶}	否	理论上	理论上	理论上	否	否，除非所用提取条件不同	是，除非应用先前的提取过程	
分析样品均一性 [▶]	是 [▶]	否，除非基质本质上有差异	否	否	否，除非改变了仪器	否，除非改变了仪器	是，除非应用先前的样品检测过程	见下面
样品处理过程中待测物稳定性 [▶]	否	是，除非代表性基质	是，除非代表性分析物	理论上	否	否，除非运行过程温度高、耗时长、粗的粉碎等	否，除非运行过程比确认过程温度高、耗时长、更细粉碎等	重复性，重现性

注：* 正进行质量控制

▶ 如果相关信息不可用。

▶▶ 代表性分析物可以根据水解、氧化和光解特性来选择。

▶▲ 代表性产品中（或上）的稳定性数据应该提供足够的信息。出现某些情况需要附加检验，如：

(1) 样品贮藏超过了检测期（如稳定检测在4周内，直到6周才分析样品造成测定待测物的损失）。

(2) 稳定检测在≤-18℃进行，但样品贮藏实验室≤5℃条件下。

(3) 样品通常贮藏于≤-15℃，但贮藏温度达到+5℃。

▶▶▶ 提取效率信息可以从登记化合物的制造商或公司获得。

▶ 偶尔有效样品检测部分的重复分析。

附录 II 不同环境下方法确证的参数评估

参数	水平	分析数目或需要的检测类型	标准		注释
			定量方法	筛选方法	
1. 优化方法的实验室（单个实验室）运行					
1.1 提取物和标准溶液中分析物稳定性	≤AL, 或容易检测的残留水平	对于每个代表性分析物/产品, 在每个合适的点（包括零点）进行5次以上的重复 测定添加样品检验残留稳定性 对比贮藏和新制标准溶液分析物浓度	在贮藏提取液中的待测物和分析标准物没有显著变化（ $P=0.05$ ）	在贮藏后期, 添加在LCL水平的残留是可以检测的	如果在测定过程中分析方法是可疑的、分析材料贮存时间超过了测定准确期, 或如果方法优化期间回收率低, 需要检测提取物稳定性 在方法优化期间, 若对回收提取液进行了贮藏, 回收率应该以老的和新准备的校准标准进行测定。贮存时间应该包含可能需要完全分析的最长时间
1.2 校准函数 基质效应	LCL到2 （3）倍AL	检测反应函数应包括≥2个重复、≥3个分析物水平加上空白样品。对于非线性反应, 测定响应曲线应该≥7个分析物水平和≥3个重复 检测所有代表性分析物和基质的基质效应。随机将标准物加入到试剂和样品提取物中	对于线性校准: 分析标准溶液回归系数（ r ）≥0.99, 残留SD（ $S_{y/x}$ ）≤0.1 对于多项式函数,（ r ）≥0.98 如果差异显著（ $P=0.05$ ），确认基质效应	对于线性校准: 回归系数（ r ）≥0.98, 残留SD≤0.2 对于多项式函数,（ r ）≥0.95	可以在过程优化、精密度或检测能力测定期间建立校准参数。准备不同浓度的校准溶液 对于MRM用多种混合分析物（标准混合液）进行校准, 可以适当的用色谱系统进行分离 如果基质效应十分明显, 用基质添加分析标准物质进行进一步检验。因为基质效应随时间、样品（有时）、色谱柱等发生改变, 确认方法不能给出基质效应的明确信息
1.3 分析范围, 准确性、真实性、精密度、检测限（LD）、定量限（LOQ）	LCL到2 （3）倍AL*	测定代表性分析物和基质结合的样品: ≥5个分析部分标记0、LCL、AL; 在2~3倍AL水平下≥3个重复; 回收率检验时, 分析中使用该方法的分析人员和仪器都应分开	LOQ应该符合目的要求: 平均回收率和 CV_A 见附录III 标准参考物质测定的平均残留量*与认可值没有明显差异（ $P=0.05$ ）	在LCL下所有残留均是可检测的	分析人员应该阐明具体最大 α 偏差和 β 偏差下方法适合测定合适的AL水平下存在的分析物 对于MRM, 空白样品添加水平应该涵盖待测物存在的ALs。它们可以不符合代表性分析物的实际AL 用标准混合物添加分析部分。测定代表性分析物/基质结合的样品准确度和精密度范围应该考虑方法的典型性, 其将作为新分析物和新产品的标准, 同时作为内部质量控制的最初指导 报告未修正的结果用重复结果的平均回收率和 CV_A 。 CV_A 等同于样品分析实验室内的重现性 *如果明显不同于100%, 应对平均回收率结果进行校准 如果方法不允许评价回收率, 则准确性和精密度是方法的校准评价参数
1.4 分析物检测的专一性和选择性	最低校准水平 （LCL）	用MS、相似的技术或可用的分离和检测技术适当组合进行组分分辨。分析不同来源的≥5个代表性产品的空白样, 报告空白中的分析物的等同响应物 测定和报告检测器选择性（ δ ）和所用具体检测器对代表性分析物相对响应因子（RRF）	测定分析物响应。两个不同色谱柱的残留测定应该在重复色谱测定临界范围之内	AL水平下 β 误差率一般<5%	仅仅应用分离和检测技术的特定联用技术。对于分析物（非处理过程应用的），已知处理过的样品可以用来代替未处理样品。样品基质成熟明显影响空白样品响应。在确证运行期间, 应该定期检查空白值 报告空白提取物中典型峰 LCL最好是≤0.3L, 除非当AL设在LOQ及其附近 检测可以结合确定限和检测能力运行, 其也将提供化合物相对RRts和RRFs的信息 如果空白样响应干扰分析物, 应改变色谱条件或用可选择的检测系统。因为关于分析物的信息增加, 因此选择性检测器的适当联合应用可以增加检测细节

续表

参数	水平	分析数目或需要的检测类型	标准		注释
			定量方法	筛选方法	
1.5 分离选择性	在AL	用方法测定所有检测分析物的RRt值（不仅仅参考标准物）。使用没有光谱测定的色谱技术时，应用不同分离原理和/或不同极性的柱子测定RRt-s。测定和报告结果（R _S ）及重要峰的拖尾因子	最大峰应该从设计的分析物分离，在10%峰高处至少有一个峰宽的距离，或需要对所有分析物更加有选择性的检测	所有检测待测物的实验性分辨。（不是所有待测物都需要分离）	除非色谱分离和光谱检测联用，能分离（最小R _S ≥1.2）所有需要检测的化合物，报告不同极性色谱柱的RRt值 检测可以与校准参数和基质效应相结合（见1.7条款）
1.6 分析样品中待测物均匀性	大约在AL或容易检测的残留水平	分析≥5个重复的每组代表性产品检验样品处理后的部分（附录V）。测定分析CV _{Sp} 待测物均匀性应该用已知稳定的分析物进行检查	CV _{Sp} ≤10%	CV _{Sp} ≤15%。 预期的残留最高部分用于筛选方法是合适的（如柑橘皮），并且不必均质	选用表面残留稳定的产品或在切碎或磨碎处理前，实验室样品中小部分样品单元（<20%）代表样品处理过程最坏的情况为相继使用的任何过程进行处理过程的确认 确认可以应用于其他物理性质相似的产品，并且这独立于分析步骤 检验可以结合待测物测定稳定性进行（见此表1.7条款） 测定样品常数，去计算满足CV _{Sp} ≤10%质量标准要求的分析部分的大小 如果残留的CV _L 在表2所列范围内，则不必单独测定CV _{Sp}
1.7 样品处理过程中待测物稳定性	大约AL	在样品处理前添加已知数量的待测物到产品中。在处理后的，每个产品分析≥5个重复应用稳定标记化合物和待测物一起检验 对于MRM和组特定方法GSM，可以很好分离的几个待测物可以一起检验	在样品处理前如果添加平均回收率（包括过程回收率）和CV _A 在表3所列范围内，检测物稳定性不必指定如果总体回收率和过程回收率有明显差异（P=0.05），定量稳定性	在处理后添加在LCL水平分析物仍可以检测	处理过程中样品温度可能是至关重要的。为相继使用的任何过程进行处理过程的确认。确认对检测物和（或）样品基质应该是特定的 为检验稳定性测定平均回收率和不稳定和稳定标记化合物的CV _L 。用这些化合物进行内部QA检验 用不稳定化合物和稳定化合物平均浓度比率表述残留稳定性。稳定化合物CV's将指示实验室内重复性
1.8 提取效率	大约在AL或容易检测的残留水平	分析含残留的样品或参考物质的≥5个重复部分 对比参考（或不同）过程与检验的过程 对于MRM所测分析物应该先有大范围Pow值。仅仅取有残留部分进行测定	对于有残留样品，参考过程获得的平均结果和检验过程平均结果在计算CV _L 时没有显著差异（P=0.05） 或，当方法检验用CV _A 计算时，参考物质测定值和平均残留值没有显著差异（P=0.05）。如果方法CV _A 大于10%，重复分析数量必须增加以保证相对标准偏差小于5% 否则定量和报告提取效率（除分析阶段回收率依据提取部分）	已知的出现在或大约在LOQ或LCL的平均残留量在样品中实际是可以检测的	提取温度、混合或分散速度、提取时间和试剂/水/基质比率可对提取效率有重大的影响。这些参数的效应可以用重现性实验检查。优化条件尽可能保持不变 确认一般应用于一组产品和相似物理化学特性的代表性分析物。确认独立于方法相应的过程。 每个方法的平均回收率从标记分析部分测定 如果回收率明显不同于100%，用测定的平均回收率校正结果 依据一些规定筛选能力，应该在95%置信度内
1.9 样品贮藏期间待测物稳定性	大约AL	分析新鲜的均匀的包含农药残留的样品，或匀质并标记空白样品（时间为0），然后按照实验室常规程序分析贮藏（通常≤-18℃）的样品 贮藏时间应该超过采样和分析间隔预计的最长时间 每个时间点≥5个重复 分析贮藏的≥4个样品、检测≥2添加部分和在分析时空白添加样 分析部分在提取前或提取时迅速解冻	贮藏期间待测物无明显损失（P=0.05）	在贮藏后添加最低校准水平LCL的分析物仍可检测	为了样品用于任何相继的过程，确认贮藏的有效性 分析物确认是特定的。然而，一般认为从代表性基质获得的贮藏稳定性数据对相似基质是有效的。选择基质应该考虑分析物的化学稳定性（如水解）和使用目的。 贮藏期间稳定性相关信息可以从JMPR评价或从登记档案中获得 报告初始残留浓度、保留的残留浓度和分析物回收率 可以通过适当管理安排采样和分析计划，避免不必要的样品贮藏，这计划不是分析方法的一个部分

续表

参数	水平	分析数目或需要的检测类型	标准		注释
			定量方法	筛选方法	
2 确认方法的扩展					
2.1 样品贮藏期间、处理过程待测物在提取物和标准溶液中稳定性	见1.1、1.2条款和1.9条款				只有当处理过程稳定性和代表性基质的信息已经不可用时
2.2 校准函数, 基质效应	LCL~2 (3) 倍AL	以含AL的3点基质和没有基质分析标准来校准	对于线性校准: 分析标准溶液回归系数 (r) ≥ 0.99 , 相对残留SD ($S_{y/x}$) ≤ 0.1 对于多项式函数, (r) ≥ 0.98	对于线性校准: 回归系数 (r) ≥ 0.98 , 相对残留SD ≤ 0.2 对于多项式函数, (r) ≥ 0.95	确认方法不能给出基质效应的明确信息, 因为基质效应随时间、样品 (有时)、色谱柱等发生改变而变化
2.3 准确性, 精密度, LD, LOQ	在AL	预先计划: 分析添加AL水平的代表性基质的3个分析部分 无法预期: 在新待测物水平下, 添加2~3个分析样品的额外部分。计算添加分析物的回收率。如果相当数量的分析样品不可用, 使用相似的样品基质进行回收率测定	残留回收率应该在方法重现性限制内: 3个部分: $C_{\max}-C_{\min}\leq 3.3CV_{Atyp}Q$ 2个部分: $C_{\max}-C_{\min}\leq 2.8CV_{Atyp}Q$ CV_{Atyp} 为采用方法的典型重复性变异系数 Q =新分析物的平均回收率, 其应该满足附录III	在报告目标水平下添加的分析物在所有检验中均可检测到	在方法确认期间, 使用已建立的 CV_{Atyp} 方法应该仅仅用于有目的使用 (可能错用) 分析物的代表性产品
2.4 待测物检测的专一性和选择性		用MS或可用的分离和检测联合技术确定 预先计划: (1) 分析每组 (可能存在新的待测物) 中一个代表性空白样品 分析含代表性化合物的新的基质 无法预期: (2) 检测空白样品的响应信号 (如果可用), 或用实验室最可用的技术说明响应信号唯一对应的是分析物	测定响应信号对应的是分析物所用检测系统比方法确认期间有同样或更好的检测器 基于两不同色谱柱测定的残留应该在色谱检测临界范围内。在方法确认期间获得代表性分析物相对保留值, 其相对保留值对于GLC应该小于2%, 对于HPLC测定小于5%	在AL的 β 偏差小于5%	如果计划扩展新的分析物, 应该运用方法检查可能含有分析物的所有代表性样品基质 当分析物预期不会检测到时, 仅对实际基质进行检查即可 见1.4条款 空白样品响应信号不得干扰可能在样品中检测到的待测物。报告空白提取物存在的典型峰 新基质提取物的背景噪音应该在代表性产品/样品基质范围内 如果检测选择性不能消除基质响应信号, 用合适色谱柱将基质峰和分析物分离。见附录VI其他部分
2.5 分离选择性	见1.5条款	见1.5条款	见1.5条款	见1.5条款	当信息不可用时, 见1.5条款
2.6 提取效率	见1.8条款	见1.8条款	见1.8条款	见1.8条款	当信息不可用时, 见1.8条款
3. 其他实验室已确认方法的适应					
3.1 化学品、试剂和吸附剂的纯度和适用性		检测试剂空白、吸附剂和试剂的适用性 有无样品下运行衍生化反应	高于0.3LCL 没有干扰信号	高于0.5AL 没有干扰信号	在方法转换过程中最常见的一些问题包括: 试剂、溶剂和色谱的选择以及设备性能等的不同。如果可能尽可能确认方法开发者使用的材料和仪器, 如果方法或接收的出版物不能提供相关信息, 在可能的情况下, 尽量使用方法开发者使用的同类型的材料和设备
3.2 提取物和标准溶液中分析物的稳定性	见1.10条款	见1.1条款	见1.1条款	见1.1条款	如果提供的方法中含有分析物稳定性的完整信息或该方法取代的是以前用来分析分析物和稳定性的方法时该测定可以省略
3.3 校准函数基质效应	LCL 到 2(3) 倍 AL	检测包括在方法中 (≥ 3 个分析水平和 1 个空白) 的代表性检测物的响应函数。对于非线性响应, 在 ≥ 7 个水平和 3 个重复下检测相应值	对于线性校准: 分析标准溶液回归系数 (r) ≥ 0.99 , 相对残留SD ($S_{y/x}$) ≤ 0.1 。对于多项式函数, (r) ≥ 0.98	对于线性校准: 分析标准溶液回归系数 (r) ≥ 0.98 , 相对残留SD ($S_{y/x}$) ≤ 0.2 。对于多项式函数, (r) ≥ 0.95	见1.2条款

续表

参数	水平	分析数目或需要的检测类型	标准		注释
			定量方法	筛选方法	
3.4 分析范围的准确度和精确度、检测限、定量限	空白提取和或AL	测定代表性分析物 / 基体结合的样品：分析添加在 0 和 AL 的空白样品 ≥ 5 个分析部分和 3 个标记在 2AL 的样品。回收率试验应与使用该方法的产品分析者、和在分析过程中所使用的仪器分开	平均回收率和 CV_A 应该在附录 III 所列的范围内	所有的回收率在 LCL 可以检测到 参考材料在 AL：分析物可检测	见 1.3 条款注释
3.5 分析检测的专一性和选择性	在 AL	检查所用检测器的运行特性并将其与方法专一性进行对照。检查每个具有代表性产品空白的响应信号，反之按 1.4 条款的描述进行检测	对应响应信号的分析物应该是唯一的。检测器的性能(敏感性和选择性)应该和方法中的一致或更好。见 1.4 条款	在 AL 的阴性样品 (β 偏差) 一般应小于 5%	特定检测器的相对响应值可能因不同的模式发生变化。正确的验证检测器的专一性是获得可靠结果的关键。对照观察到的空白响应信号和报告的空白提取物的典型峰。见 1.4 条款的其他注释
3.6 分析物的均匀性	在 AL 或容易检测的残留	检测不同性质的两个具有代表性的产品	$CV_{Sp} < 10\%$	$CV_{Sp} < 15\%$ 。对于筛选方法，用预期的残留最高部分是合适的(如柑橘皮)，可不必均质	运行检测以确认应用条件和实验室确定方法的参数适应性的相似性。当测定结果同报道的 CV_{Sp} 值相似时，样品的处理条件可以认为是相似的，不再要求对确定的方法进行进一步的验证
3.7 待测物在提取物和标准溶液中的稳定性	见 1.1 条款	见 1.1 条款	见 1.1 条款	见 1.1 条款	如果提供的方法中含有分析物稳定性的完整信息或该方法取代的是以前用来分析分析物和稳定性的方法时该测定可以省略

附录 III 农药残留分析的实验室确证标准¹⁾

浓度	重复性		重现性		真实性 ²⁾
	$CV_A / \%^{3)}$	$CV_L / \%^{4)}$	$CV_A / \%^{3)}$	$CV_L / \%^{4)}$	平均回收率范围 / %
$\leq 1\mu\text{g/kg}$	35	36	53	54	50~120
$1\mu\text{g/kg} \sim 0.01\text{mg/kg}$	30	32	45	46	60~120
$0.01 \sim 0.1\text{mg/kg}$	20	22	32	34	70~120
$0.1 \sim 1\text{mg/kg}$	15	18	23	25	70~110
$> 1\text{mg/kg}$	10	14	16	19	70~110

注：1) 利用多残留方法，可能有些分析物不能严格符合定量基准。在这种条件下，所得的数据可接受性依据分析的目的而定，例如当进行 MRL 符合性检测时，指定的标准应该尽可能按技术要求进行，然而任何低于 MRL 的具有较高不确定性的数据都是可以接受的。

2) 这些回收率范围对于多残留方法是适合的。对有些目的，一些严格的标准是必要的，如单一分析物的方法或兽药残留。

3) CV_A ：除样品处理过程之外的分析变异系数。该参数可以用于对标准物质或提取前的添加的分析部分所进行的检测进行评价。

4) CV_L ：实验室结果的整体变异系数，包括分析部分间达到 10% 残留变异 (CV_{Sp})。注意：分析部分间的残留变异可以利用对重复样品残留测定的不确定性进行计算： $CV_L^2 = CV_{Sp}^2 + CV_A^2$ 。

附录 IV 运行确认的要求

参数	水平	分析数目或需要的检测类型	标准		注释
			定量方法	筛选方法	
4. 质量控制（运行确认）					
4.1 常规使用方法					
4.1.1 化学品、吸附剂和试剂的适合性		对于每个新的批次：检测试剂空白、吸附剂和试剂的适合性进行无样品的衍生化反应	≥0.3LCL，没有干扰响应	≥0.3AL，没有干扰响应	如果空白样品、校正和回收率是满意的，即可确认试剂等的适合性
4.1.2 校准和分析范围		如果校准曲线的截距接近 0，则可以利用标准混合物的单点校准为定量确认使用多点校准（3×2）	如果分析的标准品和样品提取物间隔进样，而且相对残留的计算 SD 值 ≤ 0.1，分析批次可以被认为在统计控制之下	在 LCL 分析物被检测	标准溶液和样品应该被间隔进样 对于多点校准，在没有自动进样器的情况下，选择适当浓度的标样交叉注入可以节省时间 因为系统响应信号经常变化，多点校准操作一般应该确认截距值接近 0 如果校正物浓度非常接近样品的浓度，对于定量确认，多点校准是不必要的

续表

参数	水平	分析数目或需要的检测类型	标准		注释
			定量方法	筛选方法	
4.1.3 准确度和精密度	在分析范围内	在每一个分析批次内包括标准混合物添加的≥1 个样品，或重复分析有效样品重复部分	检测器和色谱柱的性能应该和方法中的一致或更好 所有的回收率应该在根据 4.5.2 条款建立的控制表警告限范围内 每 20 个或 100 个样品运行阶段，可能会超出警告限和运行限范围。如果任何一个回收率超出运行限或者有效样品重复分析结果超过临界限，应该重复分析批次 $C_{\max} \sim C_{\min} > 2.8 \cdot CV_{Ltyp}Q$ Q 是重复测定的平均残留， CV_{Ltyp} 是在实验室重现性的量，它包括样品处理和分析过程的不确定性		用标准混合物添加分析部分。改变不同批次的标准混合物以获得一定间隔水平下分析物回收率。在 AL 也可 LCL 和 2 倍 AL 下研究不同水平的回收率，确认在分析范围内方法的适用性 在 AL 下研究的多次回收率应该高于其他水平的 2~3 倍 在特定的批次内反复分析有效样品可以代替回收率试验 对于 MRM，从分析物（存在特殊样品）中准备产品 / 样品特定标准混合物 对于实验性确认：准备含有合适的检测混合物的分析批次和样品 在分析批次中，对于定量测定/确认：包括检测混合物、合适数量的校准混合物、添加空白样品，或者一个重复的有效样品和一个新的有效样品 样品和标准交替进样
4.1.4 分离的选择性、检测的专一性检测器的性能		在每一个色谱中，包括合适的检测混合物。在分析批次中，包括无处理的产品（如果能得到），如果没有未处理的样品，使用标准添加（同在分析批次中的标准相似） 确认每个组分和对出现在≥0.7AL 水平的分析物进行定量	检测化合物的 R_s 、 T_f 和检测的 δ 值应该在特定的范围内 对于 GLC 相对保留值应该在 2% 以内，对于 HPLC 相对保留值应该在 5%。检测器的性能应该在特定的范围内。样品共提取物的干扰不应该≥0.3LCL 加标回收率应该在可接受的样品回收率范围内	检测器的性能应该在特定的范围内 对于禁用的化合物，分析物应该在 LCL 或 $CC\alpha$ 之上	有时也被称之为系统适宜性检测 为每个方法准备检测混合物，选择混合物的组分，目的是表明色谱分离和检测系统的特征参数 为了检测混合物和用于校准的分析物组分，调节 RRT 数据库。为监测系统限定 RRF 特性 如果基体效应是主要的，利用在空白基体中准备的分析标准物进行定量确定
4.1.5 样品处理过程的分析物的均匀性	在能很好检出分析物浓度下	随机选择有效样品。重复分析另一个样品或 2 个样品	在不同的 2 日测定残留应该其重复分析部分重现性应在范围内 $C_{\max} - C_{\min} \leq 2.8 \cdot CV_{Ltyp}Q$ Q 是重复测定的平均残留， CV_{Ltyp} 是方法确认期间样品处理过程和分析过程的不确定性		进行选择检测来覆盖每个要分析的产品。在生长季节初期检测均匀性，或者在给定类型的样品分析开始进行检测 可接受的检测结果也可以确定分析物的重现性（ CV_A ）是合适的
4.1.6 提取效率					在分析过程中不能控制提取效率。为确保合适的效率，已确定的提取过程不能进行任何改变
4.1.7 分析持续时间			样品、提取物等贮藏时间不能比方法确定时样品稳定性测定的时间长。贮藏条件一般要定期进行监测和记录		附录 I 列出了需要额外的贮藏稳定性测定的例子
4.2 偶尔检测到分析物					
除下面内容外，依照 4.1 条款描述的检测					
4.2.1 准确度和精密度	在 AL 附近	对另外的分析部分进行再分析 在分析物水平上添加标准物	在不同的两天测定的残留应该在临界范围内 $C_{\max} \sim C_{\min} \leq 2.8 \cdot CV_{Ltyp}Q$ Q 是重复测定的平均残留， CV_{Ltyp} 是在方法确定时获得的相关的标准添加物回收率应该在运行范围内		如果发现残留≥0.5AL 时，检测准确度
4.3 在非正常时间间隔内使用的方法					
除下面内容外，依照 4.1 条款描述的检测					
4.3.1 准确度和精密度（重复性）	在 AL 和 LCL	在每个分析批次，在 LCL 的添加样和在 AL 的两个样品。如果未处理样品（与被分析的部分相似）不可用，使用标准添加样品 分析≥2 个分析部分	最少有 2 个回收率在警告限内，一个在运行限内重复部分的残留测定应该在临界范围内 $C_{\max} \sim C_{\min} \leq 2.8 \cdot CV_{Ltyp}Q$ 或 $C_{\max} \sim C_{\min} \leq f_{(n)} \cdot CV_{Ltyp}Q$ Q 是重复测定的平均残留， CV_{Ltyp} 是在方法确定时获得的， $f_{(n)}$ 是极端变化范围因子，同重复样品的数量相关		可接受的结果也可以提供所使用的化学品、吸附剂及试剂的适用性 确定残留 在 0.5AL 以上 如果运行标准不满意，应该实践方法运行，它的运行特点（Q， CV_{Atyp} ， CV_{Ltyp} ）应在方法部分再确认时确定
4.4 方法执行中的变化					
变化	将被检测的参数		对于检测方法和可接受性标准见附录 I 相应部分		
4.4.1 色谱柱	检测分离的选择性、分辨能力、惰性及 RRT 值		应不影响运行特性		使用合适的检测混合物获得柱性能的信息

续表

参数	水平	分析数目或需要的检测类型	标准		注释
			定量方法	筛选方法	
4.4.2 样品处理设备	处理样品的均匀性 分析物的稳定性		按 1.6 条款和 1.7 条款描述进行检测，它们应该给出和相关标准相符的结果		当粉碎或混合程度比原有设备差时，需要进行均匀性测定。如果处理时间延长、温度升高，需要测定分析物的稳定性
4.4.3 提取设备	用 5 个重复对比新旧仪器检测残留的区别		在 $P=0.05$ 水平，平均残留不应该有重要的差异		使用新型号的仪器需要进行检测
4.4.4 检测	检测分离的选择性和检测的选择性和敏感性		运行特征应该同方法中的相同或更好		使用新的检测试剂时，也需要单独测定检测能力
4.4.5 分析者	在每个水平进行 ≥ 5 个回收率检测 [LCL、AL 和 2(3)AL]，重新分析 1 个空白样品和两个有效样品		所有的结果应该在实验室方法制定的警告限内 重复样品分析应该在临界限内		这是一个最低要求。某些研究残留领域的实验室使用更详细的方法，包括：(1) 在可接受的标准内产生标准曲线；(2) 对每个基质至少进行 2 个分析，包括最少 3 个水平重复加标的具有代表性的分析物；(3) 至少 1 个分析运行，含有一个加标样品，3 个水平的重复，提供给不知情的分析者。所有结果必须同可接受标准相符，或可被重复
4.4.6 实验室	不同的分析者在不同日期进行 ≥ 3 个回收率检测 (LCL、AL 和 2(3)AL)，确定准确性和精确性		所有的结果应该在实验室方法制定的警告限内		在新的条件下，一定要建立方法的重现性，如果可能需要多个分析者进行

附录 V 农药残留分析过程确证的代表性产品/样品

产品组	一般特征	产品分类	代表性品种
植源性产品			
I.	水分和叶绿素含量高	芸薹（油菜）类蔬菜 叶菜类蔬菜 饲用蔬菜	菠菜或莴苣 椰菜、甘蓝、羽衣甘蓝 青豆
II.	水分含量高，叶绿素含量低或无	仁果类水果 核果类水果 浆果 小水果类 果菜类蔬菜 根菜类蔬菜	苹果、梨 桃、樱桃 草莓 葡萄 番茄、胡椒、瓜、蘑菇 马铃薯、萝卜、欧芹
III.	含酸量高	柑橘	橘子、柠檬
IV.	含糖量高		葡萄干、枣
V.	含油（或脂肪）量高	油料种子 坚果	鳄梨、向日葵子 胡桃、美洲山核桃 阿月浑子
VI.	干燥	谷物类 谷物产品	小麦、水稻和玉米 小麦麸、小麦粉
	需要单独检验的产品		如大蒜、蛇麻草、茶、调料、酸果蔓
动源性产品			
		肉类	牛肉、鸡肉
		可食性器官	肝、肾
		脂肪	肉的脂肪
		乳品	牛乳
		蛋	鸡蛋

注：每组产品应该用代表性农药进行方法确认。应该单独检验很难分析的产品。

附录 VI 适合于物质确证分析的检测方法举例

检测方法	标准
LC或GC和质谱	若可以检测大量的诊断离子
LC-DAD或扫描UV	若紫外光谱是特征性的
LC-荧光	结合其他技术
2-D TLC-分光光度法	结合其他技术
GC-ECD、NPD、FPD	仅仅结合2或更多分离技术 ¹⁾
衍生化方法	若其不是最初选择的方法
LC-免疫技术	结合其他技术
LC-UV/VIS（单波长）	结合其他技术

注：1) 其他色谱系统（应用不同选择性的固定相和/或流动相）或其他技术。

附录VII 术语表

接受限 [accepted limit (AL)]	为达到分析目的规定的待测物相关监督限或指导值的待测物浓度，如MRL、MPL；商业标准、目标浓度限值（日常暴露评价）、允许水平（环境）等 对于没有MRL的物质或不被禁止的物质可以没有AL（它可能是零或没有限制）或在目标浓度以上的残留应该进行确认（控制限或管理限）
准确度 (accuracy)	检测结果和可接受的参考值之间的接近程度
α 偏差 [alpha (α) error]	当测定一个或多个分析部分显示浓度超出一个特定值（例如AL）时，实验室样品中分析物的真实浓度低于该特定值（假阳性）的概率则为 α 偏差。通常这个概率的可接受值是1%~5%
分析物（待测物） (analyte)	样品中发现或检测到的化学物质
分析物均匀性[analyte homogeneity (in sample)]	分析物在基质中分散的均匀性。处理过程引起的分析结果的变异依赖于分析部分的大小。样品常数描述了充分均匀的分析样品中分析部分大小和期望变异之间的关系： $K_S=w(CV_{Sp})$ ，其中w是分析部分质量， CV_{Sp} 是从分析样品中取出的分析部分[w (g)]的残留变异系数
分析部分 (analytical portion)	从分析样品中取出的有代表性、大小合适的、用于测定残留浓度的部分
分析样品 (analytical sample)	自实验室样本制备的、为降低定量分析样品取样误差，以混匀、碾碎、切碎等步骤所制备的、可从中取出用于分析的部分
适用性 (applicability)	一个分析方法对特定分析物、基质和浓度的满足程度
β 偏差[beta (β) error]	当测定一个或多个分析部分显示浓度不超出某一特定值（如AL）时，实验室样品中待测物的真实浓度高于该特定数值（假阴性）的概率为 β 偏差。通常这个概率的可接受值是1%~5%
偏差 (bias)	分析物测定平均值与样品可接受参考值之间的差异。偏差是与随机误差相对应的系统误差的总和。一个或多个系统误差组成偏差。与可接受参考值之间的系统误差大即有大的偏差值
产品组 (commodity group)	用于方法分析的具有足够相似的化学特性的食品或动物饲料。产品特性可以基于主要成分（例如水分、脂肪、糖和酸含量）或生物关系，也可以按照某些规则来定义
确证方法 (confirmatory method)	提供完整或补充信息在确定的可接受水平（在接受限或引起注意水平）鉴别出分析物的方法。要提供分析物化学特性的信息，更可取的确证方法是光谱技术。如果单个技术缺乏足够具体信息，可以用其他净化、色谱分离和选择性检测器等附加过程获得确证 除分析物组分确证外，其浓度也需要确证。这可以用另一分析部分分析和/或用另一种合适方法（例如不同色谱柱和/或检测器）对初始分析部分进行再分析。如果合适，定量和定性确证可以用同一个方法运行
确定限 [decision limit(CC α)]	在超出 α 偏差（假阳性）概率的样品中，存在分析物可确定的浓度的限值。当待测物在0AL时，CC α 是在统计学上1- α 可信度下确认分析物存在所能区分的最低浓度水平。在一些特定情况下（通常 $\alpha=1\%$ ），CC α 等同于LOD 对于已有AL的待测物，CC α 是基准浓度，在这个浓度以上，且在统计学上达到1- α 的可信度，则可用于确证分析物含量是否确实在AL以上
检测能力 [detection capability(CC β)]	对于有 β 偏差（假阴性）的样品，可检测、定性和定量分析物的最小真实浓度。禁用物质的CC β 是最低浓度，在此情况下能在统计1- β 可信度下方法能测定待测物。当物质是在MRL时，CC β 是在统计1- β 可信度下方法能检测的超过MRL的浓度 当应用最低检测浓度时，这个参数的目的是提供LOQ的相关信息，但是CC β 一直与检测特定统计可信度相关，并且高于LOQ
检验测试混合物 (detection test mixture)	适用于检查色谱分离和检测条件的分析标准混合物。检验测试混合物应该包括提供检测器选择性和响应因子，柱惰性（如用拖尾因子来特征化）和分离能力（Rs），以及RRt值重现性信息的分析物
假阴性结果 (false negative result)	见 β 偏差
假阳性结果 (false positive result)	见 α 偏差
特定类残留方法 (group specific method)	设计用来检测有相同官能团或相似化学结构（例如苯乙酸、二硫代氨基甲酸盐和氨基甲酸盐）的物质的方法
遭受残留 (incurred residue)	基质中含有常规情况引起的，一般可预期的痕量水平的分析物残留，与实验室添加残留相对应。也称额外残留（weathered residue）
独特方法 (individual method)	适合于测定一个或更多特定化合物的方法。如测定包括在一种独特农药或兽药残留定义内的一些代谢产物，需要单独用一种独特的方法来检测
实验室样品 (laboratory sample)	在实验室接收的样品（不包括包装）
检测限 [limit of detection(LD)]	分析物能被分辨的最小浓度。在说明检测条件时，用可接受精密性（重现性）和准确性的测定条件，一般定义为测定的检测样品中分析物的最小浓度。见检测能力
最低校准水平[lowest calibration level (LCL)]	检测系统校准中检测和测定的最低浓度。可以表达成检测样品溶液浓度或质量，必须不包括空白中组分
基质 (matrix)	分析研究用的材料或样品组分，不包括分析物
基质空白 (matrix blank)	包含含量在检测水平以下的分析物的样品材料
基质匹配的校准 (matrix-matched calibration)	用待测产品（或代表性产品）提取物制备的标准进行校准。目的是补偿测定系统中提取物的效应。这种效应经常是无法预计的，但当共提取物效应不重要时，基质匹配是不需要的
方法 (method)	从样品接收到分析直至最终结果产生的一系列过程
方法确认 (method validation)	验证方法适合分析目的的确证过程
多残留方法 (multi residue method, MRM)	适用于一系列分析物定性和定量分析的方法，通常也适用于多种不同的基质

续表

阴性结果 (negative result)	表示分析物不存在或浓度没有达到LCL的结果（也见检测限）
运行确认（performance verification）	分析一系列样品以支持正在进行的分析是有效的过程所产生的一系列质量控制数据
阳性结果 (positive result)	表示分析物浓度达到或超过LCL的结果（也见检测限）
精密度（precision）	在规定条件下独立检测结果之间的接近程度
定量方法（quantitative method）	满足精密度和准确度要求、适合目的、产生的结果以数值形式（适当的单位）表示的方法 精密度和准确性程度必须满足表3规定的标准
回收率 (recovery)	对添加已知浓度（标记样品或参考物质）分析物的空白样品，通过提取和分析得到的分析物浓度占添加浓度的百分数
试剂空白 (reagent blank)	为质量控制目的进行的不包括样品材料的全过程分析
参考物质 (reference material)	一个或多个分析物浓度充分均匀分布和制备的材料，用于测定方法的评价或给其他材料定值。本标准中所述的“参考物质”不包括用于仪器校准的材料
参考方法 (reference method)	通过已建的准确性、专一性、精密度和检测能力参数证明具有可靠特征的定量分析方法。这些方法一般已经进行了合作性研究，且一般基于分子波谱。参考方法仅仅在合适QA机制下完成时是有效的
参考程序 (reference procedure)	已建立的有效的程序。理论上，参考程序应该是高效率的，且与检验程序完全不同，参考程序是不可用的
重复性 (repeatability)	在重复条件下的精密度，如在很短的时间间隔内，在同一个实验室，由同样操作人员、用相同的仪器、相同的方法重复检测相同的分析部分获得独立的检验结果（ISO3534-1）
代表性分析物（representative analyte）	从一组具有相似特性的分析物中选择出的一种分析物，它在这组分析物中具有代表性，这种相似的物理化学特性在多残留分析方法中能够体现出来，如结构、水溶性、Kow、极性、挥发性、水解稳定性、pKa等判断
代表分析物（represented analyte）	其物理化学特性在代表性分析物的特性范围内的分析物
重现性（reproducibility）	不同的操作人员用不同的仪器（相同实验室内）、相同方法分析同样的分析部分获得结果的接近程度。相似地，当在不同实验室检测运行时得到实验室间重现性
代表性产品（representative commodity）	为了方法确证而代表一组产品的单个食品或饲料。产品代表性基于相似的样品组分，如水分、脂肪、酸、糖和叶绿素含量或相似的生物组织等
耐检性 (ruggedness)	当环境、方法过程、实验室、人员等发生很小的改变时，检测结果对化学测定过程改变的耐受能力
样品制备（sample preparation）	如果需要，通过去除不包括在分析内的部分（土壤、石头、骨头等）把实验室样品转换成分析样品的过程
样品处理（sample processing）	在拿出分析部分以前，用于使分析物均匀分布的分析样品制备过程，例如切、磨碎、混匀等过程。每个处理过程必须避免分析物浓度的变化
筛选方法 (screening method)	用于检测在最低浓度及其以上的一个或一类分析物存在的方法。应在其置信水平下（一般 $\beta=5\%$ ）避免产生假阴性结果。定性的结果需要用确认方法或参考方法确证。见检测限或检测能力
选择性（selectivity）	通过分离（如色谱）或检测系统相对响应把分析物从其他样品组分中区分出来的难易程度
专一性（specificity）	从检测系统输出的检测信号被认为是分析物专有特征的程度
加标 (standard addition)	添加已知量分析物到包含分析物的样品提取物中（它的起始测定浓度是X）形成新的浓度（例如1.5X和2X）。测定添加的提取物和原始提取物产生的分析信号，原始提取物中（0添加）分析物浓度可以从反应曲线的斜率和截距测得
拖尾因子 (tailing factor)	色谱峰的不对称性的程度：垂直分割最大峰时，峰高10%处的前沿峰宽与后沿峰宽的比值
检测部分 (test portion)	见“分析部分”
检测样品 (test sample)	见“分析样品”
真实性（trueness）	从大量检测结果获得的平均值和可接受参考值的接近程度
测定不确定度 (uncertainty of measurement)	在规定概率下期望的真值范围内，表示测定结果在真值概率范围内的一个参数（通常标准偏差或置信区间）。应该考虑所有结果认可的效应，包括整个方法的长期精密度（实验室内重复性）、方法偏差、副样和校准的不确定性以及结果变异的其他来源

附录VIII 缩略语

C _{max}	分析部分中检测到的最高残留量	MRM	多残留分析方法
C _{min}	分析部分中检测到的最低残留量	RRF	相对响应因子
CV _{Any}	一个分析部分残留检测的典型变异系数	RRt	峰相对保留值
CV _{Lsp}	实验室样品残留分析的典型变异系数	Rs	两色谱峰的分离度
CV _{Sp}	分析部分残留变异系数	SD	标准偏差
GLP	良好实验室操作规范	S _{v/x}	以线性校正函数计算残留量的标准偏差
GSM	特定类残留方法	WHO	世界卫生组织
MRL	最大残留限量		

（李振、平立凤、吴珉 编写）