ICS 67.120.30
B 50
备案号：54193-2017

DB22

吉　林　省　地　方　标　准

DB 22/T 2516—2016

水产品药物残留检测新方法验证规范

Verification criterion for detection methods of drug residues in aquatic products

本标准仅供内部使用　不得翻印
本标准仅供内部使用　不得翻印

2016－12－09 发布　　2017－03－01 实施

吉林省质量技术监督局　发布

前　言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 和 GB/T 20001.4-2015 给出的规则起草。

本标准由吉林省水利厅提出并归口。

本标准起草单位：吉林省水产科学研究院。

本标准主要起草人：王文兰、郭军、鞠松柏、杜晓燕、刘慧吉、马驰、赵全东、范立和。

本标准仅供内部使用 不得翻印
本标准仅供内部使用 不得翻印

水产品药物残留检测新方法验证规范

本标准仅供内部使用 不得翻印

1 范围

本标准规定了鲜、活水产品药物残留检测新方法的术语和定义、基本要求、验证指标要求、验证方法和验证结论。

本标准适用于鲜、活水产品中允许使用、限量使用和禁止使用药物残留检测新方法的验证。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 3358.2 统计学词汇及符号 第2部分：应用统计

GB/T 6379.1 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）第1部分：总则与定义

GB/T 6379.6 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）第6部分：准确度值的实际应用

GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测

NY/T 1896-2010 兽药残留实验室质量控制规范

NY 5071 无公害食品 渔用药物使用准则

农业部公告第193号 关于发布《食品动物禁用的兽药及其他化合物清单》的通知

农业部公告第235号 动物性食品中兽药最高残留限量

农业部公告第560号 兽药地方标准废止目录

3 术语和定义

GB/T 3358.2、GB/T 6379.1 中确立的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

药物残留 residues of fishery drugs

在水产品的任何食用部分中药物的原型化合物或/和其代谢产物，并包括与药物本体有关杂质的残留。

3.2

方法检出限 method detection limit

用特定分析方法在给定的置信度内可从样品中定性检出待测物质的最低浓度或最小量。

3.3

方法定量限 method quantitative detection limit

用特定分析方法在给定的置信度内可从样品中定量检出待测物质的最低浓度或最小量。

3.4

精密度 precision

在规定条件下，独立测试结果间的一致程度。

[GB/T 6379.1-2004，定义3.12]

3.5

正确度 trueness

测试结果或测量结果期望与真值的一致程度。

[GB/T 3358.2-2009，定义3.3.3]

3.6

重复性限 repeatability limit

指定概率为95%的重复性临界差。

[GB/T 3358.2-2009，定义3.3.9]

3.7

再现性限 reproducibility limit

指定概率为95%的再现性临界差。

[GB/T 3358.2-2009，定义3.3.14]

4 基本要求

4.1 水产品药物残留检测新方法的验证应能够证实方法适用于水产品中特定药物的残留检测，应首先在方法建立时完成。

4.2 新方法的验证包括实验室内验证试验和实验室间验证试验。

4.3 验证试验应在方法的线性工作范围内，对方法适用的水产品样品范围和所有目标残留药物进行验证复核试验，并产生相应的验证数据。

4.4 验证内容应涵盖方法适用的样品范围、目标组份种类，还应包含但不仅限于校准曲线及其工作范围、正确度、精密度、检出限和定量限。

4.5 验证方法应按第 6 章内容进行，验证数据的记录参见附录 A 相应表格。

4.6 验证实验数据应按 GB/T 6379.6 规定进行可接受性检验、异常值剔除等统计处理，应说明数据统计处理过程和结论。

4.7 各项验证指标应使用满足 4.6 要求的数据进行计算（计算方法见附录 B），应说明各项验证指标的计算过程和计算结果。

4.8 各项验证结果应按第 5 章规定的验证指标要求进行评估，说明各项验证指标的评估结论。

4.9 应根据方法验证数据以及统计、分析、评估和验证结论形成方法验证报告，验证报告内容参见附录 A。

5 验证指标要求

5.1 校准曲线及工作范围

水产品药物残留检测方法如果采用校准曲线法进行分析物的定量，校准曲线及工作范围应符合GB/T 27404-2008 附录F中F.2的规定。

5.2 正确度

水产品药物残留检测方法的正确度以回收率表达时应符合NY/T 1896-2010 附录D中表D.2的规定。

5.3 精密度

本标准仅供内部使用 不得翻印

水产品药物残留检测方法的重复性精密度和再现性精密度均应符合NY/T 1896-2010 附录D中表D.3相关规定。

5.4 检出限和定量限

水产品药物残留检测方法的检出限和定量限应符合NY/T 1896-2010 附录D中D.1的规定。

6 验证方法

6.1 校准曲线及工作范围

6.1.1 应在检测方法规定的工作范围内均匀布置校准曲线的各个浓度点，浓度点个数不少于5个（不包括空白），校准点浓度应包括定量限浓度、日常检测平均浓度、工作范围最高点浓度等。每个浓度点的测定次数至少要重复测定2次。

6.1.2 应给出校准曲线的线性回归方程、相关系数和工作范围，相关测试数据和汇总数据格式分别参见表A.1和表A.5。

6.1.3 应在校准曲线及工作范围的汇总数据中对数据处理和计算结果进行说明。

6.1.4 校准曲线及工作范围的验证结果应符合5.1要求。

6.2 正确度

6.2.1 检测方法的正确度通过测定空白基质中加入已知量目标组分的回收率获得，按不同的添加浓度所得回收率范围分别表达。

6.2.2 方法适用的每种试材和每种目标组份均应做回收率实验，每一组同样基质的样品均应进行每种目标组份的三个水平添加：

a) 对于禁用物质，回收率在方法定量限、两倍方法定量限和十倍方法定量限进行三水平试验；
b) 对于已制定最高残留限量（MRL）的，一般在方法定量限、MRL、选择合适的点进行三水平试验；
c) 对于未制定MRL的，回收率在方法定量限、常见限量指标、选一合适点进行三水平试验。
d) 每一水平不少于3批（每批代表1次单独试验），每一批至少6个样品。

6.2.3 应给出所有正确度验证试验的测试数据和汇总数据，相关测试数据和汇总数据格式分别参见附录A中表A.2和表A.6。

6.2.4 正确度相关数据的计算按附录B中B.1规定进行。

6.2.5 应在正确度汇总数据中对数据处理和计算结果进行说明。

6.2.6 正确度验证结果应符合5.2要求。

6.3 精密度

6.3.1 重复性

6.3.1.1 重复性验证时测试在同一实验室，由同一操作者使用相同设备、按相同的测试方法，并在短时间内从同一被测对象取得相互独立测试结果的一致性程度。

6.3.1.2 方法适用的每种试材和每种目标组份均应在重复性条件下进行重复性试验，每一组同样基质的样品均应进行每种目标组份的三个水平添加试验，添加水平及重复次数按6.2.2进行。

6.3.1.3 应给出所有重复性精密度验证试验的测试数据和汇总数据，相关测试数据和汇总数据格式分别参见附录A中表A.3和表A.7。

6.3.1.4 重复性精密度相关数据的计算按附录B中B.2规定进行。

6.3.1.5 应在精密度汇总数据中对重复性精密度数据处理和计算结果进行说明。

本标准仅供内部使用 不得翻印

6.3.1.6　重复性精密度验证结果应符合 5.3 相关要求。

6.3.2　再现性

6.3.2.1　再现性验证是测试在不同实验室，由不同操作者按相同的测试方法，从同一被测对象取得相对独立的测试结果的一致性程度。

6.3.2.2　实验应在不同实验室间进行，实验室个数不少于 3 个（不包括标准起草单位），尽可能选择通过资质认定的实验室。

6.3.2.3　方法适用的每种试材和每种目标组份均应在再现性条件下进行再现性试验，每一组同样基质的样品均应进行每种目标组份的三个水平添加试验，添加水平及重复次数按 6.2.2 进行。

6.3.2.4　应给出所有再现性精密度验证试验的测试数据和汇总数据，相关测试数据和汇总数据格式分别参见附录 A 中表 A.3 和表 A.7。

6.3.2.5　再现性精密度相关数据的计算按附录 B 中 B.3 和 B.4 的规定进行。

6.3.2.6　应在精密度汇总数据中对再现性精密度数据处理和计算结果进行说明。

6.3.2.7　再现性精密度验证结果应符合 5.3 相关要求。

6.4　检出限和定量限

6.4.1　应结合检测方法的特点研究检出限和定量限，对于能够显示基线噪音的仪器分析方法，通常将已知低浓度试样测出的信号与空白样品测出的信号进行比较，计算出能被可靠检测出的最低浓度或量。一般以信噪比为 3:1 时相应的浓度或注入仪器的量确定方法检出限，一般以信噪比为 10:1 时相应的浓度或注入仪器的量确定方法定量限。

6.4.2　验证时应在给出的检出限和定量限浓度水平上，对每一组同样基质的样品进行每种目标组份的标准添加实验，重复次数按 6.2.2 进行。

6.4.3　应给出检出限和定量限验证试验的测试数据和汇总数据，数据格式分别参见附录 A 中表 A.4 和表 A.8。

6.4.4　检出限和定量限验证相关数据的计算按附录 B 相关规定进行。

6.4.5　最终方法的检出限应为各验证实验室所得数据的最高值。

6.4.6　方法定量限验证的正确度和精密度应满足 5.2 和 5.3 的要求。

7　验证结论

7.1　应说明验证试验是否符合第 6 章要求。

7.2　应说明验证数据异常值的解释、更正或剔除情况及理由。

7.3　应说明方法各验证指标的最终结果。

7.4　应依据第 5 章的验证指标要求对各项验证结果给出符合性评估结论。

7.5　应说明方法验证的检出限和测定范围是否符合农业部公告第 193 号、第 235 号、第 560 号及 NY 5071 规定的兽（渔）药残留限量要求。

7.6　如果验证过程涉及方法的特异性、耐用性、稳定性等指标，应说明验证结果及符合性评估结论。

7.7　方法验证各项指标符合本标准 7.1～7.5 要求则方法评估为适用。

本标准仅供内部使用　不得翻印

附 录 A
（资料性附录）
方法验证报告内容要求

A.1 验证报告内容

验证报告应包括但不仅限于参加验证人员情况、使用仪器情况、使用试剂情况、主要实验过程、主要验证指标、验证原始数据、验证汇总数据、验证数据异常值的处理、验证数据可接受性检验、各项验证指标的计算、评估以及验证结论等。

A.2 验证数据、处理和结果

A.2.1 原始测试数据

A.2.1.1 校准曲线及工作范围测试数据见表A.1。

表A.1 校准曲线及工作范围测试数据

第i个实验室	序号	标准溶液浓度（单位）x	响应值y
目标组分名称	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
线性回归方程 $y=a+bx$			
工作范围（单位）			
相关系数r			
注：x—目标组分标准溶液浓度，横坐标上的值； y—响应值，纵坐标上的值； a—直线在y轴上的截距。 b—直线斜率。			

A.2.1.2 方法正确度测试数据见表A.2。

本标准仅供内部使用 不得翻印

表A.2　方法正确度测试数据

平行样品编号		试样名称（单位）			
		加标量 μ 1	加标量 μ 2	加标量 μ 3	样品空白 x
测试结果 y（单位）	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
平均值 $\overline{x_i}$，　$\overline{y_i}$（单位）					
标准偏差 S_i（单位）					
加标回收率　P_i					
相对标准偏差 RSD_p					
注1：$\overline{x_i}$ 为样品空白测试均值，　$\overline{y_i}$ 为加标样品测试均值。 注2：i 为实验室序号。					

A.2.1.3　方法精密度测试数据见表A.3

表A.3　精密度测试数据

平行样品编号		试样名称			备注
		加标量 1	加标量 2	加标量 3	
测试结果（单位）	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
平均值 $\overline{x_i}$（单位）					
标准偏差 S_i（单位）					
相对标准偏差 RSD_i					
注：i 为实验室序号。					

本标准仅供内部使用　不得翻印

A.2.1.4　方法检出限和定量限测试数据见表A.4。

表A.4　方法检出限和定量限测试数据

平行样品编号		试样名称		备注
		检出限浓度/含量（单位）	定量限浓度/含量（单位）	
测定结果（单位）	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
平均值 $\overline{x_i}$（单位）				
标准偏差 S_i（单位）				
相对标准偏差 RSD_i				
检出限（单位）				
定量限（单位）				
注：i 为实验室序号。				

A.2.2　验证数据汇总、处理和结果

A.2.2.1　校准曲线及工作范围汇总数据、数据处理及结果见表A.5。

表A.5　校准曲线及工作范围汇总数据

实验室号 i	目标组分名称	线性回归方程 $y=a+bx$	工作范围（单位）	相关系数 r
1				
2				
3				
4				
注：x—目标组分标准溶液浓度，横坐标上的值； y—响应值，纵坐标上的值； a—直线在y轴上的截距。 b—直线斜率。				
数据处理及结果：				

A.2.2.2　方法正确度汇总数据、数据处理及结果见表A.6。

本标准仅供内部使用　不得翻印

表A.6　方法正确度汇总数据

实验室号	试样名称		
	加标量 μ1（单位）	加标量 μ2（单位）	加标量 μ3（单位）
	P_i	P_i	P_i
1			
2			
3			
4			
$\overline{P}$			
相对标准偏差 RSD_p			
数据处理及结果：			

A.2.2.3　方法精密度汇总数据、数据处理及结果见表A.7。

表A.7　精密度汇总数据

实验室号	试样名称								
	加标量1			加标量2			加标量3		
	$\overline{x_i}$	S_i	RSD_i	$\overline{x_i}$	S_i	RSD_i	$\overline{x_i}$	S_i	RSD_i
1									
2									
3									
4									
$\overline{\overline{x}}$									
S									
RSD									
重复性限 r									
再现性限 R									
数据处理及结果：									

A.2.2.4　方法检出限、定量限汇总数据、数据处理及结果见表A.6。

本标准仅供内部使用　不得翻印

表A.8　方法检出限、定量限汇总数据

实验室号	试样名称	
	检出限 （单位）	定量限 （单位）
1		
2		
3		
4		
数据处理及结果：		

本标准仅供内部使用 不得翻印
本标准仅供内部使用 不得翻印

附 录 B
（规范性附录）
准确度的表示和计算

B.1 正确度

对某一水平浓度的样品进行*l*个实验室的加标回收验证试验，每个实验室平行测定n次，按如下公式进行加标回收率的计算：

$$P_i = \frac{\overline{y_i} - \overline{x_i}}{\mu} \times 100\% \quad \text{(B.1)}$$

$$\overline{P} = \frac{\sum_{i=1}^{l} P_i}{l} \quad \text{(B.2)}$$

$$S_{\bar{p}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{l} \left(P_i - \overline{p}\right)}{l-1}} \quad \text{(B.3)}$$

$$RSD_p = \frac{S_{\bar{p}}}{\overline{P_i}} \times 100\% \quad \text{(B.4)}$$

式中：

$\overline{x_i}$ ——第i 个实验室对某一类型空白样品测试的平均值；

$\overline{y_i}$ ——第i 个实验室对该类标准添加样品测试的平均值；

μ ——目标组分的加标量；

P_i ——第i 个实验室的加标回收率；

$\overline{P}$ ——l 个验证实验室加标回收率均值；

$S_{\bar{p}}$ ——l 个验证实验室加标回收率标准偏差；

RSD_p ——l 个验证实验室加标回收率的相对标准偏差。

B.2 重复性精密度

当重复性精密度以重复性相对标准偏差表示时，对某一水平浓度的样品在第i 个实验室内进行n 次行测定，重复性相对标准偏差按如下公式计算：

本标准仅供内部使用 不得翻印

$$\overline{x_i}=\frac{\sum_{k=1}^{n}x_k}{n} \quad \text{(B.5)}$$

$$S_i=\sqrt{\frac{\sum_{k=1}^{n}\left(x_k-\overline{x}\right)^2}{n-1}} \quad \text{(B.6)}$$

$$RSD_i=\frac{S_i}{\overline{\overline{x}}}\times 100\% \quad \text{(B.7)}$$

式中：

x_k——第i个实验室内对某一浓度水平样品进行的第k次测试结果；

$\overline{x_i}$——第i个实验室对某一浓度水平样品测试的平均值；

S_i——第i个实验室对某一浓度水平样品测试的标准差；

RSD_i——第i个实验室对某一浓度水平样品测试的相对标准偏差。

B.3 再现性精密度

当再现性精密度以再现性相对标准偏差表示时，对某一水平浓度的样品在l个实验室内进行测定，再现性相对标准偏差按如下公式计算：

$$\overline{\overline{x}}=\frac{\sum_{i=1}^{l}\overline{x_i}}{l} \quad \text{(B.8)}$$

$$S=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{l}\left(\overline{x_i}-\overline{\overline{x}}\right)^2}{l-1}} \quad \text{(B.9)}$$

$$RSD=\frac{S}{\overline{\overline{x}}}\times 100\% \quad \text{(B.10)}$$

式中：

$\overline{x_i}$——第i个实验室对某一浓度水平样品测试的平均值；

$\overline{\overline{x}}$——l个实验室对某一浓度水平样品测试的平均值；

S——实验室间标准差；

RSD——实验室间相对标准偏差。

本标准仅供内部使用 不得翻印

B.4 重复性限和再现性限

当重复性精密度和再现性精密度分别以重复性限和再现性限表示时，对某一水平浓度的样品进行l个实验室的验证试验，每个实验室平行测定n次，重复性限r和再现性限R按如下公式进行计算：

$$S_r=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{l}S_i^{\,2}}{l}} \quad \text{(B.11)}$$

$$S_L=\sqrt{\frac{l\sum_{i=1}^{l}\overline{x_i}^{\,2}-\left(\sum_{i=1}^{l}\overline{x_i}\right)^2}{l(l-1)}-\frac{S_r^{\,2}}{n}} \quad \text{(B.12)}$$

$$S_R=\sqrt{S_L^{\,2}+S_r^{\,2}} \quad \text{(B.13)}$$

$$r=2.8\sqrt{S_r^{\,2}} \quad \text{(B.24)}$$

$$R=2.8\sqrt{S_R^{\,2}} \quad \text{(B.35)}$$

式中：

$\overline{x_i}$——第i个实验室对某一浓度水平样品测试的平均值；

S_i——第i个实验室对某一浓度水平样品测试的标准差；

S_r——重复性标准差；

S_R——再现性标准差；

S_L——实验室间标准差；

l——参加验证实验的实验室总数；

n——每个实验室对某一浓度水平样品进行平行测定的次数，n=6；

r——重复性限；

R——再现性限。

本标准仅供内部使用 不得翻印