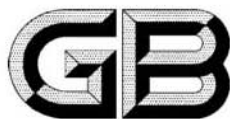


ICS 65.120
B 46



中华人民共和国国家标准

GB/T 23182—2008

饲料中兽药及其他化学物检测试验规程

Procedure for veterinary drug and other chemicals
determination in feeds

2008-12-31 发布

2009-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本标准负责起草单位:中国农业大学动物医学院、中国兽医药品监察所。

本标准主要起草人:沈建忠、徐士新、张素霞、程林丽、常碧影、吴聪明、江海洋。

饲料中兽药及其他化学物检测试验规程

1 范围

本标准规定了对饲料中药物、微量化学添加剂和化学污染物检测试验的基本要求(包括检测方法确立、检测方法性能检验、标准曲线制作、检出物确证、结果计算与表述、试验报告撰写等)。

本标准适用于指导配合饲料、浓缩饲料及添加预混合饲料中兽药、违禁使用药物及其他化学污染物的仪器分析试验。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 14699.1 饲料 采样(GB/T 14699.1—2005,ISO 6497:2002,IDT)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

灵敏度 sensitivity

分析方法对单位浓度或单位量待测物变化可产生的响应量的变化程度。

3.2

检测限 limit of detection:LOD

分析方法在给定的置信度内可以从样品背景信号中检出被测物的最低量(或最低浓度),但不一定准确定量。

3.3

定量限 limit of quantification:LOQ

分析方法在满足定量要求(精密度及准确度)的前提下,能定量测出样品中被测物的最低量(或最低浓度)。

3.4

准确度 accuracy

样品中待测物测定值(结果)与被测量真值或约定真值间的一致程度。

3.5

回收率 recovery

已知确切含量样品中的待测物或添加到空白样品中的测试物测定值占其真实值的百分比。

3.6

精密度 precision

分析方法重复测定同一样品所得测定值间的一致程度。

3.7

相对标准偏差 relative standard deviation:RSD

变异系数 coefficient of variation:CV

多次测定值的标准差(SD)与算术平均值的百分比。

3.8

重复性 repeatability

在重复性条件下,相互独立的测试结果之间的一致程度。

3.9

重复性条件 repeatability conditions

在同一实验室,由同一操作者使用相同设备和试剂,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结果的条件。

3.10

再现性 reproducibility

在再现性条件下,测试结果之间的一致程度。

3.11

再现性条件 reproducibility conditions

在不同的实验室,由不同的操作者使用不同的设备和试剂,按相同的测试方法,从同一被测对象取得测试结果的条件。

3.12

线性范围 linear range

被测物浓度与仪器响应值呈线性关系并且能满足定量要求(精密度和准确度)的浓度范围。

4 饲料采样

按照 GB/T 14699.1 规定的方法和程序进行。采样对象只限于各种配合饲料、浓缩饲料及添加预混合饲料(包括颗粒状、粉状、半固体状及液体状饲料)。

5 饲料中兽药及其他化学物的检测

5.1 检测方法确立及基本要求

检测方法可选择国际标准化组织(ISO)、联合国粮农组织/世界卫生组织(FAO/WHO)或其他机构推荐的方法,欧盟、美国等先进地区、国家的标准,我国国家标准方法或文献报道的经确证的方法,也可根据自己实验室条件,针对样品基质种类和待测物理化性质确定相应的提取、净化方法和仪器检测条件,建立标准操作程序(步骤)。但所有确立的检测方法都要进行方法验证,即进行方法性能检验,证明所选方法符合分析要求、切实可行。

采用仪器方法检验时,首先需要建立药物与仪器响应之间的关系,通常采用标准曲线来表示。利用不少于5点(不包括原点)的实验数据算出待测物与仪器响应值之间的线性回归方程并计算相关系数(r);以待测物的绝对量(如 μg)或浓度(如 $\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标,响应值(峰高或峰面积)为纵坐标制作标准曲线,确定线性范围。线性相关系数应该大于0.99。

5.2 单一实验室的方法验证——方法的性能检验

主要由标准曲线、检测限、定量限、准确度和精密度来衡量。

5.2.1 标准曲线

相关论述见5.1。

5.2.2 检测限、定量限

检测限用于考虑方法是否具备灵敏的检测能力。常根据检测对象、检测目的不同对检测方法的检测限作出具体规定。

当样品中的被测物为允许添加药物或其他化学物时,分析方法的检测限至少应为允许添加浓度的 $1/2\sim 1/5$;当样品中的被测物为违禁使用药物时,分析方法的检测限应足够低。确定检测限时,需指出其确定标准如待测物信号与噪声的比例,即信/噪比 ≥ 3 或其他。定量限则可确定为校准曲线的最低点

或信/噪比 ≥ 10 等。

5.2.3 准确度

检测方法的准确度可用方法加标回收率表示。

用添加法测定方法回收率,原则上添加浓度应以接近样品中待测药物的浓度为宜。但由于样品中待测药物浓度是未知的,因此,对于允许添加药物或其他化学物,一般应选择允许添加浓度的0.5倍、1倍和2倍3个浓度水平用添加法测定方法回收率;对于饲料中的违禁使用药物,则应选择定量限和高于定量限2倍~10倍的2个浓度水平用添加法测定方法回收率。每一个浓度5个样,重复试验次数不少于3次。不同添加浓度的回收率要求见表1。

表1 不同添加浓度的回收率要求

添加浓度 c /(mg/kg)	平均回收率/%
$c > 1.0$	70~110
$0.1 < c \leq 1.0$	60~120
$c \leq 0.1$	50~120

5.2.4 精密度

精密度常用重复性和再现性衡量,而重复性又以室内相对标准偏差(RSD)或变异系数(CV)表示。再现性则以室间相对标准偏差(RSD)或变异系数(CV)表示。

由于相对标准偏差与样品中待测物添加浓度相关,在进行样品中待测物室内RSD测定时,需制备不同添加浓度的试样(如 $\frac{1}{2}X$, X 和 $2X$),各测定3次或在允许添加浓度 X 下至少测定5次来确定。样品中不同浓度待测物的室间相对标准偏差要求见 Horwitz 公式。室内相对标准偏差约为室间的0.33倍~0.5倍之间。

Horwitz 公式: $RSD_R = 2 \times (1 - 0.5 \lg c)$

5.3 多个实验室间的方法验证

对检测标准方法或公用方法进行多个实验室间的验证试验时,对于等同采用的国外标准、修改采用的国外标准以及参考国外方法建立的检测方法标准,方法由1个实验室建立后要经另外2个实验室进行复核;对于原创性的检测方法,则应由3个~5个实验室进行验证。若参加验证试验的实验室为2个,则所提供的结果数据要在统计估计的置信区间内。

验证试验时,应对方法检测限和定量限进行复核。

验证试验时,添加回收率测定一般选择0.5倍允许添加浓度、1倍允许添加浓度和2倍允许添加浓度3个浓度水平。若添加物为违禁使用药物,则应选择定量限和高于定量限2倍~10倍的2个浓度水平用添加法测定方法回收率。每一个浓度5个样,重复试验次数不少于3次。

实验室内部或不同实验室间进行验证试验,对不同添加浓度的精密度(包括重复性和再现性)要求见表2。

表2 复核试验不同添加浓度的精密度要求

待测物添加浓度 c /(mg/kg)	变异系数 CV/%	
	重 复 性	再 现 性
$c > 10$	10	16
$1 < c \leq 10$	15	23
$0.1 < c \leq 1$	20	32
$c \leq 0.1$	30	45

6 检出兽药及其他化学物的确证

6.1 确证试验的条件

在特定情况下,在报告检测结果之前需要对待测物进行确证试验,以免作出错误结论。通常根据药物或化学物的理化特性和介质的特点通过改变提取、净化、分离、检测技术对待测药物进行确证,一般根据检测目的和待测药物或化学物质种类以及实验室的仪器条件和技术专长等选择下述一种与定量方法不同的方法进行确证即可。

6.2 色谱柱改变

即换用另一极性色谱柱和测试条件检测,此时分析物的相对保留指数往往有显著的改变而能实现确证目的。

6.3 检测器改变

在同一色谱分离条件下改用另外一种检测器,特别是选择性检测器测试,如含有卤素的有机磷农药可在火焰光度或氮磷检测器检测的基础上再用电子捕获检测器进行确证。

6.4 GC-MS 或 LC-MS 联用技术

质谱技术可以提供药物分子结构信息,具有很高的定性可靠性。但是,由于质谱一般没有选择性,而药物或化学物在样本中的相对比例往往很低,因此定性时需格外谨慎,避免误导。同样道理,首先要比较(全)总离子流色谱图(TIC)中待测药物或其他有机化合物的保留时间、峰形和响应值,应与标准一致。由于其他离子化方式不能提供足够的分子结构信息,GC-MS 或 LC-MS 一般采用电子轰击方式(EI)。应参考同样条件下标准物质的质谱图或相似条件下建立的质谱库,当全扫描模式(scan)灵敏度不够时,需要应用选择离子模式(SIM),此时最少应选择 2 个 200 质量单位以上或 3 个 100 质量单位以上的特征离子,各离子丰度比例与标准谱图相应离子比例符合率应在 70%~130%之间。定性检测时还需特别注意同位素离子的丰度可提供可靠的定性信息;在做谱图比较前应首先减去仪器和样本造成的背景干扰,使定性符合率更高。

6.5 检测系统改变

在特定情况下,改变检测系统也是一种选择,如将气相色谱法改为高压液相色谱法或薄层层析法,色谱法改为光谱法等。

7 结果计算和表述

根据采用的检测方法进行结果计算和数据统计,色谱法最常用的计算方法为外标法和内标法。样品中药物含量以质量分数(mg/kg)表示。当检测值低于最低检出浓度时,应写“最低检出浓度值”而不能写“0”。应真实记载实际检测结果,分别列出各样本重复检测值和平均值,而不能用回收率校正。当各重复的检测结果接近最低检测浓度(如 0.05 mg/kg)时,平均值表达方法举例见表 3。

表 3 平均值表达方法举例

重复 1	重复 2	重复 3	平均值
0.05	0.05	<0.05	0.05
0.05	<0.05	<0.05	≤0.05
<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

结果一般以两位有效数字表达(如 0.11, 1.1, 11 和 1.1×10^2 等),在含量低于 0.01 mg/kg 时相对标准偏差更大,此时的结果采用一位有效数字表达即可。为了统计上的方便也可分别增加一位有效数字。回收率采用整数位的百分数表达即可。

8 试验报告的撰写

试验报告撰写要求:内容完整,数据真实,结论准确,依据充分,文字简练。

试验报告包括以下几部分:

- a) 前言,包括供试药物的中、英文通用名,中、英文商品名,剂型,含量,提供的厂家或公司,理化特性,生物活性,应用范围等。
 - b) 材料、试剂及检测设备,材料包括采样原则、采样时间、采样方法、采样量及包装储运等;试剂包括生产厂家、规格、纯度、批号等;检测设备包括仪器名称、产地、型号等。
 - c) 检测方法,包括:
 - 1) 方法原理、操作步骤、检测条件等;
 - 2) 方法灵敏度、准确度、精确度、线性范围等;
 - 3) 确证试验方法(如果有的话)。
 - d) 测试结果与讨论,包括:
 - 1) 检测方法的建立;
 - 2) 测试结果及影响因素分析;
 - 3) 确证试验结果(如果有的话)。
 - e) 结论,包括:
 - 1) 检测方法;
 - 2) 测试结果;
 - 3) 根据饲料中测试药物允许添加浓度和测试结果提出合理建议。
 - f) 主持人签字(需具中级以上技术职称),注明完成时间,加盖单位公章。
 - g) 附录,标准曲线图、原始色谱图(包括空白样、标准样、添加回收样和实测样)等复印件。
-