



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5644.1—2023

出口食品中农用化学物质的快速检测方法 拉曼光谱法 第1部分：总则

Rapid determination of agricultural chemicals in export food—
Raman spectroscopy—Part 1: General principles

2023-12-29 发布

2024-07-01 实施

中华人民共和国海关总署 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是 SN/T 5644《出口食品中农用化学物质的快速检测方法 拉曼光谱法》的第1部分。SN/T 5644 已经发布了以下部分：

- 第1部分：总则；
- 第2部分：孔雀石绿和结晶紫；
- 第3部分：恩诺沙星和环丙沙星；
- 第4部分：多菌灵；
- 第5部分：噻菌灵；
- 第6部分：腈菌唑；
- 第7部分：毒死蜱；
- 第8部分：三唑磷；
- 第9部分：地虫硫磷；
- 第10部分：亚胺硫磷。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国海关总署提出并归口。

本文件起草单位：上海海关动植物与食品检验检疫技术中心、上海体育学院。

本文件主要起草人：赵超敏、古淑青、邓晓军、时逸吟、周瑶、伊雄海、郭德华、陈念念、曾静、徐畅。

引 言

出口食品中农用化学物质的快速检测方法是为进一步确保出口食品质量安全,为农用化学物质的风险研判提供现场监测技术手段的方法。建立出口食品中农用化学物质的快速检测标准方法体系是出口食品监管机构的重要任务。本系列标准 SN/T 5644《出口食品中农用化学物质的快速检测方法 拉曼光谱法》旨在建立基于拉曼光谱法的出口食品中农用化学物质的快速定性筛查方法,拟由 10 个部分组成。

- 第 1 部分:总则。目的在于为出口食品中农用化学物质的拉曼光谱快速检测方法的建立提供通用要求。
- 第 2 部分:孔雀石绿和结晶紫。目的在于为出口水产品中的孔雀石绿和结晶紫提供快速定性筛查方法。
- 第 3 部分:恩诺沙星和环丙沙星。目的在于为出口动物源性食品中的恩诺沙星和环丙沙星提供快速定性筛查方法。
- 第 4 部分:多菌灵。目的在于为出口水果、蔬菜中的多菌灵提供快速定性筛查方法。
- 第 5 部分:噻菌灵。目的在于为出口水果、蔬菜中的噻菌灵提供快速定性筛查方法。
- 第 6 部分:腈菌唑。目的在于为出口植物源性食品中的腈菌唑提供快速定性筛查方法。
- 第 7 部分:毒死蜱。目的在于为出口植物源性食品中的毒死蜱提供快速定性筛查方法。
- 第 8 部分:三唑磷。目的在于为出口植物源性食品中的三唑磷提供快速定性筛查方法。
- 第 9 部分:地虫硫磷。目的在于为出口水果中的地虫硫磷提供快速定性筛查方法。
- 第 10 部分:亚胺硫磷。目的在于为出口水果中的亚胺硫磷提供快速定性筛查方法。

出口食品中农用化学物质的快速检测方法

拉曼光谱法 第1部分：总则

1 范围

本文件规定了基于拉曼光谱技术的出口食品中农用化学物质的快速检测方法的方法确认核心要求、确认分析物的选择、确认样品基质的选择、方法确认和日常检测质量控制等。

本文件适用于基于拉曼光谱技术的出口食品中农用化学物质的快速检测,以及检测质量控制。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 27417 合格评定 化学分析方法确认和验证指南

SN/T 0001 出口食品、化妆品理化测定方法标准编写的基本规定

3 术语和定义

GB/T 27417 和 SN/T 0001 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

农用化学物质 agrochemical chemicals

用于农业生产中的如化肥、农药、兽药和生长调节剂等物质。

3.2

拉曼光谱快速检测方法 rapid methods of Raman spectroscopy

基于拉曼光谱技术包括样品制备在内的,能够在2小时内出具检测结果的方法。

3.3

方法确认 method validation

实验室通过试验,提供客观有效证据证明特定检测方法满足预期的用途。

注:方法确认宜建立方法的性能特性和使用的限制条件,并识别影响方法性能的因素及影响程度,确定方法所适用的基质,以及方法的正确度和精密度。

[来源:GB/T 27417—2017,3.1]

3.4

实验室内方法确认 in-house method validation

在一个实验室内,在合理的时间间隔内,用一种方法在预定条件下对相同或不同样品进行的分析试验,以证明特定检测方法满足预期的用途。

[来源:GB/T 27417—2017,3.3]

3.5

实验室间方法确认 interlaboratory method validation

在两个或多个实验室之间实施的方法确认。实验室依照预定条件用相同方法对相同样品的测定，以证明特定检测方法满足预期的用途。

[来源:GB/T 27417—2017,3.4]

3.6

关注浓度水平 level of interest; LOI

对判断样品中物质或分析物是否符合法规规定和要求的有决定性意义的浓度(如:容许限浓度)。

[来源:GB/T 27417—2017,3.10]

3.7

容许限 permitted limit; PL

对某一定量特性规定和要求的物质限值。

注:如:最大残留限、最高允许浓度或其他最大容许量等。

[来源:GB/T 27417—2017,3.9]

3.8

执行限 action level; AL

可用于判定被检测样品不合格的禁用或未批准使用物质的浓度水平(如 MRPL)。

3.9

最低要求执行限 minimum required performance limits; MRPL

可用于判定被检测样品不合格的禁用或未批准使用物质的最低要求浓度水平。

3.10

检出限 limit of detection; LOD

分析物能被检测的最小浓度,即在一定的置信度内,用某一方法可定性检测到样品中分析物的最小浓度。

[来源:SN/T 0001—2016,3.1]

3.11

检出概率 probability of detection; POD

在给定分析物水平或浓度下,给定基质中定性方法检出待测化合物的概率,以百分数表示。也可描述为灵敏度。

3.12

灵敏度 sensitivity

方法在实验条件下达到的实际最低检出水平时,检出阳性结果的阳性样品数占总阳性样品数的百分比。

3.13

特异性 specificity

方法在实验条件下达到的实际最低检出水平时,检出阴性结果的阴性样品数占总阴性样品数的百分比。

3.14

假阴性率 false negative rate

方法在实验条件下达到的实际最低检出水平时,阳性样品中检出阴性结果的最大概率(以百分比计),计算结果为方法最大假阴性率的结果。

3.15

假阳性率 false positive rate

方法在实验条件下达到的实际最低检出水平时,阴性样品中检出阳性结果的最大概率(以百分比计),计算结果为方法最大假阳性率的结果。

3.16

与参比方法一致性分析 consistency analysis with reference method

快速检测方法与方法中规定的参比方法进行的一致性比较。

4 方法确认核心要求

方法的核心要求是在设定的方法最低检出水平(检出限)能够可靠地检测到关注浓度水平的分析物并避免假阴性结果。方法最低检出水平的设定要求如下:

- a) 对于禁用物质或者无残留限量的物质应小于或者等于参比方法的执行限;
- b) 对于存在容许限量值规定的物质应小于或等于限值规定。

所有参数需要在不同种类或者类型的食品中测定的实际结果进行统计。

5 确认分析物的选择

通常情况下,方法确认应对方法适用的所有化合物进行确认,但当一类化合物的拉曼特征峰无显著差异时,可按照该类化合物的总量形式进行定性。

6 确认样品基质的选择

实验室内方法确认应对方法适用的所有代表性基质(见附录 A)进行确认;实验室间方法确认可选取基质最为复杂的 2 种~3 种基质进行确认。

7 方法确认

7.1 确认参数

根据拉曼快速检测方法的技术原理,方法的典型确认参数(见附录 B 中 B.1)包括灵敏度、特异性、假阴性率、假阳性率、与参比方法的一致性。

7.2 参数性能要求

下列参数性能要求适用于本文件:

- a) 特异性 $\geq 90\%$;
- b) 灵敏度 $\geq 95\%$;
- c) 假阴性率 $\leq 5\%$;
- d) 假阳性率 $\leq 10\%$;
- e) 与参比方法一致性:检出概率差的 95%置信区间覆盖 0。

7.3 实验室内方法确认

7.3.1 特异性、灵敏度、假阳性率、假阴性率

选择代表性样品,分别制备阴性样品(不含有待测化合物)、阳性添加样品(按标准方法关注浓度检出水平(或者容许限量值)的 0.5 倍、1 倍、2 倍水平或者其他可检测区分的水平(不少于 3 个);或者方法

标称检出限 0.5 倍、1 倍、2 倍水平或者其他可检测区分的水平(不少于 3 个),阴性样品和每个添加水平样品均不少于 50 例,按照方法要求进行分析。

特异性 = (检出阴性结果的阴性样品数 / 总阴性样品数) × 100 %

灵敏度 = (检出阳性结果的阳性样品数 / 总阳性样品数) × 100 %

假阴性率 = (阳性样品中检出阴性结果数 / 总阳性样品数) × 100 % = 100 % - 灵敏度

假阳性率 = (阴性样品中检出阳性结果数 / 总阴性样品数) × 100 % = 100 % - 特异性

7.3.2 方法确认

7.3.2.1 方法确认步骤

确认快速检测方法的灵敏度、特异性、检出限、假阳性率、假阴性等技术指标,利用检出概率差进行与参比方法的一致性评价。具体确认方法包括质控样制备、拉曼基底增强试剂制备、试验测试、确认结果计算四个步骤。

7.3.2.2 质控样制备

选择代表性样品,制备多个添加水平阳性样品,添加水平一般应包括标准方法关注浓度检出水平(或者容许限量值)的 0.5 倍、1 倍、2 倍水平或者其他可检测区分的水平(不少于 3 个);或者方法标称检出限 0.5 倍、1 倍、2 倍水平或者其他可检测区分的水平(不少于 3 个)。一般制备的阴性样品和每个浓度水平阳性样品均不得少于 50 例,以便更好地评价出假阳性率和假阴性率。其中,质控样制备应满足以下条件:

- a) 考虑代表性和典型样品基质或者类似基质;
- b) 待测化合物浓度水平应涵盖空白、检出限、容许限、最低要求执行限等关注浓度水平,选择空白、低浓度、高浓度等多个浓度水平配制加标样品;
- c) 样品处理可采用部分样品、全样处理等方式进行,保证质控样品的均匀性和稳定性。

7.3.2.3 拉曼基底增强试剂制备

拉曼表面增强基底试剂是影响快检方法灵敏度的重要因素。表面增强试剂应具有较好的增强因子、稳定储存、粒径分布均匀等特性,能够满足检测需求。

7.3.2.4 试验测试

根据所建拉曼快速检测方法对质控样品进行检测,根据待测化合物标准品的拉曼特征峰位置,选择 2 个~6 个相对于典型基质特异的拉曼位移峰作为待测化合物的特征峰,建立拉曼特征峰库;拉曼检测获得样品拉曼光谱数据后进行特征峰匹配,当样品的拉曼峰包含待测化合物的全部特征峰时,则判定为样品中含有待测化合物。通常表面增强拉曼光谱方法的位移容差在 6 个~10 个波数内可认为是同一个特征峰。统计样品浓度、样品总数、样品检出数据,建立各浓度下待测化合物的灵敏度或检出概率曲线进行检测结果的定性判别。

7.3.2.5 确认结果计算

7.3.2.5.1 计算结果

绘制方法检出概率随添加浓度水平变化的曲线,灵敏度、特异性、检出限、假阳性率、假阴性率指标采用检出概率曲线相关参数进行评价。检出概率曲线在 x 轴(浓度) > 0 的区间表示灵敏度和假阴性率,检出概率曲线在 x 轴(浓度) $= 0$ 处表示特异性和假阳性率,以灵敏度满足实际需求的最低浓度作为检出限;与参比方法一致性由检出概率差参数评价,检出概率差的规定置信区间覆盖 0 代表方法在该浓

度范围内与参比方法具有一致性(见 B.1)。

7.3.2.5.2 与参比方法一致性

快速检测方法与参比方法的检出概率差在规定置信区间的上下控制限范围内表示与参比方法一致。

在 95% 的置信区间的上下控制限计算方法如下：

$x=0$ 时, $POD=0$, $LCL=0$,

$$UCL=3.841\ 5/(N+3.841\ 5) \quad (1)$$

$x=N$ 时, $POD=1$, $LCL=N/(N+3.841\ 5)$ (2)

$UCL=1$;

$$0 < x < N \text{ 时, } POD=x/N, LCL=\frac{x+1.920\ 7-1.960\ 0\sqrt{x-x^2/N+0.960\ 4}}{N+3.841\ 5} \quad (3)$$

$$UCL=\frac{x+1.920\ 7+1.960\ 0\sqrt{x-x^2/N+0.960\ 4}}{N+3.841\ 5} \quad (4)$$

式中：

x ——检出阳性结果的阳性样品数；

N ——总样品数；

POD ——检出概率；

LCL ——95%置信区间下限；

UCL ——95%置信区间上限。

灵敏度或检出概率差及其置信区间的计算方法如下：

$$dPOD=POD_1-POD_2 \quad (5)$$

$$LCL=dPOD-\sqrt{(POD_1-LCL_1)^2+(POD_2-UCL_2)^2} \quad (6)$$

$$UCL=dPOD+\sqrt{(POD_1-UCL_1)^2+(POD_2-LCL_2)^2} \quad (7)$$

式中：

$dPOD$ ——检出概率差；

1 ——待确认方法；

2 ——参比方法。

7.4 实验室间方法确认

7.4.1 特异性、灵敏度、假阳性率、假阴性率

选择代表性样品,分别制备阴性样品(不含有待测化合物)、阳性添加样品(按方法检出水平添加),阴性样品和每个添加水平均不少于 20 例,室间验证的实验室数量应不少于 8 家。

8 日常检测质量控制

8.1 方法使用前验证要求

快速检测方法使用前需对方法的性能指标进行验证。需验证的参数包括待测化合物的关注浓度水平的假阴性率、假阳性率以及与参比方法的一致性。验证样品包括阴性样品和关注浓度水平的阳性样品[按方法检出限(或者允许限量值)的 0.5 倍、1 倍、2 倍添加]不少于 50 例。

8.2 方法日常质控要求

方法日常控制要求如下：

- a) 每批次检测需要核查待测化合物关注浓度水平的拉曼特征位移峰及其位移容差,样品中应包括待测化合物的全部特征位移峰,位移容差在 6 个~10 个波数内;
- b) 每批次检测需要至少检测 1 个阴性质控样,而且其检测结果应为阴性;
- c) 每批次检测需要至少核查方法检出限水平阳性质控样 2 个(含 2)以上,而且其检测结果应为阳性。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/577052150025006044>