

食用农产品中农药多残留高通量非靶向检测能力验证研究

雷思佳, 谢瑜杰, 余丽波, 卜丹丹, 霍思宇, 陈辉, 陈冬东, 彭涛

Proficiency Testing of High-throughput Non-targeted Detection of Pesticide Residues in Edible Agricultural Products

LEI Sijia, XIE Yujie, YU Libo, BU Dandan, HUO Siyu, CHEN Hui, CHEN Dongdong, and PENG Tao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020131>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

饮用水中亚硝酸盐高通量检测微孔板法的研究

Detection of nitrite in drinking water by high-throughput microplate method

食品工业科技. 2018, 39(6): 232-235,240 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.06.042>

非靶向快速筛查茶饮料中未知农药残留

Non-target Rapid Screening of Unknown Pesticide Residues in Tea Beverage

食品工业科技. 2019, 40(15): 188-195 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.15.031>

纯牛乳中硫氰酸钠高通量快速检测方法的建立

Development of A High Throughput Rapid Detection Method for Sodium Thiocyanate in Pure Milk

食品工业科技. 2019, 40(17): 218-224 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.17.036>

基于高通量测序分析刺梨果渣自然发酵过程中细菌群落结构及多样性

Bacterial Community Structure and Diversity during *Rosa roxburghii* Pomace Fermentation Based on High-throughput Sequencing Analysis

食品工业科技. 2019, 40(22): 110-114 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.22.020>

强极性农药残留检测方法的研究进展

Advances in the Detection Methods of Strong Polar Pesticide Residues

食品工业科技. 2021, 42(11): 356-364 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020060220>

鲜切生菜加工过程对5种农药残留的影响

Effects of Processing on the Disappearance of Pesticide Residues in Fresh-cut Lettuce

食品工业科技. 2019, 40(24): 231-236 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.24.038>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

雷思佳, 谢瑜杰, 余丽波, 等. 食用农产品中农药多残留高通量非靶向检测能力验证研究 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(24): 270-278. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020131

LEI Sijia, XIE Yujie, YU Libo, et al. Proficiency Testing of High-throughput Non-targeted Detection of Pesticide Residues in Edible Agricultural Products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(24): 270-278. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020131

· 分析检测 ·

食用农产品中农药多残留高通量非靶向检测能力验证研究

雷思佳¹, 谢瑜杰¹, 余丽波², 卜丹丹², 霍思宇³, 陈 辉¹, 陈冬东¹, 彭 涛^{1*}

(1. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100176;

2. 中检科(北京)测试认证有限公司, 北京 100176;

3. 检科院(北京)科学技术有限公司, 北京 100176)

摘要: 为了解我国检验检测机构农药多残留高通量非靶向检测技术水平, 提高食品安全风险监测能力, 以有机苹果为原料制备空白和添加样品, 采用 F 检验和 $S_S \leq 0.3\sigma$ 准则评估样品的均匀性, t 检验和 $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则评估样品的稳定性, 并用于能力验证的考核。针对现有评价技术未考虑高通量非靶向残留筛查的问题, 提出一种新的评价方法, 通过建立二维(XY)分类, 从农药检出数量(维度 X: 定性)和可接受 z 比分数数量(维度 Y: 定量)进行考核, 并通过定性满意率和定量满意率引入 c 值作为一级评价指标, 假阳性率和假阴性率作为二级评价指标, 综合评估实验室的检测能力。结果显示, 本次能力验证共有 20 家实验室参加, 定性满意率 70%, 定量满意率 45%, 综合满意率 40%, 对于 c 值为 0 的实验室, 进一步通过二级指标评价, 发现 87.5% 的实验室未出现假阳性和假阴性, 评价方式合理。本研究将定性分析和定量分析法联合应用于高通量非靶向农药多残留检测能力验证结果评价, 对优化其他能力评价方式提供了新思路。

关键词: 农药多残留, 高通量, 非靶向检测, 能力验证, 定性定量评价

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)24-0270-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020131



本文网刊:

Proficiency Testing of High-throughput Non-targeted Detection of Pesticide Residues in Edible Agricultural Products

LEI Sijia¹, XIE Yujie¹, YU Libo², BU Dandan², HUO Siyu³, CHEN Hui¹, CHEN Dongdong¹, PENG Tao^{1*}

(1. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China;

2. CAIQ (Beijing) Testing and Certification Co., Ltd., Beijing 100176, China;

3. CAIQ (Beijing) Science and Technology Co., Ltd., Beijing 100176, China)

Abstract: In order to understand the technical level of high-throughput non-targeted detection of pesticide residues in China's inspection and testing institutions and improve the ability of food safety risk monitoring. Blank and added samples were prepared with organic apples as raw materials. F test and $S_S \leq 0.3\sigma$ criterion were used to evaluate the uniformity of the samples. T test and $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ criterion were used to evaluate the stability of the samples. In view of the fact that the existing evaluation technology did not consider the problem of high-throughput non-targeted detection, a new evaluation method was proposed. By establishing a two-dimensional (XY) classification, the number of pesticide detection (dimension X: qualitative) and the number of acceptable z -scores (dimension Y: quantitative) were evaluated. The c value was introduced as the primary evaluation index through qualitative satisfaction rate and quantitative satisfaction rate, while the false

收稿日期: 2023-02-14

基金项目: 现场执法快检产品多维评价技术研究与认证应用(2022YFF1101004)。

作者简介: 雷思佳(1995-),女,硕士,研究方向:食品安全,E-mail: 2193346996@qq.com。

* 通信作者: 彭涛(1976-),男,博士,研究员,研究方向:兽药残留分析、食品安全,E-mail: caiq_pengtao@126.com。

positive rate and false negative rate were used as the secondary evaluation index to comprehensively evaluate the detection ability of the laboratory. The results showed that a total of 20 laboratories participated in this proficiency testing, with a qualitative satisfaction rate of 70%, a quantitative satisfaction rate of 45%, and a comprehensive satisfaction rate of 40%. For laboratories with a c value of 0, further evaluation by secondary indicators showed that 87.5% of the laboratories did not show false positives and false negatives. In this study, qualitative analysis and quantitative analysis were combined to evaluate the results of high-throughput non-targeted detection of pesticide residues, which provided new ideas for the optimization of other ability evaluation methods.

Key words: pesticide residues; high-throughput; non-targeted detection; proficiency testing; qualitative and quantitative evaluation

目前,世界上常用的农药高达 1800 多种^[1]。由于农药的具体使用过程多数未知,再加上交叉污染,不同种类的农药可能在农产品中同时出现,这就要求方法除了足够灵敏外还需检测尽可能多的农药,才能对产品质量进行有效监管。现阶段,常用的农残检测方法主要有气相色谱法(GC)^[2]、气相色谱-质谱法(GC-MS)^[3]、气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)^[4]、液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)^[5-6]以及飞行时间串联质谱法(Q-TOF)^[7-8]等。其中 GC 和 GC-MS 检出限偏高,定性能力不足;GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 的靶向性强,灵敏度高,但分辨力低,只适合已知化合物的检测,对大范围非靶向化合物的筛查能力有限,在多种农药筛查时需建立多个检测方法,配制大量标准溶液,耗时费力^[9]。Q-TOF 技术基于精确质量数和内源碎裂离子等条件对农药进行定性测定,具有高通量、非靶向的优点,在无标准品的前提下,可准确、高效地同时对复杂样品中大量化合物筛查^[10-11],为我国农产品中多农残风险评估和风险监控提供了一种快速有效的方法。相关检测实验室提高其高通量非靶向检测能力迫在眉睫。

能力验证作为实验室认可的重要评判标准,被越来越多的认可机构和管理部门重视。当前对食用农产品中多农残检测主要还是停留在常规实验室检测层面,为了增加检测实验室间的结果可比性,能力验证的开展显得非常必要,可以及时发现实验室存在的问题并动态监测。能力验证在实施时根据组织项目的不同通常分为定量、定性和半定量结果项目,农药残留项目基本上采用的是定量分析,重点研究各类项目的特点及指定值的确定方法,以及如何选取适宜的统计方法进行结果评定。随着高通量非靶向检测技术的发展,单纯的定量分析并不能全面客观的反映检测实验室应用多残留方法的整体水平,在确定合格和不合格实验室时可能会造成一些混淆。目前国际上已出现通过主成分分析^[12]、分层聚类分析^[13]、z 值平方和^[14]和 3A 法^[15-16]等方式对多分析物结果的总体实验室性能评价。本文通过能力验证的组织实施,提出并评估了一种新的评价方法,将定性分析和定量分析结合起来进行评价,目的是将其应用于未来的能力验证中,从而获得更具信息性、可靠性的实验室评价,提高风险发现能力。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

农药标准品 纯度 $\geq 98\%$,德国 Dr.Ehrenstorfer 公司;乙腈、甲苯、乙酸乙酯、甲酸、乙酸铵 色谱纯,美国 Fisher 公司;乙酸、氯化钠、无水硫酸镁、无水硫酸钠 分析纯,国药集团化学试剂有限公司;试验用水为 Milli-Q 超纯水;有机苹果 购自北京某超市。

Agilent 1290 Infinity II LC-6545 Q-TOF/MS 液质联用仪、Agilent 7890B-7250 Q-TOF/MS 气质联用仪 美国 Agilent 公司;AH-30 全自动均质仪、Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪、MPE 高通量真空平行浓缩仪 睿科集团股份有限公司;BSA224S 电子天平 德国 Sartorius 公司;T50 digital ULTRA-TURRAX 均质仪 德国 IKA 公司;LS-80A 全自动灌装机 武汉优凯盛机械设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 能力验证样品制备 参照 NY/T 789-2004^[17]和 JJF 1343-2022^[18]。取有机苹果(去蒂、去芯)可食部分约 25 kg,经组织搅碎机粉碎,混匀,用四分法分成两批:一批均质后直接灌装,作为空白样品;一批加入配制好的目标农药标准溶液,预计添加浓度 30~180 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (目标浓度水平在各化合物定量限和最大残留限量之间),充分搅拌,均质后灌装,作为添加样品。用经充分洗涤、烘干的 100 mL 棕色玻璃瓶装,空白样品和添加样品的重量保持一致,约为 50 g,封口膜密封并加贴样品编号后-20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。

1.2.2 高通量非靶向检测

1.2.2.1 样品前处理 参照文献^[19]方法对 1.2.1 中制备的样品进行提取与净化。浓缩液氮吹后加入 2 mL 乙腈:甲苯(3:1, v/v)超声混匀,各取 1 mL 吹干,一份加入 1 mL 乙腈:水(3:2, v/v)定容液经 0.22 μm 滤膜过滤后供 LC-Q-TOF/MS 测定;另一份加入 1 mL 乙酸乙酯定容液经 0.2 μm 滤膜过滤后供 GC-Q-TOF/MS 测定。

1.2.2.2 LC-Q-TOF/MS 仪器条件 色谱柱:ZORBAX SB-C₁₈ 柱(100 mm \times 2.1 mm, 3.5 μm);柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;流动相 A:0.1% 甲酸水溶液,流动相 B:乙腈;流速:0.4 mL/min;进样体积:5 μL ;梯度洗脱程序:

0 min, 1% B; 3 min, 30% B; 6~9 min, 40% B; 15 min, 60% B; 19~23 min, 90% B; 23.01~27.01 min, 1% B。离子源: Dual AJS ESI 源; 雾化气体: 氮气; 鞘气温度: 375 °C; 鞘气流速: 11.0 L/min; 正离子全扫描范围: m/z 50~1000。

1.2.2.3 GC-Q-TOF/MS 仪器条件 色谱柱: HP-5 MS UI(30 m×0.25 mm, 0.25 μ m); 柱温: 40 °C 保持 1 min, 以 30 °C/min 升温至 130 °C, 再以 5 °C/min 升温至 250 °C, 最后以 10 °C/min 升温至 300 °C, 保持 7 min; 进样口温度: 270 °C; 进样量: 1.0 μ L; 载气: 氮气; 流速: 1.2 mL/min; 不分流进样。四极杆温度: 180 °C; EI 离子源温度: 280 °C; 溶剂延迟: 3 min; 全扫描范围: m/z 45~550。

1.2.2.4 定性和定量方法 使用 Agilent MassHunter Qualitative workflows 软件, 设置加合离子保留时间偏差、质量偏差、信噪比、共流出得分、二级碎片离子选择个数和峰高等参数, 和个人化合物数据库与谱库(PCDL)中的信息进行匹配后得到定性结果。

在 Agilent MassHunter 定量软件中建立定量方法, 用外标法对根据定性结果确证的化合物进行准确定量。

1.2.3 均稳性检验

1.2.3.1 均匀性检验 随机抽取分装好的添加样品, 按照 1.2.1 的方法进行前处理及检测, 采用单因子方差分析法(F 检验)进行均匀性评估。结果回收后, 通过不均匀性偏差法($S_s \leq 0.3\sigma$ 准则)^[20] 对样品均匀性进行核验。

1.2.3.2 稳定性检验 运输稳定性检验: 根据参加者情况, 选择地理位置最南边和最北边的地址寄送, 到达目的地后立即召回。收到寄回样品后立即进行检测, 采用平均值一致性检验法(t 检验)^[20] 评估样品的运输稳定性。

储存稳定性检验: 分别于样品发放前、检测过程中和结果回收后随机抽样, 按照与均匀性检验相同的测试条件进行检测, 采用 $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则^[20] 评估样品的储存稳定性。

1.2.4 能力验证项目实施 每套样品包含农药添加样和同一起来源的空白样各一份。样品编码由随机数字组成, 相互之间没有可比性, 每个参加者赋予一个唯一性代码, 凡说明检测结果和能力评价时均以代码表示^[21]。实验室在收到样品后应用高通量非靶向技术筛查苹果样品中的农药种类, 并对添加样品中筛查出的农药准确定量。

1.3 数据处理

能力验证评价依据 ISO 13528:2015^[22] 和 GB/T 28043-2019^[23] 要求, 参加者上报数据为扣除空白后的结果, 从定性和定量两个维度出发: 以实验室对样品中指定农药检出率评价定性筛查能力; 以直方图评价计划的有效性, 采用稳健统计方式确定稳健平

均值和稳健标准差, 以 z 值评价实验室对样品中添加农药的定量检测能力, $|z| \leq 2.0$ 代表定量结果满意, $2 < |z| < 3$ 代表定量结果可疑, $|z| \geq 3$ 代表定量结果不满意。采用 Microsoft Excel 2019 软件对数据进行统计分析并绘图。

2 结果与分析

2.1 添加农药的选择与确认

根据国际上农残监测动向, 结合我国食用农产品中农药的施用情况, 依据以下原则选择农药种类: a. 已公布的禁限用农药; b. 毒性较大、不易降解的常用农药; c. 国内外标准均列入监控范围的农药。拟在样品中添加 17 种农药: 啞啞菌胺、苯霜灵、毒死蜱、噻虫胺、二嗪磷、三嗪磷、多杀霉素、甲基嘧啶磷、啞菌胺、稻瘟灵、氟啞菌酰胺、咪啞菌酮、氯虫苯甲酰胺、敌敌畏、氟苯脲、五氯硝基苯和杀螟硫磷。

为了找到合适的空白基质, 实验开始前对市场中的食用农产品品种进行了筛选。原料采集后粉碎匀浆, 利用实验室之前建立的方法^[24-25] 进行农药多残留高通量非靶向筛查, 最终选择某品牌有机苹果作为原料, 并经专家实验室联合确认, 苹果空白样品本底中含有啞虫脒和多菌灵两种农药, 确定不含有本次实验涉及的目标农药, 所选原料合适。随后按预设浓度加入农残混标进行样品制备并精准定量, 将样品保存于 -20 °C 的冰箱中以待进行均稳性检验及样品发放。结果回收后, 对参加者反馈的其他假阳性结果以及未检测到的假阴性结果进一步复核, 确定考核样品中只存在 2 种本底含有的农药以及 17 种制备时添加的农药, 能力验证样品满足要求。

2.2 能力验证样品均稳性分析

2.2.1 样品均匀性检验分析 样品发放前, 根据 GB/T 10111-2008^[26] 中随机抽样原则, 选出 10 个样品, 确定其样品编号, 随后按照 ISO GUIDE 35:2017^[27] 和 CNAS-GL003:2018^[20] 的要求进行组间及组内均匀性检验。采用 1.2.2 中的方法由相同人员在重复性条件下平行测定两次, 对得到的数据进行方差分析, 以组间及组内方差判断样品中添加农药的含量是否有显著性差异, 从而检验其均匀性。结果回收后, 以参加者结果统计分析所得的能力评定标准差作为 σ , 再用 $S_s \leq 0.3\sigma$ 准则核验均检测测试结果。样品均匀性检验结果见表 1。

样品间自由度为 9, 样品内自由度为 10, 查 F 检验临界值表可知 $F_{0.05}(9, 10) = 3.02$, 由表 1 可知, 统计量 F 值均小于 $F_{0.05}(9, 10)$, 说明在 0.05 显著水平时能力验证样品的均匀性良好, 可以进行样品发送。本次能力验证样品均检核验结果都符合 $S_s \leq 0.3\sigma$ 准则, 表明样品之间的差异对随后的统计评价没有显著影响。

2.2.2 样品稳定性检验分析 稳定性检验主要考察运输和时间对样品中农药含量的影响, 在均匀性检验

表 1 均匀性检验结果
Table 1 Uniformity test results

项目	SS ₁	SS ₂	MS ₁	MS ₂	F	S _s	0.3σ
啶嘧菌胺	15.50	12.40	1.72	1.24	1.39	0.491	3.50
苯霜灵	13.71	9.26	1.52	0.93	1.65	0.547	1.02
毒死蜱	7.44	6.13	0.83	0.61	1.35	0.327	1.79
噻虫胺	10.08	6.33	1.12	0.63	1.77	0.494	2.82
二嗪磷	5.22	2.98	0.58	0.30	1.95	0.376	2.14
三唑磷	4.93	3.48	0.55	0.35	1.58	0.317	1.16
多杀霉素	7.45	4.56	0.83	0.46	1.82	0.432	1.22
甲基嘧啶磷	7.42	5.10	0.82	0.51	1.62	0.397	1.10
啉菌胺	11.84	6.64	1.32	0.66	1.98	0.571	1.88
稻瘟灵	6.57	4.36	0.73	0.44	1.68	0.384	1.15
氟唑菌酰胺	6.84	5.29	0.76	0.53	1.44	0.340	3.19
咪唑菌酮	17.04	11.63	1.89	1.16	1.63	0.605	5.22
氯虫苯甲酰胺	12.67	7.69	1.41	0.77	1.83	0.565	4.58
敌敌畏	8.43	5.51	0.94	0.55	1.70	0.439	1.76
氟苯脲	11.56	7.10	1.28	0.71	1.81	0.536	4.25
五氯硝基苯	8.44	7.56	0.94	0.76	1.24	0.301	1.61
杀螟硫磷	6.52	3.72	0.72	0.37	1.95	0.420	2.44

注: SS₁是样品间平方和, SS₂是样品内平方和; MS₁是样品间均方; MS₂是样品内均方; F是统计量; S_s是样品之间的不均匀性标准偏差; σ是能力评定标准差。

合格后模拟运输条件(采用与能力验证样品发放使用的快递公司,将样品邮寄到海口和黑河后再分别寄回进行检测)进行运输稳定性检验。在项目实施周期内前中后三个时间段抽取样品进行储存稳定性检验,每次均按照随机数表从剩余样品中各抽取 6 个样品,测试过程中所依据的标准、所用试剂、测试条件等与均匀性测试时相同。

2.2.2.1 运输稳定性检验分析 样品的运输稳定性检验结果如表 2 所示。

表 2 运输稳定性检验结果
Table 2 Transport stability test results

项目	\bar{x}_1	\bar{x}_2	s ₁	s ₂	T值
啶嘧菌胺	50.27	50.53	1.16	0.71	0.48
苯霜灵	42.28	43.65	1.30	1.10	1.90
毒死蜱	38.90	39.63	0.56	0.99	1.58
噻虫胺	44.62	43.92	0.70	1.19	1.24
二嗪磷	47.67	47.90	0.71	0.75	0.56
三唑磷	42.82	42.60	0.69	0.90	0.47
多杀霉素	41.85	41.63	0.73	0.80	0.49
甲基嘧啶磷	35.40	35.80	0.56	0.87	0.94
啉菌胺	39.72	40.30	0.81	0.91	1.17
稻瘟灵	42.40	42.55	1.03	1.13	0.24
氟唑菌酰胺	85.90	86.48	0.93	1.20	0.94
咪唑菌酮	172.67	173.25	2.52	2.34	0.42
氯虫苯甲酰胺	83.32	84.28	1.00	0.97	1.70
敌敌畏	36.05	35.37	0.90	0.55	1.59
氟苯脲	86.33	86.63	1.17	0.92	0.49
五氯硝基苯	37.58	38.17	0.72	0.99	1.17
杀螟硫磷	39.45	40.07	0.94	0.80	1.22

注: \bar{x}_1 是寄往海口样品检测结果的平均值; \bar{x}_2 是寄往黑河样品检测结果的平均值; s₁是寄往海口样品检测结果的标准偏差; s₂是寄往黑河样品检测结果的标准偏差。

运输稳定性测试结果以 t 检验法进行统计,取 6 个样品寄往海口,6 个样品寄往黑河,查临界值表可知 $t_{0.05}(24)=2.06$ 。由表 2 中数据可知, t 值均小于 $t_{0.05}(24)$,说明在 0.05 显著水平时,运输过程对样品稳定性无影响。

2.2.2.2 储存稳定性检验分析 样品的储存稳定性检验结果如表 3 所示。

表 3 储存稳定性检验结果
Table 3 Storage stability test results

项目	\bar{x}	\bar{y}_1	\bar{y}_2	\bar{y}_3	$ \bar{x}-\bar{y}_1 $	$ \bar{x}-\bar{y}_2 $	$ \bar{x}-\bar{y}_3 $	0.3σ
啶嘧菌胺	50.89	53.10	52.67	52.25	2.21	1.78	1.36	3.50
苯霜灵	43.12	42.33	42.52	43.37	0.79	0.60	0.25	1.02
毒死蜱	39.54	39.97	40.02	39.68	0.43	0.48	0.14	1.79
噻虫胺	43.95	45.13	44.83	43.68	1.18	0.88	0.27	2.82
二嗪磷	47.67	49.02	48.18	47.20	1.35	0.51	0.47	2.14
三唑磷	42.75	41.98	42.33	42.17	0.77	0.42	0.58	1.16
多杀霉素	41.9	41.07	41.27	40.92	0.83	0.63	0.98	1.22
甲基嘧啶磷	35.53	34.95	35.47	35.17	0.58	0.06	0.36	1.10
啉菌胺	39.57	40.22	39.27	39.40	0.65	0.30	0.17	1.88
稻瘟灵	42.4	42.87	43.10	41.95	0.47	0.70	0.45	1.15
氟唑菌酰胺	85.76	86.77	87.83	85.93	1.01	2.07	0.17	3.19
咪唑菌酮	171.92	176.27	175.38	172.78	4.35	3.46	0.86	5.22
氯虫苯甲酰胺	84.2	85.88	87.02	83.97	1.68	2.82	0.23	4.58
敌敌畏	35.83	37.52	36.98	34.75	1.69	1.15	1.08	1.76
氟苯脲	86.41	85.32	85.82	85.88	1.09	0.59	0.53	4.25
五氯硝基苯	38.17	36.75	37.08	36.90	1.42	1.09	1.27	1.61
杀螟硫磷	39.58	40.80	39.92	40.23	1.22	0.34	0.65	2.44

注: \bar{x} 是均匀性检验的总平均值; \bar{y}_1 是在能力验证样品发放前对随机抽出样品检测的平均值; \bar{y}_2 是在参加者检测过程中对随机抽出样品检测的平均值; \bar{y}_3 是在结果回收后中对随机抽出样品检测的平均值。

参加者反馈数据回收之后,依据 $|\bar{x}-\bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则进行稳定性核验。由表 3 中数据可知,三次稳定性检验分别得到的均值与均匀性检验均值的差值除以参加者检测数据汇总统计得出的标准偏差 σ,比值均小于 0.3,表明在整个测试期间,样品中的被测物质是稳定的,达到了能力验证样品要求。

2.3 能力验证数据统计及结果分析

2.3.1 定性筛查能力评价 本次能力验证计划共有 20 家实验室参加,全部按要求返回结果,以各实验室对空白样品本底中确定含有的农药数量和添加样品中指定农药的检出数量来评估其定性筛查能力,见表 4。

2.3.2 定量检测能力评价

2.3.2.1 实验室定量检测结果分布情况 汇总各实验室返回的定量结果后绘制频率分布直方图,发现考核样品中添加农药的检测结果显示满足单峰、近似正态分布条件^[28],因此后续可采用稳健统计方法对检测项目进行定量分析评价,见图 1。

2.3.2.2 实验室定量检测结果统计 实验室在定量过程提交的数据为扣除基质的本底后的结果,采用稳健统计技术分析项目的稳健平均值、稳健标准差和结

表4 实验室定性筛查能力

Table 4 Laboratory qualitative screening capability

实验室编号	空白样品正确检出农药数	添加样品正确检出农药数	合计正确检出农药数	检出率 (%)
1	1	17	18	94.7
2	1	17	18	94.7
3	2	15	17	89.5
4	2	17	19	100
5	0	17	17	89.5
6	2	17	19	100
7	0	7	7	36.8
8	2	16	18	94.7
9	2	17	19	100
10	0	17	17	89.5
11	1	17	18	94.7
12	2	17	19	100
13	1	17	18	94.7
14	0	17	17	89.5
15	2	12	14	73.7
16	1	17	18	94.7
17	0	13	13	68.4
18	2	11	13	68.4
19	2	17	19	100
20	2	17	19	100

果不确定度。以稳健平均值作为指定值, 稳健标准差作为能力评定标准差^[29]。因样品中添加的 17 种农

药的指定值的标准不确定度均小于能力评定标准差的 1/3, 故本次能力验证中的不确定度可忽略不计, 检测结果的主要统计量汇总情况见表 5。

2.3.2.3 实验室定量评价的 z 值分布情况 对于本次能力验证参加者的定量结果, 采用 z 比分数进行评价:

$$z = \frac{x - X}{\sigma}$$

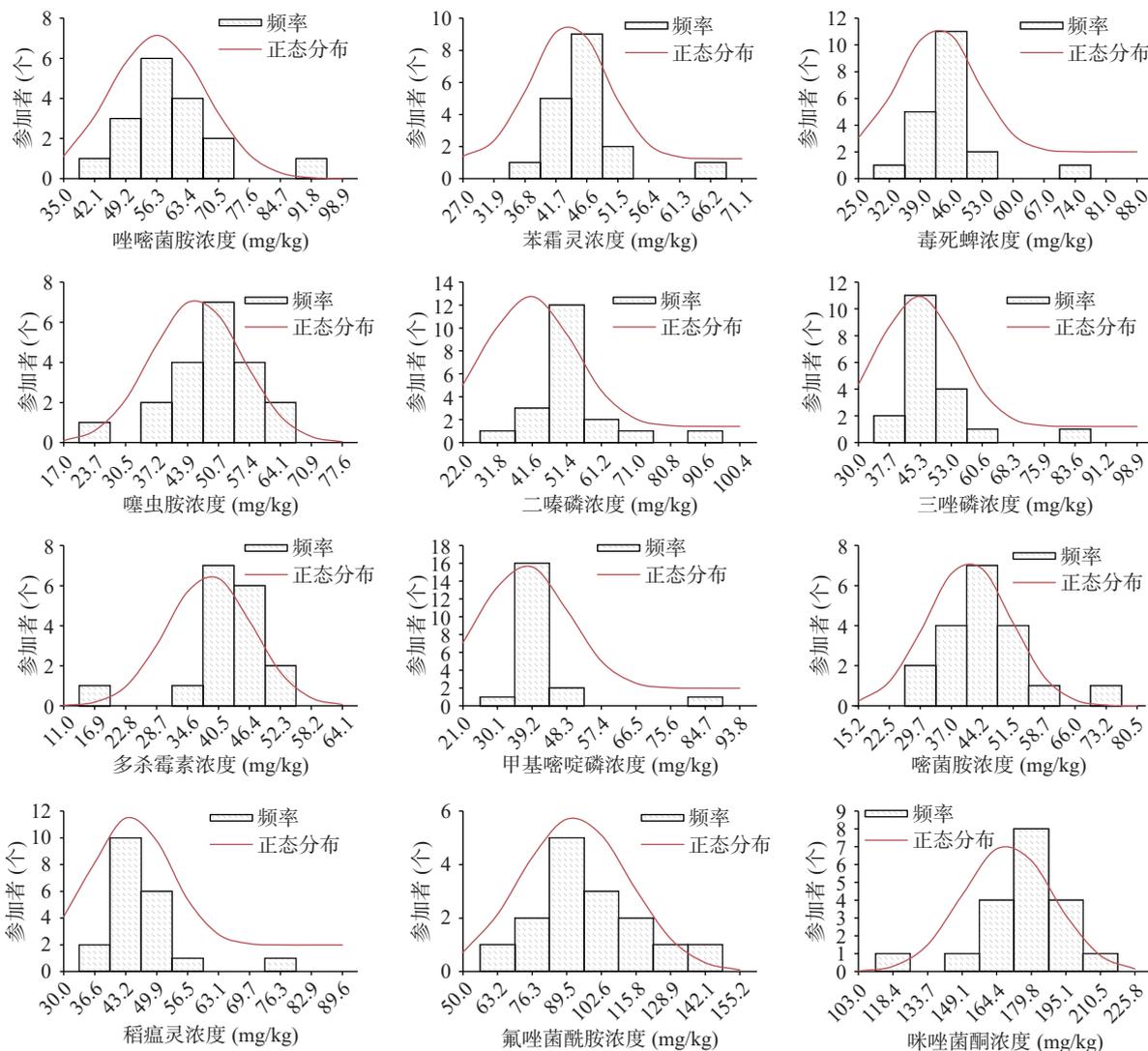
式中: x 为参加者结果; X 为指定值; σ 为能力评定标准差。

为了清晰表示参加者的结果, 以实验室代码为横坐标, 参加者经统计计算的 z 值为纵坐标, 并按由小到大的顺序排列作柱状图, 见图 2。

通过 z 比分数柱状图, 可以看出发生正偏离和负偏离的参加者数量接近, 未见明显的正偏离或负偏离的倾向, 同时绝大多数参加者的 z 值落于 |z| ≤ 2 的满意区间内, 符合统计规律。实验室可通过该图将其定量能力与其他参加实验室进行比较, 了解其结果在本次计划中所处的水平^[30]。

2.4 高通量非靶向检测能力评定

对于实验室的定性、定量能力评定尚没有可参



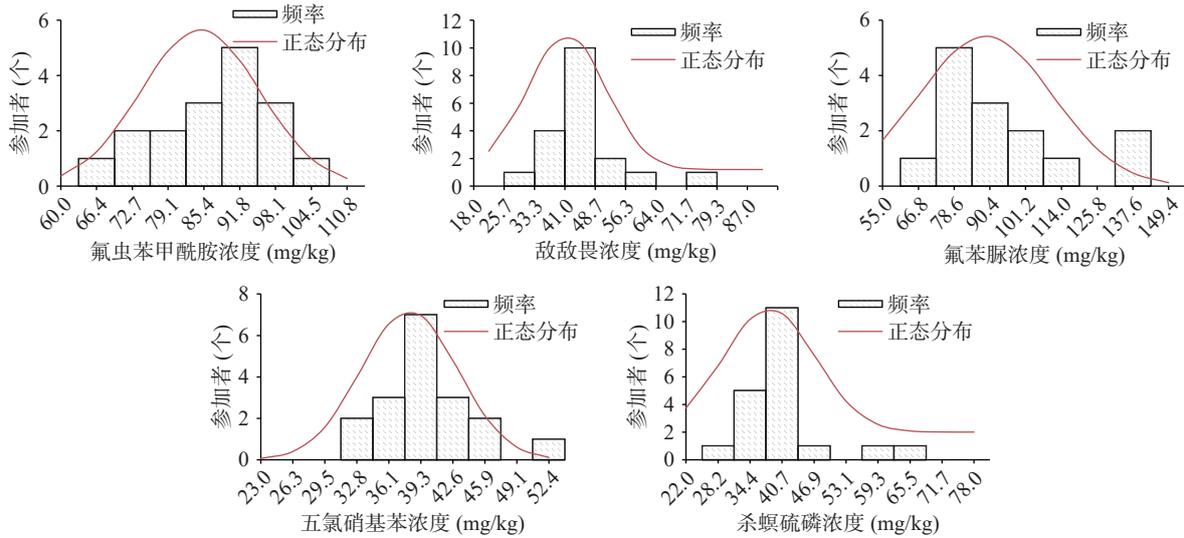


图 1 定量检测结果频率分布直方图

Fig.1 Histogram of frequency distribution of quantitative detection results

表 5 定量检测结果统计量

Table 5 Statistics of quantitative detection results

项目	p(个)	x(μg/kg)	σ(μg/kg)	ux	CV(%)
唑啉菌胺	17	51.09	11.67	3.54	22.8
苯霜灵	18	43.04	3.40	1.00	7.9
毒死蜱	20	39.81	5.97	1.67	15.0
噻虫胺	20	44.37	9.40	2.63	21.2
二嗪磷	20	47.53	7.14	2.00	15.0
三唑磷	19	42.67	3.88	1.11	9.1
多杀霉素	17	41.39	4.08	1.24	9.9
甲基嘧啶磷	20	35.09	3.66	1.02	10.4
噻菌胺	19	39.35	6.27	1.80	15.9
稻瘟灵	20	42.88	3.84	1.07	9.0
氟唑菌酰胺	15	85.70	10.64	3.43	12.4
咪唑菌酮	19	172.23	17.39	4.99	10.1
氯虫苯甲酰胺	17	84.63	15.28	4.63	18.1
敌敌畏	19	35.69	5.88	1.69	16.5
氟苯脲	14	86.60	14.17	4.73	16.4
五氯硝基苯	18	38.00	5.37	1.58	14.1
杀螟硫磷	20	39.11	8.14	2.28	20.8

注: p是参加实验室的数量; x是指定值; σ是能力评定标准差; ux是指定值不确定度; CV是变异系数。

表 6 实验室高通量非靶向检测能力

Table 6 Laboratory high-throughput non-targeted detection capabilities

实验室代码	范围外农药检出数	未检出农药数	n	m	a(%)	b(%)	c(%)	假阳性率(%)	假阴性率(%)
1	0	0	17	17	100	100	0	0	0
4	0	0	17	17	100	100	0	0	0
5	0	0	17	17	100	100	0	0	0
9	0	0	17	17	100	100	0	0	0
11	0	0	17	17	100	100	0	0	0
19	0	0	17	17	100	100	0	0	0
20	0	0	17	17	100	100	0	0	0
14	1	0	17	17	100	100	0	5.6	0
10	0	0	17	16	100	94.1	5.9	0	0
16	0	0	17	16	100	94.1	5.9	0	0
12	3	0	17	16	100	94.1	5.9	15	0
6	1	0	17	15	100	88.2	11.8	5.6	0
2	3	0	17	15	100	88.2	11.8	15	0
3	0	2	15	15	88.2	88.2	16.7	0.0	13.3
8	0	1	16	12	94.1	70.6	30	0.0	6.25
18	0	6	11	11	64.7	100	35.3	0.0	54.5
15	1	5	12	10	70.6	58.8	50.6	7.7	38.5
17	1	4	13	9	76.5	52.9	52.6	7.1	28.6
13	13	0	17	5	100	29.4	70.6	43.3	0
7	0	10	7	7	41.2	41.2	83.2	0.0	142.9

注: n为添加农药检出数; m为定量结果满意数; 定性满意率为添加农药检出数与添加农药总数的比值; 定量满意率为定量结果满意数与添加农药检出数的比值; 假阳性率为范围外农药检出数与添加样品检出农药总数的比值; 假阴性率为未检出农药数与添加样品检出农药总数的比值。

照执行的标准, 本文建立二维(XY)评价, 维度 X 用于评估参加者应用的多残留分析方法对添加农药的定性检出能力, 维度 Y 用于评估参加者对确定检出农药中定量分析满意情况, 并引入 c 值的概念, 探讨一种评价实验室高通量非靶向检测能力的新方法, 见表 6。

$$c = \sqrt[3]{(100 - a)^2 + (100 - b)^2}$$

式中: a 为定性满意率; b 为定量满意率; c 为综合满意率。

以扣除空白后添加样品定性定量结果对本次能力验证进行考核。在 20 家参加实验室中, 有 14 家实验室定性满意率为 100%, 占参加人数的 70%; 有

9 家实验室定量满意率为 100%, 占参加人数的 45%, 有 8 家实验室定性满意率 a 值和定量满意率 b 值均为 100%, 同时综合满意率 c 值为 0, 占参加人数的 40%, 可见 c 值评价严格于单一的定性评价或者定量评价, 更能反映出实验室的综合检测能力。在分析完 c 值后, 需要进一步对实验室的假阳性率和假阴性率进行分析。由表 6 可知, 已检测并量化测试项目中全部的农药且报告无假阳性的实验室有 9 家; 报告假阳性的实验室有 7 家, 其中 2 家未能检测出测试项目中全部的农药; 未能检测出测试项目中全部的

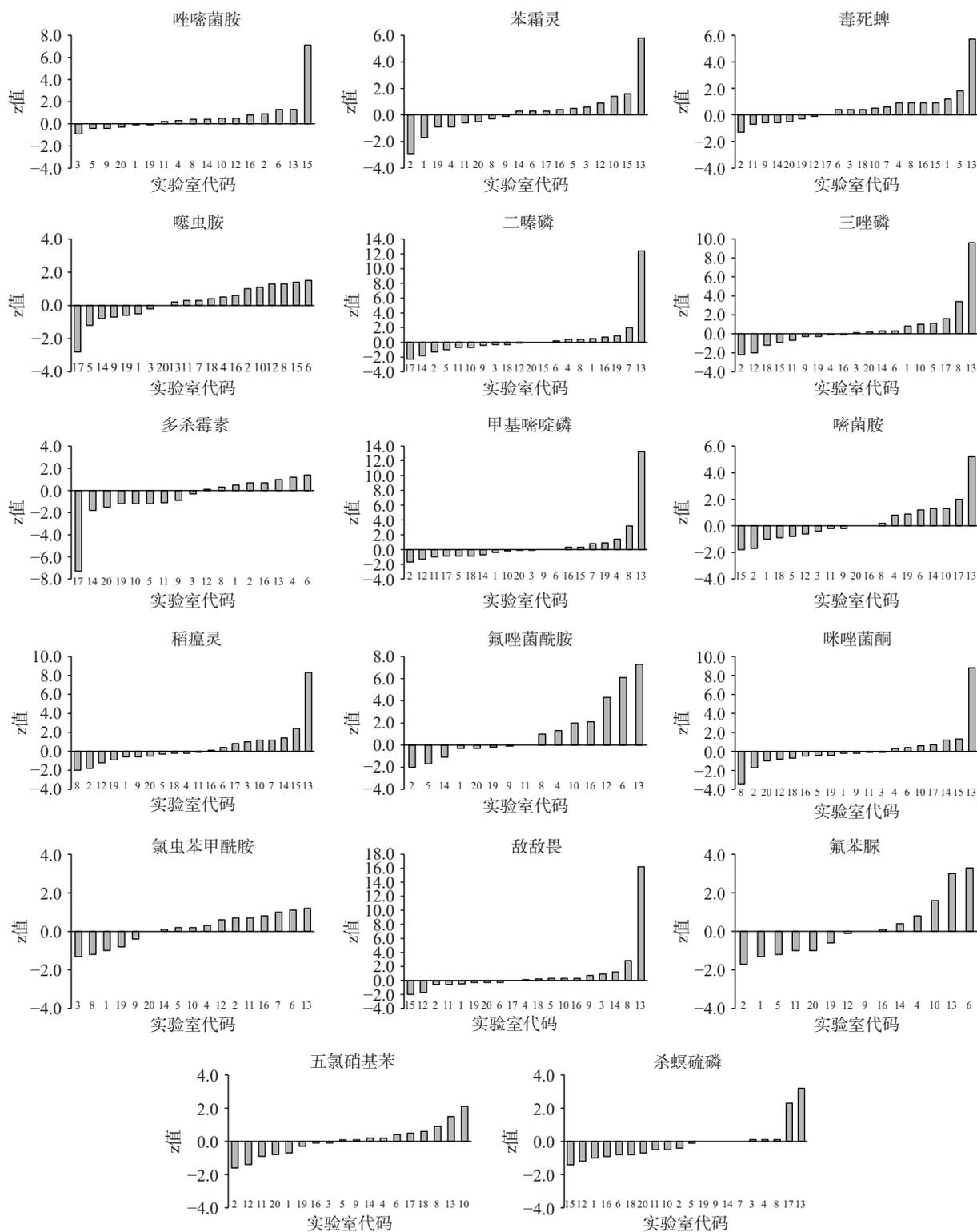


图 2 定量评价 z 比分数分布

Fig.2 Quantitative evaluation of Z-score distribution

农药, 报告假阴性的实验室有 6 家。为了更直观的展现出实验室高通量非靶向检测能力情况, 本文以定性满意率和定量满意率绘制能力分布图, 见图 3。

c 值越小则越接近双百分率, 表明实验室的高通量非靶向检测能力越强。由图 3 可以直观地看出代码为 1, 4, 5, 9, 11, 14, 19, 20 的实验室 c 值为双百分率, 表明这 8 家实验室的高通量非靶向检测能力强。代码为 7 的实验室 c 值最大, 表明其高通量非靶向

检测能力偏弱, 但定性满意率和定量满意率一致, 均为 41.2%。在定性筛查出的农药定量检测后均获得满意结果, 后续需要进一步提升其高通量非靶向农药定性筛查能力。代码为 13 的实验室添加农药全部检出, 定性满意率为 100%, 但只有 5 个检测项目 |z| 小于 2, 定量满意率仅为 29.4%, 实验室需加强其高通量非靶向农药定量检测能力。特别注意到代码为 14 的实验室, 虽然其 c 值为 0, 但其假阳性率为 5.6%,

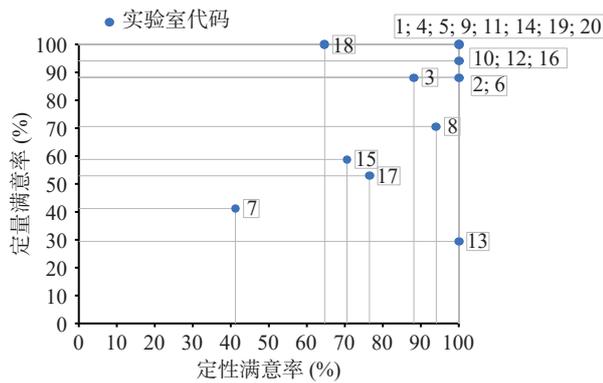


图 3 实验室高通量非靶向检测能力分布图

Fig.3 Distribution of high-throughput non-targeted detection capabilities in the laboratory

仍不能说明其检测能力达到满意水平。故在高通量非靶向能力评定时, 可将 c 值作为一级评价指标, 假阳性率和假阴性率作为二级评价指标, 综合进行评价。在高通量非靶向检测中, 定性筛查是基础, 定量检测是关键, 二者缺一不可, 故将定性分析和定量分析法联合应用于高通量非靶向农药残留筛查能力验证结果评价, 评价结果更加合理, 对其他能力验证结果评价具有重要的参考意义。本机构将在后续的能力验证活动中继续推行该种评价方法以验证评价方式的可行性, 并在获得足够的样本量后, 进一步将 c 值量化, 区分出结果满意、可疑和不满意的临界值标准。

3 结论

能力验证一般采用 z 比分数评价各实验室对单一特定参数的检测能力, 但对于多特性值的实验室间比对结果缺乏综合评价的有效手段。XY 二维分析根据对各特性值的筛查和准确定量情况进行评价, 既避免了报告假阳性被判为“满意”, 又避免了筛查不全出现假阴性被判为“满意”, 为评价实验室的综合检测能力提供了一种值得尝试的相对科学、有效的方法。本文以实验室对苹果基质样品中 17 种农药的检出情况评估其定性筛查能力, 以稳健统计获得的 z 比分数落于 $|z| \leq 2$ 满意区间的情况评估其定量准确能力, 结合假阳性和假阴性情况, 探讨了定性定量分析在评价实验室综合检测能力的应用。

本方法仍有不足之处: a. 需提高数据库准确度。在定性分析时, 出现假阴性的实验室通常使用的是低分辨质谱, 可能未完全覆盖农药目标清单中的所有分析物, 由于农药多数存在同分异构体, 实验室在建立数据库时, 要使用更多品种的标准物质以提高数据信息的可靠性。b. 需考虑参加者的数量。由于从少量参加者测量结果获得的统计数据可能不够可靠, 因而可能会依据不适当的对照组对参加者进行评估。c. 需考虑指定值的离散性。在定量分析时, 若实验室的检测水平差别较大, 来自参加者结果得到的能力评定标准差往往偏大, 也有可能被判为“满意”, 此时需考虑确定指定值和适当的离散性度量方法。d. 需

建立综合评价指标量化值。在后续能力验证活动中将继续推行该种评价方法以验证评价方式的可行性, 并区分出结果满意、可疑和不满意的临界值标准。以上是多特性值结果综合评价面临的局限, 有待进一步研究、发展更加客观公正、科学可行的高通量非靶向检测能力评价方法。

参考文献

- [1] ALAN W. Compendium of Pesticide Common Names[OL]. (2023-01-18)[2023-02-02]. <http://www.alanwood.net/pesticides>.
- [2] BLANKSON G K, OSEI-FOSU P, ADEENDZE E A, et al. Contamination levels of organophosphorus and synthetic pyrethroid pesticides in vegetables marketed in Accra, Ghana[J]. Food Control, 2016, 68(10): 174-180.
- [3] CHOWDHURY M A Z, FAKHRUDDIN A N M, ISLAM M N, et al. Detection of the residues of nineteen pesticides in fresh vegetable samples using gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Control, 2013, 34(2): 457-465.
- [4] GIRAME R, SHABEER T P A, GHOSH B, et al. Multi-residue method validation and safety evaluation of pesticide residues in seed spices cumin (*Cuminum cyminum*) and coriander (*Coriandrum sativum*) by gas chromatography tandem mass spectrometry (GC-MS/MS)[J]. Food Chemistry, 2022, 374(10): 131782.1-131782.11.
- [5] KASPERKIEWICZ A, PAWLISZYN J. Multiresidue pesticide quantitation in multiple fruit matrices via automated coated blade spray and liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2021, 339(6): 127815.1-127815.7.
- [6] CHU Y, TONG Z, DONG X, et al. Simultaneous determination of 98 pesticide residues in strawberries using UPLC-MS/MS and GC-MS/MS[J]. Microchemical Journal, 2020, 156(5): 104975.1-104975.6.
- [7] LI J X, LI X Y, CHANG Q Y, et al. Screening of 439 pesticide residues in fruits and vegetables by gas chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry based on TOF accurate mass database and Q-TOF spectrum library[J]. Journal of AOAC International, 2018, 101(5): 1631-1638.
- [8] PANG G F, FAN C L, CHANG Q Y, et al. Screening of 485 pesticide residues in fruits and vegetables by liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry based on TOF accurate mass database and QTOF spectrum library[J]. Journal of AOAC International, 2018, 101(4): 1156-1182.
- [9] PICO Y, ALFARHAN A H, BARCELO D. How recent innovations in gas chromatography-mass spectrometry have improved pesticide residue determination: An alternative technique to be in your radar[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2020, 122(1): 115720.1-115720.8.
- [10] 陈婷, 张文, 刘光瑞, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查香橼中 180 种农药残留[J]. 农药学报, 2022, 24(3): 610-620. [CHEN T, ZHANG W, LIU G R, et al. Rapid screening of 180 pesticide residues in *Fructus citri* by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2022, 24(3): 610-620.]
- [11] 黎才婷, 雷紫依, 丁胜华, 等. 基于色谱-质谱联用技术的食品中农药残留高通量非靶向检测技术研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(5): 231-240. [LI C T, LEI Z Y, DING S H, et al.

- Progress in high-throughput and non-targeted detection of pesticide residues in foods by chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2023, 44(5): 231-240.]
- [12] 刘攀. 应用主成分分析综合评价实验室的能力验证结果[J]. *理化检验-化学分册*, 2019, 53(9): 1060-1064. [LIU P. Application of main component analysis comprehensive evaluation laboratory capacity verification results[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2019, 53(9): 1060-1064.]
- [13] TANGNI E K, HUYBRECHTS B, MASQUELIER J, et al. Organisation of multi-mycotoxin proficiency tests: Evaluation of the performances of the laboratories using the triple a rating approach[J]. *Toxins*, 2021, 13(9): 591.
- [14] VALVERDE A, FERNÁNDEZ-ALBA A R, FERRER C, et al. Laboratory Triple-A rating: A new approach to evaluate performance-underperformance of laboratories participating in EU proficiency tests for multi-residue analysis of pesticides in fruits and vegetables[J]. *Food Control*, 2016, 63(5): 255-258.
- [15] MEDINA-PASTOR P, MEZCUA M, RODRÍGUEZ-TORREBLANCA C, et al. Laboratory assessment by combined z score values in proficiency tests: experience gained through the European Union proficiency tests for pesticide residues in fruits and vegetables[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 397(7): 3061-3070.
- [16] LEAL L H C, ROCHA W F C. A new approach for multivariate data analysis in interlaboratory comparisons based on multi-dimensional scaling and robust confidence ellipse[J]. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2023, 34(3): 434-440.
- [17] 农业农村部. NY/T 789-2004 农药残留分析样本的采样方法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2004. [Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. NY/T 789-2004 Guideline on sampling for pesticide residue analysis[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2004.]
- [18] 国家市场监督管理总局. JJF 1343-2022 标准物质的定值及均匀性、稳定性评估[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022. [State Administration for Market Regulation. JJF 1343-2022 Characterization, homogeneity and stability assessment of reference materials[S]. Beijing: Standards Press of China, 2022.]
- [19] PANG G F, CHANG Q Y, BAI R B, et al. Simultaneous screening of 733 pesticide residues in fruits and vegetables by a GC/LC-Q-TOFMS combination technique[J]. *Engineering*, 2020, 6(4): 432-441.
- [20] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL003 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018. [China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-GL003 Guidance on evaluating the homogeneity and stability of samples used for proficiency testing[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018.]
- [21] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-RL02 能力验证规则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018. [China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-RL02 Rules for proficiency testing[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018.]
- [22] International Organization for Standardization. ISO 13528 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison[S]. Switzerland, 2015.
- [23] 全国统计方法应用标准化技术委员会. GB/T 28043-2019 利用实验室间比对进行能力验证的统计方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019. [Application of Statistical Methods. GB/T 28043-2019 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison[S]. Beijing: Standards Press of China, 2019.]
- [24] 谢瑜杰, 陈辉, 盖丽娟, 等. 液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查与确证紫甘蓝中 415 种农药残留[J]. *色谱*, 2021, 39(3): 301-315. [XIE Y J, CHEN H, GAI L J, et al. Rapid screening and confirmation of 415 pesticide residues in red cabbages by liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2021, 39(3): 301-315.]
- [25] 谢瑜杰, 盖丽娟, 徐凤华, 等. 气相色谱-四极杆/飞行时间质谱快速筛查紫甘蓝中 406 种农药残留及其在欧盟能力验证中的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(18): 6437-6445. [XIE Y J, GAI L J, XU F H, et al. Simultaneous screening and confirmation of 406 pesticide residues in red cabbage by gas chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry and the application in European Union proficiency test[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(18): 6437-6445.]
- [26] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 10111-2008 随机数的产生及其在产品质量抽样检验中的应用程序[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008. [Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 10111-2008 Generation of random numbers and procedures applied to sampling inspection for product quality[S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.]
- [27] ISO Reference Materials Committee. Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability[R]. Geneva: 2017.
- [28] 张帆, 刘胜楠, 王海涛, 等. 能力验证中的稳健统计方法应用浅析[J]. *标准科学*, 2018, 55(2): 61-64. [ZHANG F, LIU S N, WANG H T, et al. Application of robust statistical methods in proficiency testing[J]. *Standard Science*, 2018, 55(2): 61-64.]
- [29] 李耀磊, 金红宇, 项新华, 等. 药品中重金属及有害元素残留检测能力验证结果评价模式探讨[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(8): 1724-1728. [LI Y L, JIN H Y, XIANG X H, et al. Discussion on evaluation mode of proficiency testing for heavy metal and harmful element detection in medicines[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, 44(8): 1724-1728.]
- [30] MEDINA-PASTOR P, FERNÁNDEZ-ALBA A R, ANDERSSON A, et al. European commission proficiency tests for pesticide residues in fruits and vegetables[J]. *TrAC: Trends in Analytical Chemistry*, 2010, 29(1): 70-83.