



T/CAIA

# 中国分析测试协会标准

T/CAIA/SH005-2015

---

动物源性食品中呋喃唑酮代谢物 3-氨基-2-噁唑酮的  
测定 酶联免疫吸附法

Determination of furazolidone metabolite  
3-amino-2-oxalidinone residues in animal original food  
—Enzyme linked immunosorbent assay method

2015-12-30 发布

2016-04-01 实施

---

中国分析测试协



## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

本标准由中国分析测试协会标准化委员会提出并归口。

本标准起草单位：北京勤邦生物技术有限公司

本标准主要起草人：罗晓琴、朱亮亮、杨昌松、万宇平、贾芳芳、冯静、崔海峰、刘玉梅

# 动物源性食品中呋喃唑酮代谢物 3-氨基-2-噁唑酮的测定

## 酶联免疫吸附法

### 1 范围

本标准规定了动物源性食品中呋喃唑酮代谢物 3-氨基-2-噁唑酮 (3-amino-2-oxalidinone, AOZ) 的酶联免疫吸附 (ELISA) 测定方法。

本标准适用于鸡肉、鸡肝、猪肉、猪肝、鱼肉、虾肉等动物源性食品中呋喃唑酮代谢物 3-氨基-2-噁唑酮的测定。其他食品可参照执行。

本标准的方法检出限为 0.10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 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 6682 分析实验室用水规则和试验方法

### 3 原理和方法提要

本方法为间接竞争 ELISA 方法。2-硝基苯甲醛与试样中的 3-氨基-2-噁唑酮反应生成 3-(2-硝基苄叉氨基)-2-噁唑酮 (2-NP-AOZ)，酶标板微孔中包被有 2-NP-AOZ 抗原，与试样中的 2-NP-AOZ 抗原特异性竞争抗 2-NP-AOZ 抗体，加入酶标二抗，通过显色液进行显色，试样中 2-NP-AOZ 的含量与相对吸光度值成反比。用酶标仪测定 450 nm 波长下吸光度，配合分析软件计算试样中呋喃唑酮代谢物的含量。

### 4 试剂和材料

以下所用试剂，除特殊注明外均为分析纯试剂，水符合 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 4.1 试剂

4.1.1 2-硝基苯甲醛 ( $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{CHO}$ ): 纯度不小于 98.00%。

4.1.2 甲醇 ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )。

4.1.3 乙酸乙酯 ( $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ )。

4.1.4 正己烷 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )。

4.1.5 三水合磷酸氢二钾 ( $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )。

4.1.6 盐酸 ( $\text{HCl}$ ):  $\rho=1.18 \text{ g}/\text{cm}^3$ 。

- 4.1.7 氢氧化钠 (NaOH)。
- 4.1.8 吐温-20 ( $C_{18}H_{34}O_6 \cdot (C_2H_4O)_{20}$ )。
- 4.1.9 二水合磷酸二氢钠 ( $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ )。
- 4.1.10 十二水合磷酸氢二钠 ( $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ )。
- 4.1.11 过氧化脲 ( $CO(NH_2)_2 \cdot H_2O_2$ )。
- 4.1.12 四甲基联苯胺盐酸盐 ( $C_{16}H_{20}N_2 \cdot 2HCl$ )。
- 4.1.13 硫酸 ( $H_2SO_4$ ):  $\rho=1.84 \text{ g/cm}^3$ 。

## 4.2 溶液配制

- 4.2.1 衍生化试剂: 称取 15.10 mg 2-硝基苯甲醛, 加 10.00 mL 甲醇溶解, 混匀。
- 4.2.2 磷酸氢二钾溶液 0.50 mol/L: 称取 114.00 g 三水合磷酸氢二钾, 加水定容至 1000 mL, 混匀。
- 4.2.3 盐酸溶液 0.30 mol/L: 量取 12.45 mL  $\rho=1.18 \text{ g/cm}^3$  的盐酸, 加水定容至 500 mL, 混匀。
- 4.2.4 氢氧化钠溶液 1.00 mol/L: 称取 4.00 g 氢氧化钠, 加水定容至 100 mL, 混匀。
- 4.2.5 磷酸盐缓冲液 0.20 mol/L: 准确称取 25.80 g 十二水合磷酸氢二钠、4.36 g 二水合磷酸二氢钠, 量取 5.00 mL 吐温-20, 加水定容至 500 mL, pH 值为 7.2。于 2 °C~8 °C 避光能够保存 1 个月。
- 4.2.6 磷酸盐缓冲液 0.02 mol/L: 用水将 0.20 mol/L 磷酸盐缓冲液 (4.2.5) 按 9:1 体积比进行稀释, 用于酶标板洗涤。于 2 °C~8 °C 避光能够保存 1 个月。
- 4.2.7 磷酸盐缓冲液 0.10 mol/L: 准确称取 12.90 g 十二水合磷酸氢二钠、2.18 g 二水合磷酸二氢钠, 加水定容至 500 mL, pH 值为 7.6。于 2 °C~8 °C 避光能够保存 1 个月。
- 4.2.8 磷酸盐缓冲液 0.05 mol/L: 用水将 0.10 mol/L 磷酸盐缓冲液 (4.2.7) 按 1:1 体积比进行稀释, 用于鸡肉、猪肉、鱼肉和虾肉提取试样的溶解。于 2 °C~8 °C 避光能够保存 1 个月。
- 4.2.9 磷酸盐缓冲液 0.025 mol/L: 用水将 0.10 mol/L 磷酸盐缓冲液 (4.2.7) 按 3:1 体积比进行稀释, 用于鸡肝和猪肝提取试样的溶解。于 2 °C~8 °C 避光能够保存 1 个月。
- 4.2.10 显色液: 准确称取 1.00 g 过氧化脲和 3.00 g 四甲基联苯胺盐酸盐, 加水定容至 1000 mL。
- 4.2.11 硫酸 2.0 mol/L: 准确量取 11.1 mL  $\rho=1.84 \text{ g/cm}^3$  的  $H_2SO_4$ , 缓慢加入水中, 冷却至室温后, 加水定容至 100 mL。

## 4.3 标准品

3-(2-硝基苄叉氨基)-2-唑烷酮 ( $C_{10}H_9N_3O_4$ ): 纯度不小于 99.00%, CAS: 19687-73-1。

#### 4.4 标准溶液配制

4.4.1 3-(2-硝基苄叉氨基)-2-唑烷酮标准储备液 1.00 mg/mL: 用水作为溶剂, 配制成 1.00 mg/mL 的 3-(2-硝基苄叉氨基)-2-唑烷酮 (2-NP-AOZ) 标准储备液。于 -20 °C 避光条件下能够保存 12 个月。

4.4.2 3-(2-硝基苄叉氨基)-2-唑烷酮标准工作溶液: 用 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (4.2.8) 将 1.00 mg/mL 的 3-(2-硝基苄叉氨基)-2-唑烷酮 (2-NP-AOZ) 标准储备液 (4.4.1) 配制成浓度分别为 0 ng/L、25 ng/L、75 ng/L、225 ng/L、675 ng/L、2025 ng/L 的 2-NP-AOZ 标准工作溶液。于 2 °C~8 °C 避光能够保存 12 个月。

#### 4.5 呋喃唑酮代谢物残留酶联免疫检测试剂盒构成 (技术要求参见附录 A.1)

4.5.1 酶标微孔板: 96 孔, 包被有 2-NP-AOZ 偶联抗原。

4.5.2 抗体: 抗 2-NP-AOZ 特异性单克隆抗体。

4.5.3 酶标二抗: 羊抗鼠免疫球蛋白与辣根过氧化物酶的结合物。

### 5 仪器和设备

5.1 酶标仪: 内置 450 nm 和 630 nm 滤光片, 检测吸光度。

5.2 氮气吹干装置。

5.3 匀浆机: 转速不小于 10000 r/min。

5.4 振荡器。

5.5 涡旋仪。

5.6 离心机: 转速不小于 3000 r/min。

5.7 恒温培养箱。

5.8 天平: 感量 0.00001 g, 0.01 g。

5.9 微量移液器: 单道 20  $\mu$ L~200  $\mu$ L、100  $\mu$ L~1000  $\mu$ L, 多道 250  $\mu$ L。

### 6 样品制备与保存

取新鲜或解冻的鸡肉、鸡肝、猪肉、猪肝、鱼肉、虾肉样品, 剪碎, 于 10000 r/min 匀浆 1 min。

制备好的样品, 应即刻进行提取和检测。

注: 鱼鳞、虾壳应去除。

### 7 试样提取

## 7.1 鸡肉、猪肉、鱼肉、虾肉试样

准确称取试样  $1.00\text{ g} \pm 0.05\text{ g}$  至  $50\text{ mL}$  聚苯乙烯离心管中，加入  $5\text{ mL}$   $0.30\text{ mol/L}$  盐酸溶液（4.2.3）和  $100\text{ }\mu\text{L}$  衍生化试剂（4.2.1），充分振荡  $2\text{ min}$ ，于  $37\text{ }^\circ\text{C}$  孵育  $3\text{ h}$ 。分别加入  $1\text{ mL}$   $0.50\text{ mol/L}$  磷酸氢二钾溶液（4.2.2）、 $1.30\text{ mL}$   $1.00\text{ mol/L}$  氢氧化钠溶液（4.2.4）和  $6\text{ mL}$  乙酸乙酯，剧烈振荡  $30\text{ s}$ 。 $3000\text{ r/min}$  以上离心  $10\text{ min}$ ，取  $3\text{ mL}$  上层乙酸乙酯相至  $10\text{ mL}$  干燥玻璃试管中，于  $50\text{ }^\circ\text{C} \sim 60\text{ }^\circ\text{C}$  水浴氮气吹干。加入  $1\text{ mL}$  正己烷，涡旋  $30\text{ s}$ ，再加入  $1\text{ mL}$   $0.05\text{ mol/L}$  磷酸盐缓冲液（4.2.8），用涡旋仪再涡旋  $1\text{ min}$ ，充分混匀。室温  $3000\text{ r/min}$  以上离心  $5\text{ min}$ ，除去上层有机相，取下层水相作为试样提取液。

## 7.2 鸡肝、猪肝试样

将 7.1 中的  $0.05\text{ mol/L}$  磷酸盐缓冲液（4.2.8）替换为  $0.025\text{ mol/L}$  磷酸盐缓冲液（4.2.9），其他操作步骤均同 7.1。

# 8 测定

## 8.1 测定步骤

8.1.1 用  $0.05\text{ mol/L}$  磷酸盐缓冲液（4.2.8）将抗体（4.5.2）按照 4:1 体积比进行稀释。

8.1.2 每孔加入  $50\text{ }\mu\text{L}$  不同浓度的标准工作溶液（4.4.2，每个标准工作溶液做 2 孔平行），再加入  $50\text{ }\mu\text{L}$  酶标二抗（4.5.3），最后加入  $50\text{ }\mu\text{L}$  经稀释的抗体（8.1.1），于  $25\text{ }^\circ\text{C}$  避光  $30\text{ min}$ 。

8.1.3 如果对试样进行测定，每孔加入  $50\text{ }\mu\text{L}$  试样提取液（试样提取液做 2 孔平行），按照 8.1.2 方法进行操作。

8.1.4 将孔内液体甩干，每孔加入  $250\text{ }\mu\text{L}$   $0.02\text{ mol/L}$  磷酸盐缓冲液（4.2.6），充分洗涤 4~5 次，每次间隔  $10\text{ s}$ ，拍干后每孔加入  $100\text{ }\mu\text{L}$  显色液，于  $25\text{ }^\circ\text{C}$  避光  $15\text{ min}$ 。

8.1.5 每孔加入  $50\text{ }\mu\text{L}$   $2.00\text{ mol/L}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$ （4.2.11）终止反应，立即用酶标仪以  $630\text{ nm}$  为参比波长，测定  $450\text{ nm}$  处吸光度值。

## 8.2 标准曲线的绘制

以  $450\text{ nm}$  波长下相对吸光度值[W 见式（1）]为纵坐标，标准工作溶液浓度的自然对数值为横坐标绘制标准曲线。每次实验均需重新绘制标准曲线。

## 8.3 空白实验

除不称取试样外，均应按上述步骤进行测定。

# 9 结果计算

## 9.1 计算相对吸光度值

用所获得的标准工作溶液或试样提取液吸光度值的平均值（双孔）除以浓度为 0 ng/L 的标准工作溶液吸光度值的平均值（双孔），见式（1）：

$$W = \frac{A}{A_0} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$W$ —— 相对吸光度值，%；

$A$  —— 标准工作溶液或试样提取液的平均吸光度值；

$A_0$ —— 浓度为 0 ng/L 的标准工作溶液的平均吸光度值。

## 9.2 试样结果计算

将计算的相对吸光度值  $W$  (%) 对应 2-NP-AOZ (ng/L) 的自然对数做半对数坐标曲线图，对应的 2-NP-AOZ 的质量浓度可从标准曲线算出，试样中 2-NP-AOZ 的含量按式（2）计算：

$$w = \frac{\rho \cdot V \cdot n}{m \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$w$ —— 试样中 2-NP-AOZ 的含量，以质量分数表示，单位为  $\mu\text{g}/\text{kg}$ （微克每千克）；

$\rho$ —— 相对吸光度值  $W$  (%) 对应的 2-NP-AOZ 的质量浓度，单位为  $\text{ng}/\text{L}$ （纳克每升）；

$V$ —— 试样提取液体积，单位为  $\text{mL}$ （毫升）；

$n$  —— 试样稀释倍数（试样通过前处理后稀释倍数为 2 倍）；

$m$  —— 试样的取样量，单位为  $\text{g}$  或  $\text{mL}$ （克或毫升）。

计算结果应扣除空白值。测定结果用平行测定的算术平均值表示，所得结果表示至两位小数。

## 10 正确度和精密度

### 10.1 正确度

在试样中添加 0.10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~0.80  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度水平的 AOZ 时，回收率为 70%~110%。

### 10.2 精密度

标准的精密度数据是按照 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 的规定确定的，在重复性条件和再现性条件下，两次独立测定结果的绝对差值分别不大于重复性限 ( $r$ ) 和再现性限 ( $R$ )，水平范围见表 1， $r$  和  $R$  数据见表 2，计算方法见附录 A.2。

表1 精密度实验数据表

检测目标物	水平范围 $w/(\mu\text{g}/\text{kg})$	重复性限 $r$	再现性限 $R$



2-NP-AOZ	0.10~2.025	$r = 2.8 \times S_r$	$R = 2.8 \times S_R$
----------	------------	----------------------	----------------------

表2 重复性限和再现性限

试样名称	2-NP-AOZ含量 $w/(\mu\text{g}/\text{kg})$	$r/(\mu\text{g}/\text{kg})$	$R/(\mu\text{g}/\text{kg})$
猪肉	0.098	0.013	0.019
	0.177	0.034	0.044
	0.386	0.092	0.096
	0.745	0.150	0.192
猪肝	0.094	0.014	0.019
	0.182	0.033	0.048
	0.383	0.075	0.089
	0.746	0.078	0.170
鸡肉	0.108	0.015	0.025
	0.193	0.020	0.029
	0.375	0.048	0.069
	0.740	0.090	0.134
鸡肝	0.093	0.013	0.016
	0.190	0.032	0.036
	0.374	0.051	0.071
	0.753	0.082	0.133
鱼肉	0.104	0.014	0.018
	0.202	0.026	0.037
	0.363	0.065	0.082
	0.749	0.117	0.151
虾肉	0.094	0.013	0.018
	0.169	0.033	0.043
	0.399	0.053	0.065
	0.723	0.138	0.139

## 11 结果确认

### 11.1 质量控制

对于一个已知 2-NP-AOZ 含量的试样，在重复性条件下，两次测试结果的绝对差值不超过此含量的概率为 95%。

对于一个已知 2-NP-AOZ 含量的试样，在再现性条件下，两次测试结果的绝对差值不超过此含量的概率为 95%。

对于一个已知 2-NP-AOZ 含量的试样，分别在重复性条件下和再现性条件下，测试结果与已知的 2-NP-AOZ 含量的绝对差值小于检测方法的临界差（95%置信度），即  $CrD_{95}$ 。

根据附录 B 中检测方法的临界差（95%置信度）即  $CrD_{95}$  的计算方法及数值得到该检测

方法的猪肉、猪肝、鸡肉、鸡肝、鱼肉、虾肉的  $CrD_{95}$ 。

在置信度为 95% 条件下,若检测结果显示猪肉试样中 2-NP-AOZ 含量小于  $0.089 \mu\text{g}/\text{kg}$  时,则判定猪肉试样中 2-NP-AOZ 含量小于  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即为该方法未检出;若检测结果显示猪肉试样中 2-NP-AOZ 含量大于  $0.111 \mu\text{g}/\text{kg}$  时,则判定猪肉试样中 2-NP-AOZ 含量大于  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即为该方法检出;若检测结果显示  $0.089 \mu\text{g}/\text{kg} \leq \text{检测结果} \leq 0.111 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即检出和未检出之间,则此试样须采用相关国家或行业标准推荐的分析方法进行确证。筛检出 2-NP-AOZ 含量低于  $0.111 \mu\text{g}/\text{kg}$  的试样,须按相关规定进行一定比例的抽检确证。

在置信度为 95% 条件下,若检测结果显示猪肝试样中 2-NP-AOZ 含量小于  $0.090 \mu\text{g}/\text{kg}$  时,则判定猪肝试样中 2-NP-AOZ 含量小于  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即为该方法未检出;若检测结果显示猪肝试样中 2-NP-AOZ 含量大于  $0.110 \mu\text{g}/\text{kg}$  时,则判定猪肝试样中 2-NP-AOZ 含量大于  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即为该方法检出;若检测结果显示  $0.090 \mu\text{g}/\text{kg} \leq \text{检测结果} \leq 0.110 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即检出和未检出之间,则此试样须采用相关国家或行业标准推荐的分析方法进行确证。筛检出 2-NP-AOZ 含量低于  $0.110 \mu\text{g}/\text{kg}$  的试样,须按相关规定进行一定比例的抽检确证。

在置信度为 95% 条件下,若检测结果显示鸡肉试样中 2-NP-AOZ 含量小于  $0.085 \mu\text{g}/\text{kg}$  时,则判定鸡肉试样中 2-NP-AOZ 含量小于  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即为该方法未检出;若检测结果显示鸡肉试样中 2-NP-AOZ 含量大于  $0.115 \mu\text{g}/\text{kg}$  时,则判定鸡肉试样中 2-NP-AOZ 含量大于  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即为该方法检出;若检测结果显示  $0.085 \mu\text{g}/\text{kg} \leq \text{检测结果} \leq 0.115 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即检出和未检出之间,则此试样须采用相关国家或行业标准推荐的分析方法进行确证。筛检出 2-NP-AOZ 含量低于  $0.115 \mu\text{g}/\text{kg}$  的试样,须按相关规定进行一定比例的抽检确证。

在置信度为 95% 条件下,若检测结果显示鸡肝试样中 2-NP-AOZ 含量小于  $0.092 \mu\text{g}/\text{kg}$  时,则判定鸡肝试样中 2-NP-AOZ 含量小于  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即为该方法未检出;若检测结果显示鸡肝试样中 2-NP-AOZ 含量大于  $0.108 \mu\text{g}/\text{kg}$  时,则判定鸡肝试样中 2-NP-AOZ 含量大于  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即为该方法检出;若检测结果显示  $0.092 \mu\text{g}/\text{kg} \leq \text{检测结果} \leq 0.108 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即检出和未检出之间,则此试样须采用相关国家或行业标准推荐的分析方法进行确证。筛检出 2-NP-AOZ 含量低于  $0.108 \mu\text{g}/\text{kg}$  的试样,须按相关规定进行一定比例的抽检确证。

在置信度为 95% 条件下,若检测结果显示鱼肉试样中 2-NP-AOZ 含量小于  $0.091 \mu\text{g}/\text{kg}$  时,则判定鱼肉试样中 2-NP-AOZ 含量小于  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即为该方法未检出;若检测结果显示鱼肉试样中 2-NP-AOZ 含量大于  $0.109 \mu\text{g}/\text{kg}$  时,则判定鱼肉试样中 2-NP-AOZ 含量大于  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即为该方法检出;若检测结果显示  $0.091 \mu\text{g}/\text{kg} \leq \text{检测结果} \leq 0.109 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,即检出和未检出之间,

则此试样须采用相关国家或行业标准推荐的分析方法进行确证。筛检出 2-NP-AOZ 含量低于 0.109  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的试样，须按相关规定进行一定比例的抽检确证。

在置信度为 95% 条件下，若检测结果显示虾肉试样中 2-NP-AOZ 含量小于 0.090  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时，则判定虾肉试样中 2-NP-AOZ 含量小于 0.10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，即为该方法未检出；若检测结果显示虾肉试样中 2-NP-AOZ 含量大于 0.110  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时，则判定虾肉试样中 2-NP-AOZ 含量大于 0.10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，即为该方法检出；若检测结果显示 0.090  $\mu\text{g}/\text{kg}$   $\leq$  检测结果  $\leq$  0.110  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，即检出和未检出之间，则此试样须采用相关国家或行业标准推荐的分析方法进行确证。筛检出 2-NP-AOZ 含量低于 0.110  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的试样，须按相关规定进行一定比例的抽检确证。

## 附 录 A

### 呋喃唑酮代谢物残留酶联免疫检测试剂盒技术要求 (资料性附录)

#### A.1 技术要求

##### A.1.1 基本要求

##### A.1.1.1 抗原要求

2-NP-AOZ 与载体蛋白进行化学偶联，载体蛋白与 2-NP-AOZ 的偶联比为 1:10~1:20。

##### A.1.1.2 抗体要求

用 2-NP-AOZ 偶联抗原免疫小鼠，制备针对 2-NP-AOZ 的特异性单克隆抗体，效价应大于 10000（间接 ELISA 法），特异性应满足表 A.1。

表 A.1 试剂盒特异性（以交叉反应率表示）

药物名称	交叉反应率/%
呋喃唑酮代谢物	100
呋喃唑酮	<20
呋喃它酮	<1
呋喃妥因	<1
呋喃西林	<1
呋喃它酮代谢物	<0.1
呋喃妥因代谢物	<0.1
呋喃西林代谢物	<0.1

#### A.2 重复性限和再现性限的计算方法

由 6 个实验室分别对 4 个水平的含 2-NP-AOZ 的鸡肉、鸡肝、猪肉、猪肝、鱼肉、虾肉试样进行测定，每个实验室对每个水平的试样按 GB/T 6379.1 规定的重复性条件，测定 6 次，对各个实验室给出的数据按照 GB/T 6379.2 进行统计分析，重复性限和再现性限数据见表 2。

重复性限  $r$  的计算方法见式 (3)：

$$r = 2.8 \times S_r \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$S_r$ ——重复性条件下所得测试结果的标准差。

再现性限  $R$  的计算方法见式 (4)：

$$R = 2.8 \times S_R \dots\dots\dots (4)$$

式中：

$S_R$ ——再现性条件下所得测试结果的标准差。

## 附 录 B

### 筛检规则

#### (资料性附录)

#### B.1 规则说明

检测方法的临界差（95%置信度）符合：

$$CrD_{95} \left( \left| \bar{X} - \mu_0 \right| \right) = \frac{1}{\sqrt{2}} \sqrt{R^2 - r^2 \frac{(n-1)}{n}} \dots\dots\dots(5)$$

式中：

$\bar{X}$  ——检测结果的平均值；

$\mu_0$  ——参照值。

当  $\bar{X} < \mu_0 - CrD_{95}$  为该方法未检出， $\bar{X} > \mu_0 + CrD_{95}$  为该方法检出，  
介于两者之间则为可疑区间。

#### B.2 数值确定

按照这一原则，本标准对不同实验室、不同仪器和不同人员在筛检过程中对系列试样的检测结果进行统计，计算出方法的重复性限 $r$ 和再现性限 $R$ ，得到 $CrD_{95}$ 值。按照B.1判断规则作出试样中2-NP-AOZ是否检出的判断，猪肉、猪肝、鸡肉、鸡肝、鱼肉、虾肉试样 $CrD_{95}$ 数值见表B.1。

表B.1  $CrD_{95}$ 数值表

试样名称	2-NP-AOZ 含量 $w / (\mu\text{g/kg})$	重复性限 $r / (\mu\text{g/kg})$	再现性限 $R / (\mu\text{g/kg})$	$CrD_{95} / (\mu\text{g/kg})$
猪肉	0.098	0.013	0.019	0.011
猪肝	0.094	0.014	0.019	0.010
鸡肉	0.108	0.015	0.025	0.015
鸡肝	0.093	0.013	0.016	0.008
鱼肉	0.104	0.014	0.018	0.009
虾肉	0.094	0.013	0.018	0.010