附件2

食品补充检验方法编制技术要求

1.基质选择

检测范围为某类或多类食品时，基质材料选择应为某类或多类食品中主要典型品种。

2.方法学考察要求

应充分考虑物质在提取净化过程中的吸附、转化等内容，对于混合标准溶液，需提供有关的稳定性、兼容性的内容。必要时可进行强化试验。

（1）提取效果

方法试验中，应进行提取效果的验证，可用以下方法进行试验：

——用阳性的标准物质或能力验证的样品进行试验；

——阳性样品或添加样品用同一溶剂反复提取，观察被分析物浓度变化；

——用不同提取技术或不同提取溶剂进行比较。

（2）方法的特异性

方法的特异性是指在确定的分析条件下，分析方法检测和区分共存物与目标化合物的能力。要说明该方法检测信号仅与被检组分有关，与其他化合物无关。说明采用的分析技术需要克服任何可预见的干扰，特别是来自基质组分的干扰，并重点考虑检测信号的专属性和鉴别能力。

确定特异性的方法：

①一般应对具有代表性的空白基质和空白基质添加被测组分的样品，按照确定的样品前处理方法处理后进行分析，考察基质中存在的物质是否对被测组分存在干扰。

②存在干扰峰时：

a.定量限小于或等于限量值的1/3时，干扰峰的容许范围小于或相当于限量值浓度峰的1/10；

b.定量限大于限量值的1/3时，干扰峰的容许范围小于或相当于定量限浓度峰的1/3。

确证方法宜采用：

——不同极性或类型色谱柱确证；

——气相色谱-质谱法；

——液相色谱-质谱法；

——其他。

对于内源性物质检测和基础环境引入类物质，需考虑空白和校准的方式。

（3）标准工作曲线

标准工作曲线的线性范围应尽可能覆盖两个以上数量级，至少进行5个浓度水平（不包括空白，应包含定量限、最大残留限量或10倍定量限）。对于筛选方法，线性回归方程的相关系数应不低于0.98；对于确证和定量方法，相关系数应不低于0.99。测试溶液中被测组分浓度应在校准曲线的线性范围内。应列出标准校准曲线方程、相关系数，必要时应给出典型色谱图。

应比较不加基质曲线和加基质曲线的差异，确定曲线制作要求。

（4）准确度

方法的准确度是指所得结果与真值的符合程度，检测方法的准确度一般用回收率进行评价。准确度适用于小样本的准确程度描述，其他文件中显示的正确度适用于大样本测试中准确程度的描述，一般需要进行统计分析后获得。回收率试验应做三个水平添加，一般添加水平为：

——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；

——对于已制定限量值的，一般在1/2、1、2倍限量值三个水平各选一个合适点进行试验，如果限量值是定量限，可选择2倍限量值和10倍限量值两个点进行试验；

——对于未制定限量值的，回收率在方法定量限、常见限量指标和合适点进行三水平试验。

每个水平重复次数不少于6次，计算平均值。对回收率试验要求的参考范围见表A1。

表A1 不同添加水平对回收率试验的要求

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 添加水平，mg/kg | 范围，% | 相对标准偏差，% |
| ≤0.001 | 50~120 | ≤35 |
| ＞0.001≤0.01 | 60~120 | ≤30 |
| ＞0.01≤0.1 | 70~120 | ≤20 |
| ＞0.1≤1 | 70~110 | ≤15 |
| ＞1 | 70~110 | ≤10 |

制作添加样品时，使用新鲜的食品，均一化并称量后添加物质标准溶液。

注1：添加的物质标准溶液总体积应不大于2mL。

注2：添加物质标准溶液后，应充分混合，并放置30min后再进行提取操作。

注3：检测时间需要数日时，宜将均一化的样品冷冻保存，避免多次冻结以及融解。宜在检测实施日当日制作添加样品。

（5）精密度

精密度：在规定条件下，相互独立的测试结果之间的一致程度。

方法的精密度包括重复性和再现性：

①重复性：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。

每种试材均应进行重复性试验，至少进行三个水平的试验；添加水平要求参见“（4）准确度”中回收率试验要求，每个水平重复次数不少于6次。实验室内重复性试验的相对标准偏差符合表A2的要求。

注：重复性试验应按照样品处理方法获得添加均匀的试料，再取至少6批次试样进行独立测试。

表A2 实验室内重复性试验的相对标准偏差要求

|  |  |
| --- | --- |
| 被测组分含量，mg/kg | 相对标准偏差，% |
| ≤0.001 | ≤36 |
| ＞0.001≤0.01 | ≤32 |
| ＞0.01≤0.1 | ≤22 |
| ＞0.1≤1 | ≤18 |
| ＞1 | ≤14 |

②再现性：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互独立测试结果的一致性程度。

试验应在不同实验室间进行，实验室个数不少于5个（不包括标准起草单位）。再现性应进行三个以上添加水平试验，其中一个添加水平应在定量限，添加水平要求参见“（4）准确度”中回收率试验要求，每个水平重复次数不少于6次。实验室间再现性试验的相对标准偏差应符合表A3的要求。

表A3 实验室间再现性试验的相对标准偏差要求

|  |  |
| --- | --- |
| 被测组分含量，mg/kg | 相对标准偏差，% |
| ≤0.001 | ≤54 |
| ＞0.001≤0.01 | ≤46 |
| ＞0.01≤0.1 | ≤34 |
| ＞0.1≤1 | ≤25 |
| ＞1 | ≤19 |

（6）定量限

定量限是指可以进行准确定性（定性方法检出限）和定量测定的最低水平，在该水平下得到的回收率和精密度应满足表A1和表A2的要求。

（7）验证试验

定性方法的验证项目包括方法适用的所有基质材料的检出限、特异性；定量方法的验证项目包括方法适用的所有基质材料的线性范围、特异性、准确度、精密度和定量限。