

人参中 17 种有机氯农药残留测定能力验证分析

乔菲, 金红宇, 项新华, 马双成*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要 目的: 了解全国药品检验机构有机氯农药残留量测定的技术能力; 对几种农药残留量测定方法进行比较。**方法:** 采用了 0.3σ 准则法对能力验证样品进行了均匀性和稳定性检验, 以专家实验室公议值作为指定值, 以规定值作为能力评定标准差。采用百分相对差法评定各实验室的结果。统计了来自 21 个省、自治区、直辖市的 39 家实验室的有机氯农药残留测定结果, 对各参加实验室的能力验证结果进行了结果总数、中位数、标准四分位数间距、稳健的 RSD、最小值、最大值、极值的统计分析, 对不合格数据进行了技术分析。**结果:** 39 家实验室优秀率为 20.5%, 合格率为 64.1%, 不合格率为 15.4%。**结论:** 参加能力验证的大多数实验室基本具备执行药典标准的有机氯农药残留量测定的技术能力。

关键词: 人参; 有机氯农药; 农药残留; 能力验证; 指定值; 能力评定标准差; 百分相对差

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2018) 06-1024-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2018.06.15

Evaluation of results in proficiency testing for determination of 17 organochlorine pesticides in ginseng

QIAO Fei, JIN Hong-yu, XIANG Xin-hua, MA Shuang-cheng*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract Objective: To assess the proficiency of the institute for drug control for determination of organochlorine pesticides; And to compare the different techniques for the measurement of pesticide residues. **Methods:** The 0.3σ test was used to evaluate the homogeneity and stability of the proficiency testing sample. The assigned value was consensus value from expert laboratories. The standard deviation for proficiency assessment was determined by perception of experts. The results of the laboratories were assessed by the estimates of deviation. Statistical analysis was performed on the results from 39 labs in 21 provinces, including median, NIQR, robust RSD, minimum, maximum, and range. The technical analysis was conducted for outlier results. **Results:** 8 labs which participated in this program obtained excellent results, accounted for 20.5%; the results from 25 labs were passed, accounting for 64.1% and that from 6 labs were failed, accounting for 15.4%. **Conclusion:** Most of the labs that took part in the PT have good competence in analyzing organochlorine pesticides.

Keywords: ginseng; organochlorine pesticide; pesticide residues; proficiency testing; assigned value; standard deviation for proficiency assessment; estimate of deviation

* 通信作者 Tel: (010) 67095272; E-mail: masc@nifdc.org.cn

第一作者 Tel: (010) 67095424; E-mail: qiaofei@nifdc.org.cn

有机氯类农药半衰期长,蓄积毒性强,中药材中有机氯农药残留量测定过程涉及到残留检测常用的提取、净化、浓缩与富集、检测等技术步骤,能够较为全面地反映参加实验室的技术能力。2015年版《中华人民共和国药典》(简称中国药典)在正文人参项下增加了有机氯农药残留量限度检查^[1],并于通则中在原来9种有机氯农药检测指标的基础上又扩展到了22种有机氯农残指标^[2],对于检验实验室痕量分析能力有了更高的要求。申请认可和获准认可的实验室必须通过参加能力验证活动(包括中国合格评定国家认可委员会(CNAS)组织实施或承认的能力验证计划、测量审核)证明其技术能力^[3-5]。实验室能力验证通过实验室间检测结果的比对评价实验室能力,是实验室证明其技术能力的一种主要手段。人参中有机氯农药残留量测定能力验证计划由CNAS与中国食品药品检定研究院(简称中检院)质量管理处共同组织,中检院中药所天然药物室负责实施。本计划是实验室间比对活动,通过本次比对,考察了执行药典标准的相关实验室的技术能力和管理水平,同时对药典收录的多种农药残留量测定方法进行了比对研究,并通过揭示能力验证中发现的问题促进整个行业检测水平的提高,为全面监控中药材的质量提供科学、可靠的技术平台。

1 样品制备与考察

1.1 样品制备

能力验证测试样品为符合预期含量水平的人参自然基体阳性药材粉末。制样过程中,充分考虑影响均匀性的各种因素,将市场购买并筛选的人参药材(经测试六六六、滴滴涕、六氯苯和五氯硝基苯4类有机氯农药为阳性检出,总七氯、总氯丹和艾氏剂为阴性未检出),经粉碎,混匀,分装,灭菌,制得。

1.2 均匀性检验

从分装后的样品总体中随机抽取10瓶样品^[6],按照中国药典有机氯农药残留测定法第一法的优化方法,在重复条件下每个样品测试2次。采用 $S_s \leq 0.3\sigma$ 准则法进行均匀性检验。考察结果显示:样品的均匀性满足要求。 σ 值的确定详见“1.6”项。

1.3 稳定性检验

检测方法同均匀性检验。模拟样品在发放和实验过程中可能遇到的极端条件,分别考察了样品:(1)采用拟定包装,在室温条件下贮存11周;(2)采用拟定包装,在40℃条件下放置1周的稳定性;对照

样品,采用了在25℃、30%RH条件下放置的供试品。采用 $|x-y| \leq 0.3\sigma$ 准则法进行稳定性检验^[6]。考察结果显示样品稳定性良好,且在运输过程中不会造成样品中待测物的变化。

1.4 检测项目和要求

以中国药典人参检查项【农药残留量】规定的7类共17种有机氯农药为检测指标,按照实验室日常检验程序和方法,对测试样品进行检验,在规定期限内反馈检验结果。本计划为定性检测与定量检测相结合,7类有机氯农药中有4类为阳性检出,有3类为阴性检出。阴性检出应报告检出限或报告限,阳性检出应报告2次测定结果的实际值及均值。

1.5 指定值的确定

由专家实验室(中国食品药品检定研究院和中国医科院农用植物研究所)报告结果的稳健均值得到^[6]:六氯苯 $0.050 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,总六六六 $0.144 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,五氯硝基苯 $0.421 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,总滴滴涕 $0.086 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.6 能力评定标准差(σ)

σ 由规定值确定^[7]。参照我国农业部发布的“农药残留试验准则”^[8]、美国药典34版^[9]、欧洲药典7.0版^[10]关于农药残留检测重复性和重现性数据要求,当残留限度 $>0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,再现性RSD应不大于30%,当残留限度 $\leq 0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,再现性RSD应不大于40%^[11]。六氯苯和五氯硝基苯的限度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,总六六六和总滴滴涕的限度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,由此,对于指定值低于限度的六氯苯,能力评定标准差 $\sigma = 0.1 \times 40\% = 0.04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;同理,总六六六和总滴滴涕的能力评定标准差 σ 均为 $0.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;而对于指定值高于限度的五氯硝基苯,能力评定标准差 $\sigma = 0.421 \times 40\% = 0.168 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2 参加实验室情况

本次能力验证计划共有包括21个省市的57家实验室报名参加,参试实验室均收到作业指导书、样品确认单、结果报告单等文件及随机发放的样品。参试实验室拥有唯一性代码,统计结果均以实验室代码给出。有15家实验室中途放弃或未按规定提交结果;有42家实验室在规定时限内提交了检测结果,其中有3家实验室只完成部分测定项目,不予评价;对其余39家实验室结果进行统计和评价。

3 评价原则

本次能力验证计划采用分级评价的方式^[7],以专家实验室检测结果和结论为主要依据,从定性和定量

2个方面综合评价。首先,按照各实验室报告的7类农药结论(符合规定和不符合规定)评判,有1类农药结论错误,即判为“不合格”;然后,对7类农药结论全部判定正确的实验室进行数据准确性评判:(1)对未检出的农药(七氯、氯丹、和艾氏剂),应有效排除假阳性结果;(2)对检出的农药(总六六六、总滴滴涕、五氯硝基苯、六氯苯),以专家实验室检测结果作为指定值,当残留浓度 $>0.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,百分相对差 D 应 $\leq 30\%$,当残留浓度 $\leq 0.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,百分相对

差 $D\leq 40\%$ 。符合上述2个条件的判为“优秀”,其余为“合格”。百分相对差 D 由下式计算^[7], x 为实验室检测结果, X 为专家实验室检测结果。

$$D = \frac{(x-X)}{X} \times 100\%$$

4 结果统计

有6家实验室因结论判定错误,判为不合格;仅对其余33家农药制定结论全部正确的实验室进行结果准确性评判。详见表1、2。

表1 检测结果汇总统计量

Tab. 1 Tabulate statistics of test results

样品	中位值 (median)/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	标准化四分位距 (NIQR)/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	稳健 RSD (robust RSD)/%	最大值 (max)/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	最小值 (min)/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	极差 (range)/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
总六六六(hexachlorocyclohexane)	0.139	0.024 09	17.33	2.134	0.014	2.12
总滴滴涕(clofenotane)	0.076	0.024 83	32.68	4.075	0	4.075
五氯硝基苯(quintozene)	0.310	0.057 82	18.65	1.913	0.007	1.906
六氯苯(hexachlorobenzen)	0.026	0.010 75	41.34	0.056	0	0.056

表2 39家实验室能力验证结果汇总

Tab. 2 Result summary of proficiency testing for 39 labs

	总六六六 (hexachloro- cyclohexane)	总滴滴涕 (clofenotane)	五氯硝基苯 (quintozene)	六氯苯 (hexachlo- robenzene)	总七氯 (heptachlor)	总氯丹 (chlordane)	艾氏剂 (aldrin)	总结论 (conclusion)	
专家实验室结论 (consensus conclusion from expert laboratories)	符合规定 (complies)	符合规定 (complies)	不符合规定 (does not comply)	符合规定 (complies)	符合规定 (complies)	符合规定 (complies)	符合规定 (complies)	不符合规定 (does not comply)	
指定值 (assigned value) / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	0.144	0.086	0.421	0.050	未检出 (N.D)	未检出 (N.D)	未检出 (N.D)	/	
百分相对差 (standard deviation for proficiency assessment) / %	30	40	30	40	/	/	/	/	
实验室个数 (No. of laboratory)	不合格 (fail)	2	3	2	0	4	2	0	6
	合格 (qualified)	3	8	13	21	6	6	9	25
	优秀 (excellent)	34	28	24	18	29	31	30	8

39家实验室的结果中8家实验室的结果为“优秀”,优秀率为20.5%;结果为“合格”的实验室为25家,合格率为64.1%;另有6家实验室的结果为“不合格”,占总反馈结果的15.4%。

5 讨论

5.1 不合格原因分析

结果为“不合格”的6家实验室,主要问题有:七氯、氯丹假阳性检出;六六六、滴滴涕结果偏高,最高超出指定值32倍;五氯硝基苯结果偏低,最低仅为指定值的1.7%。不合格实验室分析方法及不合格项

目汇总详见表3。

人参中有机氯农药残留检测,属于痕量分析范畴,具有检测指标多,干扰情况复杂,分析成本高等特点,除了能正确选用合适的分析方法外,还应建立适宜的分析质量保证体系,以保证数据的准确可靠。此次能力验证中,结果为“合格”和“优秀”实验室约占84.6%,说明大部分实验室在进行有机氯农残测定能够较好地保证测定结果的准确性。但是,在部分实验室的记录中发现了一些技术和管理方面的欠缺,对农残检测的关键技术环节尚未完全掌握应是造成不合格结果的主要原因。

表 3 不合格实验室分析及不合格项目汇总

Tab. 3 Analytic procedure and unsatisfactory item of the labs for unqualified results

实验室 代码 (lab code)	净化方式 (purification)	检测方法 (detection method)	不合格项目 (items that don't comply)
413	GPC-SPE	GC-ECD	总滴滴涕、五氯硝基苯、总七氯、总氯丹 (clofenotane, quintozene, heptachior, chlordane)
586	GPC-SPE	GC-ECD	总滴滴涕、总七氯、总氯丹 (clofenotane, heptachior, chlordane)
751	GPC-SPE	GC-ECD	总六六六、总七氯 (hexachlorocyclohexane, heptachior)
773	GPC-SPE	GC-ECD	总六六六、五氯硝基苯 (Hexachlorocyclohexane, quintozene)
96	SPE (Florida silica column)	GC-ECD	总滴滴涕 (clofenotane)
303	QuEChERS	GC-MS-MS	总七氯 (heptachior)

5.1.1 空白试验 空白试验,即不取样,完全按照供试品溶液制备程序操作并测定。器皿、溶剂的污染会严重影响残留检测的专属性和准确度,每次检测均应随行空白试验,以便反映试剂、器皿、环境对测定的干扰情况。本次能力验证计划总七氯、总氯丹、艾氏剂均应为未检出(检测限 $0.005 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),部分实验室出现假阳性结果:总七氯(10家实验室);总氯丹(8家实验室);艾氏剂(9家实验室)。

5.1.2 回收试验 日常残留检测应随行回收试验,加标浓度一般选择在最大残留限量附近,在取样后立即加入,以反映整个提取、净化、测定过程的回收情况。本次能力验证有3家实验室未进行随行回收试验,其中2家的能力评价结论为不合格。

5.1.3 假阳性 痕量分析中,假阳性结果应被有效排除。阳性结论应基于空白试验和准确度都符合要求的基础上进行阳性验证,常用方法有更换不同极性色谱柱或更换检测方式。本次能力验证有13家实验室出现了假阳性结果,其中9家实验记录中未见空白试验,12家实验记录未见验证。

5.1.4 量值溯源 对照物质应能够溯源量值,应使用法定或有证标准物质。一般情况下,不推荐使用固体纯品,已知浓度的标准物质溶液在痕量分析中使用更

为方便。若使用储备液,则浓度、溶剂、配制日期应详细记录,并在原始记录中明确,以便于溯源。本次能力验证有部分实验室未在原始记录中详细记录浓度、溶剂及配制日期。

5.1.5 色谱条件 本次验证大多数实验室均采用配备电子捕获检测器的气相色谱仪,少数采用质谱检测器,气相色谱仪性能较为稳定,但如果色谱条件设置不好,或溶剂的纯度不够,不能使有效成分与杂质峰得到有效的分离,会导致回收率偏高,从而出现了较大的离群值,影响最终的检测结果。本次能力验证有4家实验室出现了离群值,百分相对差最高达到4584。

5.1.6 校准曲线 线性范围应尽量覆盖预期的浓度范围,如果样品中待测成分浓度超过线性范围,则应稀释后再行测定。另外,当样品中残留量较低时,若使用完整校准曲线进行定量,测量误差可能较大,当线性范围超过1个数量级时,采用分段校准或引入权重系数较为准确。本次能力验证,绝大多数实验室采用了完整校准曲线定量。

5.1.7 检测限(报告限) 不同于方法检测下限或定量下限,检测限或报告限是指残留量被作为数值报告的最低浓度,一般等于或略高于最低校准浓度,是高于实际方法定量限的一个固定数值,并满足风险分析的技术要求。在最低校准浓度,待测成分响应值信噪比应不低于10。按照法定方法进行的日常检验,通常可不必测定检测下限或定量下限,只需设定检测限。当供试品溶液响应值低于检测限时,可报告为未检出。本次能力验证中部分实验室报告仪器检测下限,部分实验室报告方法检测下限即定量限,还有个别实验室未报告检测下限。

5.2 测试样品

为保证能力验证测试样品的检测目标物与基体的结合状态尽可能与日常检测样品一致,测试样品没有采用人为添加测试组分的方法,而是采用了符合预期含量水平的人参自然基质阳性药材,以保证检测操作步骤及提取效率与日常检测的一致性,能确切反映实验室检测能力。

5.3 关于均匀性检验统计方法

在实施能力验证计划时,组织方应确保能力验证中出现的不满意结果不归咎于样品之间或样品本身的变异性。因此,对于能力验证样品的检测特性量,必须进行均匀性检验^[5]。ISO 13528推荐的方法是 0.3σ 原则^[7],其本质是通过样品间标准差 S_s 和能力

评定标准差 σ 的比较,只要样品的不均匀性小于最大允许区间的指定倍数(倍数小于1),则可以认为样品的不均匀性不会影响对参加者能力的评价。而另一种常采用的 F 检验法,其本质是比较2个样本的方差是否有显著性差异,是分析在给定显著性水平下,样品发生显著性差异的概率,若低于指定的概率,则认为样品“充分均匀”。2种方法并无本质上的优劣。本次能力验证是痕量分析,从检测方法的精密度要求出发,认为 0.3σ 原则更符合实际情况。

5.4 检测方法

本次能力检验没有规定统一的检测方法,从初步统计的结果看,检测方法主要为:磺化法(中国药典四部通则 2341 第一法)、GPC-SPE 法(中国药典四部通则 2341 第二法)、GPC 法、SPE 法和气质质法(中国药典四部通则 2341 第四法)等5大类,结果显示,GPC-SPE 法作为法定方法,仅被26%的实验室采用,同时该方法的不合格率高达40%。而磺化法,有41%的实验室采用,结果全部合格或优秀。结果显示 GPC-SPE 法前处理步骤烦琐^[12-15],需要配备 GPC 净化系统,对实验室及人员的要求高,同时对人参基质来说净化效果不理想,回收率偏低;而磺化法操作简单易行,色谱图干扰少,更适合人参中有机氯农残的测定。

5.5 关于假阳性结果与假阴性结果

本次能力验证部分实验室出现假阳性结果或假阴性结果,从分析检测风险评估的角度,仅对于出现假阳性或假阴性结果并且影响最终结果判定的,作不合格判定。对于未影响最终结果判定的,不作不合格判定。

5.6 参加实验室的行业分布

参加本次能力验证的省级食品药品检验机构共12家,合格率(含优秀)为91.7%;地市级食品药品检验机构共15家,合格率为80%;其他药品生产企业、科研单位和实验室共12家,合格率(含优秀)为83.3%。本次能力验证的结果在一定程度上可以反映大多数实验室基本具备执行中国药典标准的有机氯农药残留量测定的技术能力,可以看出省级药检机构的检验能力较强,合格率明显高于其他类型实验室,而地市级药检机构的检验能力仍有提升空间。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2015 年版. 四部[S]. 2015: 210
ChP 2015. Vol IV [S]. 2015: 210
- [2] 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 8
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 8

- [3] CNAS-RL01 实验室认可规则[S]. 2011
CNAS-RL01 Rules for Accreditation of Laboratories[S]. 2011
- [4] CNAS-RL02 能力验证规则[S]. 2010
CNAS-RL02 Rules for Proficiency Testing[S]. 2010
- [5] CNAS-GL40 能力验证利用指南[S]. 2016
CNAS-GL40 Guidance on the Selection Review and Use of Proficiency Testing[S]. 2016
- [6] CNAS-GL03 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S]. 2006
CNAS-GL03 Guidance on Evaluating the Homogeneity and Stability of Samples Used for Proficiency Testing[S]. 2006
- [7] CNAS-GL02 能力验证结果的统计处理和评价指南[S]. 2006
CNAS-GL02 Guidance on Statistic Treatment of Proficiency Testing Results and Performance Evaluation[S]. 2006
- [8] 中华人民共和国农业行业标准——农药残留试验准则[S]. 2004: 31
NY/T 788 Agriculture Industry Standard of the People's Republic of China——Guideline on Pesticide Residue Trials[S]. 2004: 31
- [9] USP 34-NF 29[S]. 2011: 200
- [10] EP 7.0[S]. 2010: 242
- [11] GB/T 28043-2011 利用实验室间比对进行能力验证的统计方法[S]. 2011
GB/T 28043-2011 Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons[S]. 2011
- [12] 何曼莉, 谢建军, 陈捷, 等. 凝胶渗透色谱-固相萃取-气相色谱法同时测定药食两用中药材中17种有机氯类农药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(3): 893
HE ML, XIE JJ, CHEN J, et al. Determination of 17 organochlorine pesticide residues in traditional Chinese medicinal herbs by gel permeation chromatography-solid phase extraction-gas chromatography method[J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(3): 893
- [13] 戴博, 金红宇, 张华峰, 等. 凝胶渗透色谱-固相萃取净化气相色谱-质谱法检测甘草、黄芪、人参和银杏叶中24种农药残留[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(3): 558
DAI B, JIN HY, ZHANG HF, et al. GC-MS determination of 24 pesticides in *Glycyrrhiza uralensis*, *Astragalus mongholicus*, Ginseng and Ginkgo leaf by combined approach of gel permeation chromatography and solid phase extraction purification[J]. Chin J Pharm Anal, 2011, 31(3): 558
- [14] 王怡君, 郭汉文, 孙苓苓, 等. 人参药材中有机氯农药残留量测定前处理方法比较[J]. 中国药事, 2010, 24(9): 857
WANG YJ, GUO HW, SUN LL, et al. The comparison of organochlorine pesticide residues in ginseng determined by many different fore treatment methods[J]. Chin Pharm Aff, 2010, 24(9): 857
- [15] 吴加伦, 隋晓斐, 韩秀玲, 等. 中药材中有机氯农药多残留分析中前处理方法比较研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(21): 2561
WU JL, SUI XF, HAN XL, et al. The comparison of organochlorine pesticide residues in traditional Chinese medicinal herbs Determined by many different fore treatment methods[J]. China J Chin Mater Med, 2008, 33(21): 2561

(本文于2018年4月10日修改回)