

NY

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T xxxx—xxxx

## 土壤和水中农药分析方法建立和验证指南

Guidelines on the Development and Validation of Analytical Methods

for Pesticides in the Soil and Water

(征求意见稿)

201X-XX-XX发布

201X-XX-XX实施

中华人民共和国农业部发布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009和GB/T 20001.4-2015给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出并归口。

本标准负责起草单位：农业部农药检定所、浙江省农业科学院农产品质量标准研究所。

本标准主要起草人：

# 土壤和水中农药分析方法建立和验证指南

## 1 范围

本标准规定了土壤和水中农药母体及其主要代谢物分析方法建立和验证的基本要求。  
本标准适用于为农药登记而开展的土壤和水中农药分析方法的建立和验证。

## 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 3358.2 统计学词汇及符号 第2部分：应用统计

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 8170-2008 数值修约规则与极限数值的表示和判定

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

### 3.1

**待测物 analytes**

农药母体及其主要代谢物。

### 3.2

**检出限 limit of detection (LOD)**

基质中的待测物在 $>90\%$ 的情况下可被可靠的检测出的最低水平，用LOD表示。LOD一般可设为基线噪音的3倍量，并以LOQ下的平均回收率折算。

### 3.3

**定量限 limit of quantification (LOQ)**

经添加回收试验验证的，平均回收率为70%–110%、相对标准偏差（RSD） $\leq 20\%$ 时待测物在基质中的最低浓度水平，用LOQ表示。

### 3.4

**灵敏度 sensitivity**

单位浓度或单位质量的待测物质的变化所引起的响应量变化的程度。方法的灵敏度通常以方法的定量限(LOQ)来表示。

### 3.5

### 准确度 accuracy

测试结果或测量结果与真值间的一致程度，用回收率表示。

## 3.6

### 精密度 precision

在规定条件下，所获得的独立测试/测量结果间的一致程度，用相对标准偏差（*RSD*）表示。

## 4 分析方法的建立

### 4.1 概述

依据待测物的性质，通过筛选提取溶剂和净化条件, 选择检测仪器和条件，建立待测物在基质中的定量、定性分析方法。

### 4.2 试剂与材料

#### 4.2.1 试剂

有机试剂的级别宜为分析纯及以上纯度，无机试剂的级别宜为化学纯及以上纯度，水至少为GB/T 6682规定的实验室二级水。

#### 4.2.2 标准物质

宜使用有证书的农药母体、代谢物、衍生物、稳定同位素标记的化合物或其他内标物质的标准品。

#### 4.2.3 试验基质

- 作物耕作区代表性土壤；
- 饮用水或地下水；
- 地表水（淡水，例如，江河水或池塘水）。

### 4.3 仪器设备

- 气相色谱仪；
- 液相色谱仪
- 气相色谱-质谱联用仪
- 液相色谱-质谱联用仪等；
- 电子天平；
- 振荡器；
- 离心机等实验室常规仪器设备。

### 4.4 试验步骤

#### 4.4.1 提取

根据待测物的理化性质，通过筛选提取溶剂的种类、用量、提取方式、收集容器和浓缩条件，确定提取方法。

#### 4.4.2 净化

通过筛选净化方式和材料，确定净化步骤、收集容器、浓缩条件、定容体积和定容方式等，确定净化方法。

#### 4.4.3 衍生化

如方法需要衍生化，通过筛选衍生试剂和衍生条件，确定衍生方法。

#### 4.4.4 仪器条件

根据待测物的性质和检测要求，选择合适的色谱柱和检测仪器，优化仪器检测参数。

#### 4.5 校准

准确称取标准物质，选择合适的溶剂配制校准溶液母液，再逐步稀释配制系列校准工作溶液，在4.4.4的仪器条件进样测定。以待测物的绝对量或浓度为横坐标，响应值（如峰高或峰面积）为纵坐标，绘制校准曲线。校准溶液的浓度范围宜从 $LOQ$ 的30%至超过待测物最高含量20%。绘制校准曲线至少5个数据点（不包括空白），优先采用线性回归方程拟合，获得相关系数，并确定线性响应范围。线性回归方程（ $Y = aX + b$ ）的相关系数 $r$ 不低于0.99。此外，基于不同的检测原理也可采用其他函数（例如，指数函数、对数函数等）拟合。

不同样品基质，需分别考察基质效应。当基质效应 $<20\%$ ，可使用溶剂标准溶液进行计算，否则需用基质标准曲线进行计算。

#### 4.6 回收率

在空白基质中添加待测物，测定回收率。添加回收试验至少设置两档添加浓度：1)  $LOQ$ ；2) 10倍 $LOQ$ ，或最大残留限量，或其他相关浓度水平（ $\geq 5$ 倍 $LOQ$ ）。每档浓度至少5个重复，计算平均回收率和相对标准偏差（ $RSD$ ）。同时需做空白基质样品，作为对照。所用基质需包含所有待测基质的类型，不同类型的土壤和水宜分别进行添加回收试验。

将测试溶液得到的响应值代入校准曲线回归方程，计算样品中待测物的含量。土壤中待测物的含量单位用 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或 $\text{mg}/\text{kg}$ 表示；水中待测物的含量单位用 $\mu\text{g}/\text{L}$ 或 $\text{mg}/\text{L}$ 表示。计算结果以三位有效数字表达，含量低于0.001  $\text{mg}/\text{kg}$ 或 $\text{mg}/\text{L}$ 时结果可采用两位有效数字表达。

对数据的修约应符合GB/T 8170的规定。

添加回收率试验的平均回收率为70%~110%，当添加浓度 $\leq 1 \text{ mg}/\text{kg}$ 或 $\text{mg}/\text{L}$ 和 $> 1 \text{ mg}/\text{kg}$ 或 $\text{mg}/\text{L}$ 时，相对标准偏差（ $RSD$ ）分别 $\leq 20\%$ 和 $\leq 10\%$ 。

#### 4.7 精密度

方法的精密度包括重复性和再现性，以相对标准偏差（ $RSD$ ）表示。

a) 重复性指同一操作者在同一实验室，使用相同的测试材料及仪器设备，按照相同的方法，在短时间间隔内获得的独立测试结果间的一致程度。

每种基质都做重复性试验，至少做两档添加浓度，每档浓度至少5次重复。

重复性试验的平均回收率为70%~110%，当添加浓度 $\leq 1 \text{ mg}/\text{kg}$ 或 $\text{mg}/\text{L}$ 和 $> 1 \text{ mg}/\text{kg}$ 或 $\text{mg}/\text{L}$ 时，相对标准偏差（ $RSD$ ）分别 $\leq 20\%$ 和 $\leq 10\%$ 。

b) 再现性指使用相同测试材料按照相同的方法，在不同的条件（实验室内包括分析人员的更换、不同批次的试剂、仪器的再次校准以及实验室环境变化等；实验室间包括校准用的标准物质的差异、对试验方案的不同理解、不同来源的仪器设备或试剂、不同的气候因素等）下获得的独立测试结果间的一致程度。

实验室内再现性试验选取代表性基质进行。在3个不同天的时间段，进行独立的回收率试验，至少做两档添加浓度，每档浓度至少5次重复。

平均回收率为70%~110%，当添加浓度 $\leq 1$  mg/kg或mg/L和 $> 1$ mg/kg或mg/L时，相对标准偏差（*RSD*）分别 $\leq 20\%$ 和 $\leq 10\%$ 。

4.8 灵敏度

方法的灵敏度以方法的定量限（*LOQ*）表示，最低一档添加回收浓度即为*LOQ*。  
土壤中待测物的*LOQ*至少为0.001 mg/kg。如果待测物对最敏感的非靶标生物的毒物浓度（*LC*<sub>50</sub>或*EC*<sub>50</sub>）低于0.001 mg/kg，则*LOQ*须满足该*LC*<sub>50</sub>或*EC*<sub>50</sub>值。对于除草剂，*LOQ*须满足最敏感作物的*EC*<sub>10</sub>值。  
饮用水和地下水中待测物的*LOQ*至少为0.1 μg/L。对于地表水，*LOQ*应满足表1中的最低效应浓度。

表 1 与地表水 *LOQ* 设置相关的效应浓度

生物	急性试验	慢性试验
鱼	<i>LC</i> <sub>50</sub> /100	<i>NOEC</i> /10
水蚤	<i>LC</i> <sub>50</sub> /100	<i>NOEC</i> /10
摇蚊	<i>LC</i> <sub>50</sub> /100	<i>NOEC</i> /10
藻	<i>EC</i> <sub>50</sub> /10	—
高等水生植物	<i>EC</i> <sub>50</sub> /10	—

注：*NOEC*，无可见效应浓度（noobserved effect concentration.）

4.9 选择性

将空白基质样品、最低档浓度的标样和最低一档添加浓度的样品进行测定分析，说明该方法检测信号仅与待测物有关，与其他物质无关。  
若检测使用的是质谱，宜提供质谱图（若使用串联质谱，则提供产物离子质谱图），以说明检测离子的选择。  
空白值通过测定添加试验所用的空白基质获得，且空白值不宜超过*LOQ*的30%。如超过，则给出详细说明。

4.10 定性分析

通过对检出物进行确认，证明方法对所有代表性样品基质中的待测物具有选择性，以证明检测响应信号只与目标待测物有关，而不受任何其他化合物的影响，确认检出物是目标待测物。

4.10.1 定性分析与定量分析同步进行

- 使用一级质谱同步进行定性、定量分析时，选择1个监测离子用于定量分析，至少监测2个额外碎片离子（优先选择*m/z* $> 100$ ）用于定性分析，即至少选择3个监测离子。
- 使用多级质谱同步进行定性、定量分析时，选择1对反应监测离子对用于定量分析，至少监测1对额外选择反应监测离子对用于定性分析，即至少选择2对监测离子对。

4.10.2 定性分析与定量分析分步进行

检出目标待测物之后，应采用独立的分析方法进行确认。可使用以下分析技术：

- 与原方法色谱原理不同的技术，例如，用GC代替HPLC；
- 具有明显不同选择性的固定相或/和流动相；
- 不同的检测器，例如，GC-MS对比GC-ECD，HPLC-MS对比HPLC-UV/DAD；
- 衍生（原方法非衍生方法时适用）；
- 高分辨质谱；
- 不同的电离方式，例如，ESI正离子模式对比负离子模式。

## 5 独立实验室验证

建立或参照的分析方法须在不同的实验室间（不包括分析方法建立单位）进行验证，以证明方法符合分析要求。验证时宜确认分析方法的线性范围、检出限、定量限、回收率、精密度、选择性等。具体要求同4.5-4.10。

## 6 数据处理

### 6.1 回收率的计算按式（1）。

$$R = \frac{C_d}{C_a} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

式中：

$R$ ——回收率，%；

$C_d$ ——添加样品待测物的实测浓度，单位为毫克每千克（mg/kg）或毫克每升（mg/L）；

$C_a$ ——待测物理论添加浓度，单位为毫克每千克（mg/kg）或毫克每升（mg/L）。

### 6.2 标准偏差和相对标准偏差的计算按式（2）、式（3）。

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \dots\dots\dots(2)$$

$$RSD = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\% \dots\dots\dots(3)$$

式中：

$S$ ——标准偏差；

$X_i$ ——第*i*次测量得到的回收率；

$\bar{X}$ ——回收率的平均值；

$RSD$ ——相对标准偏差，%。

## 7 试验报告

试验报告包括分析方法建立报告和分析方法验证报告。

### 7.1 分析方法建立报告

至少包括以下内容：

- 方法概要（分析方法建立的目的、参考方法等）；
- 标准品信息（中文名称、英文名称、化学名称、CAS号、分子式、分子量、结构式、纯度、贮存条件、来源、生产批号以及外观、密度、溶解度、熔点等主要理化特性）；
- 试剂和材料（试剂级别、来源，溶液具体配制方法，材料的类型、规格等）；
- 仪器设备（品牌、型号等）；
- 试验基质（土壤的类型、pH值、有机质含量等；水的电导率、硬度、pH、溶解性有机碳含量）；
- 前处理方法（提取、净化和定容步骤、所用试剂、注意事项等）；
- 仪器测定方法（色谱、光谱、质谱等仪器参数）；
- 分析方法试验结果（线性范围、检出限、定量限、回收率、精密度等）；
- 典型分析谱图（标样、空白基质、添加回收样品等）；
- 其他需要说明的内容。

### 7.2 分析方法验证报告

须包括方法验证的目的和对验证结果的评价，除此之外，其他内容同分析方法建立报告。



## 参 考 文 献

- [1]NY/T 788-2004 农药残留试验准则
  - [2]农药残留检测方法国家标准编制指南
  - [3]岳永德. 农药残留分析. 北京: 中国农业出版社, 2004: 1-183.
  - [4]Organisation for Economic Co-operation andDevelopment. Guidance Document onPesticide Residue Analytical Methods. SANCO/825/00 rev. 8.1. Paris: Organisation for Economic Co-operation andDevelopment, 2010.
  - [5]Organisation for Economic Co-operation andDevelopment. Guidance Document onPesticide Residue Analytical Methods. ENV/JM/MONO(2007)17. Paris: Organisation for Economic Co-operation andDevelopment, 2007.
  - [6]Organisation for Economic Co-operation andDevelopment. Residues: Guidance for generating and reporting methods of analysis in support of pre-registration data requirements for Annex II (part A, Section 4) and Annex III (part A, Section 5) of Directive 91/414. SANCO/3029/99 rev.4. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development, 2000.
-