



**CNAS T0458 水产品中恩诺沙星、环丙沙星
检测能力验证计划结果报告**

中国合格评定国家认可委员会
威海出入境检验检疫局检验检疫技术中心
二〇〇九年十一月

组织机构：中国合格评定国家认可委员会

能力验证负责人：翟培军

联系人：何平 王腊梅

联系地址：北京市崇文区南花市大街 8 号

邮政编码：100062

联系电话：010-67105290 010-67105289

传真：010-67105053/67105055

实施机构：威海出入境检验检疫局检验检疫技术中心

计划负责人：杨丽君

联系人：时文春 徐成钢

联系地址：威海市大庆路检验检疫局技术中心

邮政编码：264205

联系电话：13516317807 13963162786

传真：0631-5961661

E-mail: shilchenzhen@126.com xucg1971@126.com

统计专家：卢行安 时文春 丛伟红

联系电话：13516317807 13869088278

传真：0631-5961661

技术专家：牟峻 徐成钢

联系电话：13604420711 13963162786

传真：0631-5961661

目 录

一、前言	3
二、本次计划的特点	4
三、统计分析的设计及能力评价原则	6
四、统计处理结果及能力评价	7
五、技术分析和建议	8
六、附录	
附录 A 实验室的检测结果和统计处理	
A-1 实验室检测结果和统计处理结果	13
A-2 实验室 Z 比分数柱状图	21
附录 B 样品制备和均匀性/稳定性检验	23
B-1 样品制备报告	23
B-2 样品均匀性评价报告	23
B-3 样品稳定性评价报告	25
附录 C 相关文件	
C-1 被测物品接收状态确认表	30
C-2 作业指导书	31
C-3 结果报告单	33
C-4 能力验证计划结果通知单	34
附录 D 参考文献	34

一、前言

本报告是对 CNAS T0458《水产品中恩诺沙星、环丙沙星检测》能力验证计划结果的总结，由威海出入境检验检疫局检验检疫技术中心负责起草，中国合格评定国家认可委员会（CNAS）秘书处审核并批准发布。

CNAS T00458《水产品中恩诺沙星、环丙沙星检测》能力验证计划由 CNAS 组织，威海出入境检验检疫局检验检疫技术中心负责协调及实施。

CNAS 依据 ISO/IEC 导则 43：1997 的要求运作能力验证计划。

CNAS RL02:2007《能力验证规则》规定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 CNAS 组织实施或承认的能力验证计划、实验室间比对和测量审核）证明其技术能力。只有在能力验证活动中表现满意，或对于不满意结果能证明已开展了有效纠正措施的实验室，CNAS 方受理或予以认可；对于未按规定频次和领域参加能力验证的获准认可实验室，CNAS 将采取警告、暂停、撤销资格等处理措施。对参加了 CNAS 组织及其承认的能力验证活动且有稳定满意表现的机构，在 CNAS 的各类评审中可适当根据情况简化相关项目的的能力确认过程。

获 CNAS 认可的实验室，在参加能力验证中出现不满意结果时，CNAS 要求其立即停止在相关项目的证书/报告中 使用 CNAS 的认可标识，并按其体系文件规定程序实施有效的纠正措施。实验室只有将实施纠正措施的记录以及纠正措施有效性证明材料在规定的期限内报 CNAS 确认后，方可恢复使用认可标识。

如果实验室的结果虽为不满意，但仍符合认可项目依据标准所规定的判定要求，实验室可向 CNAS 提出，经 CNAS 确认后，可恢复使用认可标识，但实验室仍需采取相关改进措施；对于出现可疑结果的机构，CNAS 建议其采取相应的自查措施。

二、本次能力验证的特点

1、计划的目的是和意义

本次能力验证计划的主要目的是为了考察相关实验室进行喹诺酮类药物(环丙沙星和恩诺沙星)残留检测的能力，对提高实验室水产品兽药残留检测技术水平，促进食品安全检测有重要意义。

能力验证计划是 CNAS 判定实验室能力的重要技术手段，也是实验室的重要的外部质量保证手段，同时，参加能力验证计划获得满意的结果，还能增加客户及相关方对实验室出具可靠数据的信心。

2、参加实验室的范围

本次能力验证参加实验室均是自愿参加，共计有 71 家实验室参加了本次计划，有 60 家单位是认可实验室，另有 11 家为非认可实验室，41 家参加项目为认可项目，30 家为非认可项目，非认可实验室及非认可项目参加实验室所占比例较高，表明准备申请实验室认可和扩项认可的实验室较多，说明整个社会对实验室认可工作的重视程度正在加强；参加实验室包括产品质量监督和检验检疫技术中心（实验室）、专业的社会检测机构（公司）、药检所及企业质量检测中心（实验室）等。来自东南沿海经济发达地区的实验室有 63 家，中西部地区参加实验室为 8 家，表明检测技术实力与经济发展水平相适应的特点；同时专门从事检测服务的机构（包括跨国检测机构）明显增多，共 14 家，表明检测市场化的逐步增强，检测市场的竞争会更加激烈；企业质检部门实验室 22 家，所占比例较高，表明企业对质量控制的重视程度显著提高。本次能力验证活动的实验室地域分布见表 2。

表 1 参加实验室专业性质分类情况

质量监督检验检疫部门实验室	24 家	33.8%	企业质检部门实验室	22 家	31.0%
专业检测机构实验室	14 家	19.7%	其他实验室	11 家	15.5%

表 2 参加能力验证实验室地区分布一览表

省、自治区、直辖市	实验室数量	省、自治区、直辖市	实验室数量
山东	20	广东	18
福建	6	上海	5
浙江	4	河北	3
辽宁	3	北京	2
天津	2	其他	8

3、计划测试项目和要求

1) 本次能力验证测试样品为冻干鲤鱼肉粉，其中测试项目为恩诺沙星、环丙沙星含量。

2) 样品采用不透光塑料瓶盛装样品，每瓶约 8.0g，密封包装。样品经分装编号后，随机向每个参加实验室发放，检测样品通过邮局以特快方式邮寄。参加实验室按作业指导书的要求，对样品中每个测试项目测定双份，并将测定结果填写在结果报告单中，作业指导书和结果报告单均随样品发送给每个参加实验室（附录 C）。

3) 检验的样品由威海出入境检验检疫局检验检疫技术中心制备，并由制备机构出具样品均匀性评价报告和稳定性评价报告（附录 B）。稳定性报告表明，制备的样品在能力验证计划期间各个检验项目相对稳定，均匀性评价报告表明，制备的样品充分均匀，从而确保能力验证过程中出现的离群值不是由样品的差异及不稳定所致。

4) 出于保密的需要，对每个参加实验室赋予了一个代码。在本报告中，凡说明参加实验室的检测结果和能力评价时均以代码表示，结果报告将发给每一个提交最终结果的实验室。

4、计划日程

本次能力验证计划从 2009 年 4 月份开始设计方案，9 月 11 日向参加实验室分发样品，9 月 25 日回收实验室检测结果，随后对结果进行汇总、分析，2009 年 11 月底完成结果报告。本次能力验证结果的统计分析和技术分析由计划小组的技术专家和统计专家完成。

三、统计分析的设计及能力评价原则

本次能力验证的评价依据 CNAS-GL02: 2006《能力验证结果的统计处理和评价指南》执行。

对本次能力验证计划实验室的检测结果，按下式计算 Z 值：

$$Z = (x - X) / \sigma$$

式中：x-实验室测试结果；

X-指定值；

σ -变动性度量值（目标标准偏差）。

本次能力验证计划统计分析采用稳健（Robust）技术处理，即采用稳健统计的中位值作为指定值，标准化四分位距（NIQR）为变动性度量值（目标标准偏差）计算各实验室结果的 Z 比分数（Z 值）。

本次能力验证计划涉及的统计量有结果数、中位值、标准化四分位距（NIQR）、稳健的变异系数（CV）、Z 比分数、最小值、最大值和极差等。各统计量的意义及相关计算方法参见 CNAS GL02:2006《能力验证结果的统计处理和评价指南》。

本次能力验证计划以 Z 比分数评价实验室的结果，即：

$|Z| \leq 2$ 为满意结果；

$2 < |Z| < 3$ 为有问题结果；

$|Z| \geq 3$ 为不满意结果（离群值）。

为了清晰表示各实验室参加能力验证计划的结果，将 Z 值按大小顺序排列作柱状图（附录 A），每一个柱条标有该实验室的代码。从该柱状图上，每一个实验室很容易将其结果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。

四、统计处理结果及能力评价

本次能力验证试验共有 71 家实验室，其中按要求返回结果的有 70 家实验室，其中，参加报告环丙沙星含量的实验室有 70 家，报告恩诺沙星的含量的实验室 69 家；007 号实验室由于仪器故障未能上报结果。

采用稳健（Robust）统计技术对 70 家实验室提交的数据进行了统计处理，实验室检测结果和统计处理数据见附录 A-1。

结果满意的实验室有 62 个，占 88.6%；结果有问题的实验室 8 个，占 11.4%；结果不满意的实验室 2 个，占 2.9%。不满意、存有问题的实验室情况统计汇总见表 2。

表 3-1 检测项目的稳健统计参数

统计参数	恩诺沙星	环丙沙星
结果总数	69	70
中位值	492	115.5
Q1	467	102.25
Q3	520	122
IQR	53	19.75
NIQR	39.3	14.6
稳健的变异系数 (CV)	8.0	12.7
极大值	835	323
极小值	139	88.1
极差	696	234.9

表 3-2 不满意和有问题的结果实验室情况统计汇总

	恩诺沙星	环丙沙星
$ Z \geq 3$	002; 054	002; 054
$2 < Z < 3$	031, 040,066,067,	012,052

五、技术分析和建议

为进行充分的技术分析，现将本次能力验证所设计的检测标准、主要前处理方法及主要检测仪器汇总如下：

表4-1检测标准使用情况

标准号	实验室代码
GB/T20366-2006	002, 008, 013, 014, 016, 020, 027, 029, 031, 034, 038, 039, 046, 047, 048, 055, 063, 064, 070
GB/T20751-2006	018, 021, 030, 035, 040, 043, 045, 049, 051, 056, 062, 067
GB/T21312-2007	004, 011, 012, 019, 024, 061, 065
农业部公告 [2003] 第236号	003, 005, 006, 054, 057, 060, 066
SN/T1751.2-2007	028, 041, 068
农业部783号公告-2-2006	022, 037, 053, 058, 069
农业部1025号公告-14-2008	023, 044, 052, 071
农业部781号公告-6-2006	015, 017
其他标准	001, 009, 010, 025, 026, 032, 033, 036, 042, 050, 059

备注：检测标准号及名称

GB/T20366-2006: 动物源食品中喹诺酮类药物残留的测定

SN/T1751.2-2007: 进出口动物源食品中喹诺酮类药物残留量检测方法 第2部分: 液相色谱-质谱/质谱法

GB/T20751-2006: 鳗鱼及制品中十五种喹诺酮类药物残留量的测定液相色谱串联质谱法

GB/T21312-2007: 动物源性食品中14种喹诺酮类药物残留检测方法 液相色谱-质谱 质谱法

农业部公告[2003]第236号: 动物源食品中恩诺沙星、环丙沙星残留量检测方法 高效液相色谱法

农业部1025号公告-14-2008: 动物源食品中喹诺酮类药物残留检测 高效液相色谱法

农业部783号公告-2-2006: 水产品中诺氟沙星、盐酸环丙沙星、恩诺沙星残留量的测定

其他标准: 包括实验室方法、地方标准及引用的国外标准, 标准名称可能推知实验室名称, 在此不具体罗列。

表4-2 主要前处理方法

磷酸缓冲盐提取	003, 005, 006, 015, 017, 022, 023, 054, 056, 057, 060, 066, 071
EDTA-McIlvaine 缓冲液	004, 012, 019, 024, 061, 065
酸化乙腈提取	001, 002, 008, 009, 010, 011, 013, 014, 016, 018, 020, 021, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052,

	053, 055, 058, 059, 062, 063, 064, 067, 068, 069, 070
固相萃取净化	003, 004, 005, 006, 011, 012, 014, 015, 017, 018, 019, 021, 022, 023, 024, 030, 035, 038, 040, 045, 054, 056, 057, 058, 060, 061, 065, 066, 071

表4-3主要检测仪器

液相色谱仪	001, 003, 005, 006, 010, 015, 017, 018, 022, 023, 026, 032, 035, 036, 037, 044, 049, 050, 052, 053, 054, 057, 058, 059, 060, 066, 069, 071
液相色谱串联四极杆质谱仪	002, 004, 008, 009, 011, 012, 013, 014, 016, 019, 020, 021, 024, 025, 027, 028, 029, 030, 031, 033, 034, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 045, 046, 047, 048, 051, 055, 056, 061, 062, 063, 064, 065, 067, 068, 070

本次能力验证活动达到预期的效果，现将产生偏差的可能原因分析归纳如下：

1. 样品前处理：

样品前处理步骤对检测结果具有重要影响。提取是否完全及操作的准确性都是保证检测结果准确的重要因素。检测过程中多家实验室反映加水提取与不加水提取检测差异很大，我们前期测试表明不加水提取只有加水润湿提取的20-30%（见表4-4），因此鱼粉在提取前须先用适量的水润湿（特别是采用酸化乙腈提取时），否则提取不完全，提取要进行充分的均质并防止交叉污染，均质提取，且采用适量的提取液淋洗刀头，试验所使用的器皿都必须采用超声清洗，然后按蒸馏水、去离子水的顺序反复冲洗干净；提取净化完全的样品溶液应是无色或微黄色。

参加本次能力验证的实验室有25家采取固相萃取的方式净化样品，采用固相萃取方式净化时应注意：不同的固相萃取柱淋洗、洗脱所使用的溶剂量会有较大的差异，特别是洗脱液的用量会直接影响回收率和检测灵敏度，不同生产商、不同批次的固

相萃取柱都应在检测前作加标回收实验，以确定适合的溶剂用量。不同的定容溶液对于测定也会产生影响，例如，用乙酸铵定容的测定结果比用甲酸的测定结果定量离子丰度大 25%左右，但在基质存在的情况下盐类易结晶，可能导致堵塞，特别是 LC-MS-MS 的电喷雾针及毛细管，建议标准使用液和处理好的样品都采用流动相定容。

表4-4 提取溶剂对检测结果的影响（含量单位ug/kg）

样品编号		1	2	3	4	5	6
环丙沙星	加水润湿提取	90.0	96.0	98.6	101	96.3	98.3
	不加水润湿提取	29.0	30.2	28.5	30.5	38.2	30.2
恩诺沙星	加水润湿提取	400	458	480	468	444	464
	不加水润湿提取	136	134	142	140	118	134

2. 不同仪器分析的影响。

本次能力验证涉及的主要检测仪器有高效液相色谱仪（HPLC）配荧光检测器和液相色谱串联四极杆质谱仪（LC-MS-MS）两种。有 28 家采用液相色谱法（HPLC）检测，有 42 家采用液相色谱串联四极杆质谱仪法（LC-MS-MS），实验表明 HPLC 法和 LC-MS-MS 法检测对本次能力验证检测项目的结果没有显著差异，HPLC 法测定结果比 LC-MS-MS 法检测结果略低（见表 4-5），但两种方法的检测对最终统计结果不会造成显著影响。应当注意的是不同仪器的线性范围是不一样的，液相色谱的线性范围较宽，质谱的相对较窄，同时不同品牌的质谱线性范围也有较大差异，线性范围窄对高浓度待测物的定量产生明显影响，当检测液稀释时对应的仪器响应值不成比例，即表明检测液的浓度已经超出仪器响应的线性范围，应当考虑将检测液进一步稀释，对本

次能力验证而言，0.5g 鱼粉提取后最终定容体积 2-6ml 为宜。

3. 回收率的影响 LC-MS-MS检测灵敏度较高，更易受到流动相、基体等的干扰影响。同样浓度的标准溶液，在基质存在时响应值有一定差异，特别是当检测物含量较低时差异会更大。随着基体量的增加，基体干扰成增加趋势，其中普通鲤鱼肉的2.5g样品与鲤鱼肉冻干粉0.5g样品的基质效应相近（见表4-5）。同时我们前期测试表明，环丙沙星和恩诺沙星工作液稳定性较差，响应值8小时即可显著降低，但在基质溶液中很稳定，响应值24小时基本不变，因此为消除基体干扰及标准溶液不稳定因素，须采用添加回收校正可得到满意的测定结果；另外有部分实验室回收率较高（大于130%），可能是标准溶液从冷冻冷藏状态下取出，与室温平衡时间太短，实际添加量远大于计算添加量。

表4-5 液相与液质检测中位值的比较（含量单位ug/kg）

环丙沙星			恩诺沙星		
液相色谱法	液相色谱串 联质谱法	两种方法 合并统计	液相色谱法	液相色谱串 联质谱法	两种方法 合并统计
111.5	116.5	115.5	481	502	492

以上三点均会对测定结果产生影响，如可有效的降低影响，可得到满意的测定结果。

另外通过对养殖过程中鱼体两种沙星的浓度监控检测发现，环丙沙星和恩诺沙星在肌肉中分布的浓度约为1：4~1：5的关系，因此这一比例关系可以为检测结果的正确性提供客观依据。

表4-5鲤鱼基质对回收率的影响

(环丙沙星添加量100ug/kg; 恩诺沙星添加量500ug/kg)

样品编号		1	2	3	4	5	6
环丙沙星	0.5g 鱼粉添加	94.1	93.2	80.5	83.0	86.0	87.3
	2.5g 鱼肉添加	96.2	90.9	83.2	76.4	82.7	86.0
恩诺沙星	0.5g 鱼粉添加	94.6	95.1	84.4	88.4	99.8	98.8
	2.5g 鱼肉添加	94.5	92.3	84.4	83.6	97.6	97.6

六、附录 A 实验室的检测结果和统计处理

A-1 实验室检测结果和统计处理结果

实验室编号	恩诺沙星				环丙沙星			
	检测结果 (ug/kg)	回收率 %	报告结果 (ug/kg)	Z 值	检测结果 (ug/kg)	回收率 %	报告结果 (ug/kg)	Z 值
001	444	85.5	517	0.64	125	95.9	130	0.99
	440				124			
002	758.3	91	835	8.73	272.4	83	323	14.17
	761.5				263.9			
003	未参加	----	-----	----	92.1	80.2	113	-0.17

					88.7			
004	439	104	448	-1.12	99.2	100.5	99.1	-1.12
	458				99			
005	378.5	82.4	466	-0.66	82.9	71.5	117	0.10
	388.9				84.3			
006	408	84.5	468	-0.61	88.8	71.7	117	0.10
	382				79.4			
007	未报告	-----	-----	----	未报告	---	----	-----
008	439.3	89.1	484	-0.20	136	96.3	138	1.54
	423.8				130.6			
009	402	82.7	492	0.00	83.3	78.2	104	-0.79
	411				79.1			
010	377.2	89.7	425	-1.71	71.06	76.7	96.1	-1.33
	386				76.37			
011	430	90	481	-0.28	69.4	59.2	114	-0.10
	436				65.9			
012	497	95.7	513	0.53	166	103	155	2.70
	484				153			
013	551	107.6	530	0.97	84.1	80.6	107	-0.58
	568				88.2			
014	278	70	502	0.25	113	98	112	-0.24
	425				107			

015	472	98	481	-0.28	90	82	119	0.24
	470				104			
016	371	80.7	482	-0.25	104	84.3	127	0.79
	407				111			
017	487	103	476	-0.41	109	88	122	0.44
	493				105			
018	401	85.5	481	-0.28	69.7	71.5	107	-0.58
	419				82.8			
019	497	90	553	1.55	124	98	123	0.51
	499				117			
020	424	100	420	-1.83	103	100	103	-0.85
	417				103			
021	357	77	466	-0.66	68.2	68	100	-1.06
	361				68.3			
022	368	74.8	488	-0.10	92	78.7	116	0.03
	364				91.1			
023	479	99.2	480	-0.31	97.6	98	101	-0.99
	474				99.8			
024	407.9	87	471	-0.53	95.48	80.3	117	0.10
	412.5				92.51			
025	618	154	414	-1.99	107	98.7	104	-0.79
	656				99.1			

026	386.6	73	534	1.07	68.7	72	98.8	-1.14
	392.5				73.5			
027	470	96.3	494	0.05	57.1	58.3	95.6	-1.36
	481				54.4			
028	303	61	511	0.48	56	49.3	113	-0.17
	321				55			
029	459	84	545	1.35	51.9	56.4	96.8	-1.28
	456				57.3			
030	460	83.5	549	1.45	79.5	73.2	108	-0.51
	457				78.1			
031	466.6	78.08	607	2.93	76.44	77.91	92.1	-1.60
	480.8				67.13			
032	349	69.5	508	0.41	69.4	67.1	110	-0.38
	357				78.5			
033	558	107.5	529	0.94	149	107.5	127	0.79
	579				124			
034	515	103	508	0.41	99	93.6	108	-0.51
	532				103			
035	385	80	484	-0.20	77.4	66.4	118	0.17
	387				78.5			
036	444	88	497	0.13	67.4	66	103	-0.85
	430				68.9			

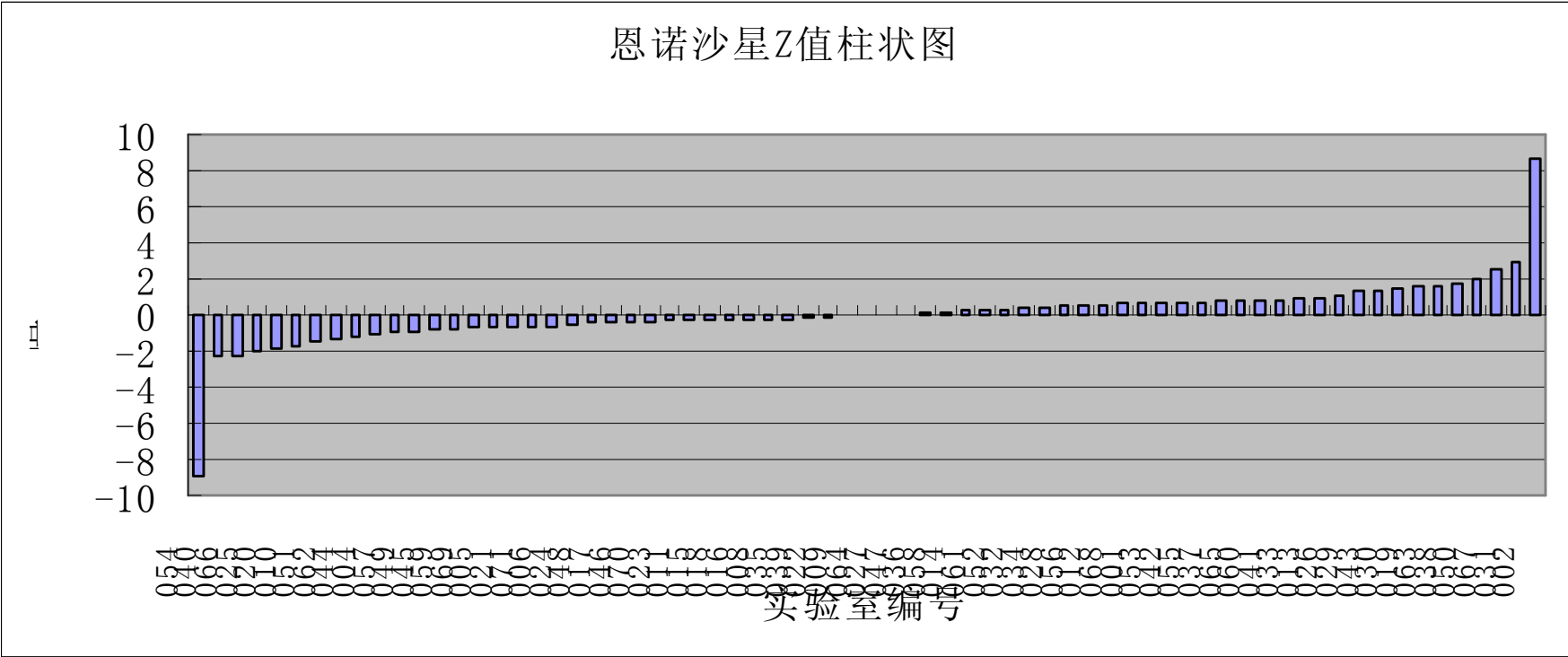
037	404	77	521	0.74	77.8	71	110	-0.38
	399				79			
038	509	91	558	1.68	102	88	116	0.03
	507				101			
039	616	125	485	-0.18	90.9	91.4	97.6	-1.22
	597				87.5			
040	407	100	402	-2.29	120	100	118	0.17
	396				116			
041	463	90	524	0.81	67.2	71	102	-0.92
	479				75.3			
042	510	88.7	518	0.66	125	85.4	125	0.65
	526				125			
043	651	112	546	1.37	131	110	115	-0.03
	576				122			
044	403.7	88.14	445	-1.20	77.48	80.36	93.7	-1.49
	380.8				73.12			
045	387	84.2	460	-0.81	96.9	80.1	118	0.17
	386				92.7			
046	463	98.4	476	-0.41	104	84.9	122	0.44
	474				103			
047	392.8	80.1	494	0.05	60	63.1	97.9	-1.20
	399.2				63.6			

048	477	100	475	-0.43	123	100	114	-0.10
	473				104			
049	420	93.3	457	-0.89	74.8	85.6	88.1	-1.87
	433				75.9			
050	556	97.35	570	1.99	121	92.52	126	0.72
	553				112			
051	438	100	436	-1.43	133	100	134	1.26
	433				135			
052	462	92	503	0.28	119	81	148	2.22
	464				121			
053	509	100	517	0.64	102	100	98.9	-1.13
	525				95.8			
054	99.4	72.1	139	-8.98	162	70.1	230	7.82
	102				164			
055	305	65	520	0.71	115	86.7	133	1.20
	371				116			
056	385	72.3	512	0.51	125.5	98.3	126	0.72
	355.5				121.5			
057	395	86	455	-0.94	80.5	79	100	-1.06
	388				78.1			
058	371	76.2	499	0.18	104	74.3	142	1.81
	390				107			

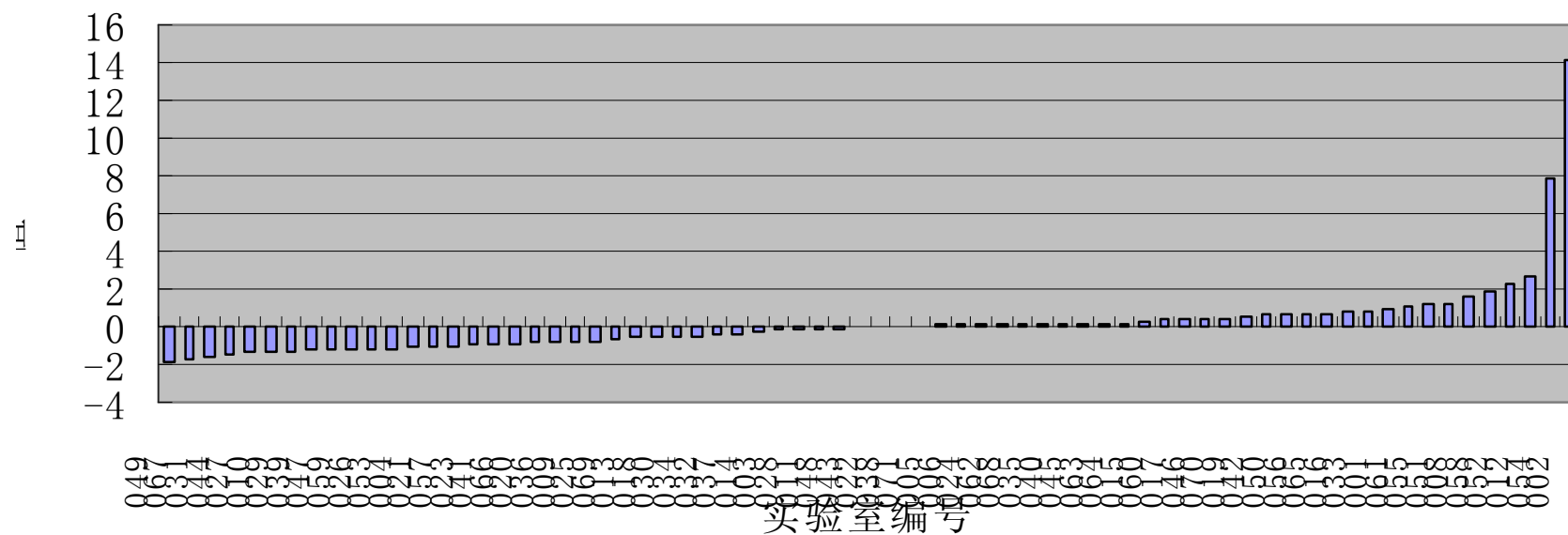
059	437.4	93	462	-0.76	88.3	89	98	-1.20
	422.8				86.1			
060	464	87.8	523	0.79	105	75.5	121	0.38
	454				97.9			
061	503.1	100	502	0.25	131.1	100	131	1.06
	501.5				130.3			
062	353	80.8	441	-1.30	83.2	69.9	117	0.10
	359				80			
063	513	90	556	1.63	114	96.5	118	0.17
	488				114			
064	423	86.1	492	0.00	95.3	81.4	118	0.17
	425				96.5			
065	472	94.9	521	0.74	114	93.5	126	0.72
	516				121			
066	373.6	90	405	-2.21	91.7	87.5	102	-0.92
	355.2				86.55			
067	601.2	105.6	590	2.49	39.9	46.8	90.7	-1.69
	646.2				45			
068	574	115	516	0.61	134	99.7	117	0.10
	612				100			
069	361	77.6	464	-0.71	76	70.6	105	-0.72
	358				72.3			

070	466	100	476	-0.41	121	100	122	0.44
	485				123.5			
071	375	80.8	467	-0.64	89.9	79.1	116	0.03
	379				93.9			

A-2 实验室 Z 比分数柱状图



环丙沙星Z值柱状图



附录 B 样品制备及样品的稳定性和均匀性检验（依据 CNAS-GL03）

B-1 样品制备报告

一、样品来源

本次能力验证样品为 1 个，样品通过养殖添加得到，购买适量的活体鲤鱼，先通过监控检测确认是否含有恩诺沙星和环丙沙星，根据预先设计的含量值，添加适当浓度的恩诺沙星、环丙沙星进行养殖，并间隔适当的时间对鱼体内目标物浓度进行监控检测，当目标检测物浓度适合并相对稳定时，将鱼捕捞，取肌肉部分。

二、样品制备

把鱼肉搅碎、混匀制成鱼糜（20kg），冻干粉碎混匀制成肉粉（约 4kg），每份 8g 分装，进行均匀性稳定性试验。

三、实验样品编号规则

样品共分装 397 份，按从小到大的顺序编号，均检和稳检以及发放样品时均随机抽取。样品均匀性和稳定性检测使用 115 份，发放样品 71 份，还剩余 211 份。

B-2 均匀性检验

一、依据 CNAS-GL-03：2006《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》，采用 F 检验法对样品进行均匀性检验。

二、从分装好的样品随机抽取 10 个样品，称取 0.50 克，加 2.5 克水还原，依据 GB/T20366-2006《动物源产品中喹诺酮类残留量的测定》进行检测，每个样品在同样的条件下测试 2 次。样品的均匀性检验采用单因子方差统计分析进行评定。

样品均匀性检验结果 ($\mu\text{g/Kg}$) 如下:

样本号	环丙沙星		恩诺沙星	
	测定 1	测定 2	测定 1	测定 2
1	106.7	111.5	526.0	558.0
2	110.7	104.1	533.1	531.5
3	115.6	105.8	591.2	532.0
4	104.1	107.4	500.6	540.9
5	112.3	104.9	558.0	529.8
6	114.8	109.0	580.1	538.1
7	113.1	113.1	558.0	558.0
8	142.6	122.1	629.8	580.1
9	115.6	119.7	569.1	569.1
10	137.7	116.4	585.6	585.6
总平均值	114		558	

样品间自由度为 9, 样品内自由度为 10, 在约定的自由度水平 $\alpha = 0.05$ 的显著水平下, 计算临界值 $F_{\alpha}(9, 10)$, 计算结果与查表得到的 F 临界值比较; 若计算值小于 F 临界值, 则表明在 $\alpha = 0.05$ 的显著水平下, 样品中个组份 (环丙沙星、恩诺沙星) 是均匀的, 反之, 则不均匀。

样品中的环丙沙星单因子方差分析结果

方差来源	自由度	平方和	均方	F
样品间	9	1404.864	156.096	2.7078477
样品内	10	576.4579	57.64579	

F 临界值 $F_{0.05}(9, 10) = 3.02$, F 值计算结果为 2.71, 表明在 0.05 显著性水平时, 样品中环丙沙星的含量是均匀的。

样品中的恩诺沙星单因子方差分析结果

方差来源	自由度	平方和	均方	F
样品间	9	11219.74	1246.638	2.2300487
样品内	10	5590.183	559.0183	

F 临界值 $F_{0.05}(9, 10) = 3.02$, F 值计算结果为 2.23, 表明在 0.05 显著性水平时, 样品中恩诺沙星的含量是均匀的。

B-3 稳定性检验

一、稳定性检验设计

依据 CNAS-GL03: 2006 《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》, 采用平均值

一致性检验法评价样品的稳定性检验。按下式计算 t 值:

$$t = \frac{|\bar{x}_2 - \bar{x}_1|}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}}}$$

式中： \bar{x}_1 —第一次检验测量数据的平均值；
 \bar{x}_2 —第二次检验测量数据的平均值；
 s_1 —第一次检验测量数据的标准偏差；
 s_2 —第二次检验测量数据的标准偏差；
 n_1 —第一次检验测量的测量次数；
 n_2 —第二次检验测量的测量次数。

注：为了保证平均值和标准偏差的准确度， n_1 和 n_2 均 ≥ 6

若 $t < \text{显著性水平 } \alpha$ （通常 $\alpha = 0.05$ ）自由度为 $n_1 + n_2 - 2$ 的临界值 $(n_1 + n_2 - 2) t_{\alpha}$ ，则两个平均值之间无显著性差异。

2009年8月9日均匀性结果检验完成后4天，11天，以及能力验证结果回收后分别进行了稳定性检验，同时进行了32℃连续72小时稳定性检验以及在密封干燥条件下储运，样品自本室发往新疆再由新疆发回本室稳定性测试，与均匀性检验结果相比较进行t检验，与t临界值 $t_{0.05}(14) = 1.761$ 相比较，计算得到的t值均 $< t$ 临界值，这表明在0.05显著性水平时，样品中的恩诺沙星、环丙沙星是稳定的。

样品稳定性检验结果汇总表

测定时间	恩诺沙星			环丙沙星		
	检测结果 (ug/kg)	平均值	t 值	检测结果 (ug/kg)	平均值	t 值
2009. 8. 9	542.0	558	---	109.1	114	---
	532.3			107.4		
	561.6			110.7		
	520.8			105.8		
	543.9			108.6		
	559.1			111.9		
	558.0			113.1		
	605.0			132.4		
	569.1			117.6		
	585.6			127.0		
2009. 8. 13	574.5	559	0.09	114.5	113	0.39
	557.0			112.5		
	584.0			115.5		
	554.0			112.0		

	514.0			109.5		
	569.5			114.0		
2009. 8. 20	555.5	552	0.38	117.5	116	0.34
	518.0			108.5		
	580.5			122.0		
	531.0			111.0		
	525.5			116.0		
	603.5			119.0		
2009. 9. 27	523.0	548	0.85	110.5	114	0.21
	537.0			111.0		
	546.0			110.5		
	575.5			119.5		
	545.5			113.0		
	561.5			117.0		
32℃ 连续 72 小时	564.0	566	0.7	111.7	110	1.37
	588.8			108.9		
	544.1			109.7		

	570.9			105.2		
	593.2			111.7		
	536.3			109.7		
新疆发 回结果	543	540.8	1.49	113	113.0	0.35
	506			108		
	557			120		
	540			106		
	545			118		
	554			113		

附录 C-2 作业指导书

CNAS T0458 水产品中恩诺沙星、环丙沙星检测能力验证作业指导书

各实验室：

欢迎参加 CNAS T0458 《水产品中恩诺沙星、环丙沙星检测》能力验证。本次能力验证计划由中国合格评定国家认可委员会（CNAS）组织，威海出入境检验检疫局检验检疫技术中心负责实施。在本次能力验证计划中，贵实验室的代码为 _____，在以后的联系单、结果报告等均使用该代码。本次能力验证计划发放样品 1 份，贵实验室的样品编号为：

随样同时发放如下文本：

- （1）CNAS T0458 《能力验证计划作业指导书》
- （2）CNAS T0458 《被测物品接收状态确认表》
- （3）CNAS T0458 《水产品中恩诺沙星、环丙沙星检测结果报告单》

为保证本次能力验证工作顺利进行，特作如下说明：

1、样品描述及检查要求

本次测试样品为冻干鲤鱼肉粉一份，样品净重约 8 g，密封包装，各实验室的样品编号见外包装标签。

各实验室在收到样品后，应先对样品是否完好进行确认。同时将确认信息填写在《被测物品接收状态确认表》中，以传真方式于收到样品之日返回实施机构。

如收到的样品编号不符或样品存在破损、污染等无法测试的情况，请及时联系更换事宜。样品应干燥保存，防止吸潮。

2、测试方法

本次能力验证计划要求实验室按照日常检测程序检测恩诺沙星、环丙沙星的含量。但在《水产品中恩诺沙星、环丙沙星检测结果报告单》中需注明样品前处理方法、测定方法、所使用仪器信息，详细要求见报告单。

注：本次能力验证均匀性实验称样量为 0.5g，加 2.5g 水还原后检测，未检出显著性差异。

3、结果报告

测试结果保留 3 位有效数字，单位为 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；每份样品平行测试 2 次，取平均值的回收率校正结果作为报告结果，并依此结果进行统计分析，禁止使用“<”或“>”填报结果。

本次计划的检测结果等相关信息请填写在《水产品中恩诺沙星、环丙沙星检测结果报告单》中，各实验室务必于 2009 年 9 月 25 日前传真或邮寄至联系人；同时将报告单正本和检测原始记录单（包括谱图）寄送联系人。无故未按期提交结果单的实验室，其结果将不列入本次计划统计。

在本次能力验证计划实施过程中，严禁参加实验室相互串通结果，一经发现 CNAS 将撤销相关项目的认可资格。

4、联系方式

威海出入境检验检疫局检验检疫技术中心

联系人：时文春 徐成钢

联系电话：0631-5900158-6510，13516317807，13963162786

传真：0631-5961661

通讯地址：威海市经济技术开发区大庆路威海检验检疫局技术中心

邮编：264205

E-mail:xucg1971@126.com

附录 C-3 结果报告单

CNAS T0458 《水产品中恩诺沙星、环丙沙星检测结果报告单》

实验室代码:

样品编号			
检测项目	检测结果($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率	报告结果($\mu\text{g}/\text{kg}$)
恩诺沙星			
环丙沙星			
检测方法	方法名称:		
	主要前处理过程:		
所用仪器	仪器名称/型号:		
备注	<p>1 结果以恩诺沙星、环丙沙星单体计。</p> <p>2 测试结果保留 3 位有效数字, 单位为 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 每份样品平行测试 2 次, 取平均值的回收率校正结果作为报告结果。</p> <p>3. 检测过程中如有异常情况可添加附页说明。</p>		

请务必于 2009 年 9 月 25 日前将结果报告单传真或邮寄至联系人:0631-5961661

测试人员 (签字):

实验室负责人 (签字):

签发日期: 年 月 日

实验室名称 (盖章):

C-4 能力验证计划结果通知单

能力验证计划结果通知单

计划编号及名称：CNAS T0458 水产品中恩诺沙星、环丙沙星检测

实验室名称：

实验室代码：

样品名称	测试项目	实验室结果 (ug/kg)	中位值	标准化 IQR (ug/kg)	Z 值
冻干鲤鱼肉粉	恩诺沙星				
	环丙沙星				

注：1、 $|Z| \leq 2$ 为满意结果； $2 < |Z| < 3$ 为有问题结果； $|Z| \geq 3$ 为不满意（离群）结果。

2、本结果通知单应与能力验证计划结果报告结合使用。

附录 D 参考文献

- 1、CNAS RL 02:2007 能力验证规则
- 2、CNAS GL 02:2006 能力验证结果的统计处理和评价指南
- 3、CNAS GL 03:2006 能力验证样品均匀性