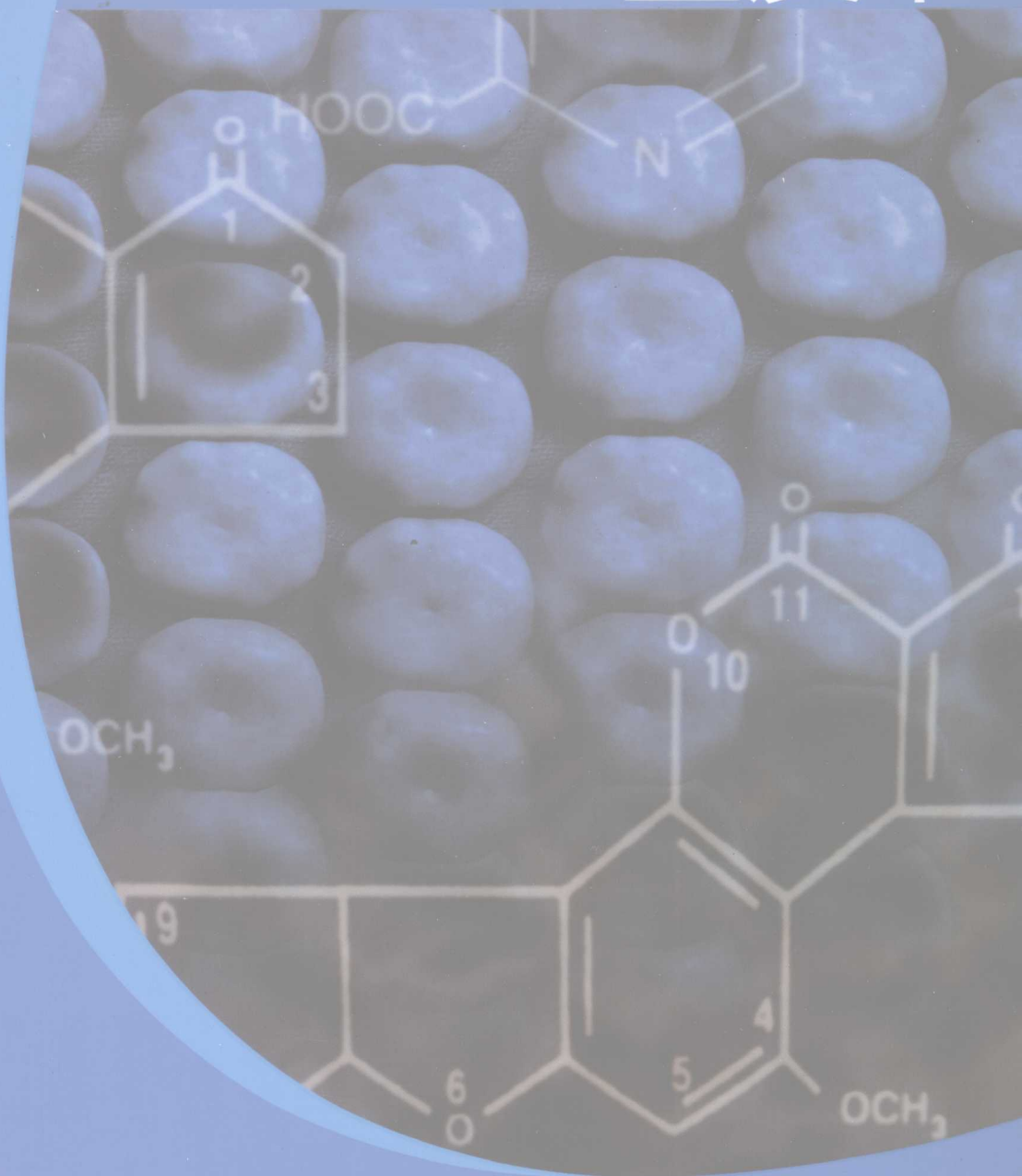


霉菌毒素 蓝皮书



中国农业科学技术出版社

[美] Duarte Diaz 主编
刘瑞娜 汪静霞 主译

霉菌毒素

蓝皮书



中国农业科学技术出版社

[美] Duarte Diaz 主编
刘瑞娜 汪静霞 主译

图书在版编目 (CIP) 数据

霉菌毒素蓝皮书/ (美) 迪亚兹 (Diaz, D.) 主编; 刘瑞娜, 汪静霞译. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2008. 10

ISBN 978-7-80233-726-8

I. 霉… II. ①迪…②刘…③汪… III. 霉菌性食物中毒—防治 IV. R595.7
S816.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 153588 号

责任编辑 莫小曼

责任校对 贾晓红 康苗苗

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电话 (010) 82109704 (发行部) (010) 82106630 (编辑室)

(010) 82109703 (读者服务部)

传真 (010) 82106636

网址 [http:// www. castp. cn](http://www.castp.cn)

经销者 新华书店北京发行所

印刷者 北京佳艺丰印刷有限公司

开本 787 mm×1 092 mm 1/16

印张 23.875

字数 490 千字

版次 2008 年 10 月第 1 版 2008 年 10 月第 1 次印刷

定价 76.00 元

— 版权所有 · 翻印必究 —

前 言

霉菌和它们产生的毒素曾经仅仅被当作是热带地区才有的一个问题,而现在却对全球各大洲的动物生产行业都产生了广泛的经济影响。霉菌生长造成饲料营养价值和动物采食量下降,从而导致生产效率降低。霉菌毒素,即使检出水平只有我们过去认为的“微量”水平,也会对动物的生产性能和健康状况产生负面影响,特别是对当前高产基因品种的动物尤为如此。通过食物传播的毒素还可以通过污染的谷物和蛋白产品,以及污染毒素的动物产品,威胁人类的健康。

《霉菌毒素蓝皮书》专注于霉菌毒素的生理学影响及其在田间的发生情况。不同类型的霉菌和霉菌毒素的详细信息,以及在什么样的条件下霉菌生长旺盛,在本书中都有介绍。本书还介绍了饲料被霉菌毒素污染对所有主要食品动物品种,还有水产和家养宠物的实际意义。样品的采样和毒素的分析方法,在本书中也有深入讨论;另外还介绍了人类食品中的霉菌毒素污染情况。最后,本书还介绍了消除霉菌毒素危害的实用方法。本书的编者和作者希望,本书的内容能帮助广大读者加深对霉菌毒素问题的理解,并最终减轻霉菌毒素对食品动物生产的危害。

编 者

目 录

第一章	霉菌毒素分析的饲料采样	1
	Thomas B. Whitaker, Andrew B. Slate 和 Anders Sture Johansson	
第二章	霉菌毒素对家禽的影响及可行的控制措施	26
	G. Devegowda 和 T. N. K. Murthy	
第三章	霉菌毒素对马的影响	65
	Kyle E. Newman 和 Susan L. Raymond	
第四章	霉菌毒素对家养宠物的影响	86
	Josef Böhm 和 Ebrahim Razzazi - Fazeli	
第五章	霉菌毒素对抗氧化系统和免疫性能的影响	102
	Peter F. Surai 和 Julia. E. Dvorska	
第六章	水产养殖中的霉菌毒素	155
	Bruce Manning	
第七章	霉菌毒素分析的原理与应用	173
	Keith A. Scudamore	
第八章	人类食品链中的霉菌毒素	204
	Fabio Galvano, Alberto Ritieni, Gianfranco Piva 和 Amedeo Pietri	
第九章	霉菌的生长及霉菌毒素的产生	249
	Elizabeth Santin	
第十章	猪霉菌毒素中毒的新概念	261
	Trevor K. Smith, Gabriel Diaz 和 H. V. L. N. Swamy	
第十一章	草料中的霉菌毒素	277
	J. Fink - Gremmels	
第十二章	霉菌毒素间的互作	301
	Roger D. Wyatt	
第十三章	霉菌毒素:新陈代谢、作用机制和生化指标	311
	Ronald T. Riley 和 James Pestka	
第十四章	霉菌毒素对反刍动物的影响	329
	Jean - Pierre Jouany 和 Duarte E. Diaz	
第十五章	霉菌毒素吸附剂:霉菌毒素脱毒的实用方法	360
	Duarte E. Diaz 和 Trevor K. Smith	

第一章 霉菌毒素分析的饲料采样

Thomas B. Whitaker, Andrew B. Slate 和 Anders Sture Johansson 著

US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, North Carolina State University,
Raleigh, North Carolina, USA

刘瑞娜 译 敖志刚 校

引言

在各种农产品上生长着的各种各样的霉菌,这些霉菌都能产生霉菌毒素,霉菌毒素是有毒的化合物,有些甚至是致癌的(Cullen 和 Newberne, 1994)。霉菌毒素有很多种(CAST, 2003),在表 1-1 里列出了一部分。

表 1-1 多种真菌产生的几种霉菌毒素(部分)

黄曲霉毒素

烟曲霉毒素

赭曲霉毒素 A

去氧瓜萎镰菌醇(呕吐毒素)

展青霉毒素

玉米赤霉烯酮

无论是在田间还是在仓库中,农产品都有可能被污染。通过采取适当措施,如每年作物合理的轮作、在干热的气候条件下进行灌溉、使用杀虫剂减少昆虫数量,晾晒谷物直到安全的湿度水平、使用有防霉措施的仓库(Phillips 等, 1994)可以防止作物污染霉菌毒素。因为霉菌毒素有毒,有的甚至致癌,许多国家都规定了食物和饲料中霉菌毒素的含量上限标准。大多数规定都是考虑黄曲霉毒素,因为黄曲霉毒素的毒性和致癌性在天然产生的霉菌毒素中是最大的。最近 FAO/WHO 的调查显示,将近 100 个国家都有关于食品和饲料中黄曲霉毒素含量的规定(FAO, 1995)。由于各国在黄曲霉毒素的安全范围上缺乏共识,不同的国家规定的最高限度互不相同,表 1-2 是 FAO/WHO 调查的黄曲霉毒素的最高含量标准(FAO, 1995)。

2 霉菌毒素蓝皮书

表 1-2 各国黄曲霉毒素的最高含量标准

国家	黄曲霉毒素 B ₁ (ng/g)	总黄曲霉毒素 (ng/g)
美国	8	20
欧盟		15
澳大利亚		15
加拿大		15
埃及:玉米	20	20
花生		10
尼日利亚		20
菲律宾		20
南非		10

食品和饲料中霉菌毒素的定性和定量检测保障了人畜的健康。在科学研究、质量控制、行政管理行为中,只有在可以高度精确和准确地测定商业产品中的霉菌毒素的含量时,才能够对商业产品的命运作出正确的判断。一批农产品中霉菌毒素的含量通常是通过测量其中的一小部分或一个样品中的霉菌毒素水平来估计的(图 1-1)。

一般假设样品中霉菌毒素的含量和大批产品中霉菌毒素的含量是一致的。根据样品的测定结果,可以决定这批产品是否能食用,或一种防霉的处理是否对减少黄曲霉毒素起到了作用。例如,在质量控制的情况下,将测定结果和质量标准进行对比,对产品进行分级,从而决定产品合格与否。如果样品霉菌毒素的含量不能准确地反映总体产品的含量,产品定级就会发生错误,从而带来严重的经济损失或损害人和动物健康。幸运的是,采样方法的制定能降低错误定级的可能,减少不必要的经济损失。本章将介绍采样方法、采样中的一些不确定因素的来源、错误定级可能造成的风险和减少错误定级的方法。

大宗产品和一个样本中的毒素浓度相等吗?
样本的浓度等于或低于国家的标准吗?

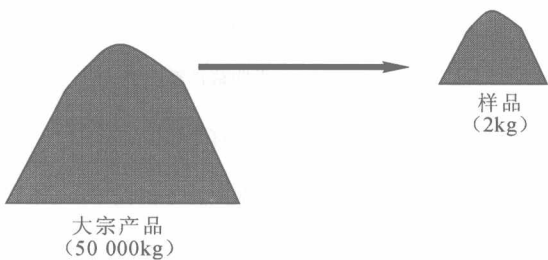


图 1-1 假定一个批次产品中的霉菌毒素含量
等同于样品中的霉菌毒素含量

采样方法的定义

霉菌检测的方法和霉菌含量接受/拒绝的标准决定了测定霉菌时的采样方法。霉菌测定方法大致分三个步骤(图 1-2),包括采样、样品的前处理、样品分析(定量)。

采样的步骤具体说明了样品如何选择,如何决定样品的大小。就颗粒产品来说,样品的前处理也分为两步,首先将样品在粉碎机里粉碎,然后从粉碎的样品中抽取一小部分。样品分析是从粉碎的小样品中萃取霉菌毒素并且用认可的方法进行定量测量。

用样品中的霉菌毒素的测定值来估计整个批次产品的霉菌毒素含量,或是与国家规定的霉菌毒素接受/拒绝水平(通常是允许含量的最高限或国家控制的含量水平)相比较。把检测结果与一个接受/拒绝标准比较,这种采样方法通常叫接受性采样,因为在这种情况下,检出的毒素水平并不十分重要,更重要的是检出的毒素水平(也就是整个批次中的毒素水平)是高于还是低于法律规定的限制水平。在质量控制和研究活动中,精确和准确地估计总体样品中的霉菌毒素的真实含量就更加重要了。

不确定因素

采样中总会存在一定水平的不确定因素,由于这些不确定因素的存在,样品中霉菌毒素的含量不可能 100% 准确地反映大宗产品中霉菌毒素的含量;合格和不合格的分类(根据标准)也不可能是 100% 准确的。准确度和精确度是和采样方法有关的两种不确定因素。(Cochran 和 Cox, 1957)。

准确度

测量值接近真实值的程度叫做准确度。和准确度相关的另一个术语叫做偏差。偏差是由于外界因素的影响使测量值偏离真实值(这种偏离是一致的)。以打靶为例,靶心代表真实值,子弹打出的洞代表测量值(如图 1-3),图 1-3 显示右侧的靶所用的枪要比左侧的准确,因为右侧的子弹洞都围绕着靶心。

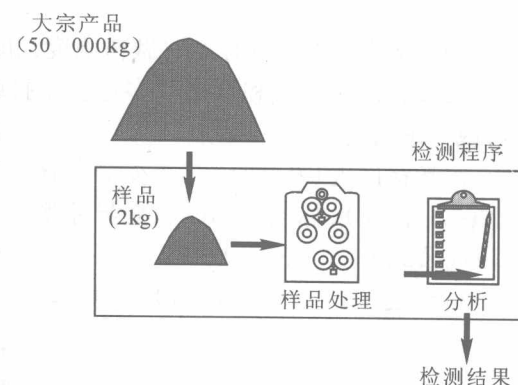


图 1-2 霉菌测定方法一般包括采样,样品的前处理和样品分析 3 个步骤

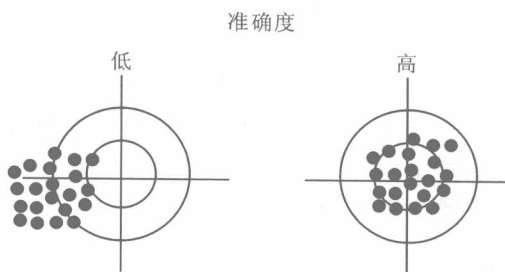


图 1-3 以打靶为例说明低准备度和高准确度

从数学的角度,准确值(A)是真实值(U)与测量值的平均值(X_i)的差(公式 1-1)。

$$A = U - [\text{SUM}(X_i)/n] \quad (1-1)$$

准确值和偏差有关。样品的选择,样品的前处理和定量测定过程中都可能出现偏差。偏差应该很容易被控制,并且可以减少到能够接受的水平。但是由于很难知道产品中霉菌毒素的真实含量,所以减少偏差的方法的好坏是很难评估的。

只有对采样方法、前处理设备、分析方法不断地进行检测和校正才能缩小偏差。

精确度

测量值之间的接近程度叫做精确度,和精确度相关的另一个术语叫做变异,精确度的定义没有说测量值和真实值多近。用打靶的例子解释精确度,靶上的洞互相离得越近,说明越精确(图 1-4)。

衡量精确度(P)使用三个变异的统计值:方差(V)、标准差(S)和变异系数(CV)(公式 1-2~公式 1-4)

$$V = [\sum_i (X_i - m)^2 / (n - 1)] \quad (1-2)$$

$i = 1, 2, \dots, n$

$$S = \sqrt{V} \quad (1-3)$$

变异系数用百分比来表示:

$$CV = 100 \times (S/m) \quad (1-4)$$

X_i 是测量值,而 m 是 n 个测量值(X_i)的平均值。精确度和变异性有关,测定的每个步骤都可能发生变异。

描述一个过程的不确定性时,必须同时考虑准确度和精确度按不同组合出现的可能。如图 1-5 所示,有四种精确度和准确度的组合的极端情况:低精确度低准确度,低精确度高准确度,高精度低准确度,高精度高准确度。

最坏的情况就是过程既不精确也不准确,最好的情况就是过程既准确又精确。检测大宗原料中霉菌毒素的目标是要设计霉菌毒素检测方法或采样方法,同时保证高精度和高准确度。

准确度

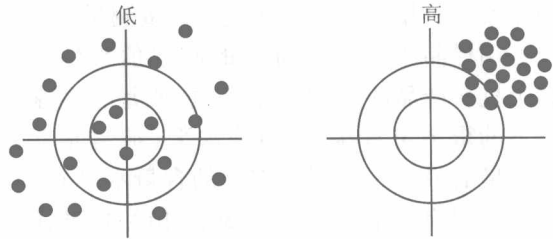


图 1-4 以打靶为例说明低精确度和高精确度

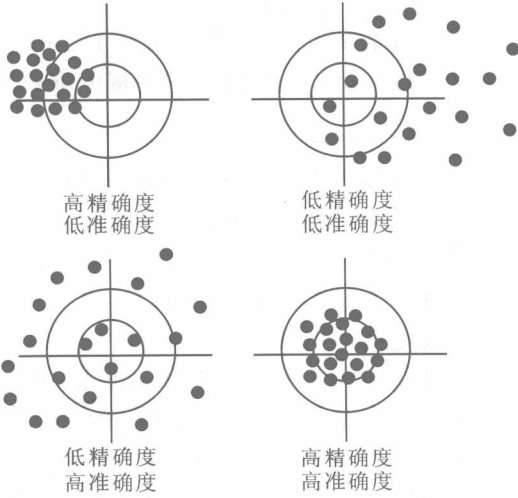


图 1-5 精确度和准确度的四种极端组合

样品选择

大宗产品的采样程序是非常重要的,大宗产品中每个独立部分都应有相等的机会被选择(叫做随机采样),如果采样设备和方法限制或减少了任何独立部分被选择的机会,偏差就会产生,图 1-6 列举了样品选择时造成的偏差,大颗粒的样品无法进入采样器,有些位置采样器无法到达,混合不均的大宗产品采样点单一。

如果大宗产品在不同原料处置过程中被充分混合,就认为被污染的颗粒均匀地分布到了大宗产品中(Williams, 1991),如果是这种情况,对采样的位置的要求就不是十分严

格了。如果产品由于受潮产生高湿度的结块或其他局部原因,那么被霉菌毒素污染的颗粒就可能集中到大宗产品中的个别部位(Shotwell 等,1975),如果从一个位置采样,可能就取不到污染了霉菌毒素的颗粒或取到的太多污染霉菌毒素的颗粒(见图 1-7)。

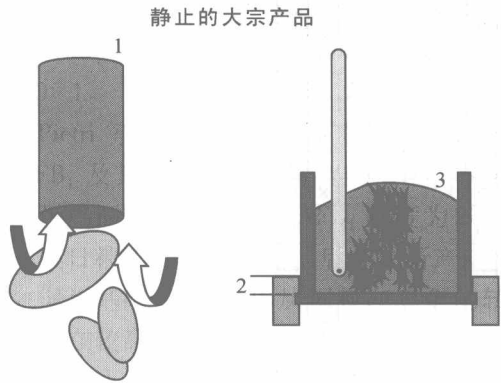


图 1-6 从大宗产品中采样可能出现的不同类别的偏差

1—大颗粒的样品不能进入采样器;2—有些位置采样器无法到达;3—混合不均的大宗产品采样点单一

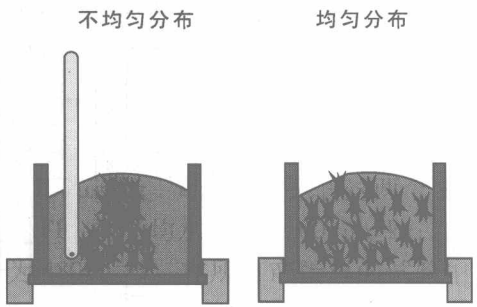


图 1-7 不均匀分布的总体应该多点采样

由于被污染的颗粒在大宗的产品中可能分布不均,样品应该来自总体中的多个不同的部位(Bauwin 和 Ryan,1982;Hurburgh 和 Bern,1983)。FAO/WHO 推荐每个样品的大小应该为 200g,每 200kg 产品采样 200g(FAO,2001),多点采样的总和叫大样品。如果大样品比需要的大,应该将大样品混匀后,再多点采样,直到满足需要的样品大小的要求(图 1-8)。

样品前处理的过程中从大样品里再采样,然后粉碎得到的样品叫检测样品。从静止的大宗产品(静态总体)中获得有代表性(无偏差的)的检测样品要比从运动的产品(动态总体)中获得检测样品要困难。静态总体和动态总体选用的采样方法是不同的。

静态总体

静态总体指在贮藏罐、货车的车厢或像麻袋这样较小的容器里的产品。从这些容器里采样时应该采用适宜的采样操作方法以便从不同的位置采样。图 1-9 是美国农业部(USDA)使用的从花生中采样时采用的几种采样操作方法(USDA,1975;Park 等,1982;Whitaker 和 Dowell,1995)。

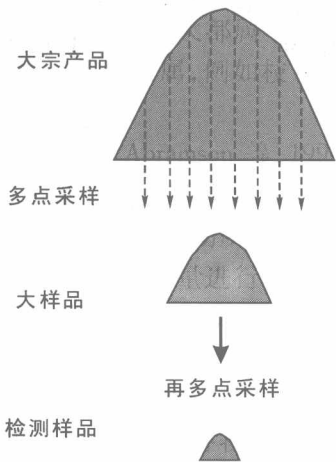


图 1-8 从大宗产品里多点采样,得到大样品,再从大样品中得到合适的检测样品

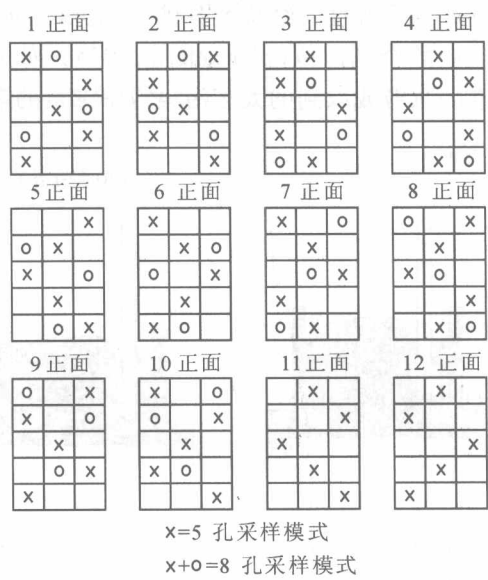


图 1-9 美国农业部从大型花生集装箱采样时采用的 5 孔和 8 孔采样操作模式实例

采样器应该足够长,如果可以的话,需要能够到达容器的底部。应该尽量采用大约每 200kg 产品采样 200g 的采样比率。但有些情况下这样的采样率是很难实现的,比如,采样器的设计、容器的大小、总体的大小都会影响采样率。举例来说,从 25 000kg 的总体里取检测样品 (TSS) 5000g。每个采样点采样 200g。采样点最少应为 $5000/200$ 等于 25 个。如果从 25 000kg 的总体中采集 25 个样品,就变成了每 1000kg ($25\ 000/25$),远大于推荐的每 200kg 取 200g;如果每 200kg 取一个样,每个样取 200g,就要取 125 个样 ($25\ 000/200$),大样品就变成了 25 000g (需要检测样品的 5 倍),还要采样直到变成 5000g,图 1-10 表示了各种因素间的相互作用。



图 1-10 总体的大小、每次采样的大小和检测样品大小之间的关系

当从独立的容器如麻袋或其他小包装中采集静态样品时,样品应尽可能来自整批样品的不同容器。仓库里堆放麻袋时应该留有小通道,以便于内部采样。推荐的采样数为:小批量(少于 20 t)1/4 的包装要采样;大批量(多于 20 t),采样数为总包装数的平方根(FAO,2001)。

如果产品的包装使采样受限,则应该在产品装入或取出的时候采样。分区采样后样品过大,混匀后继续分区采样,直到取得合适的检测样品。

动态总体

产品输送的过程中,产品处于运动状态(例如在传送带上),可能这时采样更接近随机采样。当从运动的产品中采样,应从整个产品的长度范围分别采取样品(如图 1-11),采样时采样点的宽度与运输带宽度相同。如果采集的样品过大,混匀后继续分区采样,直到取得合适的检测样品。

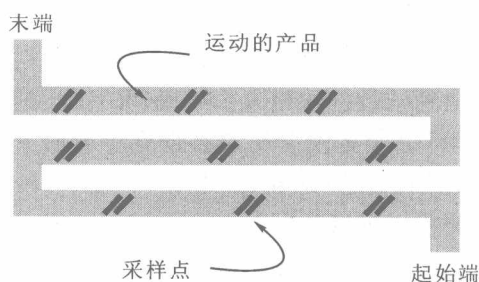


图 1-11 运动产品的采样应该从流动产品的起始端到末端的多个采样点采集

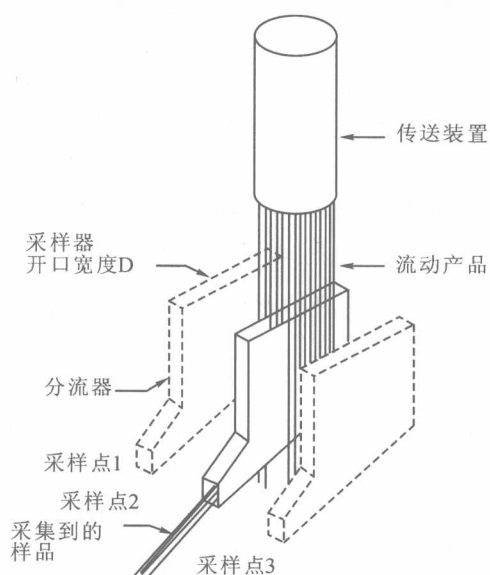


图 1-12 自动采样器以一定的速度运动,并且穿过整个产品流

市场上可以买到能定时的自动采样设备,如横切采样器(如图 1-12)的采样杯能以预设的和固定的时间间隔自动从流动的产品中收集样品。

没有自动采样器时,可以指派专人每隔一定的时间间隔用采样器手工收集样品。无论是采用自动还是手工的采集方法,在产品流动的整个过程,都要以一定的频率和一定的时间间隔在采样点采样。

8 霉菌毒素蓝皮书

横切采样器应该按以下的方法安装;①采样杯的开口应垂直于产品的流向;②采样器可通过面积应覆盖整个物流的横截面;③采样杯的开口应该足够宽,以保证所有具有代表性的产品都能进入。一般原则是采样杯的开口宽度是所收集的最大的样品直径的2~3倍。

用横切采样器采样,大样品的质量 $S(\text{kg})$ 等于:

$$S = (DL)/(TV) \quad (1-5)$$

式中 D ——采样杯的宽度(cm)

L ——产品的总重(kg)

T ——采样杯采样间隔的时间(s)

V ——采样杯的移动速度(cm/s)

公式1-5也可用来计算其他感兴趣的参数,例如 T 。如果要从30 000kg的产品里取10kg的样品,采样杯的宽度是5.08cm(2in),采样杯移动为30cm/s,要求计算出 T :

$$T = (5.08\text{cm} \times 30\,000\text{kg}) / (10\text{kg} \times 30\text{cm/s}) = 508\text{s}$$

如果样品以每分钟1 000kg的速度移动,全部产品通过采样器只需30min,采样杯只能横切物流3次或4次。可以认为这样的频率是不够的,因为在采样杯横切产品横截面的间隔,有太多的产品通过,因此许多样品收集不到。根据不同样品大小和采样频率,应该充分考虑公式1-5中各个变量的相互作用。

大样品和检测样品

由于受污染的颗粒可能不是均匀的分布,大样品是从产品的许多不同的位置抽取的。因此通常大样品比用来估计产品中霉菌毒素浓度的检测样品要大。对颗粒原料来说,检测样品是样品准备过程中样品粉碎后可以得到的最细的粉末。对粉碎的比较细的原料(玉米粉)或者液体产品(牛乳),所需的检测样品是定量分析霉菌毒素步骤所需要的最少的样品量。当大样品大于检测样品时,应采用机械分配器,如Boerner或Riffle分配器,从大样品中采集所需的检测样品。一般认为使用机械分配器采样更接近随机分区(Parker,等1982),因此在采集检测样品时不一定要混匀大样品。但是如果是采用四分法或者是用手工工具(杯或是铲)从大样品中采集检测样品,则从大样品中抽取检测样品之前一定要混匀。

如果检测样品是颗粒状的如玉米粒,或坚果,在样品准备过程中将样品粉碎之前,不应进一步减小样品的大小。检测样品变得越小,测定值的不确定性就越大。所以粉碎时样品应尽可能多。在表1-3中,推荐了各种产品的样品大小。

表 1-3 美国食品和药品管理局使用的产品采样量

产品名称	产品特点	包装种类	整批产品 的大小	采样单位数	采样单位 大小	样品 (lb)
花生酱	Smooth	小包装		24	0.5	12
		大宗		12	1	12
花生	脆片、花生酱、烘	小包装		48	1	48
	烤花生、花生粉	大宗				
树坚果	带壳、去壳	小包装		10	1	10
	切片	大宗		50	1	50
	粉糊			12	1	12
巴西坚果	带壳进口	大宗	<200 袋	20	1	20
			201 ~ 800 袋	40	1	40
			801 ~ 2000 袋	60	1	60
开心果	带壳进口	大宗	75 000 磅	总量 20%		50
			<75 000 磅	总量 20%		25
玉米	去皮、粕、粗粉	小包装		10	1	10
		大宗				
棉籽		大宗		15	4	60
油籽粕	花生、棉籽	大宗		20	1	20
食用籽实	南瓜、各种瓜、芝 麻等	大宗		50	1	50
姜	干、粉	大宗	“n”批	$\sqrt{n}$		15
		小包装		10	10 × 0.06	10
牛乳	全乳、低脂乳、脱	大宗				10
	脂乳	小包装		10	1	10
小粒谷类	高粱、小麦、大 麦等	大宗		10	1	10
干果	无花果等	小包装		50	1	50
		大宗				
混合物	大颗粒	小包装		50	1	50
	农产品	大宗				
	粉碎成细小的颗 粒农产品			10	1	10

样品前处理

测定霉菌毒素的样品一定要进行前处理。从大样品中提取霉菌毒素是不可行的，提取时只需使用检测样品中一小部分(次级样品)。如果农产品是颗粒状的，比如是玉

米籽实粒,在抽取次级样品前需先把全部检测样品粉碎成合适的大小(Dickens 和 Whittaker,1982;Campbell 等,1986)。从颗粒状的检测样品中,先抽取次级样品,再进行粉碎,这样就抵消了在处理大颗粒产品是提高样品大小所带来的益处。检测样品粉碎之后,抽取次级样品进行霉菌毒素的测定(图1-13)。

使用粉碎机将检测样品中的颗粒尺寸减小到尽可能小。减小样品颗粒大小使检测样品变得更均匀(图1-13)。使得次级样品中的霉菌毒素的浓度更真实地反映检测样品中的霉菌毒素浓度。一些粉碎机如 Romer 粉碎机(Malone,2000)和 USDA 的花生粉碎机(Dickens 和 Satterwhite,1969),能在粉碎的过程中自动地抽取次级样品。如果粉碎机不能抽取次级样品,可以用 Riffle 分

配器抽取次级样品。如果是用手工工具,如铲子,抽取次级样品,从粉碎样品中抽取次级样品之前要混匀。

通常,非颗粒样品,如液态(牛乳)或糊状(花生酱)产品,不需进行前处理。由于不能对整个样品进行分析,需要采集样品的一部分用于霉菌毒素分析。但是必须在检测之前将这些液态、糊状产品充分混合,再采样分析。

次级样品的大小也是不同的,根据产品颗粒的大小,次级样品为 25 ~ 1000g。颗粒越小的,在不会增加偏差和不确定因素的前提下,需要的次级样品的数量越少。

定量分析

从粉碎的检测样品中采集次级样品,与溶剂混合,萃取出霉菌毒素。定量之前要除去其中的干扰物质(如油),并对霉菌毒素进行浓缩。这其中包括几个步骤,离心、过滤、干燥和稀释(Steyn 等,1991)。测定萃取的霉菌毒素一般有三种方法,薄层色谱法(TLC),酶联免疫吸附分析法(ELISA)和高效液相色谱法(HPLC),美国官方分析化学家协会(AOAC)通过协作研究评估了几种方法的优劣。

有几种与分析方法有关的偏差。比如,样品中的霉菌毒素可能没有 100% 被溶剂完全从次级样品中萃取出来;其他化合物被萃取到溶剂中,定量时被误认为是霉菌毒素;使用的霉菌毒素标准品定量不准确;测量霉菌毒素所用的仪器没有被校准。

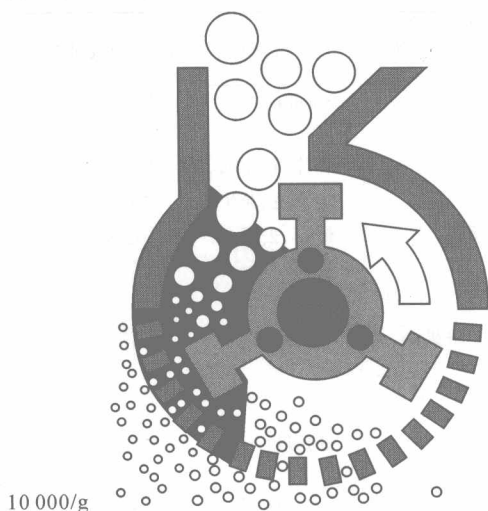


图1-13 粉碎机将颗粒的检测样品粉碎以减小颗粒尺寸

接受/拒绝标准

测出霉菌毒素的含量之后,用这个值估计大宗产品中霉菌毒素的含量,或者将这个测定值与接受/拒绝标准(ARL)相比较。ARL是预设的一个极限值,这个极限值通常等于法定标准中的极限值。如果样品霉菌毒素测定值小于或等于这个 ARL 标准,则这批产品被接受。相反,如果测定结果高于 ARL 标准,产品则被拒绝。执法部门检查产品质量时,通常就将法定标准设为 ARL 标准。但是即食品的制造商使用的标准值通常要比法定的标准值要低,以免执法部门检测时毒素含量超标。一些私营企业的标准通常是法定标准值的一半。

许多国家都认为应该确立法定的标准,但是各国之间标准的值并不统一。1995 年 FAO 的一项普查(FAO,1995)显示,一些国家只基于黄曲霉毒素 B_1 的含量规定了黄曲霉毒素的法定标准,一些国家规定的是总的黄曲霉毒素($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$)的含量,而这些法定值又有很大的差异。CODEX 食品添加剂和污染物委员会制定了国际贸易中花生总黄曲霉毒素的含量标准 15ng/g (FAO,2001)。

随机变异

即使采用规定的采样、样品前处理和分析操作程序(Campbell 等,1986;AOAC,1990;Nesheim,1979),在上面提到的霉菌毒素检测的几个步骤中仍会产生误差(用误差来表示变异)(Whitaker 等,1974)。因为误差的存在,用从总体中抽取的检测样品检测得到的检测值不可能完全反映大宗产品中的真实霉菌毒素的浓度。例如,从 6 个批次的污染脱壳花生中采样,每个批次采 10 个样品做黄曲霉毒素的检测,测定结果如表 1-4 所示(Whitaker 等,1972)。检测步骤是:①将 5.45kg 花生粒样品粉碎,使用 USDA 次级样品采样粉碎机(Dickens 和 Satterwhite,1969);②从粉碎的样品中取出 280g 次级样品;③使用 AOAC 的方法 II 用溶剂从 280g 次级样品中萃取黄曲霉毒素(AOAC,1990);④用薄层色谱法(TLC)进行黄曲霉毒素的定量测量。每批产品中 10 个检测结果由低到高排列,来说明从同一批次产品采样重复测定结果的重要特征。

第一,同一批产品的重复测量结果变化范围比较大。在表 1-4 中标准差(SD)和变异系数(CV)用来表示变异性。最高的测定值是平均值的 4~5 倍(10 个测定值的平均值是最合理的总体值);第二,10 个样品测定结果的变异是总体平均数的函数。当整批花生中黄曲霉毒素含量增加时,测定值间的标准差增加,但是相对与总体平均数的标准差,即变异系数降低;第三,10 个测定值的分布不总是以平均值为中心对称的。测定值呈正偏态分布,也就是超过半数的测定值低于真实值。当整批产品中黄曲霉毒素含量增加,测

12 霉菌毒素蓝皮书

定值对称性增加。表 1-4 中可以利于测定的结果和平均值进行偏态的计算。如果一批产品中只测定一个样品,这个测定结果有 50% 的概率低于真实值。在小样品检测中产生的偏态更大,在表 1-4 中没有体现,当检测样品较大时,测定值会更加对称(Whitaker 等,1972)。在测定其他产品的其他霉菌毒素时也有和表 1-4 中类似的特点(Dickens 等,1979;Whitaker 等,1993;Whitaker 等,1998)。

在表 1-4 中的霉菌毒素结果的变异来源于霉菌毒素检测的每个步骤中。采样、样品前处理和分析的过程中都会发生变异。如图 1-14 所示,结果的总误差或变异是采样、样品前处理和分析的过程的误差或变异的总和。

表 1-4 6 批,每批 10 个 5.4kg 的去壳花生样品的黄曲霉毒素检测结果的分布情况^①(Whitaker 等,1998)

批次 编号		样品检测结果										平均值	$SD^{②}$	$CV^{③}$
		(ng/g)										(ng/g)	(ng/g)	(%)
1	0	0	0	0	2	4	8	14	28	43	10	15	150	
2	0	0	0	0	3	13	19	41	43	69	19	24	126	
3	0	6	6	8	10	50	60	62	66	130	40	42	105	
4	5	12	56	66	70	92	98	132	141	164	84	53	63	
5	18	50	53	72	82	108	112	127	182	191	100	56	56	
6	29	37	41	71	95	117	168	174	183	197	111	66	59	

①黄曲霉毒素检测结果按毒素浓度水平排列(ng/g)。

②SD 是标准差。

③CV 是变异系数 = SD × 100/平均值。

在公式 1-2 ~ 公式 1-4 中的统计参数中只有变异是加性的,因此假定与霉菌毒素检测方法相关的变异是采样、前处理和分析过程的变异的总和(公式 1-6)。

$$VT = VS + VSS + VA \quad (1-6)$$

下面讨论霉菌毒素检测程序的每一步都影响结果的总变异的原因。以下以检测玉米籽实的黄曲霉毒素为例,讨论每一个试验步骤造成的变异的程度。

采样的变异

研究表明测定农产品(如花生、棉籽、玉米籽实和开心果)时,尤其是样品比较小时,采样的步骤造成的变异更大(Dickens 等,1979)。即使是使用公认的采样设备和采样方

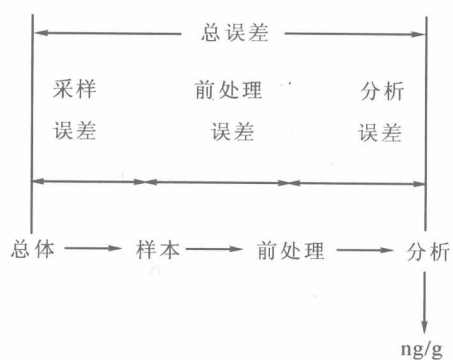


图 1-14 霉菌毒素检测过程中的总误差是采样、样品前处理和分析误差的总和