



CNAS:PT0011



**花生中黄曲霉毒素含量的检测  
能力验证结果报告  
(FATA PT-003 2012)**

山东出入境检验检疫局检验检疫技术中心

2013年1月

## 目录

<b>1 前言</b>	1
<b>2 计划概述</b>	2
2.1 项目简介	2
2.2 参加实验室概况	2
2.3 测试样品	3
2.3.1 测试样品的制备	3
2.3.2 测试样品的均匀性检验	3
2.3.3 测试样品的稳定性检验	3
2.3.4 样品发放	3
2.4 计划的保密性	4
<b>3 数理统计方法与设计</b>	4
3.1 评价依据	4
3.2 评价方法	4
<b>4 数理统计结果</b>	6
4.1 检测结果汇总和补测结果及统计处理表	6
4.2 统计参数	6
<b>5 技术分析和建议</b>	6
5.1 检测项目分析	6
5.2 检测方法类别	7
5.3 “可疑”与“不满意”结果原因分析与建议	9
<b>6 依据的标准和规范</b>	10
<b>7 参考文献</b>	10
附录 A 能力验证结果统计图表汇总	12
附录 B 能力验证相关操作文件	25

## 1 前言

黄曲霉毒素 (Aflatoxin, AF) 主要由黄曲霉和寄生曲霉等真菌在代谢过程中产生, 是一类结构相似的化合物。基本结构为二氢呋喃氧杂萘邻酮的衍生物, 即含有一个双呋喃环和一个氧杂萘邻酮 (香豆素), 前者为毒性结构, 后者与致癌有关。AF 目前已分离出 12 种, 其中最具代表性的是 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub>、AFG<sub>2</sub>。AF 是强致癌、致畸、致突变物, 主要损害肝脏, 还具有免疫毒性, 降低机体免疫力, 降低动物生产性能, 其中 AFB<sub>1</sub> 被国际肿瘤研究机构 (IARC) 列为 IA 类致癌物质。

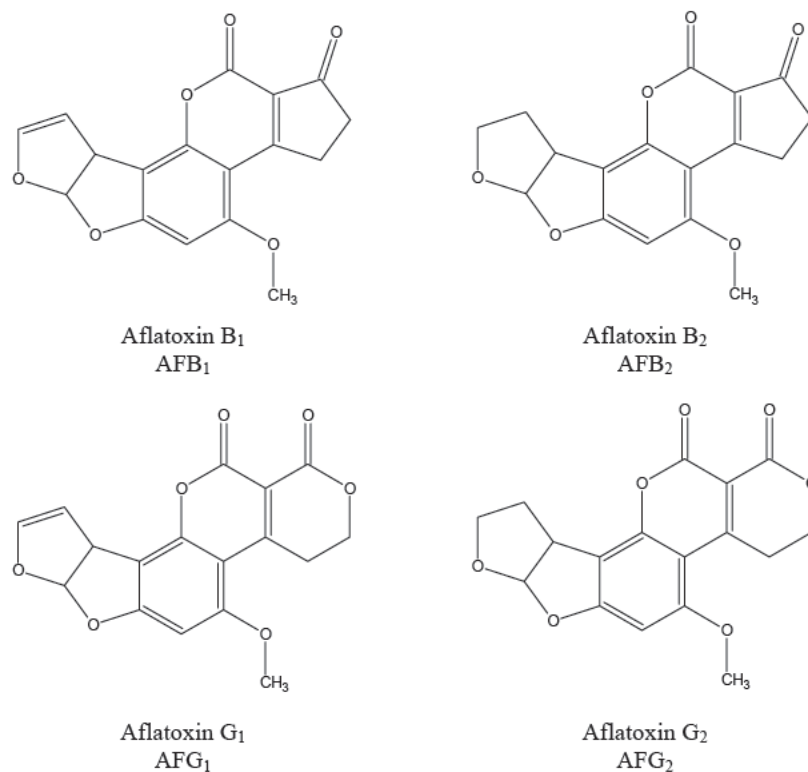


图 1 黄曲霉毒素 4 种代表性化合物分子结构式

鉴于黄曲霉毒素对人类及动物的毒害作用及其在国际贸易中产生的重要影响, 世界上已经有 61 个国家制定了食品中 AFB<sub>1</sub> 的限量, 有 76 个国家制定了食品中黄曲霉毒素总量 (即 AFB<sub>1</sub>+AFB<sub>2</sub>+AFG<sub>1</sub>+AFG<sub>2</sub>, AF-TOTAL) 的限量。目前我国只针对污染范围最广、危害最大的 AFB<sub>1</sub> 制定了限量。其中花生及其制品的限量水平为 20 μg/kg。

黄曲霉毒素的分布范围很广, 包括粮食作物、油料作物及其制品、干鲜果菜、调味品、奶和奶制品、肉类等动物产品、啤酒等发酵产品、饲料等。我国是农业大国也是农产品进出口大国, 农产品中真菌毒素特别是花生中黄曲霉毒

素的污染在农产品进出口贸易、国内人民群众食品安全的保证等方面的影响越来越明显。因此，对花生及其制品中的黄曲霉毒素进行准确检测显得非常重要。

FATA PT-003 2012《花生中黄曲霉毒素含量的测定》能力验证计划由山东出入境检验检疫局技术中心组织实施，本报告是对本次能力验证计划的总结，由山东出入境检验检疫局技术中心负责起草，中国合格评定国家认可委员会（CNAS）秘书处审核并备案。

根据能力验证保密性要求，本计划对每个参加实验室随机编制了唯一性代码，本报告以实验室代码代替实验室的真实信息。

## 2 能力验证计划概述

### 2.1 项目简介

本次能力验证计划的具体实施时间为 2012 年 6 月~2012 年 12 月。8 月份接受参试单位报名，随后发出考核样品以及相关材料，报告上报截止日期 12 月 31 日。2013 年 1 月对全部上报结果进行统计分析。

### 2.2 参加实验室概况

表 1 参试单位行业及地域分布情况

序号	行业	数量	地域	数量
1	出入境检验检疫	13	山东	41
2	疾病预防控制	5	广东	7
3	质量技术监督	4	上海	2
4	食品药品检验	2	四川	1
5	农业部门	1	吉林	1
6	科研院所	1	江苏	4
7	企业实验室	30	北京	2
8	商业实验室	5	安徽	2
9	/	/	黑龙江	1

本次能力验证活动共有 63 家实验室报名参加。截止结果上报日期, 共有 61 家参试单位按时上报了检测结果, 另有 2 家单位中途退出, 均来函说明了原因。

参试单位行业涉及食品企业、检验检疫系统、质量技术监督系统、疾控系统、第三方测试实验室以及科研院所; 参试单位来自于 9 个省、直辖市和自治区, 具体行业及地域分布情况见表 1。

## 2.3 测试样品

### 2.3.1 测试样品的制备

本次能力验证采用单一样品设计, 由山东出入境检验检疫局技术中心制备测试样品, 样品来源于同源天然污染样品。

取天然污染花生果 15 kg, 使用德国 Stephen UM-44A 型大型粉碎搅拌机, 高速粉碎, 多次重复混匀搅拌, 混匀搅拌总时间 2 小时以上。以 55 g 为单位, 分装成独立样品 108 份, 唯一性标识样品, 于 0 °C~4 °C 条件下储存。

### 2.3.2 样品均匀性检验

在分装好的样品中, 随机方式抽取 10 个样品用于均匀性检验, 对于抽取的每个样品, 在重复条件下测试 2 次。测试方法采用国家标准方法《GB/T 18979-2003 食品中黄曲霉毒素的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法和荧光光度法》的第一法。

采用单因素方差分析 (One Way ANOVA) 对测试结果数据进行分析。数据统计结果表明, 本次活动的样品中所含 AFB<sub>1</sub>、AF-TOTAL 是均匀的。均匀性测试结果数据及评价见附表 A5。

### 2.3.3 样品稳定性检验

相关文献表明, 天然污染的黄曲霉毒素在农作物中稳定存在, 能耐受高温影响。之前多次的能力验证也证明, 天然污染的花生黄曲霉毒素样品在避光密封条件下十分稳定。

为确保本次计划的成功, 在全部实验室提交数据后对本次样品进行了稳定性测试, 以证明其在能力验证活动的整个运作时间内是稳定的。稳定性测试结果数据及评价见附表 A6。

### 2.3.4 样品发放

测试样品连同结果报告单、参试作业指导书和样品确认函以特快专递方式统一发放。为防止运输过程中样品被碰撞而破损、泄露，样品采用银色铝膜单独密封包装，外包装贴有样品编号代码。

#### 2.4 计划的保密性

所有实参加验室均有唯一代码，该代码用于标识各参加实验室的测试结果及最终技术报告等信息。

能力验证组织者不得向参试实验室透露涉及能力验证样品含量水平的技术指标，在未经参试实验室同意的情况下，不得向第三方提供参试实验室的技术信息。

参试实验室不得互相串通、伪造测试结果。参试实验室可对外发布本实验室参试结果及评价，以满足客户要求和实验室上级组织的评估。但不得泄露其他参试实验室的技术信息。

### 3 数理统计方法与设计

#### 3.1 评价依据

CNAS-GL02: 2006《能力验证结果的统计处理和能力评价指南》。

#### 3.2 评价方法

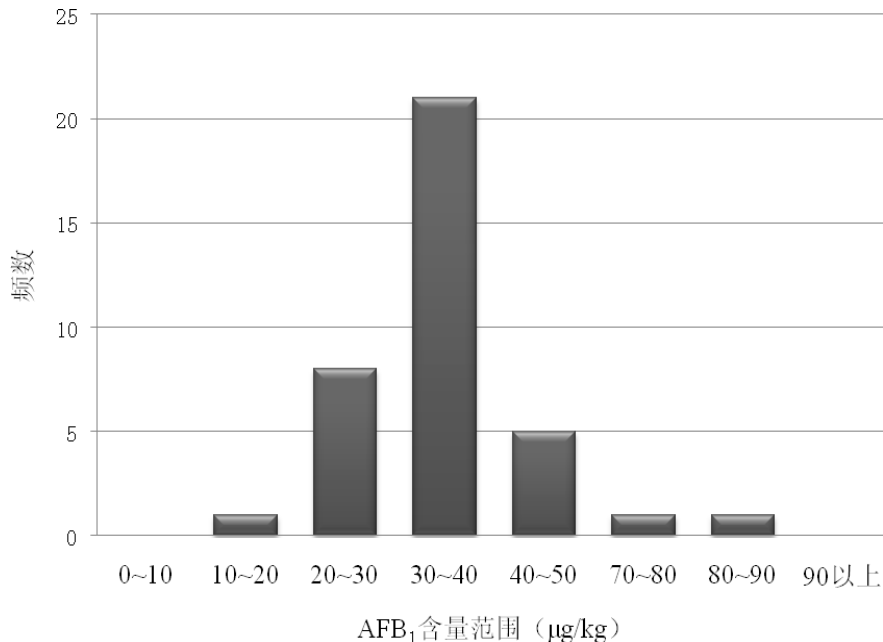


图 2 AFB<sub>1</sub> 频数直方图

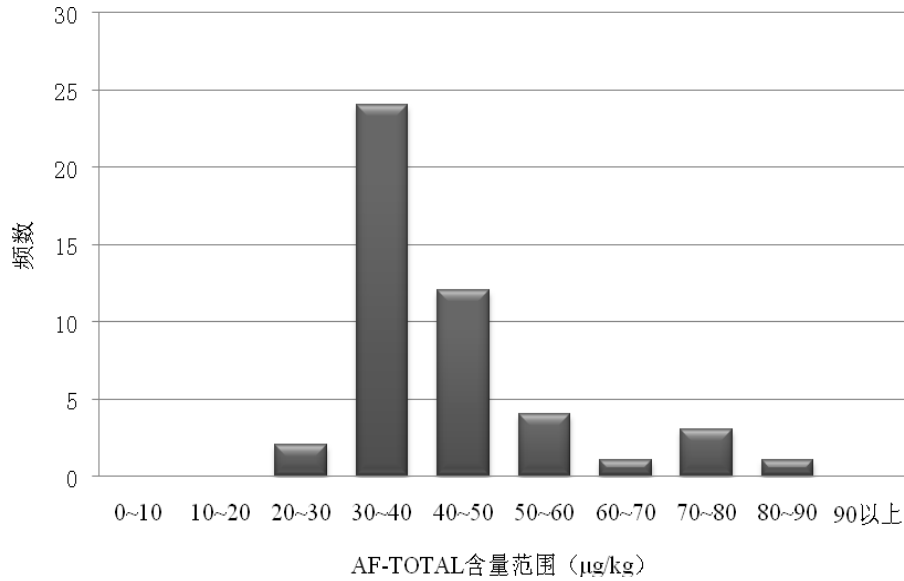


图 3 AF-TOTAL 频数直方图

能力验证统计方法取决于结果总体分布特征，应首先考虑实验室结果分布，进而选择适宜的统计方法。本次能力验证，依据参试单位反馈的  $AFB_1$  和 AF-TOTAL 检测结果绘制频数分布直方图显示，结果数据呈单峰分布，峰形大致为对称的钟形曲线，同时根据表 3 中各倍标准偏差内的参试单位数量百分比，说明结果数据均近似符合正态分布。据能力验证规则，对这几个特性量的检测结果的统计分析采用稳健 (Robust) 技术处理。

表 3 各倍标准偏差内的参试单位数量百分比

项目	范围	参试单位数量	百分比 (%)
AFB <sub>1</sub>	$\leq \sigma$	33	89.2
	$\leq 2\sigma$	35	94.6
	$\leq 3\sigma$	35	94.6
AF-TOTAL	$\leq \sigma$	39	83.0
	$\leq 2\sigma$	43	91.5
	$\leq 3\sigma$	46	97.9

完成了数据准备，就可以用总计统计量来描述结果。至少应包含七种综合的统计量：结果数、中位值、标准四分位数间距 (Norm IQR)、稳健的变异系数 (CV)、最小值、最大值和极差。

其中最重要的统计量是中位值和标准化*IQR*，它们是数据集中和分散的量度，与平均值和标准偏差相似。使用中位值和标准化*IQR*是因为它们是稳健的统计量，即它们不受数据中离群值的影响。

结果数是从一个特定检测中得到的结果总数，符号为*N*。

中位值是一组数据的中间值，即有一半的结果高于它，一半的结果低于它。

标准化*IQR*是一个结果变异性的量度。它等于四分位间距 (*IQR*) 乘以因子 0.7413，其为一个标准偏差相类似。四分位间距是低四分位数值和高四分位数值之差。低四分位数值 ( $Q_1$ ) 是低于结果的四分之一处的最近值，高四分位 ( $Q_3$ ) 是高于结果四分之三处的最近值。 $IQR = Q_3 - Q_1$ ，标准化*IQR* =  $IQR \times 0.7413$ 。

稳健*CV*是变异系数，稳健*CV* = 标准化*IQR* / 中位值  $\times 100\%$ 。

为了统计评价参加实验室的结果，可使用基于稳健总计统计量的*Z*比分数，仅对一个样品*A*的结果而言，简单的稳健*Z*比分数 (用*Z*表示) 为：

$$Z = (A - \text{中位值}) / \text{标准化 } IQR$$

一般将*Z*比分数分为：

$|Z| \leq 2$       满意结果

$2 < |Z| < 3$     可疑结果

$|Z| \geq 3$       不满意或离群的结果

离群值在其*Z*比分数边上以  $\$$  标出。

## 4 数理统计结果

### 4.1 检测结果汇总及统计处理表

检测结果汇总及统计处理表见附表 A。

### 4.2 总统计量

统计结果总数 (*N*)、最小值 (*Minimum*)、最大值 (*Maximum*)、极差 (*Range*)、中位值 (*Median*)、标准四分位距 (*Norm IQR*) 和稳健变异系数 (*Robust CV*) 等参数，结果统计参数见附表 A3。

## 5 技术分析和建议

### 5.1 检测项目分析



由于黄曲霉毒素的卫生限量标准在国际上有很大的差异,造成参加本次能力验证活动的实验室在检测项目的选择上差异较大。我国国家卫生标准仅规定了 AFB<sub>1</sub> 的限量要求,因此,部分承担国内检测任务的实验室,仅开展 AFB<sub>1</sub> 项目的检测。

国际上针对黄曲霉毒素的限量规定较为复杂,食品法典委员会 (CAC) 推荐的 AF-TOTAL 限量标准为 15 μg/kg; 而欧盟则同时规定了 AFB<sub>1</sub> 和 AF-TOTAL 的限量标准,其中针对人类直接食用的花生中 AFB<sub>1</sub> 的限量为 2μg/kg, AF-TOTAL 的限量为 4μg/kg。这些限量规定,对我国出口农产品提出了检测要求。因此,同时报名参加 AFB<sub>1</sub> 和 AF-TOTAL 检测项目的实验室,多为检验检疫实验室和输欧花生及花生制品企业实验室。

## 5.2 检测方法类别

本次能力验证计划没有规定实验方法。目前适用于花生及其制品中黄曲霉毒素的检测标准有《GB/T 5009.22-2003 食品中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的测定》《GB/T 5009.23-2006 食品中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub> 的测定》《GB/T 18979-2003 食品中黄曲霉毒素的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法和荧光光度法》《SN/T 1101-2002 进出口油籽及粮谷中黄曲霉毒素的检验方法》《GB/T 17480-2008 饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的测定 酶联免疫吸附法》等。

无论实验室采用方法来源如何,按主要检测设备分,本次能力验证计划涉及液相色谱法 (HPLC)、酶联免疫法 (ELISA)、荧光光度计法 (Fluorometric) 和液质联用 (LC-MS/MS) 法四种方法。

### 5.2.1 高效液相色谱法

在黄曲霉毒素检测中,液相色谱法应用最为广泛,该方法具有检测灵敏度高、分析速度快、选择性好等优点,与固相萃取柱、免疫亲和柱等前处理方式结合使用,具有很好的净化效果。结合电化学、光化学或柱前化学衍生等衍生方式,能同时检测 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub>、AFG<sub>2</sub> 和 AF-TOTAL。

### 5.2.2 酶联免疫法

酶联免疫法是应用免疫原理进行黄曲霉毒素分析的方法之一,商品化的黄曲霉毒素检测试剂盒大多是建立在“竞争性酶联反应”的基础上,其基本原理是:试剂板上包被了有限毒素的抗体,根据抗原、抗体反应的原理,样品中的毒素与酶标毒素展开竞争,样品中的毒素越多,与抗体结合的酶越少,酶的显

色反应越淡。目前，商品化的试剂盒一般能检测 AFB<sub>1</sub> 或 AF-TOTAL。由于酶联免疫法具有检测成本低，设备场地要求低、易操作等优点，该方法应用范围很广。该方法的缺点是如何降低酶标毒素与抗体结合力的因素，都会被误认为毒素的存在，从而产生假阳性。

### 5.2.3 荧光光度计

荧光光度计是利用黄曲霉毒素被紫外光照射后能发出特征性荧光这一原理而研制的一种专用分析仪器。采用免疫亲和柱或固相萃取柱净化结合荧光光度计检测黄曲霉毒素，具有净化效果好、分析速度快、灵敏度较高等优点。同酶联免疫法相似，荧光光度计法一般能检测 AFB<sub>1</sub> 或 AF-TOTAL。

### 5.2.4 液质联用法

液质联用法在定性和灵敏度方面比高效液相色谱法更具优势，但由于设备昂贵，应用范围较小。国内目前还没有已发布黄曲霉毒素检测标准方法。在黄曲霉毒素检测领域中，该方法多用于科研用途，或对筛选后疑为阳性的样品进行确证，较少应用于日常检测。

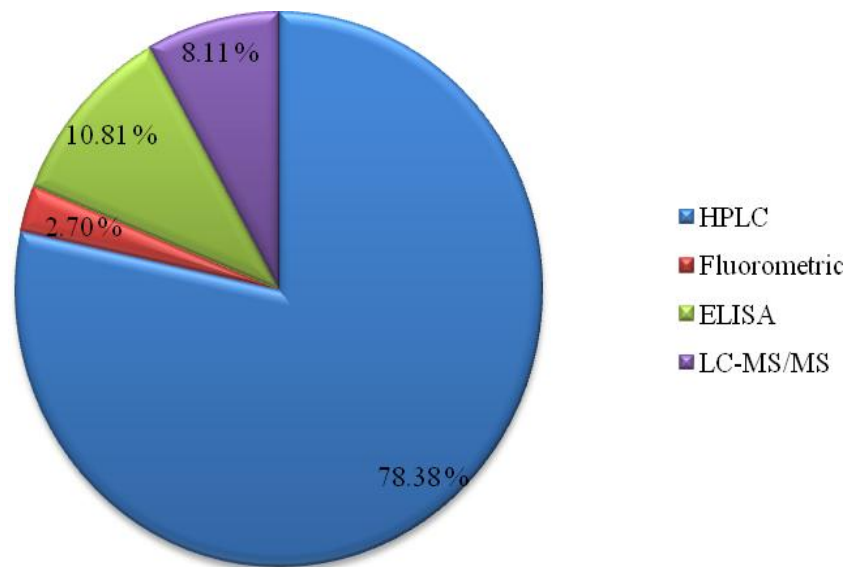


图 4 AFB<sub>1</sub> 不同检测方法占比图

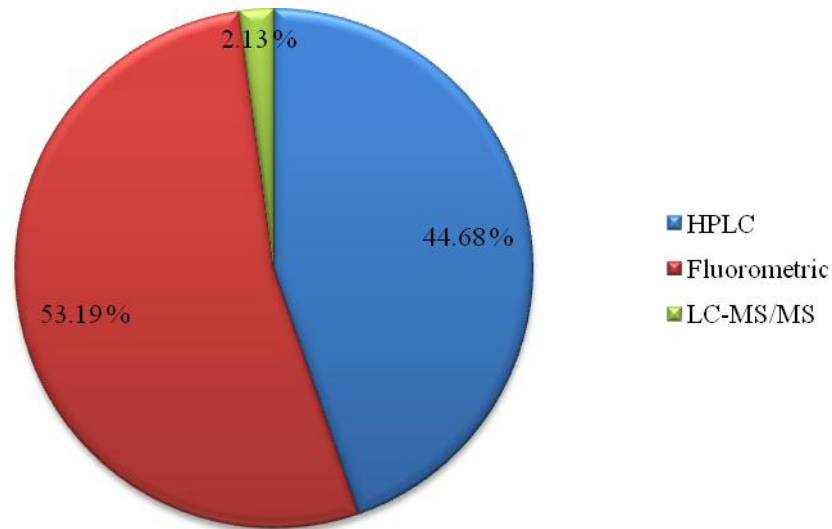


图 5 AF-TOTAL 不同检测方法占比图

从本次能力验证参加实验室反馈结果来看, 采用 HPLC 方法检测 AFB<sub>1</sub> 的单位有 29 家, 检测 AF-TOTAL 的单位有 21 家; 采用 Fluorometric 方法检测 AFB<sub>1</sub> 的单位有 1 家, 检测 AF-TOTAL 的单位有 25 家; 采用 ELISA 方法检测 AFB<sub>1</sub> 的单位有 4 家, 检测 AF-TOTAL 的单位有 0 家; 采用 LC-MS/MS 方法检测 AFB<sub>1</sub> 的单位有 3 家, 检测 AF-TOTAL 的单位有 1 家。具体百分比如图 4、5 所示。

### 5.3 “可疑”与“不满意”结果原因分析与建议

为保证本次能力验证活动达到预期的效果, 对于有特性量结果被评价为“可疑”与“不满意”的实验室, 能力验证项目组对其实验原始记录进行了研究分析。表 3 和表 4 列出了各种检测方法的满意率。表 5 列出了测试结果的评价情况。

表 3 AFB<sub>1</sub> 各检测方法满意率对比

检测方法	总采用数	“满意”	“可疑”	“不满意”	满意率 (%)
HPLC	29	26	1	2	89.66
Fluorometric	1	0	1	0	0
ELISA	4	4	0	0	100
LC-MS/MS	3	3	0	0	100

表 4 AF-TOTAL 各检测方法满意率对比

检测方法	总采用数	“满意”	“可疑”	“不满意”	满意率 (%)
HPLC	21	19	2	0	90.48
Fluorometric	25	17	2	6	68.00
LC-MS/MS	1	1	0	0	100

表 5 实验室测试结果的评价情况总结

项目	参加单位数量	结果			满意率 (%)
		“满意”	“可疑”	“不满意”	
AFB <sub>1</sub>	37	33	2	2	89.2
AF-TOTAL	47	37	4	6	78.7

从本次结果可以看出，目前检测黄曲霉毒素的各种检测方法中，高效液相色谱法和荧光法应用的较为广泛。两者比较而言，高效液相色谱法的满意率较高，达到了 89.66 % 以上，而荧光法的实验室满意率较低，AF-TOTAL 检测结果的满意率仅为 68.00 %。其中有相当多的实验室使用荧光光度计检测，这种设备是一种黄曲霉毒素检测的专用设备，其定量测定采用统一的校准溶液进行设备的校正，定量测定的有效线性在 0~21  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间。对于高于 21  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的定量结果，其线性缺乏保障。本次能力验证计划的样品中 AFT-TOTAL 的真实含量超过了 21  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。部分使用该方法的实验室，因对此情况掌握不明确，造成了结果的偏差。建议有关实验室在以后的检测工作中对于高于 21  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的测试样品，应对样品进行稀释后重新定量。

## 6 依据的标准规范

- (1) GB/T 15483-1999 《利用实验室间比对的能力验证》
- (2) CNAS/GL02:2006 《能力验证结果的统计处理和评价指南》
- (3) CNAS/GL03:2006 《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》
- (4) GB/T 1011-1988 《利用随机数骰子进行随机抽样的方法》

## 7 参考文献

- [1] FAO Food and nutrition Paper(2003). World-wide regulations for mycotoxins 2003 (FAO, Rome).
- [2] CNAS GL03:2006 《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》

“Guidance on Evaluating the Homogeneity and Stability of Samples Used for Proficiency testing.CNAS-GL03.”

[3] 免疫亲和柱净化高效液相色谱法检测食品中的黄曲霉毒素.方法验证和不确定度评估.山东检验检疫技术中心.作业指导书, 文件编码: NC 06.

[4] Stability of Aflatoxins B1 and Ochrotoxin A in Brewing. Applied Microbiology, Mar, 1975, p 313-316.

[5] 医学统计学.人民卫生出版社, 2005年.

[6] CNAS GL02:2006 《能力验证结果的统计处理和评价指南》

“Guidance on Statistic Treatment of Proficiency Testing Results and Performance Evaluation. .”

[7] M.Thompson, S.L.R.Ellison and R.Wood (2006).The International Harmonized protocol for the Proficiency testing of analytical chemistry laboratories, Pure Appl.Chem., Vol.78, No.1, pp.145-196, 2006.

[8] ISO 13528 :2005(E) Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.

[9] Stability of Aflatoxins B1 and Ochrotoxin A in Brewing. Applied Microbiology, Mar, 1975, p 313-316

## 附录 A 能力验证结果统计图表汇总

## 表 A1 检测结果汇总及其评价

表 A1.1 各参加实验室检测结果及 Z 比分数

实验室代码	AFB <sub>1</sub>			AF-TOTAL			检测方法
	中位值: 33.97 µg/kg			中位值: 39.06 µg/kg			
	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	
1	/	/	/	39	/	-0.01	Fluorometric
2	/	/	/	30	/	-1.53	Fluorometric
3	/	/	/	34	/	-0.85	Fluorometric
4	18.45	74.3	-2.43#	25.26	75.7	-2.33#	HPLC
5	/	/	/	33	/	-1.02	Fluorometric
6	/	/	/	35	/	-0.69	Fluorometric
7	41.92	89.5	1.25	50.83	/	1.99	HPLC
8	33.97	90.38	0	/	/	/	ELISA
9	38.68	82.26	0.74	/	/	/	HPLC
10	34.35	75.7	0.06	45.2	74.1	1.04	HPLC

表 A1.2 各参加实验室检测结果及 Z 比分数

实验室代码	AFB <sub>1</sub>			AF-TOTAL			检测方法
	中位值: 33.97 µg/kg			中位值: 39.06 µg/kg			
	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	
11	29.5	99.59	-0.7	39.09	90.66	0.01	HPLC
12	39.78	100.1	0.91	48.86	/	1.66	HPLC
13	29.86	100	-0.64	/	/	/	HPLC
14	44.18	92.84	1.6	/	/	/	UPLC
15	退出	退出	退出	退出	退出	退出	退出
16	28.45	95.49	-0.87	34.14	95.01	-0.83	HPLC
17	46.39	88.8	1.95	54.02	/	2.53#	HPLC
18	36.01	89.02	0.32	/	/	/	HPLC
19	/	/	/	41	/	0.33	Fluorometric
20	/	/	/	70	/	5.23 §	Fluorometric
21	/	/	/	79	/	6.75 §	Fluorometric
22	/	/	/	86	/	7.93 §	Fluorometric

表 A1.3 各参加实验室检测结果及 Z 比分数

实验室代码	AFB <sub>1</sub>			AF-TOTAL			检测方法
	中位值: 33.97 µg/kg			中位值: 39.06 µg/kg			
	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	
23	27.19	56.82	-1.06	/	/	/	LC-MS/MS
24	26.49	100.27	-1.17	33.03	98.7	-1.02	HPLC
25	/	/	/	37	/	-0.35	Fluorometric
26	/	/	/	38	/	-0.18	Fluorometric
27	28.89	68.9	-0.8	36.11	73.35	-0.5	HPLC
28	/	/	/	39	/	-0.01	Fluorometric
29	/	/	/	38	/	-0.18	Fluorometric
30	/	/	/	40	/	0.16	Fluorometric
31	退出	退出	退出	退出	退出	退出	退出
32	/	/	/	38	/	-0.18	Fluorometric
33	/	/	/	71	/	5.40 §	Fluorometric
34	39.03	78	0.79	/	/	/	LC-MS/MS



表 A1.4 各参加实验室检测结果及 Z 比分数

实验室代码	AFB <sub>1</sub>			AF-TOTAL			检测方法
	中位值: 33.97 µg/kg			中位值: 39.06 µg/kg			
	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	
35	49.55	95.15	2.44#	62.49	/	3.96 §	Fluorometric
36	35.68	92	0.27	/	/	/	ELISA
37	/	/	/	36	/	-0.52	Fluorometric
38	30.21	94	-0.59	/	/	/	HPLC
39	79.65	73.16	7.16 §	/	/	/	HPLC
40	36.1	96	0.33	46.02	/	1.18	HPLC
41	/	/	/	20.98	/	-3.05 §	Fluorometric
42	/	/	/	31	/	-1.36	Fluorometric
43	42.88	89	1.4	/	/	/	ELISA
44	32.25	/	-0.27	39.06	/	0	HPLC
45	34.23	89.93	0.04	/	/	/	ELISA
46	82.36	74	7.58 §	/	/	/	HPLC

表 A1.5 各参加实验室检测结果及 Z 比分数

实验室代码	AFB <sub>1</sub>			AF-TOTAL			检测方法
	中位值: 33.97 µg/kg			中位值: 39.06 µg/kg			
	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	
47	35.56	/	0.25	42.37	/	0.56	HPLC
48	31.14	88.53	-0.44	39.06	/	0	HPLC
50	30.51	100.9	-0.54	39.38	/	0.05	LC-MS/MS
51	32.46	90.1	-0.24	40.64	/	0.27	HPLC
52	33.71	83	-0.04	41.34	84.1	0.39	HPLC
53	29.89	100.24	-0.64	36.46	99.82	-0.44	HPLC
54	32.87	91.1	-0.17	41.62	92.78	0.43	HPLC
57	35.58	93	0.25	42.76	93	0.63	HPLC
58	33.38	98.22	-0.09	41.65	/	0.44	HPLC
60	31.82	93	-0.34	40.24	91	0.2	HPLC
68	38.82	98.3	0.76	/	/	/	HPLC
69	/	/	/	36	/	-0.52	Fluorometric

表 A1.6 各参加实验室检测结果及 Z 比分数

实验室代码	AFB <sub>1</sub>			AF-TOTAL			检测方法
	中位值: 33.97 µg/kg			中位值: 39.06 µg/kg			
	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	结果 µg/kg	回收率 %	Z 比分数	
70	/	/	/	32	/	-1.19	Fluorometric
71	/	/	/	56	/	2.86#	Fluorometric
72	/	/	/	51	/	2.02#	Fluorometric
73	27.94	85	-0.95	34.28	85	-0.81	HPLC
74	/	/	/	37	/	-0.35	Fluorometric

注：1、表中 $|Z| \leq 2$ 为满意结果； $2 < |Z| < 3$ 为可疑结果； $|Z| \geq 3$ 为不满意（离群）结果。

在表中，离群值在其 Z 比分数边上以 \$ 标出，可疑值在其 Z 比分数边上以 # 标出。

2、表中检测方法一栏，HPLC 代表高效液相色谱法，Fluorometric 代表荧光光度计法，ELISA 代表酶联免疫吸附法，LC-MS/MS 代表串级质谱联用法。

表 A2 参加实验室 Z 值分布汇总表

表 A2 参试实验室 Z 值分布表

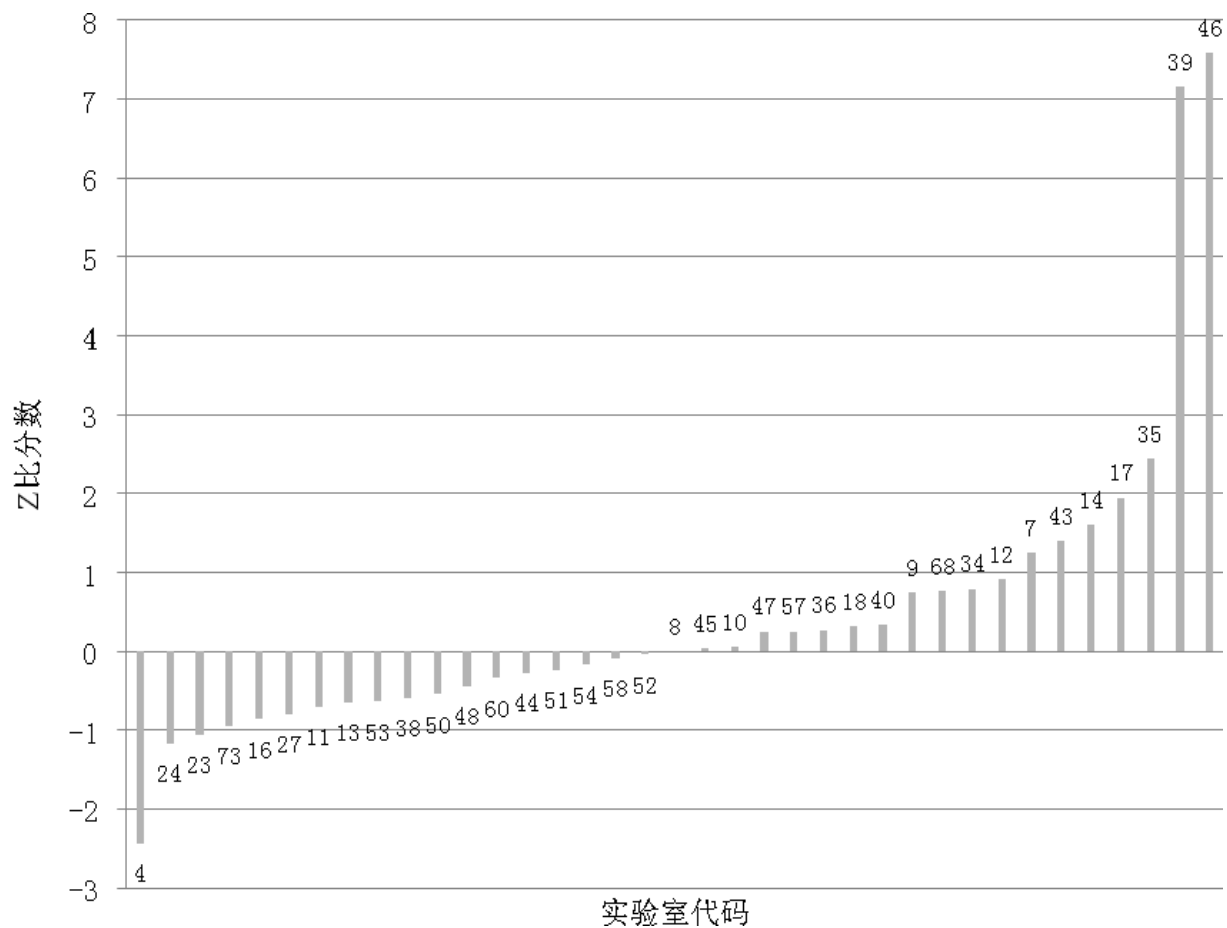
Z 比分数绝对值范围		实验室代码	参试单位总数	百分比 (%)
AFB <sub>1</sub>	$ Z  \leq 2$	07, 08, 09, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 23, 24, 27, 34, 36, 38, 40, 43, 44, 45, 47, 48, 50, 51, 52, 53, 54, 57, 58, 60, 68, 73	33	89.2
	$2 <  Z  < 3$	04, 35	2	5.4
	$ Z  \geq 3$	39, 46	2	5.4
AF-TOTAL	$ Z  \leq 2$	01, 02, 03, 05, 06, 07, 10, 11, 12, 16, 19, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 37, 40, 42, 44, 47, 48, 50, 51, 52, 53, 54, 57, 58, 60, 69, 70, 73, 74	37	78.7
	$2 <  Z  < 3$	04, 17, 71, 72	4	8.5
	$ Z  \geq 3$	20, 21, 22, 33, 35, 41	6	12.8

表 A3 能力验证计划统计参数

表 A3 各特性量测试结果统计量

统计量	AFB <sub>1</sub>	AF-TOTAL
结果数量	37	47
中位值 (µg/kg)	33.97	39.06
低四分位 (µg/kg)	30.21	36
高四分位 (µg/kg)	38.82	43.98
最小值 (µg/kg)	18.45	20.98
最高值 (µg/kg)	82.36	86
极差(µg/kg)	63.91	65.02
四分位间距 (µg/kg)	8.61	7.98
标准四分位间 (µg/kg)	6.38	5.92
稳健变异系数(%)	18.8	15.2

表 A4 各实验室检测结果 Z 比分数直方图

图 5 AFB<sub>1</sub>Z 比分数柱状图

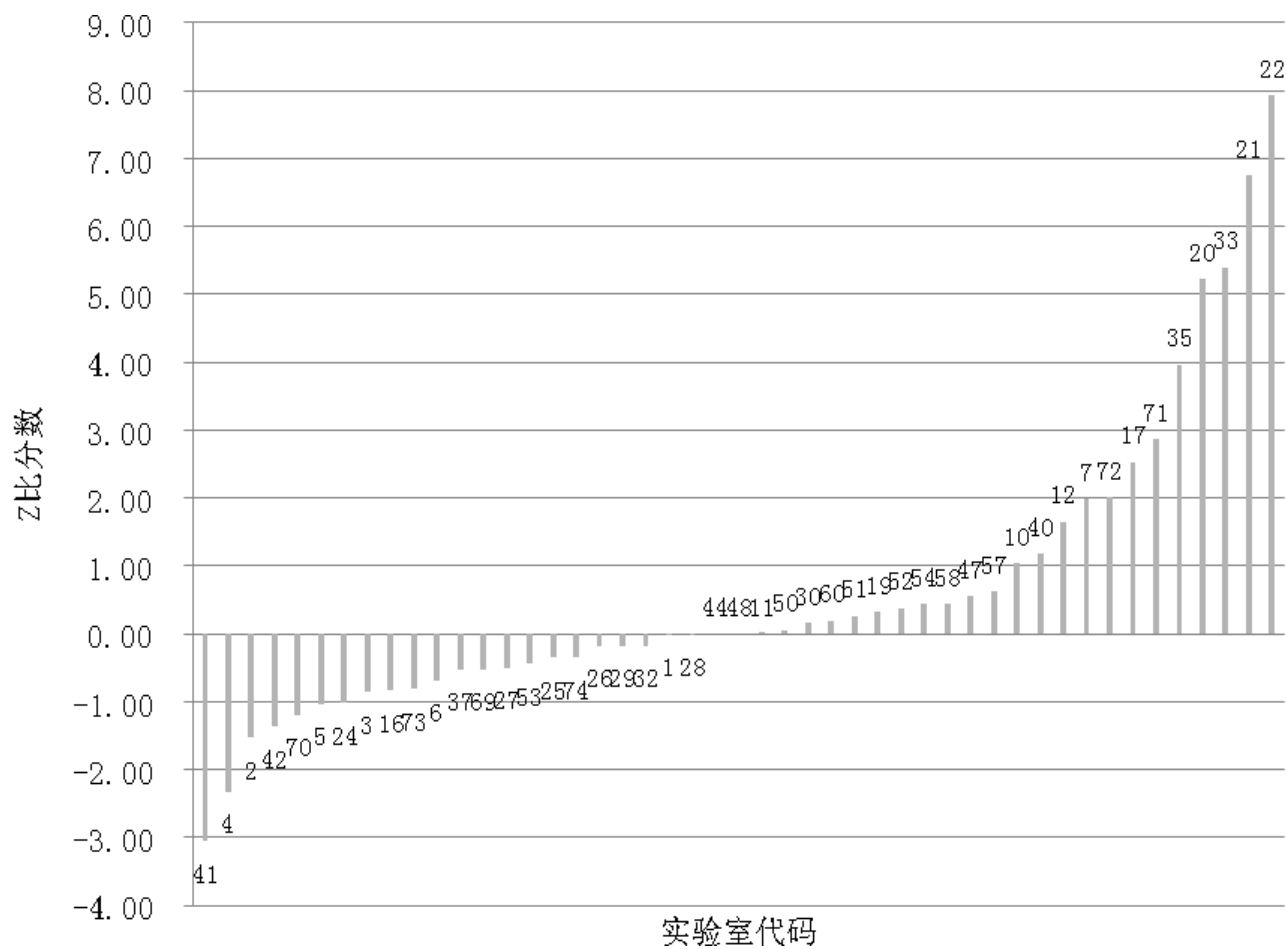


图 6 AF-TOTAL Z 比分数柱状图

表 A5 样品均匀性检验数据及结论

表 A5.1 AFB<sub>1</sub> 均匀性检验结果 (数据经回收率校正)

结果 1 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	结果 2 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	平均值 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	总平均值 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	求和 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	$s^2$	$SS_1$	$SS_2$	$f_1$	$f_2$	$MS_1$	$MS_2$	$F$
32.8	33.4	33.1		66.2	0.19							
38.8	43.2	41.0		82.0	9.43							
33.1	31.9	32.5		65.0	0.77							
35.6	32.9	34.2		68.5	3.73							
30.8	33.1	31.9		63.9	2.78							
32.9	31.0	31.9	33.8	63.9	1.73	162.22	72.24	9	10	18	7.22	2.50
29.0	34.7	31.8		63.7	16.29							
29.5	31.4	30.4		60.9	1.73							
33.6	36.1	34.8		69.7	3.08							
31.8	39.8	35.8		71.6	32.52							



表 A5.2 AF-TOTAL 均匀性检验结果 (数据经回收率校正)

结果 1 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	结果 2 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	平均值 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	总平均值 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	求和 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	$s^2$	$SS_1$	$SS_2$	$f_1$	$f_2$	$MS_1$	$MS_2$	$F$
40.8	41.1	40.9		81.9	0.07							
48.3	37.9	43.1		86.2	53.51							
40.9	39.7	40.3		80.6	0.76							
43.7	40.9	42.3		84.6	4.01							
38.2	41.1	39.6		79.3	4.37							
40.3	38.7	39.5	41.1	79.0	1.28	84.54	146.37	9	10	9.39	14.60	0.64
36.0	43.0	39.5		79.0	24.64							
36.6	38.8	37.7		75.4	2.46							
41.7	45.1	43.4		86.8	5.53							
39.5	49.5	44.5		89.0	49.75							

结论：对 AFB<sub>1</sub> 和 AF-TOTAL 特性量的均匀性实验室结果进行方差分析，计算  $F$  值。结果均小于  $F_{0.05(9,10)}=3.02$ 。证明所采用的检测方法重复性良好，且两个特性量在样品中的都是均匀存在的。

表 A6 样品稳定性检验数据及结论

表 A6 样品稳定性测试数据检验结论 (数据经回收率校正):

日期	样品序号	AFB <sub>1</sub> (µg/kg)		AF-TOTAL (µg/kg)	
		1	2	1	2
2012.11.21	1	32.8	33.4	40.8	41.1
	2	38.8	43.2	48.3	37.9
	3	33.1	31.9	40.9	39.7
	4	35.6	32.9	43.7	40.9
	5	30.8	33.1	38.2	41.1
	6	32.9	31.0	40.3	38.7
	7	29.0	34.7	36.0	43.0
	8	29.5	31.4	36.6	38.8
	9	33.6	36.1	41.7	45.1
	10	31.8	39.8	39.5	49.5
均匀性实验	总平均值 (µg/kg)	33.8		41.1	
	测量次数 (n)	20		20	
	标准偏差 (s)	3.51		3.49	
2013.1.4	1	36.6	33.1	46.3	41.9
	2	30.9	34.5	38.8	43.5
	3	32.0	32.3	40.4	40.8
	4	38.6	31.9	48.6	40.4
	5	35.6	32.5	44.8	41.0
	6	30.0	31.1	37.7	39.3
稳定性实验	总平均值 (µg/kg)	33.3		42.0	
	测量次数 (n)	12		12	
	标准偏差 (s)	2.57		3.24	
	T 值	0.43		0.72	

结论: 稳定性实验数据与 11 月 21 日均匀性实验数据进行比较, 对 AFB<sub>1</sub> 和 AF-TOTAL 两个特性量的两次实验室结果进行 T 检验, 取显著性水平  $\alpha = 0.05$ , 两次稳定性实验自由度均为 30, 则  $T_{\text{cri}} = T_{0.05(30)} = 2.042$ , 分别计算 T 值。结果均小于 2.042, 证明两个特性量在样品中的都是稳定存在的。

## 附录 B 能力验证相关操作文件

### B1 作业指导书

#### FATA PT-003 2012 花生中黄曲霉毒素含量的检测

#### 能力验证计划

#### 参试作业指导书

欢迎参加 2012 年山东出入境检验检疫局食品农产品检测中心组织的花生中黄曲霉毒素含量的检测能力验证计划。

贵实验室的代码为\_\_\_\_\_。在以后的结果报告等所有文件中均使用该代码。

根据您的申请，已给您发放样品一份，其编号为：

FATA PT-003 2012-\_\_\_\_\_。

为保证本次能力验证计划的顺利实施，请在测试前仔细阅读以下说明。

#### 1、样品的接收

您收到的样品应该包括以下物品：

- 测试样品 1 份（约 55 克）
- 参试作业指导书 1 份
- 结果报告单 1 份
- 样品确认函 1 份
- 费用及发票

收到样品后，请确认样品包装的完好性，并通过传真或其他方式将样品确认函反馈至能力验证协调人处。

10 天内及时收到样品的实验室，请与联系人进行沟通，以便根据实际情况进行处理。

收到样品后若不能立即进行检测，请勿打开包装。并尽量保存于低温条件下。

#### 2、样品的测试

本次计划的测试项目为：黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 和总量，请根据实验室需要，选择检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 或黄曲霉毒素总量。

请将样品视为贵实验室的常规检测样品，采用能够准确定量的检测方法进行检测。

本次能力验证计划的样品，采用同源天然污染花生样品，样品已经过均匀性和稳定性实验检查，实验方法采用 GB/T 18979-2003。

### 3、结果的填报

检测结果数据和实验相关信息填写在《结果报告单》中，并以传真或邮寄给联系人，截止日期 2012 年 12 月 31 日。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。请将实验原始记录原件或复印件在 2012 年 12 月 31 日前邮寄至能力验证协调人（邮寄以当地邮戳为准）。

请填写回收率校正后的结果，检测结果数据要求精确到小数点后两位。检测结果报表不得空项，实验室不涉及的项目请填写为“/”。请根据贵实验室实际情况有选择的填写实验信息采集报表。

### 4、保密

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。

### 5、联系方式

实施机构：山东出入境检验检疫局食品农产品检测中心

协调人：吴振兴、静平、赵华梅

联系电话：0532-80885626/5779/5727

传 真：0532-80885626

地 址：青岛市市南区瞿塘峡路 70 号

邮 编：266002

E-mail: zhxwoo@yahoo.com.cn; jingdaping@gmail.com; lilaczhm@163.com

若有任何疑问，请及时与协调人进行联系。

山东出入境检验检疫局食品农产品检测中心

## B2 样品确认表

## 能力验证样品接受状态确认表

能力验证计划名称	FATA PT-003 2012 花生中黄曲霉毒素的检测		
组 织 机 构	山东出入境检验检疫局食品农产品检测中心		
电 话 / 传 真	0532-80885626/5779/5727 0532-80885626	联 系 人	吴振兴、静平、赵华梅
发 送 日 期	2012-12-4	发 送 状 态	完好 <input type="checkbox"/> 不完好 <input type="checkbox"/>
以下由能力验证计划参试实验室填写			
接收实验室名称:			
联系地址:			
邮编:			
联系电话/传真:			
联系人:            接收人签名:            接收时间:			
接收时, 被测物品状态是否完好:    是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>			
如需要, 对接收状态的详细说明:			
备注:			
1、 请各实验室将填好的表格及时传真至山东出入境检验检疫局食品农产品检测中心;			
2、 为保证本次能力验证数据的科学性和公证性, 请勿泄露本实验室的检测数据;			
3、 如有任何疑问, 请及时与山东出入境检验检疫局食品农产品检测中心联系;			

## B3 结果报告单

FATA PT-003 2012 花生中黄曲霉毒素含量的检测能力验证计划  
结果报告单

实验室编号: \_\_\_\_\_

样品编号: \_\_\_\_\_

测试结果报表:

项目	回收率 (%)	检测结果 (µg/kg)
AFB1		
AF-TOTAL		

注: 请填写回收率校正后的结果, 检测结果数据要求精确到小数点后两位, 检测结果报表不得空项, 实验室不涉及的项目请填写为“/”。

实验信息采集表:

- 检测方法来源  
是否认可方法:  是  否  
方法名称/标准号:
- 样品净化方式  
 免疫亲和柱  固相萃取柱  其它  
耗材品牌:
- 检测仪器:  
 ELISA  HPLC  Fluorometric  
 TLC/HPTLC  LC-MS/MS  其它  
液相色谱柱 (品牌、型号等):
- 衍生  
柱前柱后:  柱前衍生  柱后衍生  不衍生  
衍生方式:  TFA  Kobra cell  UV-light  其他

实验室负责人签字: (盖章) \_\_\_\_\_

检测人:

日期: