

农产品中转基因检测抽样研究-第1部分: 转基因农产品抽样标准国际现状及理论研究

曹际娟*, 张琳, 赵禹, 徐静, 邵筠乔, 郑江

(辽宁出入境检验检疫局, 大连 116001)

摘要: 针对目前没有国际范围内可接受的转基因产品(genetically modified organism, GMO)抽样标准的现状, 分析世界各国家和国际组织的GMO相关抽样标准, 并对国际标准关于GMO抽样的适用性进行分析; 同时对适用于农产品中GMO抽样的理论进行了总结, 依次对GMO检测中涉及的4个过程, 包括分析试料、从分析样品中采取试料的过程、从实验室样品到分析样品以及从批到实验室样品的过程, 对各步骤所产生的方差进行分析, 并对总方差进行合成计算, 以期指导本系列文章的其余部分抽样研究实践, 并期望能推动相应国际标准的制定。

关键词: 转基因产品; 抽样; 标准

Sampling for genetically modified organism content analysis in agricultural products-part 1: the international status of sampling standards for genetically modified organisms and the theory of sampling

CAO Ji-Juan*, ZHANG Lin, ZHAO Yu, XU Jing, SHAO Yun-Qiao, ZHENG Jiang

(Liaoning Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Dalian 116001, China)

ABSTRACT: Due to the lack of world-wide accepted sampling standard for genetically modified organism (GMO), relative standards promulgated in the major developed countries and international organizations were investigated, especially focusing on the applicability of international standard. The theory of GMO sampling was summarized to guide the present sampling study, which included 4 parts: process of analysis on the test portions, process of sampling from analytical sample, process from laboratory sample to analytical sample, and process from lot to laboratory sample. Variance generated in the 4 process was analyzed and combined, in order to provide theory direction for the other parts of this series paper, and promote the formulation of widely accepted international sampling standard for GMO.

KEY WORDS: genetically modified organism; sampling; standard

基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项项目、转基因生物抽制样和精准检测技术项目(2014ZX08012-001)

Fund: Supported by the Genetically Modified Organisms Breeding Major Projects and Genetically Modified Organisms Sample Preparation and Accurate Detection Technology Projects(2014ZX08012-001)

*通讯作者: 曹际娟, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全。E-mail: cjj0909@163.com

*Corresponding author: CAO Ji-Juan, Ph.D., Professor, Liaoning Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Dalian 116001, China. E-mail: cjj0909@163.com

1 引言

由于转基因技术的快速发展,在过去 30 多年里,转基因植物的种植面积和产量持续提升^[1]。转基因植物或食物(genetically modified organisms, GMOs)对人类健康的影响尚无长期临床实验结果。一些国家认为转基因产品无害,不必实施控制措施,只要是经过批准的品系就可以种植和生产加工;而更多的国家采取谨慎态度,对转基因产品的种植、入境和销售采取了严格程度不同的技术措施,这导致与转基因产品相关的国际贸易中经常发生纠纷,进而对转基因检测提出了越来越高的要求,作为准确检测先决条件—抽样,得到越来越多的关注。

本文概述了世界主要国家和国际组织的转基因粮食和油料抽样标准现状,并与 ISO 24333:2009 Cereals and cereal products -Sampling 比较,针对转基因谷物和油料抽样适用性进行分析,同时对本系列后续文章的实验提供了理论概述,期望能推动制定一项在国际范围内可接受的转基因谷物和油料抽样标准。

2 世界主要国家和国际组织的转基因谷物和油料抽样标准现状

2.1 欧盟

欧盟早在 1990 年就出台了限制转基因投放环境的法规^[2]。随着欧盟转基因法规的逐步发展,20 世纪末,转基因产品阈值被限定为 1%^[3-5],欧盟的专家就此开始了对应的抽样策略研究。2001 年, Kay 等^[6]利用当年仍有效的国际标准 ISO 542:1990 Oilseeds-Sampling^[7]和 ISO 13690:1999 Cereals, pulses and milled products-Sampling of static batches^[8]中的抽样相关术语,在检测方法的 LOD 为 20 copies, LOQ 为 100 copies^[9]的前提下,推荐采用上述 2 个 ISO 标准抽样,即 2 阶段抽样(不可能每个颗粒地随机抽样),从该研究结果看出,当年的转基因产品抽样技术尚不成熟,很多要依靠等同于检测其他项目的 ISO 抽样标准来完成。

2003 年,欧盟在增加了 Paoletti 等^[10]的模拟抽样工作内容并提交了 ISO/DIS 21568:2003 Foodstuffs-Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products-Sampling^[11],按照 ISO 542, ISO 664:2008, Oilseeds-Reduction of laboratory sample to test sample^[12], ISO 13690 和系列统计抽样基础标准 ISO 2859 (all six parts) Sampling procedures for inspection by attributes^[13],在 AQL 1%的前提下(10%, 4%, 2%, 1%)制定了抽样策略。然而,这些抽样策略并未得到国际上的广泛接受^[14]。

2004 年,为了执行 Reg. 1830/2003^[15],欧盟专家出台了抽样的技术指南(Rec. 787/2004^[16]),采用 ISTA (international seed testing association)谷物抽样手册^[17]以及 ISO 6644:2002 Flowing cereals and milled cereal products-Automatic sampling by mechanical means^[18]。2005 年, EC

发布了限制没有批准的(non-authorised)转基因 Bt10 玉米产品的紧急措施(Decision No. 2005/317/EC^[19]),随后又发布了几个 EC 决议(Decision No. 2006/578/EC^[20], 2006/601/EC^[21], 2006/754/EC^[22], 2007/304/EC^[23], 2008/289/EC^[24]),用以限制非批准的转基因产品。2009 年,欧盟发布 Reg. 152/2009^[25],给出了用于官方控制饲料质量的抽样方法,取代了一系列原有指令,适用于成分、添加剂和有害物质分析,但不适用于药物残留和微生物分析。2011 年,为促进这些决议的执行,欧盟发布了针对已批准或批准过期的 GMO 的新的抽样计划 Reg.619/2011^[26],给出了集合样品不少于 35000 粒和最终样品不少于 10000 粒的抽样要求,其抽样原理应与计数抽样的应用有关。

2001 年, Lischer^[27,28]总结了 Gy 的抽样理论(theory of sampling)^[29],提出了 GMO 抽样中应考虑的主要因素,计算了大豆、玉米等的抽样基本参数,但遗憾的是并没有给出任何有关 GMO 的抽样方案。2012 年, Esbensen 等^[30-32]首次将 Gy 等发展的抽样理论应用于大批量谷物抽样,取得了卓有成效的成果,指出了现有各类标准的不足和 ISO 某些委员会在内的认识误区。

2.2 美国和加拿大

在加拿大和美国,没有单独的转基因产品抽样标准。

2.3 中国

在中国,转基因产品已经引起了相关领域的重视^[33,34],2004 年发布实施关于转基因产品的抽样标准,既适用于批准产品也适用于非批准 GMO 产品^[35]。此外,农业部公告^[36]和检验检疫行业标准^[37]已广泛用于进出口产品的转基因成分检测抽样。

2.4 国际标准化组织(International Organization for Standardization, ISO)

2009 年, ISO 24333^[38]的新版标准发布,取代了 2 个原有标准 ISO 13690 和 ISO6644。然而,它并不适用于外来的未批准 GMO 的抽样。2013 年末, ISO/TC34/SC4 中负责起草 ISO 24333 的工作组最终给出了 ISO/TR 29263 的 DTR 版本^[39],给出了起草 ISO 24333 所依据的实验及其数据,其中不但没有包含 GMO 的抽样,所研究的范围远未覆盖 ISO 24333 所给出的适用范围。

2.5 国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)

CAC 没有专门针对 GMO 的抽样制定标准,但于 2004 年制定了通用抽样指南^[40]。

3 适用于农产品中 GMO 的抽样理论

3.1 转基因产品抽样和分析的基本过程

大部分的固体产品批的抽样和分析过程如图 1 所示,转基因批的抽样和分析过程与此一致。

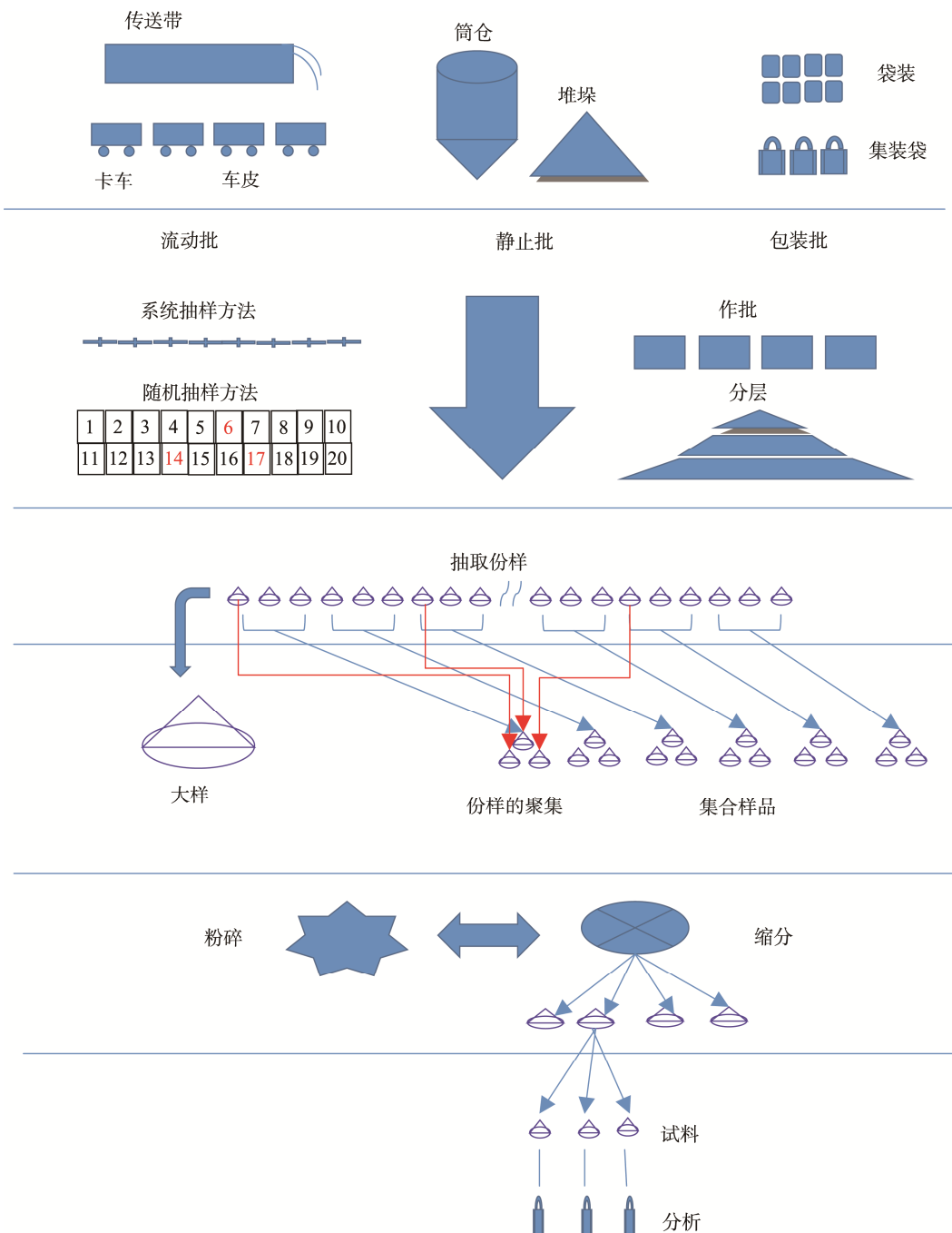


图 1 典型的固体产品抽样和分析过程

Fig. 1 Typical sampling and analysis processes for solid products

3.2 分析试料的过程

这是整个抽样和分析的最后一个过程, 对于转基因产品含量分析, 它通常包含了 2 个子过程: 从试料中提取 DNA 和定量 PCR 分析。

目前 PCR 分析过程中, 通常从 25~100 μL 提取液中抽取 1~2 μL , 在较高含量区域(GMO 含量 10^{-4}), 方差主要受到物料结构方差控制, 在较低含量区域(GMO 含量 $<10^{-5}$),

试液分布的非均匀性逐渐开始占据方差的主要贡献者位置。

由于方法确认中对重复性的评估通常已包含了试液的代表性, 采用标准样品对分析的校准已将偏倚控制在可忽略范围, 因此, 在本研究过程中仅考察该过程产生的相对重复性标准差 $S_r(PCR)$ 。历史数据表明, 当转基因含量 10^{-4} 时, 2 次测试结果的相对差值应在 5% 以内, 从而得到 $s_r(PCR) \approx 5\%/2\sqrt{2} \approx 1.8\%$; 当转基因含量 $\approx 10^{-5}$ 时, 两次测

试结果的相对差值应在 10%左右, 即 $s_r(PCR) < 10\% / 2\sqrt{2} \approx 3.5\%$ 。而当转基因含量 $\approx 10^{-6}$ 时, 两次测试结果的相对差值应在 30%左右, 即 $s_r(PCR) \approx 30\% / 2\sqrt{2} \approx 10.6\%$ 。

该过程为非选择性过程, 其主要误差是可使用提取效率 η_{EX} 表达和包含。可认为提取效率在 $100\% \sim \eta_{EX}$ 之间均匀变化, 可使用下式评估其标准差:

$$s_r(EXT) \approx (1 - \eta_{EX}) / \sqrt{12} \quad (1)$$

历史数据表明, 当含量降低到一定程度时(例如 10^{-5}), 提取效率通常会存在降低的趋势, 其标准差增大。

分析方差由 PCR 分析过程和 DNA 提取过程产生的方差合成, 可表示为:

$$s^2(AE) \equiv s_r^2(EXT) + s_r^2(PCR) / N_{PCR} \quad (2)$$

3.3 从分析样品中采取试料的过程

从分析样品中采取试料是一个选择过程, 其主要误差的大小取决于分析样品的非均匀性、试料量和重复试料个数。

分析样品通常是经过充分混匀的, 按照 Gy 的理论^[29], 分析样品视为零维批, 其结构方差(constitution variance)为

$$CH_L \equiv s^2(h_i) \equiv N_F \sum_i \left[\frac{(a_i - a_L)}{a_L} \cdot \frac{M_i}{M_L} \right]^2 \quad (3)$$

分布方差(distribution variance)为

$$DH_L \equiv s^2(h_n) \equiv N_G \sum_n \left[\frac{(a_n - a_L)}{a_L} \cdot \frac{M_n}{M_L} \right]^2 \quad (4)$$

定义非均匀性不变量

$$HI_L \equiv CH_L M_m^* \equiv M_L \sum_m \left[\frac{(a_m - a_L)}{a_L} \cdot \frac{M_m}{M_L} \right]^2 \quad (5)$$

$$\text{则 } \ln[DH_L] = \ln[s^2(h_n)] = \ln(HI_G) - \ln M_m^* \quad (6)$$

实践中, 如果对从随机分布的批采取的抽样单元(份样)进行逐一分析, 则可得到份样质量 M_m^* 对应的, DH_L 改变 M_m^* , 则可按式(6)得到单元为单个固体颗粒(标称粒度)时 HI_L 的估计值。

采用被视为是等概率抽样的简单随机抽样、分层抽样和系统抽样等常用抽样方法, 对随机分布的分析样品, 增加份样数没有任何效果。然而, 从本节开始假定的随机分布在实践中无法完全达到, 只有当分析样品的粒度足够小、含量足够低、混匀操作足够充分时才会接近随机分布。由于简单随机抽样所带来的选择方差与份样数无关, 因此, 只有采用系统抽样或分层抽样方法才能对非随机分布的分析样品有一定的作用。从分析样品中采取份样构成试料的操作往往针对较细的颗粒, 增加份样数对降低整体抽样方差的作用可能并不明显, 但在份样数很小时(例如一次性采取试料), 增加份样数的效果将是可观测到的。

实践中, 抽取 N_{IT} 个份样构成试料, 并对试料进行分

析, 所测得的总相对方差为:

$$DH_{AS} \equiv CH_{TP} + DH_r + DH_p / N_{IT} + s^2(AE) \quad (7)$$

因此, 抽取多个份样构成试料的操作仅对 DH_p 发生作用, 只有当 DH_p 占主导地位时, 才会对 DH_{AS} 产生明显的降低作用。

在正确抽样的前提下, 该级抽样的相对方差最小值由下式给出:

$$s^2(TP) \approx \left(\frac{1}{M_{TP}} - \frac{1}{M_{AS}} \right) HI_{AS} \quad (8)$$

实践中, 应采用由实验方法(式 6)得出的 HI_{AS} 计算, 在给定或由可接受的总分析方差导出的可接受抽样相对方差 $s_0^2(TP)$ 时, 最小试料量 $M_{TP,0}$ 由下式计算:

$$M_{TP,0} \approx M_{AS} \frac{HI_{AS}}{M_{AS} s_0^2(TP) + HI_{AS}} \quad (9)$$

当 $M_{TP,0} \ll M_{AS}$ 时, 式(9)简化为

$$M_{TP,0} \approx \frac{HI_{AS}}{s_0^2(TP)} \quad (10)$$

某些情况下, 虽然在理论上可通过无限降低分析样品的粒度、采取更多的份样构成试料等方法将 $M_{TP,0}$ 降低到可接受的程度, 但在实践中会导致过高的成本或无法做到的情况。因此, 在降低 $M_{TP,0}$ 时涉及与实现的可能性和代价之间的平衡。

另一方面, 当 $s_0^2(TP)$ 不明确或无法得到时, 通过改变 M_{TP} 可得到 $S^2(TP)$ 的变化情况, 在实践中可能的范围内选择变化率较小的试料量作为 $M_{TP,0}$ 的次优值。

显然, 多次重复分析试料可降低分析方差, 随着试料分析次数 N_{TP} 的增加, 组成总分析误差(TAE)的分量: 实际抽取方差 $S^2(TP)$, DNA 提取方差 $s_r^2(EXT)$ 和 PCR 分析方差 $s_r^2(PCR)$ 同时降低, 因而总分析误差也会降低, 直至所有分析样品均被采取成为试料, TAE 降至最低。然而, 增加试料分析次数意味着增加分析成本, 有时成本的增加将会是不可接受的, 因此, 在实践中应发现和达到总分析误差降低与成本增加之间的平衡。

从分析样品中抽取试料和分析试料的过程均产生转基因产品含量结果的不确定性, 其分析方差可合成如下:

$$s^2(TAE)_{AS} \equiv \frac{1}{N_{TP}} \left\{ s^2(TP) + \frac{1}{N_{EXT}} \left[s_r^2(EXT) + \frac{1}{N_{PCR}} s_r^2(PCR) \right] \right\} \quad (11)$$

3.4 从实验室样品到分析样品的过程

实验室样品是未经粉碎处理的最后一级样品。特别地, 对于某些粉状货物(例如超微玉米粕、超微玉米酒糟粕等), 可能不需要破碎而成为分析样品。

从实验室样品制备分析样品的过程中, 主要误差与实验室样品的非均匀性、各粒度级中间样品及分析样品的非均匀性、质量缩减比例等有关。

较大颗粒的实验室样品通常使用旋转二分器或旋转分样器等缩分设备进行缩分。较小颗粒的实验室样品通常采用锥堆四分法或层混合法进行缩分。类似于式(8), 缩分过程产生的方差为:

$$s^2(SS)_{SS} \approx \left(\frac{1}{M_{SS}} - \frac{1}{M_{LS}} \right) HI_{LS} \quad (12)$$

破碎过程是一个非选择过程, 其粒度减小而质量没有减小。由于不存在质量变化, 因此破碎过程不产生选择方差。只要破碎过程没有产生样品损失、待测物质的特性改变(除了粒度减小以外), 则该过程不增加任何方差。

缩分过程产生的方差可与分析样品的总分析方差直接合成, 得到实验室样品的估计方差:

$$s^2(TAE)_{LS} \equiv s^2(TAE)_{AS} + s^2(AS) \equiv s^2(TAE)_{AS} + \sum_j s_j^2(SS) \quad (13)$$

其中 j 对应于不同粒度级样品。

3.5 从批到实验室样品的过程

从批中采取份样, 组成集合样品, 由集合样品不经粉碎而缩分至实验室样品, 这一过程包含了选择过程(从批中采取份样、缩分)和非选择过程(份样的转运、集合、收集及集合样品混匀等过程)。非选择过程由其正确性控制, 不产生抽样方差; 缩分过程已在上节详细描述; 因此, 本节重点评估从批中采取份样形成集合样品所带来的方差。

从批中采取份样的方法很多, 如现行标准中对动态和静态两种形式批的抽样方法, 机械和人工两种抽样手段, 从散装物料流(传送带等)和由独立单元(卡车、车皮等)不同的抽样方法, 简单随机抽样、分层抽样和系统抽样方法等。

对一个批抽样和分析的总误差 GE 由抽样(选择)误差 SE 、样品制备误差 PE 和分析误差 AE 构成, 即

$$GE \equiv SE + PE + AE \quad (14)$$

由于各误差组成部分的期望均为 0, 因而总误差的期望也为 0, 而其方差等于各组成部分方差的和(只要这些过程是独立的), 即

$$s^2(GE) \equiv s^2(TAE) + s^2(PE) + s^2(SE) \quad (15)$$

3.5.1 由集合样品缩分为实验室样品

这是一个无粒度缩减的缩分过程, 可采用 3.3 节中类似的方法评估其产生的方差 $s^2(LS)$ 。由于该过程无粒度缩减, 因此其方差 $s^2(LS)$ 与缩分次数无关, 而与集合样品的质量, 特别是实验室样品的质量相关。

$$s^2(LS) \approx \left(\frac{1}{M_{LS}} - \frac{1}{M_{CS}} \right) HI_L \quad (16)$$

至此, 样品制备(从集合样品到分析样品)过程的总方差可表示为:

$$s^2(PE) \equiv s^2(LS) + s^2(AS) \equiv s^2(LS) + \sum_j s_j^2(SS) \quad (17)$$

集合样品制备实验室样品过程是整个样品制备过程

的一个子过程, 因此其产生的方差 $s^2(LS)$ 应合并写为:

$$s^2(PE) \equiv \sum_j s_j^2(SS) \quad (18)$$

j 为从集合样品到分析样品的每个子过程

而按照一定的单一路径对集合样品进行制备、分析的总方差可表示为:

$$s^2(TPE) \equiv s^2(TAE) + s^2(PE) \equiv \sum_j s_j^2(SS) + \frac{1}{N_{TP}} \left\{ s^2(TP) + \frac{1}{N_{EXT}} \left[s_r^2(EXT) + \frac{1}{N_{PCR}} s_r^2(PCR) \right] \right\} \quad (19)$$

3.5.2 抽取份样的方差

抽取份样的数量和每个份样的质量是每个抽样标准中必须给出的参数, 这对抽取份样的误差构成重要影响。

在一维批情况下(传送带或管道输送的物料流、其他可视为一维批的情况), 由于在传送方向的两个垂直方向上被全部采取为份样(正确抽样时), 其分布非均匀性及其方差为 0, 而在传送方向上, 由短程非均匀性 h_1 (非连续非均匀性)、长程非均匀性 h_2 (非周期性连续非均匀性)和周期性非均匀性 h_3 构成, 在实践中还涉及对份样或集合样品的制备和分析结果所带有的波动性, 折合成残余非均匀性 h_4 。

$$h_m \equiv h_1 + h_2 + h_3 + h_4 \quad (20)$$

当把整批 L 看作抽样单元(全批检测)时, 其非均匀性即非均匀性的期望 $h_L \equiv m(h_m) \equiv 0$, 这时, 从所有角度观察的非均匀性的期望均为 0, 即

$$m(h_m) = m(h_1) = m(h_2) = m(h_3) = m(h_4) = 0 \quad (21)$$

各非均匀性分量所对应的方差有如下关系:

$$s^2(h_m) = s^2(h_1) + s^2(h_2) + s^2(h_3) + s^2(h_4) \quad (22)$$

这表明, 由物料非均匀性导致的抽样方差由固有方差 $s^2(h_1) = s^2(FE)$ 、物料在单元传送方向上的分布方差(随距离变化的方差 $s^2(h_2)$ 和周期性变化的方差 $s^2(h_3)$), 以及实践中制备和分析样品所导致的方差 $s^2(h_4)$ 构成。

固有方差由下式给出:

$$s^2(FE) \approx \frac{1-P}{PN_F} CH_L \approx \left(\frac{1}{M_S} - \frac{1}{M_L} \right) HI_L \quad (23)$$

3.5.3 一维批物料抽样方差的估计

采用变差图(variograph)方法估计一维批物料的抽样方差。定义:

$$V(j) \equiv \frac{1}{2(N_U - j)} \sum_m (h_{m+j} - h_m)^2, j=1, 2, \dots, J \quad (24)$$

$$\text{则 } V(j) = V_1(j) + V_2(j) + V_3(j) + V_4(j) \quad (25)$$

其中 $V_1(j)$ 、 $V_2(j)$ 、 $V_3(j)$ 分别对应于 $h_{m+j} - h_m$ 在单元结构性非均匀性、长程非均匀性和周期性非均匀性上的方差, 而 $V_4(j)$ 则对应于前三项的协方差与分析方差(样品制备与分析的方差)之和。

实践中, 对用系统抽样法抽取的 $N_1 = 60$ 即 $J = 30$ 的份

样进行逐一制备和分析, 可用 $V(j)$ 对 j 作图, 称为变差图。

变差图的纵轴截距由下式给出:

$$V(0) = V_1(0) + V_4(0) \approx s^2(FE) + \frac{s^2(TPE)}{N_I} \quad (26)$$

其中, $s^2(FE)$ 可按照式(37)求出, 非均匀性不变量 HI_L 由类似于式(6)的实验得到。

$$V_4(0) = \frac{s^2(TPE)}{N_I} \text{ 项, 除非对于极低含量批, 由于 } N_I$$

60, $V_4(0)$ 通常是可忽略的。

采用以下各式计算变差图的各项参数:

1) $V(0)$ 的评估: 采用式(26);

2) $V(j)$ 的计算: 逐个制备和分析份样 ($N_I = 60$), 按式(38)

计算 $V(j)$, $J = 30$;

3) 依次计算辅助变量的值:

$$\text{简单积分 } S(j) = \int_0^j V(j^*) dj^* \quad (27)$$

$$\text{简单积分均值 } w(j) = \frac{1}{j} S(j) = \frac{1}{j} \int_0^j V(j^*) dj^* \quad (28)$$

$$\text{双重积分 } S'(j) = \int_0^j S(j^*) dj^* = S'(j-1) + S(j-1)/2 + S(j)/2 \quad (29)$$

$$\text{双重积分均值 } w'(j) = \frac{2}{j^2} S'(j) = \frac{2}{j^2} \int_0^j S(j^*) dj^* \quad (30)$$

移动均值(变差图具备明显固定周期性波动时)

$$w''(j) = \begin{cases} \frac{1}{R} [V(j-j_0) + \dots + V(j) + \dots + V(j+j_0)], \\ R = 2j_0 + 1 \\ \frac{1}{R} [V(j+1-j_0) + \dots + V(j) + \dots + V(j+j_0)], \\ R = 2j_0 \end{cases}, R \approx P \quad (31)$$

4) 评估误差产生函数

$$\text{系统抽样: } W_{sy}(j) = 2w(j/2) - 2w'(j) \quad (32)$$

其中,

$$2w(j/2) = \begin{cases} 2w(j_0), & j = 2j_0 \\ 2w(j_0 + 1/2) \approx S(j_0 + 1/2) / (j_0 + 1/2), & j = 2j_0 + 1 \end{cases}$$

$$S(j_0 + 1/2) \approx S(j_0) + [V(j_0) + V(j_0 + 1/2)] / 4$$

$$\text{分层抽样: } W_{st}(j) = w'(j) \quad (33)$$

简单随机抽样:

$$W_{ra}(j) = s^2(h_I) + s^2(TPE) / (N_I - j_R) = sill \quad (34)$$

5) 得出不同抽样方法抽取份样的方差:

$$\text{系统抽样: } s^2(SE)_{sy} = W_{sy}(j) / Q \quad (35)$$

$$\text{分层抽样: } s^2(SE)_{st} = W_{st}(j) / Q \quad (36)$$

$$\text{简单随机抽样: } s^2(SE)_{ra} = W_{ra}(j) / Q \quad (37)$$

6) 将 $W_{sy}(j)$ 、 $W_{st}(j)$ 、 $W_{ra}(j)$ 对 $Q = N_I/j$ 作图, 则可得到不同份样数下的抽取份样方差, 从而确定满足方差要求的最小份样数及最佳抽样方法; 改变份样量, 重复上述方法, 则可得到最小份样量。

由式(35)、(36)或(37), 与式(19)所表示的制备和分析方差合成, 可得到总分析方差:

$$s^2(GE) = s^2(TPE) + s^2(SE) = W_{sy}(j) / Q + \sum_j s_j^2(SS) + \quad (38)$$

$$\frac{1}{N_{TP}} \left\{ s^2(TP) + \frac{1}{N_{EXT}} \left[s_r^2(EXT) + \frac{1}{N_{PCR}} s_r^2(PCR) \right] \right\}$$

4 结论与展望

从世界主要国家和国际组织的标准发展状况来看, 欧盟针对 GMO 抽样标准的研究最为活跃。此外, ISO/TC34/SC4 专家组也对 ISO24333 标准中的修订内容提出了期望, 建议该标准中需包含用于外来未批准 GMO 抽样的具有实验数据和有说服力的抽样策略或抽样计划。

本文对现有的从现有的谷物、豆类、食品、饲料等一系列相关产品中, 涉及抽样的理论进行了总结, 对各过程中的方差进行了分析合成, 作为本系列文章后续实际样品抽样研究的理论指导。

参考文献

- [1] ISAAA Brief 49-2014 [EB/OL]. <http://www.isaaa.org>. 2015-08-20.
- [2] EC Council. Council directive of 23 April 1990 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms (90-220-EEC) [Z].
- [3] Regulation (EC) No 258/97 of the European parliament and of the council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients [Z]. Official Journal of the European Union L 043, European Union: Luxembourg, 1997.
- [4] Council Regulation (EC) No 1139/98 of 26 May 1998 concerning the compulsory indication of the labelling of certain foodstuffs produced from genetically modified organisms of particulars other than those provided for in Directive 79/112/EEC [Z]. Official Journal L 159, European Union: Luxembourg, 1998.
- [5] Directive 2001/18, On the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC [Z].
- [6] Kay S, Paoletti C. Sampling strategies for GMO detection and quantification, EC directorate general JRC [Z].
- [7] ISO 542:1990 Oilseeds-Sampling [S].
- [8] ISO 13690:1999 Cereals, pulses and milled products-Sampling of static batches [S].
- [9] Kay S, Eede GVD. The limit of GMO detection [J]. Nat Biotechnol, 2001, 19: 405-409.
- [10] Paoletti C, Donatelli M, Kay S, et al. Simulating kernel lot sampling: the effect of heterogeneity on the detection of GMO contaminations [J]. Seed

- Sci Technol, 2003, 31(3): 629-638.
- [11] ISODIS 21568:2003 Foodstuffs-Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products-sampling [S].
- [12] ISO 664:2008 Oilseeds-Reduction of laboratory sample to test sample [S].
- [13] ISO 2859 (all six parts) Sampling procedures for inspection by attributes [S].
- [14] Cantrill RC. International development of methods of analysis for the presence of products of modern biotechnology [J]. Asia Pac J Clin Nutr, 2008, 17 (S1): 233-236.
- [15] Regulation (EC) No 1830/2003, Concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC [Z].
- [16] European Commission Recommendation 2004-787-EC, on technical guidance for sampling and detection of genetically modified organisms and material produced from genetically modified organisms as or in products in the context of Regulation (EC) No 1830/2003 [Z].
- [17] Burg IJWVD. International seed testing association [J]. Lancet, 1979, 2(8144): 702.
- [18] ISO 6644:2002 Flowing cereals and milled cereal products-Automatic sampling by mechanical means [S].
- [19] European Commission (2005). Decision No. 2005_317_EC, on emergency measures regarding the non-authorized genetically modified organism Bt10 in maize products [Z].
- [20] Commission Decision No. 578_2006_EC, on emergency measures regarding the non-authorized genetically modified organism LL RICE 601 in rice products [Z].
- [21] Commission Decision No. 2006_601_EC, on emergency measures regarding the non-authorized genetically modified organism LL RICE 601 in rice products [Z].
- [22] Commission Decision No. 2006-754-EC, amending Decision 2006_601_EC on emergency measures regarding the non-authorized genetically modified organism LL RICE 601 in rice products [Z].
- [23] Commission Decision No. 2007304EC, on the withdrawal from the market of Bt176 (SYN-EV176-9) maize and its derived products (notified under document number C(2007) 1804) [Z].
- [24] Commission Decision No. 2008_289_EC, on emergency measures regarding the unauthorized genetically modified organism Bt 63 in rice products (notified under document number C(2008) 1208) [Z].
- [25] Commission Decision (EC) No 152_2009, laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed [Z].
- [26] Commission Regulation (EU) No 619_2011, laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed as regards presence of genetically modified material [Z].
- [27] Lischer P. Sampling procedures to determine the proportion of genetically modified organisms in raw materials, Part I: correct sampling, good sampling practice [J]. Mitt Leben Hyg, 2001, 92: 290-304.
- [28] Lischer P. Sampling procedures to determine the proportion of genetically modified organisms in raw materials, Part II: sampling from batches of grain [J]. Mitt Leben Hyg, 2001, 92: 305-311.
- [29] Pierre GY. Sampling for analytical purposes, translated by A. G. Royle [M]. New York: John Wiley and Sons, 1998.
- [30] Esbensen KH, Paoletti C, Minkkinen P. Representative sampling of large kernel lots I. Theory of Sampling and variographic analysis [J]. Trends Anal Chem, 2012, 32: 154-164.
- [31] Minkkinen P, Esbensen KH, Paoletti C. Representative sampling of large kernel lots II. Application to soybean sampling for GMO control [J]. Trends Anal Chem, 2012, 32: 165-177.
- [32] Esbensen KH, Claudia P, Pentti M. Representative sampling of large kernel lots III. General considerations on sampling heterogeneous foods [J]. Trends Anal Chem, 2012, 32: 178-187.
- [33] 刘培磊, 李宁, 周云龙. 美国转基因生物安全管理体系及其对我国的启示[J]. 中国农业科技导报, 2009, 5: 49-53.
Liu PL, Li N, Zhou YL. Safety administration system for transgenic organism in America and its enlightenment for China [J]. J Agric Sci Technol, 2009, 5: 49-53.
- [34] 韩永明, 翟广谦, 徐俊锋. 欧盟转基因生物管理法规体系的演变及对我国的启示[J]. 浙江农业科学, 2013, 11: 1482-1485.
Han YM, Zhai GQ, Xu JF. The evolution of the EU regulation system of transgenic organisms and the enlightenment to our country [J]. J Zhejiang Agric Sci, 2013, 11: 1482-1485.
- [35] GB/T 19495.7-2004 转基因产品检测 取样和制样方法[S].
GB/T 19495.7-2004 Detection of genetically modified organisms and derived products-Methods for sampling preparation [S].
- [36] 农业部 2031 号公告-19-2013. 转基因植物及其产品成分检测抽样[Z].
Announcements of Ministry of Agriculture-19-2013, NO.2031. Detection of genetically modified plants and derived products-sampling [Z].
- [37] SN/T 1194-2014 植物及其产品转基因成分检测 抽样和制样方法 [S].
SN/T 1194-2014 Sampling and preparation method for GMO detection in plants and its products [S].
- [38] ISO 24333:2009 Cereals and cereal products-Sampling [S].
- [39] ISO DTR29263 Cereals and cereal products-Sampling studies [S].
- [40] Codex alimentarius commission, WHO-FAO General guidelines on sampling (CAC/GL 50-2004) [Z]. 2004.

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



曹际娟, 女, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测与研究。
E-mail: cjj0909@163.com