

发酵樱菜中菌落总数平板计数结果不确定度的评定

华晶忠¹, 于丽², 刘笑笑², 王嵩², 樊慧梅^{2*}

(1. 吉林省经济管理干部学院, 长春 130012; 2. 吉林省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所/农业部农产品质量安全风险评估实验室, 长春 130033)

摘要:为了建立传统发酵樱菜中菌落总数平板计数结果的不确定度评定方法, 依据《食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定》《食品微生物学测量不确定度评估指南》和《测定不确定度评定与表示》, 分析影响传统发酵樱菜中菌落总数平板计数结果的不确定度来源, 对其测定结果做了合成不确定度和扩展不确定度评估。结果表明, 菌落总数平板计数过程中引入不确定度的各分量因素所占比例顺序为: 重复性检验 > 稀释 > 取样 > 制备样品 > 环境温度。菌落总数平板计数结果的扩展不确定度为 218 CFU/g, 取值区间为 5 782~6 218 CFU/g, 包含因子 $k=2$ 。此方法适用于类似条件下菌落总数平板计数结果不确定度评估。

关键词: 发酵; 樱菜; 菌落总数; 不确定度

中图分类号: TS201.3 **文献标识码:** A

文章编号: 2096-5877(2019)03-0071-03

Evaluation on Uncertainty of Plate Counting Results on Colonies Count in Fermented *Lepidium sativum*

HUA Jingzhong¹, YU Li², LIU Xiaoxiao², WANG Song², FAN Huimei^{2*}

(1. Jilin Academy of Economic Management Cadre, Changchun 130012; 2. Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Jilin Academy of Agricultural Science / Risk Assessment Lab of Agri-Products Quality and Safety, Changchun, Ministry of Agriculture, P. R. C, Changchun 130033, China)

Abstract: In order to establish the evaluation on uncertainty of plate counting results on colonies count in fermented *Lepidium sativum*, the source of evaluation on uncertainty of plate counting results on colonies count in fermented *Lepidium sativum* was analyzed according to the the “Guidelines for the Evaluation of Incertainty in Food Microbiology Measurement” and the “Evaluation and Expression of Incertainty Determination”. The synthetic uncertainty and extended uncertainty were evaluated. The results showed that the proportion order of the components of the uncertainty introduced during the total number of colonies plate counting was: repeatability test > dilution > sampling > preparation sample > ambient temperature. The extension uncertainty of the total number of colonies was 218 CFU/g, and the value range was 5 782 –6 218 CFU/g, including the factor $k=2$. This method was suitable for evaluating the uncertainty of the total number of colony plate counting under similar conditions.

Key words: Fermentation; *Lepidium sativum*; Total number of colonies; Uncertainty

菌落总数是判定食品卫生状况的至关重要的指标。为了确保菌落总数平板计数结果准确可靠, 本文将测量不确定度的评定引入发酵樱菜菌

落总数平板计数检验工作中。

测量不确定度是定量说明测定结果质量的参数, 在各个检测领域具有良好的应用前景^[1]。GB/T 27025-2008《检测和校准实验室能力的通用要求》^[2]中明确规定: 当用户有要求、或测定结果在临限时, 应提供测量结果的不确定度。本文就传统发酵樱菜中菌落总数平板计数结果进行不确定度评定, 分析和比较不确定度来源以及各分量不确定度所占比例, 从而定量说明传统发酵樱菜中菌落总数平板计数结果的不确定度, 为类似检

收稿日期: 2019-01-11

基金项目: 吉林省农业科技创新工程项目(CXGC2018ZY004、CXGC2017ZY038、CXGC2017TD011)

作者简介: 华晶忠(1983-), 男, 讲师, 硕士, 主要从事食品营养与检测研究。

通讯作者: 樊慧梅, 女, 硕士, 副研究员, E-mail: xiaoxiao19840203@yeah.net

测菌落总数平板计数不确定度的评定提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

樱菜购自延边朝鲜族自治州延吉市农贸市场。

1.2 仪器与试剂

仪器:AB135-S 电子天平±0.01 g(瑞士梅特勒-托利多公司);PRESOCLAVE- II 高压灭菌器(西班牙 SELECTA);DHP-9162 恒温培养箱(太仓市科教器材厂);SW-CJ 无菌操作台(中国 苏州安泰空气技术有限公司)。

试剂:平板计数琼脂(北京奥博兴生物技术有限公司);氯化钠(北京化工厂)。

1.3 试验方法

将新鲜樱菜进行晾晒、初腌,再按照朝鲜族传统腌制方法进行腌制,加入 5% CCTCC M2018129 肠膜明串珠菌菌株菌悬液,4℃条件下进行发酵,第 10 d 取样测定其菌落总数。

依据 GB 4789.2-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》^[3]进行测定。

1.4 不确定度的主要来源

传统发酵樱菜中,菌落总数平板计数结果不确定度的主要来源见图 1。

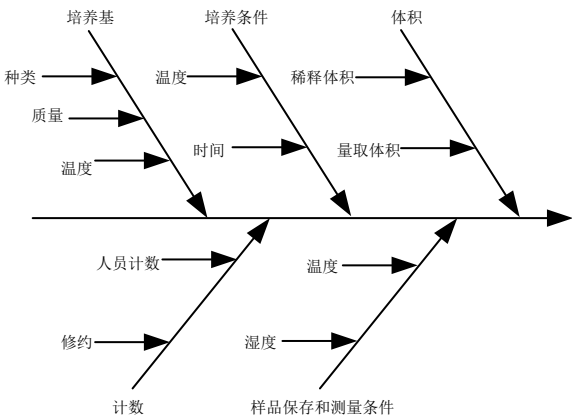


图 1 菌落总数平板计数结果不确定度来源

2 各不确定度分量的评定

2.1 重复性检验引入的不确定度评定

菌落总数检验过程中同一样品由同一人计数,重复测定 10 次,结果见表 1。

表 1 菌落总数平板计数结果

编号	检验结果(CFU/g)	$\lg x_i$	$\lg x_i - \lg \bar{x}$	$(\lg x_i - \lg \bar{x})^2$
1	3 200	3.505 15	-0.247 87	0.061 439
2	7 000	3.845 10	0.092 08	0.008 479
3	9 000	3.954 24	0.201 22	0.040 491
4	6 000	3.778 15	0.025 13	0.000 632
5	10 000	4.000 00	0.246 98	0.061 000
6	5 900	3.770 85	0.017 83	0.000 318
7	4 300	3.633 47	-0.119 55	0.014 292
8	5 700	3.755 87	0.002 86	0.000 008
9	5 100	3.707 57	-0.045 45	0.002 066
10	3 800	3.579 78	-0.173 24	0.030 011
平均值	6 000	3.753 02		0.021 873

由表 1 计算 $U_{rel(重复性检验)}$ 为:

$$U_{rel(重复性检验)} = \sqrt{\frac{0.021\ 873}{10(10-1)}} = 0.015\ 59$$

2.2 制备样品引入的不确定度评定

制备样品是微生物检验过程中非常重要的一步,直接影响检验结果的准确度。制备样品过程中引起不确定度因素主要有两个。一是量取 225 mL 生理盐水引入的不确定度,二是称取 25.0 g 样品引入的不确定度。根据 JJG 196-2006《常用玻璃量器检定规程》^[4] 250 mL 量筒允许误差为 ±2

mL,按三角形分布计算。根据电子天平的检定证书最大允许误差为 ±0.1 g,按矩形分布计算;因此量筒和电子天平引入的不确定度 $\mu_{(v样)}$ 和 $\mu_{(m样)}$ 分别为:

$$\mu_{(v样)} = \frac{2\text{ mL}}{\sqrt{6}} = 0.816\ 496\text{ mL}$$

$$\mu_{(m样)} = \frac{0.1\text{ g}}{\sqrt{3}} = 0.057\ 735\text{ g}$$

量筒和电子天平引入的相对标准不确定度 $U_{rel(v样)}$ 和 $U_{rel(m样)}$ 分别为:

$$U_{rel(v_{\text{管}})} = \frac{\mu_{(v_{\text{管}})}}{v_{\text{样}}} = \frac{0.816\,496\text{ mL}}{225\text{ mL}} = 0.003\,63$$

$$U_{rel(m_{\text{管}})} = \frac{\mu_{(m_{\text{管}})}}{m_{\text{样}}} = \frac{0.057\,735\text{ g}}{25.0\text{ g}} = 0.002\,31$$

制备样品产生的相对标准不确定度 $U_{rel(\text{制备样品})}$ 为:

$$U_{rel(\text{制备样品})} = \sqrt{U_{rel(m_{\text{管}})}^2 + U_{rel(v_{\text{管}})}^2} \\ = \sqrt{0.002\,31^2 + 0.003\,63^2} = 0.004\,30$$

2.3 稀释引入的不确定度评定

稀释过程不确定度来源主要是 1 mL 移液器吸取不同稀释级溶液 9 mL 生理盐水 10 倍系列稀释过程^[5]。依据 JJG 196-2006《常用玻璃量器检定规程》^[4], 10 mL 刻度吸管允许误差 $\pm 0.05\text{ mL}$, 属于 B 类评定。JJG 646-2006《移液器检定规程》^[6], 1 000 μL 移液器吸取 1 mL 时允许误差 $\pm 1.0\%$, 按矩形分布计算不确定度。

因此, 10 mL 刻度吸管和 1 mL 移液器引入的不确定度 $\mu_{(10\text{ mL 刻度吸管})}$ 和 $\mu_{(1\text{ mL 移液器})}$ 分别为:

$$\mu_{(10\text{ mL 刻度吸管})} = \frac{0.05\text{ mL}}{\sqrt{3}} = 0.028\,87\text{ mL}$$

$$\mu_{(1\text{ mL 移液器})} = \frac{1.0\%}{\sqrt{3}} = 0.577\% = 0.005\,77\text{ mL}$$

10 mL 刻度吸管和 1 mL 移液器引入的相对不确定度 $\mu_{(10\text{ mL 刻度吸管})}$ 和 $\mu_{(1\text{ mL 移液器})}$ 分别为:

$$U_{rel(10\text{ mL 刻度吸管})} = \frac{\mu_{(10\text{ mL 刻度吸管})}}{v} = \frac{0.028\,87\text{ mL}}{9\text{ mL}} = 0.003\,21$$

$$U_{rel(1\text{ mL 移液器})} = \frac{\mu_{(1\text{ mL 移液器})}}{v} = \frac{0.005\,77\text{ mL}}{1\text{ mL}} = 0.005\,77$$

稀释产生的相对标准不确定度 $U_{rel(\text{取样和稀释})}$ 为:

$$U_{rel(\text{稀释})} = \sqrt{\frac{9^2}{(1+9)^2} (U_{rel(1\text{ mL})}^2 + U_{rel(10\text{ mL})}^2)} \\ = \sqrt{\frac{9^2}{(1+9)^2} (0.005\,77^2 + 0.003\,21^2)} = 0.005\,94$$

2.4 取样引入的不确定度评定

每次取样是用 1 000 μL 移液器向培养基中接种各种稀释液, 体积为 1 mL, 根据 JJG 646-2006《移液器检定规程》^[6]规定, 1 000 μL 移液器吸取 1 mL 时允许误差为 $\pm 1.0\%$, 属于 B 类评定, 按矩形分布计算不确定度。

因此, 1 mL 移液器引入的相对标准不确定度为:

$$U_{rel(\text{取样})} = U_{rel(1\text{ mL 移液器})} = 0.005\,77$$

2.5 环境温度引入的不确定度评定

实验过程中受环境影响最大的是温度, 一般

通过空调进行控制, 设置温度为 $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ 。水膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, 按矩形分布计算。

因此, 环境引入的相对标准不确定度 $U_{rel(\text{环境温度})}$ 为:

$$U_{rel(\text{环境温度})} = \frac{5 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 0.000\,606$$

3 传统发酵樱菜中菌落总数平板计数的合成不确定度和扩展不确定度

根据各相对不确定度合成菌落总数平板计数的相对不确定度 $U_{rel(\text{总})}$ 为:

$$U_{rel(\text{总})} = \sqrt{U_{rel(\text{重复性检验})}^2 + U_{rel(\text{制备样品})}^2 + U_{rel(\text{稀释})}^2 + U_{rel(\text{取样})}^2 + U_{rel(\text{环境温度})}^2} \\ = \sqrt{0.015\,59^2 + 0.004\,30^2 + 0.005\,94^2 + 0.005\,77^2 + 0.000\,606^2} \\ = 0.018\,18$$

取置信区间 95%, 包含因子为 $k=2$, 扩展不确定度 U_{95rel} 为:

$$U_{95rel} = k \times U_{rel(\text{总})} = 2 \times 0.018\,18 = 0.036\,36$$

传统发酵樱菜中菌落总数平板计数结果平均值为 6 000 CFU/g, 扩散不确定度 U 为:

$$U = 6\,000 \times 0.036\,36 \approx 218(\text{CFU/g})$$

4 结果与报告

传统发酵樱菜中菌落总数平板计数结果平均值为 6 000 CFU/g, 其扩展不确定度为 218 CFU/g, 取值区间为 5 782~6 218 CFU/g。

参考文献:

- [1] 杨玲玲, 李海芳. 食品菌落总数测定盲样考核结果不确定度的评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(14): 3780-3783.
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局和中国国家标准化管理委员会. GB/T 27025-2008 检测和校准实验室能力的通用要求[S].
- [3] 国家食品药品监督管理总局和国家卫生和计划生育委员会. GB 4789.2-2016. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定[S].
- [4] 全国流量容量计量技术委员会. JJG 196-2006 中华人民共和国国家计量检定规程 常用玻璃量器[S]. 北京: 中国计量出版社, 2007.
- [5] 易大为, 高敬红, 邹宇. 加权平均法表述菌落总数测定的数学模型与测量不确定度的评定[J]. 食品安全质量学报, 2014, 5(9): 2888-2892.
- [6] 全国流量容量计量技术委员会. JJG 196-2006 中华人民共和国国家计量检定规程 移液器[S]. 北京: 中国计量出版社, 2007.