

果汁中菌落总数的不确定度评定

汪艳玲*, 赵怀荣

(淮安市疾病预防控制中心, 淮安 223001)

摘要: **目的** 建立评定菌落总数不确定度的方法, 以减少实验误差并提高检测结果的精确度。 **方法** 按照 GB 4789.2-2010《食品安全国家标准 菌落总数测定》检测 20 份果汁样品中菌落总数, 依据 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》分析菌落总数的不确定度来源; 采用合并样本标准差计算, 评定检测结果的不确定度。 **结果** 在包含概率为 95%时, 果汁中菌落总数的扩展不确定度为 0.10(以计数计), 此结果适用于同类样品的检测。 **结论** 用合并样本标准差评定多个同类样本菌落总数的不确定度较为方便, 随着检验数量的不断增加, 数据可随时加入到合并样本中, 从而对菌落总数的不确定度进行合理判定, 从而对食品进行正确的卫生学评价。

关键词: 食品安全; 菌落总数; 不确定度

Uncertainty evaluation of aerobic plate count in fruit juice

WANG Yan-Ling*, ZHAO Huai-Rong

(Huai'an City Center for Disease Control and Prevention, Huai'an 223001, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for evaluating measurement uncertainty of the colony determination, so as to decrease the experimental error and increase the accuracy of measurement. **Methods** According to GB 4789.2-2010 *National food safety standard Food microbiological examination: Aerobic plate count*, 20 fruit juice samples were measured. According to JJF 1059.1-2012 *Evaluation and expression of uncertainty in measurement*, the source of the uncertainty in the detection was analyzed. The method of merging sample standard deviation was applied to determine the uncertainty evaluation. **Results** As the coverage probability was 95%, the expanded uncertainty of fruit juice was 0.10, which could be adopted to the same kind of samples. **Conclusion** The method of merging sample standard deviation is convenient for uncertainty evaluation of aerobic plate count of multiple similar samples, complicating sample standard deviation must be calculated again when more results were added, and the extent of uncertainty has to be renewed. The method can be used for uncertainty evaluation of aerobic plate count detection, so as to assess the quality of microbiological detection correctly.

KEY WORDS: food safety; aerobic plate count; uncertainty

1 引言

新《食品安全法》的正式实施对食品安全风险监测提出了更高的要求。开展食品中污染物的污染状况监测, 分析和评价食品污染物数据, 开展风险监测预警和实施政府

监管, 对维护人民群众身体健康和生命安全具有重要意义。食品中微生物的检测是评价食品安全的重要卫生指标, 菌落总数是最常见的检验项目, 主要用来判断食品被细菌污染的程度, 可用于对该食品进行卫生学评价^[1]。由于所有的测量都存在误差, 存在检测结果是否能客观评判的风险, 并

*通讯作者: 汪艳玲, 主管技师, 主要从事微生物检验工作。E-mail: wangyl1982@163.com。

*Corresponding author: WANG Yan-Ling, Supervising technician, Huai'an City Center for Disease Control and Prevention, Huai'an 223001, China, E-mail: wangyl1982@163.com.

会直接影响到企业的经济利益和人民的健康,因此需要用不确定度对检测结果质量进行定量表征^[2],从而降低风险。

本研究主要分析重复测量引入的不确定度,其他对结果影响较小的因素予以忽略,计算方法简单,在日常工作中可操作性强。以果汁中菌落总数检测为例,依据 GB4789.2-2010《食品安全国家标准 菌落总数测定》^[3]检测 20 份果汁样品中的菌落总数,用 JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》^[4]来建立菌落总数的不确定度评价方法,以提高食品安全风险监测中检测结果的精确度。

2 材料与方法

2.1 材料

本试验所用样品为淮安地区餐饮场所采集的 20 份鲜榨果汁标本,主要为西瓜汁、苹果汁及橙汁。实验前用 pH 试纸测各标本的 pH 值,对于酸性果汁,用 1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值至 6.5~7.5 之间^[5]。

2.2 仪器与试剂

平板计数琼脂(批号: 20150616, 杭州天和微生物试剂有限公司); PYX-DHS50 型隔水式电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂), DZKW-C 型恒温水浴锅(江苏省医疗器械厂), 1000 级净化实验室。

2.3 实验方法

按 GB 4789.2-2010^[3]要求,以无菌操作吸取样品 25 mL,加入 225 mL 无菌生理盐水中均质制成 1:10 稀释液。根据样品污染情况,制备成 3 个连续稀释度的样液,每个稀释度接种 2 块平皿各 1 mL。同时取生理盐水做 2 份空白对照,将冷却至 46 °C 的平板计数琼脂倾注到平皿内,轻轻转动混匀,琼脂凝固后,翻转平皿,置 37 °C 培养 48 h,计数各样品菌落总数。

2.4 建立数学模型

根据测量原理得到检验中菌落总数测定数学模型:

$$A=kx/V$$

A—样品菌落总数, CFU/ mL

k—稀释倍数

x—某稀释度检测平皿上的菌落数, CFU

V—某稀释度下的取样体积, mL

2.5 不确定度来源及分析

测量不确定度有许多来源,按评定方法可分为 2 类:不确定度的 A 类评定,用统计方法评定的分量,主要指试验中的随机误差;不确定度的 B 类评定,用非统计方法评定的分量,主要指试验中的系统误差^[6]。

本试验不确定度来源主要有以下几个方面:样品重复测定、取样体积、样品稀释、玻璃器具容量允差、

培养时间和培养温度等^[7],由于随机效应带来的测量重复性带来的 A 类不确定度对检验结果准确性影响较大,系统误差导致的 B 类不确定度分量对合成不确定度贡献较小,所以采用不确定度的 A 类评定菌落总数的不确定度^[8]。

3 不确定度评定结果

本试验共检测 20 份果汁样品,用同一检测方法同一批次营养琼脂在相同培养温度和培养时间下测得,结果选取菌落在 30~300 之间的平皿计数(见表 1)。空白对照和稀释液对照平皿中均无菌落生长。

因数据的发散性较大,如直接用贝塞尔公式计算出的合并样本标准差很大,因此对检测结果取对数后计算均值和标准差,再根据贝塞尔公式计算出检测结果对数值的合并样本标准差,从而计算每个样本的取值范围。

计算对数值的合并样本标准差:

$$S_p = \sqrt{\frac{\sum (\lg x - \lg \bar{x})^2}{m(n-1)}} = \sqrt{\frac{0.098231}{20(2-1)}} = 0.070082 \quad (m=20, n=2)$$

每份样品重复检测 2 次,所以 2 次检测平均值的标准不确定度为:

$$u(\lg \bar{x}) = \frac{S_p}{\sqrt{2}} = \frac{0.070082}{\sqrt{2}} = 0.04956$$

根据置信概率 $P=95\%$, 自由度 $\nu=20$, 查 t 分布表得到包含因子 $k=2.086$, 扩展不确定度 U 为:

$$U = k u(\lg \bar{x}) = 2.086 \times 0.04956 = 0.10$$

再根据每份样品 $\lg x$ 的取值区间,计算反对数得到每一份样品在 95% 置信概率下菌落总数含量的取值范围(见表 1, 结果保留 2 位有效数字)。

4 讨论

在测量不稳定的评定中,微生物检测与理化检测不同,微生物检测属于非统计学、非严格性和非度量学一类^[9],有其特殊性;当菌落数值很大时,同一份样品平行检测结果差距明显,重复测量是不确定度的主要来源,影响了检验结果的准确度,而其他系统效应导致的不确定度分量对合成不确定度贡献较小,本试验中予以忽略。

由于细菌在样品中分布的不均匀,不同的微生物共同培养时会有拮抗作用^[10],肉眼可见的菌落形成单位(CFU)并不一定是单个细菌,也可能是一簇细菌形成^[11],因此导致菌落总数检测结果分散性很大,不符合正态分布的特点,如直接用贝塞尔公式计算所得到的不确定度较大。当检测结果取对数后,所得数值近似于正态分布,用贝塞尔公式计算合并样本标准差来评定菌落总数的不确定度较为合理^[12]。当同一种类,同种性状的样品在测量复现性条件下检测时,可将新的检测结果加入到合并样本中,计算合并样本标准差,得到新的不确定度^[13]。

表 1 菌落总数检测结果及分析
Table 1 Determination results of aerobic plate count

序号	检测结果		取对数后结果			残差平方和		取值区间		
	x_1	x_2	$\lg x_1$	$\lg x_2$	$\lg \bar{x}$			$\lg x$		$X(\text{CFU})$
1	11000	13000	4.0414	4.1139	4.0777	0.002632	3.9743	4.1810	9400	15000
2	580	420	2.7634	2.6232	2.6933	0.009825	2.5900	2.7967	390	620
3	3100	2500	3.4914	3.3979	3.4447	0.004364	3.3413	3.5480	2200	3500
4	12000	9700	4.0792	3.9868	4.0330	0.004270	3.9296	4.1363	8500	14000
5	7500	11000	3.8751	4.0414	3.9582	0.013833	3.8549	4.0616	7200	12000
6	34000	39000	4.5315	4.5911	4.5613	0.001775	4.4579	4.6646	29000	46000
7	8600	5700	3.9345	3.7559	3.8452	0.015953	3.7418	3.9486	5500	8900
8	3500	4200	3.5441	3.6232	3.5837	0.003135	3.4803	3.6870	3000	4900
9	550	620	2.7404	2.7924	2.7664	0.001354	2.6630	2.8698	460	740
10	2300	2700	3.3617	3.4314	3.3965	0.002425	3.2932	3.4999	2000	3200
11	28000	21000	4.4472	4.3222	4.3847	0.007805	4.2813	4.4881	19000	31000
12	9800	7500	3.9912	3.8751	3.9331	0.006747	3.8298	4.0365	6800	11000
13	450	560	2.6532	2.7482	2.7007	0.004510	2.5973	2.8041	400	640
14	3600	4100	3.5563	3.6128	3.5845	0.001595	3.4812	3.6879	3000	4900
15	1000	1200	3.0000	3.0792	3.0396	0.003135	2.9362	3.1430	860	1400
16	3900	3500	3.5911	3.5441	3.5676	0.001104	3.4642	3.6709	2900	4700
17	32000	39000	4.5051	4.5911	4.5481	0.003691	4.4447	4.6515	28000	45000
18	8500	7200	3.9294	3.8573	3.8934	0.002598	3.7900	3.9967	6200	9900
19	6700	5900	3.8261	3.7709	3.7985	0.001525	3.6951	3.9018	5000	7900
20	2100	2700	3.3222	3.4314	3.3768	0.005956	3.2734	3.4802	1900	3000
合计						0.098231				

在食品安全风险监测工作中,对菌落总数测定进行不确定度评定,是食品微生物实验室质量体系的重要组成部分^[14]。因所有的测量都有误差,存在检测结果是否能客观评判的风险;当检测结果在限量值附近时,直接判断其是否符合食品卫生安全标准是不科学的,存在较大风险^[15]。用测量不确定度对菌落总数进行不确定度评定,可以减少实验误差,提高检测结果的准确性和可靠性,通过对检测结果进行合理判断,从而降低检测机构风险。

参考文献

[1] 张卫军,王洪艳.食品中菌落总数检测结果不确定度的评定[J].现代预防医学,2013,40(3):533-535.
Zhang WJ, Wang HY. Uncertainty evaluation on test results of total number of colonies in food [J]. Mod Prev Med, 2013,40(3): 533-535.

[2] 范媛媛,王树祥.食品菌落总数检验中不确定度的评定[J].中国卫生检验杂志,2007,17(2):296-297.
Fan YY,Wang SX,Zhu YJ.Assessment on uncertainty of colony

determination in food [J]. Chin J Health Lab Technol, 2007,17(2): 296-297.

[3] GB 4789.2-2010 食品微生物学检验 菌落总数测定[S].
GB 4789.2-2010 National food safety standard-Food microbiological examination: Aerobic plate count [S].

[4] JJF 1059.1-2012 测量不确定度的评定与表示[S].
JJF 1059.1-2012 Evaluation and expression of uncertainty in measurements [S].

[5] 胡巍,丁武,李素芳.食品的菌落数检测结果不确定度之评定[J].中国卫生检验杂志,2008,18(8):1494-1497.
Hu D, Ding W, Li SF. Uncertainty evaluation of colony forming units(CFU) of foods [J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, 18(8): 1494-1497.

[6] 王晓红,姜娴.食品中菌落总数检测结果的不确定度评定[J].中国卫生检验杂志,2011,21(11):2799-2800.
Wang XH,Jiang X.Uncertainty assessment in the detection of the standard plate count bacteria in food [J]. Chin J Health Lab Technol, 2011, 21(11): 2799-2800.

- [7] 汤水平, 王力清, 李静芳, 等. 婴幼儿配方奶粉菌落总数检验中不确定度的评定[J]. 微生物学杂志, 2009, 29(5): 100–103.
Tang SP, Wang LQ, Li JF, *et al.* Uncertainty assessment in the detection of total colony in formulated milk powder for infant and young children [J]. J Microbiol, 2009, 29(5): 100–103.
- [8] 谭丹阳. 水中菌落总数测定的不确定度评定[J]. 医学动物防制, 2013, 29(10): 1171–1173.
Tan DY. Uncertainty evaluation on total number of colony in water [J]. J Med Pest Control, 2013, 29(10): 1171–1173.
- [9] 丁理, 王友斌, 李霞, 等. 生活饮用水及其水源水中菌落总数测定的不确定度评定及实例分析[J]. 中国卫生工程学, 2015, 14(4): 353–355.
Ding C, Wang YB, Li X, *et al.* Uncertainty assessment and cases analysis in the detection of the standard plate -count bacteria in drinking water and source water [J]. Chin J Public Health Eng, 2015, 14(4): 353–355.
- [10] 王海华, 兰茜. 能力验证菌落总数测定结果不确定度的评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(6): 2352–2355.
Wang HH, Lan Q. Uncertainty evaluation of aerobic plate count by proficiency testing [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(6): 2352–2355.
- [11] 岁源, 吴晓军, 曹俊, 等. 食品检验中菌落总数的不确定度评定[J]. 江苏卫生保健, 2013, 15(6): 6–8.
Sui Y, Wu XJ, Cao J, *et al.* Uncertainty evaluation of aerobic plate count in food detection [J]. Jiangsu Health Care, 2013, 15(6): 6–8.
- [12] 周婕, 姚铃铃, 廖惠青. 农村饮用水菌落总数测量不确定度的评定[J]. 医学动物防制, 2014, 30(7): 814–816.
Zhou J, Yao LL, Liao HQ. Evaluation of total bacterial colonies in rural drinking water uncertainty [J]. J Med Pest Control, 2014, 30(7): 814–816.
- [13] 刘培海, 王玉兰, 郑家利, 等. 进口瓶装饮用水菌落总数不确定度的评定[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(7): 992–994.
Liu PH, Wang YL, Zheng JL, *et al.* Uncertainty evaluation of aerobic plate count in imported bottled drinking water [J]. Chin J Health Lab Technol, 2014, 24(7): 992–994.
- [14] 杨翠云, 周逞丽. GUM 法对食品中菌落总数测定的不确定度评定[J]. 实用预防医学, 2014, 21(4): 494–496.
Yang CY, Zhou CL. Uncertainty evaluation of aerobic plate count in food detection by GUM method [J]. Pract Prev Med, 2014, 21(4): 494–496.
- [15] 王似锦, 张光华, 刘文杰, 等. 保健食品菌落总数测定中国标方法与培养基稀释法的比较研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(13): 1886–1888.
Wang SJ, Zhang GH, Liu WJ, *et al.* Comparison of GB method and medium dilution method in aerobic plate count (APC) determination in health food [J]. Chin J Health Lab Technol, 2014, 24(13): 1886–1888.

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



汪艳玲, 主管技师, 主要研究方向为微生物检验。
E-mail: wangyl1982@163.com