

НЕОПРЕДЕЛЕННОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ И ДРОЖЖЕЙ В МЯСНОЙ ПРОДУКЦИИ

Петлицкая А.А., студент 6 курса; Заяц Н.И., к.т.н., доцент
УО «Белорусский государственный технологический университет»

Определение плесневых грибов и дрожжей в пищевых продуктах и кормах для животных осуществляется по ГОСТ 10444.12 [1]. Метод основан на высеве определенного количества продукта или его разведений на питательные среды, культивировании посевов и последующем подсчете колоний дрожжей и плесневых грибов, типичных по макро и (или) микроскопической морфологии.

Так как метод является количественным, то точность полученных результатов можно оценивать неопределенностью.

Цель – разработать методику оценки неопределенности и рассчитать неопределенность определения плесневых грибов и дрожжей в мясной продукции.

Распространенным и наиболее часто используемым методом оценки неопределенности является метод «моделирования», который состоит в разработке модели измерения, в которую входят все влияющие величины, получении оценки неопределенности от каждой из них, используя законы их распределения, и оценки суммарной неопределенности [2]. Этот метод широко используется для физико-химических измерений и не дает удовлетворительных результатов при микробиологическом анализе пищевых продуктов, так как трудно построить модель, которая бы охватывала все этапы измерительного процесса. Из-за возможности упустить из виду какие-либо значимые источники неопределенности имеется высокий риск недооценить истинную величину неопределенности. Более того, в микробиологии трудно с достаточной точностью количественно оценить вклад каждого отдельного шага в аналитическом процессе, потому что аналитом являются живые организмы, физиологический статус которых может быть весьма разнообразным и аналитическая цель может включать в себя различные виды, штаммы или различные роды микроорганизмов.

В связи с этим для оценки неопределенности микробиологического анализа был использован «эмпирический» или «глобальный подход» основанный на проведении экспериментальных исследований с варьированием как можно большего количества влияющих факторов и оценке стандартного отклонения воспроизводимости [3].

Основными источниками неопределенности в пищевой микробиологии являются: отбор проб/первичное разведение; матрица, оборудование, культуральная среда и реактивы; оператор и время проведения анализа; остаточные случайные погрешности. Все эти источники учитывают влияние случайных факторов при проведении анализа. Для учета систематической составляющей неопределенности необходимо оценить смещение по истинному значению, например с использованием стандартного образца. Так как на практике при микробиологическом анализе не всегда представляется возможным установить истинное значение, то смещение не принимается в расчет при оценке неопределенности. Но так как лаборатории подтверждают техническую компетентность путем сличительных испытаний, то считается, что величина лабораторного смещения находится под контролем.

Стандартное отклонение воспроизводимости может быть оценено по результатам, полученным в условиях внутрилабораторного или межлабораторного эксперимента, а также по данным межлабораторных испытаний, проводимых с целью оценки технической компетентности лаборатории. Предпочтительно для лаборатории использовать результаты внутрилабораторного эксперимента, так как они позволяют оценить неопределенность результатов, полученных в условиях конкретной лаборатории.

Экспериментальные исследования с целью оценки неопределенности определения плесневых грибов и дрожжей проводились в испытательной лаборатории ОАО «Минский мясокомбинат». Так как на величину неопределенности результатов определения плесневых грибов и дрожжей может оказывать влияние матрица пищевого продукта, то были проведены экспериментальные исследования на различных образцах мясной продукции, таких как мясной фарш, ливерная колбаса и докторская вареная колбаса.

Определение плесневых грибов и дрожжей осуществляли по стандартной процедуре (ГОСТ 10444.12). Подготовленную в соответствии с ГОСТ 26669 исходную суспензию или ее десятикратное разведение высевали в чашки Петри, посеvy заливали расплавленной и охлажденной питательной средой, инкубировали в аэробных условиях при температуре $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 5 суток.

Количество выросших дрожжей или плесневых грибов (КОЕ) вычисляли по формуле

$$\frac{\sum C}{n_1 + n_2 \cdot 0,1} \cdot 10^n$$

где $\sum C$ – сумма всех подсчитанных колоний на чашках Петри в двух последовательных разведениях;

n_1 – количество чашек Петри, подсчитанное для меньшего разведения, т.е. для более концентрированного разведения продукта;

n_2 – количество чашек Петри, подсчитанное для большего разведения;

n – степень разведения продукта (для меньшего разведения).

Каждая проба продукта была проанализирована в разных условиях (условия А и В). Условия должны отличаться друг от друга настолько, насколько это возможно, и в идеале должны включать в себя как можно больше вариаций, какие только могут возникнуть в лаборатории. В нашем случае это: разные операторы, разное время, разные среды, различные измельчители, разные инкубаторы, разное оборудование для сухой стерилизации, разные операторы при подсчете результатов, разная температура в инкубаторе, разные методы посева, разная мерная посуда. Всего было получено по каждому образцу 10 результатов в условиях А и В по два параллельных результата в одних условиях.

Результаты подсчета числа колоний, выраженных как КОЕ/г были пересчитаны в $\log_{10}(\text{КОЕ/г})$.

Стандартное отклонение внутрилабораторной воспроизводимости рассчитывали по формуле

$$S_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}}$$

где y_{iA} , y_{iB} – результаты, выраженные в логарифмической шкале $\log_{10}(\text{КОЕ/г})$.

Так как количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в чашках Петри не велико, то предполагается, что оно подчиняется Пуассоновскому закону распределения. Случайная погрешность, рассчитанная исходя из распределения Пуассона, учитывается при оценке расширенной неопределенности.

Если результат испытаний выражен в логарифмических единицах, то расширенная неопределенность U , с учетом того, что коэффициент охвата равен 2 (что примерно соответствует вероятности $P=0,95$) может быть определена по следующему уравнению

$$U = 2 \sqrt{S_R^2 + \frac{0,18861}{\sum C}}$$

где S_R – стандартное отклонение внутрилабораторной воспроизводимости;

$\frac{0,18861}{\sum C}$ – компонента дисперсии, возникающая вследствие

Пуассоновского распределения.

Результаты расчета стандартного отклонения внутрилабораторной воспроизводимости S_R и расширенной неопределенности для разных видов матрицы представлены в таблице .

Как видно из представленных в таблице результатов, существенный вклад в неопределенность вносит дисперсия результатов определения колониеобразующих единиц, рассчитанная исходя из распределения Пуассона, что связано с низким их значением.

Таблица – Неопределенность определения плесневых грибов и дрожжей

Результаты расчетов, КОЕ/г	Котлетный фарш		Колбасное изделие «Колбаса ливерная»		Колбаса вареная «Докторская новая»	
	дрожжи	плесень	дрожжи	плесень	дрожжи	плесень
СКО внутрилаб. восп-ти, S_R , $\log_{10}(\text{КОЕ/г})$	0,016	0,009	0,024	0,015	0,017	0,011
$\frac{0,18861}{\sum C} \log_{10}(\text{КОЕ/г})$	0,025	0,022	0,029	0,023	0,025	0,022
Расширенная неопределенность, U , $\log_{10}(\text{КОЕ/г})$	0,060	0,049	0,075	0,055	0,060	0,049
Расширенная неопределенность, U , %	5,3	3,9	7,2	4,5	5,1	3,8

Значения неопределенности мало зависят от матрицы продукта, так как все исследуемые продукты представляли из себя хорошо перемешанные твердые продукты. Несколько выше неопределенность определения плесневых грибов и дрожжей в ливерной колбасе.

Результаты оценки неопределенности дрожжей в 1,5 раза выше, чем плесневых грибов, что очевидно, связано с меньшими размерами их колоний, а, следовательно, большим разбросом значений при их подсчете.

Таким образом, эмпирический подход является достаточно надежным способом оценки неопределенности результатов микробиологического анализа.

1. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов: ГОСТ 10444.12–2013. Введ. 01.07.2015. – М: «Стандартинформ», 2014. 10 с.

2. Руководство ЕВРАХИМ/СИТАК Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях, перевод с английского, Санкт-Петербург: ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 2002. 149 с.

3. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководство по оценке неопределенности измерений при количественных определениях: ГОСТ Р 54502-2011/ISO/TS 19036:2006. Введ. 01.01.2013. – М: «Стандартинформ», 2012. 27 с.