

KHẢO SÁT ĐỘ KHÔNG ĐẢM BẢO ĐO NỀN MẪU MỘT SỐ NHÓM THỰC PHẨM BỔ SUNG ĐỐI VỚI PHÉP THỬ ĐỊNH LƯỢNG COLIFORMS THEO ISO 19036:2019

Đến tòa soạn 28-09-2024

Đoàn Lâm Kiều My¹, Trương Huỳnh Anh Vũ^{2*}, Võ Thị Xuyên¹,
Nguyễn Hoàng Khuê Tú³

¹Khoa Công nghệ Ứng Dụng, Trường Đại học Văn Lang,
Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Phòng Vi sinh, Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thí nghiệm thành phố Hồ Chí Minh,
Việt Nam

³ Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia
thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Email: truonghuynhanhvu@yahoo.com

SUMMARY

MATRIX UNCERTAINTY IN SUPPLEMENTED FOOD FOR ENUMERATION COLIFORMS ACCORDING TO ISO 19036:2019

The analysis of 385 dietary supplement samples in liquid and powder forms, revealed a low contamination rate of 2.34% (9 samples tested positive for coliforms). To enhance the accuracy and reliability of coliforms quantification methods outlined in ISO 4832:2006, the study also established a measurement uncertainty dataset for various sample matrices based on ISO 19036:2019. The study identified measurement uncertainty data for four different matrices at three contamination levels (low, medium, and high), as follows: u_{matrix} for vitamin-fortified beverages (0.12 log₁₀; 0.17 log₁₀; 0.16 log₁₀), u_{matrix} for beverages fortified with B vitamins and minerals (0.11 log₁₀; 0.06 log₁₀; 0.23 log₁₀), u_{matrix} for calcium-fortified oatmeal (0.29 log₁₀; 0.16 log₁₀; 0.08 log₁₀), and u_{matrix} for probiotic-fortified milk powder (0.13 log₁₀; 0.13 log₁₀; 0.13 log₁₀). These results offered critical insights for laboratories and enterprises to improve the precision and efficiency of coliforms testing, supporting enhanced food quality and safety standards.

Keywords: Measurement uncertainty, matrix uncertainty, reproducibility, coliforms, supplemented food

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tình trạng an toàn vệ sinh thực phẩm ở Việt Nam hiện nay đang gặp phải nhiều vấn đề thách thức, như thực phẩm bẩn, không rõ nguồn gốc và chứa hóa chất độc hại. Mặc dù có các chương trình tuyên truyền, nhưng nhận thức của người tiêu dùng và các cơ sở sản xuất vẫn còn hạn chế, trong khi các cơ quan chức năng gặp

khó khăn trong việc kiểm tra và xử lý vi phạm. Để cải thiện thực trạng này, việc tăng cường giám sát, phát triển chuỗi cung ứng thực phẩm an toàn và nâng cao ý thức cộng đồng về vệ sinh thực phẩm là điều cần thiết. Trong bối cảnh này, thực phẩm bổ sung cũng không ngoại lệ khi gặp phải vấn đề về chất lượng và an toàn. Nhiều sản phẩm thực phẩm bổ sung trên thị trường không rõ nguồn gốc hoặc chưa

được kiểm tra chất lượng đầy đủ, tiềm ẩn nguy cơ gây hại cho sức khỏe người tiêu dùng. Thực phẩm bổ sung là sản phẩm được sản xuất để bổ sung các dưỡng chất khi chế độ ăn uống hàng ngày không cung cấp đủ. Những sản phẩm này có dạng viên nang, viên nén, bột hoặc chất lỏng và có thể chứa các thành phần bao gồm vitamin, axit amin, khoáng chất, chất béo, probiotic và một lượng chiết xuất thảo dược nhằm hỗ trợ nâng cao sức khỏe và tăng cường khả năng miễn dịch [1]. Mặc dù có công dụng bổ sung các chất cần thiết cho cơ thể nhưng không phải tất cả thực phẩm bổ sung đều đảm bảo an toàn, đặc biệt khi có nguy cơ ô nhiễm vi sinh vật phổ biến như coliforms, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*... và những tác nhân khác [2]. Theo kết quả khảo sát của Jolanta và cộng sự (2019) cho thấy có 3,3% trong tổng số các thực phẩm bổ sung được nghiên cứu đã phát hiện có chứa vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae ở mức vượt quá 10^3 CFU/g và có 86,8% các mẫu nhiễm vi nấm. Bên cạnh đó, nhằm đảm bảo chất lượng kết quả thử nghiệm, ước lượng độ không đảm bảo đo là yêu cầu bắt buộc đối với các phép thử định lượng. Theo ISO 19036:2019, độ không đảm bảo đo được cấu thành từ 03 yếu tố chính đó là: kỹ thuật phân tích, bản chất nền mẫu và giá trị thông kê có ý nghĩa. Trong đó, độ không đảm bảo đo của nền mẫu được xem là có ảnh hưởng lớn đến kết quả thử nghiệm và được ước lượng từ: 1) mẫu có tính chất đồng nhất cao, giá trị $u_{\text{matrix}} = 0,1 \log_{10}$; 2) thừa hưởng các giá trị dựa trên kiến thức và thông tin có sẵn trước đó; 3) dựa vào kết quả khảo sát độ lặp lại (Sr) đối với nhóm nền mẫu không đồng nhất, có chứa các tác nhân ảnh hưởng hoặc ức chế quá trình phát hiện vi sinh vật mục tiêu, từ đó gây khó khăn cho kiểm nghiệm viên trong việc nhận diện và đếm khuẩn lạc điển hình, làm sai lệch kết quả thử nghiệm [4]. Tuy nhiên, đối với nhóm thực

phẩm bổ sung, giá trị độ không đảm bảo đo của nền mẫu hiện nay chưa được khảo sát và công bố. Kết hợp với nhu cầu thực tế, chúng tôi tiến hành khảo sát mức độ nhiễm coliforms và xây dựng bộ dữ liệu độ không đảm bảo đo nền mẫu đối với chỉ tiêu này bằng phương pháp định lượng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

Các nhóm mẫu thực phẩm bổ sung (dạng lỏng và bột) được thu thập từ dịch vụ thử nghiệm tại Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thí nghiệm TP. Hồ Chí Minh (CASE), bao gồm: Nước giải khát có gas bổ sung 500mg vitamin C trong 100mL (NC); Nước giải khát có gas bổ sung 3mg vitamin B3, 0,2 μ g vitamin B6, 0,15 μ g vitamin B12 và 45mg natri, 55mg kali, 30mg canxi trong 100mL (NBM); Bột yến mạch bổ sung 80g canxi trong 100g (BC); và Sữa bột công thức bổ sung 10^6 CFU/g probiotic (*Bifidobacterium lactis*) (SP).

2.2 Môi trường nuôi cấy, chủng chuẩn vi sinh vật

2.2.1 Môi trường nuôi cấy

Nghiên cứu sử dụng môi trường, hóa chất sau: Maximum Recovery Diluent – MRD (Merck/146809), Trypone Soya Agar – TSA (Merck/105458), Violet Red Bile Agar – VRBL (Merck/101406), Brilliant Green Bile Lactose Broth – BGBL (Merck/1054540), Buffered Peptone Water – BPW (Merck/107228).

2.2.2 Chủng chuẩn vi sinh vật

Các chủng chuẩn được sử dụng trong nghiên cứu này gồm: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048, *Enterobacter cloacae* ATCC 23355. Tất cả các chủng được lưu giữ trong các ống Cryobank ở nhiệt độ –

70°C tại Phòng Vi sinh - Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thí nghiệm TP. HCM.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Phương pháp xác định cỡ mẫu

Nghiên cứu áp dụng công thức tính cỡ mẫu (1):

$$n = \frac{z^2(p \cdot q)}{e^2} \quad (1)$$

Trong đó: z là giá trị phân phối, tương ứng với độ tin cậy 95% thì giá trị $z = 1,96$; p : tỷ lệ % ước tính của thực phẩm không đạt chỉ tiêu vi sinh, $p = 0,05$ (với tỷ lệ thực phẩm không đạt chỉ tiêu chưa biết); e : sai số mong muốn, $e = 0,05$.

Sau khi tính toán, cỡ mẫu cần sử dụng cho nghiên cứu tối thiểu 385 mẫu thực phẩm.

2.3.2 Phương pháp định lượng coliforms bằng kỹ thuật đếm khuẩn lạc

Phương pháp định lượng coliforms theo ISO 4832:2006 [5], bao gồm các bước: (i) Chuẩn bị mẫu thử, huyền phù ban đầu và dịch pha loãng theo ISO 6887-1:2017/Amd 1:2024 [6]; (ii) Cấy và ủ mẫu: Dùng pipet vô trùng hút 1mL mẫu thử (đối với sản phẩm dạng lỏng hoặc các dịch pha loãng đối với mẫu rắn) và cấy vào các đĩa petri vô trùng. Tiếp theo, rót vào các đĩa petri khoảng 15mL thạch VRBL đã được giữ ấm ở nhiệt độ 45°C. Trộn đều, sau khi thạch hoàn toàn đông đặc, rót lên bề mặt môi trường đã cấy khoảng 4mL thạch VRBL, để đông. Lật ngược và đặt các đĩa petri vào tủ ấm, ủ ở 37°C trong 24 ± 2 giờ; (iii) Đếm khuẩn lạc: Lựa chọn các đĩa có từ 10 đến 150 khuẩn lạc, đếm khuẩn lạc có màu đỏ ánh tím với đường kính từ 0,5 mm trở lên (thình thoảng có vùng mật tủa đỏ nhạt xung quanh). Những khuẩn lạc này được xác định là khuẩn lạc coliforms điển hình và không cần phải thực hiện các bước xác nhận thêm; (iv) Khẳng định: Chọn và cấy

05 khuẩn lạc không điển hình vào các ống nghiệm chứa canh BGBL và ủ ở 37°C trong vòng 24 ± 2 giờ. Các ống nghiệm có sinh khí trong ống Durham được xem là có chứa coliforms.

2.3.3 Phương pháp tạo mẫu nhiễm nhân tạo

Phương pháp xác định mật độ chủng chuẩn được thực hiện theo ISO 16140-3 [7] bao gồm các bước sau: (i) Hoạt hóa chủng chuẩn: Chuyển các hạt Cryobank vào canh BPW và ủ ở 37°C trong 24 ± 2 giờ; (ii) Xác định mật độ chủng chuẩn: Tiếp tục pha loãng và hút 0,1mL cấy trải lên đĩa thạch TSA ứng với từng nồng độ pha loãng; (iii) Tạo mẫu nhiễm nhân tạo: Sau khi xác định mật độ của chủng chuẩn, cấy 1mL dung dịch pha loãng đã chọn vào huyền phù ban đầu của từng mẫu thử riêng biệt, với ba mức nhiễm thấp/trung bình/cao.

2.3.4 Ước lượng độ không đảm bảo đo nền mẫu thực phẩm bổ sung với phép thử định lượng coliforms

Để ước tính độ không đảm bảo đo của nền mẫu, nhiều phép thử lặp lại được thực hiện với cùng một mẫu dưới điều kiện thử nghiệm giống nhau. Thí nghiệm bao gồm 11 phần mẫu thử (11 x 10g), mỗi phần đại diện cho các mức nhiễm vi sinh vật khác nhau (thấp/trung bình/cao) của từng loại nền mẫu [4].

Kết quả sẽ được tính toán dựa trên công thức (2).

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \bar{y})^2}{n-1}} \quad (2)$$

Trong đó: S_r là độ lệch chuẩn lặp lại; n : số lượng mẫu thử nghiệm, $n = 11$; y_i là kết quả được chuyển đổi $\log_{10}$ của phần mẫu thử i và $\bar{y}$ là giá trị trung bình của các kết quả tính bằng CFU/g..

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Tỷ lệ nhiễm coliforms trong các nhóm mẫu thực phẩm bổ sung

Kết quả khảo sát mức độ nhiễm coliforms, phát hiện 9/385 mẫu nhiễm, chiếm tỷ lệ 2,34%. So với các loại thực phẩm khác, tỷ lệ nhiễm này là khá thấp, điều này phản ánh quy trình sản xuất và hệ thống kiểm soát vi sinh vật tại các cơ sở sản xuất thực phẩm bổ sung khá nghiêm ngặt và hiệu quả. Mặt khác, một số nhóm thực phẩm bổ sung có khả năng kháng khuẩn nội tại thông qua hoạt tính sinh học của các chất được bổ sung vào. Điều này có thể được xem là tính năng kép của các sản phẩm thực phẩm bổ sung, vừa cải thiện chất lượng vừa ổn định thời gian bảo quản sản phẩm.

3.2 Khảo sát sự ảnh hưởng của nền mẫu thực phẩm bổ sung đối với vi sinh vật

Theo ISO 19036, để xác định độ không đảm bảo đo của nền mẫu thì nên sử dụng các mẫu nhiễm tự nhiên, tuy nhiên tỷ lệ nhiễm coliforms của các nhóm mẫu khảo sát thấp nên nhóm nghiên cứu phải tạo mẫu nhiễm nhân tạo để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo. Bên cạnh đó, các đối tượng nghiên cứu thường có thành phần bổ sung hoặc có sẵn chất ức chế sự phát triển của vi sinh vật mục tiêu. Do vậy, để tiến hành thực hiện phân tích lặp lại các mẫu gây nhiễm nhân tạo chúng tôi tiến hành khảo sát khả năng ảnh hưởng của nền mẫu đối với nhóm vi sinh vật mục tiêu, kết quả được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nền mẫu đối với vi sinh vật mục tiêu

S T T	Nền mẫu	Hỗn hợp chủng chuẩn coliforms gây nhiễm vào mẫu			
		Trước		Sau	
		CFU/mL	log ₁₀	CFU/g (mL)	log ₁₀
1	NC	1,0x10 ⁹	9,0	7,6x10 ⁷	7,9
2	NBM	2,4x10 ⁹	9,4	2,2x10 ⁹	9,3
3	BC	2,4x10 ⁹	9,3	3,0x10 ⁷	7,5
4	SP	2,4x10 ⁹	9,4	2,8x10 ⁷	7,5

Kết quả từ Bảng 1 chỉ ra rằng mật độ chủng chuẩn vi sinh vật có sự thay đổi trước và sau khi nhiễm vào mẫu. Cụ thể, các nhóm mẫu NC, BC và SP giảm khoảng 2,0 log₁₀, trong khi nhóm mẫu NBM không có sự thay đổi nào về mật độ vi sinh vật trước và sau khi nhiễm. Điều này cho thấy nền mẫu thực phẩm bổ sung đang được khảo sát có thể chứa một số thành phần có khả năng ức chế sự phát triển của vi sinh vật. Dựa trên kết quả này, nhóm nghiên cứu đã tiến hành tính toán và tối ưu hóa nồng độ dung dịch chủng chuẩn để đảm bảo có thể nhiễm vào mẫu cần khảo sát đạt được ba mức nhiễm (thấp/trung bình/cao).

3.3 Kết quả khảo sát độ không đảm bảo đo nền mẫu của các nhóm thực phẩm bổ sung

Sau khi thu được kết quả về ảnh hưởng của nền mẫu đối với chủng chuẩn vi sinh vật, nhóm nghiên cứu tiếp tục tiến hành tạo mẫu nhiễm nhân tạo với ba mức nhiễm (huyền phù ban đầu) thấp (10¹ CFU/mL), trung bình (10² CFU/mL) và cao (10³ CFU/mL). Mỗi mức nhiễm được áp dụng cho từng nền mẫu tương ứng và thực hiện thử nghiệm lặp lại 11 lần. Kết quả độ lệch chuẩn của các phép lặp lại được tính toán dựa trên công thức (2).

Bảng 2. Độ lệch chuẩn lặp lại (S_r) của nhóm mẫu NC

Số lần lặp lại	Mức nhiễm					
	Thấp		Trung bình		Cao	
	CFU/mL	Log ₁₀ CFU/mL	Log ₁₀ CFU/mL	Log ₁₀ CFU/mL	Log ₁₀ CFU/mL	Log ₁₀ CFU/mL
1	3,6x10 ¹	1,56	2,6x10 ²	2,42	4,6x10 ³	3,66
2	4,6x10 ¹	1,67	2,6x10 ²	2,42	3,9x10 ³	3,59
3	2,9x10 ¹	1,46	7,0x10 ²	2,85	4,8x10 ³	3,68
4	1,9x10 ¹	1,27	5,6x10 ²	2,75	5,2x10 ³	3,72
5	2,4x10 ¹	1,38	2,6x10 ²	2,42	5,0x10 ³	3,70
6	1,9x10 ¹	1,28	3,9x10 ²	2,59	2,2x10 ³	3,35
7	3,1x10 ¹	1,49	2,2x10 ²	2,33	5,6x10 ³	3,75
8	3,5x10 ¹	1,54	3,2x10 ²	2,50	3,6x10 ³	3,56
9	3,3x10 ¹	1,52	2,9x10 ²	2,47	3,4x10 ³	3,54
10	3,1x10 ¹	1,50	5,8x10 ²	2,76	3,2x10 ³	3,51
11	3,0x10 ¹	1,48	3,8x10 ²	2,58	4,2x10 ³	3,62
S _r	0,12 log ₁₀		0,17 log ₁₀		0,16 log ₁₀	

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, độ lệch chuẩn lặp lại của nhóm mẫu NC lần lượt thấp/trung bình/cao là 0,12 log₁₀; 0,17 log₁₀ và 0,16 log₁₀.

Với nhóm mẫu NBM, kết quả khảo sát độ lệch chuẩn lặp lại ở mức nhiễm thấp là 0,11 log₁₀; trung bình là 0,06 log₁₀ và cao là 0,23 log₁₀ được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Độ lệch chuẩn lặp lại S_r của nhóm mẫu NBM

Số lần lặp lại	Mức nhiễm					
	Thấp		Trung bình		Cao	
	CFU/mL	Log ₁₀	CFU/mL	Log ₁₀	CFU/mL	Log ₁₀
1	2,3x10 ⁻¹	1,36	1,3x10 ⁻²	2,13	2,5x10 ⁻³	3,40
2	1,5x10 ⁻¹	1,19	1,4x10 ⁻²	2,16	2,1x10 ⁻³	3,32
3	1,9x10 ⁻¹	1,28	1,4x10 ⁻²	2,15	1,5x10 ⁻³	3,18
4	1,7x10 ⁻¹	1,23	1,5x10 ⁻²	2,17	2,9x10 ⁻³	3,46
5	1,9x10 ⁻¹	1,28	1,4x10 ⁻²	2,15	2,5x10 ⁻³	3,40
6	1,5x10 ⁻¹	1,19	1,9x10 ⁻²	2,28	4,7x10 ⁻³	3,67
7	1,7x10 ⁻¹	1,23	1,4x10 ⁻²	2,14	4,8x10 ⁻³	3,68
8	2,0x10 ⁻¹	1,31	1,2x10 ⁻²	2,08	5,7x10 ⁻³	3,76
9	2,4x10 ⁻¹	1,38	1,5x10 ⁻²	2,18	1,3x10 ⁻³	3,11
10	1,8x10 ⁻¹	1,26	1,9x10 ⁻²	2,29	6,3x10 ⁻³	3,80
11	3,9x10 ⁻¹	1,59	1,5x10 ⁻²	2,18	3,6x10 ⁻³	3,56
S_r	0,11 log ₁₀		0,06 log ₁₀		0,23 log ₁₀	

Kết quả Bảng 4 cho thấy độ lệch chuẩn của nhóm BC có xu hướng giảm dần theo mức độ nhiễm vi sinh vật mục tiêu tăng. Với các giá trị lần lượt là 0,29 log₁₀, 0,16 log₁₀ và 0,08 log₁₀ đối với mức nhiễm thấp/trung bình/cao.

Bảng 4. Độ lệch chuẩn lặp lại S_r của nhóm mẫu BC

Số lần lặp lại	Mức nhiễm					
	Thấp		Trung bình		Cao	
	CFU/g	Log ₁₀	CFU/g	Log ₁₀	CFU/g	Log ₁₀
1	1,8x10 ⁻¹	1,26	1,9x10 ⁻²	2,28	6,5x10 ⁻³	3,81
2	2,1x10 ⁻¹	1,32	1,2x10 ⁻²	2,08	1,1x10 ⁻⁴	4,04
3	3,5x10 ⁻¹	1,54	1,6x10 ⁻²	2,20	7,9x10 ⁻³	3,90
4	3,5x10 ⁻¹	1,54	1,3x10 ⁻²	2,10	9,1x10 ⁻³	3,96
5	7,2x10 ⁻¹	1,86	1,1x10 ⁻²	2,04	1,2x10 ⁻⁴	4,08
6	6,2x10 ⁻¹	1,79	9,1x10 ⁻¹	1,96	9,5x10 ⁻³	3,98
7	3,2x10 ⁻¹	1,51	2,5x10 ⁻²	2,40	1,2x10 ⁻⁴	4,08
8	2,4x10 ⁻¹	1,38	2,6x10 ⁻²	2,41	9,8x10 ⁻³	3,99
9	6,6x10 ⁻¹	1,82	1,9x10 ⁻²	2,28	1,2x10 ⁻⁴	4,08
10	8,5x10 ⁻¹	1,93	9,5x10 ⁻¹	1,98	1,1x10 ⁻⁴	4,04
11	1,6x10 ⁻²	2,21	2,1x10 ⁻²	2,32	1,1x10 ⁻⁴	4,04
S_r	0,29 log ₁₀		0,16 log ₁₀		0,08 log ₁₀	

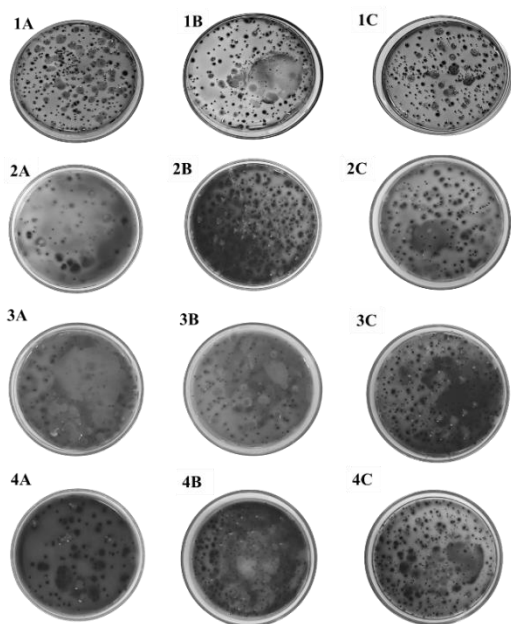
Còn đối với nhóm mẫu SP, độ lệch chuẩn lặp lại ở cả ba mức nhiễm là 0,13 log₁₀ (Bảng 5).

Bảng 5. Độ lệch chuẩn lặp lại S_r của nhóm mẫu SP

Số lần lặp lại	Mức nhiễm					
	Thấp		Trung bình		Cao	
	CFU/g	Log ₁₀	CFU/g	Log ₁₀	CFU/g	Log ₁₀
1	1,1x10 ⁻¹	1,04	2,6x10 ⁻²	2,41	7,9x10 ⁻²	2,90
2	1,7x10 ⁻¹	1,23	2,0x10 ⁻²	2,30	1,0x10 ⁻³	3,04
3	2,0x10 ⁻¹	1,30	1,2x10 ⁻²	2,08	6,7x10 ⁻²	2,83
4	1,8x10 ⁻¹	1,26	1,4x10 ⁻²	2,15	1,0x10 ⁻³	3,00
5	1,2x10 ⁻¹	1,08	1,8x10 ⁻²	2,26	1,5x10 ⁻³	3,18
6	1,1x10 ⁻¹	1,04	1,1x10 ⁻²	2,04	1,4x10 ⁻³	3,15
7	1,2x10 ⁻¹	1,08	1,3x10 ⁻²	2,11	7,6x10 ⁻²	2,88
8	1,3x10 ⁻¹	1,11	1,7x10 ⁻²	2,23	6,9x10 ⁻²	2,84
9	1,4x10 ⁻¹	2,15	9,5x10 ⁻¹	1,98	6,6x10 ⁻²	2,82
10	1,2x10 ⁻¹	1,08	1,2x10 ⁻²	2,08	1,2x10 ⁻³	3,08
11	2,9x10 ⁻¹	1,46	2,0x10 ⁻²	2,30	1,2x10 ⁻³	3,08
S_r	0,13 log ₁₀		0,13 log ₁₀		0,13 log ₁₀	

Kết quả nghiên cứu cho thấy, đối với mức nhiễm thấp thì nhóm mẫu NBM có giá trị u_{matrix} thấp nhất (0,11 log₁₀), kế tiếp là NC (0,12 log₁₀) và SP (0,13 log₁₀), nhóm mẫu BC có giá trị u_{matrix} cao nhất là 0,29 log₁₀. Ở mức nhiễm trung bình, nhóm mẫu NC có u_{matrix} = 0,17 log₁₀ cao nhất, tiếp đến là BC 0,16 log₁₀ và NC là nền mẫu có u_{matrix} thấp nhất 0,06 log₁₀. Còn ở mức nhiễm cao, có thể thấy nền mẫu BC có u_{matrix} thấp nhất 0,08 log₁₀, sau đó là NC (0,16 log₁₀); SP là 0,13 log₁₀ và cuối cùng là NBM có u_{matrix} cao nhất 0,23 log₁₀. Qua kết quả khảo sát cũng ghi nhận sự ổn định của nhóm mẫu SP qua từng mức nhiễm khác nhau với u_{matrix} = 0,13 log₁₀.

Ngoài ra, các nhóm mẫu nghiên cứu có ảnh hưởng rất lớn đến khả năng phát triển của các khuẩn lạc coliforms điển hình trên môi trường thạch VRBL (Hình 1). Điều này gây khó khăn cho kiểm nghiệm viên trong việc nhận biết hình dáng, kích thước, màu sắc của khuẩn lạc và ảnh hưởng đến chất lượng của kết quả thử nghiệm. Đồng thời, cũng phù hợp với kết quả u_{matrix} mà nghiên cứu thu nhận có sự biến thiên cao giữa các nhóm mẫu và mức độ nhiễm hỗn hợp chủng chuẩn vi sinh vật.



Hình 1. Hình dạng khác nhau của khuẩn lạc coliforms trên các nhóm mẫu ở từng mức nhiễm khác nhau

Chú thích: 1- NC; 2- NBM; 3- BC; 4- SP

A: Mức nhiễm thấp; **B:** Mức nhiễm trung bình; **C:** Mức nhiễm cao

4. KẾT LUẬN

Mức độ nhiễm coliforms của nhóm mẫu thực phẩm bổ sung là 9/385 mẫu (2,34%), cho thấy tỷ lệ nhiễm này khá thấp. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu đã xác định được bộ dữ liệu độ không đảm bảo đo của 4 nhóm thực phẩm bổ sung với các mức nhiễm khác nhau: u_{matrix} NC (0,12 $\log_{10}$; 0,17 $\log_{10}$; 0,16 $\log_{10}$); u_{matrix} NBM (0,11 $\log_{10}$; 0,06 $\log_{10}$; 0,23 $\log_{10}$); u_{matrix} BC (0,29 $\log_{10}$; 0,16 $\log_{10}$; 0,08 $\log_{10}$) và u_{matrix} SP (0,13 $\log_{10}$; 0,13 $\log_{10}$; 0,13 $\log_{10}$). Dữ liệu nghiên cứu nhằm hỗ trợ các phòng thử nghiệm vi sinh thực phẩm đảm bảo chất lượng kết quả phù hợp với tiêu chuẩn ISO/IEC 17025:2017; phục vụ cơ quan quản lý nhà nước trong việc đánh giá sự phù hợp chất lượng sản phẩm, hàng hóa nói chung và xây dựng quy chuẩn kỹ thuật quốc gia cho nhóm đối tượng này nói riêng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bộ Y Tế, (2014). Quy định về quản lý thực phẩm chức năng (Điều 1 theo Thông tư 43/2014/TT-BYT).
- [2]. Đoàn Lâm Kiều My, Trương Huỳnh Anh Vũ, Võ Thị Xuyên, (2024). Khảo sát tỷ lệ nhiễm và độ không đảm bảo đo của nền mẫu thực phẩm bổ sung đối với phép thử định lượng coliforms theo ISO 13036:2019, Trường Đại học Văn Lang, Barcode: D25525.
- [3]. Jolanta D., Magdalena R., Dorota K., Marzena G., (2019). Are dietary supplements containing plant-derived ingredients safe microbiologically? *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27, 240-245.
- [4]. International Standard, (2019). *Microbiology of the food chain - Estimation of measurement uncertainty for quantitative*. ISO 19036. <https://www.iso.org/standard/71899.html>
- [5]. International Standard, (2006). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coliforms - Colony count technique*. ISO 4832. <https://www.iso.org/standard/38282.html>
- [6]. International Standard, (2024). *Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination*. ISO 6887-1/Amd 1. <https://www.iso.org/standard/83205.html>
- [7]. International Standard, (2021). *Microbiology of the food chain - Method validation - Part 3: Protocol for the verification of reference methods and validated alternative methods in a single laboratory*. ISO 16140-3. <https://www.iso.org/standard/66324.html>.