

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN VIỆT NAM**

**TCVN 4887 : 1989**

**(ST SEV 3014 - 1981)**

**SẢN PHẨM THỰC PHẨM VÀ GIA VỊ**  
**CHUẨN BỊ MẪU ĐỂ PHÂN TÍCH VI SINH VẬT**

**HÀ NỘI**

Cơ quan biên soạn: Trung tâm Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng

Cơ quan đề nghị ban hành và trình duyệt:

Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng

Cơ quan xét duyệt và ban hành:

Ủy ban Khoa học và kỹ thuật Nhà nước

Quyết định ban hành số 695/QĐ ngày 25 tháng 12 năm 1989.

# Sản phẩm thực phẩm và gia vị - Chuẩn bị mẫu để phân tích vi sinh vật

Food products - Preparation of test samples for microbiological analysis

Tiêu chuẩn này hoàn toàn phù hợp với ST SEV 3014 - 81.

## 1. Yêu cầu chung

1.1. Nhiệt độ giữ mẫu và thời hạn cho phép để đưa mẫu đến phòng thử nghiệm theo quy định trong TCVN 4886 - 89.

1.2. Mẫu đưa đến phòng thử nghiệm phải được bảo quản ở nhiệt độ phòng, trong tủ lạnh, buồng lạnh hay giữ trong tủ ấm tương ứng theo các yêu cầu đối với điều kiện bảo quản hoặc giữ ở nhiệt độ ổn định theo đúng yêu cầu quy định trong tiêu chuẩn đối với sản phẩm đó.

1.3. Đối với những sản phẩm chóng hỏng và nước giải khát, nếu không có những chỉ dẫn nào khác quy định trong tiêu chuẩn đối với sản phẩm cụ thể thì bảo quản ở nhiệt độ 0°C đến 5°C.

1.4. Từ mỗi đơn vị sản phẩm được lấy theo TCVN 4886 - 89 tùy theo số chỉ tiêu cần xác định, cần chuẩn bị một hay một số mẫu cần để chuẩn bị pha loãng và (hay) nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng.

## 2. Trình tự chuẩn bị mẫu để phân tích

2.1. Nếu thử đem đến phòng thử nghiệm trước hết phải được kiểm tra xem xét về sự phù hợp của nhãn và số đăng ký so với tài liệu kèm theo.

## **TCVN 4887 : 1989**

2.2. Cần ghi vào số thời gian (ngày, giờ) đưa mẫu đến phòng thử tài liệu làm cơ sở để phân tích; thời gian (ngày, giờ) bắt đầu phân tích; những chỉ tiêu cần xác định; số đơn vị sản phẩm dùng để phân tích theo từng chỉ tiêu ; phương pháp chuẩn bị sản phẩm để phân tích và khối lượng (thể tích) mẫu cần được chuẩn bị để nuôi cấy trực tiếp trong môi trường dinh dưỡng hay dùng để pha loãng; hệ số pha loãng và mức pha loãng cần thiết của mẫu cần.

2.3. Bỏ bao gói bẩn hay tẩy sạch chỗ bẩn trên bao gói. Đối với bao bì thủy tinh, kim loại hay chất dẻo đựng kín sản phẩm, cần dùng nước tẩy rửa để làm sạch, sau đó tráng qua bằng nước sạch rồi sấy khô. Đối với bao bì không kín thì dùng miếng tẩm bông tẩm cồn lau sạch.

2.4. Việc phân tích vi sinh các sản phẩm có dạng bên ngoài đạt yêu cầu cần được tiến hành ở nơi đảm bảo vô trùng, đối với các sản phẩm qua xem xét dạng bên ngoài bị nghi ngờ là hư hỏng do vi sinh vật hoặc bị hư hỏng thì phân tích ở trong phòng riêng.

2.5. Nếu sản phẩm đem phân tích được bao gói kín thì cần phải tiến hành kiểm tra độ kín của bao bì và bao gói.

2.6. Đối với sản phẩm lạnh đông trước lúc chuẩn bị để lấy mẫu cần phải làm tan đá, ở nhiệt độ từ 2°C đến 5°C ở ngay trong bao bì dùng để chứa mẫu khi đem đến phòng thử nghiệm. Mẫu cần được chuẩn bị trực tiếp sau khi làm tan đá, nhưng không được chậm quá 18 giờ kể từ khi bắt đầu làm tan đá.

Đối với sản phẩm đông nhất, có thể làm tan đá ở trong tủ ấm ở nhiệt độ 35°C trong điều kiện đảm bảo sự tan đá hoàn toàn kéo dài không quá 15 phút.

### **3. Thiết bị, dụng cụ, thuốc thử**

3.1. Khi chuẩn bị mẫu để phân tích, cần sử dụng.

1. Nồi cách thủy;
2. Máy nghiền dùng cho phòng thí nghiệm;
3. Màng lọc;
4. Đèn cồn hay đèn khí;
5. Cái đột lỗ;
6. Cái mở nút chai;
7. Dao mở hộp;

8. Kéo, dao mổ, cái cạy, dao trộn, thìa;

9. Khuôn mẫu đo diện tích (dưỡng);

10. Ống nghiệm;

11. Bình định mức;

12. Pipét;

13. Nút cao su;

14. Bi thủy tinh;

15. Cồn (étanola) 70%;

16. Chất tẩy rửa;

17. Natri clorua (NaCl);

18. Pepton dùng cho vi khuẩn;

19. Dung dịch muối pepton có pepton được chuẩn bị bằng cách: hoà tan 8,5 g clorua natri và 1,0g pepton vào nước cất đồng thời đốt nóng từ từ. Khi cần thiết có thể lọc trước dung dịch thu được qua giấy lọc sau đó điều chỉnh đến pH 7,0 + 0,1 rồi cho dung dịch đó vào bình tam giác, ống nghiệm hay các dụng cụ thích hợp khác, đậy kín nắp và thanh trùng ở nhiệt độ  $121 + 1^{\circ}\text{C}$  trong 30 phút.

Bảo quản dung dịch trong chỗ tối ở nhiệt độ từ  $0^{\circ}\text{C}$  đến  $5^{\circ}\text{C}$  và không lâu quá 30 ngày trong điều kiện đảm bảo tránh được sự bay hơi.

Trong khi chuẩn bị pha loãng phải giữ nhiệt độ của dung dịch tương ứng với nhiệt độ của mẫu cân sản phẩm đem phân tích.

3.2. Các dụng cụ và bề mặt của các thiết bị tiếp xúc trực tiếp với sản phẩm cần phải được thanh trùng bằng một trong các phương pháp quy định trong TCVN 4886 - 89.

#### **4. Mở bao bì (hay bao gói) của đơn vị sản phẩm**

4.1. Lấy mẫu cân theo phương pháp khối lượng hay thể tích ngay sau khi mở bao bì thương phẩm, chai lọ hay gói giấy bọc phải được tiến hành trong điều kiện tránh được sự ô nhiễm.

4.2. Đối với sản phẩm được bao gói trong bao bì thương phẩm là dạng hạt rời hay lỏng, thì trước lúc mở cần lắc ngược hay lắc vòng bao gói 10 lần.

4.3. Thùng có chứa sản phẩm hay bao bì thương phẩm, trừ đồ hộp, trước lúc mở cần lấy tấm bông tẩm cồn 70% lau sạch nắp hay chỗ bao gói, sau đó đốt cháy hoặc làm bay hơi hết cồn. Mở thùng hay bao bì thương phẩm, hơi nóng xung quanh nắp hộp kim loại hay cổ chai lọ thủy tinh và lấy từ bao gói một lượng với khối lượng (thể tích) cần thiết đủ để chuẩn bị cho một hay một số mẫu cân.

4.4. Đối với các sản phẩm đựng trong túi giấy tráng kim loại, chất dẻo hay giấy thì mở tại chỗ đã được lau sạch bằng tấm bông tẩm cồn. Khi mở bao gói của sản phẩm khô cần chú ý tránh sự ô nhiễm do môi trường xung quanh.

4.5. Đối với đồ hộp có dạng bên ngoài đạt yêu cầu, trước khi mở, cần dùng cồn lau sạch bề mặt bằng một trong các cách sau đây:

1. Đối với chai lọ thủy tinh thì lau ở nắp; hộp sắt tây thì lau ở mặt đối diện với mặt ghi nhãn.

Dùng tấm bông tẩm cồn lau sạch mặt nắp rồi để tấm bông trên nắp và đốt trước lúc mở hộp;

2. Đối với nắp chụp cao su và nắp đậy kim loại, cần dùng tấm bông tẩm cồn lau sạch nhưng không đốt tấm bông. Đối với các loại nút bakêlit và chất dẻo cũng dùng đúng phương pháp này để thanh trùng.

3. Đối với nắp kim loại của các loại đồ hộp có dạng bên ngoài đạt yêu cầu, thì tùy theo mục đích phân tích mà mở hay dùng đột đục 1 - 4 chỗ ở gần tấm bông nóng. Nếu không có những chỉ dẫn riêng nào khác về kích thước lỗ, thì đường kính hay chiều dài lỗ phải trong khoảng 1 - 3cm.

Mẫu cân của sản phẩm phải được nuôi cấy ngay ở môi trường dinh dưỡng hay cho vào dung dịch muối pepton để pha loãng.

4. Trước khi mở chai hay ống có nắp vặn, cần vặn và tháo nắp đã được xử lý hay nút ra. Hơ lửa miệng chai hay màng ngăn của ống; dùng dao mổ vô trùng để cắt màng ngăn.

Trước khi mở chai được đậy kín bằng nắp dập kim loại hay giấy kim loại, cần hơ lửa đầu nắp, sau đó dùng cái mở chai vô trùng mở nắp và lại tiếp tục hơ lửa miệng chai.

Khi mở chai có nút cao su, chỉ cần mở nút đã được tẩm cồn xa mà không cần hơ nóng, sau đó hơ lửa miệng chai.

4.6. Đồ hộp có khuyết tật bên ngoài phải đặt vào khay kim loại: trước khi lấy mẫu cân từ hộp, cần xử lý nắp (hay đáy) bằng phương pháp ghi ở 4.3 nhưng không được đốt cồn. Dùng phễu kim loại vô trùng úp ngược lên nắp hộp (hay đáy) đã được xử lý sao cho phễu che hết được mặt nắp. Dùng đột vô trùng đục một lỗ nhỏ trên nắp (hay đáy) hộp.

Sau khi khí và sản phẩm ngưng không thoát ra thì cất phễu đi, dùng tăm bông thấm cồn lau sạch một lần nữa rồi dùng đột đục rộng lỗ ra và lấy nhanh mẫu cân sản phẩm để nuôi cấy hay pha loãng.

Cho phép dùng túi PE thay cho phễu cất. Sau khi đã xử lý nắp (hay đáy) cân để hộp sắt vào trong túi PE đã được thanh trùng bằng cồn sao cho đáy của túi phủ kín mặt cân mở của hộp. Buộc chặt túi lại ở phía dưới, sau đó cẩn thận đục nhẹ một lỗ thủng xuyên qua cả nắp hộp và túi PE.

Sau khi khí và sản phẩm ngưng không thoát ra nữa, thì đục rộng lỗ ra và lấy mẫu cân sản phẩm theo trình tự như đối với đồ hộp có dạng bên ngoài đạt yêu cầu.

## **5. Lấy mẫu cân**

5.1. Cần lấy các mẫu cân sản phẩm từ bao gói vào lọ vô trùng bằng các dụng cụ vô trùng ngay sau khi mở bao gói ở gần ngọn lửa đèn cồn; cần tiến hành trong điều kiện vô trùng.

Tùy theo chỉ tiêu vi sinh vật cần được xác định và nuôi cấy các mẫu cân được lấy vào môi trường dinh dưỡng và (hay) dùng để chuẩn bị pha loãng ban đầu và loạt pha loãng khác.

5.2. Cần lấy mẫu cân sản phẩm sao cho trong mẫu cân có đầy đủ các thành phần của sản phẩm và theo khả năng có thể, lấy theo đúng tỷ lệ như thành phần cấu tạo của nguyên liệu ban đầu.

5.3. Khối lượng (thể tích) mẫu cân dùng để pha loãng hay nuôi cấy trực tiếp trong môi trường dinh dưỡng phải được quy định trong các tiêu chuẩn đối với sản phẩm cụ thể hoặc phương pháp thử.

## **6. Chuẩn bị pha loãng ban đầu**

6.1. Để chuẩn bị pha loãng ban đầu của sản phẩm, cần lấy khối lượng (thể tích) mẫu cân và thể tích dung dịch muối pepton theo tỷ lệ như sau:

1 + 9 để pha loãng 10 lần (đối với sản phẩm chứa nhiều mỡ và không có chất hoạt động bề mặt thì với tỷ lệ 1 + 10);

1 + 5 để pha loãng 6 lần;

1 + 3 để pha loãng 4 lần;

1 + 1 để pha loãng 2 lần.

6.2. Chuẩn bị pha loãng ban đầu theo nguyên tắc vô trùng bằng một trong các cách sau:

1. Hoà tan sản phẩm;

2. Pha loãng sản phẩm dạng lỏng;

3. Tạo huyền phù của bột, các miếng mẫu của sản phẩm bị ô nhiễm bề mặt và các sản phẩm dạng bột nhão.

4. Đồng nhất hóa các sản phẩm dạng rắn.

6.3. Các mẫu cân của sản phẩm dạng lỏng cần được lấy từ lòng sản phẩm bằng pipet vô trùng có nút bông ngay sau khi mở thùng hay bao bì thương phẩm.

Cho phần sản phẩm còn lại trên bề mặt pipet chảy xuống đầu pipet rồi gạt bỏ giọt tạo thành bằng cách đung nhẹ đầu pipet vào thành trong của thùng hay bao bì thương phẩm, nhưng ở phía trên mặt sản phẩm.

Các sản phẩm nhớt dính được gạt bỏ khỏi bề mặt pipet bằng tấm bông vô trùng

Việc chuyển lượng nhất định của mẫu cân sản phẩm vào dụng cụ chứa được chuẩn bị sẵn để tiến hành pha loãng ban đầu (ống nghiệm, bình tam giác, chai, lọ...) phải đảm bảo sao cho pipet không chạm vào bề mặt của dung dịch muối pepton. Dùng pipet vô trùng khác trộn cẩn thận sản phẩm với dung dịch muối pepton theo độ pha loãng 10 lần và lắc hỗn hợp trên.

Khi tiến hành với các sản phẩm nhớt dính, nên cho vào dụng cụ chứa một ít bi thủy tinh để cho sự pha trộn của sản phẩm với dung dịch muối pepton xảy ra nhanh hơn.

6.4. Cho nước giải khát có ga (CO<sub>2</sub>) vào bình tam giác vô trùng có nút bông hay dụng cụ chứa đựng khác, rồi hơ nóng và đồng thời lắc tròn thường xuyên trên nồi cách thủy ở nhiệt độ từ 30°C đến 37°C cho đến khi không thấy bọt khí thoát ra từ bình.

Mẫu cân cần dùng để phân tích được lấy và xử lý tiếp tục theo 6.3.

6.5. Sau khi mở bao gói sản phẩm dạng bột hay hạt rời cần dùng thìa hay môi vô trùng lấy mẫu cân từ các vị trí khác nhau (khi cần thiết trước lúc lấy mẫu cân có thể dùng thìa vô trùng bỏ 2cm lớp trên của sản phẩm ra), sau đó chuyển mẫu cân vào dụng cụ chứa vô trùng có nắp đậy và đã biết trước khối lượng, rồi đem cân. Thêm vào mẫu cân lượng dung dịch muối pepton cần thiết để chuẩn bị pha loãng ban đầu. Trộn hỗn hợp hay lắc tròn với bán kính 30cm 25 lần đến khi sản phẩm tan hoàn toàn.

Nếu sản phẩm là bột không tan trong nước, thì trộn sản phẩm với dung dịch muối pepton, để yên huyền phù thu được khoảng 10 phút rồi lại khuấy mạnh trong 1 phút.

Đối với sản phẩm nở trong nước, lúc đầu cần tạo huyền phù ở trong dầu ăn vô trùng theo tỷ lệ 1 + 9 và sau đó cho huyền phù đó vào dung dịch muối pepton rồi trộn liên tục.

6.6. Đối với sản phẩm rắn tan trong nước, đã được lấy vô trùng thì cần dùng dao hay đục sắc cắt từ sản phẩm ra lượng mẫu cân cần thiết cho phân tích.



Khi xử lý sản phẩm là chất rắn, cần phá vỡ, cắt nhỏ hay ép sản phẩm thành các phần, sau đó lấy từ phía trên phần vụn đó lượng mẫu cân cần thiết để phân tích.

Nghiền hay giã nhỏ lượng mẫu cân. Dùng muôi hay thìa chuyển lượng sản phẩm được nghiền nhỏ vào dụng cụ chứa có nắp đậy và đã biết trước khối lượng rồi đem cân.

Chuẩn bị pha loãng ban đầu như ở 6.1.

6.7. Đối với sản phẩm có dạng bột nhão, sau khi mở hộp hay bao bì thương phẩm, cần dùng thìa thủy tinh trộn cẩn thận sản phẩm, cần chú ý đảm bảo điều kiện vô trùng khi tiến hành.

Dùng thìa lấy mẫu cân từ các vị trí khác nhau của sản phẩm đã được trộn kỹ, và chuyển vào ống có nắp đã biết trước khối lượng rồi đem cân.

Thêm lượng nhất định dung dịch muối pepton vào mẫu cân trên và trộn cẩn thận theo yêu cầu như ở 6.5.

6.8. Đối với sản phẩm nhuyễn, mịn, cần dùng thìa hay pipet lấy lượng mẫu cân với khối lượng cần thiết cho vào dụng cụ chứa có nắp rồi đem cân.

Chuẩn bị pha loãng ban đầu bằng phương pháp ghi ở 6.1.

6.9. Đồng nhất hóa các sản phẩm rắn không tan trong nước bằng một trong những phương pháp sau:

1) Sử dụng máy nghiền

Trong trường hợp cần thiết, cần cắt bỏ lớp ngoài của miếng sản phẩm từ 3 phía, sau đó dùng dao vô trùng khác cắt miếng sản phẩm trên thành nhiều miếng nhỏ.

Dùng dao mổ lấy mẫu cân ở các vị trí khác nhau trên mặt cắt, dùng dao hay kéo cắt vụn mẫu cân thu được ra và đem cân ở trong lọ có nắp đã biết trước khối lượng, rồi chuyển vào dụng cụ chứa để đồng nhất hóa.

Lượng sản phẩm còn lại bám trên thành lọ được tráng qua bằng lượng nhất định dung dịch muối pepton vào dụng cụ chứa để đồng nhất hóa.

Trong khi hay sau khi kết thúc đồng nhất hóa cần thêm vào sản phẩm một lượng dung dịch muối pepton cần thiết để thu được pha loãng ban đầu.

Nhúng ngập máy nghiền dùng để đồng nhất hóa sản phẩm vào hỗn hợp sản phẩm với dung dịch muối pepton.

## TCVN 4887 : 1989

Trong thời gian đồng nhất hóa số vòng quay phải đạt tới 15000 - 20000. Thời gian để đồng nhất hóa không được vượt quá 2,5 phút.

Tần số quay của động cơ điện không được nhỏ hơn 8000 vòng/phút và cũng không được lớn hơn 45000 vòng/phút.

### 2) Dùng máy kiểu KOLVORT XTOMAKHER để đồng nhất hóa

Chuyển mẫu cân sản phẩm được chuẩn bị theo 6.7.1 từ lọ vào túi chất dẻo đã thanh trùng và cho thêm vào túi lượng dung dịch muối pepton cần thiết để thu được là pha loãng ban đầu. Bắt đầu đồng nhất hóa sau khi đã cho túi có hỗn hợp sản phẩm với dung dịch muối pepton vào máy, tiến hành đồng nhất hóa theo đúng quy định vận hành máy.

Mẫu cân của sản phẩm hỗn hợp gồm chất rắn và lỏng cần được đồng nhất hóa theo tỷ lệ gần đúng như tỷ lệ của chúng trong sản phẩm ban đầu.

Nếu cần tiến hành phân tích vi sinh riêng rẽ cho phần chất rắn và chất lỏng, thì phải chuẩn bị các mẫu cân riêng tương ứng cho từng trạng thái rắn và lỏng.

### 6.10. Pha loãng sản phẩm chứa nhiều mỡ

6.10.1. Dùng pipet đã hơi lửa 3 lần để lấy mẫu cân của mỡ nước. Sau khi lấy đầy sản phẩm vào pipet cần lau sạch phần mỡ bám ở bề mặt pipet bằng tấm bông vô trùng

Cho sản phẩm từ pipet vào lọ thủy tinh có nút mài, rồi pha loãng bằng lượng cần thiết dung dịch muối pepton đã được để ấm ở  $(40 - 45)^{\circ}\text{C}$ ; khi phát hiện vi sinh vật ưa ấm thì nhiệt độ không được vượt quá  $37^{\circ}\text{C}$ . Lượng mỡ bám lại trong pipet cần được tráng đi tráng lại vài lần bằng dung dịch muối pepton.

6.10.2. Dùng dao hay giấy thép để cắt các miếng mỡ ra thành nhiều phần nhỏ. Trong trường hợp cần thiết cần loại bỏ lớp ngoài.

Dùng dao mổ lấy sản phẩm từ bề mặt của các miếng cắt tại các vị trí khác nhau và cho vào lọ cân có nắp.

Chuyển mẫu cân có khối lượng đã biết vào bình nút mài cổ rộng. Dùng lượng nhất định dung dịch muối pepton đã được để ấm ở  $(40 - 45)^{\circ}\text{C}$  để tráng lượng mỡ còn lại trong lọ và chính bình trên và cho tiếp vào với lượng cần thiết để thu được pha loãng ban đầu.

Đối với mỡ miếng có thể lấy mẫu cân theo thể tích. Để mỡ nóng chảy ở trong lọ cổ rộng trên nồi cách thủy ở nhiệt độ không quá  $45^{\circ}\text{C}$ ; khi phát hiện vi sinh vật ưa ấm thì nhiệt độ không được quá  $37^{\circ}\text{C}$ .

Sau khi đảo mỡ nóng chảy, dùng pipet ấm chuyển mỡ vào lọ cổ rộng có nút mài chứa sẵn lượng dung dịch muối pepton đã được để ấm ở (40 - 45) °C cần thiết để chuẩn bị pha loãng ban đầu. Khi phát hiện vi sinh vật ưa ấm thì nhiệt độ không được vượt quá 37°C.

6.10.3. Đối với sản phẩm mịn hay nhuyễn có chứa nhiều mỡ, thì sau khi khuấy đều bằng đũa thủy tinh, cần dùng thìa cho sản phẩm vào bình tam giác đã biết trước khối lượng. Thêm vào bình lượng dung dịch muối pepton đã được để ấm ở (40 - 45) °C cần thiết để chuẩn bị pha loãng ban đầu

6.10.4. Trong trường hợp cần thiết, khi pha loãng sản phẩm chứa nhiều mỡ, có thể sử dụng các chất hoạt động bề mặt (CHB) loại không gây cản trở đến sự hoạt động của vi sinh vật.

### 6.11. Pha loãng sản phẩm có thẩm thấu cao

6.11.1. Phát hiện và đếm lượng vi sinh vật có độ bền trung bình đối với môi trường có áp suất thẩm thấu cao.

Khi cho mẫu cân sản phẩm vào môi trường dinh dưỡng lỏng hay chuẩn bị pha loãng ban đầu từ mẫu cân, cần lấy sản phẩm và chất lỏng theo tỷ lệ đảm bảo không làm thay đổi đáng kể đặc tính sinh lý của môi trường dinh dưỡng.

Chất lỏng dùng để pha loãng sản phẩm là nước pepton được chuẩn bị bằng cách hoà tan pepton vào nước cất.

Nếu pha loãng bằng cách trên mà khi nuôi cấy không phát hiện ra vi sinh vật, thì cần nuôi cấy sinh vật từ lượng pha loãng ở nồng độ cao hơn, nếu đặc tính của sản phẩm cho phép, bằng cách lọc qua màng lọc hay cho lượng pha loãng vào môi trường dinh dưỡng lỏng cô đặc theo tỷ lệ tương ứng.

6.11.2. Phát hiện và đếm lượng vi sinh vật có độ bền cao đối với môi trường có áp suất thẩm thấu cao.

Phát hiện và đếm lượng vi sinh vật chịu muối hay ưa ấm được tiến hành tương ứng theo các tiêu chuẩn về phương pháp thử cho từng nhóm vi sinh vật.

### 6.12. Kỹ thuật rửa bề mặt sản phẩm bằng tấm bông

Rửa vi sinh vật từ bề mặt để xác định độ ô nhiễm vi sinh vật ở bề mặt của sản phẩm thực phẩm.

Dùng tấm bông vô trùng có tấm dung dịch muối pipton để lau bề mặt của các miếng nhỏ sản phẩm đem phân tích tại các vị trí khác nhau với tổng diện tích là 100cm<sup>2</sup>.

Đo diện tích bề mặt phân tích bằng khuôn đo diện tích (đường) vô trùng có các ô kích thước thích hợp.

## **TCVN 4887 : 1989**

Cho tấm bông vào bình chứa sẵn không ít hơn 100ml (cm<sup>3</sup>) dung dịch muối pepton. Dùng nút cao su đậy ống nghiệm lại và lắc mạnh cho đến khi tấm bông rã ra từng sợi. Coi huyền phù thu được là pha loãng ban đầu và phân tích mức độ nhiễm bẩn so với dự đoán. Nuôi cấy huyền phù này được tiến hành trực tiếp hay từ loạt pha loãng được chuẩn bị từ huyền phù đó, hay sau khi lọc pha loãng ban đầu qua màng.

### **7. Chuẩn bị loạt pha loãng 10 lần**

7.1. Pha loãng 10 lần thứ nhất của mẫu cân chính là pha loãng ban đầu có thể thu được tương ứng theo phần 6. Từ pha loãng 10 lần thứ nhất có thể thu được các pha loãng sau:

7.2. Pha loãng thứ 2 (10<sup>-2</sup>) được chuẩn bị bằng cách pha trộn một phần của pha loãng thứ nhất với 9 phần dung dịch muối pepton trong ống nghiệm hay dụng cụ chứa kín thích hợp khác.

Nếu dùng một pipet nào đó để tiến hành pha loãng thứ nhất thì cũng dùng chính nó để cho 1cm<sup>3</sup> của pha loãng thứ nhất vào 9cm<sup>3</sup> của dung dịch muối pepton, tránh không để pipet chạm vào bề mặt dung dịch.

Nếu pha loãng thứ nhất được pha bằng phương pháp khác thì cần sử dụng pipet sạch để chuyển 1cm<sup>3</sup> pha loãng thứ nhất của mẫu cân vào 9 cm<sup>3</sup> của môi trường pepton.

Pha loãng bằng cách dùng pipet hút 10 lần và đẩy ra từ pipet lượng được hút.

7.3. Pha loãng lần thứ 3 (10<sup>-3</sup>) và các pha loãng tiếp theo được tiến hành tương tự như trên.

7.4. Khoảng thời gian giữa việc chuẩn bị mẫu cân hay pha loãng mẫu cân với việc nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng không được quá 30 phút.

### **8. Lấy mẫu cân để chứng minh sự có mặt của một số tế bào vi sinh vật trong sản phẩm**

Nếu cần phát hiện một số tế bào vi sinh vật trong sản phẩm thực phẩm, thì lấy mẫu cân sản phẩm bằng một trong các cách kể trên, nhưng sản phẩm cần được nuôi cấy không pha loãng trong môi trường dinh dưỡng hay tập trung vi sinh vật từ thể tích lớn chất lỏng bằng cách lọc qua màng lọc và cho màng lọc vào trong môi trường dinh dưỡng.

Đối với sản phẩm dạng bột, dính, sản phẩm có phần chất rắn hay có trạng thái mà không cho phép trộn đều chúng với môi trường dinh dưỡng được, thì trước lúc nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng cần pha loãng sản phẩm bằng một trong các cách trên với một lượng dung dịch muối pepton ít nhất mà vẫn cho phép thu được hỗn hợp đồng nhất có thể dùng được để nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng.

## Phụ lục TCVN 4887 - 89

## Thuật ngữ và định nghĩa

Thuật ngữ	Định nghĩa
Mẫu cân	Phần mẫu thử có khối lượng nhất định được dùng để chuẩn bị chất đồng nhất cho pha loãng ban đầu hay nuôi cấy trực tiếp trong môi trường dinh dưỡng hay cho các mục đích khác
Pha loãng ban đầu	Khối lượng (thể tích) của mẫu cân ban đầu được pha loãng bằng dung dịch muối pepton đến nồng độ cần thiết có thể là 2 lần ( $2^{-1}$ ), 4 lần ( $4^{-1}$ ), 6 lần ( $6^{-1}$ ), hay thông thường là 10 lần ( $10^{-1}$ ) pha loãng của khối lượng (thể tích) ban đầu của sản phẩm.

---