

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

**TCVN 4884-1:2015
ISO 4833-1:2013**

**VI SINH VẬT TRONG CHUỖI THỰC PHẨM -
PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG VI SINH VẬT -
PHẦN 1: ĐẾM KHUẨN LẠC Ở 30 ĐỘ C
BẰNG KỸ THUẬT ĐỔ ĐĨA**

*Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the enumeration of microorganisms --
Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique*

HÀ NỘI - 2015

Lời nói đầu

TCVN 4884-1:2015 hoàn toàn tương đương với ISO 4833-1:2013;

TCVN 4884-1:2015 cùng với TCVN 4884-2:2015 thay thế TCVN 4884:2005;

TCVN 4884-1:2015 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13 *Phương pháp phân tích và lấy mẫu* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố;

Bộ tiêu chuẩn TCVN 4884 (ISO 4833) *Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm – Phương pháp định lượng vi sinh vật*, gồm các phần sau đây:

- TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013), *Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30 °C bằng kỹ thuật đổ đĩa*;
- TCVN 4884-2:2015 (ISO 4833-2:2013), *Phần 2: Đếm khuẩn lạc ở 30 °C bằng kỹ thuật cấy bề mặt*.

Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật - Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30 °C bằng kỹ thuật đổ đĩa

Microbiology of the food chain –

Horizontal method for the enumeration of microorganisms –

Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp định lượng vi sinh vật có thể phát triển và hình thành khuẩn lạc trong môi trường đặc sau khi ủ hiếu khí ở 30 °C. Phương pháp này áp dụng cho:

- a) thực phẩm và thức ăn chăn nuôi;
- b) các mẫu môi trường trong khu vực sản xuất, chế biến thực phẩm và thức ăn chăn nuôi.

Tiêu chuẩn này áp dụng cho:

- 1) các sản phẩm yêu cầu số lượng khuẩn lạc phát hiện được dưới mức quy định (dưới 10^2 cfu/g hoặc 10^2 cfu/ml đối với mẫu dạng lỏng hoặc dưới 10^3 cfu/g đối với mẫu dạng rắn).
- 2) các sản phẩm dự kiến có chứa các khuẩn lạc mọc lan che khuất các khuẩn lạc của vi sinh vật khác, ví dụ: sữa và các sản phẩm sữa có thể chứa *Bacillus* spp. mọc lan.

Khả năng áp dụng của tiêu chuẩn này bị hạn chế khi kiểm tra thực phẩm và thức ăn chăn nuôi đã lên men; các môi trường hoặc điều kiện ủ khác có thể sẽ thích hợp hơn. Tuy nhiên, phương pháp này có thể áp dụng cho các sản phẩm nêu trên mặc dù không hiệu quả khi phát hiện các vi sinh vật chiếm ưu thế trong các sản phẩm đó.

Đối với một vài nền mẫu, phương pháp quy định trong tiêu chuẩn này có thể cho các kết quả khác với các kết quả thu được khi sử dụng phương pháp quy định trong TCVN 4884-2 (ISO 4833-2).

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 6404 (ISO 7218), *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Yêu cầu chung và hướng dẫn kiểm tra vi sinh vật.*

TCVN 6507 (ISO 6887) (tất cả các phần), *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật.*

TCVN 8128 (ISO 11133), *Vi sinh vật trong thực phẩm, thức ăn chăn nuôi và nước – Chuẩn bị, sản xuất, bảo quản và thử hiệu năng của môi trường nuôi cấy.*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau:

3.1

Vi sinh vật (microorganism)

Cơ thể sống có kích thước rất nhỏ quan sát được bằng kính hiển vi, bao gồm vi khuẩn, nấm, động vật nguyên sinh và virus.

[nguồn: ISO/TS 11139:2006^[3], 2.26].

CHÚ THÍCH 1 Đối với mục đích của tiêu chuẩn này thì vi sinh vật gồm vi khuẩn, nấm men, nấm mốc có thể hình thành khuẩn lạc dưới các điều kiện quy định trong tiêu chuẩn này.

4 Nguyên tắc

Lượng quy định của mẫu thử dạng lỏng hoặc lượng quy định của huyền phù ban đầu trong trường hợp các sản phẩm ở dạng khác, được rót vào đĩa Petri và trộn với môi trường nuôi cấy thạch tan chảy quy định.

Chuẩn bị các đĩa khác dưới cùng một điều kiện, sử dụng dung dịch pha loãng thập phân của mẫu thử hoặc huyền phù ban đầu.

Các đĩa được ủ trong điều kiện hiếu khí ở 30 °C trong 72 h.

Tính số lượng vi sinh vật trong một gam hoặc một mililit mẫu thử theo số lượng khuẩn lạc thu được trong các đĩa có chứa ít hơn 300 khuẩn lạc.

5 Môi trường nuôi cấy và dịch pha loãng

5.1 Yêu cầu chung

Chuẩn bị, sản xuất và thử hiệu năng của môi trường nuôi cấy theo TCVN 8128 (ISO 11133).

5.2 Dịch pha loãng

Sử dụng dịch pha loãng quy định trong TCVN 6507 (ISO 6887) đối với sản phẩm liên quan hoặc tiêu chuẩn cụ thể liên quan đến sản phẩm cần kiểm tra.

5.3 Môi trường thạch: thạch đếm đĩa (PCA)

5.3.1 Thành phần

Sản phẩm thủy phân casein bằng enzym	5,0 g
Chất chiết nấm men	2,5 g
Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆), khan	1,0 g
Thạch ^a	từ 9 g đến 18 g
Nước	1 000 ml

^a Tùy thuộc vào sức đông của thạch.

Khi kiểm tra các sản phẩm sữa, bổ sung 1,0 g sữa bột gầy vào một lít môi trường nuôi cấy. Sữa bột gầy không được chứa các chất gây ức chế.

5.3.2 Chuẩn bị

Hòa tan các thành phần trên hoặc môi trường hoàn chỉnh khô vào nước, đun nóng nếu cần. Trộn kỹ và để yên trong vài phút.

Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng là $7,0 \pm 0,2$ ở 25 °C, sử dụng máy đo pH (6.4), nếu cần.

Phân phối môi trường vào các ống nghiệm, bình hoặc chai (6.8) có dung tích thích hợp. Khử trùng trong nồi hấp áp lực (6.1) ở 121 °C trong 15 min.

Nếu sử dụng ngay thì làm nguội môi trường trong nồi cách thủy (6.3) duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng. Nếu không, bảo quản nơi tối ở nhiệt độ (5 ± 3) °C không quá 3 tháng, dưới các điều kiện không làm thay đổi thành phần và đặc tính của môi trường.

Trước khi kiểm tra vi sinh vật, làm tan chảy hoàn toàn môi trường rồi để nguội trong nồi cách thủy (6.3) duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng. Xem TCVN 8128 (ISO 11133).

Sử dụng môi trường thạch tan chảy càng sớm càng tốt, không nên để quá 4 h.

TCVN 4884-1:2015

5.3.3 Phép thử hiệu năng của môi trường nuôi cấy

5.3.3.1 Yêu cầu chung

Trong tiêu chuẩn này sử dụng thạch đếm đĩa là môi trường không chọn lọc. Kiểm tra hiệu suất theo TCVN 8128 (ISO 11133).

5.3.3.2 Hiệu suất

Ủ	Nhiệt độ (30 ± 1) °C trong (72 ± 3) h
Chủng kiểm chứng	<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013 hoặc <i>Escherichia coli</i> WDCM 00012 ^a [Trung tâm Dữ liệu Thế giới về Vi sinh vật (WDCM)]. <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> WDCM 00003 ^a <i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00032 hoặc <i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034
Môi trường đối chứng	Thạch đậu tương trypton
Phương pháp kiểm chứng	Định lượng
Tiêu chí	Tỷ số hiệu suất (PR) ≥ 0,7

^a Các chủng được sử dụng trong phòng thử nghiệm là tối thiểu. Xem Tài liệu tham khảo [2] thông tin về số lượng các chủng nuôi cấy chọn lọc và các chi tiết liên quan.

5.4 Môi trường thạch phù (xem 9.2.7, nếu cần)

5.4.1 Thành phần

Thạch ^a	từ 12 g đến 18 g
Nước	1 000 ml

^a Tùy thuộc vào sức đông của thạch.

5.4.2 Chuẩn bị

Cho thạch vào nước và đun đến sôi, khuấy liên tục cho đến khi thạch hòa tan hoàn toàn hoặc khuấy bằng nước nóng trong khoảng 30 min.

Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng là 7,0 ± 0,2 ở 25 °C dùng máy đo pH (6.4), nếu cần.

Phân phối môi trường vào các ống nghiệm, bình hoặc chai (6.8) có dung tích thích hợp.

Khử trùng trong nồi hấp áp lực ở 121 °C trong 15 min.

Nếu sử dụng môi trường ngay thì làm nguội trong nồi cách thủy (6.3) duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng. Nếu không, bảo quản môi trường nơi tối ở nhiệt độ (5 ± 3) °C không quá 3 tháng dưới các điều kiện không làm thay đổi thành phần và đặc tính của môi trường.

Trước khi bắt đầu kiểm tra vi sinh vật, làm tan chảy hoàn toàn môi trường rồi để nguội trong nồi cách thủy (6.3) duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng. Xem TCVN 8128 (ISO 11133).

6 Thiết bị, dụng cụ

Có thể sử dụng dụng cụ dùng một lần thay thế cho các dụng cụ thủy tinh và chất dẻo dùng nhiều lần nếu chúng có các đặc tính thích hợp.

Sử dụng các thiết bị của phòng thử nghiệm vi sinh [xem TCVN 6404 (ISO 7218)] và cụ thể như sau:

6.1 Tủ sấy để khử trùng khô hoặc nồi hấp áp lực để khử trùng ướt, theo TCVN 6404 (ISO 7218).

6.2 Tủ ấm, có thể duy trì nhiệt độ ở (30 ± 1) °C.

6.3 Nồi cách thủy, có thể duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C.

6.4 Máy đo pH, có độ chính xác trong khoảng $\pm 0,1$ đơn vị pH ở 25 °C.

6.5 Đĩa Petri, bằng thủy tinh hoặc chất dẻo có đường kính từ 90 mm đến 100 mm.

6.6 Pipet chia vạch xả hết, dung tích danh định 1 ml, được chia vạch 0,1 ml, phù hợp với loại A trong TCVN 7150 (ISO 835)^[1] hoặc pipet tự động phù hợp với TCVN 10505-2 (ISO 8655-2)^[2], sử dụng đầu tip vô trùng.

6.7 Thiết bị đếm khuẩn lạc (tùy chọn), cơ học hoặc điện tử có nền được rọi sáng thích hợp.

6.8 Ống nghiệm, bình hoặc chai, có dung tích thích hợp và không quá 500 ml.

7 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Xem tiêu chuẩn cụ thể về lấy mẫu sản phẩm có liên quan. Nếu không có tiêu chuẩn cụ thể thì các bên liên quan tự thỏa thuận về vấn đề này.

Phòng thử nghiệm phải nhận được đúng mẫu đại diện và không bị hư hỏng thay đổi trong quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

8 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo tiêu chuẩn cụ thể thích hợp với sản phẩm liên quan.

9 Cách tiến hành

9.1 Phần mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dịch pha loãng

Theo quy định trong TCVN 6507 (ISO 6887) hoặc tiêu chuẩn cụ thể thích hợp với sản phẩm liên quan.

9.2 Cấy và ủ

9.2.1 Lấy hai đĩa Petri vô trùng (6.5). Dùng pipet vô trùng (6.6) cho vào mỗi đĩa 1 ml mẫu thử nếu sản phẩm dạng lỏng hoặc 1 ml huyền phù ban đầu (độ pha loãng 10^{-1}) trong trường hợp các sản phẩm ở dạng khác. Nếu chuẩn bị các đĩa từ nhiều hơn một độ pha loãng thì có thể giảm xuống thành một đĩa [TCVN 6404 (ISO 7218)].

9.2.2 Lấy một đĩa Petri vô trùng (6.5) khác. Dùng một pipet vô trùng khác (6.6) phân phối 1 ml dịch pha loãng 10^{-1} (sản phẩm dạng lỏng) hoặc 1 ml dịch pha loãng 10^{-2} (các sản phẩm dạng khác).

9.2.3 Nếu cần, lặp lại quy trình với các dịch pha loãng tiếp theo, dùng pipet mới vô trùng với mỗi dịch pha loãng thập phân.

9.2.4 Nếu thích hợp chỉ chọn các độ pha loãng tới hạn (ít nhất hai dịch pha loãng thập phân liên tiếp) để cấy các đĩa Petri sao cho thu được từ 10 khuẩn lạc đến 300 khuẩn lạc trên một đĩa.

9.2.5 Rót vào mỗi đĩa Petri khoảng từ 12 ml đến 15 ml môi trường thạch đếm đĩa (5.3) ở nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C. Thời gian từ khi chuẩn bị xong huyền phù ban đầu (hoặc dịch pha loãng 10^{-1} nếu sản phẩm dạng lỏng) đến khi rót môi trường thạch đếm đĩa (5.3) vào các đĩa không được quá 45 min.

9.2.6 Trộn cẩn thận dịch cấy với môi trường bằng cách xoay đĩa Petri và để hỗn hợp đông đặc lại bằng cách đặt các đĩa Petri trên bề mặt nằm ngang ở nơi mát.

9.2.7 Sau khi hỗn hợp đông đặc hoàn toàn và nếu nghi ngờ cần kiểm tra sản phẩm có chứa các vi sinh vật có khuẩn lạc mọc lan trên bề mặt của môi trường, thì rót khoảng 4 ml môi trường thạch phủ (5.4) hoặc môi trường thạch đếm đĩa (5.3) ở nhiệt độ 44 °C đến 47 °C lên bề mặt môi trường đã cấy mẫu. Để cho đông đặc như trong 9.2.6.

9.2.8 Lật ngược các đĩa đã chuẩn bị và đặt vào tủ ấm (6.2) ở (30 ± 1) °C theo TCVN 6404 (ISO 7218). Ủ trong (72 ± 3) h.

9.3 Đếm khuẩn lạc

9.3.1 Sau giai đoạn ủ quy định (9.2.8), giữ lại các đĩa có ít hơn 300 khuẩn lạc, nếu có thể. Đếm các khuẩn lạc trên các đĩa, sử dụng thiết bị đếm khuẩn lạc (6.7), nếu cần. Kiểm tra các đĩa dưới ánh sáng dịu. Điều quan trọng là các khuẩn lạc chính phải được đếm; tuy nhiên, điều cần thiết là phải tránh đếm nhầm các hạt không hòa tan hoặc chất kết tủa trên đĩa với các khuẩn lạc chính. Kiểm tra cẩn thận các

khuẩn lạc nghi ngờ, sử dụng kính lúp có độ khuếch đại lớn hơn khi cần để phân biệt các khuẩn lạc với tạp chất.

9.3.2 Các khuẩn lạc mọc lan được coi là các khuẩn lạc đơn lẻ. Nếu các khuẩn lạc mọc lan ít hơn một phần tư đĩa, thì đếm các khuẩn lạc trên phần đĩa còn lại và tính số tương ứng cho cả đĩa. Nếu khuẩn lạc mọc lan hơn một phần tư đĩa thì không đếm đĩa đó.

10 Biểu thị kết quả

10.1 Phương pháp tính

Xem quy trình quy định trong TCVN 6404 (ISO 7218).

10.2 Độ chụm

10.2.1 Yêu cầu chung

Các dữ liệu về độ chụm đã được đánh giá đối với các đĩa có chứa nhiều hơn 15 khuẩn lạc và ít hơn 300 khuẩn lạc. Các dữ liệu về độ chụm tùy thuộc vào sự liên kết hệ vi sinh vật và các chất nền mẫu. Các dữ liệu này thu được từ các nghiên cứu cộng tác (xem Tài liệu tham khảo [4], [5] và [6]) và có giá trị đối với sữa nguyên liệu và sữa thanh trùng. Các dữ liệu này được sử dụng làm các số ước tính khi xác định được số khuẩn lạc có trong sản phẩm khác.

10.2.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử độc lập đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong cùng một phòng thử nghiệm, do cùng một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, thực hiện trong khoảng thời gian ngắn, tính theo $\log_{10}N$, trong đó N là số vi sinh vật có trong một mililit (tương ứng với 1,8 trên thang chuẩn tính bằng số vi sinh vật có trong một mililit) không được vượt quá giới hạn lặp lại, $r = 0,25$.

CHÚ THÍCH Giới hạn lặp lại này thu được từ các nghiên cứu cộng tác về sữa nguyên liệu và sữa thanh trùng (xem Tài liệu tham khảo [4], [5] và [6]) và có thể được sử dụng cho các sản phẩm này.

10.2.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người khác nhau thực hiện, tính theo $\log_{10}N$, trong đó N là số vi sinh vật có trong một mililit (tương ứng với 2,8 trên thang danh định tính bằng số vi sinh vật có trong một mililit) không được vượt quá giới hạn tái lập, $R = 0,45$.

CHÚ THÍCH Giới hạn tái lập này thu được từ các nghiên cứu cộng tác về sữa nguyên liệu và sữa thanh trùng (xem Tài liệu tham khảo [4], [5] và [6]) và có thể được sử dụng cho các sản phẩm này.

10.3 Giải thích các kết quả thử nghiệm

10.3.1 Yêu cầu chung

Trong các ví dụ (10.3.2 và 10.3.3), các dữ liệu về độ chụm trung bình, mức xác suất là 95 % và phân tích một mẫu đã được xem xét. Cần lưu ý rằng, trong các điều kiện thực tế thường sử dụng trung bình của một vài mẫu. Các số được tính bằng số vi sinh vật có trong một mililit.

10.3.2 Các điều kiện lặp lại

Kết quả thử nhất: $10^5 = 100\ 000$

Chênh lệch giữa kết quả thử nhất và thử hai không được quá $0,25 \log_{10}N$.

Kết quả thử hai: Giới hạn dưới: $10^{4,75} = 56\ 000$.

Giới hạn trên: $10^{5,25} = 178\ 000$

Chênh lệch giữa kết quả thử nhất và thử hai có thể được chấp nhận nếu các kết quả thử hai không thấp hơn 56 000 hoặc không cao hơn 178 000.

10.3.3 Các điều kiện tái lập

Các kết quả thu được trong phòng thử nghiệm thử nhất (trung bình của phép xác định kép): $10^5 = 100\ 000$

Chênh lệch giữa kết quả thử nhất và kết quả thử hai thu được trong phòng thử nghiệm thử hai phải không lớn hơn $0,45 \log_{10}N$ của các đơn vị:

Kết quả thử hai: Giới hạn dưới: $10^{4,55} = 36\ 000$ hoặc

Giới hạn trên: $10^{5,45} = 280\ 000$

Chênh lệch giữa các kết quả thu được bởi phòng thử nghiệm thử nhất và thử hai có thể được chấp nhận nếu phòng thử nghiệm thử hai thu được kết quả không thấp hơn 36 000 và không cao hơn 280 000.

Phụ lục A đưa ra công thức tính và cách sử dụng chênh lệch tới hạn (CD) để giải thích các kết quả.

11 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;

- c) phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này cùng với mọi tình huống bất thường khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- e) kết quả thử nghiệm thu được;
- f) nếu kiểm tra lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Cách sử dụng chênh lệch tới hạn để giải thích kết quả**A.1 Yêu cầu chung**

Trong các ví dụ (A.2 và A.3), dữ liệu về độ chụm trung bình, mức xác suất là 95 % và phân tích một mẫu đã được xem xét. Cần lưu ý rằng, trong các điều kiện thực tế thì thường sử dụng trung bình của vài mẫu. Các số được tính bằng số vi sinh vật trong một mililit.

A.2 Các điều kiện tái lập

Các kết quả thu được trong phòng thử nghiệm thứ nhất (trung bình của phép xác định kép): $10^5 = 100\ 000$

Chênh lệch giữa kết quả này và kết quả thu được bởi phòng thử nghiệm thứ hai (trung bình của n phép xác định; trong ví dụ này $n = 2$) có thể được chấp nhận nếu nó không vượt quá chênh lệch tới hạn d_c , theo các đơn vị $\log_{10}N$:

$$d_c = \sqrt{R^2 - r^2 \left(1 - \frac{1}{n}\right)} = \sqrt{R^2 - \frac{r^2}{2}} = \sqrt{0,45^2 - \frac{0,25^2}{2}} = 0,41$$

Trong đó:

r là giới hạn lặp lại;

R là giới hạn tái lập.

Chênh lệch giữa các kết quả thu được bởi phòng thử nghiệm thứ nhất và thứ hai có thể được chấp nhận nếu phòng thử nghiệm thứ hai thu được kết quả không thấp hơn $10^{4,59} = 39\ 000$ và không cao hơn $10^{5,41} = 257\ 000$.

A.3 So sánh với giới hạn (thử một phía)

Giới hạn: $10^5 = 100\ 000$

Nếu cần so sánh chênh lệch giữa giới hạn và kết quả phòng thử nghiệm (trung bình của n phép xác định; trong ví dụ này $n = 2$) với giới hạn CD, d_{cl} :

$$d_{cl} = \frac{0,84}{\sqrt{2}} \times \sqrt{R^2 - r^2 \left(1 - \frac{1}{n}\right)} = \frac{0,84}{\sqrt{2}} \times \sqrt{R^2 - \frac{r^2}{2}} = 0,24$$

Các kết quả thử nghiệm đến $10^{5,24} = 174\ 000$ không chỉ ra được sự không phù hợp với giới hạn.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 7150 (ISO 835), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Pipet chia độ.*
 - [2] TCVN 10505-2 (ISO 8655-2), *Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông – Phần 2: Pipet pittông.*
 - [3] ISO/TS 11139:2006, *Sterilization of health care products – Vocabulary.*
 - [4] PITONC., & GRAPPIN. A model for statistical evaluation of precision parameters of microbiological methods: Application to dry rehydratable film methods and IDG reference methods for enumeration of total aerobic mesophilic flora and coliforms in raw milk. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1991, **74** pp. 9 2–10 3.
 - [5] SCOTTER S., ALDRIDGE M., BACK J., WOOD R. Validation of European Community methods for microbiological and chemical analysis of raw and heat-treated milk. *J. Assoc. Public Anal.* 1993, **29** pp. 1–32
 - [6] DAHMS S., & WEISS H. Estimation of precision values for microbiological reference methods: Standardized pour plate technique. *Milchwissenschaft.* 1988, **53** pp. 555–559.
 - [7] World Data Centre for Microorganisms. Reference strain catalogue pertaining to organisms for performance testing culture media. Available (viewed 2013-03-06) at: http://www.wfcc.info/pdf/WDCM_Reference_Strain_Catalogue.pdf.
-