TCVN **TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

TCVN 13850:2023
ASTM D4576 – 16 (2021)

Xuất bản lần 1

DA –
XÁC ĐỊNH KHẢ NĂNG CHỐNG SỰ PHÁT TRIỂN NẤM MỐC CỦA DA PHÈN XANH VÀ DA PHÈN TRẮNG

Standard test method for
mold growth resistance of wet blue and wet white

HÀ NỘI – 2023

Lời nói đầu

TCVN 13850:2023 được xây dựng trên cơ sở chấp nhận hoàn toàn tương đương với ASTM D4576 – 16 (Reapproved 2021) *Standard test method for mold growth resistance of wet blue and wet white* với sự cho phép của ASTM quốc tế, 100 Barr Harbor Drive, West Conshohocken, PA 19428, USA. Tiêu chuẩn ASTM D4576 – 16 (Reapproved 2021) thuộc bản quyền của ASTM quốc tế.

TCVN 13850:2023 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC 120 biên soạn, Viện Tiêu chuẩn Chất lượng Việt Nam đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Da –
Xác định khả năng chống sự phát triển nấm mốc của da phèn xanh và da phèn trắng

Standard test method for
mold growth resistance of wet blue and wet white

1 Phạm vi áp dụng

1.1 Phương pháp thử này bao gồm việc xác định khả năng chống nấm mốc của da phèn xanh và da phèn trắng tùy thuộc vào yêu cầu bảo quản và vận chuyển và được sử dụng trong sản xuất da. Phương pháp thử này có thể không phù hợp để đánh giá thuốc diệt nấm bị bất hoạt bởi protein, bao gồm amoni clorua alkyldimethylbenzyl.

1.2 Kết luận về khả năng chống lại sự phát triển của nấm mốc được suy từ kết quả bằng cách so sánh khi thực hiện đồng thời phép thử với mẫu đối chứng có khả năng chống chịu đã biết. Thành công hay thất bại được quyết định bởi mức độ phát triển của nấm mốc so với mẫu đối chứng.

1.3 Để các phòng thử nghiệm bất kỳ thực hiện được phương pháp thử này, cho phép linh hoạt về thời gian, nhiệt độ và độ ẩm của quá trình ủ, chất cấy, khu vực lấy mẫu da sống và lựa chọn điều kiện kiểm soát. Các yếu tố này có thể được điều chỉnh theo điều kiện riêng nhưng phải được chuẩn hóa.

1.4 Các giá trị tính theo hệ đơn vị SI là giá trị tiêu chuẩn. Tiêu chuẩn này không sử dụng hệ đơn vị khác.

1.5 Tiêu chuẩn này không đề cập đến tất cả các vấn đề liên quan đến an toàn khi sử dụng. Người sử dụng tiêu chuẩn này có trách nhiệm thiết lập các nguyên tắc về an toàn và bảo vệ sức khỏe cũng như khả năng áp dụng phù hợp với các giới hạn quy định trước khi đưa vào sử dụng.

2 Thuật ngữ và định nghĩa

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

2.1

Da phèn xanh (Wet blue)

Con da, hoặc da váng của con da to hoặc con da nhỏ, được thuộc bằng bazơ crom sulfat, độ ẩm khoảng 50 % và có độ pH axit.

2.2

Da phèn trắng (Wet white)

Con da, hoặc phần của con da, được thuộc bằng tác nhân thuộc da hữu cơ hoặc phi hữu cơ (không bao gồm tác nhân thuộc da chứa crom hoặc sắt và chất chiết xuất từ thực vật), độ ẩm khoảng 50 %.

3 Tóm tắt phương pháp thử

3.1 Các mẫu thử da phèn xanh và da phèn trắng được thạch bao quanh nhưng không phủ lên, được cấy và ủ.

3.2 Sau các giai đoạn ủ khác nhau, sự phát triển của nấm mốc được đánh giá bằng tỷ lệ phần trăm của bề mặt da phèn xanh và da phèn trắng bị nấm mốc bao phủ.

3.3 Khả năng chống lại sự phát triển của nấm mốc của mẫu thử da phèn xanh hoặc da phèn trắng được xác định bằng cách so sánh với da phèn xanh hoặc da phèn trắng có các đặc tính kháng khuẩn đã biết (mẫu đối chứng), được thử nghiệm song song.

4 Ý nghĩa và sử dụng

4.1 Tiêu chuẩn này qui định phương pháp đánh giá đặc tính chống lại sự phát triển của nấm mốc của da phèn xanh và da phèn trắng, đồng thời hỗ trợ dự đoán thời gian bảo quản trước khi xuất hiện nấm mốc.

4.2 Mức độ tương quan giữa phép thử này và khối lượng thương mại của da phèn xanh và da phèn trắng trong các điều kiện bảo quản hoặc vận chuyển, hoặc cả hai, chưa được xác định đầy đủ.

5 Gây nhiễu

5.1 Sự nhiễu phổ biến là sự nhiễm bẩn các đĩa, thạch hoặc mẫu do các sinh vật không mong muốn xâm nhập từ môi trường..

5.2 *Tính dễ bay hơi và khả năng tiếp cận của chất diệt khuẩn* - "vùng ức chế" trong đó không có nấm mốc phát triển trên thạch tiếp giáp với mẫu thử cho thấy chất diệt nấm có thể bị khuếch tán.

6 Thiết bị, dụng cụ

6.1 Đĩa Petri, đường kính 120 mm. Tốt nhất nên sử dụng đĩa nhựa vô trùng dùng một lần..

6.2 Tủ ấm, hoặc vị trí có điều kiện tương tự, không có gió lùa và có khả năng duy trì nhiệt độ không đổi (±2 °C) trong khoảng từ 26 °C đến 30 °C.

6.3 Dụng cụ nhỏ giọt thuốc, loại bằng nhựa dùng một lần, cung cấp 30 giọt đến 35 giọt / ml.

7 Thuốc thử và vật liệu

7.1 Thạch Dextrose khoai tây, môi trường cấy khô được sử dụng trong nuôi cấy nấm men và nấm mốc từ các sản phẩm sữa.

7.2 Chất cấy, Aspergillus niger 1 x 10^6 bào tử/ml, hoặc sinh vật khác hoặc tổ hợp các sinh vật bản địa trong khu vực bảo quản da phèn xanh và da phèn trắng.

8 Lấy mẫu, mẫu thử và đơn vị thử

8.1 Lấy mẫu thử từ các vị trí con da to tương đương (ví dụ: vùng mông) cho cả mẫu thử và mẫu đối chứng.

8.2 Nếu không thể thử ngay, phải lưu giữ các mẫu thử trong các túi nhựa riêng biệt và giữ mát.

8.3 Mẫu thử phải là hình vuông, có cạnh 25,4 mm (1 in.).

8.4 Sử dụng ba mẫu thử cho mỗi đơn vị thử bề mặt da phèn xanh hoặc da phèn trắng để đánh giá.

9 Cách tiến hành

9.1 Chuẩn bị thạch

9.1.1 Yêu cầu về thạch

Một mẫu thử da váng xẻ phèn xanh hoặc da váng xẻ phèn trắng yêu cầu khoảng 25 ml dung dịch thạch và mẫu thử da không xẻ phèn xanh hoặc phèn trắng yêu cầu khoảng 40 ml. Tính số ml thạch cần thiết để thực hiện các phép thử, Để 50 ml dung dịch thạch để kiểm tra sự sống.

9.1.2 Cân 3,9 g thạch khoai tây dextrose cho mỗi 100 ml thạch yêu cầu.

9.1.3 Rót một lượng nước tương đương với tổng số mililit dung dịch thạch vào cốc có mỏ. Đun sôi nước trên bếp điện được trang bị cơ chế khuấy từ. Trong khi khuấy, từ từ thêm thạch khô.

9.1.4 Đun sôi thạch trong 20 min.

CHÚ THÍCH 1 Nấu áp suất trong 20 min sẽ tốt hơn đun sôi mở nắp.

9.1.5 Đậy bằng giấy nhôm để tránh nhiễm bẩn và để nguội đến 50 °C trước khi rót.

CHÚ THÍCH 2 Nhiệt độ này rất quan trọng, nhiệt độ 50 °C cho phép một ít nước ngưng tụ trên nắp đĩa petri, cung cấp độ ẩm cho nấm phát triển.

9.2 Chuẩn bị đĩa thạch

9.2.1 Đặt một mẫu thử da phèn xanh và da phèn trắng vào giữa mỗi đĩa petri và để bề mặt cần thử quay lên trên.

9.2.2 Cẩn thận nhấc nắp ra khỏi mỗi đĩa và đổ thạch chỉ đến bề mặt trên mẫu thử, không phủ lên bề mặt trên của mẫu thử.

9.2.3 Chuẩn bị một đĩa chỉ có thạch (không có da phèn xanh) để đánh giá sự sống của chất cấy.

9.2.4 Để thạch đông lại trong khoảng 20 min.

9.3 Cấy

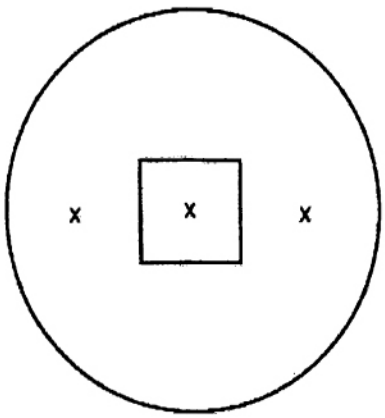
9.3.1 Giảm số lượng 1x 10^6 bào tử đang hoạt động cho 1 ml xuống còn 1x10^5 bào tử cho 1 ml bằng cách pha loãng thể tích bằng nước gấp mười lần.

9.3.1.1 Sử dụng nước máy, mới được đun sôi trong 20 min và để nguội đến nhiệt độ phòng, để pha loãng.

9.3.1.2 Chuẩn bị chỉ vừa đủ dung dịch huyền phù pha loãng để sử dụng trong khoảng thời gian 48 giờ.

9.3.1.3 Giữ huyền phù sinh vật trong tủ lạnh ở khoảng 4 °C. Không cấp đông.

9.3.2 Sử dụng pipet nhỏ giọt y tế nhỏ ba giọt bào tử 1x10^5 trên mỗi mililit vào từng đĩa. Nhỏ trực tiếp một giọt lên mẫu và nhỏ hai giọt còn lại sang hai bên như minh họa trong Hình 1.



Hình 1 – Các vị trí cấy trên mẫu thử

9.3.3 Để nguyên các đĩa khoảng 1 h.

CHÚ THÍCH 3 Nếu di chuyển quá nhanh, chất cấy sẽ phủ lên bề mặt mẫu thử.

CHÚ THÍCH 4 Giữ khu vực làm việc sạch và vô trùng nhất có thể. Thực hiện trong khu vực giảm thiểu lưu thông không khí trong khi xử lý da phèn xanh hoặc da phèn trắng, rót thạch và chất cấy vào các đĩa. Luôn đậy đĩa petri trừ khi rót và cấy chất.

9.4 Ủ tối đa ba tuần ở nhiệt độ ổn định tại khu vực sạch sẽ, không bị xáo trộn.

9.4.1 Giữ nhiệt độ ổn định quan trọng hơn nhiệt độ chính xác. Chấp nhận nhiệt độ thay đổi từ 26 °C đến 30 °C và không được thay đổi quá ±2 °C.

CHÚ THÍCH 5 Có thể lưu giữ trong hộp nhựa sạch trong phòng nồi hơi. Sử dụng riêng biệt để ngăn sự nhiễm bẩn chéo.

CHÚ THÍCH 6 Sự tăng trưởng sẽ diễn ra nhanh hơn ở nhiệt độ cao.

9.5 Các mẫu thử da phèn xanh và da phèn trắng đối chứng có khả năng chống nấm mốc đã biết phải được thực hiện thử đồng thời cùng với các mẫu thử nghiệm. Phép thử thành công sẽ có ít nấm phát triển hơn so với phép thử đối chứng.

CHÚ THÍCH 7 Sau khi hoàn thành phép thử, các mẫu thử phải được khử trùng bằng nồi hấp. Nếu không, phải nấu trong 30 min trong nồi áp suất và thải bỏ vào thùng rác.

10 Giải thích kết quả

10.1 Sử dụng thang đánh giá từ 0 đến 4 dưới đây, trong đó mỗi số đại diện cho mức tăng trưởng quan sát được đặt trên mẫu thử (không phải trên thạch) ở bất kỳ khoảng thời gian nào đã chọn.

0: không phát triển trên mẫu thử,

0,5: dưới 12 % bề mặt mẫu thử bị nấm mốc phát triển che phủ,

1: 25 % bề mặt mẫu bị nấm mốc phát triển che phủ,

2: 50 % bề mặt bị nấm mốc phát triển che phủ,

3: 75 % bề mặt mẫu thử bị nấm mốc phát triển che phủ và

4: 100 % bề mặt mẫu thử bị nấm mốc phát triển che phủ.

10.1.1 Nấm mốc phát triển bên trên nhưng không chạm vào mẫu thử cũng sẽ được đánh giá bằng "0".

10.2 Thời gian đánh giá đề nghị là 3, 7 và 14 ngày.

11 Báo cáo thử nghiệm

11.1 Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm các nội dung sau:

11.1.1 Xếp hạng của từng tấm mẫu thử.

11.1.2 Kiểm tra bề mặt (mặt cật, mặt thịt, mặt váng, v.v.).

11.1.3 Thời gian ủ khi đánh giá.

11.1.4 Chất cấy đã sử dụng.

11.1.5 Vị trí con da từ đó lấy mẫu thử

11.1.6 Nhiệt độ ủ

11.1.7 Độ ẩm buồng ủ, nếu biết

11.1.8 Sự sống của chất cấy.

11.1.9 Sai khác trong việc xử lý mẫu thử của phép thử và phép thử đối chứng

12 Độ chụm và độ chệch

12.1 Độ chụm hoặc độ chệch của phương pháp thử này để đo khả năng chống lại sự phát triển nấm mốc của da phèn xanh và da phèn trắng là không xác định, do kết quả chỉ cho biết liệu có sự phù hợp với các tiêu chí thành công được quy định trong cách tiến hành, như được nêu trong Điều 1.2 hay không.