

TCVN 7928:2008

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM – XÁC ĐỊNH TỔNG SỐ VI SINH
VẬT HIẾU KHÍ BẰNG PHƯƠNG PHÁP GEL PECTIN**

Foodstuffs – Determination of total aerobic count by the pectin gel method

HÀ NỘI - 2008

Lời nói đầu

TCVN 7928:2008 được xây dựng trên cơ sở AOAC 988.18 *Aerobic Plate Count – Pectin Gel Method*;

TCVN 7928:2008 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 đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thực phẩm – Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí bằng phương pháp gel pectin

Foodstuffs – Determination of total aerobic count by the pectin gel method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp gel pectin để xác định tổng vi khuẩn hiếu khí có trong sản phẩm thực phẩm.

2 Nguyên tắc

Phương pháp này sử dụng các đĩa Redigel™ đã xử lý sơ bộ có chứa một lớp "chất làm cứng" mỏng và môi trường lỏng chứa các chất dinh dưỡng với chất làm đông pectin. Rót một lớp môi trường lỏng từ 12 ml đến 15 ml vào đĩa Redigel™ đã xử lý sơ bộ và bổ sung phần mẫu thử không pha loãng hoặc đã pha loãng. Xoay và lắc đĩa để trộn đều mẫu thử và môi trường. Để yên đĩa trên mặt phẳng từ 30 min đến 40 min cho đến khi đông đặc. Toàn bộ quá trình được thực hiện ở nhiệt độ phòng. Sau đó ủ các đĩa và đếm.

3 Thuốc thử và môi trường nuôi cấy

Các thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích và nước được sử dụng phải là nước cất hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

3.1 Ống và đĩa gel pectin

Dịch lỏng gel pectin đã hấp áp lực có sẵn trong các lọ dùng cho một phép thử hoặc 10 phép thử. Sử dụng các lọ Redigel và các đĩa Redigel đã xử lý sơ bộ có bán sẵn, hoặc loại tương đương nếu đáp ứng được yêu cầu kỹ thuật.

Để chuẩn bị pectin đếm đĩa từ các thành phần riêng lẻ, hoà tan 5,0 g sản phẩm thủy phân của casein, 2,5 g dịch chiết nấm men và 1,0 g glucoza trong 500 ml nước. Hoà tan 15 g pectin metoxyl hoá thấp trong 500 ml nước. Đun nóng các hỗn hợp riêng rẽ cho đến khi các thành phần được hoà tan hết. Hấp áp lực các dung dịch này 15 min ở 121 °C. Gộp thành phần dinh dưỡng, dung dịch pectin và chỉnh pH đến $7,0 \pm 0,1$. Để chuẩn bị các đĩa Redigel vô trùng, cần chuẩn bị hỗn hợp lớp chất làm cứng của thạch 1 % với CaCl_2 2 % (khối lượng trên thể tích). Khử trùng hỗn hợp bằng hấp áp lực 15 min ở 121 °C. Phân phối một cách vô trùng các lượng 5 ml hỗn hợp vào các đĩa Redigel vô trùng.

3.2 Dung dịch đệm phosphat Butterfield.

4 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

4.1 Pipet.

4.2 Ống đong.

4.3 Cân.

4.4 Máy trộn phòng thử nghiệm, có thể duy trì được tốc độ từ 10 000 r/min đến 12 000 r/min.

4.5 Tủ ấm, có thể duy trì được nhiệt độ ở $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ và $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5 Cách tiến hành

5.1 Chuẩn bị dịch cấy

Chuẩn bị các dịch pha loãng thập phân bằng 90 ml dịch pha loãng vô trùng (dung dịch đệm phosphat Butterfield) với 10 ml dung dịch mẫu pha loãng, trừ khi có quy định khác. Lắc tất cả các dịch pha loãng 25 lần theo dạng hình vòng cung 30 cm. Dùng pipet (4.1) lấy chính xác thể tích cần thiết. Không dùng pipet có dung tích lớn hơn 10 lần thể tích được lấy. Ví dụ: không dùng pipet có dung tích lớn hơn 10 ml để phân phối 1 ml, không dùng pipet có dung tích lớn hơn 1 ml để phân phối thể tích 0,1 ml.

5.1.1 Sản phẩm sữa

Đong (hoặc cân) 11 ml (hoặc 11 g) phần mẫu thử và pha loãng trong 99 ml dung dịch đệm phosphat Butterfield (3.2). Đối với các sản phẩm dạng rắn thì trộn 2 min trên máy trộn phòng thử nghiệm (4.4) ở tốc độ quay từ 10 000 r/min đến 12 000 r/min. Chuẩn bị các dung dịch pha loãng tiếp theo sao cho trên một đĩa tổng số khuẩn lạc thu được từ 25 đến 250. Ủ các đĩa này trong $48\text{ h} \pm 3\text{ h}$ ở $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5.1.2 Các sản phẩm khác với sữa

Cân 50 g phần mẫu thử cho vào 450 ml dung dịch đệm phosphat Butterfield (3.2) và trộn 2 min trên máy trộn phòng thử nghiệm (4.4) ở tốc độ quay từ 10 000 r/min đến 12 000 r/min. Chuẩn bị các dung dịch pha loãng tiếp theo bằng cách phân phối 10 ml phần mẫu thử vào 90 ml dịch pha loãng sao cho trên một đĩa tổng số khuẩn lạc thu được từ 30 đến 300. Ủ các đĩa này trong $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ ở $35 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

5.2 Phương pháp xác định

5.2.1 Mở nắp đĩa Redigel vô trùng và rót khoảng từ 12 ml đến 15 ml dịch lỏng gel pectin từ chai vào đĩa. Đậy nắp đĩa và xoay đĩa để gel pectin phủ khắp đáy. Chuẩn bị một số lượng đĩa cần thiết cho các phần mẫu thử (hai đĩa cho mỗi dịch pha loãng). Các đĩa cần được sử dụng trong vòng 5 min sau khi đã rót gel pectin.

5.2.2 Cho 1 ml dịch cấy vào dịch lỏng gel pectin trong đĩa Redigel vô trùng. Chạm đầu tip pipet một lần vào điểm khô trên thành trong của đĩa (cao hơn mức của dịch pha loãng gel pectin) sau khi phân phối phần mẫu thử đến điểm ngưng trong tip pipet. Lắc đĩa ngay để trộn đều phần mẫu thử với gel pectin. Không để pectin tràn ra ngoài đĩa.

CHÚ THÍCH Bước này là sự khác nhau đầu tiên trong quy trình giữa gel pectin và môi trường thạch cơ bản. Không cho dịch cấy vào đĩa Redigel vô trùng đã chuẩn bị sơ bộ và rót gel pectin lên trên. Điều này có thể hạn chế mẫu thử trong một diện tích nhỏ của đĩa không tách các khuẩn lạc riêng lẻ.

5.2.3 Để yên các đĩa đã cấy trên mặt phẳng cho đến khi đông đặc (khoảng 30 min đến 40 min) sau đó ủ $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ ở $35 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ đối với các sản phẩm khác với sữa và trong $48 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ ở $32 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ đối với các sản phẩm sữa.

5.2.4 Đếm các đĩa có số khuẩn lạc thích hợp (từ 30 khuẩn lạc đến 300 khuẩn lạc đối với các sản phẩm khác với sữa và từ 25 khuẩn lạc đến 250 khuẩn lạc đối với sản phẩm sữa). Nếu các đĩa không chứa số khuẩn lạc thích hợp đó thì ghi lại độ pha loãng và số khuẩn lạc đếm được.

5.3 Biểu thị kết quả

Ghi lại trung bình số đếm thu được là tổng số vi sinh vật hiếu khí đếm được trên gam hoặc mililit sản phẩm.

6 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
 - phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
 - phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
 - mọi chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, cùng với các chi tiết bất thường khác có thể ảnh hưởng tới kết quả;
 - các kết quả thử nghiệm thu được.
-