

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

TCVN 5287:2008

THỦY SẢN ĐÔNG LẠNH – PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH VI SINH VẬT

Frozen aquatic products – Methods of microbiological determination

Lời nói đầu .

TCVN 5287:2008 thay thế TCVN 5287:1994;

TCVN 5287:2008 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/FI 1

Thủy sản biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

1. Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định các phương pháp xác định vi sinh vật trong thủy sản và sản phẩm thủy sản đông lạnh.

2. Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công tác 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.

TCVN 4829:2005 (ISO 6579:2002), Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp phát hiện *Salmonella* trên đĩa thạch.

TCVN 4830-1:2005 (Iso 6888-1:1999, Amd. 1:2003), Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng *staphylococci* có phản ứng dương tính coagulase (*Staphylococcus aureus* và các loài khác) trên đĩa thạch. Phần 1: Kỹ thuật sử dụng môi trường thạch Baird – Parler.

TCVN 4991:2005 (ISO 4833:2003), Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng vi sinh vật trên đĩa thạch - Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30°C.

TCVN 4991:2005 (ISO 7937:2004), Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng *Clostridium perfringens* trên đĩa thạch. Kỹ thuật đếm khuẩn lạc.

TCVN 6404:2007 (ISO 7218:1996), Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Nguyên tắc chung về kiểm tra vi sinh vật.

3. Tài liệu viện dẫn

TCVN 6846:2007 (ISO 7251 :2005), Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng *Escherichia coli* giả cạnh - Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất.

TCVN 7700-1 :2007 (ISO 1 1290-1:1996, Amd.1 :2004) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi Phương pháp phát hiện và định lượng *Listeria monocytogenes* - Phần 1 : Phương pháp phát hiện.

TCVN 7700-2:2007 (ISO 11290-2:1998, Amd.1:2004) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng *Listeria monocytogenes* - Phần 2: Phương pháp định lượng.

ISO 21567:2004, Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Shigella* spp. (Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện *Shigella* spp).

ISO/TS 21872-1:2007, Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic *Vibrio* spp. - Part 1 : Detection of *Vibrio*

parahaemolyticus and *Vibrio cholerae* (Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện vi khuẩn đường ruột *Vibrio spp.* - Phần 1 : Phát hiện *Vibrio parahaemolyticus* và *Vibrio cholerae*).

3. Phương pháp thử

3.1 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo các tiêu chuẩn cụ thể đối với sản phẩm có liên quan. Nếu không có tiêu chuẩn cụ thể thì các bên liên quan tự thỏa thuận về vấn đề này.

Điều quan trọng là mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng là mẫu đại diện và không bị hư hỏng hoặc không bị biến đổi chất lượng trong quá trình vận chuyển và bảo quản.

3.2 Chuẩn bị mẫu

3.2.1 Nguyên tắc

Chuẩn bị huyền phù ban đầu sao cho thu được sự phân bố các vi sinh vật trong mẫu thử càng đồng đều càng tốt.

Chuẩn bị huyền phù tăng sinh sơ bộ hoặc huyền phù tăng sinh theo cách tương tự, sử dụng môi trường được khuyến cáo cho các phương pháp phân tích liên quan, trừ các trường hợp cụ thể liên quan đến từng nhóm sản phẩm trong tiêu chuẩn này.

Nếu cần, chuẩn bị các dung dịch pha loãng thập phân sao cho giảm bớt số lượng vi sinh vật có trong một đơn vị thể tích, để sau khi ủ có thể quan sát được có hay không có sự phát triển của chúng (trong trường hợp môi trường lỏng) hoặc đếm được các khuẩn lạc (trên các đĩa thạch), như trong tiêu chuẩn cụ thể qui định.

Để giới hạn phạm vi đếm đến khoảng đã định, hoặc nếu dự đoán được số vi sinh vật cao, thì có thể cấy chỉ các dung dịch pha loãng cần thiết (ít nhất hai độ pha loãng liên tiếp) để thu được số đếm theo công thức tính trong TCVN 6404 (ISO 7218).

3.2.2 Thiết bị, dụng cụ

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

3.2.2.1 Bộ đồng hoá quay (bộ trộn).

Xem TCVN 6404 (ISO 7218). Nếu sử dụng mẫu thử lớn thì nên dùng cốc có dung tích 1 lít.

3.2.2.2 Kéo, dao, dao mổ động vật hai mảnh vỏ và dao mổ rộng bản vô trùng.

3.2.2.3 Kẹp, dao và thìa vô trùng

3.2.2.4 Các dụng cụ vô trùng, dùng để tách vỏ (dao đặc biệt, búa, kìm, kẹp bằng êtô điều chỉnh được...)

3.2.2.5 Khoan điện, được gắn với mũi khoan vô trùng bằng gỗ (đường kính 14mm hoặc 16 mm).

3.2.3 Cách tiến hành

3.2.3.1 Yêu cầu chung

Sản phẩm được bảo quản đông lạnh cần đưa về trạng thái phù hợp để lấy mẫu: nghĩa là bảo quản ở 18°C đến 27°C (nhiệt độ phòng thử nghiệm) tối đa là 3 h, hoặc ở từ 0°C đến 4°C tối đa là 24 h. Sau đó mẫu được thử nghiệm càng sớm càng tốt.

Nếu khi lấy mẫu, sản phẩm vẫn còn đông lạnh, thì có thể sử dụng một ít dịch pha loãng ở nhiệt độ phòng thử nghiệm để làm tan băng.

3.2.3.2 Tôm bóc vỏ dạng khối

Làm tan bằng nhẹ nhàng để có thể tách riêng các con tôm và dùng kẹp (3.2.2.3) để lấy các thân thịt.

3.2.3.3 Tôm nguyên con dạng khối

Đề tan đá 1 h ở 18°C đến 27°C (nhiệt độ phòng thử nghiệm) sao cho có thể tách được khối tôm.

Dùng kẹp (3.2.2.3) để lấy các con tôm và dùng kẹp để bóc vỏ chúng trên khay vô trùng.

Trộn phần thịt trong bộ đồng hoá quay (3-2-2).

3.2.3.4 Thịt cua dạng khối

Dùng khoan (3.2.2.5) để lấy mẫu từ khối thịt cua đông lạnh hoặc để cho tan bằng ở 18°C đến 27°C (nhiệt độ phòng thử nghiệm) khoảng 1 h và dùng kim (3.2.2.4) hoặc kẹp (3.2.2.3) để lấy các khoanh thịt.

3.2.3.5 Động vật chân đầu nguyên con dạng khối

Làm tan bằng nhẹ nhàng (khoảng 1 h đối với các khối lớn) ở 18°C đến 27°C (nhiệt độ phòng thử nghiệm). Dùng kéo hoặc dao sắc rộng bản (3.2.2.2) cắt các miếng mẫu thử.

3.2.3.6 Ốc sên, động vật thân mềm bỏ vỏ đã sơ chế dạng khối

Xem phần thịt cua (3.2.3.4).

3.2.3.7 Cá philê dạng khối

Dùng khoan (3.2.2.5) để lấy mẫu từ khối thịt đông lạnh hoặc để cho tan bằng ở 18°C đến 27°C (nhiệt độ phòng thử nghiệm) khoảng 1 h và dùng kim (3.2.2.4) hoặc kẹp (3.2.2.3) để lấy các khoanh thịt.

Để khoảng 1 h nhưng không quá 3 h ở 18°C đến 27°C (nhiệt độ phòng thử nghiệm) cho tan bằng đến đủ mềm để có thể cắt và dùng dao rộng bản và kẹp (3.2.2.3) để lấy các miếng từ khối thịt.

3.2.3.8 Các miếng cá to (ví dụ như cá ngừ philê) dạng khối

Để khoảng 1 h nhưng không quá 3 h ở 18°C đến 27°C (nhiệt độ phòng thử nghiệm) cho tan bằng đến đủ mềm để có thể cắt. Dùng dao sắc rộng bản (3.2.2.2) cắt một lát ở giữa khối.

3.2.3.9 Các phần nhỏ và các phần riêng lẻ

Để khoảng 1 h nhưng không quá 3 h ở 18°C đến 27°C (nhiệt độ phòng thử nghiệm) cho tan bằng đến đủ mềm để có thể cắt.

Xử lý mẫu như với sản phẩm tươi.

3.2.3.10 Các miếng cá to và nguyên con (cá hồi, cá ngừ v.v...)

3.2.3.10.1 Cá ngừ nguyên con

Các mẫu thường được lấy tại các cơ sở thương mại.

Dùng dao nếu cá ngừ đã được làm tan bằng, lấy một miếng cơ thịt dưới da.

Dùng khoan (3.2.2.5) nếu cá ngừ không làm tan bằng.

3.2.3.10.2 Cá và cá dạng miếng

Nếu khối lượng sản phẩm có thời gian cần làm tan bằng kéo dài quá 3 h ở 18°C đến 27°C (nhiệt độ phòng thử nghiệm), thì hoặc làm tan bằng trong tủ lạnh ở 0°C đến 4°C tối đa 48 h, hoặc mẫu được lấy bằng cách dùng khoan (3.2.2.5), tránh xương, nếu có thể.

3.3 Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí, theo TCVN 4884:2005 (ISO 4833:2003).

3.4 Xác định *Escherichia coli*, theo TCVN 6846:2007 (ISO 7251 :2005).

3.5 Xác định *Staphylococcus aureus*, theo TCVN 4830-1:2005 (ISO 6888-1:1999, Amd.1:2003).

3.6 Xác định *Salmonella*, theo TCVN 4829:2005 (ISO 6579:2002).

3.7 Xác định *Clostridium perfringens*, theo TCVN 4991:2005 (ISO 7937:2004).

3.8 Xác định *Shigella*, theo ISO 21567:2004.

3.9 Xác định *Vibrio parahaemolyticus*, theo ISO/TS 21872-1:2007.

3.10 Xác định *Listeria monocytogenes*, theo TCVN 7700-1:2007 (ISO 11290-1:1998, Amd.1:2004) hoặc TCVN 7700-2:2007 (ISO 11290-2:1998, Amd.1:2004).

Tailieu.vn