

BỘ CÔNG THƯƠNG**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM****Độc lập - Tự do - Hạnh phúc**

Số: 36/2015/TT-BCT

Hà Nội, ngày 28 tháng 10 năm 2015

THÔNG TƯ**Ban hành Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia
đối với sản phẩm khăn giấy và giấy vệ sinh**

Căn cứ Nghị định số 95/2012/NĐ-CP ngày 12 tháng 11 năm 2012 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Công Thương;

Căn cứ Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật ngày 29 tháng 6 năm 2006;

Căn cứ Luật Chất lượng sản phẩm, hàng hóa ngày 21 tháng 11 năm 2007;

Căn cứ Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 01 tháng 8 năm 2007 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật;

Căn cứ Nghị định số 132/2008/NĐ-CP ngày 31 tháng 12 năm 2008 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Chất lượng sản phẩm, hàng hóa;

Theo đề nghị của Vụ trưởng Vụ Khoa học và Công nghệ,

Bộ trưởng Bộ Công Thương ban hành Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với sản phẩm khăn giấy và giấy vệ sinh.

Điều 1. Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với sản phẩm khăn giấy và giấy vệ sinh

Ban hành kèm theo Thông tư này “Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với sản phẩm khăn giấy và giấy vệ sinh”. Ký hiệu QCVN 09:2015/BCT.

Điều 2. Hiệu lực thi hành

Thông tư này có hiệu lực thi hành từ ngày 01 tháng 01 năm 2017.

Điều 3. Trách nhiệm thi hành

1. Tổ chức, cá nhân có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Thông tư này.
2. Trường hợp có khó khăn, vướng mắc, tổ chức, cá nhân có trách nhiệm phản ánh kịp thời về Bộ Công Thương (Vụ Khoa học và Công nghệ) để xem xét, giải quyết./.

**KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG**

Cao Quốc Hưng



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 09:2015/BCT

**QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA
ĐỐI VỚI SẢN PHẨM KHĂN GIẤY VÀ GIẤY VỆ SINH**
National technical regulation for napkin and toilet tissue paper

HÀ NỘI - 2015

Lời nói đầu

QCVN 09:2015/BCT do Ban soạn thảo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với sản phẩm khăn giấy và giấy vệ sinh biên soạn, Bộ Khoa học và Công nghệ thẩm định, Bộ Công Thương ban hành theo Thông tư số 36/2015/TT-BCT ngày 28 tháng 10 năm 2015.

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA
ĐỐI VỚI SẢN PHẨM KHĂN GIẤY VÀ GIẤY VỆ SINH
National technical regulation for napkin and toilet tissue paper

1. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

1.1.1. Quy chuẩn này quy định mức giới hạn của các chỉ tiêu cơ lý, hóa học, vi sinh, phương pháp thử, các yêu cầu về ghi nhãn và các yêu cầu quản lý chất lượng đối với sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh, giấy tissue và giấy tissue dạng cuộn lớn được tiêu thụ trên thị trường Việt Nam.

1.1.2. Các sản phẩm khăn giấy, giấy tissue tiếp xúc với thực phẩm nhằm mục đích bao gói, chứa đựng và bảo quản thực phẩm; các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh, giấy tissue sản xuất, gia công trong nước cho mục đích xuất khẩu không thuộc phạm vi điều chỉnh của Quy chuẩn này.

1.2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng đối với các tổ chức, cá nhân sản xuất, gia công, nhập khẩu, phân phối sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh, giấy tissue tiêu thụ trên thị trường Việt Nam; các tổ chức, cá nhân khác có liên quan.

1.3. Giải thích từ ngữ

Trong quy chuẩn này, các từ ngữ dưới đây được hiểu như sau:

1.3.1. Giấy tissue: Là loại giấy đã được làm nhẵn, gồm một hoặc nhiều lớp giấy có định lượng thấp. Giấy tissue và giấy tissue dạng cuộn lớn dùng cho gia công khăn giấy, giấy vệ sinh sau đây sẽ được gọi tắt là giấy tissue.

1.3.2. Khăn giấy: Là sản phẩm được làm từ giấy tissue với các kích thước khác nhau được sử dụng cho mục đích làm sạch và thấm hút. Khăn giấy có thể được dập nổi, có màu trắng hoặc các màu khác hoặc có các hình in trang trí.

1.3.3. Giấy vệ sinh: Là các sản phẩm được làm từ giấy tissue ở dạng cuộn hoặc dạng tờ, có thể có màu trắng hoặc các màu khác hoặc có các hình in trang trí. Giấy vệ sinh có tính thấm hút và được sử dụng cho mục đích vệ sinh.

2. QUY ĐỊNH VỀ KỸ THUẬT

2.1. Yêu cầu đối với nguyên vật liệu

2.1.1. Bột giấy

Bột giấy sử dụng trong quá trình sản xuất khăn giấy và giấy vệ sinh bao gồm bột giấy nguyên thủy, bột giấy tái chế, hỗn hợp bột giấy nguyên thủy và tái chế.

Bột giấy tái chế sử dụng trong sản xuất khăn giấy và giấy vệ sinh được sản xuất từ các loại giấy vụn phù hợp với Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 5946:2007 - Giấy loại.

Không sử dụng các loại bột giấy để sản xuất khăn giấy và giấy vệ sinh từ các loại giấy có nguồn gốc sau:

- Giấy và cát tông đã qua sử dụng để chứa dầu, nhớt, mỡ, hóa chất, thực phẩm;
- Giấy và cát tông đã qua sử dụng có thành phần hợp chất chống cháy (hợp chất Polybrominated diphenyl ether - PBDE, hợp chất Polybrominated biphenyl - PBB, các hợp chất gốc phthalate);
- Giấy và cát tông đã bị cháy một phần;
- Giấy và cát tông có nguồn gốc là rác thải y tế.

2.1.2. Hóa chất

Hóa chất sử dụng trong quá trình sản xuất khăn giấy và giấy vệ sinh phải tuân thủ quy định trong Luật Hóa chất số 06/2007/QH12 ban hành ngày 21 tháng 11 năm 2007. Trường hợp là hóa chất nguy hiểm phải lập Phiếu an toàn hóa chất (Material Safety Data Sheet - MSDS) theo quy định.

2.2. Yêu cầu đối với sản phẩm

2.2.1. Các chỉ tiêu cơ lý

Sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue phải đáp ứng các yêu cầu về chỉ tiêu cơ lý quy định trong Bảng 1.

Bảng 1. Chỉ tiêu cơ lý

TT	Tên chỉ tiêu	Mức quy định							Phương pháp thử
		Khăn giấy và giấy tissue (dùng cho gia công khăn giấy)				Giấy vệ sinh và giấy tissue (dùng cho gia công giấy vệ sinh)			
		Một lớp	Hai lớp	Ba lớp	Bốn lớp	Một lớp	Hai lớp	Ba lớp	
1	Độ bền kéo, N/m, không nhỏ hơn: - Chiều dọc - Chiều ngang	100,0 40,0	110,0 45,0	180,0 60,0	200,0 80,0	90,0 40,0	100,0 45,0	150,0 50,0	TCVN 8309-4: 2009 (ISO 12625-4: 2005)
2	Tỷ lệ độ bền kéo ướt/độ bền kéo khô, %	5 - 15				-	-	-	TCVN 8309-5: 2010 (ISO 12625-5: 2005)
3	Khả năng hấp thụ nước, g/g, không nhỏ hơn	7,0	7,5	8,0	8,0	7,5			TCVN 8309-8: 2009 (ISO 12625-8: 2005)

2.2.3. Các chỉ tiêu hóa học

Các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue phải đáp ứng các yêu cầu về chỉ tiêu hóa học quy định trong Bảng 2.

Bảng 2. Chỉ tiêu hóa học

TT	Tên chỉ tiêu	Mức quy định	Phương pháp thử
1	Độ ẩm, %, không lớn hơn	8,0	TCVN 1867:2010 (ISO 187:2009)
2	pH nước chiết	6,5 - 7,5	TCVN 7066-1:2008 (ISO 6588-1:2005)
3	Độ bền màu của giấy (loại được làm trắng bằng chất tẩy trắng huỳnh quang), mức, không nhỏ hơn	4	TCVN 10089:2013 (EN 648:2006)
4	Độ bền màu của giấy (loại được nhuộm màu và có các hình in)	Không dây màu	TCVN 10087:2013 (EN 646: 2006)
5	Hàm lượng formaldehyt, mg/dm ² , không lớn hơn	1,0	TCVN 8308:2010 (EN 1541: 2001)
6	Hàm lượng chì (Pb), mg/dm ² , không lớn hơn	0,003	TCVN 10093:2013 (EN 12498:2005)
7	Hàm lượng cadimi (Cd), mg/dm ² , không lớn hơn	0,002	TCVN 10093:2013 (EN 12498:2005)
8	Hàm lượng thủy ngân (Hg), mg/dm ² , không lớn hơn	0,002	TCVN 10092:2013 (EN 12497:2005)

2.2.3. Các chỉ tiêu vi sinh

Các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue phải đáp ứng các yêu cầu về chỉ tiêu vi sinh quy định trong Bảng 3.

Bảng 3. Chỉ tiêu vi sinh

TT	Tên chỉ tiêu	Mức quy định		Phương pháp thử
		Khăn giấy và giấy tissue (dùng cho gia công khăn giấy)	Giấy vệ sinh và giấy tissue (dùng cho gia công giấy vệ sinh)	
1	Tổng số vi khuẩn hiếu khí, CFU/g, không lớn hơn	3×10^2	10^3	Phụ lục A.4
2	Tổng số nấm mốc, CFU/g, không lớn hơn	10^2	10^2	Phụ lục A.4

2.3. Yêu cầu về ghi nhãn

2.3.1. Trên mỗi đơn vị bao gói sản phẩm phải có nhãn hàng hóa. Nội dung ghi nhãn phải rõ ràng, dễ đọc, khó tẩy xóa và phải theo đúng quy định tại Nghị định số 89/2006/NĐ-CP ngày 30 tháng 8 năm 2006 của Chính phủ về Nhãn hàng hóa.

2.3.2. Nội dung ghi nhãn hàng hóa phải có tối thiểu các thông tin sau:

- Tên, địa chỉ của nhà sản xuất;
- Tên, địa chỉ nhà nhập khẩu (đối với sản phẩm nhập khẩu);
- Nhãn hiệu sản phẩm;
- Số hiệu tiêu chuẩn do nhà sản xuất công bố áp dụng;
- Dấu hợp quy (dấu CR);
- Định lượng của một lớp giấy;
- Loại bột giấy sử dụng;
- Số lớp của sản phẩm;
- Ngày sản xuất - hạn sử dụng.

3. YÊU CẦU VỀ QUẢN LÝ

3.1. Công bố hợp quy, chứng nhận hợp quy

3.1.1. Các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue tiêu thụ trên thị trường Việt Nam phải được đánh giá chứng nhận phù hợp quy chuẩn (Chứng nhận hợp quy), mang dấu hợp quy (dấu CR) phù hợp với các quy định của Quy chuẩn kỹ thuật này và chịu sự kiểm tra của cơ quan kiểm tra chất lượng sản phẩm, hàng hóa.

3.1.2. Các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue được sản xuất, gia công tại các cơ sở có điều kiện đảm bảo chất lượng trong sản xuất ổn định được đánh giá, chứng nhận hợp quy theo phương thức 5 nêu tại Điều 5 của Thông tư số 28/2012/TT-BKHCN ngày 12 tháng 12 năm 2012 của Bộ Khoa học và Công nghệ về việc Quy định về công bố hợp chuẩn, công bố hợp quy và phương thức đánh giá sự phù hợp với tiêu chuẩn, quy chuẩn kỹ thuật (sau đây gọi là Thông tư số 28). Các sản phẩm hàng hóa sau khi chứng nhận hợp quy theo phương thức 5 cần phải được công bố hợp quy.

Giấy chứng nhận hợp quy theo phương thức 5 có giá trị hiệu lực không quá ba (3) năm kể từ ngày cấp.

3.1.3. Các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue chưa đủ điều kiện để đánh giá theo phương thức 5 theo quy định tại mục 3.1.2 của điều này (bao gồm các sản phẩm nhập khẩu theo lô hàng; các sản phẩm được sản xuất, gia công trong nước chưa được đánh giá theo phương thức 5) phải được chứng nhận hợp quy theo phương thức 7 nêu tại Điều 5 Thông tư số 28. Các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue sau khi chứng nhận hợp quy theo phương thức 7 phải được công bố hợp quy. Các sản phẩm nhập khẩu theo lô hàng không phải công bố hợp quy.

Giấy chứng nhận hợp quy theo phương thức 7 chỉ có giá trị hiệu lực đối với lô hàng được đánh giá chứng nhận.

3.1.4. Phương thức, trình tự, thủ tục công bố hợp quy, chứng nhận hợp quy được thực hiện theo các quy định tại Mục II Chương II Thông tư số 48/2011/TT-BCT ngày 30 tháng 12 năm 2011 của Bộ trưởng Bộ Công Thương quy định quản lý chất lượng sản phẩm hàng hóa nhóm 2 thuộc trách nhiệm quản lý của Bộ Công Thương (sau đây gọi là Thông tư số 48).

3.2. Đánh giá sự phù hợp

3.2.1. Bộ Công Thương chỉ định các tổ chức đánh giá sự phù hợp cho các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue. Trình tự, thủ tục đăng ký chỉ định thực hiện đánh giá sự phù hợp thực hiện theo các quy định tại Mục II Chương II Thông tư số 48.

3.2.2. Phương thức đánh giá chứng nhận phù hợp quy chuẩn đối với các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue phải thực hiện theo Phương thức 5 hoặc Phương thức 7 tại Điều 5, Thông tư số 28.

3.3. Kiểm tra chất lượng

3.3.1. Các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue nhập khẩu, sản xuất, gia công, tiêu thụ trên thị trường phải chịu sự kiểm tra về chất lượng theo quy định tại Chương III của Thông tư số 48 và pháp luật hiện hành về chất lượng sản phẩm, hàng hóa. Ngoài ra các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue còn phải được kiểm tra chất lượng định kỳ, đột xuất theo quy định của pháp luật có liên quan khác.

3.3.2. Việc thử nghiệm các chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue phục vụ kiểm tra nhà nước về chất lượng sản phẩm hàng hóa phải thực hiện tại các phòng thử nghiệm được Bộ Công Thương chỉ định.

4. TRÁCH NHIỆM CỦA TỔ CHỨC CÁ NHÂN

4.1. Tổ chức, cá nhân nhập khẩu, sản xuất, gia công các sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue phải thực hiện việc chứng nhận hợp quy, công bố hợp quy phù hợp với các quy định tại Quy chuẩn kỹ thuật này.

4.2. Các tổ chức, cá nhân có trách nhiệm đăng ký bản công bố hợp quy tại các cơ quan quản lý có thẩm quyền theo quy định của Bộ Công Thương và bảo đảm theo đúng nội dung đã công bố.

4.3. Tổ chức, cá nhân phân phối sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue phải đảm bảo chất lượng sản phẩm, hàng hóa, có dấu hợp quy và ghi nhãn phù hợp với các quy định của Quy chuẩn kỹ thuật này.

4.4. Các tổ chức đánh giá sự phù hợp cho sản phẩm khăn giấy, giấy vệ sinh và giấy tissue sau khi được Bộ Công Thương chỉ định phải đảm bảo thực hiện đúng các yêu cầu của Quy chuẩn kỹ thuật này.

5. TỜ CHỨC THỰC HIỆN

5.1. Vụ Khoa học và Công nghệ - Bộ Công Thương có trách nhiệm chủ trì, hướng dẫn và phối hợp với các cơ quan nhà nước có liên quan khác tổ chức việc thực hiện Quy chuẩn kỹ thuật này.

5.2. Căn cứ vào yêu cầu quản lý, Vụ Khoa học và Công nghệ có trách nhiệm kiến nghị Bộ Công Thương sửa đổi, bổ sung nội dung Quy chuẩn kỹ thuật này phù hợp với thực tiễn.

5.3. Trường hợp các tiêu chuẩn và quy định pháp luật được viện dẫn trong Quy chuẩn này có sự thay đổi, bổ sung hoặc được thay thế thì áp dụng theo quy định tại văn bản mới.

Phụ lục A

PHƯƠNG PHÁP THỬ

A.1. Lấy mẫu

Phương pháp lấy mẫu, số lượng mẫu cần lấy để thử nghiệm các chỉ tiêu nêu tại Mục 2.2 - Yêu cầu đối với sản phẩm của Quy chuẩn kỹ thuật này được thực hiện theo TCVN 3649:2007 (ISO 186:2002), Giấy và cactông - Lấy mẫu để xác định chất lượng trung bình/Paper and board - Sampling to determine average quality.

A.2. Phương pháp thử chỉ tiêu cơ lý

Phương pháp thử các chỉ tiêu cơ lý được thực hiện theo các tiêu chuẩn quốc gia đã ban hành sau:

- TCVN 8309-4:2009 (ISO 12625-4: 2005), Giấy tissue và sản phẩm tissue - Phần 4: Xác định độ bền kéo, độ giãn dài khi đứt và năng lượng kéo hấp thụ/Tissue paper and tissue products - Part 4: Determination of tensile strength, stretch at break and tensile energy absorption.

- TCVN 8309-5: 2010 (ISO 12625-5: 2005), Giấy tissue và sản phẩm tissue - Phần 5: Xác định độ bền kéo ướt/Tissue paper and tissue products - Part 5: Determination of wet tensile strength.

- TCVN 8309-8:2009 (ISO 12625-8: 2005), Giấy tissue và sản phẩm tissue - Phần 8: Thời gian hấp thụ nước và khả năng hấp thụ nước theo phương pháp giỏ ngâm/Tissue paper and tissue products - Part 8: Water-absorption time and water-absorption capacity, basket-immersion test method.

A.3. Phương pháp thử chỉ tiêu hóa học

Phương pháp thử các chỉ tiêu hóa học được thực hiện theo các tiêu chuẩn quốc gia đã ban hành sau:

- TCVN 1867:2010 (ISO 187: 2009), Giấy và cactông - Xác định độ ẩm - Phương pháp sấy khô/Paper and board - Determination of moisture content of a lot - Oven drying method.

- TCVN 7066-1:2008 (ISO 6588-1: 2005), Giấy, cactông và bột giấy - Xác định pH nước chiết - Phần 1: Phương pháp chiết lạnh/Paper, board and pulps -Determination of pH of aqueous extracts - Part 1: Cold extraction.

- TCVN 10089: 2013 (EN 648: 2006), Giấy và cactông tiếp xúc với thực phẩm - Xác định độ bền màu của giấy và cactông được làm trắng bằng chất huỳnh quang/Paper and board intended to come into contact with foodstuffs - Determination of the fastness of fluorescent whitened paper and board.

- TCVN 10087: 2013 (EN 646: 2006) - Giấy và các tông tiếp xúc với thực phẩm - Xác định độ bền màu của giấy và các tông được nhuộm màu/Paper and board intended to come into contact with foodstuffs - Determination of colour fastness of dyed paper and board.

- TCVN 8308:2010 (EN 1541: 2001) - Giấy và các tông tiếp xúc với thực phẩm - Xác định formaldehyt trong dung dịch nước chiết/Paper and board intended to come into contact with foodstuffs - Determination of formaldehyde in an aqueous extract.

- TCVN 10093:2013 (EN 12498: 2005) - Giấy và các tông tiếp xúc với thực phẩm - Xác định cadimi và chì trong dịch chiết nước/Paper and board - Paper and board intended to come into contact with foodstuffs - Determination of cadmium and lead in an aqueous extract.

- TCVN 10092:2013 (EN 12497: 2005) - Giấy và các tông tiếp xúc với thực phẩm - Xác định thủy ngân trong dịch chiết nước/Paper and board - Paper and board intended to come into contact with foodstuffs - Determination of mercury in an aqueous extract.

A.4. Phương pháp thử chỉ tiêu vi sinh

A.4.1. Nguyên tắc chung

Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí và nấm mốc trong khăn giấy, giấy vệ sinh trên môi trường dinh dưỡng thích hợp và ủ trong các điều kiện quy định. Tổng số vi khuẩn hiếu khí và nấm mốc trên gam mẫu thử được xác định từ số lượng khuẩn lạc đếm được trên đĩa.

A.4.2. Thiết bị, dụng cụ

Các thiết bị, dụng cụ thông thường trong phòng thí nghiệm vi sinh vật và các thiết bị, dụng cụ sau đây:

- Tủ cấy vô trùng;
- Thiết bị để khử trùng khô (tủ sấy) và để khử trùng ướt (nồi hấp áp lực);
- Tủ ấm, có khả năng duy trì nhiệt độ ở $(30 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ và $(25 \pm 2)^{\circ}\text{C}$;
- Đĩa Petri vô trùng, bằng thủy tinh hoặc chất dẻo có đường kính từ 140 mm trở lên;
- Thiết bị đếm khuẩn lạc;
- Pipet vô trùng, có dung tích danh định ≥ 5 mL;
- Cân, có độ chính xác đến 0,01 g;
- Dụng cụ chứa vô trùng có dung tích thích hợp;
- Dao, kéo và kẹp vô trùng.

A.4.3. Môi trường cấy và thuốc thử

A.4.3.1. Môi trường thạch để đếm đĩa (PCA)

Thành phần	Khối lượng/Thể tích
Pepton từ casein	5 g
Cao nấm men	2,5 g
Glucosa, dạng khan ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)	1,0 g
Thạch ¹⁾	12 g đến 18 g
Nước	1 000 mL

¹⁾ Tùy thuộc vào sức đông của thạch

A.4.3.2. Môi trường thạch Sabouraud dextroza (SDA)

Thành phần	Khối lượng/ Thể tích
Cao nấm men	5 g
Dextroza (C ₆ H ₁₂ O ₆)	20 g
Cloramphenicol (C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₅)	1,0 g
Thạch ¹⁾	12 g đến 18 g
Nước	1 000 mL

¹⁾ Tùy thuộc vào sức đông của thạch

A.4.3.3. Dung dịch nước pepton 0,1%.

A.4.3.4. Etanol có nồng độ 70% hoặc lớn hơn được dùng để khử trùng dụng cụ thử.

A.4.4 Chuẩn bị**A.4.4.1. Chuẩn bị từ môi trường khô loại thương mại**

- Theo chỉ dẫn của nhà sản xuất.

- Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng với môi trường PCA là $(7,0 \pm 0,2)$ ở 25°C và với môi trường SDA là $(5,6 \pm 0,2)$ ở 25°C.

A.4.4.2. Chuẩn bị từ các thành phần cơ bản khô

- Hòa tan các thành phần trong nước, theo thứ tự sau: cao nấm men, pepton từ casein, glucoza (hoặc dextroza). Đun nóng nước để hòa tan cho nhanh hơn.

- Thêm thạch và đun đến sôi, thỉnh thoảng khuấy cho đến khi tan hết thạch.

- Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng với môi trường PCA là $(7,0 \pm 0,2)$ ở 25°C và với môi trường SDA là $(5,6 \pm 0,2)$ ở 25°C.

A.4.4.3. Chuẩn bị mẫu thử

Từ các mẫu còn nguyên bao gói được lấy theo A.1, lấy ra các phần mẫu để chuẩn bị mẫu thử. Chuẩn bị mẫu thử trong điều kiện vô trùng, không tiếp xúc tay trần với mẫu thử, sử dụng găng tay cao su hoặc polyetylen vô trùng để lấy mẫu thử.

A.4.5. Cách tiến hành

Tiến hành đồng thời với ba mẫu thử như nhau. Thực hiện quy trình thử với mỗi mẫu thử trong điều kiện vô trùng như sau:

- Bằng thao tác vô trùng, cân $(10 \pm 0,1)$ g mẫu thử vào dụng cụ chứa mẫu đã vô trùng.

- Cho thêm 500 mL dung dịch pepton vô trùng vào dụng cụ chứa mẫu vô trùng có chứa mẫu thử và tiến hành quá trình đồng hóa trong 1 min. Để thuận lợi cho quá trình thực hiện có thể pha loãng thêm dịch chiết này đến nồng độ thích hợp.

- Dùng pipet vô trùng lấy 5,0 mL dung dịch chiết hoặc dịch pha loãng cho vào từng đĩa trong tổng số tám đĩa Petri vô trùng, cẩn thận không để lẫn sợi trong dịch chiết hoặc dịch pha loãng.

Chú thích: Phép thử bốn đĩa với 5,0 mL dịch chiết hoặc dịch pha loãng cho một đĩa đếm vi khuẩn hoặc nấm tương đương với phép thử song song của 10,0 mL dịch chiết hoặc dịch pha loãng.

- Rót vào 4 đĩa Petri khoảng 30 mL đến 40 mL môi trường thạch đếm đĩa PCA và 4 đĩa Petri khoảng 30 mL đến 40 mL môi trường SDA ở nhiệt độ 44°C đến 47°C. Thời gian từ khi chuẩn bị xong dịch chiết ban đầu đến khi rót môi trường vào các đĩa không được lâu hơn 45 min.

- Trộn cẩn thận dịch cấy với môi trường bằng cách xoay đĩa Petri và để cho hỗn hợp đông đặc.

- Sau khi hỗn hợp đông đặc hoàn toàn, lật ngược các đĩa đã cấy mẫu (Chỉ lật các đĩa chứa môi trường PCA, còn đĩa chứa môi trường SDA để nuôi cấy nấm mốc thì không lật ngược) và đặt các đĩa PCA vào tủ ẩm ở nhiệt độ $(30 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ trong $(72 \pm 3)\text{h}$ và các đĩa SDA ở nhiệt độ $(25 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ trong 5 ngày.

- Sau thời gian ủ quy định, sử dụng thiết bị đếm khuẩn lạc để đếm số lượng khuẩn lạc trên các đĩa. Kiểm tra các đĩa dưới ánh sáng dịu. Điều quan trọng là các khuẩn lạc chính phải được đếm và tránh đếm nhầm với các hạt không hòa tan hoặc chất kết tủa trên đĩa.

- Các khuẩn lạc mọc lan rộng được coi là các khuẩn lạc đơn lẻ. Nếu ít hơn một phần tư đĩa mọc dày lan rộng, thì đếm các khuẩn lạc trên phần đĩa còn lại và tính số tương ứng cho cả đĩa. Nếu quá một phần tư đĩa bị mọc dày lan rộng thì loại bỏ đĩa và không đếm. Không đếm cụm nấm xuất hiện trên các đĩa PCA hoặc cụm vi khuẩn xuất hiện trên đĩa SDA.

A.4.6. Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí và nấm mốc

A.4.6.1. Tổng số vi khuẩn hiếu khí trên gam của mỗi mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$\frac{(C_1 + C_2) + (C_3 + C_4) \times D}{2} \times T$$

Trong đó:

C_1 : Tổng số vi khuẩn trên đĩa PCA 1;

C_2 : Tổng số vi khuẩn trên đĩa PCA 2;

C_3 : Tổng số vi khuẩn trên đĩa PCA 3;

C_4 : Tổng số vi khuẩn trên đĩa PCA 4;

D : Hệ số pha loãng (= 50), trong trường hợp pha loãng tiếp dịch chiết đầu theo hệ số mũ thì $D = 50 \times 10^n$, n là số lần pha loãng tiếp theo (không tính lần pha dung dịch chiết đầu);

T : Khối lượng của mẫu thử, tính bằng gam ($T = 10\text{g}$).

Tính tổng số vi khuẩn hiếu khí là giá trị trung bình nhận được từ 3 mẫu thử.

Chú thích: Trong trường hợp phải pha loãng thì C_1 , C_2 , C_3 và C_4 là số khuẩn lạc đếm trên đĩa ở nồng độ pha loãng 10^{-n} .

A.4.6.2. Tổng số nấm mốc trên gam của mỗi mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$\frac{(C_5 + C_6) + (C_7 + C_8)}{2} \times D$$

T

Trong đó:

C_5 : Tổng số nấm mốc trên đĩa SDA 5;

C_6 : Tổng số nấm mốc trên đĩa SDA 6;

C_7 : Tổng số nấm mốc trên đĩa SDA 7;

C_8 : Tổng số nấm mốc trên đĩa SDA 8;

D : Hệ số pha loãng (= 50), trong trường hợp pha loãng tiếp dịch chiết đầu theo hệ số mũ thì $D = 50 \times 10^n$, n là số lần pha loãng tiếp theo (không tính lần pha dung dịch chiết đầu);

T : Khối lượng của mẫu thử, tính bằng gam. ($T = 10$ g).

Tính tổng số nấm mốc là giá trị trung bình nhận được từ 3 mẫu thử.

A.4.6.3. Tính toán kết quả

Tổng số vi khuẩn hiếu khí và nấm mốc trên gam mẫu thử được xác định từ số lượng khuẩn lạc đếm được trên đĩa.

Trong trường hợp không có bất kỳ khuẩn lạc nào mọc trên đĩa tương ứng cho 10,0 mL dịch chiết hoặc dịch pha loãng thì Tổng số vi khuẩn hiếu khí hay Tổng số nấm mốc có trong mẫu là $< D/T$ CFU/g (tương ứng < 5 CFU/g).