

Chương 8. Kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật

Mục lục

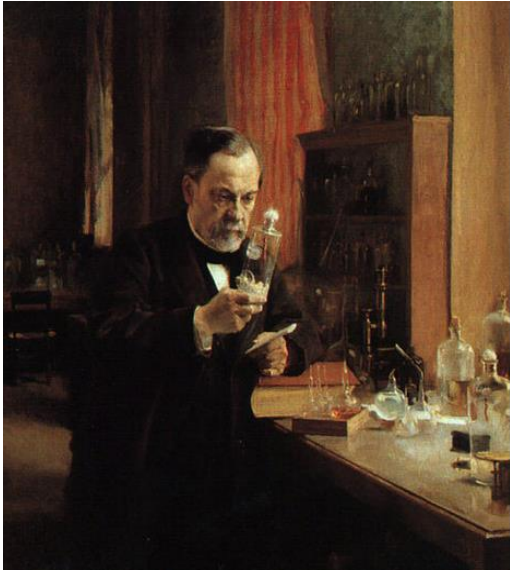
Chương 8. Kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật	1
8.1. Giới thiệu	3
8.2. Khái niệm.....	3
8.2.1. Thanh trùng	3
8.2.2. Khử trùng	4
8.2.3. Nhiễm trùng	4
8.2.4. Vô trùng	4
8.2.5. Các yếu tố sát khuẩn dạng hóa học	4
8.2.6. Diệt khuẩn	5
8.2.7. Kìm hãm sự tăng trưởng của vi khuẩn	5
8.2.8. Vệ sinh	5
8.2.9. Chất vệ sinh.....	5
8.3. Kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật	5
8.4. Phương pháp kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật	5
8.5. Phương pháp vật lý	6
8.5.1. Sử dụng ánh sáng mặt trời.....	6
8.5.2. Sử dụng nhiệt	6
8.5.3. Lọc.....	15
8.5.4. Tia X.....	23
8.5.5. Chiếu xạ không ion hóa	23
8.5.6. Sóng siêu âm	24
8.6. Phương pháp hóa học.....	25
8.6.1. Đặc tính của chất khử trùng	25
8.6.2. Tác động của chất diệt khuẩn.....	26
8.6.3. Yếu tố làm ảnh hưởng đến hoạt tính của chất khử trùng	26
8.6.4. Loại chất khử trùng	26

8.6.5. Các chất bảo quản	34
8.6.6. Nhóm thuốc kháng vi sinh vật	36

8.1. Giới thiệu

Prokaryote là nhóm sinh vật đa dạng và phong phú, nhiều loài mang lại lợi ích to lớn và được con người ứng dụng để đưa vào sản xuất ra các sản phẩm phục vụ đời sống. Bên cạnh đó cũng có nhiều loài vi sinh vật gây hậu quả không mong muốn như làm hư hỏng thực phẩm, gây bệnh cho người, động vật và thực vật.

Ví dụ như trong lĩnh vực y học, vào thế kỷ 19, giải phẫu là công việc đầy rủi ro và



nguy hiểm, bệnh nhân phải trải qua các quy trình phẫu thuật và nguy cơ nhiễm trùng tại mỗi công đoạn là rất cao. Điều này là do quá trình giải phẫu không được tiến hành trong điều kiện vô trùng. Nhà vi sinh vật học người Pháp, Louis Pasteur (Hình 8.1), đã chứng minh rằng chính các vi sinh vật không thấy được bằng mắt thường là thủ phạm gây ra sự nhiễm trùng này.

Hình 8.1. Nhà vi sinh vật học người Pháp, Louis Pasteur (1822 – 1895), được xem là cha đẻ của

ngành vi sinh vật học. Nguồn: A . Edelfeldt.

Mục đích của việc kiểm soát sự tăng trưởng vi sinh vật gồm: (a) tiêu diệt đối tượng gây bệnh và ngăn chặn sự lan truyền của chúng và (b) làm giảm hoặc loại bỏ vi sinh vật gây ô nhiễm thực phẩm, nước uống, các sản phẩm khác và vật dụng sử dụng trong y tế và thực phẩm.

8.2. Khái niệm

Trong tài liệu này các khái niệm sau đây được hiểu như sau:

8.2.1. Thanh trùng

Thanh trùng (sterilization) được định nghĩa là quá trình tiêu diệt tất cả vi sinh vật sống ở dạng tế bào dinh dưỡng hoặc trạng thái bào tử.

Hiện nay có nhiều quy trình thanh trùng liên quan đến sử dụng nhiệt, phóng xạ hoặc hóa chất hoặc vật lý để loại bỏ tế bào. Mặc dù hầu hết thanh trùng được tiến hành bằng yếu tố vật lý như nhiệt, nhưng cũng có một số chất hóa học được gọi là chất thanh trùng nhờ khả năng phá hủy tế bào và bào tử vi sinh vật. Chất hóa học được phân thành

các nhóm:

- (a). Nhóm diệt khuẩn là yếu tố vật lý, hóa học tiêu diệt được vi khuẩn gây bệnh.
- (b). Nhóm diệt nấm là yếu tố có khả năng tiêu diệt được vi nấm gây bệnh;
- (c). Nhóm khử trùng là những chất có thể được sử dụng cho vật liệu vô sinh hoặc cho cả mô còn sống, nhưng yếu tố này thường không thể tiêu diệt được các tế bào vi khuẩn có khả năng kháng lại.

8.2.2. Khử trùng

Khử trùng (disinfection) là việc sử dụng yếu tố hóa học để phá hủy hoặc loại bỏ tất cả vi sinh vật gây bệnh hoặc loại bỏ khả năng gia tăng xâm nhiễm của vi sinh vật. Quá trình này phá hủy tế bào dinh dưỡng của vi sinh vật gây bệnh nhưng không tiêu diệt nội bào tử của chúng.

Điều quan trọng đáng lưu ý là chất khử trùng thường chỉ được sử dụng cho các vật thể vô sinh do chúng gây độc cho người và mô động vật khi được sử dụng ở nồng độ cao. Quá trình khử trùng cũng loại bỏ các sản phẩm gây hại của vi sinh vật như độc tố chẳng hạn ra khỏi vật thể.

Ví dụ về một số biện pháp khử trùng gồm (a) áp dụng dung dịch 5% chất tẩy để khử trùng bề mặt, (b) đun sôi dụng cụ chứa thực phẩm trước khi sử dụng và (c) nhúng nhiệt kế vào dung dịch isopropyl alcohol sau mỗi lần sử dụng,

8.2.3. Nhiễm trùng

Trong y học hiện đại, nhiễm trùng (sepsis) được hiểu là sự tăng trưởng của vi sinh vật trong cơ thể hoặc sự hiện diện của độc tố vi sinh vật trong máu hoặc mô.

8.2.4. Vô trùng

Vô trùng (asepsis) được hiểu là bất kỳ thao tác thực hành nào nhằm loại trừ, ngăn chặn sự xâm nhập của yếu tố xâm nhiễm vào mô, vật dụng, dụng cụ, .. và vì vậy ngăn chặn sự nhiễm trùng.

8.2.5. Các yếu tố sát khuẩn dạng hóa học

Là những yếu tố hóa học được áp dụng trực tiếp trên bề mặt cơ thể như da và niêm mạc, vết thương và đường rạch phẫu thuật để tiêu diệt hoặc ức chế tế bào dinh dưỡng của vi sinh vật gây bệnh. Ví dụ các chất sát khuẩn gồm (a) hợp chất iodine làm sạch da trước khi rạch phẫu thuật, (b) hydrogen peroxide được tẩm trong miếng bông đặt vào ống chân

răng mở và (c) xà phòng diệt khuẩn dùng để rửa tay.

8.2.6. Diệt khuẩn

Diệt khuẩn (bactericidal) là thuật ngữ được dùng để chỉ sự tiêu diệt tế bào vi khuẩn; yếu tố tiêu diệt (cidal agent) là yếu tố làm chết tế bào.

8.2.7. Kìm hãm sự tăng trưởng của vi khuẩn

Kìm hãm sự tăng trưởng của vi khuẩn (bacteriostatic) là chỉ sự ức chế tăng trưởng của tế bào vi khuẩn; yếu tố kìm hãm là yếu tố ức chế sự tăng trưởng của tế bào vi khuẩn.

8.2.8. Vệ sinh

Vệ sinh (Sanitization) là quá trình/kỹ thuật làm sạch để loại bỏ vi sinh vật cùng với mảng bám thực phẩm một cách cơ học nhằm loại bỏ hoặc làm giảm mức ô nhiễm.

8.2.9. Chất vệ sinh

Chất vệ sinh (sanitizer) là hợp chất được sử dụng để vệ sinh. Ví dụ như xà phòng hay chất tẩy rửa được sử dụng làm vệ sinh trong chế biến thực phẩm, phòng thí nghiệm hay trong gia đình. Vật dụng gia đình như: đồ nấu, chén đĩa, hộp, lon và quần áo sử dụng được giặt/rửa và làm khô có thể không loại bỏ hoàn toàn vi sinh vật nhưng được xem là an toàn cho người sử dụng.

8.3. Kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật

Kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật là vấn đề cần thiết trong nhiều lĩnh vực: (i) trong công nghiệp chế biến thực phẩm, (ii) lĩnh vực y tế như bệnh viện, (iii) sản xuất chế phẩm sinh học, (iv) trong các ứng dụng khác phục vụ đời sống con người. Nhiều tiến bộ đáng kể trong nông nghiệp, y học và khoa học thực phẩm thu được nhờ thông qua nghiên cứu về lĩnh vực này.

Kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật chính là ức chế hoặc ngăn chặn sự tăng trưởng của chúng. Kiểm soát này được tác động theo hai cách: (1) đó là tiêu diệt vi sinh vật hoặc (2) bằng cách ức chế sự tăng trưởng của vi sinh vật. Kiểm soát sự tăng trưởng thường liên quan đến việc sử dụng các yếu tố vật lý hoặc hóa học được sử dụng để tiêu diệt hoặc để ngăn chặn sự tăng trưởng của vi sinh vật.

8.4. Phương pháp kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật

Phương pháp kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật có thể được phân thành hai nhóm rộng như sau: 1. Phương pháp vật lý và 2. Phương pháp hóa học.

8.5. Phương pháp vật lý

Trong nhóm phương pháp vật lý gồm: (1). Sử dụng ánh sáng mặt trời, (2). Sử dụng nhiệt, (3). Phương pháp lọc, (4). Chiếu xạ và (5). Dùng sóng siêu âm.

8.5.1. Sử dụng ánh sáng mặt trời

Trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời là phương pháp tự nhiên được sử dụng để thanh trùng nước chứa trong vật dụng. Trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời có tác động tích cực để tiêu diệt vi sinh vật do ánh sáng mặt trời có các tia tử ngoại và tia nhiệt. Vi khuẩn trong nước sẽ nhanh chóng bị tiêu diệt khi nước được phơi dưới ánh sáng mặt trời.

8.5.2. Sử dụng nhiệt

Đây là phương pháp quan trọng nhất và được sử dụng rộng rãi. Khi thanh trùng bằng nhiệt cần phải xem xét loại nhiệt nào và điều quan trọng nhất là thời gian và nhiệt độ thanh trùng để đảm bảo phá hủy tất cả tế bào vi sinh vật. Nội bào tử vi khuẩn được xem là tế bào chịu nhiệt cao nhất vì vậy cần phải chắc chắn rằng chúng sẽ bị tiêu diệt.

Khi nhiệt tăng cao vượt ngưỡng chịu đựng cực đại, vi khuẩn sẽ bị tiêu diệt, ngược lại khi nhiệt độ thấp hơn dưới ngưỡng cực tiểu sẽ có khuynh hướng tác động làm ức chế vi sinh vật. Hai kiểu nhiệt thường được sử dụng để thanh trùng vi sinh vật là (i) nhiệt ẩm và (ii) nhiệt khô.

Thanh trùng bằng nhiệt ẩm: nhiệt ẩm xuất hiện ở dạng nước nóng, nước sôi hoặc hơi nước. Trong thực tế nhiệt ẩm thường được sử dụng ở khoảng nhiệt độ từ 60 đến 135°C. Việc điều chỉnh áp suất trong vật chứa có thể làm điều hòa nhiệt hơi. Nhiệt ẩm tiêu diệt vi sinh vật bằng cách làm biến tính và đông tụ protein.

Thanh trùng bằng nhiệt ẩm có thể được phân thành các nhóm như sau: (a). Thanh trùng ở nhiệt độ < 100°C, (b). Thanh trùng ở nhiệt độ 100°C, (c). Thanh trùng ở nhiệt độ >100°C và (d). Thanh trùng gián đoạn bằng nhiệt ẩm.

Thanh trùng ở nhiệt độ < 100°C: thanh trùng pasteur là một ví dụ về thanh trùng ở nhiệt độ < 100°C.

Thanh trùng pasteur sử dụng nhiệt nhẹ để giảm số lượng vi sinh vật trong sản phẩm thực phẩm. Trong thanh trùng pasteur sữa, thời gian và nhiệt độ phụ thuộc vào sự tiêu diệt vi khuẩn gây bệnh lây nhiễm vào sữa, ví dụ staphylococcus, streptococcus, *Brucella abortus* và *Mycobacterium tuberculosis*, hay vi khuẩn gây bệnh

khác nhiễm vào trong quá trình thao tác. Bên cạnh đó thanh trùng pasteur cũng tiêu diệt nhiều vi sinh vật gây hư hỏng thực phẩm, nhờ đó làm gia tăng tuổi thọ của sữa nhất là khi được bảo quản ở điều kiện nhiệt độ lạnh.

Sữa thường được thanh trùng pasteur theo phương pháp thanh trùng từng mẻ, nhiệt độ sử dụng thường ở 63°C trong 30 phút hoặc ở 71°C trong 15 giây để tiêu diệt vi khuẩn và kéo dài thời gian sử dụng của sữa. Quá trình này sẽ tiêu diệt vi sinh vật gây bệnh nhưng đồng thời cũng làm mất đi vi sinh vật có lợi trong sữa.

Có hai phương pháp thanh trùng pasteur như sau: (i) phương pháp chớp nhoáng (flash method) và (ii) phương pháp giữ lâu hơn (holder method). Trong phương pháp chớp nhoáng, sữa được gia nhiệt lên 72°C trong 15 - 20 giây sau đó làm lạnh nhanh xuống 13°C hoặc thấp hơn. Trong phương pháp giữ lâu hơn, sữa được gia nhiệt lên 63°C trong 30 phút sau đó làm lạnh xuống 13°C hoặc thấp hơn nhưng không được nhỏ hơn 6°C.

Phương pháp chớp nhoáng thích hợp để thanh trùng sữa vì nó hầu như không làm thay đổi mùi vị và thành phần dinh dưỡng của sữa và phương pháp này cũng hiệu quả hơn để tiêu diệt một số vi sinh vật gây bệnh kháng nhiệt như *Coxiella* và *Mycobacterium* chẳng hạn.

Mặc dù thanh trùng pasteur làm bất hoạt hầu hết virus và tiêu diệt 97 - 99% tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn và nấm nhưng phương pháp này không phá hủy được nội bào tử hay các loài chịu được nhiệt như *Lactobacillus* không gây bệnh, *Micrococcus* và nấm men. Trong thực tế nếu sữa không được thanh trùng thì mỗi ml sữa chứa khoảng 20.000 vi sinh vật hoặc nhiều hơn, đây là lý do tại sao sữa mau hư hỏng mặc dù được chứa trong bao gói hàn kín miệng.

Kỹ thuật mới hơn gọi là kỹ thuật UHT (Ultra Heat Treated) hiện được sử dụng rộng rãi để thanh trùng sữa và kỹ thuật này giúp kéo dài tuổi thọ của sản phẩm trong ba tháng. Trong phương pháp này, sữa được thanh trùng ở nhiệt cao từ 134°C - 140°C trong 1 - 2 giây. Trong phương pháp **UHT trực tiếp**, cho sữa tiếp xúc trực tiếp với nhiệt hơi ở 140°C trong 1 - 2 giây. Theo đó màng mỏng của sữa được đổ xuống khoang có hơi áp suất cao, khi đó sữa sẽ được gia nhiệt tức thì. Sau đó sữa được làm lạnh chớp nhoáng bằng cách áp dụng chân không nhẹ, giúp loại bỏ nước dư thừa trong sữa do sự ngưng tụ

từ hơi nước. Trong phương pháp **UHT gián tiếp**, sữa được gia nhiệt trong tấm trao đổi nhiệt. Chỉ cần một vài giây làm nhiệt độ của sữa đạt đến 140°C. Nếu thanh trùng bằng kỹ thuật UHT đi cùng với việc đóng gói trong điều kiện vô trùng thì sản phẩm sẽ có tuổi thọ lâu hơn và không cần bảo quản lạnh.

Thanh trùng ở nhiệt độ 100°C: thanh trùng ở nhiệt độ 100°C gồm (i) đun sôi và (ii) thanh trùng bằng hơi nước ở 100°C.

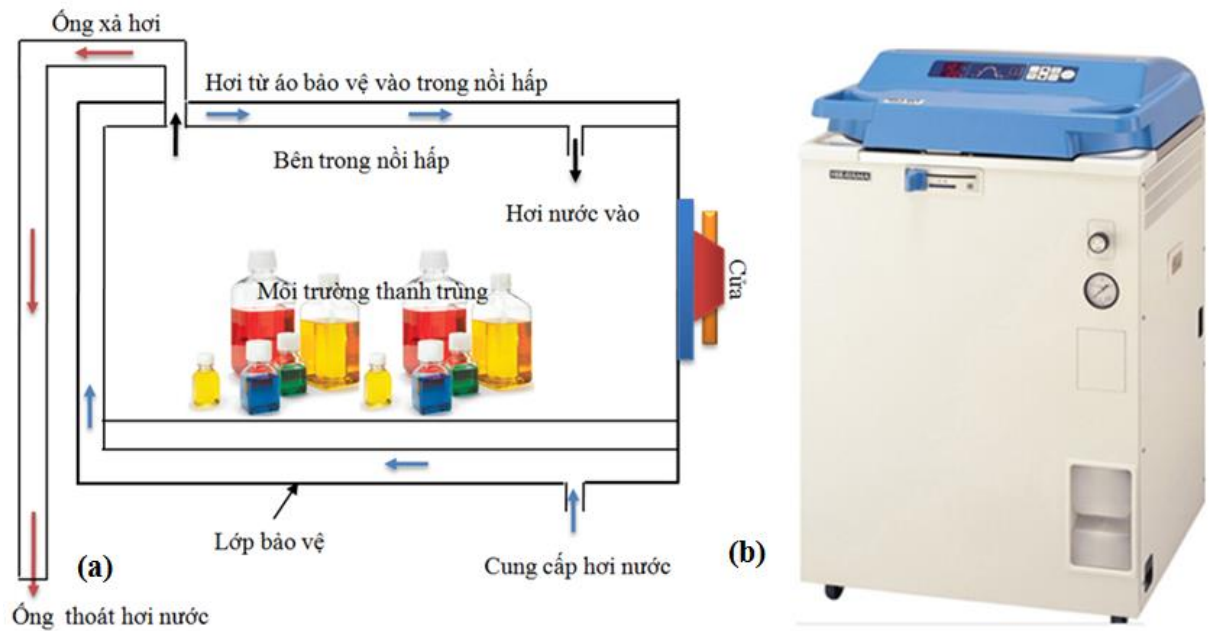
Đun sôi: đun sôi nước trong 10 - 30 phút sẽ tiêu diệt hầu hết tế bào dinh dưỡng vi khuẩn nhưng không giết được bào tử. Sản phẩm, vật liệu được đun sôi trong nước trong vòng 30 phút sẽ tiêu diệt hầu hết các đối tượng vi khuẩn gây bệnh không hình thành bào tử kể cả các loài kháng nhiệt như trực khuẩn gây u lao và tụ cầu khuẩn staphylococcus.

Khử trùng bằng cách đun sôi sẽ thuận lợi hơn khi cho thêm 2% sodium bicarbonate vào nước. Do nước sôi chỉ đạt 100°C, không thể tiêu diệt tất cả bào tử nên phương pháp này không được sử dụng để thanh trùng mà chỉ dùng để khử trùng. Vì vậy phương pháp đun sôi không được khuyến cáo để thanh trùng thiết bị dùng trong phẫu thuật. Điểm bất lợi lớn nhất của phương pháp này là các vật dụng được khử trùng dễ dàng tái nhiễm khi loại bỏ nước sôi.

Thanh trùng bằng hơi nước ở 100°C: thiết bị thanh trùng hơi nước Koch hay Arnold thường được sử dụng cho những chất không bền nhiệt có khuynh hướng bị phá hủy ở nhiệt độ và áp suất cao hơn như quá trình hấp bằng nồi thanh trùng (autoclave). Các chất này được phơi nhiễm với hơi nước ở áp suất không khí trong 90 phút để tiêu diệt hầu hết các tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn ngoại trừ những vi khuẩn ưa nhiệt.

Thanh trùng ở nhiệt độ > 100°C: đây là một phương pháp thanh trùng khác bằng hơi nước dưới điều kiện áp suất. Nhiệt độ 100°C là mức cao nhất mà hơi nước có thể đạt tới trong điều kiện áp suất bình thường ở mực nước biển. Áp suất này được đo ở 15 pound/inch vuông (per square inch - psi), hay là 1 atmosphere (atm). Theo đó để nâng nhiệt độ của hơi nước lên trên điểm này, thì cần phải nâng áp suất trong khoang chứa đóng chặt lên. Hiện tượng này được lý giải bằng nguyên tắc vật lý chi phối hơi nước dưới điều kiện áp suất. Khi hơi được nén lại, áp suất hơi sẽ tăng lên, trực tiếp liên quan đến áp suất. Vì vậy khi áp suất tăng lên 5 psi trên áp suất khí quyển thì nhiệt độ của hơi nước tăng lên 109°C. Trong trường hợp áp suất tăng lên 10 psi so với bình thường thì

nhệt độ sẽ là 115°C và khi áp suất ở 15 psi (2 atm), thì nhiệt độ sẽ đạt 121°C . Điều lưu ý rằng áp suất tự nó không thể tiêu diệt vi sinh vật nhưng sẽ làm tăng nhiệt độ và kết hợp với nhiệt độ để tiêu diệt vi sinh vật. Đây là nguyên tắc thanh trùng bằng hơi nước trong điều kiện áp suất. Sự kết hợp giữa áp suất và nhiệt độ chỉ có thể đạt được trong thiết bị chuyên dùng, sử dụng hơi nước sạch để đưa áp suất lớn hơn 1 atm. Trong lĩnh vực y tế, thí nghiệm sinh học và thương mại thường sử dụng thiết bị chuyên dùng là nồi hấp thanh trùng (autoclave) còn trong gia đình thường sử dụng nồi nấu áp suất.



Hình 8.2. Nồi hấp thanh trùng. (a). Sơ đồ minh họa nguyên tắc hoạt động của nồi hấp thanh trùng. (b). Ví dụ nồi hấp thanh trùng dạng thương mại của hãng Hirayama thường được sử dụng trong phòng thí nghiệm sinh học.

Thanh trùng bằng nồi hấp là phương pháp hiệu quả nhất. Tất cả các nồi hấp hoạt động đều dựa trên mối quan hệ giữa thời gian và nhiệt độ. Các thay đổi về hai chỉ số này là cực kỳ quan trọng. Nhiệt độ cao hơn dễ tiêu diệt vi sinh vật nhanh hơn. Thông thường nhiệt độ/áp suất chuẩn là $121^{\circ}\text{C}/15$ psi trong 15'. Thời gian dài hơn thì cần thiết cho lượng thanh trùng lớn hơn hoặc vật liệu quá đậm đặc. Thanh trùng bằng nồi hấp là lý tưởng để thanh trùng chất thải có môi nguy sinh học, dụng cụ, quần áo phẫu thuật, dụng cụ thủy tinh, môi trường nuôi cấy vi sinh vật, dung dịch lỏng và nhiều thứ khác. Tuy nhiên một số đồ vật làm từ nhựa, các thiết bị y tế, ... không thể thanh trùng theo cách này mà nên sử dụng phương pháp khác.

dụng chất hóa học hoặc các chất thanh trùng dạng khí. Khi tiến hành thanh trùng ở nhiệt độ và thời gian thích hợp thì không còn một vi sinh vật nào có thể sống sót trong mẻ thanh trùng bằng nồi hấp.

Nồi hấp là một nồi nấu có áp suất lớn, vận hành bằng cách sử dụng hơi nước khi thanh trùng. Áp suất cao đạt được khi dòng hơi nước đạt nhiệt độ cao, vì vậy khi tăng nhiệt độ hơi nước sẽ làm gia tăng khả năng tiêu diệt. Hầu hết nguồn nhiệt của hơi nước đến từ nhiệt hóa hơi. Vì vậy đòi hỏi phải có một lượng nhiệt để chuyển nước sôi thành hơi nước. Lượng nhiệt này đòi hỏi lớn hơn lượng nhiệt làm nóng nước. Ví dụ nếu dùng 80 calo để làm sôi một 1 lít nước thì phải cần có 540 calo để chuyển nước đang sôi thành hơi. Vì vậy hơi nước ở 100° C cần có thời gian gấp 7 lần so với thời gian cần đun sôi nước.

Nhiệt hơi tiêu diệt vi sinh vật bằng cách làm biến tính các protein thiết yếu của chúng. Tốc độ chết tỷ lệ thuận với hàm lượng vi sinh vật tại thời điểm bất kỳ. Thời gian đòi hỏi để tiêu diệt quần thể vi sinh vật trong dịch huyền phù đặc trưng ở nhiệt độ cụ thể được gọi là thời gian nhiệt chết (thermal death time -TDT). Khi tăng nhiệt độ thì giảm thời gian nhiệt chết (TDT) và khi giảm nhiệt độ thì TDT sẽ tăng lên. Quá trình tiêu diệt vi khuẩn cần tiến hành ở nhiệt cao trong thời gian ngắn thì phù hợp hơn quá trình sử dụng nhiệt thấp trong thời gian dài.

Bảng 8.1. Các phương pháp và mục đích sử dụng thanh trùng nhiệt ẩm.

Phương pháp	Mục đích sử dụng	Lưu ý
Bể điều nhiệt < 100°C	Thanh trùng huyết thanh, dịch cơ thể và vaccine, môi trường nuôi cấy có thành phần nhạy cảm với nhiệt cao	Chỉ có thể khử trùng tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn, không thể tiêu diệt bào tử
Bể điều nhiệt ở 100°C	Dùng để thanh trùng đồ thủy tinh, vật dụng kim loại và cao su	Một số bào tử vi sinh vật vẫn còn tồn tại ở nhiệt độ này
Thiết bị thanh trùng hơi Arnold: hơi nước ở	Dùng để thanh trùng môi trường nuôi cấy có agar và	Lưu giữ các đặc tính của môi trường để bị phá hủy khi hấp

100°C	gelatin	thanh trùng ở nhiệt độ > 100°C
Autoclave: hơi nước có áp suất	Dùng để thanh trùng môi trường nuôi cấy và vật dụng thí nghiệm	Tiêu diệt toàn bộ tế bào dinh dưỡng và bào tử vi khuẩn

Các điều kiện môi trường cũng ảnh hưởng đến TDT. Nhiệt tăng do độc tính của các sản phẩm biến dưỡng và độc tố tăng. TDT giảm khi môi trường có tính acid. Tuy nhiên chất béo và dầu sẽ làm chậm quá trình xâm nhập của nhiệt và vì vậy làm gia tăng TDT. Điều cần nhớ là thời gian nhiệt chết không phải là giá trị chính xác; chúng chỉ được sử dụng để đo tính hiệu quả và sự nhanh chóng của quá trình thanh trùng. Khi hấp ở 121°C/15 psi trong 15' thì đủ thời gian nhiệt chết cho hầu hết vi sinh vật ngoại trừ một số bào tử khác thường. Các kiểu thanh trùng nhiệt ẩm được tóm tắt trong Bảng 8.1.

Kiểm soát thanh trùng: nhiều biện pháp kiểm soát thanh trùng được sử dụng để xác định hiệu quả thanh trùng nhiệt ẩm gồm: (i) sử dụng cặp nhiệt điện (thermocouple) để ghi nhận nhiệt độ trực tiếp diễn ra trong nồi hấp nhờ điện thế kế; (ii) sử dụng chỉ thị hóa học, phổ biến nhất là ống Brown có chất chỉ thị cho thanh trùng nhiệt ẩm trong nồi hấp. Hóa chất trong ống Brown này là dạng dung dịch màu đỏ, sẽ trở nên màu xanh lá cây khi được phơi ở nhiệt độ 121°C/15' trong nồi hấp; và (iii) sử dụng bào tử vi sinh vật, ví dụ bào tử của vi khuẩn *Bacillus stearothermophilus* được sử dụng làm chỉ thị thanh trùng bằng nhiệt ẩm trong nồi hấp. *B. stearothermophilus* là vi khuẩn ưa nhiệt, nhiệt độ tối thích của vi khuẩn này là từ 55 - 60°C và bào tử của chúng sẽ bị phá hủy khi được phơi ở nhiệt độ 121°C/12'. Ví dụ dạng bào tử thương mại dùng để kiểm chứng tính hiệu quả của quá trình thanh trùng bằng nồi hấp ở dạng ống có nắp có chứa bào tử và chất chỉ thị. Bình thường ống chỉ thị có màu tía khi được hấp thanh trùng ở 121°C/15' chúng sẽ chuyển sang màu vàng.

Thanh trùng gián đoạn: một số chất không bền nhiệt, ví dụ như huyết thanh, đường, egg yolk, kháng sinh, ... sẽ bị phân hủy ở nhiệt độ cao khi hấp trong nồi hấp. Các chất không bền nhiệt có thể được thanh trùng theo một quá trình gọi là thanh trùng Tyndall (tyndallization).

Thanh trùng Tyndall được tiến hành bằng nước sôi trong 3 ngày. Vật cần thanh trùng được giữ trong khoang chứa có hơi nước ở 100°C trong 20'. Ngày thứ nhất để tiêu

diệt tất cả tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm men và nấm mốc nhưng bào tử thì không. Vào ngày thứ hai, các bào tử sống sót sẽ nảy mầm thành dạng tế bào dinh dưỡng và bị tiêu diệt khi được phơi nhiễm lần hai với hơi nước. Ngày thứ ba đảm bảo để tiêu diệt tất cả các bào tử đã nảy mầm.

Bảng 8.2. Nhiệt độ sử dụng để kiểm soát sự tăng trưởng của vi khuẩn.

Xử lý	Nhiệt độ	Hiệu quả
Đốt cháy	>500°C	Phá hủy nhiều chất
Đun sôi	100°C	Tiêu diệt vi sinh vật gây bệnh nhưng không tiêu diệt nội bào tử của chúng
Đun sôi từng đợt	100°C	Ba lần 20' đun sôi sẽ tiêu diệt nội bào tử vi khuẩn
Hấp thanh trùng bằng autoclave và nồi áp suất	121°C/15' ở 15 atm	Tiêu diệt tất cả bào tử. Nhiệt độ thanh trùng phải duy trì trong suốt thời gian thanh trùng
Nhiệt khô (dùng lò sấy khô)	160°C/2 giờ	Dùng cho vật liệu không bị phá hủy ở nhiệt độ giữa 121° và 170°C. Phù hợp cho vật dụng thủy tinh, kim loại
Nhiệt khô (dùng lò sấy khô)	170°C/1 giờ	Khi nhiệt độ tăng 10°C thì thời gian thanh trùng sẽ ngắn hơn 50%
Thanh trùng Pasteur (phương pháp mẻ)	63°C/30'	Sẽ tiêu diệt hầu hết tế bào dinh dưỡng gồm vi khuẩn gây bệnh như streptococcus, staphylococcus và <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Thanh trùng Pasteur (phương pháp chớp nhoáng)	72°C/15"	Hiệu quả tiêu diệt tế bào như phương pháp mẻ, phương pháp được sử dụng nhiều trong ngành công nghiệp chế biến thực phẩm nhất là dùng để thanh trùng sữa vì nó có ít ảnh hưởng đến chất lượng và vị của sản phẩm
Siêu thanh trùng Pasteur (phương pháp trực tiếp)	140°C/2"	Hiệu quả tiêu diệt hết vi khuẩn. Đối với sữa, phương pháp này phù hợp cho những sản phẩm cần bảo quản dài ở nhiệt độ tủ lạnh.

Thanh trùng gián đoạn thường được sử dụng để thanh trùng môi trường nuôi cấy có thành phần nhạy cảm với nhiệt cao như môi trường có huyết thanh, ví dụ Loeffler's serum slope; môi trường có trứng, ví dụ môi trường Lowenstein - Jensen hay môi trường có carbohydrate, ví dụ như môi trường đường có huyết thanh và thực phẩm đông hộp.

Thanh trùng bằng nhiệt khô: thanh trùng bằng nhiệt khô sử dụng không khí có hàm lượng ẩm thấp, được gia nhiệt bằng ngọn lửa hay bằng ống đốt điện dạng xoắn để gia nhiệt. Trong thực tế, gia nhiệt khô có nhiệt độ dao động từ 160°C tới vài ngàn độ Celsius. Nhiệt khô sẽ tiêu diệt vi sinh vật bằng cách làm biến tính protein, gây tổn thương do oxy hóa và tác động gây độc do gia tăng chất điện giải. Thanh trùng bằng nhiệt khô không được sử dụng rộng rãi như thanh trùng bằng nhiệt ẩm nhưng phương pháp thanh trùng này cũng có một số ứng dụng quan trọng. Trong phương pháp này, nhiệt độ và thời gian áp dụng thì dao động tùy thuộc vào phương pháp cụ thể nhưng thường lớn hơn so với khi sử dụng nhiệt ẩm. Thanh trùng bằng nhiệt khô gồm (a) đốt cháy, (b) thiêu cháy và (c) sử dụng lò hơi nóng.

Đốt cháy: đốt cháy vi sinh vật và tiêu hủy chúng theo cách vật lý. Sử dụng sử dụng đèn Bunsen để thanh trùng vòng cấy, que cấy, dụng cụ thủy tinh, và các vật thể không bị phá hủy trong quá trình đốt cháy này.

Thiêu cháy: là phương pháp tuyệt vời để phá hủy vật chất có khả năng xâm nhiễm bằng cách đốt chúng thành tro. Phương pháp này được ứng dụng: (i). Để tiêu hủy rác thải từ bệnh viện, phòng thí nghiệm. (ii). Tiêu hủy các vật dụng một lần có nguy cơ lây nhiễm như syringe, kim tiêm, môi trường nuôi cấy vi sinh vật gây bệnh, mẫu bệnh phẩm, Sử dụng lò đốt nhiệt độ cao là cách thức nhanh và hiệu quả để phá hủy rác thải từ bệnh viện, phòng thí nghiệm sinh học nhưng không sử dụng cho kim loại và thủy tinh kháng nhiệt.

Lò hơi nóng: lò hơi nóng là một công cụ khác được sử dụng rộng rãi trong thanh trùng nhiệt khô. Theo đó nhiệt độ được gia tăng nhờ điện theo thiết kế của lò, có quạt để phân bố đều nhiệt độ trong lò. Thông thường áp dụng chế độ thanh trùng ở nhiệt độ 160°/2 giờ hoặc 170°/1giờ. Lò nhiệt khô phù hợp để thanh trùng cho dụng cụ thủy tinh, kim loại và những vật dụng không bị nóng chảy.

Lò hơi nóng được sử dụng trong phòng thí nghiệm và phòng khám để thanh trùng dụng cụ, vật dụng mà thanh trùng nhiệt ẩm không đạt kết quả tốt. Lò hơi nóng thường sử

dụng để thanh trùng: (i) đồ thủy tinh như syringe, đĩa Petri, bình erlen, pipette, ống nghiệm, chai, lọ thủy tinh, ... (ii) vật dụng để cắt mẫu phân tích sinh học hay dùng trong giải phẫu như dao, kéo, gắp kẹp, ... (iii) hóa chất như paraffin lỏng, bột kháng sinh sulfonamide, ... và (iv) dầu cần thanh trùng mà không thể dùng phương pháp thanh trùng bằng nhiệt ẩm do không đạt kết quả tốt.



Sử dụng cặp nhiệt điện, chỉ thị hóa chất và bào tử vi khuẩn *Bacillus subtilis* để kiểm soát thanh trùng và đánh giá mức độ hiệu quả của thanh trùng bằng lò nhiệt khô.

Hình 8.3. Ví dụ về lò hơi nóng (oven) của hãng Memmert thường được sử dụng thanh trùng trong phòng thí nghiệm sinh học.

Tác động nhiệt lạnh và làm khô: biện pháp làm lạnh là nhằm kiềm hãm sự tăng trưởng của vi sinh vật trong quá trình chế biến và bảo quản thực phẩm. Nhiệt độ lạnh chỉ đơn thuần là làm chậm hoạt động của vi sinh vật nhờ ức chế hoạt tính của enzyme nội bào. Mặc dù sự thật nhiệt độ lạnh sẽ tiêu diệt một số vi sinh vật, lạnh từ từ, để lạnh lâu ngày trong tủ lạnh hay làm lạnh sâu sẽ không có tác động làm đảo lộn hầu hết vi sinh vật. Trong thực tế ngưỡng nhiệt độ lạnh từ -70 đến -135°C , là điều kiện để bảo quản một số chủng vi khuẩn, virus và nấm trong thời gian dài. Một số vi sinh vật thuộc nhóm ưa lạnh (psychrophile) tăng trưởng rất chậm ngay cả ở nhiệt độ lạnh và có thể tiếp tục tiết ra các sản phẩm độc tố.

S. aureus, *Clostridium sp* loài hình thành bào tử, *Streptococcus sp* và một số kiểu nấm men, nấm sợi cũng như virus là những vi sinh vật gây bệnh có thể tồn tại nhiều tháng trong thực phẩm được bảo quản ở nhiệt độ tủ lạnh.

Làm khô chính biện pháp loại bỏ H_2O , hầu hết vi sinh vật không thể phát triển ở thế nước thấp ($a_w < 0,90$). Làm khô cũng là biện pháp thường được sử dụng để bảo quản thực phẩm, ví dụ trái cây khô, gạo khô, thủy sản khô, Phương pháp này chủ yếu loại bỏ nước khỏi sản phẩm bằng cách gia nhiệt, hóa hơi, đông khô và thêm muối hoặc đường.

Tuy nhiên làm lạnh, đông lạnh và làm khô không được xem là biện pháp dùng để khử trùng hay thanh trùng vi sinh vật bởi vì tác động tiêu diệt vi khuẩn không đảm bảo tiêu diệt vi sinh vật gây bệnh. Các phương pháp này thường được sử dụng để kìm hãm

hoặc làm chậm sự tăng trưởng của vi sinh vật và thường được áp dụng trong chế biến thực phẩm như chế biến thịt, các sản phẩm từ thịt, thủy sản, các sản phẩm thủy sản, ... ở nhiệt độ lạnh, bảo quản thực phẩm đông lạnh, chế biến bảo quản thực phẩm khô.

8.5.3. Lọc

Lọc là phương cách tuyệt vời để làm giảm số lượng quần thể vi sinh vật trong dung dịch có thành phần nhạy cảm với nhiệt. Phương pháp này sử dụng nhiều loại phin lọc (filter) khác nhau. Sử dụng phin lọc là cách đơn giản để loại bỏ vi sinh vật trong dung dịch thay vì trực tiếp tiêu diệt chúng. Phin lọc có hai loại: (1). Lọc sâu và (2). Màng lọc.

Lọc sâu: lọc sâu sử dụng vật liệu dạng sợi hoặc dạng hạt đan với nhau thành lớp lọc dày, có các kênh xoắn vòng, có đường kính nhỏ. Dưới điều kiện hút chân không, vi sinh vật trong dung dịch bị giữ lại trên màng vật lý hoặc được bắt lại. Lọc sâu có các kiểu sau đây: (a) lọc nền, (b) lọc bằng sợi silicate kháng nhiệt và (c) lọc thủy tinh nung.

Lọc nền được làm từ (i) đất tảo cát, ví dụ lọc Berkefeld hay (ii) sứ không tráng men, ví dụ lọc Chamberlain. Các loại lọc này có các lỗ rỗng khác nhau, được sử dụng rộng rãi để tinh sạch nước uống và nước dùng trong công nghiệp chế biến thực phẩm.

Lọc bằng sợi silicate kháng nhiệt, lọc này được làm từ sợi silicate kháng nhiệt như magnesium silicate. Phin lọc Seitz và Sterimat là những ví dụ như về lọc dạng này. Lọc gồm các loại đĩa lọc khác nhau, sử dụng một lần. Lọc bằng sợi silicate kháng nhiệt có khả năng thấm cao và có khuynh hướng kiềm hóa dịch sau lọc. Tuy nhiên việc sử dụng lọc này bị giới hạn do tiềm ẩn khả năng gây ung thư từ các sợi amiăng.

Lọc thủy tinh nung: loại lọc này được làm bằng các hạt sợi thủy tinh mịn, hợp nhất với nhau. Chúng có đặc tính hấp phụ thấp và có các kích thước lỗ khác nhau. Loại lọc này mặc dù có thể dễ dàng được làm sạch nhưng có đặc tính giòn dễ gãy và chi phí đắt đỏ.

Màng lọc: màng lọc được làm từ vật liệu (a) cellulose acetate, (b) cellulose nitrate, (c) polycarbonate, (d) polyvinylidene fluoride hoặc (e) vật liệu tổng hợp khác. Hiện nay các loại màng lọc này được sử dụng rộng rãi và được thay thế cho các loại lọc sâu từ nhiều năm trước. Các loại lọc này là màng lọc tròn có lỗ thường có độ dày 0,1 mm. Mặc dù có nhiều kích thước lỗ lọc dao động từ 0,015 - 12 μm nhưng màng lọc có kích thước lỗ lọc khoảng 0,2 μm thường được sử dụng để loại bỏ vi khuẩn, vì kích thước lỗ lọc này nhỏ

hơn kích thước của vi khuẩn. Các màng lọc này loại bỏ hầu hết các tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn trong dung dịch, nhưng virus thì không. Trong quá trình lọc, màng lọc được đặt trên phin lọc sâu để loại bỏ các hạt có kích thước lớn và được kẹp trên giá đỡ đặc biệt có phễu chứa dung dịch cần lọc. Phễu lọc và giá đỡ làm bằng thủy tinh hoặc kim loại không bị oxy hóa. Quá trình lọc dễ dàng hơn nếu được hỗ trợ bằng bơm chân không.

Không khí cũng có thể được làm sạch nhờ lọc. Hai ví dụ phổ biến nhất là sử dụng mặt nạ trong quá trình giải phẫu, trong phòng thí nghiệm sinh học và sử dụng nút bông gòn làm nắp ống nghiệm trong nuôi cấy vi sinh vật. Các lọc dạng này cho phép không khí ra vào nhưng vi sinh vật thì không. Buồng thao tác an toàn sinh học (cabinet) có hệ thống



lọc khí được sử dụng rộng rãi trong phòng thí nghiệm sinh học cũng như trong bệnh viện và các ngành công nghiệp. Theo đó không khí được cho qua lọc hiệu năng cao (HEPA) để loại bỏ khoảng 99,97% các hạt có kích thước từ 0,3 μm có trong không khí.

Hình 8.4. Minh họa về bộ lọc nước đơn của hãng Merk - Millipore thường được sử dụng trong phòng thí nghiệm.

Lọc qua màng lọc là để loại bỏ các yếu tố vật lý và tế bào trong dung dịch hoặc khí. Phương pháp này đặc biệt có ý nghĩa trong việc làm sạch vi sinh vật trong dung dịch dễ bị biến tính do nhiệt như dung dịch có chứa kháng sinh không bền nhiệt, được phẩm tiêm, amino acid, vitamin, Bộ lọc xách tay có thể được sử dụng trong hiện trường để tinh lọc nước và bộ lọc công nghiệp có thể được sử dụng để lọc đồ uống.

8.5.4. Chiếu xạ

Có thể hiểu chiếu xạ là quá trình phát và truyền năng lượng qua không gian hoặc qua một môi trường vật chất. Trong bảo quản thực phẩm, kiểu chiếu xạ được quan tâm chủ yếu là điện từ. Nhiều bức xạ được tách dựa trên các bước sóng của chúng, các bước sóng ngắn hơn thì có khả năng phá hủy vi sinh vật cao hơn. Trong bảo quản thực phẩm, người ta thường chia phổ điện từ thành các nhóm khác nhau như: vi sóng (microwave), tia tử ngoại (UV), tia X (Roentgen), tia gamma và phóng xạ ion có bước sóng 2000 $\text{\AA}$ hoặc thấp hơn. Ví dụ các hạt alpha, tia beta, tia gamma, tia X và tia vũ trụ. Các lượng tử (quantum) này có đủ năng lượng để ion hóa các phân tử trên đường đi của chúng. Nhờ đó

làm phá hủy vi sinh vật mà không làm tăng nhiệt độ, quá trình này được gọi là **thanh trùng lạnh**.

Chiếu xạ ion hóa: chiếu xạ ion hóa là cách thức làm giảm vi sinh vật do năng lực xâm nhập của chúng rất cao. Kiểu chiếu xạ này cho phép ion xâm nhập sâu vào bên trong vật thể và phá hủy nội bào tử vi khuẩn cũng như tế bào dinh dưỡng prokaryote và eukaryote. Tuy nhiên phương pháp này không hiệu quả cho virus. Chiếu xạ ion hóa gồm (a) tia beta, (b) tia gamma, (c) chùm điện tử, (d) tia X và (e) tia vũ trụ (chiếu xạ không ion hóa).

Tia Beta có thể định nghĩa như là một chùm điện tử phát ra từ chất phóng xạ. Tia Cathode phát ra từ cực âm của ống chân không. Khả năng xâm nhập vào bên trong của tia này thì kém. Trong số các nguồn thương mại của tia Cathode có máy phát tia Van de Graaff và máy gia tốc tuyến tính. Trong đó máy gia tốc tuyến tính phù hợp trong việc sử dụng bảo quản thực phẩm.

Bảng 8.3. Các đơn vị sử dụng trong phóng xạ.

Đơn vị	Liều hấp thu	Hoạt tính phóng xạ
Đơn vị tính	Gray (Gy)	becquerel (Bq)
Đơn vị mới	1 Gy = 1 J/kg	1 Bq = 1 phản ứng phân rã /giây
Đơn vị cũ	Rad	Curie (Ci)
Quy đổi	1 rad = 0,01 Gy	1 Ci = 3,7 X 10 ¹⁰ Bq = 37 GBq
	1 krad = 10 Gy	1 kCi = 37 TBq
	1 Mrad = 10 kGy	1 mCi = 37 PBq

Chiếu xạ gamma: chiếu gamma sử dụng nguồn cobalt - 60 (Co⁶⁰) được ứng dụng chủ yếu trong lĩnh vực chăm sóc sức khỏe như: thanh trùng kháng sinh, hormone, vết khâu giải phẫu, ống thông, màng kim loại; chiếu xạ thực phẩm; đồ vật nhựa sử dụng một lần; thức ăn động vật,... Tia gamma tiêu diệt vi khuẩn bằng cách phá hủy các liên kết hóa học nhờ tương tác với các điện tử thuộc cấu tử nguyên tử. Tia gamma dùng để tiêu diệt vi sinh vật đạt hiệu quả cao và không để lại dư lượng hay năng lượng để lan truyền phóng xạ.

Chiếu xạ bằng chùm điện tử: là một dạng năng lượng ion, đặc trưng nhờ sự xâm

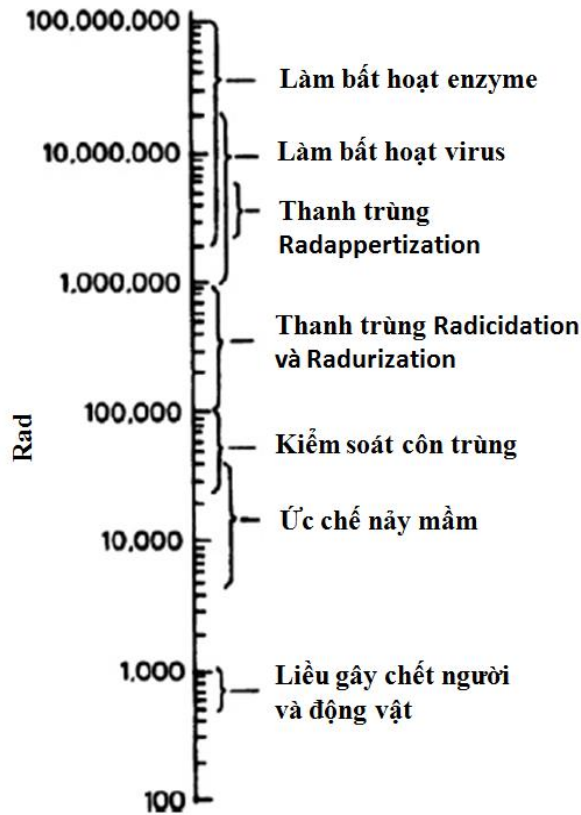
nhập thấp và tốc độ liều cao. Chiếu xạ bằng chùm điện tử thì tương tự như chiếu xạ gamma, làm thay đổi nhiều chất hóa học và cầu nối phân tử khi xúc tác. Chùm điện tử được sản sinh ra cho mục đích thanh trùng là dòng điện tử cô đặc, tích điện cao, dòng này

được tạo ra từ sự gia tốc và biến đổi về điện.

Chùm electron và phóng xạ gamma tiêu diệt được nhiều vi sinh vật gây bệnh như *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni* và các đối tượng gây bệnh khác. Do phương pháp này không làm tăng nhiệt độ nên thường được gọi là **thanh trùng lạnh**.

Khả năng phá hủy vi sinh vật bằng chiếu xạ tùy thuộc vào nhiều yếu tố như: đối tượng vi sinh vật, số lượng và giai đoạn tăng trưởng của vi sinh vật, thành phần và trạng thái của thực phẩm.

Hình 8.5. Liều chiếu xạ và các ứng dụng khác nhau trong thực tế. Nguồn:



Griinewald.

Tiêu diệt vi sinh vật bằng chiếu xạ thì tùy thuộc vào (i) loại vi sinh vật, (ii) số lượng vi sinh vật, (iii) thành phần thực phẩm.

Loại vi sinh vật: vi khuẩn Gram dương có khả năng kháng được tia xạ tốt hơn so với vi khuẩn Gram âm. Vi khuẩn sinh bào tử có khả năng kháng cao hơn vi khuẩn không sinh bào tử. Bào tử *Clostridium botulinum* type A có khả năng kháng cao nhất so với các bào tử khác của clostridia. Trong số 7 loài cực kháng, *Enterococcus faecium* R53, micrococcus và lactobacillus lên men đồng hình là những loài vi khuẩn không sinh bào tử có khả năng kháng cao nhất. Các loài nhạy cảm với tia xạ nhất là vi khuẩn Pseudomonads và Flavobacter. Nhìn chung khả năng kháng tia xạ của vi khuẩn thì song song với khả năng kháng nhiệt của chúng. Hình 8.5 minh họa về sự nhạy cảm của enzyme từ động vật bậc cao đối với phổ chiếu xạ.

Đối với nấm mốc và nấm men, thì nấm men kháng cao hơn nấm mốc, cả hai nhóm này ít nhạy cảm hơn so với vi khuẩn gram dương. Một số chủng nấm *Candida* có khả năng kháng ngang bằng với một số nội bào tử của vi khuẩn.

Số lượng vi sinh vật: giống như trường hợp xử lý nhiệt, khử trùng bằng chất hóa học, số lượng tế bào càng lớn thì hiệu quả tính trên liều sử dụng càng thấp.

Thành phần thực phẩm: trong dung dịch đậm, vi sinh vật nhạy cảm với tia xạ hơn so với trong môi trường có chứa protein. Ví dụ giá trị D phóng xạ của *Clostridium perfringens* là 0,23 kGy trong đệm phosphate, trong khi đó ở canh thịt nấu chín là 3 kGy (Midura và cộng sự). Ở đây protein được xem như là chất có khả năng kháng phóng xạ cũng giống như khả năng kháng được kháng sinh và nhiệt độ của chúng. Một số quan sát cho thấy nitrite làm cho nội bào tử của vi khuẩn nhạy cảm với phóng xạ hơn.

Ứng dụng của chiếu xạ để bảo quản thực phẩm: khi ứng dụng chiếu xạ để bảo quản thực phẩm cần lưu ý các yếu tố sau: (i) ảnh hưởng của oxygen, (ii) trạng thái vật lý của thực phẩm, (iii) tuổi vi sinh vật.

Ảnh hưởng của oxygen: khi không có oxygen khả năng kháng xạ của vi sinh vật cao hơn khi có mặt của khí này. *Escherichia coli* có khả năng kháng xạ tăng lên gấp 3 lần trong dịch huyền phù đã loại bỏ hoàn toàn oxygen. Trong môi trường kỵ khí, khi làm giảm một số chất như sulfhydryl thì khả năng kháng xạ của vi khuẩn cũng tăng tương tự.

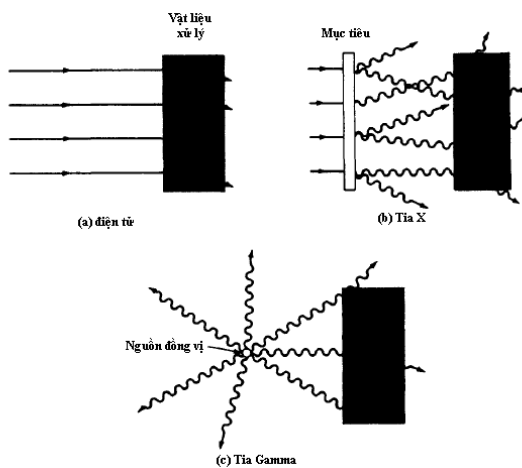
Trạng thái vật lý của thực phẩm: khả năng kháng xạ của tế bào ở dạng khô thì cao hơn so với tế bào ẩm. Điều này là do phóng xạ ion phân giải phân tử nước. Các tế bào ở dạng đông lạnh có khả năng kháng xạ cao hơn so với tế bào không đông lạnh. Grecz và cộng sự nhận thấy rằng hiệu quả gây chết của phóng xạ gamma giảm gần 47 % khi thịt bò bằm có nhiệt độ -196°C so với ở 0°C .

Tuổi vi sinh vật: ở giai đoạn lag pha, vi khuẩn chuẩn bị phân chia có khả năng kháng xạ cao nhất. Tế bào ở giai đoạn tăng trưởng cấp số nhân (log pha) rất nhạy cảm với tia xạ và ít nhạy cảm hơn khi chúng ở cuối giai đoạn tăng trưởng logarite.

Chuẩn bị thực phẩm chiếu xạ: để chiếu xạ ion cần phải tiến hành một số bước chuẩn bị như đông lạnh hay đóng hộp thực phẩm.

Lựa chọn thực phẩm: thực phẩm phải tươi, chất lượng tốt. Chú ý tránh sử dụng các thực phẩm đã bị hư hỏng để chiếu xạ.

Làm sạch thực phẩm: loại bỏ tất cả tạp chất thấy được bằng mắt nhằm giảm số lượng vi sinh vật cần tiêu diệt bằng xử lý phóng xạ.



Đóng gói: thực phẩm phải được đóng thành gói/thùng nhằm tránh nhiễm xạ khi xử lý. Khi sử dụng liều chiếu xạ khoảng 10 kGy có thể làm thay đổi màu sắc của vật chứa dạng thủy tinh có màu trong suốt.

Hình 8.6. Ba kỹ thuật cơ bản của các tương tác quá trình phóng xạ của các điện tử, tia X và tia gamma trong môi trường.

Nguồn: Koch và Eisenhower.

Nhúng hoặc xử lý nhiệt: sử dụng phóng xạ ở liều thanh trùng vẫn không thể phá hủy hoàn toàn enzyme không mong muốn có trong thực phẩm. Vì vậy để tránh những thay đổi không mong muốn sau chiếu xạ, điều cần thiết là phải phá hủy các enzyme này trước. Phương pháp tốt nhất vẫn là xử lý nhiệt. Đối với rau, xử lý bằng cách chần, thịt cần gia nhiệt nhẹ trước khi chiếu xạ.

Ứng dụng của chiếu xạ: có 2 kỹ thuật sử dụng rộng rãi trong chiếu xạ thực phẩm là tia gamma từ nguồn ^{60}Co và nguồn ^{137}Cs ; chùm electron phát ra từ máy tạo gia tốc tuyến tính.

Liều chiếu xạ: tùy thuộc vào mục đích sử dụng để đưa ra quyết định liều sử dụng hợp lý. Liều chiếu xạ thường được phân thành: (a). Chiếu xạ liều thấp ≤ 1 kGy, dùng để ức chế sự nảy mầm, làm chậm quá trình chín của hoa quả, tiêu diệt côn trùng, làm bất hoạt ký sinh trùng. (b). Chiếu xạ liều vừa, từ 1 đến 10 kGy, giảm số lượng vi sinh vật gây hư hỏng thực phẩm, giảm hoặc loại bỏ vi sinh vật gây bệnh không sinh bào tử và (c). Chiếu xạ liều cao > 10 kGy, loại bỏ hoàn toàn vi sinh vật. Ứng dụng chiếu xạ thực phẩm: được trình bày trong Bảng 8.4.

Khía cạnh pháp lý: Tổ chức Sức khỏe Thế giới (WHO) và Cục Dược phẩm và thực phẩm Hoa Kỳ (US FDA) đã chứng minh thực phẩm qua chiếu xạ vẫn an toàn. Ở một số quốc gia Châu Âu, chiếu xạ trái cây và rau được sử dụng để làm tăng thời gian bảo quản các sản phẩm này lên 500%.

Bảng 8.4. Liều và sản phẩm chiếu xạ.

Liều thấp (< 1 kGy)	Liều	Sản phẩm
Ức chế nảy mầm	0,05 – 0,15	Khoai tây, hành, tỏi, gừng củ, khoai lang
Tiêu diệt ký sinh trùng và côn trùng	0,15 – 0,5	Ngũ cốc và đậu hạt, trái cây tươi và khô, cá khô và thịt đỏ, thịt heo tươi.
Làm chậm các quá trình sinh lý như quá trình chín của hoa quả	0,25 – 1,0	Trái cây và rau tươi.
Liều vừa (1 - 10 kGy)		
Kéo dài vòng đời sản phẩm	1,0 – 3,0	Cá tươi, dâu, nấm rơm,
Loại bỏ vi sinh vật gây bệnh, vi sinh vật gây hư hỏng thực phẩm	1,0 – 7,0	Thủy sản tươi và đông, thịt gia cầm và thịt đỏ tươi hoặc đông,
Cải thiện một số tính chất của thực phẩm	2,0 – 7,0	Nho, rau tách nước,
Liều cao (10 - 50 kGy)		
Thanh trùng công nghiệp (kết hợp với gia nhiệt nhẹ)	30 - 50	Thịt đỏ, gia cầm, thủy sản, thực phẩm qua chế biến,
Khử trùng một số gia vị thực phẩm	10 - 50	Gia vị, emzyme, ,

US FDA đã cho phép sử dụng chiếu xạ để kiểm soát vi sinh vật gây bệnh trong thịt gia cầm và thịt heo, cũng như các thực phẩm như trái cây, rau và lúa gạo để kiểm soát côn trùng; được phép chiếu xạ gia vị từ thực vật, gia vị chế biến và các enzyme không được sử dụng trong chế biến thực phẩm để kiểm soát vi sinh vật. Sản phẩm thực phẩm được xử lý bằng cách chiếu xạ sẽ tiêu diệt đáng kể lượng vi sinh vật, côn trùng và ký sinh trùng gây bệnh.

Theo Cục thực phẩm và mỹ phẩm Hoa Kỳ, chiếu xạ không làm thực phẩm bị nhiễm phóng xạ hay không thay đổi đáng kể về vị, cấu trúc hoặc hình dạng. Chiếu xạ thực phẩm để kiểm soát bệnh qua đường thực phẩm ở người được Tổ chức Sức khỏe thế giới và Hội Y khoa Mỹ xác nhận. Hai vi khuẩn quan trọng gây bệnh có thể được kiểm soát nhờ chiếu xạ đó là *Escherichia coli* 0157:H7 và các loài *Salmonella* .

Bảng 8.5. Mục đích chiếu xạ thực phẩm và liều hấp thụ tối đa.

TT	Loại thực phẩm	Mục đích chiếu xạ	Liều (kGy)	
			Tối thiểu	Tối đa
1	Loại 1: Sản phẩm nông sản dạng thân, rễ, củ.	Ức chế nảy mầm	0,1	0,2
2	Loại 2: Rau, quả tươi (trừ loại 1)	a) Làm chậm quá trình chín	0,3	1,0
		b) Diệt côn trùng, ký sinh trùng	0,3 1,0	1,0 2,5
		c) Kéo dài thời gian bảo quản	0,2	1,0
		d) Xử lý kiểm dịch		
3	Loại 3: Ngũ cốc và các sản phẩm bột nghiền từ ngũ cốc; đậu hạt, hạt có dầu, hoa quả khô	a) Diệt côn trùng, ký sinh trùng	0,3 1,5	1,0 5,0
		b) Giảm nhiễm bẩn vi sinh vật	0,1	0,25
		c) Ức chế sự nảy mầm		
4	Loại 4: Thủy sản và sản phẩm thủy sản, bao gồm động vật không xương sống, động vật lưỡng cư ở dạng tươi sống hoặc lạnh đông.	a) Hạn chế vi sinh vật gây bệnh	1,0 1,0	7,0 3,0
		b) Kéo dài thời gian bảo quản		
		c) Kiểm soát động thực vật ký sinh	0,1	2,0
5	Loại 5: Thịt gia súc, gia cầm và sản phẩm từ gia súc, gia cầm ở dạng tươi sống hoặc lạnh đông.	a) Hạn chế vi sinh vật gây bệnh	1,0 1,0	7,0 3,0
		b) Kéo dài thời gian bảo quản		
		c) Kiểm soát động thực vật ký sinh	0,5	2,0
6	Loại 6: Rau khô, gia vị và thảo mộc	a) Hạn chế vi sinh vật gây bệnh	2,0 0,3	10,0 1,0
		b) Diệt côn trùng, ký sinh trùng		

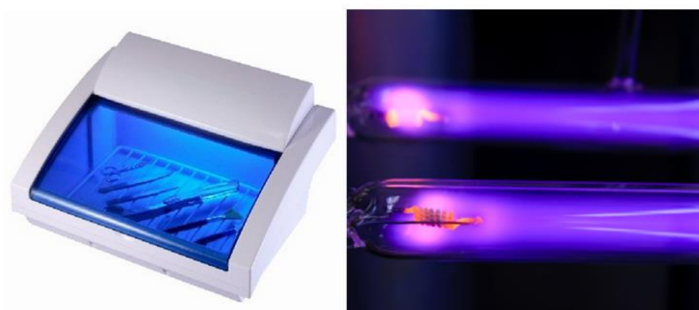
7	Loại 7: Thực phẩm khô có nguồn gốc động vật	a) Diệt côn trùng, ký sinh trùng	0,3	1,0
		b) Kiểm soát nấm mốc	1,0	3,0
		c) Hạn chế vi sinh vật gây bệnh	2,0	7,0

8.5.4. Tia X

Tia X được tạo ra từ sự bắn phá đích kim loại nặng bằng dòng điện tử (electron) tốc độ cao (tia cathode) trong ống chân không. Chúng có vai trò quan trọng như tia gamma trong các lĩnh vực khác.

8.5.5. Chiếu xạ không ion hóa

Chiếu xạ không ion hóa hay sử dụng tia vũ trụ gồm: (a). Tia hồng ngoại được sử dụng để thanh trùng nhanh syringe sử dụng một lần và ống thông và (b). Tia tử ngoại (UV) còn gọi là tia cực tím được sử dụng để thanh trùng không gian làm việc và dụng cụ dùng trong thí nghiệm sinh học cũng như các phương tiện chăm sóc sức khỏe. Tia UV tiêu diệt vi khuẩn tại hai bước sóng chính là 185 nm và 265 nm, tại các bước sóng này sẽ làm cho các phân tử lân cận thymine trên DNA bị dimer hóa, nhờ đó làm ức chế sự sao chép DNA, ngay cả khi vi sinh vật không bị tiêu diệt nhưng nó cũng không thể sinh sản được. Tuy nhiên do vi sinh vật có thể được mô che chở, bảo vệ khỏi ánh sáng UV, nên đèn cực tím chỉ được sử dụng để thanh trùng dung dịch/môi trường trong suốt như nước



không bị vẩn đục, không khí, ... đồng thời là một kỹ thuật thanh trùng bổ sung cho các kỹ thuật thanh trùng khác.

Hình 8.7. Ví dụ minh họa về khử trùng bằng tia cực tím.

Ngoài ra hạn chế của phương pháp này chính là khả năng xâm nhập của tia UV vào thực phẩm. Vì vậy tia UV chỉ sử dụng để tiêu diệt vi khuẩn trên bề mặt. Tia này cũng có thể xúc tác để thay đổi oxi hóa dẫn đến làm thực phẩm có mùi, biến màu và có những phản ứng khác. Trong một số thực phẩm, việc sử dụng tia UV cũng có thể sinh ra một lượng nhỏ ozone.

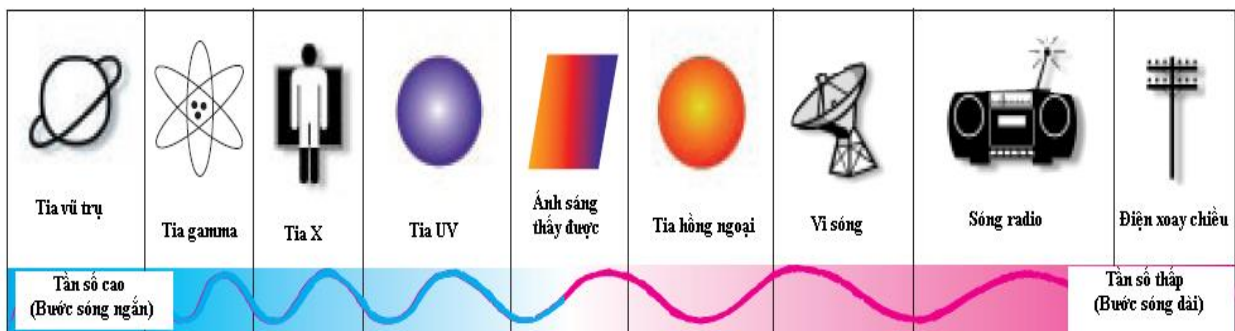
Vệ sinh không khí bằng đèn cực tím sẽ làm giảm lượng vi sinh vật trong không khí ở các phòng trong bệnh viện, phòng khám thú y và các phòng thí nghiệm sinh học,

Tia tử ngoại (UV) có thể được sử dụng để thanh trùng pasteur nước trái cây bằng cách cho nước trái cây qua nguồn sáng UV có cường độ cao. Thiết bị thanh trùng bằng UV được sử dụng để xử lý nước nhờ tính năng tiêu diệt vi khuẩn, virus và bào nang.

8.5.6. Sóng siêu âm

Vi sóng: có thể minh họa năng lượng vi sóng theo cách sau: khi đặt thực phẩm vào điện từ trường, trước tiên các phân tử tích điện bất đối xứng sẽ đi thành một đường và sau đó đến các phân tử khác. Trong quá trình này, mỗi phân tử bất đối xứng tự nó nỗ lực xếp thẳng hàng khi dòng trường thay đổi qua lại nhanh. Như vậy, các phân tử dao động xung quanh trục của nó khi chúng cố gắng đi về cực dương và cực âm tạo ra sự ma sát giữa các phân tử và làm nóng lên. Đây chính là năng lượng vi sóng. Hầu hết các nghiên cứu về vi sóng trong thực phẩm đều thực hiện ở hai tần số: 915 và 2,450 megacycle. Ở tần số vi sóng 915 megacycle, các phân tử dao động tới lui đến 915 triệu lần trên giây. Vi sóng nằm giữa tia hồng ngoại và sóng radio trong phổ điện từ (Hình 8.8).

Sóng siêu âm tần số cao bẻ gãy các tế bào. Sóng siêu âm truyền sự rung động qua bề nước đầy gọi là bể siêu âm, cảm ứng làm thay đổi áp suất và tạo ra các điểm chảy rối tăng cường, dẫn đến làm gãy vỡ và làm vỡ tế bào trong vùng lân cận. Sóng siêu âm cũng đánh tan vật chất lạ từ vật thể. Sóng này tạo ra nhiệt trên 80°C.



Hình 8.8. Sơ đồ minh họa phổ điện từ.

Khuẩn que Gram âm là vi khuẩn nhạy cảm nhất với chuyển động rung do sóng siêu âm tạo ra, ngược lại cầu khuẩn Gram dương, bào tử nấm và bào tử vi khuẩn lại có khả năng kháng được. Thiết bị siêu âm được ứng dụng cho một số mục đích khác nhau:

(i) dùng trong nha khoa và y tế để đánh chất bản và nước bọt ra khỏi thiết bị, dụng cụ; (ii) sử dụng trong phòng thí nghiệm để ly trích mẫu và làm sạch dụng cụ,

Tuy nhiên thiết bị siêu âm dùng để thanh trùng hay khử trùng thường không đủ độ tin cậy và cần phải kiểm soát một cách chắc chắn. Các thử nghiệm sinh học cần tiến hành kiểm soát tính hiệu quả của kỹ thuật thanh trùng được tóm tắt tại Bảng 8.6.

Bảng 8.6. Thử nghiệm sinh học xác định tính hiệu quả của kỹ thuật thanh trùng.

Kỹ thuật	Vi sinh vật kiểm soát
Nồi hấp	<i>Bacillus stearothermophilus</i>
Lò hơi nóng	<i>Bacillus subtilis</i>
Chiếu xạ ion hóa	<i>Bacillus pumilus</i>
Ethylene oxide	<i>Bacillus globigii</i> , <i>Bacillus subtilis</i>

8.6. Phương pháp hóa học

Một số chất hóa học được sử dụng làm chất diệt khuẩn, khử trùng và ức chế sự tăng trưởng của vi sinh vật.

8.6.1. Đặc tính của chất khử trùng

Khử trùng là quá trình làm bất hoạt vi sinh vật bằng cách cho phơi nhiễm trực tiếp với các yếu tố hóa học hoặc vật lý.

Một chất khử trùng hoặc sát khuẩn lý tưởng cần có những đặc điểm như:

(a). Phải có phổ rộng về hoạt tính kháng khuẩn, hiệu quả chống lại nhiều đối tượng xâm nhiễm là vi khuẩn Gram âm và Gram dương, vi khuẩn acid-fast, nội bào tử, nấm sợi và virus ở nồng độ pha loãng cao.

(b). Có thể hoạt động khi có chất hữu cơ.

(c). Không gây độc cho người hay không ăn mòn. Trong thực tế việc làm sao để cân bằng giữa tính hiệu quả và độc tính thấp trên động vật khó mà đạt được. Trong thực tế một số chất hóa học vẫn được sử dụng mặc dù tính hiệu quả của chúng thấp, điều này bởi vì các chất này thường không gây độc.

(d). Bền trong bảo quản và không thay đổi hoạt tính hóa học.

(e). Không mùi hoặc có mùi dễ chịu.

(f). Tan trong nước và chất béo để vi sinh vật xâm nhập vào.

(g). Hiệu quả trong môi trường acid và môi trường kiềm.

(h). Hoạt tính tấn công diễn ra nhanh và

(i). Chi phí không quá đắt đỏ.

8.6.2. Tác động của chất diệt khuẩn

Chất diệt khuẩn tác động theo nhiều cách như sau: (a). Làm tổn thương thành tế bào và tính thấm chọn lọc của màng tế bào dẫn đến là tổn thương hoặc làm mất các thành phần tế bào. (b). Làm thay đổi protein và hình thành các phức protein muối hoặc gây ra sự đông tụ protein. (c). Ức chế hoạt động enzyme và ức chế sự tổng hợp nucleic acid và (d). Gây oxi hóa và thủy giải.

8.6.3. Yếu tố làm ảnh hưởng đến tính hiệu quả của chất khử trùng

Nhiều yếu tố làm ảnh hưởng đến tính hiệu quả của chất khử trùng như sau: (a). Nhiệt độ, (b). Loại vi sinh vật, (c). Trạng thái sinh lý của tế bào, (d). Môi trường.

(a). Nhiệt độ: nhiệt độ tăng làm tăng tính hiệu quả của chất khử trùng.

(b). Loại vi sinh vật: tế bào dinh dưỡng thì nhạy cảm hơn so với bào tử. Bào tử có thể kháng được chất khử trùng.

(c). Trạng thái sinh lý của tế bào: tế bào trẻ có hoạt tính trao đổi chất mạnh thì nhạy cảm hơn so với tế bào già không hoặc ít hoạt động. Tế bào không tăng trưởng có thể không bị ảnh hưởng.

(d). Môi trường: đặc tính về lý học và hóa học của môi trường hay của chất hóa học sẽ ảnh hưởng đến tốc độ cũng như hiệu quả của chất khử trùng, ví dụ rõ ràng nhất là về pH của môi trường và sự có mặt của các chất bên ngoài.

8.6.4. Loại chất khử trùng

Các chất khử trùng thường được sử dụng gồm: (a). Phức phenol, (b). Halogen, (c). Cồn, (d). Aldehyde, (e). Khí, (f). Chất hoạt động bề mặt, (g). Yếu tố oxi hoá, (h). Chất nhuộm, (i). kim loại nặng và (j). Nhóm acid và kiềm.

Phức phenol: năm 1867, Joseph Lister (1827 - 1912) bác sỹ người Anh đã sử dụng phức phenol để làm giảm nguy cơ nhiễm trùng trong quá trình phẫu thuật. Phức phenol được sử dụng làm chất sát khuẩn và khử trùng phổ biến ở phòng thí nghiệm và bệnh viện trên khắp thế giới. Phức này là chất diệt khuẩn và cũng là chất ức chế một số nấm sợi. Chúng làm biến tính protein và phá hủy màng tế bào. Phức phenol vẫn hoạt động

hiệu quả khi có mặt của chất hữu cơ và vẫn lưu giữ hoạt tính trên bề mặt lâu dài sau khi sử dụng. Các phức phenol khác nhau như sau:

Phenol là chất hiệu quả chống lại dạng tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn, *Mycobacterium tuberculosis* và một số nấm sợi. Phenol là chất khử trùng tuyệt vời nếu được sử dụng để khử trùng phân, máu, đờm, Chất này không được sử dụng để sát khuẩn da hay màng nhầy vì chúng gây độc.

Cresol là chất diệt khuẩn ít độc hơn so với phenol nhưng lại có khả năng ăn mòn mô sống. Chúng được sử dụng để làm sạch sàn nhà ở nồng độ 1% dạng dung dịch, sử dụng để khử trùng dụng cụ, thiết bị giải phẫu và khử trùng vật thể bị nhiễm. Lysol là một dạng dung dịch cresol trong xà phòng.

Phức halogen diphenyl, các phức này gồm hexachlorophene và chlorhexidine. Các chất này kháng cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm đạt hiệu quả cao. Chúng được sử dụng làm chất sát khuẩn da và làm sạch bề mặt vết thương. Hexachlorophene là chất sát khuẩn phổ biến nhất vì một khi sử dụng nó bền trên bề mặt da và làm giảm sự tăng trưởng của vi khuẩn da trong thời gian dài. Tuy nhiên chất này có thể gây tổn hại não và hiện nay được sử dụng trong bệnh viện chỉ sau khi có bùng nổ staphylococcus.

Nhóm halogen: halogen gồm fluorine, bromine, chlorine và iodine là nhóm các yếu tố không phải kim loại xuất hiện phổ biến ở dạng khoáng chất, nước biển và muối. Mặc dù chúng có thể xuất hiện ở trạng thái ion (gồm halogen + nguyên tố khác) hay không phải dạng ion, thì hầu hết halogen có hoạt tính kháng khuẩn chủ yếu ở trạng thái sử dụng không ion. Chúng không có hoạt tính kháng khuẩn khi ở trạng thái phức như chloride, iodide chẳng hạn.

Các halogen này là chất khử trùng và sát khuẩn đạt hiệu quả cao là nhờ vào khả năng diệt khuẩn của chúng. Các halogen cũng là chất diệt bào tử nếu được phơi nhiễm lâu hơn. Vì những lý do này nên halogen là những thành phần diệt khuẩn chiếm gần một phần ba trong tất cả các hoá chất kháng khuẩn hiện có trên thị trường. Chlorine và iodine là hai chất halogen thường được sử dụng bởi vì fluorine và bromine nguy hiểm khi xử lý.

Chlorine và phức chlorine: chlorine được sử dụng như là chất khử trùng và sát khuẩn trong khoảng 200 năm nay. Các dạng chính dùng để kiểm soát vi sinh vật gồm (a) chlorine lỏng và khí (b) hypochlorite. Ở dạng dung dịch, các phức này kết hợp với nước

và phóng thích ra hypochlorous acid (HOCl), chất này oxi hoá nhóm sulfhydryl (S - H) trên amino acid cysteine và xen vào cầu nối disulfide (S - S) trên nhiều enzyme. Hậu quả là làm biến tính lâu dài các enzyme. Hầu hết chlorine dạng khí và dung dịch được sử dụng khử trùng với quy mô lớn cho nước uống, khử trùng nhà xưởng chế biến thực phẩm, khử trùng chất thải, nước thải và được ứng dụng trong khử trùng ở hộ gia đình. Chlorine không chỉ tiêu diệt tế bào vi khuẩn và nội bào tử mà còn tiêu diệt cả nấm sợi và virus. Xử lý nước bằng chlorine giúp tiêu diệt nhiều vi sinh vật gây bệnh mà không làm ảnh hưởng đáng kể đến mùi vị. Dư lượng chlorine trong nước uống từ 0,6 - 1,0 ppm là phù hợp.

Hypochlorite có lẽ được sử dụng nhiều nhất trong tất cả các phức chlorine. Chúng được sử dụng để: (i). Vệ sinh và khử trùng thiết bị, dụng cụ vật dụng dùng trong chế biến thực phẩm. (ii). Xử lý nước uống, nước sinh hoạt và một số trường hợp dùng để khử trùng thực phẩm. (iii). Xử lý vết thương và (iv). Khử trùng thiết bị, quần áo,

Chất tẩy hộ gia đình phổ biến là dung dịch có 5% sodium hypochlorite được sử dụng làm chất khử trùng cho nhiều hạng mục, khử mùi và loại bỏ chất màu. Hypochlorite thường được sử dụng thay thế cho chlorine tinh sạch trong xử lý nước cấp.

Tuy nhiên các phức chlorine cũng có giới hạn chủ yếu sau: (i) không hiệu quả nếu sử dụng trong môi trường kiềm; (ii) ít hiệu quả khi có quá nhiều chất hữu cơ và (iii) tương đối không bền nhất là khi phơi nhiễm ngoài ánh sáng.

Nhóm hydrogen peroxide, potassium permanganate và sodium perborate: chúng là những chất khử trùng và sát khuẩn tốt nhưng ít hiệu quả khi có mặt của chất hữu cơ. Khi sử dụng hydrogen peroxide dạng dung dịch 3% là dung dịch có tính khử trùng yếu. Dung dịch này dùng làm sạch vết thương và dùng để rửa miệng hay nước súc miệng. Potassium permanganate là chất diệt khuẩn và cũng có khả năng kháng virus.

Iodine và phức iodine: iodine là hóa chất hăng gắt có màu đen, khi tan trong nước hoặc cồn, trở thành dung dịch có màu nâu. Iodine nhanh chóng xâm nhập vào tế bào vi sinh vật, khi đó chất này phá hỏng nhiều chức năng biến dưỡng. Tương tự như chlorine, iodine tác động bằng cách xen vào cầu nối hydrogen và disulfide của các protein. Iodine và phức iodine tiêu diệt tất cả các kiểu vi sinh vật nếu sử dụng nồng độ tối thích và đủ thời gian phơi nhiễm. Hoạt tính của iodine không giống chlorine ở chỗ là chất này không bị chất hữu cơ và pH tác động gây bất lợi. Hai hình thức chủ yếu của iodine thường được

sử dụng là iodine tự do trong dung dịch và iodophor.

Dung dịch iodine gồm 2% iodine tự do và 2,4% sodium iodide. Dung dịch này chủ yếu được sử dụng làm chất sát khuẩn trước khi phẫu thuật và đôi khi dùng để xử lý da bị bỏng và bị nhiễm trùng. Dung dịch iodine đậm hơn gồm 5% iodine và 10% potassium iodide chủ yếu được sử dụng làm chất khử trùng cho các đồ vật bằng nhựa, thiết bị bằng cao su, dao cắt và nhiệt kế.

Cồn iodine là dung dịch gồm 2% iodine và sodium iodide trong 70% cồn có thể được sử dụng làm chất sát khuẩn da. Do iodine có thể kích ứng làm rát da và gây độc khi được hấp phụ, nên dung dịch cồn iodine có nồng độ đậm hơn (5 - 7%) không được sử dụng làm chất sát khuẩn da.

Iodine dạng viên hiện có sẵn trên thị trường dùng để khử trùng nước khi cần khẩn cấp hoặc dùng để tiêu diệt vi sinh vật gây bệnh trong nước không tinh sạch.

Iodophor là các phức iodine và polymer trung tính như polyvinyl alcohol chẳng hạn. Phức này làm phóng thích chậm iodine tự do và làm tăng mức xâm nhập của nó vào tế bào. Các phức này đã thay thế phần lớn các dung dịch dạng iodine tự do để làm các chất sát khuẩn vì chúng ít để lại màu và làm tấy da khi sử dụng.

Một số đặc điểm của phức iodine: (a). Betadine, povidone và isodine là những phức iodophor phổ biến chứa 2 - 10% iodine. Chúng được sử dụng sát trùng da và màng nhầy. (b). Các phức này cũng được sử dụng để điều trị vết thương và để khử trùng thiết bị. (c). Nghiên cứu hiện nay cho thấy dung dịch betadine hiệu quả để ngăn chặn nhiễm trùng mắt ở trẻ sơ sinh và dung dịch này có thể thay thế cho kháng sinh, nitrate bạc và là phương pháp lựa chọn thay thế.

Cồn: các loại cồn thường được sử dụng làm chất khử trùng và sát khuẩn rộng rãi nhất. Chúng được xem là chất diệt khuẩn và diệt nấm nhưng không phải là chất diệt bào tử. Cồn không có tác động chống lại bào tử và virus. Cồn ethyl và isopropyl là hai loại rượu được sử dụng làm chất diệt khuẩn phổ biến nhất. Các chất này phát huy hiệu quả ở nồng độ 60 - 70% trong nước. Chúng làm biến tính protein của vi khuẩn và có thể làm tan lipid màng. Dung dịch cồn cũng được sử dụng làm chất sát khuẩn da. Cồn isopropyl được sử dụng để khử trùng nhiệt kế. Ngâm nhiệt kế từ 10 - 15 phút đủ để khử trùng. Cồn methyl diệt được bào tử nấm.

Nhóm Aldehyde: formaldehyde và glutaraldehyde là hai aldehyde được sử dụng làm chất khử trùng phổ biến nhất. Các phức này là những phân tử có hoạt tính cao, chúng kết hợp với phân tử nucleic và phân tử alkyl hóa. Formaldehyde và glutaraldehyde là chất diệt bào tử và có thể cũng được sử dụng làm chất khử trùng hóa học.

Formaldehyde thường được cho hòa tan trong nước hoặc trong cồn trước khi sử dụng. Trong dung dịch, chất này có hoạt tính tiêu diệt vi khuẩn, bào tử và virus. Dung dịch formalin gồm 40% aldehyde được dùng để: (a) bảo quản mẫu mô tươi, (b) tiêu diệt bào tử bệnh than trong lông và len, (c) điều chế độc tố thành biến độc tố (toxoid), (d) thanh trùng vaccine vi khuẩn và (e) tiêu diệt chủng vi khuẩn trong dịch huyền phù.

Glutaraldehyde dạng dung dịch đậm có 2% glutaraldehyde là chất khử trùng hiệu quả. Chất này ít làm tẩy da hơn so với formaldehyde và được dùng để khử trùng trong bệnh viện, phòng thí nghiệm và thiết bị thử nghiệm. Glutaraldehyde thường được sử dụng để khử trùng trong khoảng 10 giờ để tiêu diệt tế bào dinh dưỡng. Nếu cần diệt tất cả bào tử cần ngâm thiết bị trong dung dịch này 12 giờ. Glutaraldehyde tiêu diệt trực khuẩn lao, nấm sợi và virus rất hiệu quả.

Beta-propiolactone (BPL) là sản phẩm nén của ketone và formaldehyde. Chất này tiêu diệt tất cả vi sinh vật. Nó diệt nấm hiệu quả hơn so với formaldehyde. Ở dạng lỏng nó được sử dụng để thanh trùng vaccine và huyết thanh. BPL phá hủy vi sinh vật nhanh hơn so với ethylene oxide nhưng lại không xâm nhập tốt vào vật liệu và có thể có khả năng gây ung thư. Vì lý do này nên BPL không được sử dụng phổ biến hơn so với ethylene oxide. Hiện nay dạng khí hydrogen peroxide của chất này được sử dụng để diệt khuẩn trong chất thải.

Hóa chất dạng khí: nhiều hóa chất dạng khí được sử dụng để thanh trùng gồm ethylene oxide, khí formaldehyde, Ozone và plasma khí.

Ethylene oxide (ETO) thường được sử dụng để thanh trùng. Do điểm sôi của chất này rất thấp 10,4°C ở áp suất khí quyển, ETO sẽ thành trạng thái khí ở nhiệt độ phòng. ETO phản ứng với amino acid, protein và DNA để ngăn chặn vi sinh vật sinh sản. Quá trình thanh trùng này được tiến hành trong một buồng khí chuyên biệt. Sau khi thanh trùng, sản phẩm được chuyển sang buồng thông khí để loại bỏ các khí còn sót lại.

ETO được sử dụng để thanh trùng cellulose và các sản phẩm nhựa thường được

dùng làm bao gói hàn kín miệng. Ethylene oxide có thể được sử dụng để thanh trùng nhiều sản phẩm nhựa như: đĩa petri, pipette, syringe, thiết bị y tế,

Khí formaldehyde được sử dụng cho (a) diệt nấm phòng thí nghiệm, phòng bệnh nhân, ... và (b) thanh trùng thiết bị và ống thông nhạy cảm với nhiệt, quần áo,grap trải giường, đồ gỗ, tài liệu, Khí formaldehyde được tạo ra bằng cách cho 150 gam potassium permanganate vào 280 ml formalin cho phòng có dung tích 30m³, đóng kín. Sau 48 giờ nằm trong phòng sẽ bị khí formaldehyde tiêu diệt hoàn toàn. Khí này độc khi



hít vào và làm tấy mắt, vì vậy khi bị ảnh hưởng cần phơi nhiễm bằng ammonia để loại bỏ dư lượng của formaldehyde. Khí này có thể gây viêm cao và có khả năng gây ung thư.

Hình 8.9. Ví dụ buồng thanh trùng bằng khí ethylene oxide.

Ozone, kỹ thuật thanh trùng này sử dụng điện trường cao để tách phân tử oxygen thành nguyên tử oxygen. Nguyên tử oxygen này sau đó kết hợp với phân tử oxygen khác để hình thành ozone.



Hình 8. 10. Thiết bị tạo sương mù ozone dùng để thanh trùng bề mặt trứng. Hệ thống này phản ứng ozone với hơi nước để tạo ra các gốc oxi hóa mạnh. Về tổng thể hệ thống này tạo ra chất hóa học tự do và hiệu quả trong việc tiêu diệt vi khuẩn, virus lắng đọng trên vỏ trứng.

Ozone cũng được sử dụng để khử trùng nước và thực phẩm. Nó được sử dụng ở dạng khí và lỏng như là yếu tố dùng để khử trùng các thực phẩm chế biến gồm thịt, gia cầm và trứng. Nhiều cộng đồng dân cư sử dụng kỹ thuật ozone để làm sạch nước và chất thải. Ozone cũng được sử dụng để khử trùng hồ bơi, một số công ty sản xuất nước, thực phẩm cũng sử dụng kỹ thuật này để khử trùng nước uống đóng chai và nước dùng cho chế biến thực phẩm

Plasma khí có nhiệt độ thấp (LTGP) được sử dụng thay thế cho ethylene oxide. Kỹ

thuật này có sử dụng một lượng nhỏ hydrogen peroxide (H_2O_2) lỏng, chất này được tạo năng lượng với các sóng tần số radio trong plasma khí. Điều này dẫn đến tạo các gốc tự do và các mảnh hóa học để tiêu diệt vi sinh vật.

Yếu tố hoạt động bề mặt: yếu tố hoạt động bề mặt là những chất làm giảm sức căng bề mặt. Chất tẩy rửa là những phân tử hữu cơ hoạt động như là các yếu tố ướt và huyền phù do chúng có cả hai đầu phân cực ưa nước và không phân cực kỵ nước. Do đặc



tính lưỡng tính của chúng nên các chất tẩy rửa có khả năng làm tan và là yếu tố làm sạch rất hiệu quả. Chúng khác xà phòng ở chỗ là chất có dẫn xuất từ chất béo. Yếu tố hoạt động bề mặt được phân thành bốn loại:

- (1). Yếu tố hoạt động bề mặt dạng cation,
- (2). Yếu tố hoạt động bề mặt dạng anion,
- (3). Yếu tố hoạt động bề mặt không phải ion,
- (4). Phức lưỡng tính hay phức điện ly lưỡng tính.

Hình 8.11. Ví dụ về thiết bị thanh trùng LTGP có bơm chân không H_2O_2 vào khoang.

Yếu tố hoạt động bề mặt dạng cation: chất tẩy rửa dạng cation là chất khử trùng hiệu quả. Chất tẩy rửa cation như benzalkonium chloride và cetylpyridinium chloride sẽ tiêu diệt hầu hết vi khuẩn nhưng không tiêu diệt *M. tuberculosis*, nội bào tử hay virus. Chất dạng này có điểm thuận lợi là bền và không độc, nhưng có điểm không thuận lợi là bị bất hoạt khi gặp nước cứng và xà phòng. Benzalkonium chloride và cetylpyridinium chloride thường được sử dụng làm chất sát khuẩn da và chất khử trùng dụng cụ và thiết bị nhỏ trong chế biến thực phẩm. Phức ammonium bậc bốn (quaternary) như cetrimide là những chất tẩy rửa phổ biến nhất. Chúng hoạt động bằng cách phá huỷ màng tế bào vi khuẩn và có thể làm biến tính protein.

Yếu tố hoạt động bề mặt dạng anion: các chất này gồm xà phòng được điều chế hoặc từ acid béo bão hoà hoặc từ acid béo chưa bão hoà, các chất này hoạt động tốt hơn trong môi trường có pH thấp. Xà phòng được điều chế từ acid béo bão hoà sẽ kháng vi khuẩn Gram âm hiệu quả hơn, ngược lại xà phòng được điều chế từ acid béo chưa bão hoà sẽ kháng trực khuẩn Gram dương và *Neisseria* tốt hơn.

Yếu tố hoạt động bề mặt không có ion: là những yếu tố không gây độc và một số trong nhóm này thậm chí có thể thúc đẩy sự tăng trưởng của vi khuẩn.

Phức lưỡng tính hay phức điện ly lưỡng tính: phức lưỡng tính hay phức điện ly lưỡng tính là những chất có hoạt tính kháng khuẩn diện rộng. Chúng có khả năng kháng cả vi khuẩn Gram âm và Gram dương đồng thời kháng một số virus.

Chất nhuộm: chất nhuộm được sử dụng chủ yếu làm chất sát khuẩn da và vết thương gồm (a) chất nhuộm acridine và (b) chất nhuộm aniline.

Chất nhuộm acridine gồm acriflavine, euflavine, proflavine và aminacrine. Nhóm acridine có hoạt tính kháng vi khuẩn Gram dương mạnh hơn vi khuẩn Gram âm. Chúng hoạt động bằng cách can dự vào sự tổng hợp nucleic acid và protein trong tế bào vi khuẩn. Các chất nhuộm như acridine, acriflavine và proflavine đôi khi được sử dụng làm chất sát khuẩn để điều trị vết thương và được sử dụng trong các phòng khám y khoa và thú y.

Chất nhuộm aniline như gentian violet, crystal violet và malachite green cũng là nhóm có hoạt tính kháng vi khuẩn Gram dương mạnh hơn so với kháng vi khuẩn Gram âm. Chúng cũng kháng hiệu quả nhiều loại nấm sợi, theo đó các chất này thường được sử dụng ở dạng dung dịch và dạng thuốc mỡ để điều trị nấm da.

Tuy nhiên việc sử dụng chất nhuộm có hạn chế vì chúng có màu và có hoạt tính kháng khuẩn phổ hẹp. Nhóm này cũng không có hoạt tính tiêu diệt được trực khuẩn lao. Hoạt tính của chúng cũng bị ức chế trong môi trường có chất hữu cơ.

Kim loại nặng: muối thủy ngân, bạc, đồng, arsen và kim loại nặng khác là những muối hoà tan có hoạt tính kháng khuẩn và ức chế vi khuẩn. Các phức này kết hợp với nhóm sulfhydryl để làm bất hoạt protein. Chúng cũng có thể làm trầm hiện protein tế bào. Phức bạc thường được sử dụng rộng rãi làm chất sát khuẩn. Sulfadiazine bạc được sử dụng cho vết bỏng. Nitrate bạc được sử dụng làm thuốc phòng nhiễm trùng mắt ở trẻ sơ sinh. Sulfate đồng là chất diệt tảo hiệu quả dùng để xử lý tảo trong ao và hồ bơi. Chloride thủy ngân được sử dụng làm chất khử trùng.

Tuy nhiên các phức này ngày càng ít được sử dụng và dần dần được thay thế bằng những chất ít độc hơn và có tính diệt khuẩn hiệu quả hơn.

Nhóm acid và kiềm: nhóm acid như sulfuric acid, nitric acid, hydrochloric acid và

benzoic acid và nhóm kiềm như potassium hydroxide, sodium hydroxide và ammonium hydroxide những chất có hoạt tính diệt khuẩn. Chúng tiêu diệt vi khuẩn bằng cách thủy giải và làm thay đổi pH môi trường. Các chất này hiếm khi được sử dụng làm chất khử trùng.

8.6.5. Các chất bảo quản

Acid hữu cơ được sử dụng rộng rãi trong bảo quản thực phẩm nhờ đặc tính ngăn chặn bào tử nảy mầm và ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn và nấm sợi. Hơn nữa acid hữu cơ thường an toàn cho người sử dụng. Acetic acid ở dạng giấm ăn là acid hữu cơ dùng để ngâm giấm thực phẩm, chất này ức chế vi khuẩn tăng trưởng. Propionic acid thường được bổ sung vào bánh mì và bánh để ức chế nấm sợi; lactic acid trong dưa cải chua ngăn chặn sự tăng trưởng của vi khuẩn kỵ khí nhất là clostridia; benzoic và sorbic acid được bổ sung vào thức uống, sirô và bơ thực vật (margarine) để ức chế nấm men. Bảng 8.7 liệt kê các chất bảo quản thường sử dụng. Một số chất bảo quản thường sử dụng để thêm vào thực phẩm chế biến như sau:

Muối (NaCl) làm chậm sự tăng trưởng của vi khuẩn. Nhưng chất này không tốt cho sức khỏe vì gây huyết áp cao.

Nitrate có thể được bổ sung vào một số pho mát, làm tăng vị, duy trì sắc hồng cho thịt muối và ngăn chặn khuẩn botulinum trong thực phẩm đóng hộp. Tuy nhiên chất này có thể gây phản ứng bất lợi ở trẻ và là chất có khả năng gây ung thư.

Bảng 8.7. Các chất sát trùng và chất khử trùng phổ biến.

Hóa chất	Hoạt động	Mục đích sử dụng
Ethanol (50 - 70%)	Làm biến tính protein và làm tan lipid	Khử trùng da và các bề mặt kim loại
Isopropanol (50 - 70%)	Làm biến tính protein và làm tan lipid	Khử trùng da
Formaldehyde (8%)	Phản ứng với NH ₂ , SH và nhóm COOH	Diệt khuẩn, tiêu diệt nội bào tử
Dung dịch Iodine (2% I ₂ trong cồn 70%)	Làm bất hoạt protein	Khử trùng da Khử trùng nước uống

Khí chlorine (Cl_2)	Hình thành HClO , chất oxi hóa mạnh	Khử trùng nước uống; chất diệt khuẩn cho nhiều lĩnh vực
Nitrate bạc (AgNO_3)	Trầm hiện protein	Khử trùng chung và dùng để nhỏ mắt trẻ mới sinh
Mercuric chloride	Làm bất hoạt protein nhờ phản ứng với nhóm sulfide	Chất khử trùng, đôi khi dùng để khử trùng da
Chất tẩy	Phá hủy màng tế bào	Khử trùng da và khử trùng bề mặt
Các hợp chất phenol	Làm biến tính protein và phá hủy màng tế bào	Khử trùng da ở nồng độ thấp; chất khử trùng ở nồng độ cao
Khí ethylene oxide	Tác nhân alkyl hóa	Khử trùng các đồ vật nhạy cảm với nhiệt
Ozone	Tạo các gốc oxy tự do gây chết	Khử trùng nước, nước thải

Sulfur Dioxide và Sulfite dùng làm chất bảo quản và dùng để ngăn chặn sự ngả nâu trong nước uống có cồn, nước trái cây, nước ngọt, trái cây khô và rau. Sulfite ngăn chặn nấm men tăng trưởng và làm chậm sự tăng trưởng của vi khuẩn trong rượu vang. Sulfite có thể gây chứng hen suyễn (asthma) và chứng phản ứng quá mức (hyperactivity). Chất này cũng phá hủy vitamin.

Bảng 8.8. Các chất bảo quản thực phẩm và việc sử dụng.

Chất bảo quản	Nồng độ hiệu quả	Sử dụng
Propionic acid và propionate	0,32%	Chất kháng nấm trong bánh mì, bánh các loại, pho mát Thụy Sĩ
Sorbic acid và sorbate	0,2%	Chất kháng nấm trong pho mát, thực phẩm trong (jelly), si rô, bánh
Benzoic acid và benzoate	0,1%	Chất kháng nấm trong bơ thực vật, nước lên men trái cây (cider), gia vị, nước ngọt
Sodium diacetate	0,32%	Chất kháng nấm trong bánh mì

Lactic acid	Không biết	Chất kháng nấm trong pho mát, bơ sữa, sữa chua và thực phẩm ngâm giấm
Sulfur dioxide, sulfite	200 - 300 ppm	Chất kháng nấm trong trái cây khô, nho, sản phẩm làm từ mật đường
Sodium nitrite	200 ppm	Chất kháng nấm trong thịt, cá ngâm muối
Sodium chloride	Chưa thiết lập	Ngăn chặn sự hư hỏng của thịt, cá, ... do vi sinh vật.
Đường	Chưa thiết lập	Ngăn chặn sự hư hỏng của mứt, si rô, thực phẩm trong suốt, ... do vi sinh vật
Khói từ gỗ	Chưa thiết lập	Ngăn chặn sự hư hỏng của thịt, cá, ... do vi sinh vật.

Benzoic acid và sodium benzoic dùng để bảo quản các loại nước mắm, sốt cà, nước giải khát không cồn, nước trái cây, bơ thực vật (margarine), món salad, bánh kẹo, pho mát, mứt và sản phẩm ngâm giấm. Chất này cũng có phản ứng phụ như gây hiệu ứng quá mức.

Propionic acid và Propionate được sử dụng trong bánh mì, sản phẩm chocolate và pho mát.

Sorbic acid và Sorbate ngăn chặn nấm sợi phát triển trong pho mát và bột làm bánh.

8.6.6. Nhóm thuốc kháng vi sinh vật

Dựa trên đặc tính kháng vi sinh vật, thuốc, hoá chất dùng để tiêu diệt hoặc ức chế vi sinh vật được phân thành: (1). Nhóm kháng sinh, (2). Nhóm kháng nấm và (3). Nhóm kháng virus.

Nhóm kháng sinh: kháng sinh là một chất hoặc nhóm chất có nguồn gốc từ tự nhiên hay tổng hợp mà hoạt tính của nó có thể tiêu diệt hoặc ức chế toàn phần hay một phần sự tăng trưởng của vi khuẩn, nấm mốc, nấm men hay động vật nguyên sinh. Đây là nhóm phong phú và đa dạng dùng để tiêu diệt, ức chế vi khuẩn gây bệnh Gram âm và hoặc Gram dương cũng như đặc trị cho một nhóm hoặc một số đối tượng vi khuẩn cụ thể.

Tuỳ thuộc vào phổ hoạt động, kháng sinh thường được phân thành các nhóm: (a). Kháng sinh phổ rộng là hiệu lực của kháng sinh có khả năng tiêu diệt hoặc ức chế hàng

loại vi khuẩn Gram dương và Gram âm. (b). Kháng sinh phổ hẹp là kháng chỉ tác động hiệu quả lên vi khuẩn Gram âm hay vi khuẩn Gram dương và (c). Kháng sinh có phổ giới hạn chỉ hiệu quả cho một vi sinh vật hay một bệnh nào đó.

Trong kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật, kháng sinh được sử dụng nhằm (i) tiêu diệt vi khuẩn để điều trị và ngăn chặn bệnh và (ii) kiểm soát ký sinh trùng.

Nhóm kháng nấm: không giống như một lượng lớn kháng sinh sẵn có để điều trị nhiễm khuẩn, nhóm kháng nấm chỉ gồm một số chất có khả năng diệt và ức chế nấm, ví dụ như Amphotericin B, fluconazole. Thuốc dùng để điều trị bệnh do vi khuẩn thì không có tác động đối với bệnh do nấm gây ra. Amphotericin B và nhiều chất azole là những thuốc kháng nấm hiệu quả nhất. Chúng tác động lên ergosterol của màng tế bào nấm, chất này không có trên màng tế bào vi khuẩn và tế bào người. Tương tự như vậy, caspofungin ức chế sự tổng hợp beta-glucan, chất này chỉ có trên màng tế bào của nấm, không có trên màng tế bào vi khuẩn và tế bào người.

Nhóm kháng virus: hiện nay nhiều thuốc kháng virus đã được phát triển để chống lại các virus liên quan đến tỷ lệ bệnh cao và tỷ lệ tử vong ở người. Thuốc kháng virus tấn công vào những mục tiêu tiềm năng trong chu trình sao chép của virus. Sự xâm nhiễm của virus có thể bị ức chế ở các giai đoạn (i) bám vào, (ii) xâm nhập và cởi vỏ, (iii) phiên mã, (iv) dịch mã, (v) tổng hợp protein, (vi) sao chép DNA (vii) sinh tổng hợp nucleoside và làm sạch nucleoside và cuối cùng (viii) lắp ghép và phóng thích virus con.

Chi tiết về nhóm kháng sinh và nhóm thuốc kháng virus được trình bày tại Chương Liệu pháp hoá học và Chương Yếu tố kháng virus.