

BỘ CÔNG NGHIỆP
TRƯỜNG CAO ĐẲNG CÔNG NGHIỆP 4
KHOA CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM – SINH HỌC – MÔI TRƯỜNG



Giáo trình:

VI SINH THỰC PHẨM

(Lưu hành nội bộ)



Tháng 9 năm 2004

LỜI MỞ ĐẦU

Vi sinh thực phẩm là một trong các môn học thuộc về cơ sở ngành trong chương trình khung đào tạo ngành Công nghệ Thực phẩm. Tất cả các sinh viên học chuyên ngành Công nghệ Thực phẩm đều bắt buộc phải học môn này trước khi học các môn chuyên ngành.

Vi sinh thực phẩm cung cấp cho sinh viên những kiến thức cơ bản về các vi sinh vật thường gặp trong thực phẩm: các vi sinh vật gây bệnh thường gặp trong thực phẩm, các vi sinh vật gây hư hỏng thực phẩm và các vi sinh vật làm tăng thêm hương vị của thực phẩm.

Bao gồm các chương sau:

- Chương 0 : Một số phương pháp định lượng vi sinh vật
- Chương một : Một số loài vi sinh vật gây bệnh thường gặp
- Chương hai : Vi sinh vật trong chế biến và bảo quản thịt
- Chương ba : Vi sinh vật trong chế biến và bảo quản cá
- Chương bốn : Vi sinh vật trong tôm, mực và các động vật nhuyễn thể
- Chương năm: Vi sinh vật trong chế biến và bảo quản sữa
- Chương sáu: Vi sinh vật trong bột và tinh bột.
- Chương bảy: Vi sinh vật trong các sản phẩm đường, bánh, kẹo
- Chương tám: Vi sinh vật trong rau quả và các sản phẩm từ rau quả

Sau khi học xong môn học, sinh viên phải nắm vững các kiến thức cơ bản về hệ vi sinh vật vi sinh vật thường gặp trong thực phẩm.

Trong môn học này, điều khó khăn nhất đối với sinh viên là nhớ được tên các vi sinh vật. Có lẽ đơn giản nhất là hãy coi như đây là từ mới trong một ngôn ngữ mới. Vậy hãy học ở mọi nơi, mọi lúc có thể, hãy thường xuyên ghi lại để có thể ghi chính xác tên của vi sinh vật, hãy dán danh mục tên vi sinh vật ở đầu giường để tối tối có thể nhắm

tên vi sinh vật. Hãy ghi từng tên vi sinh vật vào từng mảnh giấy nhỏ và đem ra đố bạn bè. Như vậy có lẽ sẽ làm cho việc học trở nên thú vị hơn. Còn các phần khác trong giáo trình, ngoại trừ các định nghĩa, còn lại không yêu cầu sinh viên phải thuộc lòng từng câu, từng chữ mà chỉ cần hiểu và tóm lược lại vấn đề mình hiểu là đủ. Mong các bạn sinh viên sẽ đạt được kết quả tốt trong quá trình học.

Mặc dầu đã rất cố gắng trong quá trình biên soạn, tuy nhiên giáo trình vẫn chưa thực sự hoàn hảo. Chúng tôi mong nhận được nhiều góp ý chân thành để lần tái bản sau hoàn chỉnh hơn.

Để hoàn thành giáo trình này chúng tôi đã phải tham khảo rất nhiều sách, giáo trình, tạp chí, thông tin từ các thầy cô, các giáo sư, đồng nghiệp ở mọi nơi. Xin chân thành cảm ơn tất cả mọi sự giúp đỡ này.

Ngoài ra Xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của Ban giám hiệu trường Cao đẳng Công nghiệp 4 đã tạo điều kiện về thời gian cũng như kinh phí cho chúng tôi thực hiện giáo trình.

Ban biên tập

CHƯƠNG 0:

CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG VI SINH VẬT

0.1. PHƯƠNG PHÁP ĐẾM TRỰC TIẾP

Các loại vi sinh vật đơn bào có kích thước lớn như nấm men tảo ... Có thể định lượng trực tiếp trong buồng đếm hồng cầu qua kính hiển vi. Quy trình đếm trực tiếp cho phép xác định nhanh chóng số lượng vi sinh vật trong mẫu. Tuy vậy phương pháp này có các nhược điểm sau:

- Không phân biệt được tế bào sống và tế bào chết
- Không phân biệt được tế bào vi sinh vật và các hạt vật thể khác lẫn trong mẫu
- Không thích hợp cho huyền phù vi sinh vật có mật độ thấp.

Có ba phương pháp đếm trực tiếp:

0.1.1. Đếm trực tiếp bằng buồng đếm hồng cầu

Buồng đếm hồng cầu là một dụng cụ bằng thủy tinh. Diện tích buồng đếm là 1mm^2 , chiều cao là $0,1\text{mm}$. Diện tích 1mm^2 được chia làm 400 ô nhỏ và thể tích của 400 ô nhỏ sẽ bằng hoặc 25 ô vuông lớn, tương ứng thể tích của ô vuông lớn là $1/250\text{mm}^3$.

Trước khi quan sát cho thêm vài giọt formalin vào trong mẫu. Pha loãng mẫu sao cho trong mỗi ô vuông nhỏ có khoảng 5 – 10 vi sinh vật. Muốn đạt được yêu cầu trên cần phải ước lượng số vi sinh vật trong mẫu, hay phải làm thử một vài lần để xác định được công thức pha loãng tối ưu.

Mẫu được pha loãng bằng dung dịch có thành phần:

Thành phần dung dịch pha loãng.

- Pepton 0,1%
- Laurylsulphate 0,1%
- Methyl blue 0,01%

Các dung dịch pha loãng sau khi chuẩn bị phải lọc qua trước khi sử dụng.

Điều chỉnh kính ở độ phóng đại 400 lần rồi tiến hành đếm. Đếm số lượng tế bào trong 5 ô lớn nằm trên đường chéo của buồng đếm.

Cách tính số vi sinh vật. Gọi x_1, x_2, x_3, x_4, x_5 là số lượng vi sinh vật trong từng ô lớn ta có :

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5}{5}$$

Ta biết thể tích của 1 ô lớn bằng $1/250 \text{ mm}^3$

Do đó số lượng tế bào vi sinh vật có trong 1 ml mẫu sẽ là:

$$\text{Số vi sinh vật (trong 1 ml mẫu)} = \bar{X} \cdot 250 \cdot 1000 = \bar{X} \cdot 250000$$

0.1.2. Đếm trực tiếp bằng đường đếm Breed

Buồng đếm Breed có diện tích 1cm^2 được đánh dấu. Dùng bơm tiêm cho chính xác 0,01ml dung dịch mẫu dàn trên mặt buồng đếm. Sấy khô bằng cách hơi nhẹ trên đèn cồn bằng methyl blue.

Khi đếm phết một lớp dầu trên bề mặt cần đếm. Số lượng vi sinh vật /ml được tính theo công thức:

$$N/\text{ml} = 4a \cdot 10^4 / [\pi]d^2$$

a: số lượng tế bào vi sinh vật trong vùng đếm

d: đường kính của vùng đếm

0.1.3. Đếm trực tiếp bằng kính hiển vi huỳnh quang:

Khi nhuộm vi sinh vật bằng một số thuốc nhuộm phát huỳnh quang như:

- Acridin Cam (AODC)
- 4, 6 – dianidino – 2 – phenyl – indol (DAPT)
- Fluorescein isothiocyanate (FITC)

Mật độ vi sinh vật có thể xác định trực tiếp dưới kính hiển vi huỳnh quang

Số đếm nhận được bằng phương pháp này có thể cao gấp 2 lần phương pháp đếm khuẩn lạc. Sự sai khác này do các tế bào chết hoặc tổn thương không có khả năng phát triển thành khuẩn lạc.

Kết quả số đếm vi sinh vật bằng kính huỳnh quang phản ánh số vi sinh vật có thật trong mẫu.

0.2. PHƯƠNG PHÁP ĐẾM KHUẨN LẠC:

Phương pháp này cho phép xác định số lượng tế bào vi sinh vật sống trong mẫu. Những tế bào sống mới có khả năng phát triển thành khuẩn lạc trên môi trường thích hợp.

Phương pháp này cho phép định lượng chọn lọc vi sinh vật tùy thuộc vào môi trường nuôi cấy.

Phương pháp này thực hiện như sau: pha loãng mẫu sao cho số lượng khuẩn lạc xuất hiện trên một đĩa petri khoảng 25 – 250. Dưới mức 25 sẽ khó chính xác trên mức 250 rất khó phân biệt các khuẩn lạc khi đếm. Đưa mẫu vào mặt thạch, dùng bầu trang xoa đều lên toàn bộ diện tích của đĩa thạch trong điều kiện vô trùng tuyệt đối để tránh lẫn tạp.

Với mỗi loại vi khuẩn đòi hỏi phải có thời gian nuôi cấy tối ưu. Sao cho các tế bào sống đủ thời gian phát triển thành khuẩn lạc.

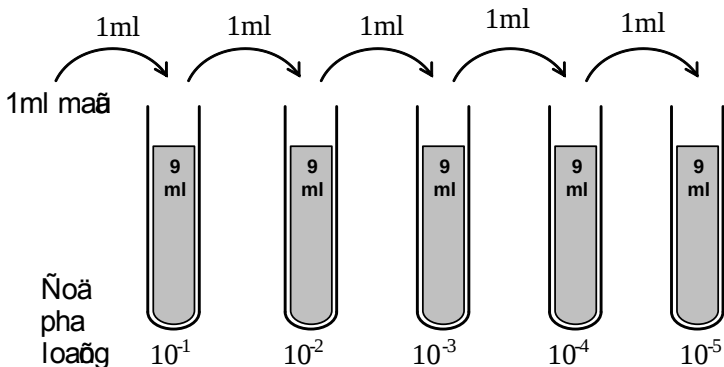
Kết quả thu được là số trung bình của 2 – 3 đĩa petri với cùng điều kiện nuôi cấy.

Kết quả cũng thường được trình bày dưới dạng CFU (colony forming unit) thay vì số tế bào/ml, vì rằng có nhiều tế bào hình thành chung một khuẩn lạc.

Mặc dù có một số nhược điểm song đây vẫn là phương pháp tốt nhất để xác định số lượng tế bào vi sinh vật. Phương pháp này có độ nhạy cao, nên thường được dùng trong kiểm nghiệm vi sinh vật trong nước, thực phẩm, bệnh phẩm.

Quy trình chi tiết của phương pháp đếm khuẩn lạc: mẫu được pha loãng theo dãy nồng độ như sau: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ...

Ví dụ: lấy 1ml mẫu, pha vào 9ml dung dịch, pha loãng trộn đều, rồi tiếp tục lấy 1ml của dung dịch 1 cho vào 9ml dung dịch pha loãng ta được dung dịch 2 với độ pha loãng là 10^{-2} .



Cứ tiếp tục, sẽ có các dung dịch với độ pha loãng tăng thêm 10 lần cho đến khi tìm được độ pha loãng thích hợp, cho phương pháp đếm khuẩn lạc.

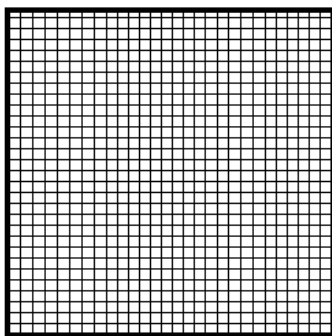
Nguyên tắc chung là 1 phần mẫu + 9 phần dung dịch pha loãng cho nên nếu là 0,1ml cần bổ sung 0,9ml dung dịch pha loãng

Chuẩn bị môi trường thích hợp trên đĩa petri

Cách tính kết quả :

Ví dụ: kết quả số khuẩn lạc trung bình từ 2 đĩa petri thu được là 35, độ pha loãng 10^{-4} , số lượng mẫu đưa vào đĩa petri là 0,1ml ta có:
 $35 \cdot 10 \cdot 10000 = 3500000$ tế bào/ml

0.3. PHƯƠNG PHÁP MÀNG LỌC:



Phương pháp này được dùng để định lượng vi sinh vật trong các mẫu nước với mật độ vi khuẩn thấp. Vì vậy phương pháp này gồm bước lọc để tập trung vi sinh vật có trong mẫu nước trên màng lọc. Việc xác định số lượng tế bào vi sinh vật dựa vào số khuẩn lạc đếm được. Sau khi đặt màng lọc lên trên môi trường thích hợp. Theo nguyên lý một khuẩn lạc là một tế bào vi sinh vật.

Màng lọc có kích thước 0,2 – 0,45 μm được chế tạo từ các sợi thủy tinh hay sợi polypropylene.

Ngoài màng lọc thông thường, ngày nay còn dùng màng lọc kỵ nước. Các vạch chia ô làm bằng vật liệu ngăn cản sự mọc lan của các khuẩn lạc. Số vi sinh vật được tính theo số khuẩn lạc mọc trong các ô.

0.4. PHƯƠNG PHÁP MPN (MOST PROBABLE NUMBER)

(Số có khả năng cao nhất – SCKNCN)

Quy trình định lượng theo phương pháp này như sau:

Cho các ống nghiệm chứa môi trường dạng lỏng thích hợp với vi sinh vật cần xác định với 3 mức nồng độ 1/10, 1/100, 1/1000 mỗi mức 3 ống nghiệm. Ủ ở nhiệt độ với thời gian thích hợp. Dựa vào kết quả nhìn thấy chứng minh sự tăng trưởng của vi sinh vật cần kiểm định (thường là những hiện tượng như: sinh hơi, đổi màu, đục...) ghi nhận số lượng các ống nghiệm dương tính ở từng độ pha loãng. Sử dụng các số liệu này và dựa vào bảng Mac Crady suy ra mật độ vi sinh vật được trình bày dưới dạng MPN/100ml hay số MPN/gam.

Độ chính xác của trị số MPN phụ thuộc vào số lượng ống nghiệm lặp lại trong mỗi độ pha loãng.

Sử dụng môi trường BGBL ở 37°C có thể định lượng nhóm Coliform, cùng môi trường này ở 45°C cho phép định lượng Coliform trong phân.

0.5. PHƯƠNG PHÁP ĐO ĐỘ ĐỤC:

Tế bào vi sinh vật là một thực thể khi có trong môi trường sẽ làm cho môi trường trở nên đục. Độ đục của huyền phù tỷ lệ thuận với số lượng tế bào vi sinh vật có trong môi trường. Trong một giới hạn nhất định, mối quan hệ giữa số lượng vi sinh vật trong môi trường tỷ lệ tuyến tính với độ đục của môi trường. Do đó có thể định lượng vi sinh vật trong môi trường bằng máy đo độ đục hay máy so màu ở bước sóng 550 – 610nm. Trong trường hợp này cần xây dựng biểu đồ tương quan tuyến tính giữa độ đục và số lượng vi sinh vật có trong môi trường bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trực tiếp. Phương pháp tiến hành theo hai bước:

1. *Pha loãng huyền phù* chứa vi sinh vật cần kiểm nghiệm sao cho các dung dịch thu được khi đo trên máy so màu ở bước sóng 610nm được các trị số OD gần 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5.

Dùng phương pháp đếm trực tiếp xác định lượng tế bào vi sinh vật có trong 1ml ký hiệu N/ml.

Tính giá trị log (N/ml) cho từng mức nồng độ pha loãng. Vẽ đồ thị biểu diễn log (N/ml) (trục tung) theo các giá trị OD đặt trên trục hoành. Xác định khoảng tuyến tính giữa log (N/ml) với OD.

2. *Xác định lượng tế bào theo độ đục:*

- Đo độ đục của huyền phù của tế bào vi sinh vật cần xác định.
- Từ trị số OD đo được đối chiếu trên đồ thị tương quan giữa mật độ tế bào và OD để xác định lượng tế bào có trong mẫu nghiên cứu. Lưu ý $N/ml = 10^a$ với $a = \log(N/ml)$.

Phương pháp xác định mật độ tế bào theo độ đục có thể được dùng để so sánh mức độ tăng trưởng của hai hay nhiều chủng vi sinh vật trong môi trường lỏng. Trong trường hợp không cần thiết giá trị tuyệt đối của tế bào vi sinh vật thì không cần phải xây dựng biểu đồ tuyến tính giữa mật độ vi sinh vật và giá trị OD.

Phương pháp này cho kết quả nhanh, thường được dùng để theo dõi hoặc nghiên cứu đặc trưng tăng trưởng của các chủng vi sinh vật trong phòng thí nghiệm hoặc trong sản xuất, tuy nhiên không thích hợp cho ứng dụng trong kiểm nghiệm vi sinh vật

CHƯƠNG 1:

MỘT SỐ LOÀI VI SINH VẬT GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP

Các quá trình hư hỏng của thực phẩm thường do vi sinh vật gây nên. Trong đó rất nhiều trường hợp các vi sinh vật này còn tạo ra các độc tố gây ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Chính vì vậy việc tìm hiểu về các vi sinh vật gây bệnh để từ đó tìm ra các biện pháp khống chế chúng là việc làm cần thiết.

Có 2 dạng gây bệnh có nguồn gốc từ vi sinh vật:

- Vi sinh vật tiết ra độc tố và sự hiện diện của các độc tố này trong thực phẩm là nguyên nhân gây bệnh. Ví dụ: *Clostridium botulinum* tiết ra độc tố gây nên bệnh botulism (chứng ngộ độc thịt); *Staphylococcus aureus* gây nên bệnh tụ cầu khuẩn
- Vi sinh vật hiện diện trong thực phẩm, từ đó xâm nhập vào cơ thể con người. Sự hiện diện của chúng hoặc của các sản phẩm hình thành từ quá trình phân giải các chất trong cơ thể là nguyên nhân gây bệnh. Ví dụ: *Salmonella spp.*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli*,...

Tuy nhiên có nhiều vi sinh vật mang đặc tính của cả 2 dạng gây bệnh này. Ví dụ *Clostridium perfringens* và *Bacillus cereus*.

Trong chương này, chúng ta sẽ cùng tìm hiểu một số loài vi sinh vật gây bệnh thường gặp.

1.1. COLIFORM VÀ COLIFORM PHÂN (FECAL COLIFORM)

Đây là những vi sinh vật hình que, G^- , không tạo bào tử, có khả năng lên men latose và sinh khí trong quá trình lên men này. Phát triển trong khoảng nhiệt độ (từ -2 đến 50°C), pH từ 4,0 đến 8,5, có thể sống hiếu khí hoặc kỵ khí tùy ý. Sau 12 – 16 giờ trên môi trường thạch tạo ra những khuẩn lạc có thể nhìn thấy được.

.....
Coliform đi vào thực phẩm từ nước hoặc nguyên liệu thực phẩm có nhiễm phân.

Các loài tiêu biểu cho *Coliform*: *Escherichia coli* và *Enterobacter aerogenes*. Tuy nhiên, ngoài ra còn có khoảng 20 loài mang những tính chất đặc trưng cho *Coliform*, trong đó bao gồm cả các *Enterobacteriaceae* khác và các loài thuộc *Aeromonas*.

Nhóm *Coliform* phân là những *Coliform* có khả năng phát triển trong môi trường có nhiệt độ từ 44.5 – 45°C (các *Coliform* khác có $t_{opt}^{0}=37^{\circ}\text{C}$). Đây cũng là đặc điểm nhận biết và phân biệt *Coliform* phân. Tuy nhiên việc xác định này chỉ là giá trị dùng để tham khảo cho việc xác định điều kiện sống của *Coliform*.

Để xác định chính xác *Coliform*, *Coliform* phân và ngay cả *E.coli* trong thực phẩm bắt buộc phải dùng các chất chỉ thị.

Dưới đây là một vài tính chất đặc trưng cho việc làm hư hỏng thực phẩm của *Coliform*:

- Chúng có khả năng phân giải nhiều loại cơ chất khác nhau: carbohydrate, các chất hữu cơ sinh năng lượng, các hợp chất chứa nitơ đơn giản,...
- Có khả năng tổng hợp hầu hết các vitamin cần thiết.
- Có khả năng phát triển tốt trong môi trường có nhiệt độ từ 10 – 46°C.
- Có khả năng tạo ra acid và sinh gas từ đường
- Sinh ra mùi vị hư hỏng, khó chịu

Escherichia coli:

Được phát hiện là vi sinh vật gây bệnh từ năm 1700.

E. coli thuộc họ *Enterobacteriaceae*, catalase (+), oxidase (-), gram(-) , trực khuẩn ngắn, không tạo bào tử. Kích thước phụ thuộc vào điều kiện nuôi cấy.

Đây là những vi sinh vật có khả năng phát triển ở nhiệt độ từ 7 – 50°C. Trong đó $t_{opt}^{0}=37^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}_{opt.}= 7.0 - 7.5$, $a_{w\ opt.}=0.95$. Phát triển mạnh trong môi trường Mac Conkey, EMB

Thường sống trong ruột già của người và động vật, theo phân đi ra ngoài

Có khả năng lên men nhiều loại đường, sinh hơi, khử nitrat thành nitrit. Gây ngứa nhớt, hư hỏng thực phẩm.

Khả năng gây bệnh rất đa dạng: gây nhiễm khuẩn đường tiêu; với cơ thể yếu gây nhiễm khuẩn máu; gây viêm màng não ở trẻ sơ sinh; gây tiêu chảy.

Các chất ức chế sự phát triển của *E.coli*: chlorin, muối mật, brilliant green, tetrathionat natri

1.2. STAPHYLOCOCCUS:

Hiện nay tìm thấy 31 loài. *Staphylococcus* có những đặc tính cơ bản sau:

- Là cầu khuẩn, G^+ , các tế bào thường liên kết thành hình chùm nho. Không di động, không tạo bào tử. Nhiệt độ tối ưu là 37°C . Chịu được khô hạn, hơi nóng (ở 50°C vẫn sống được trong 30 phút). Có khả năng sống được trong nồng độ NaCl là 9 – 10%. $\text{pH}_{\text{opt}} = 6 - 7$; $a_{w \text{ opt}} = 0,83 - 0,90$
- Có khả năng phát triển trên nhiều loại môi trường khác nhau nhất là trên các môi trường chứa chất hữu cơ. Tuy nhiên phải có nitơ trong môi trường. Nguồn nitơ sử dụng là acidamin.
- Trong điều kiện yếm khí: cần uracin; trong điều kiện hiếu khí cần: glutamatnatri.
- Trong quá trình phát triển tạo sắc tố từ màu trắng đến vàng sậm.
- Thường sống ở da người, đường hô hấp, đường tiêu hóa

Staphylococcus thường tạo độc tố gây độc cho người: Tạo mụn nhọt, làm đông huyết tương, từ đó gây nên các bệnh như viêm phổi, viêm màng não, viêm cơ tim, viêm thận, viêm tủy xương

Các chất ức chế sự phát triển của *Staphylococcus*: hexaclorophen, tím gentian

Các chất tiêu diệt *Staphylococcus*: clorit, neomycine, polymycine.

***Staphylococcus aureus*:**

Đặc trưng nhất của loài này là gây viêm ruột dẫn đến bệnh chảy máu ruột.

Mang tính chất đặc trưng của loài *Staphylococcus*, kết lại với nhau thành dạng chùm nho hoặc thành từng chuỗi ngắn. Phát triển trên môi trường rắn thường tạo thành các khuẩn lạc có màu vàng hoặc chuyển dần sang màu cam, mặt dầu vậy, trong một vài trường hợp cũng tồn tại ở dạng màu trắng.

Phần lớn các *Staphylococcus aureus* gây đông máu. Sống trong điều kiện yếm khí tùy tiện, tuy nhiên có khả năng phát triển tốt hơn trong môi trường hiếu khí.

Có một vài loài *Staphylococcus aureus* có khả năng chịu mặn rất tốt (10 – 20% NaCl) và cũng chịu được tác động của nitrit. Chính vì vậy phải rất kiểm tra sự hiện diện của *Staphylococcus aureus* đối với các sản phẩm thịt như: xúc xích, dăm bông, Lạp xưởng,...

Staphylococcus aureus cũng phát triển tốt trong môi trường có nồng độ đường cao (50 – 60% đường). Chúng lên men và phân giải đường nhưng lại không tạo mùi vị khó chịu cho sản phẩm.

Điều kiện tối ưu để *Staphylococcus aureus* phát triển cũng tương tự như với các loài *Staphylococci* khác.

Nguồn gây nhiễm *Staphylococci* vào cơ thể người thường từ những người bị viêm mũi gây nên viêm xoang, từ các ung nhọt, hoặc các vết thương bị nhiễm trùng, từ da người tiếp xúc với người bệnh. *Staphylococci* còn gây nên chứng viêm vú bò dẫn đến làm nhiễm sữa và các sản phẩm từ sữa. Riêng không khí không phải là nguồn gây nhiễm đặc trưng trừ phi trong môi trường có quá nhiều *Staphylococci*.

Các sản phẩm thực phẩm thường có *Staphylococci* : thịt và các sản phẩm từ thịt, cá và các sản phẩm từ cá, sữa và các sản phẩm từ sữa, salad, pudding, cream. Nếu không được trữ lạnh đúng mức thì *Staphylococci* sẽ phát triển mạnh liệt và gây bệnh.

Lượng độc tố được tiết ra đủ để gây bệnh trong điều kiện môi trường thích hợp là 12h ở 37°C, 3 ngày ở 18°C, 7 ngày tại 9°C, 4 tuần tại 4 – 6.7°C.

1.3. SHIGELLA:

Shigella thuộc họ *Enterobacteriaceae*, là vi khuẩn gây bệnh lỵ. Dưới đây là một số đặc tính chung tiêu biểu của *Shigella*:

- Là trực khuẩn gram(-), không di động, không sinh bào tử, kỵ khí tùy tiện.

- *Shigella* chỉ tạo acid từ đường.
- Không phát triển trên citrat, KCN – thạch, không tạo H₂S.
- Phát triển trong khoảng nhiệt độ từ 10 – 40°C, $t_{opt}^0 = 37^{\circ}\text{C}$, pH = 6 – 8, nồng độ muối 5 – 6%. Nhạy cảm với nhiệt.
- Thường nhiễm vào cá, quả, rau, thịt, các loại salad từ nước hoặc phân người.

Shigella tạo độc tố gây kích thích lên thành ruột, lên hệ thần kinh trung ương, gây tiêu chảy, ức chế hấp thu đường và acid amin ở ruột non. Nếu tác động lên hệ thần kinh thì có thể gây tử vong. Khi bị nhiễm *Shigella*, chúng sẽ tấn công lớp biểu mô niêm mạc ruột già, gây hoại tử, làm loét, xuất huyết. Khi ruột già bị tổn thương gây đau bụng dữ dội, tiêu chảy nhiều lần, phân nhầy nhớt, có máu.

1.4. SALMONELLA

Nếu phân loại theo mức độ gây bệnh của *Salmonella* ta có các loại sau:

- Loại chỉ gây bệnh cho người (vd: *S. typhi* gây sốt thương hàn tại người)
- Loại chỉ gây bệnh cho động vật (vd: *S. typhimurium* gây sốt thương hàn tại chuột)
- Loại gây bệnh cho cả người và động vật (chiếm đa số)

Một số tính chất của *Salmonella*:

- Là trực khuẩn gram (-), không tạo bào tử, có tiên mao (trừ *S. gallinarum*), có kích thước tế bào vào khoảng 0,5 – 3 μm .
- Lên men glucose, sinh khí. Không lên men lactose và saccharose.
- Phát triển mạnh trong môi trường Mac Conkey, thạch Brilliant green. Sau 24h ở 37°C có thể thấy khuẩn lạc
- Giống như nhiều loài vi khuẩn khác *Salmonella* có khả năng phát triển trong khoảng nhiệt độ tương đối rộng từ 6 đến 45.6°C, tuy nhiên nhiệt độ phát triển tối ưu là 37°C.
- *Salmonella* phát triển trong khoảng pH từ 4.1 – 9.0. Trong các món salad có độ pH khoảng 5.5 – 5.7 không nhận dạng được sự thay đổi mùi vị khi *Salmonella* phát triển.

- Độ ẩm tối ưu cho sự phát triển của *Salmonella* là 0.93 – 0.95.

Salmonella xâm nhập vào cơ thể bằng hai con đường: từ phân người hoặc động vật; từ người bệnh. Trong đó phải kể đến tác động của động vật lông vũ, trứng của chúng và nhất là phân của chúng đã làm cho việc lan truyền *Salmonella* dễ dàng hơn. Ngoài ra chuột, mèo, ruồi cũng là những tác nhân gián tiếp dẫn đến việc *Salmonella* lan rộng hơn khi chúng truyền phân vào các thực phẩm không được bảo quản kỹ. Trong quá trình giết mổ cũng cần phải đề phòng sự nhiễm *Salmonella* nếu không thực hiện đúng quy trình an toàn thực phẩm.

1.5. YERSINIA:

Hiện nay tìm thấy 11 loài

Một số đặc tính chung của *Yersinia*:

- + Là trực khuẩn gram(-). Trong một số trường hợp có khả năng chuyển động. Thuộc loại kỵ khí tùy tiện, không tạo bào tử, không sinh nha bào
- + Khoảng nhiệt độ phát triển tối ưu từ 25 – 32°C
- + Bị tiêu diệt ở 60°C trong vòng 1 – 3 phút

Đại diện tiêu biểu là *Yersinia enterocolitica*. *Yersinia enterocolitica* phát triển trên nhiều loại thực phẩm khác nhau: bò, heo, dịch trứng, pho mát mềm, sữa, cá, tôm, cua, gà, đậu phụ,... *Y. enterocolitica* thường gây bệnh đường ruột, gây viêm dạ dày tại người. Sau 24 – 36 h sau khi sử dụng thực phẩm có mầm bệnh thì triệu chứng của bệnh bắt đầu xuất hiện như đau bụng, sốt, tiêu chảy, các vết loét dạ dày hình thành. Nếu để lâu sẽ dẫn đến chảy máu dạ dày.

1.6. VIBRIO:

Có khoảng 28 loài. Trong đó có 4 loài thường gặp nhiều trong hải sản:

- *V. vulnificus*
- *V. alginolyticus*
- *V. cholerae*
- *V. parahaemolyticus*

Một số đặc điểm chung:

- Là phẩy khuẩn. Phần lớn thuộc gram (-). Di động nhanh nhờ đờn mao ở đầu. Không sinh nha bào, phản ứng oxydase dương tính. Thuộc loài hiếu khí tùy tiện.
- *Vibrio* là loài vi khuẩn ưa mặn, trong môi trường sống yêu cầu có khoảng 1 – 3% NaCl. Có thể phát triển trong môi trường có nồng độ muối đến 7.0%. Nhiệt độ phát triển tối ưu là 35 – 37°C, tuy nhiên vẫn phát triển được ở khoảng nhiệt độ từ 10 – 44°C. Khoảng pH mà *Vibrio* có thể phát triển từ 5.0 – 11.0.
- Thường có mặt ở hải sản, các sản phẩm hải sản, nước biển. Tuy nhiên bị tiêu diệt dưới tác động của nhiệt độ. Nói một cách khác, khi nấu chín thực phẩm thì không phải lo sợ sự tác động của *Vibrio*.
- Có khả năng gây bệnh dịch tả, nhiễm trùng máu.

1.7. CLOSTRIDIUM:

Hiện nay phát hiện ra hai chủng gây ngộ độc thực phẩm:

- *Clostridium botulinum*: tạo độc tố gây hại đến hệ thần kinh
- *Clostridium perfringens*: gây đau bụng, tiêu chảy và giải phóng nhiều khí. Khi vi khuẩn hình thành bào tử tạo ra độc tố ruột, gây ngộ độc cho người.

Một số đặc tính chung:

- Trực khuẩn gram (+), không di động, yếm khí, tạo bào tử. Bào tử rất chịu nhiệt.
- Nhiệt độ phát triển tối ưu là : 43 – 47°C, pH từ 5 – 9
- Bị ức chế bởi NaCl 5%, hoặc NaNO₃ 2,5%

C.botulinum là vi khuẩn sinh độc tố. Tế bào *C.botulinum* bị tiêu ở nhiệt độ 80°C (chủng A) và ở 90°C (chủng B). Trong đa số trường hợp *C.botulinum* sinh gas và tạo mùi khó chịu. Từ đặc điểm này ta có thể loại bỏ thực phẩm nhiễm *C.botulinum* một cách dễ dàng. Tuy nhiên cần đề phòng một số trường hợp ngoại lệ, lúc này ta không nhận biết được bằng cảm quan về sự nhiễm vi khuẩn *C.botulinum* của thực phẩm, do đó người sử dụng sẽ bị nhiễm độc tố gây hội chứng botulism (ngộ độc thịt).

Trong quá trình xử lý nhiệt, các bào tử của *C.botulinum* rất khó bị tiêu diệt. Để tiêu diệt bào tử cần có sự tác động của nhiệt độ theo thời gian thích hợp (Esty and Meyer – 1992):

TT	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)
1	100	360
2	105	120
3	110	36
4	115	12
5	120	4

May mắn là sự ngộ độc thịt xảy ra không thường xuyên, nhưng nó thường gây tử vong. Theo sự phát triển của khoa học, tỷ lệ tử vong do botulism ngày càng giảm. Ví dụ vào những năm 1970 – 1973 chiếm khoảng 23%, vào năm 1899 – 1994 tỷ lệ này chiếm trên 60% tại Mỹ. Theo như thống kê của Trung tâm kiểm soát dịch bệnh tại Mỹ, thì các sản phẩm được làm tại nhà dễ bị nhiễm *C.botulinum* hơn là các sản phẩm sản xuất trong công nghiệp.

Tùy theo từng loại *C.botulinum* mà triệu chứng bệnh xuất hiện sau khi sử dụng thực phẩm chứa độc tố xuất hiện sau các khoảng thời gian khác nhau (từ 12 – 36 giờ). Khi bị ngộ độc các triệu chứng đầu tiên xuất hiện là: nôn mửa, tiêu chảy, mệt mỏi, chóng mặt và đau đầu. Sau đó là các triệu chứng táo bón, nhìn một thành hai. Rồi các hiện tượng khó nuốt, khó phát âm xuất hiện. Người bệnh cảm nhận được sự khô miệng, khó thở, lưỡi bị sưng và xuất hiện màng. Có thể lên cơn sốt hoặc không. Tiếp theo là cơ bị tê cứng, rồi đến hệ thống hô hấp bị tê cứng và cuối cùng là tim ngừng đập. Kết quả là người bị tử vong do tê liệt hệ thống hô hấp. Sự tử vong này thường diễn ra sau 3 – 6 ngày sử dụng thực phẩm nhiễm độc tố.

Phương thức duy nhất để chữa trị là sử dụng các chất kháng độc tố. Tuy nhiên nó chỉ hiệu nghiệm nếu sử dụng khi phát hiện ra

.....
các triệu chứng đầu tiên của bệnh. Còn để khi các triệu chứng đặc trưng xuất hiện thì đã muộn rồi. Chính vì vậy việc xác định bệnh là rất khó khăn. Kèm theo việc sử dụng chất kháng độc tố là phải giữ cho người bệnh ở trạng thái yên tĩnh, sử dụng phương pháp thở nhân tạo, tạo sự cân bằng các chất lỏng trong cơ thể,..

Để ngăn chặn sự nhiễm *C.botulinum* vào cơ thể cần chú ý thực thi các việc sau:

- Nên xử lý nhiệt các đồ hộp trước khi sử dụng.
- Loại bỏ các đồ hộp có triệu chứng phồng, méo mó.
- Không ném các thực phẩm có mùi khó chịu.
- Không sử dụng các thực phẩm đã được nấu chín nhưng không được bảo quản tốt và không được hâm nóng.
- Cần đun nóng lại thực phẩm nghi ngờ trong khoảng 15 phút.

Đối với các sản phẩm xông khói thì cần chú ý một số điểm sau:

- Sản phẩm được giữ sạch, tay trước khi cầm sản phẩm được rửa sạch.
- Trong quá trình xông khói cần giữ ít nhất ở 82°C trong 30 phút.
- Làm lạnh nhanh sau khi đóng gói và bảo quản lạnh.
- Tất cả các bao bì sử dụng phải là loại được bộ Y tế cho phép và chịu lạnh tốt.

CHƯƠNG 2:

VI SINH VẬT TRONG

CHẾ BIẾN VÀ BẢO QUẢN THỊT

2.1. QUÁ TRÌNH NHIỄM VI SINH:

Thịt là một sản phẩm có rất nhiều chất dinh dưỡng, đồng thời có độ pH từ 6 – 6,5 rất thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật. Động vật có thể bị nhiễm vi sinh vật bằng con đường nội sinh hoặc ngoại sinh. Nhưng dù bị nhiễm khuẩn bằng con đường nào đi nữa thì cũng làm giảm chất lượng của thịt nhiều khi dẫn đến không thể sử dụng được. Số lượng vi sinh vật có ở thịt phản ánh chất lượng của thịt. Thịt bị coi là kém chất lượng khi trên 1 cm² bề mặt của thịt hoặc trong 1g thịt có từ 10⁷ vi khuẩn trở lên.

Các gia súc khỏe mạnh thường ít bị nhiễm vi sinh vật theo con đường nội sinh. Mặc dầu vậy ta vẫn tìm thấy một số loài vi sinh vật tại máu của một số thịt đỏ như: *staphylococci*, *streptococci*, *Clostridium*, *Salmonella*.

Nguồn gây nhiễm vi sinh vật cho các động vật thường là: quá trình chọc tiết, cạo lông, mổ. Lúc này vi sinh vật từ các thành phần như lông, lòng, phân hoặc dụng cụ giết mổ đi vào thịt. Trong công nghệ giết mổ hiện đại – giết mổ treo, sự lây nhiễm vi sinh vật giảm xuống rất nhiều. Chính vì vậy, để giảm sự lây nhiễm vi sinh vật cho thịt ta cần phải chú ý đến khâu vệ sinh của quá trình giết mổ; nhất là đối với dụng cụ, phòng giết mổ, động vật giết mổ, người lao động.

Do nguồn lây nhiễm vi sinh vật vào thịt rất rộng, nên có rất nhiều loại vi sinh vật bị nhiễm vào thịt. Các vi sinh vật thường gặp là các vi sinh vật hoại sinh, bào tử của nấm mốc (*Penicilium*, *Mucor*, *Cladosporium*,...), các tế bào nấm men (*Candida*, *Torulopsis*, *Debaryomyces*,...) và đôi khi là các vi sinh

vật gây bệnh (*Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Salmonella*,...)

2.2. CÁC QUÁ TRÌNH BẢO QUẢN:

2.2.1. Sự vô khuẩn:

Để đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm cho các quá trình sản xuất các sản phẩm từ thịt, nhà sản xuất phải chú ý đến sự vô khuẩn của phòng, không khí, dụng cụ, thiết bị, nước sử dụng trong giết mổ và chế biến; nhân công làm việc trong phòng giết mổ và chế biến.

Ngoài ra, đối với các sản phẩm tươi sống hoặc đã chế biến thì phương pháp bảo quản trong các bao bì được hút chân không sẽ giúp cho các sản phẩm này để được lâu hơn mà vẫn giữ được hương vị đặc trưng. Phương pháp bảo quản này giúp cho sản phẩm không tiếp xúc trực tiếp với oxy, không khí, nước do đó tránh được các hư hỏng do môi trường và vi sinh vật từ môi trường tác động lên sản phẩm. Với các vi sinh vật có sẵn trong thịt và sản phẩm từ thịt thì tùy vào mỗi loại vi sinh vật mà phương pháp hút chân không sẽ có tác động khác nhau. Đối với các vi sinh vật như staphylococci, vi khuẩn lactic, nấm mốc thì sự phát triển của chúng sẽ bị ngăn chặn lại trong điều kiện chân không. Tuy nhiên, đối với *Clostridium botulinum* và các vi khuẩn sống kỵ khí thì không có tác động.

2.2.2. Nhiệt độ cao:

Hầu hết các sản phẩm từ thịt có độ acid thực phẩm thấp và là môi trường dinh dưỡng rất tốt cho vi sinh vật phát triển. Do đó bảo quản như thế nào để sản phẩm có thể để lâu và vẫn ổn định chất lượng là điều mà các nhà sản xuất luôn suy nghĩ.

Công nghệ đồ hộp là một trong những công nghệ sử dụng kỹ thuật đặc biệt để bảo quản thực phẩm không bị hư hỏng dưới tác động của vi sinh và môi trường trong một thời gian dài. Có hai loại:

1. Thịt được cho vào hộp thiếc, tiệt trùng ở 121°C, và bảo quản ở nhiệt độ thường
2. Sản phẩm từ thịt được thanh trùng và được bảo quản lạnh.

Ngoài ra còn những phương pháp sử dụng nhiệt độ cao khác như: