

TỦ SÁCH KHUYẾN NÔNG PHỤC VỤ NGƯỜI LAO ĐỘNG

# Hướng dẫn bảo quản, chế biến thực phẩm nhờ vi sinh vật



NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG

**TỦ SÁCH KHUYẾN NÔNG PHỤC VỤ NGƯỜI LAO ĐỘNG**  
**CHU THỊ THƠM, PHAN THỊ LÀI, NGUYỄN VĂN TÓ**  
(Biên soạn)

**HƯỚNG DẪN**  
**BẢO QUẢN, CHẾ BIẾN**  
**THỰC PHẨM NHỜ VI SINH VẬT**

**NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG**  
**HÀ NỘI-2006**

## LỜI NÓI ĐẦU

*Trong thế giới tự nhiên, vi sinh vật phong phú và đa dạng. Chúng tồn tại phổ biến trong giới tự nhiên, trên cơ thể các động, thực vật, trong nước, trong không khí, v.v.. Chúng rất đa dạng về hình thái, cấu tạo và đặc tính sinh học. Tuy nhiên chúng được xếp vào một số nhóm chủ yếu như vi khuẩn, nấm men, nấm mốc, v.v.. Có nhóm vi khuẩn gây hại nhưng cũng có nhóm lại có ích lợi như: ức chế sự gây thối, diệt khuẩn, tạo men trong một số loại thực phẩm, rượu, sữa, v.v..*

*Như vậy, hiểu biết về vi sinh vật sẽ giúp ích rất nhiều trong đời sống. Một trong những ích lợi đó là vấn đề chế biến và bảo quản thực phẩm, đảm bảo vệ sinh thực phẩm, mang lại lợi ích về kinh tế và nhất là bảo vệ sức khoẻ cho con người. Đó chính là mục đích của cuốn sách này. Hy vọng với vấn đề đặt ra trong sách sẽ giúp cho người đọc, đặc biệt là nhà nông các kiến thức cần thiết để chế biến, bảo quản thực phẩm tốt hơn.*

CÁC TÁC GIẢ

# I. ĐẶC TÍNH SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG CỦA VI SINH VẬT

## 1. Vi khuẩn

### *Cấu tạo vi khuẩn*

Vi khuẩn là những sinh vật đơn bào, cấu tạo đơn giản và kích thước rất nhỏ. Mỗi một tế bào vi khuẩn có thể hoạt động, sống độc lập.

Tùy theo hình dáng bên ngoài, vi khuẩn được chia làm 3 nhóm cơ bản: cầu khuẩn, trực khuẩn, xoắn khuẩn.

### *a. Cầu khuẩn*

Trong thiên nhiên cầu khuẩn rất phổ biến. Đại đa số cầu khuẩn có dạng hình cầu, tùy theo số lượng tế bào và cách sắp xếp mà người ta chia ra các loại sau:

- Đơn cầu khuẩn: trong môi trường từng tế bào đứng tách riêng.
- Lưỡng cầu khuẩn: hai tế bào xếp thành từng đôi, có thể là hình cầu hay hình bán cầu.
- Liên cầu khuẩn: gồm một chuỗi tế bào liên kết với nhau. Thí dụ: vi khuẩn lactic (*streptococcus lactis*).
- Tứ cầu khuẩn: gồm 4 tế bào xếp thành hai hàng.
- Bát cầu khuẩn: gồm 8 tế bào xếp hai hàng như gói bánh vuông vắn.

- Tụ cầu khuẩn: gồm nhiều tế bào xếp thành từng chùm lộn xộn như chùm nho. Số lượng và cách sắp xếp tế bào không theo quy luật nhất định.

Kích thước của cầu khuẩn thường thay đổi trong khoảng 0,5-1 $\mu$ m ( $\mu$ m: micromet =  $10^{-3}$ mm).

### ***b. Trục khuẩn***

Trục khuẩn không chỉ có dạng hình que mà còn có nhiều dạng rất khác nhau. Có loại hình dùi trống; có loại hình que vuông, hình thoi, hình mũi mác, hình lưỡi liềm, có loại không sống độc lập mà kết thành từng đôi, có loại xếp thành từng chuỗi dài như liên trục khuẩn.

Dựa vào khả năng hình thành bào tử hay không người ta chia làm hai loại trục khuẩn: trục khuẩn sinh bào tử (hiếu khí hoặc kỵ khí tùy tiện); trục khuẩn kỵ khí sinh bào tử; trục khuẩn không sinh bào tử.

### ***c. Xoắn khuẩn***

Gồm những vi khuẩn có một hay nhiều vòng xoắn, phân biệt với nhau về độ dài, đường kính, số lượng, đặc trưng vòng xoắn.

### **Bào tử và sự hình thành bào tử**

Bào tử còn gọi là nha bào, loại này không nhất thiết có ở tất cả các vi khuẩn. Sự hình thành bào tử thường thấy ở trục khuẩn, ở cầu khuẩn ít hơn, còn ở vibrio và xoắn khuẩn hoàn toàn không gặp. Để phân biệt với loại trục khuẩn không sinh bào tử người ta xếp loại trục khuẩn có bào tử hiếu khí hoặc kỵ khí tùy tiện vào giống bacillus, trục khuẩn có bào tử yêu

cầu kỵ khí điển hình vào giống clostridium, cầu khuẩn có bào tử thường thấy ở *Sarcina ureae*. Bào tử của vi khuẩn có dạng hình cầu hoặc hình trái bầu.

- Các dạng hình thành bào tử: Bào tử có thể hình thành ở bất kỳ vị trí nào trong tế bào vi khuẩn. Một số vi khuẩn bào tử hình thành ở một đầu tế bào, đầu này có thể bị phình ra. Kiểu này thường gặp ở loại trực khuẩn clostridium. Có khi bào tử ở giữa tế bào. Tùy theo đường kính của bào tử so với tế bào làm cho tế bào có hình dạng khác nhau: Nếu đường kính nhỏ hơn bề ngang tế bào thì hình dạng không thay đổi hoặc lớn hơn thì làm cho tế bào có hình thoi.

- Khả năng chịu đựng của bào tử: Bào tử có sức chịu đựng rất lớn đối với điều kiện không thuận lợi của môi trường bên ngoài. Bào tử của mỗi loại vi khuẩn có sức chịu đựng khác nhau, ở nhiệt độ  $100^{\circ}\text{C}$  bào tử bacillus aureus chịu được 2 phút, bacillus subtilis-180 phút, B. mesentericus-380 phút... Tùy theo sức nóng khô hay ướt mà bào tử bị hủy hoại ở nhiệt độ khác nhau. Nói chung, khi hấp ở nhiệt độ cao bào tử bị tiêu diệt. Thường cùng một loại bào tử hấp ở  $120^{\circ}\text{C}$  trong 15-20 phút là bị tiêu diệt hết, còn sấy cần nhiệt độ cao khoảng  $150-170^{\circ}\text{C}$  trong 1-2 giờ.

Đối với tác dụng của hóa chất, bào tử cũng có sức chịu đựng cao hơn nhiều so với thể sinh dưỡng, thí dụ: thể sinh dưỡng bị tiêu diệt bởi phenol 5% trong vài giờ nhưng bào tử sau 15 ngày mới bị tiêu diệt.

Ở độ pH khác nhau sức chịu đựng của bào tử với nhiệt độ cũng thay đổi. pH càng thấp sức đề kháng với nhiệt độ càng giảm.

Sở dĩ bào tử có khả năng chịu đựng cao đối với điều kiện không thuận lợi là do cấu tạo và trạng thái sinh học (sinh lý, sinh hóa, hóa lý) của bào tử đã thay đổi nhiều so với thể sinh dưỡng. Vỏ bào tử chứa nhiều lipit và dày làm hạn chế rất nhiều sự xâm nhập của các chất hóa học. Đồng thời cấu trúc xếp của màng lại là vật cách nhiệt khá tốt. Thêm vào đó lượng nước chứa trong bào tử rất ít, phần lớn ở trạng thái liên kết làm cho sức chịu đựng của bào tử với điều kiện bên ngoài nhất là nhiệt độ tăng lên nhiều. Hơn nữa, các hệ enzym ở trạng thái gần như không hoạt động, các phản ứng sinh hóa hầu như không xảy ra, làm cho bào tử có thể tồn tại ở trạng thái nghỉ một thời gian khá dài tới hàng năm, thậm chí nhiều năm.

- Sự nảy mầm của bào tử: bào tử hình thành trong điều kiện môi trường khó khăn. Khi gặp điều kiện thuận lợi về chất dinh dưỡng, độ ẩm, nhiệt độ... bào tử sẽ nảy mầm. Chỉ trong khoảng từ 40-50 phút tế bào mới được hình thành từ bào tử.

- Ý nghĩa và điều kiện hình thành bào tử: sự hình thành bào tử ở vi khuẩn được coi là đặc tính ổn định của một số loài vi khuẩn. Nói chung bào tử hình thành khi môi trường có những yếu tố không thuận lợi cho đời sống như khô hạn, nhiệt độ quá cao, quá thấp, chất độc...

Mỗi tế bào thường chỉ hình thành một số bào tử. Như vậy sự hình thành bào tử ở vi khuẩn không phải là một hình thức sinh sản mà ở đây có thể coi như một hình thức bảo vệ đặc biệt, chuyển từ trạng thái hoạt động sang trạng thái nghỉ.

## Sinh trưởng của vi khuẩn

Các tế bào vi khuẩn thường sinh sản bằng cách phân đôi. Khoảng giữa tế bào, nơi sẽ bị phân cắt, tế bào chất hình thành vách ngăn từ màng. Từ đó tế bào được chia làm đôi và hai tế bào mới tạo thành. Những tế bào mới có thể không đồng nhất về kích thước vì vách ngăn không phải bao giờ cũng ở chính giữa tế bào mẹ.

Cầu khuẩn khi sinh sản tế bào được chia trên một, hai hoặc ba mặt phẳng vuông góc với nhau. Những tế bào con sau khi tạo thành không tách khỏi nhau ngay mà thường liên kết với nhau thành đôi, thành bộ tứ, bộ tám-mười sáu, thành chuỗi hoặc thành chùm nhỏ.

Trực khuẩn với những tế bào non mới xếp giống cầu khuẩn: xếp đôi theo chiều dài hoặc dính liền thành chuỗi. Đa số trực khuẩn được sắp xếp riêng rẽ lộn xộn.

Trực khuẩn phần nhiều là hình trụ dài, hình trụ ngắn giống kiểu cái thùng, đôi khi còn thấy hình nón cụt, nón lõm hoặc bị thắt ở giữa.

Vi khuẩn có tốc độ sinh trưởng rất lớn. Tốc độ này phụ thuộc vào điều kiện dinh dưỡng, nhiệt độ, mức độ hiếu khí và hàng loạt những yếu tố khác.

Trong các điều kiện thuận lợi tế bào có thể phân chia sau 20-30 phút. Như vậy, một ngày đêm có tới 48-72 vòng tăng đôi khối lượng: từ 1 tế bào sau 24 giờ có thể thành  $471469 \cdot 10^{15}$  tế bào và sau 36 giờ khối lượng vi khuẩn khoảng 400 T. Nếu vi khuẩn cứ sinh

trưởng theo đà này thì 1 tế bào sau 5 ngày đêm sẽ đạt được khối lượng lấp đầy các biển cả và đại dương. Nhưng thực tế lại không phải như vậy. Với nguồn thức ăn cạn dần ở môi trường, các điều kiện sống có thể thay đổi, những sản phẩm trao đổi chất và sản phẩm tạo thành, các nhân tố ở môi trường bên ngoài (nhân tố hóa học, sinh học...) đều làm thay đổi tốc độ hoặc kìm hãm hoặc làm ngừng sinh trưởng. Giảm nhiệt độ  $10^{\circ}\text{C}$  thì tốc độ sinh sản giảm 2-3 lần.

Vi khuẩn vào những điều kiện mới trong môi trường chưa quen không sinh sản được ngay mà phải mất thời gian làm quen-lag phase (pha tiềm phát), sau đó là giai đoạn sinh sản theo lối tăng đôi theo cấp số nhân-logarit phase (pha chỉ số), rồi pha ổn định và cuối cùng các tế bào già cùng với sự cạn kiệt các chất dinh dưỡng trong môi trường, các tế bào bị chết-pha suy vong.

Sự hư hỏng các sản phẩm thực phẩm đều có liên quan đến vi sinh vật. Sản phẩm bị chua, bị oxy hóa, mốc, thiu ôi... đều là do vi sinh vật, mà trước hết là vi khuẩn, sinh trưởng và hoạt động sống mạnh mẽ.

#### ***d. Xạ khuẩn***

Xạ khuẩn còn gọi là nấm tia có cấu trúc liên quan nhiều với vi khuẩn và nấm hạ đẳng. Chúng được xếp ở vị trí trung gian giữa vi khuẩn và nấm. Xạ khuẩn phân bố rộng rãi trong tự nhiên, trong đất, ao đầm và trong nước nói chung. Đất là môi trường sống chủ yếu của xạ khuẩn. Số lượng của xạ khuẩn có thể đạt tới hàng chục, hàng trăm triệu cá thể trong 1 gram đất giàu chất hữu cơ, nhất là trong những tháng hè.

Xạ khuẩn có cấu tạo đơn bào, dạng sợi phân nhánh, đường kính mỗi sợi từ 0,8-1µm. Tập hợp của hệ sợi là mixen-khuẩn ti. Phần sợi cắm sâu vào trong lòng môi trường gọi là khuẩn ti cơ chất. Phần sợi mọc trên bề mặt môi trường gọi là khuẩn ti khí sinh. Tới một giai đoạn nhất định khuẩn ti khí sinh sẽ mọc lên những nhánh nhỏ gọi là cuống bào tử. Hình dạng cuống bào tử khác nhau tùy loại xạ khuẩn. Một số có dạng thẳng, dạng xoắn, dạng tua cuốn, dạng vòng... Đến giai đoạn sinh sản bào tử sẽ được sinh ra từ những cuống bào tử. Bào tử hình cầu, hình bầu dục, hình que...

Xạ khuẩn có thể sinh sản bằng bào tử hoặc mấu sợi. Bào tử của xạ khuẩn là công cụ sinh sản chứ không phải là hình thức bảo vệ như ở bào tử vi khuẩn. Xạ khuẩn là vi sinh vật hiếu khí. Nó thường mọc trên bề mặt cơ chất. Khuẩn ti của xạ khuẩn sinh trưởng trên môi trường đặc tạo thành khuẩn lạc. Lúc đầu khuẩn lạc giống khuẩn lạc vi khuẩn, sau khi phát triển thành khuẩn ti khí sinh chúng tạo thành phần trung tâm và những sợi đi ra chung quanh như những tia sáng từ mặt trời.

Xạ khuẩn có các loại sắc tố, có loại không có sắc tố. Xạ khuẩn thường có màu hồng, đỏ, xanh, nâu, đen... Sắc tố có thể đóng vai trò trong trao đổi chất, nhất là quá trình hô hấp. Một số sắc tố có tác dụng diệt khuẩn. Xạ khuẩn bắt màu thuốc nhuộm apilin rất tốt. Đa số xạ khuẩn thuộc gram dương.

Xạ khuẩn sinh trưởng tốt trong môi trường có nguồn dinh dưỡng cacbon và nitơ, nhưng nhu cầu

dinh dưỡng tương đối thấp so với các nhóm vi sinh vật khác. Nhiệt độ thích hợp là 26-37°C, pH thích hợp là 6-8. Xạ khuẩn có khả năng phát triển trên những cơ chất mà nấm và vi khuẩn không mọc được, điều này chứng tỏ khả năng phân giải chất hữu cơ bền vững ở xạ khuẩn rất cao, chúng góp phần tích cực vào việc phân giải các hợp chất hữu cơ trong tự nhiên. Sở dĩ như vậy vì xạ khuẩn rất có khả năng sinh nhiều enzym thủy phân ngoại bào. Khi xạ khuẩn mọc ở các thực phẩm sẽ làm hư hỏng sản phẩm và có mùi đất. Xạ khuẩn có đặc tính rất quý giá là nhiều loài có khả năng sinh các chất kháng sinh. Một vài giống xạ khuẩn gây bệnh cho người và động vật.

#### *e. Nấm*

##### *Nấm mốc*

Nấm (mycota hoặc fungi) là một nhóm thực vật hạ đẳng rất lớn và đa dạng. Chúng không có chất diệp lục (chlorophyll), do vậy chúng không thể tự tổng hợp được các chất hữu cơ từ khí cacbonic ( $\text{CO}_2$ ). Chúng cần có sẵn các chất hữu cơ trong môi trường và không khí để phát triển và hoạt động sống.

Nấm có thể chia làm hai nhóm: macrophyte (nấm lớn) và microphyte (nấm hiển vi hoặc vi nấm). Nấm mốc thuộc vi nấm. Nấm hiển vi thường phát triển trên bề mặt các chất thành các dạng lông tơ, mạng nhện hoặc sợi bông, một số tạo thành màng hoặc lớp mỏng. Nhiều loài có ý nghĩa công nghiệp, được dùng trong sản xuất axit hữu cơ, enzym, chất kháng sinh, vitamin, một số dạng tương, chao, nước chấm, phomat...

Nhiều nấm mốc làm hỏng thực phẩm và hàng công nghiệp. Một số gây bệnh cho người, động vật và thực vật.

Nấm mốc là loại thực vật không có chất diệp lục, nên chúng chỉ sống được nhờ có hệ sợi bám vào các chất hữu cơ. Hệ sợi của nấm mốc có một số ăn sâu vào cơ chất gọi là khuẩn ti cơ chất hay khuẩn ti dinh dưỡng, một số mọc ra ngoài bề mặt cơ chất gọi là khuẩn ti khí sinh. Những khuẩn ti khí sinh là những lông tơ màu trắng, mọc thành một lớp sợi mềm và dần dần sẽ có một số sợi phát triển thành cơ quan sinh sản đặc biệt mang bào tử. Màu sắc của bào tử sẽ đặc trưng cho màu sắc của nấm mốc khi già.

Phần lớn các loài nấm mốc hệ sợi có vách ngăn. Vì vậy, chúng là loại sinh vật có cấu tạo đa bào. Ở một số loài nấm bậc thấp, hệ sợi không có vách ngăn, toàn bộ khuẩn ti coi như một tế bào phân nhánh (thấy ở các giống *mucor*, *rhizopus*, *absidia*,...). Về nguyên tắc cấu tạo tế bào của nấm mốc không khác với tế bào vi khuẩn và nấm men, nhưng có một hoặc đôi khi có vài nhân định hình. Trong tế bào chất thường tạo thành một số khoang-Vakuol (không bào), chứa đầy dịch bào.

*Oidium* có khuẩn ti phân nhánh mạnh. Ở các sản phẩm sữa và dưa thường gặp *oidium lactis*. Nó phân hủy axit lactic. Nấm *oidium tuckeri* gây bệnh nấm sương cho một số quả.

*Monilia* là dạng chuyển tiếp của nấm đa bào sang nấm sinh sản đơn bào mọc chồi như nấm men. Nó gây bệnh thối quả. Một số loài lên men rượu chậm và có thể tích lũy được trên 5° cồn.

## Nấm men

Nấm men là tên chung chỉ nhóm nấm men có cấu tạo đơn bào và thường sinh sản bằng cách nảy chồi và phân cắt. Nhóm này có nhiều trong tự nhiên. Nhiều loài trong nhóm này có khả năng lên men rượu, được áp dụng trong sản xuất rượu, bia, rượu vang, làm bánh mì. Tế bào nấm men giàu protein, vitamin (đặc biệt là vitamin nhóm B và tiền vitamin D2-bổ sung dinh dưỡng vào thức ăn gia súc và có thể dùng để chế một số dạng thực phẩm cho người.

### Hình dáng và cấu tạo tế bào nấm men

Tế bào nấm men hình trứng (men bia), hình elip (men rượu vang), hình cầu (*torulopsis*), hình gậy (*candida*), hình quả chanh. Kích thước của tế bào nấm men vào khoảng 8-15  $\mu\text{m}$ .

Tế bào nấm men gồm có vỏ (hoặc thành), màng, tế bào chất, nhân, một hoặc hai không bào và những giọt mỡ, hạt glycogen và votulin. Trong tế bào chất chứa riboxom-nơi tổng hợp protein và ti thể (mitochondri)-nơi xảy ra quá trình oxy hóa-khử, nơi cung cấp nguồn năng lượng cho tế bào.

Ở một số nấm men vỏ tế bào có khả năng kết dính, vì vậy chúng có thể kết với nhau. Quá trình này gọi là sự kết lắng và có một ý nghĩa lớn trong nghề nấu bia và làm rượu vang, vì các tế bào dính với nhau nhanh lắng xuống dưới làm cho dịch lên men trong, men này gọi là men chìm. Những nấm men không có khả năng kết lắng được gọi là men nổi. Giống *Torulopsis* lại có khả năng dính nhầy rất mạnh làm cả khối dịch bị nhầy, gây hỏng sản phẩm.

Nấm men có thể sinh sản bằng bào tử (từ 1-12, thường là 4-8 bào tử). Bào tử khi ra ngoài gặp điều kiện sẽ phát triển thành một tế bào nấm men mới. Nấm men sinh sản chủ yếu bằng cách nảy chồi. Tế bào mẹ nảy sinh ra một chồi nhỏ rồi lớn dần lên và sẽ tách ra. Quá trình này xảy ra khoảng 2 giờ. Ở một số giống nấm men, tế bào con không tách rời mà kết thành một chuỗi. Đặc tính này có ở các nấm men tạo màng.

Trong thực tế hiện nay hay gặp giống *Sacchromyces* sinh sản bằng nảy chồi, khi gặp điều kiện không thuận lợi thì sinh bào tử. Những loài quan trọng là *saccharomyces cerevisiae*-dùng trong sản xuất rượu, men bánh mì, *sacharomyces vini*-trong sản xuất rượu vang, *saccharomyces carlsbergellsis* trong nghề làm bia. Mỗi loài có khả năng lên men ở các loại đường khác nhau, tạo thành một số lượng rượu khác nhau, điều kiện nảy chồi và sinh bào tử cũng khác nhau. Mỗi loài gồm nhiều chủng (hay nòi).

## 2. Siêu vi khuẩn và thực khuẩn thể

Siêu vi khuẩn hay đúng hơn phải gọi là Virus. Chúng là những sinh vật cực nhỏ chỉ có thể nhìn thấy chúng ở dưới kính hiển vi điện tử. Đó là những tác nhân gây ra bao nhiêu bệnh truyền nhiễm nguy hiểm lớn đối với con người, động vật và thực vật. Virus không thể sống độc lập, phải ký sinh vào tế bào chủ và lúc này mới thể hiện tính chất sống của nó.

### *Cấu tạo và sinh sản của virus*

Virus có cấu tạo như sau: Phần giữa là axit nucleic, mỗi loại virus chỉ chứa một loại axit nucleic

(ADN hoặc ARN). Trong giới virus, nhóm chứa ARN chiếm đa số. Phần ngoài là vỏ gọi là capxit. Nếu là virus lớn còn có thêm vỏ ngoài. Vỏ giữ chức năng bảo vệ là một loại protit đặc biệt. Phần axit nucleic bên trong rất quan trọng, nó giữ vai trò di truyền. Khi vào tế bào chủ phần này quyết định việc tổng hợp nên các phân tử axit nucleic và vỏ bọc protit mới để phục vụ cho sinh sản.

Mỗi virus có một tế bào chủ tương ứng. Virus được hấp thụ trên vỏ tế bào chủ và xâm nhập vào nội bào, phần axit nucleic được giải phóng khỏi vỏ bọc. Khi virus đã ở trong tế bào chất, chúng sẽ nhanh chóng vào nhân để bắt đầu sinh sản. Ở đây virus bắt tế bào tổng hợp ra các axit nucleic mới theo khuôn axit nucleic virus từ ngoài vào. Các nguồn vật liệu như axit amin, các nucleotit và nguồn năng lượng của tế bào đều phải phục vụ cho nhu cầu của virus.

Sau khi tạo thành nhiều axit nucleic mới, tế bào phải tiến hành tổng hợp các protein capxit để tạo hình cho những virus mới. Các virus mới này sẽ phá vỡ màng tế bào và được giải phóng ra ngoài. Kết quả là tế bào chủ bị chết và vô vàn các virus con được hình thành. Quá trình này có thể xảy ra từ vài phút đến vài chục giờ. Một virus qua quá trình sinh sản có thể cho từ 1.000 đến 10.000, có khi tới 100.000 virus con.

Thực khuẩn thể là virus của vi khuẩn có khả năng làm tan các tế bào chủ rất nhanh.

Thực khuẩn thể có hình dáng giống quả chùy, phần đuôi được gắn vào vỏ tế bào vi khuẩn, đồng thời

tiết ra một loại enzym làm tan vỏ tế bào, rồi đẩy phần axit nucleic vào nội bào. Quá trình tạo hình các bacteriophage mới tương tự như ở virus nói chung, nhưng tốc độ thường xảy ra rất nhanh, có thể chỉ 15-20 phút. Trong công nghiệp vi sinh vật dùng vi khuẩn làm giống sản xuất thì thực khuẩn thể là kẻ thù nguy hiểm nhất, có thể hủy diệt giống làm hỏng cả quá trình sản xuất.

Trong trường hợp này cần phải thay giống mới hoặc phải thanh trùng kỹ cả thiết bị và nơi sản xuất. Trong y học người ta cũng dùng một số thực khuẩn để diệt các vi khuẩn gây bệnh và cũng thu được kết quả.

### **3. Thành phần hoá học của vi sinh vật**

Để nghiên cứu quá trình dinh dưỡng của vi sinh vật, nhất là yêu cầu của chúng đối với thức ăn, trước hết cần nắm được thành phần hóa học của cơ thể vi sinh vật.

Chuyển hóa các hợp chất glucit. Magie (Mg) tham gia thành phần các hệ enzym quan trọng trong tế bào. Các nguyên tố khác cũng giữ những vai trò không kém quan trọng. Đặc biệt có một số nguyên tố tuy chiếm số lượng cực ít trong tế bào vi sinh vật nhưng lại vô cùng cần thiết cho sự tồn tại và phát triển của vi sinh vật, gọi là nguyên tố vi lượng. Những nguyên tố vi lượng chủ yếu là B, Cu, Zn, Co, Mo, Mn, Fe... chúng tham gia trong thành phần các enzym của vi sinh vật. Tất cả các phản ứng tổng hợp sinh học, phân giải và trao đổi chất hữu cơ đều có sự tham gia của các hệ enzym.

### **A. Dinh dưỡng vi sinh vật**

Vi sinh vật không có cơ quan dinh dưỡng riêng biệt. Các chất dinh dưỡng vào tế bào và các sản phẩm của quá trình sống từ tế bào tiết ra môi trường qua toàn thể bề mặt tế bào nhờ quá trình khuếch tán, thẩm thấu và hấp phụ.

Vật chất được đi qua từ bộ phận này sang bộ phận khác được coi là sự khuếch tán. Trong tế bào có nhiều hướng đưa đến cân bằng nồng độ các chất trong tất cả thể tích dung dịch và do vậy xuất hiện dòng khuếch tán. Các chất được đồng hóa, nồng độ của chúng giảm dần và quá trình khuếch tán được tiếp tục không ngừng.

Nếu trên đường khuếch tán có màng bán thấm thì quá trình được gọi là thẩm thấu. Quá trình này được thực hiện nhờ sự khác biệt áp suất thẩm thấu ở hai phía màng bán thấm. Vỏ tế bào và màng tế bào chất, đặc biệt là màng tế bào chất, đóng vai trò màng bán thấm. Nước, các ion mang điện tích trái dấu (tế bào vi khuẩn thường mang điện tích âm) và những phân tử không lớn (glucoza, sacaroza, maltoza...) đi qua được màng bán thấm, còn những chất cao phân tử (tinh bột, xenluloza, protein) không đi qua được. Nước thẩm từ phía có áp lực thẩm thấu nhỏ sang phía có áp lực lớn, còn các dung dịch vật chất thì ngược lại.

Sự hấp phụ là hút vật chất trên bề mặt. Tế bào mang điện tùy thuộc vào độ pH của dung dịch, vì vậy nó hút các ion hoặc các phân tử mang điện trái dấu.

Nước đi vào tế bào trong trường hợp áp suất thẩm

thấu trong tế bào cao hơn một chút so với bên ngoài. Nếu tế bào rơi vào môi trường có áp suất cao hơn áp suất nội bào thì nước từ tế bào tiết ra môi trường chung quanh sinh ra hiện tượng tiêu nguyên tương và tế bào có thể bị chết.

#### **a. Dinh dưỡng cacbon**

Tuỳ thuộc vào khả năng đồng hóa các nguồn cacbon ta có thể chia vi sinh vật thành hai nhóm: tự dưỡng (autotrophe) và dị dưỡng (heterotrophe).

Những vi sinh vật tự dưỡng có khả năng tổng hợp các chất hữu cơ từ khí  $\text{CO}_2$  nước và muối khoáng. Dựa vào nguồn năng lượng dùng cho tổng hợp số này lại được chia thành các vi sinh vật quang hợp và hóa hợp.

Các vi sinh vật quang hợp dùng nguồn năng lượng mặt trời. Chúng có các chất màu tương tự như chất diệp lục ở cây xanh. Những vi khuẩn có sắc tố màu đỏ thuộc phân nhóm này.

Các vi sinh vật hóa hợp dùng nguồn năng lượng được giải phóng trong các phản ứng oxy hóa các chất vô cơ. Vi khuẩn nitơ sử dụng nguồn năng lượng trong phản ứng oxy hóa  $\text{NH}_3$  để tổng hợp các chất hữu cơ.

Những vi khuẩn nitrat, vi khuẩn lưu huỳnh vô màu, vi khuẩn sắt thuộc phân nhóm này.

Các vi khuẩn dị dưỡng chỉ đồng hóa được các chất hữu cơ. Chúng được chia làm hai nhóm: hoại sinh và kí sinh. Những vi sinh vật hoại sinh dinh dưỡng bằng các thức ăn hữu cơ đã chết. Thuộc phân nhóm này là các vi khuẩn gây thối và lên men, các nấm mốc và

nấm men. Những vi sinh vật ký sinh thường là những vi sinh vật gây bệnh, những virus và thực khuẩn thể sống bám vào những cơ thể sống.

### ***b. Dinh dưỡng nitơ***

Nitơ có trong thành phần prtolein, axit nucleic và những chất khác có chứa N của tế bào. Những vi sinh vật ký sinh có khả năng tiêu hóa được protein của vật chủ, những dạng hoại sinh không cần tất cả các axit min, mà có thể tổng hợp chúng từ nitơ khoáng, chủ yếu là các muối amoni.

Nhiều vi khuẩn, nấm mốc, xạ khuẩn có thể sử dụng nguồn nitrat và nitrit. Các nguồn này được khử thành  $\text{NH}_3$ .

Một số vi khuẩn có thể đồng hóa được nitơ phân tử của không khí. Những vi khuẩn này được gọi là vi khuẩn cố định nitơ. Đó là các vi khuẩn nốt rễ sống ở rễ cây họ đậu và một số vi khuẩn sống tự do trong đất.

### ***c. Đồng hóa các chất khoáng***

Các nguyên tố tro là lưu huỳnh, photpho, kali, canxi, magiê, sắt... Phần lớn các vi sinh vật dinh dưỡng các nguyên tố này ở dạng muối khoáng. Nguồn K và P có thể dùng  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  hoặc  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  và  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , nguồn magiê và lưu huỳnh -  $\text{MgSO}_4$ , nguồn sắt- $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{FeSO}_4$ . Các nguyên tố vi lượng (kẽm, mangan, coban, niken, đồng) có sẵn trong thành phần cơ chất hoặc trong dạng muối khoáng có trong nước. Nhiều trường hợp nuôi cấy vi sinh vật phải bổ sung các nguyên tố vi lượng vào môi trường.

#### ***d. Nhu cầu về vitamin***

Vitamin là các chất sinh trưởng chính, đóng vai trò quan trọng trong thức ăn bổ sung cho vi sinh vật. Một số vi sinh vật cần vitamin trong môi trường dinh dưỡng, một số khác thì có thể tự tổng hợp được. Những vitamin có ảnh hưởng đến sinh trưởng của vi sinh vật là vitamin PP (axit nicotinic), vitamin B1 (tiamin), vitamin B2 (ribonavin), (vitamin H) biotin, axit pantotenic (vitamin B5) v.v...

#### ***B. Hô hấp ở vi sinh vật***

Trong quá trình hô hấp các chất hữu cơ phức tạp bị oxy hóa và kết quả là năng lượng được giải phóng để phục vụ cho nhu cầu hoạt động sống của tế bào.

Một số vi sinh vật dùng oxy để hô hấp gọi là những vi sinh vật hiếu khí (aerobic), số khác không cần oxy gọi là những vi sinh vật kỵ khí hay yếm khí (anaerobic). Mức độ kỵ khí ở những vi sinh vật cũng khác nhau. Có số chỉ phát triển trong điều kiện không có oxy gọi là vi sinh vật kỵ khí tuyệt đối hoặc bắt buộc, có số kỵ khí phát triển được cả trong khi có oxy gọi là vi sinh vật kỵ khí tùy tiện.

Số năng lượng được tách ra tùy thuộc vào nguyên liệu hô hấp và mức độ oxy hóa của nó. Các nguyên liệu hô hấp có thể là hydrat cacbon, các loại rượu, axit hữu cơ... Năng lượng sinh ra nhiều hơn cả là ở trong quá trình hô hấp hiếu khí.

Hô hấp kỵ khí không có oxy tham gia. Khả năng lợi dụng năng lượng trong hô hấp kỵ khí gọi là lên men. Lên men là sự sống không cần oxy. Ngày nay

khái niệm lên men có nghĩa rộng hơn: lên men là quá trình nuôi cấy vi sinh vật kỵ khí hoặc hiếu khí để thu một hoặc một số sản phẩm trao đổi chất của chúng.

Quá trình oxy hóa trong hô hấp kỵ khí tách ra  $H^+$  và ion này sẽ kết hợp với một số sản phẩm hô hấp hoặc trở thành  $H_2$  ở dạng tự do.

Nấm men là một điển hình của vi sinh vật kỵ khí tùy tiện. Trong quá trình lên men rượu (kỵ khí) nấm men dùng glucoza làm nguyên liệu đầu.

Nhưng nấm men cũng có thể phát triển trong điều kiện có oxy cho tăng sinh khối là chủ yếu, còn rượu etylic không tạo thành hoặc tạo thành rất ít.

Năng lượng được giải phóng trong quá trình hô hấp chỉ có 10-25% được sử dụng cho vi sinh vật, số còn lại tỏa ra môi trường chung quanh ở dạng nhiệt, quang hoặc điện năng. Điều này được thấy rõ ở sự tự đốt nóng khối hạt hoặc các vật liệu bảo quản, tăng nhiệt trong quá trình lên men, sử dụng phân bón trong các nhà kính làm nguồn nhiệt sinh học...

### ***C. Enzim của vi sinh vật***

Enzim hay men là các chất hữu cơ phức tạp (bản chất là protein và có thể thêm phần không phải protein-nhóm ngoại hay là coenzim) đóng vai trò xúc tác tất cả các phản ứng hóa sinh trong quá trình trao đổi chất ở các cơ thể.

Các vi sinh vật rất phong phú enzim, có các enzim tổng hợp, enzim thủy phân, enzim oxy hóa-khử,... Ngày nay nhiều nước đã xây dựng được nền công nghiệp enzim bằng phương pháp nuôi cấy vi sinh vật.

Những enzym được tách ra ngoài tế bào và tham gia phân hủy thức ăn ở môi trường chung quanh gọi là enzym ngoại bào, những enzym chỉ đóng vai trò của mình trong tế bào gọi là enzym nội bào và những enzym này chỉ được tách ra sau khi đã phá hủy tế bào.

Các enzym chia thành những nhóm sau:

- Enzim oxy hóa khử: các enzym này xúc tác những phản ứng trong quá trình hô hấp và lên men.
- Enzim chuyển hóa: chúng chuyển những nhóm từ chất này sang chất khác.
- Enzim thủy phân xúc tác các phản ứng thủy phân hydrat cacbon, lipid, protein...
- Liaza xúc tác các phản ứng phân hủy không có nước tham gia.
- Enzim đồng phân hóa xúc tác các phản ứng đồng phân.
- Enzim tổng hợp xúc tác phản ứng kết hợp hai phân tử.

Nói chung trong tế bào vì sinh vật có đủ mặt các enzym thuộc 6 nhóm trên, nhưng tùy thuộc vào chủng loại và cơ chất, số lượng enzym được hình thành để phục vụ cho nhu cầu sinh lý. Có những enzym chỉ hình thành trong điều kiện có mặt một cơ chất nào đó, ta gọi những enzym ấy là enzym cảm ứng. Các enzym ngoại bào chủ yếu là các enzym thủy phân. Các chủng có khả năng đồng hóa được các chất hữu cơ phức tạp cần phải tiết ra những enzym thủy phân tương ứng để phân hủy cơ chất đó thành những chất đơn giản có thể dùng cho quá trình dinh dưỡng.

#### 4. Vi sinh vật trong tự nhiên

Vi sinh vật trong tự nhiên rất phong phú và đa dạng, thành phần và số lượng phụ thuộc rất nhiều và điều kiện sống.

##### *a. Vi sinh vật trong không khí*

Bản thân không khí không phải là môi trường cho vi sinh vật phát triển. Bởi vì trong không khí không có chất dinh dưỡng và các điều kiện khác cho sự phát triển của vi sinh vật.

Vi sinh vật có trong không khí chủ yếu là cùng với bụi bắn bay lên rồi lại rơi xuống đất.

Thời gian tồn tại của chúng trong không khí không lâu. Một số khá lớn bị ánh sáng mặt trời tiêu diệt.

Vì vậy, số lượng và hệ vi sinh vật không khí phụ thuộc vào số lượng và hệ vi sinh vật đất mà lớp không khí bao phủ. Số vi khuẩn nhiều nhất là ở vùng không khí trên các vùng đông dân, nhất là các thành phố lớn; người và xe cộ đi lại nhiều, bụi bốc mạnh. Không khí ở thôn xóm ít bụi hơn, nhưng riêng không khí ở những nơi chăn nuôi gia súc lại rất nhiều vi sinh vật. Ở các vùng rừng núi, vườn, đồng cỏ, biển, hồ không khí có ít vi sinh vật. Không khí ở các vùng đất lạnh coi như không có vi sinh vật.

Số lượng vi sinh vật cũng thay đổi theo quy luật: Càng lên cao lượng vi sinh vật càng giảm.

Sự tăng số lượng vi sinh vật trong không khí do nhiều nguyên nhân, nhưng phần lớn là do tình trạng vệ sinh kém (ít thông gió, ít quét dọn) hoặc dân cư đông đúc quá, động vật nhiều...

Các thảm cây xanh có ý nghĩa rất lớn đối với sự làm giảm số lượng vi sinh vật trong không khí. Lá cây và bụi cây có khả năng giữ bụi. Và như vậy giữ lại cả vi sinh vật không lan tỏa vào không khí. Ngoài ra, các rừng trồng, đặc biệt là rừng thông và các rừng có gỗ hoặc lá thơm còn có tác dụng khử khuẩn làm cho không khí trong lành.

Những vi sinh vật thường gặp trong không khí cũng thường là những loài có trong đất. Thành phần hệ vi sinh vật không khí không phải là cố định. Trong không khí thường có những loài chịu đựng được tác dụng của tia tử ngoại và khô cạn như trực khuẩn cao, các vi khuẩn gây bệnh khác, cũng như các bào tử của vi khuẩn, của nấm mốc và cả nấm men. Ngoài các vi khuẩn, nấm, xạ khuẩn, virus, đáng chú ý là vi khuẩn gây bệnh cũng khá nhiều, nhất là các loại vi khuẩn lao, bạch hầu, các vi rút gây bệnh cảm, cúm, xuất huyết... Những loại này được phát tán vào không khí là từ những người bệnh. Nước bọt có thể bắn ra 1m khi nói chuyện. Hắt hơi có thể bắn ra xa hơn 3-4 m. Tính ra một lần hắt hơi có thể tung ra 1-2 vạn vi khuẩn. Vì vậy, không khí là nguồn truyền các vi sinh vật gây bệnh và làm hư hỏng thực phẩm.

Hệ vi sinh vật không khí thay đổi nhiều theo thời gian trong năm, số lượng lớn nhất vào mùa hè và nhỏ nhất vào mùa đông. Ở nước ta mùa hè nắng, gió nhiều bụi khô bay lên khá cao, nhưng lại mưa bão nhiều, nước mưa sẽ làm sạch vi khuẩn trong không khí.

Trong phòng kín có nhiều người, không khí thường

xuyên có nhiều vi sinh vật hơn bên ngoài. Ở những nơi sản xuất số lượng vi sinh vật trong không khí tùy thuộc vào phương pháp làm sạch (vệ sinh, quét dọn, thông khí...), vào cách tổ chức sản xuất cũng như cách sử dụng và hiệu quả của quạt thoáng, làm mát, cùng hàng loạt các điều kiện khác.

Trong các phân xưởng sản xuất thực phẩm, kho nguyên liệu, các phòng xét nghiệm vi trùng cần chú ý bảo đảm không khí sạch. Trong xí nghiệp lượng vi sinh vật phụ thuộc nhiều vào tình trạng giữ gìn vệ sinh nhà cửa, đường xá, cống rãnh, tổ chức quá trình sản xuất, xử lý các chất thải, nước rửa, thiết bị, phụ thuộc số lượng công nhân, nhất là những người bị bệnh đường hô hấp. Để đảm bảo vệ sinh trong xí nghiệp sản xuất và nơi bảo quản thực phẩm cần bảo đảm nền nhà, đường đi lối lại sạch sẽ, càng ít bụi đất càng tốt, trong nhà bảo đảm không khí lưu thông tốt. Không cho phép đổ rác thải hoặc tập trung các phế thải gần các nơi đó. Chỉ tiêu kiểm tra vệ sinh không khí là số lượng vi sinh vật và vi khuẩn *Streptococcus* dung giải máu (làm tan hồng cầu). Vi khuẩn này thường xuyên cư trú trên đường hô hấp, niêm dịch mũi và khoang miệng của người. Có thể sơ bộ lấy mức độ đánh giá độ sạch nơi ở như sau: dưới 1.500 vi khuẩn và 16 *Streptococcus* trong  $1\text{m}^3$  không khí thì được coi là không khí trong lành; từ 2.500 vi khuẩn và 38 *streptococcus* trong  $1\text{m}^3$  không khí thì được coi là ô nhiễm.

Cần thường xuyên khử khuẩn không khí trong nhà sản xuất, nhất là các phòng nuôi vi sinh vật, như

nhà nuôi nấm mốc trong sản xuất nước chấm, rượu... Các thiết bị, dụng cụ cần chú ý khử khuẩn cho sạch, thí dụ: các thùng lên men trong sản xuất rượu, bia, máy ép quả... thường nên dùng các chất sát khuẩn có hiệu quả đối với vi sinh vật, nhưng ít độc với con người, không hại máy móc, thiết bị, không để lại màu, mùi như focmol, trietilenglycol... Ngoài ra, trong trường hợp cần thiết như đóng gói dược phẩm hoặc nuôi vi sinh vật thì cần lọc sạch không khí. Các chất bay hơi hoặc tạo mù cơ học không gây độc hại cho người và thực phẩm hay được dùng vào mục đích này.

Có thể dùng đèn phát tia tử ngoại để khử khuẩn không khí ở nhà sản xuất, phòng nuôi cấy vi sinh vật, phòng bảo quản lạnh cũng như kho bảo quản lương thực-thực phẩm nói chung, phòng bao gói, phòng mổ...

### ***b. Vi sinh vật đất***

Có thể coi đất là môi trường thích hợp cho nhiều loại vi sinh vật vì trong đất có đầy đủ các điều kiện thích hợp, có các chất làm thức ăn cho vi sinh vật, độ ẩm tương đối thích hợp, độ oxy trong đất. Đất còn bảo vệ được vi sinh vật khỏi tác dụng của ánh sáng mặt trời...

Ngoài vi khuẩn trong đất còn rất nhiều loại tảo, nấm, nguyên sinh động vật... Trong các loại nấm có nhiều loại giống mốc có tầm quan trọng đối với sản xuất công nghiệp như mucor, aspergillus, rhizopus. Trong đất cũng có nhiều giống nấm men như: sacharomyces, torula, rhodotorula...

Hệ vi sinh vật và số lượng vi sinh vật thay đổi theo điều kiện sống trong đất. Mỗi loại đất có hệ sinh vật đặc trưng, thí dụ hệ vi sinh vật đất chua, đất mặn. Đáng chú ý là trong đất chung quanh rễ cây, do có những sản phẩm trao đổi chất của từng loại cây đã tập hợp xung quanh đó một số các loại vi sinh vật đặc trưng gọi là hệ vi sinh vật vùng rễ. Ngay trên một vùng đất, số lượng vi sinh vật cũng thay đổi rất nhiều theo độ sâu của các tầng đất, càng xuống sâu lượng vi sinh vật càng giảm.

Lượng nước trong đất ảnh hưởng rất lớn đối với hệ vi sinh vật. Nếu độ ẩm thấp dưới 20% vi khuẩn phát triển kém, nhưng xạ khuẩn lại phát triển mạnh. Độ ẩm thích hợp thì tất cả các loài vi sinh vật tăng, nhưng khi nước ngập thì vi sinh vật hiếu khí bị tiêu diệt nhiều. Trong khi đó vi sinh vật kỵ khí vẫn phát triển.

Nhiệt độ cũng làm thay đổi số lượng vi sinh vật rất nhiều, nhiệt độ cao làm khô đất, thức ăn giảm sút và làm hoạt động của vi sinh vật giảm. pH trong đất ảnh hưởng đến vi sinh vật rất rõ. Tùy theo pH trong đất mà tồn tại những nhóm vi sinh vật theo độ pH khác nhau. Nếu pH thấp hơn 4,2 thì nhóm ưa axit phát triển, nhất là nấm, pH trung tính nhóm trung tính lại phát triển mạnh, nhất là vi khuẩn. Ngoài ra số lượng và hệ vi sinh vật đất còn thay đổi do chế độ canh tác như phân bón, bón vôi, cày bừa, tưới nước, trồng các loại cây khác nhau,...

Do sự thay đổi tổng hợp của các nhân tố nói trên mà số lượng vi sinh vật thay đổi nhiều theo thời gian,

theo mùa trong một năm. Chính sự thay đổi về vi sinh vật đất dẫn đến sự biến động vi sinh vật trong không khí và cả trong nước, nhất là các nguồn nước trong tự nhiên như ao, hồ, sông...

Đất có nhiều loại vi sinh vật, nhất là các loại gây bệnh cho người, nên cần hết sức đề phòng nhiễm bẩn thực phẩm do đất. Phần lớn các nguyên liệu cho sản xuất thực phẩm đều sử dụng sản phẩm nông nghiệp như lúa, sắn, khoai... những sản phẩm thường có lẫn đất hoặc dễ bị dính đất. Trong đất có rất nhiều loại vi sinh vật có bào tử nên việc thanh trùng cũng rất khó khăn.

Số lượng và thành phần hệ vi sinh vật của các loại đất khác nhau giao động rất lớn. Chúng phụ thuộc vào thành phần hóa học, tính chất cơ lý, pH, giữ ẩm, mức thoáng khí của đất. Ngoài ra còn phải kể đến các yếu tố khí hậu, thời gian trong năm, phương pháp canh tác, cây trồng che phủ v.v... cũng ảnh hưởng rất lớn đến vi sinh vật trong đất.

Trên bề mặt đất và sâu xuống vài mm số lượng vi sinh vật thường nhỏ nhất vì lớp đất này bị mặt trời tác dụng và nung nóng. Lớp đất tiếp theo sâu tới 5cm vi sinh vật phát triển rất mạnh, nhưng sâu xuống tiếp số lượng của chúng lại giảm. Ở sâu 25cm số lượng vi sinh vật giảm đi 10-20 lần so với lớp sâu 1-2cm. Thành phần hệ vi sinh vật đất thay đổi theo chiều sâu lớp đất. Ở phía trên có nhiều xác thực vật, động vật, cũng như hiếu khí tốt. Vì vậy, các vi sinh vật hoại sinh hiếu khí phát triển, chúng có khả năng phân hủy các chất hữu cơ. Càng sâu xuống càng

nghèo các chất hữu cơ, thiếu khí khó khăn, bởi vậy, có nhiều vi khuẩn kỵ khí.

Trong một gam đất có hàng trăm, hàng ngàn triệu vi khuẩn. Hệ vi sinh vật đất gồm có các loài vi khuẩn, xạ khuẩn, nấm vi tảo và động vật nguyên sinh. Trong số vi khuẩn thường xuyên thấy các loài sinh bào tử có trong đất.

Trong đất có rất nhiều các nhóm vi sinh vật sinh lý khác nhau: vi khuẩn phân giải xenluloza, vi khuẩn gây thối rửa, lên men butiric, vi khuẩn nitrat hóa, phản nitrat hóa, cố định nitơ. Đáng chú ý là trong đất có khá nhiều loại vi khuẩn gây bệnh, trong đó hầu hết là vi khuẩn có bào tử như: vi khuẩn uốn ván, than, hoại thư sinh hơi. Các vi khuẩn không sinh bào tử sống ở trong đất được vài tuần tới vài tháng còn vi khuẩn sinh bào tử có thể sống hàng năm.

Trong quá trình sản xuất cũng như bảo quản và vận chuyển thực phẩm cần hết sức tránh bị dính đất, bị nhiễm bụi đất. Tuyệt đối không để thực phẩm ở sát dưới mặt đất. Những công nhân sản xuất hoặc những người tiếp xúc với thực phẩm cần bảo đảm quần áo, thân thể, nhất là tay không được dính đất, bụi bẩn.

Trong đất, đồng thời với sự khoáng hóa các vật chất hữu cơ còn xảy ra quá trình tự làm sạch vi khuẩn - các vi khuẩn hoại sinh và gây bệnh sẽ bị chết ở trong đất.

Hoạt động của vi sinh vật đất đóng vai trò rất lớn trong quá trình định hình đất, làm tăng độ phì cho đất. Đặc biệt là các vi khuẩn cố định nitơ của không khí, chuyển hóa cacbon, nitơ, photpho và những

nguyên tố khác từ các dạng không tiêu hóa sang dễ tiêu hóa cho cây trồng. Do vậy, chúng đóng vai trò cực kỳ quan trọng trong vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên.

### *c. Vi sinh vật nước*

Phần lớn vi sinh vật xâm nhập vào nước là từ đất trong thời gian mưa hoặc từ bụi trong không khí rơi xuống. Ngoài ra nước còn nhiễm bẩn do các chất thải công nghiệp, chế biến nông phẩm, chất thải sinh hoạt cùng phân gia súc...

Số lượng và số loại sinh vật trong nước phụ thuộc vào nhiều yếu tố nhất là số lượng chất hữu cơ trong nước, các hóa chất độc, tia tử ngoại, pH môi trường, những yếu tố có tính chất quyết định đến sự tăng khối lượng vi sinh vật như các chất dinh dưỡng. Nước càng bẩn, càng có nhiều chất hữu cơ, sự phát triển của vi sinh vật trong nước càng nhanh. Trong nước có nhiều loại vi sinh vật: vi khuẩn, nấm men, xoắn thể, nhưng chủ yếu vẫn là vi khuẩn.

Trong nước số vi khuẩn không bào tử chiếm ưu thế (gần 87%), còn trong bùn thì số vi khuẩn có bào tử lại chiếm ưu thế (gần 75%).

Nước sông luôn thay đổi theo dòng chảy. Vì vậy, hệ vi sinh vật và số lượng vi sinh vật luôn thay đổi. Ở vùng gần thành phố nước sông có số lượng vi khuẩn lớn, còn phía xa thành phố thì số lượng của chúng giảm nhanh. Hiện tượng này có thể giải thích là do khi chảy qua thành phố sông tiếp nhận vào dòng nước của mình nước cống rãnh, rác rưởi chứa rất nhiều cặn bã hữu cơ. Khi sông chảy xa các vùng đông

dân cư nó có khả năng tự làm sạch. Bởi vì, nồng độ các chất dinh dưỡng giảm đi rất nhiều do nước sông bị pha loãng bởi nhiều dòng nước sạch, chất dinh dưỡng lắng dần xuống, chất dinh dưỡng bị vi khuẩn sử dụng. Điều này sẽ làm giảm số lượng vi sinh vật rất nhiều. Thêm vào đó vi sinh vật còn bị tiêu diệt bởi ánh sáng mặt trời, vi khuẩn đối kháng, thực khuẩn thể, nguyên sinh động vật và cả do tác động cơ giới (sự chuyển đổi của nước) cũng làm cho số lượng vi khuẩn giảm.

Nước biển có số lượng vi sinh vật nhỏ hơn nước ao hồ và nước sông. Số vi khuẩn ở gần bờ thường nhiều hơn ở xa bờ, mặc dù nồng độ muối trong nước biển khá cao nhưng số lượng vi khuẩn cũng không phải là ít. Thường trong 1 lít nước biển thay đổi từ 35 đến vài nghìn vi khuẩn...

Trong nước biển ngoài vi khuẩn ưa muối còn có nhiều loại vi khuẩn khác. Thường trong nước biển chứa trực khuẩn có bào tử (bacillus) và không bào tử (bacterium), còn cầu khuẩn, niêm vi khuẩn, xạ khuẩn, nấm men, nấm mốc thì ít hơn.

Nước mưa, tuyết và băng có rất ít vi khuẩn. Số lượng vi sinh vật thay đổi tùy theo mùa tuyết rơi trên các vùng khác nhau của trái đất. Trong 2 ml nước mưa rơi trên vùng không khí nhiễm bẩn nhiều như các thành phố có thể có tới hàng trăm vi khuẩn. Nếu như rơi trên sông, hồ, biển, núi rừng, cánh đồng... thì trong 1ml chỉ có một vài đến vài chục vi khuẩn.

Nước giếng phun nước ngầm, nước mạch có số lượng vi sinh vật tương đối ít, bởi vì nước đã thấm

qua đất làm màng lọc rất tốt nên hầu hết vi khuẩn bị giữ lại qua màng lọc thiên nhiên đó.

Số lượng vi khuẩn trong nước máy phụ thuộc trực tiếp vào nguồn nước cung cấp. Nếu lấy nước từ nguồn nước ngầm thì rất ít vi khuẩn, nếu lấy nước từ nguồn nước sông, hồ... thì dù qua hệ thống lọc cũng còn sót lại một số vi khuẩn đáng kể.

**Nước máy thường phải sát khuẩn bằng clo hóa.**

Trong nước cất hầu như không có vi khuẩn. Đôi khi cũng có một số ít vi khuẩn do tiếp xúc với dụng cụ đựng hoặc từ không khí rơi vào, vì vậy làm môi trường nuôi cấy vi sinh vật tốt nhất là dùng nước cất.

Khi dùng nước uống và nước sản xuất thực phẩm nếu trong 1ml nước chứa số vi khuẩn nhỏ hơn 100 là nước tốt, từ 100-500 vi khuẩn dùng tạm được, trên 500 vi khuẩn thì hoàn toàn không dùng được.

Nước tự nhiên là môi trường mà trong đó vi sinh vật có thể sinh trưởng và phát triển được. Cường độ sinh trưởng của vi sinh vật phụ thuộc vào hàng loạt yếu tố, mà trước hết là sự có mặt các chất dinh dưỡng ở trong nước. Nước tự nhiên thường chứa một lượng nhiều ít khác nhau các chất hữu cơ hòa tan và các chất khoáng. Các hợp chất này có thể được vi sinh vật sử dụng trong quá trình dinh dưỡng. Số lượng và thành phần hệ vi sinh vật nước ở những nguồn nước khác nhau là khác nhau.

**Nước ngầm (giếng khoan, mạch ngầm...)** thành phần hệ vi sinh của nước ngầm phụ thuộc vào chính độ sâu

của lớp nước dưới độ sâu tầng đất. Nước giếng phun lấy ở độ càng sâu thì càng ít vi sinh vật. Nước lấy ở giếng nông thường có nhiều vi sinh vật và đặc biệt có thể có cả vi sinh vật gây bệnh.

**Nước bề mặt, nước trong ao hồ, sông ngòi.** Nước bề mặt, cũng như nước trong những thủy vực mở (ao, hồ, sông ngòi, đầm vực) khác nhau rất lớn về số lượng cũng như thành phần hệ vi sinh vật có trong đó, vì thành phần hóa học của các loại thủy vực này luôn luôn không ổn định và khác nhau rất xa. Những loại nước này thường có các xác thực vật, động vật, các chất thải công nghiệp và sinh hoạt, nước chảy tràn trong canh tác nông nghiệp v.v... Ô nhiễm các thủy vực chủ yếu là nước mưa, nước canh tác, nước thải công nghiệp và sinh hoạt. Cùng với ô nhiễm các chất hữu cơ và vô cơ ta thấy các vi sinh vật, trong đó có thể có vi sinh vật gây bệnh ở trong nước...

Các vi khuẩn gây bệnh đường ruột và các bệnh khác ở trong nước có thể bảo tồn được sự sống và độc tính trong thời gian tương đối dài: vi khuẩn thương hàn sống trong hệ thống dẫn nước từ 2 đến 93 ngày, vi khuẩn kiết lị từ 15 đến 27 ngày, vi khuẩn tả từ 4 đến 28 ngày, cũng vẫn những vi khuẩn này trong nước sông thì lại có thời gian sống tương ứng là 4 đến 183; 12 đến 90; 1 đến 90 ngày. Trong băng, nhóm trực khuẩn gây bệnh đường ruột có thể sống được vài tuần.

Thành phần và số lượng vi sinh vật của các thủy vực phụ thuộc vào thành phần hóa học của nước, vào số cư dân sống ven bờ, vào thời gian trong năm và nhiều nguyên nhân khác.

Trong các thủy vực được coi là sạch thấy có 80% vi khuẩn hoại sinh, hiếu khí ở dạng hình cầu, số còn lại chủ yếu là dạng hình que không sinh bào tử.

Trong nước sông chảy qua vùng dân cư đông đúc hoặc các xí nghiệp công nghiệp thấy có hàng trăm nghìn đến hàng triệu vi khuẩn trong  $1\text{cm}^3$ , nếu xa vùng này thuộc phía trên thượng nguồn thì càng ít, chỉ có vài trăm đến vài nghìn vi khuẩn.

Nước gần bờ các thủy vực mở, nhất là ao hồ, đầm phá tù đọng chứa nhiều vi sinh vật hơn nước ở xa bờ. Trên bề mặt nước cũng như gần mặt nước có nhiều các loại vi sinh vật và số lượng của chúng cao. Ở trong bùn đặc biệt nhiều vi khuẩn. Những vi sinh vật này nói chung đóng vai trò quan trọng trong việc chuyển hóa vật chất trong nước.

Số lượng vi khuẩn trong thủy vực trong mạnh trong thời gian sau những cơn mưa lớn hoặc lũ.

Nước uống theo thành phần và tính chất phải là không độc trong quan điểm dịch tễ học và các chỉ tiêu cảm quan là tốt. Nước uống đạt yêu cầu phải là: tổng số lượng vi sinh vật không quá 100 tế bào/ml, chỉ số coli không quá 3/l, chuẩn coli không nhỏ hơn 300ml.

Nước giếng và nước ở các thủy vực có chất lượng tốt là: tổng số vi khuẩn không quá 1000/1ml, chỉ số coli không quá 10 (chuẩn coli sẽ không nhỏ hơn 100ml).

Từ các nguồn nước (ao hồ, sông ngòi, nước ngầm, giếng khoan) được cấp làm nước sinh hoạt ăn uống, nếu không đạt các chỉ tiêu hóa học, cảm quan và vệ sinh thì cần phải làm sạch, khử khuẩn, v.v...

Lành sạch nước uống: khi dùng nước bề mặt, việc làm đầu tiên ở các trạm cấp nước là phải làm nước sạch tạp chất rắn bằng biện pháp cơ học, nhiều khi có khử khuẩn sơ bộ bằng hóa học. Sau đó làm keo tụ, lắng các chất huyền phù trong các bể lắng. Chất làm keo tụ thường là muối nhôm, sắt. Kết quả của phản ứng là chất keo tụ liên kết với các muối cacbonat có trong nước tạo thành hydroxyt nhôm hoặc sắt hóa trị ba (khi sử dụng muối sắt). Keo tụ ở dạng bông lắng xuống đáy bể kéo theo cả vi sinh vật.

Sau khi lắng đọng thì cho nước qua lọc với vật liệu là cát vàng, cát trắng đập nhỏ hoặc than gầy. Nước qua lọc có thể loại được hầu hết các tạp chất cơ học và phần lớn vi sinh vật. Song, còn lại ở trong nước một số vi khuẩn có thể gây bệnh và duy trì sự sống của chúng khá lâu. Vì vậy, cần phải khử khuẩn cho nước, thường dùng phương pháp clo hóa; hay dùng hơn cả là khí clo hoặc các chất có chứa clo, như hypoclorit, clorua vôi, cloramin. Cho với nồng độ thấp (chỉ vài mg/l) cũng đủ diệt nhiều vi sinh vật. Bào tử vi khuẩn bền vững hơn nhiều so với các tế bào sinh dưỡng. Ngoài clo tự do, tính diệt khuẩn còn thấy ở hợp chất HOCl được tạo thành khi cho clo vào nước, ion hypoclorit ( $OCl^-$ ) khi phân ly HOCl. Nếu dùng không đủ lượng clo thì không diệt khuẩn được hoàn toàn, còn dùng quá nhiều thì nước sẽ có mùi vị của clo (mùi vị khó chịu).

Những phương pháp khử khuẩn hiện đại là ozon hóa nước hoặc chiếu tia tử ngoại qua nước. Ozon là

chất oxy hóa mạnh hơn clo và cho nước có tính chất cảm quan tốt hơn.

Tia tử ngoại có hiệu quả diệt khuẩn không những đối với tế bào mà còn cả với bào tử vi khuẩn. Dùng phương pháp chiếu tia tử ngoại (cực tím-UV-ultra violet) chỉ tác dụng với nước có độ màu và độ đục thấp.

### *Nước thải và làm sạch nước thải*

Nước dùng trong các xí nghiệp sản xuất và thải ra ngoài gọi là nước thải công nghiệp. Trong nước thải công nghiệp thường lẫn các tạp chất hữu cơ và vô cơ. Tùy từng quy mô mỗi xí nghiệp có thể thải với lượng nước từ vài trăm, vài ngàn hoặc vài chục ngàn mét khối/ngày.

Nước thải ở các khu vực dân cư, khu thương mại, trường học,... gọi là nước thải sinh hoạt. Tùy từng vùng dân cư số lượng nước thải có thể từ vài chục đến vài trăm lít/người/ngày (có tài liệu lấy trung bình là 100 lít).

Trong nước thải có nhiều chất hữu cơ, chất khoáng và nhiều vi sinh vật khác nhau, trong đó có các vi sinh vật gây bệnh. Để đảm bảo môi trường, nước thải trước khi cho chảy vào các thủy vực cần phải làm sạch. Mức độ làm sạch tùy thuộc vào mức độ ô nhiễm, vào đặc tính của nước ở thủy vực và yêu cầu xử lý cụ thể, cũng như trang thiết bị kỹ thuật của quá trình.

Làm sạch nước thải bằng các phương pháp: vật lý, hóa học và sinh học. Nước thải có nhiều chất hữu cơ

hòa tan và không hòa tan. Sau khi lắng-làm sạch cơ học, cho nước vào xử lý sinh học. Phương pháp xử lý nước thải bằng biện pháp sinh học dựa trên cơ sở sử dụng các vi sinh vật hiếu khí và kỵ khí khử các tạp chất trong nước. Làm sạch bằng biện pháp hiếu khí có thể thực hiện ở điều kiện tự nhiên hoặc công nghiệp.

Làm sạch tự nhiên là cho nước lọc qua đất trên khoảng rộng được gọi là cánh đồng lọc hoặc cánh đồng tưới. Vi sinh vật và những sinh vật khác có trong nước, trong đất sẽ oxy hóa các chất hữu cơ ô nhiễm thành các chất vô cơ. Như vậy sẽ làm sạch nước. Đồng thời với phân hủy các chất hữu cơ các vi sinh vật có trong nước thải cũng được giữ lại trong đất. Các chất hữu cơ được khoáng hóa trong đất sẽ làm phân bón cho cây trồng. Trường hợp dùng nước thải tưới trực tiếp cho cây trồng cần phải cân nhắc, tính toán: tuy rằng nước thải qua đất sẽ được lọc và khoáng hóa, nhưng trước hết có thể làm cây bị "xót" và chết, nếu như trong nước có hàm lượng chất hữu cơ quá cao.

Làm sạch nước thải bằng biện pháp sinh học thường dùng rộng rãi phương pháp xử lý công nghiệp với các điều kiện nhân tạo, với các trang thiết bị đặc biệt (lọc sinh học và aeroten).

*Lọc sinh học.* Vật liệu lọc có thể là than xỉ, đá dăm, các khối plastic... Phin lọc là các thùng, bể chứa đầy vật liệu lọc. Khi vận hành cho nước chảy thành tia đều trên mặt phin và có thể thổi khí từ phía dưới phin lên trên. Các vi sinh vật giữ lại trên bề mặt phin

và tạo thành màng sinh học. Nước thải qua màng này sẽ bị oxy hóa và làm sạch.

Quá trình làm sạch ở đây qua 2 pha: đầu tiên oxy hóa các hợp chất có chứa cacbon và amon hóa hợp chất ni tơ, sau đó sẽ chuyển muối amon thành nitrit, nitrat. Pha thứ nhất xảy ra ở trên bề mặt phin và pha thứ hai xảy ra ở phía sâu trong phin.

**Aeroten.** Đây là các bể cho nước chảy qua cùng với bùn hoạt tính và được thổi khí tích cực. Bùn hoạt tính ở dạng bông, trong đó chủ yếu là vi sinh vật tạo màng nhầy kết hợp với nhau và tập chất lơ lửng của nước rồi lắng xuống đáy bể. Trong aeroten xảy ra quá trình oxy hóa các chất hữu cơ nhờ các vi sinh vật trong bùn, giống như ở lọc sinh học, nhưng quá trình này xảy ra mạnh mẽ hơn nhiều.

Màng sinh học trên mặt lọc, bùn hoạt tính là tập hợp các vi sinh vật hiếu khí cùng các sinh vật khác (động vật nguyên sinh, giun, ấu trùng sâu bọ,...). Thành phần định tính các vi sinh vật này hoặc động vật nguyên sinh trong màng sinh học hay bùn hoạt tính có thể là chỉ thị cho mức độ làm sạch của trang thiết bị.

Nước sau khi đã xử lý hiếu khí tích cực được cho vào bể lắng, rồi cho qua khử khuẩn (clo hóa) rồi mới cho đổ vào nguồn nước (ao, hồ, sông ngòi). Bùn hoạt tính lắng xuống đáy bể chứa được hồi lưu dùng để xử lý những mẻ sau. Phần bùn dư hoặc màng sinh học được chuyển vào lên men mê tan. Khí sinh học được dùng làm khí đốt, nấu nướng, phát điện. Cặn bã phơi, sấy khô rồi cho đốt hoặc làm phân bón rất tốt.

Môi trường nước và sinh vật sống trong đó có quan hệ tương tác rất chặt chẽ. Nước thải cho chảy vào các thủy vực (ao, đầm, hồ, sông ngòi) làm thay đổi đáng kể các điều kiện sống tự nhiên của hệ thủy sinh có sẵn trong nước.

Trong nước thải thường rất giàu các chất hữu cơ nhiễm bẩn. Đây chính là nguồn cơ chất cho quá trình thối rửa và lên men, là nguồn dinh dưỡng cho các vi sinh vật hoại sinh phát triển, tăng sinh khối-tác nhân của các quá trình biến đổi hóa sinh trong nước. Nhiều thành phần của hệ thủy sinh trong nước sạch sẽ bị chết hoặc giảm số lượng trong nước bị nhiễm bẩn.

Vi sinh vật hoại sinh dần dần oxy hóa các chất hữu cơ. Hàm lượng các chất này giảm dần, số lượng các vi sinh vật phân hủy chúng rồi cũng sẽ giảm do nguồn cơ chất dinh dưỡng cạn dần, thay vào đó là hệ thủy sinh khác phát triển. Các vi khuẩn hoại sinh bị chết ngoài lý do là không đủ thức ăn, còn vì chịu tác dụng của chất kháng sinh do một số loài tảo có thể sinh ra khi mọc ở trong nước. Vi khuẩn còn bị các sinh vật khác (động vật nguyên sinh, giáp xác,...) ăn và bị thực khuẩn thể làm dung giải (làm tan). Nước trong thủy vực dần dần phục hồi lại các điều kiện sinh thái bình thường. Quá trình làm sạch nước khỏi bị ô nhiễm các chất hữu cơ và vi khuẩn gọi là sự làm sạch tự nhiên của nước.

Những thực vật thủy sinh bậc cao (macrophyte) đóng vai trò to lớn trong quá trình tự làm sạch nước. Trên thân và lá của chúng có nhiều sinh vật sinh

sống. Các sinh vật này làm khoáng hóa các chất hữu cơ. Macrophyte tiến hành quang hợp sẽ thải oxy vào nước làm kích thích quá trình oxy hóa sinh học các chất hữu cơ. Cường độ quá trình tự làm sạch nước phụ thuộc vào điều kiện bão hòa oxy hòa tan trong nước, vào nhiệt độ của nước, vào thời gian trong năm và vào mức độ pha loãng bằng nước sạch v.v...

#### ***d. Vi sinh vật thịt***

Thịt gia súc và gia cầm giàu dinh dưỡng là môi trường thích hợp cho vi sinh vật phát triển. Các vi sinh vật tìm thấy ở thịt gồm có các vi khuẩn gây thối rữa, các bào tử nấm mốc, các tế bào nấm men.

Thịt của gia súc khỏe thường ít vi sinh vật, nhưng có thể bị nhiễm bẩn khi giết mổ, vận chuyển và trong quá trình bảo quản. Có hai nguồn nhiễm vi sinh vật: nhiễm do các cơ quan nội tạng có bệnh hoặc viêm nhiễm, đặc biệt là các vi sinh vật ở đường tiêu hóa và nhiễm do các vi sinh vật ở từ bên ngoài như trên da, lông, móng, nước, không khí, các dụng cụ mổ xẻ, chứa đựng, nhiễm từ đất hoặc qua tay người tiếp xúc, hoặc qua đường hô hấp của người, qua ruồi nhặng v.v...

Vi sinh vật thường nhiễm nhiều ở trên bề mặt thịt và phát triển làm cho số lượng dần tăng lên, đặc biệt là những miếng thịt giữ trong điều kiện nóng làm cho số lượng vi sinh vật tăng nhanh, gây cho thịt chóng bị hư hỏng.

Vi sinh vật nhiễm trên bề mặt thịt rồi sinh sôi phát triển dần ngấm vào sâu bên trong làm hư hỏng thịt. Quá trình ngấm sâu này phụ thuộc vào điều kiện bên ngoài (độ ẩm, nhiệt độ) và từng loài vi sinh

vật. Vi khuẩn thuộc nhóm salmonella trong điều kiện nhiệt độ bình thường sau 24 đến 48 giờ có thể ngấm sâu vào thịt được 14cm, các vi khuẩn hoại sinh cũng trong điều kiện ấy chỉ ngấm được 4 đến 5cm. Ở nhiệt độ thấp ( $2-4^{\circ}\text{C}$ ) tốc độ ngấm sâu của vi sinh vật chậm, vi khuẩn chỉ ngấm được 1cm trong vòng 1 tháng.

Vi sinh vật của thịt gia cầm tương tự như ở thịt gia súc nói chung, nhưng đặc biệt dễ nhiễm các vi khuẩn Salmonella từ túi mật, buồng trứng, đường tiêu hóa của chúng v.v...

Thịt bảo quản lạnh trong thời gian ngắn có thể không thay đổi số lượng và thành phần vi sinh vật nhiễm ở thịt, nhưng các chỉ số này sẽ dần dần biến đổi. Những vi sinh vật ưa ấm ngừng sinh trưởng và một số bị chết. Những vi sinh vật ưa lạnh thì ngược lại, vẫn tiếp tục phát triển, nhưng chậm.

Các loài vi khuẩn thuộc pseudomonas và achromobacter có khả năng sinh trưởng ở khoảng nhiệt độ từ  $0-5^{\circ}\text{C}$ , một số loài còn phát triển ở  $8-9^{\circ}\text{C}$ . Nhiều loài trong chúng có thể làm hỏng thịt và các sản phẩm của thịt. Ngoài ra người ta còn tìm thấy nấm mốc, nấm men và xạ khuẩn trên bề mặt thịt ướp lạnh. Các giống nấm mốc ở đây là: penicilium, mucor, aspergillus, cladosporium và thamnidium. Nấm men hay gặp là rhodoturula (không sinh bào tử khuẩn lạc màu hồng). Nấm thamnidium và cladosporium có thể làm hỏng thịt ở nhiệt độ từ  $4-9^{\circ}\text{C}$ , thamnidium gây cho thịt có mùi khó chịu; còn mùi đất là do xạ khuẩn mọc ở thịt.

Trong thịt muối cũng còn một số vi sinh vật có thể phát triển được trong các độ đậm muối nào đó. Số này phát triển ở nồng độ muối ăn cao gọi là các vi sinh vật ưa mặn và làm hư hỏng thịt. *Salmonella* và *clostridium botulinum* ngừng phát triển ở nồng độ muối 10%, bị chết ở nồng độ 19% sau 75-80 ngày (*salmonella*); *staphylococcus* ngừng phát triển ở nồng độ muối 15-20% và bị chết ở nồng độ 20-25%. Những vi khuẩn kỵ khí như *Cl. putrificus* và *Cl. sporogenes* không phát triển ở nồng độ 12% muối ăn. Nấm men và nấm mốc còn mọc được ở nồng độ muối 20%. Trong bảo quản lạnh (3-5°C), thịt được ướp muối sẽ bảo quản được lâu hơn.

Thịt hộp sau khi thanh trùng có thể còn một số tế bào vi khuẩn hoặc nha bào của các giống *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *clostridium botulinum* v.v... Trong đó nguy hiểm nhất là *Cl. botulinum*. Nó có thể sinh ra độc tố. Những vi khuẩn chưa chết sau khi thanh trùng sẽ phát triển và sinh hơi làm cho hộp phồng lên. Những vi khuẩn kỵ khí làm phồng hộp là *clostridium putrificus*, *Cl. sporogenes*, *Cl. perfringens*, *Cl. botulinum* và một số vi khuẩn ưa nhiệt. Đôi khi các vi khuẩn kỵ khí tùy tiện (*E. coli* và *proteus vulgaris*) cũng tham gia vào quá trình này. Đồ hộp sau khi thanh trùng còn có thể có *staphylococcus* sinh độc tố, những bào tử vi khuẩn ưa nhiệt kỵ khí. Chúng làm hỏng thịt hộp, nhưng không sinh hơi làm phồng hộp.

Thịt trong quá trình bảo quản có thể bị biến chất và hư hỏng. Thịt tươi là thịt mới chưa biến chất,

nhưng giữ thịt lâu chưa kịp tiêu thụ hoặc cất giữ để dùng dần ở những điều kiện không thích hợp sẽ bị biến chất bởi các enzym có sẵn trong thịt và vi sinh vật, dẫn đến ôi thiu hư hỏng về trạng thái cảm quan, hình thành những chất có hại.

Những hiện tượng hư hỏng của thịt thường gặp là: nhớt, thối rửa, lên men chua, có các chấm màu trên bề mặt và mốc.

- Sinh nhớt: thường xuất hiện trên bề mặt thịt ướp lạnh ở các buồng có độ ẩm không khí tương đối cao hơn 90%. Thực chất của hiện tượng này là giai đoạn đầu của sự hư hỏng: lớp nhớt này gồm có nhiều vi khuẩn khác nhau. Tốc độ phát triển lớp nhầy này không những phụ thuộc vào độ ẩm của không khí, mà còn phụ thuộc vào biến động của nhiệt độ. Bảo quản thịt tốt nhất ở nhiệt độ  $0^{\circ}\text{C}$  và độ ẩm tương đối của không khí là 85-90%. Ở điều kiện này thịt không có các dấu hiệu hư hỏng trong 3 tuần lễ.

- Thịt bị chua: do vi khuẩn lactic và nấm men hoặc do thịt tự phân bởi các enzym có ở trong thịt mà không có sự tham gia của vi sinh vật. Thịt và các sản phẩm của thịt có nhiều glycogen dễ bị lên men chua nhất. Sản phẩm của quá trình này là các axit fomic, axetic, butiric, propionic, lactic, xucxinic... Môi trường axit kìm hãm vi sinh vật gây thối phát triển, song ở môi trường này nấm mốc mọc rất tốt và tạo thành amoniac và các bazo nitrit làm cho môi trường trung tính, tạo điều kiện cho vi khuẩn gây thối phát triển. Vì vậy lên men chua là thời kỳ trước của quá trình thối rửa. Thịt bị chua có màu xám và mùi khó chịu.

- Sự thối rữa thịt do các vi sinh vật hiếu khí, cũng như kỵ khí phát triển sinh ra các enzym proteaza phân giải protein.

Thịt các gia súc bị bệnh hoặc gây yếu dễ bị thối rữa. Những thịt này ít glycogen, trong thời gian thuần thục của thịt, axit lactic trong thịt ít được tạo thành (vì ít glycogen), cho nên khó kìm hãm được các vi sinh vật gây thối phát triển.

Trong khi thối rữa thường xảy ra đồng thời với các quá trình xâm nhập của vi sinh vật hiếu khí và kỵ khí. Trong đó có sự tham gia của các vi khuẩn; trước hết là các loài có khả năng phân hủy protein, rồi đến các loài đồng hóa các sản phẩm phân hủy.

Trong thịt bị thối rữa các phân tử protein bị phân hủy đầu tiên thành các polypeptit và axit amin, sau đó sẽ khử amin các hợp chất này thành các axit béo và amoniac tự do. Các axit amin thơm (tyrozin, tnptophan...) cho những sản phẩm thối rữa điển hình là hydro sunfua, indol, skatol, axit butiric và các sản phẩm khác nữa tạo thành mùi khó chịu.

- Sự biến màu của thịt: màu đỏ của thịt có thể biến thành màu xám, nâu hoặc xanh lục do các vi sinh vật hiếu khí phát triển trên bề mặt tạo thành. Một số loài lactobacillus và leuconostoc làm cho xúc xích, lập xường có màu xám.

- Sự phát quang của thịt do các vi khuẩn photobacterium phát triển trên bề mặt thịt gây ra. Đặc biệt là khi bảo quản thịt chung với cá dễ sinh hiện tượng này. Trong thịt thối rữa không phát quang.

- Thịt mốc do các mốc mucor và aspergillus v.v... phát triển trên thịt, làm cho thịt giảm tuyệt đối các chất hòa tan, tăng tính kiềm do phân hủy protein và lipid, tạo thành các axit bay hơi. Mốc mọc trên bề mặt của thịt và ăn sâu vào trong tới 2-5 mm và làm cho thịt có mùi mốc, nhớt dính, biến màu.

#### ***e. Vi sinh vật trứng***

Trứng là môi trường dinh dưỡng rất tốt đối với vi sinh vật. Song, lòng trắng và lòng đỏ trứng có khả năng tự bảo vệ vì có tính miễn dịch, hơn nữa các thành phần này còn được vỏ và màng bao bọc ngăn chặn khả năng xâm nhiễm của vi sinh vật. Trứng tươi mới của các con gia cầm khỏe mạnh thì phần bên trong là vô khuẩn.

Vỏ quả trứng bị nhiễm phân gà mẹ, vịt mẹ, bị nhiễm bẩn trứng ổ đẻ, bị nhiễm bẩn do nước rửa trứng, do sự sờ mó của người dùng trứng, do thùng đựng bẩn. Nấm mốc và vi khuẩn từ những nguồn gốc này có thể mọc qua vỏ trứng ẩm ướt mà vào trứng. Mặc dù trứng được làm lạnh nhanh và cất giữ ở nhiệt độ thấp trong kho lạnh, trứng có thể bị nhiễm vi khuẩn ưa lạnh thuộc các giống pseudomonas, proteus và achrolobacter. Có thể tìm thấy các giống salmonella trong trứng ướp lạnh hoặc bột trứng với lượng khá lớn; những nguồn nhiễm bẩn trứng cũng giống như ở thịt. Trứng có thể nhiễm bẩn do hệ vi sinh vật tự nhiên của da gà và lông gà, chân gà trong lúc nhổ lông và rửa, do vi sinh vật của ống tiêu hóa của gia cầm.

Sự vô khuẩn của trứng có thể giữ được một thời

gian nhờ tính miễn dịch. Trong quá trình bảo quản trứng bị cũ dần, khả năng miễn dịch giảm, tạo điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật xâm nhập và phát triển. Một số vi sinh vật xâm nhập vào bên trong trứng theo các lỗ ở vỏ; một số khác, đặc biệt là nấm mốc mọc mầm qua các lỗ này. Độ ẩm của vỏ tạo điều kiện cho bào tử nấm mốc nảy mầm, sợi nấm xuyên qua vỏ, qua các lỗ và tạo điều kiện cho vi khuẩn xâm nhập vào bên trong.

Hệ vi sinh vật trứng có thể là từ nguồn gốc nội sinh (từ gia cầm hoặc thủy cầm, mầm bệnh là các vi sinh vật gây bệnh vào trứng trong quá trình hình thành ở buồng trứng và vòi trứng) nhưng chủ yếu từ nguồn ngoại sinh (trứng sau khi đẻ bị nhiễm bẩn kèm theo nhiễm khuẩn).  $1\text{cm}^2$  bề mặt vỏ trứng tươi có từ vài chục đến vài trăm vi khuẩn, trứng bị nhiễm bệnh (chủ yếu là phân, bùn, đất) có từ trăm nghìn hoặc thậm chí hàng triệu tế bào. Thành phần của hệ vi sinh vật trứng cho thấy có vi khuẩn đường ruột gia cầm, có vi khuẩn ở không khí, ở đất, ở rơm rạ, lớt ổ, v.v... Vi khuẩn qua lỗ nhỏ của vỏ vào tới màng trứng hình thành khuẩn lạc rồi đi sâu vào lòng trắng trứng, phân giải protein và lipid gây thối rữa.

Sinh sản của vi khuẩn ở lòng trắng thường chậm hơn ở lòng đỏ vì trong lòng trắng còn có những chất kháng khuẩn lizozim, ovidin v.v... cũng như độ pH cao (trên 9).

Tốc độ hư hỏng của trứng phụ thuộc vào nhiệt độ bảo quản và độ ẩm tương đối của không khí và trạng thái của vỏ trứng, và thành phần của hệ vi sinh vật

niêm ở ngoài vỏ. Trứng bản và vỏ ẩm thường bị hỏng nhanh hơn trứng sạch và khô.

Trong số những vi khuẩn làm hỏng trứng hay gặp nhất là *pseudomonas fluorescens*, *proteus vulgaris*, *micrococcus roseus*, *bacillus subtilis*, *clostridium putrificum*, *C. sporogenes*. Ở trứng bảo quản lạnh những vi khuẩn phát triển vượt trội là: *pseudomonas* và *achromobacter*.

Vi khuẩn có thể làm trứng thối, trứng có mùi vị khó chịu. Dưới tác dụng của enzym vi khuẩn, lòng trắng trứng bị phân giải thành chất nhớt, màng noãn hoàn toàn bị phá hủy làm cho lòng đỏ trộn lẫn với lòng trắng, lòng trắng biến thành màu xanh xám, màu lục lòng đỏ màu xanh vàng, màng lòng đỏ màu đen, vỏ màu xám. Lòng trắng bị phân giải tiết ra hơi thối  $H_2S$ , khí tích lũy nhiều làm nứt vỡ trứng, lòng trắng và lòng đỏ chảy ra ngoài làm hư hỏng, làm thối trứng bên cạnh hoặc trứng lộn thành màu vàng xám có mùi phân thối. Gồm 5 loại:

- Trứng thối màu lục: gây ra chủ yếu do *pseudomonas fluorescens* một trực khuẩn sinh trưởng ở  $0^{\circ}C$  ( $32^{\circ}F$ ) làm cho lòng trắng trứng có màu lục sáng, sau đó phân hủy lòng đỏ, làm cho lòng đỏ trộn lẫn với lòng trắng che lấp màu lục đi. Chất chứa của trứng có màu huỳnh quang khi soi kính với ánh sáng tử ngoại. *Bacterium ovogenes hydrosulfureus* làm cho trứng có màu xanh nhạt hoặc vàng, có mùi hôi thối.

- Trứng thối không màu: gây ra do các loài vi khuẩn *pseudomonas*, *achromobacter*, một số vi

khuẩn dạng coli và một số típ vi khuẩn khác. Có thể soi trứng để phát hiện những dạng hư hỏng này.

- Trứng thối màu đen: gây ra do một số loài của *pseudomonas* làm cho lòng đỏ trở nên đen và vỡ tung ra, làm cho toàn bộ chất chứa của trứng có màu nâu đất, soi trứng thấy trứng mờ đục, trứng có mùi thối do sản sinh sunfua hydro. *Proteus melanovogenes* làm hình thành màu đen đặc biệt trong lòng đỏ và màu tối ở lòng trắng.

- Hiện tượng trứng thối màu hồng hoặc màu đỏ: xảy ra ít hơn. Trứng thối màu hồng gây ra do những chủng của *pseudomonas* làm hình thành một chất kết tủa màu hồng nhạt lên lòng đỏ và màu hồng ở lòng trắng. Trứng thối đỏ gây ra do những loài *serratia*.

- Hiện tượng trứng thối màu đen và màu đỏ: thường xảy ra ở trứng đã để trong một thời gian ở nhiệt độ cao hơn ở nhiệt độ bảo quản bình thường.

Các dạng hư hỏng khác gây ra do vi khuẩn thuộc về mùi vị. Trứng có mùi mốc do một số vi khuẩn như *pseudomonas mucidolens*, *Ps. graveolens*, *achromobacter perolens*. *Streptomyces* sinh trưởng trên rơm hoặc ổ rơm để gần trứng sản sinh ra mùi mốc hoặc mùi đất làm cho trứng có thể hấp thụ. Một số chủng của *escherichia coli* làm hình thành mùi cá trên trứng.

Các dạng hư hỏng do nấm mốc gây ra.

Trứng mốc là dạng hư hỏng phổ biến do nấm mốc gây ra. Nấm mốc sinh trưởng phát triển sợi nấm chui

qua lỗ của vôi trứng, nảy mầm trong màng trứng, rồi xuyên qua màng trứng vào lòng trắng trứng tạo ra những khuẩn lạc đen làm cho lòng trắng trứng rửa ra; sợi nấm có thể xâm nhập vào lòng đỏ trứng hình thành những khuẩn lạc có nhiều màu sắc khác nhau.

Nấm có thể hình thành những vết mốc hình đinh gim có nhiều màu sắc, những khuẩn lạc nhỏ trên vỏ hoặc trong vỏ.

Khi bảo quản ở bầu không khí có độ ẩm cao, một số nấm mốc làm hình thành một lớp lông tơ trên vỏ trứng.

Trứng có thể nhiễm vi khuẩn đường ruột như *salmonella pullorum*, *S. typhimurium* v.v... từ bên trong bộ máy sinh dục của gia cầm mắc bệnh hoặc mang khuẩn, hoặc khi qua ống dẫn trứng để ra ngoài hoặc nhiễm phân có vi khuẩn này (đối với trứng vịt, ngỗng, ngan các vi khuẩn ở phân bám vào vỏ để xâm nhập vào bên trong). Lysozim của trứng không diệt được vi khuẩn thương hàn, cho nên nhóm vi khuẩn này vẫn tồn tại trong trứng sau khi xâm nhập vào.

Đặc biệt là trứng gà còn có thể nhiễm khuẩn tả, trực khuẩn lao gà và một số vi khuẩn gây bệnh khác.

### ***g. Vi sinh vật cá***

Thịt của cá là môi trường thuận lợi cho sự phát triển của hầu hết các vi sinh vật, trong đó có cả các loài sinh bào tử cũng như các loài gây bệnh.

Hệ vi sinh vật của cá chủ yếu gồm các vi sinh vật tự nhiên của cá mà thành phần và số lượng của chúng thường phụ thuộc vào các điều kiện sống

(nước, bùn trong sông ngòi, ao hồ, biển... ở các vùng khí hậu khác nhau), các vi sinh vật nhiễm từ các dụng cụ đánh bắt, chứa đựng, chuyên chở, từ không khí v.v... Như vậy, thành phần và số lượng vi sinh vật của cá tươi sống, cá chết nhưng còn tươi, cá bảo quản, cá ướp thối, hư hỏng rất khác nhau.

Hệ vi sinh vật của cá rất đa dạng. Trên bề mặt của cá thường có một lớp nhầy chứa một lượng lớn chất protein. Lớp nhầy này là môi trường dinh dưỡng tốt đối với vi sinh vật. Số lượng vi sinh vật trên bề mặt ngoài cá mới bắt có khoảng 10 đến  $10 \cdot 10^6$  tế bào trên  $1\text{cm}^2$ . Những vi sinh vật này thường là trực khuẩn sinh bào tử hoặc không sinh bào tử, cầu khuẩn nhỏ, Sarcina và một số nấm men, nấm mốc có ở trong nước.

Ở mang cá đặc biệt nhiều vi sinh vật hiếu khí. Sau khi cá chết, các vi sinh vật này phát triển rất mạnh.

Trong ruột cá hệ vi sinh vật tương đối đa dạng và là nguồn gây thối rữa sau khi cá chết. Vi sinh vật xâm nhập vào đây từ trước, từ bùn cùng với các loại thức ăn. Ở đây tìm thấy tất cả các loại vi sinh vật cư trú trong nước và bùn, kể cả các dạng sinh bào tử. Số lượng vi khuẩn thường dao động rất lớn từ vài nghìn tới vài chục triệu tế bào trên 1 g chất chứa trong ruột.

Trong thịt của cá tươi sống thường không có vi khuẩn. Còn trường hợp cá ốm yếu hoặc sau khi chết vi khuẩn xâm nhập vào các mô của thịt cá từ ruột, từ mang cũng như từ ngoài da.

Trong này có thể tới khoảng 20 loài có hoạt tính proteaza. Chúng có thể phân hủy protein và là nguồn gây thối rữa cá sau khi chết. Trong cá tươi sống rất ít vi khuẩn tạp nhiễm. Thành phần hệ vi sinh vật tự nhiên của cá không thay đổi, nếu như loại trừ được những nguồn tạp nhiễm từ môi trường chung quanh. Vì vậy, sau khi đánh bắt cá cần có những biện pháp xử lý, cất giữ và vận chuyển thích hợp.

Cá tươi không thể bảo quản được lâu nếu không được xử lý. Chẳng hạn sau khi bắt không moi ruột ngay, vì trong ruột chứa nhiều vi sinh vật. Cũng như mọi cơ thể sống khác, các tế bào của cá khi còn sống có khả năng miễn dịch tự nhiên ức chế các vi sinh vật gây thối hoạt động, khi chết sức đề kháng của các mô sẽ mất. Cá chết, tuy rằng vẫn còn tươi, sẽ bị nhiễm khuẩn từ ruột hoặc từ ngoài da và từ máu của mang vào các tổ chức của thịt cá. Như vậy số lượng vi sinh vật tăng nhanh làm cho cá ươn, rồi các hợp chất protein bị phân hủy và cá bị thối rữa. Cá bắt đầu bị thối rữa khi số lượng vi sinh vật tới  $10^7$ - $10^8$  tế bào trên 1g thịt cá.

Song, sự ươn của cá không những chỉ do các quá trình vi sinh vật mà còn có cả quá trình hóa sinh do các enzym chứa trong các tế bào, các cơ quan của cá, đặc biệt là trong hệ tiêu hóa. Quá trình hóa sinh này gọi là hiện tượng tự phân. Các quá trình này do trạng thái của thịt cá sau khi chết thay đổi từ rắn sang mềm. Sau đó hiện tượng phân hủy protein rất rõ rệt. Dưới tác dụng của các vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí sinh trưởng trong cá, quá trình hiếu khí tăng dần.

Trước hết, sự thối rữa bắt đầu từ mặt ngoài rồi xâm nhập vào bên trong cá. Protein bị phân hủy và tạo thành một lượng ít các hợp chất có chứa lưu huỳnh. Phản ứng của thịt cá nhanh chóng chuyển thành kiềm và tạo điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn phát triển. Thịt cá thay đổi màu sắc, xuất hiện các mùi khó ngửi, vì kết quả phân hủy protein sẽ cho amoniac, hydro sunfua và các khí khó chịu khác. Sự thối rữa tiếp theo sẽ dẫn đến sự tạo thành khí indol, skatol...

Quá trình phân hủy protein của cá rất phức tạp và đa dạng. Nó phụ thuộc vào các điều kiện bên ngoài và các loài vi sinh vật có mặt. Các vi sinh vật tìm thấy ở đây là vi khuẩn, xạ khuẩn, nấm mốc. Chúng thuộc các loài hiếu khí, kỵ khí và kỵ khí tùy tiện. Các loài hiếu khí phát triển sử dụng oxy của môi trường chung quanh tạo điều kiện thuận lợi cho các loài kỵ khí phát triển.

Các vi sinh vật gây thối rữa này có nhiều ở tự nhiên. Trong công nghiệp cá, chúng là các kẻ thù nguy hiểm, vì chúng phân hủy protein của cá nhanh, tạo các mùi khó chịu. Nhưng, trong sản xuất nước mắm người ta lợi dụng chúng trong quá trình ướp chượp, để chượp chóng chín, rút ngắn được thời gian sản xuất.

Các vi khuẩn ở đây thường là trực khuẩn. Chúng sống ở trong đất và nước.

Quá trình phân hủy cá dưới tác dụng của các enzym tự phân và các vi sinh vật theo sơ đồ thối rữa.

Quá trình này không chỉ dừng ở sự phân huỷ axit min, nếu không có những biện pháp thích hợp (như trong khi ướp chượp cần bổ sung muối kịp thời để ngăn chặn sự hoạt động của vi khuẩn), và sản phẩm cuối cùng là các axit béo, metan, amoniac, indol, skatol v.v... Như vậy cá hoàn toàn bị thối rữa, trong các sản phẩm trung gian có một số độc tính. Chất có độc lực mạnh là các diamin.

Loài vi khuẩn kỵ khí *clostridium botulinum* có hoạt tính phân huỷ protein cao và trong quá trình sống của nó sinh ra chất độc nguy hiểm là botulin. Trường hợp này thấy ở cá và ở thịt (thường gọi botulin là chất độc thịt).

Đánh giá chất lượng của cá người ta có thể đếm số lượng vi khuẩn hoặc bằng cách định lượng amoniac (phương pháp này thường dùng trong sản xuất). Cá ướp thối không dùng làm thực phẩm khi lượng amoniac cao hơn 30mg/100 g thịt cá.

Để ngăn chặn quá trình ướp thối của cá người ta dùng nhiều biện pháp bảo quản như đông lạnh, sấy khô, ướp muối, tiêm kháng sinh v.v...

### ***h. Vi sinh vật sữa***

Trong sữa bò luôn tìm thấy một lượng lớn vi sinh vật. Những nguồn nhiễm vi sinh vật vào sữa thường là:

- Từ vú bò: ở vú bò có nhiều loài vi khuẩn, nhưng trên 50% các vi khuẩn này không có hại trong sữa tươi. Các vi khuẩn ở vú bò thường gặp là *micrococcus*,

ngoài ra còn có thể thấy streptococcus và những trực khuẩn đường ruột.

- Từ da bò: dụng cụ vắt sữa và chứa đựng sữa, thức ăn nuôi bò, v.v...

Hệ vi sinh vật trong sữa thường gặp nhiều nhất là vi khuẩn, một số dạng nấm men, nấm mốc. Trong số này, một số có ích, một số không gây tác hại gì, một số có ảnh hưởng xấu tới sữa và sản phẩm, có thể có một số vi khuẩn gây bệnh. Trong sữa có thể phân thành hệ vi sinh vật bình thường và hệ vi sinh vật không bình thường gây những tật của sữa cùng nhóm vi sinh vật gây bệnh.

Thông thường sữa có chứa một số vi sinh vật, gồm có vi khuẩn, nấm men và nấm mốc. Trong số này vi khuẩn chiếm phần lớn có tới vài chục loài, phổ biến nhất là các vi khuẩn lactic, ít hơn là các vi khuẩn butiric, propionic, vi khuẩn gây thối, nhóm trực khuẩn đường ruột v.v...

### ***Vi khuẩn***

- Các vi khuẩn lactic: là nhóm vi sinh vật quan trọng nhất đối với sữa. Nhóm này có tác dụng lớn trong bảo quản cũng như chế biến sữa và các sản phẩm từ sữa (sữa chua, bơ, phomat). Trong quá trình sống chúng biến đổi đường lacloza có trong sữa thành axit lactic. Ngoài ra, chúng còn tạo thành một số sản phẩm phụ có tác dụng nâng cao phẩm chất sữa, đặc biệt là hương vị. Các sản phẩm phụ đó là: các axit bay hơi, este, cồn, axeton, deaxetyl...

- Các liên cầu khuẩn lactic: có tế bào hình ô van, có

thể hơi dài, thường xếp thành đôi hoặc chuỗi ngắn. Nhiệt độ thích hợp cho sinh trưởng của vi khuẩn này là 30-35°C. Ở nhiệt độ này nó có thể làm đông tụ sữa sau 10-12 giờ phát triển. Trong sữa nó lên men lactic và làm sữa chua. Sữa chua do vi khuẩn này có mùi vị thanh khiết, nhưng cũng có khi một vài chủng của giống này cho sữa mùi khê (mùi của bánh mì đen) hoặc thoảng những mùi vị lạ khác.

*Streptococcus lactis* có một vai trò lớn trong sản xuất các sản phẩm sữa chua, bơ và pho mát.

- Các vi khuẩn sinh hương: thuộc nhóm này gồm có các liên cầu khuẩn có khả năng tạo thành một lượng đáng kể những axit bay hơi (axit axetic, propionic) và các chất thơm (este, diacetyl) ở trong sữa hoặc sản phẩm từ sữa. Phần lớn các vi khuẩn này có enzym xitritaza. Nhờ enzym này các vi khuẩn mới có thể lên men được axit xitric. Có ba giống được biết có khả năng này là *S. citrobacter*, *S. paracitrovorus* và *S. diacetylactis*. Tế bào của chúng nhỏ hơn hai giống gây lên men lactic điển hình kể trên, thường đứng riêng rẽ hoặc xếp thành đôi hay thành chuỗi dài ngắn khác nhau. Nhiệt độ thích hợp cho vi khuẩn này phát triển là 30°C (riêng đối với *S. diacetylactis* phát triển tốt ở 35°C).

Ngoài các vi khuẩn kể trên, trong sữa còn có thể gặp các liên cầu khuẩn lactic ưa nhiệt độ có tác dụng làm chua sữa và sinh hương.

- Các trực khuẩn lactic (*Lactobacillus*): trực khuẩn lactic, cũng như liên cầu khuẩn lactic, thường gặp trong thiên nhiên. Chúng thường có ở trong sữa, thịt,

các sản phẩm thực vật, trong ruột người và động vật. Chúng chịu đựng được axit và muối, có khả năng phát triển ở những nhiệt độ khác nhau, hiếu khí hoặc kỵ khí. Các trực khuẩn này tham gia vào quá trình chế biến sữa chua, làm chín phomat, ủ thức ăn gia súc.

- Vi khuẩn propionic: loại trực khuẩn này không sinh bào tử, không chuyển động, hiếu khí tùy tiện, nhưng phát triển tốt trong điều kiện kỵ khí. Trong sữa nó phát triển chậm và làm đông sữa sau 5-7 ngày, tạo thành axit propionic tương đối cao (160-170<sup>o</sup>T). Vi khuẩn này phát triển tốt ở 30-35<sup>o</sup>C.

Vi khuẩn propionic đóng vai trò quan trọng trong việc chế biến pho mát. Các axit axetic và propionic được tạo thành trong quá trình lên men làm cho mùi vị pho mát thơm ngon đặc biệt. Ngoài ra, một số chủng của nhóm này có khả năng sinh vitamin B12.

Ngoài các vi khuẩn có tác dụng tốt đối với sữa và sản phẩm, người ta còn gặp một số chủng khác thuộc các giống ấy, nhóm E. coli-aerogenes, vi khuẩn butiric, vi khuẩn gây thối, các vi khuẩn hoại sinh có trong sữa. Các vi khuẩn này thường có tác dụng xấu đối với sữa và sản phẩm.

### **Nấm men**

Trong sữa thường gặp các nấm men tạo thành và không tạo thành bào tử.

Nấm men rượu (saccharolnyces) có thể lên men được đường lactoza, có giá trị lớn trong việc chế sữa chua (kerla và kumic).

Một số chủng thuộc giống *torulopsis* có tác dụng làm rắn bơ.

*Mycoderma* (nấm men tạo màng) có hoạt tính proteaza, vì vậy nấm men này gây cho các sản phẩm sữa có vị đắng.

Trong số các nấm men có nhiều giống có thể phân hủy được casein và chất béo của sữa.

### *Nấm mốc*

Nấm mốc thường có hoạt tính proteaza và lipaza, vì vậy chúng phân hủy được protein và chất béo, làm cho các sản phẩm từ sữa có vị ôi (hậu quả của chất béo bị phân hủy). Chúng không phát triển ở sữa tươi, thường phát triển ở trong các sản phẩm sữa chua, chúng đồng hóa axit lactic làm cho môi trường chuyển dần sang kiềm, chúng phát triển trên phomat bị mềm, làm cho phomat có màu sắc khác nhau... Một vài chủng mốc dùng trong sản xuất phomat.

Sự thay đổi hệ vi sinh vật của sữa trong quá trình bảo quản

Trong quá trình bảo quản sữa (sau khi vắt đến khi sử dụng hoặc chế biến) hệ vi sinh vật thay đổi về số lượng và thành phần các nhóm trong đó. Sự thay đổi này phụ thuộc vào nhiệt độ, thời gian bảo quản và thành phần ban đầu của hệ vi sinh vật.

Những tập của sữa trong thời gian bảo quản liên quan tới sự có mặt của các vi sinh vật và sự hoạt động của chúng ở trong sữa.

Những vi sinh vật này người ta thường gọi là hệ vi sinh vật không bình thường của sữa. Chúng nhiễm

vào sữa do vệ sinh kém, làm cho sữa chóng hỏng, mất phẩm chất.

- Vị đắng: Vị đắng của sữa có thể do dư vị của một số thức ăn nuôi bò hoặc chủ yếu do sự phát triển của một số vi khuẩn có khả năng phân giải protein (trực khuẩn có bào tử, vi khuẩn ưa lạnh, *micrococcus* v.v...). Nấm men *torula amara* cũng làm cho sữa đắng.

Vị đắng thường gặp ở pho mát và sữa pasteur hóa được bảo quản lạnh trong thời gian dài. Ở điều kiện này các vi khuẩn lactic không phát triển được.

- Vị ôi: Vị này xuất hiện ở trong sữa bảo quản lạnh dài ngày do sự phân giải chất béo và tạo thành axit butiric, các aldehyt, xeton, este và các chất khác bởi các vi sinh vật tiết ra enzym (*bacterium fluorescens*, nấm mốc).

- Các mùi vị lạ (mùi xà phòng, bánh mì, cỏ...) xuất hiện ở trong sữa do nhiễm các trực khuẩn đường ruột và các vi khuẩn huỳnh quang (*bacterium fluorescens*), *bacterium lactis saponacei*... từ rơm, cỏ. Chúng thủy phân chất béo và casein tạo thành muối amoni của các chất béo, làm sữa không đông, ở dưới đáy bình sữa có một lớp chất lắng cặn nhầy.

- Sữa sủi bọt: Do vi sinh vật hoạt động mạnh tạo thành nhiều khí. Ta thường thấy nấm men và trực khuẩn đường ruột gây tật này trong sữa nguyên liệu và trong sữa pasteur hóa chủ yếu là vi khuẩn butiric.

- Sữa đông ở độ axit thấp: Sữa bình thường hoặc có độ axit thấp chỉ đông vón khi đun sôi. Nhưng có

trường hợp sữa bị lên bông casein ở độ axit thấp khi để nguội. Hiện tượng này do có lẫn sữa non và tác dụng enzym prezua của vi khuẩn. Các vi khuẩn sinh prezua (gắn với những enzym đông tụ) là *micrococcus caseolyticus* và *M. liquefaciens*. Ngoài ra ở loại sữa này còn thấy ở *bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*.

- Sữa kéo sợi: Sữa thay đổi trạng thái sinh ra các dạng sợi có thể có độ axit cao hoặc không cao. Trong trường hợp thứ nhất sữa kéo sợi, nhưng không vón cục, do vi khuẩn không sinh nha bào, không chuyển động *bacillus lactis viscosum* gây ra. Trong trường hợp thứ hai sữa lên men chua tạo thành những cục kéo dài gây ra bởi một số liên cầu khuẩn và trực khuẩn lactic. Chúng làm cho sữa lên men chua thành nhầy.

- Sữa có màu sắc: Sữa và sản phẩm từ sữa bảo quản trong một thời gian có thể sinh màu do một số vi sinh vật phát triển. Lúc ban đầu trên bề mặt có một vài điểm sau lan khắp bề mặt, rồi ăn dần vào bề sâu.

+ Sữa vàng do có mặt *pseudomonas synxantha*, *bacterium synxanthum*. Các vi khuẩn này chỉ sống ở sữa đã đun sôi không có vi khuẩn lactic. Ngoài ra, *sarcina*, *bacterium fulvum*, *sacharomyces* cũng có thể làm cho sữa có màu vàng.

+ Sữa đỏ do sự phát triển của *serratia marcescens* hoặc *bacillus lactis erythrogenes* kết tủa casein, sau đó pepton hóa chất này làm cho màu đỏ. *Bacillus lactorubefaciens* gần giống *E. coli*, làm cho sữa nhớt có màu hồng.

- Sữa đặc quánh: Sữa đặc bị vón lại với nhiều mức độ khác nhau có thể là do sự phát triển của một vài vi sinh vật ở trong khối sữa và do tác dụng của các tác nhân lý hóa: Những vi sinh vật gây ra hiện tượng này thường là micrococcus. Chúng có khả năng lên men lactoza tạo thành axit lactic và tác dụng phân giải protein làm cho sữa có vị bơ.

- Sữa tạo thành cục: Trên bề mặt sữa đặc có đường bị đặc quánh lại và xuất hiện những cục casein có màu khác nhau (từ màu trắng bông đến vàng và đỏ gắt). Thủ phạm là mốc *Catemularia fuliginea*. Phần sữa tiếp với mốc phát triển bị đặc sệt lại, sau đó nổi lên những cục hình cục áo. Đó chính là vùng khuẩn lạc mốc phát triển. Sau 12-15 ngày màu khuẩn lạc từ màu sáng chuyển thành màu nâu sôcôla.

Mốc này chịu được nhiệt độ cao, phát triển được trong điều kiện ít oxy ở mức độ thấp nhất và ở nồng độ đường cao. Trong khi phát triển nó phân hủy protein, nhưng không phân hủy chất béo. Protein bị phá hủy gây cho sữa có mùi bơ.

Trong sữa còn nấm men, vi khuẩn butiric và trực khuẩn đường ruột sẽ tạo thành nhiều khí, làm phồng nắp hộp, đôi khi hộp bị nổ vỡ. Thường gặp nhất là nấm men có thể lên men được sacaroza, làm hỏng lượng đường trong sữa. Nguồn nhiễm nấm men chủ yếu từ bao đường.

- Sữa mốc: Trên bề mặt hoặc bên trong nắp hộp trong khi bảo quản xuất hiện các khuẩn lạc mốc. Hay gặp nhất là mốc *Pemcilium glaucum*, còn trong trường hợp có oxy ít nhất thì sẽ gặp mốc

cladosporium herbarum. Nguyên nhân làm cho mốc phát triển là không khí còn trong hộp ở khoảng trên mặt sữa và nắp hộp. Để hạn chế mốc phát triển cần bảo quản sữa hộp ở nhiệt độ thấp và ghép hộp trong chân không.

- Sữa có mùi vị pho mát và ôi: Một số vi khuẩn micrococcus có khả năng phát triển trong nồng độ đường sacaroza cao và nhiệt độ tối thích để sinh trưởng của chúng là 20-30°C. Nhưng khi bảo quản sữa hộp lâu và ở nhiệt độ thấp các vi khuẩn này vẫn phát triển được, tuy chậm. Trong khi phát triển những vi khuẩn có hoạt tính proteaza phân hủy casein làm cho sữa có vị pho mát và những vi khuẩn có hoạt tính lipaza phân hủy chất béo làm cho sữa có vị ôi.

Những vi khuẩn này chịu được nhiệt độ cao và chỉ bị chết hoàn toàn khi đun nóng sữa tới 85°C.

Micrococcus thường có trong sữa nguyên liệu hoặc nhiễm từ không khí, từ các bao đường.

### ***i. Vi sinh vật rau quả***

Trên bề mặt rau quả có một số vi sinh vật với số lượng nhiều ít khác nhau. Chúng rơi vào từ đất, từ không khí, từ đồ đựng v.v... Ở các dạng bào tử hoặc tế bào sinh dưỡng. Phần lớn các vi sinh vật ở đây là vi khuẩn, nấm mốc, những nấm men sống ký sinh cùng với cây trồng hoặc có ở trong đất hay gió thổi tới, đặc biệt các quả và trái cây chín thường có nhiều nấm men ở bề mặt.

Những vi sinh vật gây thối, hỏng rau quả thường

do gió mang tới hoặc qua tay người, các dụng cụ làm vườn. Hoa quả tươi và lành lặn thì chỉ có bề mặt là nhiễm tạp khuẩn, còn bên trong thường vô trùng. Trong quá trình vận chuyển và bảo quản, các vi sinh vật xâm nhập vào bên trong và gây ra hư hỏng. Các nguyên nhân gây hư hỏng này do sự hoạt động chủ yếu của nấm mốc và vi khuẩn. Sau khi nhiễm vào và ký sinh trên bề mặt các sản phẩm, một trong những dạng nấm hoại sinh phát triển tương đối nhanh. Những nấm này thường là *mucor*, *aspergillus*, *penicilium* v.v...

Những quả chứa nhiều đường dễ bị hư hỏng do nấm men và nấm mốc. Nấm men sau khi nhiễm, phát triển và gây lên men rượu. Một số vi khuẩn ở đây có thể gây lên men axetic và lactic làm chua nước quả.

Quả thường bị nhiễm nấm mốc và nấm men. Các vi sinh vật phát triển tốt ở môi trường axit trong quả và gây ra hư hỏng quả. Nguyên nhân gây hư hỏng ở quả phần lớn là do vi khuẩn.

Trong quá trình chín, đặc biệt là khi thu hoạch, vỏ quả dễ bị dập và tạo điều kiện thuận lợi cho các bào tử nấm thâm nhập vào dịch quả và nảy mầm. Các sợi nấm làm hỏng thịt quả. Ngoài ra, nhiều nấm mốc tiết ra enzym xenlulaza, phân hủy xenluloza tới xenlobioza. Kết quả là thành tế bào của quả bị phá hoại, tạo điều kiện cho nấm hiếu khí phát triển tốt trong nước quả giàu dinh dưỡng và sự hư hỏng bị trầm trọng hơn. Sau đó sợi nấm có thể một phần mọc ra ngoài vỏ quả và tạo thành các bào tử, rồi gây nhiễm rộng hơn nữa.

Nhiều mốc có hoạt tính pectinaza, phân hủy các chất pectin, làm cho các tế bào và mô quả mất tính liên kết, quả bị xộp và hỏng.

Trong quá trình dinh dưỡng và hô hấp của nấm mốc, các loại đường bị oxy hóa thành các axit hữu cơ (axit xucxinic, axit malic, axit axetic, axit xitric v.v...) làm cho độ axit trong quả cao lên, một phần đường bị lên men rượu. Sau đó, các nấm mốc lại oxy hóa các axit hữu cơ, rượu làm cho độ axit của dịch quả giảm và tạo điều kiện cho nhiều loại vi khuẩn phát triển. Kết quả là quả bị hư hỏng, mất giá trị dinh dưỡng.

Nấm mốc phát triển trên bề mặt và bên trong quả gây ra những đốm nâu thẫm. Sự xuất hiện những đốm này có liên quan đến sự tác dụng oxy hóa chất tanin trong quả của enzym do nấm mốc tiết ra, tạo thành chất flobafen có màu nâu xám.

- Thối quả: Các loại quả đều có thể bị thối rữa. Bệnh này do nấm *monilia fructigena* gây ra. Nấm này có hệ sợi đơn bào phân nhánh, cuống sinh bào tử ngắn và đính bào tử có dạng hình quả chanh. Nấm phát triển làm cho quả có các đốm màu nâu xám rồi chuyển nâu. Dưới những đốm này thịt quả trở nên xộp và có màu nâu.

- Thối xám: Nhiều loại quả, trong đó có họ chanh, cam bị bệnh này. Nấm bệnh là *monilia cinerea* (ở giai đoạn sinh túi nó có tên là *stromatinia cinerea*). Sợi nấm mọc theo các mô quả và cả ở các nhánh cây. Các đính bào tử có màu xám, vì vậy khi quả có nấm

này mọc sẽ gây thối hỏng quả và mang tên gọi là thối xám.

- Thối đồng: Nấm bệnh là *gloeosporium fructigena*. Nấm này phát triển ở quả gây thối hỏng và gây cho quả có vị đắng.

#### ***k. Vi sinh vật của bột***

Vi sinh vật trong bột do hai nguồn nhiễm: thứ nhất có từ trong hạt (chủ yếu), thứ hai bị rơi vào từ không khí, từ nước dùng khi xay theo phương pháp ướt hoặc từ các dụng cụ, máy móc, các đồ chứa đựng v.v...

Hạt dùng để xay bột bao giờ cũng chứa một lượng vi sinh vật nào đó. Trong quá trình nghiền, phần lớn các vi sinh vật ở trên bề mặt hạt được chuyển trực tiếp vào bột. Số lượng vi sinh vật chuyển vào trong bột này có liên quan mật thiết với hiệu suất bột. Vi sinh vật thường nhiều hơn cả là ở cám. Nếu bột có chất lượng cao thì ít vi sinh vật.

Trong bột thường có vi khuẩn và nấm mốc. Trong số các vi khuẩn có thể thấy tế bào dinh dưỡng hoặc bào tử của trực khuẩn khoai tây (*bacillus mesentencus*) và trực khuẩn cỏ khô (*bacillus subtilis*). Những trực khuẩn này có lẫn trong bột và sau này gây ra bệnh "khoai tây" ở bánh mì. Ngoài ra, có thể gặp *E. coli*, nếu dùng nước rửa hạt trong quá trình xay nghiền hạt theo phương pháp ướt không đủ tiêu chuẩn vệ sinh.

Trong điều kiện độ ẩm tương đối của không khí dưới 79% và nhiệt độ dưới 20°C, độ ẩm của bột dưới

15%, ở điều kiện bảo quản như vậy trong thời gian dài vi sinh vật không tăng lên mà dần dần chết đi. Nếu độ ẩm của bột chỉ cần tăng thêm quá 1-2% thì vi khuẩn và nấm mốc ở trong sản phẩm sẽ phát triển rất nhanh.

Tùy thuộc vào mức độ và các nhóm vi sinh vật có trong bột phát triển, bột có thể bị những hư hỏng: mốc, tự đốt nóng, chua, ôi.

Bột mốc là hiện tượng hỏng của bột hay gặp hơn cả. Ở đây ta thấy các mốc *aspergillus penicilium* mọc ở bột trong điều kiện độ ẩm thấp hơn so với vi khuẩn.

Bột bắt đầu bị mốc ở độ ẩm tương đối của không khí từ 80% trở lên.

Bột bị mốc trở thành kém phẩm chất, vì mốc sẽ tạo cho bột vị hôi không thể khử được. Mùi hôi chủ yếu là do mốc *penicilium* gây ra.

Mốc làm tăng độ axit của bột, do mốc phân hủy chất béo tạo thành axit tự do, đồng thời làm giảm chất lượng của gluten, bị mất tính đàn hồi, khó rửa và thẩm màu.

Mốc thường bắt đầu mọc ở lớp ngoài khối bột và dần dần đi sâu vào các lớp trong, rồi gây ra hiện tượng tự đốt nóng.

Mốc và tự đốt nóng làm cho bột giảm các chỉ tiêu phẩm chất theo cảm quan, mất tính linh động vì bị vón cục hoặc kết bánh.

Bột chua thường bắt đầu từ những lớp bên trong, khác với bột mốc bắt đầu từ những lớp bên ngoài. Nguyên nhân gây ra bột chua là do sự phát triển các

vi khuẩn lactic hoặc các loài khác, lên men đường có trong bột để tạo thành các axit khác nhau. Kết quả là trong bột xuất hiện mùi vị chua đặc trưng và độ axit tăng rõ rệt.

Đường có trong bột là do enzym amylaza của bản thân bột và vi khuẩn tác dụng vào tinh bột. Những vi khuẩn phân hủy tinh bột và tạo thành axit thường có trong bột.

Bột ôi do sự oxy hóa chất béo trong bột bằng oxy của không khí cho axit tự do tạo thành và các sản phẩm phân ly chất béo. Các sản phẩm này gây ra cho bột mùi khó chịu và vị ôi.

Ngoài ra, chất béo còn bị enzym lipaza của vi sinh vật có trong bột phát triển và tạo thành, phân ly chất béo thành các chất hợp phần. Chính các sản phẩm của quá trình phân ly này cũng làm cho bột có vị ôi.

Để bảo quản bột được tốt cần phải bảo quản bột ở độ ẩm không khí dưới 79%, độ ẩm của bột không quá 14-15%, trong điều kiện nhiệt độ ổn định. Ở điều kiện này có thể giữ bột được 3-5 tháng, còn ở độ ẩm của bột 10-12% giữ được một năm.

Trên đây là các hiện tượng thường xảy ra với bột mì, bột gạo, bột đậu, bột ngô và các dạng thức ăn chăn nuôi hỗn hợp (từ bột ngô, bột đậu tương) trong thời gian bảo quản. Riêng đối với các loại bột giàu chất béo (bột đậu tương, bột lạc, khô dầu đậu tương, khô lạc) dùng làm nguyên liệu chế biến thức ăn tổng hợp cần phải chú ý đến các hiện tượng mốc, cần phòng và tránh các dạng này bị mốc, nhất là mốc

vàng hoa hòe, hoa cau do *aspergillus flavus* phát triển sẽ làm giảm chất lượng và có thể bị nhiễm độc do độc tố của mốc là aflatoxin.

### 1. Vi sinh vật trong bánh mì

Quá trình làm bánh mì dựa trên hàng loạt các phản ứng hóa sinh do nấm men gây ra trong khi chuẩn bị bột nhào và nướng bánh. Nấm men biến đổi đường của bột thành rượu và khí cacbonic. Khí này làm phồng gluten của bột, làm bánh nở. Ngoài nấm men, còn có vi khuẩn lactic. Những vi khuẩn này hoạt động sinh pH thích hợp cho nấm men phát triển.

Vi sinh vật làm nở bột nhào và tạo hương cho bánh.

Trong khi làm bột nhào có hai quá trình xảy ra là lên men rượu sinh ra rượu etylic và  $\text{CO}_2$  nhờ men bánh mì (*saccharomyces cerevisiae*) cùng với quá trình tạo ra các axit hữu cơ (chủ yếu là axit lactic) nhờ các vi khuẩn lactic có trong bột, sau đó các axit hữu cơ tác dụng với rượu tạo thành các este làm cho bánh có vị thơm ngon.

- Để làm nở bột nhào người ta thường dùng các dạng men bánh mì như men nước, men ép và men khô từ loài *saccharomyces cerevisiae*.

- Những vi sinh vật tạo hương thơm của bánh mì: Trong bột nhào còn có các vi khuẩn lactic lên men điển hình và không điển hình. Nhóm thứ nhất tạo thành axit lactic, nhóm thứ hai cho sản phẩm axit lactic còn có các axit bay hơi, khí ( $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ) rượu etylic. Các vi khuẩn phát triển trong quá trình làm

bột nhào tạo ra các axit và các este làm cho bánh mì có mùi thơm đặc biệt.

- Một số vi sinh vật khác: Trong bột nhào còn có thể có các nấm men tạo màng lẫn vào, như *candida*, *torulopsis*. Những nấm này có sẵn trong bột hoặc lẫn vào men bánh ép hoặc men nước. Nấm men tạo màng có lực nở thấp, khi lên men chúng tạo ra các sản phẩm phụ làm cho bánh mì có vị cay. Đây là những men tạp làm giảm chất lượng bột nhào và bánh mì.

Đôi khi còn thấy *escherichia aerogenes*-một dạng của trực khuẩn đường ruột, phát triển trong bột nhào. Ngoài ra, còn có thể gặp trong bột nhào các trực khuẩn sinh bào tử là trực khuẩn khoai tây và trực khuẩn cỏ khô (*B. mesentericus* và *B. subtilis*). Các vi khuẩn có lẫn trong bột nhào làm ảnh hưởng xấu cho bánh mì: các bào tử của chúng trong ruột bánh không bị chết khi nướng, gặp điều kiện thuận lợi các bào tử nảy mầm và phát triển làm hỏng bánh mì.

- Đường: Khi thêm 5% đường vào bột nhào làm tăng hoạt lực của nấm men và vi khuẩn lactic, khí tạo thành nhiều hơn; nhưng khi thêm 10% đường, tốc độ tạo khí chỉ bằng khi không bổ sung và 20% đường-nấm men, vi khuẩn lactic bị ức chế.

- Chất béo: Lượng chất béo (dầu mỡ) cho vào bột nhào dưới 5% (theo khối lượng bột) không ảnh hưởng tới sự hoạt động của vi sinh vật, khi tới 10% hoặc hơn nữa thì khả năng tạo khí của nấm men và hoạt lực của vi khuẩn lactic bị giảm.

Hệ vi sinh vật của bánh mì bắt nguồn bột mì, từ men bánh mì và tạp nhiễm. Khi làm bột nhào một số thành phần trong hệ vi sinh vật phát triển, đặc biệt là men bánh mì phát triển và hoạt động lên men tạo cồn và sinh ra  $\text{CO}_2$  làm nở bột nhào. Khi định hình bánh mì và đem nướng nhiều vi sinh vật bị chết dưới tác dụng của nhiệt độ cao.

Khi nướng bánh nhiệt độ bên ngoài tới  $180-200^\circ\text{C}$ , các vi sinh vật ngoài vỏ bánh chết hết và bên trong nóng dần lên, nhưng ở giữa không quá  $95-98^\circ\text{C}$ . Các tế bào vi sinh vật ở giữa bánh cũng dần dần bị chết, nhưng các bào tử vi khuẩn và đôi khi những tế bào nấm men và vi khuẩn lactic - vẫn còn sống. Những bào tử của trực khuẩn khoai tây và trực khuẩn cỏ khô nảy mầm và phát triển thành những tế bào mới làm hỏng bánh mì, mà người ta vẫn gọi là bệnh "khoai tây" của bánh mì.

Trong khi vận chuyển, bảo quản và phân phối, bánh mì còn bị nhiễm các vi sinh vật, trong đó có thể có cả trực khuẩn đường ruột.

Bánh mì thành phẩm có thể còn có những bào tử và một số tế bào vi khuẩn sống sót trong ruột, hoặc trong quá trình bảo quản, vận chuyển bị nhiễm vi sinh vật từ bên ngoài. Đó chính là nguyên nhân gây hư hỏng bánh mì.

Bệnh nhót ruột bánh mì do vi khuẩn bacillus.

Bệnh này do trực khuẩn khoai tây và trực khuẩn cỏ khô (bacillus mesentericus và bacillus subtilis). Bệnh này còn gọi là sự hỏng nhót bánh mì. Trong bột

mì, đặc biệt là bột mì loại hai hoặc xấu, có lẫn bào tử của hai loại trực khuẩn này và khi nướng bánh, chúng không bị chết và sau đó sẽ nảy mầm, phát triển gây hỏng bánh. Kết quả là ruột bánh bị nhọt dính, thâm màu và có mùi khó chịu.

- Ruột bánh mì bị đỏ: Có một số vi khuẩn và nấm sinh sắc tố phát triển trong ruột bánh và làm ruột bánh có màu đỏ. Bệnh này không nguy hiểm đối với người. Trong số các vi khuẩn ở đây ta thấy có *bacillus prodigiosum*. Vi khuẩn này có hình que, không tạo thành bào tử, bị chết ở nhiệt độ 40-50°C, nhiệt độ tối thích để phát triển là 25°C.

- Mốc bánh mì: Bánh mì hay bị mốc ngoài vỏ do bánh không giữ gìn sạch sẽ, bị nhiễm nhiều bào tử mốc và bảo quản ở điều kiện nóng, ẩm (nhiệt độ từ 25-30°C. Và độ ẩm không khí 80-85% hoặc cao hơn) cũng như độ ẩm bánh mì cao và xếp quá chặt.

Bánh mì bị mốc có mùi khó chịu, dùng để ăn có thể bị nguy hiểm vì trong số đó có thể có giống sinh ra độc tố gây ngộ độc cho người.

Đôi khi trong ruột bánh mì xuất hiện những bột phấn trong do nấm men *endomyces fibuliger* và nấm men *Monilia variabilis*. Những nấm men này lẫn trong bột và không bị chết trong quá trình nướng bánh vì chúng có khả năng chịu nhiệt cao. Bánh mì bị phấn trắng làm giảm giá trị thương phẩm, nhưng không nguy hiểm đối với sức khỏe người.

- Bệnh "say" bánh mì: Bệnh này do nấm *fusarium sporotrichioides* có lẫn trong bột từ những hạt mì ở

những cây có nấm này ký sinh ở ngoài đồng. Nấm này chịu nhiệt cao và không bị chết khi nướng bánh. Khi nó phát triển trong bánh mì không thấy dấu hiệu hư hỏng rõ rệt, nhưng nó tiết ra độc tố, khi ăn phải người bị ngộ độc thấy ngâ ngất như say rượu, làm giảm bạch cầu do độc tố thức ăn.

Ở các loại bánh ngọt nhiều đường với bột đã hấp chín như bánh dẻo, bánh nướng, bánh kếp, bánh ga tô, nếu để vài ngày nóng ẩm sẽ dễ bị mốc do nấm mốc phát triển làm vỏ bánh có những chấm màu, có mùi mốc, có mùi rượu do nấm men phát triển v.v... Nếu để lâu bánh sẽ thiu, ôi, có khi mùi thối do các vi khuẩn thối rữa phân hủy chất béo, phân hủy protein gây ra. Tùy "bệnh" của từng loại bánh sẽ có những biện pháp xử lý thích hợp.

## II. MÔI TRƯỜNG PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT

### 1. Quá trình phát triển của vi sinh vật

Trong môi trường dinh dưỡng, mỗi loài vi sinh vật đều phát triển theo các giai đoạn nhất định, có tính quy luật rõ rệt. Nghiên cứu quy luật này sẽ giúp ta có đầy đủ cơ sở khoa học để điều khiển quá trình này theo hướng ta mong muốn.

Có thể chia quá trình phát triển của vi sinh vật trong môi trường thành các giai đoạn hay các pha sau:

#### *\* Pha tiềm phát*

Vi sinh vật mới được cấy vào môi trường chưa tung về mặt số lượng. Nguyên nhân chủ yếu của hiện tượng này gồm hai loại:

- Nguyên nhân bên trong là điều kiện của bản thân loại vi sinh vật được cấy vào trong môi trường. Nếu giống ở dạng bào tử thì bào tử cần một thời gian thấm nước để trương lên, các hệ enzym chuyển từ trạng thái không hoạt động sang hoạt động, bào tử nảy mầm và sinh trưởng. Nếu giống còn non thì sẽ tiếp tục sinh trưởng đến khi đạt kích thước tối đa và đến tuổi sinh lý trưởng thành. Còn tế bào đã trưởng thành cũng không thể sinh sản ngay được mà còn phải có thời gian làm quen với môi trường, đồng thời tiến hành tích lũy năng lượng chuẩn bị cho giai đoạn

sinh sản. Đặc điểm của từng loại vi sinh vật, khả năng thích nghi của chúng cũng là những yếu tố quan trọng.

- Nguyên nhân bên ngoài là điều kiện môi trường gồm có chất dinh dưỡng, độ pH môi trường, độ ẩm, nhiệt độ, thế oxy hoá-khử... có nghĩa là vi sinh vật ngừng sinh sản, mà thực ra vi sinh vật vẫn sinh sản tiếp tục, nhưng trong một đơn vị thời gian số tế bào sinh ra bằng số tế bào chết đi. Có thể nói đây là trạng thái cân bằng động. Chính trong pha này số lượng tế bào chứa trong một đơn vị thể tích cũng đạt tới mức tối đa. Số lượng tối đa của vi sinh vật trong môi trường là đặc trưng quan trọng của mỗi loài vi sinh vật. Nó phụ thuộc nhiều vào môi trường ngoài. Trong pha này chất dinh dưỡng trong môi trường giảm nhiều. Điều này dẫn đến kết quả là số tế bào sinh sản giảm, tế bào chết ngày càng tăng. Đặc biệt là trong các quá trình lên men ở pha này vi sinh vật tích tụ nhiều sản phẩm trong môi trường nuôi cấy.

### **\* Pha suy vong**

Trong pha này tổng số tế bào giảm dần, số vi sinh vật chết tăng nhanh hơn số vi sinh vật sinh ra. Điều này xảy ra là do điều kiện sống tạo nên, chủ yếu là các chất dinh dưỡng đã cạn kiệt trong môi trường nuôi cấy.

## **2. Các yếu tố bên ngoài ảnh hưởng đến vi sinh vật**

Mọi hoạt động sống của vi sinh vật đều liên quan rất chặt chẽ với môi trường. Các sinh vật không những có nhu cầu về thành phần và số lượng các chất

dinh dưỡng mà còn chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố khác như nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng... của môi trường chung quanh. Các yếu tố này có thể làm kích thích hoặc ức chế sinh trưởng, thậm chí còn làm cho vi sinh vật bị tiêu diệt. Sự phát triển của vi sinh vật, trước hết làm thay đổi môi trường: các chất dinh dưỡng cạn dần, pH thay đổi, các sản phẩm trao đổi chất có thể tích tụ trong môi trường nuôi cấy. Thay đổi các yếu tố bên ngoài dẫn tới làm thay đổi tính chất của vi sinh vật và các quá trình hóa sinh của vi sinh vật.

Các yếu tố (hoặc điều kiện) của môi trường bên ngoài ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật có thể chia thành 3 nhóm chính: vật lý, hóa học và sinh học.

#### *a. Các yếu tố vật lý*

##### *\* Nhiệt độ*

Nhiệt độ có ảnh hưởng rất lớn đối với hoạt động sống của vi sinh vật. Mọi loài vi sinh vật chỉ có khả năng hoạt động trong một giới hạn nhiệt độ nhất định. Thường chia làm 3 điểm: nhiệt độ cực tiểu, cực đại và tối thích.

Theo quan hệ của vi sinh vật với nhiệt độ có thể chia làm 3 loại: vi sinh vật ưa lạnh, ưa ấm, ưa nóng (kể cả chịu nhiệt).

Vi sinh vật ưa lạnh (psychrophile): nhiệt độ tối thích từ  $10-18^{\circ}\text{C}$ , tối đa khoảng  $30^{\circ}\text{C}$  thường gặp ở vùng địa cực.

Vi sinh vật ưa ấm (mezophile): nhiệt độ tối thích từ  $25-37^{\circ}\text{C}$ , tối thiểu khoảng  $10^{\circ}\text{C}$ , tối đa từ  $40-50^{\circ}\text{C}$ , rất phổ biến, như nấm mốc, nấm men, tất cả các vi

sinh vật gây ảnh hưởng cho người và động vật đều thuộc loại này.

Vi sinh vật ưa nóng (thermophile): nhiệt độ tối thích từ  $50-65^{\circ}\text{C}$ , nhiệt độ tối thiểu khoảng  $30^{\circ}\text{C}$  và tối đa từ  $70-80^{\circ}\text{C}$ , thường gặp ở các suối nước nóng, đồng phân rác ủ. Ta còn thấy những vi sinh vật sống ở nhiệt độ cao hơn-những vi sinh vật chịu nhiệt.

#### \* Nhiệt độ cao

Nhiệt độ cao có ảnh hưởng rất mạnh và trực tiếp đối với cơ thể vi sinh vật. Nói chung, nhiệt độ từ  $60-70^{\circ}\text{C}$  kéo dài trong 30 phút có thể tiêu diệt hầu hết các thể dinh dưỡng. Nhiệt độ cao gây biến tính protein trong tế bào. Do đó tế bào chất và enzym bị đình chỉ hoạt động. Tính chịu nhiệt của các loại vi sinh vật rất khác nhau. Thường nấm men, nấm mốc chết khá nhanh ở nhiệt độ  $50-60^{\circ}\text{C}$ . Một số vi khuẩn chịu nhiệt thì  $80-90^{\circ}\text{C}$  mới bị tiêu diệt.

Tốc độ chết của vi sinh vật phụ thuộc rất nhiều vào hàm lượng nước chứa trong tế bào. Lượng nước chứa càng ít, sức chịu đựng nhiệt độ càng cao. Do hàm lượng nước trong bào tử rất ít nên bào tử có tính chịu nhiệt rất cao. Bào tử của *B. subtilis* đun sôi trong 2 giờ mới bị tiêu diệt. Trong môi trường ẩm vi sinh vật bị tiêu diệt nhanh hơn môi trường khô. Vì vậy, khi dùng sức nóng khô vi sinh vật bị tiêu diệt ở  $160-170^{\circ}\text{C}$ , nhưng khi dùng sức nóng ướt chỉ cần  $120^{\circ}\text{C}$  chúng đã bị tiêu diệt.

Nhiệt độ càng cao thời gian vi sinh vật bị tiêu diệt càng ngắn.

Ngoài ra, tính chịu nhiệt của vi sinh vật còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác như độ pH môi trường, thế oxy hóa-khử, hóa chất, giai đoạn phát triển của cá thể.

Các phương pháp khử trùng bằng nhiệt độ cao có thể chia làm 2 loại chủ yếu là khử trùng bằng sức nóng khô và sức nóng ướt.

**\* Khử trùng bằng sức nóng khô**

- Nung đốt: đối với các dụng cụ bằng kim loại, thủy tinh... (như đầu que cấy, ống nghiệm, pipet...) thì chỉ cần hơ trên ngọn lửa đèn cồn trong vài phút. Một số dụng cụ khác (như cối, chày...) có thể tẩm cồn đốt. Những vật cần khử trùng triệt để (như bông băng bẩn, xác động vật mang bệnh truyền nhiễm...) có thể đốt cháy thành than.

- Sấy bằng sức nóng khô: có thể dùng lò pasteur hay các tủ sấy điện khử trùng ở nhiệt độ  $160-170^{\circ}\text{C}$  từ 30-120 phút. Phương pháp này thường sử dụng để khử trùng các dụng cụ kim loại, thủy tinh chịu nhiệt cao, bông băng... Cần chú ý làm khô dụng cụ thủy tinh trước khi sấy để tránh vỡ; giấy bông sấy ở nhiệt độ cao hơn  $170^{\circ}\text{C}$  có thể chuyển thành màu vàng và cháy.

**\* Khử trùng bằng sức nóng ướt**

- Đun sôi: Vi sinh vật trong nước sôi từ 10-15 phút bị tiêu diệt hầu hết, chỉ một số bào tử chịu nhiệt còn tồn tại. Phương pháp này thường dùng khử trùng kim tiêm, bơm tiêm, chai lọ.... Trong chế biến thực phẩm, phương pháp luộc vừa có tác dụng làm chín thực phẩm lại vừa có tác dụng khử trùng. Khi đun nước uống cần để sôi 15 phút. Song, đối với các dịch

thực phẩm giàu dinh dưỡng, khi đun sôi có thể bị phân hủy một số chất dinh dưỡng hoặc làm thay đổi màu sắc, mùi, vị...

- Hấp ở áp suất thường: Có hai phương pháp hấp liên tục và hấp gián đoạn.

+ Hấp liên tục: thường hấp trong hơi nước sôi từ 30-60 phút có thể tiêu diệt tất cả thể sinh dưỡng và một số lớn bào tử. Lò cốc (Koch) là dụng cụ khử trùng áp dụng nguyên tắc này.

+ Hấp gián đoạn: còn gọi là phương pháp Tyndall. Đối với các môi trường và vật liệu có thể bị phá hủy ở nhiệt độ cao hơn  $100^{\circ}\text{C}$  như môi trường huyết thanh... phải khử trùng theo phương pháp gián đoạn, lần thứ nhất hấp 1 giờ ở  $75^{\circ}\text{C}$ , thể sinh dưỡng chết hết, còn lại một số bào tử. Để môi trường ở nhiệt độ  $30-37^{\circ}\text{C}$  cho bào tử phát triển thành thể dinh dưỡng, 24 giờ sau lại hấp như lần đầu. Quá trình tiến hành như vậy từ 3-7 lần, có thể tiêu diệt được hầu hết vi sinh vật và bào tử của vi khuẩn trong môi trường.

- Hấp áp lực cao: Khi hấp ở nhiệt độ hơn  $100^{\circ}\text{C}$  người ta thường sử dụng thiết bị đặc biệt là nồi hấp áp lực cao (autoclave).

Tùy theo sức chịu nhiệt của vật khử trùng có thể hấp ở các nhiệt độ khác nhau. Thường người ta hấp ở 1 atm trong 15-30 phút có thể tiêu diệt hoàn toàn vi sinh vật.

Phương pháp này thường dùng trong khử trùng môi trường, thực phẩm... đặc biệt là trong công nghệ đồ hộp chế độ thanh trùng phải thực hiện rất nghiêm

chính. Mặc dù trong hộp đã hút hết oxy, nhưng nếu còn vi sinh vật yếm khí thì chúng sẽ tiến hành phân hủy sản phẩm, kết quả là đồ hộp bị hỏng.

Hiệu quả thanh trùng phụ thuộc nhiều vào số lượng vi sinh vật trong môi trường, thành phần hóa học của sản phẩm, nếu chứa nhiều chất béo hiệu quả thanh trùng càng thấp, ngược lại sản phẩm có nhiều đường, muối, axit hiệu quả càng cao. Vì vậy, khi khử trùng đồ hộp thường có chế độ riêng cho từng loại sản phẩm khác nhau.

- Hấp pasteur: thường tiến hành ở nhiệt độ  $56-60^{\circ}\text{C}$  trong 30 phút hay ở nhiệt độ  $70-90^{\circ}\text{C}$  trong 5-10 phút tùy theo loại sản phẩm. Phương pháp này chỉ tiêu diệt một phần lớn thể sinh dưỡng, còn một số vi sinh vật ưa nóng và bào tử không tiêu diệt được. Phương pháp này thường được dùng để thanh trùng nhiều loại thực phẩm dễ hư hỏng hay giảm phẩm chất ở nhiệt độ cao như sữa bia, rượu vang, nước hoa quả... Có thể khử trùng 2-3 lần, sau mỗi lần để sản phẩm ở nhiệt độ trong phòng khoảng 24 giờ để cho các bào tử còn sót nảy mầm và sau lần thứ ba có thể diệt hết vi sinh vật có trong sản phẩm.

#### \* Nhiệt độ thấp

Khi hạ nhiệt độ xuống thấp vi sinh vật không bị ảnh hưởng mãnh liệt như lúc tăng nhiệt độ lên cao. Thí dụ: mốc *A. niger* nhiệt độ tối thích là  $35^{\circ}\text{C}$ . Nếu tăng hơn  $7^{\circ}\text{C}$  khuẩn ty giảm hàng trăm lần, khi hạ hơn  $15^{\circ}\text{C}$  khuẩn ty chỉ giảm 12 lần. Thường nhiệt độ thấp không thể tiêu diệt được vi sinh vật, chỉ gây ức chế mọi hoạt động sống của chúng. Điều này liên

quan tới sự giảm năng lượng hoạt động của các chất trong tế bào, các phản ứng hóa sinh tiến hành khó khăn hơn. Các loại vi sinh vật có khả năng hoạt động ở nhiệt độ thấp khác nhau. Nhiệt độ cực tiểu đối với đại đa số vi sinh vật là từ  $0-4^{\circ}\text{C}$ . Có loại vẫn phát triển (tuy rất chậm) ở nhiệt độ  $-5^{\circ}\text{C}$ . Ở nhiệt độ thấp, đại đa số vi sinh vật chuyển sang trạng thái tiềm sinh.

Trong thực tế, người ta dựa vào đặc điểm này để tiến hành bảo quản vi sinh vật cũng như bảo quản thực phẩm.

- Bảo quản vi sinh vật: Giống sau khi phát triển tốt trên môi trường thích hợp trong ống nghiệm được giữ ở tủ lạnh ( $2-8^{\circ}\text{C}$ ).

- Bảo quản lạnh thực phẩm có 2 phương pháp:

- + Bảo quản lạnh thường: Nhiệt độ bảo quản lạnh thường từ  $-1^{\circ}\text{C}$  đến  $0^{\circ}\text{C}$ . Ở nhiệt độ này dịch trong sản phẩm chưa đóng băng (nước trong thịt đóng băng từ  $-0,3$  đến  $-1,2^{\circ}\text{C}$ , cá từ  $-1,5$  đến  $-1,8^{\circ}\text{C}$ ; hoa quả từ  $-1,8$  đến  $-2,3^{\circ}\text{C}$ ...). Tuy nhiên có một số vi khuẩn ưa lạnh vẫn hoạt động ở nhiệt độ này, cho nên trong các kho lạnh của nhà máy hoa quả vẫn thấy có các hoa quả bị thối dần nếu bảo quản trong thời gian dài.

- + Bảo quản lạnh đông: Giữ thực phẩm ở nhiệt độ từ  $-10$  đến  $-25^{\circ}\text{C}$ , ở nhiệt độ này vi sinh vật hoàn toàn bị ức chế vì ngoài nhiệt độ thấp chúng còn bị khô, do nước trong thực phẩm tạo thành những tinh thể băng. Tuy nhiên, những tinh thể này có thể gây nên biến đổi cơ học và hóa lý của thực phẩm. Khi làm tan băng, thực phẩm thường bị chảy nước, mang theo

nhiều chất dinh dưỡng quý. Ở các nước tiên tiến phương pháp này được sử dụng nhiều để bảo quản thịt cá, đặc biệt ở các kho cần bảo quản lâu dài hoặc vận chuyển đường dài, trên biển.

### \* Độ ẩm

Tế bào vi sinh vật chứa lượng nước rất lớn (70-85%). Muốn trao đổi chất và tiến hành mọi hoạt động khác, vi sinh vật cần có lượng nước nhất định trong môi trường. Những loại vi sinh vật khác nhau yêu cầu các độ ẩm khác nhau. Những vi sinh vật kỵ khí hoặc kỵ khí tùy tiện có thể sống trong môi trường lỏng hoặc môi trường rắn như đất, bùn... ngập nước, nhưng những vi sinh vật hiếu khí như nấm mốc, xạ khuẩn chỉ phát triển trên mặt môi trường lỏng hoặc môi trường rắn có độ ẩm tối thích từ 55-65%.

Trong điều kiện khô hạn các vi khuẩn chết rất nhanh, như vi khuẩn axetic; có loại chịu được khô hạn trong thời gian dài như vi khuẩn thương hàn, vi khuẩn lactic, chịu được khô hạn hàng tháng có khi tới hàng năm. Trong protein khô nhiều loại vi khuẩn có thể giữ hoạt động trong thời gian dài hơn, như trực khuẩn lao sống trong đờm khô được nửa năm hoặc hơn.

Đặc biệt là bào tử của vi khuẩn, nấm mốc, xạ khuẩn có thể tồn tại trong điều kiện khô hạn lâu hơn nhiều. Trực khuẩn than, uốn ván có thể sống hàng chục năm hoặc hơn trong điều kiện khô hạn.

Thường mỗi loài vi sinh vật có một giới hạn về độ ẩm tối thiểu để phát triển (cực tiểu). Đối với nấm mốc thường độ ẩm cực tiểu là 15%, vi khuẩn từ 20-30%. Tuy

nhiên ngoài độ ẩm môi trường, cũng cần đặc biệt chú ý đến độ ẩm của không khí. Giữa môi trường và không khí có một sự cân bằng về độ ẩm. Vi khuẩn đòi hỏi trong môi trường có nước dưới dạng giọt hoặc dung dịch, nhưng mốc có thể phát triển trên cơ chất rắn có độ ẩm không khí nhất định. Độ ẩm không khí tối thích với mốc là 95-100%, độ ẩm cực tiểu là 65-70%.

Đáng chú ý là tế bào sinh dưỡng có thể rất dễ dàng chuyển sang trạng thái khô trong điều kiện lạnh. Nếu làm khô tế bào và đặt trong môi trường hút hết khí (tốt nhất là chân không) thì hoạt động sống bị ức chế, nhưng nhiều tế bào không chết.

\* Nồng độ các chất hòa tan.

Lượng chất hòa tan của môi trường có ảnh hưởng nhiều đến hoạt động sống của vi sinh vật. Nếu nồng độ dung dịch môi trường cao, sẽ làm cho tế bào lâm vào tình trạng khô hạn sinh lý. Trong trường hợp này mặc dù chung quanh tế bào còn nước, nhưng vì áp suất thẩm thấu của môi trường ngoài lớn hơn trong tế bào, nên nước không thể xâm nhập vào được, ngược lại còn làm nước trong tế bào thoát ra ngoài. Sự chênh lệch áp suất càng cao lượng nước bị rút ra càng nhiều, có thể dẫn tới tình trạng co nguyên sinh, quá trình trao đổi chất bị ảnh hưởng rất lớn. Tuy vậy, nồng độ dung dịch cao không tiêu diệt được ngay vi sinh vật. Nhiều loại vi sinh vật có khả năng thích ứng nhanh chóng với nồng độ dung dịch cao.

Nếu nồng độ dung dịch ngoài tế bào quá thấp, thí dụ: đặt tế bào trong nước cất. Do áp suất nội bào cao hơn nhiều, nên nước từ môi trường xâm nhập vào tế

bào rất nhanh, có thể làm tế bào trương phồng lên (hiện tượng trương nguyên sinh).

Trong thực tế phương pháp dùng nồng độ chất hòa tan cao (nhất là muối và đường) được áp dụng rất rộng rãi.

Người ta thường dùng muối  $\text{NaCl}$  trong bảo quản thực phẩm, vì muối này có năng lực thẩm thấu rất cao. Nồng độ muối trong sản phẩm 3-5% làm chậm sự phát triển của vi sinh vật, 10-12% hầu như hoạt động sống của tất cả vi sinh vật bị ngừng lại. Một số vi sinh vật có thể sinh trưởng được trong môi trường có nồng độ muối cao 20% hoặc hơn, thí dụ như *Bact. vermicosum*, chúng được xếp vào nhóm ưa mặn. Vì vậy trong thực tế người ta thường sử dụng nồng độ muối khác nhau tùy loại sản phẩm: thịt là 30%, cá là 20%...

Cần chú ý là nồng độ muối cao thường ức chế vi sinh vật chứ không tiêu diệt được chúng. Nhiều vi khuẩn hoại sinh còn giữ được hoạt động sống trong dung dịch muối bão hòa. Thí dụ: *Bact. coli* có thể giữ được hoạt động sống trên điều kiện này hơn 6 tuần.

Ngoài muối người ta cũng hay dùng đường để bảo quản thực phẩm. Nói chung khi ở trong sản phẩm có nồng độ đường 60-70% phần lớn các vi sinh vật ngừng hoạt động. Tuy nhiên: có một số nấm mốc vẫn phát triển được ở nồng độ đường 70-80%. Chúng có thể gây hỏng mật, mứt. Nồng độ đường cao thường chỉ sử dụng trong sản xuất các loại kẹo, mứt. Nhưng trong sản xuất hoa quả hộp, độ đường thường chỉ từ 20-30%. Để bảo quản tốt thường phải khử trùng sản phẩm ở nhiệt độ thích hợp sau khi đã đóng trong hộp kín.

### \* Các tia năng lượng

Ánh sáng mặt trời có tác dụng trực tiếp đối với đại đa số vi sinh vật (trừ loại vi sinh vật quang tổng hợp phát triển tốt ngoài ánh sáng). Ánh sáng trực tiếp tiêu diệt vi sinh vật sau vài phút hay vài giờ. Ánh sáng khuếch tán ức chế một số vi sinh vật, nó chỉ gây chết khi tác dụng kéo dài. Các loài vi sinh vật chịu tác dụng của ánh sáng khác nhau. Vi khuẩn gây bệnh cảm ứng nhạy với ánh sáng. Thí dụ: trực khuẩn lao ngoài ánh sáng chết sau 20-30 phút.

Phần có tác dụng mạnh với vi sinh vật là tia tử ngoại (cực tím). Tất cả các tia tử ngoại có bước sóng từ 2000-3000 Å<sup>0</sup> đều có tác dụng sát trùng, nhưng hiệu quả nhất là các tia có bước sóng 2650-2660 Å<sup>0</sup>. Tia tử ngoại có tác dụng làm phân hủy một số chất hữu cơ trong tế bào, làm đông tụ protit, làm mất hoạt tính enzym phá hủy tế bào vi sinh vật. Tuy nhiên với một lượng nào đó tia này có thể tác dụng lên bộ gen, làm ảnh hưởng tính di truyền và gây biến đổi.

Bào tử của vi khuẩn, nấm cũng bị tiêu diệt bởi tia tử ngoại nhưng sức chịu đựng của bào tử cao hơn. Muốn tiêu diệt bào tử phải tăng liều lượng lên 4-5 lần so với thể sinh dưỡng.

Tia hồng ngoại ít có tác dụng với vi sinh vật, chỉ làm tăng nhiệt môi trường và thường dùng để sấy khô sản phẩm.

Từ lâu nhân dân đã biết dùng ánh sáng mặt trời để khử trùng thực phẩm, đồ dùng bằng cách đem phơi ngoài nắng và mở cửa cho ánh sáng lọt vào nhà. Ngày nay đèn tử ngoại đã được sử dụng rất phổ biến

để khử trùng không khí ở phòng mổ, tủ cấy vi sinh vật thanh trùng thực phẩm, nước uống, bao bì, thiết bị... Ngoài ra, tia tử ngoại còn được sử dụng để chữa bệnh (như lao da) và gây đột biến vi sinh vật. Tuy nhiên cũng cần chú ý là tia tử ngoại tuy tác dụng rất mạnh, nhưng khả năng đâm xuyên rất kém nên sử dụng nó cũng bị hạn chế.

Các tia X (Rơn ghen) và các tia phóng xạ (gam, bêta, an pha) tác dụng lên cơ thể vi sinh vật khác nhau tùy theo liều lượng chiếu. Nếu chiếu với lượng ít và không liên tục thì có thể kích thích sự sinh sản phát triển của chúng. Một số vi sinh vật có thể nâng cao sự tổng hợp lipid, protit, axit nucleic, chất kháng sinh... khi được chiếu xạ, nhưng với liều lượng cao có thể gây chết vi sinh vật. Nhìn chung tác dụng của các tia trên gây biến đổi sâu sắc trong các quá trình sinh hóa và cấu trúc của tế bào. Một trong những tác dụng gây chết mạnh là do ion hoá các chất của tế bào tạo nên các hợp chất độc như peoxyt, oxy hóa các gốc - SH trong protit và các enzym trong tế bào cũng như oxy hóa các chất khác.

Các tia X và tia phóng xạ: đã được sử dụng gây biến đổi vi sinh vật, khử trùng và đang được nghiên cứu trong việc bảo quản thực phẩm.

Sóng vô tuyến điện có bước sóng dài và ngắn không gây tác dụng lên vi sinh vật, nhưng sóng vô tuyến cực ngắn dưới 10 m (vi sóng) có tác dụng khá mạnh với chúng. Khi chiếu qua môi trường nó sẽ gây nên một dòng cao tần và làm thoát ra một hiệu ứng nhiệt làm nóng rất nhanh môi trường. Tuy nhiên tác dụng này phụ thuộc vào các chất trong môi trường và hằng số điện môi. Ngày nay vi sóng đã được sử dụng

để thanh trùng thực phẩm. Trong công nghệ đồ hộp các loại sản phẩm hoa quả sau khi thanh trùng vẫn giữ được phẩm chất cao về mùi, vị, vitamin... Cần chú ý là vi sóng có thể đi qua thủy tinh, nhưng kim loại thì không đi qua được.

#### **\* Siêu âm**

Siêu âm được tạo thành do những dao động với tần số cao trên 200.000 dao động/giây (200.000 hec), siêu âm tác dụng rất mạnh lên tế bào vi sinh vật. Nhiều vi sinh vật bị chết chỉ sau khi có tác dụng của siêu âm trong 1 phút. Siêu âm gây nên những chấn động trong dung dịch làm vi sinh vật bị ép và va chạm mạnh có thể làm vỡ vỏ tế bào, đồng thời tạo nên trong môi trường những chất độc đối với vi sinh vật như  $H_2O_2$ , nitơ oxyt. Siêu âm còn tạo nên những bọt khí hòa tan trong nguyên sinh chất và môi trường làm ảnh hưởng lớn đến hoạt động của vi sinh vật.

Hiện nay người ta đã sử dụng siêu âm trong thanh trùng nước uống, rượu, các đồ giải khát...

#### ***b. Các yếu tố hóa học***

Trong các yếu tố hóa học có ảnh hưởng đến hoạt động sống của vi sinh vật, ngoài yếu tố thức ăn, còn nhiều yếu tố khác như phản ứng của môi trường (pH), thế oxy hóa - khử, các chất độc...

#### **\* pH môi trường**

pH môi trường có ảnh hưởng rất lớn đối với hoạt động sống của vi sinh vật. Do nó làm ảnh hưởng tới quá trình trao đổi chất của vi sinh vật, pH thay đổi làm điện tích màng tế bào chất thay đổi dẫn đến sự thay đổi tính thẩm thấu của màng. Cho nên sự hấp

thụ các loại thức ăn cũng thay đổi, thêm vào đó pH làm thay đổi hẳn chiều hướng của các phản ứng, thí dụ men rượu trong quá trình lên men trong môi trường axit yếu (pH 4-5) tạo thành  $C_2H_5OH$  và  $CO_2$  trong môi trường kiềm tạo thành glyxerin. Vi khuẩn butiric trong môi trường trung tính chủ yếu lên men biến đường thành axit butiric, nhưng trong môi trường axit, cho sản phẩm lên men là butanol và axeton. Ngoài ra, pH còn ảnh hưởng đến sự phân ly của các cấu tử thức ăn trong môi trường, do đó sự hấp thụ chúng vào trong tế bào cũng thay đổi.

Mỗi loài vi sinh vật có pH tối thích và pH cực tiểu, cực đại riêng. Nói chung vi khuẩn, xạ khuẩn, nguyên sinh động vật phát triển thích hợp ở pH 6,5-7,5. Vi khuẩn gây thối phát triển trong môi trường kiềm, trong môi trường axit nó sẽ bị ức chế, thậm chí còn bị chết. Nhiều nấm men và nấm mốc phát triển thích hợp ở pH 3-6. Nếu pH không thích hợp, vi sinh vật có thể bị ức chế, phát triển kém hay bị tiêu diệt. Nhưng nhiều vi sinh vật trong quá trình hoạt động sống lại có khả năng tiết ra những chất làm thay đổi pH môi trường, làm cho pH môi trường từ không thích hợp chuyển sang thích hợp hoặc ngược lại. Thí dụ: vi khuẩn lactic lúc đầu tiến hành lên men đường tạo thành axit làm môi trường thay đổi từ pH 6-7 chuyển sang pH 5 thích hợp cho hoạt động sống của chúng. Sau vì axit quá nhiều pH giảm quá thấp làm vi khuẩn lactic phát triển ngày càng kém.

Trong thực tế khi nuôi cấy vi sinh vật cần tạo pH thích hợp để chúng phát triển mạnh. Trong sản xuất

nếu chú ý điều chỉnh pH thích hợp cho loại vi sinh vật nuôi cấy có thể hạn chế được tạp khuẩn. Để giữ pH môi trường không thay đổi thường phải bổ sung các chất đệm trong dung dịch, thường dùng hệ đệm là photphat trong nuôi cấy vi sinh vật ở điều kiện nghiên cứu: trong phòng thí nghiệm.

Trong chế biến và bảo quản thực phẩm người ta thường sử dụng axit hữu cơ, như axit axetic, axit lactic để hạn chế sự phá hoại của vi sinh vật. Chỉ cần axit axetic 3% cũng ức chế mạnh vi khuẩn gây thối. Một số nấm có khả năng dùng axit axetic làm nguồn dinh dưỡng cacbon, chúng có khả năng phát triển trên nấm có nồng độ tới 10%. Vì vậy khi ngâm nấm cần dùng nồng độ 5-6% và để trong bao bì kín, tốt nhất là đóng hộp và khử trùng như trong sản xuất dưa chuột dầm dấm.

Ngoài ra, chúng ta cũng có thể dùng vi khuẩn lactic tiến hành lên men lactic để muối chua rau quả, làm nem chua, măng chua, xúc xích lên men, sản phẩm bảo quản được lâu dài.

Trong nông nghiệp bón vôi cho đất chua là biện pháp điều chỉnh pH để vi sinh vật đất hoạt động tốt.

#### \* Thế oxy hóa - khử

Thế oxy hóa - khử của môi trường có thể kích thích hay ức chế hoạt động sống của từng nhóm vi sinh vật.

- Vi sinh vật hiếu khí phát triển ở thế oxy hóa - khử cao. Chúng có hệ enzym hô hấp đầy đủ để tiến hành quá trình oxy hóa dùng  $O_2$  làm chất nhận  $H_2$  cuối cùng, vì vậy oxy trong môi trường làm cho hoạt động của chúng được tăng cường.

- Vi sinh vật kỵ khí không có hệ enzym trên nên không sử dụng được  $O_2$  làm chất nhận  $H_2$ , thậm chí  $O_2$  có thể là chất độc. Nồng độ  $H_2O_2$ , 0,0004% thậm chí có thể ức chế hoạt động của chúng.

- Vi sinh vật kỵ khí tùy tiện có thể sống trong điều kiện thế oxy hóa khử thay đổi.

Thế oxy hóa-khử còn làm thay đổi chiều hướng của quá trình hóa sinh của vi sinh vật, nhất là loài kỵ khí tùy tiện. Thí dụ: men rượu ở môi trường không có oxy tiến hành lên men rượu, trong môi trường có đủ oxy lại tiến hành quá trình oxy hóa và tăng sinh khối.

\* Các chất độc đối với vi sinh vật

Nhiều chất hóa học có thể làm ức chế hoạt động của vi sinh vật hoặc tiêu diệt chúng. Nói chung các chất độc thường tác dụng trực tiếp đối với nguyên sinh chất, phá hoại cấu trúc của nó và các quá trình hoạt động sống bình thường của tế bào bị ảnh hưởng hoặc đình chỉ.

Các chất khác nhau tác dụng lên cơ thể vi sinh vật cho những hiệu quả khác nhau.

Muối của kim loại nặng, rượu, phenol và một số hợp chất khác làm đông tụ protein và các enzym, phá hoại cấu trúc tế bào, làm đình chỉ các phản ứng hóa sinh. Axit kiềm, các hợp chất oxy hóa mạnh như clo, vôi clorua, có thể oxy hóa các hợp chất hữu cơ và phân giải chúng, đặc biệt là protein-trong tế bào. Các chất có áp suất thẩm thấu cao như muối, đường, glyxerin với nồng độ cao gây hiện tượng co nguyên sinh, phá hoại sự trao đổi chất. Aldehyt và một số muối khác kết hợp với protit của nguyên sinh chất

làm thay đổi hoạt tính hóa học của chúng, đặc biệt là các chất kháng sinh (penixilin, streptomycin...) có tác dụng mạnh đến tế bào một số vi sinh vật, gây ức chế hoặc tiêu diệt chúng.

Cùng một loại hóa chất tác dụng lên các loài vi sinh vật khác nhau cho hiệu quả cũng rất khác nhau.

Tác dụng của chất độc phụ thuộc vào nồng độ. Nếu hàm lượng rất thấp nhiều chất độc không ức chế vi sinh vật, thậm chí còn kích thích chúng.

Cùng một loại hóa chất có tác dụng rất khác nhau đối với thể sinh dưỡng và bào tử. Thường bào tử có sức chịu đựng cao hơn nhiều.

Ngày nay nhiều hóa chất đã được sử dụng làm chất kích thích, chất phòng thối và sát trùng trong nhiều lĩnh vực công nghiệp thực phẩm, y học và chăn nuôi.

Trong công nghiệp thực phẩm, như trong sản xuất một số đồ hộp hoa quả, nước chấm... người ta sử dụng một số chất phòng thối như axit socbic, axit xalysilic, axit benzoic và muối natribenzoat,  $\text{SO}_2$ ... với nồng độ cho phép. Yêu cầu khi sử dụng những chất này là phải bảo đảm không có mùi vị xấu và gây độc với người cũng như đối với sản phẩm.

Cồn etylic ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) tác dụng sát khuẩn mạnh nhất là cồn 75-80%. Nồng độ cao hơn sự xâm nhập vào tế bào gặp khó khăn. Cồn được dùng khử trùng tay, dụng cụ thiết bị ở nồng độ 50-70%. Đối với các loài và dạng vi sinh vật có độ bền đối với cồn cũng khác nhau. Các vi sinh vật không có bào tử trong cồn sẽ bị chết sau vài phút, nhưng với bào tử của chúng thì cồn tác dụng rất yếu.

Những chất sát khuẩn này thường được sử dụng dưới dạng dung dịch, nhũ tương, huyền phù hay để bay hơi... tùy theo mục đích yêu cầu và điều kiện khử trùng.

### *c. Các yếu tố sinh học*

Các sinh vật (động, thực vật, nguyên sinh động vật) ảnh hưởng đến hoạt động sống của vi sinh vật thông qua mối quan hệ tương hỗ khá phức tạp trong tự nhiên. Có thể chia các mối quan hệ đó làm các loại sau:

- Quan hệ cộng sinh là mối quan hệ giữa 2 hay nhiều vi sinh vật cùng dựa vào nhau trong quá trình phát triển và chung sống. Cộng sinh có thể ở các cá thể cùng loài hoặc khác loài.

- Quan hệ hỗ sinh là mối quan hệ giữa các loài sinh vật mà sản phẩm hoạt động sống của loài này tạo điều kiện cần thiết cho sinh vật khác phát triển. Giữa các vi sinh vật có thể có mối quan hệ này.

Thí dụ: Vi sinh vật phân giải tinh bột thành đường, giúp cho nấm men tiến hành lên men đường thành rượu, rồi vi khuẩn axetic lại dùng nguồn rượu để oxy hóa, như vậy sự hỗ sinh có thể gián đoạn hoặc theo dây chuyền.

Giữa vi sinh vật và động vật cũng vậy. Thí dụ vi sinh vật amoni hóa phân giải chất hữu cơ thành vô cơ chứa N giúp cho thực vật hấp thụ để phát triển.

- Quan hệ ký sinh là mối quan hệ chỉ có một chiều. Loại sinh vật này sống trên cơ thể loại sinh vật khác (vật chủ) nhờ chất dinh dưỡng của vật chủ. Thí dụ: thực khuẩn thể ký sinh trên vi khuẩn, nhiều loại vi sinh vật ký sinh trên thực vật và động vật. Nhìn

chung, mối quan hệ này làm cho các hoạt động của vật chủ bị phá hoại, thậm chí vật chủ có thể bị chết và điều nguy hiểm là vật chủ có thể trở thành nguồn lây nhiễm những vật ký sinh cho đồng loại.

- Quan hệ kháng sinh là mối quan hệ đối kháng giữa các sinh vật. Sự có mặt của loại này có thể gây tác dụng ức chế hoặc tiêu diệt loại khác.

Thí dụ: Vi khuẩn lactic sinh ra axit lactic ức chế sự phát triển vi khuẩn gây thối. Mốc *Penicillium notatum* và *P. chrysogenum* sinh chất kháng sinh penixilin tiêu diệt được nhiều loại vi khuẩn và rất nhiều chất kháng sinh khác nữa do xạ khuẩn sinh ra được sử dụng trong y học làm thuốc diệt khuẩn chữa được nhiều bệnh nhiễm khuẩn hiểm nghèo. Ngoài các chất kháng sinh có nguồn gốc vi sinh vật còn phải kể đến các chất fitonxit - chất kháng sinh thực vật. Fitonxit có trong hành tỏi, mù tạt (cải dầu), củ cải ngựa, củ cải cay... Những chất này có tính diệt mao trùng, vi khuẩn, nấm men và nấm mốc. Tác dụng của các loại chất kháng sinh phụ thuộc vào bản chất của chất đó, số lượng, thời gian và đối tượng tác dụng.

Trong nhiều lĩnh vực công nghiệp, nông nghiệp, y học người ta đã sử dụng các mối quan hệ giữa vi sinh vật với động, thực vật và các vi sinh vật để phục vụ cho lợi ích con người. Thí dụ: trong sản xuất thực phẩm như sản xuất bánh mì, nước uống, rượu, người ta đã sử dụng các vi sinh vật có quan hệ hỗ sinh, cụ thể là dùng vi khuẩn lactic để tạo pH thích hợp cho nấm men phát triển tốt trong bánh mì, hay dùng nấm mốc thủy phân tinh bột thành đường làm nguyên liệu cho nấm men lên men rượu.

Mỗi quan hệ kháng sinh được vận dụng rất tài tình trong lĩnh vực y học, công nghiệp thực phẩm, chăn nuôi... Thí dụ: dùng vi khuẩn lên men lactic để ức chế hoạt động của vi khuẩn gây thối. Dùng vi khuẩn *B. subtilis* để tiêu diệt các vi khuẩn gây bệnh phổi, phế quản và đường ruột.

Trong nông nghiệp đã chú ý sử dụng các vi sinh vật cộng sinh với cây họ đậu để tăng năng suất mùa màng. Ngay cả những vi sinh vật kỵ khí cũng đã được sử dụng. Hiện nay người ta đã dùng các loại vi khuẩn gây bệnh thương hàn ở chuột để diệt chuột và dùng thực khuẩn thể để tiêu diệt một số vi khuẩn...

Trong bảo quản thực phẩm ở khoảng vài thập kỷ cuối thế kỷ này có dùng các chất kháng sinh, nhưng còn nhiều điều cần phải suy nghĩ vì có thể làm cho các vi sinh vật gây bệnh tăng tính kháng thuốc. Gần đây người ta chú ý nhiều đến những chất kháng sinh có nguồn gốc từ vi sinh vật, nhưng không dùng trong y học. Thí dụ: Chất kháng sinh từ liên cầu khuẩn lactic (*streptococcus lactis*) sinh ra bacterioxin có hoạt tính kháng sinh (chất này được gọi là nizin). Nizin là chất ức chế sinh trưởng các vi khuẩn sinh bào tử bên với nhiệt-tác nhân gây hư hỏng đồ hộp, cũng như tụ cầu vàng *staphylococcus* cùng nhiều vi khuẩn lactic khác. Nizin được dùng trong công nghiệp đồ hộp để làm giảm bào tử vi khuẩn bên với nhiệt trong sản phẩm được thanh trùng, cũng như trong chế biến sữa đặc, phomat mềm.

### III. QUÁ TRÌNH CHẾ BIẾN, BẢO QUẢN THỰC PHẨM

Trong quá trình sống của vi sinh vật, những quá trình hóa sinh khác nhau được sinh ra làm ảnh hưởng lớn đến vòng tuần hoàn trong tự nhiên và những quá trình này được ứng dụng trong hàng loạt ngành sản xuất cũng như làm cơ sở khoa học để chọn các phương pháp bảo quản và chế biến thực phẩm thích hợp.

Những quá trình hóa sinh này chia thành hai loại: lên men và thối rữa. Lên men là quá trình chuyển hóa các vật chất hữu cơ không chứa nitơ (hydrat cacbon, chất béo) dưới tác dụng của vi sinh vật, còn thối rữa là quá trình phân hủy các hợp chất chứa nitơ. Lên men lại chia thành lên men kỵ khí và lên men hiếu khí.

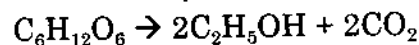
#### A. LÊN MEN KỴ KHÍ

Lên men kỵ khí do các vi sinh vật kỵ khí hoặc kỵ khí tùy tiện gây ra.

##### 1. Lên men rượu

Lên men rượu là quá trình phân hủy đường thành rượu và khí cacbonic dưới tác dụng của vi sinh vật.

Lên men rượu tóm tắt theo phương trình sau:



(glucoza) (rượu etylic) (cacbonic)

Nấm men là vi sinh vật chủ yếu gây ra lên men rượu. Trong nấm men có hệ enzym lên men gọi là zimaza, đó là enzym nội bào. Ngoài ra, một số vi khuẩn và mốc mucor cũng gây lên men rượu. Quá trình lên men còn thấy ở tế bào các thực vật bậc cao trong điều kiện thiếu oxy, trong quá trình bảo quản các nguyên liệu thực vật (rơm, cỏ) không được thoáng khí.

Phương trình tổng quát nêu ra ở trên chỉ cho thấy nguyên liệu đầu và sản phẩm chính còn thực ra quá trình lên men rất phức tạp qua nhiều giai đoạn và tạo thành nhiều sản phẩm phụ: glyxerin, aldehyt axetic, các axit xucsinic, axetic, lactic và xitric, các este và rượu bậc cao.

Glyxerin tạo thành tới 3,6% và chỉ tạo thành ở giai đoạn đầu lên men, do đó có thể sản xuất glyxerin từ hydrat cacbon. Nếu thêm vào dịch lên men natribisunfit thì glyxerin, khí  $\text{CO}_2$  và aldehyt axetic được tạo thành nhiều hơn. Hiệu suất glyxerin có thể đạt tới 20-25%.

Lên men ở môi trường kiềm thì một phân tử glucoza tạo thành một phân tử glyxerin và một phân tử aldehyt axetic (một nửa chất này tạo thành axit axetic và một nửa khác tạo thành rượu etylic).

Trong môi trường lên men có các axit amin thì rượu bậc cao (propanol, izobutanol và izoamylic) được tạo thành do các axit amin bị khử amin.

Nguyên liệu dùng cho lên men rượu là monosacarit - glucoza và fructoza, diascarit-sacaroza và maltoza. Đường lactoza chỉ lên men được dưới tác dụng của nấm men *saccharomyces lactis*. Đường

rafinosa lên men được 1/3. Tinh bột và xenluloza thì không thể lên men được, nhưng trong công nghiệp dùng hai chất này làm nguyên liệu sản xuất nhờ thủy phân biến chúng thành đường.

Nồng độ đường thích hợp cho lên men rượu là 10-20%, nhưng nâng cao nồng độ đường tới 30-35% thì quá trình lên men hầu như bị ngừng.

Rượu được tích tụ dần trong dịch lên men và chính nó lại là chất độc, kìm hãm các nấm men. Ở nồng độ 2-5 % rượu có tác dụng kìm hãm nấm men phát triển và ở 5-6% rượu làm nấm men đình chỉ sinh sản, mặc dù lên men vẫn tiếp tục. Các nấm men rượu vang có thể lên men được tới 16% riêng *saccharomyces oviformis* tới 19-22% rượu.

Nhiệt độ tối thích lên men rượu là 15-25°C, thấp là 4-5°C và cao là 35-40°C, đến 50°C thì toàn bộ ngừng lên men.

Lên men rượu tiến hành bình thường ở môi trường axit (pH = 3,5-4,5). Để đạt được pH này có thể dùng các axit hoặc sơ bộ cho lên men lactic bằng vi khuẩn lactic.

Ở giai đoạn đầu lên men cần phải thông khí vào môi trường để kích thích nấm men sinh trưởng, tăng sinh khối, ở giai đoạn lên men chính không thông khí để tạo điều kiện kỵ khí cho sự tạo thành rượu.

Người ta chia thành hai dạng lên men rượu: lên men nổi và lên men chìm. Có hai dạng men này là do đặc tính của các loại nấm men rượu. Có loại trong quá trình lên men các tế bào ngưng kết dính lại với nhau và chìm xuống đáy thùng lên men, làm cho

dịch men trong sáng (các loại nấm men này được dùng trong sản xuất rượu quả và bia), có loại khi lên men không có khả năng kết lắng ngưng kết, vì vậy nổi lên trên. Lên men nổi xảy ra ở nhiệt độ  $20-28^{\circ}\text{C}$ , nhanh và tạo thành nhiều bọt. Sau khi kết thúc lên men, nấm men nổi mới lắng từ từ xuống đáy thành những lớp xốp. Lên men chìm tiến hành ở nhiệt độ thấp hơn và từ từ, ít tạo bọt. Sau khi lên men chìm lắng xuống đáy thành những lớp tương đối chặt.

Lên men rượu được ứng dụng trong sản xuất rượu, bia, rượu vang, men bánh mì, sinh khối nấm men dùng cho chăn nuôi và lên men glycerin, lên men rượu cùng với lên men lactic được dùng trong sản xuất nước uống (nước kvát), sữa chua và muối rau dưa. Song, lên men rượu tự nhiên thường thấy trong các loại dịch đường như xi rô, nước quả, kem mút... lại gây hư hỏng sản phẩm.

**Sản xuất rượu etanol:** Nguyên liệu sản xuất rượu cồn thường là các loại ngũ cốc chứa tinh bột như ngô, khoai sắn, gạo, mì, lúa mạch, cao lương, khoai tây cũng như rỉ đường mía và củ cải, dịch thủy phân từ gỗ và dịch thải của các nhà máy giấy ở dạng dịch kiềm-sulfit. Để thu được cồn thực phẩm hay là rượu làm đồ uống người ta hay dùng các loại nguyên liệu có chứa tinh bột hoặc rỉ đường.

Đối với nguyên liệu tinh bột, thì cần phải thủy phân tinh bột thành đường glucoza bằng axit hoặc enzym với các chế phẩm từ nấm mốc *aspergillus*. Ngoài hệ enzym amilaza thủy phân tinh bột thành đường trong chế phẩm còn có proteaza-enzym phân hủy protein có trong cơ chất thành các peptit và axit

min. Các sản phẩm thủy phân này có đủ các chất dinh dưỡng đối với nấm men.

Rỉ đường khi sử dụng làm nguyên liệu cho sản xuất rượu cần cần phải xử lý bằng axit để diệt khuẩn, lắng cặn đồng thời phải bổ sung nguồn photpho và nitơ ở các dạng photphat cũng như muối amon.

Dịch đường trước khi lên men cần phải axit hóa tới pH = 4-5 hoặc 3,5-4,5 bằng axit vô cơ hoặc cấy vi khuẩn lactic *lactobacillus delbrueckii*.

Lên men rượu thường dùng các nòi thuộc giống *saccharomyces cerevisiae*-những nòi này có khả năng sinh trưởng nhanh, lực lên men cao và có khả năng chịu cồn lớn (có nghĩa là chúng có khả năng tích tụ một lượng lớn cồn trong dịch lên men). Có chủng sinh ra lượng cồn tới 16-18%, có khi còn cao hơn, thông thường vào khoảng 8-12%.

Các nòi hoặc chủng nấm men rượu thường có hình ovan, hình tròn hoặc hình trứng, sinh sản bằng cách nảy chồi hoặc bằng phân cắt hoặc trong điều kiện không thuận lợi sẽ sinh sản bằng bào tử.

Dịch lên men đem chưng cất được rượu trắng hoặc cồn cao độ (tùy thuộc vào tháp cất). Rượu uống hoặc cồn thực phẩm cần phải ít tạp chất (aldehyt, metanol, dầu fusel...).

**Sản xuất bia:** Nguyên liệu sản xuất bia là thóc malt - hạt đại mạch nảy mầm-trong đó có nhiều amylaza và một ít proteaza, bột gạo hoặc bột ngô (khoảng 30%) cùng với 70% là bột malt.

Bột malt và bột gạo (hoặc ngô) được đường hóa bằng enzym trong hạt malt, thu được dịch đường malt

(trong đó chủ yếu là maltoza cùng dextrin và các sản phẩm protein thủy phân) được nấu với hoa houblon, sau đó cấy men bia.

Men bia dùng sản xuất bia sáng màu là các chủng thuộc giống men chìm *saccharomyces carlbergensis*. Quá trình lên men được chia thành 2 giai đoạn: lên men chính ở  $6-10^{\circ}\text{C}$  có khi cao hơn ( $12-14^{\circ}\text{C}$ ) và lên men phụ ở  $1-4^{\circ}\text{C}$ . Sau khi dịch lên men "chín" đem lọc và bão hòa  $\text{CO}_2$ . Sản phẩm thu được đem bán trực tiếp làm bia hơi hoặc đóng chai, lon cần phải hấp Pasteur.

**Sản xuất rượu vang:** Nho là nguyên liệu lý tưởng để sản xuất rượu vang. Ngoài ra có thể dùng một số dịch ép từ các loại quả khác như táo, dâu, mơ, mận... Dịch ép nước quả thường được xử lý bằng  $\text{SO}_2$  để diệt tạp khuẩn, chống oxy hóa làm sẫm màu dịch và tạo điều kiện khi lên men sinh một ít glyxerin để cải thiện mùi vị cho sản phẩm sau này.

Các chủng nấm men dùng lên men rượu vang thuộc các giống *saccharomyces vini* và *saccharomyces oviformis*. Chúng có hình dáng giống men rượu nói chung, tính kết lắng giống men bia và đặc biệt là khả năng sinh trưởng ở pH thấp (khoảng  $\text{pH} = 3$ ) và chịu được cồn ở nồng độ cao (có chủng tích tụ tới 18-20% cồn).

Men bánh mì, nuôi các chủng *S. cerevisiae* trong môi trường rỉ đường hoặc dịch đường thủy phân từ tinh bột có cân bằng P và N. Quá trình nuôi thổi khí liên tục để thu sinh khối. Sinh khối men được ép thành bánh có độ ẩm khoảng 75% và lượng tế bào 7-10 tỉ/g hoặc đem sấy có độ ẩm 7,5-10%.

Men làm thức ăn chăn nuôi có thể là *S. cerevisiae* hoặc *candida*, *torula*...

Sinh khối được sấy khô ở nhiệt độ cao. Sản phẩm thu được là các tế bào men chết có tỉ lệ protein cao trong sinh khối khô.

## 2. Lên men lactic

Là quá trình chuyển hóa đường thành axit lactic nhờ vi sinh vật.

Lên men lactic có hai dạng: điển hình hoặc đồng hình và không điển hình hoặc dị hình.

Tất cả vi khuẩn lactic đều không chuyển động, chúng sinh bào tử, gram dương, kỵ khí tùy tiện, vi hiếu khí. Trực khuẩn thường nhạy cảm hơn liên cầu khuẩn với độ hiếu khí của môi trường. Vi khuẩn lactic lên men được mono và disacarit. Nhưng không phải tất cả các vi sinh vật này đều sử dụng được bất kỳ loại disacarit nào. Một số không lên men được sacaroza, số khác lại không sử dụng maltoza. Các vi khuẩn lactic không lên men được tinh bột và các polysacarit khác (chỉ có loài *L. delbrueckii* là đồng hóa được tinh bột). Một số, chủ yếu là các vi khuẩn lên men lactic dị hình, sử dụng được pentoza và axit xitric.

Các loài vi khuẩn lactic có khả năng rất khác nhau tạo thành axit này trong môi trường và như vậy sức chịu axit (hay độ bền với axit) cũng khác nhau. Đa số các trực khuẩn lactic đồng hình tạo thành axit cao hơn (khoảng 2-3,5%), liên cầu khuẩn (khoảng 1%). Các trực khuẩn này có thể phát triển ở pH = 4-3,8. Cầu khuẩn không thể phát triển được ở môi trường

này. Hoạt lực lên men tốt nhất của trực khuẩn ở vùng pH = 5,5-6.

Đa số vi khuẩn lactic, đặc biệt là trực khuẩn đồng hình, rất kén chọn thành phần dinh dưỡng trong môi trường và chỉ phát triển được trong môi trường có tương đối đầy đủ các axit amin hoặc các hợp chất nito phức tạp hơn. Ngoài ra, chúng còn có nhu cầu về vitamin (B1, B2, B6, PP, các axit pantotenin và folic). Bởi vậy, môi trường nuôi vi khuẩn lactic có thành phần khá phức tạp.

Chính các đặc điểm dinh dưỡng về axit amin và vitamin như vậy cho nên nhiều chủng vi khuẩn lactic được dùng trong phân tích hai dạng hợp chất này ở các cơ chất khác nhau.

Vi khuẩn lactic có hoạt tính proteaza: phân hủy được protein của sữa tới peptit và axit amin. Hoạt tính này ở các loài là khác nhau, thường trực khuẩn là cao hơn.

Vi khuẩn lactic chịu được ở trạng thái khô hạn, bền vững với CO<sub>2</sub> và cồn etylic, nhiều loài vẫn sống được trong môi trường có 10-15% cồn hoặc cao hơn; một số trực khuẩn bền với NaCl (tới 7-10%).

Các vi khuẩn lactic ưa ấm có nhiệt độ sinh trưởng tối thích là 25-35°C. Các loài ưa nhiệt - có nhiệt độ tối thích là 40-45°C, ưa lạnh-phát triển ở nhiệt độ tương đối thấp (5°C hoặc thấp hơn). Khi gia nhiệt tới 60-80°C hầu hết chúng bị chết sau 10-30 phút.

Một số loại có khả năng tạo thành màng nhầy. Một số khác lại có khả năng đối kháng với thể hoại sinh và các vi sinh vật gây bệnh hoặc làm thối rữa thực

phẩm. Như vậy, ngoài khả năng tạo thành axit lactic, các loài này còn sinh ra các hợp chất có hoạt tính kháng sinh (người ta gọi các hợp chất này là bacterioxin). Những chất kháng sinh này không dùng trong y học mà chỉ được dùng trong bảo quản thực phẩm có hiệu quả khả quan.

Trong tự nhiên vi khuẩn lactic thường gặp ở trong đất, trong không khí, trong nước, nhưng chủ yếu ở thực vật và các sản phẩm thực phẩm (trên các loại quả, rau, sữa thịt...). Có một số giống của vi khuẩn này thấy trong đường tiêu hóa của người và động vật. Các dạng cầu khuẩn đường ruột được gọi là enterococcus (hoặc streptococcus fecalis).

Phân loại vi khuẩn lactic được coi là chưa hoàn thiện. Phần lớn các nhà phân loại chỉ theo hình dáng tế bào, thí dụ: cầu khuẩn xếp các giống streptococcus và leuconostoc, còn trực khuẩn thành một giống lactobacillus.

Một số vi khuẩn lactic được dùng nhiều trong thực tế sản xuất.

\* Các vi khuẩn lactic lên men đồng hình

Streptococcus lactis-cầu khuẩn hoặc trực khuẩn rất ngắn khi còn non, kết song đôi hoặc thành chuỗi ngắn. Giống này ưa ấm, phát triển tốt ở  $30-35^{\circ}\text{C}$ , làm đông tụ sữa ở điều kiện này sau 10-12 giờ. Trong môi trường nó tích tụ được 0,8-1% axit. Nhiệt độ tối thiểu cho phát triển là  $10^{\circ}\text{C}$ , tối đa  $40-45^{\circ}\text{C}$ . Một số chủng tạo thành bacterioxin ở dạng nizin.

Streptococcus lactis-liên cầu khuẩn lactic được sử dụng rộng rãi trong chế biến các sản phẩm sữa như

sữa chua, crem-bơ chua, phomat. Khi đông tụ sữa, các cục vón chặt và nhẵn được tạo thành.

*Streptococcus cremoris*-tế bào hình cầu và kết thành chuỗi dài, ưa ấm và tạo ít axit trong môi trường. Nhiệt độ thích hợp cho phát triển là  $25^{\circ}\text{C}$ , tối thiểu là  $10^{\circ}\text{C}$ , tối đa  $36-38^{\circ}\text{C}$ . Khi sử dụng được phối hợp với *Str. lactis*. Một số chủng thuộc giống *diplococcus* sinh bacterioxin ở dạng *diplococin*.

*Streptococcus thermophilus*-hình cầu, kết thành chuỗi dài, phát triển tốt ở nhiệt độ  $40-45^{\circ}\text{C}$ , tích tụ khoảng 1% axit. Dùng phối hợp với trực khuẩn lactic để chế biến sữa chua nói chung và các loại đặc biệt, sữa chua nấu chín và phomat.

*Lactobacillus bulgaricus*-trực khuẩn tròn (đôi khi ở dạng hạt), thường kết thành chuỗi dài, không lên men được sacaroza. Đây là một giống ưa nhiệt, nhiệt độ tối thích cho phát triển là  $40-45^{\circ}\text{C}$ , tối thiểu là  $15-20^{\circ}\text{C}$ . Nó tạo thành axit mạnh, tích tụ ở trong sữa tới 2,5-3,5% axit lactic. Dùng để chế biến sữa chua, sữa ngựa.

*Lactobacillus casei*-trực khuẩn nhỏ, thường gặp ở dạng chuỗi dài hoặc ngắn, tích tụ tới 1,5% axit. Nhiệt độ tối thích cho phát triển là  $30-35^{\circ}\text{C}$ . Trực khuẩn này được dùng trong chế biến pho mát, nhờ nó có hoạt tính proteaza nên có thể phân hủy casein của sữa đến axit min.

*Lactobacillus acidophilus*-trực khuẩn dài chít nhiệt, nhiệt độ tối thích cho sinh trưởng là  $37-40^{\circ}\text{C}$ , tối thiểu  $20^{\circ}\text{C}$ . Trong sữa nó tích tụ tới 2,2% axit. Trực khuẩn này được phân lập từ ruột trẻ em và bê

mới đẻ, dùng trong sản xuất sữa acidophin có khả năng sinh bacterioxin có hoạt tính ức chế các vi khuẩn gây bệnh đường ruột. Một số chủng có khả năng tạo thành màng nhầy.

*Lactobacillus delbriieckii*-trực khuẩn lactic chịu nhiệt, thấy nhiều ở các loại hạt ngũ cốc và bột. Có lẽ đây là một giống vi khuẩn lactic duy nhất có thể đồng hóa được tinh bột. Nó không lên men và đồng hóa được lactoza, vì vậy không dùng trong công nghiệp sữa. Nhiệt độ tối ưu  $45-50^{\circ}\text{C}$ , tối thiểu  $20^{\circ}\text{C}$ , tích tụ được 2,5% axit. Dùng trong sản xuất axit lactic từ tinh bột và sản xuất bánh mì.

*Lactobacillus plantarum*-trực khuẩn nhỏ, thường kết đôi hoặc chuỗi. Nhiệt độ tối thích cho sinh trưởng là  $30^{\circ}\text{C}$ , tích tụ tới 1,3% axit. Giống này thấy chủ yếu trong muối chua rau dưa và ủ xylo thức ăn xanh dùng trong chăn nuôi.

#### \* Các vi khuẩn lactic lên men dị hình

*Lactobacillus brevis* (tên cũ là *L. brassica fermentati*)-tìm thấy chủ yếu trong muối chua bắp cải, rau cải, dưa chuột. Vì vậy, nó còn được gọi là trực khuẩn bắp cải. Trong lên men, ngoài axit lactic, (tới 1,2%) nó còn tạo thành axit axetic, rượu etylic (tới 2,4%) và  $\text{CO}_2$ , nó còn tạo hương làm cho sản phẩm có hương vị dễ chịu.

*Lactobacillus lycopersici*-trực khuẩn sinh hơi, đứng riêng rẽ hoặc kết thành chuỗi, gây hư hỏng cà chua quả (thối nhũn cuống), cũng như cà chua đóng hộp, nước cà chua đã thanh trùng chưa triệt để. Ngày nay, giống này được coi như là các biến chủng của *L. brevis*.

Các liên cầu khuẩn tạo hương (*Str. diacetylactis*, *Str. citrovorus*...). Ngoài axit,  $\text{CO}_2$  chúng còn tạo thành các chất thơm (este và diacetin) làm cải thiện hương sữa chua. Nhiệt độ tối thích với các vi khuẩn này là  $25-30^\circ\text{C}$ . Chúng có thể lên men muối xitrat.

### Ý nghĩa thực tế của lên men lactic

Vi khuẩn lactic được sử dụng nhiều trong các ngành kinh tế quốc dân khác nhau, đặc biệt là trong công nghiệp sữa. Các vi khuẩn này có một ý nghĩa rất lớn trong sản xuất sữa phomat, trong việc muối chua rau quả, ủ chua thức ăn chăn nuôi, trong nghề làm bánh mì, đặc biệt là bánh mì đen. Những năm gần đây vi khuẩn lactic đã được đưa vào trong việc chế biến một số dạng giò chả, xúc xích, trong quá trình làm chín cá muối để rút ngắn thời gian của quá trình công nghệ và cải thiện một số tính chất của sản phẩm (vị, hương thơm, độ rắn chắc...).

Lên men lactic còn được dùng trong chế biến lông thú theo phương pháp muối chua. Lông nếu được gia công theo cách này sẽ bóng mượt.

Trong công nghiệp đã xây dựng các dây chuyền công nghệ lên men để sản xuất axit lactic. Sản phẩm này được dùng nhiều cho công nghiệp đồ hộp và bánh kẹo, cũng như trong sản xuất thức ăn riêng, thức ăn chống suy dinh dưỡng cho trẻ em và người già. Gần đây, có những thông báo cho biết axit lactic còn làm nguyên liệu cho công nghiệp tổng hợp hóa học để chế ra các dạng vỏ chai chứa đựng thực phẩm (sau khi sử dụng các loại vỏ được làm từ polyme-axit lactic bị vi sinh vật tiêu hủy nhanh không gây ô nhiễm).

môi trường). Muối canxi lactat được dùng nhiều làm tá được.

Nguyên liệu dùng trong sản xuất axit lactic là mật bột, tinh bột và những vật liệu chứa tinh bột. Tinh bột được đường hóa sơ bộ rồi cấy trực khuẩn *L. dellbriieckii*. Ngoài ra chúng ta cũng có thể sản xuất axit lactic từ nước sữa (dạng huyết thanh). Trong nước sữa có lactioza và khi cấy *L. bulgaricus* và *Str. lactis* sẽ biến lactoza thành axit lactic. Lên men lactic tự phát trong nhiều trường hợp lại là nguyên nhân phá hỏng quá trình công nghệ, làm hỏng sản phẩm, thí dụ: trong sản xuất bia, sản xuất đường, dịch quả, rượu vang... vì khuẩn lactic nhiễm từ ngoài vào sẽ lên men dịch đường, làm chua khối dịch, gây đục và khó lắng trong, tạo các mùi vị chua nồng khó chịu...

### 3. Lên men propionic

Quá trình phân hủy đường, axit lactic và muối lactat tới axit propionic,  $\text{CO}_2$  và nước dưới tác dụng của vi sinh vật được gọi là lên men propionic.

Quá trình lên men này nhờ nhóm vi khuẩn propionic thuộc giống propionic bacterium. Chúng là những trực khuẩn hơi bị uốn cong, gram dương, không sinh bào tử, không chuyển động. Trong điều kiện không thuận lợi đối với sinh trưởng tế bào của chúng nhiều khi có hình kim.

Vi khuẩn propionic thường thấy ở trong sữa và trong đất. Chúng có tính chất gần với vi khuẩn lactic. Chúng thường phát triển ở pH môi trường 4,5-5.

Chúng là những vi sinh vật kỵ khí tùy tiện. Nhiệt độ tối thích cho phát triển của chúng là  $30-35^{\circ}\text{C}$ , nhưng vẫn mọc tốt ngay cả ở  $15-25^{\circ}\text{C}$ , chúng bị chết ở  $60-70^{\circ}\text{C}$ .

Ngoài cơ chất là đường và axit lactic những vi khuẩn này còn lên men được axit pyruvic, glyxerin và một số chất khác. Chúng phân hủy axit amin (khử amin của các hợp chất này), các axit béo được tách ra ở dạng tự do làm cho thực phẩm bị ôi và có vị đắng.

Lên men propionic là một quá trình rất quan trọng trong việc làm chín phomat. Vi khuẩn propionic phát triển trong khối phomat sẽ chuyển axit lactic (được tạo thành bởi khuẩn lactic thành axit propionic, axetic và khí  $\text{CO}_2$  và cuối cùng hình thành hương vị đặc trưng của phomat và khối phomat có những lỗ hổng.

Axit propionic và muối của nó là chất ức chế nấm mốc và có thể sử dụng làm chất phòng chống mốc.

#### **4. Lên men butiric**

Trong quá trình này dưới tác dụng của các vi khuẩn butiric (kỵ khí) đường bị phân giải thành axit butiric,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ :

Những sản phẩm phụ ở đây còn có axêton, rượu butylic và etylic axit axetic.

Những vi khuẩn butiric thuộc giống clostridium. Đây là trực khuẩn lớn, chuyển động, sinh bào tử, kỵ khí bắt buộc. Nhiệt độ tối thích cho phát triển của chúng là  $30-40^{\circ}\text{C}$ . Chúng rất nhạy cảm với môi trường axit, pH tối thích cho phát triển là 6,9-7,3, chúng ngừng sinh trưởng ở pH dưới 4,9. Khi những vi

khuẩn này phát triển ở thực phẩm gây mùi khó chịu và chỉ cần thay đổi pH sang môi trường axit là có thể ức chế được chúng. Hay gặp hơn cả là *Clostridium butylicum* và *Clostridium pasteurianum*. Nói chung các vi khuẩn butiric đồng hóa được nito trong các hợp chất phức tạp như axit amin, peptit, protein và các muối amon. Loài sau có thể đồng hóa được nito của không khí.

Các vi khuẩn butiric có khả năng lên men được các loại đường, tinh bột, dextrin, pectin, glyxerin và các muối lactat. Chúng phổ biến rộng rãi trong tự nhiên và tham gia vào vòng tuần hoàn vật chất. Ta thấy chúng ở trong sữa, bơ, nước thải, trong đất, phân chuồng, trên hạt ngũ cốc, đậu và khoai tây. Những vi khuẩn này làm ôi sữa, làm hỏng đồ hộp, phomat, khoai tây và rau dưa muối chua. Chúng làm hỏng sữa hấp pasteur để lâu hoặc làm dưa khú khi muối dưa chưa kịp chua.

Quá trình lên men này được dùng để sản xuất axit butiric từ khoai tây, bột nấu, bã tinh bột và đường. Các este của butiric là các chất thơm: este metylic có mùi táo, este etylic-mận, este amylic-dứa... Các chất thơm này được dùng trong sản xuất bánh kẹo và mỹ phẩm.

### **5. Lên men axeton-butanol**

Khác với lên men butiric, quá trình này tiến hành trong môi trường axit. Sản phẩm chính là axeton, butanol, etanol,  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2$ ; sản phẩm phụ là axit butiric.

Vi sinh vật gây ra lên men axeton-butanol là *Clostridium acetobutylicum*. Nó lên men được tất cả hydrat cacbon, trừ xenluloza. Quá trình này được dùng để sản xuất axeton và butanol.

## B. LÊN MEN HIẾU KHÍ

Những quá trình hóa sinh do các vi sinh vật hiếu khí gây ra bao giờ cũng có oxy của không khí tham gia.

Phần lớn vi sinh vật hiếu khí oxy hóa các chất hữu cơ trong quá trình hô hấp tới  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{O}$ . Nhưng một số loài trong chúng lại oxy hóa không hoàn toàn và sản phẩm là các axit hữu cơ. Các quá trình này gọi là lên men hiếu khí.

### 1. Lên men axetic

Là quá trình oxy hóa rượu êtylic tới axit axetic do vi khuẩn.

Vi khuẩn axetic là các trực khuẩn, không sinh bào tử, gram dương và rất hiếu khí. Các vi khuẩn này có loài chuyển động và có loài không chuyển động được. Chúng có tính chịu axit cao, một số vẫn phát triển ở  $\text{pH} = 3,2$ .

Các vi khuẩn axetic được gộp chung trong một giống là *acetobacter*.

Nhiệt độ tối thích đối với sinh trưởng của các vi khuẩn axetic nằm trong khoảng  $20-35^\circ\text{C}$ . Một số loài có khả năng sinh tổng hợp vitamin B1, B2, B12, nhưng nhiều loài lại cần có vitamin làm chất sinh trưởng có trong môi trường mà trước hết là axit pantotenic.

Các vi khuẩn axetic thường gặp có hình sợi dài và kết thành màng trên bề mặt cơ chất, do khả năng tạo nhầy của vỏ tế bào.

*A. pasteurianum* tạo thành màng có bề mặt khô nhăn nheo, *A. xililum* có hình hạt thô dầy. Một số loài vi khuẩn axetic lại không tạo màng dày đặc, mà chỉ tạo thành các mảng nhỏ trên bề mặt dịch hoặc tạo thành các vòng ở thành thùng nuôi cấy.

Những vi khuẩn axetic có đặc điểm là dễ thay đổi hình dáng tế bào. Trong những điều kiện sinh trưởng không thuận lợi các tế bào của chúng có hình dáng không bình thường: đang sợi to và dài, phồng trương lên hoặc có những hình thù quái gở khác.

Vi khuẩn axetic rất phổ biến trong tự nhiên, thường gặp chúng ở các loại quả chín, rau dưa, bia, rượu... Lên men axit axetic bằng hai phương pháp dùng trong công nghiệp là: phương pháp "chậm" hay còn gọi là phương pháp orlean và phương pháp "nhanh" hay là phương pháp Đức.

Phương pháp chậm sản xuất axit axetic-dấm ăn được biết từ rất lâu, nhưng đến nay vẫn được dùng trong công nghiệp với nguyên liệu là rượu nhạt, rượu vang, bia... kém chất lượng. Trước tiên các dịch có rượu (khoảng 10%) được axit hóa bằng dấm rồi cho vào các thùng hở và cấy một mảng vi khuẩn axetic-chủ yếu là *A. orleanense*.

Vi khuẩn mọc ở bề mặt dịch, oxy hóa rượu thành axit axetic. Quá trình xảy ra khá chậm. Khi dấm chín (đủ độ chua) thì rút ra ở phía dưới màng và bổ sung phần dịch mới. Chú ý: không để màng bị vỡ

hoặc bị chìm. Như vậy sẽ sử dụng được màng dấm nhiều lần trong thời gian dài. Phương pháp này rất thích hợp cho sản xuất ở quy mô nhỏ và gia đình.

Trong công nghiệp sản xuất axetic với một lượng lớn thường dùng phương pháp nhanh với giống vi khuẩn *A. schuzenbachii* và *A. aceti*. Nguyên liệu đầu là cồn etylic pha loãng được axit hóa bằng axit axetic, sau đó bổ sung nguồn photphat và muối amon, rồi cho qua thùng lên men đã chất đầy phoi bào bằng bơm phun thành các tia nhỏ. Phoi bào đã được tẩm các giống vi khuẩn axetic. Thùng lên men là các dạng hình trụ cao khoảng 2m hoặc cao hơn, đường kính khoảng 1m. Quá trình lên men sẽ xảy ra khi dịch rượu chảy qua các lớp phoi bào tiếp xúc với vi khuẩn axetic được cung cấp oxy bằng hệ thống thổi và phân tán khí từ dưới lên trên: rượu được oxy hóa thành axetic và chảy xuống dưới. Nếu trường hợp dấm chưa chín (chưa oxy hoá hết rượu) thì có thể cho bơm lên trên và cho vào thùng lên men trở lại. Quá trình lên men không cần vô trùng và có thể dùng thiết bị lên men này liên tục trong nhiều tháng, nếu như không bị tạp nhiễm phá hỏng quá trình. Theo phương pháp này cần chú trọng không để ngừng việc cung cấp oxy (thổi khí) và một số tác nhân làm hỏng dấm như dễ xuất hiện ruồi dấm và lươn dấm (*anguillula aceti*). Nếu xuất hiện các sinh vật này dấm sẽ bị đục và giảm độ chua vì vậy cần lọc sạch, thêm một ít muối và hấp pasteur.

Lên men axetic tự phát trong các dạng nước quả, nước uống, bia rượu, rượu vang... sẽ làm hỏng các loại

sản phẩm này. Các vi khuẩn axetic được coi là kẻ phá hoại trong nghề nấu rượu, bia, rượu vang và nước quả.

## 2. Lên men xitric

Nấm mốc trong quá trình hô hấp oxy hóa không hoàn toàn đường thành  $\text{CO}_2$  và nước mà tạo thành một số axit hữu cơ như axit xitric, xusinic, malic, xalyxalic... Trong đó axit xitric được chú trọng đến nhiều nhất và được áp dụng trong công nghiệp.

Lên men xitric là quá trình oxy hóa đường thành axit xitric dưới tác dụng của vi sinh vật.

Nấm mốc *aspergillus niger* có khả năng chuyển hóa đường thành axit xitric và được dùng trong công nghiệp sản xuất axit này. Có hai phương pháp sản xuất axit xitric: phương pháp bề mặt và phương pháp chìm. Phương pháp bề mặt nuôi mốc trên bề mặt môi trường đặc hoặc lỏng (nuôi trên môi trường lỏng hiện nay tương đối phổ biến) và phương pháp chìm nuôi hệ sợi mốc trong toàn bộ thể tích môi trường lỏng ở các nồi lên men có sục khí và khuấy trộn.

Nguyên liệu chủ yếu dùng lên men xitric là rỉ đường được pha loãng để có khoảng 15% đường, bổ sung các nguồn muối khoáng, thanh trùng, đưa vào khay với chiều cao lớp dịch là 8-12cm rồi cấy bào tử mốc, nuôi ở  $30^\circ\text{C}$  trong 6-8 ngày. Nấm mốc phát triển thành màng mốc và chuyển hóa được 60-70% đường thành axit xitric. Rút dịch ra ở phía dưới màng mốc và bổ sung thêm dịch mới. Cách làm giống như trong phương pháp lên men chậm axit axetic. Từ dịch lên men lấy ra người ta tiến hành tách và làm sạch axit xitric bằng cách kết tinh lại nhiều lần.

Ngoài rỉ đường, bột sắn được đường hóa và làm nguyên liệu lên men axit xitric rất tiện lợi và giá thành lại rẻ, rất phù hợp với điều kiện của nước ta hiện nay. Phương pháp lên men chìm thường cho hiệu quả cao nhưng trang thiết bị, yêu cầu công nghệ cao và phức tạp, khó thực hiện.

### **3. Phân huỷ xenluloza và các chất pectin ở điều kiện hiếu khí**

Phân huỷ xenluloza và các chất pectin ở điều kiện hiếu khí dưới tác dụng của những vi sinh vật có hoạt tính enzym pectinaza và xenlulaza. Đầu tiên chúng thủy phân những chất này thành đường và axit, sau đó oxy hoá tiếp thành những sản phẩm thủy phân. Những nấm khác nhau, một số vi khuẩn và xạ khuẩn có khả năng này (trong số vi khuẩn ta thấy vi khuẩn nhầy-Mixobacteria).

Phân huỷ hiếu khí xenluloza rất phổ biến trong tự nhiên và có một ý nghĩa rất lớn trong quá trình khoáng hóa xác thực vật. Kết quả là xenluloza và các chất hữu cơ ở trong đất bị vi sinh vật phân huỷ, tạo thành chất mùn - chất có màu thẫm - làm dự trữ dinh dưỡng cho cây trồng.

Vi sinh vật phân giải xenlulo-pectin có thể làm giảm chất lượng đáng kể các nguồn nguyên liệu thực phẩm là thực vật (rau quả). Thủy phân các chất pectin dẫn đến làm tươi quả và rau cho tới khi xuất hiện "thối mục ẩm" còn thủy phân xenluloza dẫn đến phá hỏng thành tế bào của thịt quả và làm cho vi sinh vật lọt vào bên trong các tổ chức mô thực vật.

Các vi sinh vật phân hủy pectin có tác dụng rất lớn đối với tách sợi dây, gai. Phương pháp này khác với phương pháp phân hủy pectin kỵ khí ở chỗ: không ngâm các cây dây, gai trong nước mà trải chúng ra trên cỏ, giữ ẩm trong vài tuần lễ. Kết quả là sợi trong các tổ chức thực vật được tách rời và có thể làm sợi se.

#### 4. Phân hủy chất béo và axit béo

Chất béo là hỗn hợp các este của glyxerin và axit béo bậc cao. Dưới tác dụng của các tác nhân vật lý-hóa học của môi trường bên ngoài, cũng như của vi sinh vật, chất béo có thể có những thay đổi đáng kể.

Tác động của vi sinh vật bắt đầu là sự thủy phân chất béo thành glyxerin và axit béo tự do. Quá trình này xảy ra dưới tác dụng xúc tác của enzym lipaza.

Axit béo tích tụ trong cơ chất, vì vậy kèm theo là làm giảm chất lượng của chất béo, thể hiện ở chỗ làm thay đổi "chỉ số axit"-hàm lượng các axit béo tự do. Sản phẩm thủy phân lại tiếp tục bị chuyển hóa. Glyxerin được nhiều vi sinh vật sử dụng và có thể bị oxy hóa hoàn toàn tới  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{O}$ . Các axit béo bị phân hủy chậm hơn, trước hết là các axit béo không bão hòa bị oxy hóa dần dần. Một số vi sinh vật, ngoài enzym lipaza còn có enzym oxy hóa lipoxigenaza-xúc tác quá trình peroxyt của axit béo được tạo thành. Các peroxyt này dễ dàng bị oxy hóa tiếp theo để tạo thành những sản phẩm trung gian-oxy axit, aldehyt, xeton và... làm cho chất béo có những mùi vị khó chịu. Những sản phẩm trung gian của quá trình oxy

hóa chất béo và axit béo lần lượt được vi sinh vật sử dụng trong trao đổi chất của chúng và cuối cùng là  $\text{CO}_2$  cùng với  $\text{H}_2\text{O}$ .

Vi sinh vật phân hủy chất béo và axit béo là các trực khuẩn sinh hoặc không sinh bào tử, cũng như micrococcus, nhiều loài nấm, xạ khuẩn và một số nấm men. Trong số các vi sinh vật có hoạt tính này ta thấy có hoạt tính lipaza là *oidium lactis*, *clasdosporium hebarium*, nhiều loài thuộc *aspergillus* và *penicillium*.

Phân hủy chất béo do vi sinh vật trong điều kiện tự nhiên (ở đất và nước) xảy ra thường xuyên và có ý nghĩa rất lớn trong vòng tuần hoàn vật chất nói chung.

Sự hư hỏng dầu mỡ thực phẩm và các phần mỡ trong thịt, trứng, sữa... là rất phổ biến, thường gây thiệt hại lớn đến nền kinh tế quốc dân.

Trong khi bảo quản dầu mỡ dài ngày ở điều kiện không cho phép vi sinh vật phát triển thì sự làm hỏng chất béo có thể là do tác động của ánh sáng hoặc của không khí.

Trong quá trình lên men hiếu khí còn có lên men axit amin, lên men các chất kháng sinh, enzym và nhiều dạng lên men khác. Các axit amin ngày nay được sản xuất nhờ vi sinh vật là axit glutamic và lizin. Các vi sinh vật dùng ở đây chủ yếu là vi khuẩn thuộc các giống *micrococcus*, *brevibacterium* và *corynebacterium*. Các vi khuẩn này oxy hóa đường thành axit glutamic hoặc lizin và một số sản phẩm phụ. Nguyên liệu chủ yếu là đường glucoza, sacaroza,

rỉ đường, dịch đường thủy phân từ tinh bột... cũng có giống lên men được axetat, rượu etylic dầu hỏa hoặc paraffin. Các công đoạn của quá trình lên men các chất kháng sinh, vitamin, enzym về đại thể giống như lên men axit amin.

## C. BẢO QUẢN THỰC PHẨM

### 1. Quá trình thối rửa

Quá trình phân hủy các chất protein dưới tác dụng của vi sinh vật gọi là sự thối rửa. Quá trình này rất quan trọng trong vòng tuần hoàn vật chất. Sản phẩm thối rửa có thể làm ô nhiễm môi trường sống và các vi sinh vật gây thối là nguyên nhân làm hỏng thực phẩm giàu protein. Các vi sinh vật gây thối rất đa dạng: vi khuẩn nấm mốc, xạ khuẩn. Vi khuẩn có các loài thuộc loài hiếu khí, kỵ khí, sinh bào tử hoặc không sinh bào tử, như trực khuẩn bacillus sống hiếu khí, proteus vulgaris và E. coli kỵ khí tùy tiện và clostridium putrificum và clostridium sporogenes-kỵ khí v.v...

Quá trình phân hủy các chất protein qua các giai đoạn: thủy phân protein đến pepton, polypeptit; thủy phân polypeptit đến các axit amin; phân hủy axit amin v.v...

Sản phẩm của quá trình thối rửa tùy thuộc vào từng loài vi sinh vật, vào tính chất tự nhiên của protein, vào sự thoáng khí, độ ẩm và nhiệt độ. Nếu đủ oxy thì protein có thể bị khoáng hóa hoàn toàn  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  và muối khoáng.

Trong điều kiện kỵ khí không xảy ra sự khoáng hóa protein mà tích tụ các chất hữu cơ vòng thơm và gây độc. Quá trình thối rửa được ứng dụng trong nghề làm nước mắm, nước chấm, tương, chao, làm chín cá muối, phomat, trong thuộc da để lấy lông ra khỏi da.

Phân hủy các axit amin dãy béo có thể tích tụ các axit formic, axetic, propionic, butiric và những axit khác, cũng như các rượu propanol, butanol, amylic và các rượu khác nữa. Sản phẩm phân huỷ các axit amin dãy thơm là phenol, krezol, skatol, indol các chất có mùi rất khó chịu, còn phân hủy các axit amin có chứa lưu huỳnh sẽ cho hydrosulfua ( $H_2S$ ) và những dẫn xuất của nó-mercaptan có mùi trứng thối.

Ngoài vi khuẩn còn có xạ khuẩn và nấm mốc cũng có một vai trò rất lớn trong quá trình thối rửa, đặc biệt ở trong đất.

Vi sinh vật thối rửa đóng vai trò cực kỳ quan trọng của vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên. Chúng phân hủy các vật chất protein có trong xác động, thực vật và khoáng hóa các hợp chất này để tạo thành amoniac, làm giàu cho đất cung cấp nguồn nitơ dinh dưỡng cho cây trồng.

Song, dưới tác dụng của vi sinh vật thối rửa thực phẩm thịt, cá và các sản phẩm từ thịt, cá, trứng, sữa cũng như các sản phẩm giàu protein khác bị hư hỏng. Một trong những chỉ tiêu của sự hư hỏng là có mặt các sản phẩm của quá trình phân hủy protein (hàm lượng cao các amin,  $NH_3$ ,  $H_2S$  và các axit béo).

## 2. Bảo quản thực phẩm

Các thực phẩm nói chung rất dễ bị biến chất và hư hỏng, đặc biệt là các sản phẩm từ động vật (thịt, trứng, sữa, tôm, cá) rất nhanh hư hỏng. Các sản phẩm này chỉ có thể giữ được chất lượng, giữ nguyên được giá trị dinh dưỡng khoảng chục giờ, nếu không có biện pháp cất giữ thích hợp. Riêng trứng giữ ở điều kiện bình thường được lâu hơn có thể tới hàng chục ngày vì trứng có vỏ bảo vệ, bên trong là cơ thể sống, có sức đề kháng với các yếu tố bên ngoài kể cả vi sinh vật nhiễm bẩn.

*Nguyên nhân gây hư hỏng thực phẩm là:*

Bên trong các tổ chức, tế bào của sản phẩm có các enzim và các quá trình hồi sinh xảy ra do các enzim này xúc tác.

Do vi sinh vật, có sẵn ở thực phẩm hoặc phần lớn nhiễm từ ngoài vào.

Hai nguyên nhân này làm cho thực phẩm bị biến chất, giảm chất lượng và dẫn tới bị hư hỏng.

Các yếu tố bên ngoài như độ ẩm, nhiệt độ làm cho các phản ứng enzim xảy ra nhanh và mạnh hơn, hệ vi sinh vật ở thực phẩm sau thời gian làm quen cũng phát triển mạnh mẽ. Chúng tiết ra các enzim thủy phân ngoại bào phân hủy các chất hữu cơ của thực phẩm, dẫn tới làm ôi thiu, thối rữa hoàn toàn.

Chính vì những lẽ đó sản phẩm, thực phẩm cần có những phương pháp xử lý, bảo quản thích hợp để giữ được chất lượng, hạn chế tổn hao các chất dinh dưỡng và an toàn vệ sinh thực phẩm.

*Nguyên lý trong bảo quản thực phẩm là:*

1. Ngăn ngừa hoặc làm chậm các phản ứng enzym tự thân của thực phẩm. Hiện tượng này là sự tự phân hủy.

2. Ưc chế vi sinh vật sinh trưởng và phát triển hoặc tiêu diệt vi sinh vật có ở thực phẩm.

3. Hạn chế hoặc giảm thiểu sự phá hoại của côn trùng hoặc các nguyên nhân khác.

Trong bảo quản thực phẩm nên tiến hành các biện pháp bảo quản ở thời kỳ đầu, vì sản phẩm còn tươi nguyên, số lượng vi sinh vật còn ít chưa phát triển. Ở giai đoạn này cố gắng giữ gìn sản phẩm nhiễm khuẩn tối thiểu:

- Giết mổ, pha chế súc vật, thu hoạch nông sản, rau quả cần phải giữ gìn vệ sinh, hạn chế tạp nhiễm để sản phẩm ít nhiễm bẩn, có ít vi sinh vật.

- Sản phẩm còn tươi tốt được đựng trong các thùng đồ chứa đựng sạch sẽ hoặc bao gói sạch sẽ với các chất sát khuẩn.

- Dùng biện pháp để kéo dài thời gian làm quen của vi sinh vật.

- Tiệt khuẩn trong thời gian này với số lượng vi sinh vật càng ít, hiệu quả càng cao.

Cần phải lưu ý rằng: tất cả các phương pháp bảo quản cần hạn chế hoặc làm tê liệt các quá trình sống của vi sinh vật, nhưng phải đảm bảo chất lượng của thực phẩm hoặc làm thay đổi rất ít.

### 3. Các cách bảo quản thực phẩm

#### *a. Bảo quản ở nhiệt độ thấp (lạnh)*

Ở nhiệt độ thấp các phản ứng enzym chậm lại, nhưng không bị ngừng hẳn. Nhiệt độ càng thấp hoạt động của enzym càng giảm (enzim lipaza vẫn phân giải lipit tới 0,7% ở nhiệt độ  $-10^{\circ}\text{C}$ ).

Nhiệt độ thấp ức chế quá trình phát triển của vi sinh vật, nhưng không tiêu diệt được chúng. Ở nhiệt độ từ  $0^{\circ}\text{C}$  trở xuống vi sinh vật không phân hủy được protein, chất béo, còn chất dinh dưỡng bị phân giải rất ít.

Những vi sinh vật ưa lạnh còn phát triển ở nhiệt độ thấp. Nhìn chung nếu giữ thực phẩm ở nhiệt độ thấp vi sinh vật không phát triển, không tăng số lượng, giữ càng lâu số lượng càng giảm, vi sinh vật ít hoạt động hoặc không hoạt động.

Cấu trúc và thành phần dinh dưỡng của thực phẩm trong quá trình bảo quản lạnh thay đổi:

- Trước hết bề mặt thực phẩm se lại, các tổ chức co lại và toàn khối trở nên rắn, nước trong tế bào có thể bị đóng băng (nếu nhiệt độ bảo quản thấp hơn băng điểm của dịch tế bào), thực phẩm có thể bị biến dạng tùy thuộc vào cách làm lạnh từ từ hoặc làm lạnh đột ngột (làm lạnh từ từ bị biến dạng nhiều).

- Các chất protein ở  $-20^{\circ}\text{C}$  bị đông lại, qua 6-12 tháng bị phân giải nhẹ, không ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng.

- Các chất béo bị thủy phân hóa: các axit béo tự do hình thành tùy thuộc vào nhiệt độ, thời gian cất giữ

sản phẩm. Ở nhiệt độ  $-12^{\circ}\text{C}$  sau 10 tuần lễ các peroxyt tăng lên rõ rệt, sau 30 tuần chỉ số này tới mức quy định tối đa của vệ sinh. Vitamin A cũng bị thay đổi tính hòa tan trong chất béo.

- Các chất hydrocacbon ít bị thay đổi trong nhiệt độ thấp.

- Các chất khoáng trong thực phẩm giữ nguyên được giá trị dinh dưỡng.

- Các vitamin ít bị thay đổi, riêng vitamin C ở nhiệt độ  $-9^{\circ}\text{C}$  sau 6 tháng mất 50%, ở  $-12^{\circ}\text{C}$  cũng mất đáng kể và  $-18^{\circ}\text{C}$  hao hụt rất ít.

#### *\* Các phương pháp bảo quản lạnh*

Tùy theo từng loại sản phẩm và mục đích sử dụng, chọn phương pháp bảo quản lạnh thích hợp. Với thịt cá tươi dùng để ăn gần như tươi và để vận chuyển khoảng cách không xa thì chỉ cần giữ ở nhiệt độ khoảng  $0^{\circ}\text{C}$ , còn giữ hàng tháng và vận chuyển xuất khẩu thì cần ở nhiệt độ  $-10^{\circ}\text{C}$  đến  $-20^{\circ}\text{C}$ . Trứng giữ ở  $0^{\circ}\text{C}$  đến  $5^{\circ}\text{C}$ .

- Phương pháp giữ lạnh: bằng ướp lạnh, đơn giản là ướp bằng nước đá trong các thùng chứa hoặc khoang chứa. Nước làm nước đá cần phải đạt tiêu chuẩn vệ sinh. Để tăng cường hiệu quả người ta cho thêm một số hóa chất như kháng sinh, muối ăn hoặc các muối khoáng khác (không ảnh hưởng tới sức khỏe) vào nước đá. Phương pháp này chỉ giữ thực phẩm tươi trong thời gian ngắn.

- Phương pháp ướp lạnh trong kho lạnh (refrigeration): phương pháp này giữ thực phẩm ở

nhệt độ cao hơn băng điểm của dịch tế bào. Thí dụ thịt được giữ ở nhiệt độ từ  $-1^{\circ}\text{C}$  đến  $-3^{\circ}\text{C}$ , hoa quả từ  $4^{\circ}\text{C}$  đến  $10^{\circ}\text{C}$ .

Trước khi thịt được đưa vào ướp lạnh cần phải làm nguội sau khi mổ ở các buồng có nhiệt độ mát và không đóng gói.

Các sản phẩm ướp lạnh thường giữ được khoảng nửa tháng, ướp rau quả có thể để được lâu hơn.

- Phương pháp đông lạnh (freezing): nhiệt độ trong phòng bảo quản thấp hơn  $-18^{\circ}\text{C}$  có khi tới  $-40^{\circ}\text{C}$ ,  $-50^{\circ}\text{C}$ . Điều kiện đông lạnh bảo quản thích hợp và giữ lâu từ 5 đến 10 tháng với các sản phẩm là thịt bò từ  $-15^{\circ}\text{C}$  đến  $-20^{\circ}\text{C}$ ; thịt bê, lợn, cừu từ  $-12^{\circ}\text{C}$  đến  $-15^{\circ}\text{C}$ ; độ ẩm bằng 80-85%.

Các sản phẩm được bảo quản cần phải tươi, phẩm chất tốt ít nhiễm vi sinh vật. Trước khi sử dụng phải giải lạnh (tan băng) từ từ, tránh làm vỡ các tổ chức và tế bào, các chất dinh dưỡng sẽ hòa tan vào băng tan làm mất giá trị thực phẩm.

#### ***b. Ướp muối, ướp đường dùng trong bảo quản thực phẩm***

Bảo quản thực phẩm bằng cách ướp đường hoặc ướp muối sản phẩm được dựa trên cơ sở là dung dịch của chúng tăng áp suất thẩm thấu đối với các tế bào của sản phẩm cũng như vi sinh vật. Áp suất thẩm thấu cao, nước trong tế bào có chiều hướng thẩm ra khỏi màng tế bào chất và sinh ra hiện tượng co nguyên sinh, làm ức chế hoạt động và phát triển của vi sinh vật.

**Ướp muối:** Muối được dùng để ướp thực phẩm có hai tác dụng:-muối có tính sát khuẩn nhẹ, ở nồng độ 3,5-4,4% muối không làm ngừng sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh, ở 12% một số vi khuẩn gây thối và vi khuẩn "ưa" muối còn sống. Nồng độ muối cao có tính sát khuẩn mạnh hơn, song không thể ướp muối với nồng độ cao được, vì thực phẩm sẽ quá mặn và mất nhiều nước và làm teo quắt sản phẩm. Muối làm tăng áp suất thẩm thấu.

Ướp muối kết hợp với sự hỗ trợ với natri hoặc kali nitrat (diêm tiêu) với nồng độ 0,5-1% sẽ làm cho thịt lâu hỏng. Ngoài ra nitrat còn làm cho thịt cá có màu hồng đỏ sau khi luộc chín, nitrat có thể khử thành nitrit và chất này kết hợp với mioglobin thành nitrozo-hemoglobin có màu hồng. Nitrit là chất độc, do đó việc dùng diêm tiêu trong bảo quản thịt cần phải thận trọng và phải kiểm soát liều lượng sử dụng.

Bảo quản thịt ướp muối, nồng độ muối giảm dần do nước trong sản phẩm tiết ra cùng với các chất dinh dưỡng như protein, vitamin, muối khoáng sẽ tạo điều kiện cho vi sinh vật phát triển.

**Ướp đường:** tương tự như ướp muối, nhiều sản phẩm được ngâm ướp đường, nhưng áp suất thẩm thấu của đường kém muối. Nồng độ đường dùng để ướp là từ 60-65%, có thể làm ngừng sinh trưởng của nhiều loại vi sinh vật.

Ướp đường thường dùng trong ngâm các loại quả, làm mứt, giữ siro... quá trình ngâm đường nồng độ đường trong dung dịch cũng giảm dần do nước trong

tế bào sản phẩm thoát ra ngoài cùng với các chất dinh dưỡng tạo điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật phát triển làm hư hỏng sản phẩm.

### *c. Bảo quản bằng cách thay đổi pH*

Mỗi nhóm vi sinh vật có khoảng pH thích hợp hoặc pH tối thiểu cho sinh trưởng và phát triển: nấm mốc có thể mọc ở  $\text{pH} = 2-4,5$ ; nấm men ở  $\text{pH} = 4-4,5$ ; vi khuẩn gây bệnh và vi khuẩn thối rữa thường chỉ phát triển tốt ở môi trường trung tính hoặc môi trường kiềm, ở  $\text{pH} = 4,5$  cả hai nhóm này không thể sinh sản được. Vì vậy có thể thay đổi pH môi trường bảo quản sản phẩm để ức chế vi khuẩn gây thối và gây bệnh. Có nhiều cách làm thay đổi pH:

Ngâm và dầm dấm: Có thể dùng axit hữu cơ như: axit axetic, citric, tartaric vào mục đích này, nhưng hay dùng nhất là axit axetic. Vì vậy phương pháp này gọi là phương pháp ngâm dầm ở pH thấp 2,3-2,5, tương đương với nồng độ axit axetic 1,7-2%, nhiều loài vi khuẩn gây thối rữa không phát triển được. Nhưng nhiều nấm men, đặc biệt là nấm mốc vẫn phát triển, đồng thời còn đồng hóa được axit axetic thành  $\text{CO}_2$  và nước, làm giảm độ chua tăng pH tạo cho vi sinh vật khác phát triển làm hư hỏng sản phẩm.

Sản phẩm ngâm dầm không để lâu được. Muốn giữ lâu phải kết hợp đóng hộp, tiệt trùng hoặc để ở nhiệt độ thấp.

Muối chua: Thực chất đây là quá trình lên men lactic đối với một số sản phẩm như muối dưa chua từ một số rau, nem chua từ thịt nạc, mắm chua từ tôm cá.

Trong quá trình muối chua cho vào thực phẩm ít đường, ít muối. Vi khuẩn lactic sẽ lên men đồng hình hoặc dị hình làm chua sản phẩm, pH hạ xuống làm ức chế vi khuẩn gây thối.

Muối chua hay làm lên men chua là biện pháp bảo quản thực phẩm rất hữu hiệu. Ngoài ra lên men lactic còn được dùng trong lên men sữa chua, cất giũ cỏ cho trâu bò, trong sản xuất bánh mỳ...

Ngày nay vi khuẩn lactic thuần chủng được dùng các sản phẩm lên men như muối chua bắp cải, muối chua dưa chuột, táo, làm nem chua (mới bắt đầu nghiên cứu sử dụng).

Một số loài vi sinh vật, đặc biệt là các loài chịu axit và nhiều loài nấm mốc, có thể phát triển ở pH môi trường thấp, dùng axit lactic làm nguồn cacbon và như vậy axit lactic sẽ bị phân hủy, độ chua của môi trường giảm tạo điều kiện cho nhiều vi sinh vật khác phát triển, dẫn tới làm hư hỏng thực phẩm.

***d. Bảo quản với sự làm thay đổi thành phần  $CO_2$  và  $O_2$  trong khí quyển quanh sản phẩm***

Phương pháp này thích hợp với bảo quản các loại quả và hạt giống. Đối với mỗi loại quả có yêu cầu riêng về nồng độ  $CO_2$  và  $O_2$  trong khí quyển có ở trong kho hoặc trong túi kín. Thí dụ: lê cần khí quyển bảo quản có thành phần là 2% oxy và 4% khí cacbonic. Nói chung, với khí quyển bảo quản quả và trái cây tương đối thích hợp là 2-5%  $CO_2$  với điều kiện khí quyển này quả tươi có cường độ hô hấp thấp, quả chín chậm lại và hạn chế được hư hỏng.

### *e. Bảo quản bằng hóa chất*

Các hóa chất dùng trong bảo quản thực phẩm là các chất có tính sát khuẩn, các chất kháng sinh, các chất chống oxy hóa và một số chất khác dùng trong chế biến. Yêu cầu các hóa chất dùng vào mục đích này là:

- Không gây độc đối với người tiêu dùng.

- Bản thân chất đó hoặc các sản phẩm chuyển hóa không được liệt vào dạng nguy hiểm đối với người như gây bệnh ung thư hoặc các bệnh nguy hiểm khác.

Có một số chất được dùng trong chế biến và bảo quản thực phẩm, mặc dù có tính sát khuẩn nhưng cũng không được liệt vào nhóm chất sát khuẩn. Đó là muối ăn, đường, dấm, rượu, axit lactic, axit ascorbic (vitamin C), axit xitric... Trong số này có chất sát khuẩn khá mạnh, nhưng không có tính độc hại đặc biệt. Nói chung, chúng là những chất không độc hại đối với người.

Các chất hóa học dùng trong bảo quản thực phẩm thường được gọi là chất bảo quản. Các chất bảo quản phổ biến là:

- Axit axetic  $\text{HCH}_3\text{CO}$ , nồng độ dưới 6% là dấm ăn, dùng dầm dấm sản phẩm hoặc ăn trực tiếp.

- Axit xitric  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  sử dụng giống như axit axetic. Đây cũng là một chất chống oxy hóa sản phẩm.

- Axit ascorbic (vitamin C) dùng nhiều làm thuốc, một chất chống oxy hóa rất tốt.

- Axit benzoic  $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$  và muối benzoat natri,

có tác dụng ức chế với nấm men và vi khuẩn nhiều hơn với nấm mốc. Tác dụng tăng ở môi trường axit.

Liều lượng dùng bảo quản thực phẩm từ 0,1 đến 0,12% natri benzoat để bảo quản nước quả, nước chấm... Hai chất này không có khả năng khử oxy, nếu dùng với liều lượng cao hơn sẽ có mùi vị hơi lạ trong sản phẩm và có thể gây hại thận cho người tiêu dùng.

- Axit sorbic  $\text{CH}_3\text{-CH}=\text{CH-CH}=\text{CH-COOH}$  và các sorbat kali, natri được dùng để bảo quản thực phẩm, có tác dụng ức chế nấm mốc và nấm men mạnh hơn so với vi khuẩn. Hoạt tính diệt mốc mạnh lên ở môi trường axit, pH tối thích là 4,5.

Liều dùng là 0,05-0,06% cho vào nước quả đạt hiệu quả cao. Nước táo có 0,05% axit sorbic và đun 5 phút ở nhiệt độ  $50^\circ\text{C}$  có thể để nửa năm ở nhiệt độ thường không hỏng. Có thể dùng dung dịch 7% axit này phun lên mặt thực phẩm rồi đậy kín hoặc bao kín, cũng có thể dùng giấy thấm dung dịch để bao gói hàng. Axit sorbic được dùng để bảo quản nước chấm, nước mắm, chống nấm mốc cho bánh mỳ và phomat.

- Anhydric sulfur  $\text{SO}_2$ : dạng khí dùng để xông phòng bảo quản các đồ chứa đựng.  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  - natri sunfit dùng làm chất sát khuẩn, chống oxy hóa cho các dịch ép quả. Chú ý: không dùng để bảo quản thịt.

- Natri nitrat -  $\text{NaNO}_3$  sử dụng làm chất sát khuẩn trong bảo quản thịt, các sản phẩm từ thịt, cá và một số loại phomat. Thường kết hợp với nitrit để làm cho thịt có màu hồng.

Sử dụng hai loại chất này cần phải thận trọng. Nếu dùng với liều lượng quá quy định sẽ gây ngộ độc và nhiễm độc tích tụ có thể là tác nhân gây ung thư.

Các chất kháng sinh cũng dùng trong bảo quản làm chất sát khuẩn. Dùng nhiều nhất là biomixin, teramixin có tác dụng kéo dài thời gian bảo quản. Các chất kháng sinh như streptomycin, neomycin, polymycin, bacitracin, penicillin không đáp ứng được yêu cầu bảo quản nên ít dùng hoặc không được dùng.

Việc dùng chất kháng sinh vào thực phẩm tới nay ít được phổ biến rộng rãi, bởi lẽ có thể tạo ra các dòng vi khuẩn nhờn với thuốc, làm giảm tác dụng của thuốc dẫn tới điều trị một số bệnh nhiễm khuẩn bằng kháng sinh kém hiệu quả.

Ngày nay, người ta chú ý nhiều tới các chất kháng sinh không dùng trong y học do vi khuẩn sinh ra, đặc biệt là các vi khuẩn lactic gọi chung là bacterioxin với hai chế phẩm đã từng biết là diplococin và nizin. Trước tiên, nizin được dùng trong chế biến phomat để diệt vi khuẩn kỵ khí clostridium, sau đó dùng cho nước ép, đồ hộp, rau quả tươi...

Đây là chất kháng sinh có thể bị tiêu hủy khi tiêu hóa thức ăn, vì vậy không có tác dụng độc hại đối với người, liều dùng là 20 UI/g thực phẩm.

### ***g. Bảo quản ở trạng thái vô trùng***

Muốn bảo quản thực phẩm được lâu và ít thay đổi giá trị dinh dưỡng phải giữ các sản phẩm ở trạng thái vô trùng. Muốn vậy cần phải dùng biện pháp xử lý sản phẩm ở nhiệt độ cao để diệt khuẩn.

Ở nhiệt độ  $100^{\circ}\text{C}$  hầu hết vi sinh vật bị chết, nhưng các bào tử vi khuẩn vẫn còn sống. Để diệt được các bào tử cần phải nâng nhiệt độ bằng cách khử trùng với hơi nước nóng có áp lực dư ở  $115-130^{\circ}\text{C}$ . Số lượng vi sinh vật trong sản phẩm nhiều, môi trường có pH trung tính hoặc kiềm, các chất dinh dưỡng (đường, đạm, béo, đặc biệt là chất béo) làm cho tính chịu nhiệt của vi sinh vật tăng và như vậy thời gian khử khuẩn phải kéo dài. Ngược lại thêm muối, hóa chất để bảo quản, hạ pH xuống vùng axit... làm cho tính chịu nhiệt của chúng giảm.

Tùy từng loại sản phẩm sẽ chọn phương pháp diệt trùng thích hợp. Ngày nay người ta thường dùng hai phương pháp phổ biến là:

- Phương pháp hấp thanh trùng (sterilisation): Tiệt khuẩn ở nhiệt độ cao trong thời gian ngắn cho các sản phẩm ít bị biến đổi giá trị dinh dưỡng bởi nhiệt độ. Thường thanh trùng ở  $105-130^{\circ}\text{C}$  với các thiết bị gia nhiệt bằng hơi nước nóng bão hòa dưới áp suất dư từ 1-3 atm sau khi thanh trùng phải làm lạnh ngay.

- Phương pháp hấp pasteur (pasteurisation): Tiệt khuẩn ở  $63-65^{\circ}\text{C}$  trong 30 phút cho các sản phẩm sữa, nước quả, bia, rượu vang... Phương pháp này diệt được các tế bào sinh dưỡng của các vi sinh vật, không diệt được bào tử vi khuẩn, nhưng bảo đảm được giá trị dinh dưỡng cũng như các chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm.

Có thể hấp pasteur vài lần (để tăng hiệu quả diệt khuẩn): hấp ở  $65-70^{\circ}\text{C}$  trong 30 phút, để nguội tới

35-37°C trong 2-3 giờ cho hấp lại. Phương pháp này cho kết quả tốt nhưng tốn kém thời gian, nhân lực, năng lượng...

#### ***h. Bảo quản khô***

Vì sinh vật cần có một độ ẩm tối thiểu mới phát triển được: với vi khuẩn là 18%, nấm men-20%, nấm mốc-13-16%. Vì vậy, muốn giữ được cần phải đưa độ ẩm sản phẩm đến dưới độ ẩm giới hạn này: bột thịt từ 10-11%, bột gạo 13-15%, sữa bột đã loại bơ 15%, tinh bột 18%, các loại hạt 13%, các loại quả 18-25%.

Độ ẩm không khí trong kho giữ ở 70% là thích hợp nhất, nếu cao quá sẽ làm độ ẩm sản phẩm tăng và thấp quá sẽ làm khô sản phẩm.

Một số phương pháp làm khô sản phẩm:

Phơi nắng hoặc sấy khô: Phơi nắng thích hợp cho các loại hạt ngũ cốc, các loại thủy sản ướp muối (cá, tôm, mực...). hong khô là phơi trong điều kiện không cần nắng, thích hợp với rau quả. Phương pháp này cho chất lượng sản phẩm không cao và dễ bị ẩm mốc.

Sấy khô: Sấy khô thủ công cho chất lượng sản phẩm không cao, dễ bị thay đổi tính chất cơ lý của sản phẩm, các chất dinh dưỡng đặc biệt là vitamin bị ảnh hưởng.

Sấy phun: Các loại dịch thực phẩm được cô đặc tới nồng độ nhất định (cô ở áp suất thấp hoặc cô chân không. Vì vậy nó ít thay đổi giá trị dinh dưỡng) rồi đưa qua vòi phun cao áp tạo thành dạng sương mù rơi trong buồng sấy tiếp xúc với nhiệt độ 95°C, sản phẩm khô ngay tức khắc và các vi sinh vật bị chết.

Sản phẩm thu được là bột khô có chất lượng cao như sữa bột, men bánh mì v.v...

Sấy khô ở điều kiện áp lực thấp: Chỉ cần sấy ở nhiệt độ 50-60°C trong buồng sấy được làm giảm áp suất bằng hút chân không, sản phẩm thu được ở phương pháp này rất tốt.

Sấy thăng hoa: Làm đông lạnh các thực phẩm lỏng rồi cho bốc hơi ở nhiệt độ thấp. Sản phẩm thu được có chất lượng tốt và chỉ có thể dùng cho các sản phẩm có giá trị cao, dịch quả sấy thăng hoa thu được dạng bột. Khi hòa nước trở lại. Các sản phẩm này có hương vị như hương vị ban đầu.

Các sản phẩm sấy khô cần phải làm nguội ngay, bao gói tốt tránh ẩm trở lại. Giữ ở nơi khô mát, có thể để được lâu dài.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### *Tủ sách khuyến nông phục vụ người lao động*

1. Mai Phương Anh, Trần Khắc Thi, Trần Văn Lại: *Rau và trồng rau*. Nxb Nông nghiệp-1996.
2. Bùi Chí Bửu-Nguyễn Thị Lang: *Ứng dụng công nghệ sinh học trong cải tiến giống lúa*-Nxb Nông nghiệp-1995.
3. Luyện Hữu Chỉ và cộng sự. 1997. *Giáo trình giống cây trồng*.
4. *Công nghệ sinh học và một số ứng dụng ở Việt Nam*. Tập II. Nxb Nông nghiệp-1994.
5. G.V. Guliaeb, IU.L. Guijop. *Chọn giống và công tác giống cây trồng* (bản dịch) Nxb Nông nghiệp-1978.
6. Cục Môi trường. *Hiện trạng môi trường Việt Nam và định hướng trong thời gian tới*. Tuyển tập Công nghệ môi trường, Hà Nội, 1998.
7. Lê Văn Cát. *Cơ sở hóa học và kỹ thuật xử lý nước*. Nxb Thanh Niên, Hà Nội, 1999.
8. Chương trình KT-02, *Bảo vệ môi trường và phát triển bền vững*, Tuyển tập các báo cáo khoa học tại Hội nghị khoa học về Bảo vệ môi trường và PTBV, Hà Nội, 1995.
9. *Dự báo thế kỷ XXI*, Nxb Thống Kê, 6/1998.
10. Lê Văn Khoa và Trần Thị Lành, *Môi trường và phát triển bền vững ở miền núi*, Nxb Giáo dục, 1997.
11. *Lược Tái nguyên nước*, Nxb Chính trị quốc gia, 1998.
12. Lê Văn Nãi, *Bảo vệ môi trường trong xây dựng cơ bản*, Nxb Khoa học kỹ thuật, Hà Nội, 1999.

## MỤC LỤC

|                                                       | Trang |
|-------------------------------------------------------|-------|
| <i>Lời nói đầu</i>                                    | 5     |
| I. ĐẶC TÍNH SINH HỌC VÀ MÔI TRƯỜNG<br>CỦA VI SINH VẬT | 7     |
| II. MÔI TRƯỜNG PHÁT TRIỂN CỦA<br>VI SINH VẬT          | 75    |
| III. QUÁ TRÌNH CHẾ BIẾN, BẢO QUẢN<br>THỰC PHẨM        | 96    |
| <i>Tài liệu tham khảo</i>                             | 134   |

# HƯỚNG DẪN BẢO QUẢN, CHẾ BIẾN THỰC PHẨM NHỜ VI SINH VẬT

---

NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG-175 GIẢNG VÕ-HÀ NỘI  
ĐT: 7366522-8515380-8439543

*Chịu trách nhiệm xuất bản:*

PHAN ĐÀO NGUYỄN

*Chịu trách nhiệm bản thảo:*

TRẦN DŨNG

*Biên tập:*

LÊ THỊ NHƯỜNG

*Vẽ bìa:*

TRƯỜNG GIANG

*Sửa bản in:*

NGỌC ANH

---

In 3000 cuốn, khổ 13 x 19 cm, tại nhà in Công ty Hữu Nghị.

Giấy phép xuất bản số: 70-2006/CXB/49-03/LĐ.

Cấp ngày 08 tháng 03 năm 2006.

In xong và nộp lưu chiểu Quý II năm 2006.

TỦ SÁCH KHUYẾN NÔNG PHỤC VỤ NGƯỜI LAO ĐỘNG

Hướng dẫn  
bảo quản, chế biến thực phẩm  
**nhờ vi sinh vật**



NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG

hướng dẫn bảo quản chế biến



1

006050

400202

14.000 VNĐ

GIÁ: 14.000Đ