

CÁCH KHỬ TRÙNG THÔNG DỤNG TRONG DẠY THỰC HÀNH SINH HỌC Ở TRƯỜNG THPT

PGS.TS Biền Văn Minh

Trường ĐHSP - Đại học Huế

Trong dạy học thực hành sinh học ở trường THPT các dụng cụ thí nghiệm, môi trường, mẫu vật... dù được bảo quản trong các điều kiện vệ sinh nghiêm ngặt vẫn bị nhiễm các vi sinh vật (VSV), tuy với một số lượng ban đầu rất ít. Các vật phẩm này được coi là chưa vô trùng và mục đích của khử trùng là loại bỏ hoặc làm bất hoạt các VSV, làm cho chúng chưa vô trùng trở thành vô trùng, đảm bảo an toàn cho người sử dụng cũng như nghiên cứu.

Hiện nay có nhiều phương pháp khử trùng. Trong bài viết này chúng tôi muốn giới thiệu một số cách khử trùng thông dụng trong dạy thực hành sinh học ở trường THPT.

1. Nguyên tắc khử trùng

Diệt trùng hay khử trùng là phương pháp sử dụng các tác nhân lý – hóa nhằm ức chế hay giết chết, cuối cùng là loại bỏ các VSV không mong muốn.

2. Một số dụng cụ, thiết bị khử trùng (hình có tính chất minh họa)



Tủ sấy



Nồi hấp áp lực hơi nước



Khử trùng bằng chiếu tia tử ngoại

3. Một số cách khử trùng thông dụng

a. Khử trùng bằng tủ sấy

Thường dùng để khử trùng các dụng cụ thí nghiệm làm bằng thủy tinh hay kim loại như bình nón, ống nghiệm, đĩa petri, que cấy, pipete..

Cách tiến hành:

- Các dụng cụ cần được bao gói cẩn thận bằng giấy chịu nhiệt rồi xếp vào tủ sấy.
- Xoay các núm để điều chỉnh kim chỉ trên đồng hồ nhiệt độ và kim đồng hồ chỉ thời gian (160⁰C trong 2 giờ hay 180⁰C trong 30 phút).
- Tắt tủ sấy, để nguội tới 80⁰C mới mở tủ lấy dụng cụ, hoặc trước khi sử dụng mới được mở ra.

b. Khử trùng bằng cách đốt trên ngọn lửa

Cách này thường dùng để khử trùng que cấy, các dụng cụ bằng sắt (kìm, kẹp, gắp, dao, kéo...), một số dụng cụ thủy tinh (đũa thủy tinh, que gạt...). Muốn khử trùng ta đưa đi đưa lại vài

lần dụng cụ trên ngọn lửa đèn cồn. Bằng cách này mọi VSV bám trên bề mặt dụng cụ đều bị tiêu diệt.

c. Khử trùng theo phương pháp Pasteur

Năm 1860 Louis Pasteur đề xuất phương pháp khử trùng mà ngày nay được gọi là cách khử trùng Pasteur (pasteurization). Đun nóng môi trường lên 63°C (145°F) trong 30 phút hoặc 73°C (163°F) trong 15 giây trong điều kiện không có không khí. Nhờ phương pháp này, các thực phẩm có thể lưu trữ được lâu hơn mà không bị hư thối.

Cách khử trùng:

Vận dụng vào thực hành, ta có thể đun nóng môi trường lên 60-75°C trong 15-30 phút hoặc 80°C trong 10-15 phút. Cách này có tác dụng khử trùng các vi sinh vật không có bào tử và chỉ áp dụng cho các nguyên liệu dễ biến tính ở nhiệt độ cao như sữa, bia, rượu, nước trái cây...

d. Khử trùng theo phương pháp Tyndall

Các môi trường dinh dưỡng, nước, các ống bằng cao su và một số dụng cụ... dễ bị hỏng khi khử trùng bằng sức nóng khô ở nhiệt độ cao. Vì vậy cần phải khử trùng bằng cách đun cách thủy ở nhiệt độ 70-80°C mỗi lần 30 - 60 phút lặp lại 3 lần trong 3 ngày kế tiếp nhau. Lần đun thứ nhất trong 30 - 60 phút, làm chết các tế bào sinh dưỡng, nhưng bào tử còn sống. Sau đó để môi trường đã khử trùng vào tủ ẩm 28-30°C, ở điều kiện này lại có môi trường tốt, các bào tử sẽ nảy mầm. Trong lần khử trùng thứ hai này các tế bào nảy mầm lại bị tiêu diệt. Để đảm bảo hoàn toàn vô trùng ta tiếp tục khử trùng lần thứ ba trong ngày thứ ba kế tiếp.

e. Khử trùng bằng nồi hấp áp lực (autoclave)

Phương pháp này dựa trên nguyên tắc làm nóng môi trường bằng hơi nước bão hòa ở áp suất cao hơn 1 atm. Quá trình hấp khử trùng được cài đặt tự động với đồng hồ áp suất, thời gian, nhiệt độ, hệ thống van xả áp suất, nước... đảm bảo dụng cụ được khử trùng tốt nhất.

Cách sử dụng:

- Chuẩn bị môi trường, dụng cụ cần khử trùng, bao gói đúng quy cách
- Cho nước vào nồi hấp rồi kiểm tra và điều chỉnh mức nước cho phù hợp
- Xếp các dụng cụ vào giỏ Inox và đưa vào nồi hấp
- Cài đặt nhiệt độ, áp suất cần hấp (xem bảng 1) và thường xuyên theo dõi trong quá trình hấp
- Khi khử trùng xong phải đợi cho kim đồng hồ chỉ áp suất chỉ về số không, nhiệt độ trong nồi giảm dưới 80°C mới được mở nắp nồi để lấy dụng cụ ra. Nếu hạ áp suất đột ngột, môi trường sẽ lại sôi lên mạnh và trào lên nút bông. Môi trường sau khi khử trùng được giữ trong tủ ẩm 30°C trong 2-3 ngày để kiểm tra độ vô trùng.

Khi khử trùng cần lưu ý các chất không bền với nhiệt thì chỉ khử trùng 0,5 atm trong 15 phút. Khi chọn chế độ khử trùng phải chú ý pH của môi trường phải trung tính. pH dưới 5,5 thạch (agar) bị thủy phân. Nếu môi trường kiềm khi khử trùng sẽ làm kết tủa sắt caramen hóa đường.

Bảng 1: Quan hệ giữa áp suất ghi trên áp kế với nhiệt độ trong nồi hấp

Áp suất (atm)	0	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,5	2,0
Nhiệt độ (°C)	100	112	114	116	117	119	121	127	134

g. Khử trùng bằng hóa chất

Một số hóa chất ở nồng độ thích hợp không độc hại đối với con người được sử dụng để khử trùng bảo quản nguyên liệu và làm sạch phòng thí nghiệm, chẳng hạn bảo quản hạt giống bằng

cách tắm các dụng dịch brom 1% trong khoảng 5-10 phút vào hạt giống, sau đó rửa sạch bằng nước vô trùng, sấy khô.

Sàn nhà, bàn ghế trong phòng thí nghiệm được lau bằng các dụng dịch sát trùng như chloramine 0,5-3%, hoặc nước phenol 3-5%, dùng cồn 75% để sát trùng các dụng cụ thủy tinh như que gạt, phiến kính, lamien, đĩa thủy tinh...

Câu hỏi:

1. Mục đích và ý nghĩa thực tiễn của việc khử trùng môi trường và dụng cụ thí nghiệm ?
2. Phân tích cơ sở khoa học của việc khử trùng theo phương pháp Pasteur, phương pháp Tyndall và khử trùng bằng tử sấy.

4. Những điểm cần chú ý

Khử trùng là yêu cầu bắt buộc trong công tác thực hành, thí nghiệm nghiên cứu, nhất là đối với các thí nghiệm liên quan đến VSV. Hiện nay có rất nhiều phương pháp khử trùng, tùy theo điều kiện thực tế của từng trường, yêu cầu của từng thí nghiệm để lựa chọn cách khử trùng phù hợp.

Khi khử trùng cần đảm bảo sự vô trùng tuyệt đối cho các môi trường, nguyên liệu, mẫu vật, các dụng cụ thí nghiệm, và phải đảm bảo an toàn tuyệt đối cho con người.

Các môi trường và dụng cụ đã khử trùng nhưng chưa dùng ngay nên cho vào túi polyethylene buộc chặt, bảo quản trong tủ kín sạch sẽ khô ráo. Các que gạt, que cấy chỉ nên sử dụng trong vòng 24 giờ, hộp Petri trong vòng 3 ngày, ống nghiệm, bình nón khoảng 7-10 ngày nếu bảo quản tốt. Nếu để lâu phải khử trùng lại trước khi dùng.■

Tài liệu tham khảo

- [1] Vũ Thị Minh Đức (2001), *Thực tập vi sinh vật học*, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.
- [2] Lansing M. Prescott, John P. Harley, Donal A. Klein (2005), *Microbiology*. Mc Graw Hill.
- [3] <http://images.google.com.vn/imgres?imgurl=http>