

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anh, P. T. L. (2014). *Thực trạng điều kiện ATTP và một số yếu tố liên quan của cửa hàng ăn tại khu du lịch chùa Hương mùa lễ hội năm 2014.*
- AOAC. (2007). Official Method 2007.01: Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate. In *Journal of AOAC International* (Vol. 90, Issue 2, pp. 17–26).
http://lib3.dss.go.th/fulltext/E_content/1060-3271/2007v90n2.pdf
- Báo TN VÀ MT. (n.d.). *Mối nguy hại từ đồ nhựa dùng một lần.*
<http://stnmt.kontum.gov.vn/vi/news/moi-truong/moi-nguy-hai-tu-do-nhua-dung-mot-lan-1776.html>
- Bộ Y Tế. (2009). *Tài Liệu Tập Huấn Kiến Thức Về an Toàn Thực Phẩm. 5.*
- Bùi Thanh Hà. (2019). *Thống kê ngộ độc thực phẩm tại Việt Nam.*
https://trungtamnghienquuthucpham.vn/thong-ke-ngo-doc-thuc-pham-tai-vietnam/?fbclid=IwAR0UuDnb16_Fpyfc-7QoefWpPfzkb1e2DfRxO3cvfogVpwHAKsDp8U5Ye9Y
- CASE.VN. (2012). *Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm CASE.* <https://www.case.vn/vi-VN/1/details.case>
- Đào Văn Thắng. (2021). *Thực trạng kiến thức, thực hành về an toàn thực phẩm của người chế biến và kinh doanh thức ăn đường phố tại phường tân thịnh, thành phố thái nguyên năm 2021.*
- DHTN. (2015). *Bài giảng giáo trình” Quản lý chất lượng và vệ sinh an toàn thực phẩm” Trường đại học Nông Lâm Thái Nguyên, Tr 1 – 4.*
- Đức An Company. (2022). *Mở quán cơm bình dân có cần xin giấy phép kinh doanh không?*
<https://mocongty24h.com/mo-quan-com-co-can-giay-phep-kinh-doanh/>
- Hoàng Hương Giang. (2018). *Đánh giá điều kiện bảo đảm an toàn thực phẩm tại một số cơ sở kinh doanh dịch vụ ăn uống trên địa bàn quận Đống Đa, Hà Nội.*
- Lê Thị Thanh Lương. (2015). *Thực trạng điều kiện an toàn thực phẩm, kiến thức, thực*

hành của người chế biến và một số yếu tố liên quan tại các cửa hàng ăn uống và nhà hàng ăn uống của phường Việt Hưng, quận long biên, Hà Nội năm 2015, Luận văn tốt nghiệp thạc sỹ Y tế công cộng, Tr.

Nguyễn Thế Hiển. (2010). Đánh giá công tác quản lý vệ sinh an toàn thực phẩm đối với các cửa hàng ăn tại thị trấn Yên Viên, huyện Gia Lâm, Hà Nội năm 2010, Luận văn Thạc sỹ Y tế công cộng, Trường Đại học Y tế công cộng.

Nguyễn Thị Thùy Dương. (2013). *Thực trạng điều kiện vệ sinh cơ sở và trang thiết bị dụng cụ chế biến của một số cơ sở kinh doanh dịch vụ ăn uống tại hà nội năm 2013.*

NIFC. (2022). *Hệ thống sắc ký lỏng khối phổ hai lần LC-MS/MS.* <https://nifc.gov.vn/linh-vuc-hoa-hoc/he-thong-sac-ky-long-khoi-pho-hai-lan-lc-ms-ms-post1330.html>

Phạm Thị Công Thắm. (2019). *Thực trạng kiến thức, thực hành về vệ sinh an toàn thực phẩm của người chế biến trong các cửa hàng ăn tại xã ninh hải, huyện hoa lư tỉnh ninh bình năm 2019.*

Thientan. (2019). *No Title.* <http://thientanvn.com/cong-tac-quan-ly-vsattp-bep-an-tap-the-va-co-so-cung-cap-suat-an-san-con-nhieu-bat-cap-t1470.html>

Trần Thị Ánh Hồng & nnk. (2014). *Thực trạng duy trì điều kiện bảo quản an toàn thực phẩm của các cơ sở kinh doanh dịch vụ ăn uống tại Thành phố Quy Nhơn năm 2014.*

Võ Tuấn Ngọc. (2021). *Thực trạng tuân thủ quy định an toàn thực phẩm của các quán ăn và một số yếu tố ảnh hưởng tại phường Hưng Lợi, quận Ninh Kiều, Cần Thơ năm 2021.*

24htin. (2023). *Cách bảo quản đồ ăn dư thừa qua đêm.* <https://24htin.net/cach-bao-quan-do-an-du-thua-qua-dem.html>

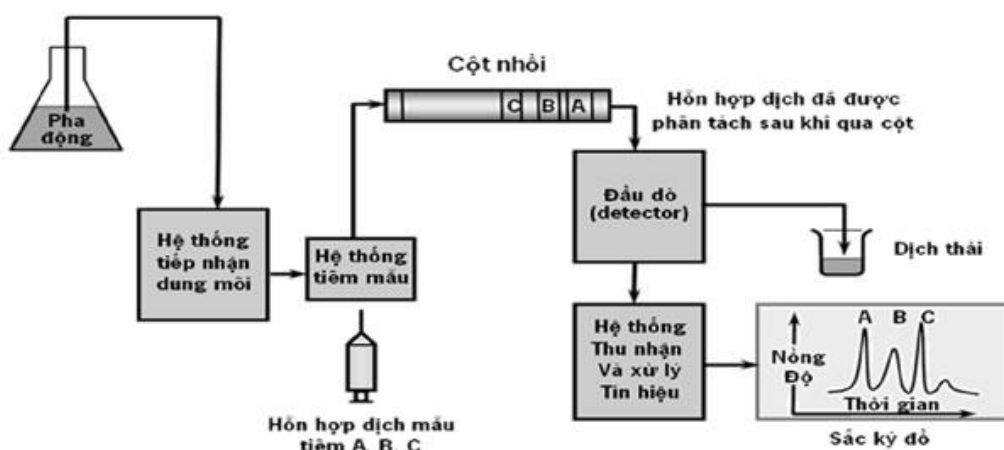
PHỤ LỤC A – PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

PHỤ LỤC A-6

PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH DƯ LƯỢNG THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT

❖ Bộ phận sắc ký lỏng

Sắc ký là quá trình tách xảy ra trên cột tách với pha tĩnh là chất rắn và pha động là chất lỏng. Mẫu phân tích được chuyển lên cột tách dưới dạng dung dịch. Khi tiến hành chạy sắc ký, các chất phân tích được phân bố liên tục giữa pha động và pha tĩnh. Trong hỗn hợp các chất phân tích, do cấu trúc phân tử và tính chất lí hoá của các chất khác nhau, nên khả năng tương tác của chúng với pha tĩnh và pha động khác nhau. Do vậy, chúng di chuyển với tốc độ khác nhau và tách ra khỏi nhau (NIFC, 2022).



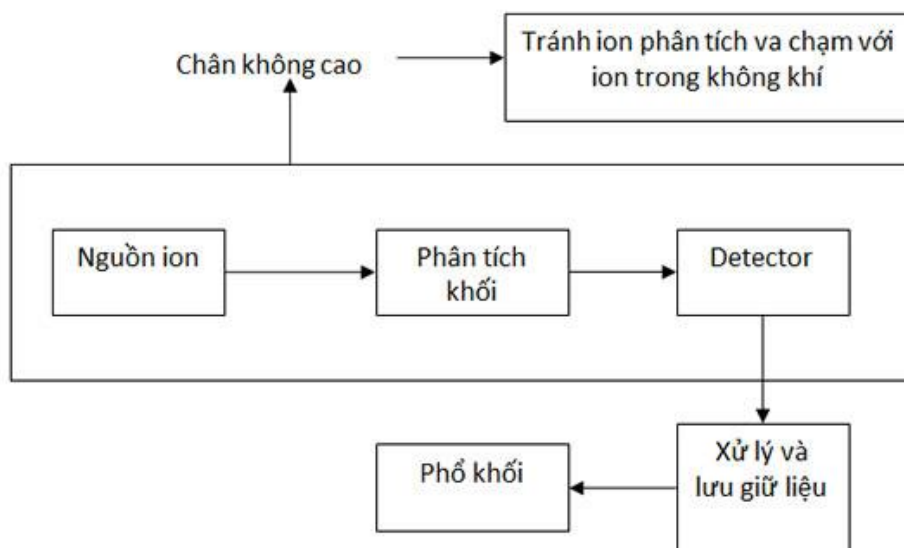
Hình 0.1. Mô hình hệ thống LC-MS/MS

Nguồn: NIFC.COM

❖ Bộ phận khối phổ

Khối phổ là thiết bị phân tích dựa trên cơ sở xác định khối lượng phân tử của các hợp chất hóa học bằng việc phân tách các ion phân tử theo tỉ số giữa khối lượng và điện tích (m/z) của chúng. Các ion có thể tạo ra bằng cách thêm hay bớt điện tích của chúng như loại bỏ electron, proton hóa,... Các ion tạo thành này được tách theo tỉ số m/z và

phát hiện, từ đó có thể cho thông tin về khối lượng hoặc cấu trúc phân tử của hợp chất (NIFC, 2022).



Hình 0.2. Sơ đồ cấu trúc của máy khối phổ MS

Nguồn: NIFC.COM

❖ Hệ thống sắc ký lỏng ghép khối phổ đầu dò 3 tứ cực (Agilent 6410 Triple quad LC/MS/MS)

✓ Nguyên lý hoạt động:

Sau khi qua bước sắc ký lỏng, mẫu cần xác định được dẫn vào đầu dò MS. Tại đây, mẫu được ion hoá trong buồng API theo phương pháp ESI, APCI hoặc APPI. Các ion được hội tụ và tăng tốc bằng hệ thống quang học ion để nhập vào bộ phân tích khối. Trong bộ phân tích khối, tứ cực thứ nhất lọc ra ion mẹ có m/z cụ thể, các phân tử con của ion này được tạo ra trong buồng va chạm (collision cell) do va chạm với khí trơ và được phân tích bởi tứ cực thứ ba, tạo ra tín hiệu riêng biệt tại bộ phận dò ion (CASE.VN, 2012).

✓ Thiết bị:

Hệ thống sắc ký lỏng ghép khối phổ đầu dò 3 tứ cực



Hình 0.3. Máy Agilent 6410 Triple quad LC-MS/MS

Nguồn: CASE.VN

✓ Ứng dụng:

Phân tích dư lượng các loại kháng sinh thuộc nhóm A (theo quy định của châu Âu) như Chloamphenicol, các dẫn suất Nitrofurán, nhóm chất (Fluoro) quinolones, Malachite green hay các chất trong nhóm B như họ Tetracyclines, họ Sulfonamides, nhóm Avermectin,...trong thủy hải sản, thức ăn thủy sản, thực phẩm, môi trường,...

Dư lượng thuốc trừ sâu nhóm Carbamate, diệt cỏ, diệt nấm trong nông, thủy hải sản, thức ăn gia súc,...(CASE.VN, 2012)

❖ Phương pháp kiểm nghiệm dư lượng thuốc bảo vệ thực vật Thực hiện theo AOAC 2007.01

Cách tiến hành:

Mẫu được xử lý bằng phương pháp QuEChERS, trích ly bằng acetonitrile (MeCN) và tách nước trong mẫu với hỗn hợp muối $MgSO_4 + NaCl$. Sau đó mẫu được làm sạch bằng hấp thụ rắn phân tán (dispersive-SPE) để loại bỏ axit hữu cơ, nước dư và các thành phần khác. Sau đó ống d-SPE mang đi ly tâm và rút dung dịch ra mang đi thổi khô. Sau khi thổi khô mẫu sẽ được định mức lại với MeOH/H₂O và mang đi siêu lọc qua màng lọc nylon vào vial. Cuối cùng mẫu được mang đi phân tích bằng kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ hai lần (LC-MS/MS)(AOAC, 2007).

❖ Tính kết quả

Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật được tính theo công thức sau để xác định hàm lượng trong mẫu:

$$HL = Conc \times \frac{f}{m}$$

Trong đó:

Conc: Nồng độ ($\mu g/kg$) có được từ diện tích peak mẫu với phương trình đường chuẩn

f: Thể tích pha loãng (ml)

m: Khối lượng mẫu ban đầu

PHỤ LỤC A-7

PHƯƠNG PHÁP KIỂM *ESCHERICHIA COLI* VÀ *COLIFORM* TRONG MẪU NƯỚC SINH HOẠT

Thực hiện theo TCVN 6187-1:2009 (ISO 9308-1:2014): chất lượng nước – phát hiện và đếm *Escherichia coli* và *Coliform* – phần 1: phương pháp lọc màng áp dụng cho nước có số lượng vi khuẩn thấp

Tiêu chuẩn này mô tả phương pháp làm đối chứng (Phép thử Tiêu chuẩn) để phát hiện và đếm khuẩn *Escherichia coli* và vi khuẩn coliform trong nước dùng cho sinh hoạt. Phép thử Tiêu chuẩn có độ chọn lọc thấp nhưng cho phép phát hiện cả những vi khuẩn có hoạt tính đã bị yếu. Do độ chọn lọc thấp, sự phát triển của nền mẫu có thể ảnh hưởng tới độ tin cậy của việc đếm vi khuẩn coliform và *E.coli* ví dụ trong nước uống, nước giếng nông và nước mặt. Phương pháp này không thích hợp cho những loại nước này. Phép thử Tiêu chuẩn dựa trên sự lọc qua màng rồi cấy trên môi trường thạch khác nhau và tính số lượng các loài sinh vật quan tâm có trong mẫu.

Môi trường sử dụng:

- Chromogenic Coliform Agar (CCA)

Cách tiến hành:

Escherichia coli và *Coliform* trong nước: Lọc 100 ml mẫu qua màng lọc 0,45 µm, đặt màng trên đĩa đã có môi trường Chromogenic Coliform Agar (CCA) ủ ở $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$ trong (21 ± 3) giờ. Kiểm tra màng lọc sau khi ủ và đếm tất cả các khuẩn lạc, *Coliform* sẽ có màu hồng đến đỏ và *E.coli* sẽ có màu xanh nước đậm đến màu tím.

Kết quả được tính bằng cách đếm số lượng khuẩn lạc trên đĩa *Coliform* sẽ có màu hồng đến đỏ và *E.coli* sẽ có màu xanh nước đậm đến màu tím.

PHỤ LỤC A-8

PHƯƠNG PHÁP KIỂM *ESCHERICHIA COLI* TRONG MẪU THỰC THẨM

Thực hiện theo TCVN 7924-2:2008 (ISO 16649-2/-3:2001): Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp định lượng *Escherichia coli* dương tính beta-glucuronidaza - Phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 44 độ C sử dụng 5-bromo-4-clo-3-indolyl beta-D-glucuronid.

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp định lượng *Escherichia coli* dương tính β -glucuronidaza trong thực phẩm hoặc thức ăn chăn nuôi. Phương pháp này sử dụng kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 44°C trên môi trường đặc có chứa thành phần tạo sắc để phát hiện enzym β -glucuronidaza - Một số chủng *Escherichia coli* không phát triển được ở 44°C và cụ thể là các *Escherichia coli* âm tính β -glucuronidaza như *Escherichia coli* sẽ không phát hiện được.

Môi trường sử dụng:

- TBX (Trypton-Mật-Glucuronid)

Cách tiến hành:

Quy trình phân tích định lượng *E.coli* trong mẫu thực phẩm tiến hành 10g mẫu + 90 ml môi trường MRD (Maximum recovery diluent). Dùng micropipet vô trùng rút 1 ml mẫu vào đĩa Petri vô trùng. Rót vào mỗi đĩa Petri khoảng 15 ml môi trường TBX (Trypton-Mật-Glucuronid) lắc nhẹ đều. Sau đó, đợi khô lật ngược đĩa ủ trong tủ ấm 44°C trong 18-24 giờ. Đếm các đơn vị hình thành khuẩn lạc.

- ✓ Cách tính kết quả :

Tính toán kết quả vi sinh theo công thức sau:

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1 \times n_2)d}$$

Trong đó:

N là số lượng CFU của E.Coli dương tính β -glucuronidaza hiện diện trong 1ml hay 1g mẫu thử

ΣC là tổng số khuẩn lạc đếm được trên các đĩa được giữ từ 2 độ pha loãng tiếp

n_1 là số đĩa được giữ lại ở độ pha loãng thứ nhất

n_2 là số đĩa được giữ lại ở độ pha loãng thứ hai

V là thể tích dung dịch cấy vào đĩa tương ứng độ pha loãng được liên tiếp

d là hệ số pha loãng tương ứng với độ pha loãng khi mẫu thử được cấy trực tiếp

($d=1$ trong trường hợp các mẫu ở dạng lỏng khi mẫu thử được cấy trực tiếp)

Nếu không có khuẩn lạc mọc tất cả các độ pha loãng, kể cả mẫu thử ban đầu 10^0 (sản phẩm lỏng) hoặc ở huyền phù ban đầu 10^{-1} (sản phẩm khác), thì biểu thị kết quả như sau:

Đối với sản phẩm lỏng (CFU/ml)

$$< \frac{1}{V \times d}$$

V: Thể tích dung dịch cấy của mẫu thử

d: hệ số pha loãng = 10^0

Đối với sản phẩm khác (CFU/g)

$$< \frac{1}{V \times d}$$

V: Thể tích dung dịch cấy của huyền phù ban đầu mẫu thử

d: hệ số pha loãng ban đầu = 10^{-1}

PHỤ LỤC A-9

PHƯƠNG PHÁP KIỂM SALMONELLA TRONG MẪU THỰC THẨM

Thực hiện theo TCVN 10780-1:2017(ISO 6579-1:2017): Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - phương pháp phát hiện, định lượng và xác định typ huyết thanh của *salmonella* - phần 1: phương pháp phát hiện *salmonella* spp.

Bằng phương pháp này, hầu hết đều phát hiện được các *Salmonella* serovar cần tìm. Để xác định một số serovar cụ thể, có thể cần bổ sung các bước nuôi cấy..

Môi trường tăng sinh chọn lọc thạch Rappaport-Vassiliadis (MSRV) nửa đặc cải biến để phát hiện các chủng *Salmonella* di động và không thích hợp để phát hiện các chủng *Salmonella* không di động.

Môi trường sử dụng:

- BPW (Buffered Peptone Water)
- RV (Rappaport-Vassiliadis Soya Pepton)
- XLD (Xylose Lysine Desoxycholate Agar)

Cách tiến hành:

Quy trình phân tích định tính *salmonella* trong thực phẩm đối với các loại mẫu thông thường tiến hành. Ủ huyền phù ban đầu, cân 25g mẫu trong túi PE vô trùng, bổ sung 225ml dung dịch BPW (Buffered Peptone Water) ủ ở nhiệt độ 37°C trong (24 ± 2) giờ. Tăng sinh chọn lọc, lắc để trộn đều dịch tăng sinh, chuyển 0,1ml sang 10ml môi trường tăng sinh RV (Rappaport-Vassiliadis Soya Pepton) ủ ở 41,5°C trong (24 ± 3) giờ. Tiếp nuôi trên thạch chọn lọc, cấy lên môi trường XLD (Xylose Lysine Desoxycholate Agar) ủ lật úp ở 37°C trong (24 ± 3) giờ. Các khuẩn lạc *salmonella* điển hình phát triển trên thạch XLD có tâm màu đen. Phép thử sinh hóa, cấy vào môi trường khẳng định sinh hóa từng khuẩn lạc cấy truyền từ các khuẩn lạc đã chọn.

- Thử nghiệm TSI (Triple Sugar Iron): đâm que cấy vào trong môi trường và không được để đung đáy ống nghiệm, sau đó ủ ở 37°C trong 24 giờ.
- Thạch URÊ: cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch, ủ ở 37°C trong 24h ± 3h.

- Thử nghiệm Lysin: Dùng que cấy 1 ít dung dịch *Salmonella* trong ống NA đã ủ qua đêm và cho vào ống nghiệm chứa môi trường Lysin, lắc nhẹ và ủ ở 37°C trong 24 giờ.
- Thử nghiệm Indol: Dùng que cấy 1 ít dung dịch *Salmonella* trong ống NA đã ủ qua đêm và cho vào ống nghiệm chứa môi trường Indol, lắc nhẹ và ủ ở 37°C trong 24 giờ
- Thử nghiệm ONPG (O-nitrophenyl-beta-D-galactopyranoside): Thêm một giọt dung dịch *Salmonella* vào ống nghiệm chứa dung dịch ONPG, lắc nhẹ và để nguyên trong vòng hai giờ
- Thực hiện thử nghiệm ngưng kết kháng huyết thanh với kháng thể Poly: O để xác định typ huyết thanh của *Salmonella*.

Kết luận *Salmonella* dương tính hoặc âm tính trong 25g mẫu dựa trên kết quả các thử nghiệm trên.