

# KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA XỬ LÝ SƠ BỘ BẰNG CHLORINE VÀ OZONE ĐẾN MẬT SỐ VI KHUẨN *COLIFORM*, *E. COLI* TRÊN RAU MUỐNG

LÊ MINH HÙNG\*, NGUYỄN CHÍ DŨNG\*\*, LÝ NGUYỄN BÌNH\*\*\*

Ngày nhận bài: 19/7/2019 - Ngày gửi phản biện: 10/8/2019

## Tóm tắt

**N**ghiên cứu nhằm mục đích nâng cao chất lượng của rau muống về mặt an toàn vệ sinh rau quả. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi xử lý trên rau muống cho thấy khả năng oxy hóa vi sinh vật của ozone mạnh hơn chlorine. Mật số vi khuẩn *Coliform* và *E. Coli* giảm thấp nhất khi xử lý bằng ozone ở thời gian sục khí 20 phút và thời gian ngâm 15 phút.

**Từ khóa:** chlorine, ozone, rau muống, chất lượng

## Abstract

Research aims to improve the quality of water spinach on vegetables safety. Research results show that when treating on water spinach, the ability of microbial oxidation of ozone is stronger than chlorine. The concentration of *Coliform* and *E. Coli* bacteria was lowest when treated with ozone at 20 minutes and soak for 15 minutes.

**Keywords:** chlorine, ozone, water spinach, the quality

## 1. Đặt vấn đề

Các loại rau quả là nguồn thức ăn thiết yếu của con người hàng ngày trong các bữa ăn. Rau quả cung cấp cho con người nhiều vitamin và muối khoáng. Rau quả còn cung cấp cho cơ thể nhiều chất xơ, có tác dụng giải các độc tố phát sinh trong quá trình tiêu hoá thức ăn và chống táo bón. Do vậy, trong chế độ dinh dưỡng của con người, rau quả không thể thiếu và ngày càng quan trọng. Tại các nước phát

triển, tỉ trọng rau quả ngày càng tăng trong khẩu phần ăn hàng ngày (Quách Đĩnh *et al.*, 2008).

Có một thực tế là các loại rau thông thường, trong đó có rau muống, sau khi thu hoạch thường không được xử lý để tiêu diệt các mầm bệnh nên nguy cơ mất an toàn về vệ sinh thực phẩm rất lớn, đặc biệt là các loại rau dùng để ăn sống. Một số nghiên cứu ứng dụng hoá chất để nâng cao chất lượng rau đã được đề xuất. Khi tiến hành rửa rau bằng NaOCl với nồng độ 100 ppm, pH 6, nhiệt 30°C và thời gian rửa là 1 phút có thể giảm được tổng số vi sinh vật hiếu khí <math>10^4</math> cfu/g, thời gian bảo quản ở nhiệt độ 5°C là 20 ngày (Lại Mai Hương *et al.*, 2006). Cũng đối với rau salad tươi nhưng

\* Thạc sĩ, Liên hiệp các hội KH&KT tỉnh Đồng Tháp

\*\* Thạc sĩ, huyện Trà Ôn, tỉnh Vĩnh Long

\*\*\* Phó Giáo sư - Tiến sĩ, Trường Đại học Cần Thơ

được cắt, khi tiến hành thí nghiệm so sánh việc sử dụng nước từ hệ thống và nước ozone, kết quả cho thấy khi rau salad được rửa bằng nước ozone thì số lượng vi sinh vật giảm một cách đáng kể, hàm lượng vitamin C và đường cũng không bị ảnh hưởng (Hassenberg *et al.*, 2005).

Tuy nhiên, những mối quan tâm về tồn dư của chlorine trong các loại thực phẩm đang gia tăng. Do đó, ngành công nghiệp thực phẩm cần tìm kiếm chất khử trùng có hiệu quả chống lại tác nhân gây bệnh phổ biến và dễ sử dụng trong nhiều ứng dụng của chế biến thực

phẩm. Nhiều nghiên cứu cho thấy, ozone có thể được xem như một chất khử trùng thay thế chlorine trong việc vệ sinh bề mặt của trái cây tươi và rau quả (Han *et al.*, 2002; Yousef *et al.*, 1999). Do đó, mục tiêu của nghiên cứu là khảo sát ảnh hưởng của việc xử lý rau muống bằng chlorine và ozone đến mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* đến mức thấp nhất, nhằm góp phần nâng cao chất lượng của rau về mặt an toàn vệ sinh thực phẩm.

## 2. Vật liệu, phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu



Hình 1. Thu hoạch rau muống

Rau muống được thu mua ở phường Thới An, quận Ô Môn, thành phố Cần Thơ Chlorine 70% (China), NaCl tinh khiết, NaOH 0,1N, HCL 0,1M (Việt Nam) (Công ty CP hóa chất & Vật tư KHKT Cần Thơ)

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các thí nghiệm tiến hành dựa theo quy trình xử lý sơ bộ rau muống sau thu hoạch, được bố trí ở giai đoạn xử lý. Sử dụng đồ thị được vẽ bằng chương trình Microsoft Excel (2010, Microsoft Corporation, USA) và Portable Statgraphic centurion XVI (Version 15.1.02, Corporate Enterprise, USA) để tính

toán và thống kê số liệu.

### 2.3. Phương pháp phân tích

- *E.coli*: sử dụng đĩa *Pertrifilm<sup>TM</sup> E.coli count Plat* của công ty 3M, Mỹ

- *Coliform*: sử dụng đĩa *Pertrifilm<sup>TM</sup> Coliform count Plat* của công ty 3M, Mỹ

Sử dụng các dụng cụ, thiết bị trong phòng thí nghiệm bao gồm: cân điện tử (Adventurer Ohaus, Mỹ); máy tạo ozone của công ty Toàn cầu xanh (Model GE 0200); tủ cấy vi sinh vật; tủ ủ; nồi thanh trùng; máy đo pH và một số thiết bị khác của phòng thí nghiệm.

## 2.4. Quy trình xử lý rau muống sau thu hoạch

Rau muống  $\Rightarrow$  Rửa  $\Rightarrow$  Xử lý (chlorine và ozone)  $\Rightarrow$  Làm ráo  $\Rightarrow$  Bao gói  $\Rightarrow$  Tồn trữ

Nguyên liệu rau muống được mua và vận chuyển về phòng thí nghiệm, rau muống để nguyên gốc rễ, loại bỏ lá hư và rửa sạch đất, cát. Chuẩn bị dung dịch chlorine (sục khí ozone); tiếp theo tiến hành thí nghiệm như đã bố trí và phân tích chỉ tiêu cho tất cả các nghiệm thức.

### Bố trí thí nghiệm

**Thí nghiệm 1.** Khảo sát ảnh hưởng nồng độ chlorine (10 ÷ 40 ppm), thời gian ngâm

(5 ÷ 20 phút) đến mật số vi khuẩn *Coliform*, *E.coli* trên rau muống

**Thí nghiệm 2.** Khảo sát ảnh hưởng thời gian sục khí ozone (10 ÷ 25 phút), thời gian ngâm (5 ÷ 20 phút) đến mật số vi khuẩn *Coliform*, *E.coli* trên rau muống

Chỉ tiêu theo dõi: mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* trước và sau khi xử lý với ozone và chlorine

## 3. Kết quả và thảo luận

**3.1. Ảnh hưởng nồng độ và thời gian ngâm chlorine đến mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* trên rau muống**

**Bảng 1.** Ảnh hưởng nồng độ chlorine đến mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli*

Nồng độ chlorine (ppm)	Mật số vi khuẩn (log cfu/g)	
	<i>Coliform</i>	<i>E.coli</i>
10	3,24 <sup>*c</sup>	2,88 <sup>c</sup>
20	3,13 <sup>b</sup>	2,86 <sup>b</sup>
30	2,88 <sup>a</sup>	2,44 <sup>a</sup>
40	2,79 <sup>a</sup>	2,42 <sup>a</sup>

Ghi chú: \* Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại

Các giá trị trung bình có cùng chữ cái đi kèm a, b,... trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Kết quả thống kê ở **Bảng 1** cho thấy ở tất cả các nồng độ chlorine trong thí nghiệm đều có khả năng làm giảm mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* trên rau muống. Mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* thấp nhất ở nồng độ 40 ppm nhưng không khác biệt ý nghĩa thống kê so với nồng độ 30 ppm. Chlorine là chất sát trùng, tác dụng sát trùng tỷ lệ thuận với nồng độ chlorine, khi tăng nồng độ chlorine thì

mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* giảm. Khi chlorine hòa tan trong nước xảy ra phản ứng thủy phân tạo thành acid hypochloric (HOCl), ion H<sup>+</sup> và ion Cl<sup>-</sup>, trong đó acid hypochloric (HOCl) có tính sát khuẩn mạnh (Sapers, 2003) dẫn đến khi nồng độ chlorine càng cao thì phản ứng thủy phân xảy ra càng mạnh tạo ra nhiều acid hypochloric nên khả năng diệt khuẩn của chlorine càng mạnh.

**Bảng 2. Ảnh hưởng thời gian ngâm chlorine đến mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli***

Thời gian ngâm (phút)	Mật số vi khuẩn (log cfu/g)	
	<i>Coliform</i>	<i>E.coli</i>
5	3,27* <sup>c</sup>	2,98 <sup>c</sup>
10	3,13 <sup>b</sup>	2,70 <sup>b</sup>
15	2,88 <sup>a</sup>	2,48 <sup>a</sup>
20	2,75 <sup>a</sup>	2,43 <sup>a</sup>

Ghi chú: \* Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại.

Các giá trị trung bình có cùng chữ cái đi kèm a, b,... trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Kết quả thống kê ở **Bảng 2** cho thấy khi thời gian ngâm càng tăng thì mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* càng giảm. Mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* giảm, không có sự khác biệt giữa thời gian ngâm 15 phút và 20 phút. Do khả năng sát khuẩn của chlorine phụ thuộc vào hàm lượng acid hypochloric hiện diện trong nước nên khi tăng thời gian ngâm sẽ làm tăng khả năng phá vỡ màng tế bào, dẫn đến mất tính thấm được của màng tế bào và phá hoại các chức năng khác của tế bào. Nghiên cứu

đối với rau diếp ngâm trong dung dịch chlorine có nồng độ 50 mg/l trong 30 giây có thể giảm được mật số vi khuẩn *E.coli* khoảng  $1,9 \div 2,8$  log cfu/g so với mật số ban đầu là 6,8 log cfu/g. Tùy thuộc vào nồng độ và thời gian ngâm, bắp cải được ngâm trong dung dịch chlorine có thể giảm mật số vi khuẩn *E.coli* khoảng  $1,7 \div 2,5$  log cfu/g (Behrsing *et al.*, 2000).

### 3.2. Ảnh hưởng của thời gian sục khí và thời gian ngâm ozone đến mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* trên rau muống

**Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian sục khí ozone đến mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli***

Thời gian sục khí O <sub>3</sub> (phút)	Mật số vi khuẩn (log cfu/g)	
	<i>Coliform</i>	<i>E.coli</i>
10	3,03* <sup>c</sup>	2,55 <sup>b</sup>
15	2,77 <sup>b</sup>	2,61 <sup>c</sup>
20	2,50 <sup>a</sup>	2,25 <sup>a</sup>
25	2,43 <sup>a</sup>	2,21 <sup>a</sup>

Ghi chú: \* Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại.

Các giá trị trung bình có cùng chữ cái đi kèm a, b,... trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Khi thay đổi thời gian sục khí ozone của nước ngâm thì mật số vi khuẩn *Coliform* trên

rau muống sau khi ngâm cũng thay đổi. Kết quả thống kê **Bảng 3** cho thấy mật số vi khuẩn

*Coliform* giảm khi tăng thời gian sục khí ozone, mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* ban đầu là 4,18 log cfu/g và 3,93 log cfu/g giảm còn 2,50 log cfu/g và 2,25 log cfu/g. Theo kết quả phân tích, dung dịch nước ngâm ozone với thời gian sục khí 20 phút cho hiệu quả sát khuẩn không khác biệt so với thời gian sục khí 25 phút nhưng khác biệt với các dung dịch nước ngâm ozone ứng với thời gian sục khí 10 và 15 phút. Điều này cho thấy do sự sát khuẩn của ozone là phản ứng oxy hoá. Vị trí tấn công đầu tiên là màng vi khuẩn hoặc qua glycoprotein hoặc glycolipid hoặc các acid amin của vi khuẩn bằng tác động lên nhóm sulphydryl của enzyme nào đó. Ngoài ra, ozone cũng cho thấy ảnh hưởng đến cả purines và pyrimidines trong acid nucleic. Theo Kim *et al.* (1999), nước ozone được sử dụng để xử lý rau diếp loại bỏ được các tác nhân gây hư hỏng. Ngâm rau diếp trong dung dịch nước có nồng độ 1,3 ppm trong 3 phút đã vô hoạt 1,2 log cfu/g vi sinh vật chịu nhiệt trung bình và 1,8 log cfu/g

vi sinh vật chịu lạnh. Cần tây có mật số vi khuẩn tổng số ban đầu là 5,08 cfu/g sau khi ngâm trong nước ozone ở các nồng độ 0,03; 0,08 và 0,18 ppm thì mật số vi khuẩn tổng số giảm còn lần lượt là 4,29; 4,11 và 3,39 cfu/g (Zhang *et al.*, 2005).

Kết quả cũng cho thấy mật số vi khuẩn *E.coli* giảm khi tăng thời gian sục khí ozone trong quá trình xử lý, sự giảm mật số vi khuẩn *E.coli* có khác biệt đối với thời gian sục khí ozone, thời gian 20 và 25 phút có kết quả tiêu diệt *E.coli* nhiều nhất. Khi thời gian sục khí ozone càng cao thì lượng oxy nguyên tử trong nước ngâm càng nhiều, do đó tăng cường khả năng oxy hoá đối với vi sinh vật. Nghiên cứu của Kim & Yousef (2000) cho thấy khi xử lý ozone đối với vi khuẩn *E.coli* O157:H7 ở nồng độ 0,2 ppm và 1,2 ppm cho kết quả giảm là 0,9 log và 5 log. Do đó, sử dụng nước ozone có thời gian sục khí 20 phút làm giảm nhiều mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* trên rau muống.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng thời gian ngâm ozone đến mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli*

Thời gian ngâm (phút)	Mật số vi khuẩn (log cfu/g)	
	<i>Coliform</i>	<i>E.coli</i>
5	2,88 <sup>*c</sup>	2,63 <sup>c</sup>
10	2,76 <sup>b</sup>	2,55 <sup>b</sup>
15	2,60 <sup>a</sup>	2,26 <sup>a</sup>
20	2,49 <sup>a</sup>	2,18 <sup>a</sup>

Ghi chú: \* Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại.

Các giá trị trung bình có cùng chữ cái đi kèm a, b,... trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Kết quả **Bảng 4** cho thấy thời gian ngâm ảnh hưởng rất nhiều đến mật số vi khuẩn *Coliform*, thời gian ngâm càng dài sự giảm mật số vi khuẩn *Coliform* càng nhiều. Ngâm

rau muống ở khoảng thời gian 15 và 20 phút cho mật số vi khuẩn *Coliform* giảm nhiều nhất và có khác biệt so với thời gian ngâm 5 và 10 phút. Tuy nhiên, thời gian ngâm 15 và 20 phút

không có khác biệt. Đối với rau diếp chế biến giảm thiểu, khi tăng thời gian xử lý sẽ có hiệu quả trong việc giảm lượng vi sinh vật và mầm bệnh, ở thời gian xử lý 3 và 5 phút, giảm 1,2 và 3,9 log cfu/g đối với các vi sinh vật chịu nhiệt trung bình, 1,8 và 4,6 log đối với vi sinh vật chịu lạnh (Kim *et al.*, 1999). Còn theo Rodger *et al.* (2004), ở thời gian xử lý 5 phút, giảm 4 đến 5 log vi khuẩn chịu nhiệt trung bình.

Kết quả cũng cho thấy mật số vi khuẩn *E.coli* trên rau muống giảm theo thời gian ngâm. Mật số vi khuẩn *E.coli* của các mẫu ứng với các khoảng thời gian ngâm 15 và 20 phút giảm không khác biệt. Cho thấy thời gian xử lý càng dài thì khả năng oxy hoá của ozone đối với vi sinh vật càng nhiều. Theo Zeynep *et al.* (2004), khi tiến hành xử lý ozone ở các thời gian 2 và 10 phút, mật số vi khuẩn *E.coli* giảm lần lượt 6,02 và 6,10 log cfu/g.

Kết quả cho thấy, khi sử dụng ozone có thời gian sục khí 20 phút và thời gian ngâm 15 phút để xử lý rau muống làm giảm mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli* trên rau muống hiệu quả tối ưu.

Các kết quả thí nghiệm cho thấy, khi sử dụng chlorine và ozone trong xử lý vi khuẩn trên rau muống cả hai loại đều có khả năng làm giảm mật số vi khuẩn *Coliform* và *E.coli*. Tuy nhiên, hiệu quả của mỗi loại không giống nhau, sử dụng ozone có hiệu quả hơn so với chlorine. Chlorine là tác nhân làm sạch được sử dụng rộng rãi nhất đối với nông sản tươi, nhưng nó có hiệu quả hạn chế trong việc tiêu diệt vi khuẩn trên bề mặt rau cải và trái cây, lượng giảm mật số vi khuẩn nhiều nhất có thể ở mật độ là 1÷2 log (Saper, 2003). Trong khi đó, ozone là tác nhân kháng vi sinh vật mạnh và có phổ rộng như vi khuẩn, nấm, virus và bào

tử vi khuẩn, bào tử nấm mốc (Khadre *et al.*, 2001). Ngoài ra, điện thế oxy hoá của ozone là 2,07 mV, của acid hypochloric là 1,49 mV (Zeynep *et al.*, 2004) nên khả năng oxy hoá vi sinh vật của ozone mạnh hơn chlorine. Bên cạnh đó, tồn dư của chlorine còn lại trong rau sẽ ảnh hưởng đến sức khỏe của người tiêu dùng, clo phản ứng với chất hữu cơ, sinh ra các sản phẩm phụ gây ung thư. Mặt khác, hiệu quả khử trùng của clo phụ thuộc rất nhiều vào pH, phải điều chỉnh dung dịch xử lý về pH thích hợp mới đạt hiệu quả cao, tốn công đoạn hiệu chỉnh. Do đó, sử dụng ozone ở thời gian sục khí 20 phút với thời gian ngâm 15 phút có kết quả tối ưu để xử lý *Coliform* và *E.coli* trên rau muống.

#### 4. Kết luận

Rau muống sau thu hoạch được xử lý bằng ozone ở thời gian sục khí 20 phút với thời gian ngâm 15 phút có kết quả tối ưu để xử lý *Coliform* và *E.coli*. Khả năng an tâm chấp nhận của rau muống về an toàn vi sinh của người tiêu dùng được đánh giá cao.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Behrsing, J., Winkler, S., Franz, P. and Premier, R., "Efficacy of chlorine for inactivation of *Escherichia coli* on vegetables". *Postharvest biology and technology* 19, pp. 187-192, 2000.
2. Quách Đình, Nguyễn Văn Tiếp & Nguyễn Văn Thoa, *Bảo quản và chế biến rau quả*, Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 2008.
3. Han, Y., Floros, J. D., Linton, R. H., Nielsen, S. S. and Nelson, P. E., "Response surface modeling for the inactivation of *E.coli* O157:H7 on green peppers by ozone gas

- treatment”, *Journal of Science.*, Vol. 67, No. 3, 2002.
4. Hassenber K., Idler Chr., “Influence of washing method on the quality of prepacked iceberg lettuce”, *Agricultural engineering international: the CIGR Ejournal*. Manuscript FP 05 003. Vol. VII, 2005.
  5. Lại Mai Hương & Phan Ngọc Dung, *Khảo sát ảnh hưởng của dung dịch rửa và điều kiện rửa đến chất lượng của rau salat sơ chế*, tạp chí phát triển KH & CN, tập 2, số 12, Tp. HCM, 2006.
  6. Khadre M.A., Yousef, A.E., and Kim J.G., “Microbiological aspects of ozone Applications in food: A review”. *Journal of Food Science* 9, pp. 1242-1252, 2001.
  7. Kim, J. G., Yousef, A. E., and Dave, S., “Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods”. *Journal of Food Protection* 62, pp. 1071-1087, 1999.
  8. Kim J.-G. and Yousef A.E., “Inactivation kinetics of foodborne spoilage and pathogenic bacteria by ozone”. *Journal of food science* 65, pp 521-528, 2000.
  9. Rodger, S.T., Cash J.N., Siddiq, and Ryser E.T., “A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *listeria monocytogens* in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe”. *J. Food Protection* 67, pp. 721-731. 2004..
  10. Sapers, G.M., Washing and sanitizing raw materials for minimally processing fruits and vegetables. In *Microbial Safety of Minimally Processed Foods*, 221-253. CRC press, 2003.
  11. Zeynep B. Güzel-Seydim, Paul I. Bever Jr., Annel K. Greene, “Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components”. *Food Microbiology* 21, pp. 475-479, 2004..
  12. Zhang, L., Lu, Z., Yu, Z and Gao, X., “Preservation fresh-cut celery by treatment of ozoned water”. *Food Control* 16, pp.279-283, 2005.
  13. Yousef, A. E., Kim, J-G., and Dave, S., *Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods-a review*, *Journal of Food Protection.*, Vol. 62, No. 9, pp. 1071-1087, 1999.