

DOI:10.22144/ctu.jsi.2018.053

SỰ BIẾN ĐỔI CỦA LƯỢNG COLIFORMS VÀ *Escherichia coli* GÂY NHIỄM TRÊN CÁ RÔ PHI KHI BẢO QUẢN Ở NHIỆT ĐỘ DƯƠNG THẤP

Nguyễn Thị Kiều Diễm, Nguyễn Ngọc Quỳnh Như, Nguyễn Công Bảy và Mai Thị Tuyết Nga*

Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Mai Thị Tuyết Nga (email: ngamtt@ntu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 17/05/2018

Ngày nhận bài sửa: 07/06/2018

Ngày duyệt đăng: 30/07/2018

Title:

Quantity changes of coliforms and *Escherichia coli* inoculated in Nile tilapia during storage at low temperatures

Từ khóa:

Bảo quản lạnh, cá rô phi, Coliforms, *E. coli*

Keywords:

Coliforms, *E. coli*, low temperature storage, tilapia

ABSTRACT

The study was to investigate the changes of counts of coliforms and *E. coli* in Nile tilapia inoculated with *E. coli* during storage at 5 low temperature regimes (1, 4, 9, 15, and 19 ± 1°C). In order to have *E. coli* in all the samples, *E. coli* was injected into the fish at a known level (≤ 90 cfu/g) at the beginning of each storage. The initial counts of coliforms ranged from 5.6.10³ cfu/g to 1.44.10⁴ cfu/g. At the end of the fish shelf-life based on the total viable counts (≥ 10⁶ cfu/g), coliforms in tilapia after 144 hours at 1 ± 1°C, 120 hours at 4 ± 1°C, 120 hours at 9 ± 1°C, 24 hours at 15 ± 1°C, and 20 hours at 19 ± 1°C were 6.6.10⁶, 4.17.10⁶, 2.22.10⁶, 1.15.10⁶, and 7.64.10⁶ cfu/g, respectively. The results showed that coliforms increased faster at higher storage temperatures, while the growth of *E. coli* was delayed at 1 ± 1°C and 4 ± 1°C.

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm mục đích theo dõi xu hướng biến đổi của vi sinh vật chỉ thị vệ sinh coliforms và *E. coli* khi tiến hành gây nhiễm *E. coli* vào cá rô phi trong quá trình bảo quản tại 5 chế độ nhiệt độ dương thấp (1, 4, 9, 15 và 19 ± 1°C). Để tất cả các mẫu ban đầu đều nhiễm *E. coli*, chúng vi khuẩn thuần từ phòng thí nghiệm được tăng sinh và tiêm vào mẫu cá với lượng biết trước (≤ 90 cfu/g). Lượng coliforms ban đầu biến động từ 5,6.10³ cfu/g đến 1,44.10⁴ cfu/g. Ở cuối thời hạn bảo quản, dựa vào tổng lượng vi sinh vật hiếu khí TVC (khi TVC ≥ 10⁶ cfu/g), lượng coliforms trong cá rô phi sau 144 giờ ở 1 ± 1°C, 120 giờ ở 4 ± 1°C, 120 giờ ở 9 ± 1°C, 24 giờ ở 15 ± 1°C, và 20 giờ ở 19 ± 1°C lần lượt là: 6,6.10⁶; 4,17.10⁶; 2,22.10⁶; 1,15.10⁶ và 7,64.10⁶ cfu/g. Kết quả cho thấy lượng coliforms tăng càng nhanh khi nhiệt độ bảo quản càng cao, trong khi *E. coli* không phát triển ở 1 ± 1°C và 4 ± 1°C.

Trích dẫn: Nguyễn Thị Kiều Diễm, Nguyễn Ngọc Quỳnh Như, Nguyễn Công Bảy và Mai Thị Tuyết Nga, 2018. Sự biến đổi của lượng coliforms và *Escherichia coli* gây nhiễm trên cá rô phi khi bảo quản ở nhiệt độ dương thấp. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(Số chuyên đề: Thủy sản)(2): 195-201.

1 GIỚI THIỆU

Thủy sản là nguồn thực phẩm có giá trị dinh dưỡng và giá trị kinh tế cao. Trong những năm gần đây, ngành thủy sản nước ta đã có những bước phát

triển mạnh mẽ, trở thành một trong những ngành kinh tế mũi nhọn của đất nước nói chung và cho vùng Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) nói riêng. Bên cạnh đó, việc mở rộng thị trường và đa dạng hóa sản phẩm từ nhiều đối tượng để tạo ra

những loại sản phẩm có năng lực cạnh tranh cao trên thị trường thế giới là một chiến lược tối cần thiết. Một trong những loại nguyên liệu có khả năng đáp ứng nhu cầu xuất khẩu là cá rô phi (*Oreochromis niloticus*). Ở các nước Châu Phi, Trung Đông và một số nước trên thế giới, cá rô phi là loài được nuôi phổ biến nhất khi nguồn nguyên liệu cá tự nhiên trở nên cạn kiệt (Ahmed *et al.*, 2005). Cá rô phi trở thành nguồn protein chủ yếu ở nhiều quốc gia phát triển. Sản lượng cá rô phi được nuôi trên thế giới vào khoảng 5,67 triệu tấn năm 2015 (FAO, 2017) và trên 6 triệu tấn năm 2016. Các nước sản xuất nhiều nhất là Trung Quốc, Indonesia, Ai Cập, Brazil, Bangladesh, Philippines, Thái Lan và Việt Nam (Hồng Thắm, 2017). Tại Việt Nam, tổng sản lượng cá rô phi trên cả nước là 187.800 tấn (2015), được xuất khẩu tới hơn 60 quốc gia và vùng lãnh thổ, với doanh thu hơn 27,5 triệu USD (2015). Trong đó, ba thị trường lớn nhất là Mỹ, Tây Ban Nha và Colombia (Hà Kiều, 2016).

Mặt khác, an toàn vệ sinh thực phẩm là vấn đề được xã hội rất quan tâm hiện nay. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), mỗi năm nước ta có khoảng 250-500 vụ ngộ độc thực phẩm với 7.000-10.000 nạn nhân và 100-200 ca tử vong. Trong số đó, vụ ngộ độc do vi sinh vật gây bệnh chiếm 33-49%, và một trong những vi khuẩn gây bệnh thường gặp là *E. coli* (Bùi Mạnh Hà, 2016). Coliforms và *E. coli* là hai chỉ tiêu vi sinh vật chỉ thị vệ sinh y tế. Theo Quyết định 46/2007/QĐ-BYT của Bộ Y tế thì lượng *E. coli* trong thủy sản tươi/đông lạnh cần qua chế biến nhiệt trước khi sử dụng không được quá 100 cfu/g (Bộ Y tế, 2007). Những nghiên cứu về sự biến đổi của lượng coliforms, *E. coli* trên phi lê cá tra (Mai Thi Tuyet Nga and Huynh Thi Ai Van, 2016) và tôm sú nguyên con (Mai Thị Tuyết Nga, 2016), cũng như những nghiên cứu khảo sát ban đầu của nhóm tác giả trên phi lê cá rô phi (Nguyễn Thụy Vân Duyên, 2017) khi bảo quản thủy sản ở nhiệt độ dương thấp cho thấy: sự xuất hiện rời rạc của *E. coli* phụ thuộc vào lô nguyên liệu và cá thể thủy sản. Nghiên cứu của các tác giả này còn cho thấy các nhiệt độ thấp như 1 và 4 ± 1°C không phù hợp cho sự phát triển của *E. coli*. Vì vậy, để biết được xu hướng biến đổi của lượng coliforms và *E. coli* trên cá rô phi và khẳng định tác dụng ức chế của nhiệt độ thấp đến sự phát triển của *E. coli*, cần chủ động lấy nhiễm *E. coli* vào mẫu cá rô phi và nghiên cứu sự biến động số lượng của chúng trong thời gian tồn trữ lạnh. Điều này sẽ rất cần thiết và hỗ trợ hữu ích cho việc quản lý chất lượng và an toàn thực phẩm trong chuỗi cung ứng cá rô phi lạnh/lạnh đông.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu cá rô phi

Cá rô phi được phi lê và đông rời IQF tại một công ty chế biến thủy sản ở ĐBSCL, kích cỡ cá 120-170 g/phi lê. Mẫu nguyên liệu được đựng trong túi PE hàn kín miệng và giữ lạnh bằng đá gel trong thùng cách nhiệt, vận chuyển về phòng thí nghiệm Trường Đại học Nha Trang trong vòng 16 giờ. Tại phòng thí nghiệm, cá được kiểm tra, bao gói vào túi PA (3 phi lê/túi) và bảo quản ở -18 ± 2°C đến khi sử dụng.

2.2 Hóa chất và môi trường

Hóa chất và môi trường được sử dụng gồm: Eosin methylene blue (EMB) agar (Merck), Violet Red Bile (VRB) agar (Merck), Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck), Pepton from meat (Merck), Pepton from casein (Merck), Kovac's (Merck), Sodium hydroxide (Trung Quốc), NaCl (Trung Quốc), Na₂HPO₄.12H₂O (Trung Quốc), KH₂PO₄ (Trung Quốc).

2.3 Chuẩn bị chủng *E. coli*

Chủng *E. coli* thuần phân lập từ mẫu thực phẩm tại Phòng Thí nghiệm Vi sinh, Trung tâm Thí nghiệm Thực hành, Trường Đại học Nha Trang được nuôi cấy trên môi trường EMB (Merck) ở 35°C trong 24 giờ, và được tăng sinh trong môi trường TSB (Merck) ở nhiệt độ 37°C trong 4-6 giờ. Sau thời gian này, lượng vi khuẩn *E. coli* sẽ đạt từ 10⁸ cfu/mL. Chủng *E. coli* được bảo quản trong dung dịch glycerin ở -40°C. Trước mỗi lần gây nhiễm, chủng *E. coli* được pha loãng và kiểm tra mật độ chủng. Dựa trên kết quả kiểm tra, lượng vi sinh vật cần tiêm vào mẫu sẽ được tính toán.

2.4 Gây nhiễm mẫu cá bằng *E. coli*

Quá trình gây nhiễm mẫu thực hiện theo phương pháp gây nhiễm được trình bày bởi Katona (2014), chủng *E. coli* được tiêm vào từng miếng cá đã chuẩn bị sẵn với lượng đã được tính toán sao cho lượng *E. coli* ban đầu khoảng 90 cfu/g. Sau khi lây nhiễm, mẫu cá được bọc trong các túi PE và bảo quản ở các chế độ nhiệt độ ổn định.

2.5 Bố trí thí nghiệm

Cá rô phi phi lê trong túi PA được rửa đông hoàn toàn bằng không khí lạnh ở 6-8°C (mất khoảng 8 giờ). Phi lê cá sau đó được cắt thành miếng nhỏ, mỗi miếng có kích thước 5x5x0,5 cm (khoảng 25 g/miếng) (Lê Nguyễn Đoàn Duy và Nguyễn Công Hà, 2014). Sau đó *E. coli* được tiến hành tiêm chủng vào mẫu với lượng đã được tính toán. Mẫu sau khi tiêm *E. coli* được bảo quản ở 5 chế độ nhiệt độ ổn định là: 1, 4, 9, 15 và 19 ± 1°C bằng tủ lạnh dân dụng có lắp thiết bị điều khiển (Dixell, Emerson Electric Co.) để ổn định nhiệt độ trong quá trình bảo quản.

Thời gian bảo quản mẫu được bố trí dựa trên nghiên cứu của Huỳnh Thị Ái Vân (2015) và Mai Thị Tuyết Nga (2016). Ở mỗi chế độ nhiệt độ, 7-9 điểm mẫu sẽ được lấy theo thời gian để theo dõi được sự biến động của lượng vi khuẩn trong suốt quá trình bảo quản, tạo điều kiện để phát hiện được quy luật biến đổi (nếu có) của chỉ tiêu chất lượng nghiên cứu (Chill-on, 2007). Nhiệt độ các ngăn tủ được giám sát bằng bộ điều khiển Dixell và nhiệt kế tự ghi EC850A (MicroLogPRO II, Israel). Nhiệt độ mẫu được giám sát liên tục bằng nhiệt kế tự ghi DS1922L-F5 iButton® (Maxim Integrated Products, Inc., CA).

2.6 Phương pháp phân tích vi sinh vật

Coliform và *E. coli* được định lượng theo NMKL 125 4th ed. 2005 (NMKL125).

2.7 Xử lý số liệu

Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần độc lập với 3 lô cá rô phi phi lê. Số liệu được tính trung bình, độ lệch chuẩn trên 3 lần thí nghiệm. Phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Tukey được thực hiện trên phần mềm SPSS 17.0 với mức khác biệt có ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

2.8 Xây dựng mô hình về sự phát triển của vi khuẩn theo thời gian

Dữ liệu về lượng coliforms và *E. coli* của các mẫu gây nhiễm đo được tại các nhiệt độ ổn định được lắp vào mô hình sơ cấp Baranyi và Roberts (1994) (Phương trình 1-3) để tìm các thông số của mô hình, nhằm mô tả xu hướng biến đổi của vi khuẩn theo thời gian.

$$y = y_{max} \ln \left(\frac{1 + \exp(\mu_{max}t - h_0) - \exp(-h_0)}{\exp(y_{max} - y_0) + \exp(\mu_{max}t - h_0) - \exp(-h_0)} \right) \tag{1}$$

$$h_0 = \ln \left(\frac{1 + q_0}{q_0} \right) \tag{2}$$

$$\lambda \cdot \mu_{max} = \ln \left(\frac{1 + q_0}{q_0} \right) = h_0 \tag{3}$$

Trong đó: y là logarit cơ số 10 của lượng vi khuẩn tại thời điểm t (log cfu/g);

y_0 là logarit cơ số 10 của lượng vi khuẩn ban đầu (log cfu/g);

y_{max} là logarit cơ số 10 của lượng vi khuẩn tối đa (log cfu/g);

μ_{max} là tốc độ phát triển tối đa của vi khuẩn (1/h);

λ là thời gian trễ, tức pha lag (h);

q_0 là thông số của mô hình, một đại lượng đặc trưng cho trạng thái sinh lý của tế bào vi khuẩn;

h_0 là thông số của mô hình, là một dạng chuyển đổi của thông số q_0 (Phương trình (2)), có độ ổn định thống kê hơn so với q_0 .

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

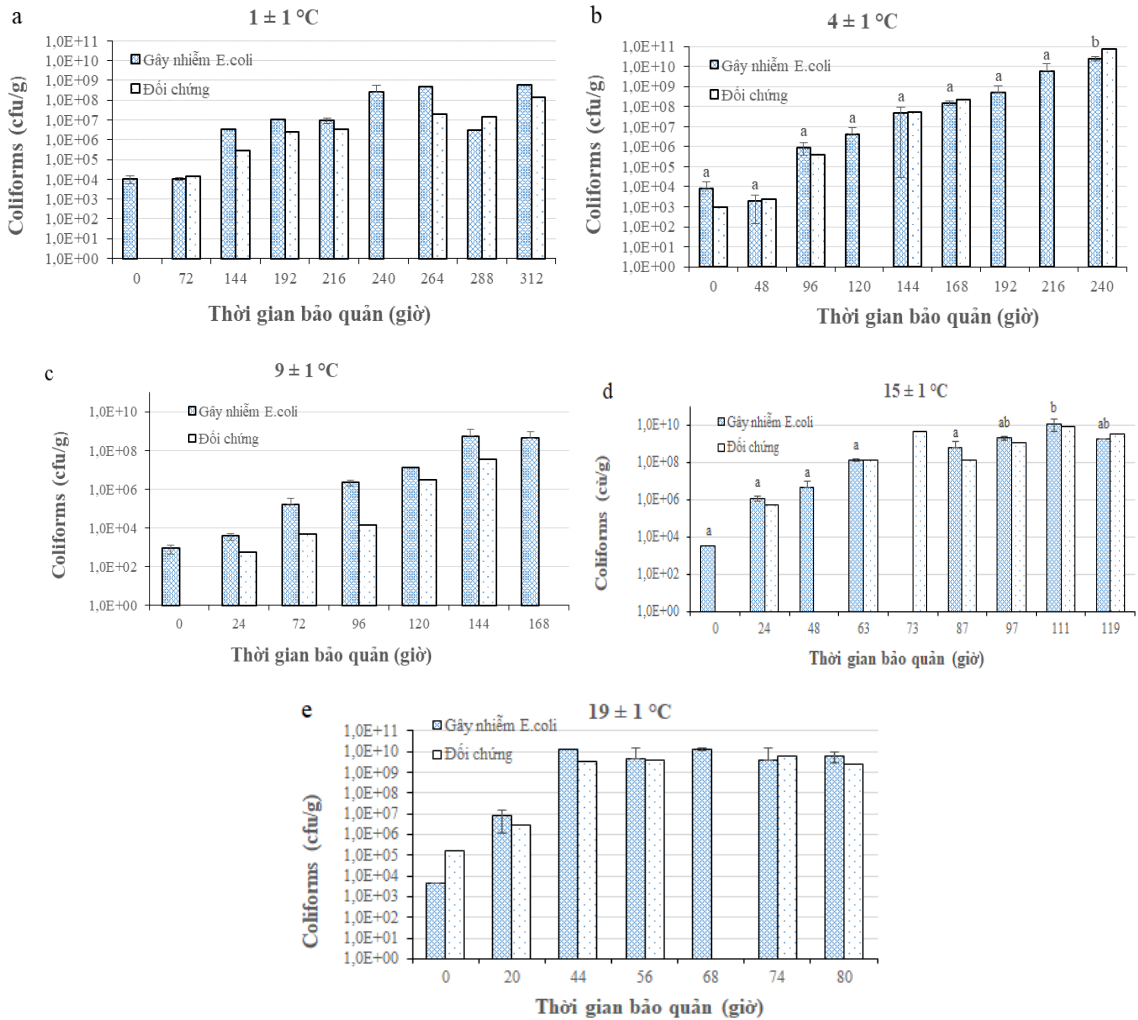
3.1 Sự biến đổi của lượng coliforms trên cá rô phi khi bảo quản nhiệt độ dương thấp

Sự biến đổi của lượng coliforms theo nhiệt độ và thời gian bảo quản, được trình bày ở Hình 1.

Trên cùng một loại cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị trung bình của lượng coliforms giữa các giờ bảo quản

Kết quả nghiên cứu ở Hình 1 cho thấy, lượng coliforms ban đầu ở các mẫu gây nhiễm *E. coli* dao động trong khoảng từ $5,6.10^2 - 1,44.10^4$ cfu/g, trong khi đó lượng coliforms ban đầu ở các mẫu đối chứng dao động trong khoảng lớn hơn từ $0 - 1,55.10^5$ cfu/g. Coliforms cũng không xuất hiện ở một số điểm mẫu trong quá trình bảo quản như điểm mẫu 240 giờ ở $1 \pm 1^\circ\text{C}$; 120, 192 và 216 giờ ở $4 \pm 1^\circ\text{C}$; 168 giờ ở $9 \pm 1^\circ\text{C}$; 48 giờ ở $15 \pm 1^\circ\text{C}$ và 68 giờ ở $19 \pm 1^\circ\text{C}$. Điều này cho thấy, coliforms trong các mẫu đối chứng xuất hiện rời rạc phụ thuộc vào lô nguyên liệu và cá thể mẫu. Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu trên cá tra phi lê (Mai Thị Tuyết Nga and Huỳnh Thị Ai Van, 2016), cá rô phi vằn phi lê (Nguyễn Thụy Vân Duyên, 2017) và tôm sú (Mai Thị Tuyết Nga, 2016) rằng các vi khuẩn chỉ thị vệ sinh xuất hiện rời rạc trên mẫu thủy sản. Đó cũng chính là lý do nghiên cứu này và một số nghiên cứu đi trước (Lê Nguyễn Đoàn Duy và Nguyễn Công Hà, 2014) chủ động gây nhiễm mẫu để phục vụ mục đích nghiên cứu.

Nhìn chung, lượng coliforms ở các mẫu gây nhiễm có xu hướng biến đổi tăng theo thời gian bảo quản ở tất cả các nhiệt độ bảo quản 1, 4, 9, 15 và $19 \pm 1^\circ\text{C}$, tăng nhanh hơn ở nhiệt độ càng cao, đồng thời lượng coliforms ở các mẫu đối chứng đa số thấp hơn ở các mẫu lấy nhiễm (Hình 1). Kết quả phân tích ANOVA cho thấy, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về lượng coliforms giữa các ngày bảo quản ở nhiệt độ 1, 9 và $19 \pm 1^\circ\text{C}$, đó có thể là do sự dao động lớn về lượng vi khuẩn giữa các lô thí nghiệm độc lập ở cùng thời điểm lấy mẫu. Lượng coliforms khi bảo quản ở $4 \pm 1^\circ\text{C}$ tại 240 giờ khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các thời điểm bảo quản trước đó. Ở $15 \pm 1^\circ\text{C}$, kết quả ANOVA cho thấy lượng coliforms ở các thời gian bảo quản 24, 48, 63, 87 giờ có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với mẫu bảo quản sau 111 giờ. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu trên cá rô phi phi lê của Nguyễn Thụy Vân Duyên (2017) và tôm sú nguyên liệu của Mai Thị Tuyết Nga (2016) rằng coliforms có sự phát triển nhanh khi nhiệt độ tăng và thời gian bảo quản kéo dài.



Hình 1: Sự biến đổi của lượng coliforms trên cá rô phi khi bảo quản ở: (a) 1 ± 1°C, (b) 4 ± 1°C, (c) 9 ± 1°C, (d) 15 ± 1°C và (e) 19 ± 1°C

Trên cùng một loại cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) về giá trị trung bình của lượng coliforms giữa các giờ bảo quản

Nếu căn cứ vào thời hạn bảo quản cá rô phi phi lê dựa trên tổng lượng vi sinh vật hiếu khí TVC (khi $TVC \geq 10^6$ cfu/g, theo quy định của Bộ Y tế (2007)) của Nguyễn Thụy Vân Duyên (2017), thì lượng coliforms trong cá rô phi sau 144 giờ ở 1 ± 1°C, 120 giờ ở 4 ± 1°C, 120 giờ ở 9 ± 1°C, 24 giờ ở 15 ± 1°C, và 20 giờ ở 19 ± 1°C lần lượt là: $6,6 \cdot 10^6$, $4,17 \cdot 10^6$; $2,22 \cdot 10^6$; $1,15 \cdot 10^6$ và $7,64 \cdot 10^6$ cfu/g.

Kết quả mô hình hóa (Bảng 1) cho thấy, sự phát triển của coliforms ở các nhiệt độ ổn định hoàn toàn tuân theo quy luật đường cong sinh trưởng của vi sinh vật nói chung. Đồng thời, thời gian trễ (pha lag) càng ngắn và vận tốc phát triển tối đa của coliforms càng lớn ở nhiệt độ bảo quản càng cao thì chứng tỏ những vi khuẩn này phát triển càng nhanh ở nhiệt độ càng cao. Smith (1985) đã nhận định, coliforms

chưa thích nghi với nhiệt độ lạnh khi mới đưa vào môi trường này nên khả năng sinh trưởng bị ức chế vào giai đoạn đầu (pha lag). Kết quả về sự phát triển của coliforms ở nghiên cứu này tương tự như kết quả nghiên cứu về TVC phát triển ở nhiệt độ thấp và *Pseudomonas* spp. trên cá tra phi lê của Mai Thị Tuyết Nga and Huỳnh Thị Ai Van (2016). Điều này không định vì sao nên bảo quản thủy sản ở nhiệt độ thấp để hạn chế sự phát triển của vi sinh vật, nhằm duy trì chất lượng và an toàn thực phẩm thủy sản được lâu hơn. Hệ số R^2 của tất cả các phương trình hồi quy (Bảng 1) tương đối cao (từ 0,78 đến 0,97), đồng thời lỗi lặp mô hình (SE of Fit) tương đối thấp (0,41-0,91) cho thấy các mô hình tìm được đáng tin cậy. Tuy nhiên, cần lặp lại thí nghiệm nhiều lần để có thể cập nhật phương trình hồi quy ngày càng tốt hơn.

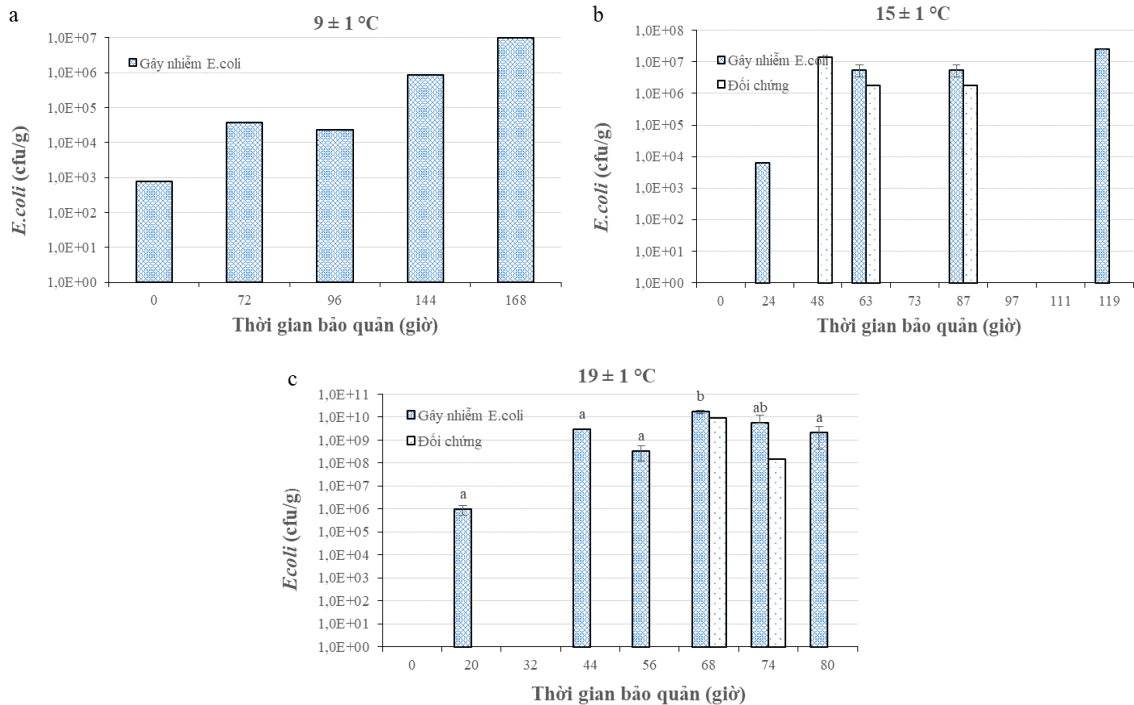
Bảng 1: Thông số của mô hình sơ cấp Baranyi và Roberts về sự phát triển của coliforms và *E. coli* ở các nhiệt độ ổn định

Nhiệt độ(± 1°C)	y ₀ (log cfu/g)	λ (h)	μ _{max} (1/h)	y _{max} (log cfu/g)	R ²	SE of Fit
Coliforms						
1	3,993 ± 0,645	100,704 ± 311,836	0,0706 ± 0,501	7,75 ± 0,323	0,779	0,913
4	3,301 ± 0,392	32,543 ± 20,449	0,0354 ± 0,00474	10,249 ± 0,792	0,94	0,571
9	3,184 ± 0,211	33,734 ± 11,637	0,0471 ± 0,00702	8,748 ± 0,445	0,959	0,423
15	4,265 ± 0,49		0,052 ± 0,00908	9,551 ± 0,522	0,851	0,702
19	3,873 ± 0,278	6,313 ± 4,561	0,146 ± 0,0165	9,928 ± 0,143	0,969	0,408
Mean	3,7232			9,2452		
<i>E. coli</i>						
1	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
15	1,967 ± 0,0581		0,0899 ± 0,00343	7,0362 ± 0,0397	0,999	0,0841
19	1,974 ± 0,464		0,205 ± 0,0328	9,446 ± 0,223	0,949	0,658
Mean	1,9705			8,2411		

3.2 Sự biến đổi của lượng *E. coli* gây nhiễm trên cá rô phi khi bảo quản nhiệt độ dương thấp

Tại 1 và 4 ± 1°C, các mẫu đối chứng không phát hiện được *E. coli* trong quá trình bảo quản, *E. coli* chỉ được phát hiện trong mẫu gây nhiễm ở 1 ± 1°C khi bảo quản 72 giờ với lượng 3,2.10² cfu/g và 4 ± 1°C là 1,13.10³ cfu/g ở mẫu đầu tiên (0 giờ). Các mẫu gây nhiễm và đối chứng khác không phát hiện được *E. coli* khi bảo quản ở nhiệt độ 1 và 4 ± 1°C. Nghiên cứu gây nhiễm *E. coli* vào tôm sú của Mai

Thị Trang (2016) khi bảo quản ở nhiệt độ 1 và 4 ± 1°C cũng không thấy sự phát triển của *E. coli*. Kết quả trên cũng tương đồng với nghiên cứu bảo quản tôm sú ở nhiệt độ 0-4°C của Dương Thị Phương Liên và ctv. (2011), tác giả không phát hiện *E. coli* sau 8-10 ngày bảo quản tôm sú ở nhiệt độ 0-4°C. Kết quả này giúp khẳng định nhận định của Mai Thị Tuyết Nga (2016); Mai Thị Tuyen Nga and Huynh Thi Ai Van (2016) rằng: nhiệt độ 1 ± 1°C và 4 ± 1°C không phù hợp cho sự phát triển của *E. coli*.



Hình 2: Sự biến đổi của lượng *E. coli* trên cá rô phi khi bảo quản ở: (a) 9 ± 1°C, (b) 15 ± 1°C và (c) 19 ± 1°C

Trên cùng một loại cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) về giá trị trung bình của lượng *E. coli* giữa các giờ bảo quản

Tại nhiệt độ bảo quản $9 \pm 1^\circ\text{C}$ (Hình 2): các mẫu đối chứng không phát hiện được *E. coli* trong suốt thời gian bảo quản, qua đó có thể hiểu các mẫu cá rô phi ban đầu không có *E. coli*. Ở các mẫu gây nhiễm, *E. coli* có xu hướng tăng lên theo thời gian bảo quản. Lượng *E. coli* ban đầu là $7,85 \cdot 10^2$ cfu/g, sau 144 và 168 giờ được bảo quản thì lần lượt là $3,65 \cdot 10^4$ cfu/g và $2,28 \cdot 10^4$ cfu/g. Điều này có thể xảy ra trong điều kiện thực tế của chuỗi cung ứng. Vì vậy, vấn đề an toàn vệ sinh rất quan trọng. Sản phẩm có thể bị lây nhiễm vi sinh vật từ nhiều nguyên nhân khác nhau (quá trình chế biến, bề mặt tiếp xúc, môi trường...) và gia tăng số lượng theo thời gian bảo quản dẫn đến mất an toàn và ảnh hưởng sức khỏe cho người sử dụng.

Kết quả phân tích ANOVA cho thấy, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về lượng *E. coli* giữa các giờ bảo quản ở nhiệt độ $15 \pm 1^\circ\text{C}$. Lượng *E. coli* sau 24 giờ bảo quản là $1,28 \cdot 10^4$ cfu/g, tăng nhanh đến sau 63 giờ và giữ ổn định đến 98 giờ, sau đó tăng nhẹ đến 119 giờ đạt $2,49 \cdot 10^7$ cfu/g. Bên cạnh đó ở mẫu không gây nhiễm, *E. coli* xuất hiện rời rạc, chỉ phát hiện ở một vài mẫu 48 giờ ($1,44 \cdot 10^7$ cfu/g), 63 giờ ($1,83 \cdot 10^6$ cfu/g) và 87 giờ ($1,83 \cdot 10^6$ cfu/g) (Hình 2).

Ở $19 \pm 1^\circ\text{C}$, kết quả phân tích ANOVA cho thấy, lượng *E. coli* ở mẫu gây nhiễm sau 20, 56, 80 giờ bảo quản có sự khác biệt ($p < 0,05$) so với thời điểm 68 giờ. Ở mẫu đối chứng, *E. coli* xuất hiện rời rạc ở các thời điểm 68 giờ ($9,15 \cdot 10^9$ cfu/g) và 74 giờ ($1,05 \cdot 10^8$ cfu/g) (Hình 2).

Bảng 1 cho thấy tốc độ phát triển của *E. coli* nhanh hơn khi tăng nhiệt độ bảo quản từ 15 lên $19 \pm 1^\circ\text{C}$. Sự phát triển của *E. coli* ở 15 và $19 \pm 1^\circ\text{C}$ cũng tuân theo quy luật đường cong sinh trưởng của vi sinh vật nói chung, tương tự như coliforms.

Nhìn chung, *E. coli* có xu hướng phát triển tăng theo thời gian bảo quản. Sự gia tăng của lượng *E. coli* còn chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như: sự sai phạm về nhiệt độ cùng với việc thực hành vệ sinh kém trong quá trình chế biến cũng như trong chuỗi cung ứng. Do đó, sự kiểm soát/duy trì nhiệt độ hậu cần thấp (1 và $4 \pm 1^\circ\text{C}$) và tuân thủ an toàn vệ sinh trong quá trình chế biến là rất quan trọng. Ngoài ra, việc ứng dụng những hợp chất như acid acetic và nước nóng nhằm giảm thiểu số lượng của *E. coli* và vi khuẩn tổng số trong thời gian tồn trữ lạnh (Lê Nguyễn Đoàn Duy và Nguyễn Công Hà, 2014), hay bổ sung chlorine hoặc acid peracetic vào nước rửa trong nhà máy chế biến thủy sản (Tong Anh Ngoc et al., 2013) cũng là những hướng đi tiềm năng trong công tác quản lý chất lượng và an toàn thực phẩm thủy sản.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, lượng coliforms và *E. coli* tăng càng nhanh ở nhiệt độ bảo quản càng cao ($1, 4, 9, 15$ và $19 \pm 1^\circ\text{C}$ đối với coliforms; 15 và $19 \pm 1^\circ\text{C}$ đối với *E. coli*) với quy luật biến đổi tuân theo mô hình sơ cấp Baranyi và Roberts, trong khi *E. coli* không phát triển ở $1 \pm 1^\circ\text{C}$ và $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

4.2 Đề xuất

Cần lập lại thí nghiệm nhiều lần để cải thiện mô hình sơ cấp về sự phát triển của vi sinh vật tìm được bên trên. Ngoài ra, sự biến đổi của coliforms và *E. coli* tại các điều kiện nhiệt độ biến động mô phỏng thực tế quá trình bảo quản trong chuỗi cung ứng cũng cần được nghiên cứu thêm. Qua đó, các mô hình biến đổi của chúng trên cá rô phi ở điều kiện nhiệt độ biến động và nhân rộng trên một số đối tượng thủy sản có giá trị kinh tế khác sẽ được xây dựng và kiểm định để dự đoán số lượng của chúng theo nhiệt độ và thời gian bảo quản nhằm dự báo thời hạn bảo quản một chính xác và đảm bảo chất lượng an toàn thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Al-Harbi, A.H. and Uddin, N., 2005. Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia. *Aquaculture*. 250: 566-572.
- Baranyi, J. and Roberts, T.A., 1994. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*. 23(3-4), 277-294.
- Bộ Y tế, 2007. Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT ngày 19/12/2007 về việc ban hành “Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm”, Hà Nội.
- Bùi Mạnh Hà. Thông kê ngộ độc thực phẩm tại Việt Nam, ngày truy cập 26/7/2016. Địa chỉ <http://trungtamnghiencuuthucpham.vn/thong-ke-ngodoc-thuc-pham-tai-viet-nam/>.
- Chill-on, 2007. Approach of establishing a shelf life model for fish and poultry. Final description.
- Dương Thị Phượng Liên, Bùi Thị Quỳnh Hoa và Nguyễn Bảo Lộc, 2011. Đánh giá nhanh độ tươi tôm sú nguyên liệu (*Penaeus monodon*) bảo quản trong nước đá ($0-4^\circ\text{C}$) theo phương pháp chỉ số chất lượng QIM. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 18b, 53-62.
- FAO, 2017. *FAO yearbook. Fisheries and aquaculture statistics 2015*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 78 pages.
- Hà Kiều, 2016. Nỗ lực chung cho mục tiêu 300.000 tấn cá rô phi năm 2020, ngày truy cập 01/6/2018. Địa chỉ <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/nu%C3%B4i-tr%E1%BB%93ng->

- th%E1%BB%A7y-s%E1%BA%A3n/-nu%C3%B4i-th%E1%BB%A7y-s%E1%BA%A3n/doc-tin/005686/2016-08-08/Banner007.
- Hồng Thắm, 2017. Cá rô phi Việt Nam có thể cạnh tranh trên thị trường, ngày truy cập 24/3/2018.
Địa chỉ
<http://hoinghecvietnam.org.vn/tinchitiet.aspx?newsid=5581&&cateid=16>.
- Huỳnh Thị Ái Vân, 2015. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ thấp đến sự biến đổi của vi sinh vật gây hỏng đặc trưng (*Pseudomonas spp.*) và vi sinh vật gây bệnh (Coliform, *E. coli*) hiện diện trên fillet cá Tra (*Pangasius hypophthalmus*) bảo quản lạnh. Luận văn thạc sĩ. Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang, Nha Trang.
- Lê Nguyễn Đoàn Duy, Nguyễn Công Hà, 2014. Ảnh hưởng của biện pháp xử lý bằng acid acetic và nước nóng đến *Escherichia Coli* và vi khuẩn tổng số trên phi lê cá tra (*Pangasius hypophthalmus*)”, Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 1, 1-7.
- Mai Thị Trang, 2016. Nghiên cứu sự biến đổi của lượng vi sinh vật gây bệnh coliforms và *E. coli* khi gây nhiễm vào tôm sú trong quá trình bảo quản lạnh. Đồ án tốt nghiệp. Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang. Nha Trang.
- Mai Thị Tuyết Nga, 2016. Nghiên cứu về mật độ Coliform và *Escherichia coli* trên tôm sú nguyên liệu khi bảo quản ở nhiệt độ dương thấp, Tạp chí Thủy sản trường Đại học Nha Trang. 4, 91-99.
- Mai Thị Tuyết Nga, Huỳnh Thị Ai Van, 2016. Study on the counts of Coliforms and *Escherichia coli* in tra catfish (*Pangasius hypophthalmus*) fillets during isothermal and non-isothermal temperature conditions, simulating downstream steps of cold supply chains. Journal of Agricultural Science and Technology- Nong Lam University - HCMC. 6, 41-49.
- Nguyễn Thụy Vân Duyên, 2017. Nghiên cứu sự biến đổi của vi sinh vật gây hỏng đặc trưng và vi sinh vật gây bệnh hiện diện trên fillet cá rô phi bảo quản lạnh, Luận văn thạc sĩ. Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang, Nha Trang.
- NMKL125 4th ed. 2005. Thermotolerant coliform bacteria and *Escherichia coli*. Enumeration in food and feed. Nordic Committee on Food Analysis.
- Smith, M. G, 1985. The generation time, lag time and minimum temperature of growth of Coliform organisms on meat, and the implication for codes of practice in abattoirs. Journal of Hygiene (Cambridge). 94, 289-300.
- Tong Thi Anh Ngoc, Noseda, B., Samapundo, S., Nguyen, B.L., Broekaert, K., Rasschaert, G. et al., 2013. Microbial ecology of Vietnamese Tra fish (*Pangasius hypophthalmus*) fillets during processing. International journal of food microbiology. 167(2), 144-52.