



KHẢO SÁT NGUY CƠ NHIỄM *COLIFORMS*, *SALMONELLA*, *SHIGELLA* VÀ *E. COLI* TRÊN RAU Ở VÙNG TRỒNG RAU CHUYÊN CANH VÀ BIỆN PHÁP CẢI THIỆN

Nguyễn Thị Thu Hà¹, Dương Minh Viễn¹ và Nguyễn Hoàng Anh²

¹ Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 03/10/2012

Ngày chấp nhận: 22/03/2013

Title:

Investigating contamination risk of *Salmonella*, *Shigella* and *E. coli* on vegetables in vegetable growing areas and measures to improve

Từ khóa:

Coliforms, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, vôi và phân hữu cơ ủ hoai

Keywords:

Coliforms, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, lime and well-composted organic fertilizer

ABSTRACT

The project was studied for aims: (1) investigating farming practices and contamination of intestinal microorganisms in vegetable-growing areas at Phuoc Hau, Long Ho district, Vinh Long and Thanh Hoa, Thot Not district, Can Tho; (2) evaluating the effect of compost and lime on mitigating intestinal microbial contamination on vegetables. The results of survey showed that the current farming practices have high pollution potential of intestinal pathogenic microorganisms on soil, water and vegetables. Almost all soil, water and vegetable collected samples found contamination with *Coliforms*, *E. coli*, *Salmonella* but *Shigella*. The results of field experiment showed that using composted organic fertilizer at 10 tons/ha and lime for treating water (250 g/m³) and soil (400 kg/ha) could reduce contamination of *Coliforms*, *E. coli*, *Salmonella* on vegetables to lower permit limits. Besides that, well-composted sugarcane-filter cake could improve lettuce yield.

TÓM TẮT

Đề tài “Khảo sát nguy cơ nhiễm *Salmonella*, *Shigella* và *E. coli* trên rau ở vùng trồng rau chuyên canh và biện pháp cải thiện” được thực hiện nhằm mục tiêu: (1) Khảo sát tập quán canh tác và tình hình ô nhiễm vi sinh vật đường ruột ở vùng chuyên canh rau ăn lá tại xã Phước Hậu, Long Hồ, Vĩnh Long và phường Thạnh Hòa, Thốt Nốt, Cần Thơ; (2) Đánh giá hiệu quả của phân hữu cơ ủ hoai và vôi xử lý đất, nước nhằm giảm sự ô nhiễm vi sinh vật đường ruột trong quá trình sản xuất rau. Phương pháp khảo sát là phỏng vấn trực tiếp nông dân và thu mẫu, đánh giá tác động của phân hữu cơ ủ hoai và vôi trong việc xử lý đất, nước lên mật số vi sinh vật đường ruột bằng thí nghiệm đồng ruộng. Kết quả khảo sát cho thấy tập quán canh tác của nông dân có thể gây ô nhiễm trên đất, nước và rau. Các mẫu đất, nước và rau đều nhiễm *Coliforms*, *E. coli* và thậm chí có phát hiện *Salmonella* trên một số mẫu đất, nước và rau. Việc áp dụng các biện pháp như sử dụng phân hữu cơ ủ hoai đúng quy cách, sử dụng vôi để xử lý nước tưới (250 g/m³) và đất trồng (400 kg/ha) cho thấy có hiệu quả giảm thiểu mật số *Coliforms* và *E. coli*, *Salmonella* đồng thời cũng giúp cải thiện năng suất xà lách.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Rau chứa nhiều vitamin và muối khoáng, là thực phẩm không thể thiếu trong bữa cơm hàng ngày của mỗi gia đình. Tuy nhiên, nhiều vụ ngộ độc thực phẩm do nhiễm vi sinh vật đường ruột ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe cộng đồng trong và ngoài nước đã xảy ra. Theo thông tin của Nguyễn Văn Hòa *et al.* (2007), hàng năm trên thế giới có 1,5 tỷ ca bị bệnh tiêu chảy mà phần lớn xảy ra ở các nước đang phát triển. Gần đây, tháng 6 năm 2011, dịch *E. coli* diễn ra ở các nước Châu Âu đã ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe người dân Đức, ngoài ra có hơn 15 quốc gia khác cũng bị thiệt hại. Nguồn lây nhiễm được biết từ nông trang trồng giá đỗ ở miền Bắc nước Đức (Huỳnh Thêm, 2011). Theo thống kê Cục An toàn Vệ sinh Thực phẩm, từ đầu tháng 4/2012 đến nay xảy ra 10 vụ ngộ độc thực phẩm với 972 người mắc phải, trong đó có 726 người phải nhập viện và đã có 04 trường hợp tử vong. Nguyên nhân chủ yếu gây ngộ độc là do thực phẩm nhiễm vi sinh vật. Kết quả phân tích của nhóm nhà khoa học thuộc Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cho thấy 96 mẫu rau được lấy tại chợ Hoàng Liệt và 118 mẫu lấy từ quận Long Biên (Hà Nội) đều nhiễm vi khuẩn *Coliforms* và các vi khuẩn gây ra bệnh tiêu chảy (những loại vi khuẩn có trong phân người và gia súc). Kết quả xét nghiệm nước dùng để tưới rau cho thấy có quá nhiều mầm bệnh, đặc biệt là vi khuẩn *Coliforms* (nguồn nước tưới chủ yếu là ao chứa nước mưa hoặc nước giếng ở hộ gia đình). Điều này chứng tỏ phương pháp và nguồn nước tưới tiêu đóng vai trò quan trọng, có ảnh hưởng tới việc lan truyền các vi sinh vật gây bệnh (Lê Hà, 2011). Trong nhiều nghiên cứu, trên hầu hết các loại rau cải chứa $10^6 - 10^7$ tế bào *Coliforms/g* và phân hữu cơ không sạch mầm bệnh có thể gây ô nhiễm trên đất và cây trồng sau khi được sử dụng, nhất là đối với loại rau ăn thân và ăn lá (Lương Đức Phẩm, 2001). Các nguyên nhân chính gây ô nhiễm rau bao gồm: dư lượng thuốc bảo vệ thực vật, dư lượng nitrat, kim loại nặng và nhiễm các vi sinh vật có hại. Trong đó, ngộ độc thực phẩm do vi sinh vật gây hại xảy ra rất phổ biến hiện nay đang là vấn đề được quan tâm đặc biệt cả trong và ngoài nước.

2 ĐỐI TƯỢNG VÀ MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

Đề tài nghiên cứu về khía cạnh vệ sinh đối với vi sinh vật đường ruột bao gồm *Coliforms*, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* trên rau ăn lá ở Đồng bằng Sông Cửu Long được đặt ra nhằm hai mục tiêu: (1) Khảo sát tập quán canh tác và tình hình ô nhiễm vi sinh vật đường ruột ở vùng chuyên canh rau ăn lá tại xã Phước Hậu, Long Hồ, Vĩnh Long và phường Thạnh Hòa, Thốt Nốt, Cần Thơ; (2) Đánh giá hiệu quả của phân hữu cơ ủ hoai và vôi xử lý đất, nước nhằm giảm sự ô nhiễm vi sinh vật đường ruột trong quá trình sản xuất rau.

3 PHƯƠNG TIỆN PHƯƠNG PHÁP

3.1 Phương tiện

Thời gian, địa điểm: Đề tài được thực hiện: từ tháng 01/2011 đến tháng 06/2012 tại phường Thạnh Hòa, Thốt Nốt, Cần Thơ và xã Phước Hậu, Long Hồ, Vĩnh Long.

Thiết bị, dụng cụ, môi trường nuôi cấy:

Nồi hấp tiệt trùng, máy lắc, tủ cấy, bếp từ, tủ ủ ẩm, máy xay mẫu, đĩa petri, ống nghiệm...

Dung dịch Buffer phosphate để trích vi khuẩn từ mẫu phân tích ($23,99g NaH_2PO_4 + 15,59g Na_2HPO_4$) pha trong 1 lít nước cất khử khoáng.

Môi trường nuôi cấy *Coliforms* là môi trường Lauryl Sulphate Broth pha 35.6g Lauryl Sulphate Broth trong 1 lít nước cất khử khoáng.

Môi trường nuôi cấy *E.coli* là môi trường EC Broth pha 37g EC Broth trong 1 lít nước cất khử khoáng.

Môi trường nuôi cấy *Salmonella* và *Shigella* là môi trường nuôi cấy chuyên biệt *Salmonella - Shigella* agar pha 63g agar trong 1 lít nước cất khử khoáng.

Dùng vôi CaO xử lý đất và nước trong mương chứa của nông dân dùng để tưới cho cây trồng.

Phân hữu cơ ủ từ xác bã của nhà máy đường và phân gà.

3.2 Phương pháp

3.2.1 Khảo sát tập quán canh tác rau và tình trạng ô nhiễm vi sinh vật trên rau ăn lá ở phường Thạnh Hòa, Thốt Nốt, Cần Thơ và xã Phước Hậu, Long Hồ, Vĩnh Long

Điều tra nông dân ở hai địa điểm phường Thạnh Hòa, Thốt Nốt, Cần Thơ (13 hộ: 7 hộ trong hợp tác xã rau an toàn và 6 hộ ngoài hợp tác xã rau an toàn) và xã Phước Hậu, Long Hồ, Vĩnh Long (27 hộ: có 13 hộ trong hợp tác xã rau an toàn và 14 hộ ngoài hợp tác xã rau an toàn) bằng cách phỏng vấn trực tiếp, sử dụng phiếu điều tra mẫu in sẵn với nội dung chủ yếu điều tra về kỹ thuật canh tác rau của nông dân (phương pháp làm đất, tưới nước, lượng và loại phân hữu cơ) sử dụng trong và ngoài hợp tác xã rau an toàn, để so sánh tình hình ô nhiễm các vi sinh vật gây bệnh đường ruột trên các mẫu thu thập.

Phân tích định lượng *Coliforms*, *E.coli*, *Salmonella* và *Shigella* trong đất, nước, rau của 13 hộ tại Thạnh Hòa (7 hộ trong hợp tác xã và 6 hộ ngoài hợp tác xã) và 12 hộ tại Phước Hậu (6 hộ trong hợp tác xã và 6 hộ ngoài hợp tác xã) để xác định tình hình ô nhiễm vi sinh vật tại hai địa điểm khảo sát này.

3.2.2 Đánh giá hiệu quả biện pháp xử lý các nguồn lây nhiễm trong điều kiện thực tế đồng ruộng của nông dân

Mẫu nước ruộng của nông dân được mang về xử lý ô nhiễm bằng vôi tôi (CaO) trong điều kiện phòng thí nghiệm với các nồng độ khác nhau (0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 và 400 ppm), mỗi nồng độ lặp lại 2 lần. Sau 5 ngày đo pH và phân tích mật số *Coliforms*, *E. coli*, *Salmonella* và *Shigella* trong nước đã xử lý. Từ kết quả chọn ra nồng độ có khả năng giảm thiểu mật số vi sinh vật tốt nhất để xử lý nguồn nước tưới ô nhiễm ngoài đồng ruộng.

Phân hữu cơ từ xác bã của nhà máy đường và phân gà được ủ hoai trong 2 tháng theo qui trình như báo cáo của Dương Minh Viễn và ctv (2009), theo dõi nhiệt độ đồng ủ hàng ngày và kiểm tra mật số *Coliforms*, *E. coli*, *Salmonella* và *Shigella* trong vật liệu (bã bùn mía, bã mía

và phân gà) trước khi ủ và phân thành phẩm sau khi ủ hoai.

Bố trí thí nghiệm theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên trong các khay (70 cm x 50 cm) ngoài đồng với 6 nghiệm thức và 4 lần lặp lại theo sơ đồ xử lý các nguồn ô nhiễm (Bảng 1).

Bảng 1: Mô tả các nghiệm thức xử lý các nguồn ô nhiễm trong thí nghiệm

Nghiệm thức	Phân hữu cơ		Đất	Nước
	Ủ hoai	Bò khô		
1	-	+	-	1
2	+	-	-	2
3	+	-	+	3
4	-	+	+	4
5	+	-	+	5
6	+	-	+	6

Ghi chú: (+): có xử lý(-): không xử lý

– Nghiệm thức 1: nông dân (phân bò phơi khô, nước không xử lý vôi, đất không xử lý vôi) (phân bón 1 lần trước gieo hạt).

– Nghiệm thức 2: phân hữu cơ ủ hoai (bón trước gieo hạt), nước xử lý vôi, đất không xử lý vôi.

– Nghiệm thức 3: phân hữu cơ ủ hoai (bón trước gieo hạt), nước không xử lý vôi, đất xử lý vôi.

– Nghiệm thức 4: Phân bò phơi khô (bón trước gieo hạt), nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.

– Nghiệm thức 5: Phân hữu cơ ủ hoai (bón trước gieo hạt), nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.

– Nghiệm thức 6: Phân hữu cơ ủ hoai (bón 2 lần: trước khi gieo hạt và 15 ngày sau khi gieo hạt), nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.

Đất sử dụng trong thí nghiệm được lấy từ rẫy trồng xả lách của nông dân, sử dụng vôi (CaO) với lượng 400kg/ha để xử lý đất vào đầu vụ. Nước sông được dẫn vào mương chứa, sau đó sử dụng tấm bạt dưng dưới mương tưới với thể tích (6m x 3m x 0,5m), nước xử lý vôi với liều lượng 250g/m³, hòa vôi vào nước trước khi sử dụng 5-7 ngày. Tổng lượng vôi đất nhận được trong nghiệm thức đất và nước được xử lý vôi là 800kg/ha.

Các chỉ tiêu theo dõi trong thí nghiệm:

– Mật số vi sinh vật *Coliforms*, *E.coli*, *Salmonella* và *Shigella* trong đất trồng đầu vụ và cuối vụ.

– Mật số vi sinh vật *Coliforms*, *E.coli*, *Salmonella* và *Shigella* trong nước trước và sau xử lý.

– Mật số vi sinh vật *Coliforms*, *E.coli*, *Salmonella* và *Shigella* trong xà lách cuối vụ.

– Năng suất xà lách cuối vụ ở các nghiệm thức.

3.2.3 Phương pháp thu mẫu và xử lý mẫu

Thu các mẫu đất, nước, phân hữu cơ và rau của các hộ khảo sát (chỉ thu ở các ruộng đang trong thời điểm cuối vụ trồng).

– Mẫu nước: dùng chai nhựa nhỏ (50 ml) tiệt trùng bằng cồn, lấy nước ở 3 điểm cách đều nhau của ruộng tưới hoặc dòng sông, nơi nông dân lấy nước tưới trực tiếp cho rau.

– Mẫu đất: lấy lớp đất mặt (0 - 10 cm) ở 5 vị trí theo hình zíc zắc trên ruộng sau đó cho vào bọc nylon.

– Mẫu rau: dùng kéo cắt ngang gốc thân rau ở 5 vị trí theo hình zíc zắc trên ruộng cho vào bọc nylon.

Mẫu sau khi lấy được đem về phòng phân tích và trữ ở nhiệt độ phòng, đối với mẫu rau được xay bằng máy xay sinh tố trước khi phân tích.

3.2.4 Phương pháp phân tích mẫu

Định lượng mật số vi sinh vật *Coliforms* và *E.coli* theo phương pháp MPN (Most Probable Number) theo các bước:

– Trích mẫu.

– Pha loãng dung dịch trích đến 10^{-8} .

– Cây tủng nồng độ dung dịch trích vào ống nghiệm tương ứng chứa môi trường Lauryl Sulphate Broth với 5 lặp lại ở mỗi nồng độ.

– Định tính *Coliforms* bằng cách ghi nhận số lượng ống nghiệm dương tính (có bọt khí) ở từng nồng độ sau khi ủ 48 giờ ở 35°C .

– Chuyển dung dịch trong các ống nghiệm dương tính với *Coliforms* sang ống nghiệm

khác chứa EC Broth ủ 24 giờ ở $44,5^{\circ}\text{C}$, ghi nhận số lượng ống nghiệm có bọt khí.

– Định lượng *Coliforms* và *E.coli* bằng phần mềm MPN.

Định lượng *Salmonella* và *Shigella* bằng cách đếm khuẩn lạc trên đĩa petri chứa môi trường *Salmonella - Shigella* agar sau khi ủ 24 giờ ở 37°C .

3.2.5 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được kiểm định, phân tích phương sai ANOVA bằng phần mềm MSTATC. Đồ thị và biểu bảng được xử lý trên Excel.

4 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1 Tập quán, kỹ thuật canh tác rau ở một số vùng chuyên canh rau ăn lá ở Đồng bằng Sông Cửu Long

Kết quả phỏng vấn cho biết nông dân ở Phường Thạnh Hòa, quận Thốt Nốt, thành phố Cần Thơ có tham gia tập huấn về sản xuất rau an toàn (54%). Phần lớn, ruộng các hộ điều tra nằm biệt lập với khu nhà ở (69%), khu ruộng này nằm giữa 2 dòng kênh. Trên 2 bờ kênh là khu nhà ở của nông dân, nhiều sinh hoạt (tắm, rửa, giặt giũ,...) của con người và chăn nuôi gia cầm (vịt) xảy ra ngay trên mé kênh. Bên cạnh đó, nước từ chuồng trại (heo), nước ao nuôi cá cầu đi tiêu đều thông ra kênh này. Do đó, chất lượng nguồn nước cần phải kiểm tra mức độ ô nhiễm do tập trung từ nhiều nguồn chất thải. Về diện tích canh tác (trung bình 3100 m^2), chủ yếu trồng họ (77%) có truyền thống rất lâu đời và thường luân canh với lúa để đổi mới đất trồng, họ có thể cho thu hoạch nhiều đợt (40 - 50 ngày/đợt) kéo dài 2-3 năm, diện tích nhỏ còn lại trồng các loại rau khác (cần dây lá, hành, cải xanh hay cải tùa xại). Về canh tác, nông dân làm đất kỹ trước khi trồng, 100% nông dân có phơi đất, sử dụng vôi và phân hữu cơ). Đặc biệt, trong kỹ thuật trồng họ, nông dân rất ít sử dụng phân hóa học và hầu như chỉ bón lót DAP đầu vụ, thường xuyên bón phân hữu cơ (phân gà Viễn Khang 6-5-5) và bón hai lần sau mỗi đợt thu hoạch. Đây là điều kiện thuận lợi trong sản xuất rau an toàn, tuy nhiên liều lượng và chất lượng cũng cần được quan tâm. Về nước tưới (2 lần/ngày) và sử dụng nước tưới rau chủ

yếu trực tiếp từ kênh chung, những hộ có ruộng ở xa kênh có hệ thống ống bơm nước vào mương chứa. Rau sau thu hoạch thường được vận chuyển ra khỏi ruộng, làm sạch và bó rau lại tập trung cho thương lái.

Bên cạnh đó, nông dân điều tra ở xã Phước Hậu, huyện Long Hồ, tỉnh Vĩnh Long tham gia tập huấn sản xuất rau an toàn (52%). Dãy nhà nông dân nằm cạnh kênh chung, phía sau hè là khu vườn nhỏ trồng cây ăn trái, phía sau khu vườn là khu ruộng tập trung của nhiều hộ, kể cả các hộ bên kia kênh. Gần như 100% các hộ ở gần ruộng đều tận dụng chĩa thả gia cầm trong mương và đất vườn, chĩa nuôi gia súc ít hơn. Diện tích canh tác của mỗi hộ nhỏ (trung bình 1800 m²), luân canh đa dạng nhiều loại rau màu (chủ yếu xà lách, cải ngọt, cải xanh, cải thìa, cần tàu, tần ô, quế, rau thơm, hành, ngò rí, ngò gai,...). Về canh tác, nông dân thường bón vôi, lên liếp đầu vụ và trồng khoảng 3 - 4 vụ rau mới làm đất lại. Nông dân điều tra có kỹ thuật làm đất, lên liếp giống nhau, bón vôi chỉ theo tập quán (67%), rất ít hộ sử dụng phân hữu cơ (26%, trong số này có một vài hộ tận dụng phân hữu cơ tự hoại như phân bò khô, tro cỏ rác đốt,...), canh tác rau liên tục, ít hộ nông dân chú trọng đến việc phơi đất (26%). Tưới nước thường xuyên (2 lần/ngày), nước tưới từ kênh dẫn vào mương vườn có chĩa thả gia cầm và ra ruộng chứa ở ao. Phần lớn rau sau thu hoạch được rửa nhanh qua nước dưới mương chứa, sau đó mang vào nhà làm sạch các lá già, hư và bó lại, thương lái sẽ đến thu gom. Lá rau già, úa được tận dụng làm thức ăn cho gà vịt. Nguồn nước và việc sử dụng phân hữu cơ quan tâm chưa đúng mức, điều này cũng chứng tỏ việc canh tác rau của nông dân chưa đảm bảo các điều kiện sản xuất rau an toàn

Nhìn chung, kết quả khảo sát ở hai địa điểm điều tra cho thấy nguy cơ nguồn nước có thể bị ô nhiễm vi sinh vật từ phân gia cầm là rất lớn. Thêm vào đó, nông dân thiếu quan tâm đến nguồn gốc và chất lượng phân hữu cơ sử dụng, việc sử dụng vôi chỉ do tập quán canh tác chủ yếu với mục đích cải tạo đất và tránh lây lan sâu bệnh sau vài vụ trồng. Theo nhiều nghiên cứu cho biết nguồn lây nhiễm vi sinh vật ở giai đoạn tiền thu hoạch bao gồm: đất, phân chuồng,

động vật hoang hay vật nuôi trong gia đình và do nguồn nước tưới tiêu (Ackers *et al.*, 1998; Jiang *et al.*, 2002). Do đó, rau ở giai đoạn canh tác có khả năng lây nhiễm cao nhất từ các điều kiện môi trường (đất, nước, phân bón) nếu không đảm bảo an toàn và cần được quan tâm cải thiện trước tiên.

4.2 Đánh giá tình hình ô nhiễm vi sinh tại hai điểm khảo sát

Mật số *Coliforms* trong nước dao động từ 0,62 đến 0,94 log(mpn/ml) (tương đương khoảng 4-8 mpn/ml) cao hơn tiêu chuẩn cho phép đối với nguồn nước cho vùng đất trồng rau và thực vật khác dùng ăn tươi, sống (*fecal coliform* không vượt quá 200 mpn/100ml) (theo TCVN 6773:2000). Mật số *Coliforms* và *E. coli* ở Thốt Nốt của các hộ trong hợp tác xã cao hơn các hộ ngoài hợp tác xã khác biệt ý nghĩa thống kê. Kết quả này có thể do diện tích trồng của từng hộ tương đối lớn, một số ruộng của các hộ trong hợp tác xã ở xa nguồn nước kênh bị ô nhiễm nên mức độ ô nhiễm ít hơn so với ruộng sử dụng nguồn nước trực tiếp. Ở Long Hồ, mật số *Coliforms* và *E. coli* ở mẫu nước tưới của các hộ trong và ngoài hợp tác xã khác biệt không ý nghĩa thống kê.

Kết quả phân tích mẫu đất tại Thốt Nốt và Long Hồ đều phát hiện các vi sinh vật *Coliforms* (từ 1,37 đến 3,3 log mpn/g) và *E. coli* (từ 1,37 đến 4,78 log mpn/g) nhưng không khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các hộ trong và ngoài hợp tác xã. Theo nhận định của Nguyễn Đình Hòa (2007), đất không những là nơi cho cây trồng và các sinh vật sinh trưởng và phát triển mà còn là nơi chứa các chất thải ô nhiễm từ chất thải của con người, động vật và phân bón. Do đó, trong đất có thể lưu tồn sự ô nhiễm ảnh hưởng đến sức khỏe con người.

Kết quả phân tích mẫu phân hữu cơ còn trong bao nông dân chưa sử dụng thì không phát hiện bị ô nhiễm vi sinh vật, mẫu phân ngoài đồng đều nhiễm vi sinh vật với mật độ cao trung bình *Coliforms* và *E. coli* (từ 3,84 đến 5,26 log(mpn/g) và *Salmonella* 3,08 log(cfu/g). Điều này chứng tỏ phân hữu cơ chưa qua xử lý và một số phân hữu cơ trên thị trường không bảo quản tốt đều có khả năng nhiễm vi sinh vật

đường ruột. Do đó, việc sử dụng phân hữu cơ cần phải biết rõ nguồn gốc và chất lượng, đặc

biệt trong sản xuất rau an toàn.

Bảng 2: Mật số Coliforms, E.coli và Salmonella trên rau ở phường Thạnh Hòa, Thốt Nốt, Cần Thơ và xã Phước Hậu, Long Hồ, Vĩnh Long

Địa điểm	Đối tượng	Coliforms (log(mpn/g))	E. coli (log(mpn/g))	Salmonella (log(cfu/g))
Thốt Nốt	Ngoài hợp tác xã	4,56 b± 1,72	4,56 b± 1,72	2,44± 3,30
	Trong hợp tác xã	5,11 a± 0,14	5,11 a± 0,14	0,77± 0,20
Long Hồ	Ngoài hợp tác xã	3,41± 0,89	3,29± 0,88	Không phát hiện
	Trong hợp tác xã	2,90± 2,40	2,45± 1,70	

Thốt Nốt: N=13, n₁=7, n₂=6, Long Hồ: N=12, n₁=6, n₂=6 (N số hộ lấy mẫu, n₁: số hộ trong hợp tác xã, n₂: số hộ ngoài hợp tác xã). Khoảng biến động = trung bình ± CI (khoảng tin cậy - Confidence Interval). Mức độ tin cậy 95%

Kết quả ở bảng 2 cho thấy Coliforms và E.coli hiện diện trong các mẫu rau với mật số cao (E. coli có mật số dao động từ 2,45 đến 5,11 log(mpn/g) tương đương 2,82x10² đến 1,29x10⁵ tế bào/g) vượt so giới hạn cho phép trên rau ăn sống (5x10² tế bào/g). Ở Thốt Nốt mật số Coliforms và E. coli trong các mẫu rau trong hợp tác xã cao hơn các hộ ngoài hợp tác xã có ý nghĩa thống kê, nhưng ở Long Hồ thì không khác biệt. Vi khuẩn Salmonella chỉ phát hiện trên rau trồng ở Thốt Nốt và đã vượt xa giới hạn mức độ an toàn của Cục an toàn thực phẩm (2010) phải hoàn toàn không có sự hiện diện của vi khuẩn này trên rau ăn sống.

Tóm lại, kết quả phân tích mẫu điều tra phát hiện các vi sinh vật Coliforms, E.coli và Salmonella, không có sự hiện diện của Shigella. Các mẫu đất, nước và rau ở Long Hồ không phát hiện Salmonella. Thêm vào đó, hầu hết các mẫu rau trong và ngoài hợp tác xã đều bị nhiễm vi sinh vật, chứng tỏ tập quán sản xuất của nông dân ở hai vùng này chưa có sự quan tâm thích đáng đến vấn đề ô nhiễm vi sinh vật gây bệnh đường ruột trên rau mặc dù tham gia vào hợp tác xã rau an toàn vì nông dân ở các vùng chuyên canh rau vẫn còn sử dụng nước tưới bị nhiễm các vi sinh vật. Ngoài ra, việc sử dụng phân hữu cơ chủ yếu là tận dụng nguồn nguyên liệu có sẵn tại chỗ để ủ. Tuy nhiên, việc ủ phân không đúng quy trình: tỉ lệ C/N, nhiệt độ, ẩm độ,... không phù hợp làm cho sản phẩm phân sau khi ủ không đảm bảo được tính vệ sinh.

4.3 Đánh giá hiệu quả của phân hữu cơ ủ hoai và vôi xử lý đất, nước nhằm giảm sự ô nhiễm vi sinh vật đường ruột trong quá trình sản xuất rau

Qua kết quả khảo sát và phân tích mẫu điều tra, nước tưới, đất trồng, phân hữu cơ sử dụng trong canh tác và mẫu rau đều bị nhiễm vi sinh vật đường ruột, nhưng chưa có biện pháp xử lý đất và nước. Trong khi đó, vôi được xem là chất sát khuẩn có hiệu quả nhưng nông dân chỉ sử dụng với liều lượng thấp chủ yếu để cải tạo đất sau vài vụ trồng. Hơn nữa, nguồn gốc và chất lượng phân hữu cơ sử dụng cũng không kém phần quan trọng ảnh hưởng đến độ an toàn trên rau. Ngày nay phân hữu cơ được khuyến khích sử dụng theo xu hướng sản xuất nông nghiệp bền vững nên cần phải quan tâm quản lý chặt chẽ hơn. Do đó, hiệu quả của việc xử lý nước với vôi (CaO) và ủ phân hữu cơ đúng quy cách được đánh giá trước khi tiến hành thí nghiệm trên rau.

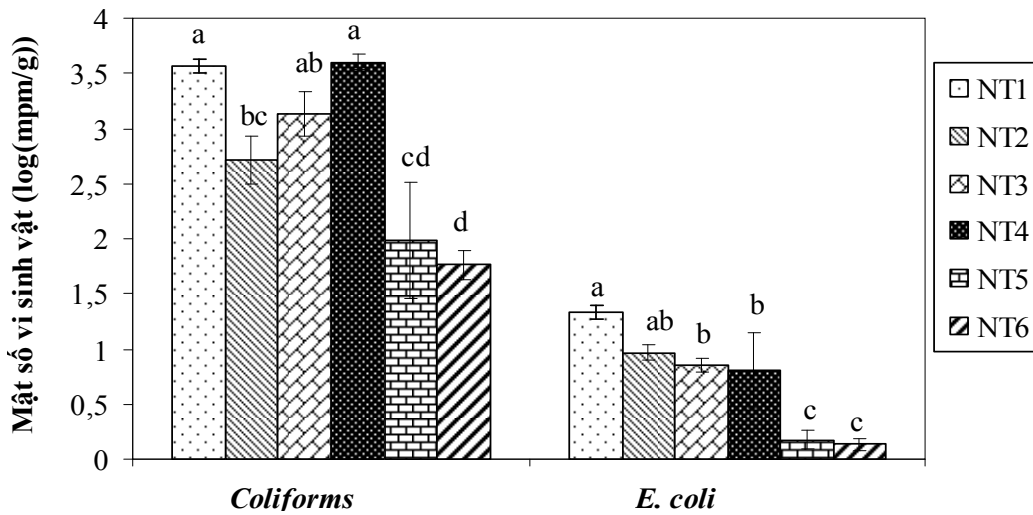
Kết quả phân tích mẫu nước ruộng được xử lý ô nhiễm bằng vôi nung (CaO) trong điều kiện phòng thí nghiệm với các nồng độ vôi khác nhau cho thấy từ nồng độ 50 ppm đã có hiệu quả giảm đáng kể mật số vi khuẩn E. coli và Coliforms trong nước. Hiệu quả này có thể do khi hòa tan vôi vào nước, phản ứng tỏa nhiệt và pH tăng lên đáng kể đã phá hủy màng tế bào và giết chết vi khuẩn, độ pH tăng dần theo nồng độ vôi xử lý. Tuy nhiên, ở nồng độ 250 ppm tỏ ra có hiệu quả cao nhất, giết chết hoàn toàn vi khuẩn E. coli và giảm mật số Coliforms ở mức thấp nhất với pH tương đối cao (pH= 8,1). Trong điều kiện ngoài đồng, nước được xử lý

vôi với nồng độ này cũng không còn sự hiện diện của vi sinh vật gây bệnh đường ruột. Hiệu quả này của vôi cũng được chứng minh bởi Bea *et al.* (2006) khi sử dụng nồng độ CaO cao từ 0,05% trong 10 phút đã có hiệu quả làm suy giảm sự nhiễm khuẩn *E. coli* (tiêu diệt 99%; với mật số 2,78 log(cfu/ml)).

Phân hữu cơ ủ hoai trong 2 tháng có giai đoạn nhiệt độ khối ủ đạt gần 70°C trong 4 tuần. Để kiểm tra hiệu quả của quá trình ủ phân,

nhóm nghiên cứu đã phân tích mật số vi khuẩn *Coliforms*, *E. coli*, *Salmonella* và *Shigella* trong các nguyên liệu trước khi ủ và phân hữu cơ thành phẩm khi sử dụng trong thí nghiệm. Kết quả cho thấy các nguyên liệu dùng để ủ phân đều bị nhiễm *Coliforms*, *E. coli*. Riêng phân gà có vi khuẩn *Salmonella* hiện diện với mật số cao ($2,3 \times 10^4$ cfu/g), phân hữu cơ thành phẩm không có sự hiện diện của các vi khuẩn này.

4.3.1 Ảnh hưởng của phân hữu cơ ủ hoai và vôi lên mật số *Coliforms* và *E.coli* trong đất trồng



Hình 1: Mật số *Coliforms* và *E. coli* trên đất trồng xà lách

- NT1: Nông dân (Phân bò phơi khô, nước không xử lý vôi, đất không xử lý vôi).
- NT2: Phân hữu cơ ủ hoai, nước xử lý vôi, đất không xử lý vôi.
- NT3: Phân hữu cơ ủ hoai, nước không xử lý vôi, đất xử lý vôi.
- NT4: Phân bò phơi khô, nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.
- NT5: Phân hữu cơ ủ hoai, nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.
- NT6: Phân hữu cơ ủ hoai (bón 2 lần: trước khi gieo hạt và 15 ngày sau khi gieo hạt), nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.

Theo Lưu Hữu Mạnh (2009), *E. coli* độc có thể tồn tại bên ngoài môi trường khoảng 4 tháng. Vì vậy, đất trồng là nơi chứa và sẽ lưu tồn lâu dài sự ô nhiễm nếu sử dụng các nguồn nước, phân bón bị ô nhiễm trong quá trình canh tác. Kết quả trình bày ở hình 1 cho thấy đối với mật số *Coliforms* của nghiệm thức không xử lý 1 trong 3 yếu tố ô nhiễm là không xử lý nước (NT3) và bón phân bò phơi khô (NT4) khác biệt không ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức nông dân (NT1) với mật số 3,57 log(mppn/g) chứng tỏ hai kiểu xử lý này không có hiệu quả trong giảm thiểu mật số *Coliforms* trong đất

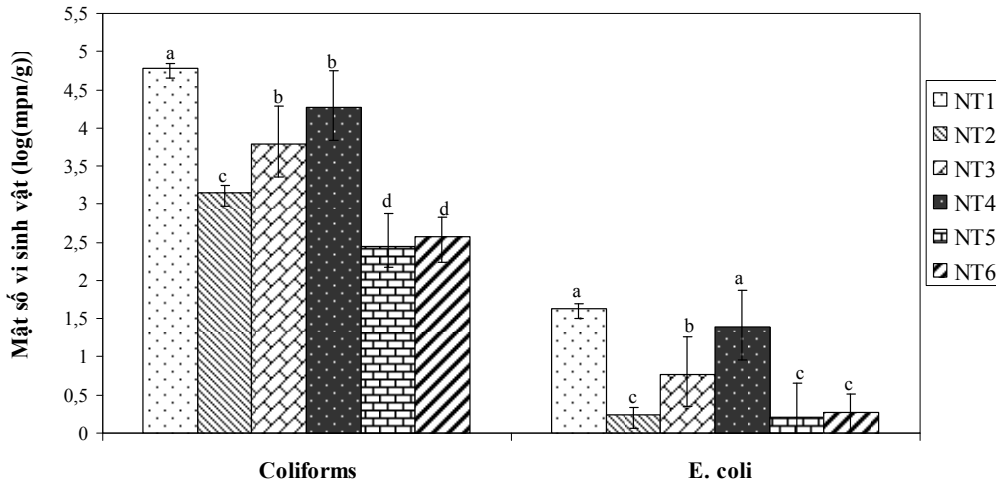
trồng rau. Bên cạnh đó, nghiệm thức có xử lý nước và phân hữu cơ ủ hoai, không xử lý đất (NT2) và nghiệm thức kết hợp xử lý cả ba yếu tố (NT5 và NT6) (mật số *Coliforms* 1,99 và 1,76 log(mppn/g)) không khác biệt nhau và có thể hiện giảm mật số *Coliforms* so với nghiệm thức nông dân có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy nguồn ô nhiễm trong đất ban đầu không đáng kể so với nước và phân hữu cơ bị ô nhiễm.

Tuy nhiên, đối với mật số *E. coli* chỉ có nghiệm thức không xử lý đất (NT2) không có hiệu quả giảm mật số *E. coli* trong đất khác biệt

không ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức nông dân (NT1) với mật số 1,33 log(mpn/g). Các nghiệm thức còn lại đều có kết quả giảm mật số *E. coli* khác biệt và có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức nông dân, hiệu quả nhất là xử lý cả 3 yếu tố ô nhiễm (NT5 và NT6) (với mật số *E. coli* 0,18 và 0,14 log(mpn/g)).

4.3.2 Ảnh hưởng của phân hữu cơ ủ hoai và vôi lên mật số *Coliforms* và *E. coli* trên rau

Theo nhận định của Trần Thị Ba (2010) khi bón phân ô nhiễm, các vi sinh vật gây bệnh không chỉ có trong đất mà còn bám ở các bộ phận của cây, sử dụng nước bẩn có mật số vi sinh vật cao để tưới rau trong canh tác,... cũng góp phần làm rau bị ô nhiễm.



Hình 2: Mật số *Coliforms* và *E. coli* trên rau xà lách

- NT1: Nông dân (Phân bón phơi khô, nước không xử lý vôi, đất không xử lý vôi).
- NT2: Phân hữu cơ ủ hoai, nước xử lý vôi, đất không xử lý vôi.
- NT3: Phân hữu cơ ủ hoai, nước không xử lý vôi, đất xử lý vôi.
- NT4: Phân bón phơi khô, nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.
- NT5: Phân hữu cơ ủ hoai, nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.
- NT6: Phân hữu cơ ủ hoai (bón 2 lần: trước khi gieo hạt và 15 ngày sau khi gieo hạt), nước xử lý vôi, đất xử lý vôi

Kết quả phân tích mật số *Coliforms* và *E. coli* trên rau ở hình 2 cho thấy, hầu như tất cả các nghiệm thức có xử lý 2 đến 3 yếu tố ô nhiễm đều có hiệu quả giảm mật số *Coliforms* và *E. coli* trên rau khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức của nông dân (NT1) mật số *Coliforms* 4,78 log(mpn/g) và *E. coli* 1,63 log(mpn/g), trừ nghiệm thức bón phân phơi khô (NT4) trong trường hợp với vi khuẩn *E. coli* (mật số 1,39 log(mpn/g)). Điều này chứng tỏ việc sử dụng phân hữu cơ chưa qua xử lý khả năng lây nhiễm vi sinh vật trên rau cao nhất. Nhìn chung, việc xử lý kết hợp phân hữu cơ ủ hoai, xử lý đất, nước với vôi (NT5 và NT6) vẫn cho tác dụng giảm thiểu *Coliforms* (48,95%) và *E. coli* (87,24%) trên rau so với nghiệm thức

nông dân và hiệu quả cao hơn các nghiệm thức xử lý khác.

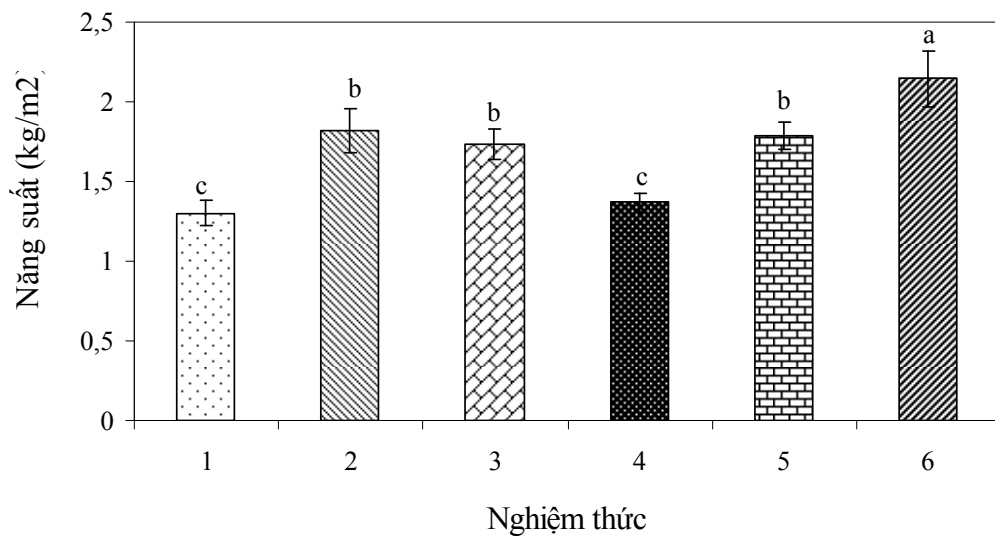
Tóm lại, các trường hợp xử lý từng nguồn gây nhiễm mật số *Coliforms* và *E. coli* có giảm so với không xử lý nhưng vẫn còn cao có khác biệt ý nghĩa thống kê so với biện pháp xử lý đồng bộ. Vậy biện pháp hiệu quả nhất để giảm thiểu mật số vi sinh vật gây bệnh đường ruột trên rau là kết hợp xử lý cả đất trồng, nước tưới và sử dụng phân hữu cơ ủ hoai. Bên cạnh đó, số liệu cũng chứng tỏ mật số *Coliforms* luôn cao hơn so với mật số của *E. coli*, do *Coliforms* là một nhóm gồm nhiều loài vi sinh vật đường ruột và *E. coli* là một trong các loài của *Coliforms*.

4.3.3 Mật số *Salmonella* và *Shigella* trong đất và rau xà lách

Kết quả phân tích các mẫu đất và rau trong thí nghiệm cho thấy không có sự hiện diện của *Salmonella* và *Shigella*. Nguyên nhân có thể do điều kiện môi trường không thuận lợi cho sự phát triển của hai loại vi khuẩn này như Lê Xuân Phương (2005) nhận định *Salmonella* bị cạnh tranh sinh học với *E. coli* và bị *E. coli* tiêu diệt, *E. coli* cũng ức chế *Shigella*.

4.4 Ảnh hưởng của phân hữu cơ ủ hoai và vôi lên năng suất xà lách

Hiệu quả giảm thiểu vi sinh vật đường ruột của phân hữu cơ ủ hoai kết hợp xử lý đất, nước với vôi đã được chứng minh giảm thiểu vi sinh vật đường ruột trên rau ngay trên đồng ruộng. Trong thực tế nếu nông dân áp dụng phương pháp này phải tăng thêm chi phí sản xuất, do đó để mang tính thuyết phục hơn phải xem xét thêm năng suất và hiệu quả kinh tế của thí nghiệm so với thực tế nông dân.



Hình 3: Năng suất xà lách

- NT1: Nông dân (Phân bò phơi khô, nước không xử lý vôi, đất không xử lý vôi).
- NT2: Phân hữu cơ ủ hoai, nước xử lý vôi, đất không xử lý vôi.
- NT3: Phân hữu cơ ủ hoai, nước không xử lý vôi, đất xử lý vôi.
- NT4: Phân bò phơi khô, nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.
- NT5: Phân hữu cơ ủ hoai, nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.
- NT6: Phân hữu cơ ủ hoai (bón 2 lần: trước khi gieo hạt và 15 ngày sau khi gieo hạt), nước xử lý vôi, đất xử lý vôi.

Kết quả trình bày ở Hình 3 cho thấy thí nghiệm kết hợp phân hữu cơ ủ hoai (chia 2 lần bón) và xử lý đất, nước với vôi (NT6) cho năng suất 2,2 kg/m² cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với tất cả các thí nghiệm còn lại. Kết quả này đã khẳng định việc bón phân hữu cơ ủ hoai làm tăng năng suất của xà lách so với nông dân bón phân bò phơi khô. Năng suất của NT6 cao hơn NT5 khác biệt có ý nghĩa thống kê mặc dù tổng lượng bón phân hữu cơ ủ hoai

như nhau, chỉ khác NT5 bón một lần vào đầu vụ nhưng NT6 chia hai lần bón (trước khi gieo hạt và 15 ngày sau khi gieo). Kết quả này có thể do các thí nghiệm trong thí nghiệm chỉ bón phân urê theo nông dân nên dinh dưỡng bị mất cân bằng. Mặt khác, phân hữu cơ đã được ủ hoai từ bã bùn mía mịn chứa nhiều loại dưỡng chất cho cây trồng hấp thu. Hàm lượng dinh dưỡng của phân bã bùn mía cung cấp một lần vào đầu vụ (NT5) trước khi gieo hạt. Trong khi

thực nghiệm chia hai lần bón (NT6) vào đầu vụ và 15 ngày sau khi gieo, lúc này dinh dưỡng được phân bố cân đối và phù hợp với giai đoạn sinh trưởng của rau hơn.

Nhìn chung, kết quả thí nghiệm cho thấy việc kết hợp giữa phân vô cơ, phân hữu cơ và dùng vôi để xử lý nước tưới, bón vào đất có tác dụng trong việc gia tăng năng suất cây trồng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với áp dụng không đồng bộ cả ba yếu tố và nghiệm thức nông dân.

5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

5.1 Kết luận

Qua việc khảo sát tập quán canh tác, tình hình ô nhiễm vi sinh vật đường ruột trên rau ăn lá và biện pháp giảm thiểu rút ra các kết luận sau:

- Tập quán sản xuất của nông dân vẫn có thể gây ô nhiễm trên rau vì nhiều nguyên nhân như sử dụng nguồn nước tưới ô nhiễm bởi nước thải sinh hoạt và nước thải trong chăn nuôi, nguồn gốc và mức độ vệ sinh của phân hữu cơ sử dụng chưa được quan tâm, đồng thời ít sử dụng vôi để xử lý đất trồng.

- Khảo sát về tình hình ô nhiễm ở hai vùng chuyên canh rau cho thấy các mẫu đất, nước và rau của các hộ trong và ngoài hợp tác rau an toàn đều nhiễm *Coliforms* và *E. coli*, chỉ ở Thốt Nốt phát hiện *Salmonella*. Mật số *Coliforms* trên rau ở Thốt Nốt trong hợp tác xã 1.9×10^4 mpn/ml (trên mức cho phép 1×10^3). *Shigella* không phát hiện ở hai địa điểm.

Kết quả thí nghiệm cho thấy việc sử dụng kết hợp phân hữu cơ ủ hoai (10 tấn/ha), vôi để xử lý nước tưới (250g/m^3) và đất trồng (400 kg/ha) có hiệu quả trong giảm thiểu mật số *Coliforms* và *E. coli* đạt dưới giới hạn cho phép so với tiêu chuẩn dành cho rau an toàn của Bộ Y tế (1×10^2 đối với *E. coli* và 1×10^3 đối với *Coliforms*).

- Việc bón phân hữu cơ ủ hoai, đất và nước được xử lý vôi còn giúp cây xà lách gia tăng năng suất cao hơn so với các nghiệm thức xử lý không đồng bộ và nghiệm thức nông dân.

5.2 Đề xuất

Cần khảo sát thêm hiệu quả của việc sử dụng phân hữu cơ ủ hoai kết hợp vôi xử lý đất và nước trong giảm thiểu mật số vi sinh vật đường ruột trên rau ở nhiều vụ hơn và trong điều kiện thực tế sản xuất đồng ruộng.

LỜI CẢM TẠ

Để hoàn thành đề tài chúng tôi đã nhận được sự giúp đỡ của nhiều tổ chức, cá nhân. Chúng tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến:

- Ban chủ nhiệm bộ môn Khoa học Đất và Ban Chủ nhiệm Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng đã tạo điều kiện cho việc đăng ký đề tài.

- Thầy cô và đồng nghiệp trong bộ môn Khoa học Đất đã tạo điều kiện và giúp đỡ.

- Cô Lý Thị Liên Khai, bộ môn Thú Y, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng đã nhiệt tình giúp đỡ trong quá trình phân tích các mẫu thí nghiệm.

- Chị Hường – cán bộ khuyến Nông huyện Thốt Nốt đã tận tình giúp đỡ trong việc tìm kiếm thí nghiệm.

- Các chú, bác nông dân tại phường Thạnh Hoà, quận Thốt Nốt, Cần Thơ và tại xã Phước Hậu, Long Hồ, Vĩnh Long.

- Các bạn sinh viên và học viên cao học đã và đang thực tập trong phòng thí nghiệm Sinh học đất từ đầu năm 2011 cho đến nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ackers, M. L., B. E. Mahon, E. Leahy, B. Goode, T. Damrow, P. S. Hayes, W. S. Bibb, D. H. Rice, T. J. Barrett, L. Hutwagner, B. M. Griffin, and L. Slutsker (1998), "An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption", *J. Infect. Dis.* 177:1588-1593.
2. Bae Dong-Ho, Ji-Hye Yeon, Shin-Young Park, Dong-Ha Lee and Sang-Do Ha (2006), "Bactericidal effects of CaO (scallop-shell powder) on foodborne pathogenic bacteria", *archives of pharmaceutical research*, Volume 29, Number 4 (2006), 298- 301, DOI: 10. 1007/ BF02968574.

3. Cục an toàn thực phẩm (2010), Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về giới hạn an toàn cho phép đối với ô nhiễm vi sinh vật trong thực phẩm, QCVN...: 2010/BYT, Hà Nội.
4. Dương Minh Viễn, Võ Thị桂, Trần Kim Tính, Nguyễn Thị Kim Phượng, Phạm Nguyễn Minh Trung, Nguyễn Minh Đông (2009), Sản xuất phân hữu cơ vi sinh từ bã bùn mía, Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ.
5. Jiang, X., J. Morgan and M. P. Doyle (2002), "Fate of Escherichia coli O157:H7 in manure-amended soil", Appl. Environ. Microbiol. 68:2605-2609.
6. Huỳnh Thêm (2011), 47 người chết vì E. Coli, Thanh Niên online.
<http://www.thanhnien.com.vn/Pages/20110628/47-nguoi-chet-vi-E-coli.aspx>.
7. Lê Xuân Phương (2005), Vi sinh vật học môi trường, NXB Xây dựng Hà Nội.
8. Lê Hà (2011), "Hà Nội: nhiều mẫu rau xanh nhiễm khuẩn gây bệnh tiêu chảy", Sức khỏe, Diễn đàn dân trí Việt Nam.
<http://dantri.com.vn/c7/s7-478308/ha-noi-nhieu-mau-rau-xanh-nhiem-khuan-gay-benh-tieu-chay.htm>.
9. Lưu Hữu Mãnh (2009), Giáo trình vi sinh thú y, Đại học Cần Thơ.
10. Lương Đức Phẩm, 2001. Vi sinh vật học và an toàn vệ sinh thực phẩm. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
11. Nguyễn Đình Hòa (2007), Môi trường và sự phát triển bền vững, NXB Giáo Dục.
12. Nguyễn Văn Hòa và Nguyễn Hữu Thoại (2007), Bài giảng Tiêu chuẩn EUREPGAP- Sản xuất quả theo hướng chất lượng, vệ sinh và an toàn thực phẩm, Viện nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam.
13. Trần Thị Ba (2010), Kỹ thuật sản xuất rau sạch, NXB Đại học Cần Thơ.