Khảo sát mức độ nhiễm *Listeria monocytogenes* trên rau má và đồ uống nước rau má tươi tại khu vực Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa

Nguyễn Thị Thanh Hải*, Lê Nhã Uyên, Phạm Thu Thủy

Viện Công nghệ sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang, Khánh Hòa

(Ngày đến tòa soạn: 05/09/2022; Ngày chấp nhận đăng: 04/10/2022)

Tóm tắt

Rau má là loại rau thường được sử dụng làm đồ uống nước ép tươi không qua gia nhiệt. Tại Nha Trang, đồ uống nước ép rau má thường được chế biến sẵn, bảo quản lạnh trong suốt quá trình bày bán rộng rãi trên đường phố. Trong đó, *Listeria monocytogenes* là loại vi khuẩn có khả năng phát triển ở nhiệt độ lạnh, tuy mức độ gây bệnh thấp nhưng tỷ lệ tử vong lên tới 25 - 30%. Do đó, việc đánh giá mức độ nhiễm *L. monocytogenes* trên rau má nguyên liệu và trong đồ uống nước ép rau má trong quá trình bảo quản lạnh là cần thiết nhằm đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm *L. monocytogenes* trên rau má nguyên liệu chiếm 15% các mẫu lấy tại vùng trồng ở Nha Trang với mật độ nhiễm trung bình là 24,2 MPN/g, trong đó mẫu rau má ruộng nước thải có mật độ vi khuẩn cao nhất. Kết quả ngâm rau nguyên liệu trong dung dịch $KMnO_4$ 10 ppm/10 phút làm giảm 56% tỷ lệ nhiễm *L. monocytogenes*. Trong 6 giờ bảo quản đầu, số lượng *L. monocytogenes* trong nước ép rau má ổn định ở mức độ thấp. Sau 24 giờ bảo quản, số lượng vi khuẩn tăng gấp gần 10 lần (trên nước ép rau má không đường) và gần 20 lần (trên nước ép rau má có đường) tùy theo nhiệt độ bảo quản. Việc bổ sung đường trong nước rau má đã làm tăng phát triển của vi khuẩn. Kết quả kiểm tra 45 mẫu nước ép rau má bày bán trên đường phố Nha Trang cho thấy tỷ lệ nhiễm *L. monocytogenes* là 6,67% và mật độ vi khuẩn trung bình là 5,43 MPN/mL. Như vậy, người tiêu dùng cần chú ý nguồn gốc, cách xử lý nguyên liệu và không nên sử dụng loại đồ uống này quá 6 giờ sau khi bảo quản để giảm khả năng mắc bệnh do tác nhân *L. monocytogenes* gây ra.

Từ khóa: *Bảo quản thực phẩm, Listeria monocytogenes, nước rau má, rau má.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rau má là loại rau thông dụng thường được trồng nhiều tại các vùng nông thôn của Việt Nam. Rau má nguyên liệu xay tươi ép nước tạo ra loại đồ uống có chứa một số chất hoạt tính sinh học tốt cho sức khỏe. Nhờ hương vị, tính tiện lợi, giá thành dễ được chấp nhận, loại hình đồ uống chế biến sẵn này được bày bán khá phổ biến trên đường phố Nha Trang

*Điện thoại: 0915837336 Email: haintt@ntu.edu.vn

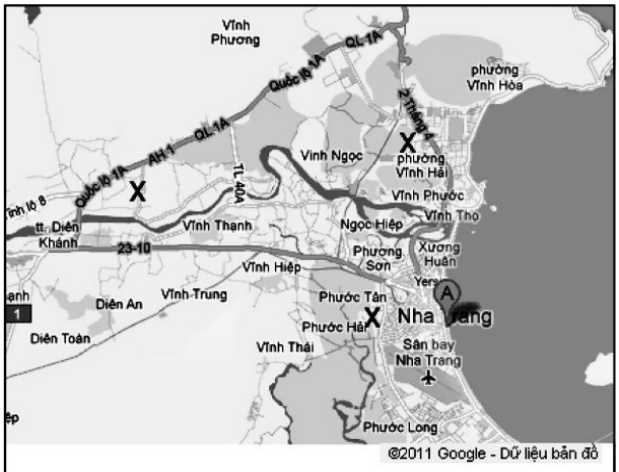
và nhiều nơi khác. Tuy nhiên, việc kiểm soát về vệ sinh an toàn của loại đồ uống này vẫn chưa được quan tâm đúng mức. Trong đó, vi khuẩn *Listeria monocytogenes* được xác nhận là tác nhân gây bệnh ngộ độc từ thực phẩm ở tần số thấp, nhưng gây ảnh hưởng sức khỏe nghiêm trọng với tỉ lệ tử vong chiếm 20 - 30% các ca nhiễm bệnh [1-2].

Sự có mặt của *L. monocytogenes* trong nước ép rau má phụ thuộc lớn vào nguồn nguyên liệu. Các vùng trồng rau và nguồn nước tưới đã được chứng minh là nguyên nhân gây ô nhiễm *L. monocytogenes* cho rau ăn lá [3-5]. Vi khuẩn này sẽ là nguồn lây nhiễm bệnh cho người qua các sản phẩm thực phẩm bảo quản lạnh vì chúng có khả năng tồn tại và tăng trưởng trong thực phẩm trong suốt quá trình bảo quản lạnh [1, 6]. Do đó, việc đánh giá mức độ nhiễm *L. monocytogenes* trong đồ uống nước ép rau má uống liền trong quá trình bảo quản lạnh là rất cần thiết [6]. Kết quả của nghiên cứu góp phần làm cơ sở từ đó đưa ra các biện pháp khuyến cáo người dân thực hiện các biện pháp trồng cây nguyên liệu, chế biến sạch hơn và có các biện pháp bảo quản phù hợp tránh sự phát triển của *L. monocytogenes.*

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Rau má nguyên liệu và nước rau má

Rau má nguyên liệu: 60 mẫu rau má lấy tại các vườn rau trồng ở khu vực ruộng nước và trồng ở khu vực trên sân vườn thuộc khu vực phía Bắc thành phố Nha Trang (vườn rau Vĩnh Hải, Phú Sương), Khu vực Ninh Hòa (vườn rau Ninh Phú, Ninh Đông) và khu vực huyện Diên Khánh (vườn rau Diên Phú 1, Diên Phú 2) (Hình 1).



Hình 1: Bản đồ khu vực lấy mẫu

Ghi chú: Khu vực lấy mẫu ký hiệu **X** *trên bản đồ*

Có hai nhóm mẫu nước rau má được nghiên cứu bao gồm: Mẫu nước rau má được xay ép từ nguyên liệu rau má thu nhận bị nhiễm và mẫu nước rau má thu mua trên thị trường đường phố Nha Trang.

2.2. Hóa chất, môi trường nghiên cứu

Nước muối sinh lý, dung dịch đệm BLEB (Buffered Listeria Enrichment Broth Base), kháng sinh (acriflavin, cycloheximide, natri nalidixic acid), môi trường OXA (Oxford Listeria Selective Agar), môi trường di động SIM, TSA (Trypticase Soy Agar bổ sung 0,6% cao nấm men, canh thang cơ bản lên men carbohydrate (chứa 0,5% rhamnose, xylose), thuốc nhuộm Gram, môi trường thạch máu.

Các hóa chất, môi trường sử dụng trong thí nghiệm của hãng Merck (Đức).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thí nghiệm

Mẫu rau má nguyên liệu được thu nhận tại các khu vực trồng rau trong thời gian từ tháng 3 đến tháng 6 năm 2021. Mẫu được phân chia theo đặc điểm vùng trồng nguyên liệu, đựng trong túi vô trùng và đưa về phòng thí nghiệm kiểm tra tỷ lệ nhiễm và mật độ vi khuẩn *L. monocytogenes* trên rau nguyên liệu.

Mẫu rau má nguyên liệu dùng trong đánh giá hiệu quả xử lý giảm nhiễm gồm mẫu rau nguyên liệu rửa dưới vòi nước chảy và mẫu ngâm $KMnO_4$ 10ppm trong 10 phút. Kiểm tra mật độ vi khuẩn *L. monocytogenes* và đánh giá tỷ lệ nhiễm trên mẫu sau rửa nước thường và mẫu ngâm $KMnO_4$.

Các mẫu rau nguyên liệu sau ngâm $KMnO_4$ còn nhiễm vi khuẩn tự nhiên được bảo quản đông -20^oC tránh tạp nhiễm dùng trong thí nghiệm nghiên cứu biến đổi nồng độ *L. monocytogenes* trong nước rau má. Mẫu nước ép thí nghiệm được chuẩn bị bằng cách xay 50 g rau nguyên liệu với 450 mL nước cất. Mật độ vi khuẩn *L. monocytogenes* trong nước ép rau má không đường và có bổ sung đường được kiểm tra tại thời gian bảo quản 0, 6,12,18, 24 giờ ở nhiệt độ thường và nhiệt độ 3 ± 1^oC.

Nước ép rau má trên thị trường được thu nhận 45 mẫu ở các thời điểm khác nhau trong ngày (7 giờ sáng, 15 giờ chiều và 21 giờ tối) để kiểm tra mật độ *L. monocytogenes*, đánh giá mức độ nhiễm thực tế.

2.3.2. Định lượng Listeria monocytogenes bằng phương pháp MPN

25 g mẫu được đồng nhất trong 225 mL môi trường BLEB cơ bản và pha loãng bậc 10 bằng nước muối sinh lý. Chọn 3 nồng độ pha loãng 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} cấy vào loạt 9 ống nghiệm chứa 10 mL môi trường tăng sinh BLEB bổ sung kháng sinh, mỗi ống BLEB được cấy 1 mL mẫu ở nồng độ pha loãng đã chọn và nuôi cấy ở 30^oC/48 giờ.

Xác nhận ống nghiệm (+) với *L. monocytogenes*: Phân lập *L. monocytogenes* từ các ống nghiệm trên môi trường chọn lọc chứa esculin OXA, chọn khuẩn lạc điển hình, kiểm tra các test: di động trên môi trường SIM, khả năng sử dụng đường trên môi trường TSA bổ sung rhamnose, xylose và hoạt tính làm tan máu. Thử nghiệm hoạt tính tan huyết: Hoạt tính tan huyết của các chủng khác nhau được xác định bằng cách sử dụng thạch TSA bổ sung 3% hồng cầu cừu và 0,6% chiết xuất nấm men. Các chủng được cấy chấm điểm trên thạch máu và ủ ở 37°C trong 24 giờ sau đó ghi nhận hoạt tính tan máu trên đĩa thạch. Thực hiện test CAMP để xác nhận khuẩn lạc nghi ngờ (+) với chủng *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 thế hệ F5 và (-) với chủng *Rhodococcus equi* ATCC 6939 thế hệ F2 được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm vi sinh Trường Đại học Nha trang. Test sinh hóa nhận diện *L. monocytogenes*: esculin (+), di động (+), tan huyết β (+), test CAMP: (+) với chủng S. *aureus* và (-) với chủng *R. equi*, rhamnose (+), xylose (-) [7].

Đọc kết quả: Ghi nhận số ống (+), tra bảng Mac Crandy. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.3.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm MS Excel 2013. So sánh sự khác biệt dựa vào phân tích phương sai (ANOVA) với sự khác biệt có ý nghĩa $P \leq 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình nhiễm *L. monocytogenes* trên rau má nguyên liệu

Kết quả khảo sát mức độ nhiễm *L. monocytogenes* trên 60 mẫu rau má thu được ở các vùng trồng được trình bày trên Bảng 1.

Tùy theo từng vùng trồng, mật độ *L. monocytogenes* trung bình trên các mẫu kiểm biến động từ 4,47 MPN/g đến 37,7 MPN/g. Vùng trồng rau má trên cạn có tỷ lệ nhiễm và mức độ nhiễm trung bình *L. monocytogenes* thấp hơn so với vùng trồng dưới ruộng nước. Tuy nhiên trong cùng một vùng đất trồng rau nhưng nguồn nước tưới khác nhau có thể ảnh hưởng đến mật độ nhiễm *L. monocytogenes* trên rau khác nhau. Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu trước đây cho thấy nguồn nước tưới ảnh hưởng mạnh đến mật độ *L. monocytogenes* trên rau ăn lá [3, 5].

Bảng 1. *Tình hình nhiễm L. monocytogenes trên mẫu kiểm tra*

Khu vực lấy mẫu	*Nguồn nước*	*Số mẫu kiểm tra*	*Số mẫu nhiễm*	*Tỉ lệ nhiễm (%)*	*Mật độ L. monocytogenes trung bình (MPN/g)*
Ruộng nước	*Nước tụ đọng*	15	2	13,3	$4,47^{a} \pm 1,02$
	Nước thải	15	5	33,3	$37,7^{c} \pm 43,37$
Trên cạn	*Nước ngầm*	15	0	0	0
	Nước ao hồ	15	2	13,3	$10,7^{b} \pm 4,5$
Tổng mẫu kiểm		60	9	15,0	24,2 ± 31,14

$^{a, b, c}$ *biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa* ($P \leq 0,05$)

Trong 60 mẫu thu nhận, khu vực rau má ruộng nước thải có tỷ lệ mẫu nhiễm cao nhất 33,3%, mật độ vi khuẩn trung bình 37,7MPN/g, trong đó số lượng vi khuẩn biến động lớn ở các mẫu kiểm. Mẫu lấy từ ruộng rau dùng nước ngầm phun tưới có tỷ lệ nhiễm thấp 0%. Hệ thống canh tác, các loại hình tưới tiêu là con đường lây nhiễm *L. monocytogenes* vào rau ăn lá. Tỷ lệ nhiễm *L. monocytogenes* là 1% trên rau ăn lá khi dùng nước tưới từ đầm phá, sông hồ [4]. Sự ô nhiễm vi sinh vật trước thu hoạch đóng vai trò quyết định đối với chất lượng vi sinh trên rau không qua chế biến hoặc chế biến tối thiểu. Đối với vùng trồng rau ô nhiễm nguồn nước thải cần phải được xem xét đánh giá mức độ ô nhiễm vi sinh cụ thể [5].

Việc sử dụng dung dịch thuốc tím $KMnO_4$ 10ppm có tác dụng làm giảm mật độ vi sinh vật mà không làm ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan của rau [8]. Vì vậy, trong nghiên cứu này rau nguyên liệu được xử lý làm sạch bằng cách rửa dưới vòi nước chảy và ngâm dung dịch thuốc tím 10 ppm trong thời gian 10 phút. Kết quả giảm nhiễm *L. monocytogenes* trên mẫu sau xử lý được thể hiện trên Bảng 2.

Bảng 2. *Kết quả giảm nhiễm L. monocytogenes trên rau sau xử lý dung dịch $KMnO_4$ 10 ppm*

Nguồn nước	Số mẫu nhiễm			Mật độ vi khuẩn trung bình (MPN/g)		
	Rau nguyên liệu	Sau rửa nước	Sau ngâm $KMnO_4$	Mẫu nguyên liệu	Sau khi rửa nước thường	Sau khi ngâm $KMnO_4$
Nước tụ đọng	2	1	0	4,47 ± 1,02	3	0
Nước thải	5	4	3	37,7 ± 43,37	28,2 ± 2,15	7,3 ± 0,23
Nước ngầm	0	0	0	0	0	0
Nước ao hồ	2	1	1	10,7 ± 4,5	7,4 ± 0,62	3
Tổng nhiễm	9	6	4	$24,2^b$ ± 31,14	$20,57^b$ ± 12,01	$4,2^a$ ± 0,12

Ghi chú: a, b biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ($P \leq 0,05$)

Kết quả cho thấy, rửa rau bằng nước thông thường làm giảm 33,3% tỷ lệ mẫu nhiễm và ngâm rau bằng dung dịch thuốc tím 10 ppm làm giảm 56% tỷ lệ mẫu nhiễm *L. monocytogenes* trên nguyên liệu rau má. So sánh mật độ vi khuẩn trung bình ở các mẫu rửa nước và ngâm $KMnO_4$ có sự khác biệt có ý nghĩa ($P \leq 0,05$). Cụ thể, sau khi rửa nước thông thường mẫu rau có mật độ vi khuẩn trung bình trên mẫu nhiễm là 20,57 MPN/g và sau khi ngâm thuốc tím 10 ppm, mật độ nhiễm chỉ còn 4,2 MPN/g. Kết quả khi ngâm rau xà lách bằng $KMnO_4$ 10 ppm trong 10 phút, hiệu quả giảm tỷ lệ nhiễm *L. monocytogenes* 70 - 80% [8]. Ở mẫu rau má ruộng nước thải sau khi ngâm thuốc tím vẫn có tỷ lệ nhiễm 60%. Như vậy, nguồn nước tưới có thể ảnh hưởng khả năng hình thành mảng bám biofilm của *L. monocytogenes* trên lá rau, từ đó làm giảm khả năng diệt khuẩn của dung dịch thuốc tím 10 ppm. Hiện tại, cách giảm thiểu khả năng ô nhiễm vi sinh vật trên rau là sử dụng các biện pháp ngăn ngừa từ các nhà vườn, trang trại [5].

3.2. Biến đổi mật độ *L. monocytogenes* ở nước ép rau má trong thời gian bảo quản

Số liệu mức độ nhiễm *L. monocytogenes* trên nước ép rau má bảo quản được thể hiện ở Bảng 3 và Bảng 4. Mẫu rau sử dụng làm nước ép rau má thí nghiệm là 4 mẫu rau nguyên liệu nhiễm tự nhiên sau khi đã xử lý KMnO4 được bảo quản đông trong tủ lạnh - 20°C. Nồng độ nhiễm ban đầu là lượng *L. monocytogenes* trung bình trên 4 mẫu rau nguyên liệu nhiễm tự nhiên sau 7 ngày bảo quản đông.

Bảng 3. *Mật độ L. monocytogenes ở nước ép rau má không đường trong quá trình bảo quản*

Thời gian bảo quản (giờ)	Mật độ L. monocytogenes trung bình (MPN/mL)	
	Bảo quản thường	Bảo quản lạnh 3^o ± 1
0	4,15 ± 0,46	4,15 ± 0,46
6	4,52 ± 0,85	4,36 ± 2,88
12	11,6	10,03 ± 4,15
18	19,2 ± 1,3	17,25 ± 2,1
24	39,1 ± 2,4	35,7 ± 0,45

Trong 6 giờ đầu bảo quản sau khi xay ép, mật độ vi khuẩn *L. monocytogenes* hầu như không thay đổi. Sau 12 giờ, mật độ vi khuẩn trong nước rau má tăng gấp 2,5 lần so với trước khi bảo quản. Nhiệt độ bảo quản lạnh ở nhiệt độ $3^o \pm 1$ không làm ảnh hưởng đến sự phát triển của *L. monocytogenes*. Ở nhiệt độ bảo quản này, đa số các vi khuẩn gây bệnh khác đều bị ức chế cũng tạo điều kiện cho *L. monocytogenes* phát triển và tăng số lượng [1]. Mật độ vi khuẩn trung bình trong nước ép rau má sau 24 giờ bảo quản lạnh là 35,7 MPN/mL và sau 24 giờ bảo quản thường là 39,1 MPN/mL.

Tùy vào nước rau má có bổ sung đường hay không bổ sung đường, mà trong quá trình bảo quản có số lượng *L. monocytogenes* khác nhau. Biến động số lượng *L. monocytogenes* trong mẫu nước ép rau má bổ sung thêm đường saccharose 10% qua thời gian bảo quản được thể hiện trên Bảng 4.

Bảng 4. *Mật độ L. monocytogenes ở nước ép rau má có đường trong quá trình bảo quản*

Thời gian bảo quản (giờ)	***Mật độ L. monocytogenes trung bình (MPN/mL)***	
	Bảo quản thường	***Bảo quản lạnh***
0	4,15 ± 0,46	4,15 ± 0,46
6	6,83 ± 0,07	6,57 ± 1,7
12	17,2 ± 1,81	12,3 ± 3,15
18	31,9 ± 0,83	28,21 ± 2,3
24	74,2 ± 1,3	61,55 ± 0,45

Số lượng *L. monocytogenes* ở mẫu nước rau má có đường tăng nhanh hơn mẫu nước rau má không đường trong quá trình bảo quản. Mẫu nước rau má bảo quản lạnh có đường bảo quản nhiệt độ thường có mật độ vi khuẩn trung bình cao nhất là 74,2 MPN/mL sau 24 giờ.Theo đánh giá cảm quan sơ bộ (màu sắc, mùi vị, trạng thái), nước rau má bảo quản lạnh sau 24 giờ hầu như không có sự thay đổi. Vì vậy sự phát triển của *L. monocytogenes* trong nước rau má bảo quản lạnh không thể nhận biết nếu không có kiểm tra cụ thể. Đây chính là mối nguy của bệnh Listeriosis trên các mẫu thực phẩm bảo quản lạnh không gia nhiệt, đặc biệt đối với những người có hệ miễn dịch yếu [2].

3.3. Tình hình nhiễm *L. monocytogenes* trên đồ uống nước ép rau má tươi đường phố tại Nha Trang

Mẫu nước ép rau má được thu nhận tại các quán ở các thời điểm 7 giờ sáng, 15 giờ chiều và 21 giờ tối. Kết quả phân tích tỷ lệ nhiễm và mật độ *L. monocytogenes* trong các mẫu nước ép rau má đường phố tại thành phố Nha Trang được thể hiện trong Bảng 5.

Bảng 5. *Tỷ lệ nhiễm và mật độ L. monocytogenes trong mẫu nước ép rau má đường phố*

Thời điểm lấy mẫu	***Số mẫu kiểm tra***	***Số mẫu nhiễm***	***Tỉ lệ nhiễm (%)***	***Mật độ vi khuẩn trung bình (MPN/mL)***
Buổi sáng	15	1	6,67	3
Buổi chiều	15	0	0	0
Buổi tối	15	2	13,3	6,75 ± 0,15
Tổng mẫu kiểm	45	3	6,67	5,43 ± 1,2

Theo khảo sát sơ bộ, đồ uống nước rau má tươi tại Nha Trang được bán phổ biến trong các quán sinh tố (cả ngày) hoặc bán tại các quán nước vỉa hè (buổi sáng, tối). Rau má được xay ép nước vào đầu buổi sáng sớm hoặc buổi chiều được quản lạnh trong thùng đá và bán trong ngày. Theo kết quả ở Bảng 5 cho thấy nếu các đồ uống này được bán trong vòng 6 giờ sau khi xay ép thì mật độ vi khuẩn *L. monocytogenes* được kiểm soát tốt, tuy nhiên tỷ lệ nhiễm còn phụ thuộc vào nguồn nguyên liệu và cách xử lý rau nguyên liệu trước khi xay. Trong mẫu nước ép được thu nhận, mật độ vi khuẩn hiện diện là 5,43 MPN/mL với tỷ lệ nhiễm trung bình là 6,67% mẫu kiểm. Như vậy, tỷ lệ nhiễm và mật độ vi khuẩn trên mẫu nước ép rau má xay sẵn tuy không cao nhưng cần chú ý không nên kéo dài thời gian bảo quản, và cần chú ý khả năng nhiễm khuẩn từ các mẫu buổi tối để tránh gây mất an toàn thực phẩm.

4. KẾT LUẬN

Tình hình nhiễm *L. monocytogenes* dao động khác nhau trên các mẫu rau má tại các vườn trồng có nguồn nước tưới khác nhau. Tỷ lệ nhiễm cao nhất được ghi nhận ở các mẫu rau thu nhận từ ruộng trồng cạnh vùng nước thải chiếm 33,3% và nhiễm thấp nhất ở mẫu rau được tưới nước ngầm. Mật độ *L. monocytogenes* trung bình trên mẫu rau nguyên liệu là 24,2 MPN/g. Rau nguyên liệu được ngâm rửa bằng dung dịch $KMNO_4$ 10 ppm làm giảm tỷ lệ nhiễm 56%. Kết quả bảo quản lạnh hầu như không ức chế sự phát triển của vi khuẩn này. Do vậy, các nhà vườn cần kiểm soát các nguồn nước tưới phù hợp để giảm tạp nhiễm vi khuẩn *L. monocytogenes* trên rau nguyên liệu. Đối với nước rau má xay sẵn có đường không nên bảo quản quá 6 giờ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. FAO/WHO, "*Risk Assessment of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods: Interpretative Summary*," Microbiological Risk Assessment Series, 2004.

[2]. D. Liu, "Identification, subtyping and virulence determination of *L. monocytogenes*, an important foodborne pathogen," *Journal of Medical and Microbiology*, vol, 55 (Pt 6), pp. 645-649, 2006.

[3]. R. B. Larry, "*Listeria monocytogenes*: Incidence on vegetables," *Food Control*, vol. **7,** no. 415, pp. 223-228, 1996.

[4]. P. Jeyaletchumi, R. Tunung, S. P. Margaret, R. Son, M. G. Farinazleen, Y. K. Cheah, N. Mitsuaki, N. Yoshitsugu, and K. M. Pradeep, "*Listeria monocytogenes* in raw salad vegetables sold at retail level in Malaysia," *Food Control,* vol. 21, no. 5, pp. 774-778, 2010.

[5]. A. Miceli, and L. Settanni, "Influence of agronomic practices and pre-harvest conditions on the attachment and development of *Listeria monocytogenes* in vegetables," *Annals Microbiology,* vol. 69, pp.185-199, 2019.

[6]. Directorate for standards, metrology and quality, TCVN 9778: 2013 (CAC/GL 61: 2007) "Guidelines on the Application of General Principles of Food Hygiene to the Control of Listeria monocytogenes Foods," 2013.

[7]. D. H. Anthony, J. Karen, and Y. Chen, "Detection and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods, in Bacteriological Analytical Manual,", Food and Drug Administration (FDA), 2017.

[8]. N. T. T. Hai, N. T. T. My, and N. M. Tri, "The situation of Listeria monocytogenes infection on lettuce in Nha Trang," *Journal of fisheries science and technology-Nha Trang University*, vol. 1/2012, pp. 36-40, 2012.

Survey on the level of *Listeria monocytogenes* infection on gotu kola and fresh gotu kola juice in Nha Trang, Khanh Hoa province

Nguyen Thi Thanh Hai, Le Nha Uyen, Pham Thu Thuy

Institute of Biotechnology and Environment, Nha Trang University, Khanh Hoa, Vietnam

Abstract

Gotu kola is often used to make fresh juice without heating. In Nha Trang, gotu kola drinks are usually prepared and refrigerated while being traded. *Listeria monocytogenes* is a bacterium capable of growing at cold temperatures; whereas the pathogenicity is low, mortality rate can be up to 25 - 30%. Therefore, the assessment of the level of *L. monocytogenes* contamination on raw gotu kola and in gotu kola juice during cold storage is crucial to ensure food safety and hygiene. This study has shown that the prevalence of *L. monocytogenes* infection on raw gotu kola cultivated in Nha Trang accounted for 15% of the samples with an average infection density of 24.2 MPN/g, in which gotu kola grown in wastewater field had the highest density of bacteria. Soaking raw vegetables in a solution of potassium permanganate 10 ppm/10 minutes has appeared to reduce the amount of *L. monocytogenes* by 56%. During the first 6 hours of storage, the amount of *L. monocytogenes* in gotu kola juice was stable at low level. After 24 hours of storage, the number of bacteria increased tenfold (on gotu kola juice without sugar) and twentyfold (on gotu kola juice with sugar) depending on storage temperature. Noticeably, the addition of sugar in gotu kola juice may have increased the growth of bacteria. Test results of forty-five samples of gotu kola juice sold on the streets of Nha Trang have revealed that the infection rate of *L. monocytogenes* was 6.67% and the average bacterial density was 5.43 MPN/mL. Thus, consumers need to pay attention to the origin and the manufacturing process of crude materials and should not use this herbal beverage from 6 hours after storage to reduce the possibility of disease caused by *L. monocytogenes*.

Keywords*: Food preservation, Listeria monocytogenes, gotu kola juice, gotu kola.*