NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG BẢO QUẢN THỊT HEO TƯƠI BẰNG HỖN HỢP TINH DẦU QUẢ MÀNG TANG (*Litsea cubeba*) VÀ CHITOSAN Ở NHIỆT ĐỘ LẠNH

Nguyễn Hải Vân[1], Lưu Việt Hà[1],
Hoàng Thị Kim Anh[1], Phan Thanh Tâm[1*]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm mục đích xác định ảnh hưởng việc xử lý phức hợp tinh dầu quả màng tang (TDMT) và chitosan (CTS) đến các chỉ tiêu cảm quan (màu sắc, cấu trúc, mùi, vị), chỉ tiêu hoá lý (pH, NH_3), chỉ tiêu vi sinh vật (vi sinh vật hiếu khí tổng số, *E. coli*, Enterobactericeae) và thời hạn bảo quản thịt lợn tươi. Thịt nạc mông tươi được tiến hành phun CTS, TDMT và phức hợp CTS-TDMT lên bề mặt và lên màng bao miếng thịt ở nồng độ tương ứng là 0,32; 0,02; 0,08 - 0,005% (w/w) và bảo quản ở điều kiện lạnh (2 ± 2°C). Kết quả cho thấy mẫu phun hỗn hợp CTS - TDMT lên bề mặt thịt có tác dụng tốt nhất trong việc kéo dài thời gian bảo quản thịt lợn tươi (15 ngày), tiếp theo là mẫu phun TDMT lên bề mặt thịt, phun CTS lên bề mặt thịt, phun hỗn hợp CTS - TDMT lên màng bao gói, phun TDMT lên màng bao gói (12 ngày) và kém nhất ở mẫu phun CTS lên màng bao gói (9 ngày). Kết quả nghiên cứu chứng minh tiềm năng ứng dụng của các hợp chất tự nhiên trong bảo quản thịt ở điều kiện lạnh.

Từ khoá: *Cây màng tang, tinh dầu, chitosan, bảo quản thịt.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thịt lợn là một loại thực phẩm giàu dinh dưỡng và là nguồn cung cấp protein chính cho con người. Tuy nhiên nhóm nguyên liệu này lại rất dễ gây ra mất an toàn vệ sinh thực phẩm nếu không được giết mổ, vận chuyển và bảo quản đúng cách. Việc sử dụng các giải pháp kỹ thuật mới trong bảo quản thịt, ví dụ như bảo quản bằng các hợp chất tự nhiên, đang trở thành xu hướng mới trong giai đoạn hiện nay, phù hợp với phát triển nông nghiệp hữu cơ, thay thế dần các chất bảo quản hoá học [1].

Cây màng tang (*Litsea cubeba*) thuộc chi Bời Lời (*Litsea*) (Lauraceae), là một cây có thân màu xanh, cao từ 5 - 8 m. Màng tang là cây đơn tính, thường ra nụ vào mùa đông và có hoa vào mùa xuân năm sau. Quả có màu xanh lá cây khi chưa chín và chuyển sang màu đen khi chín vào tháng tám và tháng chín, đường kính quả 4 - 5 mm. Ở Việt Nam, cây màng tang phân bố chủ yếu ở các khu vực miền núi như: Yên Bái, Lào Cai, Thừa Thiên - Huế, Điện Biên, Ninh Bình, Phú Thọ và các khu vực miền núi lân cận địa bàn Hà Nội (Tam Đảo, Ba Vì, Sóc Sơn) [2]. Nước ta hiện vẫn chưa khai thác hết tiềm năng của loại cây này, chúng mọc hoang ở các vùng núi và đất rừng mới khai hoang và chưa được quy hoạch trồng trọt. Tinh dầu quả màng tang (TDMT) hiện đang được khai thác nhiều nhất do có hàm lượng tinh dầu lớn nhất (khoảng 8%). Màng tang và đặc biệt citral (tách chiết từ tinh dầu quả) có thể được ứng dụng trong rất nhiều các lĩnh vực khác nhau như hương liệu và nước hoa, mỹ phẩm, dược phẩm, chất diệt côn trùng, chất bảo quản thực phẩm [3]. Citral cũng là thành phần chính tạo nên mùi thơm nhẹ như tinh dầu sả của TDMT. Bộ Y tế Trung Quốc chứng minh TDMT, α-ionone, β-ionone và citral tách từ TDMT có thể sử dụng như phụ gia thực phẩm theo Tiêu chuẩn GB 2760 - 2007 [3].

Các thí nghiệm *in vitro* chỉ ra rằng TDMT có khả năng kháng vi khuẩn gây hỏng và gây bệnh thực phẩm thường gặp như *Escherichia coli, Salmonella* Typhimurium*, Bacillus cereus*... [3]. Tuy nhiên, các thành phần có mặt trong thực phẩm có thể ảnh hưởng đến khả năng kháng khuẩn của tinh dầu. Chính vì vậy, trong đa số trường hợp nồng độ tinh dầu cần sử dụng trong các thí nghiệm *in vivo* thường cao hơn nhiều lần so với các thí nghiệm *in vitro* [4].

Việc sử dụng kết hợp tinh dầu với các biện pháp kháng khuẩn khác có thể làm giảm đáng kể nồng độ tinh dầu cần sử dụng, vì vậy làm giảm các tác dụng phụ không mong muốn của tinh dầu. Ojagh *et al.* (2010) cho rằng việc sử dụng lớp phủ chitosan 2% w/v và tinh dầu quế 1,5% v/v cải thiện thời gian bảo quản của phi lê cá hồi (16 ngày so với 10 ngày của

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội
*Email: tam.phanthanh@hust.edu.vn

mẫu kiểm chứng) và đặc biệt nâng cao các tính chất như cấu trúc, mùi và màu sắc của sản phẩm [5]. Việc kết hợp tinh dầu thì là ở nồng độ 0,5% v/v và chitosan 2% w/v có thể sử dụng như một bao bì kháng khuẩn để kéo dài thời hạn sử dụng của thịt gà [1].

Chitosan (CTS) là sản phẩm deacetyl hóa chitin, trong đó nhóm (- NH_2) thay thế nhóm (-$COCH_3$) ở vị trí C(2). Với đặc tính có thể hoà tan tốt trong môi trường axit, CTS được chú ý đặc biệt như là một loại vật liệu mới và có tiềm năng ứng dụng trong công nghiệp do khả năng phân huỷ sinh học, không độc hại, chống oxy hoá, kháng nấm, kháng khuẩn cũng như tính thấm oxy thấp [6]. Phan Thanh Tâm và cs. (2012) nghiên cứu bảo quản nguyên liệu thịt bằng chế phẩm CTS và báo cáo rằng CTS ở nồng độ 0,9%, sodium diaxetat 0,4% và sodium lactate 3% được phun sương lên bề mặt nguyên liệu thịt đã kéo dài thời gian bảo quản thịt đến 11 - 12 ngày ở điều kiện 0 - 4°C và đạt các chỉ tiêu hóa lý, vi sinh vật, cảm quan, cũng như đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm cho người tiêu dùng [7].

Tuy nhiên, hiện chưa có nghiên cứu nào đánh giá khả năng bảo quản của phức hợp CTS và TDMT. Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá khả năng bảo quản của TDMT, CTS và phức hợp TDMT - CTS trong việc bảo quản nguyên liệu thịt lợn trong điều kiện lạnh 0 - 4°C khi phun sương lên bề mặt nguyên liệu thịt hoặc phun sương lên màng bao gói.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguyên liệu thịt tươi được sử dụng trong nghiên cứu là thịt heo nạc mông. Phần thịt nạc mông ngay sau khi giết mổ được bảo quản mát và chuyển đến phòng thí nghiệm. Nguyên liệu đáp ứng các chỉ tiêu cảm quan của thịt tươi theo Tiêu chuẩn TCVN 7046: 2019 [8] về trạng thái, màu sắc và mùi.

CTS được cung cấp bởi đề tài mã số B2014 - 01 - 08DA (Bộ Giáo dục và Đào tạo). Bột CTS sử dụng trong nghiên cứu có độ deacetyl hoá 93% và có độ nhớt 50 cps. Bột CTS được hoà tan và pha loãng trong dung dịch đệm axetat pH 4,5.

Tinh dầu quả màng tang được chiết xuất bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn theo hơi nước tại Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội, có độ tinh khiết > 98%. TD thu được giữ trong bình tối màu kín ở 4°C cho đến khi sử dụng. Tinh dầu được hoà tan trong nước cất có chứa 0,05% v/v Tween 80 và pha loãng bằng nước cất đến nồng độ thích hợp.

Khay xốp PS có kích thước 115 x 160 x 4 mm và màng nhựa PVC sử dụng trong nghiên cứu được mua tại Công ty Bao bì Thực phẩm Lan Hùng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của chất kháng khuẩn đến thời gian bảo quản thịt tươi

Thịt nguyên liệu sau khi đưa về phòng thí nghiệm được rửa sạch, làm ráo tự nhiên và được cắt thành từng miếng có kích thước gần giống nhau, có khối lượng 100 g. Nguyên liệu thịt sau khi xử lý được xếp vào khay xốp và được phủ bằng màng nhựa PVC. Các chất kháng khuẩn sẽ được phun sương trực tiếp lên bề mặt nguyên liệu thịt hoặc phun sương lên màng bao (khay và màng PVC) bằng thiết bị máy nén khí có hệ thống phun sương với áp lực phun 5,4 kg/cm^2. Các mẫu xử lý bao gồm:

KC: Mẫu kiểm chứng.

M1: Mẫu phun sương CTS lên bề mặt nguyên liệu thịt (nồng độ 0,32% w/w).

M2: Mẫu phun sương TDMT lên bề mặt nguyên liệu thịt (nồng độ 0,02 % w/w).

M3: Mẫu phun sương hỗn hợp CTS – TDMT lên bề mặt nguyên liệu thịt (CTS nồng độ 0,08% w/w, TDMT nồng độ 0,005% w/w).

M4: Mẫu phun sương CTS lên màng bao nguyên liệu thịt (nồng độ 0,32% w/w).

M5: Mẫu phun sương TDMT lên màng bao nguyên liệu thịt (nồng độ 0,02% w/w).

M6: Mẫu phun sương hỗn hợp CTS – TDMT lên màng bao nguyên liệu thịt (CTS nồng độ 0,08% w/w, TDMT nồng độ 0,005% w/w).

Lượng chế phẩm phun là 2 mL/100 g thịt. Sau khi bao gói, các mẫu thịt được bảo quản ở ngăn mát tủ lạnh, nhiệt độ 2 ± 2°C. Trong quá trình bảo quản, các mẫu thịt được lấy ra kiểm tra vào các ngày 0, 5, 7, 9, 12, 15, 18. Các chỉ tiêu kiểm tra bao gồm chỉ tiêu hoá lý (pH, NH_3) và chỉ tiêu vi sinh vật (vi sinh vật hiếu khí tổng số, *E. coli*, *Enterobactericeae*). Đối với chỉ tiêu cảm quan, nghiên cứu đưa ra các nhận xét và mô tả về màu sắc, trạng thái, mùi và vị của thịt sống và thịt luộc. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần để lấy giá trị trung bình.

2.2.2. Phương pháp phân tích

Phương pháp định lượng vi sinh vật hiếu khí tổng số trên môi trường PCA (TCVN 4884-2: 2015) [9].

Phương pháp định lượng *Escherichia coli* theo Tiêu chuẩn TCVN 9976: 2013 [10].

Phương pháp định lượng Enterobacteriaceae theo Tiêu chuẩn TCVN 5518-2: 2007 [11].

Phương pháp xác định pH, NH_3 (TCVN 4835: 2002) [12].

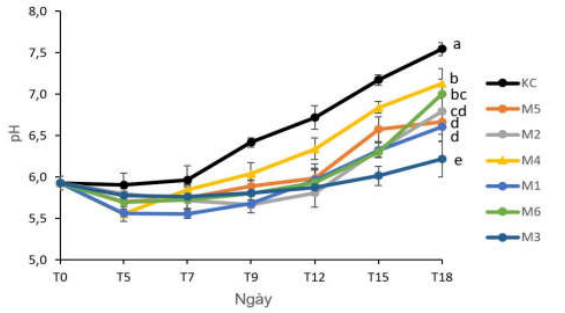
2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS18, phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Duncan được sử dụng để so sánh giá trị trung bình sự khác biệt.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của phương pháp bảo quản bằng tinh dầu, chitosan và phức hợp tinh dầu – chitosan đến các chỉ tiêu hoá lý của thịt lợn tươi

3.1.1. Ảnh hưởng của phương pháp bảo quản bằng các thành phần kháng khuẩn đến pH của thịt

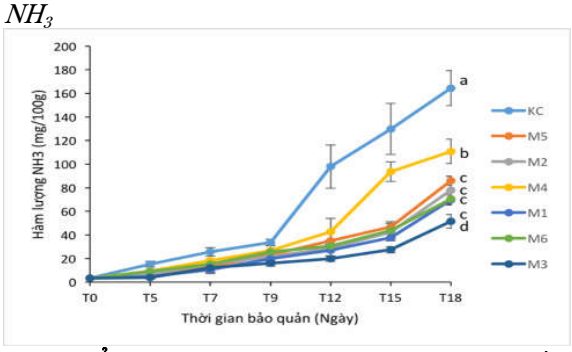


Hình 1. Ảnh hưởng của phương pháp bảo quản bằng các thành phần kháng khuẩn đến pH thịt

Giá trị pH của thịt liên quan chặt chẽ đến chất lượng và hoạt động của vi sinh vật trong thịt và ảnh hưởng lớn đến khả năng giữ nước và màu sắc của thịt. Giá trị pH của thịt lợn mát nên từ 5,5 - 6,2 theo TCVN 12429-1: 2018 [13], trong khi đó giá trị pH của thịt lợn tươi không được quy định theo TCVN 7046: 2019 [8]. Nghiên cứu đã tiến hành theo dõi pH của thịt trong quá trình bảo quản ở 2 ± 2°C (Hình 1). Mẫu thịt lợn đối chứng KC cho thấy xu hướng giảm giá trị pH trong 7 ngày đầu tiên bảo quản, nhưng sau đó giá trị pH tăng cao hơn đáng kể bắt đầu từ ngày bảo quản thứ 9. Mặt khác, giá trị pH của các mẫu thịt lợn được xử lý (M2 – M6) dao động nhẹ trong suốt thời gian bảo quản ở nhiệt độ lạnh và bắt đầu tăng vào ngày thứ 15 của quá trình bảo quản, ngoại trừ mẫu M4. Đáng chú ý sau 18 ngày bảo quản, pH của mẫu M3 vẫn duy trì ở khoảng giá trị chấp nhận được (6,22). Sự khác biệt có nghĩa ($p < 0,05$) trong giá trị pH được tìm thấy giữa mẫu thịt lợn đối chứng KC và mẫu xử lý M2-M6 ở ngày bảo quản thứ 18.

Giá trị pH gián tiếp đánh giá sự biến đổi chất lượng của nguyên liệu thịt, trong những ngày đầu pH ít biến đổi hoặc có xu thế giảm nhẹ do quá trình co cứng tiếp diễn ở nhiệt độ lạnh, các ngày tiếp theo nếu lượng vi sinh vật ban đầu kiểm soát tốt và duy trì ở nhiệt độ bảo quản thấp thì pH sẽ ổn định. Điều này rất đúng với các mẫu được xử lý chất kháng khuẩn phù hợp như mẫu M3, nhưng nếu không có biện pháp kiểm soát vi sinh vật từ đầu như mẫu kiểm chứng thì số lượng vi sinh vật tăng và làm pH tăng cao do vi sinh vật phân hủy protein thịt thành NH_3, H_2S,…làm thịt thối hỏng nhanh chóng [14]. Trong nghiên cứu này, mẫu từ M4 - M6 do các chế phẩm được phun vào màng bao thịt nên hiệu quả kiểm soát vi sinh vật không hiệu quả bằng các mẫu từ M1 - M3 nên pH tăng dần sau 9 ngày.

3.1.2. Ảnh hưởng của phương pháp bảo quản bằng các thành phần kháng khuẩn đến hàm lượng NH_3



Hình 2. Ảnh hưởng của phương pháp bảo quản bằng các thành phần kháng khuẩn đến hàm lượng NH_3

Nồng độ amoniac cũng là một tiêu chí quan trọng trong việc xác định chất lượng thịt. Amoniac là sản phẩm cuối cùng trong quá trình tự phân hủy sâu xa của protein thịt. Nó cũng là kết quả của hoạt động của các vi sinh vật và các enzym phân giải protein trong thịt [14]. Nồng độ amoniac tăng với tỷ lệ khác nhau ở các nghiệm thức trong nghiên cứu này (Hình 2). Các mẫu được xử lý với chất kháng khuẩn (TDMT, CTS và phức hợp TDMT - CTS) có hàm lượng NH_3 tương đối ổn định trong 12 ngày và sau đó tăng nhẹ so với mẫu đối chứng, và với mẫu xử lý trên bề mặt thịt M5 có hàm lượng NH_3 biến đổi ít nhất so với mẫu xử lý phun lên màng bao gói. Cụ thể, hàm lượng NH_3 của cả các mẫu xử lý với chất kháng khuẩn đều nhỏ hơn giới hạn chấp nhận được là 35 mg/100 g thịt lợn (TCVN 7046: 2019) sau 12 ngày bảo quản ngoại trừ mẫu M4. Trong khi đó mẫu đối chứng đã vượt qua ngưỡng cho phép ở ngày thứ chín khi giữ ở cùng điều kiện. Phát hiện này phù hợp với

nghiên cứu Nguyễn Thị Hoàng Lan và cs. (2016) khi sử dụng tinh dầu tía tô để bảo quản thịt lợn [15].

3.2. Ảnh hưởng của phương pháp bảo quản bằng tinh dầu, chitosan và phức hợp tinh dầu – chitosan đến các chỉ tiêu vi sinh vật của thịt lợn tươi

Để xác định ảnh hưởng của các phương pháp bảo quản bằng chất kháng khuẩn tới sự biến đổi của các chỉ tiêu vi sinh, nghiên cứu đã tiến hành xác định các chỉ tiêu vi sinh vật bao gồm vi sinh vật hiếu khí tổng số, *E. coli* và Enterobactericeae của các mẫu thí nghiệm. Giá trị trung bình của các chỉ tiêu vi sinh vật của các mẫu thí nghiệm trong quá trình bảo quản được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Chỉ tiêu vi sinh vật các mẫu thịt lợn sau khi được xử lý bảo quản ở 2 ± 2°C theo thời gian

Nhóm		Ngày						
		0	5	7	9	12	15	18
Tổng số vi sinh vật hiếu khí (CFU/g)	KC	$3,78.10^4$	$6,40.10^4$	$9,12.10^4$	$6,21.10^5$	$8,87.10^6$	$3,05.10^8$	$9,40.10^8$
	M1	$3,78.10^4$	$2,62.10^3$	$2,39.10^4$	$9,13.10^4$	$1,76.10^5$	$2,96.10^6$	$1,33.10^7$
	M2	$3,78.10^4$	$6,18.10^2$	$1,80.10^4$	$3,55.10^4$	$1,45.10^5$	$1,49.10^6$	$8,63.10^6$
	M3	$3,78.10^4$	$7,36.10^2$	$5,47.10^3$	$2,86.10^4$	$4,91.10^4$	$1,03.10^5$	$1,19.10^6$
	M4	$3,78.10^4$	$1,15.10^4$	$4,20.10^4$	$1,13.10^5$	$3,45.10^5$	$6,07.10^6$	$2,28.10^7$
	M5	$3,78.10^4$	$5,98.10^3$	$6,14.10^4$	$9,18.10^4$	$2,11.10^5$	$3,97.10^6$	$3,03.10^7$
	M6	$3,78.10^4$	$1,58.10^4$	$3,81.10^4$	$5,28.10^4$	$2,07.10^5$	$1,61.10^6$	$5,74.10^6$
E. coli (CFU/g)	KC	<10	$5,85.10^1$	$9,66.10^1$	$2,35.10^2$	$6,77.10^2$	$2,60.10^3$	$7,67.10^3$
	M1	<10	<10	<10	$3,33.10^0$	$7,29.10^1$	$1,11.10^2$	$3,48.10^2$
	M2	<10	<10	<10	<10	$9,19.10^1$	$1,87.10^2$	$4,03.10^2$
	M3	<10	<10	<10	<10	$3,37.10^1$	$8,76.10^1$	$1,16.10^2$
	M4	<10	<10	$3,48.10^1$	$7,46.10^1$	$4,12.10^2$	$5,54.10^2$	$1,31.10^3$
	M5	<10	<10	<10	$4,70.10^1$	$5,68.10^1$	$9,36.10^1$	$2,86.10^2$
	M6	<10	<10	<10	<10	$6,90.10^1$	$9,39.10^1$	$1,67.10^2$
Enterobactericeae (CFU/g)	KC	<10	$9,70.10^1$	$1,29.10^3$	$7,15.10^4$	$3,04.10^5$	$8,81.10^6$	$5,67.10^7$
	M1	<10	<10	$1,12.10^2$	$2,09.10^2$	$8,70.10^4$	$3,25.10^6$	$9,03.10^6$
	M2	<10	<10	<10	$6,23.10^1$	$2,45.10^2$	$6,41.10^3$	$1,64.10^4$
	M3	<10	<10	<10	$4,55.10^1$	$3,06.10^2$	$9,86.10^2$	$6,63.10^3$
	M4	<10	<10	$2,30.10^2$	$3,75.10^3$	$1,89.10^4$	$5,42.10^4$	$8,48.10^4$
	M5	<10	<10	$4,55.10^1$	$2,92.10^2$	$3,66.10^3$	$1,14.10^5$	$3,09.10^5$
	M6	<10	<10	<10	$2,30.10^2$	$1,43.10^3$	$1,47.10^5$	$3,01.10^5$

Chú thích: KC: Mẫu kiểm chứng; M1: Mẫu phun sương CTS lên bề mặt nguyên liệu thịt (nồng độ 0,32% w/w); M2: Mẫu phun sương TDMT lên bề mặt nguyên liệu thịt (nồng độ 0,02% w/w); M3: Mẫu phun sương hỗn hợp CTS - TDMT lên bề mặt nguyên liệu thịt (CTS nồng độ 0,08% w/w, TDMT nồng độ 0,005% w/w); M4: Mẫu phun sương CTS lên màng bao nguyên liệu thịt (nồng độ 0,32% w/w); mẫu phun sương TDMT lên màng bao nguyên liệu thịt (nồng độ 0,02% w/w); mẫu phun sương hỗn hợp CTS - TDMT lên màng bao nguyên liệu thịt (CTS nồng độ 0,08% w/w, TDMT nồng độ 0,005% w/w).

Bảng 1 cho thấy các chỉ tiêu vi sinh vật được kiểm tra có biến đổi khá khác nhau ở bảy nhóm sau 18 ngày bảo quản ở 2 ± 2°C. Các mẫu được xử lý với chất kháng khuẩn có sự kiểm soát tốt hơn về tất cả các chỉ tiêu vi sinh vật so với mẫu đối chứng. Mẫu M3 (phun hỗn hợp TDMT -CTS lên bề mặt thịt) cho kết quả tốt nhất trong việc kiểm soát các chỉ tiêu vi sinh vật của thịt trong quá trình bảo quản.

3.2.1. Ảnh hưởng của phương pháp bảo quản bằng các thành phần kháng khuẩn đến vi sinh vật hiếu khí tổng số

Sự phát triển của vi sinh vật là một trong những nguyên nhân quan trọng dẫn đến việc hư hỏng các sản phẩm thịt. Theo TCVN 7046: 2019, giới hạn chấp nhận được của vi sinh vật hiếu khí tổng số là 5×10^5 CFU/g. So với TCVN 7046: 2019, giá trị này đã vượt quá trong mẫu đối chứng KC vào ngày bảo quản thứ 9. Trong khi đó, các nghiệm thức có xử lý với chất kháng khuẩn có tổng số lượng vi sinh vật hiếu khí thấp hơn đáng kể (khoảng 10^2 - 10^3 CFU/g) so với mẫu đối chứng (ngày 15). Đặc biệt, vào ngày bảo quản thứ 15, lượng vi sinh vật hiếu khí tổng số trong nghiệm thức M3 là $1,03.10^5$, vẫn đạt theo TCVN 7046: 2019. Kết quả tương tự cũng được quan sát trong các nghiên cứu trước đây [7, 15, 16].

3.2.2. Ảnh hưởng của phương pháp bảo quản bằng các thành phần kháng khuẩn đến E. coli

E. coli là một trong những vi sinh vật gây bệnh có liên quan đến thịt tươi và các sản phẩm từ thịt. Thịt bị nhiễm vi khuẩn *E. coli* là một mối quan tâm lớn vì thịt là thực phẩm giàu dinh dưỡng và được tiêu thụ thường xuyên trong bữa ăn hàng ngày. Kết quả thí nghiệm của nghiên cứu này chỉ ra rằng lượng *E. coli* gần như không hoặc rất ít có mặt trong các mẫu thịt những ngày đầu tiên (với ngưỡng phát hiện < 10 CFU/g) nhưng lại biến đổi tăng nhanh ngay sau ngày thứ 5 với mẫu KC (5,85.10^1 CFU/g) và sau 7 - 9 ngày với các mẫu xử lý phun lên màng bao, và đặc biệt chỉ xuất hiện sau 12 ngày với 3 mẫu thịt được xử lý trực tiếp lên bề mặt thịt (M1 - M3), sau 15 ngày đạt 8,76.10^1 CFU/g ở mẫu M3. Điều này một lần nữa khẳng định hiệu quả kiểm soát của TDMT và CTS là rất tốt với nhóm vi khuẩn gây bệnh này. Kết quả nghiên cứu phù hợp với phát hiện của Gutierrez *et al.* (2009) về tác dụng ức chế của tinh dầu cỏ xạ hương đối với *E. coli* trong thực phẩm [17].

3.2.3. Ảnh hưởng của phương pháp bảo quản bằng các thành phần kháng khuẩn đến Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae là một nhóm vi khuẩn thường được xem xét như tiêu chí xác định mức độ vệ sinh thực phẩm hơn là vấn đề an toàn thực phẩm và được coi như là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng thịt. Tuy nhiên nhóm Enterobacteriaceae bao gồm cả những vi khuẩn có khả năng gây bệnh như *Salmonella* spp. và *E. coli* gây bệnh đường ruột như E. coli sản sinh độc tố (STEC). Theo Tiêu chuẩn châu Âu EC No 2073/2005 [18], lượng Enterobacteriaceae trong thịt ở ngưỡng chấp nhận tốt nếu mật độ tế bào <10^3 CFU/g. Trong nghiên cứu này, không hoặc rất ít phát hiện sự có mặt của Enterobacteriaceae tại thời điểm bắt đầu thí nghiệm T0 (theo ngưỡng phát hiện <10 CFU/g) và giá trị này vẫn duy trì đến ngày thứ 7 của quá trình bảo quản của mẫu M2, M3, M6. Vào ngày cuối cùng của quá trình bảo quản (ngày thứ 15), mật độ Enterobacteriaceae mẫu M3 là 9,86. 10^2 CFU/g, trong khi đó mẫu KC đến 9 ngày khi bắt đầu thối hỏng thì hàm lượng này đã vượt cao hơn quy định cho phép là 7,15.10^4 CFU/g.

Ouattara *et al.* (2000) báo cáo rằng Enterobacteriaceae trong các sản phẩm thịt (bologna, thịt bò hun khói tẩm gia vị (beef pastrami) và giăm bông) đã bị ức chế bằng cách sử dụng các màng kháng khuẩn có chứa CTS và axit axetic [19]. Gần đây, Vasilatos *et al.* (2013) nghiên cứu ảnh hưởng của CTS 1,5% w/v và tinh dầu hương thảo 0,25% v/w trong việc bảo quản thịt gà tây tươi đóng gói trong chân không ở 2°C. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sau 12 ngày bảo quản, lượng Enterobacteriaceae trong mẫu đối chứng là 5,8 log. Trong khi đó ở cùng thời điểm, các mẫu thịt xử lý với CTS, tinh dầu hương thảo và phức hợp CTS - tinh dầu hương thảo có lượng Enterobacteriaceae thấp hơn đáng kể (2 - 3 log) so với mẫu đối chứng [20].

Nhìn chung, việc áp dụng tinh dầu và CTS trong bảo quản thịt ở điều kiện lạnh đã làm giảm sự phát triển của vi khuẩn do đặc tính kháng khuẩn của 2 hợp chất sinh học này [3, 5]. Cơ chế kháng khuẩn của tinh dầu được dự đoán là do các thành phần hoá học có mặt trong tinh dầu tác động đến lớp phospholipid kép của màng tế bào vi khuẩn, làm hỏng hệ thống enzyme của vi khuẩn để ức chế sự phát triển của vi sinh vật [4]. Đối với CTS, các nhóm amin tích điện dương trong CTS tương tác với các đại phân tử tích điện âm trên bề mặt tế bào vi sinh vật, dẫn đến phá vỡ màng tế bào, làm rò rỉ các thành phần nội bào của vi sinh vật và cuối cùng dẫn đến chết tế bào. Ngoài ra, các oligo chitosan có thể thâm nhập vào tế bào nhân sơ và can thiệp vào quá trình phiên mã RNA và tổng hợp protein [5]. Tác dụng ức chế của màng CTS một phần có thể do pH thấp của axit axetic để hoà tan và pha loãng CTS. Thêm vào đó, đặc tính tạo màng của CTS đóng vai trò quan trọng trong việc kéo dài khả năng bảo quản thịt do lớp màng này có khả năng ngăn cản oxy [16].

3.3. Ảnh hưởng của phương pháp bảo quản bằng tinh dầu, chitosan và phức hợp tinh dầu - chitosan đến chỉ tiêu cảm quan của thịt lợn tươi

Khi khai thác ứng dụng các thành phần có bản chất tự nhiên trong lĩnh vực bảo quản và chế biến thực phẩm thì một vấn đề rất cần quan tâm đó là ảnh hưởng của các thành phần chất này đến các tính cảm quan của sản phẩm, đặc biệt các ảnh hưởng không mong muốn đến màu sắc, cấu trúc, mùi, vị.

Việc phun sương tinh dầu và hỗn hợp chứa tinh dầu vào thực phẩm ít nhiều có thể làm thay đổi tính chất cảm quan của sản phẩm và điều này có ý nghĩa quan trọng với người tiêu dùng. Kết quả cho thấy, sau 7 ngày bảo quản ở điều kiện lạnh tất cả các mẫu thịt có xử lý với chất kháng khuẩn đều chưa bị hư hỏng và có chỉ tiêu hoá lý và vi sinh nằm trong giới hạn cho phép. Với mẫu KC, hiện tượng suy giảm chất

lượng xuất hiện sau 7 ngày bảo quản và bị rỉ dịch, có nhớt trên bề mặt, màu sắc mô cơ biến đổi và có mùi thối hỏng vào ngày bảo quản thứ 9. Các mẫu thịt xử lý với CTS riêng rẽ là M1 và M4 mô cơ có màu đỏ hồng hơi nhạt, mùi chua nhẹ và bay nhanh ngay sau khi mở màng bao gói và có biểu hiện hư hỏng sau 9 ngày bảo quản. Thịt lợn ở các mẫu xử lý với tinh dầu riêng rẽ M2, M5 mô cơ có màu đỏ hồng đặc trưng, bề mặt thịt không có nhớt, độ đàn hồi tốt, thịt có mùi tự nhiên xen lẫn với mùi thơm nhẹ của TDMT (rất gần mùi sả) sau 9 ngày bảo quản. Sau khi rửa và luộc thịt thì nước luộc thịt trong, thịt có mùi thơm. Như vậy là việc xử lý với CTS hoặc TDMT ít nhiều ảnh hưởng đến màu sắc và hương vị thịt lợn.

Bảng 2. Đánh giá cảm quan các mẫu thịt lợn sau khi được xử lý bảo quản ở 2 ± 2°C theo thời gian

Các mẫu thịt		Thời gian bảo quản ở 2 ± 2°C			
		0 ngày	Sau 7 ngày bảo quản	Sau 9 ngày bảo quản	Sau 15 ngày bảo quản
Kiểm chứng (KC)		Màu mô cơ đỏ hồng đặc trưng, bề mặt khô ráo, cấu trúc, thịt mềm, đàn hồi, mùi vị tự nhiên thịt tươi	Màu mô cơ biến đổi, rỉ dịch, bề mặt thịt nhớt, mùi hư hỏng nhẹ	Màu mô cơ hơi nâu, rỉ dịch nhiều, bề mặt thịt nhớt, có mùi thối hỏng, phải hủy bỏ	Mẫu hỏng
Các mẫu thịt xử lý theo PP phun sương lên bề mặt thịt	M1- phun CTS	Thịt ngay sau khi xử lý có rất ít các biến đổi về cảm quan so với mẫu KC	Màu mô cơ đỏ hồng hơi nhạt, có mùi chua nhẹ, bề mặt hơi ướt	Màu mô cơ đỏ hồng nhạt, mùi chua nhẹ, rỉ dịch nhẹ	Mẫu hỏng
	M2 - phun TDMT		Màu mô cơ đỏ hồng đặc trưng, có mùi sả nhẹ, bề mặt khô ráo	Màu mô cơ đỏ hồng, có mùi sả nhẹ, bề mặt hơi dính, rỉ dịch nhẹ	Màu đỏ nhạt, có mùi sả nhẹ, rỉ dịch, bề mặt nhầy và dính, có mùi hôi
	M3 - phun hỗn hợp TDMT + CTS		Màu mô cơ đỏ hồng đặc trưng, bề mặt khô ráo, đàn hồi, có mùi sả rất nhẹ	Màu mô cơ đỏ hồng, bề mặt khô ráo, đàn hồi, có mùi sả rất nhẹ	Màu mô cơ đỏ hồng hơi nhạt, bề mặt khô ráo, đàn hồi, có mùi sả nhẹ
Các mẫu thịt xử lý theo PP phun lên màng/khay bao gói	M4 - phun CTS	Thịt ngay sau khi xử lý có rất ít các biến đổi về cảm quan so với mẫu KC	Màu mô cơ đỏ nhạt, rỉ dịch nhẹ, đàn hồi kém	Màu mô cơ đỏ nhạt, có mùi chua nhẹ, rỉ dịch, bề mặt thịt nhớt, đàn hồi kém	Mẫu hỏng
	M5 - phun TDMT		Màu mô cơ đỏ hồng đặc trưng, có mùi sả nhẹ, đàn hồi tốt	Màu mô cơ đỏ hồng hơi nhạt, có mùi sả nhẹ, bề mặt hơi dính, rỉ dịch nhẹ	Màu mô cơ chuyển có ánh xanh, rỉ dịch, bề mặt nhầy và dính, có mùi thối hỏng
	M6 - phun hỗn hợp TDMT + CTS		Màu mô cơ đỏ hồng đặc trưng, đàn hồi hơi kém, có mùi sả rất nhẹ	Màu mô cơ đỏ hồng, đàn hồi, có mùi sả rất nhẹ, rỉ dịch nhẹ	Màu mô cơ có ánh xanh nhẹ, bề mặt hơi dính và nhầy, rỉ dịch, có mùi hơi thối hỏng

Tuy nhiên, với mẫu xử lý với hỗn hợp (TDMT + CTS) là M3 và M6, nồng độ TDMT và CTS sử dụng giảm 4 lần so với khi sử dụng một mình nên vì vậy mà gần như không có ảnh hưởng gì đến màu sắc và mùi vị của thịt. Mô cơ có màu đỏ hồng, bề mặt thịt khô ráo không nhớt, ít rỉ dịch, độ đàn hồi còn tốt, mùi đặc trưng sau 12 ngày bảo quản với mẫu xử lý hỗn hợp lên màng bao gói M6 và 15 ngày bảo quản với mẫu xử lý hỗn hợp lên bề mặt thịt M3. Các mẫu thịt sau thời gian bảo quản được đem xử lý nhiệt (luộc và duy trì nhiệt độ nước luộc khoảng 85 - 90^{o}C), đánh giá chất lượng thịt sau luộc so với thịt tươi mới giết mổ cho thấy không có sự khác biệt, nước luộc thịt trong, cấu trúc rắn chắc, mùi vị thơm ngon đặc trưng của thịt, không có mùi ôi khét hay hư hỏng. Nghiên cứu mới chỉ dừng lại ở việc mô tả cảm quan các mẫu thịt tươi và thịt luộc. Các kết quả này cũng khá tương đồng với các nghiên cứu tương tự trên thế giới như theo Chaleshtori *et al.* (2017) cho thấy mẫu gà tây bảo quản chân không, được xử lý bằng CTS 1,5% w/v và được xử lý bằng hỗn hợp CTS 1,5% w/v và dầu hương thảo 0,25% v/w không ảnh hưởng tiêu cực đến hương vị của thịt gà tây nấu chín [1]. Quá trình oxy hóa lipid và các phản ứng phân hủy khác dẫn đến sự hình thành các hợp chất phân tử thấp, góp phần vào trạng thái cảm quan của thịt. Hydroperoxit và các sản phẩm oxy hóa thứ cấp có thể phản ứng với protein và axit amin trong quá trình chế biến và bảo quản, do đó ảnh hưởng đến hương vị, mùi và kết cấu của sản phẩm thịt.

4. KẾT LUẬN

Việc sử dụng các nguồn nguyên liệu có bản chất tự nhiên (tinh dầu màng tang, chitosan) đã và đang trở thành xu hướng mới trong giai đoạn hiện nay, phù hợp với phát triển nông nghiệp xanh, thay thế dần các chất bảo quản hoá học. Việc nghiên cứu ứng dụng phức hợp tinh dầu màng tang - chitosan có vai trò kháng khuẩn tốt sẽ giúp kéo dài và bảo đảm an toàn thực phẩm hơn nữa cho nguyên liệu thịt lợn. Mẫu thịt lợn tươi được xử lý phun lên bề mặt thịt bằng hỗn hợp (TDMT 0,005% w/w + CTS 0,08% w/w) giúp kéo dài thời gian bảo quản nguyên liệu thịt lợn đến 15 ngày ở nhiệt độ 2 ± 2^{o}C đảm bảo các chỉ tiêu chất lượng vệ sinh ATTP và cảm quan. Để hoàn thiện nghiên cứu trong tương lai, cần thành lập hội đồng cảm quan để thực hiện các nghiên cứu sâu hơn để đánh giá về sự ảnh hưởng của các chất kháng khuẩn đến màu sắc, mùi vị và trạng thái của thịt trong quá trình bảo quản. Các kết quả nghiên cứu bước đầu góp phần vào sự phát triển của ngành công nghệ chế biến thịt theo hướng bền vững, đồng thời làm gia tăng giá trị sử dụng của nguồn tài nguyên thực vật Việt Nam trong tương lai.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Bách khoa Hà Nội trong đề tài mã số T2018 - PC-203.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chaleshtori, F. S., & Chaleshtori, R. S. (2017). Antimicrobial activity of chitosan incorporated with lemon and oregano essential oils on broiler breast meat during refrigerated storage. *Nutrition & Food Science*. 47 (3), 306-317.

2. Huyen, P. T. (2014). Medicinal plant resources in Vietnam, in EBSEA 2014 (Exploring Biodiversity for Sustainable Developpment in South East Asia). Ha Noi, Vietnam.

3. Wang, H. & Liu, Y. (2010). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from different parts of *Litsea cubeba. Chem Biodivers,* 7 (1), 229 - 235.

4. Perricone, M., Arace, E., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., & Bevilacqua, A. (2015). Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in microbiology*, 6, 76.

5. Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*, 120 (1), 193 - 198.

6. Bonilla, J., Vargas, M., Atarés, L., & Chiralt, A. (2014). Effect of chitosan essential oil films on the storage-keeping quality of pork meat products. *Food and bioprocess technology*, 7 (8), 2443 - 2450.

7. Phan Thanh Tâm, Hồ Phú Hà, Trần Ánh Ngọc (2012). Nghiên cứu bảo quản nguyên liệu thịt bằng chế phẩm chitosan. Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,. 50 (3A), 163 - 168.

8. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7046: 2019 về thịt tươi - Yêu cầu kỹ thuật.

9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4884 - 2: 2015 (ISO 4833 - 2: 2013 đính chính kỹ thuật 1: 2014) về vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - phương pháp định

lượng vi sinh vật - Phần 2: Đếm khuẩn lạc ở 30^{0}C bằng kỹ thuật cấy bề mặt.

10. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 9976: 2013 về thịt và thủy sản – định lượng *Escherichia coli* bằng phương pháp sử dụng đĩa đếm Petrifilm.

11. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 5518 - 2: 2007 (ISO 21528 - 2: 2004) về vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - phương pháp phát hiện và định lượng Enterobacteriaceae - Phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc.

12. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4835: 2002 (ISO 2917: 1999) về thịt và sản phẩm thịt - đo độ pH - phương pháp chuẩn do Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành.

13. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 12429-1: 2018 về thịt mát - Phần 1: Thịt lợn.

14. Yassin - Nessrien, M. N. (2003). Effect of storage conditions on the quality parameters of differently treated fish, Doctoral dissertation, Ph. D. Thesis, Fac. Agric. Ain Shams, Univ. Cairo. Egypt.

15. Nguyen Thi Hoang Lan, Le Danh Tuyen, Bui Quang Thuat (2016). Investigation of the potential utility of perilla essential oil in preservation of fresh pork, Vietnam J. Agri. Sci., 14 (7), 1052 - 1059.

16. Hu, J., Wang, X., Xiao, Z., & Bi, W. (2015). Effect of chitosan nanoparticles loaded with cinnamon essential oil on the quality of chilled pork. LWT-Food Science and Technology, 63 (1), 519 - 526.

17. Gutierrez, J., Barry - Ryan, C., & Bourke, P. (2009). Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: efficacy, synergistic potential and interactions with food components. Food microbiology, 26 (2), 142 - 150.

18. Tiêu chuẩn EU - Qui định số 2073/2005 của Ủy ban châu Âu về chỉ tiêu vi sinh vật trong thực phẩm.

19. Ouattara, B., Simard, R. E., Piette, G., Bégin, A., & Holley, R. A. (2000). Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. International journal of food microbiology, 62 (1 - 2), 139 - 148.

20. Vasilatos, G. C., & Savvaidis, I. N. (2013). Chitosan or rosemary oil treatments, singly or combined to increase turkey meat shelf - life. International journal of food microbiology, 166 (1), 54 - 58.

PRESERVATIVE EFFECT OF *Litsea cubeba* FRUIT ESSENTIAL OIL AND CHITOSAN MIXTURE ON OF PORK MEAT UNDER REFRIGERATED STORAGE

Nguyen Hai Van[1], Luu Viet Ha[1],

Hoang Thi Kim Anh[1], Phan Thanh Tam[1*]

[1]Institute of Biology and Food Technology, School of Hanoi University of Science and Technology

[*]Email: tam.phanthanh@hust.edu.vn

Summary

This study aims to determine the effect of *Litsea cubeba* essential oil (LCEO) and chitosan (CTS) on sensory (color, texture, odor), physiochemical (pH, NH_3), microbiological (Total viable counts, *E. coli*, Enterobactericeae) properties and shelf life of fresh pork. Fresh lean meat was sprayed with CTS, LCEO, mixture CTS - LCEO on the surface and on the packaging film of meat at the concentration of 0.32; 0.02, 0.08-0.005% (w/w), respectively and stored under refrigeration (2 ± 2^{0}C). The best preservation effect was found at the treated sample CTS - LCEO on meat surface (15 days), following by sprayed LCEO on meat surface, CTS on meat surface, CTS - LCEO on packaging film, LCEO on packaging film (12 days) and the CTS on packaging film showed the worst preservation effect (9 days). The obtained results demonstrate the potential applications of natural compounds in preserving meat under refrigerated storage.

Keywords: *Litsea cubeba, essential oil, chitosan, meat preservation.*

Người phản biện: TS. Trần Đăng Ninh

Ngày nhận bài: 7/12/2020

Ngày thông qua phản biện: 8/01/2021

Ngày duyệt đăng: 15/01/2021