ỨNG DỤNG CHITOSAN KẾT HỢP VỚI NISIN, NATRI DIAXETAT, NATRI LACTAT ĐỂ BẢO QUẢN THỊT LỢN

APPLICATION OF CHITOSAN IN COMBINATION WHITH NISIN, NATRIDIACETAT, NATRILACTAT TO PRESERVATION OF PORK

[1]**Trần Thị Dịu**

[1]Khoa Thực phẩm và hóa học -Trường Đại học Sao Đỏ

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xác định hiệu quả tác dụng của các hợp chất sinh học chitosan kết hợp với nisin và các muối của axit hữu cơ (natri diaxetat, natri lactat) đến khả năng ức chế các vi sinh vật trên bề mặt thịt, kéo dài thời gian bảo quản, đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm, nâng cao giá trị gia tăng của các sản phẩm thịt lợn. Các kết quả cho thấy nồng độ thích hợp của dung dịch là chitosan 0,83%; natri diaxetat 0,1%; natri lactat 2,92%; nisin 810,91IU/ml. Áp dụng phương pháp phun sương với áp lực phun là 5,4kg/cm^2, lượng dung dịch phun là 20ml/kg và bao gói hút chân không trong túi PE thịt có thể kéo dài thời gian bảo quản thịt lợn tươi đến 15-16 ngày, trong khi đó mẫu đối chứng (thịt không qua xử lý) thời gian bảo quản chỉ khoảng 5-6 ngày.

Từ khóa: *Thịt lợn, chitosan, nisin, bảo quản, natri lactat*

ABSTRACT

This study is aimed to determine the inhibition ability of chitosan, a biological compound, combined with nisin, sodium diaxetat and sodium lactate for microorganisms on meat surface. The results of this work provided the method to prolong the shelf life and increase the value of pork meat. Therefore the food safety will be ensured. The results showed that the appropriate concentration of chitosan, sodium diacetate, sodium lactate, and nisin was 0.83%, sodium diaxetat 0.1%, sodium lactate 2.92%, and 810.91IU nisin/ml. Application of the spray method with injection pressure of 5.4kg/cm^2, volume of liquid sprayed of 20ml/1kg, and packing in vacuum plastic bags could prolong the storage life of fresh pork from 15-16 date, while the storage life of control samples (untreated meat) was only 5-6 days.

Keywords: *pork, chitosan, nisin, preservation, sodium lactate.*

1. Đặt vấn đề

Thịt lợn từ lâu được biết đến như là một loại thực phẩm giàu dinh dưỡng trong bữa ăn hằng ngày của con người; đặc biệt trong thịt lợn có chứa 15÷20% protein với đầy đủ các axit amin không thay thế; ngoài ra lượng lipit trong thịt cung cấp một lượng năng lượng lớn. Thịt cung cấp hàm lượng sắt phù hợp với nhu cầu phát triển của cơ thể; trong thịt còn chứa các chất khoáng như sắt, kẽm, selen là các chất chống oxy hóa, là nhân tố bảo vệ tim mạch, tăng khả năng làm việc của con người; thịt còn chứa nhiều vitamin đặc biệt là vitamin nhóm B, D, E, A cần thiết cho cơ thể con người. [3], [5] Trong quá trình bảo quản và chế biến thịt nguyên liệu, hiện tượng giảm khối lượng và chất lượng sản phẩm, đặc biệt là chất lượng cảm quan, chỉ tiêu vi sinh vật xảy ra khá phổ biến, ảnh hưởng đến nhà sản xuất và người tiêu dùng. Chitosan là một polysaccarit có nguồn gốc tự nhiên, an toàn với người sử dụng, những khả năng đặc biệt như hạn chế mất nước, kháng khuẩn, kháng nấm từ lâu đã được nhiều nhà khoa học trong và ngoài nước nghiên cứu ứng dụng có kết quả khả quan trong nhiều lĩnh vực đặc biệt trong bảo quản thực phẩm. Nisin có hiệu quả trong việc kiểm soát các vi khuẩn *Listeria, Enterococcus, Sporothermodurans*, và *Clostridium*. Natri lactat có khả năng ngăn ngừa tình trạng mất nước của thịt và ức chế sự phát triển của *E. coli, Clostridium botulinum*, vi khuẩn *Listeria monocytogenes.* Việc xác định nồng độ phù hợp của hỗn hợp các chất chitosan, nisin, natri diaxetat, natri lactat để kéo dài thời gian bảo quản thịt ở điều kiện Việt Nam là một đòi hỏi rất cấp bách của thực tế.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Mẫu thịt lợn nạc mông trên địa bàn Hải Dương, Hà Nội vào buổi sáng (6h sáng) khi thịt được đưa đến chợ và đang được pha thành các phần thịt nhỏ hơn, đáp ứng tiêu chuẩn TCVN 7046-2009.

Màng bao PE.

Hóa chất: Chitosan, nisin (Nisaplin) Đanisco (Đan Mạch), có hoạt lực 1050 IU/mg; axit axêtic với độ tinh khiết 99,9%, ở dạng dung dịch; natri axetat $CH_3COONa.3H_2O$ (Trung Quốc); natri lactat ở dạng lỏng của Trung Quốc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

a. Bố trí thí nghiệm xác định ảnh hưởng của dung dịch chitosan bổ sung natri diaxetat, natri lactat, nisin đến chất lượng của thịt

Thông qua các dẫn liệu khoa học [4] và các thí nghiệm thăm dò đã xác định được các miền tối ưu của các yếu tố cơ bản, đó là: Nồng độ của dung dịch chitosan: 0,2÷1,0%; nồng độ natri diaxetat: 0,1÷0,5%; nồng độ natri lactat: 1÷3%; nồng độ của nisin: 500÷1000UI/ml.

Dùng phần mềm Design Expert 7.0 để tối ưu hóa nồng độ chitosan, natri diaxetat, natri lactat, nisin. Hàm mục tiêu được lựa chọn là: pH (Y_1:), hàm lượng NH_3, (mg/100g) (Y_2), khả năng giữ nước, (cm^2) (Y_3), độ hao hụt khối lượng, (%) (Y_4); tổng số vi sinh vật hiếu khí, (log CFU/g) (Y_5); *Enterobacteriaceae*, (log CFU/g) (Y_6); *Staphylococcus aureus,* (log CFU/g) (Y_7)

Bảng 1. Điều kiện thí nghiệm được chọn

Các mức	Các yếu tố ảnh hưởng			
	Z_1, %	Z_2, %	Z_3, %	Z_4, UI/ml
Mức trên (+1)	1,0	0,5	3	500
Mức cơ sở (0)	0,6	0,3	2	750
Mức dưới (-1)	0,2	0,1	1	1000
Khoảng biến thiên	0,2	0,1	0,5	125

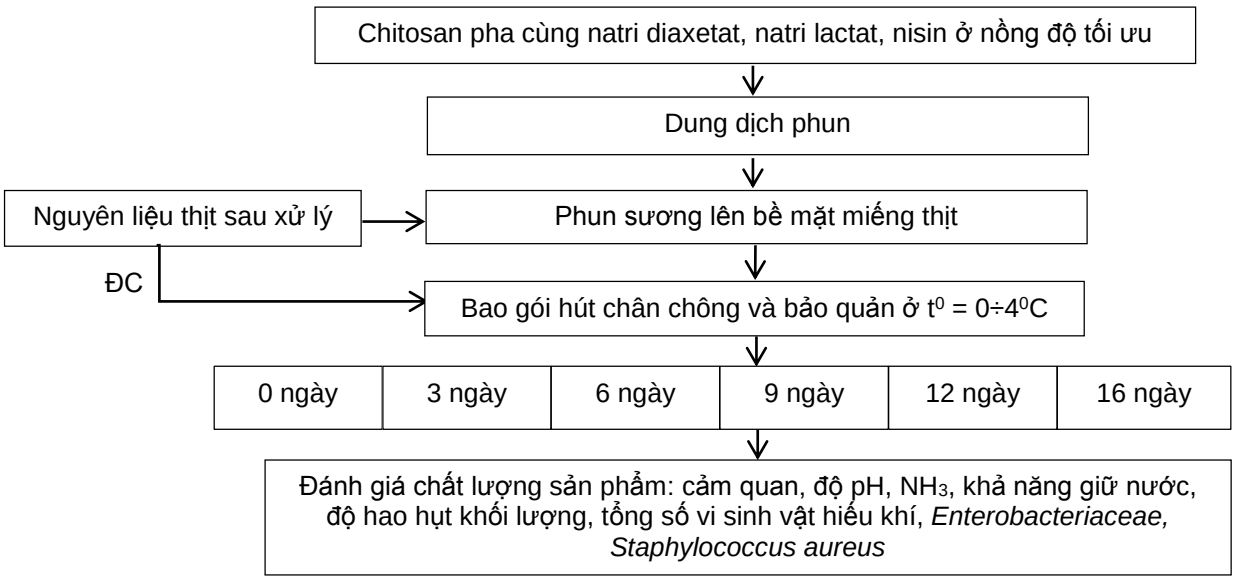
Từ hệ tọa độ Z_1, Z_2, Z_3, Z_4 chuyển sang hệ tọa đội mới không thứ nguyên X_1, X_2, X_3, X_4 theo công thức: $X_i = \frac{Z_i - Z^o{}_i}{\Delta Z_i}, \forall i = \overline{1,4}$

Bảng 2. Ma trận quy hoạch thực nghiệm [2][3]

Số TN	Chitosan %	Natri diaxetat %	Natri lactat %	Nisin UI/ml	Vi sinh vật tổng số log CFU/g	*Enterobacteriaceae* log CFU/g	*Staphylococcus aureus* log CFU/g	pH	NH_3 mg/100g	Khả năng giữ nước cm^2	Hao hụt khối lượng %
1	-1	-1	-1	-1							
2	1	-1	-1	-1							
3	-1	1	-1	-1							
4	1	1	-1	-1							
5	-1	-1	1	-1							
6	1	-1	1	-1							
7	-1	1	1	-1							
8	1	1	1	-1							
9	-1	-1	-1	1							
10	1	-1	-1	1							
11	-1	1	-1	1							
12	1	1	-1	1							
13	-1	-1	1	1							
14	1	-1	1	1							
15	-1	1	1	1							
16	1	1	1	1							
17	-1.41	0	0	0							

18	1.41	0	0	0							
19	0	-1.41	0	0							
20	0	1.41	0	0							
21	0	0	-1.41	0							
22	0	0	1.41	0							
23	0	0	0	-1.41							
24	0	0	0	1.41							
25	0	0	0	0							
26	0	0	0	0							

b. Bố trí thí nghiệm xác định thời gian bảo quản của thịt bằng dung dịch chitosan bổ sung natri diaxetat, natri lactat, nisin ở nồng độ tối ưu



2.2.2. Phương pháp phân tích

Phương pháp xác định pH (TCVN 4835:2002);

Xác định NH_3 (TCVN 4834:1989);

Phương pháp xác định khả năng giữ nước;

Độ hao hụt trọng lượng;

Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí (TCVN 5667:1992);

Xác định *Enterobacteriaceae* (theo National standard method of Health Protection Agency - UK);

Xác định *Staphylococcus aureus* (TCVN 5156: 1990).

Dung dịch hỗn hợp được chuẩn bị vô trùng và phun sương lên bề mặt nguyên liệu thịt bằng thiết bị phun sương (máy nén khí) với lượng 20ml/ 1kg thịt; bao gói thịt trong bao PE hút chân không và bảo quản ở nhiệt độ 0-4^{0}C.

2.2.3. Xử lý số liệu thực nghiệm

Sử dụng phần mềm Design Expert 7.0 để thiết kế thí nghiệm quy hoạch thực nghiệm và xử lý số liệu; xử lý thống kê toán học trên phần mềm Excel để xử lý số liệu thực nghiệm.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Xác định nồng độ chitosan, nisin, natri diaxetat, natri lactat phù hợp

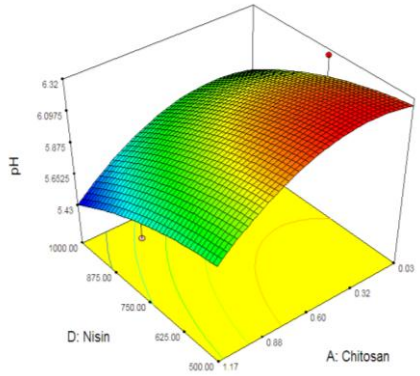
Kết quả xử lý mẫu sau 15 ngày bảo quản bằng chitosan, natri diaxetat, natri lactat, nisin được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả bố trí theo ma trận quy hoạch thực nghiệm

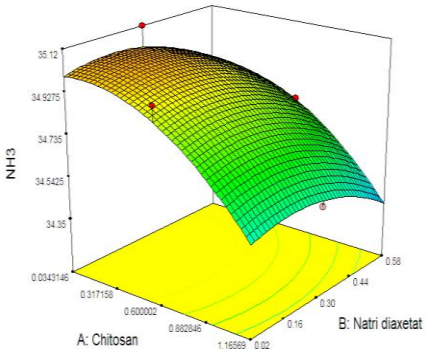
Số TN	Chitosan %	Natri diaxeta, %	Natri lactat %	Nisin UI/ml	Vi sinh vật tổng số log CFU/g	*Enterobacteriaceae* log CFU/g	*Staphylococcus aureus* log CFU/g	pH	NH_3 mg/100g	Khả năng giữ nước, cm^2	Hao hụt khối lượng, %
1	0,2	0,1	1,0	500	5,342	4,322	2,415	6,25	35,20	3,25	2.28
2	1,0	0,1	1,0	500	5,146	4,041	2,176	5,97	34,80	3,00	2,00
3	0,2	0,5	1,0	500	5,301	4,255	2,279	6,18	35,00	3,15	2,20
4	1,0	0,5	1,0	500	5,079	3,954	2,041	5,92	34,70	2,90	1,87
5	0,2	0,1	3,0	500	5.279	4,230	2,362	6,23	35,05	3,20	2,23
6	1,0	0,1	3,0	500	5,041	3,903	2,114	5,87	34,68	2,85	1,79
7	0,2	0,5	3,0	500	5,255	4,204	2,255	6,15	34,98	3,08	2,10
8	1,0	0,5	3,0	500	4,845	3,602	2,000	5,80	34,56	2,76	1,68
9	0,2	0,1	1,0	1000	4,954	3,778	1,845	5,82	34,65	2,80	1,80
10	1,0	0,1	1,0	1000	4,778	3,477	1,699	5,62	34,40	2,59	1,60
11	0,2	0,5	1,0	1000	4,903	3,699	1,778	5,76	34,60	2,70	1,72
12	1,0	0,5	1,0	1000	4,699	3,301	1,602	5,52	34,30	2,49	1,51
13	0,2	0,1	3,0	1000	4,845	3,699	1,699	5,72	34,55	2,68	1,70
14	1,0	0,1	3,0	1000	4,699	3,477	1,477	5,51	34,27	2,45	1,43
15	0,2	0,5	3,0	1000	4,778	3,602	1,602	5,67	34,49	2,65	1,67
16	1,0	0,5	3,0	1000	4,602	3,301	1,301	5,50	34,20	2,40	1,38
17	0,03	0,3	2,0	750	5,322	4,301	2,230	6,28	35,12	3,17	2,24
18	1,17	0,3	2,0	750	5,000	3,845	1,954	5,60	34,50	2,57	1,58
19	0,6	0,02	2,0	750	5,230	4,176	2,301	6,12	34,97	3,10	2,07
20	0,6	0,58	2,0	750	5,146	4,079	2,079	5,97	34,75	2,92	1,89
21	0,6	0,3	0,59	750	5,204	4,146	2,255	6,10	34,90	3,06	2,05
22	0,6	0,3	3,41	750	5,114	4,041	1,903	5,94	34,72	2,89	1,90
23	0,6	0,3	2,0	369,45	5,362	4,342	2,505	6,30	35,10	3,32	2,30
24	0,6	0,3	2,0	1103,55	4,845	3,699	1,699	5,70	34,56	2,68	1,65
25	0,6	0,3	2,0	750	5,176	4,114	2,204	6,08	34,85	3,02	2,03
26	0,6	0,3	2,0	750	5,176	4,114	2,204	6,08	34,85	3,02	2,03

Giá trị các hàm mục tiêu:

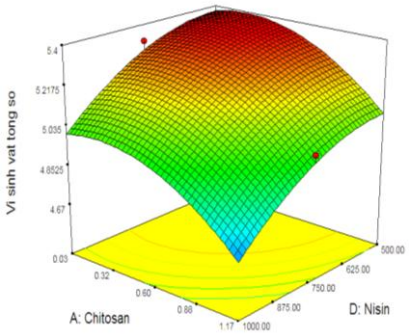
Nhập số liệu thí nghiệm ở bảng 3 vào phần mềm Design- Experts (mục Central Composite). Design- Experts hiển thị các phương trình hồi quy thực nghiệm biểu diễn ảnh hưởng đồng thời của bốn yếu tố (nồng độ chitosan, natri diaxetat, natri lactat, nisin) đến số lượng vi sinh vật tổng số, *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, pH,* NH_3, khả năng giữ nước, hao hụt khối lượng.



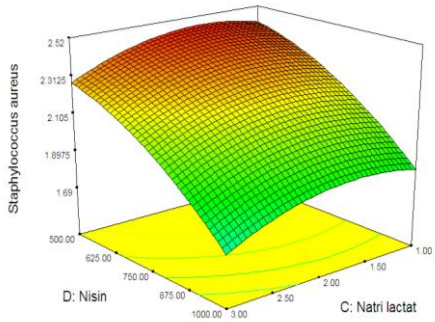
Hình 1. Giá trị pH ở nồng độ dung dịch tối ưu



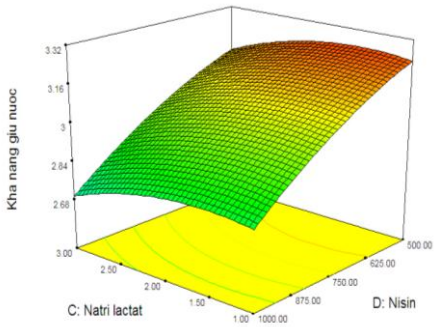
Hình 2. Giá trị NH_3 ở nồng độ dung dịch tối ưu



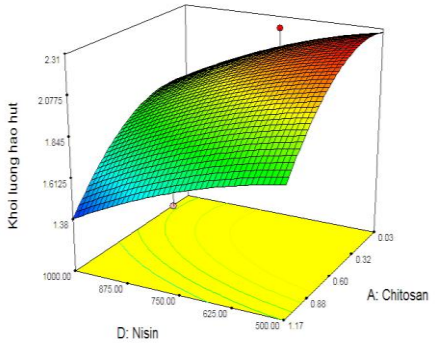
Hình 5. Vi sinh vật tổng số ở nồng độ dung dịch tối ưu



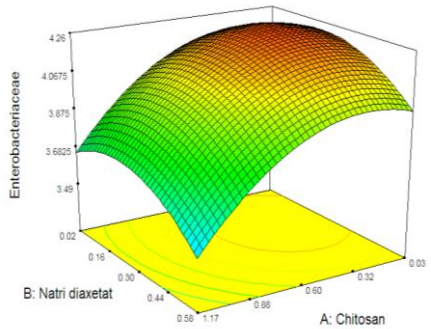
Hình 7. *Staphylococcus aureus* ở nồng độ dung dịch tối ưu



Hình 3. Khả năng giữ nước ở nồng độ dung dịch tối ưu



Hình 4. Hao hụt khối lượng ở nồng độ dung dịch tối ưu



Hình 6. *Enterobacteriaceae* ở nồng độ dung dịch tối ưu

Phương trình hồi quy của các hàm mục tiêu:

$Y_1 = +5{,}927 + 0{,}356X_1 + 0{,}507X_2 + 0{,}191X_3 + 8{,}127.\ 10^{-3} - 004X_4 - 0{,}613X_1^2 - 1{,}138X_2^2 - 0{,}058X_3^2 - 1{,}088.10^{-3} - 006X_4^2$;

$R^2 = 0{,}959$

$Y_2 = +34{,}869 + 0{,}019X_1 + 0{,}465X_2 + 0{,}24X_3 + 6{,}823.10^{-3} - 004X_4 - 0{,}463X_1^2 - 1{,}226X_2^2 - 0{,}074X_3^2 - 1{,}025.10^{-3} - 006X_4^2$;

$R^2 = 0{,}9705$

$Y_3 = +3,145 + 0,457X_1 + 0,358X_2 + 0,176X_3 + 2,042.10^{-3} - 004X_4 – 0,685X_1^2 - 0,991X_2^2 – 0,057X_3^2 – 7,141.10^{-3}-007X_4^2$; $R^2 = 0,9736$

$Y_2 = +2,109 + 0,24X_1 + 0,56X_2 + 0,162X_3 + 4,858.\ 10^{-3}- 004X_4 – 0,551X_1^2 – 1,331X_2^2 – 0,056X_3^2 – 8,918.10^{-3}-007X_4^2$; $R^2 = 0,9665$

$Y_5 = +4,795 + 0,179X_1 + 0,562X_2 + 0,208X_3 + 1,457.10^{-3} - 003X_4 – 0,396X_1^2 – 1,245X_2^2 – 0.064X_3^2 – 1,473.10^{-3}-006X_4^2$; Giá trị $R^2 = 0,9604$

$Y_7 = +1,992 + 0,44X_1 + 0,388X_2 + 0,332X_3 + 1,019.10^{-3} - 003X_4 - 0,597X_1^2 - 1,165X_2^2 - 0.102X_3^2 - 1,45.10^{-3} - 006X_4^2$; Giá trị $R^2 = 0,9744$

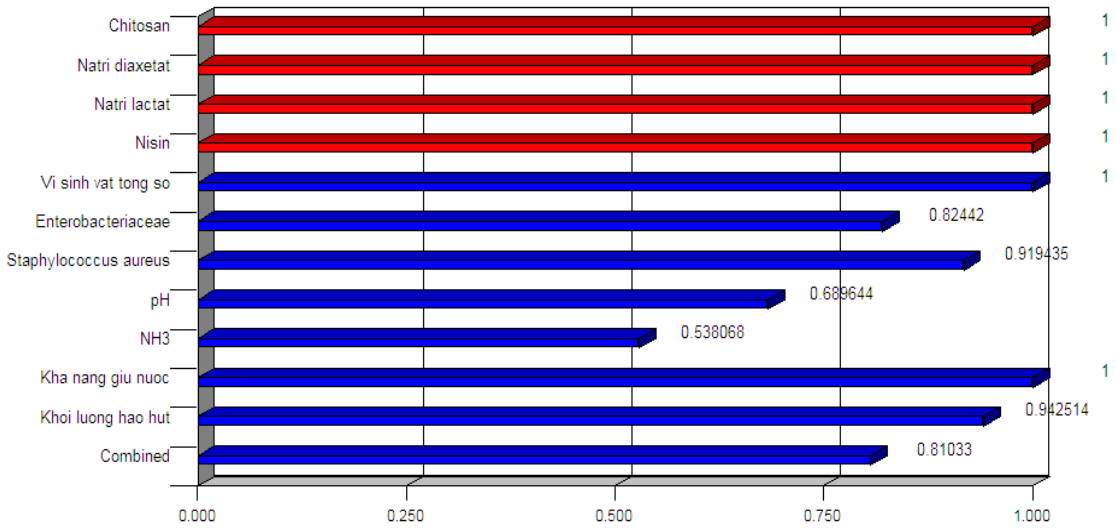
Kết quả khảo sát ảnh hưởng của chitosan, natri diaxetat, natri lactat, nisin đến hàm mục tiêu được thể hiện trên đồ thị hình 1 đến hình 7 và phương trình hồi quy của hàm mục tiêu Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5, Y_6, Y_7. Từ phương trình hồi quy cho thấy cả 4 yếu tố là chitosan, natri diaxetat, natri lactat, nisin đều có ảnh hưởng nghịch biến với giá trị pH, NH_3, hao hụt khối lượng, khả năng giữ nước, vi sinh vật tổng số, *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus*. Điều này có nghĩa là trong giới hạn nghiên cứu khi tăng nồng độ của chitosan, natri diaxetat, natri lactat, nisin đều giảm giá trị pH, NH_3, hao hụt khối lượng, khả năng giữ nước, vi sinh vật tổng số, *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus.* Ở nồng độ chitosan, natri diaxetat, natri lactat, nisin thấp thì các giá trị pH, NH_3, hao hụt khối lượng, khả năng giữ nước, vi sinh vật tổng số, *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus* của thịt tăng, khi tăng nồng độ của chitosan, natri diaxetat, natri lactat, nisin thì pH, NH_3, hao hụt khối lượng, khả năng giữ nước, vi sinh vật tổng số, *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus* của thịt giảm và giữ ổn định trong thời gian 15 ngày bảo quản.

Giá trị tối ưu thu được: Chọn mức độ quan trọng của các mục tiêu:

- Các chỉ tiêu vi sinh vật tổng số, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, pH, hàm lượng NH_3 chọn mức độ quan trọng là (5+) vì đây là các chỉ tiêu đánh giá trực tiếp mức độ an toàn và độ hư hỏng của thịt nguyên liệu.

- Các chỉ tiêu hao hụt khối lượng, khả năng giữ nước chọn mức độ quan trọng ít hơn là (3+).

Kết quả tối ưu thu được: Chitosan: 0,83%; natri diaxetat: 0,1%; natri lactat: 2,92%; nisin: 810,91UI/ml



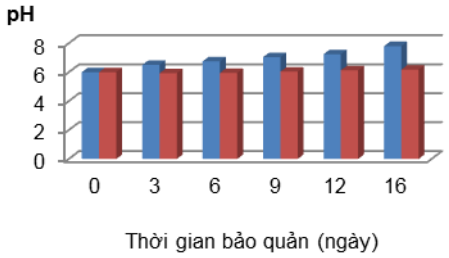
Hình 8. giá trị hàm mong đợi tại kết quả tối ưu của mẫu sau xử lý 15 ngày

3.2. Đánh giá chất lượng nguyên liệu thịt lợn sau bảo quản bằng hỗn hợp dung dịch tối ưu

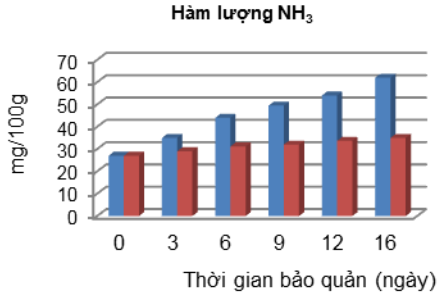
Sau khi xác định được nồng độ tối ưu của các dung dịch. Để đánh giá khả năng bảo quản của dung dịch chitosan kết hợp với natri diaxetat, natri lactat, nisin tiến hành xác thời gian bảo quản của thịt ở nồng độ tối ưu này, sau 3 ngày, 6 ngày, 9 ngày, 12 ngày và 16 ngày bảo quản, đánh giá chất lượng của thịt qua các chỉ tiêu: vi sinh vật tổng số, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, pH, NH_3, khả năng giữ nước và mức độ hao hụt khối lượng.

Hình 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15. Sự thay đổi giá trị pH, NH_3, tỷ lệ hao hụt khối lượng, diện tích vùng loang chất lỏng, hàm lượng vi sinh vật tổng số, lượng *Enterobacteriaceae*, lượng *Staphylococcus aureus* của mẫu đối chứng và

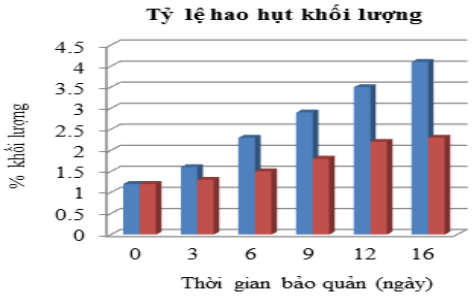
Mẫu phun dung dịch chitosan kết hợp nisin, natri diaxetat, natri lactat ở nồng độ tối ưu



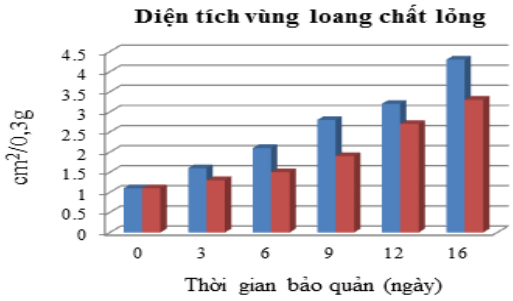
Hình 9. Giá trị pH sau thời gian bảo quản



Hình 10. Giá trị NH_3 sau thời gian bảo quản



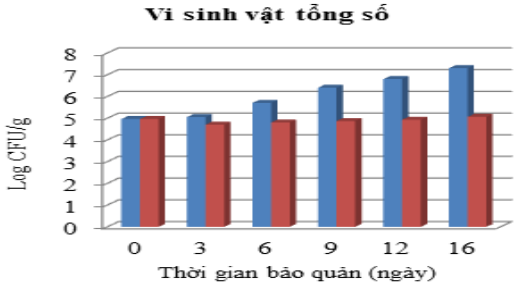
Hình 11. Tỷ lệ hao hụt khối lượng sau thời gian bảo quản



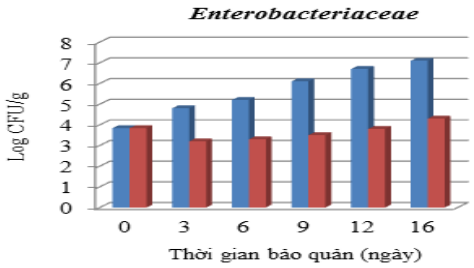
Hình 12. Diện tích vùng loang chất lỏng sau thời gian bảo quản

mẫu phun dịch ở nồng độ tối ưu sau thời gian bảo quản.

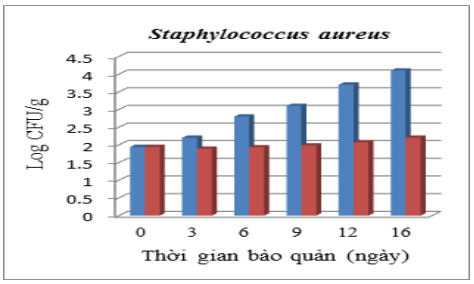
Mẫu đối chứng



Hình 13. Lượng vi sinh vật tổng số sau thời gian bảo quản



Hình 14. Lượng *Enterobacteriaceae* sau thời gian bảo quản



Hình 15. Lượng *Staphylococcus aureus* sau thời gian bảo quản

Từ hình 9 ta thấy khi kết hợp chitosan với natri diaxetat, natri lactat, nisin giá trị pH giảm ít nhiều nhưng không đáng kể do lượng dịch phun chỉ có tác dụng nhiều trên bề mặt. Trên đồ thị giá trị pH của mẫu đối chứng tăng nhanh chỉ sau 3 ngày bảo quản giá trị pH vượt quá tiêu chuẩn cho phép còn mẫu phun dung dịch chitosan, natri diaxetat, natri lactat, nisin ở nồng độ tối ưu thì pH ổn định và trong giới hạn cho phép của TCVN 7046:2009. Trong hình 10 cho thấy ở nồng độ tối ưu này đã hạn chế sự phân hủy protein, giảm lượng NH_3 xuống ngưỡng cho phép, hạn chế sự hư hỏng của thịt trong thời gian 16 ngày. Mẫu đối chứng chỉ sau 3 ngày bảo quản hàm lượng NH_3 vượt quá 35mg/100g thịt và tăng nhanh trong những

ngày tiếp theo. Trên hình 11, mẫu ĐC có tỷ lệ hao hụt khối lượng tăng nhanh trong thời gian bảo quản và có xu hướng tăng nhanh từ ngày bảo quản thứ 5 trở đi. Mẫu bảo quản bằng chitosan kết hợp với natri diaxetat, natri lactat, nisin khối lượng hao hụt tăng chậm trong thời gian bảo quản. Hình 12, khả năng giữ nước của mẫu ĐC tăng nhanh từ ngày bảo quản thứ 6, còn mẫu bảo quản bằng chitosan kết hợp với natri diaxetat, natri lactat, nisin khả năng giữ nước tốt hơn so với mẫu đối chứng.

Sự kiểm soát mạnh mẽ lượng vi sinh vật tổng số, *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus* xâm nhập và phát triển trên bề mặt thịt khi kết hợp chitosan, nisin, natri diaxetat, natri lactat được thấy rõ trên đồ thị hình 13, 14, 15. Ở mẫu đối chứng vi sinh vật tổng số, *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus* tăng nhanh trong thời gian bảo quản và vượt quá giới hạn cho phép sau 5 ngày bảo quản. Mẫu phun dung dịch chitosan kết hợp với natri diaxetat, natri lactat, nisin sau 16 ngày bảo quản vi sinh vật tổng số, *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus* vẫn nằm trong giới hạn cho phép.

4. Kết luận

Nồng độ dung dịch là chitosan 0,83%; natri diaxetat 0,1%; natri lactat 2,92%; nisin 810,91UI/ml. Áp dụng phương pháp phun sương với áp lực phun là 5,4kg/cm^2, lượng dung dịch phun là 20ml/1kg và bao gói trong túi PE hút chân không thịt có thể kéo dài thời gian bảo quản thịt lợn tươi đến 15-16 ngày, thịt bảo quản đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm đạt TCVN 7046-2009. Mẫu đối chứng (thịt không qua xử lý) thời gian bảo quản chỉ khoảng 5-6 ngày. Quy trình bảo quản thịt lợn tươi bằng hỗn hợp dung dịch chitosan, nisin, natri diaxetat, natri lactat như sau: Thịt nguyên liệu sau pha lọc → Cắt miếng khối lượng 200g → Pha hỗn hợp dung dịch phun gồm chitosan 0,83%, natri diaxetat 0,1%, natri lactat 2,92%, nisin 810,9UI/ml và phun sương lên bề mặt miếng thịt với áp lực phun: 5.4kg/cm^2, liều lượng phun: 20ml dịch/1kg → Bao gói trong túi PE hút chân không → Bảo quản ở $t^0 = 0 \div 4^0$C, thời gian bảo quản 15÷16 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Thanh Chương (2013), *Công nghệ bảo quản và chế biến thịt*, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.

2. Phan Hiếu Hiền (2001), *Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu,* Nhà xuất bản Nông nghiệp TP. Hồ Chí Minh.

3. Đỗ Thị Liền (2008), *Nghiên cứu cắt mạch chitosan bằng hydroperoxide và thử nghiệm khả năng kháng khuẩn của chúng*, Luận văn thạc sỹ kỹ thuật, trường Đại học Nha Trang.

4. Lê Thanh Long (2006), *Nghiên cứu sử dụng dung dịch chitosan và phụ liệu để kéo dài thời gian bảo quản trứng gà tươi*, Luận văn thạc sỹ kỹ thuật, ĐH Thuỷ sản Nha Trang.

5. Trần Thị Luyến, Đỗ Minh Phụng, Nguyễn Anh Tuấn, *Bài giảng sản xuất các chế phẩm kỹ thuật và y dược từ phế liệu thuỷ sản*, Nhà xuất bản Nông Nghiệp.

6. Trần Thị Luyến, *Bài giảng các phản ứng cơ bản và biến đổi của thực phẩm trong quá trình công nghệ*, Nhà xuất bản Nông Nghiệp.

7. Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm thu Thủy, Nguyễn Thanh Hằng, Lê Thị Lan Chi (2000), *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men kiểm tra VSV trong công nghiệp thực phẩm*, Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật.

8. Nguyễn Văn Mùi (2003), *Thực hành hóa sinh học*, NXB KHKT.

9. Hà Duyên Tư (2010), *Kỹ thuật phân tích cảm quan trong công nghiệp thực phẩm*, Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật.

10. Lê Ngọc Tú (2006), *Hóa sinh công nghiệp*, NXB Khoa học kỹ thuật.

11. Nguyễn Phùng Tiến, Bùi Minh Đức, Nguyễn Văn Dịp (2003), *Vi sinh vật thực phẩm -Kỹ thuật kiểm tra và chỉ tiêu đánh giá chất lượng an toàn thực phẩm,* Nhà xuất bản Y học.

12. Trần Linh Thước (2003), *Phương pháp phân tích vi sinh trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm*, Nhà xuất bản Giáo dục.

13. Chandrkrachang et al (2002), *The Application Of Chitin And Chitosan In*

Agriculture In Thailand, Advance In Chitin Science, vol.5, Bangkok, Thailand.

14. Cho el al, H. R. Cho, D.S. Chang, W.D. Lee, E.T. Jeong and E.W.Lee., (1998), *Utilization of chitosan hydrolysate as a natural food preservative for fish meat paste products,* Korean Journal of Food Science anf Technology 30, pp.817-822.

15. G.W. Gould, (1999), *New methods of food preservation*, A Chapman & Hall Food Science Book, P 22-39 & 58-89.

16. F. Devlieghere, A. Vermeulen, J. Debevere (2004), *Chitosan: Antimicrobial Activity, Interactions With Food Components,* Food Microbiology 21, 703–714.

17. Fereidoon Shahidi, Janak Kamil Vidana Arachchi and You-Jin Jeon (1999), *Food Applications Of Chitin And Chitosan,* Trends in Food Science and Technology 10, p.37-51.

18. Guibal, Eric, Van Vooren, Maurice, Dempsey, Brian A. and Roussy, Jean (2006), *A Review of the Use of Chitosan for the Removal of Particulate and Dissolved Contaminants'*, Separation Science and Technology, 41:11, 2487 - 2514.

19. H.K. No, S.P.Meyers, W. Prinnywiwatkul, and Z. Xu (2007), *Applications of Chitosan for Improvement of Quality and Shelf Life of Foods*, Vol. 72, Nr. 5- Journal of Food Science R87.

20. Hong Kyoon No, Na Young Park, Shin Ho Lee and Samuel P. Meyers (2002)*, Antibacterial activity of chitosan and chitosan oligomers with different molecular weights*, International Journal of Food Microbiology, Volume 74, Issues 1-2, pp. 65-72.

21. Hong Kyoon No, Su Hyun Kim, Shin Ho Lee, Na Young Park and Witoon Prinyawiwatkul (2006), *Stability and antibacterial activity of chitosan solutions effected by storage temperature and time,* Carbohydrate Polymers, Published by Elsevier, pp. 3-5.

22. Hiu Liu, et al, *Chitosan Kills Bacterial Through Cell Membrane Damage*, International Journal of Food Microbiology 95, pp.147-155.

23. Jane Ann Boles, Ronald Pegg, *Meat Color*, Montana State University

24. Jozef Synowiecki and Nadia Ali-Khateeb, (2003), *Production, properties and some New Application Of Chitin and Its Derivatives,* Critical Reviews In Food Science And Nutrition, 43 (2),pp. 145-171.

25. Rege and Block, P.R. Rege and L.H.Block (1999*), Chitosan processing: influence of process parameters during acidic and alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties*, Carbohydrate Research 321, pp. 235-245.

26. Subramaniam Sathivel a,*, Quan Liu b, Jiaqi Huang a, Witoon Prinyawiwatkul (2007), *The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (Oncorhynchus gorbuscha) fillets during frozen storage*.

27. Satnam Sagoo, Ron Board and Sibel Roller (2002*), Chitosan Inhibits Growth Of Spoilage Micro-Organisms In Chilled Oprk Product*, Food Microbiology 19, pp.175-182.

28. S. Bautista, A.N, Hernandez-Lauzardo (2005), *Review: Chitosan As A Potential Natural Compound To Control Pre And Postharvest Diseases Of Horticultural Commodities*, Crop Protection.

29. Tran Thi Luyen.(2007)*, Effects on total microorganisms (TM) on the surface of food preserved by chitosan and chitoolygosaccharide (COS),* Proceedings of the 11th international symposium on the efficient Application and preservation os marine biological resources, pp. 53-62.

30. USDA. (2000), *Egg-Grading Manual U.S. Standards, Grades, and Weight Classes for Shell Eggs*, AMS 56.