



NGHIÊN CỨU KẾT HỢP MÀNG BAO CHITOSAN VÀ DỊCH CHIẾT LÁ CHANH (*Citrus aurantiifolia*) ĐỂ BẢO QUẢN LẠNH CHẢ CÁ THÁC LÁC (*Chitala chitala*)

Lê Thị Minh Thủy* và Trương Thị Mộng Thu

Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Lê Thị Minh Thủy (email: ltmthuy@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 20/02/2019

Ngày nhận bài sửa: 02/05/2019

Ngày duyệt đăng: 30/08/2019

Title:

The study on the combination of chitosan film and lime leaf extraction to preserve knifefish balls during cold storage

Từ khóa:

Bảo quản lạnh, cá thác lác, hoạt tính chống oxy hoá, lá chanh, màng chitosan

Keywords:

Antioxidant activity, chitosan film, cold storage, lime leaf, knifefish

ABSTRACT

The effects of chitosan films with lime leaf extract on the quality of knifefish paste (*Chitala chitala*) at cold storage ($4\pm 1^\circ\text{C}$) were examined. The results showed that the ratio 1:1.5 of leaf and distilled water (w/v) reached the highest antioxidant activity based on the total polyphenol content (170 mgGAE/g), flavonoid compounds (63.2 $\mu\text{gQE/g}$) and the free radical DPPH inhibition ($\text{IC}_{50} = 171 \mu\text{g/mL}$). After 15 days of storage, the control samples (wrapped in chitosan film only) and the samples wrapped in 4% lime leaf extract added chitosan film maintained the sensory qualification (11.8 and 13.8, respectively) and the total microbial in permission limit (8.17×10^5 and 6.69×10^5 cfu/g, respectively). The results of peroxide value (PV) analysis indicated that PV of the treated samples by 4% lime leaf extract added chitosan film chitosan film (0.607 meq/kg) was lower than the control samples (1.29 meq/kg) after 12 days of reservation. The combination of chitosan film and natural compounds extracted from plants can extend the storage time of fish paste products.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu khảo sát ảnh hưởng của màng chitosan kết hợp với dịch chiết lá chanh (*Citrus aurantiifolia*) đến chất lượng chả cá thác lác (*Chitala chitala*) trong quá trình bảo quản lạnh ($4\pm 1^\circ\text{C}$). Kết quả đạt được cho thấy dịch chiết lá chanh được chiết tách với tỉ lệ lá chanh : nước cất (w/v) là 1:1,5 trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng cho hiệu quả chống oxy hoá tối ưu với hàm lượng polyphenol, hàm lượng flavonoid và chỉ số IC_{50} đạt lần lượt là 170 mgGAE/g, 63,2 $\mu\text{gQE/g}$ và 171 $\mu\text{g/mL}$. Sau 15 ngày bảo quản lạnh, mẫu đối chứng và mẫu bao gói bằng màng bao chitosan kết hợp 4% dịch chiết chanh vẫn giữ được giá trị cảm quan (11,8 và 13,8 điểm) và vi sinh nằm trong giới hạn cho phép ($8,2 \times 10^5$ và $6,7 \times 10^5$ cfu/g). Khả năng hạn chế sự oxy hoá lipid trong quá trình bảo quản thông qua chỉ số PV cho thấy màng có bổ sung dịch chiết lá chanh có chỉ số PV là 0,607 meq/kg thấp so với mẫu đối chứng là 1,29 meq/kg. Từ kết quả nghiên cứu có thể thấy, xu hướng kết hợp giữa màng chitosan với các hợp chất tự nhiên từ thực vật có thể kéo dài thời gian bảo quản các sản phẩm thủy sản.

Trích dẫn: Lê Thị Minh Thủy và Trương Thị Mộng Thu, 2019. Nghiên cứu kết hợp màng bao chitosan và dịch chiết lá chanh (*Citrus aurantiifolia*) để bảo quản lạnh chả cá thác lác (*Chitala chitala*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(4B): 105-112.

1 GIỚI THIỆU

Cá thác lác là loài thủy sản có sức sống mạnh mẽ, dễ nuôi. Bên cạnh đó chất lượng thịt thuộc loại ngon và có giá trị kinh tế cao, ổn định (Nguyễn Đức Phú và Ngô Thị Hương Giang, 2013). Cá thác lác có thể chế biến ra nhiều món ăn từ bình dân đến cao cấp phục vụ nhu cầu tiêu thụ nội địa và xuất khẩu. Trong đó cá thác lác tẩm gia vị và chả cá thác lác là hai món ăn nổi tiếng được chế biến từ loại cá này. Chả cá thác lác có giá trị dinh dưỡng cao, dễ sử dụng và có triển vọng trong đa dạng hoá sản phẩm xuất khẩu.

An toàn thực phẩm gắn liền với sức khỏe con người, vì vậy, các nhà khoa học đã đẩy mạnh nghiên cứu để tạo ra các sản phẩm thực sự an toàn cho con người. Và khuyến khích sử dụng các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên để thay thế các chất hóa học trong chế biến và bảo quản thực phẩm đã được triển khai. Hiện nay, chitosan đang ngày càng được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng trong bảo quản do có khả năng tạo màng, hạn chế mất nước, kháng khuẩn và kháng nấm, có khả năng chống oxy hóa (Allan *et al.*, 1979; Kim và Thomas, 2007) nên được sử dụng làm màng bao trong bảo quản thực phẩm. Một số nghiên cứu sử dụng màng chitosan bảo quản thực phẩm được thực hiện trước đây như Trần Thị Luyến và Lê Thanh Long (2007) đã chế tạo màng bọc chitosan kết hợp phụ gia để bảo quản trứng gà tươi; Lê Thị Minh Thủy (2008) đã nghiên cứu phối trộn chitosan - gelatin làm màng bao thực phẩm bảo quản phi lê cá ngừ đại dương hay Fan *et al.* (2009) cũng sử dụng chitosan làm màng bao bảo quản cá chép. Mặt khác, một xu thế nghiên cứu mới là sử dụng các hợp chất có nguồn gốc từ thực vật để bảo quản các sản phẩm thực phẩm. Nguyễn Xuân Dục và Nguyễn Anh Tuấn (2013) đã sử dụng dịch chiết của hơn 15 thực vật có chứa hàm lượng tinh dầu cao có khả năng chống oxy hoá như: ôi, trà không, tía tô, rau răm, diếp cá, sả, hoa sữa,... để ngăn chặn sự biến đen ở tôm và oxy hóa chất béo trong cơ thịt cá thu; trong nghiên cứu của Fan *et al.* (2008) thì tác giả sử dụng dịch chiết trà xanh để kéo dài thời gian bảo quản lạnh cho cá chép. Chính vì vậy, kết hợp màng chitosan và chất chống oxy hoá từ thực vật như dịch chiết lá chanh (*Citrus aurantiifolia*) để bảo quản lạnh chả cá thác lác (*Chitala chitala*) đã được thực hiện với mong muốn có được đánh giá đầy đủ hơn về tác động của màng chitosan kết hợp dịch chiết lá chanh đến chất lượng thực phẩm.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên vật liệu

Nguyên liệu cá thác lác còn sống, kích cỡ đồng đều, chất lượng tốt, không bị sây sát, cá có khối

lượng $0,8 \pm 0,1$ kg được mua từ chợ tại Cần Thơ. Cá được vận chuyển về phòng thí nghiệm Bộ môn Chế biến Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ để tiến hành thí nghiệm. Cá được phi lê để loại bỏ phần xương và lấy 2 miếng thịt cá, tiến hành nạo lấy thịt, phần thịt cá được quết thô, sau đó quết mịn (khoảng 10 phút) và định hình thành từng viên (không bổ sung bất cứ thành phần gia vị nào), khối lượng mỗi viên khoảng 20 g.

Lá chanh thuộc giống chanh ta (*Citrus aurantiifolia*) được thu từ các vườn chanh ở Rạch Chanh, Bình Thủy, Cần Thơ. Chọn những lá chanh không bị sâu, không có đốm đen và không ngã vàng.

2.2 Hoá chất

Một số hóa chất được dùng trong phòng thí nghiệm như: Folin - Ciocalteu, H_2SO_4 đậm đặc, Acid acetic, Quercetin, Chloroform, Potassium Iodine, $Na_2S_2O_3$ 0,01 N, hồ tinh bột, Ethanol, Alumi Clorua, CH_3COONa , Plate count agar và nước muối sinh lý được cung cấp bởi công ty trách nhiệm hữu hạn xuất nhập khẩu Thành Mỹ, Cần Thơ.

Chitosan thương phẩm được cung cấp từ Đại học Nha Trang. (có khối lượng phân tử 1.000.000 Da và độ deacetyl là 95%)

2.3 Phương pháp tiến hành

2.3.1 *Khảo sát ảnh hưởng của các tỉ lệ nước cất khác nhau đến hoạt tính chống oxy hoá của dịch chiết lá chanh*

Lá chanh được rửa sạch, để ráo và xay nhuyễn bằng máy xay sinh tố. Sau đó, 50 g lá chanh xay nhuyễn được hoà tan vào nước cất, với tỉ lệ lá chanh : nước cất (w/v) lần lượt là 1:1; 1:1,5 và 1:2. Ngâm hỗn hợp trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng, rồi đem đi lọc qua vải lọc rồi đem dịch lọc thu được ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút trong 30 phút. Hút lấy dịch trong, sử dụng dung dịch này để phân tích hàm lượng polyphenol tổng số, flavonoid và khả năng khử gốc tự do DPPH (IC_{50}) để chọn ra tỉ lệ nước thích hợp cho dịch chiết có khả năng chống oxy hoá tốt nhất. Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên một nhân tố (tỉ lệ nước cất) với 3 nghiệm thức và 3 lần lặp lại.

2.3.2 *Ảnh hưởng của màng bao chitosan kết hợp dịch chiết lá chanh đến sự thay đổi chất lượng của chả cá thác lác bảo quản lạnh*

Chuẩn bị màng bao chitosan gồm 2 loại: màng chitosan (không bổ sung dịch chiết) và màng chitosan phối trộn dịch chiết lá chanh. Pha 150 mL dung dịch chitosan nồng độ 1,5% với acid acetic 1%, tiến hành khuấy đều cho đến khi chitosan tan hoàn toàn. Tiếp theo, bổ sung 4% dịch chiết lá chanh vào dung dịch chitosan, khuấy đều để dịch lá chanh phân bố đều trong dung dịch (theo các thí nghiệm khảo sát thì dung dịch chitosan được thêm 4% dịch

chiết sẽ cho màng chitosan có các tính chất cơ, lý hóa phù hợp, nếu tiếp tục tăng tỉ lệ dịch chiết bổ sung thì rất khó để tạo màng chitosan (màng rất giòn và dễ rách). Sau đó, rót dung dịch vào khay nhựa có kích thước 30x25 cm, để khô ở nhiệt độ lạnh khoảng $20\pm 2^{\circ}\text{C}$. Sau khoảng 2 ngày tiến hành thu màng bao và bảo quản màng trong túi PE đến khi sử dụng. Lập lại tương tự với màng chitosan không bổ sung dịch chiết lá chanh. Màng mỏng chitosan được tiến hành xác định các chỉ tiêu cơ lý của màng như sức căng (MPa) và độ giãn của màng (%) theo tiêu chuẩn ASTM D 882-02 tại trung tâm đo lường chất lượng 3 - Quatest 3.

Hai loại màng chitosan (có và không có dịch chiết lá chanh) được sử dụng để làm màng bao gói chả cá thác lác. Thí nghiệm được bố trí như sau: mẫu chả cá thác lác được bao gói bằng màng chitosan thông thường (1), bao gói bằng màng chitosan bổ sung 4% dịch chiết lá chanh (2) và mẫu đối chứng (không sử dụng màng chitosan). Bảo quản lạnh chả cá thác lác ở nhiệt độ $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ trong 18 ngày, tần suất lấy mẫu 3 ngày/lần để phân tích các chỉ tiêu: tổng số vi sinh vật hiếu khí, đánh giá chất lượng cảm quan và chỉ số Peroxide (PV). Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên một nhân tố (thời gian bảo quản lạnh) với 7 nghiệm thức lặp lại 3 lần cho mỗi nhóm mẫu. Khối lượng mẫu cho mỗi bố trí thí nghiệm 120 g.

2.4 Phương pháp phân tích

Hàm lượng polyphenol tổng số (TPC, mg GAE/g chất khô) được xác định theo phương pháp được mô tả bởi Singleton *et al.* (1999) với một số thay đổi cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Chuẩn bị dung dịch chiết lá chanh ở 3 tỉ lệ nước khác nhau. Sau đó hút 0,5mL dung dịch vào ống nghiệm. Thêm vào 0,1mL dung dịch Folin-Ciocalteu (đã pha loãng 2 lần) và đồng nhất bằng máy Vortex, để trong 3 phút. Thêm 1,5 mL dung dịch Na_2CO_3 20% và lắc đều. Để dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó đo độ hấp thụ quang học ở bước sóng 760 nm. Gallic acid được dùng làm chất chuẩn.

Hàm lượng flavonoid tổng số (TFC, mg QE/g chất khô) được xác định theo phương pháp của Chang *et al.* (2002), bằng cách xây dựng đường chuẩn bằng quercetin với một số điều chỉnh cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Lập phương trình đường chuẩn: lấy 10 mg quercetin hoà tan trong ethanol 80%, sau đó pha loãng dung dịch quercetin ra các nồng độ 25,50 và 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hút 0,5 mL dung dịch sau khi pha loãng bổ sung 1,5 mL ethanol 95% 0,1 mL AlCl_3 , 0,1 mL CH_3COONa và

2,8 mL nước cất. Sau đó, hỗn hợp được lắc đều và để ổn định ở nhiệt độ phòng trong vòng 30 phút, rồi tiến hành so màu ở bước sóng 415 nm, mẫu trắng sử dụng mẫu nước cất. Đối với mẫu, hút 0,5 mL dịch chiết và làm tương tự như các bước ở lập phương trình đường chuẩn

Phân tích sự oxy hóa lipid thông qua chỉ tiêu Peroxide (PV) bằng phương pháp chuẩn độ Iod được mô tả bởi Cox and Pearson (1962)

Phân tích hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết lá chanh bằng phương pháp khử gốc tự do DPPH theo phương pháp của Blois (1958) với một vài điều chỉnh thích hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Hút 0,2 mL dịch chiết cho vào ống nghiệm, sau đó 2 mL dung dịch DPPH 0,2 mM lắc đều và giữ trong bóng tối 30 phút và ly tâm 6000 rpm trong 5 phút và đi so màu quang phổ với bước sóng 517 nm và tính chỉ số IC_{50} .

Các chỉ tiêu cơ lý của màng như sức căng (MPa), độ giãn của màng được kiểm tra theo tiêu chuẩn ASTM D 882-02 của Hiệp hội vật liệu và thử nghiệm Hoa Kỳ (American Society for Testing and Materials) tại trung tâm đo lường chất lượng 3 - Quatest 3.

Phân tích vi sinh vật hiếu khí bằng phương pháp đồ đĩa (AOAC, 2000). Phân tích các chỉ tiêu cảm quan như màu sắc, mùi, vị và cấu trúc bằng phương pháp cho điểm theo TCVN 3215-79 (Ủy ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước, 1979).

2.5 Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả thu thập được phân tích bằng phương pháp thống kê mô tả (trung bình, độ lệch chuẩn). Sự khác biệt của các yếu tố giữa các nghiệm thức được phân tích ANOVA và phép thử Duncan ($p < 0,05$) bằng phần mềm SPSS 16.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của các tỉ lệ nước cất khác nhau đến hoạt tính chống oxy hoá của dịch chiết lá chanh

Việc chọn lựa dung môi sử dụng phải phù hợp với một số yêu cầu như: giá thành không đắt, trích ly có chọn lọc, ít hoặc không độc và an toàn cho con người. Và tất nhiên, nước cất là một trong những dung môi đáp ứng đầy đủ các yêu cầu này

Sự thay đổi hàm lượng polyphenol và flavonoid, cũng như hoạt tính chống oxy hoá của dịch chiết lá chanh (IC_{50}) khi được trích ly trong nước cất ở các tỉ lệ nước khác nhau được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1: Ảnh hưởng của các tỉ lệ nước cất khác nhau đến hàm lượng polyphenol, hàm lượng flavonoid tổng số, hoạt tính chống oxy hóa (IC₅₀) của dịch chiết lá chanh

Tỉ lệ lá chanh: nước cất (w/v)	Polyphenol (mg GAE/g)	Flavonoid (µg QE/g)	IC ₅₀ (µg/mL)
1:1	86,9±2,15 ^a	53,8±1,35 ^a	155±1,51 ^a
1:1,5	170±6,08 ^c	63,2±1,29 ^b	171±3,8 ^{ab}
1:2	151±4,72 ^b	45,7±4,39 ^a	160±3,56 ^b

Ghi chú: những chữ cái khác nhau (a ≠ b ≠ c) trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05) nhưng những chữ cái giống nhau (a # ab và ab # b) trong cùng một cột thì không khác biệt. Số liệu được mô tả dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3).

Kết quả từ bảng 1 cho thấy khi tăng tỉ lệ nước cất từ 1:1 lên 1,5:1 thì hàm lượng polyphenol tăng mạnh từ 86,9 lên 170 mg GAE/g và tương tự hàm lượng flavonoid tổng số cũng tăng từ 53,8 đến 63,2 µg QE/g. Và khi tăng tỉ lệ lá chanh : nước cất lên 1:2 thì hàm lượng polyphenol và hàm lượng flavonoid đều giảm dần lần lượt còn 151 và 45,7 µg QE/g. Nguyên nhân là do ở tỉ lệ nước thích hợp sẽ dễ dàng thâm thấu vào nguyên liệu và hòa tan các cấu tử cần trích ly nên lượng polyphenol trong dịch chiết càng cao, nhưng ở một giới hạn nhất định thì hàm lượng polyphenol thu được sẽ tăng lên không đáng kể dù tăng lượng dung môi (Phạm Ngọc Khôi và Nguyễn Thị Mỹ Duyên, 2017). So với công bố của Nguyễn Xuân Duy và Nguyễn Anh Tuấn (2013) thì hàm lượng polyphenol của dịch chiết nha đam và lá sả lần lượt là 1769 và 919 µL/mL, còn lá tràu không và tía tô dao động từ 22-77,5 µL/mL. Nhưng so với nghiên cứu của Phạm Ngọc Khôi và Nguyễn Thị Mỹ Duyên (2017) thì khi sử dụng nước làm dung môi để tách chiết các hợp chất polyphenol từ vỏ thân cây quao nước (*Dolichandrone spathacea*) lại cho hàm lượng flavonoid khá thấp (khoảng 40 µg QE/g) so với các dung môi hữu cơ khác như ethanol 99,9% là 316 µg QE/g.

Kết quả khả năng khử gốc tự do DPPH được thể hiện thông qua chỉ số IC₅₀ là một giá trị dùng để đánh giá khả năng chống oxy hóa mạnh hoặc yếu của mẫu khảo sát (Moon và Shibamoto, 2009) được định nghĩa là nồng độ của mẫu mà tại đó nó có thể ức chế 50% gốc tự do, hoặc tế bào, hoặc enzyme, mẫu có hoạt tính càng cao thì giá trị IC₅₀ sẽ càng thấp. Ở đây, khi tăng tỉ lệ lá chanh: nước cất từ 1:1 lên đến 1:1,5 thì giá trị IC₅₀ tăng từ 155 lên 171 và giảm nhẹ còn 160 µg/mL ở tỉ lệ 1:2 (w/v), tức là khả năng khử gốc tự do của dịch chiết giảm dần khi tăng tỉ lệ nước cất. Có thể thấy mối tương quan chặt chẽ giữa hàm lượng polyphenol với khả năng khử gốc tự do DPPH (Butsat và Siriamornpun, 2016), khi tăng đến tỉ lệ nước nhất định thì khả năng khử gốc tự do cũng giảm và không tăng lên. Kết quả khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết lá chanh cao hơn kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Lợi và ctv. (2014) trên đối tượng tinh dầu lá chanh bằng

phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước với khả năng khử là 43,2%. Trong khi tinh dầu chiết xuất từ vỏ chanh bằng phương pháp ép lạnh cũng cho khả năng khử gốc tự do nhỏ hơn cụ thể là 15,2±0,011% (Lin et al., 2009). Ở thí nghiệm này chọn tỉ lệ lá chanh: nước cất (w/v) là 1:1,5 để chiết tách lấy dịch vì vừa an toàn, tiết kiệm, được sử dụng phổ biến (Yilmaz and Toledo, 2006), đồng thời cho hiệu quả chống oxy hóa của dịch chiết tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với các tỉ lệ còn lại (p < 0,05). Cụ thể là hàm lượng polyphenol, hàm lượng flavonoid và giá trị IC₅₀ đạt lần lượt là 170 mg GAE/g, 63,2 µg QE/g và IC₅₀= 171 µg/mL.

3.2 Ảnh hưởng của màng bao chitosan kết hợp dịch chiết lá chanh đến sự thay đổi chất lượng của chả cá thác lác bảo quản lạnh

3.2.1 Sự thay đổi các tính chất cơ lý của màng chitosan khi được bổ sung dịch chiết lá chanh

Kết quả ảnh hưởng của dịch chiết lá chanh đến tính chất cơ lý của màng chitosan được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2: Kết quả độ bền kéo và độ giãn dài của màng chitosan

Mẫu màng	Chỉ tiêu đo	
	Độ bền kéo (MPa)	Độ giãn dài (%)
Đối chứng	50,1	18,5
Phối trộn dịch chiết (4%)	38,7	4,5

Kết quả đo độ giãn của màng cho thấy độ giãn của màng chitosan có phối trộn dịch chiết chanh là 4,5% thấp hơn khoảng 4 lần so với mẫu màng chitosan đối chứng. Tương tự độ bền kéo của màng đối chứng là 50,1 MPa giảm còn 38,7 MPa khi phối trộn dịch chiết chanh. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Lê Thị Minh Thuý (2008) khi phối trộn gelatin vào dung dịch chitosan. Còn so với nghiên cứu của Pranoto et al. (2005) cho rằng, bổ sung một số tác nhân kháng khuẩn như dầu tỏi, potassium sorbate, nisin vào màng chitosan thì thấy các tác nhân kháng khuẩn này ở nồng độ phối trộn vào càng cao thì độ giãn của màng càng tăng. Nguyên nhân khi bổ sung dịch chiết lá chanh làm

ảnh hưởng mật độ các liên kết chéo của chuỗi polymer trong cấu trúc chitosan dẫn đến sự giảm các giá trị cơ lý (Bhuvaneshwari *et al.*, 2012). Điều này phù hợp với kết quả của Niamsa and Baimark (2009) độ bền kéo của màng chitosan giảm khi tỉ lệ lactic acid tăng.

3.2.2 Ảnh hưởng của màng bao chitosan kết hợp dịch chiết lá chanh đến sự thay đổi chất lượng của chả cá thác lác bảo quản lạnh

Những biến đổi về chất lượng của việc sử dụng

Bảng 3: Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến sự phát triển của vi sinh vật và chất lượng cảm quan của sản phẩm chả cá thác lác

Thời gian bảo quản (ngày)	Tổng số vi sinh vật hiếu khí (cfu/g)		
	Mẫu đối chứng	Mẫu màng chitosan	Mẫu màng chitosan + dịch chiết lá chanh
0	1,4x10 ^{3a}	2,0x10 ^{3a}	1,5x10 ^{3a}
3	3,8x10 ^{3c}	3,2x10 ^{3b}	1,0x10 ^{3a}
6	2,5x10 ^{4c}	1,1x10 ^{4b}	2,8x10 ^{3a}
9	3,0x10 ^{5b}	3,2x10 ^{4a}	1,9x10 ^{4a}
12	2,9x10 ^{6c}	8,0x10 ^{5b}	4,1x10 ^{4a}
15	9,8x10 ^{6b}	8,2x10 ^{5a}	6,7x10 ^{5a}
18	2,0x10 ^{7c}	9,9x10 ^{6b}	2,0x10 ^{6a}

Thời gian bảo quản (ngày)	Điểm cảm quan có trọng lượng		
	Mẫu đối chứng	Mẫu màng chitosan	Mẫu màng chitosan + dịch chiết lá chanh
0	16,4±0,445 ^a	15,9±0,403 ^a	16,3±0,636 ^a
3	16,9±0,495 ^a	16,6±0,282 ^a	17,6±0,049 ^a
6	15,0±0,276 ^a	15,1±0,395 ^a	17,7±0,282 ^b
9	12,5±0,552 ^a	13,4±0,254 ^a	15,9±0,296 ^b
12	X	12,8±0,466 ^a	15,1±0,551 ^a
15	X	11,8±0,156 ^a	13,8±0,778 ^a
18	X	X	X

Ghi chú: những chữ cái khác nhau (a ≠ b ≠ c) trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05) nhưng những chữ cái giống nhau (a # ab và ab # b) trong cùng một cột thì không khác biệt. Số liệu được mô tả dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3).

X: sản phẩm có dấu hiệu hư hỏng.

Từ kết quả nghiên cứu ở bảng 3 có thể thấy cả 3 mẫu chả cá đều có giá trị cảm quan khá tốt (> 15 điểm) ở 6 ngày đầu của quá trình bảo quản lạnh (4±1°C). Ở mẫu bao gói bằng màng chitosan phối trộn 4% dịch lá chanh duy trì được giá trị cảm quan tốt hơn có ý nghĩa thống kê (p < 0,05) khi đạt 15,9 điểm ở ngày thứ 9 so với mẫu chỉ bao gói bằng màng chitosan và mẫu đối chứng với số điểm lần lượt là 13,4 và 12,5 điểm. Chất lượng cảm quan bắt đầu giảm sau ngày bảo quản thứ 9, mẫu đối chứng có tốc độ giảm nhanh nhất và hư hỏng ở ngày thứ 12. Và cũng ở mốc 12 ngày, ở 2 mẫu chả cá có xử lý bằng màng bao chitosan mới bắt đầu có dấu hiệu của sự hư hỏng: vị nhạt dần, cấu trúc bắt đầu giảm độ dai và không còn mùi thơm tanh đặc trưng. Sau 15 ngày bảo quản thì mẫu chỉ được bao phủ bởi màng chitosan giảm chất lượng đáng kể khi chỉ còn ở mức

màng chitosan thông thường và màng chitosan có bổ sung dịch chiết lá chanh để làm màng bao bảo quản chả cá thác lác trong điều kiện lạnh (4±1°C) được thể hiện trong bảng 3 và bảng 4

Bảng 3 và bảng 4 thể hiện sự ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh (4±1°C) đến khả năng kháng khuẩn, giá trị cảm quan và sự oxy hóa chất béo của chả cá thác lác bao gói bằng màng bao chitosan bổ sung và không bổ sung dịch chiết lá chanh.

trung bình (11,8 điểm) và ở mẫu chả cá được bao bởi màng chitosan có xử lý dịch chiết lá chanh thì vẫn giữ được chất lượng khá 13,8 điểm. Tuy nhiên, ở ngày 18 cả 2 mẫu này đều xuất hiện mùi khó ngửi (thoảng mùi thối), có hiện tượng nhớt và không còn độ dai cùng với lượng vi sinh lớn hơn mức cho phép của Bộ y tế (2007) là 10⁶ (cfu/g).

Ở mẫu chả cá thác lác được bao gói bởi màng chitosan có phối trộn và không phối trộn dịch lá chanh đã duy trì điểm cảm quan tốt hơn vì sự phát triển của vi sinh vật diễn ra chậm hơn so với so với mẫu đối chứng. Có thể thấy mật độ vi sinh vật tăng dần ở các mẫu và khác biệt có ý nghĩa sau 3 ngày bảo quản lạnh đầu tiên. Mẫu có màng chitosan bổ sung 4% dịch chiết lá chanh cho khả năng kháng khuẩn hiệu quả nhất và hầu hết ở các mốc lấy mẫu đều khác biệt có ý nghĩa đối với 2 mẫu còn lại. Đến

ngày bảo quản thứ 12 mật độ vi sinh vật là $4,1 \times 10^4$ (cfu/g) ở mẫu có xử lý dịch chiết lá chanh và thấp hơn so với mẫu chỉ có màng chitosan ($8,0 \times 10^5$ cfu/g). Riêng mẫu đối chứng, có tốc độ vi sinh vật tăng nhanh và vượt quá 10^6 cfu/g ở ngày bảo quản 12. Đến ngày thứ 18 thì tổng số vi sinh vật ở mẫu có xử lý bằng màng chitosan ($9,9 \times 10^6$ cfu/g) và mẫu có màng chitosan phối trộn 4% dịch chiết chanh ($2,0 \times 10^6$ cfu/g) mới cao hơn giới hạn cho phép. Nguyên nhân là do bảo quản càng lâu tạo điều kiện cho vi sinh vật phát triển vượt quá giới hạn làm cho sản phẩm có mùi hôi và nhầy. Kết quả này cho thấy khi kết hợp dịch chiết chanh với màng bao chitosan có khả năng ức chế vi sinh vật, do khi bổ sung các hợp chất chống oxy hoá vào màng giúp tăng độ hoà tan trong nước của màng (Pires *et al.*, 2013). Mặt khác, Otoni *et al.* (2016) cho rằng chất ngấm ra là một trong những môi trường cho hoạt động gây hư hỏng của vi sinh vật. Pranoto *et al.* (2005) cũng đã

báo cáo rằng màng bao chitosan cho thấy không ức chế chống lại khuẩn *S. aureus* khi không được bổ sung các chất phụ gia khác. Tương tự, Remya *et al.* (2016) đã cho thấy việc kết hợp tinh dầu gừng giúp tăng cường tính kháng khuẩn và độ ẩm của màng chitosan mà không làm thay đổi bất lợi các tính chất vật lý và cơ học của nó và có thể cải thiện chất lượng thịt cá nhồng trong điều kiện bảo quản lạnh. Cai *et al.* (2017) đã sử dụng màng bao chitosan kết hợp 0,5% tinh dầu chanh tây và húng tây bảo quản cá trắm cỏ ở nhiệt độ 2°C giúp duy trì màu sắc, cấu trúc và giảm lượng vi sinh vật từ 4,53 xuống 3,29 log cfu/g, kéo dài thời gian bảo quản đến 16 ngày. Cả 2 mẫu chả cá bao gói bằng màng chitosan có và không có bổ sung dịch chiết chanh sau 15 ngày vẫn đảm bảo an toàn về mặt vi sinh vật và giữ được các đặc tính cảm quan, còn mẫu đối chứng chỉ có thể duy trì chất lượng và có mật số vi sinh vật nằm trong giới hạn cho phép trong 9 ngày bảo quản lạnh.

Bảng 4: Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến chỉ số peroxyde (PV) của chả cá thác lác

Thời gian bảo quản (ngày)	Chỉ số peroxyde (PV)		
	Mẫu đối chứng	Mẫu màng chitosan	Mẫu màng chitosan + dịch chiết lá chanh
0	0,336±0,020 ^a	0,550±0,051 ^b	0,330±0,150 ^a
3	0,871±0,077 ^b	0,730±0,148 ^b	0,332±0,216 ^a
6	1,97±0,094 ^c	1,11±0,432 ^b	0,622±0,074 ^a
9	3,08±0,448 ^b	2,48±0,860 ^b	1,15±0,515 ^a
12	3,56±0,394 ^c	1,29±0,349 ^b	0,607±0,043 ^a
15	2,44±0,247 ^b	0,760±0,094 ^a	0,587±0,114 ^a
18	1,61±0,021 ^b	0,585±0,474 ^a	0,126±0,062 ^a

Ghi chú: những chữ cái khác nhau ($a \neq b \neq c$) trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) nhưng những chữ cái giống nhau ($a \# ab$ và $ab \# b$) trong cùng một cột thì không khác biệt. Số liệu được mô tả dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn ($n=3$).

Trong quá trình bảo quản, lipid trong thịt cá bị oxy hoá hình thành các hydroperoxyde như là các sản phẩm oxy hoá sơ cấp, giá trị PV dùng để xác định sự hình thành các sản phẩm này (Gopakumar, 2002). Từ kết quả bảng 4 có thể thấy chả cá thác lác được bao gói bằng màng bao chitosan có phối trộn 4% dịch chiết lá chanh có tác dụng hạn chế sự oxy hóa lipid tốt nhất, kể đến là mẫu chỉ được bao bằng màng chitosan và cuối cùng là mẫu đối chứng có tốc độ oxy hóa lipid nhanh nhất. Các mẫu có xu hướng tăng dần chỉ số PV đến ngày bảo quản thứ 9 (các mẫu có xử lý màng bao chitosan) và tăng đến ngày thứ 12 ở mẫu đối chứng (3,56 meq/kg), sau đó giảm dần đến cuối thời gian bảo quản. Ở mẫu đối chứng tăng nhanh từ 0,336 lên 3,56 (meq/kg) ở ngày thứ 12, đối với mẫu được bao phủ bởi màng chitosan có bổ sung và không có bổ sung dịch chiết thì giá trị PV có tốc độ tăng chậm hơn từ 0,330 đến 1,15 meq/kg (mẫu có màng chitosan kết hợp dịch chiết) và từ 0,550 tăng lên 2,48 meq/kg (mẫu chỉ có màng chitosan). Sau đó, chỉ số PV giảm dần ở tất cả các mẫu, mẫu có xử lý với màng chitosan có và không

có phối trộn dịch chiết lá chanh cũng có giá trị PV thấp hơn mẫu đối chứng ở ngày cuối bảo quản với các giá trị PV lần lượt là 0,126; 0,585 và 1,61 (meq/kg). Giá trị PV tăng nhanh trong giai đoạn đầu là do sự oxy hoá diễn ra mạnh mẽ, rồi giảm dần là do hàm lượng hydroperoxyde hình thành trong giai đoạn đầu của quá trình oxy hóa lipid bắt đầu phân huỷ tạo thành các sản phẩm oxy hoá thứ cấp và làm cho chỉ số PV giảm xuống (Boselli *et al.*, 2005). Theo Rodriguez-Turienzo *et al.* (2011) quá trình oxy hoá lipid và thất thoát hơi nước trong quá trình cá đông lạnh có thể giảm thiểu bằng cách phủ một lớp màng bao thực phẩm, vì chúng hoạt động như một rào cản chống lại sự thất thoát ẩm độ và quá trình oxy hoá do hạn chế tiếp xúc với môi trường bên ngoài, giúp đảm bảo chất lượng sản phẩm. Tương tự như vậy, Lê Thị Minh Thủy và *ctv.* (2017) đã sử dụng gelatin nồng độ 1,5% có bổ sung gallic acid 2% hoặc tannic acid 2% bảo quản cá tra phi lê đông lạnh thì thấy chỉ số PV (1,25 và 1,20 meq/kg) thấp hơn so với mẫu đối chứng (2,64 meq/kg) sau 6 tháng bảo quản đông. Alparslan *et al.* (2014) nghiên

cứ sử dụng màng gelatin kết hợp với tinh dầu nguyệt quế bảo quản cá hồi phi lê cũng cho thấy hiệu quả tương tự khi chỉ số PV thấp hơn so với mẫu gelatin không phối trộn (4,40 mmol/kg và 2,47 mmol/kg). Tuy nhiên, các nghiên cứu về hoạt tính và ứng dụng của dịch chiết từ lá chanh còn nhiều hạn chế và chưa có công bố nào về khả năng hạn chế sự oxy hóa chất béo trên thịt cá thác lác. Kết quả nghiên cứu này cho thấy, sau 15 ngày bảo quản mẫu cá thác lác bao gói bằng màng chitosan phối trộn 4% dịch chiết lá chanh vẫn giữ được giá trị cảm quan khá và hàm lượng vi sinh vật trong ngưỡng cho phép và hạn chế tốc độ phản ứng oxy hoá chất béo cho sản phẩm.

4 KẾT LUẬN

Dịch chiết lá chanh được chiết tách với tỉ lệ lá chanh : nước cất là 1:1,5 đạt chất lượng tốt, cho hiệu quả chống oxy hoá tối ưu với hàm lượng polyphenol, hàm lượng flavonoid và chỉ số IC₅₀ là tốt nhất. Mẫu được bao phủ bởi màng chitosan được bổ sung 4% dịch chiết lá chanh đã cho thấy hiệu quả chống oxy hoá lipid là tốt nhất so với màng bao chitosan thông thường và mẫu đối chứng trên đối tượng cá thác lác bảo quản lạnh (4±1°C). Màng chitosan đã thực hiện tốt hoạt tính kháng khuẩn vượt trội trong nghiên cứu này. Mẫu được bao gói bằng màng bao chitosan đã hạn chế được tốc độ oxy hoá lipid, duy trì giá trị cảm quan và mật độ vi sinh vẫn nằm trong mức cho phép sau 15 ngày bảo quản lạnh, trong khi đó mẫu đối chứng có dấu hiệu hư hỏng và có mật số vi sinh vật vượt quá mức cho phép sau 12 ngày bảo quản lạnh (4±1°C).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Allan, C. R. and Hadwiger, L. A., 1979. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology*. 3(3): 285-287.

Alparslan, Y., Baygar, T., Baygar, T., Hasanhocaoglu, H. and Metin, C., 2014. Effects of gelatin-based edible films enriched with laurel essential oil on the quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage. *Food Technology and Biotechnology*. 52(3): 325-333.

AOAC, 2000. Official methods of Analysis. In: Horwitz, W (Ed). Association of official analytical chemists international, Senventh Edition. Washington DC. USD.

Bhuvaneshwari, S., Sruthi, D., Sivasubramanian., V., Kalyani, N. and Sugunabai, J., 2012. Development and characterization of chitosan film. *International Journal of Engineering Research and Applications*. 1(2): 292-299.

Blois, M. S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617): 1199-1200.

Bộ y tế, 2007. Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT, ngày 19/12/2007 về việc ban hành “Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hoá học trong thực phẩm”, ngày truy cập 15/11/2018. Địa chỉ: <http://www.fsi.org.vn/pic/files/462007qdybt.pdf>.

Boselli, E., Caboni, M. F., Rodriguez-Estrada, M. T., Toschi, T. G., Daniel, M. and Lercker, G., 2005. Photooxidation of cholesterol and lipids of turkey meat during storage under commercial retail conditions. *Food Chemistry*. 91(4): 705-713.

Butsat, S. and Siriamornpun, S., 2016. Effect of solvent types and extraction times on phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity in leaf extracts of *Amomum chinense* C. *International Food Research Journal*. 23(1): 180-187.

Cai, L., Leng, L., Cao, A., Cheng, X. and Li, J., 2017. The effect of chitosan-essential oils complex coating on physicochemical, microbiological, and quality change of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillets. *Journal of Food Safety*. 38(1): 1-9.

Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chem, J., 2002. Estimation of flavonoid total content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3): 178-182.

Cox, H. E. and Pearson, D., 1962. The chemical analysis of foods. Chemical Publishing CO., INC. New York, 479 pages.

Fan, W., Chi, Y., Zhang, S., 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chemistry*. 108(1): 148-153.

Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y., 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*. 115(1): 66-70.

Gopakumar, K. 2002. Textbook of Fish Processing Technology. Indian Council of Agricultural Research. New Delhi. 491 pages.

Kim, K. W. and Thomas, R. L., 2007. Antioxidative activity of chitosan with varying molecular weights. *Food Chemistry*. 101(1): 308-313.

Lê Thị Minh Thủy, 2008. Nghiên cứu phối trộn chitosan-gelatin làm màng bao thực phẩm bao gói bảo quản phi lê cá ngừ đại dương. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2008(1): 147-153.

Lê Thị Minh Thủy, Nguyễn Thị Kim Ngân, Đinh Lê Thị Thủy Dân và Nhâm Đức Trí, 2017. Bảo quản fillet cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) đông lạnh bằng hợp chất gelatin kết hợp với gallic hoặc tannic acid. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 51b: 72-79.

- Lin, C. W., Yu, C. W., Wu, S. C. and Yih, K. H., 2009. DPPH free-radical scavenging activity, total phenolic contents and chemical composition analysis of forty-two kinds of essential oils. *Journal of Food and Drug Analysis*. 17(5): 386-395.
- Moon, J. K. and Shibamoto, T., 2009. Antioxidant assays for plant and food components: Reviews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(5): 1655-1666.
- Nguyễn Đức Phú và Ngô Thị Hương Giang, 2013. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của cá thối lác (*Notopterus notopterus*) tại đầm Nậy, xã Phú Thạnh, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế. Hội nghị Khoa học trẻ ngành Thủy sản toàn quốc lần IV, ngày 6-7/06/2013, trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh: 583-592.
- Nguyễn Văn Lợi, Nguyễn Thị Minh Tú và Hoàng Đình Hòa, 2014. Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của tinh dầu lá bưởi, cam và chanh. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. 52(5a): 1-6.
- Nguyễn Xuân Duy và Nguyễn Anh Tuấn, 2013. Sàng lọc thực vật có hoạt tính chống oxy hoá và áp dụng trong chế biến thủy sản. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 28: 59-68.
- Niamsa, N. and Baimark, Y., 2009. Preparation and characterization of highly flexible chitosan films for use as food packaging. *American Journal of Food Technology*: 4(4): 162-169.
- Otoni, C. G., Espitia, P. J. P., Avena-Bustillos, R. J. and McHugh, T. H., 2016. Trends in antimicrobial food packaging systems: Emitting sachets and absorbent pads. *Food Research International*. 83: 60-73.
- Phạm Ngọc Khôi và Nguyễn Thị Mỹ Duyên, 2017. Khảo sát điều kiện tách chiết và hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn của hợp chất polyphenol từ vỏ thân cây quao nước. *Tạp chí khoa học trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh*. 14(12): 181-193.
- Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M. L. and Marques, A., 2013. Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*. 30(1): 224-231.
- Pranoto, Y., Rakshit, S. K. and Salokhe, V. M., 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT-Food Science and Technology*. 38(8): 859-865.
- Remya, S., Mohan, C. O., Bindu, J., Sivaraman, G. K., Venkateshwarlu, G. and Ravishankar, C. N., 2016. Effect of chitosan based active packaging film on the keeping quality of chilled stored barracuda fish. *Journal of Food Science and Technology*. 53(1): 685-693.
- Rodriguez-Turienzo, L., Cobos, A., Moreno, V., Caride, A., Vieites, J. M. and Diaz, O., 2011. Whey protein-based coatings on frozen Atlantic salmon (*Salmo salar*): influence of the plasticiser and the moment of coating on quality preservation. *Food Chemistry*. 128(1): 187-194.
- Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M., 1999. Analysis of total phenol and other oxydation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Method Enzymology*. 299: 152-178.
- Trần Thị Luyến và Lê Thanh Long, 2007. Nghiên cứu bảo quản trứng gà tươi bằng màng bọc chitosan kết hợp phụ gia. *Tạp chí Khoa học- Công nghệ Thủy sản Đại học Nha Trang*. 1: 3-11.
- Ủy ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước, 1979. Quyết định số: 722/QĐ, ngày 31/12/1979 về việc “Quy định phương pháp kiểm tra chất lượng sản phẩm thực phẩm bằng cảm quan cho điểm”, ngày truy cập 15/11/2018. Địa chỉ: <https://vanbanphapluat.co/tevn-3215-1979-san-pham-thuc-pham-phan-tich-cam-quan-phuong-phap-cho-diem>.
- Yilmaz, Y. and Toledo, R. T., 2006. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19(1): 41-48.