Ứng dụng Vi sinh vật trong bảo quản thực phẩm

Hồ Phú Hà
Bộ môn CN các SP Lên men
2008-2009

Ứng dụng VSV trong bảo quản thực phẩm

- Chương I: Giới thiệu chung
- Chương II: Một số vi sinh vật ứng dụng trong kiểm soát sinh học và bảo quản thực phẩm
- Chương III: Vi khuẩn lactic với bảo quản thực phẩm
- Chương IV: Một số khó khăn và giải pháp công nghệ trong việc ứng dụng chế phẩm vsv

Tài liệu tham khảo

- Nguyễn Thị Hiền (chủ biên). Vi sinh vật nhiễm tạp trong lương thực – thực phẩm. Nhà xuất bản Hà nội, 2003.
- Lương Đức Phẩm. Vi sinh vật học và an toàn vệ sinh thực phẩm. Nhà xuất bản nông nghiệp, 2000.
- Steele (Ed.). Understanding and measuring the shelf-life of foods. CRC Press, 2004
- Salminen and Wright (Eds). Lactic acid bacteria : microbiology and functional aspects. Marcel Dekker New York, 2004
- Zeuthen and Bøgh-Sørensen (Eds). Food preserving techniques. CRC press, 2003

Một số văn bản pháp quy

- 46/2007/QĐ-BYT “Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm”
- 3742/2001/QĐ-BYT “Quy định danh mục các chất phụ gia được phép sử dụng trong thực phẩm”

Một số gợi ý cho đề tài tiểu luận

1. Ứng dụng chất kháng vi sinh vật có nguồn gốc tự nhiên trong bảo quản thực phẩm
2. Kiểm soát sinh học các sản phẩm sau thu hoạch (rau, hoa quả, ngũ cốc,…)
3. Ứng dụng nấm men trong kiểm soát sinh học
4. Bảo quản thực phẩm bằng màng sinh học (biofilm) chứa chất kháng khuẩn
5. Các chế phẩm ứng dụng trong kiểm soát sinh học
6. Ứng dụng vi khuẩn lactic trong bảo quản thực phẩm bằng phương pháp lên men
7. Ứng dụng vi khuẩn lactic trong bảo quản thực phẩm bằng phương pháp không lên men
8. Bacteriocin ứng dụng trong sản xuất thực phẩm
9. Axit hữu cơ trong bảo quản thực phẩm
10. Ứng dụng bacteriophage kiểm soát các vi sinh vật gây bệnh

Hiện tượng hư hỏng thực phẩm

- Thực phẩm bị coi là hư hỏng nếu như không được người tiêu dùng chấp nhận.
  - Vi phạm an toàn vệ sinh thực phẩm
  - Thay đổi đặc điểm cảm quan
  - Giảm giá trị dinh dưỡng
- Hạn sử dụng của thực phẩm (product shelf-life)
  - Hết hạn sử dụng (EXP DATE)…
  - Sử dụng tốt nhất trước ngày (BEST BEFORE)
  - Bán trước ngày…

Bảng 1. Một số nguyên nhân và cơ chế hư hỏng thực phẩm khi tàng trữ (Kilcast and Subramaniam, 2000; Labuza and Szybist, 2001)

Thực phẩm	Dạng hư hỏng	Thông số thay đổi gây hỏng
Sữa	Oxy hóa, ôi, vi khuẩn sinh trưởng	Oxy, nhiệt độ
Sữa bột	Oxy hóa, màu nâu, vón cục	Oxy, độ ẩm, nhiệt độ
Sản phẩm từ sữa	Oxy hóa, mùi ôi, kết tinh lactoza	Oxy, nhiệt độ
Kem	Tạo tinh thể đá hoặc tinh thể lactoza, oxy hóa	Nhiệt độ (làm lạnh đông, tan giá), oxy
Thịt bò tươi	Vi khuẩn sinh trưởng, oxy hóa, mất ẩm (khô)	Nhiệt độ, oxy, ánh sang, độ ẩm
Thịt gia cầm tươi	vi khuẩm sinh trưởng	Nhiệt độ, oxy
Cá tươi, hải sản	Vi khuẩn sinh trưởng, oxy hóa	Nhiệt độ, oxy
Hoa quả	Bị mềm do enzyme, vi khuẩn sinh trưởng, thâm, mất nước	Nhiệt độ, ánh sáng, oxy, vận chuyển, độ ẩm
Rau có lá	Enzym hoạt động, mất nước, héo, vi khuẩn sinh trưởng	Nhiệt độ, ánh sang, oxy, độ ẩm
Rau xoăn	Bị mềm do enzyme, vi sinh vật sinh trưởng, thâm, mất nước	Nhiệt độ, ánh sáng, oxy, vận chuyển, độ ẩm
Bánh mỳ	Di chuyển ẩm (cũ), tinh bột sượng, vi sinh vật (mốc) sinh trưởng	Độ ẩm, nhiệt độ, oxy
Ngũ cốc	Di chuyển ẩm (ỉu), lại bột (tinh bột bi sượng), oxy hóa, gãy vỡ	Độ ẩm, nhiệt độ, oxi hóa, vận chuyển
Sản phẩm bánh nướng mềm (bánh ngọt)	Di chuyển ẩm (cũ), vi sinh vật (mốc) sinh trưởng, lại bột (sượng)	Độ ẩm, nhiệt độ, oxy
Bánh nướng giòn, chiên (snack,..)	Di chuyển ẩm (ỉu), oxy hóa, gãy	Độ ẩm, nhiệt độ, oxy, vận chuyển, ánh sáng
Sô cô la	Đường kết tinh, chất béo kết tinh, oxy hóa	Độ ẩm, nhiệt độ, oxy hóa
Kẹo	Di chuyển ẩm (dính), kết tinh đường	Nhiệt độ, độ ẩm
Bia	Oxy hóa, vi sinh vật sinh trưởng	Oxy, ánh sang, nhiệt độ
Cà phê, chè	Oxy hóa, mất hương	Oxy, ánh sang, ẩm
Thịt đông lạnh	Oxy, khô do lạnh đông	Oxy, nhiệt độ, độ ẩm
Các thực phẩm đông lạnh khác	Oxy hóa, tạo tinh thể đá, biến đổi cấu trúc	Oxy, nhiệt độ

Biến đổi vật lý

- Nguyên nhân
  - Do quá trình vận chuyển
  - Do biến đổi ẩm
  - Do biến đổi nhiệt độ
- Biến đổi
  - Gãy, dập
  - Mất nước, hút ẩm, chuyển ẩm từ chỗ này sang chỗ khác của thực phẩm
  - Hiện tượng kết tinh, đông đá
  - Hiện tượng tách nước của các hệ keo

Biến đổi hóa học

- Nguyên nhân
  - Hoạt độ nước
  - Nhiệt độ
  - Oxy
  - Ánh sáng
- Protein bị biến đổi (phản ứng enzym, phản ứng Maillard)
- Biến đổi gluxit (lão hóa tinh bột, hoặc bị vón cục, caramel hóa, thủy phân đường)
- Biến đổi lipid (oxy hóa, phân hủy gây biến đổi màu, mùi)

Ảnh hưởng của họat độ nước đến một số biến đổi trong quá trình tàng trữ

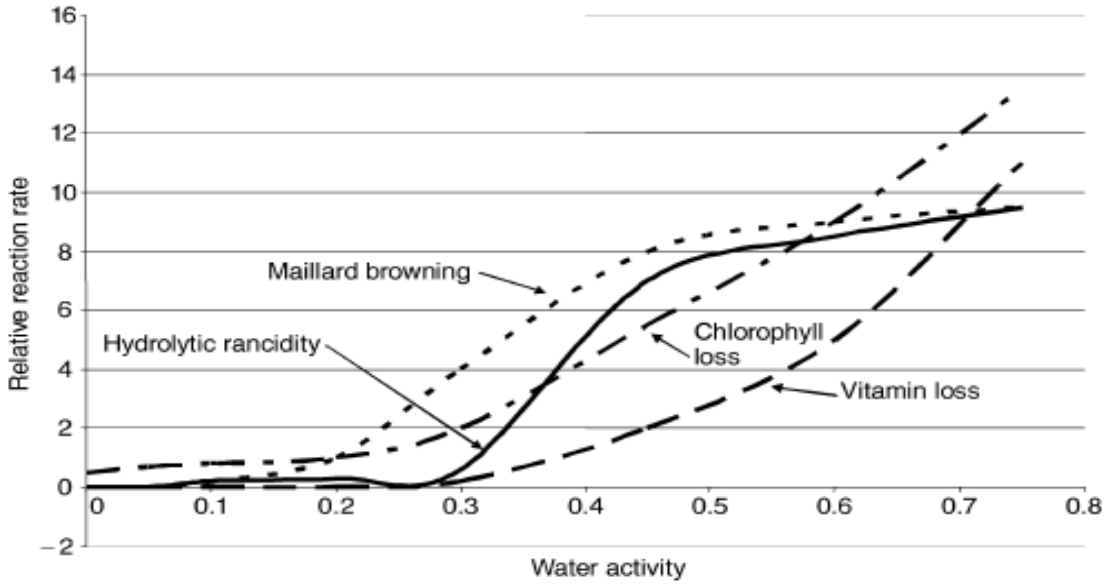


Fig. 2.3 Effect of A_w on various changes during storage.

Biến đổi vi sinh

- Do thay đổi nhiệt độ, pH, hoạt độ nước
- Các loại vi sinh vật phát triển trong thực phẩm gây hỏng thực phẩm hoặc gây bệnh cho người tiêu dùng
  - Vi khuẩn
  - Nấm men
  - Nấm mốc

Bảng 2. Một số ví dụ về ảnh hưởng của hoạt độ nước đến sự sinh trưởng của vi sinh vật trong thực phẩm

A_w (Hoạt độ nước)	**Một số thực phẩm tiêu biểu**	**Vi sinh vật có khả năng phát triển ở giá trị Aw này**
0.95±1.00	Thực phẩm tươi sống, thịt, bánh mỳ, dung dịch khoảng 40% saccarosa, 8% muối ăn	*Pseudomonas, Escherichia, Proteus, Bacillus, Clostridium, Shigella, Klebsiella*
0.91±0.95	Pho mat, thịt chế biến (giăm bông), dung dịch 55% saccarosa	*Salmonella, Vibrio, Serratia, Lactobacillus*, nấm men ± *Rhodotorula*
0.87±0.91	Xúc xích lên men khô, pho mát khô, bơ thực vật, dung dịch 65% đường saccarosa, 15% muối	Phần lớn các nấm men ± *Candida*, *Torulopsis, Hansenula, Micrococcus*
0.80±0.87	Nước quả cô đặc, siro socola, bột, bánh hoa quả, kẹo mềm, bánh gatô nhiều đường	*Saccharomyces, mycotoxigenic penicillia, Staphylococcus aureus*
0.75±0.80	Mứt quả, kẹo dẻo, mứt cam, thịt khô	Vi khuẩn ưa mặn, Nấm mốc sinh độc tố *Aspergillus* sp.
0.65±0.75	Nho khô, hoa quả khô, mật rỉ, các loại hạt quả hạch, mận khô	Nấm mốc chịu độ khô (*Aspergillus candidus, A. chevalieri*)
0.60±0.65	Quả khô (độ ẩm <20%), kẹo cứng, kẹo caramen, mật ong	Nấm men chịu được áp suất thẩm thấu, nấm mốc *Aspergillus echinulatus*, *Monascus bisporus*
0.50±0.60	Mỳ ống (độ ẩm <12%), gia vị	Vi sinh vật không sinh trưởng
0.40±0.50	Bột trứng (độ ẩm 5%)	Vi sinh vật không sinh trưởng
0.30±0.40	Bánh quy, vụn bánh mỳ khô, bánh snack giòn (bim bim) độ ẩm 5%	Vi sinh vật không sinh trưởng
0.20±0.30	Sữa bột nguyên kem, rau khô, ngũ cốc ăn sang, bánh quy cứng	Vi sinh vật không sinh trưởng

Vi sinh vật trong thịt và các sản phẩm từ thịt

- Nguyên nhân nhiễm:
  - Nhiễm bẩn khi giết mổ, vận chuyển bảo quản
  - Nhiễm vsv bên trong, từ các cơ quan nội tạng, gia súc gia cầm có bệnh
  - Nhiễm vsv bên ngoài, từ dụng cụ giết mổ, da lông, nơi giết mổ
- Các vi sinh vật: vi khuẩn gây thối rữa, bào tử nấm mốc, tế bào nấm men

Vi sinh vật trong thịt và các sản phẩm từ thịt

- Vi sinh vật thường nhiễm từ bề mặt, số lượng vsv tăng nhanh nhất là khi nhiệt độ bảo quản cao
- Các bào tử nấm mốc:
  - *Clasdosporium, Sporotrichum, Oospora (Geotrichum), Thamnidium, Mucor, Penicillium, Alternaria, Monilia*

Vi sinh vật trong thịt và các sản phẩm từ thịt

- Vi khuẩn
  - *Bacilus subtilis, B. mensentericus, B. mycoides, B. megatherium, Clostridium sporogenes, C. putrificus*, cầu khuẩn, *Escherichia coli, Proteus vulgaris, Micrococcus anaerobis*, vi khuẩn lactic, một số vi khuẩn gây bệnh *Brucella, Salmonella, Streptococcus, Staphylococcus*
- Nấm men
  - *Cryptococcus*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*

Vi sinh vật trong thịt và các sản phẩm từ thịt

- Thịt bảo quản lạnh:
  - trong thời gian ngắn hệ vsv ít thay đổi
  - Để lâu: vsv ưa ẩm giảm, vsv ưa lạnh vẫn phát triển (*Pseudomonas, Achromobacter*,…)
- Thịt muối
  - Các vi sinh vật chịu độ mặn cao
    - (*Samonella* và *Clotridium botulinum* có thể chịu đến 10%, chết ở 19% sau 70-80 ngày
    - *Staphylococcus* ngừng phát triển ở 15-20%, chết ở 20-25%)

Vi sinh vật trong thịt và các sản phẩm từ thịt

- Thịt hộp:
  - Bào tử hoặc tế bào còn sót lại của *C. botulinum*, có thể sinh độc tố
  - Tế bào của một số *Clostridium* sp. Sinh khí làm phồng hộp
  - *Staphylococcus* sinh độc tố, làm hỏng đồ hộp nhưng không gây phồng hộp

Quy định giới hạn cho phép vi sinh vật trong thịt và sản phẩm thịt (46/2007/QĐ-BYT)

TT	SẢN PHẨM	LOẠI VI SINH VẬT	GIỚI HẠN VI SINH VẬT (Trong 1g hoặc 1ml sản phẩm) (*)
1. Thịt tươi, đông lạnh			
1.1	Thịt tươi, thịt đông lạnh nguyên con hoặc cắt miếng	TSVSVHK	10^5
		Coliforms	10^2
		E. coli	10^2
		S. aureus	10^2
		Cl.perfringens	10^2
		Salmonella	Không có
1.2	Thịt tươi, thịt đông lạnh xay nhỏ	TSVSVHK	10^6
		Coliforms	10^2
		E. coli	10^2
		S. aureus	10^2
		Cl.perfringens	10^2
		Salmonella	Không có

10^6

10^5 - 10^7

10^3 – 10^4

10^2

Quy định giới hạn cho phép vi sinh vật trong thịt và sản phẩm thịt (46/2007/QĐ-BYT)

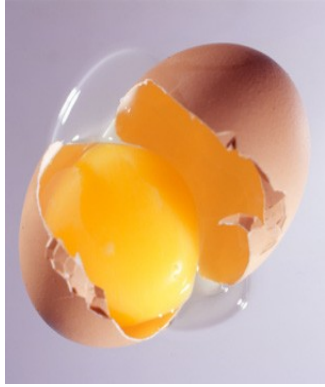
2. Thịt và sản phẩm thịt chế biến không xử lý nhiệt *(sử dụng trực tiếp)*			
2.1	Thịt và sản phẩm thịt dạng muối, xông khói	TSVSVHK	10^3
		Coliforms	50
		E. coli	10
		S. aureus	10^2
		Cl.perfringens	10^2
		Salmonella	Không có
		Listeria monocytogenes	Không có
2.2	Thịt và sản phẩm thịt lên men	*Coliforms*	50
		E. coli	10
		S. aureus	10^2
		Cl.perfringens	10^2
		Salmonella	Không có
		Listeria monocytogenes	Không có

10^4 - 10^7

10^3 – 10^6

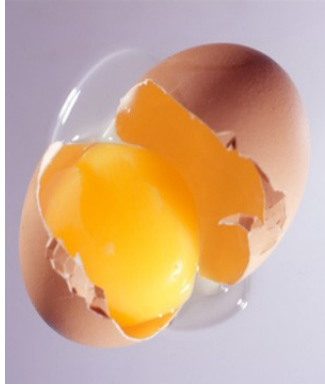
10^2 - 10^5

Vi sinh vật trong trứng và các sản phẩm từ trứng



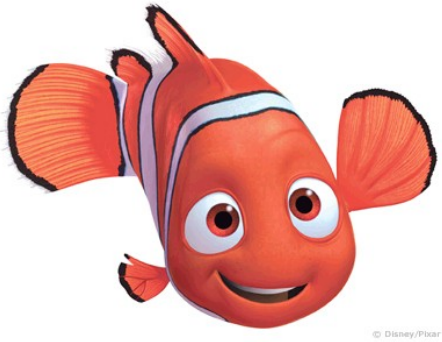
- Trứng tươi mới của gia cầm khỏe mạnh thường vô trùng
- Nhiễm vi khuẩn từ ngoài: phân, nước rửa, thùng đựng
- Trứng có thể giữ được một thời gian do tính miễn dịch và một số chất kháng khuẩn trong lòng trắng trứng (lysozym, ovotransferin, Ovoglobulin IgY)

Vi sinh vật trong trứng và các sản phẩm từ trứng



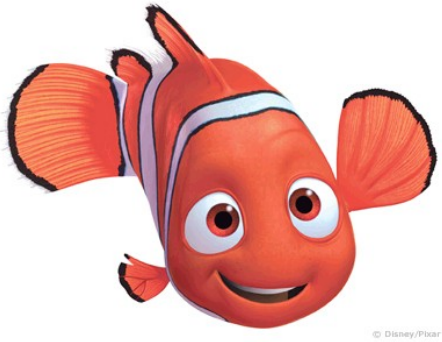
- Vi sinh vật xâm nhập qua vỏ trứng, phụ thuộc nhiệt độ, độ ẩm
- Có thể bị nhiễm vi khuẩn (*Pseudomonas, Proteus, Micrococcus*), nấm mốc (*Penecillium, Cladosporium, Mucor, Aspergillus*), các vi khuẩn gây bệnh
- Dạng hư hỏng: trứng thối màu lục, không màu, đen, hồng hoặc đỏ

Vi sinh vật trong cá và các sản phẩm từ cá



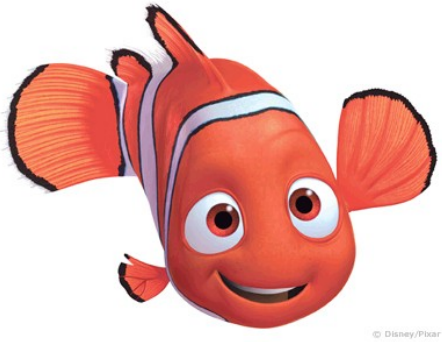
- Vi sinh vật có mặt thường là vsv tự nhiên phụ thuộc điều kiện ao hồ
- Hệ vi sinh vật rất phong phú. Trên bề mặt cá có lớp nhầy chứa protein, thích hợp cho nhiều loại vsv
  - trực khuẩn sinh bào tử,
  - nấm men nấm mốc trong nước
  - *Pseudomonas fluorescens liquefaciens, Proteus vulgaris, Micrococcus roseus, E. coli*

Vi sinh vật trong cá và các sản phẩm từ cá



- Cá ướp lạnh:
  - Nhóm ưa lạnh phát triển (*Pseudomonas fluorescens, Bacterium putrifaciens*)
  - Nấm mốc (*Aspergillus niger, Penicillium glaucum, Rhizopus*)
- Cá đông lạnh:
  - Vsv hầu như không phát triển, môt số mốc bị ức chế ở -12°C, độ ẩm không khí 75-80%

Vi sinh vật trong cá và các sản phẩm từ cá



- Cá muối
  - Tùy thuộc nồng độ muối. Nồng độ muối cao (trên 10%) sẽ hạn chế được các vsv
- Cá khô
  - Bào tử vi khuẩn, nấm mốc
- Chượp cá và nước mắm
  - Hệ vi sinh vật gây thối rữa, phân hủy protein, đóng vai trò quan trọng trong sản xuất

Vi sinh vật trong sữa và các sản phẩm

- Nguồn lây nhiễm:
  - Từ vú bò, dê, cừu: coliforms, *Micrococcus, Streptococcus*, có hại và không có hại
  - Từ da bò, các dụng cụ vắt sữa, đựng sữa, thức ăn chăn nuôi
- Các loại vi khuẩn, nấm men, mốc: phổ biến nhất là lactic; propionic, butyric, vi khuẩn gây thối

Vi sinh vật trong sữa và các sản phẩm

- Sữa bị hỏng:
  - Vị đắng: do dư vị thức ăn chăn nuôi, vi khuẩn phân giải protein (*micrococcus*, trực khuẩn có bào tử, ưa lạnh), nấm men *Torula amara*
  - Vị ôi: do phân giải chất béo và vsv gây ra (*Bacillus fluorescens*, nấm mốc)
  - Màu sắc mùi vị lạ, đông tụ ở pH thấp

Vi sinh vật trong sữa và các sản phẩm

- Bơ:
  - Bị ôi do chất béo bị phân giải (mốc, vi khuẩn huỳnh quang, nấm men)
  - Chua (do vi khuẩn lactic)
  - Mùi mốc (*Penicillium, Endomyces*)
- Sữa đặc có đường
  - Tạo cục do mốc *Catemularia fuliginea*
  - Sữa bị phồng do nấm men lên men đường
  - Có vị phomat và ôi

Vi sinh vật trong rau quả

- Vi sinh vật có mặt trên bề mặt rau củ quả, bắt nguồn từ đất, nước, không khí, đồ đựng
- Do hoạt động chủ yếu của nấm men, mốc, một số vi khuẩn
- Dạng hư hỏng quả:
  - Quả nhiều đường dễ bị nhiễm nấm men nấm mốc, gây lên men rượu
  - Nhiễm vi khuẩn lên men acetic và lactic làm hỏng nước quả
  - Thối quả: do nấm *Monilia fructigena, M. cinerea, Gloesporum fructigena*

Vi sinh vật trong rau quả

- Hư hỏng rau
  - Bệnh của cà chua: thối núm quả (*Lactobacterium lycopersici*), thối ướt (*Bacterium carotovorum*), bệnh do nấm *Phytophotora infectant*, thối hồng (*Fusarium solani*)
  - Bệnh ở bắp cải: thối trắng (nấm *Sclerotina libertianna*), thối xám (nấm *Botrytis cinerea*), thối đen (nấm *Altenaria radicina*)

Vi sinh vật trong bột và bánh mỳ

- Nhiễm từ hạt, nước khi xay nghiền, dụng cụ, đồ chứa
- Trong bột thường nhiễm bào tử nấm, trực khuẩn *Bacillus mensentericus*, *B. subtilis*
- Bột có thể bảo quản trong thời gian dài ở dưới 20°C, độ ẩm không khí 79%

Vi sinh vật trong bột và bánh mỳ

- Bột mốc: Bắt đầu từ độ ẩm không khí 80% trở lên (*Aspergillus, Penecillium*)
- Chua: do vi khuẩn lactic
- Ôi: do oxy hóa chất béo
- Bột của các loại hạt (lạc đậu) cần chú ý hiện tượng mốc do *Aspergillus flavus* có khả năng sinh Aflatoxin

Vi sinh vật trong bột và bánh mỳ

- Bánh mỳ bị nhớt do *Bacillus subtilis*
- Ruột bánh mỳ đỏ (do *B. prodigiosum*)
- Mốc: *Oidium auranticum, Ascosporum raseum, Aspergillus* sp., *Penecilium glaucus, Rhizopus nigrican*
- “Say” bánh mỳ: do *Fusarium prorotrichioides* tiết ra độc tố. Nấm này không bị chết khi nướng

Công nghệ bảo quản thực phẩm

- Giữ pH
- Kiểm soát họat độ nước
- Nhiệt độ (thanh trùng tiệt trùng, làm lạnh)
- Lên men lactic
- Sử dụng màng bán thấm
- Áp suất thủy lực tĩnh
- Sóng siêu âm
- Chiếu xạ
- Sử dụng các chất bảo quản
- Phối hợp nhiều phương pháp