

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ DIỆT KHUẨN TỐI THIỂU (MBC) CỦA SẢN PHẨM PHẢN ỨNG MAILLARD CỦA CHITOSAN VÀ GLUCOSAMINE ĐƯỢC CHẾ TẠO BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ

Lê Anh Quốc

Trung tâm Nghiên cứu và Triển khai công nghệ bức xạ

Sản phẩm phản ứng Maillard của protein với các loại đường khử đã thu hút nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học bởi chúng có nhiều hoạt tính sinh học nổi bật như là: hoạt tính kháng khuẩn, kháng oxy hóa.

*Trong bài báo này, sản phẩm phản ứng Maillard của chitosan với glucosamine được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ gamma và nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của chúng. Các kết quả đánh giá hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch và xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) đối với vi khuẩn *Escherichia coli* và *Bacillus subtilis* cho thấy sản phẩm phản ứng Maillard của chitosan với glucosamine thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh và vượt trội hơn so với chitosan ban đầu, ở cả pH 5 và pH 7. Kết quả này cho thấy sản phẩm phản ứng Maillard của chitosan với glucosamine rất có tiềm năng ứng dụng trong việc thay thế các chất bảo quản hóa học tiềm ẩn nhiều rủi ro sức khỏe hiện đang dùng trong thực phẩm.*

1. MỞ ĐẦU

Nhiều loại thực phẩm khi để trong điều kiện tự nhiên sẽ rất dễ bị hư hỏng, nhất là nhóm thực phẩm từ thịt. Do chứa nhiều dinh dưỡng và độ ẩm cao nên thực phẩm là môi trường ưa thích để vi sinh vật phát triển, phổ biến nhất là vi khuẩn và nấm. Bên cạnh việc làm giảm hương vị, thay đổi màu sắc, và giá trị cảm quan của thực phẩm, các vi sinh vật này còn có thể gây ra các bệnh liên quan đến thực phẩm. Để ngăn chặn sự phát triển của các vi sinh vật gây hư hỏng và gây bệnh trong thực phẩm, nhiều phương pháp bảo quản như: xử lý nhiệt, ướp muối, axit hóa, sấy khô,... đã được ứng dụng trong công nghiệp chế biến thực phẩm, ngoài ra dùng chất bảo quản cũng là một cách để tránh hư hỏng thực phẩm. Nhằm đảm bảo sức khỏe người tiêu dùng, các chất bảo quản tổng hợp hóa học dùng cho thực phẩm cần phải tuân

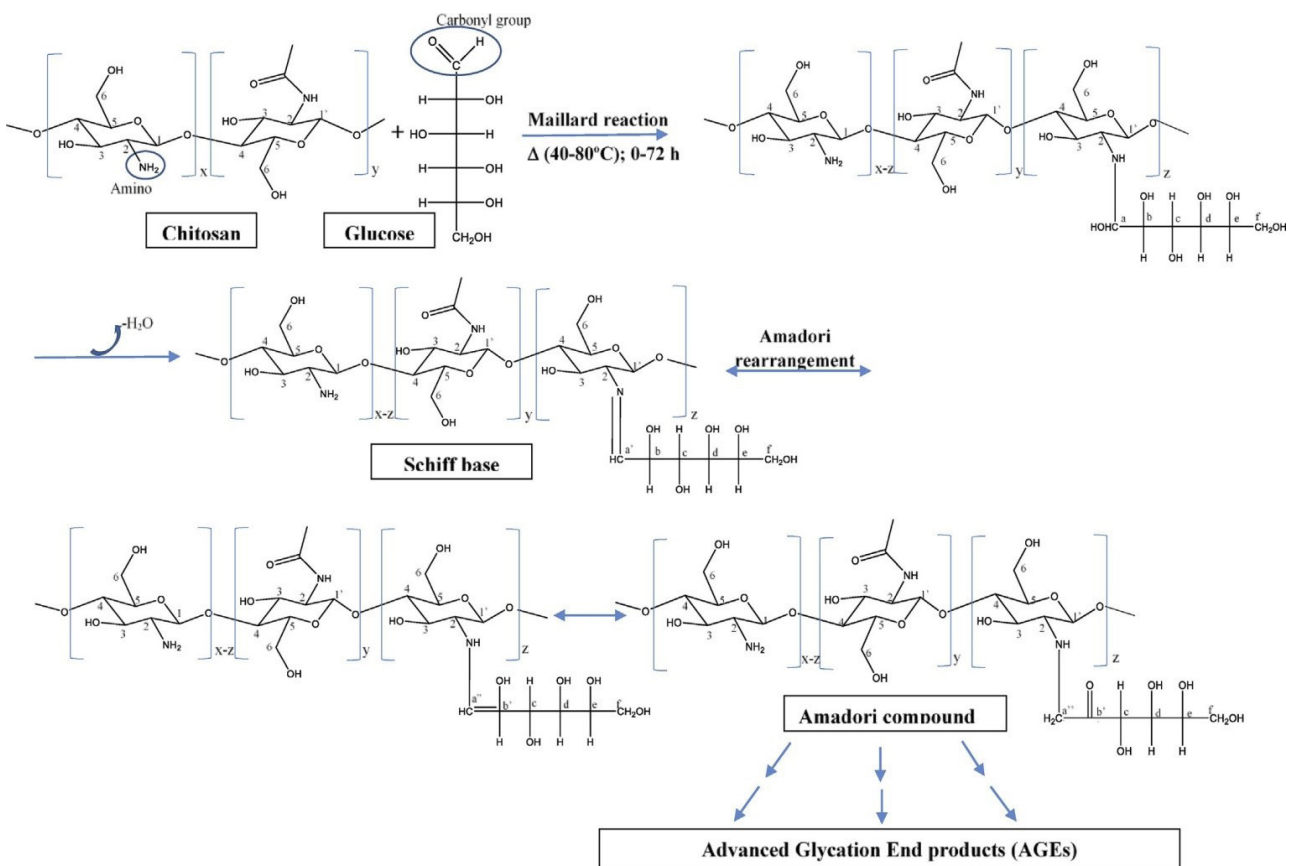
thủ các quy định nghiêm ngặt về liều lượng sử dụng. Do đó, nghiên cứu chế tạo chất bảo quản mới, an toàn với sức khỏe là rất cần thiết. Xu hướng ngày nay là sử dụng các chất kháng vi sinh vật có nguồn gốc tự nhiên để bảo quản thực phẩm. Các hợp chất tự nhiên đó có thể là các loại tinh dầu từ thực vật (như: húng quế, xạ hương, bạc hà, và hương thảo); các enzyme từ động vật (như: lysozyme, lacto-ferrin); các chất kháng sinh từ vi sinh vật (như nicin, natamycin); các axit hữu cơ (như: axit sorbic, propionic, và citric) và các polymer tự nhiên (như: chitosan).

Chitosan, một polysaccharit tự nhiên, không độc, có khả năng tự phân hủy và tương hợp sinh học cao. Trong số các chất kháng vi sinh vật có nguồn gốc tự nhiên, chitosan nhận được nhiều sự quan tâm và đã được ứng dụng rộng rãi trong y học, dược phẩm, nông nghiệp, xử lý môi trường và

thực phẩm. Trong thực phẩm, chitosan được dùng để gia tăng chất lượng thịt, ức chế quá trình oxi hóa, kháng nhiều loại vi sinh vật gây bệnh và gây hư hỏng... nhưng lại ít gây ra các tác dụng phụ làm ảnh hưởng đến đặc tính kết cấu và giá trị cảm quan của thực phẩm. Tuy nhiên, các đặc tính sinh học của chitosan phụ thuộc vào nhiều yếu tố: khối lượng phân tử, độ acetyl, và đặc biệt là pH. Trong môi trường trung tính và kiềm, chitosan bị tủa và giảm hoạt tính sinh học, gây cản trở cho quá trình ứng dụng chitosan.

Phản ứng Maillard một loại phản ứng giữa nhóm carbonyl (aldehyde và cetone) có trong các loại

đường khử, aldehyde và cetone với nhóm amin (NH_2) của amino axit, protein hay các hợp chất có nitơ. Các công trình đã công bố cho thấy phản ứng Maillard tạo ra các hợp chất có tính kháng khuẩn, chống oxi hóa mạnh, gọi chung là sản phẩm phản ứng Maillard (SPM). Nhóm amin trong chitosan có thể tham gia phản ứng Maillard với nhóm carbonyl có trong các loại đường khử và dẫn xuất của đường như glucose, fructose, maltose, glucosamin,... để tạo ra SPM. Trong số đó, các SPM từ chitosan với glucosamin thể hiện hoạt tính chống oxi hóa và hoạt tính kháng khuẩn vượt trội ngay cả trong điều kiện pH 7.



Hình 1. Sơ đồ cấu trúc phản ứng Maillard của chitosan và glucose

Trong nghiên cứu này, các SPM được chế tạo bằng cách chiếu xạ tia gamma Co-60 hỗn hợp dung dịch glucosamin và chitosan. So với các phương pháp khác, phản ứng Maillard theo phương pháp chiếu xạ có thể xảy ra ở nhiệt độ thường, không sinh ra các sản phẩm phụ gây độc và có thể triển khai ở quy mô lớn. Ngoài ra, trong nghiên cứu

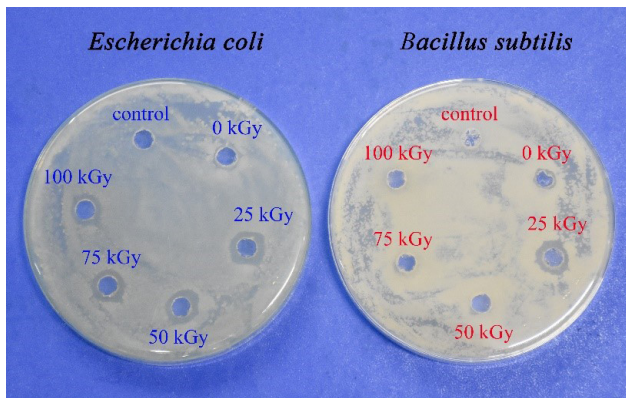
này, hoạt tính kháng khuẩn của các SPM của chitosan-glucosamin tạo thành cũng được đánh giá đối với vi khuẩn Escherichia coli và Bacillus subtilis bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch và xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) ở cả pH 5 và 7.

2. CÁC KẾT QUẢ THU ĐƯỢC



Hình 2. Các dung dịch chitosan và glucosamine được chiếu xạ trong khoảng liều xạ 0-100 kGy

Các hỗn hợp dung dịch chitosan và glucosamine sau khi chiếu xạ sẽ bị hóa nâu và kết quả phân tích quang phổ tại bước sóng 284 nm và 420 nm, cùng với sự suy giảm hàm lượng glucosamine đã chứng minh sự hình thành các SPM trong dung dịch.



Hình 3. Kết quả thử nghiệm khuếch tán đĩa thạch của các SPM chitosan-glucosamine ở các liều xạ khác nhau đối với vi khuẩn *E. coli* và *B. subtilis*

Bảng 1. Kết quả xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của SPM chitosan-glucosamin 25 kGy đối với *E. coli* và *B. subtilis* tại pH 5 và 7

	Giá trị pH	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>
Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của SPM chitosan-glucosamin (ppm)	pH 7	625	1250
	pH 5	156	156

Từ kết quả thử nghiệm khuếch tán đĩa thạch cho thấy, các SPM chitosan – glucosamine đều thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với *E. coli* và *B. subtilis*, trong đó SPM chitosan – glucosamine chế tạo ở 25 kGy tạo được vòng kháng khuẩn lớn nhất và được lựa chọn để xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC).

Kết quả từ Bảng 1 cho thấy, ở pH 7, SPM chitosan-glucosamin 25 kGy thể hiện hoạt tính kháng khuẩn ở pH 5 mạnh hơn so với pH 7. Tại pH 7, vi khuẩn *E. coli* tỏ ra nhạy cảm với SPM chitosan-glucosamin 25 kGy hơn vi khuẩn *B. subtilis*, trong khi ở pH 5 thì độ nhạy cảm của 2 vi khuẩn này với SPM chitosan-glucosamin là như nhau.

3. KẾT LUẬN

Quá trình chiếu xạ ion hóa, đặc biệt là chiếu xạ chùm tia gamma Co-60, là một công cụ hiệu quả để xúc tác phản ứng Maillard của chitosan và glucosamine. Quá trình này có nhiều ưu điểm hơn so với phương pháp gia nhiệt và hấp thủy nhiệt như là: rút ngắn thời gian phản ứng và không tạo ra các sản phẩm phụ không mong muốn. SPM chitosan-glucosamin được tạo thành ở liều xạ 25 kGy thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối với vi khuẩn *E. coli* và *S. aureus*, và hoạt tính này cao hơn so với chitosan ban đầu. Điều này chứng minh phản ứng Maillard rất hiệu quả trong việc gia tăng hoạt tính sinh học của chitosan. Bên cạnh đó, SPM chitosan-glucosamin vẫn giữ được hoạt tính kháng khuẩn ở trong các điều kiện pH khác nhau, điều này góp phần to lớn trong việc mở rộng ứng dụng của chitosan, đặc biệt là trong lĩnh vực bảo quản thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Lucera, A., Costa, C., Conte, A., Nobil, M.A.D. (2012), "Food applications of natural antimicrobial compounds", *Frontiers in Microbiology*, 3: 27.

- [2] Davidson, P.M., and Taylor, M.T. (2007), “Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds”, *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, pp. 713-734.
- [3] Schyvens, C., (2014), “Food additives: antioxidant”, *Encyclopedia of Food Safety*, 2, pp. 455-458.
- [4] Harish Prashanth, K.V., Tharanathan, R.N. (2007), “Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential – an overview”, *Trends in Food Science & Technology*, 18, pp. 117-131.
- [5] Nguyễn Quốc Hiến, Đặng Xuân Dự, Đặng Văn Phú, Lê Anh Quốc, Phạm Đình Dũng, Nguyễn Ngọc Duy (2016), “Nghiên cứu chế tạo oligochitosan bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60 dung dịch chitosan-H₂O₂ và khảo sát hiệu ứng chống oxy hóa”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 54(1), Tr. 46-53.
- [6] Darmadji, P., Izumimoto, M. (2004), “Effect of chitosan in meat preservation”, *Meat Science*, 38(2), pp. 243-254.
- [7] Roller, S., Sago, S., Board, R., O’Mahony, T., Caplice, E., Fitzgerald, M., Owen, M., Fletcher, H. (2002), “Novel combinations of chitosan, carnocin and sulphite for preservation of chilled pork sausages”, *Meat Science*, 62, pp. 165-177.
- [8] Verlee, A., Mincke, S., Stevens, C.V. (2017), “Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives”, *Carbohydrate Polymers*, 164, pp. 268-283.
- [9] Goy, R.C., Britto, D.D., Assis, O.B.G. (2009), “A review of the antimicrobial activity of chitosan”, *Polímeros*, 19 (3), pp. 241-247.
- [10] Kulikov, S., Tikhonov, V., Blagodatskikh, I. (2012), “Molecular weight and pH aspects of efficacy of oligochitosan against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)”, *Carbohydrate Polymers*, 87, pp. 545-550.