



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0032346

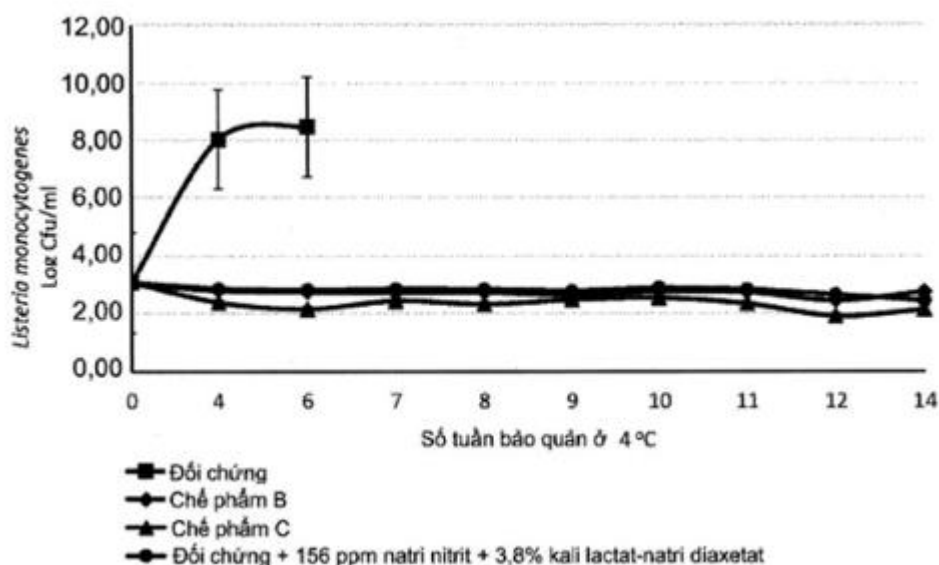
(51)<sup>7</sup> A01N 63/02; A01N 37/02

(13) B

- (21) 1-2017-04477 (22) 14/04/2016  
(86) PCT/US2016/027520 14/04/2016 (87) WO 2016/168454 20/10/2016  
(30) 62/149,365 17/04/2015 US; 15/097,922 13/04/2016 US  
(45) 25/06/2022 411 (43) 26/03/2018 360A  
(73) KERRY LUXEMBOURG S.A.R.L. (LU)  
17, rue Antoine Jans, L-1820 Luxembourg  
(72) PERUMALLA, Amara Venkata Sunil (IN); SHEEHAN, Vivien (IE); COOPER,  
Renetta (US); JONES, Beth (US).  
(74) Công ty TNHH Quốc tế D&N (D&N INTERNATIONAL CO.,LTD.)

(54) PHƯƠNG PHÁP SỬ DỤNG CHẾ PHẨM KHÁNG KHUẨN ĐỂ KIỂM SOÁT SỰ SINH TRƯỞNG QUÁ NHANH CỦA MÀM BỆNH VÀ VI SINH VẬT GÂY HƯ HỎNG TRONG SẢN PHẨM THỰC PHẨM VÀ HỆ KHÁNG KHUẨN

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp sử dụng chế phẩm kháng khuẩn để kiểm soát sự sinh trưởng quá nhanh của mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng trong sản phẩm thực phẩm có môi trường giàu dinh dưỡng có độ ẩm cao (65 - 80% trọng lượng) và hàm lượng muối thấp (< 2,0% trọng lượng) với độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5. Việc sử dụng axit hữu cơ hoặc muối của nó cùng với peptit kháng khuẩn thu được từ quá trình lên men đem lại giải pháp thiết thực để làm ngừng sự sinh trưởng của các bào tử và tế bào sinh dưỡng mà không cần dùng các hóa chất như natri nitrit hoặc nitrat. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến hệ kháng khuẩn.



### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Nhìn chung, sáng chế đề cập đến chế phẩm và phương pháp ức chế mầm bệnh và các vi sinh vật gây hư hỏng.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Ngày càng có nhiều người tiêu dùng cho rằng thực phẩm không có các chất phụ gia tổng hợp hoặc hóa học thì tốt hơn cho sức khỏe. Đáp lại xu hướng và sở thích này của người tiêu dùng, ngành công nghiệp thực phẩm đã tập trung nỗ lực để tạo ra các phương án khác nhau như sản phẩm gắn nhãn sạch và/hoặc tự nhiên mà không có các chất bảo quản nhân tạo trong khi vẫn giữ các đặc tính an toàn về vi sinh vật tương tự so với các sản phẩm được sản xuất thông thường.

Các chất xử lý như muối natri nitrat và natri nitrit ("xử lý") có lịch sử lâu đời trong việc giữ độ an toàn về vi sinh vật cho chế phẩm thịt chế biến vì chúng tạo ra lợi ích chức năng của hoạt tính kháng khuẩn và chống oxy hóa ngoài việc tạo ra màu sắc và mùi vị mong muốn góp phần vào đặc trưng của các sản phẩm này (ví dụ, xem Pegg, R. B., and F. Shahidi. 2000. Nitrite curing of meat: the N-nitrosamine problem and nitrite alternatives. Food & Nutrition Press, Inc., Trumbull, CT., được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Tuy nhiên, việc tiêu thụ thịt chế biến có chứa các chất xử lý như vậy gần đây được liên quan đến nguy cơ tăng của bệnh ung thư kết trực tràng do việc tạo thành các hợp chất N-nitroso và hydrocacbon thơm đa vòng gây bệnh ung thư (ví dụ, xem Santarelli, R. L., Pierre, F., & Corpet, D. E. 2008. Processed meat and colorectal cancer: a review of epidemiologic and experimental evidence. Nutrition and Cancer, 60(2), 131-144, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Ngoài ra, gần đây Cơ quan nghiên cứu bệnh ung thư quốc tế (International Agency of Research on Cancer - IARC, một cơ quan thuộc WHO) và Viện nghiên cứu bệnh ung thư Mỹ (American Institute of Cancer Research - AICR) đã xếp thịt chế biến là tác nhân gây ung thư nhóm 1 cho người (ví dụ, xem Bouvard, et al. 2015, on behalf of the International Agency for Research on Cancer Monograph Working

Group, The Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. The Lancet Oncology. Published Online: 26 October 2015, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Các sản phẩm thịt được sản xuất không có chất xử lý từ các nguồn tổng hợp hoặc có trong tự nhiên ("chưa xử lý" hoặc "không có nitrat hoặc nitrit") dễ bị các mầm bệnh sinh trưởng hơn do bản chất kháng khuẩn của chúng. *Listeria monocytogenes* và *Clostridium* là hai loại mầm bệnh được quan tâm đặc biệt trong các sản phẩm "chưa xử lý" hoặc "không có nitrat hoặc nitrit". *Listeria monocytogenes* là loài chịu lạnh, có thể sinh trưởng ngay cả ở nhiệt độ ướp lạnh và do đó đặt ra rủi ro về độ an toàn thực phẩm trong thịt và các sản phẩm từ gia cầm ăn liền (ready to eat: RTE) có thời hạn sử dụng kéo dài. Loài tạo bào tử sinh độc tố ruột *Clostridia* như *Clostridium botulinum* và *Clostridium perfringens* liên quan đến thịt và gia cầm chế biến cũng là mối quan tâm đặc biệt. Trong khi nhiệt được dùng trong quá trình sản xuất sản phẩm thịt chế biến RTE là đủ để ức chế tế bào sinh dưỡng, nhưng các bào tử sẽ không bị bất hoạt mà vẫn có thể nảy mầm và phát triển thành tế bào sinh dưỡng.

Vi sinh vật gây hư hỏng còn đóng vai trò quan trọng trong việc làm giảm thời hạn sử dụng của thịt và gia cầm cả loại thô (tươi) và loại ướp lạnh RTE chưa xử lý. Ví dụ, các loài *Pseudomonas* và *Lactobacillus* là nguyên nhân chính gây ra các vấn đề không mong muốn như vị lạ, đổi màu, khí và nhớt, v.v..

Ngoài ra, thời gian gần đây đã có động thái làm giảm hàm lượng natri trong thực phẩm (ví dụ, xem Scientific Report of the 2015 Dietary Guidelines Advisory Committee. Advisory Report of the Secretary of Health and Human Services and the Secretary of the Agriculture). Natri là chất bảo quản hữu hiệu và việc làm giảm hàm lượng natri làm cho chế phẩm dễ có nguy cơ cao bị mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng sinh trưởng và do đó làm cho thời hạn sử dụng sản phẩm ngắn hơn (ví dụ, xem Desmond, E. 2006. Reducing salt: A challenge for the meat industry, Meat Science, 74 (2006), các trang 188-196, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Trong các sản phẩm được xử lý, lượng natri nitrit thấp, khoảng 50ppm, là đủ để ức chế loài *Clostridium* trong sản phẩm thịt chế biến (ví dụ, xem Hustad, G. O., J. G. Cervený, H. Trenk, R. H. Deibel, D. A. Kautter, T. Fazio, R. W. Johnston, and O. E. Kolari. 1973. Effect of sodium nitrite and sodium nitrate on botulinal toxin production

and nitrosamine formation in wieners. Appl. Microbiol. 26:22-26, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Tuy nhiên, mức tối đa được cho phép là 156ppm natri nitrit khi được sử dụng mà không bổ sung các chất phụ gia kháng khuẩn là không đủ để ức chế *Listeria monocytogenes* (ví dụ, xem Farber, J. M., R. C. McKellar, and W. H. Ross. 1995. Modelling the effects of various parameters on the growth of *Listeria monocytogenes* on liver pate. Food Microbiol. 12:447-453, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Các kết quả tương tự hoặc so sánh được được mong đợi để ức chế loài *Listeria* và *Clostridia* khi các nguồn nitrat hoặc nitrit khác (thu được bằng phương pháp tổng hợp hoặc lên men) được sử dụng để phân phối các nồng độ tương tự tương đương với natri nitrit như được mô tả trong các ví dụ nêu trên.

Các nghiên cứu trước đây đã khảo sát các axit hữu cơ hoặc muối của chúng dùng để ức chế các mầm bệnh này trong các ứng dụng thịt chế biến RTE. Cụ thể, các nghiên cứu đề xuất rằng chỉ axit axetic hoặc muối của nó khi được sử dụng ở nồng độ (< 1%) được mong đợi là tạo ra thuộc tính cảm quan chấp nhận được trong các sản phẩm thịt và gia cầm RTE, nhưng không ức chế được *C. perfringens* trong thịt ức gà tây (ví dụ, xem Juneja, V. K., and H. Thippareddi. 2004. Inhibitory effects of organic acid salts on growth of *Clostridium perfringens* from spore inocula during chilling of marinated ground turkey breast. Int. J. Food Microbiol. 93: 155- 163, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Các nghiên cứu khác chứng minh rằng 0,3-0,5% natri diacetat khi được sử dụng một mình hoặc kết hợp với chất kháng khuẩn khác là hữu hiệu để kiểm soát *Listeria monocytogenes* trong dạng sệt của thịt gà tây được sản xuất có và không có natri nitrit (ví dụ, xem Schlyter, J.H., Glass, K.A., Loeffelholz, J., Degnan, A.J., Luchansky, J.B., 1993. The effects of diacetate with nitrite, lactate, or pedioxin on the viability of *Listeria monocytogenes* in turkey slurries. Int. J. Food Microbiol. 19, 271-281, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Tuy nhiên, lượng được đề xuất cao hơn so với lượng tối đa được cho phép (0,25% thành phần sản phẩm; danh sách FSIS 7120) trong thịt và các sản phẩm từ gia cầm ở Mỹ và được cho là góp phần vào mùi vị không chấp nhận được cho thành phẩm. Ngoài ra, các nỗ lực khác đã chứng minh việc sử dụng axit propionic hoặc muối của nó kết hợp với pedioxin để kiểm soát *Listeria monocytogenes*. Tuy nhiên, cho đến

nay các phương pháp đã biết không kiểm soát được loài *Clostridia*, một trong số các nguy cơ gây bệnh nổi bật trong thịt và các sản phẩm từ gia cầm chưa xử lý.

Trong khi đã biết việc sử dụng nisin kết hợp với axit hữu cơ, hiệu quả của các hệ này đòi hỏi có chất nhũ hóa và phụ thuộc vào việc bổ sung lần lượt các thành phần riêng lẻ này. Ngoài ra, các chế phẩm này không cho thấy hiệu quả ức chế mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng cần quan tâm trong các điều kiện được nêu cụ thể ở đây là thịt chế biến chưa xử lý, có độ ẩm cao và natri thấp (ví dụ, xem công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2013/0012428 A1 của Jacobus và các đồng tác giả; được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Patent Mỹ số 6509050 B1 của Henson và các đồng tác giả, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn, chứng minh việc sử dụng polyphosphat kết hợp với axit hữu cơ hoặc muối của nó để kiểm soát *Listeria monocytogenes* trong mẫu nước luộc thịt và vi sinh vật gây hư hỏng trong hệ thịt đã xử lý. Như đã biết trong lĩnh vực này, phosphat thường được sử dụng trong các ứng dụng thịt để duy trì độ ẩm và cải thiện năng suất. Tuy nhiên, không có bằng chứng về hiệu quả của cách tiếp cận này đối với sự ức chế mầm bệnh trong hệ thịt chưa xử lý có hàm lượng natri thấp. Ngoài ra, lượng phosphat được mô tả trong đó cao hơn so với lượng hiện được cho phép ở Mỹ (0,5%; danh sách FSIS 7120).

Đến nay, việc ức chế đồng thời loài *Listeria* và *Clostridia* ở thịt ướp lạnh RTE được sản xuất không có natri nitrit chưa được báo cáo. Mong muốn có phương pháp có thể chứng minh hiệu quả đối với các mầm bệnh và vi sinh vật gây thối rữa mang trong thực phẩm trong hệ "chưa xử lý" hoặc "không có nitrit" với mùi vị chấp nhận được mà có độ ẩm cao (65-80% trọng lượng), hàm lượng muối thấp (<2% trọng lượng), và trong khoảng độ pH là 5,5 - 8,5.

Do đó, tác dụng lũy tích của việc thay thế các hóa chất bảo quản với tiêu chí nhãn sạch ngoài việc làm giảm lượng natri trong thực phẩm đã bắt buộc các nhà sản xuất thực phẩm phải điều chỉnh thời hạn sử dụng. Cụ thể, với nguy cơ là các sản phẩm thực phẩm có độ ẩm cao và natri thấp mà thuận lợi cho sự sinh trưởng của vi sinh vật như ứng dụng thịt chưa xử lý nêu trên. Trong khi có một vài cách (phương pháp và chế phẩm kháng khuẩn) để kiểm soát mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng mang trong thực phẩm trong các sản phẩm thịt và gia cầm chế biến truyền thống được sản xuất bằng cách sử dụng natri nitrit, có nhu cầu trong lĩnh vực này về phương pháp để loại bỏ sự điều chỉnh này và

tăng cường độ an toàn của sản phẩm nhãn sạch được sản xuất không có natri nitrit (chưa xử lý hoặc không có natri nitrit). Cũng ưu tiên chứng minh phương pháp ức chế mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng bằng một giải pháp mà có các đặc tính kháng khuẩn rộng trong các chất nền và ứng dụng khác nhau.

Sáng chế đề xuất phương pháp ức chế như vậy. Các ưu điểm này và các ưu điểm khác của sáng chế, cũng như các dấu hiệu sáng tạo khác, sẽ rõ ràng từ phần mô tả sáng chế được nêu ở đây.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Sáng chế đề xuất phương pháp ức chế sự sinh trưởng của các mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng trong môi trường có hàm lượng ẩm cao đặc trưng nằm trong khoảng từ 65 đến 80% trọng lượng, hàm lượng muối thấp ( $< 2,0\%$  trọng lượng) có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5, bằng cách sử dụng lượng hữu hiệu của chế phẩm kháng khuẩn và đem lại giải pháp thay thế thiết thực cho các chất bảo quản thông thường. Chế phẩm kháng khuẩn chứa axit hữu cơ hoặc muối của nó và peptit kháng khuẩn thu được từ quá trình lên men và không có chất nhũ hóa và hoặc chất tạo chelat bất kỳ. Chế phẩm kháng khuẩn này có thể được sử dụng ở tất cả các giai đoạn của quá trình chế biến nhưng không chỉ giới hạn ở bước trộn sơ bộ và bước nấu sơ bộ khi được sử dụng cho thịt chế biến. Chế phẩm này cũng có thể được sử dụng bằng cách phun, bổ sung trực tiếp, cấy, bơm, trộn, xoa bóp, v.v..

Phương pháp được đề xuất có thể ngăn sự sinh trưởng của mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng trong các hệ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các sản phẩm thực phẩm ăn liền đặc biệt là thịt và gia cầm, cũng như các chất làm sạch, thức ăn gia súc, mỹ phẩm, và dược phẩm.

Axit hữu cơ được chọn từ axit axetic, axit xitric hoặc axit propionic, hoặc muối của chúng. Muối của axit hữu cơ nghĩa là muối kim loại hóa trị một hoặc hóa trị hai của axit hữu cơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, muối natri, kali, canxi và magie của axit hữu cơ. Chất kháng khuẩn thu được từ quá trình lên men gồm bacterioxin hoặc chất tương tự hoặc dẫn xuất của nó, nhờ đó bacterioxin là peptit kháng khuẩn được tổng hợp bằng ribosom được tạo ra bởi một số vi khuẩn sẽ diệt hoặc ức chế sự sinh trưởng của các vi khuẩn có quan hệ gần.

Sự can thiệp kháng khuẩn này áp dụng cho hệ thực phẩm và hệ không phải thực phẩm bao gồm các điều kiện đóng gói khác nhau như điều kiện hút chân không, không hút chân không, và điều chỉnh không khí.

Theo một phương án làm ví dụ, sáng chế đề xuất chế phẩm kháng khuẩn để kiểm soát sự sinh trưởng nhanh hơn của mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng trong thực phẩm hoặc đồ uống có hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 65% trọng lượng đến 80% trọng lượng, hàm lượng muối nhỏ hơn 2,0% trọng lượng, và có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5. Chế phẩm này chứa axit hữu cơ hoặc muối của nó và peptit kháng khuẩn thu được từ quá trình lên men. Mầm bệnh nêu trên có thể là loài *Listeria*, và/hoặc có thể là loài thuộc lớp vi khuẩn tạo bào tử gồm loài *Clostridia*. Vi sinh vật gây hư hỏng có thể là loài *Lactobacilli*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas*, và *Brochothrix*.

Sản phẩm thực phẩm có thể được chọn từ nhóm bao gồm thịt động vật, đồ uống, thức ăn gia súc, hoặc nông sản. Các điều kiện đóng gói sản phẩm thực phẩm hoặc đồ uống có thể là một trong số các điều kiện hút chân không, không hút chân không và điều chỉnh không khí.

Theo một phương án bổ sung của khía cạnh này, axit hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit axetic, axit lactic, axit propionic, axit xitric, hoặc muối của chúng. Ví dụ cụ thể không giới hạn về axit hữu cơ là axit axetic hoặc muối của nó với lượng ít nhất là 0,275% trọng lượng. Độ pH của axit axetic hoặc muối của nó nằm trong khoảng từ 5,0 đến 8,0.

Theo một phương án bổ sung khác của khía cạnh này, chất kháng khuẩn thu được từ quá trình lên men là bacterioxin. Bacterioxin là peptit kháng khuẩn được tổng hợp bằng ribosom được tạo ra bởi một số vi khuẩn diệt hoặc ức chế sự phát triển của các vi khuẩn có quan hệ gần, ví dụ, nisin, sakaxin, pedioxin, lactoxin, và dẫn xuất hoặc các chất tương tự của chúng. Ví dụ cụ thể không giới hạn về bacterioxin là nisin nằm trong khoảng từ 5 ppm đến 50 ppm. Độ pH của nisin nằm trong khoảng từ 3,0 đến 6,5.

Theo một khía cạnh bổ sung khác của sáng chế, hoạt tính kháng khuẩn của chế phẩm là kim hãm vi khuẩn hoặc diệt khuẩn. Chế phẩm này có thể ở dạng bột hoặc dạng lỏng. Khi ở trong dung dịch, chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 8.

Theo một phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất phương pháp kiểm soát sự sinh trưởng nhanh hơn của mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng trong sản phẩm thực

phẩm hoặc đồ uống. Phương pháp này bao gồm bước tạo ra sản phẩm thực phẩm hoặc đồ uống có hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 65% trọng lượng đến 80% trọng lượng, độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5, và hàm lượng muối nhỏ hơn 2,0% trọng lượng. Phương pháp này còn bao gồm bước cho sản phẩm thực phẩm hoặc đồ uống tiếp xúc với chế phẩm kháng khuẩn chứa axit hữu cơ hoặc muối của nó và peptit kháng khuẩn thu được từ quá trình lên men để kiểm soát sự sinh trưởng của các mầm bệnh và sự sinh trưởng của vi sinh vật gây hư hỏng.

Theo một phương án bổ sung, bước tạo ra sản phẩm thực phẩm hoặc đồ uống bao gồm việc tạo ra sản phẩm thực phẩm hoặc đồ uống không có nitrat và nitrit thu được từ quá trình tổng hợp hoặc lên men. Mầm bệnh có thể là loài *Listeria*. Mầm bệnh còn có thể là loài thuộc lớp vi khuẩn tạo bào tử gồm loài *Clostridia*. Vi sinh vật gây hư hỏng là loài bất kỳ trong số các loài *Lactobacilli*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas*, và *Brochothrix*. Sản phẩm thực phẩm hoặc đồ uống được chọn từ nhóm bao gồm thịt động vật, đồ uống, thức ăn gia súc, hoặc nông sản. Các điều kiện đóng gói sản phẩm thực phẩm hoặc đồ uống là một trong số các điều kiện hút chân không, không hút chân không và điều chỉnh không khí.

Theo một phương án làm ví dụ khác nữa, sáng chế đề xuất hệ kháng khuẩn gồm sản phẩm thực phẩm hoặc đồ uống có các điều kiện sau: 1) hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 65% trọng lượng đến 80% trọng lượng, 2) độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5, và 3) hàm lượng muối nhỏ hơn 2,0% trọng lượng, hệ này còn gồm axit hữu cơ hoặc muối của nó, peptit thu được từ quá trình lên men, trong đó, axit hữu cơ hoặc muối của nó và peptit thu được từ quá trình lên men được dùng để kiểm soát sự sinh trưởng của vi khuẩn trong sản phẩm thực phẩm hoặc đồ uống ở các điều kiện nêu trên.

Các khía cạnh, mục đích và ưu điểm khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn từ phần mô tả chi tiết dưới đây khi được kết hợp với các hình vẽ kèm theo.

### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Các hình vẽ kèm theo được đưa vào và tạo thành một phần của bản mô tả minh họa một vài khía cạnh của sáng chế và, cùng với phần mô tả, sẽ giải thích nguyên tắc của sáng chế. Trong các hình vẽ:

Fig.1 thể hiện mức độ ức chế sự sinh trưởng nhanh hơn của *L. monocytogenes* trên lát thịt gà tây loại ngon chưa xử lý được cấy bề mặt được bảo quản trong điều kiện đóng gói hút chân không ở 4°C trong 14 tuần.

Fig.2 thể hiện hiệu quả kháng khuẩn của một mình thành phần peptit và kết hợp với axit hữu cơ hoặc muối của nó kháng lại *L. monocytogenes* sau khi cấy bề mặt trên lát thịt gà tây loại ngon chưa xử lý, trong điều kiện đóng gói hút chân không ở 4°C trong 13 tuần.

Fig.3 thể hiện sự sinh trưởng của *L. monocytogenes* trên lát thịt gà tây loại ngon chưa xử lý được cấy bề mặt được bảo quản trong điều kiện đóng gói hút chân không ở 4°C trong 11 tuần.

Fig.4 thể hiện hiệu quả của chế phẩm kháng khuẩn kháng lại vi khuẩn axit lactic ở lát thịt gà tây loại ngon chưa xử lý được bảo quản trong điều kiện đóng gói hút chân không ở 4°C trong 7 tuần.

Fig.5 thể hiện hiệu quả của chế phẩm kháng khuẩn kháng lại *L.monocytogenes* sau khi cấy bề mặt trên lát thịt gà tây loại ngon đã xử lý trong điều kiện đóng gói hút chân không ở 4°C trong 8 tuần.

Fig.6 thể hiện hiệu quả kháng khuẩn của axit hữu cơ hoặc muối của nó và peptit kháng khuẩn kháng lại vi sinh vật gây hư hỏng (tổng số đếm trên đĩa) trong phi lê ức gà tươi ở 4°C trong 35 ngày.

Fig.7 thể hiện hiệu quả kháng khuẩn của axit hữu cơ hoặc muối của nó và peptit kháng khuẩn kháng lại sự sinh trưởng của loài *Pseudomonas* trong phi lê ức gà tươi ở 4°C trong 35 ngày.

Trong khi sáng chế sẽ được mô tả kết hợp với các phương án được ưu tiên nhất định, không dự định giới hạn sáng chế ở các phương án này. Trái lại, dự định bao gồm tất cả các phương án khác, các dạng cải biến và tương đương như được bao gồm trong tinh thần và phạm vi của sáng chế như được xác định bởi yêu cầu bảo hộ kèm theo.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Hệ chưa xử lý, độ ẩm cao và natri giảm là chất nền thuận lợi hơn cho sự sinh trưởng nhanh hơn của mầm bệnh và vi khuẩn gây hư hỏng và do đó cần được sản xuất

với (các) chất kháng khuẩn hữu hiệu để làm giảm đến mức tối thiểu các rủi ro cho sức khỏe cộng đồng cũng như các tổn thất kinh tế cho các nhà máy chế biến.

Chế phẩm kháng khuẩn theo phương pháp được mô tả chứa axit hữu cơ hoặc muối của nó và peptit kháng khuẩn, tốt hơn nếu axit hữu cơ là axit axetic với lượng ít nhất là 0,275% trọng lượng và peptit kháng khuẩn là nisin, được sử dụng với lượng để phân phối hoạt tính nằm trong khoảng từ 1 đến 50ppm, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 7 đến 30ppm. Ngoài việc làm chậm quá trình sản sinh độc tố của vi khuẩn tạo bào tử, chế phẩm kháng khuẩn này còn kìm hãm vi khuẩn và trong một vài trường hợp còn diệt vi khuẩn để kiểm soát mầm bệnh cũng như vi khuẩn gây hư hỏng sinh dưỡng. Do đó, chế phẩm này có thể làm tăng độ an toàn và kéo dài thời hạn sử dụng cho sản phẩm.

Mức nisin cần thiết để đạt được hiệu quả kháng khuẩn được tính toán bằng cách thực hiện việc cải biến thử nghiệm khuếch tán thạch được mô tả trước đó với việc sử dụng *Pediococcus pentosaceus* FBB63 làm chủng chỉ thị (ví dụ, xem Jozala, A.F., Silva, D.P., Vicente, A.A., Teixeira, J.A., Junior, A.P., and Penna, T.C.V. 2011. Processing of byproducts to improve nisin production by *Lactococcus lactis*. Afr.J Biotech 10: 14920-14925). Hoạt tính của nisin thu được từ quá trình lên men được so sánh với mẫu chuẩn Nisaplin đã biết trên thị trường. Do đó, hệ số chuyển đổi thu được [1 đơn vị tùy ý (Arbitrary Unit: AU)/g = 1,04 x đơn vị quốc tế (International Unit: IU)/g] được sử dụng để tính toán mức tính theo một phần triệu (part per million: ppm) cần cho hiệu quả kháng khuẩn (1ppm = 40IU).

Các chế phẩm chứa các tỷ lệ khác nhau của mỗi thành phần nằm trong khoảng được ưu tiên đã nêu được gọi là các chế phẩm từ A đến J Trong các chế phẩm đó, nhắc đến phần trăm trọng lượng nghĩa là phần trăm trọng lượng có tính đến sản phẩm thực phẩm mà chế phẩm đó được bổ sung vào.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

Ví dụ 1: Phương pháp ức chế sự sinh trưởng quá nhanh của *L. monocytogenes* trong thịt chưa xử lý có độ ẩm cao và natri thấp trong hệ.

Phương án này mô tả chế phẩm kháng khuẩn để kiểm soát sự sinh trưởng quá nhanh của mầm bệnh như *L. monocytogenes* trong hệ có độ ẩm cao và natri thấp, ví dụ, sản phẩm thịt gà tây loại ngon chưa xử lý ăn liền.

Gà tây loại ngon chưa xử lý (70% ức gà tây, 25,6% nước, 2% tinh bột, 1% đường, 1% muối, 0,4% natri phosphat, 0% natri nitrit) được sản xuất trong điều kiện thực hành sản xuất tốt (Good Manufacturing Practices). Lượng thích hợp của chất kháng khuẩn cho mỗi xử lý được bổ sung cùng với thành phần không phải thịt, xay nhuyễn và nấu đến nhiệt độ cuối cùng là 73,8°C. Độ ẩm của thành phẩm nằm trong khoảng từ 72% đến 76%, với lượng natri giảm là 350 - 450mg trên 56g khẩu phần và độ pH nằm trong khoảng từ 6,1 đến 6,4.

Sản phẩm được cắt lát (22-28g/lát bằng cách sử dụng máy cắt lát đã được làm vệ sinh để ngăn việc nhiễm vi khuẩn gây hư hỏng) và được bảo quản ở 4°C cho đến khi sử dụng trong thử nghiệm nêu ở đây. Các lát đã nấu chín được cấy bề mặt bằng 3 log CFU/g hỗn hợp năm chủng *L. monocytogenes* gồm các chủng FSL-C1-109 (kiểu huyết thanh 4b), LM101M (4b), LM310 (4b), LM132 (1/2 a), và LM108M (1/2b), được đóng gói hút chân không (100g/gói), và bảo quản ở 4°C trong quá trình thử nghiệm. Quần thể *L. monocytogenes* được đếm từ các mẫu đã được cấy trong ba mẫu lặp lại. Tại mỗi thời điểm, các mẫu xử lý cấy được làm đồng nhất trong dung dịch đệm Butterfield vô trùng và được cấy trên đĩa Petri trên thạch Oxford cải biến (35°C, 48 giờ). Việc xử lý mà nuôi dưỡng nhiều hơn 2,0 log CFU/ml từ ngày không được xem là bị hỏng và bị đình chỉ khỏi thử nghiệm.

Theo một phương án ưu tiên, sử dụng chất kháng khuẩn đã cho thấy sự ức chế sinh trưởng của *L. monocytogenes* trong 14 tuần bảo quản ở 4°C. Việc xử lý gồm: (i) mẫu đối chứng không có chất kháng khuẩn, (ii) chế phẩm B với 2,0% trọng lượng, (iii) chế phẩm C với 2,7% trọng lượng, và (iv) đối chứng được sản xuất với 156ppm natri nitrit và 3,8% trọng lượng kali lactat-diaxetat, hỗn hợp thường được sử dụng trong công nghiệp. Các kết quả được thể hiện trên Fig.1.

Các lát thịt gà tây chưa được cấy được đánh giá cảm quan để xác định khả năng chấp nhận tổng thể như được cảm nhận bởi năm người trong nhóm đánh giá đã được đào tạo. Các mẫu thử nghiệm được so sánh với mẫu đối chứng mà không chứa chất kháng khuẩn hoặc natri nitrit và được xem là chấp nhận được bởi những người đánh giá với các mô tả giống với mẫu đối chứng (vị mặn, ngọt, chua, mùi vị gà tây).

Theo một phương án ưu tiên khác, dấm đã được đệm và peptit kháng khuẩn cho thấy hiệu quả cao hơn so với một mình peptit kháng khuẩn trong việc kiểm soát sự sinh

trưởng quá nhanh của *L. monocytogenes* trong lát gà tây loại ngon chưa xử lý, trong điều kiện đóng gói hút chân không ở 4°C trong 13 tuần. Việc xử lý gồm: (i) mẫu đối chứng không có chất kháng khuẩn, (ii) chế phẩm A với 1,2% trọng lượng chứa một mình peptit kháng khuẩn, (iii) chế phẩm B với 3,2% trọng lượng, và (iv) chế phẩm C với 3,9% trọng lượng. Các kết quả được thể hiện trên Fig.2.

Theo một phương án ưu tiên khác, chế phẩm gà tây loại ngon chưa xử lý không hỗ trợ sự sinh trưởng quá nhanh của *L. monocytogenes* trong các lát được đóng gói trong điều kiện không hút chân không và bảo quản ở 4°C trong 11 tuần. Việc xử lý gồm: (i) mẫu đối chứng không có chất kháng khuẩn, (ii) chế phẩm D với 1,85% trọng lượng, (iii) chế phẩm E với 2,95% trọng lượng, và (iv) chế phẩm F với 3,15% trọng lượng. Các kết quả được thể hiện trên Fig.3.

Ví dụ 2: Phương pháp ức chế vi sinh vật gây hư hỏng như sự sinh trưởng của vi khuẩn axit lactic trong thịt chưa xử lý có độ ẩm cao và natri thấp trong hệ.

Phương án này mô tả hiệu quả của phương pháp kết hợp chế phẩm kháng khuẩn để kiểm soát vi khuẩn gây hư hỏng đặc biệt là vi khuẩn axit lactic. Thử nghiệm này được thực hiện trong mẫu thịt chưa xử lý với điều kiện độ ẩm cao và natri thấp như được nêu trong ví dụ 1 và được nghiên cứu thời hạn sử dụng ở 4°C trong 7 tuần. Ba sản phẩm gà tây loại ngon chưa xử lý được sản xuất theo như công thức được nêu trong ví dụ 1. Việc xử lý gồm: (i) mẫu đối chứng không có chất kháng khuẩn, (ii) chế phẩm B với 2,0% trọng lượng, và (iii) chế phẩm G với 2,36% trọng lượng. Số lượng ban đầu của hệ vi khuẩn nền trong sản phẩm sau khi nấu chín được mô tả ở đây phản ánh tình huống nhiễm khuẩn trong khi xử lý và cắt lát. Số lượng vi khuẩn axit lactic trên đĩa được xác định bằng cách cấy trải trên đĩa thành hai bản các mẫu chưa được cấy trên thạch APT có chất chỉ thị màu tia bromocresol. Đĩa được ủ ở 25°C trong 48 giờ. Các kết quả được thể hiện trên Fig.4.

Các kết quả chỉ ra rằng sự kết hợp của dấm được đậm và peptit kháng khuẩn hữu hiệu hơn trong việc kiểm soát vi khuẩn gây hư hỏng trong các điều kiện cụ thể được thử thách so với sự kết hợp của axit lactic và peptit kháng khuẩn.

Ví dụ 3: Phương pháp kiểm soát sự sinh trưởng của *Clostridium sporogenes*

Hoạt tính kháng khuẩn kháng lại *C. sporogenes* PA 3679 được chứng minh trong thử nghiệm nước luộc thịt bằng cách sử dụng môi trường thịt nấu được cải biến vì trước

đó đã chứng minh là chất thay thế không độc cho *C. botulinum*. Việc xử lý gồm: (i) mẫu đối chứng không có chất kháng khuẩn, (ii) chế phẩm B với 2,0% trọng lượng, và (iii) chế phẩm C với 2,7% trọng lượng. Tất cả các mẫu được cấy các bào tử đã được làm sốc nhiệt ở 85°C trong 5 phút với đích là 2,0 log CFU/g và được ủ kỵ khí ở 25°C trong 3-4 ngày. Sự sinh trưởng của *C. sporogenes* được kiểm tra bằng cách cấy trải trên đĩa các dung dịch pha loãng thích hợp trên thạch Mc Lung's cải biến và ủ ở 35-37°C trong 3 ngày. Mỗi xử lý được thử nghiệm làm hai bản. Các kết quả được thể hiện trên bảng 1.

Bảng 1. Phương pháp ức chế *C. sporogenes* bằng chế phẩm kháng khuẩn trong môi trường thịt nấu được cải biến ở 25°C.

| Xử lý                           | Log CFU/ml ban đầu<br>(thời điểm không) | Log CFU/ml cuối<br>(sau 72 giờ) |
|---------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------|
| Mẫu đối chứng                   | 2,0                                     | 7,23                            |
| Chế phẩm B với 2,0% trọng lượng | 2,0                                     | 0                               |
| Chế phẩm C với 2,7% trọng lượng | 2,0                                     | 0                               |

Như sẽ được đánh giá dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực dựa vào số liệu được trình bày trên bảng 1, việc sử dụng dấm được đậm kết hợp với peptit kháng khuẩn là hữu hiệu trong việc ngăn ngừa sự sinh trưởng quá mức của *C. sporogenes*.

Ví dụ 4: Phương pháp ức chế sự sinh trưởng quá nhanh của *L. monocytogenes* trong mẫu thịt đã xử lý (với lượng chất xử lý thấp hơn so với lượng sử dụng truyền thống) có độ ẩm cao và natri thấp trong hệ.

Phương án này mô tả phương pháp sử dụng chế phẩm kháng khuẩn để kiểm soát sự sinh trưởng quá nhanh của mầm bệnh như *L. monocytogenes* trong mẫu thịt được sản xuất với lượng tối thiểu chất xử lý cần để tạo thành thuộc tính màu và mùi vị trong hệ. Ví dụ, trong chế phẩm thịt chế biến trên thị trường, lượng tối đa 156ppm natri nitrit được sử dụng kết hợp với chất kháng khuẩn để đạt được thời hạn sử dụng thông thường là 90 ngày khi bảo quản ướp lạnh. Theo một phương án ưu tiên, lượng natri nitrit được làm giảm đáng kể xuống thấp bằng 20ppm natri nitrit kết hợp với chế phẩm kháng khuẩn được mô tả và đạt được sự kéo dài thời hạn sử dụng như nhau.

Sản phẩm thịt gà tây loại ngon được xử lý (70% ức gà tây, 25,6% nước, 2% tinh bột, 1% đường, 1% muối, và 0,4% natri phosphat) được sản xuất trong các điều kiện thực hành sản xuất tốt. Lượng thích hợp của chất kháng khuẩn cho mỗi xử lý được bổ sung cùng với các thành phần không phải thịt, xay nhuyễn và nấu đến nhiệt độ cuối cùng là 73,8°C. Chế phẩm trong thành phẩm được thấy là có độ ẩm cao (độ ẩm 76%), natri giảm (340mg natri/56g khẩu phần) và ở độ pH gần trung tính (6,1 – 6,3). Các lát đã nấu được cấy, đóng gói hút chân không, và bảo quản ở 4°C để đánh giá hiệu quả đối với việc kiểm soát *L. monocytogenes* như được mô tả trong ví dụ 1. Việc xử lý gồm: (i) 80ppm trọng lượng natri nitrit, (ii) 40 ppm trọng lượng natri nitrit + chế phẩm H với 2,0% trọng lượng, và (iii) 20ppm trọng lượng natri nitrit + chế phẩm I với 2,7% trọng lượng. Các kết quả được thể hiện trên Fig.5.

Các lát thịt gà tây ngon chưa được cấy được đánh giá cảm quan để xác định khả năng chấp nhận tổng thể như được cảm nhận bởi năm người đánh giá được đào tạo. Các mẫu được so sánh với mẫu đối chứng chứa 80ppm natri nitrit (trọng lượng) mà không có chất kháng khuẩn bổ sung và được xem là chấp nhận được bởi những người đánh giá với các mô tả là tương tự với mẫu đối chứng (được xử lý, thơm ngon, ngọt, chua, mùi vị gà tây).

Các kết quả được thể hiện trên Fig.5 chứng minh rằng hỗn hợp dấm được đậm và peptit kháng khuẩn kết hợp với chất xử lý (natri nitrit) là hữu hiệu hơn so với chỉ riêng chất xử lý. Ngoài ra, chế phẩm kháng khuẩn có tiềm năng làm giảm lượng chất xử lý (natri nitrit) trong chế phẩm thịt mà không ảnh hưởng đến đặc tính vi sinh vật.

Lợi ích tương tự được mong đợi trong việc ức chế mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng khi nguồn natri nitrat hoặc nitrit tổng hợp hoặc tự nhiên được sử dụng trong chế phẩm.

Ví dụ 5: Phương pháp ngăn ngừa hoặc làm chậm sự sản sinh độc tố bởi *Clostridium botulinum* trong hỗn hợp thịt gà nhão chưa xử lý.

Phương án này mô tả phương pháp ngăn ngừa hoặc làm chậm sự sản sinh độc tố bởi *Clostridium botulinum* trong hỗn hợp thịt gà nhão chưa xử lý đã được cấy (100 cfu/g). Hỗn hợp thịt gà nhão chưa xử lý (không có natri nitrit) được sản xuất trong các điều kiện thực hành sản xuất tốt. Sản phẩm được sản xuất với thịt gà (70%), nước (23%), tinh bột ngô cải biến (2,1%), muối (1,5%), carrageenan (0,2%), và natri phosphat (0,4%). Việc xử

lý trong thử nghiệm này gồm (i) mẫu đối chứng không có chất kháng khuẩn, (ii), chế phẩm B với 2,0% trọng lượng, (iii) chế phẩm C với 2,7% trọng lượng. Thịt được xay sơ bộ (1/8") được trộn với các thành phần không phải thịt trong cối để sản xuất hỗn hợp thịt nhão, đóng túi, dát mỏng, và được giữ đông lạnh cho đến khi sử dụng.

Để thử nghiệm, hỗn hợp nhão đông lạnh được làm tan giá và cấy các bào tử *C. botulinum* đã được làm sốc nhiệt ở 80°C trong 10 phút. Hai mẻ hỗn hợp thịt nhão riêng được cấy chủng phân giải protein (33A, 36A, 62A, 77A, 53B, 113B, 213B, ACC1B) hoặc chủng không phân giải protein (K85, K86, K87, K88, K89), nấu chín trong túi bằng cách sử dụng bể nước đến nhiệt độ bên trong là 73,8°C. Các mẫu được làm nguội, và ủ trong 2 ngày ở 26,6°C. Để kiểm tra quá trình sản sinh độc tố, các mẫu được lấy ra ở 24 và 48 giờ, chất chiết được lấy và sử dụng cho chuột để kiểm tra sự có mặt của độc tố. Mẻ hỗn hợp thịt nhão khác chỉ được cấy chủng không phân giải protein được ủ tới 8 tuần ở 7°C. Mỗi tuần, các mẫu được lấy ra, được trypsin hóa để hoạt hóa độc tố, và các chất chiết được sử dụng cho chuột để sinh thử nghiệm độc tố.

Quy trình chuẩn được thực hiện trong nuôi cấy và thu hoạch các chủng *Clostridia*, và tiến hành sinh thử nghiệm độc tố ở chuột (xem FDA Bacteriological Analytical Manual for Foods, chương 17, 2015). Tóm lại, với mỗi quan sát, mẫu đã được cấy được cân và bổ sung dung dịch đệm gel-phosphat với thể tích bằng nhau vào (điều chỉnh đến độ pH=6,2), ly tâm trong điều kiện ướp lạnh để thu gom dịch nổi bề mặt để thử nghiệm độc tố. Hỗn hợp này được lọc qua bộ lọc vi lỗ để tránh việc tử vong không xác định của chuột. Đối với các mẫu đã được cấy không phân giải protein, tiến hành trypsin hóa sau khi lọc để hoạt hóa độc tố. Sau đó, nước lọc chứa chất chiết thịt được thu gom trên mỗi mẫu thử nghiệm tại mỗi thời điểm quan sát được pha loãng và sử dụng (0,5ml) cho một cặp chuột bằng cách tiêm trong màng bụng. Chuột được quan sát trong 48 giờ và kiểm tra các triệu chứng và đặc điểm gây tử vong của việc nhiễm độc *C. botulinum*. Việc tử vong sau khi sử dụng chất chiết thịt là bằng chứng có cơ sở của việc tạo thành độc tố. Xác nhận khác đạt được nhờ thử thách hai con chuột khác với chế phẩm kháng độc tố được ủ sơ bộ (37°C trong 30 phút) (mẫu đối chứng được bảo vệ). Việc tử vong không rõ nguyên nhân như hóa chất có mặt trong chất lưu được cấy hoặc chấn thương không được để ý và thử thách được lặp lại để xác nhận sự có mặt của độc tố trong các mẫu thịt. Các kết quả của thử nghiệm được thể hiện trên bảng 2 và 3. Các kết quả này chứng minh rằng sản phẩm được sản xuất với chế phẩm kháng khuẩn là hữu hiệu trong việc làm chậm sự sản

sinh độc tố trong các mẫu được cấy hỗn hợp chủng *C. botulinum* phân giải protein hoặc không phân giải protein đến tận 24 giờ trong khi ủ ở 30°C. Ngoài ra, chế phẩm kháng khuẩn cũng là hữu hiệu trong việc làm chậm sự sản sinh độc tố ở các mẫu được cấy các mẫu không phân giải protein được ủ trong 9 tuần ở 7°C.

Bảng 2: Sự có mặt của độc tố *Clostridium botulinum* trong hỗn hợp thịt nhão chưa được xử lý được cấy hỗn hợp bảo tử phân giải protein và không phân giải protein và được ủ ở 26,6°C trong 48 giờ.

| Xử lý                                     | Cấy bằng hỗn hợp phân giải protein và ủ trong 48 giờ |            |            |            |  | Cấy bằng hỗn hợp không phân giải protein và ủ trong 48 giờ |            |            |            |  |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------|------------|------------|--|------------------------------------------------------------|------------|------------|------------|--|
|                                           | 0 giờ                                                | 24 giờ     | 36 giờ     | 48 giờ     |  | 0 giờ                                                      | 24 giờ     | 36 giờ     | 48 giờ     |  |
| Mẫu đối chứng (không có chất kháng khuẩn) | Âm tính                                              | Dương tính | Dương tính | Dương tính |  | Âm tính                                                    | Dương tính | Dương tính | Dương tính |  |
| Chế phẩm B - 2,0% trọng lượng             | Âm tính                                              | Âm tính    | Dương tính | Dương tính |  | Âm tính                                                    | Âm tính    | Dương tính | Dương tính |  |
| Chế phẩm C - 2,7% trọng lượng             | Âm tính                                              | Âm tính    | Âm tính    | Dương tính |  | Âm tính                                                    | Âm tính    | Dương tính | Dương tính |  |

Bảng 3: Sự có mặt của độc tố *Clostridium botulinum* trong hỗn hợp thịt nhão chưa được xử lý được cấy hỗn hợp bảo tử không phân giải protein và được ủ ở 7°C trong 9 tuần.

| Xử lý                                     | Hỗn hợp không phân giải protein được ủ trong 9 tuần |         |         |            |            |            |            |            |            |
|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------|---------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                                           | Tuần 1                                              | Tuần 2  | Tuần 3  | Tuần 4     | Tuần 5     | Tuần 6     | Tuần 7     | Tuần 8     | Tuần 9     |
| Mẫu đối chứng (không có chất kháng khuẩn) | Âm tính                                             | Âm tính | Âm tính | Dương tính | Dương tính | Không được | Không được | Không được | Không được |

|                                  |         |         |         |         |         |         |         |               |          |          |          |
|----------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------------|----------|----------|----------|
|                                  |         |         |         |         |         |         |         | kiểm tra<br>* | kiểm tra | kiểm tra | kiểm tra |
| Chế phẩm B - 2,0%<br>trọng lượng | Âm tính | Âm tính | Âm tính | Âm tính | Âm tính | Âm tính | Âm tính | Âm tính       | Âm tính  | Âm tính  | Âm tính  |
| Chế phẩm C - 2,7%<br>trọng lượng | Âm tính | Âm tính | Âm tính | Âm tính | Âm tính | Âm tính | Âm tính | Âm tính       | Âm tính  | Âm tính  | Âm tính  |

\* Các mẫu tiếp theo không được kiểm tra vì kết quả là dương tính trong 2 thời điểm liên tục trước đó.

Ví dụ 6: Hiệu quả của chế phẩm kháng khuẩn kháng lại vi sinh vật gây hư hỏng trong phi lê ức gà tươi.

Phi lê ức gà chưa xử lý, không có xương, không có da được trộn trong chân không để đạt được đích là 12% nước xốt marinat tính theo khối thịt. Phi lê ức gà có nước xốt marinat được bảo quản trong túi nhựa dẻo (được gắn kín không hút chân không) ở 4°C cho đến khi hỏng ( $\geq 6,0 \log \text{cfu/g}$ ). Các mẫu được cấy trên đĩa thành hai bản vào các ngày 0, 7, 14, 21, 28, và 35. Hai mươi lăm gam mẫu được lấy ra từ mỗi túi xử lý trong điều kiện vô trùng và pha loãng (tỷ lệ 1:2) trong 0,1% nước pepton và đồng nhất trong 1 phút. Các mẫu được cấy trên đĩa trên nền thạch đậu tương trypsin và thạch *Pseudomonas*. Việc xử lý gồm: (i) mẫu đối chứng không có chất kháng khuẩn, (ii) chế phẩm B với 2,0% trọng lượng, và (iii) chế phẩm J với lượng 1,6% trọng lượng.

Các kết quả được thể hiện trên Fig.6 và Fig.7 chứng minh rằng phi lê ức gà có nước xốt marinat không chứa chất kháng khuẩn bị hỏng vào ngày 14 (tổng số đếm trên đĩa  $> 6,0 \log \text{cfu/g}$ ), trong khi phi lê ức gà được sản xuất với chế phẩm B (1,6% trọng lượng) hoặc J (2,0% trọng lượng) kéo dài thời hạn sử dụng đến 35 ngày khi bảo quản ướp lạnh.

Tất cả các tài liệu viện dẫn, bao gồm các công bố, đơn yêu cầu cấp patent, và các patent được viện dẫn ở đây đều được đưa vào đây bằng cách viện dẫn như thể mỗi tài liệu viện dẫn được chỉ ra riêng lẻ và cụ thể được đưa vào đây bằng cách viện dẫn và được nêu ở dạng toàn bộ nội dung của nó ở đây.

Việc sử dụng các thuật ngữ “một” (“a” và “an” và “the”) và các thuật ngữ tương tự trong phạm vi mô tả sáng chế (đặc biệt là trong phạm vi yêu cầu bảo hộ dưới đây) phải được hiểu là bao gồm cả số ít và số nhiều, trừ khi có quy định khác ở đây hoặc được phủ nhận rõ ràng bởi ngữ cảnh. Các thuật ngữ “gồm,” “có,” “bao gồm,” và “chứa” phải được hiểu là các thuật ngữ không giới hạn (nghĩa là “bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở,”) trừ khi có quy định khác. Việc nêu các khoảng giá trị ở đây chỉ được dự định là cách đề cập nhanh đến mỗi giá trị riêng biệt nằm trong khoảng này, trừ khi có quy định khác ở đây, và mỗi giá trị riêng biệt được hợp nhất vào bản mô tả như thể nó được nêu riêng lẻ ở đây. Tất cả các phương pháp được mô tả ở đây có thể được thực hiện theo thứ tự thích hợp bất kỳ trừ khi có quy định khác ở đây hoặc được phủ nhận rõ ràng bởi ngữ cảnh. Việc sử dụng ví dụ bất kỳ và tất cả các ví dụ, hoặc ngôn ngữ làm ví dụ (ví dụ, “như”)

được nêu ở đây, được dự định chỉ để minh họa rõ hơn sáng chế và không đặt ra giới hạn đối với phạm vi của sáng chế trừ khi được yêu cầu bảo hộ khác. Không có ngôn ngữ nào trong bản mô tả được hiểu là chỉ ra yếu tố không được bảo hộ bất kỳ nếu cần thiết để thực hành sáng chế.

Các phương án được ưu tiên của sáng chế được mô tả ở đây, bao gồm cách tốt nhất đã biết đối với các tác giả sáng chế để thực hiện sáng chế. Các biến thể của các phương án được ưu tiên này có thể trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này khi đọc phần mô tả nêu trên. Các tác giả sáng chế mong muốn người có hiểu biết trung bình sử dụng các biến thể này nếu thích hợp, và các tác giả sáng chế dự định sáng chế có thể được thực hành theo cách khác so với cách được mô tả cụ thể ở đây. Do đó, sáng chế bao gồm tất cả các cải biến và dạng tương đương của đối tượng được nêu trong yêu cầu bảo hộ kèm theo đây như được cho phép bởi luật thích hợp. Ngoài ra, sự kết hợp bất kỳ của các yếu tố nêu trên trong tất cả các biến thể có thể của chúng được bao gồm bởi sáng chế trừ khi có quy định khác ở đây hoặc được phủ nhận rõ ràng khác bởi ngữ cảnh.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sử dụng chế phẩm kháng khuẩn để kiểm soát sự sinh trưởng quá nhanh của mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng trong sản phẩm thực phẩm, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

tạo ra sản phẩm thực phẩm có hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 65% trọng lượng đến 80% trọng lượng, độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5, và hàm lượng muối nhỏ hơn 2,0% trọng lượng, trong đó sản phẩm thực phẩm này không chứa nitrat và nitrit thu được từ các quá trình tổng hợp hoặc lên men;

cho sản phẩm thực phẩm này tiếp xúc với chế phẩm kháng khuẩn chứa axit axetic hoặc muối của nó và peptit kháng khuẩn thu được từ quá trình lên men để kiểm soát sự sinh trưởng của mầm bệnh và sự sinh trưởng của vi sinh vật gây hư hỏng, trong đó axit axetic hoặc muối của nó có nồng độ trong sản phẩm thực phẩm ít nhất là 0,275% trọng lượng; và

đóng gói sản phẩm thực phẩm, trong đó sản phẩm thực phẩm đã đóng gói không chứa nitrat và nitrit.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó mầm bệnh là loài *Listeria*.

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó mầm bệnh là loài thuộc lớp vi khuẩn tạo bào tử gồm loài *Clostridia*.

4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật gây hư hỏng là loài bất kỳ trong số các loài *Lactobacilli*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas*, và *Brochothrix*.

5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó sản phẩm thực phẩm được chọn từ nhóm bao gồm thịt động vật, thức ăn gia súc, hoặc nông sản.

6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó các điều kiện đóng gói sản phẩm thực phẩm là một trong số các điều kiện hút chân không, và điều chỉnh không khí.

7. Hệ kháng khuẩn gồm sản phẩm thực phẩm, trong đó sản phẩm thực phẩm này có các điều kiện sau: 1) hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 65% trọng lượng đến 80% trọng lượng, 2) độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5, 3) hàm lượng muối nhỏ hơn 2,0% trọng lượng, 4) sản phẩm thực phẩm này không chứa nitrat và nitrit thu được từ quá trình tổng hợp hoặc lên men, hệ này còn gồm axit axetic hoặc muối của nó ở nồng độ trong sản

phẩm thực phẩm ít nhất là 0,275% trọng lượng và peptit thu được từ quá trình lên men, trong đó, axit axetic hoặc muối của nó và peptit thu được từ quá trình lên men này có thể hoạt động kết hợp để kiểm soát sự sinh trưởng của vi khuẩn trong sản phẩm thực phẩm ở các điều kiện không chứa nitrat và nitrit thu được từ quá trình tổng hợp hoặc lên men nói trên.

8. Phương pháp theo điểm 1, trong đó độ pH của axit axetic hoặc muối của nó nằm trong khoảng từ 5,0 đến 8,0

9. Phương pháp theo điểm 1, trong đó peptit kháng khuẩn thu được từ quá trình lên men là bacterioxin.

10. Phương pháp theo điểm 9, trong đó bacterioxin là peptit kháng khuẩn được tổng hợp bằng ribosom được tạo ra bởi vi khuẩn mà diệt hoặc ức chế sự sinh trưởng của vi khuẩn khác.

11. Phương pháp theo điểm 10, trong đó bacterioxin được chọn từ nhóm bao gồm nisin, sakaxin, pedioxin, và lactoxin.

12. Phương pháp theo điểm 11, trong đó bacterioxin là nisin với lượng nằm trong khoảng từ 1 ppm đến 50 ppm trong sản phẩm thực phẩm.

13. Phương pháp theo điểm 1, trong đó hoạt tính kháng khuẩn của chế phẩm kháng khuẩn là kìm hãm vi khuẩn hoặc diệt khuẩn.

14. Phương pháp theo điểm 1, trong đó chế phẩm kháng khuẩn ở dạng bột hoặc dạng lỏng.

15. Phương pháp theo điểm 1, trong đó chế phẩm kháng khuẩn trong dung dịch có độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 8.

16. Phương pháp theo điểm 1, trong đó các điều kiện đóng gói của sản phẩm thực phẩm là điều kiện không hút chân không.

17. Phương pháp sử dụng chế phẩm kháng khuẩn để kiểm soát sự sinh trưởng quá nhanh của mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng trong sản phẩm đồ uống, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

tạo ra sản phẩm đồ uống có hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 65% trọng lượng đến 80% trọng lượng, độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5, và hàm lượng muối nhỏ

hơn 2,0% trọng lượng; trong đó sản phẩm đồ uống này không chứa nitrat và nitrit thu được từ các quá trình tổng hợp hoặc lên men;

cho sản phẩm đồ uống này tiếp xúc với chế phẩm kháng khuẩn chứa axit axetic hoặc muối của nó và peptit kháng khuẩn thu được từ quá trình lên men để kiểm soát sự sinh trưởng của mầm bệnh và sự sinh trưởng của vi sinh vật gây hư hỏng, trong đó axit axetic hoặc muối của nó có nồng độ trong sản phẩm đồ uống ít nhất là 0,275% trọng lượng; và

đóng gói sản phẩm đồ uống, trong đó sản phẩm đồ uống đã đóng gói không chứa nitrat và nitrit

18. Hệ kháng khuẩn gồm sản phẩm đồ uống, trong đó sản phẩm đồ uống này có các điều kiện sau: 1) hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 65% trọng lượng đến 80% trọng lượng, 2) độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5, 3) hàm lượng muối nhỏ hơn 2,0% trọng lượng, và 4) sản phẩm đồ uống này không chứa nitrat và nitrit thu được từ các quá trình tổng hợp hoặc lên men, hệ này còn gồm axit axetic hoặc muối của nó ở nồng độ ít nhất là 0,275% trọng lượng và peptit thu được từ quá trình lên men, trong đó axit axetic hoặc muối của nó và peptit thu được từ quá trình lên men này có thể kết hợp được để kiểm soát sự sinh trưởng của vi khuẩn trong sản phẩm đồ uống ở các điều kiện không chứa nitrat và nitrit thu được từ các quá trình tổng hợp hoặc lên men nói trên.

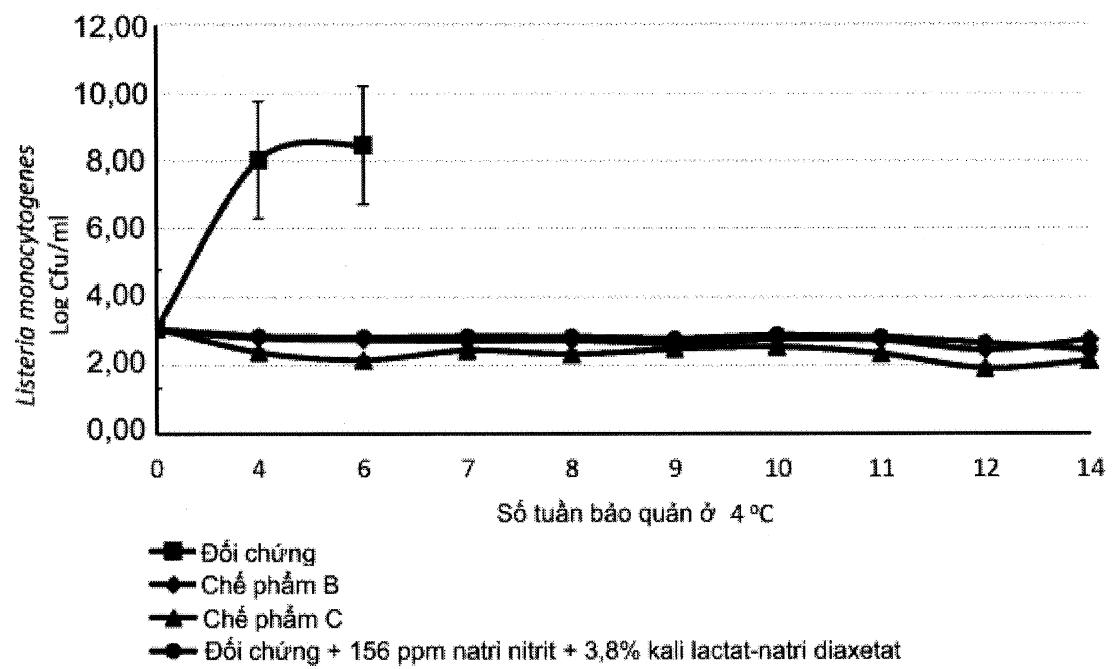


FIG. 1

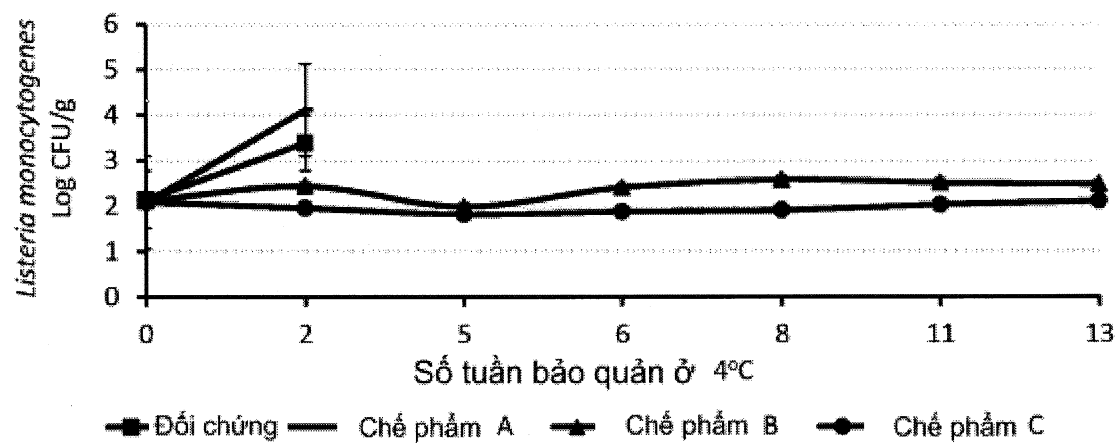


FIG. 2

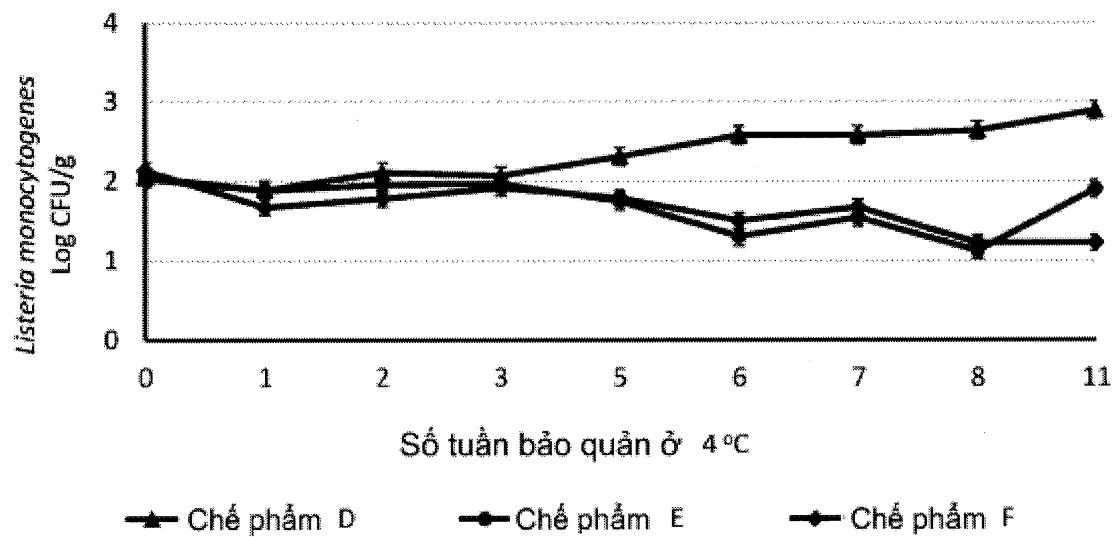


FIG. 3

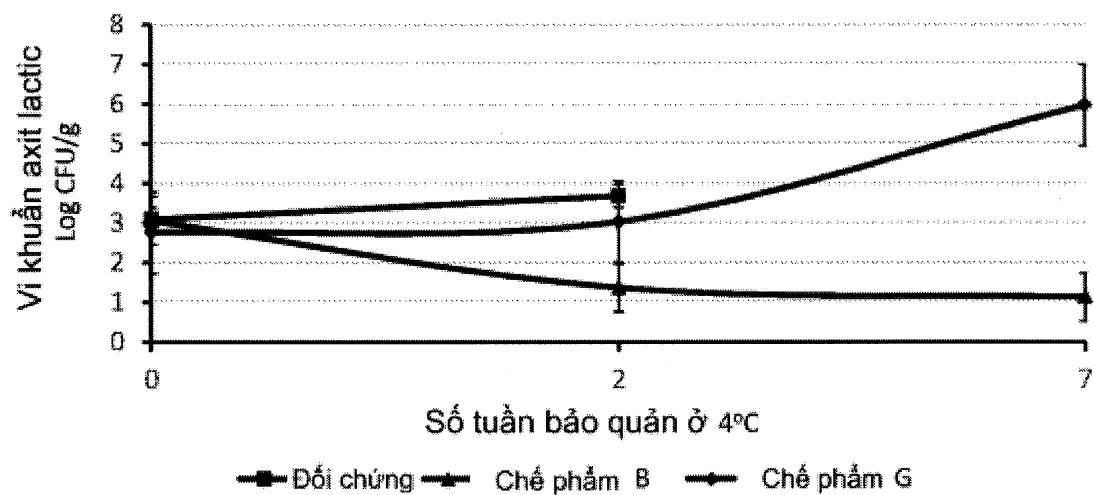


FIG. 4

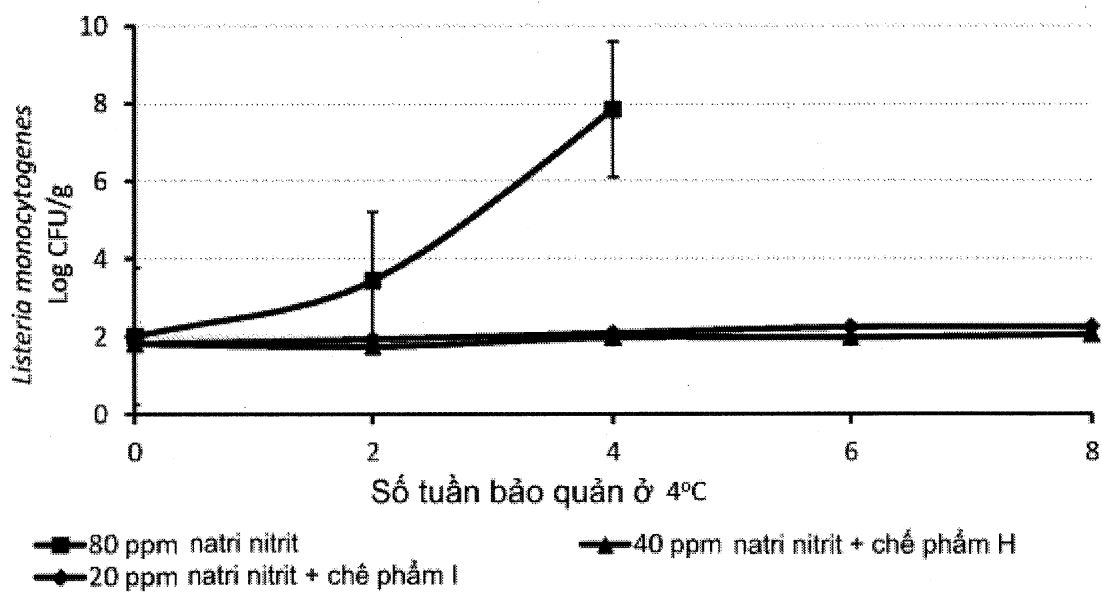


FIG. 5

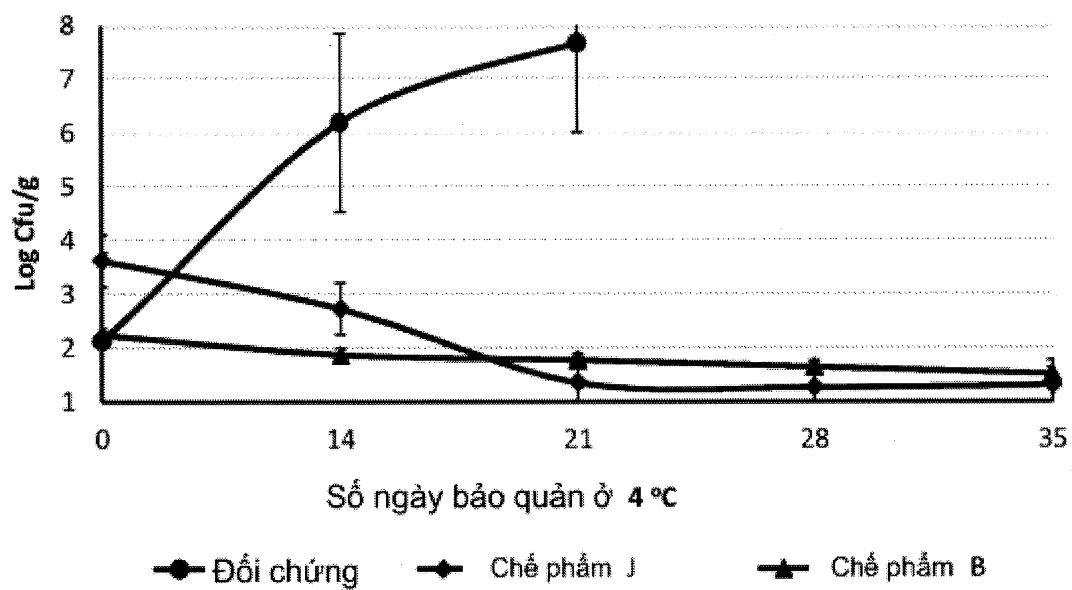


FIG. 6

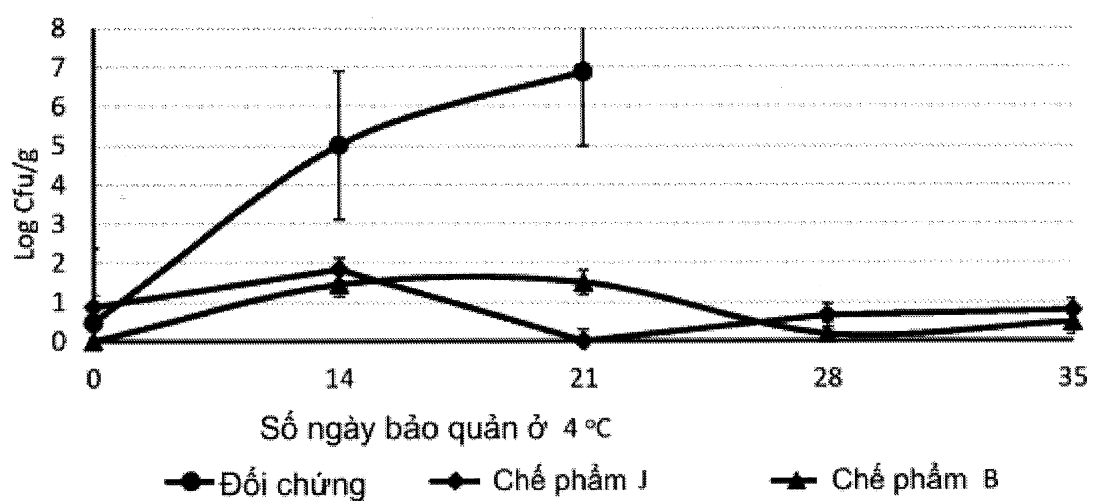


FIG. 7