

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi được hướng dẫn bởi Tiến Sĩ Phạm Xuân Kỳ và Tiến Sĩ Lê Hồ Khánh Hỷ và dựa trên những tài liệu tham khảo mà tôi tìm hiểu được. Chính vì vậy các kết quả số liệu trong luận văn này do tôi tìm hiểu và nghiên cứu, đảm bảo trung thực và khách quan nhất, nếu sai sót tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm.

Tác giả luận văn

Huỳnh Mẫn Trân

## LỜI CẢM ƠN

Đầu tiên, tôi xin chân thành gửi lời cảm ơn sâu sắc đến Tiến Sĩ Phạm Xuân Kỳ và Tiến Sĩ Lê Hồ Khánh Hỷ, người thầy và người cô đã tận tình hướng dẫn, động viên và giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu và thực hiện luận văn.

Chân thành cảm ơn quý anh chị, Phòng Hóa sinh biển- Viện Hải dương học đã giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện thí nghiệm thực hành đề nghiên cứu hoàn thành luận văn

Và cũng xin gửi lời cảm ơn đối với Ban Lãnh Đạo Học Viện Khoa Học và Công Nghệ đã tạo điều kiện thuận lợi, giúp tôi hoàn thành chương trình đào tạo thạc sĩ Hóa phân tích khóa K2021A năm học 2021-2023.

Cảm ơn Sở Giáo dục và Đào tạo Khánh Hòa, Ban lãnh đạo trường THPT chuyên Lê Quý Đôn- Khánh Hòa đã giúp đỡ và tạo điều kiện cho tôi được thuận lợi trong thời gian học tập ở Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang và làm thực nghiệm đề tài ở Viện Hải dương học.

Và cuối cùng, không thể không nhắc đến gia đình, các anh chị đồng nghiệp đã luôn bên cạnh, thấu hiểu, động viên, chia sẻ giúp tôi hoàn thành tốt song song giữa công việc và học tập.

Một lần nữa, tôi xin chân thành cảm ơn!

Nha Trang, ngày 25 tháng 10 năm 2023

Huỳnh Mẫn Trân

## MỤC LỤC

MỤC LỤC .....	1
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT .....	3
DANH MỤC CÁC BẢNG .....	5
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ .....	6
MỞ ĐẦU .....	8
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN .....	11
1.1. KHÁI QUÁT VỀ CÁ NGỪ VẪN .....	11
1.1.1. Đặc điểm .....	11
1.1.2. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của cá ngừ .....	11
1.1.3. Sự phân bố và khai thác cá ngừ vằn trên thế giới .....	12
1.1.4. Sự phân bố và khai thác cá ngừ vằn ở Việt Nam .....	12
1.2. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU SỰ PHÁT SINH CÁC SẢN PHẨM CÓ HẠI ...	13
1.2.1. Quá trình hư hỏng hình thành các sản phẩm có hại trên cá .....	13
1.2.1.1. Sự phân hủy của protein .....	13
1.2.1.2. Sự oxi hóa acid béo .....	14
1.2.1.3. Sự biến đổi một số đặc tính hóa, lý .....	16
1.2.1.4. Indole và Skatole .....	19
1.2.2. Các phương pháp bảo quản .....	22
Trên thế giới .....	22
Đông lạnh .....	22
Hóa chất .....	23
Sodium acetate .....	24
Butylated Hydroxyanisole (BHA) .....	24
Đóng gói .....	25
Ở Việt Nam .....	25
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	28
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU .....	28
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	28
2.2.1. Vật liệu nghiên cứu .....	28
2.2.2. Bố trí thí nghiệm .....	28
2.2.3. Các phương pháp phân tích .....	30
2.2.3.1. Các phương pháp .....	30
2.2.3.2. Cách tiến hành .....	30
Xác định cảm quan về màu sắc, mùi, độ tươi của cá: .....	30
Xác định giá trị pH trong thịt cá .....	31

Xác định hàm lượng nước theo phương pháp của AOAC (2016).....	31
Xác định hàm lượng lipid .....	31
Xác định hàm lượng protein .....	31
Xác định chỉ số peroxide value (PV).....	32
Xác định chỉ số thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) .....	32
Thí nghiệm xác định chỉ số sulfhydryl (-SH) .....	32
Xác định các hợp chất bay hơi indole và skatole .....	32
2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu .....	33
<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>34</b>
3.1. Hàm lượng nước, protein và lipid và một số đặc tính hóa lí của thịt cá ngừ vằn sau đánh bắt.....	34
3.1.1. Hàm lượng nước, protein và lipid và pH .....	34
3.1.2. Một số chỉ tiêu cảm quan màu sắc, mùi, kết cấu cơ thịt.....	34
3.2. Hàm lượng một số chất có hại liên quan đến chất lượng thịt cá ngừ vằn được bảo quản bằng muối NaA và hợp chất BHA lưu giữ ở nhiệt độ 0 °C và -20 °C theo thời gian.....	36
3.2.1. Thay đổi hàm lượng nước ở thịt cá theo thời gian.....	36
3.2.2. Thay đổi hàm lượng lipid theo thời gian .....	39
3.2.3. Thay đổi giá trị pH ở thịt cá theo thời gian.....	41
3.2.4. Thay đổi hàm lượng protein ở thịt cá theo thời gian .....	43
3.2.5. Thay đổi chỉ số peroxide value (PV) ở thịt cá theo thời gian .....	44
3.2.6. Thay đổi chỉ số Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ở thịt cá theo thời gian .....	47
3.2.7. Thay đổi chỉ số sulfhydryl (-SH) ở thịt cá theo thời gian.....	49
3.2.8. Hàm lượng các hợp chất indole và skatole ở thịt cá theo thời gian.....	53
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>56</b>
<b>KẾT LUẬN .....</b>	<b>56</b>
<b>KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>57</b>
<b>DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>58</b>
<b>PHỤ LỤC .....</b>	<b>67</b>

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
AOAC	Association of Official Analytical Chemists	Hiệp hội các nhà hoá học phân tích chính thống.
BCA	Axit bichinoninic	Axit bichinoninic
2-BHA	2- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyanisole	2- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyanisol
3-BHA	3- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyanisole	3- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyanisol
BHA	Butylated hydroxyanisole	Hydroxyanisol đã butylat hóa
BHT	Butylated hydroxytoluene	Hydroxytoluene butylated
CAS	Cells Alive System	Hệ thống giữ gìn tế bào sống
DHA	Docosahexaenoic acid	Axit docosahexaenoic
DNA	Deoxyribonucleic acid	Axit deoxyribonucleic
DP	Damage point	Điểm hư hỏng
DPA	Docosapentaenoic acid	Axit docosapentaenoic
DTNB	5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)	5,5'-Dithiobis (axit 2-nitrobenzoic)
ĐC		Đối chứng
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid	Axit etylendiamintetraaxetic
EPA	Eicosapentaenoic acid	Axit eicosapentaenoic
FDA	Food and Drug Administration	Cục Quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ
FFA	Free fatty acids	Acid béo tự do
FR	Free radicals	Gốc tự do
HDPE	High Density Polyethylene	Vật liệu nhựa dẻo mật độ cao
IAA	Indole acetic acid	Axit axetic indol
LCPUFA	Long-chain polyunsaturated fatty acids	Các acid béo không bão hòa đa chuỗi dài
MDA	Malondyaldehyde	Malondyaldehyde
MUFA	Monounsaturated fatty acid	Các acid béo không bão hòa đơn
NaA	Sodium acetate	Natri axetat
NaL	Sodium lactate	Natri lactat
PE	Polyethylene	Poly etylen
PET	Polyethylene terephthalate	Poly (etylen terephthalat)
PS	Polystyrene	Poly stiren
PV	Peroxide value	Giá trị peroxide
PVC	Poly (vinyl chloride)	Poly (vinyl clorua)

QI	Quality indicators	Chỉ số chất lượng
SDS	Sodium dodecyl sulfate	Natri dodecyl sunfat
SFA	Saturated Fatty Acid	Các acid béo bão hoà
SH	Sulfhydryl	Sulfhydryl
SPE	Solid phase extraction	Chiết pha rắn
TBA	Tert-butyl alcohol	Rượu tert-butyl
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances	Các chất phản ứng với axit thiobarbituric
TCA	Trichloroacetic acid	Axit tricloaxetic
TMA	Trimethylamine	Trimetylamin
TMAO	Trimethylamin oxide	Trimetylamin oxit
Tris HCl	Tris hydrochloride	Tris hydroclorua
TRP	Tryptophan	Tryptophan
USAID	United States Agency for International Development	Cơ quan Phát triển Quốc tế của Hoa Kỳ
VASEP	Vietnam Association of Seafood Exporters and Producers	Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Việt Nam
WCPFC	Western & Central Pacific Fisheries Commission	Ủy ban Nghề cá Trung - Tây Thái Bình Dương

## DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2. 1. Bảng các phương pháp xác định thành phần sinh hóa của cơ cá ngừ vằn...30	30
Bảng 2. 2. Bảng các phương pháp xác định chất độc hại trong cơ cá ngừ vằn.....30	30
Bảng 2. 3. Bảng các đặc điểm cảm quan trong cơ cá ngừ vằn.....30	30
Bảng 2. 4. Bảng điểm hư hỏng (DP) xếp loại thịt cá ngừ vằn.....31	31
Bảng 3. 1. Hàm lượng nước, protein và lipid % theo khối lượng của cơ cá ngừ vằn. ..34	34
Bảng 3. 2. Các chỉ tiêu chất lượng ở cơ cá ngừ bảo quản ở 0 °C theo thời gian.....34	34
Bảng 3. 3. Các chỉ tiêu chất lượng ở cơ cá ngừ bảo quản ở -20 °C theo thời gian. ....35	35
Bảng 3. 4. Hàm lượng các hợp chất indole và skatole ở thịt cá lưu trữ ở nhiệt độ 0 °C.....53	53
Bảng 3. 5. Hàm lượng các hợp chất indole và skatole ở thịt cá ở nhiệt độ -20 °C.....53	53
Bảng 3. 6. Bảng số liệu giá trị pH, H <sub>2</sub> O của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở 0 °C.....67	67
Bảng 3. 7. Bảng số liệu giá trị lipid, PV, TBARS của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở 0 °C ..67	67
Bảng 3. 8. Bảng giá trị số liệu protein, SH của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở 0 °C .68	68
Bảng 3. 9. Bảng số liệu giá trị pH, H <sub>2</sub> O của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở -20 °C ....69	69
Bảng 3. 10. Bảng số liệu giá trị lipid, PV, TBARS của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở -20 °C...70	70
Bảng 3. 11. Bảng giá trị số liệu protein, SH của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở -20 °C ..71	71

## DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1. 1. Cá ngừ vằn ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ).....	11
Hình 1. 2. Sự hình thành skatole (3-metyl-indole) và indole từ TRP trong ruột và quá trình chuyển hóa tiếp theo thông qua các enzyme ở pha 1 và pha 2, (mũi tên đen: con đường đã biết; mũi tên gãy: con đường giả định). ....	21
Hình 3. 1. Hàm lượng nước của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	37
Hình 3. 2. Hàm lượng nước của thịt cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	38
Hình 3. 3. Hàm lượng lipid % của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	39
Hình 3. 4. Hàm lượng lipid % của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	40
Hình 3. 5. Giá trị pH của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	41
Hình 3. 6. Giá trị pH của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	42
Hình 3. 7. Hàm lượng protein % của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	43
Hình 3. 8. Hàm lượng protein % của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	44
Hình 3. 9. Giá trị chỉ số PV (meq O <sub>2</sub> /kg) của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	45
Hình 3. 10. Giá trị chỉ số PV (meqO <sub>2</sub> /kg) của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	46
Hình 3. 11. Giá trị TBARS (mg/kg) của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	48
Hình 3. 12. Giá trị TBARS (mg/kg) của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	48
Hình 3. 13. Giá trị -SH (μmole/g) của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	50
Hình 3. 14. Giá trị -SH của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).....	51
Hình 3. 15. Sắc ký đồ GC/MS của (a) Indole chuẩn (0,2mg/ml) và (b) mẫu cơ cá ngừ ngày 20 ở 0 °C phân tích bằng hệ thống GC/MS Shimadzu, 2010 .....	72
Hình 3. 16. Hình tử giữ đông ở (a) 0 °C và (b) -20 °C .....	72



- Hình 3. 17. Hình ảnh về thiết bị thí nghiệm (a) cân mẫu cá, (b) máy khuấy từ, (c) hệ thống cô quay.....73
- Hình 3. 18. Hình ảnh mẫu (a) mẫu sau cô quay, (b) mẫu chiết chất bay hơi. ....73
- Hình 3. 19. Hình ảnh mẫu cá (a) mẫu ĐC ngày 10 ở 0 °C, mẫu được xử lí bởi NaA ở -20 °C.. 73

## MỞ ĐẦU

### Lý do chọn đề tài

Ở Việt Nam nói chung và tỉnh Khánh Hòa nói riêng, khai thác thủy sản là một thế mạnh về kinh tế, trong đó cá ngừ vằn cũng là một mặt hàng chủ lực. So với các loại thịt khác như thịt gà, bò..., cá ngừ vằn cũng rất giàu Fe, Cu và Zn và các khoáng chất cần thiết cho cơ thể con người nên cá ngừ vằn được xem là một trong số các nguồn thực phẩm thiết yếu đáp ứng được các nhu cầu về dinh dưỡng cần thiết của con người. Tuy nhiên, cũng như một số loại cá ngừ khác thì cá ngừ vằn có hàm lượng protein cao, khoảng 24,13%. Bên cạnh đó hàm lượng nước lớn 73,28%, trong khi đó hàm lượng chất béo thấp 0,41% nhưng chứa phần lớn là acid không no nhiều nối đôi mạch dài  $\omega$ -6,  $\omega$ -3 (PUFA), đặc biệt là acid  $\omega$ -3 như eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA, khoảng 35,66%) và một lượng thấp docosapentaenoic acid (DPA). Ngoài ra giá trị pH ở thịt cá cũng khá cao ( $\geq 6$ ). Những yếu tố này dễ dẫn đến xảy ra các quá trình phân hủy protein hay oxi hóa chất béo (còn gọi là sự ôi hóa) làm giảm chất lượng, gây hư hỏng ở sản phẩm trong điều kiện môi trường lưu trữ không thích hợp của enzymes nội sinh hay các vi sinh vật. Các quá trình biến đổi hóa học này tạo ra một số chất gây hại như các chất bay hơi như dimethylamine, trimethylamine, 2,3-dimethyloxirane, 2-butanone, 2-formylhistamine, 2-methyl-2-propanol, acetaldehyde.... tạo mùi hơi chua, hoặc hơi đắng, trong đó trimethylamine (TMA) do vi khuẩn sinh ra từ quá trình khử trimethylamine oxide (TMAO) có mùi “cá tanh” rất đặc trưng. Kết quả dẫn đến sự thay đổi về một số đặc tính lí, hóa và làm giảm chất lượng thịt cá.

Cho đến nay, có rất ít các công bố nghiên cứu về sự hình thành các sản phẩm có hại trong quá trình lưu trữ ở các sản phẩm thủy sản nói chung và cá ngừ vằn nói riêng ở nước ta. Với các cơ sở trên, trong phạm vi luận văn thạc sĩ chuyên ngành hóa phân tích, việc nghiên cứu các chất gây hại phát sinh trong quá trình bảo quản cá ngừ vằn là cần thiết để cung cấp dữ liệu khoa học làm cơ sở để cho các nghiên cứu quy trình bảo quản tiếp theo.

### Mục đích nghiên cứu

Qua việc khảo sát sự thay đổi hàm lượng một số thành phần sinh hóa cơ bản và một số chất gây hại phát sinh trong quá trình bảo quản theo thời gian, nghiên cứu này cung cấp các dẫn liệu khoa học làm cơ sở để phát triển phương pháp bảo quản nguyên liệu cá ngừ vằn *Katsuwonus pelamis* (Linnaeus, 1758), đảm bảo chất lượng, kéo dài thời gian sử dụng giúp tăng hiệu quả kinh tế loài cá này.

### Nội dung nghiên cứu

Trong đề tài này, tôi đã tiến hành nghiên cứu các vấn đề sau:

Nội dung 1: Khảo sát hàm lượng nước, protein và lipid và một số đặc tính hóa lí

của thịt cá ngừ vằn sau đánh bắt.

Nội dung 2: Khảo sát một số chất có hại liên quan đến chất lượng thịt cá ngừ vằn được bảo quản bằng muối sodium acetate (NaA) và hợp chất kháng oxi hóa Butylated Hydroxyanisole (BHA) lưu giữ ở nhiệt độ 0 °C và -20 °C theo thời gian.

+ Xác định một số tính chất của nguyên liệu và hàm lượng nước, lipid, protein bảo quản bằng muối sodium acetate (NaA) và hợp chất kháng oxi hóa Butylated Hydroxyanisole (BHA) được lưu giữ ở nhiệt độ 0 °C và -20 °C theo thời gian.

+ Xác định hàm lượng peroxide value (PV) và Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), sulfhydryl (-SH) và một số hợp chất bay hơi (indole, skatole) ở cá ngừ được bảo quản bằng muối sodium acetate và hợp chất kháng oxi hóa Butylated Hydroxyanisole (BHA) được lưu giữ ở các nhiệt độ 0 °C và -20 °C theo thời gian.

### **Cơ sở khoa học và tính thực tiễn của đề tài**

Cá ngừ vằn (*Katsuwonus pelamis*) là loài cá có giá trị kinh tế với vai trò là một loài quan trọng đối với ngành đánh bắt thủy sản nước ta. Việc khai thác số lượng lớn cá ngừ kéo theo các vấn đề về bảo quản, lưu giữ và vận chuyển để đáp ứng nhu cầu thực phẩm cho người tiêu thụ trở nên cần thiết.

Tuy nhiên, do hàm lượng nước cũng như lipid, protein khá cao,  $\text{pH} \geq 6$  nên cá dễ bị hư hỏng. Protein ở cá dễ bị phân hủy thành các hợp chất thứ cấp, trong khi lipid có thể bị oxi hóa hình thành acid béo, từ đó tạo ra peroxide, các aldehyde, acid hữu cơ. Sự hư hỏng của cá có thể do hoạt động từ bên ngoài như tác dụng của vi sinh vật, nấm men, nấm mốc, hay do chính tác động từ nội tại của chúng như sự tự phân hủy bởi enzymes hoặc quá trình oxi hóa hóa học. Sự hư hỏng dẫn đến thay đổi cấu trúc cơ, màu sắc, mùi vị của sản phẩm và có thể sinh ra các chất có hại, dẫn đến sự suy giảm về chất lượng, ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu thụ. Do vậy việc tăng thời hạn sử dụng và duy trì giá trị dinh dưỡng, kết cấu và hương vị, độ tươi và chất lượng của cá luôn nhận được sự quan tâm của các Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Ngành Chế biến Thực phẩm.

Trong luận văn này, lần đầu tiên tôi đề xuất nghiên cứu một số chất có hại hình thành trong quá trình lưu trữ, bảo quản liên quan đến sự thay đổi chất lượng cá ngừ vằn nhằm đưa ra những dẫn liệu khoa học làm cơ sở để đề xuất các phương pháp bảo quản phù hợp nhằm tránh được các thiệt hại và tổn thất, giúp tăng hiệu quả sử dụng và giá trị kinh tế đối với loài cá này.

### **Những đóng góp của luận văn**

Với những số liệu đo đạc được và những hiểu biết về lĩnh vực nghiên cứu, đề tài đã cung cấp các dữ liệu khoa học để làm cơ sở nghiên cứu xây dựng quy trình bảo quản cá ngừ. Kết quả nghiên cứu cũng góp phần trong ngành công nghệ chế biến, nâng cao giá trị sử dụng và kinh tế đối với nguồn nguyên liệu cá ngừ.

## **Bố cục của luận văn**

Luận văn gồm những chương mục sau:

Mở đầu

Chương 1: Tổng quan

Chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Chương 3: Kết quả và thảo luận

Kết luận và kiến nghị

Tài liệu tham khảo

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

### 1.1. KHÁI QUÁT VỀ CÁ NGỪ VẦN

#### 1.1.1. Đặc điểm

Cá ngừ vằn hay tên gọi khác là cá ngừ sọc là một loài cá ngừ trong Họ Cá thu ngừ (*Scombridae*) có tên tiếng Anh là Skipjack tuna, tên khoa học là *Katsuwonus pelamis*. Đây là loài cá phân bố ở vùng biển nhiệt đới và ôn đới ấm, có giá trị kinh tế với vai trò là một loài rất quan trọng đối với ngành đánh bắt thủy sản.



Hình 1. 1. Cá ngừ vằn (*Katsuwonus pelamis*)

Về hình dáng, cá có thân hình thoi, đầu cá hơi nhọn, miệng hơi xiên, hai vây lưng sát nhau. Vây lưng thứ nhất có các tia vây trước cao, sau thấp dần tạo thành dạng lõm tròn. Thân cá không phủ vẩy trừ phần giáp ngực, lưng màu xanh thẫm, bụng màu trắng bạc, các viền vây lưng, bụng, ngực có màu bạc trắng, dọc theo lườn bụng có 3-5 sọc đen to gần song song với nhau. Chiều dài trung bình của cá từ 36 – 60 cm, khối lượng thường gặp từ 1- 6 kg, con lớn nhất 25 kg. Cá ngừ vằn thường đi thành từng đàn để kiếm thức ăn, với mật độ lớn ở vùng khơi, đôi khi vào gần bờ để kiếm ăn, thường đi lẫn với cá ngừ ồ và cá ngừ chù. Cá được khai thác chủ yếu bởi lưới rê, vây, câu vàng, câu giật, câu kéo và đăng.

#### 1.1.2. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của cá ngừ

Cá ngừ nhìn chung là nguồn thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao. Khảo sát thành phần hóa học của một số loài cá ngừ như cá ngừ vằn (*Katsuwonus pelamis*), cá ngừ chấm (*Euthynnus affinis*), cá ngừ chù (*Auxis thazard*), cá ngừ vây vàng (*Thunnus albacares*), cá ngừ mắt to (*Thunnus obesus*) cho thấy hàm lượng protein dao động từ 21,18-24,13%, lipid từ 0,41-2,06%, nước từ 72,89-77,04% và tro từ 0,88-1,77%. Trong đó cá cá ngừ vằn có hàm lượng protein 24,13%, lipid 0,41%, nước 73,28% và tro 1,43%. Như vậy có thể thấy, ở thịt cá ngừ nói chung, protein chiếm tỷ lệ trên 20% - cao hơn khá nhiều so với hàm lượng protein trong thịt lợn hay thịt gà. Ngoài ra, hàm lượng khoáng đạt khá cao, trong khi hàm lượng chất béo thấp hơn. Đối với cá ngừ vằn thì hàm lượng

protein và các khoáng chất cao hơn nhưng hàm lượng lipid lại thấp hơn nhiều so với các loại cá ngừ khác. Bên cạnh đó, theo Mahaliyana và cộng sự (2015) [1] và Sánchez-Zapata và cộng sự (2011) [2] thì trong thịt cá ngừ có hầu như đầy đủ các acid amine thiết yếu, chiếm 49-52% tổng lượng acid amine. Xét về chất khoáng thì thịt cá giàu sắt (240 mg/100g), đồng (50 mg/100g) và kẽm (68,9 mg/100g), đặc biệt, thịt cá có chứa hàm lượng cao nguyên tố vi lượng selen, đạt khoảng 50 µg/100g là các khoáng chất cần thiết cho quá trình trao đổi chất của con người. Ở thịt loài cá này, các acid béo không bão hòa đa nổi trội chiếm 64% tổng lượng acid béo, với tỷ lệ cao docosahexaenoic acid (DHA) và eicosapentaenoic acid (EPA). Các acid béo chiếm ưu thế trong cơ cá ngừ vẫn là DHA, C16:0 (palmitic acid) và C18:0 (stearic acid). So với các acid béo khác, hàm lượng DHA rất cao, khoảng 35,66%. Nhìn chung, các loài cá ngừ nói chung và cá ngừ vẫn nói riêng được xem là nguồn cung cấp protein chất lượng cao tuyệt vời cho con người vì thịt cá chứa lượng protein cao hơn so với các loại hải sản ăn được khác. Ngoài ra, cá ngừ vẫn là nguồn thực phẩm được sử dụng trong chế độ ăn uống, đặc biệt dành cho người ăn kiêng vì chứa hàm lượng cao các acid béo không bão hòa, ít calo, có thể thay thế cho thịt và các sản phẩm từ sữa. Như vậy, có thể thấy cá ngừ vẫn là nguồn nguyên liệu tiềm năng của ngành công nghiệp chế biến sản phẩm thủy hải sản.

### **1.1.3. Sự phân bố và khai thác cá ngừ vẫn trên thế giới**

Cá ngừ vẫn (*Katsuwonus pelamis*) phân bố rộng ở vùng biển nhiệt đới và ôn đới, gặp nhiều ở biển Nam Phi, Australia, Nhật Bản, Malaysia, Indonesia, Philippin, Trung Quốc, Ấn Độ, Sri Lanka. Đây là loài cá tự nhiên được khai thác nhiều thứ ba trên thế giới, với khoảng 70% trong tổng số ba triệu tấn ước tính cập cảng trên toàn cầu có nguồn gốc từ Thái Bình Dương. Vùng biển Trung và Tây Thái Bình Dương là ngư trường khai thác cá ngừ vẫn lớn nhất thế giới, kéo dài từ phía đông Philippines đến Micronesia. Tại đây, cá ngừ vẫn và các loài thủy sản khác di chuyển theo hướng bắc đến bờ biển của Nhật Bản. Năm 2013, sản lượng cá ngừ tại Thái Bình Dương tăng do sự di cư về hướng đông. Tổng sản lượng khai thác hàng năm cá ngừ vẫn và cá ngừ khác từ Trung Tây Thái Bình Dương đạt mức cao 2,5 triệu tấn. Theo số liệu thống kê mới nhất vào năm 2018 đã được công bố bởi Ủy ban Nghề cá Trung - Tây Thái Bình Dương (WCPFC) thì cá ngừ vẫn có trữ lượng 1.795.048 tấn chiếm 66% trong tổng sản lượng khai thác tạm thời tại khu vực này. Ngoài ra, tổng sản lượng của tất cả các loài cá ngừ thương mại tại khu vực Trung và Tây Thái Bình Dương đóng góp tới 55% sản lượng đánh bắt cá ngừ toàn cầu.

### **1.1.4. Sự phân bố và khai thác cá ngừ vẫn ở Việt Nam**

Việt Nam cũng là một quốc gia khai thác và xuất khẩu cá ngừ. Ở Việt Nam, cá ngừ phân bố từ vịnh Bắc Bộ đến vịnh Thái Lan, nhưng thường xuyên gặp ở vùng biển miền Trung và nhiều ở vùng biển khơi. Mùa vụ khai thác cá ngừ ở vùng biển Việt Nam

gồm hai vụ, vụ chính bắt đầu từ tháng 4 đến tháng 8, vụ phụ từ tháng 10 đến tháng 2 năm sau. Bên cạnh đó, từ 2011-2018 tốc độ tăng trưởng bình quân về sản lượng khai thác và kim ngạch xuất khẩu cá ngừ đại dương tương ứng đạt 12,86 % và 10,59 %/ năm. Các sản phẩm cá ngừ Việt Nam hiện đã được xuất khẩu tới trên 200 thị trường trên phạm vi toàn cầu, trong đó có sự đóng góp của cá ngừ vằn.

Vùng biển miền Trung nước ta được coi là có nguồn lợi cá ngừ vằn phong phú nhất với trữ lượng ước tính trong khoảng từ 406.000- 422.000 tấn và khả năng khai thác cho phép là 165.500-177.200 tấn/ năm. Ước tính cả vùng biển xa bờ miền Trung (Bình Định, Phú Yên, Khánh Hòa), trữ lượng cá ngừ lên tới 600.000 tấn, trong đó cá ngừ vằn chiếm khoảng 50 %, với khả năng khai thác có thể đạt tới 200.000 tấn/ năm. Hơn nữa, cá ngừ vằn chiếm tỷ lệ cao nhất so với trên 200 loài cá khác nhau bắt gặp trong sản lượng các mẻ lưới rê của các tàu đánh bắt xa bờ [3].

Việt Nam có khoảng 10 doanh nghiệp chế biến cá ngừ vằn. Hiện các nước nhập khẩu cá ngừ, đặc biệt là cá ngừ vằn luôn yêu cầu về nguồn gốc cá đánh bắt ngoài yêu cầu về chất lượng. Đây là rào cản lớn và thách thức đối với các doanh nghiệp chế biến, xuất khẩu cá ngừ của Việt Nam. Do đó cần phải đưa ra các kế hoạch cụ thể trong việc bảo quản cá ngừ vằn từ khi đánh bắt đến khi đưa đến tay người tiêu dùng, đáp ứng an toàn vệ sinh an toàn thực phẩm, nhằm đảm bảo sức khỏe người dùng.

## **1.2. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU SỰ PHÁT SINH CÁC SẢN PHẨM CÓ HẠI**

### **1.2.1. Quá trình hư hỏng hình thành các sản phẩm có hại trên cá**

Cá tươi mới đánh bắt cũng có thể hư hỏng rất nhanh. Trước tiên, quá trình co cứng cơ thể (Rigor mortis) sẽ bắt đầu trong vòng 12 giờ sau khi đánh bắt ở nhiệt độ môi trường xung quanh cao vùng nhiệt đới. Ban đầu cá mất đi tính linh hoạt do sự cứng lại của cá sau vài giờ chết. Sau đó, quá trình hư hỏng xảy ra do các enzyme tiêu hóa như protease, lipase, vi sinh vật, vi khuẩn sống trên bề mặt và quá trình oxi hóa. Như vậy về cơ bản, sự hư hỏng của cá do ba cơ chế: sự tự phân hủy dưới tác dụng của enzyme, quá trình oxy hóa, sự phát triển của vi sinh vật [4]. Trong quá trình này, có sự phân hủy của các thành phần khác nhau như protein, hay sự oxi hóa acid béo dẫn đến hình thành của các hợp chất mới. Những hợp chất này gây ra những thay đổi về mùi, hương vị và kết cấu của thịt cá. Ngoài ra, những chất mới hình thành có thể tạo môi trường thích hợp cho các vi sinh vật phát triển, sản sinh các chất gây hại cho sức khỏe con người.

#### **1.2.1.1. Sự phân hủy của protein**

Protein có vai trò quan trọng hàng đầu đối với sự sống của con người và sinh vật. Trong cơ thịt cá ngừ chứa lượng lớn protein có giá trị dinh dưỡng cao. Khi các protein của cá bị thủy phân dưới tác dụng của protease nội sinh chủ yếu từ đường tiêu hóa cùng với tác động của vi sinh vật sẽ hình thành các acid hữu cơ như lactic acid, acetic acid, butyric acid, glycolic acid,... làm cho môi trường bị acid hóa [5]. Hoạt động của các

protease tối ưu trong khoảng pH kiềm đến trung tính. Theo các nghiên cứu trước đó, thì tốc độ phân hủy do các enzyme phân giải protein giảm khi cá được giữ ở 0 °C và pH là 5 [6]. Hansen và cộng sự (1996) [7] cho biết các enzyme tự phân giải sẽ làm thay đổi cấu trúc và giảm chất lượng trong giai đoạn đầu của sự hư hỏng nhưng không tạo ra chất có mùi hôi và chưa thay đổi một số đặc tính như mùi vị của sản phẩm. Điều này cho thấy quá trình tự phân hủy có thể hạn chế thời hạn sử dụng và chất lượng sản phẩm, tác động đến kết cấu cùng với việc sản sinh hypoxanthine và formaldehyde. Các enzyme tiêu hóa gây ra quá trình tự phân giải dẫn đến thịt cá bị mềm, vỡ thành bụng và các chất hình thành thoát ra ngoài máu có cả protein và dầu. Một số enzyme phân giải protein được tìm thấy trong cơ và nội tạng của cá sau khi đánh bắt. Các enzyme này làm phân hủy cơ thịt cá và các sản phẩm cá sau khi chết trong quá trình bảo quản và chế biến. Nếu bảo quản cá nguyên con không đúng cách, quá trình phân giải protein là nguyên nhân gây ra sự phân hủy protein và theo sau là quá trình hòa tan [8], tạo ra các peptide và acid amine tự do dẫn đến sự hư hỏng thịt cá do sự phát triển của vi sinh vật và sản sinh các amine sinh học [9].

Vi khuẩn *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonads* huỳnh quang và các vi khuẩn gây hư hỏng khác gia tăng nhanh chóng trong quá trình này, sản sinh proteinase ngoại bào phân giải protein [10]. Kết quả tạo ra các peptide và acid amine cung cấp cho các vi khuẩn gây hại khác phát triển như *Shewanella putrefaciens*, *Shewanell baltica*, *Shewanell proteamaculans* thúc đẩy sự sản sinh các hợp chất có mùi khó ngửi khác nhau như mùi tanh (do trimethylamine và dimethylamine) và mùi thối (do H<sub>2</sub>S và các hợp chất lưu huỳnh như dimethyl trisulfide, methyl mercaptans and dimethyl sulfide) và propionaldehyde khi lưu trữ thực phẩm ở nhiệt độ thấp [11].

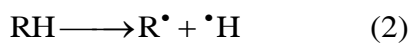
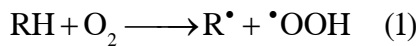
Sự phân hủy protein sẽ kéo theo các sự thay đổi của chỉ số sulfhydryl (-SH) do hoạt động của enzyme thủy phân protein (protease). Nhóm sulfhydryl (-SH) được coi là thước đo quá trình oxy hóa protein, cụ thể là quá trình oxy hóa cysteine. Quá trình oxy hóa cystein gây ra và tạo thành cầu nối disulfide, do đó nhóm sulfhydryl cao cho thấy mức độ oxy hóa thấp và ngược lại [12]. Sự oxy hóa protein dẫn đến giảm các nhóm sunfydryl và hình thành disulfide, khi các nhóm SH giảm thì sẽ dẫn đến sự giảm chất lượng của protein.

#### **1.2.1.2. Sự oxy hóa acid béo**

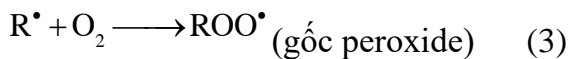
Trong quá trình bảo quản cũng xảy ra sự oxy hóa lipid (còn gọi là sự ôi hóa), đây là một trong những nguyên nhân phổ biến nhất làm giảm chất lượng thực phẩm. Chất béo không bão hòa bị oxy hóa bởi quá trình tự oxy hóa gốc tự do, một quá trình phản ứng dây chuyền được xúc tác bởi các sản phẩm của phản ứng. Tính nhạy cảm và tốc độ oxy hóa tăng lên khi số lượng liên kết đôi trong acid béo tăng lên sản sinh ra các chất gây hại, tạo ra mùi và làm thực phẩm mất vị ngon, mất giá trị dinh dưỡng rút ngắn thời



hạn sử dụng, đặc biệt là những loại thực phẩm có chứa chất béo không bão hòa cao. Những tác động đáng chú ý của quá trình này ở cá là hình thành các chất mùi và vị khó chịu, tạo các phân tử có hại và làm thay đổi màu sắc, gây ra những tác động tiêu cực đến sức khỏe. Lipid cá rất giàu acid béo n-3, chiếm tới 40 % các acid béo chuỗi dài (14-22 nguyên tử carbon) không bão hòa. Quá trình oxi hóa liên quan đến gốc tự do, gồm ba giai đoạn: bắt đầu, lan truyền và kết thúc [13], [14]. Khởi đầu liên quan đến sự hình thành các gốc tự do acid béo thông qua tác động của nhiệt độ, ion kim loại hoặc chiếu xạ.



Tiếp theo, các gốc tự do này phản ứng với oxygen để tạo thành peroxy. Sau đó các peroxy phản ứng với các phân tử lipid khác để tạo thành hydrogen peroxide và gốc tự do mới [9], [15], các phản ứng oxi hóa thường liên quan đến phản ứng của oxygen với các liên kết đôi của acid béo.



Cuối cùng của quá trình peroxy hóa lipid hình thành các aldehyde. Ở cá, quá trình oxi hóa lipid cũng có thể xảy ra dưới tác động của enzyme Lipase như triacyl lipase, phospholipase A2 và phospholipase B. Suốt quá trình phân hủy chất béo, các lipase tách các glycerides tạo thành các gốc tự do acid béo gây ra hiện tượng ôi thiu, có mùi và giảm chất lượng. Các acid béo được hình thành trong quá trình thủy phân sau đó tương tác với các sợi cơ (myofibrillar) gây biến tính protein [16]. Như vậy trong thực phẩm quá trình oxi hóa lipid diễn ra như sau: thủy phân lipid thành acid béo, oxi hóa acid béo thành các peroxide, các aldehyde, các acid hữu cơ. Thực phẩm bị ôi hóa sẽ tạo ra các hợp chất gây ngộ độc như hợp chất peroxide (còn gọi là gốc tự do FR) oxi hóa rất mạnh các hoạt chất sinh học, làm hư hỏng tế bào, bẽ gãy DNA, mở đường cho các chất độc tấn công nhân tế bào gây ung thư; aldehyde gây mùi khó chịu, làm mất tính ngon miệng, làm hư hỏng các acid amine qua liên kết amine với formol, gây ức chế men tiêu hóa rất mạnh; các acid kích thích niêm mạc ruột gây tiêu chảy, thúc đẩy quá trình oxi hóa khử phá hủy các hợp chất sinh học trong thức ăn làm chúng nhanh hư hơn.

Như vậy khi sự ôi hóa xảy ra, thì các chỉ số như thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) hay chỉ số peroxide value (PV) cũng sẽ thay đổi theo. Chỉ số ôi hóa TBARS cho biết các sản phẩm được hình thành trong giai đoạn phát triển của quá trình oxi hóa chất béo tiếp tục bị biến đổi thành các sản phẩm thứ cấp của quá trình oxy hóa như aldehyde, ketone, alcohol, acid hoặc base mạch ngắn [17],... dưới tác dụng của các enzyme và các vi sinh vật. Đây là một chỉ số sử dụng khá phổ biến để nghiên cứu

về sự oxy hóa của chất béo trong cơ thịt cá. Theo thời gian bảo quản thì chỉ số TBARS (liên quan đến lượng aldehyde) sẽ tăng, khi chỉ số TBARS càng tăng thì chất lượng dinh dưỡng của cơ thịt cá giảm. Giá trị PV được định nghĩa là lượng oxy peroxide trên mỗi kg dầu hoặc chất béo, trong đó lượng peroxide được báo cáo bằng mili đương lượng hoặc meq, được dùng để kiểm tra độ ôi, thiu. Trong giai đoạn đầu của quá trình ôi thiu, PV tăng lên nhanh chóng. Quá trình oxy hóa lipid là một quá trình phức tạp trong đó các acid béo không bão hòa phản ứng với oxy phân tử, thường thông qua cơ chế gốc tự do, để tạo thành hydroperoxide, sản phẩm oxy hóa chính.

### 1.2.1.3. Sự biến đổi một số đặc tính hóa, lý

Sự biến tính của protein còn có sự biến đổi một số đặc tính hóa lý của sản phẩm như hình thành lớp chất nhờn, đổi màu mang và mắt (ở cá nguyên con), và mất kết cấu cơ, sẽ làm cho trạng thái bên ngoài của thực phẩm thay đổi, bề mặt của thịt, cá chuyển màu xanh lục, xám đen có mùi hôi thối khó chịu. Một trong các nguyên nhân làm thay đổi hóa học và sinh học diễn ra trong cá chết là do sự phân hủy dưới tác động của các enzyme. Các enzyme có sẵn trong cơ và nội tạng của cá gây ra quá trình tự phân giải rộng rãi dẫn đến thịt bị mềm, vỡ thành bụng và thoát ra ngoài máu chứa cả protein và dầu. Ngoài ra trong cá có nồng độ nước cao, kết hợp với môi trường acid và lượng hợp chất nitơ phi protein cao là đặc trưng của cá làm cho vi sinh vật phát triển nhanh chóng, dẫn đến những thay đổi không mong muốn về hình thức, kết cấu, hương vị và mùi, làm giảm chất lượng của cá. Sự hư hỏng do vi sinh vật tạo ra tạo ra các amine dễ bay hơi, amine sinh học, acid hữu cơ, sulfide, alcohol, aldehyde và ketone, có mùi vị khó chịu. Protein của cá bị thủy phân dưới tác dụng của protease nội sinh chủ yếu từ đường tiêu hóa cùng với tác động của vi sinh vật sẽ hình thành các acid hữu cơ như lactic acid, acetic acid, butyric acid, glycolic acid,... làm cho môi trường bị acid hóa [5], khi chuyển sang giai đoạn thối rữa thì các acid này bị men mốc tiêu thụ làm môi trường trở nên trung tính, vi sinh vật lên men thối phát triển và chuyển hóa protein tạo ra các sản phẩm bay hơi có mùi khó chịu được liệt kê trong Bảng 1.1.

Bảng 1. 1. Các hợp chất gây hư hỏng do vi sinh vật tạo ra trong quá trình bảo quản cá

Vi sinh vật gây hại	Các chất gây hại phát sinh
<i>Shewanella putrefaciens</i>	trimethylamine (TMA), hydrogen sulfide (H <sub>2</sub> S), methylmercaptan (CH <sub>3</sub> SH), dimethylsulfide ((CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> S), hypoxanthine (Hx), acids
<i>Pseudomonas spp.</i>	methylmercaptan (CH <sub>3</sub> SH), dimethylsulfide ((CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> S), ketones, esters, aldehydes, ammonia (NH <sub>3</sub> ), and hypoxanthine (Hx)

<b>Vi sinh vật gây hại</b>	<b>Các chất gây hại phát sinh</b>
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	trimethylamine (TMA) and hypoxanthine (Hx)
Vibrionaceae	trimethylamine (TMA) and hydrogen sulfide (H <sub>2</sub> S)
Enterobacteriaceae	trimethylamine (TMA), hydrogen sulfide (H <sub>2</sub> S), ketones, esters, aldehydes, ammonia (NH <sub>3</sub> ), hypoxanthine (Hx), acids
Lactic acid bacteria	hydrogen sulfide (H <sub>2</sub> S), ketones, esters, aldehydes, ammonia (NH <sub>3</sub> ), acids
Yeast	Ketones, esters, aldehydes, ammonia (NH <sub>3</sub> ), acids
Aerobic spoilers	ammonia (NH <sub>3</sub> ), acetic, butyric, propionic acids
Anaerobic rods	Ketones, esters, aldehydes, ammonia (NH <sub>3</sub> )

[18], [19].

Bảng 1.2. Một số chất bay hơi độc hại ở thực phẩm biển liên quan đến vi khuẩn

<b>Tên hợp chất</b>	<b>Loại thực phẩm</b>	<b>Vi khuẩn</b>	<b>Điều kiện lưu trữ</b>	<b>Tài liệu</b>
Ethanol	Ruột cá tráp	<i>Pseudomonas</i> spp., <i>P. fluorescen</i> , <i>Carnobacterium</i>	Không khí, 2 °C, 13 ngày	Parlapani và cs., 2015 [20] Laursen và cs., (2006) [21]
3-Pentanol	Tôm đóng khí	<i>B. thermosphacta</i>	Hỗn hợp khí, 5 °C, 10 ngày	
3-Methyl-1-butanol				
2-Methyl-1-butanol				
2-Ethyl-1-hexanol				
Hexanol				
1-Octen-3-ol				
Heptyl alcohol				
1-Penten-3-ol				
2-Penten-1-ol				

1-pentanol	Ruột cá vược châu Âu		Không khí, 2°C, 13 ngày	
1-hexanol			Hỗn hợp khí, 5 °C, 15 ngày	
1-decanol				
1-dodecanol		Pseudoalteromonas, Psychrobacter		Broekaert và cs., (2013) [22]
2,3-Dimethyl- oxirane	Tôm nấu chín		Đóng chai, 4°C, 9 ngày	
2-Butanone				
2-Formylhistamine		S. liquefaciens		
1-propanol	Tôm nhiệt đới nấu chín bỏ vỏ	C. maltaromaticum	Hỗn hợp khí, 8 °C, 40 ngày	Jaffrès và cs., (2011) [23]
Cyclopentanol		S. putrefaciens		Jaffrès và cs., (2011) [23]
2,3-butanediol	Cá hồi hun khói, lạnh	S. baltica	6 °C, 40 ngày	
Isoamylalcohol	Tôm nhiệt đới nấu chín	Aeromonas salmonicida	Hỗn hợp khí, 8 °C, 18 ngày	Macé và cs., (2014) [24]

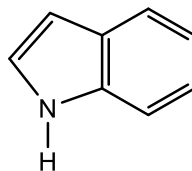
Ngoài ra các chất như histamine, cadaverine, tyramine và putrescine, được tạo ra bởi quá trình khử nhóm carboxyl của các acid amine tự do do các vi sinh vật có sẵn trong quá trình bảo quản [25], [26]. Các loài cá có cơ thịt sẫm như cá ngừ, cá thu có hàm lượng histidine cao, nếu bảo quản không đúng cách ví dụ như nhiệt độ đông lạnh không đủ thì sẽ thúc đẩy sản xuất histamine của vi khuẩn [27], histamine lại cực bền, không thể dễ dàng bị loại bỏ hoặc phá hủy [28] lại có độc tính, và có thể dẫn đến bùng phát ngộ độc scombroid còn được gọi là ngộ độc cá histamine, là một dạng ngộ độc thực phẩm giống như dị ứng, thường gặp nhiều trong thực tiễn. Do hàm lượng histidine được chuyển đổi thành histamine bởi enzyme vi khuẩn histidine decarboxylase hay một số loài vi sinh vật như *Morganella*, *Proteus* và *Hafnia*. Như vậy, thức ăn giàu đạm (thịt, cá...) khi bị ôi thiu, thối rữa, tùy theo cơ chế phân hủy mà hình thành các hợp chất gây

ngộ độc thực phẩm khác nhau như nhóm các methylamine, gọi chung là betamine, là những chất gây bài tiết nước bọt, gây co giật động kinh và nhóm amine có mạch vòng gọi chung là protamine, gây ngộ độc với những cơn đau bụng rất đặc biệt, kèm theo là những triệu chứng khác nhau như co thắt mạch máu (tryptamine), gây dị ứng (histamine).

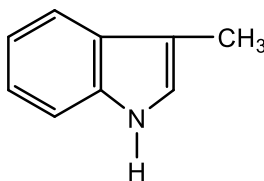
Ngoài ra những thay đổi hóa học bao gồm những thay đổi do hoạt động của vi khuẩn, do các enzyme tự nhiên, do các quá trình oxy hóa và thủy phân trong chất béo và dầu gây ra, dễ phát sinh các chất gây độc tố. Sự oxy hóa chất béo cũng làm giảm chất lượng của thực phẩm, làm biến đổi màu sắc, mùi vị, trạng thái cơ thịt và làm giảm thời hạn sử dụng của sản phẩm [29]. Trong quá trình oxy hóa đã tạo ra các gốc tự do FR (hợp chất peroxide) là chất oxy hóa rất mạnh các hoạt chất sinh học, làm hư hỏng màng tế bào, bẻ gãy DNA, gây nhiều tác hại với sức khỏe cơ thể, nó là nguồn gốc của sự lão hóa và hơn 100 bệnh tật nguy hiểm bao gồm các bệnh về não, mắt, da, hệ miễn dịch, tim, mạch máu, phổi, thận, đa cơ quan và khớp, nặng hơn thì gây ra nhiều bệnh nguy hiểm hoặc ung thư.

#### 1.2.1.4. Indole và Skatole

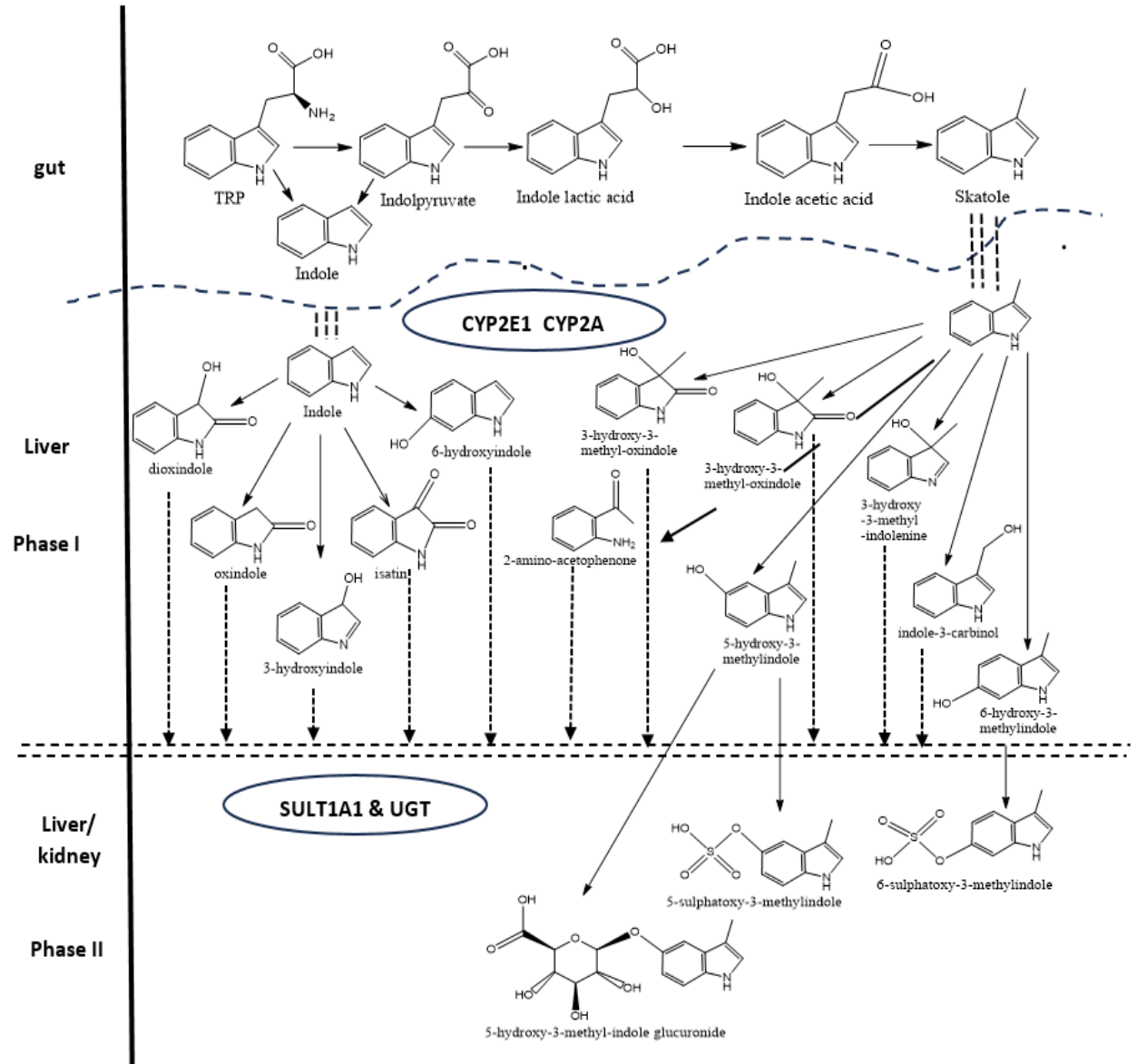
Indole còn được gọi là benzo[b]pyrrole là một hợp chất hữu cơ dị vòng phẳng, công thức cấu tạo gồm vòng benzene 6 cạnh gắn với vòng pyrrole 5 cạnh có chứa nguyên tử nitrogen như sau:



Indole tồn tại dạng terpene indole alkaloid rất đa dạng, hợp chất chứa vòng indole được gọi là indole. Trong tự nhiên, thường có trong một số loại dầu hoa như hoa nhài và hoa cam, trong nhựa than đá và trong phân. Indole sẽ chuyển sang màu sẫm khi tiếp xúc với ánh sáng, nó hòa tan được trong alcohol, ether, nước nóng, propylene glycol, ether, dầu hỏa và hầu hết các loại dầu không bay hơi, không hòa tan trong glycerin và dầu khoáng. Indole có mùi khó chịu đặc trưng của phân ở nồng độ cao, có mùi hoa dễ chịu khi pha thật loãng (nồng độ <0,1%), với ngưỡng mùi là 0,14 ppm [30]. Dẫn xuất 3-methyl của nó là skatole (3-methylindole), dễ bay hơi, hòa tan trong nước nóng và các dung môi thông thường, có trong phân động vật có vú và phân chim,...Skatole có cấu tạo như sau:



Skatole và indole (một phần) là kết quả của quá trình phân hủy tryptophan (TRP) nhiều bước do hoạt động của vi sinh vật, chủ yếu ở ruột [31] góp phần gây ra mùi hôi (mùi phân) khó chịu với nồng độ cao. Trong điều kiện yếm khí của đường ruột đối với các quá trình khử ở vị trí 3 của cấu trúc vòng indole TRP đã tạo ra các sản phẩm cuối cùng là skatole và indole [31]. Trong khi nhiều vi khuẩn có thể chuyển hóa tryptophan thành indole và indole acetic acid (IAA), tiền chất chính của skatole, chỉ một số vi khuẩn đường ruột chuyên biệt, như *Clostridium* và *Bacteroides* (chiếm ít hơn 0,01% tổng số vi khuẩn đường ruột [32]), có thể xúc tác các bước từ IAA thành skatole [33]. Quá trình khử amine của TRP đã tạo ra các sản phẩm trung gian là indole-3-lactic acid và indole-3-pyruvic acid, các chất này được khử carboxyl hóa thành IAA, và sau đó được khử carboxyl hóa tiếp thành skatole (Hình 1.2, phần trên) [31], [33] với sự tham gia của *Lactobacillus sp* [34] và *C. drakeii* và *C. skatologenes* [33]. Ở động vật biển, các vi sinh vật như *Proteus marginii* hoặc *Escherichia coli* cũng có khả năng chuyển đổi tryptophan thành indole.



Hình 1. 2. Sự hình thành skatole (3-metyl-indole) và indole từ TRP trong ruột và quá trình chuyển hóa tiếp theo thông qua các enzyme ở pha 1 và pha 2, (mũi tên đen: con đường đã biết; mũi tên gãy: con đường giả định).

[35], [36].

Ngoài ra, nồng độ skatole cao trong mỡ, mô là kết quả của một quá trình phức tạp, bao gồm sự hình thành vi sinh vật trong ruột kết, sự hấp thụ, chuyển hóa và tích tụ chất béo. Các nghiên cứu thực nghiệm cho rằng khi động vật chết đi, quá trình ươn thối (phân hủy) xảy ra là có sự tham gia tích cực của các vi khuẩn gây hư hỏng (spolting bacteria). Lúc đó, cơ thịt của cá bị phân rã dần, nước rỉ ra nhiều, dinh dưỡng chẳng còn mà lại phát sinh nhiều hợp chất bốc mùi ươn thối, nguyên nhân là do gốc amine như putrescine, có gốc lưu huỳnh như cadaverine, hydrogen sulfide được sinh ra, cùng các hợp chất ammonium. Lúc này các mảnh vụn của tế bào ruột là nguồn cung cấp tryptophan chính

cho vi sinh vật phân hủy tạo skatole [37], cùng với mùi tanh của TMA quá cao góp phần tạo ra sự khó ngửi.

Indole và skatole có thể gây ra các vấn đề về chất lượng sản phẩm do mùi khó chịu của chúng, đặc biệt là ở mỡ. Do đó indole được sử dụng như là một chỉ số để đánh giá chất lượng độ tươi của hải sản trong trường hợp nghi ngờ có sự gián đoạn trong dây chuyền bảo quản lạnh.

## **1.2.2. Các phương pháp bảo quản**

### **Trên thế giới**

Một phần tư trong số nguồn cung cấp lương thực của thế giới và 30 % cá với khoảng 4-5 triệu tấn cá tôm được đánh bắt hàng năm bị hư hỏng vì bảo quản tại chỗ không đúng cách [38]. Như vậy, việc bảo quản cá sau khi đánh bắt là thực sự cần thiết bằng các biện pháp thích hợp để duy trì chất lượng của cá và kéo dài thời hạn sử dụng. Có một số phương pháp bảo quản khác nhau như lên men, ướp muối khô cá bằng các muối như sodium và potassium nitrate and nitrite. Ngoài ra, xử lý nhiệt và bức xạ, xông khói ở nhiệt độ thấp (27-38 °C) hoặc ở nhiệt độ cao (63-93 °C), hay bảo quản cá trong môi trường hút chân không, đóng gói CO<sub>2</sub> giúp ngăn chặn được sự phát triển của vi khuẩn gây hư hỏng hiệu quả thì các phương pháp truyền thống như làm lạnh, đông lạnh, ướp muối và sấy khô [39] vẫn được sử dụng. Hàm lượng nước tự do thấp trong cá hun khói sẽ ức chế sự phát triển của hầu hết các vi khuẩn. Thêm vào đó có thể kết hợp với chất chống oxi hóa như nordihydroguaiaretic acid, ethyl gallate, ascorbic acid và các hợp chất khác, dưới dạng chất nhúng, lớp phủ các hóa chất nhân tạo để giữ thực phẩm lâu hơn, mang lại lợi ích kinh tế lớn.

### **Đông lạnh**

Từ giữa thế kỷ 19, phương pháp bảo quản ở nhiệt độ thấp đã được sử dụng để bảo quản nhiều loại hải sản. Nhiệt độ có ảnh hưởng lớn đến tốc độ phân giải và uon hỏng của thủy sản trong quá trình bảo quản do liên quan đến sự phát triển của vi sinh vật. Nhiệt độ bảo quản càng giảm thì tốc độ phân hủy do vi sinh vật trong thủy sản cũng giảm theo. Do đó người ta thường dùng nước đá để ngăn tiến độ hư hỏng của thủy hải sản. Nước đá có tác dụng duy trì nhiệt độ thấp đồng đều, giảm quá trình tự phân hủy và làm suy giảm vi khuẩn và mang lại hiệu quả rửa/làm sạch nhẹ nhàng trong quá trình nấu chảy. Ngoài ra, ướp, bảo quản bằng nước đá là phương pháp làm lạnh cơ động, thuận tiện cho các nhà thuyền, nguyên liệu để sản xuất nước đá luôn sẵn có, tương đối rẻ tiền và an toàn về mặt thực phẩm.

Tác động chính của quá trình cấp đông và bảo quản đông lạnh đối với chất lượng của cá là sự thay đổi kết cấu có liên quan đến sự sắp xếp lại và đông tụ của các protein trong cơ. Các mô trở nên cứng rắn do sự biến tính của các protein. Các nghiên cứu hiện tại đã chỉ ra rằng rã đông và đông lạnh lại cũng làm thay đổi trạng thái của protein cơ



(myosin), khiến chúng dễ bị biến tính hơn trong quá trình bảo quản đông lạnh, rã đông và bảo quản tiếp theo. Việc lưu trữ đông lạnh có thể kiểm soát quá trình oxi hóa lipid và ức chế sự phát triển vi sinh vật ở cá trong quá trình bảo quản [40]. Berkel và cộng sự (2004) [41] đã cho thấy bảo quản cá tươi ở nhiệt độ  $-1^{\circ}$  đến  $+4^{\circ}$  °C sẽ ức chế được sự phát triển của vi sinh vật và nếu đông lạnh ở  $-18$  đến  $-30^{\circ}$  °C sẽ hoàn toàn ngăn vi khuẩn phát triển. Tuy nhiên, cả những thay đổi do enzyme và không do enzyme vẫn tiếp tục nhưng với tốc độ chậm hơn nhiều. Do đó, nên sử dụng nước đá hoặc các phương pháp làm lạnh khác để giữ cho cá luôn ở trạng thái mát trước khi cấp đông.

Cá chứa khoảng 60-80 % hàm lượng nước tùy theo loài. Quá trình đóng băng biến phần lớn nước thành băng. Tuy nhiên, ở nhiệt độ thấp  $-30^{\circ}$  °C, một tỷ lệ nước trong cơ thịt cá vẫn ở trạng thái không đông cứng. Chất lượng cuối cùng phụ thuộc vào chất lượng của cá tại thời điểm cấp đông cũng như các yếu tố khác bao gồm: nhiệt độ cấp đông/bảo quản lạnh, tốc độ cấp đông và sự phân bố. Yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến chất lượng của cá đông lạnh là tốc độ cấp đông. Cấp đông nhanh làm cá có chất lượng tốt hơn so với cấp đông chậm vì cấp đông chậm dẫn đến hình thành các tinh thể băng lớn, so với cấp đông nhanh làm hỏng thành tế bào và gây biến tính protein.

Mặt khác, sự biến tính cũng phụ thuộc vào nồng độ enzyme và sự có mặt các hợp chất khác [42]. Sự thay đổi protein dẫn đến kết cấu xỉn màu và mờ đục, mô trở nên mềm và xốp ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng sản phẩm cá. Các phản ứng enzyme vẫn có thể tiếp tục ở cá đông lạnh ở nhiệt độ  $-30^{\circ}$  °C [43] liên quan đến một số quá trình khác như đường phân, chuyển hóa nucleotide và phân giải protein. Những hoạt động enzyme nội sinh này gây ra những thay đổi hóa học và vật lý nội tại.

### **Hóa chất**

Có nhiều loại hóa chất bảo quản cơ bản được sử dụng trên thị trường như: benzoic acid, benzoate, nitrate, nitrite, và sorbic acid và boric acid rất hữu ích trong việc bảo quản hải sản. Sorbic acid có thể làm chậm sự hư hỏng của cá hun khói hoặc cá muối và boric acid giúp giữ chất lượng. Các hóa chất khác được sử dụng trong bảo quản là: hypochlorite, hydrogen peroxide, capric acid và p-hydroxybenzoic acid. Đối với thịt, cá do có hàm lượng nước, protein và chất béo cao nên việc bảo quản cũng khó khăn hơn, với trường hợp này người ta thường dùng 2 loại hóa chất bảo quản là: chlorine và chlorine dioxide có khả năng diệt được vi khuẩn *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas*, .... Như vậy, tùy vào loại thực phẩm, khi dùng đúng cách và liều lượng thì thịt, cá,... có thể để từ vài tháng đến vài năm. Trong số những chất bảo quản tổng hợp, sodium benzoate, sodium nitrite, butylated hydroxyanisole (BHA) và butylated hydroxytoluene (BHT), sodium acetate (NaA) đã cho thấy nhiều hứa hẹn trong việc ngăn chặn những thay đổi về kết cấu và màu sắc, mùi vị không mong muốn và mùi

ôi thiu cũng như sự thất thoát chất dinh dưỡng ở thực phẩm trong quá trình bảo quản [44], [45].

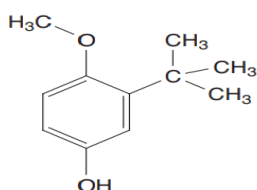
### Sodium acetate

Sodium acetate (NaA) là muối có nguồn gốc hữu cơ từ acetic acid, ở dạng bột hoặc hạt màu trắng, có tính kiềm mạnh và acid yếu nên nó được ứng dụng nhiều vào các ngành công nghiệp và sản xuất. NaA có khối lượng phân tử thấp, được sử dụng để kiểm soát sự phát triển của vi sinh vật, cải thiện các thuộc tính cảm quan và kéo dài thời hạn sử dụng của các hệ thống thực phẩm khác nhau bao gồm thịt [46], gia cầm [47], và cá [48], [49]. Ngoài tác dụng ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn làm hỏng thực phẩm, loại muối này đã được chứng minh là có hoạt tính kháng khuẩn chống lại các mầm bệnh truyền qua thực phẩm khác nhau bao gồm *Staphylococcus aureus* và *Yersinia enterocolitica* [50], *Listeria monocytogenes* [51], *Escherichia coli* [50], [52], cũng như *Clostridium botulinum* [53]. Trên thực tế, các thí nghiệm cho thấy cá được bảo quản trong dung dịch NaA ở nhiệt độ thấp có hiệu quả chống lại sự phát triển của các loại vi sinh vật gây hư hỏng khác nhau; bao gồm các vi khuẩn hiếu khí và dị dưỡng, *Pseudomonas spp*, vi khuẩn sinh H<sub>2</sub>S, vi khuẩn lactic acid và *Enterobacteriaceae*. Và so với các muối hữu cơ tương tự như sodium lactate (NaL), hay sodium citrate thì hoạt tính kháng khuẩn NaA là tốt hơn hẳn. Bên cạnh đó quá trình oxy hóa lipid, bị chậm đáng kể và thời hạn sử dụng của các sản phẩm được xử lý kéo dài ngày hơn.

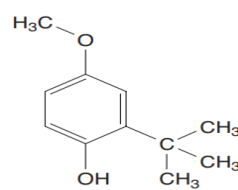
Hơn nữa, những loại muối này có sẵn rộng rãi, kinh tế và thường được “công nhận là an toàn” [52]. Hiện nay ở các nước phát triển, giống như việc sử dụng các loại phụ gia có nguồn gốc từ vi sinh vật nhằm thay thế dần phụ gia hóa học như hàn the, polyphosphate thì muối NaA đã được Cục Quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ (FDA) xem như một chất điều vị trong thực phẩm để ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh và an toàn đối với con người.

### Butylated Hydroxyanisole (BHA)

Trong các loại hóa chất bảo quản, Butylated Hydroxyanisole (BHA) là hợp chất phenol có khả năng chống oxy hóa [54], là hỗn hợp của hai hợp chất hữu cơ đồng phân, 2- *tert* -butyl-4-hydroxyanisole (2-BHA) và 3- *tert* -butyl-4-hydroxyanisole (3- BHA). Nó được điều chế từ 4-metoxyphenol và isobutylene được tổng hợp lần đầu tiên vào cuối những năm 1940, là chất rắn dạng sáp được sử dụng làm phụ gia thực phẩm có công thức như sau:



2- *tert* -butyl-4-hydroxyanisole (2-BHA)



3- *tert* -butyl-4-hydroxyanisole (3-BHA)

BHA có khả năng chống oxy hóa được sử dụng để ngăn sự ôi của chất béo trong thực phẩm.... Từ năm 1947, BHA đã được thêm vào chất béo ăn được và thực phẩm chứa chất béo vì đặc tính chống oxy hóa. BHA dùng trong bảo quản thực phẩm chứa hơn 85 % 3-BHA và dưới 15 % 2-BHA. BHA được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) coi là an toàn khi hàm lượng chất chống oxy hóa không vượt quá 0,02 % tính theo trọng lượng so với tổng hàm lượng chất béo hoặc dầu của thực phẩm. BHA làm chậm quá trình oxy hóa vitamin A, chất béo và dầu thực vật, chất ổn định hiệu quả cho tinh dầu, paraffin và polyethylene (HSDB 2009). Nó được sử dụng như một chất chống oxy hóa trong vật liệu sinh học được làm từ polyurethane và polyethylene oxide [55]. Ngoài ra, BHA có đặc tính kháng khuẩn (chủ yếu là gram âm), nấm, vi rút và động vật nguyên sinh [56]. Theo Ray (2004) [57], hoạt tính kháng khuẩn nhờ tác động đến màng tế bào và các enzyme. Các đặc tính chống oxy hóa của các dẫn xuất phenol có thể có lợi hơn về mặt bảo quản do số lượng các nhóm hydroxyl phenolic có sẵn để loại bỏ các gốc tự do [58].

### **Đóng gói**

Để đảm bảo số lượng và chất lượng sản phẩm từ người sản xuất đến tay người tiêu dùng thì bao bì đóng gói luôn đóng một vai trò qua trọng, phải đảm bảo được tiêu chí về chi phí thấp và không gây độc hại ảnh hưởng đến sản phẩm. Trong quá trình bảo quản ta cũng cần phải đóng gói các sản phẩm để đảm bảo rằng nó không bị thất thoát ra ngoài, hoặc không bị môi trường ảnh hưởng. Nếu ta dùng bao bì đóng gói không phù hợp hay không đúng cách thì sẽ gây ra các độc tố ảnh hưởng đến chất lượng. Hầu hết các sản phẩm thực phẩm ngày nay đều sử dụng bao bì nhựa làm từ PET, HDPE, PVC, PE, PS,... Các loại bao bì này dùng đóng gói các thực phẩm đã qua chế biến như ruốc, thịt bò khô,... hay thực phẩm đông lạnh như cá, mực, tôm, ngò,... Nguyên liệu làm loại bao bì này thường có nguồn gốc từ dầu mỏ, than đá, bên cạnh đó để tiết kiệm chi phí thì nhiều người đã sử dụng bao bì nhựa tái chế để chứa đựng các sản phẩm này, gây nguy cơ nhiễm hóa chất độc hại, nguy hiểm với sức khỏe con người. Các loại thực phẩm thường đựng trong túi chất dẻo làm bằng các hợp chất polyethylene hoặc polyvinyl mà các phân tử polyvinyl đơn lẻ có thể gây ung thư. Ngoài ra nguy cơ nhiễm độc từ hóa chất sử dụng để làm tăng độ dẻo dai của bao bì có thể gây hại, và bao bì dẻo sau khi sử dụng thải ra bờ bãi có thể làm ô nhiễm môi trường và không có khả năng tái sử dụng.

### **Ở Việt Nam**

Việt Nam cũng là quốc gia có thể mạnh về khai thác và xuất khẩu thủy sản. Trong đó, cá ngừ vẫn là mặt hàng có giá trị gia tăng cao nhất và hoạt động kinh doanh của nó mang lại thu nhập cao cho người Việt Nam. Do đó để đảm bảo chất lượng, cá ngừ sau khi đánh bắt được sơ chế và đem bảo quản bằng cách dùng đá lạnh xay nhét vào bụng và mang cá, sau đó đưa vào hầm lạnh ở nhiệt độ 0-2 °C. Hầm được xếp nhiều

lớp cá, xung quanh hàm được rải lớp đá dày. Đây là phương thức bảo quản truyền thống và lâu đời của ngư dân Việt Nam. Tuy nhiên đối với các tàu thuyền đánh bắt xa bờ và dài ngày thì việc bảo quản này không đảm bảo được chất lượng cá trong thời gian dài, do đó sau này, người ta áp dụng công nghệ bảo quản thủy sản đá sệt hay gọi là đá lỏng (liquid ice), đá bùn (slurry ice), đá tuyết (snow ice), là hỗn hợp đồng nhất của các hạt băng nhỏ và chất lỏng, có ưu điểm làm lạnh rất nhanh do kích thước hạt băng rất nhỏ, dễ thâm nhập vào bên trong đối tượng cần làm lạnh, duy trì được nhiệt độ thấp liên tục trong suốt quá trình làm lạnh với hệ số truyền nhiệt cao. Đá sệt xốp, không kết tinh khối cứng, dễ bảo quản và bốc dỡ, không gây tổn thương thủy sản, giảm thiểu vết thâm tím hoặc dập nát thủy sản trong quá trình bảo quản vì nó là một môi trường lỏng; đá sệt có thể điều chỉnh được nhiệt độ, do đá sệt có nhiệt độ thấp  $-2\text{ }^{\circ}\text{C} \div -4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , nên thời gian bảo quản thủy sản từ 25-30 ngày. Hoặc cách bảo quản hiện đại mà Nhật Bản chuyển giao mặc dù có vướng mắc về hệ thống thiết bị và giá thành. Công nghệ bảo quản thực phẩm đông lạnh của Nhật Bản được nói đến ở đây là công nghệ CAS (Cells Alive System – Hệ thống giữ gìn tế bào sống), công nghệ này hoạt động theo nguyên lý kết hợp hiệu quả giữa quá trình đông lạnh nhanh (từ  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  đến  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) với dao động từ trường (trong quãng từ 50 Hz đến 5 MHz), dưới tác động của các xung động từ trường thì CAS có khả năng ngăn nước trong tế bào không bị đóng băng dù ở nhiệt độ thấp, do đó màng tế bào nên cấu trúc tế bào vẫn được giữ nguyên vẹn, kết quả là sau một thời gian bảo quản từ 1-2 năm, hoặc nhiều hơn là 10 năm,... tùy theo sản phẩm cần bảo quản thì chất lượng, màu sắc, hương vị sản phẩm vẫn tươi ngon như lúc ban đầu (có thể tới 99,7 %), đây là điểm nổi trội của CAS. Trong khi nếu áp dụng các hình thức bảo quản đông lạnh khác thì ở nhiệt độ thấp, các phân tử nước trong tế bào kết tinh và hình thành tinh thể băng góc cạnh, phá vỡ màng tế bào, nên khi rã đông dễ gây ra hiện tượng “nhỏ giọt thực phẩm” tức là chảy dịch do cấu trúc màng tế bào bị phá vỡ làm xấu hình thức và chất lượng sản phẩm. Về cấu tạo, hệ thống công nghệ CAS gồm một máy đông lạnh CAS (CAS Freezer) với bộ phận cấp đông nhanh và bộ phận sinh dao động từ trường, có khả năng đưa nhiệt độ xuống  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  trong thời gian ngắn; và một kho lạnh có chức năng dao động điều hòa, đảm bảo phân phối nhiệt độ trong kho lạnh luôn ở mức  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  để bảo quản sản phẩm có thể điều chỉnh theo mục đích sử dụng. Do đó giá thành của dây chuyền công nghệ CAS thường dao động trong quãng từ một đến ba triệu đô la, khá cao, nên làm cho một số doanh nghiệp ngại đầu tư bởi cũng lo ngại về việc không đủ sức thu hồi vốn. Các công nghệ này đều cho kết quả tốt hơn thích hợp với hoạt động đánh bắt xa bờ với thời gian kéo dài trên 20 ngày của một chuyến biển... Bên cạnh đó, cũng có một số nghiên cứu nhằm duy trì và đảm bảo chất lượng cá sau thu hoạch đã được thực hiện. Nguyễn Văn Minh và cộng sự (2015) [59] đã nghiên cứu sử dụng chất chống oxy hóa ascorbic acid trong bảo quản cá bóp phi lê đông lạnh. Trần Bạch Long và cộng sự

(2019), đã nghiên cứu ảnh hưởng của ướp muối đến sự oxy hóa lipid và oxy hóa protein trong cơ thịt cá lóc (*Channa striata*) nuôi [60]. Ngoài ra đã có một số nghiên cứu về hợp chất tự nhiên có khả năng chống oxy hóa trong bảo quản cá bớp như: dịch chiết giàu polyphenol từ rong *Sargassum mcclurei* [61]. Kết quả cho thấy phân đoạn dịch chiết này có khả năng hạn chế sự oxy hóa lipid ở thịt cá bớp trong quá trình bảo quản lạnh; giá trị PV và TBARS của mẫu bảo quản bằng dịch chiết đều giảm so với ĐC. Ngoài ra, chất chiết từ lá ca cao (*Theobroma cacao*), dịch chiết diệp hạ châu giữ được chất lượng của cá bớp phi lê trong 10 ngày bảo quản ở điều kiện lạnh nhờ khả năng hạn chế sự oxy hóa lipid ở cơ thịt cá. Thêm vào đó, các nghiên cứu về bảo quản, ngăn chặn sự oxy hóa lipid ở khô cá trích bằng ascorbic acid, citric acid, tartaric acid [62], hay ứng dụng công nghệ plasma trong việc xử lý vi khuẩn *Escherichia coli* ở phi lê cá basa cho thấy tỉ lệ tiêu diệt vi khuẩn này đạt 99 % -100 %. Các chỉ số về màu sắc, hàm lượng peroxide, protein và lipid không thay đổi và không có sự oxy hóa chất béo trong quá trình xử lý... Mỗi phương pháp bảo quản có những ưu nhược điểm khác nhau và không có phương pháp nào ức chế hoàn toàn các vi sinh vật và quá trình oxy hóa lipid [4], [63]. Do đó, sự kết hợp của các phương pháp sẽ đem lại kết quả tốt hơn. Ví dụ như kết hợp của các chất bảo quản và làm lạnh sẽ làm giảm quá trình hư hỏng [64] và hạn chế được sự phát sinh các chất gây hại, làm mất đi chất dinh dưỡng cũng như hương vị của cá ngay từ lúc đánh bắt đến lúc vận chuyển và cũng đảm bảo về an toàn thực phẩm cũng như hạn sử dụng của chúng.

Ở Việt Nam, BHA và NaA cũng được coi là an toàn, có tính kháng khuẩn tốt, được sử dụng rộng rãi, đặc biệt là NaA. Trong ngành thực phẩm, NaA còn được sử dụng như là một chất phụ gia cho thực phẩm dưới dạng sodium diacetate – hỗn hợp giữa của sodium acetate và acetic acid theo tỉ lệ 1:1, với ký hiệu số E là E262. Ngoài ra BHA và NaA còn được dùng để bảo quản giò lụa, chả, xúc xích, nhằm làm tăng mùi thơm, giòn, dai và giữ được màu sắc tươi của sản phẩm...Tuy nhiên về bảo quản cá thì chưa thấy dùng chủ yếu chỉ là phương pháp đông lạnh, nên việc nghiên cứu sử dụng NaA và BHA trong bảo quản cá ngừ vẫn cũng rất cần thiết nhằm giúp giữ cho chất lượng cá. Đặc biệt, cho đến nay, rất ít các công bố nghiên cứu về sự hình thành các sản phẩm có hại trong quá trình lưu trữ ở các sản phẩm thủy sản nói chung và cá ngừ nói riêng ở nước ta.

## CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Đối tượng : cá ngừ vằn thu ở vùng biển Khánh Hòa.

Phạm vi : một số chất độc hại có thể ở cơ cá trong quá trình lưu trữ.

### 2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

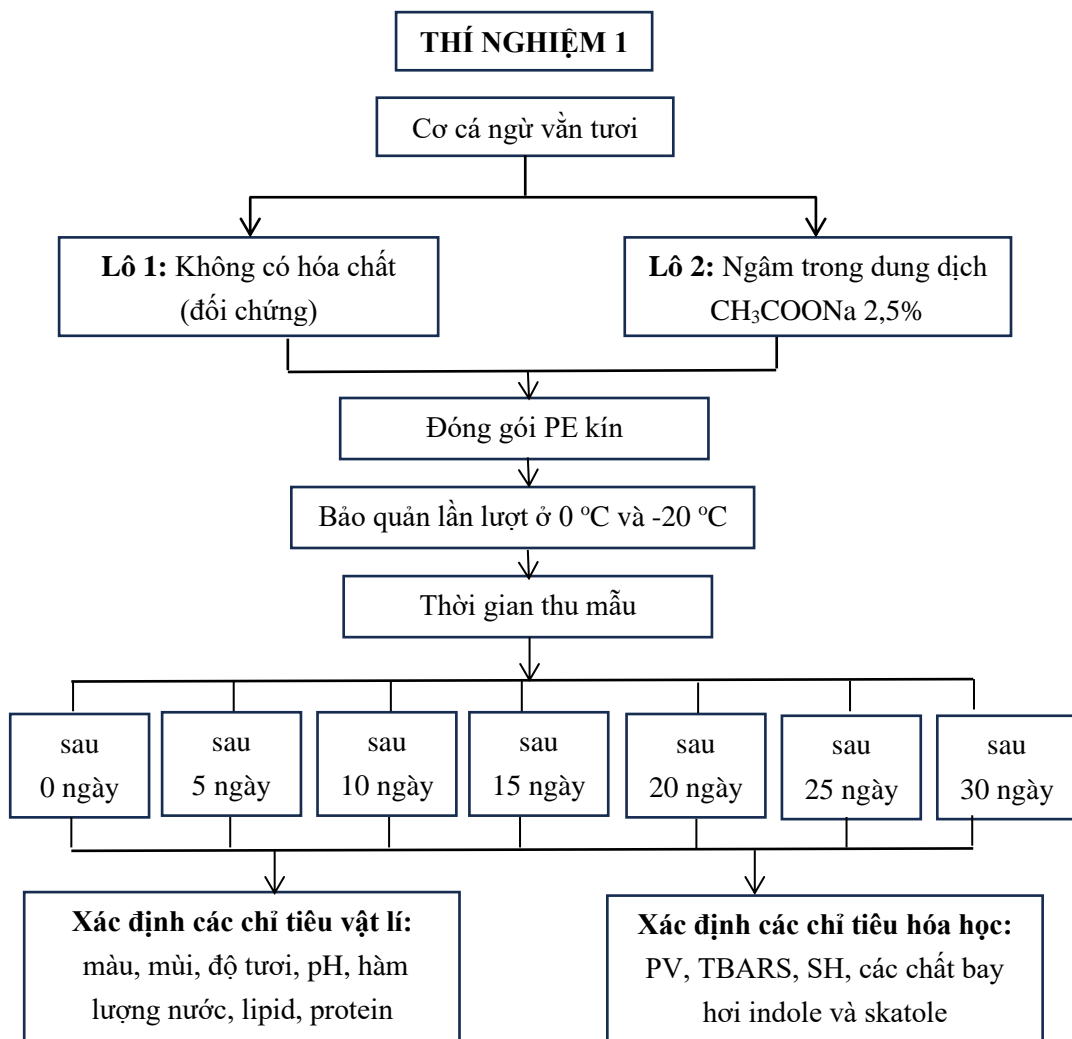
#### 2.2.1. Vật liệu nghiên cứu

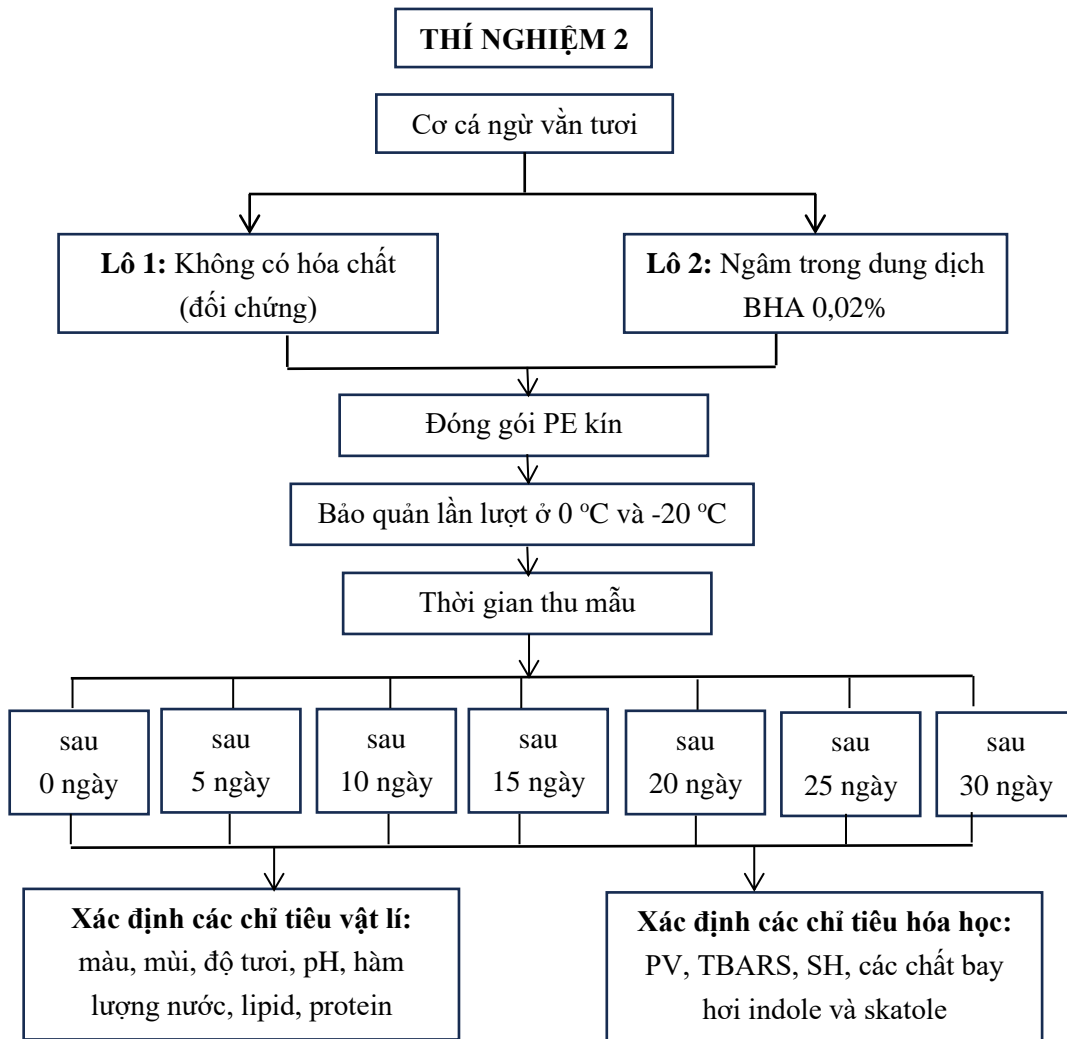
Cá ngừ vằn ở vùng biển Khánh Hòa.

- Cá ngừ vằn tươi, sau khi đánh bắt thu mua từ ngư dân ở cảng Hòn Rớ - Nha Trang- Khánh Hòa vào tháng 3/2022. Sau đó cá được rửa sạch bên ngoài, ướp với đá khô và vận chuyển ngay về phòng thí nghiệm Viện Hải dương học trong vòng 1 giờ.

- Tiến hành loại bỏ đầu, ruột và mang, rửa lại cho sạch máu, phi lê lấy phần thịt cơ và làm ráo nước và sử dụng cho các thí nghiệm.

#### 2.2.2. Bố trí thí nghiệm





- ✓ Muối hữu cơ sodium acetate được sử dụng ở nồng độ 2,5 % theo Kashiri và cộng sự (2011) [65].
- ✓ Butylated Hydroxyanisole (BHA) 0,02 % (hàm lượng tối đa cho phép trong thực phẩm theo FDA Hoa Kỳ)

#### **Giải thích sơ đồ:**

Cơ cá sau khi xử lý và làm ráo nước được chia làm hai lô thí nghiệm:

- Lô 1 (lô đối chứng): cơ cá sau khi xử lý ban đầu được bọc gói PE và bảo quản lạnh ở 0 °C và -20 °C.

- Lô 2 (lô thí nghiệm): cơ cá được ngâm trong dung dịch sodium acetate 2,5 %/BHA 0,02 %, tỷ lệ ngâm cá: dung dịch là 1:2 (g/mL), sau thời gian ngâm 15 phút, mẫu được làm ráo nước bằng giấy thấm và bao gói PE, giữ ở 0 °C và -20 °C. Cá được bảo quản luân lượt ở nhiệt độ lạnh 0 °C và -20 °C.

Thời gian thí nghiệm: 30 ngày. Mẫu được thu lần lượt sau 0 (mẫu ban đầu), 5; 10; 15; 20; 25; 30 ngày để tiến hành đánh giá chất lượng và phân tích các chỉ tiêu hóa lý và các chất bay hơi có hại indole, skatole. Mỗi đợt lấy mẫu, 3 mẫu từ mỗi thí nghiệm được thu.

## 2.2.3. Các phương pháp phân tích

### 2.2.3.1. Các phương pháp

- Xác định thành phần sinh hóa cơ bản

Bảng 2. 1. Bảng các phương pháp xác định thành phần sinh hóa của cơ cá ngừ vằn.

Thành phần sinh hóa cơ bản	Phương pháp
Xác định hàm lượng nước	Phương pháp của AOAC (2016)
Xác định hàm lượng lipid	Phương pháp của Bligh & Dyer (1959) [66]
Xác định giá trị pH trong thịt cá	Phương pháp Hultmann và cộng sự (2012) [67]
Xác định hàm lượng protein	Phương pháp Bicinchoninic acid (BCA) [68].

- Xác định các chất độc hại

Bảng 2. 2. Bảng các phương pháp xác định chất độc hại trong cơ cá ngừ vằn.

Xác định chất độc hại	Phương pháp
Chỉ số Peroxide value (PV)	Phương pháp của International IDF Standards (1991) [69]
Chỉ số Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)	Phương pháp của Lemon (1975) [70]
Xác định chỉ số sulfhydryl (-SH)	Phương pháp của Ellman (1959) [71]
Xác định các hợp chất bay hơi indole, skatole	Dùng hệ thống sắc kí khí lỏng theo Hansen-Møller (1994) [72]

### 2.2.3.2. Cách tiến hành

- ❖ **Xác định cảm quan về màu sắc, mùi, độ tươi của cá:**

Được xây dựng theo phương pháp Chakma và cộng sự (2020) [73].

Cách tiến hành: cơ thịt cá của các lô thí nghiệm được đánh giá bởi 5 người theo các tiêu chuẩn sau:

Bảng 2. 3. Bảng các đặc điểm cảm quan trong cơ cá ngừ vằn.

Đặc điểm cảm quan	Mô tả	Điểm hư hỏng (DP)
Màu sắc	Màu hơi đỏ hồng	1
	Màu đỏ hồng đến nâu	2
	Màu nâu đến xám	3
	Màu nhợt nhạt	5
Mùi thịt cá	Có mùi đậm, mùi tự nhiên	1
	Mùi chua thoang thoang	2
	Mùi chua nhẹ vừa phải	3
	Chua vừa phải đến mạnh	5
Kết cấu cơ thịt	Thịt săn chắc, đàn hồi rất tốt	1
		2



	Mềm vừa phải; một số mất độ đàn hồi Mềm Thịt mềm nhão, hư hỏng	3 5
Hình thức chung (QI)	Tươi sáng, óng ánh Hơi xỉn màu Mờ đục Đường bên màu đỏ và vùng đuôi mờ đục	1 2 3 5

Điểm xếp loại thịt cá ngừ vằn

Bảng 2. 4. Bảng điểm hư hỏng (DP) xếp loại thịt cá ngừ vằn.

Loại	Điểm hư hỏng (DP)	Mức độ chấp nhận
A	<2	Hoàn hảo
B	2 đến <5	Tốt
C	5	Không chấp nhận

Bảng mô tả thuộc tính cảm quan cho cá ngừ vằn khi bảo quản lạnh với chỉ số DP càng thấp chất lượng cá càng cao.

❖ **Xác định giá trị pH trong thịt cá**

*Cách tiến hành:* 10g mẫu được xay nhuyễn với 10mL KCl 0,15M, sau đó hỗn hợp được sử dụng để đo pH bằng máy.

❖ **Xác định hàm lượng nước theo phương pháp của AOAC (2016)**

Bằng cách sấy khô đến khối lượng không đổi.

*Cách tiến hành:* 2 g mẫu cá cho vào cốc sấy ở nhiệt độ 80 °C trong vòng 4-6 giờ đến trọng lượng không đổi.

❖ **Xác định hàm lượng lipid**

*Cách tiến hành:* Khoảng 2g mẫu cá đã làm nhuyễn được ngâm trong 30mL hỗn hợp dung môi chloroform : methanol : H<sub>2</sub>O (1 : 2 : 0,4) theo thể tích trong 24 giờ. Mẫu được chiết lại với hỗn hợp dung môi trên từ 2-3 lần. Dịch chiết sau khi thu được lắc với chloroform và nước để có tỷ lệ chloroform: methanol: H<sub>2</sub>O cuối cùng là 1 : 1 : 0,5. Để phân lớp và thu lớp chloroform. Làm khô mẫu trên máy cô hút chân không ở nhiệt độ 40- 45 °C để thu lipid.

❖ **Xác định hàm lượng protein**

*Cách tiến hành:* Khoảng 100 mg thịt cá được chiết trong đệm urea chứa 2-Mercaptoethanol 2 %. Trộn thuốc thử A (BCA reagent A) và thuốc thử B (BCA reagent B) với tỷ lệ A:B = 50:1 (v:v). Cho hỗn hợp này vào các giếng trên một đĩa microplate 96 giếng (100µL/giếng). Sau đó thêm 5 µL protein chuẩn (Bovine serum albumin) ở các

nồng độ 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1(mg/mL) vào mỗi giếng. Những giếng còn lại thêm mẫu cần đo protein đã pha loãng 100 lần với nước cất (5 $\mu$ L/giếng, cho vào 3 giếng). Lắc trộn đều mẫu trong các giếng và ủ ở 37 °C trong 30 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ ở bước sóng 562 nm. Hàm lượng protein trong mẫu được tính toán dựa theo phương trình tương quan được thiết lập giữa hàm lượng protein chuẩn và độ hấp thụ.

❖ **Xác định chỉ số peroxide value (PV)**

*Cách tiến hành:* 10g mẫu được cho vào ống Fancol chứa 40 mL dung dịch chloroform: methanol (2:1) được lắc đều 3 giờ bằng máy lắc. Sau đó ly tâm với tốc độ 700g ở 25 °C trong 5 phút và thu lớp dung dịch phía dưới để phân xác định chỉ số PV. Dịch chiết được phản ứng với dung dịch Fe<sup>2+</sup> và NH<sub>4</sub>SCN và hỗn hợp được so màu trên máy quang phổ ở bước sóng 480 nm. Hàm lượng PV được tính qua đường chuẩn Fe<sup>3+</sup>.

❖ **Xác định chỉ số thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)**

*Cách tiến hành:* Khoảng 5g thịt cá được xay nhuyễn với 10mL dung dịch TCA (Trichloroacetic acid) 7,5 % trong thời gian 15 phút, sau đó lọc qua giấy lọc. Phần dịch lọc thu được trộn với dung dịch TBA 0,02M theo tỉ lệ thể tích bằng nhau. Hỗn hợp được gia nhiệt và giữ ở 90 °C trong 40 phút. Sau đó làm nguội đến nhiệt độ phòng để xác định độ hấp thụ quang ở bước sóng 532 nm. Hàm lượng được tính toán dựa vào đường chuẩn Malondyaldehyde (MDA) ở các nồng độ từ 0-10 ppm.

❖ **Thí nghiệm xác định chỉ số sulfhydryl (-SH)**

*Cách tiến hành:* 0,5g thịt cá xay nhuyễn trong 10 mL đệm Tris-HCl 0,05 M (pH 8). Sau đó hoà 1 mL dịch thu được với 9 mL đệm Ellman (pH 8) (chứa 0,6 M NaCl, 6 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 8 M Urea, 2 % sodium dodecyl sulfate (SDS). Hỗn hợp được lắc kỹ và ly tâm ở 5 °C để thu phần dịch. Tiếp theo thêm 40  $\mu$ L 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) 0,01 M trong sodium acetate 0,05 M vào 3 mL dịch mẫu. Mẫu trắng gồm 3 mL đệm Ellman và Tris-HCl (9:1) và 40  $\mu$ L dung dịch DTNB 0,01 M. Mẫu được lắc kỹ và ủ ở 40 °C trong 15 phút. Đo độ hấp thụ ở 412 nm để xác định hàm lượng nhóm SH tự do ở hệ số hấp thụ phân tử 13.600 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>.

❖ **Xác định các hợp chất bay hơi indole và skatole**

*Cách tiến hành:* 20 g thịt cá phi lê xay nhuyễn, được chiết với 50 mL dichlormethane ở nhiệt độ phòng. Sau đó, khuấy hỗn hợp trong 30 phút, lọc thu dịch dichlormethane và làm bay hơi bằng cô quay chân không. Một lượng nước nhỏ còn lại được làm khô với Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> khan. Mẫu được làm sạch qua cột SPE trước khi phân tích bằng hệ thống sắc ký khí khối phổ Shimadzu. Chất chuẩn indole và skatole được cung cấp bởi Sigma, Hoa Kỳ.

#### **2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu**

Giá trị các số liệu phân tích của thí nghiệm được xử lý và tính toán Microsoft Excel 2010 và thể hiện bằng giá trị trung bình  $\pm$  sai số chuẩn. Sai khác các giá trị trung bình được thực hiện bằng ANOVA một chiều với Turkey test ở  $p < 0,05$ .

### CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Hàm lượng nước, protein và lipid và một số đặc tính hóa lí của thịt cá ngừ vằn sau đánh bắt

##### 3.1.1. Hàm lượng nước, protein và lipid và pH

Hàm lượng nước, protein và lipid % theo khối lượng của cơ cá ngừ vằn sau khi thu mẫu được trình bày trong Bảng 3.1.

Bảng 3. 1. Hàm lượng nước, protein và lipid % theo khối lượng của cơ cá ngừ vằn.

Cơ cá	H <sub>2</sub> O %	Protein %	Lipid %	pH
	72,24±0,34	23,01±0,03	2,18±0,07	6,21±0,01

Hàm lượng các thành phần sinh hóa của cá ngừ vằn thu ở vùng biển Việt Nam trong nghiên cứu này tương tự như ở cá ngừ vằn ở vùng biển khác đã được công bố.

##### 3.1.2. Một số chỉ tiêu cảm quan màu sắc, mùi, kết cấu cơ thịt

Các chỉ tiêu chất lượng ở cơ cá ngừ bảo quản ở 0 °C và -20 °C theo thời gian được trình bày lần lượt ở các Bảng 3.2 và 3.3.

Bảng 3. 2. Các chỉ tiêu chất lượng ở cơ cá ngừ bảo quản ở 0 °C theo thời gian.

ĐC	Thời gian lưu trữ (ngày)						
	0	5	10	15	20	25	30
<b>Màu sắc</b>	1,07±0,17	2,15±0,21	2,66±0,32	2,97±0,24	3,15±0,21	4,25±0,19	4,82±0,18
<b>Mùi thịt cá</b>	1,02± 0,09	1,95±0,09	2,17±0,19	2,95±0,21	3,21±0,24	4,11±0,32	4,66±0,34
<b>Kết cấu cơ thịt</b>	1,04±0,07	2,14±0,13	2,64±0,21	2,99±0,25	3,23±0,32	4,07±0,25	4,82±0,18
<b>QI</b>	1,12±0,19	2,32±0,32	2,69±0,22	3,12±0,35	3,95±0,46	4,41±0,27	4,57±0,43
<b>Loại</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
<b>NaA</b>							
<b>Màu sắc</b>	1,07±0,17	2,09±0,22	2,62±0,32	2,95±0,21	3,21±0,26	3,58±0,25	4,03±0,22
<b>Mùi thịt cá</b>	1,02± 0,09	2,12±0,11	2,38±0,22	2,45±0,34	3,21±0,19	3,55±0,27	4,11±0,25
<b>Kết cấu cơ thịt</b>	1,04±0,07	1,82±0,19	2,19±0,24	2,98±0,32	3,24±0,18	3,67±0,31	4,21±0,27
<b>QI</b>	1,12±0,19	2,21±0,16	2,43±0,18	2,78±0,25	2,98±0,34	3,22±0,42	4,33±0,37
<b>Loại</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>
<b>BHA</b>							
<b>Màu sắc</b>	1,07±0,17	2,08±0,24	2,59±0,19	2,91±0,23	3,15±0,31	3,55±0,42	4,05±0,19
<b>Mùi thịt cá</b>	1,02± 0,09	2,1±0,18	2,36±0,22	2,41±0,25	3,19±0,32	3,53±0,19	4,18±0,21
<b>Kết cấu cơ thịt</b>	1,04±0,07	1,8±0,22	2,17±0,24	2,96±0,19	3,22±0,24	3,65±33	4,2±0,11
<b>QI</b>	1,12±0,19	2,23±0,34	2,41±0,32	2,77±0,31	2,97±0,27	3,25±0,34	4,35±0,28
<b>Loại</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>

Bảng 3. 3. Các chỉ tiêu chất lượng ở cơ cá ngừ bảo quản ở -20 °C theo thời gian.

ĐC	Thời gian lưu trữ (ngày)						
	0	5	10	15	20	25	30
Màu sắc	1,07±0,17	1,93± 0,21	2,06± 0,11	2,11± 0,17	2,75± 0,19	2,82± 0,22	2,99± 0,11
Mùi thịt cá	1,02± 0,09	1,07± 0,08	1,55±0,17	1,86±0,28	2,2±0,31	2,34±0,35	2,46±0,26
Kết cấu cơ thịt	1,04±0,07	1,06±0,13	1,37±0,15	2,01±0,22	2,23±2,25	2,31±0,31	2,6±0,24
QI	1,12±0,19	2,14±0,28	2,21±0,31	2,38±0,34	3,02±0,43	3,15±0,28	3,24±0,44
Loại	A	A	A	A	A	B	B
<b>NaA</b>							
Màu sắc	1,07±0,17	1,82±0,21	1,97±0,25	2,05±0,31	2,66±0,27	2,74±0,19	2,84±0,11
Mùi thịt cá	1,02± 0,09	1,07±0,06	1,43±0,21	1,79±0,32	2,19±0,27	2,35±0,31	2,42±0,24
Kết cấu cơ thịt	1,04±0,07	1,05±0,12	1,32±0,24	1,99±0,25	2,21±0,33	2,44±0,19	2,53±0,27
QI	1,12±0,19	2,11±0,29	2,22±0,18	2,32±0,37	2,75±0,42	2,91±0,31	3,19±0,44
Loại	A	A	A	A	A	B	B
<b>BHA</b>							
Màu sắc	1,07±0,17	1,81±0,16	1,95±0,21	2,03±0,25	2,63±0,27	2,71±0,19	2,8±0,1
Mùi thịt cá	1,02± 0,09	1,05±0,06	1,44±0,12	1,73±0,21	2,14±0,27	2,23±0,21	2,39±0,25
Kết cấu cơ thịt	1,04±0,07	1,05±0,14	1,33±0,2	1,99±0,19	2,21±0,25	2,37±0,42	2,51±0,29
QI	1,12±0,19	2,08±0,32	2,11±0,17	2,31±0,35	2,73±0,39	2,91±0,33	3,13±0,29
Loại	A	A	A	A	A	B	B

Cá sau đánh bắt ban đầu có chất lượng tốt (loại A) đảm bảo điều kiện để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

Với mẫu bảo quản ở 0 °C, ở ĐC chất lượng thịt cá bắt đầu suy giảm ở ngày thứ 15 (loại B) và ở ngày thứ 30 chất lượng giảm mạnh (loại C). Mẫu bảo quản bằng NaA và BHA suy giảm chất lượng vào ngày thứ 20 và duy trì đến cuối thời gian thí nghiệm (Loại B). Với mẫu bảo quản ở -20 °C, sự suy giảm chất lượng qua các chỉ tiêu cảm quan diễn ra chậm ở tất cả các mẫu, bắt đầu vào ngày thứ 25 và 30 (Loại B).

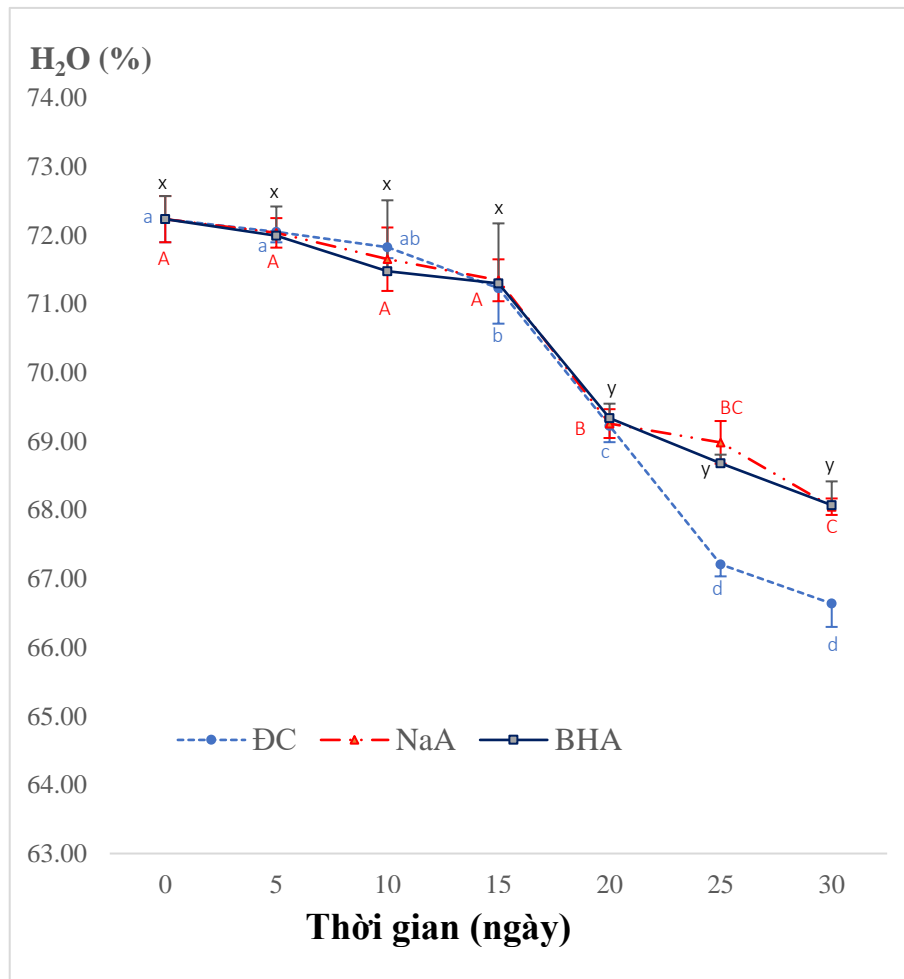
Như vậy, trong quá trình bảo quản, giá trị cảm quan của các mẫu thí nghiệm có xu hướng giảm. Màu sắc cơ thịt cá chuyển từ trong và phản quang ánh sáng tốt sang màu hơi vàng, nâu nhạt và cuối cùng là đục; có màu nâu xám, nhợt nhạt. Mùi ban đầu của miếng phi lê là mùi thơm tanh tự nhiên nhưng qua 25 ngày bảo quản cơ thịt cá bắt đầu có mùi chua ở -20 °C, còn ở nhiệt độ 0 °C thì mùi đậm hơn. Độ bóng bề mặt cũng giảm dần theo thời gian bảo quản, ban đầu cơ thịt cá bóng đẹp, có màu tự nhiên nhưng qua thời gian bảo quản thì không còn độ bóng như ban đầu. Kết cấu của cơ thịt cá cũng giảm dần theo thời gian bảo quản, ban đầu cơ thịt săn chắc, đàn hồi nhanh nhưng đến ngày thứ 25 trở đi, thì kết cấu cơ thịt lỏng lẻo, hơi mềm và kém đàn hồi. Nguyên nhân của sự biến đổi về màu sắc, cơ thịt, mùi vị của cá là do quá trình oxy hóa protein myofibrillar trong gel protein và làm giảm độ trắng của gel, điều này có liên quan đến quá trình carbonyl hóa là cơ chế chính để trở nên mềm sau khi lão hóa ở nhiệt độ làm lạnh. Các enzyme thủy phân protein làm mềm mô cơ, đặc biệt là calpain [74]. Mối quan hệ giữa độ mềm của sản phẩm và hoạt động của enzyme phân giải protein phụ thuộc

vào mức độ oxy hóa, với quá trình oxy hóa quá mức dẫn đến cấu trúc protein nhỏ gọn hơn; quá trình oxy hóa vừa phải dẫn đến việc mở ra protein và phân hủy protein cấu trúc dễ dàng hơn bằng enzyme. Sự gia tăng độ cứng và độ đàn hồi của các sản phẩm thủy sản thường là do tăng cấu trúc liên kết ngang của protein và giảm hoạt tính hydrolase của protein [75]. Quá trình oxy hóa protein (tăng đáng kể hàm lượng gốc tự do và carbonyl) và thoái hóa (tăng peptide hòa tan TCA và chỉ số phân mảnh sợi myogen) góp phần làm giảm độ săn chắc, độ đàn hồi, độ dai và khả năng phục hồi trong quá trình bảo quản, làm giảm chất lượng của chúng [76]. Bên cạnh đó thì quá trình oxy hóa lipid là nguyên nhân chính gây hư hỏng và hư hỏng đối với cá có hàm lượng dầu/mỡ cao được lưu trữ trong thịt của chúng. Quá trình oxy hóa lipid có thể xảy ra enzyme hoặc không enzyme. Điều này được thực hiện bởi phân hủy chất béo và các chất béo khác bằng cách thủy phân để giải phóng acid béo. Chúng tạo thành các acid béo tự do, là nguyên nhân gây ra mùi vị lạ (ôi) và giảm chất lượng dầu trong cá [77]. Tuy nhiên, trong quá trình bảo quản giá trị cảm quan của các mẫu thí nghiệm có xử lí muối NaA và BHA tốt hơn so với ĐC có thể nhờ đặc tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của chúng.

Sự thay đổi cảm quan ở ĐC so với mẫu bảo quản bằng NaA và BHA ở 0 °C diễn ra rõ ràng hơn ở các mẫu lưu trữ ở nhiệt độ -20 °C. Kết quả này là do nhiệt độ thấp ức chế hoạt động của vi sinh vật, ngăn cản các quá trình oxy hóa và làm chậm sự suy giảm chất lượng cảm quan. Các kết quả nghiên cứu cho thấy nhiệt độ càng cao, sự suy giảm chất lượng cá càng diễn ra nhanh hơn.

### **3.2. Hàm lượng một số chất có hại liên quan đến chất lượng thịt cá ngừ vẫn được bảo quản bằng muối NaA và hợp chất BHA lưu giữ ở nhiệt độ 0 °C và -20 °C theo thời gian**

#### **3.2.1. Thay đổi hàm lượng nước ở thịt cá theo thời gian**

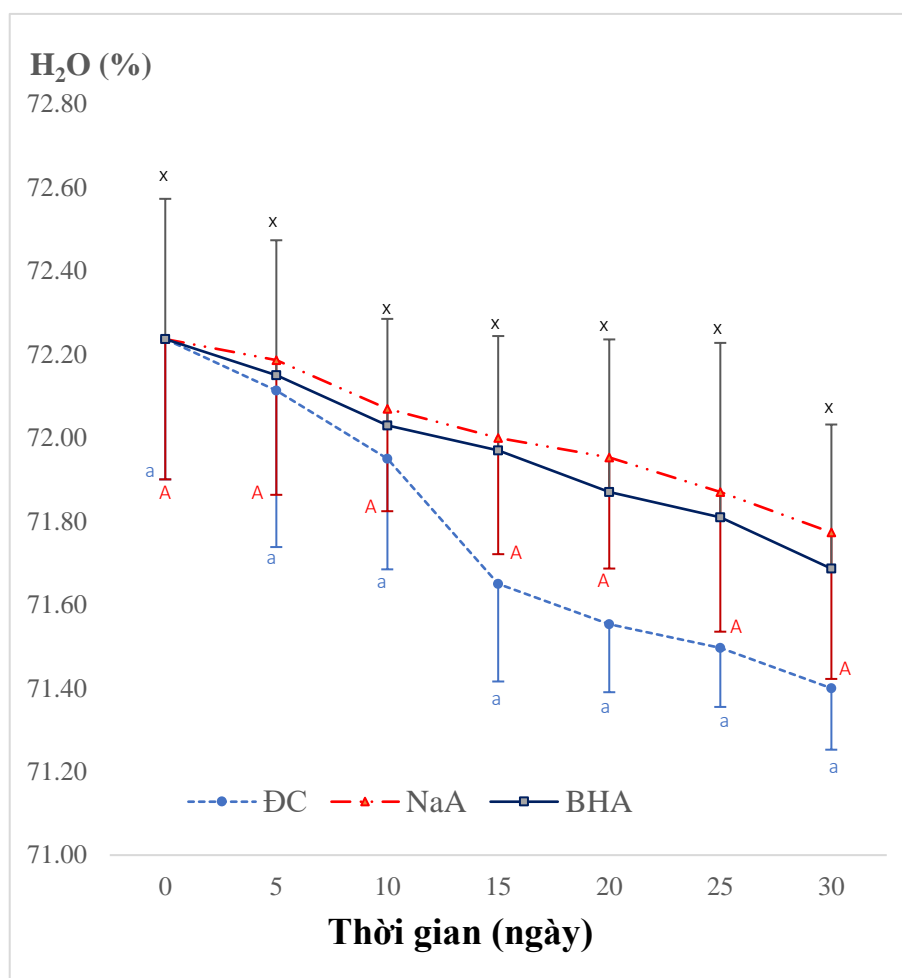


Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 1. Hàm lượng nước của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C.

Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Kết quả thí nghiệm từ Hình 3.1 cho thấy ở nhiệt độ 0 °C, ở ĐC, trong 10 ngày đầu tiên hàm lượng nước thay đổi nhỏ, nhưng những ngày kế tiếp thì giảm mạnh đáng kể từ 71,83% (ngày 15) đến 66,64% (ngày 30) ( $p < 0,05$ ). Trong khi đó các mẫu thịt cá được xử lý bằng muối NaA và BHA thì lượng nước giảm chậm hơn, từ 71,35%-68,05% (NaA) và 71,30%-68,07% (BHA) từ ngày thứ 15 đến ngày thứ 30.



Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 2. Hàm lượng nước của thịt cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$ . Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

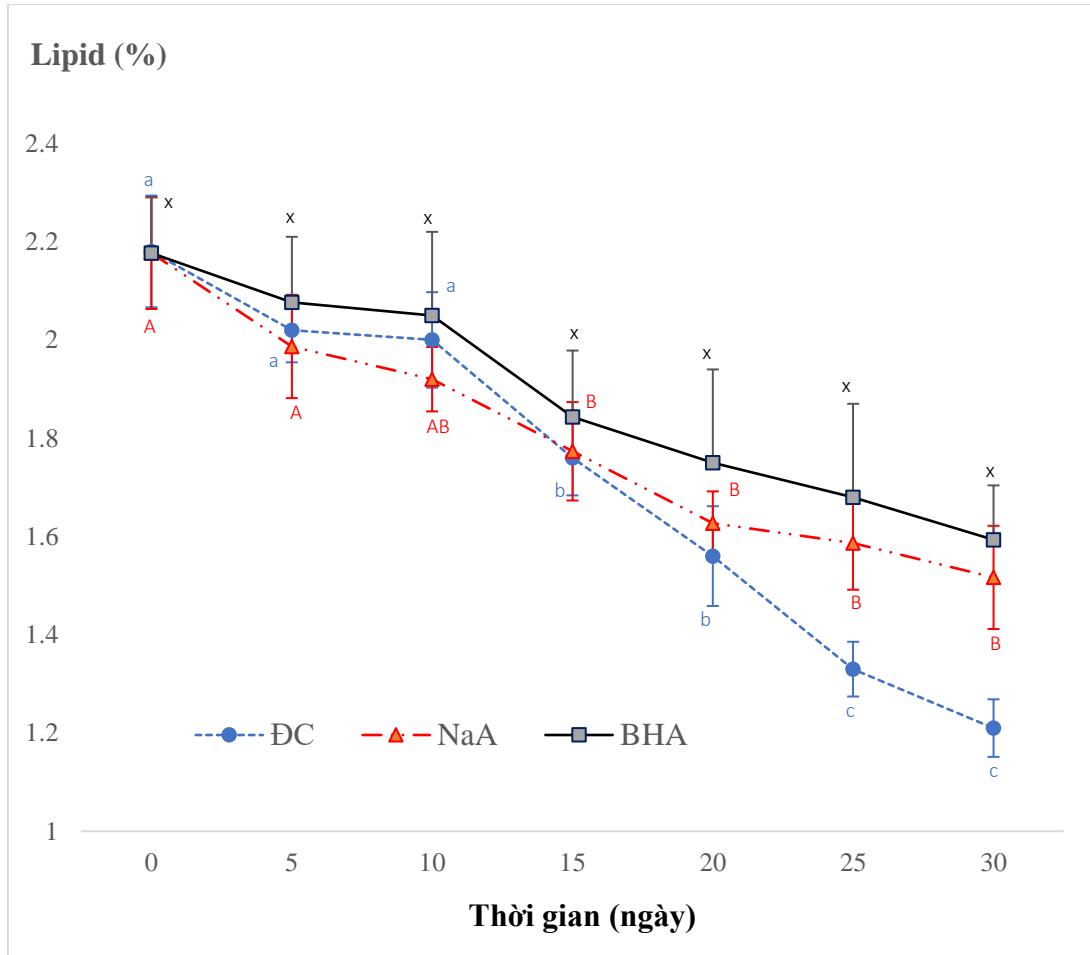
Trong khi đó kết quả thí nghiệm ở Hình 3.2 cho thấy khi được giữ ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$ , hàm lượng nước ở tất cả các mẫu thí nghiệm suy giảm nhưng không có sự khác biệt đáng kể theo thời gian ( $p > 0,05$ ) mặc dù ở lô ĐC hàm lượng nước giảm nhiều hơn so với mẫu cá được xử lý NaA và BHA. Như vậy khả năng giữ nước của cơ cá được xử lý bởi NaA và BHA tốt hơn so với thịt cá không được xử lý các chất này ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$ . Kết quả thu được chỉ ra ở nhiệt độ càng thấp thì khả năng giữ nước của cá càng cao và khả năng này ít bị ảnh hưởng bởi các chất bảo quản trong thời gian thí nghiệm.

Nước được giữ trong kết cấu của các sợi cơ (bao gồm actin và myosin), do đó, những thay đổi về thể tích sợi cơ được dùng để giải thích mối quan hệ giữa khả năng giữ nước và quá trình oxy hóa protein [78]. Do quá trình cacbonyl hóa, các biến đổi oxy hóa có thể dẫn đến thay đổi điện tích protein liên quan đến dư lượng histidine, lysine và arginine (tích cực dạng tích điện), mất đi điện tích dương khi bị oxy hóa và dẫn đến sự gia tăng điện tích âm. Điều này lần lượt làm tăng lực đẩy tĩnh điện giữa các sợi cơ, áp suất trương nở và thể tích của các sợi cơ, đồng thời góp phần tăng khả năng giữ nước



của hệ thống cơ [79]. Tương tự như quá trình thủy phân protein, quá trình oxy hóa vừa phải tạo điều kiện thuận lợi cho các tương tác protein có trật tự và do đó tăng cường chức năng của protein, trong khi quá trình oxy hóa quá mức sẽ thúc đẩy quá trình tổng hợp protein và làm giảm các đặc tính chức năng của protein [80].

### 3.2.2. Thay đổi hàm lượng lipid theo thời gian

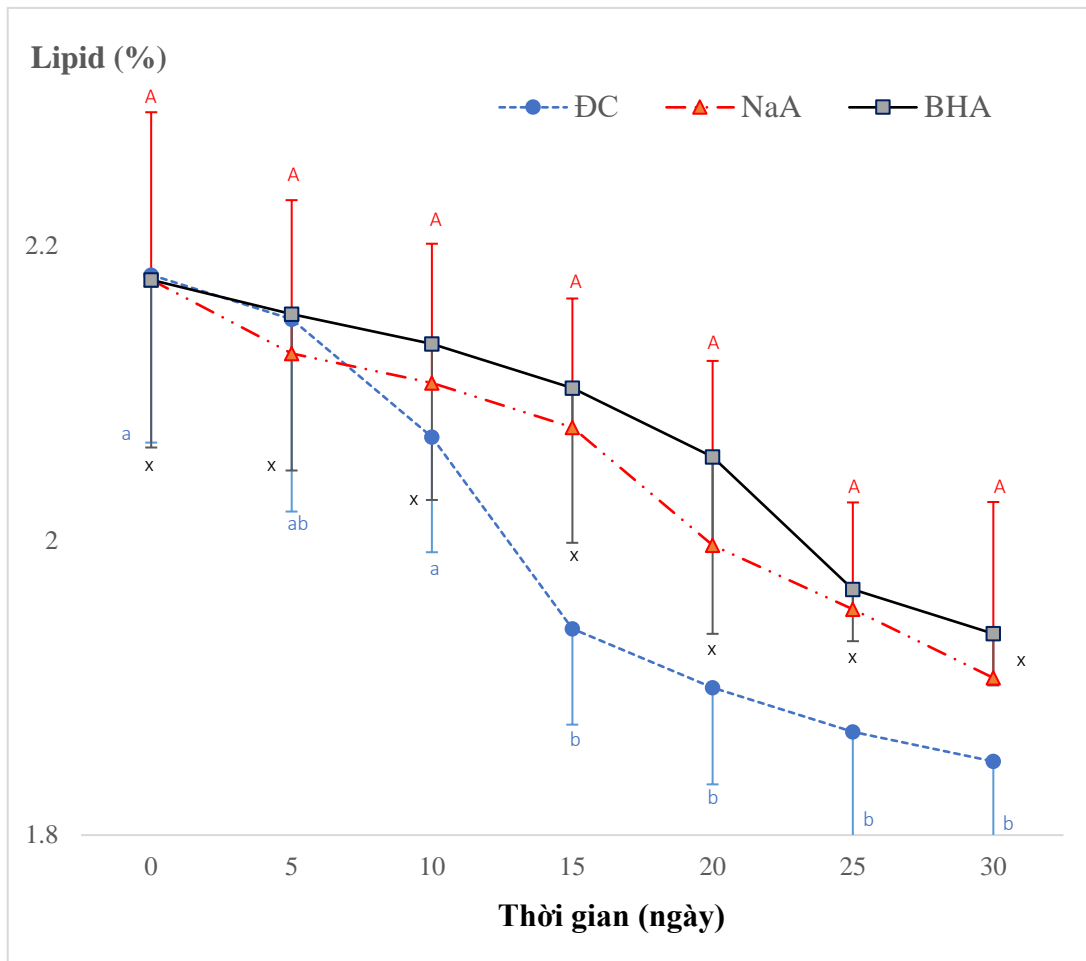


Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 3. Hàm lượng lipid % của cá nù trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C.

Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Từ đồ thị được trình bày trong Hình 3.3, ta thấy ở 0 °C, hàm lượng lipid trong 10 ngày đầu giảm chậm ở ĐC cũng như ở mẫu cá được xử lý bởi BHA và NaA, sau đó giảm nhanh cho đến ngày 30. Cụ thể, ở ĐC hàm lượng lipid có sự suy giảm đáng kể từ ngày thứ 10 đến ngày thứ 30 (2,00%-1,21%,  $p < 0,05$ ), còn ở mẫu được xử lý NaA và BHA hàm lượng lipid giảm chậm hơn và không có sự khác biệt đáng kể ( $p > 0,05$ ) (1,92%-1,52%, NaA) và (2,05%-1,59%, BHA) trong khoảng thời gian này.



Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

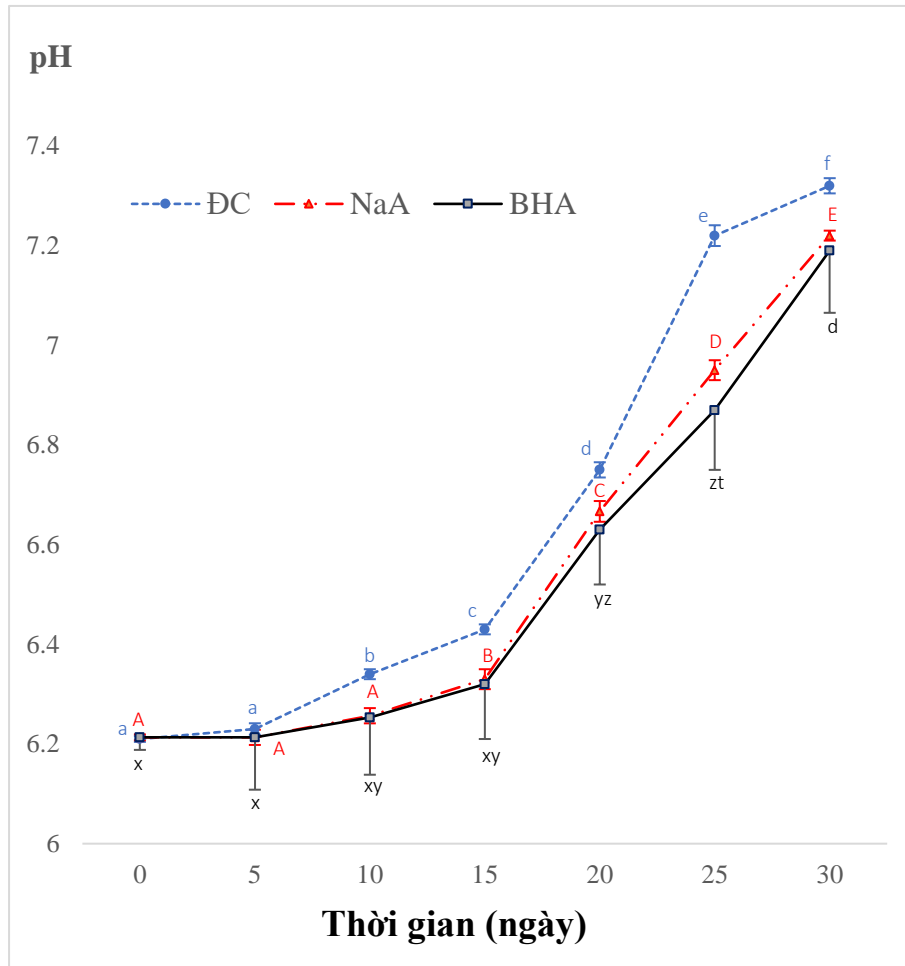
Hình 3. 4. Hàm lượng lipid % của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$ . Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Ở  $-20^{\circ}\text{C}$ , theo kết quả được trình bày (Hình 3.4) thì hàm lượng lipid có xu hướng suy giảm tương tự ở cả 3 lô mẫu thí nghiệm nhưng không có sự khác biệt đáng kể ( $p < 0,05$ ) ở mẫu được xử lý bằng NaA và BHA. Tuy nhiên, ở ĐC hàm lượng lipid giảm đáng kể vào những ngày cuối thời gian thí nghiệm ( $p < 0,05$ ). So với các mẫu lưu trữ ở  $0^{\circ}\text{C}$ , hàm lượng lipid ở các mẫu ở  $-20^{\circ}\text{C}$  giảm ít hơn.

Sự biến đổi hàm lượng và thành phần lipid là một trong các chỉ số dùng để đánh giá chất lượng sản phẩm cá trong quá trình bảo quản. Tương tự các nghiên cứu khác, kết quả trong nghiên cứu này chỉ ra nhiệt độ lưu trữ càng thấp thì lượng lipid bị mất đi càng ít, cá giữ được chất dinh dưỡng hơn. Điều này có thể giải thích bởi quá trình thủy phân triglyceride và phospholipid trong cơ thịt cá dưới tác động của enzyme nội tại và vi sinh vật [81]; nhiệt độ thấp hơn có thể đã làm giảm hoạt độ của enzyme lipase nội sinh và vi sinh vật sản sinh enzyme [82], [83]. Thêm vào đó, các acid béo tự do (FFA) được xem là tiền chất oxy hoá của lipid, theo đó cơ thịt cá chứa nhiều FFA dễ bị oxy hoá hơn [84], nhanh hơn so với các chất béo trung tính và phospholipid [85]. Theo thời gian, quá trình

lưu trữ càng lâu thì quá trình oxy hóa lipid diễn ra càng mạnh, sự oxy hóa diễn ra ở các cấu trúc bậc cao hơn của của phân tử lipid và hình thành các sản phẩm khác như TBARS và chỉ số này được sử dụng để đánh giá sự oxy hoá cấu trúc bậc 2 của lipid. Trong nghiên cứu này, các chất bảo quản NaA và BHA có tác dụng ngăn chặn quá trình oxy hóa lipid, đặc biệt thể hiện rõ ở mẫu lưu trữ ở nhiệt độ 0 °C.

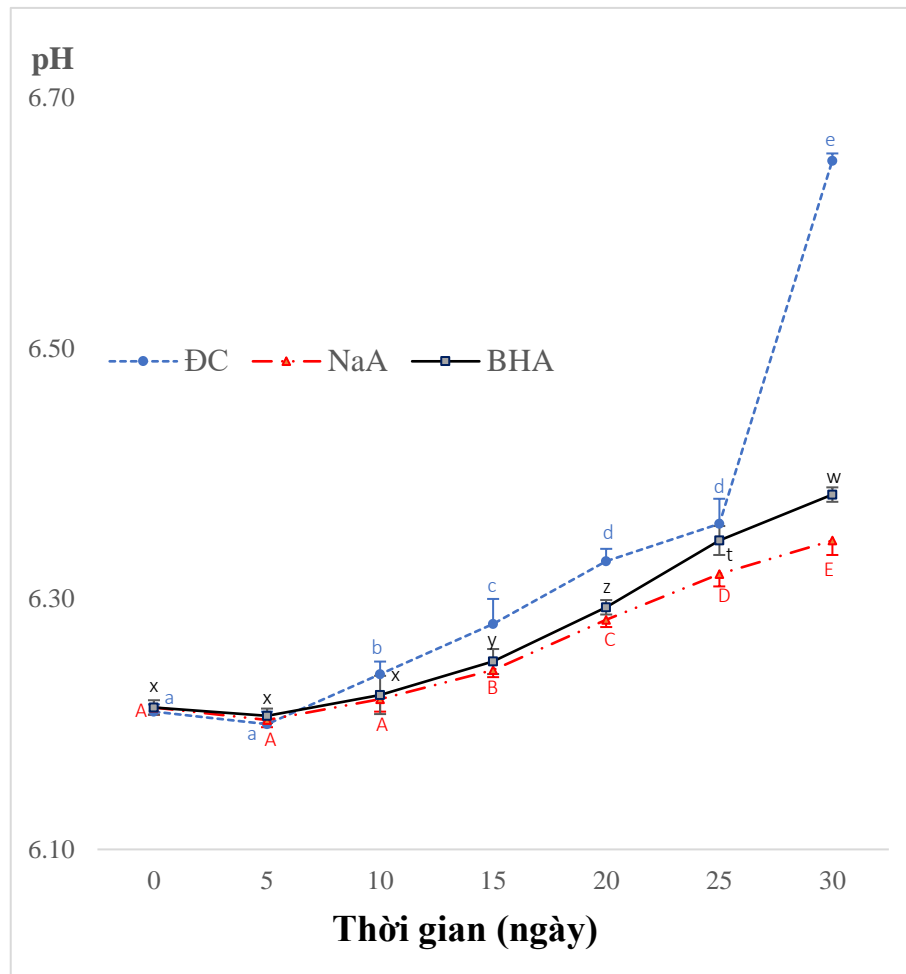
### 3.2.3. Thay đổi giá trị pH ở thịt cá theo thời gian



Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 5. Giá trị pH của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Giá trị pH ở các lô mẫu thí nghiệm lưu giữ ở 0 °C được trình bày ở Hình 3.5, ta thấy ở 0 °C, theo thời gian bảo quản, giá trị pH ở các lô mẫu thí nghiệm có xu hướng tăng tương tự và tăng nhanh từ ngày thứ 5 đến 30, trong đó pH ở ĐC tăng cao hơn mẫu được xử lý bằng NaA và BHA trong khoảng thời gian này. Cụ thể, từ ngày thứ 5 đến 30, pH ĐC tăng đáng kể từ 6,23-7,32 mẫu được xử lý bằng NaA từ 6,21-7,22 và BHA từ 6,21-7,19 ( $p < 0,05$ ).



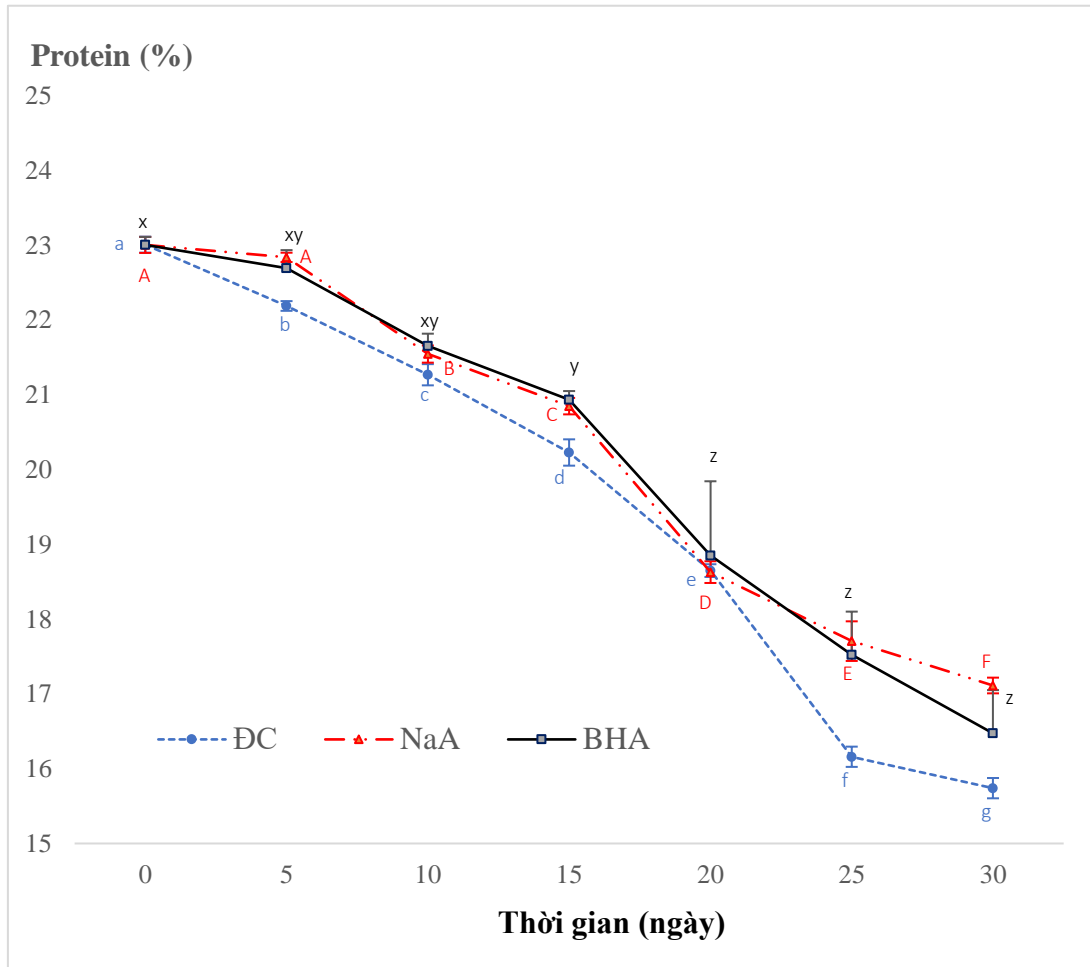
Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 6. Giá trị pH của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$ . Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Ở  $-20^{\circ}\text{C}$ , sự thay đổi pH của 3 lô mẫu hầu như giống từ ngày ban đầu đến ngày thứ 25, ngoại trừ sự gia tăng mạnh của pH ĐC vào ngày thứ 30 (6,65) so với mẫu thí nghiệm được xử lí bằng muối NaA (6,35) và BHA (6,38). (Hình 3.6)

Sự thay đổi pH trong cơ thịt cá trong quá trình lưu trữ chủ yếu là do sự phân hủy ATP và giải phóng glycogen để tạo thành  $\text{H}^+$  ở giai đoạn đầu của sự phân hủy lúc này pH giảm, qua ngày 5, lượng  $\text{H}^+$  hết, pH lại tăng do sự phân hủy tạo ra các hợp chất của ammonia. Như vậy, sau một thời gian bảo quản có sự phân hủy acid amine và các hợp chất hữu cơ làm gia tăng hàm lượng  $\text{NH}_3$  và TMA dẫn đến việc tăng giá trị pH cơ thịt cá [86], [87]. Trong nghiên cứu này, giá trị pH ở mẫu cá ngừ vằn không dùng chất bảo quản tăng dần trong suốt quá trình thí nghiệm và đạt đến 7,32 (ở  $0^{\circ}\text{C}$ ) và 6,65 (ở  $-20^{\circ}\text{C}$ ) trong 30 ngày và giá trị này không vượt quá giới hạn chấp nhận được đối với sản phẩm dùng cho người [88]. pH là chỉ số quan trọng được sử dụng như một chỉ tiêu chất lượng của cá [88], [89].

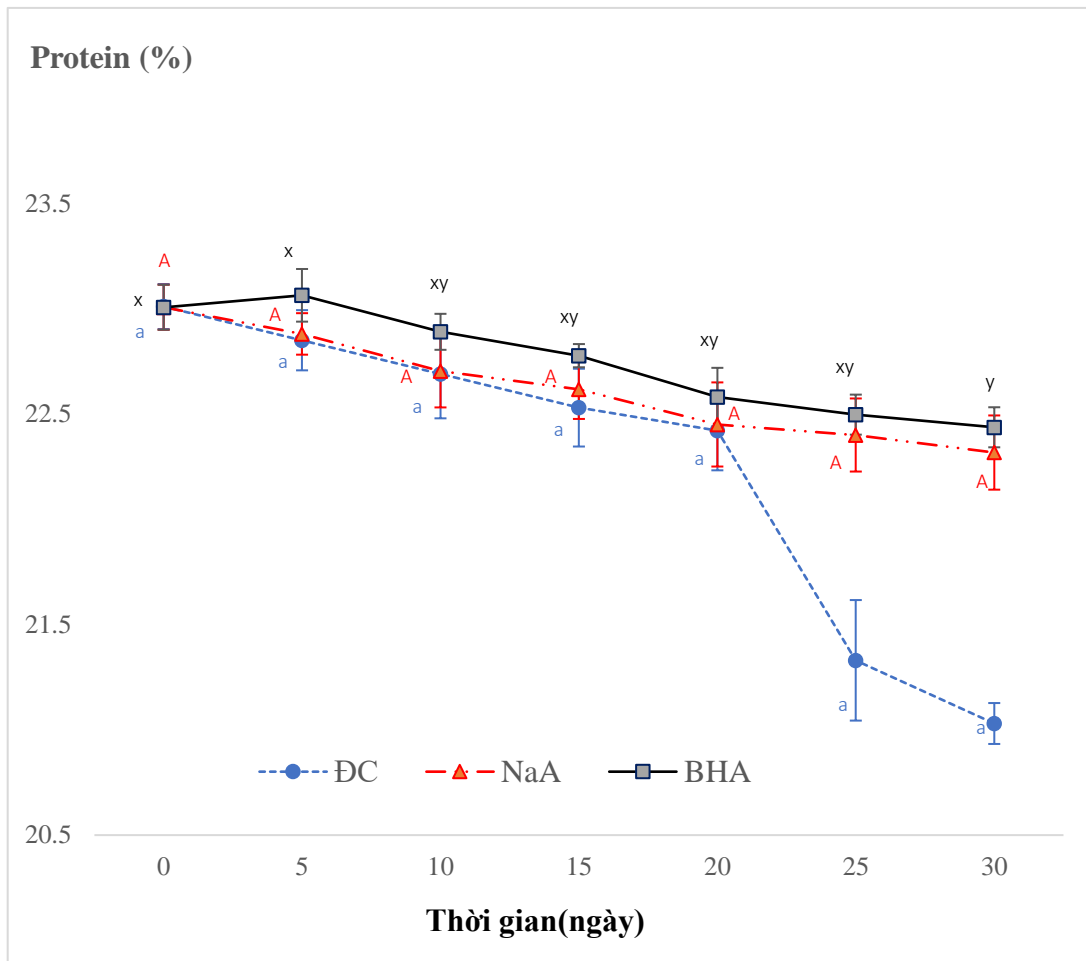
### 3.2.4. Thay đổi hàm lượng protein ở thịt cá theo thời gian



Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 7. Hàm lượng protein % của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Kết quả ở Hình 3.7 cho thấy ở 0 °C, hàm lượng protein ở tất cả các mẫu có sự suy giảm đáng kể từ ngày đầu tiên đến ngày thứ 30 ( $p < 0,05$ ), cụ thể ĐC từ 23,01% - 15,74%; mẫu được xử lý bởi NaA từ 23,01%-17,11% và mẫu được xử lý bởi BHA từ 23,01% -16,47%. So với ĐC thì mẫu được xử lý bởi NaA và BHA hàm lượng protein cao hơn trong cùng thời gian hay nói cách khác khả năng protein bị phân giải thấp hơn và cá giữ được chất dinh dưỡng tốt hơn, đặc biệt từ ngày 20 đến ngày thứ 30 thì hàm lượng protein trong ĐC giảm nhiều hơn so với các mẫu được xử lý bởi NaA và BHA.



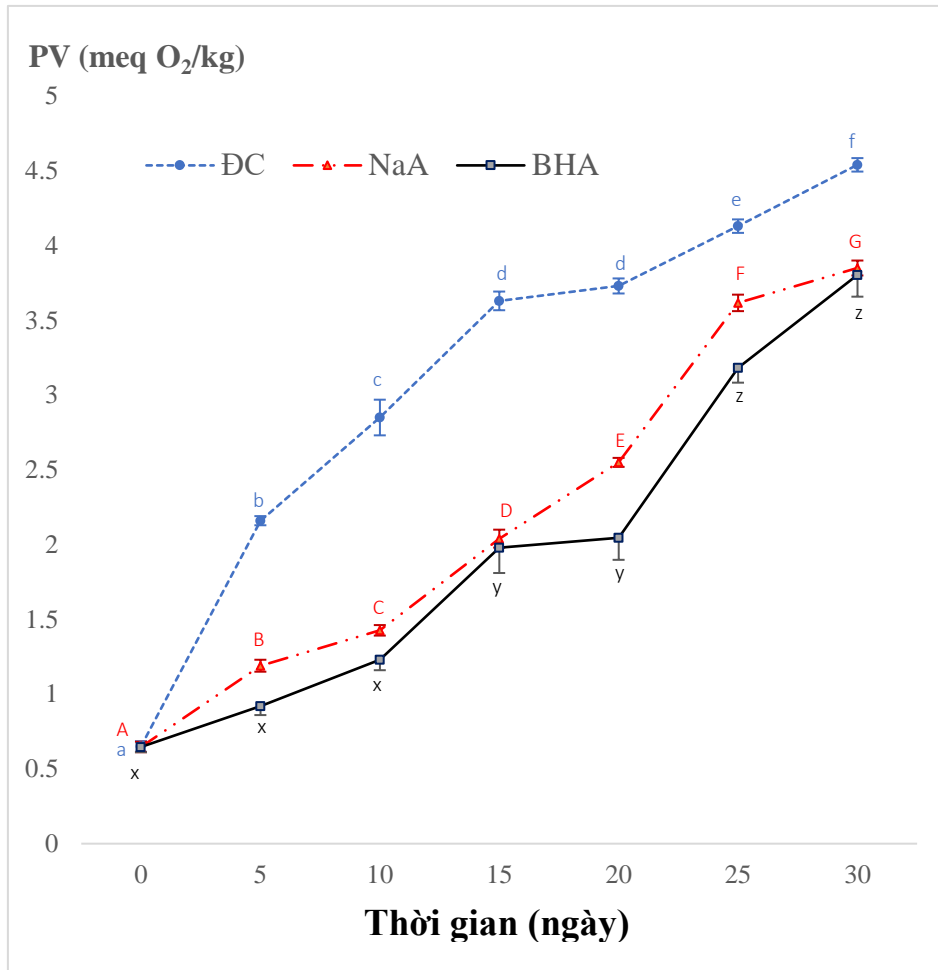
Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 8. Hàm lượng protein % của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$ . Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Ở  $-20^{\circ}\text{C}$ , hàm lượng protein ở các mẫu cá giảm nhẹ đến ngày thứ 20. Từ ngày 25 đến 30, hàm lượng protein ở ĐC giảm đáng kể ( $p < 0,05$ ), trong khi ở mẫu được xử lý NaA và BHA hàm lượng protein chỉ giảm nhẹ ( $p > 0,05$ ). Nhìn chung, ở mẫu được xử lý bởi NaA và BHA hàm lượng protein giảm chậm hơn so với ĐC ở thời gian bảo quản dài (Hình 3.8).

Sự suy giảm hàm lượng protein là do quá trình oxy hóa protein diễn ra và nó bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố trong đó có hoạt động của enzyme thủy phân protein. Quá trình oxy hóa protein dẫn đến thay đổi cấu trúc của các acid amine khác nhau, làm giảm số lượng nhóm carbonyl và nhóm sulfhydryl [90], [91], do đó làm thay đổi khả năng giữ nước, độ đàn hồi của thịt cũng như giá trị dinh dưỡng [92]. Kết quả từ nghiên cứu này cho thấy mẫu cá được xử lý với NaA và BHA có thể đã giúp ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn, ức chế hoạt động của enzyme, từ đó làm chậm quá trình oxy hóa protein trong quá trình bảo quản, do đó làm chậm sự suy giảm hàm lượng protein của mẫu.

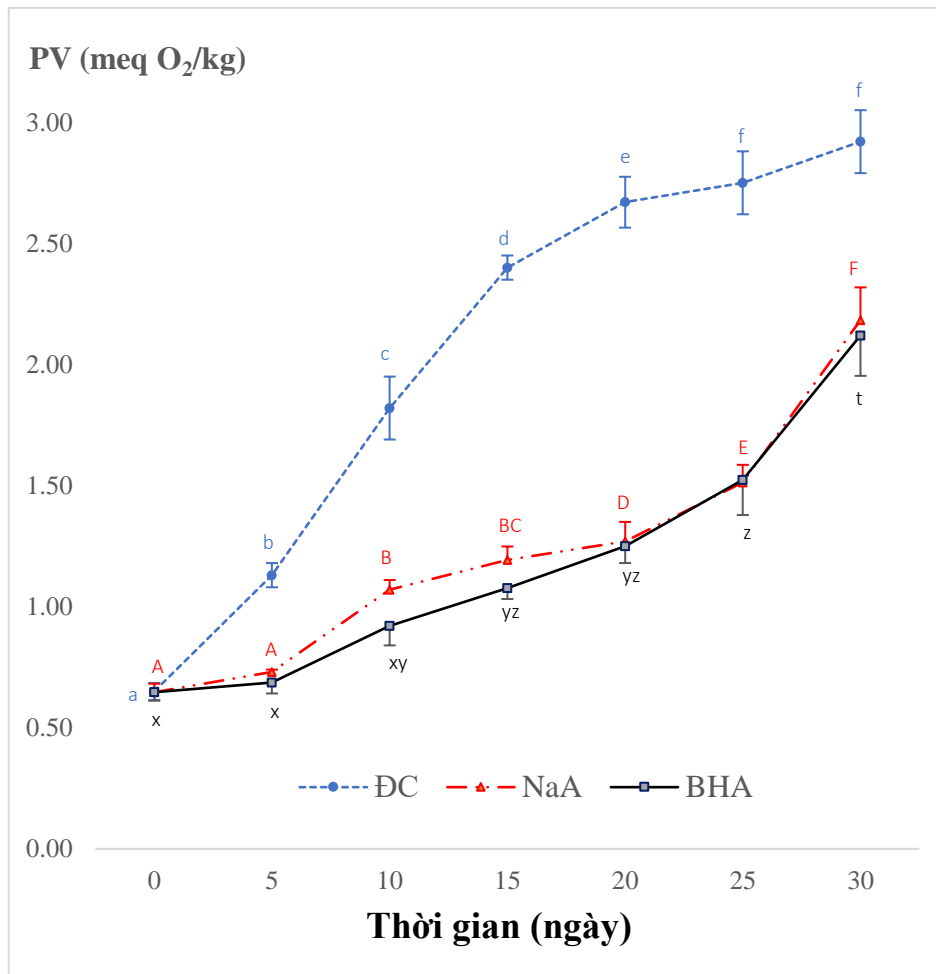
### 3.2.5. Thay đổi chỉ số peroxide value (PV) ở thịt cá theo thời gian



Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 9. Giá trị chỉ số PV (meq O<sub>2</sub>/kg) của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Ở 0 °C, chỉ số PV ở các mẫu đều tăng theo thời gian lưu trữ ( $p < 0,05$ ), trong đó ĐC có chỉ số PV tăng cao hơn so với các mẫu xử lý NaA và BHA). PV ở ĐC tăng mạnh từ ngày thứ 5 đến ngày thứ 15 (2,16 -3,63 meqO<sub>2</sub>/kg), và sau đó tăng chậm lại cho đến ngày thứ 30 (4,54 meqO<sub>2</sub>/kg). Trong khi đó, ở mẫu được xử lý bởi NaA và BHA thì giá trị PV tăng thấp hơn trong suốt thời gian thí nghiệm từ 0,65-3,85 meqO<sub>2</sub>/kg (NaA) và 0,65-3,8 meqO<sub>2</sub>/kg (BHA). Đáng lưu ý, chỉ số PV ở tất cả các mẫu tăng mạnh từ ngày thứ 15 đến ngày thứ 30. (Hình 3.9).



Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 10. Giá trị chỉ số PV (meqO<sub>2</sub>/kg) của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Ở -20 °C, theo kết quả được trình bày ở Hình 3.10 thì ở ĐC chỉ số PV tăng đáng kể cho đến ngày thứ 15 (0,65-2,4 meqO<sub>2</sub>/kg), sau đó tăng chậm hơn cho đến ngày thứ 30, đạt 2,92 meqO<sub>2</sub>/kg ( $p < 0,05$ ). Trong khi đó các mẫu được xử lý bởi NaA và BHA, chỉ số PV tăng đều trong khoảng ngày 20 ngày đầu, từ 0,65-1,27 meqO<sub>2</sub>/kg (NaA) và 0,65-1,25 meqO<sub>2</sub>/kg (BHA) và sau đó tăng cao hơn vào ngày thứ 30 (2,18 meqO<sub>2</sub>/kg, NaA và 2,12 meqO<sub>2</sub>/kg, BHA).

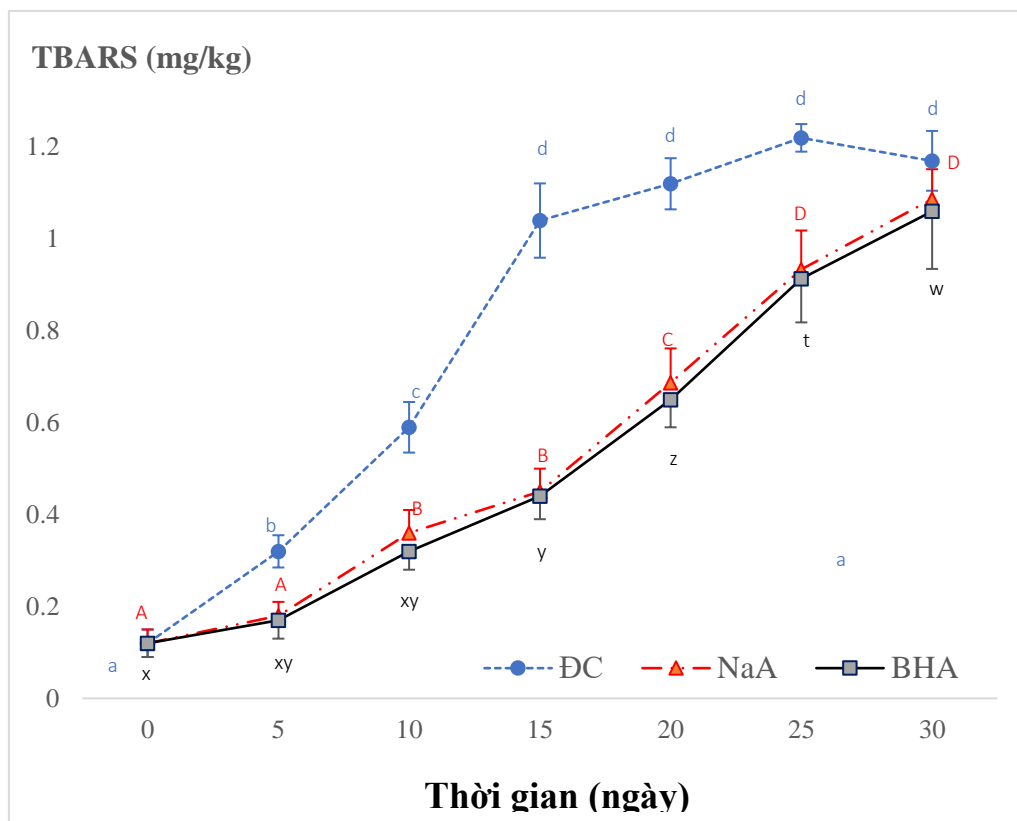
Nhìn chung trong suốt thời gian bảo quản, chỉ số PV ở các mẫu có sự thay đổi, tuy nhiên mức độ có khác nhau giữa các lô mẫu thí nghiệm. Đối với mẫu lưu trữ ở nhiệt độ 0 °C, mẫu được xử lý với NaA và BHA có chỉ số PV thấp hơn ĐC. Điều này có thể được giải thích tương tự như các quá trình khác, NaA và BHA trong mẫu cá được xử lý đã làm giảm sự hoạt động enzyme lipoxygenase cũng như ức chế sự phát triển của các vi sinh vật, do đó hạn chế quá trình oxy hóa lipid [60]. Ở các mẫu lưu ở nhiệt độ -20 °C, chỉ số PV vẫn tăng trong suốt thời gian thí nghiệm nhưng hàm lượng thấp hơn so với



mẫu ở 0 °C. Kết quả này phù hợp với những khảo sát trước đây chỉ ra rằng nhiệt độ thấp cũng hạn chế các quá trình oxy hóa các chất như protein và lipid trong mẫu.

PV là sản phẩm sơ cấp của quá trình oxy hóa lipid, không bền nên dễ bị oxy hóa để tạo thành các sản phẩm thứ cấp như aldehyde, do đó giá trị của nó có sự thay đổi theo thời gian. Theo Alghazeer và cộng sự (2008) [93], sự tăng hay giảm của chỉ số này phụ thuộc vào tương quan giữa tốc độ hình thành và tốc độ phân hủy hợp chất peroxyde thành các sản phẩm thứ cấp. Quá trình oxy hóa lipid là một quá trình phức tạp trong đó các acid béo không bão hòa phản ứng với oxy phân tử, thường thông qua cơ chế gốc tự do, để tạo thành hydroperoxide- sản phẩm chính của sự oxy hóa [94]. Trong giai đoạn đầu của quá trình ôi thiu, peroxide tăng lên nhanh chóng. Vì thế để đánh giá mức độ oxy hóa chất béo trong giai đoạn đầu, chỉ số PV thường được áp dụng. Trong nghiên cứu này, giá trị PV của mẫu được xử lý NaA và BHA luôn nhỏ hơn ĐC trong cùng thời điểm, cho thấy dung dịch muối NaA và BHA có khả năng ức chế quá trình oxy hóa lipid sơ cấp ở cá trong thời gian bảo quản. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Chaijan và cộng sự (2006) [95] ở cá trích đông lạnh, giá trị PV tăng lên đến ngày thứ 9 sau đó giảm dần đến ngày 15 của quá trình lưu trữ.

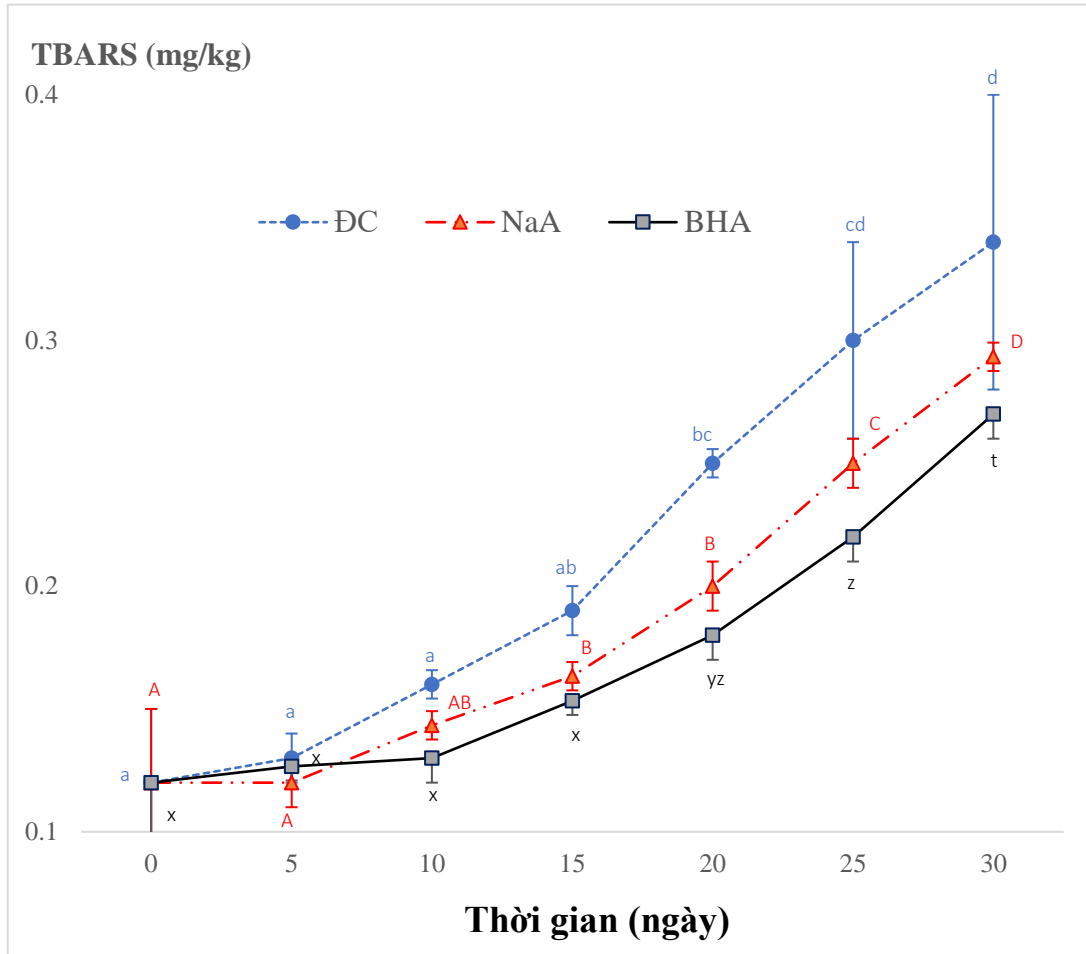
### 3.2.6. Thay đổi chỉ số Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ở thịt cá theo thời gian



Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 11. Giá trị TBARS (mg/kg) của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Theo đồ thị trình bày ở Hình 3.11, khi bảo quản ở 0 °C, ĐC có chỉ số TBARS tăng đáng kể ( $p < 0,05$ ) ở ngày thứ 15 (0,12 -1,04 mg/kg), sau đó tiếp tục tăng chậm với tốc độ đều hơn và không có sự khác biệt cho đến ngày thứ 30. Trong khi đó, chỉ số TBARS ở mẫu được xử lý NaA và BHA ở 5 ngày đầu bảo quản tăng chậm, sau đó tăng nhanh hơn vào những ngày tiếp theo cho đến ngày thứ 30, tuy nhiên giá trị vẫn thấp hơn so với ĐC.



Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

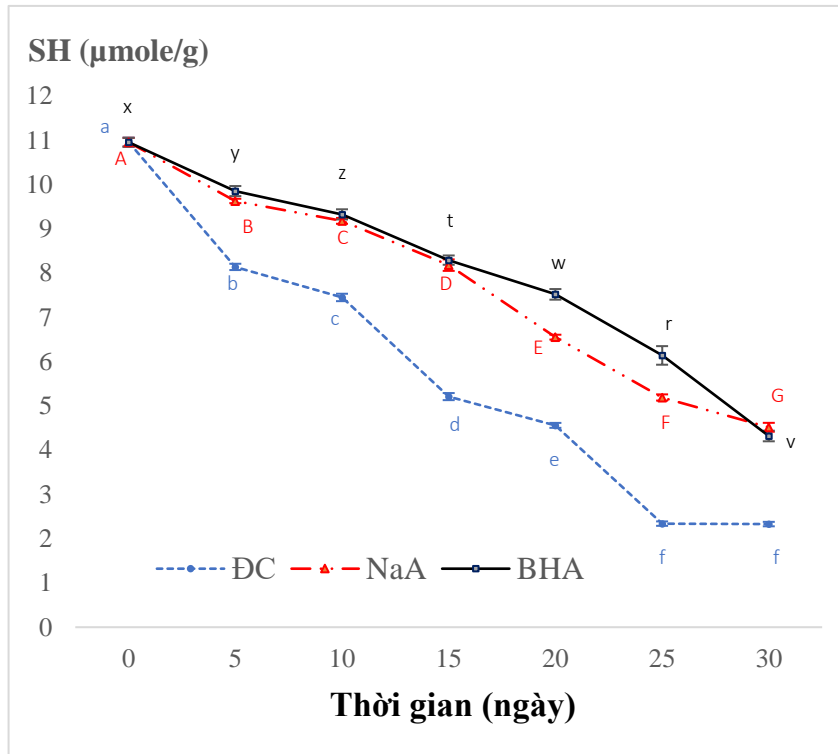
Hình 3. 12. Giá trị TBARS (mg/kg) của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Ở mẫu bảo quản ở -20 °C, kết quả cho thấy giá trị TBARS ở các lô mẫu thí nghiệm tăng đáng kể trong suốt thời gian lưu giữ mẫu ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên mức độ gia tăng của chỉ số này có khác biệt theo từng giai đoạn. Ở ngày thứ 5, giá trị TBARS không có sự khác biệt ở các lô mẫu thí nghiệm (0,12- 0,13mg/kg). Đến ngày thứ 10 giá trị TBARS của ĐC (0,16 mg/kg) cao hơn so với hai mẫu được xử lý bởi NaA (0,14 mg/kg) và BHA (0,13 mg/kg), và sau đó giá trị này tăng nhanh ở các mẫu ở các ngày 25 và 30

( $p < 0,05$ ). Nhìn chung ở mẫu thịt cá được xử lý bởi NaA và BHA thì chỉ số TBARS thấp hơn so với ĐC và mẫu được xử lý bởi BHA có chỉ số TBARS tăng thấp nhất (Hình 3.12). Tuy nhiên sự sai khác về giá trị tuyệt đối là không lớn ở ngày khảo sát cuối cùng vào ngày thứ 30 ở mẫu giữ ở  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (0,34 mg/kg ở ĐC, 0,29 mg/kg ở mẫu NaA và 0,27 mg/kg ở mẫu BHA). Điều này có thể ở nhiệt độ càng thấp thì khả năng ức chế quá trình oxy hóa lipid càng cao và sự tác động của dung dịch muối NaA và BHA ở nhiệt độ này không rõ ràng trong thời gian bảo quản ngắn. Tuy nhiên có thể ở thời gian lưu giữ lâu hơn, tác dụng ngăn chặn quá trình oxy hóa của các hợp chất sẽ được thể hiện rõ hơn.

TBARS là sản phẩm thứ cấp được hình thành trong giai đoạn oxi hóa chất béo, sau đó tiếp tục bị biến đổi hình thành các sản phẩm khác như aldehyde, ketone, alcohol, acid hoặc base mạch ngắn [17],...dưới tác dụng của các enzyme và các vi sinh vật cũng là một trong các chỉ số được sử dụng khá phổ biến để đánh giá về sự oxy hóa của chất béo trong cơ thịt cá. Theo thời gian bảo quản thì chỉ số TBARS sẽ tăng và chỉ số TBARS càng cao thì chất lượng dinh dưỡng của cơ thịt cá càng giảm. Trong khảo sát này, giá trị TBARS của mẫu thí nghiệm được xử lý bằng dung dịch muối NaA và BHA luôn nhỏ hơn ĐC, cho thấy dung dịch các chất này có khả năng hạn chế quá trình oxy hóa lipid thứ cấp ở cơ cá ngừ trong thời gian bảo quản lạnh. Kết quả thu được cũng cho thấy nhiệt độ bảo quản và chất bảo quản có ảnh hưởng đến quá trình oxy hóa lipid, và khả năng ngăn chặn quá trình oxy hóa lipid thứ cấp ở cá của dung dịch BHA cao hơn NaA. Cũng như kết quả của Trần Minh Phú và cộng sự (2018) [96] ở cá lóc (*Channa striata*) phi lê lưu giữ trong đá lạnh kết hợp với xử lý bằng axit axetic, hàm lượng TBARS giảm trong quá trình lưu giữ do hình thành các sản phẩm thứ cấp và các sản phẩm oxy hóa tiếp tục được chuyển đổi thành các sản phẩm khác dưới ảnh hưởng của enzyme và vi sinh vật. Nghiên cứu của luận văn cho thấy giá trị TBARS của mẫu được xử lý bằng NaA và BHA luôn nhỏ hơn so với mẫu của mẫu đối chứng, chỉ ra rằng các chất này có thể ức chế quá trình oxy hóa lipid hình thành các sản phẩm thứ cấp.

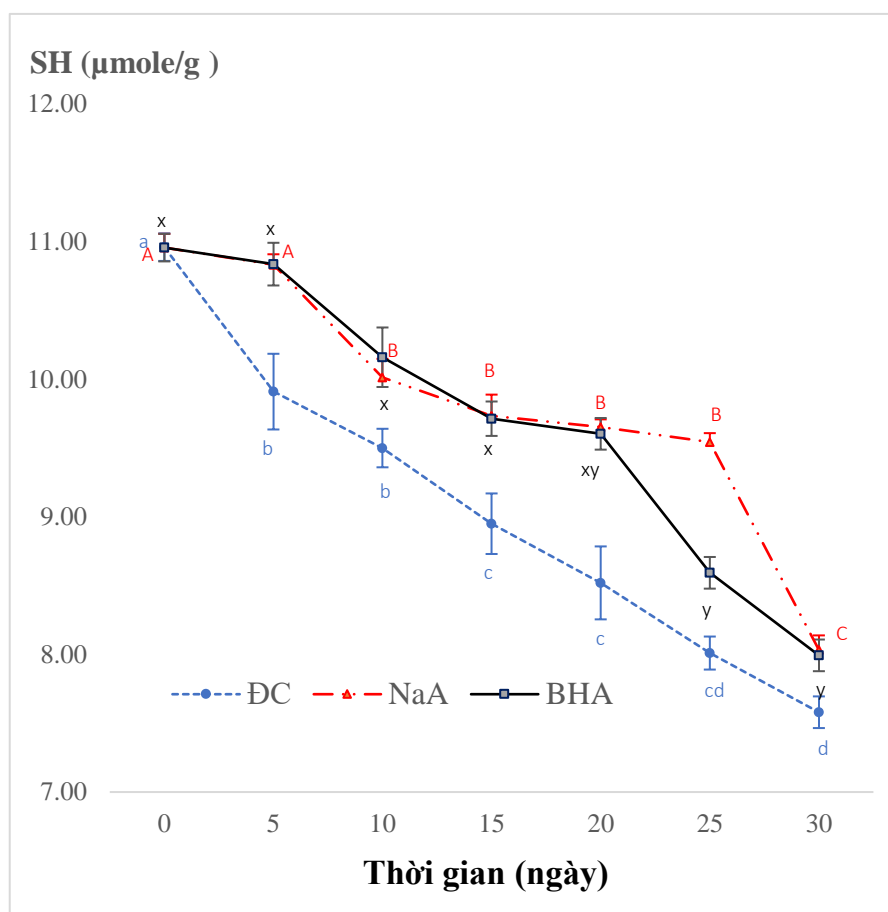
### **3.2.7. Thay đổi chỉ số sulfhydryl (-SH) ở thịt cá theo thời gian**



Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 13. Giá trị -SH ( $\mu\text{mole/g}$ ) của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 0 °C. Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Ở 0 °C, chỉ số -SH ở thịt cá ở ĐC giảm nhanh và có sự khác biệt (10,96 – 2,33  $\mu\text{mole/g}$ ), và xu hướng này cũng tương tự ở các mẫu cá được xử lý bởi NaA (10,96-4,52  $\mu\text{mole/g}$ ) và BHA (10,96-4,32  $\mu\text{mole/g}$ ) ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên chỉ số -SH ở ở mẫu thịt cá được xử lý bởi NaA và BHA giảm chậm hơn nhiều so với ĐC. (Hình 3.13).



Các chữ cái giống nhau trong cùng một đường biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% ( $p < 0,05$ )

Hình 3. 14. Giá trị -SH của cá ngừ vằn trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Các ký tự khác nhau chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Khi bảo quản ở  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , xu hướng thay đổi chỉ số -SH ở các lô mẫu cũng tương tự như ở  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  nhưng mẫu cá được xử lý bởi NaA từ ngày thứ 20 đến ngày thứ 30 thì chỉ số SH giảm chậm hơn so với ĐC và mẫu được xử lý bởi BHA (Hình 3.14). Chỉ số -SH giảm đáng kể từ khi bắt đầu thí nghiệm đến ngày thứ 30, từ 10,96-7,58  $\mu\text{mole/g}$  ở ĐC, 10,96-8,03  $\mu\text{mole/g}$  ở mẫu xử lý NaA và 10,96-7,99  $\mu\text{mole/g}$  ở mẫu xử lý bằng BHA ( $p < 0,05$ ).

Như vậy, có thể thấy trong quá trình lưu giữ thịt cá, song song với quá trình oxy hóa lipid là sự oxy hóa protein. Sự oxy hóa protein cũng ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố trong đó có hoạt động của enzyme thủy phân protein. Nhóm -SH được xem là chỉ số phản ánh quá trình oxy hóa protein, cụ thể là oxy hóa cysteine. Quá trình oxy hóa cystein xảy ra hình thành cầu nối disulfide, do đó chỉ số nhóm -SH cao cho thấy mức độ oxy hóa thấp và ngược lại [12]. Trong nghiên cứu này, tổng hàm lượng -SH của protein hòa tan giảm trong quá trình lưu trữ ở toàn bộ mẫu thịt cá ngừ vằn thí nghiệm nhưng ở mức độ khác nhau. Kết quả này phù hợp cả với các nghiên cứu trước đây ở một số sản phẩm thủy sản, chỉ số -SH giảm nhanh ở mẫu không có chất bảo quản khi lưu giữ ở nhiệt độ cao và giảm chậm hơn ở nhiệt độ thấp.

Việc giảm tổng hàm lượng SH là do sự tiếp xúc của các nhóm sulfhydryl trong protein tự nhiên dễ bị oxy hóa [97]. Quá trình trữ đông dẫn đến sự mất nước bề mặt của thịt cá dẫn đến mất nước protein, do đó làm thay đổi tương tác protein - nước. Ngoài ra, nhóm sulfhydryl có thể tự oxy hóa hoặc có sự tương tác với các sản phẩm oxy hóa thứ cấp của lipid dẫn đến sự hình thành các liên kết disulfide thông qua quá trình oxy hóa các nhóm sulfhydryl hoặc trao đổi disulfide [98]. Các mẫu được xử lý bằng NaA hay BHA ở nhiệt độ 0 °C hay -20 °C thì hàm lượng sulfhydryl giảm ít hơn so với các ĐC. Như vậy mẫu được xử lý bằng NaA hay BHA trước khi bảo quản sẽ làm giảm quá trình oxy hóa cysteine. Tương tự với hàm lượng SH tổng thì các nhóm SH tự do dễ dàng bị oxy hóa hoặc các sản phẩm cuối cùng của quá trình oxy hóa lipid, như malondialdehyde (MDA) và 4-hydroxy-2-nonenal rất dễ phản ứng và có thể gây suy giảm chất lượng protein. MDA có thể phản ứng với lysine của protein để tạo thành dẫn xuất carbonyl và 4-hydroxy-2-nonenal có thể phản ứng với nhóm amine của lysine, nhóm thiol của cysteine và nhóm imidazole của histidine [99]. Do đó, việc giảm hoạt động của enzyme protease sẽ hạn chế quá trình oxy hóa cysteine dẫn đến giảm hàm lượng sulfhydryl. Như vậy hoạt tính enzyme protease càng giảm thì hàm lượng sulfhydryl càng thấp và ngược lại. Kết quả đạt được cho thấy NaA và BHA có thể làm giảm hoạt tính enzyme protease, đặc biệt trong điều kiện bảo quản ở nhiệt độ thấp đã có tác dụng tích cực trong việc hạn chế quá trình oxy hóa lipid và protein trong cơ thịt cá ngừ vằn. Nguyễn Văn Mười và cộng sự (2019) [100] báo cáo rằng khi sử dụng NaCl để bảo quản cá lóc (*Channa striata*) ở nhiệt độ thấp, hàm lượng sulfhydryl ở thịt cá cũng giảm dần. Kết quả tương tự cũng được công bố cá thu (*Scomber scombrus*) [101], [102]. Việc giảm hoạt động của enzyme sẽ hạn chế quá trình oxy hóa của cysteine, do đó giảm hàm lượng sulfhydryl. Do đó, việc sử dụng NaA và BHA trong nghiên cứu này cũng có tác dụng như NaCl trong việc ức chế hoạt động các enzyme.

### 3.2.8. Hàm lượng các hợp chất indole và skatole ở thịt cá theo thời gian

Bảng 3. 4. Hàm lượng các hợp chất indole và skatole ở thịt cá lưu trữ ở nhiệt độ 0 °C.

	Thời gian lưu trữ (ngày)						
	0	5	10	15	20	25	30
<b>ĐC</b>							
<b>Indole (µg/kg)</b>	0	0	0	2,18± 0,25 <sup>m</sup>	13,90± 1,44 <sup>n</sup>	18,23± 0,63 <sup>n</sup>	22,5± 0,52 <sup>k</sup>
<b>Skatole (µg/kg)</b>	0	0	0	3,76± 0,14 <sup>u</sup>	17,61± 0,43 <sup>v</sup>	26,2± 0,92 <sup>v</sup>	33,25± 1,95 <sup>r</sup>
<b>NaA</b>							
<b>Indole (µg/kg)</b>	0	0	0	1,86± 0,06 <sup>m</sup>	4,34± 0,12 <sup>m</sup>	10,14± 0,97 <sup>n</sup>	14,03± 0,69 <sup>n</sup>
<b>Skatole (µg/kg)</b>	0	0	0	3,36± 0,28 <sup>u</sup>	10,78± 0,62 <sup>v</sup>	15,27± 0,93 <sup>v</sup>	21,45± 0,49 <sup>r</sup>
<b>BHA</b>							
<b>Indole (µg/kg)</b>	0	0	0	1,51± 0,09 <sup>m</sup>	5,11± 0,12 <sup>n</sup>	10,22± 0,93 <sup>k</sup>	14,34± 0,68 <sup>k</sup>
<b>Skatole (µg/kg)</b>	0	0	0	2,82 ± 0,1 <sup>u</sup>	7,02± 0,21 <sup>v</sup>	12,82± 0,48 <sup>v</sup>	18,43± 1,0 <sup>r</sup>

Các chữ cái giống nhau biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% (p<0,05)

Bảng 3. 5. Hàm lượng các hợp chất indole và skatole ở thịt cá ở nhiệt độ -20 °C.

	Thời gian lưu trữ (ngày)						
	0	5	10	15	20	25	30
<b>ĐC</b>							
<b>Indole (µg/kg)</b>	0	0	0	0	1,07± 0,15 <sup>m</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>n</sup>	2,8± 0,1 <sup>n</sup>
<b>Skatole (µg/kg)</b>	0	0	0	0	1,27± 0,06 <sup>u</sup>	2,24± 0,1 <sup>u</sup>	3,22± 0,09 <sup>v</sup>
<b>NaA</b>							
<b>Indole (µg/kg)</b>	0	0	0	0	0,87± 0,22 <sup>m</sup>	1,55± 0,1 <sup>m</sup>	2,73± 0,12 <sup>n</sup>
<b>Skatole (µg/kg)</b>	0	0	0	0	1,13± 0,08 <sup>u</sup>	1,99± 0,11 <sup>u</sup>	2,95± 0,14 <sup>v</sup>
<b>BHA</b>							
<b>Indole (µg/kg)</b>	0	0	0	0	0,83± 0,07 <sup>m</sup>	1,24± 0,06 <sup>m</sup>	2,73± 0,09 <sup>n</sup>
<b>Skatole (µg/kg)</b>	0	0	0	0	1,25± 0,03 <sup>u</sup>	2,14± 0,13 <sup>u</sup>	3,24± 0,12 <sup>u</sup>

Các chữ cái giống nhau biểu thị không khác biệt, các chữ cái khác nhau biểu thị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% (p<0,05)

Kết quả về hàm lượng các hợp chất indole và skatole ở thịt cá lưu trữ ở nhiệt độ 0 °C và -20 °C theo thời gian được trình bày trong các Bảng 3.4 và 3.5. Đối với mẫu lưu trữ ở 0 °C, ở tất cả các mẫu thịt cá, indole và skatole xuất hiện ở ngày thứ 15, sau đó hàm lượng tăng ở các ngày tiếp theo và tăng nhanh hơn ở ĐC. Cụ thể với ĐC, hàm lượng các chất này đạt 2,18 và 3,76 µg/kg lần lượt ở ngày thứ 15 và tăng nhanh đến 13,90 và 17,61 µg/kg lần lượt ở ngày thứ 20. Ở ngày thứ 30 của thí nghiệm, hàm lượng của chúng là 22,5 và 33,25 µg/kg lần lượt. Với mẫu bảo quản bằng NaA hàm lượng indole và

skatole tăng chậm hơn, đạt 4,34 và 10,78  $\mu\text{g}/\text{kg}$  lần lượt ở ngày thứ 20 và 14,03 và 21,45 lần lượt ở ngày thứ 30. Xu hướng tương tự cũng diễn ra ở mẫu bảo quản bằng BHA, ở ngày thứ 15 hàm lượng của chúng là 5,11 và 7,02  $\mu\text{g}/\text{kg}$  và 14,34 và 18,43  $\mu\text{g}/\text{kg}$  lần lượt ở ngày thứ 30.

Ở các mẫu lưu trữ ở  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , indole và skatole ở tất cả các mẫu thịt cá thí nghiệm bắt đầu xuất hiện ở ngày thứ 20, sau đó hàm lượng tăng chậm ở các ngày tiếp theo và không có sự khác biệt giữa các mẫu thí nghiệm. Với ĐC, hàm lượng indole và skatole tăng nhẹ từ 1,07 và 1,27  $\mu\text{g}/\text{kg}$  lần lượt ở ngày thứ 20 đến 2,8 và 3,22  $\mu\text{g}/\text{kg}$  lần lượt ở ngày thứ 30. Đối với mẫu bảo quản bằng NaA hàm lượng các chất này khá thấp, với 0,87 và 1,13  $\mu\text{g}/\text{kg}$  lần lượt ở ngày thứ 20 và 2,73 và 2,95  $\mu\text{g}/\text{kg}$  lần lượt vào ngày thứ 30. Ở mẫu bảo quản bằng BHA, hàm lượng indole tăng từ 0,83 ở ngày thứ 20 đến 2,73  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ở ngày thứ 30 và hàm lượng skatole tăng từ 1,25 đến 3,24  $\mu\text{g}/\text{kg}$  trong thời gian này.

Như đã biết, sự tích tụ các chất gây mùi trong quá trình lưu trữ và bảo quản cá có tác động tiêu cực đến sự chấp nhận của người tiêu dùng, một trong những hợp chất có mùi mạnh được biết đến là indole và skatole. Indole là sản phẩm được hình thành do sự phân hủy phức tạp của tryptophan trong protein ở cơ. Tryptophan hiện diện trong cấu trúc protein và có thể được giải phóng và phân hủy bởi enzyme tryptophanase của một số vi sinh vật thường là vi khuẩn gram âm, khi đó acid amine bị phá vỡ do phản ứng loại bỏ được xúc tác bởi acid amine lyase, sau đó indole và skatole được tạo ra. Khi chết cơ thịt của cá bị phân rã dần, mất nước, dinh dưỡng chẳng còn mà lại phát sinh nhiều hợp chất bốc mùi uồn thối, từ đó gốc amine như putrescine, có gốc lưu huỳnh như cadaverine, hydrogen sulfide được sinh ra cùng các hợp chất ammonium. Lúc này các mảnh vụn của tế bào ruột là nguồn cung cấp tryptophan chính cho vi sinh vật phân hủy tạo skatole [37], [103]. Theo Mahmoud và Buettner (2017), [104] các chất có mùi có thể tác động đáng kể đến việc người tiêu dùng chấp nhận hay từ chối một sản phẩm tùy thuộc vào đặc tính vào hàm lượng của chúng.

Qua các kết quả thu được có thể thấy hàm lượng các thành phần cơ bản như lipid, protein giảm theo thời gian lưu giữ. Thêm vào đó, sự hình thành các hợp chất có hại ở cơ cá ngừ vẫn thay đổi khác nhau theo chất lượng của cá lưu giữ ở nhiệt độ  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  và  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  theo thời gian. Hàm lượng các chất này phụ thuộc vào điều kiện bảo quản, xu hướng tương tự các kết quả ở một sản phẩm thủy sản khác. Ở nhiệt độ  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , các hợp chất NaA và BHA giúp kéo dài chất lượng cá lên đến 25 ngày so với 15-20 ngày ở mẫu bình thường. Tuy nhiên ở  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , các mẫu được bảo quản bởi các chất này có chất lượng không khác biệt so với mẫu không dùng chất bảo quản. Cũng giống như các nghiên cứu khác, kết quả đạt được cho thấy nhiệt độ đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì chất lượng của sản phẩm thủy sản và sự hình thành các chất có hại. Nhiệt độ càng cao, tốc độ oxy hóa các hợp chất protein, lipid để hình thành các chất có hại càng lớn, dẫn đến



chất lượng suy giảm càng nhanh. Do đó, việc sử dụng các chất NaA và BHA có khả năng ức chế hoạt tính enzyme protease, hoạt động của vi khuẩn, giúp làm giảm quá trình oxy hóa protein, lipid sơ cấp ở cá trong thời gian bảo quản, do đó kéo dài chất lượng thịt cá, đặc biệt với cá được giữ ở nhiệt độ cao.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN

1. Cá ngừ vằn nguyên liệu ban đầu có hàm lượng protein  $23,01 \pm 0,03\%$ , lipid  $2,18 \pm 0,07\%$ , nước  $72,24 \pm 0,34\%$ , pH  $6,21 \pm 0,01$  đạt tiêu chuẩn về các chỉ tiêu cảm quan dùng cho nghiên cứu.
2. Chỉ tiêu cảm quan (QI) và chất lượng của thịt cá ngừ vằn được bảo quản ở  $0^\circ\text{C}$  và  $-20^\circ\text{C}$  có xu hướng giảm theo thời gian lưu giữ. Ở  $0^\circ\text{C}$ , ở ĐC không dùng chất bảo quản, chất lượng thịt cá bắt đầu suy giảm ở ngày thứ 15 QI  $3,12 \pm 0,35$  là (loại B) và ở ngày thứ 30 chất lượng giảm mạnh (loại C) QI  $4,57 \pm 0,43$ . Mẫu bảo quản bằng NaA 2,5% và BHA 0,02% suy giảm chất lượng vào ngày thứ 20 và duy trì đến cuối thời gian thí nghiệm (loại B) QI  $4,33 \pm 0,37$  đối với NaA và  $4,35 \pm 0,28$  đối với BHA. Ở  $-20^\circ\text{C}$ , sự suy giảm chất lượng diễn ra chậm ở tất cả các mẫu, bắt đầu vào ngày thứ 25 (Loại B) QI  $3,15 \pm 0,28$  đối với ĐC,  $2,91 \pm 0,31$  đối với NaA,  $2,91 \pm 0,33$  đối với BHA.
3. Hàm lượng nước, lipid, protein, và các hợp chất có hại như PV, TBARS, SH, indole, skatole ở thịt cá ngừ vằn của các mẫu thí nghiệm lưu giữ ở nhiệt độ  $0^\circ\text{C}$  và  $-20^\circ\text{C}$  đã phản ánh chất lượng của cá theo thời gian, cụ thể là
  - ✓ Hàm lượng nước, lipid, protein, chỉ số SH trong cơ thịt cá đều giảm. Với hàm lượng nước, ở  $0^\circ\text{C}$ , ĐC (72,24%-66,64%); NaA (72,24%-68,05%); BHA (72,24%-68,07%), ở  $-20^\circ\text{C}$ , ĐC (72,24%-71,40%); NaA (72,24%-71,40%); BHA (72,24%-71,69%). Hàm lượng lipid ở  $0^\circ\text{C}$ , ĐC (2,21%-1,19%); NaA (2,27%-1,28%); BHA (2,05%-1,17%), ở  $-20^\circ\text{C}$ , ĐC (2,18%-1,85%); NaA (2,27%-1,93%); BHA (2,05%-1,77%). Hàm lượng protein ở  $0^\circ\text{C}$ , ĐC (23,1%-15,72%); NaA (22,89%-15,88%); BHA (23,03%-15,61%), ở  $-20^\circ\text{C}$ , ĐC (23,1%-21,05%); NaA (22,89%-21,11%); BHA (23,03%-20,92%). Chỉ số -SH ở  $0^\circ\text{C}$ , ĐC (10,92 – 2,32), NaA (11,07-2,38) và BHA (10,88-2,28), ở  $-20^\circ\text{C}$  thì cũng tương tự như ở  $0^\circ\text{C}$ .
  - ✓ Các chỉ số PV, TBARS, pH, chất độc hại indole và skatole ở thịt cá tăng. Với chỉ số PV ở  $0^\circ\text{C}$ , ĐC (0,65-4,54 meqO<sub>2</sub>/kg), NaA (0,68-4,59 meqO<sub>2</sub>/kg), BHA (0,61 -4,5 meqO<sub>2</sub>/kg), ở  $-20^\circ\text{C}$ , ĐC (0,65-2,40 meqO<sub>2</sub>/kg), NaA (0,65-2,18 meqO<sub>2</sub>/kg) và BHA (0,65-2,12 meqO<sub>2</sub>/kg). Chỉ số TBARS, ở  $0^\circ\text{C}$ , ĐC (0,12-1,17 mg/kg), NaA (0,15-1,24 mg/kg), BHA (0,09-1,11mg/kg), ở  $-20^\circ\text{C}$ , ĐC (0,12-0,34mg/kg); NaA (0,15-0,4mg/kg); BHA chậm hơn (0,09-0,28mg/kg). Giá trị pH, ở  $0^\circ\text{C}$ , ĐC (6,12-7,32); NaA (6,21-7,34); BHA (6,22-7,31), ở  $-20^\circ\text{C}$ , ĐC (6,12-6,65); NaA (6,21-6,65); BHA tăng từ (6,21-6,66). Trong khi đó, hàm lượng các hợp chất indole và skatole ở thịt cá tăng nhẹ theo thời gian. Ở  $0^\circ\text{C}$  trong tất cả các mẫu các hợp chất indole và scatole xuất hiện ở ngày

thứ 15, và tăng nhanh ở các ngày tiếp theo và đặc biệt là ĐC. Ở  $-20^{\circ}\text{C}$ , trong tất cả các mẫu indole và scatole xuất hiện ở ngày thứ 20, sau đó tăng chậm ở các ngày tiếp theo.

4. Ta thấy qua các số liệu, mẫu bảo quản ở  $0^{\circ}\text{C}$  ở ĐC không chất bảo quản thay đổi nhanh hơn, nghĩa là tăng hoặc giảm nhanh hơn so với 02 lô mẫu còn lại.
5. Ở  $0^{\circ}\text{C}$ , dung dịch các chất NaA 2,5% và BHA 0,02% giúp kéo dài chất lượng cá lên đến 25 ngày so với khoảng 15-20 ngày ở mẫu không có chất bảo quản. Trong khi đó ở  $-20^{\circ}\text{C}$ , tác dụng của các chất này đối với chất lượng thịt cá không rõ ràng trong thời gian thí nghiệm 30 ngày.

#### **KIẾN NGHỊ**

Dựa vào các kết quả nghiên cứu và một số vấn đề còn tồn tại, đề tài đề xuất cần tiến hành các thí nghiệm phân tích về các chất độc hại ở nguyên liệu cá ngừ được bảo quản bằng một số chất lưu trữ ở nhiệt độ cao hơn như 4 và  $10^{\circ}\text{C}$ . Ngoài ra cần khảo sát chất lượng và các chất có hại ở mẫu cá ngừ vẫn lưu giữ ở  $-20^{\circ}\text{C}$  trong thời gian dài hơn và nghiên cứu thêm các chất có hại khác ở cá.

## DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mahaliyana A.S., Jinadasa B.K.K.K., Liyanage N.P.P., Jayasinghe G.D.T.M., Jayamanne S.C., 2015, Nutritional composition of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) caught from the Oceanic waters around Sri Lanka, *American Journal of Food and Nutrition*, 3, pp. 106–111.
2. Sánchez-Zapata E., Amensour M., Oliver R., Fuentes-Zaragoza E., Navarro C., Fernández-López J., Sendra E., Sayas E., Pérez-Alvarez J.A., 2011, Quality characteristics of dark muscle from yellowfin tuna *thunnus albacares* to its potential application in the food industry, *Food and Nutrition Sciences*, 2, pp. 22–30.
3. Bộ Đoàn, Bùi Thanh Hùng, Nguyễn Văn Hương, 2015, Dự án khai thác năm 2015 nguồn lợi cá ngừ vằn ở vùng biển xa bờ miền Trung, *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 31, tr. 14–19.
4. Ghaly A.E., Dave D., Budge S., Brooks M.S., 2010, Fish spoilage mechanisms and preservation techniques, *American journal of applied sciences*, 7(7), pp. 859-877.
5. Klomkloa S., Benjakul S., Visessanguan W., 2004, Comparative studies on proteolytic activity of splenic extract from three tuna species commonly used in Thailand, *Journal of Food Biochemistry*, 28(5), pp. 355–372.
6. Gildberg A., 1988, Aspartic proteinases in fishes and aquatic invertebrates, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 91(3), pp. 425–435.
7. Hansen L.T., Gill T., Røntved S.D., Huss H.H., 1996, Importance of autolysis and microbiological activity on quality of cold-smoked salmon, *Food Research International*, 29(2), pp. 181–188.
8. Lin T.M., Park J.W., 1996, Protein solubility in pacific whiting affected by proteolysis during storage, *Journal of Food Science*, 61(3), pp. 536–539.
9. Fraser O., Sumar S., 1998, Compositional changes and spoilage in fish - an introduction, *Nutrition & Food Science*, 98(5), pp. 275–279.
10. Shewan J.M., 1961, The microbiology of sea-water fish, *Fish as Food*, 1, pp. 487–560.
11. Zhu J., Huang X., Zhang F., Feng L., Li J., 2015, Inhibition of quorum sensing, biofilm, and spoilage potential in *Shewanella baltica* by green tea polyphenols, *Journal of Microbiology*, 53(12), pp. 829–836.
12. Lara M., Gutiérrez C.J., Timón M.L., Andres A., 2011, Evaluation of two natural extracts (*Rosmarinus officinalis* L. and *Melissa officinalis* L.) as antioxidants in cooked pork patties packed in MAP, *Meat science*, 88, pp. 481–488.
13. Frankel E.N., 1984, Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. *Progress in Lipid Research*, 23(4), pp. 197–221.

14. Khayat A., Schwall D., 1983, Lipid oxidation in seafood, *Food Technology, USA*, 37(7), pp. 130-140.
15. Hultin H.O., 1994, Oxidation of lipids in seafoods, *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality*, Springer US, Boston, MA, pp. 49–74.
16. Anderson M.L., Ravesi E.M., 1969, Reaction of free fatty acids with protein in cod muscle frozen and stored at -29 °C after aging in ice, *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 26(10), pp. 2727–2736.
17. Çibuk S., Atasoy N., Kaptanoğlu S., 2014, The study of total lipid rate and fatty acids of pearl mullet (*Chalcalburnus Tarichii* P.1811) and nutritional importance in van, Turkey, *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(1), pp. 1–8.
18. Lund B.M., Baird-Parker T.C., Gould G.W., 2000, *The microbiological safety and quality of food*, Springer.
19. Church N., 1998, MAP fish and crustaceans- sensory enhancement, *Food Science and Technology Today*, 12(2), pp. 73–83.
20. Parlapani F.F., Verdos G.I., Haroutounian S.A., Boziaris I.S., 2015, The dynamics of *Pseudomonas* and volatile compounds during the spoilage of gutted sea bream stored at 2°C, *Food Control*, 55, pp. 257–265.
21. Laursen B., Leisner J., and Dalgaard P., 2006, *Carnobacterium* species: effect of metabolic activity and interaction with *Brochothrix thermosphacta* on sensory characteristics of modified atmosphere packed shrimp, *Journal of agricultural and food chemistry*, 54, pp. 3604–11.
22. Broekaert K., Nosedà B., Heyndrickx M., Vlaemynck G., Devlieghere F., 2013, Volatile compounds associated with *Psychrobacter* spp. and *Pseudoalteromonas* spp., the dominant microbiota of brown shrimp (*Crangon crangon*) during aerobic storage, *International Journal of Food Microbiology*, 166(3), pp. 487–493.
23. Jaffrès E., Lalanne V., Macé S., Cornet J., Cardinal M., 2011, Sensory characteristics of spoilage and volatile compounds associated with bacteria isolated from cooked and peeled tropical shrimps using SPME–GC–MS analysis, *International Journal of Food Microbiology*, 147(3), pp. 195–202.
24. Macé S., Cardinal M., Jaffrès E., Cornet C., Lalanne V., 2014, Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from spoiled cooked whole tropical shrimp (*Penaeus vannamei*) stored under modified atmosphere packaging, *Food Microbiology*, 40, pp. 9–17.
25. Biji K.B., Ravishankar C.N., Venkateswarlu R., Mohan C.O., Gopal T.K.S., 2016, Biogenic amines in seafood: a review, *Journal of Food Science and Technology*, 53(5), pp. 2210–2218.

26. Silbande A., Adenet S., Chopin C., Cornet J., Smith-Ravin J., Rochefort K., Leroi F., 2018, Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the microbiological, chemical and sensory properties of tropical red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets stored at 4 °C, *International Journal of Food Microbiology*, 266, pp. 31–41.
27. Kim S.-H., Ben-Gigirey B., Barros-Velázquez J., Price R.J., An H., 2000, Histamine and biogenic amine production by *Morganella morganii* Isolated from temperature-abused albacore, *Journal of Food Protection*, 63(2), pp. 244–251.
28. Tahmouzi S., Ghasemlou M., Aliabadi F.S., Shahraz F., Hosseini H., Khaksar R., 2013, Histamine formation and bacteriological quality in skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*): effect of defrosting temperature, *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(4), pp. 306–313.
29. Babovic N., Djilas S., Jadranin M., Vajs V., Ivanovic J., Petrovic S., Zizovic I., 2010, Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant fractions from selected Lamiaceae herbs and their antioxidant capacity, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), pp. 98–107.
30. Boelens M.H., Van Gemert L.J., 1995, Structure-activity relationships of natural volatile nitrogen compounds, *Perfumer and flavorist*, 20, pp. 63–63.
31. Deslandes B., Gariépy C., Houde A., 2001, Review of microbiological and biochemical effects of skatole on animal production, *Livestock Production Science*, 71(2), pp. 193–200.
32. Jensen M.T., Jensen B.B., 1994, Gas chromatographic determination of indole and 3-methylindole (skatole) in bacterial culture media, intestinal contents and faeces, *Journal of chromatography B: Biomedical sciences and applications*, 655(2), pp. 275–280.
33. Whitehead T.R., Price N.P., Drake H.L., Cotta M.A., 2008, Catabolic pathway for the production of skatole and indoleacetic acid by the acetogen *Clostridium drakei*, *Clostridium scatologenes*, and swine manure, *Applied and Environmental Microbiology*, 74(6), pp. 1950–1953.
34. Yokoyama M.T., Johnson K.A., Carlson J.R., 1983, Factors influencing the production of p-cresol and skatole by *Lactobacillus* isolated from the rumen and pig feces, *Proceedings of XVII Conference on Rumen Function*, pp. 19–20.
35. Turner M.A., Gilmore W.J., Lou Y., Squires E.J., 2006, The role of CYP2A and CYP2E1 in the metabolism of 3-methylindole in primary cultured porcine hepatocytes, *Drug Metabolism and Disposition*, 34(5), pp. 848–854.
36. Diaz G.J., Squires E.J., 2003, Phase II in vitro metabolism of 3-methylindole metabolites in porcine liver, *Xenobiotica*, 33(5), pp. 485–498.

37. Claus R., Raab S., 1999, Influences on skatole formation from tryptophan in the pig colon, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 467, pp. 679–684.
38. Unklesbay N.F., 1992, *World Food and You*, CRC Press, New York.
39. Yu D., Regenstein J.M., Xia W., 2019, Bio-based edible coatings for the preservation of fishery products: A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(15), pp. 2481–2493.
40. Mahmoud B.S.M., Yamazaki K., Miyashita K., Shin II., Suzuki T., 2006, A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds, *Food Chemistry*, 99(4), pp. 656–662.
41. Berkel B., Boogaard. B. Vd., Heijnen, C., 2004, *Preservation of fish and meat*, 3.
42. Garthwaite G.A., 1997, Chilling and freezing of fish, *Fish Processing Technology*, Springer US, Boston, MA, pp. 93–118.
43. Cassens R.G., Robert G., 1994, Meat preservation: preventing losses and assuring safety.
44. Gokoglu N., 2019, Novel natural food preservatives and applications in seafood preservation: a review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), pp. 2068–2077.
45. Olatunde O.O., Benjakul S., 2018, Nonthermal Processes for Shelf-Life Extension of Seafoods: A Revisit, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), pp. 892–904.
46. Sallam Kh.I., Samejima K., 2004, Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage, *LWT - Food Science and Technology*, 37(8), pp. 865–871.
47. Williams S.K., Phillips K., 1998, Sodium lactate affects sensory and objective characteristics of tray-packed broiler chicken breast meat, *Poultry Science*, 77(5), pp. 765–769.
48. Boskou G., Debevere J., 2000, Shelf-life extension of cod fillets with an acetate buffer spray prior to packaging under modified atmospheres, *Food Additives & Contaminants*, 17(1), pp. 17–25.
49. Zhuang R.-Y., Huang Y.-W., Beuchat L.R., 1996, Quality changes during refrigerated storage of packaged shrimp and catfish fillets treated with sodium acetate, sodium lactate or propyl gallate, *Journal of Food Science*, 61(1), pp. 241–244.
50. Lee Y., Cesario T., Owens J., Shanbrom E., Thrupp L.D., 2002, Antibacterial activity of citrate and acetate, *Nutrition*, 18(7), pp. 665–666.

51. Qvist S., Sehested K., Zeuthen P., 1994, Growth suppression of *Listeria monocytogenes* in a meat product, *International Journal of Food Microbiology*, 24(1), pp. 283–293.
52. McWilliam Leitch E. C., Stewart C. S., 2002, Susceptibility of *Escherichia coli* O157 and non-O157 isolates to lactate, *Letters in Applied Microbiology*, 35(3), pp. 176–180.
53. Anders R.J., Cervený J.G., Milkowski A.L., 1989, Method for delaying *Clostridium botulinum* growth in fish and poultry, U.S Patent, Number: 4,798,729.
54. Davidson P.M., 1993, Parabens and phenolic compounds, *Antimicrobial in foods*, pp. 263–306.
55. Silverstein M., Bengtson V., 1997, Intergenerational solidarity and the structure of adult child–parent relations in American families, *American Journal of Sociology*, pp. 103.
56. Branen A.L., Davidson P.M., Katz B., 1980, Antimicrobial properties of phenolic antioxidants and lipids, *Food Technology (USA)*.
57. Ray B., 2004, *Fundamental food microbiology*, CRC Press, Boca Raton.
58. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G., 1996, Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), pp. 933–956.
59. Nguyễn Văn Minh, Phan Thị Mỹ Lê, 2015, *Nghiên cứu đề xuất quy trình chế biến cá bớp (*Rachycentron canadum*) phi lê đông lạnh nhằm hạn chế sự oxy hóa lipid trong quá trình bảo quản*, Luận văn thạc sĩ, Trường Đại Học Nha Trang, Ngành công nghệ sau thu hoạch, Khánh Hòa.
60. Trần Bạch Long, Nguyễn Văn Mười, Trần Thanh Trúc, 2019, Ảnh hưởng của ướp muối đến sự oxy hóa lipid và oxy hóa protein trong cơ thịt cá lóc (*Channa striata*) nuôi, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 55 (CĐ Công nghệ Sinh học), tr. 301–310.
61. Nguyễn Thế Hân, Nguyễn Lê Thùy Linh, Nguyễn Văn Minh, Không Trung Thắng, 2020, Khả năng hạn chế oxy hóa lipid của phân đoạn dịch chiết giàu polyphenol từ rong nâu *sargassum mcclurei* trên cơ thịt cá bớp, *Journal of Science & Technology*, 56 (2), tr. 111-116.
62. Nguyễn Thị Điềm, Trần Thị Luyên, 2012, *Nghiên cứu hạn chế quá trình oxy hóa lipid của sản phẩm khô cá trích (*sardinella gibbsa*) và đề xuất công nghệ chế biến bảo quản an toàn cho sản phẩm*, Luận văn thạc sĩ, Trường Đại Học Nha Trang, Khánh Hòa.
63. Sampels S., 2015, The effects of processing technologies and preparation on the final quality of fish products, *Trends in Food Science & Technology*, 44(2), pp. 131–146.



64. Bagamboula C.F., Uyttendaele M., Debevere J., 2004, Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*, *Food Microbiology*, 21(1), pp. 33–42.
65. Kashiri H., Haghparast S., Shabanpour B., 2011, Effects of sodium salt solutions (sodium acetate, lactate and citrate) on physicochemical and sensory characteristics of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fillets under refrigerated storage, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13(1), pp. 89–98.
66. Bligh E.G., Dyer W.J., 1959, Canadian journal of biochemistry and physiology, *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), pp. 911–917.
67. Hultmann L., Phu T.M., Tobiassen T., Aas-Hansen Ø., Rustad T., 2012, Effects of pre-slaughter stress on proteolytic enzyme activities and muscle quality of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*), *Food chemistry*, 134(3), pp. 1399–1408.
68. Smith P. et al, Krohn R.I., Hermanson G.T., Mallia A.K., Gartner P.H., 1985, Measurement of protein using bicinchoninic acid, *Analytical biochemistry*, 150(1), pp. 76–85.
69. Piton C., Grappin R., 1991, A model for statistical evaluation of precision parameters of microbiological methods: application to dry rehydratable film methods and IDF reference methods for enumeration of total aerobic mesophilic flora and coliforms in raw milk, *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 74(1), pp. 92–103.
70. Lemon D.W., Service C.F., Marine., 1975, *An Improved TBA Test for Rancidity*, Fisheries and Marine Service, pp. 8.
71. Ellman G.L., 1959, Tissue sulfhydryl groups, *Archives of biochemistry and biophysics*, 82(1), pp. 70–77.
72. Hansen-Møller J., 1994, Rapid high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of androstenone, skatole and indole in back fat from pigs, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 661(2), pp. 219–230.
73. Chakma S., Saha S., Hossain N., Rahman Md., Akter M., Hoque Md., Ullah Md., Mali S., Shahriar Al., 2020, Effect of frozen storage on the biochemical, microbial and sensory attributes of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) fish loins, *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 8(4), pp. 58–64.
74. Hematyar N., Rustad T., Sampels S., Kastrup Dalsgaard T., 2019, Relationship between lipid and protein oxidation in fish, *Aquaculture Research*, 50(5), pp. 1393–1403.

75. Bao Y., Ertbjerg P., 2019, Effects of protein oxidation on the texture and water-holding of meat: a review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(22), pp. 3564–3578.
76. Li R., Pei S., Chen B., Song Y., Zhang T., Yang W., Shaman J., 2020, Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2), *Science*, 368 (6490), pp. 489–493.
77. Odoli C., Sveinsdóttir K., Magnússon H., Martinsdóttir E., 2008, Application of quality index method (QIM) scheme and effects of short-time temperature abuse in shelf life study of fresh water arctic char (*Salvelinus alpinus*), *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 17, pp. 303–321.
78. Wang J., Cao H., Zhang J.Z.H., Qi Y., 2018, Computational protein design with deep learning neural networks, *Scientific Reports*, 8(1), pp. 6349.
79. Zhu W., Gao E., Shaban M., Wang Y., Wang H., Nie X., Zhu L., 2018, GhUMC1, a blue copper-binding protein, regulates lignin synthesis and cotton immune response, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 504(1), pp. 75–81.
80. Jiang Y., Chen J., Yen K., Xu J., 2019, Ectopically expressed il-34 can efficiently induce macrophage migration to the liver in zebrafish, *Zebrafish*, 16(2), pp. 165–170.
81. Hwang K.T. và Regenstein J.M., 1993, Characteristics of mackerel mince lipid hydrolysis, *Journal of Food Science*, 58(1), pp. 79–83.
82. Trần Thị Huyền, Paulina Elzbieta Wasik, 2017, Biến đổi chất lượng lipid của chả cá làm từ thịt cá Redfish (*Sebastes marinus*) xay trong quá trình bảo quản lạnh, 2.
83. Downes., Frances Pouch Ito., Keith., 2001, *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, Washington (D.C.), American public health association.
84. Thiansilakul Y., Benjakul S., Richards M., 2010, Changes in heme proteins and lipids associated with off-odour of seabass (*Lates calcarifer*) and red tilapia (*Oreochromis mossambicus*×*O. niloticus*) during iced storage, *Food Chemistry*, 121, pp. 1109–1119.
85. Nazemroaya S., Sahari M.A., Rezaei M., 2011, Identification of fatty acid in mackerel (*Scomberomorus commersoni*) and shark (*Carcharhinus dussumieri*) fillets and their changes during six month of frozen storage at -18 °C, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13, pp. 553–566.
86. Adeyemi O.T., Osilesi O.O., Onajobi F., Adebawo O., Afolayan A.J., 2013, Stability study of smoked fish, horse mackerel (*Trachurus trachurus*) by different methods

- and storage at room temperature, *The African Journal of Biochemistry Research*, 1(2), pp. 037-045.
87. Duun A.S., Rustad T., 2007, Quality changes during superchilled storage of cod (*Gadus morhua*) fillets, *Food Chemistry*, 105(3), pp. 1067–1075.
  88. Ruiz-Capillas C., Moral A., 2001, Correlation between biochemical and sensory quality indices in hake stored in ice, *Food Research International*, 34, pp. 441–447.
  89. FAO., 1995, Quality and quality changes in fresh fish.
  90. Martinaud A., Mercier Y., Marinova P., Tassy C., Gatellier P., Renerre M., 1997, Comparison of oxidative processes on myofibrillar proteins from beef during maturation and by different model oxidation systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), pp. 2481–2487.
  91. Xiong H., Zeng Y.C., Lewis T., Zheng J., Persidsky Y., Gendelman H.E., 2000, HIV-1 infected mononuclear phagocyte secretory products affect neuronal physiology leading to cellular demise: relevance for HIV-1-associated dementia, *Journal of NeuroVirology*, 6 Suppl 1, pp. S14-23.
  92. Rowe L.J., Maddock K.R., Lonergan S.M., Huff-Lonergan E., 2004, Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of mu-calpain, *Journal of Animal Science*, 82(11), pp. 3254–3266.
  93. Alghazeer R., Gao H., Howell N., 2008, Cytotoxicity of oxidised lipids in cultured colonal human intestinal cancer cells (caco-2 cells), *Toxicology letters*, 180, pp. 202–211.
  94. Simic M.G., Taylor K.A., 1987, Free radical mechanisms of oxidation reactions, *Warmed-over flavor of meat*, pp. 69–72.
  95. Chaijan M., Benjakul S., Visessanguan W., Faustman C., 2006, Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*, 99, pp. 83–91.
  96. Phu, T. M., Trinh, D. T. M., Thuy, L. T. M., 2018, Ice storage of snakehead fillet (*Channa striata*) combined with acetic acid treatment, *Can Tho University Journal of Science*, 54, pp. 147– 155.
  97. Nguyen G.K.T., Zhang S., Nguyen N.T.K., Chiu M.S., Hardjojo A., Tam J.P., 2011, Discovery and characterization of novel cyclotides originated from chimeric precursors consisting of albumin-1 chain a and cyclotide domains in the fabaceae family, *Journal of Biological Chemistry*, 286(27), pp. 24275–24287.
  98. Shigeru H., Shuryo N., 1985, Contribution of hydrophobicity, net charge and sulfhydryl groups to thermal properties of ovalbumin, *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 18(4), pp. 290–295.

99. Uchida K., Stadtman E.R., 1992, Modification of histidine residues in proteins by reaction with 4-hydroxynonenal, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(10), pp. 4544–4548.
100. Muoi, N. V., Truc, T. T., Long, B. T., 2019, Effect of cold storage in combination with salting on lipid and protein oxidation of snakehead (*Channa striata*) muscle. *Can Tho University Journal of Science*, 55(2), pp. 258–266.
101. Özalp Ö.B., Soyer A., 2018, Effect of plant extracts on lipid and protein oxidation of mackerel (*Scomber scombrus*) mince during frozen storage, *Journal of Food Science and Technology*, 55(1), pp. 120–127.
102. Babakhani A., Farvin K.H.S., Jacobsen C., 2016, Antioxidative effect of seaweed extracts in chilled storage of minced atlantic mackerel (*scomber scombrus*): effect on lipid and protein oxidation, *Food and Bioprocess Technology*, 9(2), pp. 352–364.
103. Raab S., Leiser R., Kemmer H., Claus R., 1998, Effects of energy and purines in the diet on proliferation, differentiation, and apoptosis in the small intestine of the pig, *Metabolism*, 47(9), pp. 1105–1111.
104. Mahmoud M.A.A., Buettner A., 2017, Characterisation of aroma-active and off-odour compounds in German rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Part II: Case of fish meat and skin from earthen-ponds farming, *Food Chemistry*, 232, pp. 841–849.

## PHỤ LỤC

### ❖ Các bảng số liệu kết quả thí nghiệm

Bảng 3. 6. Bảng số liệu giá trị pH, H<sub>2</sub>O của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở 0 °C

Ngày	0	5	10	15	20	25	30
<b>ĐC</b>							
pH	6.21	6.22	6.34	6.42	6.75	7.21	7.32
	6.21	6.22	6.33	6.43	6.74	7.24	7.34
	6.22	6.24	6.35	6.44	6.77	7.20	7.31
H <sub>2</sub> O	72.4	72.07	72	71.22	69.19	67.33	66.62
	72.46	72.19	71.68	71.75	69.48	67.29	66.99
	71.85	71.89	71.81	70.72	69.01	67.01	66.31
<b>NaA</b>							
pH	6.21	6.2	6.26	6.33	6.66	6.95	7.22
	6.21	6.23	6.27	6.31	6.69	6.93	7.21
	6.22	6.21	6.24	6.35	6.65	6.97	7.23
H <sub>2</sub> O	72.4	72.04	71.91	71.35	69.26	69.24	68.05
	72.46	72.25	71.93	71.65	69.47	69.08	68.17
	71.85	71.82	71.12	71.04	69.05	68.64	67.93
<b>BHA</b>							
pH	6.21	6.21	6.25	6.32	6.63	6.87	7.29
	6.24	6.32	6.37	6.43	6.74	6.99	7.23
	6.19	6.11	6.14	6.21	6.52	6.75	7.05
H <sub>2</sub> O	72.4	72.19	71.95	71.47	69.34	68.76	68.09
	72.46	72.29	72.19	72.08	69.55	68.75	67.72
	71.85	71.51	70.29	70.36	69.13	68.54	68.41

Bảng 3. 7. Bảng số liệu giá trị lipid, PV, TBARS của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở 0 °C

Ngày	0	5	10	15	20	25	30
<b>ĐC</b>							
Lipid	2.21	2.03	1.98	1.74	1.58	1.32	1.19
	2.27	2.08	2.11	1.84	1.65	1.39	1.28
	2.05	1.95	1.92	1.69	1.45	1.28	1.17
PV (meq O <sub>2</sub> /kg)	0.65	2.15	2.81	3.61	3.72	4.13	4.54
	0.68	2.19	2.98	3.7	3.78	4.18	4.59
	0.61	2.13	2.75	3.58	3.68	4.09	4.50

TBARS (mg/kg)	0.12	0.32	0.59	1.05	1.11	1.22	1.17
	0.15	0.36	0.65	1.11	1.18	1.25	1.24
	0.09	0.29	0.54	0.95	1.07	1.19	1.11
<b>NaA</b>							
Lipid	2.21	1.99	1.93	1.78	1.63	1.59	1.52
	2.27	2.09	1.98	1.87	1.69	1.68	1.62
	2.05	1.88	1.85	1.67	1.56	1.49	1.41
PV (meq O <sub>2</sub> /kg)	0.65	1.19	1.43	2.04	2.55	3.62	3.85
	0.68	1.15	1.46	2.1	2.58	3.67	3.8
	0.61	1.23	1.39	1.98	2.52	3.56	3.9
TBARS (mg/kg)	0.12	0.18	0.36	0.45	0.69	0.93	1.09
	0.15	0.21	0.41	0.5	0.76	1.02	1.02
	0.09	0.15	0.31	0.4	0.61	0.85	1.15
<b>BHA</b>							
Lipid	2.21	2.11	2.05	1.84	1.75	1.68	1.58
	2.27	2.19	2.22	1.98	1.94	1.87	1.71
	2.05	1.93	1.88	1.71	1.56	1.49	1.49
PV (meq O <sub>2</sub> /kg)	0.65	0.92	1.23	1.98	2.01	3.19	3.8
	0.68	0.98	1.3	2.15	2.21	3.28	3.95
	0.61	0.86	1.16	1.81	1.92	3.08	3.66
TBARS	0.12	0.17	0.32	0.44	0.65	0.91	1.05
	0.15	0.21	0.36	0.49	0.71	1.01	1.19
	0.09	0.13	0.28	0.39	0.59	0.82	0.94

Bảng 3. 8. Bảng giá trị số liệu protein, SH của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở 0 °C

Ngày	0	5	10	15	20	25	30
<b>ĐC</b>							
Protein	23.1	22.19	21.32	20.21	18.65	16.17	15.72
	22.89	22.25	21.38	20.42	18.73	16.29	15.88
	23.03	22.12	21.11	20.07	18.56	16.02	15.61
SH	10.92	8.13	7.55	5.21	4.55	2.34	2.32
	11.07	8.22	7.41	5.29	4.62	2.39	2.38
	10.88	8.08	7.4	5.13	4.51	2.29	2.28
<b>NaA</b>							
Protein	23.1	22.91	21.55	20.85	18.62	18.01	17.11

	22.89	22.79	21.66	20.96	18.78	17.59	17.22
	23.03	22.82	21.43	20.74	18.49	17.52	17.01
SH	10.92	9.63	9.17	8.18	6.55	5.19	4.51
	11.07	9.68	9.25	8.05	6.61	5.26	4.62
	10.88	9.58	9.12	8.31	6.5	5.12	4.42
<b>BHA</b>							
Protein	23.1	22.93	21.69	20.94	18.84	18.19	17.14
	22.89	22.45	21.8	21.05	19.85	17.16	16.11
	23.03	22.71	21.48	20.82	17.86	17.22	16.17
SH	10.92	9.82	9.33	8.29	7.52	6.14	4.32
	11.07	9.98	9.44	8.4	7.64	6.35	4.44
	10.88	9.76	9.21	8.19	7.4	5.93	4.2

Bảng 3. 9. Bảng số liệu giá trị pH, H<sub>2</sub>O của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở -20 °C

Ngày	0	5	10	15	20	25	30
<b>ĐC</b>							
pH	6.21	6.2	6.23	6.28	6.33	6.36	6.65
	6.21	6.21	6.25	6.3	6.34	6.38	6.65
	6.22	6.19	6.24	6.26	6.32	6.34	6.66
H <sub>2</sub> O	72.4	72.11	72.01	71.92	71.74	71.66	71.57
	72.46	72.49	72.18	71.51	71.5	71.42	71.62
	71.85	71.74	71.66	72.32	71.94	71.91	71.51
<b>NaA</b>							
pH	6.21	6.2	6.22	6.24	6.28	6.32	6.34
	6.21	6.21	6.23	6.24	6.28	6.31	6.34
	6.22	6.2	6.21	6.25	6.29	6.33	6.36
H <sub>2</sub> O	72.4	72.21	72.17	72.13	72.06	72	71.94
	72.46	72.53	72.25	72.19	72.15	72.12	72.01
	71.85	71.88	71.79	71.68	71.65	71.49	71.37
<b>BHA</b>							
pH	6.21	6.21	6.22	6.25	6.29	6.34	6.38
	6.21	6.21	6.24	6.24	6.29	6.36	6.38
	6.22	6.2	6.21	6.26	6.3	6.34	6.39
H <sub>2</sub> O	72.4	72.19	72.13	72.07	72.04	72.01	71.92
	72.46	72.88	72.22	72.18	72.12	72.09	71.85
	71.85	71.53	72.04	71.96	71.96	71.93	71.99

Bảng 3. 10. Bảng số liệu giá trị lipid, PV, TBARS của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở -20 °C

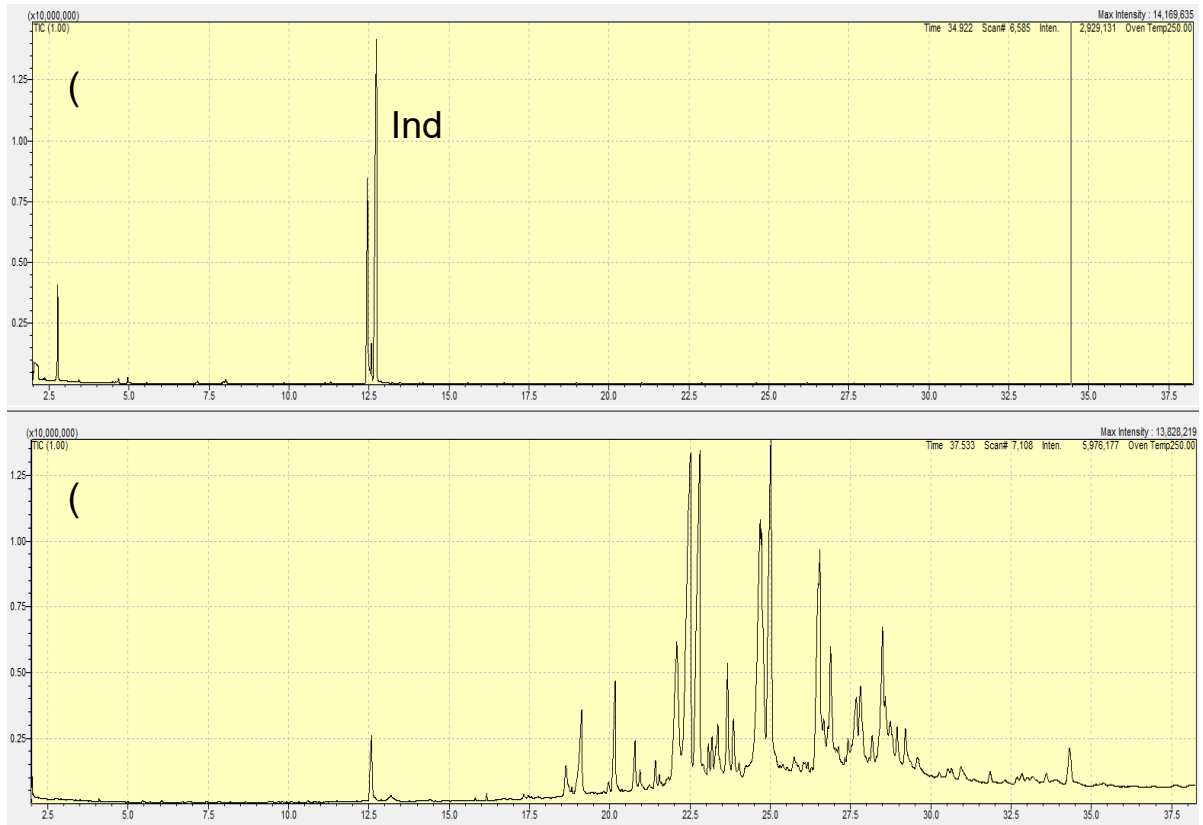
Ngày	0	5	10	15	20	25	30
<b>ĐC</b>							
Lipid	2.21	2.19	2.12	1.94	1.89	1.87	1.85
	2.27	2.25	2.11	2.01	1.95	1.97	1.93
	2.05	2.00	1.98	1.88	1.84	1.77	1.77
PV (meq O <sub>2</sub> /kg)	0.65	1.13	1.82	2.4	2.67	2.75	2.92
	0.68	1.18	1.95	2.45	2.78	2.88	3.05
	0.61	1.08	1.69	2.35	2.57	2.62	2.79
TBARS (mg/kg)	0.12	0.13	0.16	0.19	0.25	0.3	0.34
	0.15	0.12	0.16	0.2	0.25	0.34	0.4
	0.09	0.14	0.17	0.18	0.26	0.26	0.28
<b>NaA</b>							
Lipid	2.12	2.16	2.14	2.1	2	1.99	1.96
	2.27	2.21	2.18	2.15	2.12	2.00	1.99
	2.05	2.01	2.00	1.98	1.87	1.87	1.77
PV (meq O <sub>2</sub> /kg)	0.65	0.72	1.07	1.19	1.27	1.55	2.18
	0.68	0.74	1.11	1.25	1.35	1.43	2.32
	0.61	0.73	1.03	1.14	1.19	1.56	2.05
TBARS (mg/kg)	0.12	0.12	0.14	0.16	0.19	0.24	0.29
	0.15	0.13	0.14	0.17	0.21	0.26	0.29
	0.09	0.11	0.15	0.16	0.2	0.25	0.3
<b>BHA</b>							
Lipid	2.12	2.17	2.15	2.1	2.05	1.97	1.94
	2.26	2.31	2.23	2.21	2.18	2	1.97
	2.17	2.02	2.08	2	1.94	1.93	1.9
PV (meq O <sub>2</sub> /kg)	0.65	0.69	0.92	1.08	1.25	1.52	2.15
	0.68	0.73	1	1.12	1.32	1.67	2.27
	0.61	0.64	0.84	1.03	1.18	1.38	1.94
TBARS	0.12	0.12	0.13	0.15	0.18	0.22	0.27
	0.15	0.13	0.12	0.15	0.17	0.23	0.26
	0.09	0.13	0.14	0.16	0.19	0.21	0.28



Bảng 3. 11. Bảng giá trị số liệu protein, SH của cơ cá ngừ vằn khi thí nghiệm ở -20 °C

Ngày	0	5	10	15	20	25	30
<b>ĐC</b>							
Protein	23.1	22.8	22.75	22.64	22.59	21.05	21.66
	22.89	22.53	22.46	22.32	22.22	21.18	22.18
	23.03	23.07	22.87	22.64	22.46	20.92	21.15
SH	10.92	9.91	9.5	8.95	8.52	8.01	7.58
	11.07	10.18	9.64	9.17	8.79	8.13	7.69
	10.88	9.63	9.36	8.73	8.26	7.89	7.46
<b>NaA</b>							
Protein	23.1	22.99	22.89	22.75	22.68	22.6	22.52
	22.89	22.8	22.67	22.63	22.32	22.5	22.42
	23.03	22.85	22.55	22.47	23.03	22.41	22.21
SH	10.92	10.83	10.01	9.73	9.65	9.54	8.03
	11.07	10.76	10.15	9.89	9.71	9.61	8.14
	10.88	10.91	9.88	9.58	9.6	9.48	7.93
<b>BHA</b>							
Protein	23.1	23.06	22.9	22.78	22.65	22.5	22.44
	22.89	23.19	22.97	22.83	22.42	22.59	22.53
	23.03	22.94	22.8	22.72	22.67	22.4	22.34
SH	10.92	10.84	9.98	9.71	9.6	8.59	7.99
	11.07	10.99	10.4	9.84	9.72	8.71	8.11
	10.88	10.68	10.1	9.59	9.49	8.48	7.88

❖ Hình sắc kí đồ của indole và skatole



Hình 3. 15. Sắc ký đồ GC/MS của (a) Indole chuẩn (0,2mg/ml) và (b) mẫu cơ cá ngừ ngày 20 ở 0 °C phân tích bằng hệ thống GC/MS Shimadzu, 2010

❖ Một số hình ảnh về thí nghiệm



(a)



(b)

Hình 3. 16. Hình tủ giữ đông ở (a) 0 °C và (b) -20 °C



(a)

(b)

(c)

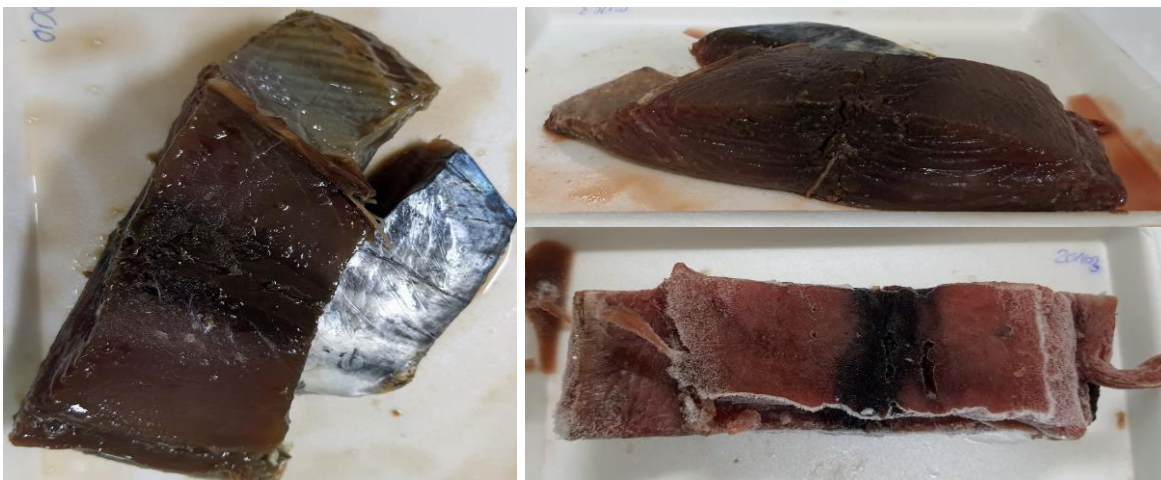
Hình 3. 17. Hình ảnh về thiết bị thí nghiệm (a) cân mẫu cá, (b) máy khuấy từ, (c) hệ thống cô quay.



(a)

(b)

Hình 3. 18. Hình ảnh mẫu (a) mẫu sau cô quay, (b) mẫu chiết chất bay hơi.



(a)

(b)

Hình 3. 19. Hình ảnh mẫu cá (a) mẫu ĐC ngày 10 ở  $0^{\circ}\text{C}$ , mẫu được xử lí bởi NaA ở  $-20^{\circ}\text{C}$ .