

CHỐNG BIẾN MÀU VÀ OXY HÓA LIPID TRONG CƠ THỊT CÁ NGỪ VÂY VÀNG ĐÔNG LẠNH BẰNG NANO CHITOSAN-ERGOTHIONEINE

PREVENTING DISCOLORATION AND LIPID OXIDATION IN FROZEN YELLOWFIN TUNA MUSCLE USING ERGOTHIONEINE-LOADED CHITOSAN NANOPARTICLES

Huỳnh Nguyễn Duy Bảo^{1*}, Nguyễn Trọng Bách¹, Nguyễn Hồng Ngân¹, Đỗ Trọng Sơn¹, Phạm Thị Hiền¹, Ngô Thị Hoài Dương², Trang Sĩ Trung¹

1. Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

2. Viện Công nghệ Sinh học & Môi trường, Trường Đại học Nha Trang

Tác giả liên hệ: Huỳnh Nguyễn Duy Bảo; Email: hndbao@ntu.edu.vn

Ngày nhận bài: 10/03/2025; Ngày phản biện thông qua: 15/05/2025; Ngày duyệt đăng: 25/05/2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá hiệu quả chống biến màu và chống oxy hóa lipid của nano chitosan tải ergothioneine (ECNP) đối với cơ thịt cá ngừ vây vàng (*Thunnus albacares*) bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Hiệu quả được đánh giá thông qua các chỉ tiêu, bao gồm chỉ số màu đỏ (RI), hàm lượng metmyoglobin (metMb), lipid hydroperoxide (HPO) và các chất phản ứng với acid thiobarbituric (TBARS). Kết quả cho thấy ECNP có khả năng ức chế hiệu quả quá trình biến màu và oxy hóa lipid trong cơ thịt cá ngừ vây vàng bảo quản đông, với mức độ ức chế phụ thuộc vào liều lượng ECNP sử dụng. Sau 6 tháng bảo quản, mẫu cơ thịt cá ngừ vây vàng xử lý ECNP ở liều lượng 200 mg/kg duy trì hàm lượng metMb dưới 26%, RI lớn hơn 1 và giá trị TBARS thấp hơn 200 nmol MDA/g. Những phát hiện này chỉ ra rằng ECNP là một chất chống oxy hóa tự nhiên tiềm năng, có thể ứng dụng để hạn chế sự biến màu và quá trình oxy hóa lipid trong cơ thịt cá ngừ vây vàng đông lạnh.

Từ khóa: bảo quản thủy sản, chống oxy hóa, metmyoglobin, sashimi, *Thunnus albacares*

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the anti-discoloration and lipid oxidation inhibitory effects of ergothioneine-loaded chitosan nanoparticles (ECNP) on the muscle of frozen yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) stored at $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. These effects were assessed based on key indicators, including redness index (RI), metmyoglobin (metMb) concentration, and the contents of lipid hydroperoxide (HPO) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). The results demonstrated that ECNP effectively inhibited discoloration and lipid oxidation in frozen yellowfin tuna muscle, with the degree of inhibition depending on the ECNP dosage. After 6 months of storage, yellowfin tuna muscle treated with ECNP at 200 mg/kg maintained metMb concentration below 26%, RI greater than 1, and TBARS content lower than 200 nmol MDA/g. These findings suggest that ECNP is a promising natural antioxidant that can be applied to prevent discoloration and lipid oxidation in frozen yellowfin tuna muscle.

Keywords: seafood preservation, antioxidant, metmyoglobin, sashimi, *Thunnus albacares*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá ngừ là một nguồn thực phẩm quan trọng, đóng góp đáng kể vào nền kinh tế của nhiều quốc gia. Trên thế giới, có hơn 48 loài cá ngừ được tìm thấy tại Đại Tây Dương, Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương và Biển Địa Trung Hải [1,13]. Thịt cá ngừ có màu đỏ tươi đặc trưng do chứa hàm lượng myoglobin (Mb) cao. Do đó, màu sắc là một trong những tiêu chí

chính để đánh giá độ tươi của thịt cá ngừ, đặc biệt là khi sử dụng làm sashimi.

Trong quá trình bảo quản lạnh, màu đỏ tươi của thịt cá ngừ dần chuyển sang nâu sẫm do sự oxy hóa deoxymyoglobin (deoxyMb) và oxymyoglobin (oxyMb) thành metmyoglobin (metMb) [10]. Sự thay đổi màu sắc này có liên quan chặt chẽ đến quá trình oxy hóa lipid, vì các gốc tự do sinh ra trong quá trình oxy hóa lipid

có thể xúc tác quá trình oxy hóa Mb, hình thành metMb. Ngược lại, metMb cũng thúc đẩy quá trình oxy hóa lipid, tạo ra một chuỗi phản ứng, làm gia tăng tốc độ oxy hóa lipid [6,8,17,21]. Sự tích tụ các sản phẩm oxy hóa lipid và Mb trong quá trình bảo quản không chỉ làm cơ thịt cá ngừ bị biến màu mà còn làm giảm đáng kể chất lượng sản phẩm.

Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng chất chống oxy hóa có thể ức chế đáng kể các quá trình oxy hóa này, nhờ đó bảo vệ cả màu sắc và chất lượng của cơ thịt cá ngừ [14,24]. Trong những năm gần đây, xu hướng sử dụng chất chống oxy hóa có nguồn gốc tự nhiên ngày càng phổ biến do mối lo ngại về an toàn thực phẩm và các nguy cơ sức khỏe tiềm ẩn liên quan đến chất chống oxy hóa tổng hợp. Ergothioneine (EGT) là một chất chống oxy hóa tự nhiên có trong các loại nấm ăn và đã được xác định là một hợp chất tiềm năng trong việc ngăn ngừa hiện tượng biến màu ở cơ thịt cá ngừ.

Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng EGT có khả năng can thiệp hiệu quả vào chuỗi phản ứng oxy hóa giữa Mb và lipid, từ đó làm giảm quá trình biến màu và duy trì màu đỏ tươi của cơ thịt cá ngừ. Đặc biệt, cơ thịt cá ngừ được xử lý với 50 mg EGT/kg có thể duy trì màu đỏ tự nhiên sau 7 ngày bảo quản lạnh ở 4°C [4-6]. Tuy nhiên, một trong những thách thức lớn trong việc ứng dụng EGT vào sản xuất công nghiệp là chi phí cao khi sử dụng ở liều lượng hiệu quả.

Chitosan là một polyme sinh học có tính kháng khuẩn và chống oxy hóa tự nhiên, đã được nghiên cứu rộng rãi trong lĩnh vực bảo quản thủy sản [16]. Hiệu quả bảo quản của chitosan phụ thuộc chủ yếu vào hai yếu tố chính: khối lượng phân tử và độ deacetyl. Chitosan có khối lượng phân tử thấp và độ deacetyl cao thường mang lại hiệu quả bảo quản vượt trội [9,16].

Những nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng nano chitosan (CNP) có hoạt tính sinh học cao hơn đáng kể so với chitosan tự nhiên. Ghorabi và Khodanazary [12] đã chứng minh rằng CNP

có khả năng bảo quản cá lưỡi trâu (*Cynoglossus arel*) hiệu quả hơn đáng kể so với chitosan tự nhiên. Tương tự, Bình và cộng sự [9] báo cáo rằng CNP có tác dụng ức chế oxy hóa lipid trong khô cá tra phi lê tầm gia vị mạnh hơn đáng kể so với chitosan tự nhiên có cùng độ deacetyl và khối lượng phân tử.

CNP thường được tổng hợp bằng phương pháp tạo gel ion với tác nhân liên kết ngang là sodium tripolyphosphate (STPP). Quá trình tổng hợp này giúp bao bọc và kiểm soát việc giải phóng các hợp chất có hoạt tính sinh học, nhờ đó cải thiện độ ổn định, tăng cường sinh khả dụng và nâng cao hiệu quả sinh học của chúng [19,20,22,30].

Việc bao bọc EGT trong CNP là một phương pháp tiềm năng để tăng cường đặc tính chống oxy hóa của EGT, đồng thời giảm liều lượng sử dụng. Điều này không chỉ giúp giảm chi phí bảo quản mà còn mở rộng khả năng ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm. Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá hiệu quả chống oxy hóa lipid và khả năng ức chế quá trình biến màu của ECNP trên cơ thịt cá ngừ vây vàng bảo quản đông.

II. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên vật liệu và hóa chất

Cá ngừ sử dụng trong nghiên cứu này là cá ngừ vây vàng (*Thunnus albacares*) được cung cấp bởi một công ty thủy sản tại tỉnh Khánh Hòa. Thịt thăn cá đã được cấp đông tại Công ty rồi đưa về phòng thí nghiệm Trường Đại học Nha Trang bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ để sử dụng cho nghiên cứu này.

Chitosan có khối lượng phân tử thấp (độ nhớt ≤ 110 cPs, độ deacetyl $\geq 90,3\%$) được cung cấp bởi Công ty CP Việt Nam Food (VNF). Ergothioneine (EGT) có độ tinh sạch $\geq 98\%$ được mua từ Công ty Hóa dược Dideu, thuộc Tập đoàn Công nghiệp Dideu, Thiểm Tây, Trung Quốc. Các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn phân tích hóa học, được mua từ Sigma-Aldrich (Hoa Kỳ), Wako (Nhật Bản), Merck (Đức).

2. Chế tạo ECNP

ECNP được chế tạo theo quy trình của Nguyễn Thị Thịnh [2] với một số điều chỉnh. Quá trình thực hiện như sau:

Hòa tan chitosan trong acid ascorbic 1% tạo thành dung dịch chitosan nồng độ 1 mg/mL. Cho EGT hòa tan vào dung dịch chitosan với tỷ lệ 0,2 mg/ml, khuấy liên tục ở tốc độ 750 vòng/phút trên máy khuấy từ để đảm bảo sự đồng nhất. Tiếp theo, phun dung dịch STPP (1 mg/ml) vào hỗn hợp trong điều kiện khuấy liên tục ở cùng tốc độ để hình thành nano chitosan-ergothioneine (ECNP). Sau đó, Để hỗn hợp ổn định trong 2 giờ rồi tiến hành ly tâm để thu nhận ECNP, rửa lại bằng nước cất rồi ly tâm lặp lại để làm sạch.

3. Xử lý cá ngừ bằng ECNP

Thịt thăn cá ngừ đông lạnh được rã đông trong ngăn mát tủ lạnh trong 12 giờ, sau đó cắt thành khối vuông (kích thước $20 \times 20 \times 20$ mm) và phân ngẫu nhiên thành 4 nhóm rồi phun đều ECNP lên bề mặt các miếng cá sử dụng bình phun TOV-1.5 (Kwang Sung, Hàn Quốc) với các liều lượng như sau:

Nhóm 1: Xử lý ECNP với liều lượng 100 mg/kg cơ thịt cá

Nhóm 2: Xử lý ECNP với liều lượng 200 mg/kg cơ thịt cá

Nhóm 3: Xử lý ECNP với liều lượng 400 mg/kg cơ thịt cá

Nhóm 4 (đối chứng): Không xử lý với ECNP

Sau đó, các miếng cá được xếp lên khay xốp (mỗi khay 200 g mẫu), bao gói bằng túi PA và hút chân không. Các mẫu được ủ trong 30 phút ở $3 \pm 1^\circ\text{C}$, sau đó bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Sau 6 tháng bảo quản đông, các mẫu cá được rã đông trong ngăn mát tủ lạnh trong 12 giờ trước khi lấy mẫu phân tích màu sắc ($L^*a^*b^*$), metMb, lipid hydroperoxide (HPO) và các chất phản ứng với acid thiobarbituric (TBARS) nhằm đánh giá hiệu quả chống oxy hóa lipid và khả năng ức chế biến màu của ECNP trên cơ thịt cá ngừ. Mỗi liều lượng được thử nghiệm trên 5 kg cơ thịt cá ngừ vây vàng và thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

4. Phương pháp phân tích

4.1. Phân tích hoạt tính khử gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Hoạt tính khử gốc tự do DPPH được phân tích theo phương pháp của Bình và cộng sự [9]. Cách tiến hành như sau: Chuẩn bị hỗn hợp phản ứng trong ống nghiệm, gồm 2 mL dung dịch chất chống oxy hóa, 1 mL methanol và 1 mL dung dịch DPPH 0,1 mM. Sau đó, trộn đều và ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng. Sau 30 phút phản ứng, hỗn hợp được đo độ hấp thụ tại bước sóng 517 nm trên quang phổ kế UV/VIS Biochrom Libra S50 (Cambridge, Vương quốc Anh). Mẫu đối chứng được chuẩn bị tương tự, nhưng thay thế 2 mL dung dịch chất chống oxy hóa bằng dung môi. Hoạt tính khử gốc tự do DPPH được tính dựa vào phương trình đường chuẩn DPPH.

4.2. Phân tích tổng năng lực khử

Tổng năng lực khử được phân tích theo phương pháp của Bình và cộng sự [9]. Cách tiến hành như sau: Chuẩn bị hỗn hợp phản ứng trong ống nghiệm chịu nhiệt có nắp đậy kín, gồm 0,5 mL $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1% và 1 mL dung dịch chất chống oxy hóa trong đệm phosphate (0,2 M, pH 6,6). Sau đó, trộn đều và ủ ở 50°C trong 20 phút. Tiếp theo, bổ sung 0,5 mL CCl_3COOH 10%, 2 mL nước cất và 0,4 mL FeCl_3 0,1% vào hỗn hợp. Trộn đều và đo độ hấp thụ tại bước sóng 700 nm trên quang phổ kế UV/VIS. Mẫu đối chứng (blank) được chuẩn bị tương tự, nhưng thay thế 0,5 mL dung dịch chất chống oxy hóa bằng dung dịch đệm phosphate. Tổng năng lực khử được quy đổi tương đương với lượng chất chống oxy hóa chuẩn butylated hydroxytoluene (BHT).

4.3. Phân tích hoạt tính ức chế oxy hóa lipid

Hoạt tính ức chế oxy hóa lipid được phân tích theo phương pháp của Huỳnh Nguyễn Duy Bảo và cộng sự [1]. Cách tiến hành như sau: Chuẩn bị hỗn hợp phản ứng trong ống nghiệm chịu nhiệt có nắp đậy kín, gồm 0,2 mL dung dịch đệm phosphate (50 mM, pH 7,4) chứa 50 μM metmyoglobin và 100 μM H_2O_2 , 0,2 mL

Tween 20 chứa 50 μM eicosapentaenoic acid, 0,1 mL dung dịch thử nghiệm. Mẫu đối chứng được chuẩn bị tương tự nhưng thay dung dịch thử nghiệm bằng dung dịch đệm. Lắc đều hỗn hợp rồi ủ ở 37°C trong 30 phút. Sau khi ủ, lấy 0,2 mL hỗn hợp cho vào ống nghiệm chịu nhiệt có nắp đậy khác và cho thêm vào 0,3 mL KCl 1,15%, 0,5 mL H_3PO_4 1%, 1 mL acid thiobarbituric 0,6%. Lắc đều hỗn hợp rồi ủ ở

95°C trong 45 phút. Sau đó, làm nguội nhanh ống nghiệm dưới vòi nước chảy đến nhiệt độ phòng rồi cho vào 4 mL n-butanol, lắc đều rồi để yên trong 10 phút. Đo độ hấp thụ của sản phẩm phản ứng trong lớp n-butanol tại bước sóng 535 nm trên quang phổ kế UV-VIS. Hoạt tính ức chế quá trình oxy hóa lipid của mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$\text{Hoạt tính ức chế oxy hóa lipid} = \left(\frac{A_0 - A}{A_0} \right) \times 100 (\%)$$

Trong đó: $A = A_{535}$ của mẫu thử và $A_0 = A_{535}$ của mẫu đối chứng.

4.4. Phân tích hàm lượng EGT

Hàm lượng EGT được phân tích theo phương pháp của Tsiantas và cộng sự [28] với một số điều chỉnh. Dung dịch EGT chuẩn được quét phổ trong khoảng 200 - 400 nm để xác định bước sóng có độ hấp thụ tối đa (λ_{max}). Kết quả đo trên máy quang phổ Biochrom Libra S50 UV/VIS (Cambridge, Vương quốc Anh) xác định λ_{max} của EGT chuẩn là 288 nm. Do đó, quá trình phân tích EGT được thực hiện ở bước sóng 288 nm, và hàm lượng EGT trong mẫu được tính toán dựa trên phương trình đường chuẩn EGT.

4.5. Tính hiệu suất tải EGT trong ECNP

Hiệu suất tải EGT được tính theo công thức sau:

$$\text{Hiệu suất tải EGT} = \frac{m_{E0} - m_E}{m_{E0}} \times 100 (\%)$$

Trong đó:

m_{E0} : Lượng EGT ban đầu cho vào hỗn hợp tạo nano.

m_E : Lượng EGT tự do trong dung dịch sau khi tạo nano.

4.6. Đo kích thước hạt nano

Kích thước hạt và độ rộng phân bố của ECNP được xác định bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering – DLS) sử dụng thiết bị Horiba SZ-100V2.

4.7. Đo màu sắc

Màu sắc ($L^*a^*b^*$) của 6 mặt xung quanh

và mặt cắt giữa của mỗi miếng cá được đo bằng máy đo màu Konica Minolta CR-400/CR-410 (Nhật Bản). Chỉ số màu đỏ được xác định bằng tỷ số a^*/b^* [18].

4.8. Phân tích hàm lượng lipid

hydroperoxide

Hàm lượng lipid hydroperoxide (HPO) được phân tích theo phương pháp của Shantha và Decker [23] với một số điều chỉnh. Cách tiến hành như sau: Cân khoảng 0,1–0,3 g dầu được chiết tách từ cơ thịt cá theo phương pháp của Bligh và Dyer [11] vào ống nghiệm, sau đó bổ sung 9,8 mL hỗn hợp chloroform và methanol (7:3, v/v) và trộn đều bằng thiết bị vortex trong 2–4 giây. Tiếp tục bổ sung 50 μL dung dịch ammonium thiocyanate, trộn đều trong 2–4 giây, sau đó bổ sung 50 μL dung dịch FeCl_2 , trộn đều lần nữa trong 2–4 giây và ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo tại bước sóng 500 nm trên quang phổ kế UV/VIS. Hàm lượng HPO được xác định dựa trên đường chuẩn cumene hydroperoxide.

4.9. Phân tích hàm lượng các chất phản ứng với acid thiobarbituric

Hàm lượng các chất phản ứng với acid thiobarbituric (TBARS) được phân tích theo phương pháp của Uchiyama và Mihara [29]. Cách tiến hành như sau: 0,5 g cơ thịt cá xay được đồng hóa với 4,5 mL dung dịch KCl

1,15%. Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5 mL dịch đồng hóa, 0,3 mL acid phosphoric 1% và 1 mL dung dịch acid 2-thiobarbituric 0,6% được trộn đều trong ống nghiệm chịu nhiệt có nắp đậy. Hỗn hợp được ủ ở 95°C trong 45 phút trong bể ổn nhiệt. Sau khi làm nguội, thêm 4,0 mL n-butanol vào ống nghiệm, lắc đều rồi ly tâm ở 3000 vòng/phút trong 10 phút. Độ hấp thụ của sản phẩm phản ứng trong n-butanol được đo tại bước sóng 535 nm và 520 nm bằng quang phổ kế UV/VIS. Giá trị TBARS được tính dựa trên hiệu số giữa độ hấp thụ tại hai bước sóng trên. Đường chuẩn được xây dựng bằng cách đo các nồng độ khác nhau của chất chuẩn 1,1,3,3'-tetraethoxypropane, với kết quả được biểu thị dưới dạng tương đương malondialdehyde (MDA).

4.10. Phân tích hàm lượng metMb

Hàm lượng metMb được phân tích theo phương pháp của Bito [10] với một số điều chỉnh. Cách tiến hành như sau: Trộn đều 3 g thịt cá xay với 10 mL dung dịch đệm phosphate lạnh (0,04 M, pH = 6,8) và khuấy bằng thanh từ phủ Teflon trong 10 phút. Hỗn hợp được ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút

trong 10 phút ở 5°C. Dịch ly tâm thu được lọc qua giấy lọc Whatman No. 1, sau đó đo độ hấp thụ tại bước sóng 540 nm và 503 nm bằng máy quang phổ UV/VIS. Hàm lượng metMb được tính dựa trên tỷ lệ độ hấp thụ tại hai bước sóng này theo công thức của Bito [10] dành cho myoglobin cá ngừ.

5. Xử lý số liệu

Tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và vẽ đồ thị bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Phân tích phương sai và phân tích tương quan được thực hiện bằng phần mềm R phiên bản 4.2.2 (<http://cran.R-project.org>). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) được xác định bằng phân tích phương sai một chiều kết hợp với phép thử Tukey để so sánh các cặp giá trị trung bình.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Một số đặc điểm cơ bản của ECNP

Một số đặc điểm cơ bản bao gồm kích thước hạt, hiệu suất tải EGT và hoạt tính chống oxy hóa của ECNP được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Một số đặc điểm của ECNP

STT	Đặc điểm	Giá trị
1	Kích thước hạt (nm)	118,5 ± 5,2
2	Hiệu suất tải EGT (%)	79,3 ± 1,2
3	Hoạt tính khử gốc tự do DPPH (mM/mg)	327,3 ± 24,1
4	Tổng năng lực khử (tương đương mg BHT/mg)	27,8 ± 2,5
5	Hoạt tính ức chế oxy hóa lipid (%)	47,5 ± 1,7

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy ECNP có kích thước trung bình nhỏ (118,5 ± 5,2 nm), hiệu suất tải EGT cao (79,3 ± 1,2%), và khả năng chống oxy hóa mạnh, thể hiện qua hoạt tính khử gốc tự do DPPH (327,3 ± 24,1 mM/mg), tổng năng lực khử (tương đương 27,8 ± 2,5 mg BHT/mg) và khả năng ức chế oxy hóa lipid (47,5 ± 1,7%). Hoạt tính chống oxy hóa của ECNP có thể là do cả CNP và EGT đều có hoạt tính chống oxy hóa. Bình và cộng sự [9]

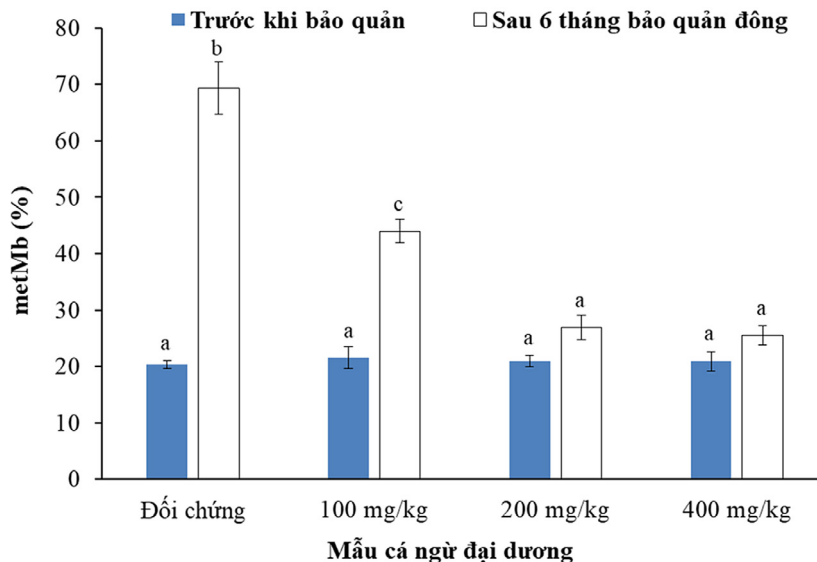
báo cáo rằng nano chitosan có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn đáng kể so với chitosan tự nhiên có cùng độ deacetyl và khối lượng phân tử. Vì vậy, ECNP được kỳ vọng có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn so với EGT tự do hoặc chitosan tự nhiên ở cùng liều lượng. Các đặc điểm về kích thước hạt, hiệu suất tải EGT và hoạt tính chống oxy hóa của ECNP trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả được báo cáo bởi Nguyễn Thị Thịnh [2].

2. Ảnh hưởng của liều lượng ECNP đến sự biến màu và hàm lượng metMb trong cơ thịt cá ngừ vây vàng bảo quản đông

Trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ thấp, màu sắc của cơ thịt cá ngừ dần chuyển từ đỏ sang nâu sẫm do quá trình oxy hóa deoxymyoglobin và oxymyoglobin tạo thành metMb [10]. Theo phân loại của Nurilmala và cộng sự [18], hàm lượng metMb trong cơ thịt cá ngừ vây vàng

được chia thành bốn mức: loại A (xuất sắc) < 26%, loại B (tốt) < 46%, loại C (chấp nhận) ≤ 52% và loại D (không chấp nhận) > 52%.

Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của liều lượng ECNP đến sự biến đổi hàm lượng metMb trong cơ thịt cá ngừ vây vàng sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Hàm lượng metmyoglobin (metMb) của cơ thịt cá ngừ vây vàng được xử lý với ECNP ở liều lượng 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg và đối chứng (không xử lý) trước khi bảo quản và sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Số liệu trình bày trên đồ thị là giá trị trung bình và độ lệch chuẩn ($n = 3$).

Các ký tự khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả ở Hình 1 cho thấy trước khi bảo quản, hàm lượng metMb của tất cả các mẫu cơ thịt cá ngừ (bao gồm mẫu đối chứng và các mẫu xử lý ECNP) không có sự khác biệt đáng kể ($p > 0,05$) và duy trì ở mức dưới 26%, tương ứng với cơ thịt cá ngừ vây vàng loại A.

Sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$, hàm lượng metMb của mẫu đối chứng và mẫu xử lý ECNP với liều lượng 100 mg/kg tăng lên đáng kể ($p < 0,05$) so với trước khi bảo quản. Ngược lại, ở các mẫu xử lý ECNP với liều lượng 200 mg/kg và 400 mg/kg, hàm lượng metMb không thay đổi đáng kể ($p > 0,05$) so với ban đầu. Điều này chứng tỏ ECNP có khả năng ức chế sự hình thành metMb trong cơ thịt cá ngừ với hiệu quả phụ thuộc đáng kể vào liều lượng sử dụng.

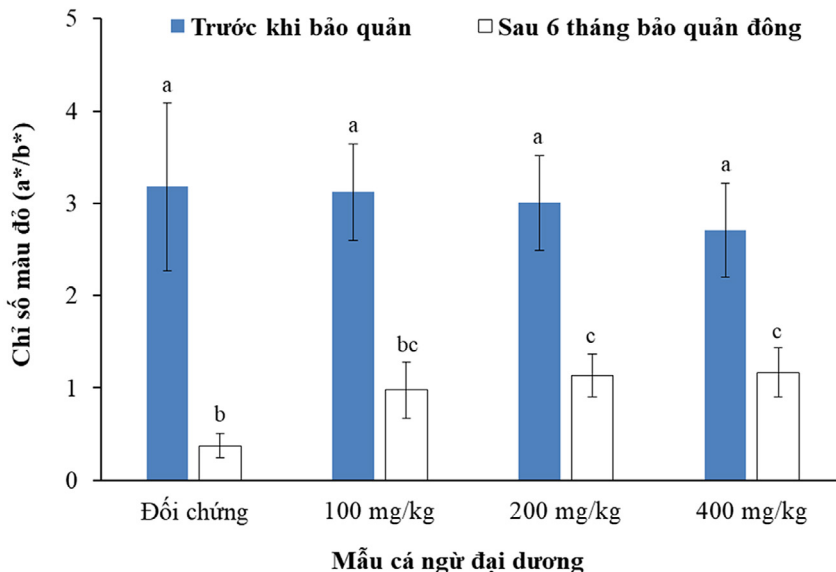
Đáng chú ý, hàm lượng metMb của mẫu xử lý ECNP với liều lượng 100 mg/kg thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với mẫu đối chứng sau 6 tháng bảo quản đông. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Bao và cộng sự [5] rằng EGT có tác dụng ức chế sự hình thành metMb trong cơ thịt cá ngừ và thịt bò. Ngoài ra, Bao và cộng sự [6] cũng chỉ ra rằng hiệu quả ức chế sự hình thành metMb trong cơ thịt cá ngừ phụ thuộc vào liều lượng EGT sử dụng. Tác dụng của ECNP có thể được lý giải là nhờ sự kết hợp giữa EGT, một chất chống oxy hóa mạnh có khả năng ức chế sự hình thành metMb trong cơ thịt cá ngừ [5], và CNP, một hệ vận chuyển sở hữu hoạt tính chống oxy hóa tự nhiên và khả năng kiểm soát giải phóng hoạt chất sinh học [9]. Như vậy,

ECNP ở liều lượng 200 mg/kg có khả năng ức chế gần như hoàn toàn sự hình thành metMb trong cơ thịt cá ngừ vây vàng sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Nurilmala và cộng sự [18] cũng phát hiện mối tương quan nghịch giữa hàm lượng metMb và chỉ số màu đỏ (a^*/b^*) của cơ thịt cá ngừ vây vàng. Chỉ số màu đỏ của cá ngừ vây vàng được

phân loại như sau: loại A (xuất sắc) $> 1,0$, loại B (tốt) $> 0,8$, loại C (chấp nhận) $\geq 0,6$ và loại D (không chấp nhận) $< 0,6$.

Ảnh hưởng của xử lý ECNP đến sự thay đổi chỉ số màu đỏ của cơ thịt cá ngừ vây vàng sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ được trình bày ở Hình 2.



Hình 2. Chỉ số màu đỏ (a^*/b^*) của cơ thịt cá ngừ vây vàng được xử lý với ECNP ở liều lượng 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg và đối chứng (không xử lý) trước khi bảo quản và sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Số liệu trình bày trên đồ thị là giá trị trung bình và độ lệch chuẩn ($n = 3$). Các ký tự khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

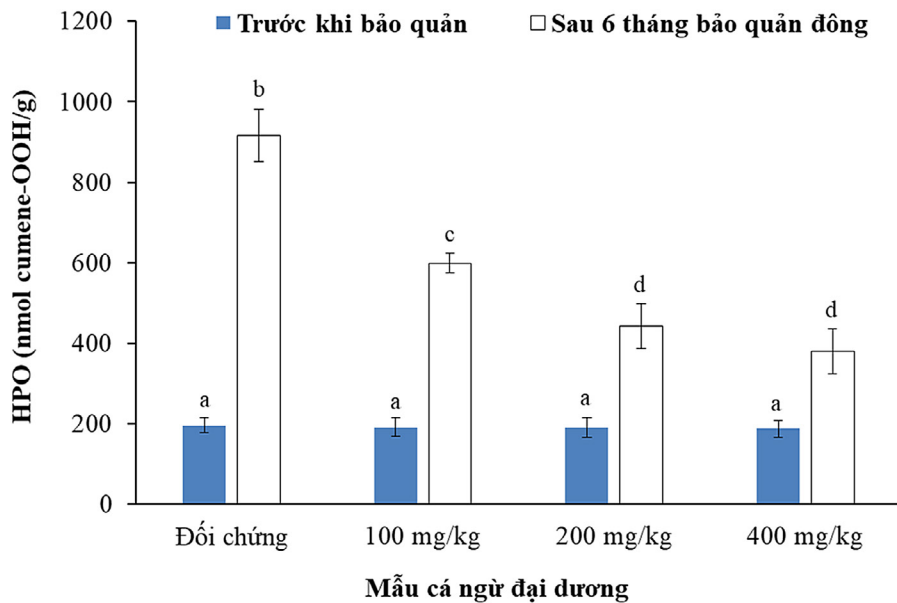
Kết quả ở Hình 3 cho thấy trước khi bảo quản, chỉ số màu đỏ của tất cả các mẫu cơ thịt cá ngừ vây vàng (bao gồm mẫu đối chứng và các mẫu xử lý ECNP) đều lớn hơn 1, tương ứng với loại A (xuất sắc).

Sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$, chỉ số màu đỏ của tất cả các mẫu đều giảm đáng kể ($p < 0,05$) so với trước khi bảo quản. Đối với mẫu đối chứng, chỉ số màu đỏ giảm xuống còn $0,37 \pm 0,13$, tương ứng với loại D (không chấp nhận). Trong khi đó, chỉ số màu đỏ của mẫu xử lý ECNP với liều lượng 100 mg/kg là $0,98 \pm 0,31$, nằm ở ranh giới giữa loại A (xuất sắc) và loại B (tốt). Đặc biệt, các mẫu xử lý ECNP với liều lượng 200 mg/kg và 400 mg/kg có chỉ số màu đỏ lần lượt là $1,14 \pm 0,23$ và $1,17 \pm 0,27$,

duy trì trong mức loại A. Kết quả này chứng tỏ ECNP có tác dụng chống biến màu cơ thịt cá ngừ vây vàng và xử lý ECNP ở liều lượng 200 mg/kg có thể duy trì màu sắc cơ thịt cá ngừ vây vàng đạt loại A sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$.

3. Ảnh hưởng của liều lượng ECNP đến sự oxy hóa lipid trong cơ thịt cá ngừ vây vàng bảo quản đông

HPO và TBARS là hai chỉ tiêu thường được sử dụng để đánh giá mức độ oxy hóa lipid trong thực phẩm nói chung và thủy sản nói riêng. Ảnh hưởng của liều lượng ECNP xử lý đến sự biến đổi hàm lượng HPO của cơ thịt cá ngừ vây vàng sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ được trình bày ở Hình 3.



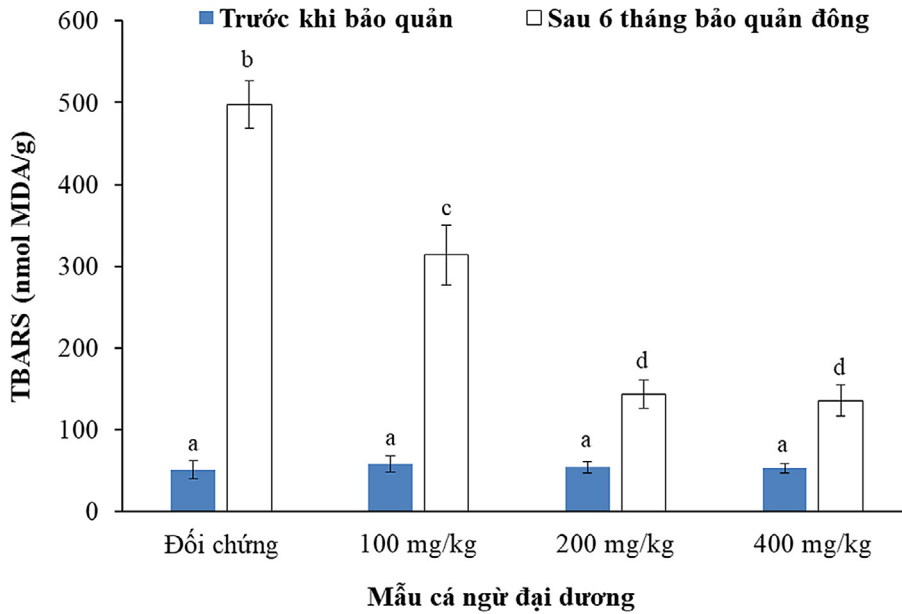
Hình 3. Hàm lượng lipid hydroperoxide (HPO) của cơ thịt cá ngừ vây vàng được xử lý với ECNP ở liều lượng 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg và đối chứng (không xử lý) trước khi bảo quản và sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Số liệu trình bày trên đồ thị là giá trị trung bình và độ lệch chuẩn ($n = 3$). Các ký tự khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Sự biến đổi hàm lượng HPO trong cơ thịt cá ở giai đoạn đầu của quá trình bảo quản phản ánh mức độ oxy hóa lipid [24]. Theo nghiên cứu của Bao và Ohshima [7], hàm lượng HPO trong cơ thịt cá tươi bảo quản lạnh ở nhiệt độ thấp hơn 4°C ngay sau khi đánh bắt không quá 1 ngày thường nhỏ hơn 50 nmol/g. Kết quả phân tích trong nghiên cứu này ghi nhận hàm lượng HPO trong cơ thịt cá ngừ vây vàng trước khi bảo quản lần lượt là $196,23 \pm 18,16$ nmol/g (mẫu đối chứng), $190,97 \pm 22,88$ nmol/g (mẫu 100 mg/kg), $190,44 \pm 25,49$ nmol/g (mẫu 200 mg/kg), $187,27 \pm 20,82$ nmol/g (mẫu 400 mg/kg). Các giá trị này phản ánh sự oxy hóa lipid trong cơ thịt cá trước khi bảo quản đã diễn ra đáng kể. Hàm lượng HPO của các mẫu cơ thịt cá ngừ vây vàng trước khi bảo quản không có sự khác biệt đáng kể ($p > 0,05$). Sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$, hàm lượng HPO của tất cả các mẫu cơ thịt cá ngừ đều tăng đáng kể ($p < 0,05$) so với trước khi bảo quản, lần lượt là $916,67 \pm 64,29$ nmol/g (mẫu đối chứng), $598,80 \pm 23,75$ nmol/g (mẫu 100 mg/kg), $442,62 \pm 55,14$ nmol/g (mẫu 200 mg/kg), $380,05 \pm 55,00$ nmol/g (mẫu 400 mg/kg). Hàm lượng HPO của các mẫu có xử lý

ECNP đều thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với mẫu đối chứng, khẳng định ECNP có tác dụng ức chế sự hình thành HPO trong cơ thịt cá ngừ và hiệu quả ức chế phụ thuộc đáng kể vào liều lượng.

Kết quả ở Hình 3 cho thấy hàm lượng HPO của các mẫu cơ thịt cá ngừ vây vàng xử lý với ECNP ở liều lượng 200 mg/kg và 400 mg/kg không có sự khác biệt đáng kể ($p > 0,05$). Điều này chứng tỏ liều lượng 200 mg/kg đã đủ để đạt hiệu quả tối đa trong việc ngăn chặn sự hình thành HPO trong cơ thịt cá ngừ vây vàng bảo quản đông trong điều kiện nghiên cứu này.

Các chất phản ứng với acid thiobarbituric (TBARS) là sản phẩm thứ cấp của quá trình oxy hóa lipid nên sự biến đổi hàm lượng TBARS của cơ thịt cá trong quá trình bảo quản thể hiện mức độ oxy hóa lipid trong cơ thịt cá [7,26]. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của liều lượng ECNP xử lý đến sự biến đổi hàm lượng TBARS của cơ thịt cá ngừ vây vàng sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ được trình bày ở Hình 4.

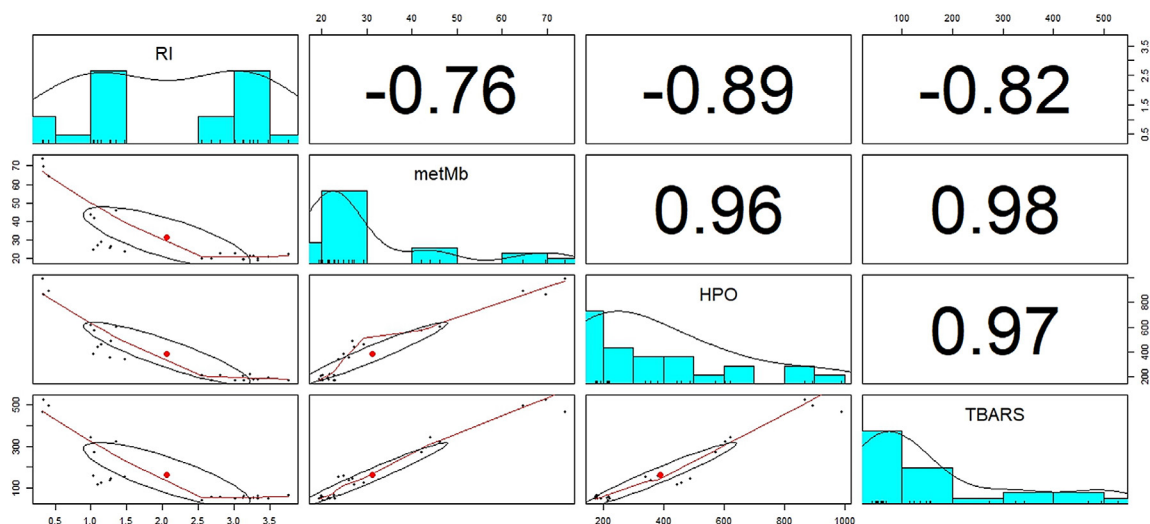


Hình 4. Hàm lượng các chất phản ứng với acid thiobarbituric (TBARS) của cơ thịt cá ngừ vây vàng được xử lý với ECNP ở liều lượng 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg và đối chứng (không xử lý) trước khi bảo quản và sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Số liệu trình bày trên đồ thị là giá trị trung bình và độ lệch chuẩn ($n = 3$). Các ký tự khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Từ kết quả ở Hình 4 nhận thấy hàm lượng TBARS của các mẫu cơ thịt cá ngừ đối chứng (50.88 ± 11.23 nmol MDA/g) và các mẫu cơ thịt cá ngừ xử lý ECNP với liều lượng 100 mg/kg (58.31 ± 9.65 nmol MDA/g), 200 mg/kg (54.14 ± 7.18 nmol MDA/g) và 400 mg/kg (52.99 ± 6.06 nmol MDA/g) trước khi bảo quản không có sự khác biệt đáng kể ($p > 0,05$). Sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$, hàm lượng TBARS của tất cả các mẫu cơ thịt cá ngừ đều tăng đáng kể ($p < 0,05$) so với trước khi bảo quản, lần lượt là 497.62 ± 29.56 nmol MDA/g (mẫu đối chứng), 313.88 ± 36.81 nmol MDA/g (mẫu 100 mg/kg), 143.55 ± 17.05 nmol MDA/g (mẫu 200 mg/kg), 135.61 ± 19.41 nmol MDA/g (mẫu 400 mg/kg). Hàm lượng TBARS của các mẫu có xử lý ECNP đều thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với mẫu đối chứng, khẳng định ECNP có tác dụng ức chế sự hình thành TBARS trong cơ thịt cá ngừ. Những nghiên cứu trước đây báo cáo rằng hàm lượng TBARS của thủy sản tăng đáng kể trong quá trình bảo quản đông

[3,25,27]. Theo nghiên cứu của Ke và cộng sự [15], cá có mùi ôi khi giá trị TBARS vượt quá 200 nmol MDA/g. Kết quả này cũng cho thấy hiệu quả ức chế sự hình thành TBARS trong cơ thịt cá ngừ của ECNP phụ thuộc đáng kể vào liều lượng sử dụng. Tuy nhiên, hàm lượng TBARS của các mẫu cơ thịt cá ngừ vây vàng xử lý với ECNP ở liều lượng 200 mg/kg và 400 mg/kg không có sự khác biệt đáng kể ($p > 0,05$) và thấp hơn ngưỡng 200 nmol MDA/g. Kết quả này khẳng định ECNP ở liều lượng 200 mg/kg đã đủ để đạt được hiệu quả tối đa trong ngăn chặn oxy hóa lipid trong cơ thịt cá ngừ vây vàng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ trong 6 tháng.

Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng sự biến màu của cơ thịt cá ngừ có liên quan chặt chẽ đến quá trình oxy hóa lipid và Mb [5,6]. Mối tương quan giữa hàm lượng HPO, TBARS, metMb và chỉ số màu đỏ của cơ thịt cá ngừ vây vàng trong nghiên cứu hiện tại được trình bày ở Hình 5.



Hình 5. Môi trường quan giữa hàm lượng lipid hydroperoxide (HPO), các chất phản ứng với acid thiobarbituric (TBARS), metmyoglobin (metMb) và chỉ số màu đỏ (RI) của tất cả các mẫu cơ thịt cá ngừ vây vàng được xử lý với ECNP ở liều lượng 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg và đối chứng (không xử lý) trước khi bảo quản và sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Cơ thịt cá ngừ có chứa hàm lượng Mb cao và lipid của nó có tỷ lệ PUFA (acid béo không bão hòa đa) lớn nên rất dễ bị oxy hóa [6]. Kết quả phân tích tương quan ở Hình 5 chỉ ra rằng hàm lượng HPO và TBARS của tất cả các mẫu cơ thịt cá ngừ có mối tương quan rất cao với hàm lượng metMb, với hệ số tương quan lần lượt là 0,96 và 0,98. Điều này chứng tỏ quá trình oxy hóa lipid có liên quan chặt chẽ đến sự hình thành metMb. Ngoài ra, hàm lượng HPO và TBARS cũng có mối tương quan âm với chỉ số màu đỏ (RI), với hệ số tương ứng là -0,89 và -0,82, gợi ý rằng quá trình oxy hóa lipid góp phần gây ra sự biến màu của cơ thịt cá ngừ. Tổng hợp các kết quả này cho thấy oxy hóa lipid và oxy hóa Mb là hai nguyên nhân chính dẫn đến sự biến màu của cơ thịt cá ngừ trong quá trình bảo quản. Đồng thời, dữ liệu cũng

khẳng định vai trò của ECNP trong việc làm chậm quá trình biến màu và ức chế oxy hóa lipid trong cơ thịt cá ngừ đông lạnh, với hiệu quả phụ thuộc vào liều lượng sử dụng.

IV. KẾT LUẬN

Xử lý cơ thịt cá ngừ vây vàng bằng ECNP giúp giảm đáng kể sự biến màu và oxy hóa lipid trong quá trình bảo quản đông. Hiệu quả chống biến màu và ức chế oxy hóa lipid của ECNP phụ thuộc vào liều lượng xử lý. Ở liều lượng 200 mg/kg, ECNP có khả năng làm chậm quá trình oxy hóa lipid và duy trì màu sắc của cơ thịt cá ngừ vây vàng ở mức loại A sau 6 tháng bảo quản đông ở $-20 \pm 2^\circ\text{C}$.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Giáo dục và Đào tạo thông qua đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ mã số B2023-TSN-11.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Huỳnh Nguyễn Duy Bảo, Ngô Thị Hoài Dương, Phạm Thị Hiền, 2014. Nghiên cứu áp dụng phản ứng Fenton để phân tích hoạt tính chống oxy hóa. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*. Số 3/2014, 9–15.
2. Nguyễn Thị Thịnh, 2023. Xây dựng quy trình công nghệ chế tạo nano chitosan-ergothioneine có hoạt tính chống oxy hóa ở quy mô phòng thí nghiệm. Luận văn thạc sĩ, Trường Đại học Nha Trang.
3. Aydın I., Gokoglu N., 2014. Effects of temperature and time of freezing on lipid oxidation in anchovy (*Engraulis encrasicolus*) during frozen storage. *European Journal of Lipid Science and Technology*.

- 116(8), 996-1001.
4. Bao H.N.D., Osako K., Ohshima T., 2010. Value-added use of mushroom ergothioneine as a colour stabilizer in processed fish meats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 90, 1634–1641.
 5. Bao H.N.D., Ushio H., Ohshima T., 2008. Antioxidative activity and antidiscoloration efficacy of ergothioneine in mushroom (*Flammulina velutipes*) extract added to beef and fish meats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 10032–10040.
 6. Bao H.N.D., Ushio H., Ohshima T., 2009. Antioxidative activities of mushroom (*Flammulina velutipes*) extract added to bigeye tuna meat: Dose-dependent efficacy and comparison with other biological antioxidants. *Journal of Food Science*. 74(2), C162-C169.
 7. Bao H.N.D., Ohshima T., 2013. Strategies to Minimize Oxidative Deterioration in Aquatic Food Products: Application of Natural Antioxidants from Edible Mushrooms. In: *Lipid Oxidation: Challenges in Food Systems*. pp. 345–380.
 8. Baron C.P., Andersen H.J., 2002. Myoglobin-induced lipid oxidation. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(14), 3887–3897.
 9. Binh N.T.T., Bao H.N.D., Prinyawiwatkul W., Trung, T.S., 2021. Antioxidative and antimicrobial effects of low molecular weight shrimp chitosan and its derivatives on seasoned-dried Pangasius fillets. *International Journal of Food Science and Technology*. 56(10), 5119–5129.
 10. Bito M., 1965. Studies on the retention of meat color of frozen tuna-II. Effect of storage temperature on preventing discoloration of tuna meat during freezing storage. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 31, 534–539.
 11. Bligh E.G., Dyer W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37(8), 911–917.
 12. Ghorabi R.S., Khodanazary A., 2020. Effects of chitosan and nano-chitosan as coating materials on the quality properties of large scale tongue sole *Cynoglossus arel* during super-chilling storage. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 19, 2242–2257.
 13. Herpandi Huda, N., Rosma A., Wan Nadiah W.A., 2011. The Tuna Fishing Industry: A New Outlook on Fish Protein Hydrolysates. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 10, 195–207.
 14. Jun Lee B., Hendricks G.D., Cornforth, P.D., 1999. A comparison of carnosine and ascorbic acid on color and lipid stability in a ground beef pattie model system. *Meat Science*. 51, 245–253.
 15. Ke P. J., Nash D.M., Ackman R.G., 1976. Quality preservation in frozen mackerel. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*. 9, 135–138.
 16. Kulawik P., Jamróz E., Özogul F., 2020. Chitosan role for shelf-life extension of seafood. *Environmental Chemistry Letters*. 18(1), 61–74.
 17. Lee S., Joo S.T., Alderton A.L., Hill D.W., Faustman C., 2003. Oxymyoglobin and lipid oxidation in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) loins. *Journal of Food Science*. 68(5), 1664-1668.
 18. Nurilmala M., Ushio H., Kaneko G., Ochiai Y., 2013. Assessment of commercial quality evaluation of yellowfin tuna *Thunnus albacares* meat based on myoglobin properties. *Food Science and Technology Research*. 19 (2), 237-243.
 19. Othman N., Masarudin M.J., Kuen C.Y., Dasuan N.A., Abdullah L.C., Jamil S.N.A.M., 2018. Synthesis and optimization of chitosan nanoparticles loaded with L-ascorbic acid and thymoquinone. *Nanomaterials*. 8(11), 920.
 20. Picchi, V., Gobbi, S., Fattizzo, M., Zefelippo, M., Faoro, F., 2021. Chitosan nanoparticles loaded with n-acetyl cysteine to mitigate ozone and other possible oxidative stresses in durum wheat. *Plants*. 10(4), 691.
 21. Reeder J.B., Wilson T.M., 1998. Mechanism of reaction of myoglobin with the lipid hydroperoxide hydroperoxyoctadecadienoic acid. *Biochemical Journal*. 330, 1317–1323.
 22. Sarp Ö., Yurdakoç K., Altinisik Tagac A., 2018. Controlled Release of Vitamin-C from Chitosan Nanoparticles. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*. 1, 69–77.
 23. Shantha N.C., Decker E.A., 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for

- determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*. 77(2), 421–424.
24. Sohn J.H., Ohshima T., 2010. Control of lipid oxidation and meat color deterioration in skipjack tuna muscle during ice storage. *Fisheries Science*. 76, 703–710.
 25. Sriket P., La-Ongnual T., 2018. Quality Changes and Discoloration of Basa (*Pangasius bocourti*) Fillet during Frozen Storage. *Journal of Chemistry*. Article ID 5159080, 7 pages.
 26. Suárez-Medina M.D., Sáez-Casado M.I., Martínez-Moya T., Rincón-Cervera M.Á., 2024. The Effect of Low Temperature Storage on the Lipid Quality of Fish, Either Alone or Combined with Alternative Preservation Technologies. *Foods*. 13(7), 1097.
 27. Thanonkaew A., Benjakul S., Visessanguan W., Decker E.A., 2008. The effect of antioxidants on the quality changes of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) muscle during frozen storage. *LWT - Food Science and Technology*. 41(1), 161-169.
 28. Tsiantas K., Tsiaka T., Koutrotsios G., Siapi E., Zervakis G.I., Kalogeropoulos N., Zoumpoulakis P., 2021. On the identification and quantification of ergothioneine and lovastatin in various mushroom species: Assets and challenges of different analytical approaches. *Molecules*. 26(7), 1832.
 29. Uchiyama M., Mihara M., 1978. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*. 86, 271–278.
 30. Zaboon M.H., Saleh A.A., Al-Lami H.S., 2021. Synthesis, characterization and cytotoxicity investigation of chitosan-amino acid derivatives nanoparticles in human breast cancer cell lines. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 65, 178–188.