

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG HẠN CHẾ QUÁ TRÌNH OXY HOÁ LIPID CỦA BỘT HƯƠNG THẢO SẤY PHUN (*Rosmarinus officinalis*) TRONG PATTY BÒ

Huỳnh Hoàng Duy¹,
Lê Huỳnh Ngọc Liễu^{2,3}, Trần Thị Thanh Xuân¹

TÓM TẮT

Title: *Inhibition of lipid oxidation in beef patty by spray-dried rosemary (*Rosmarinus officinalis*) powder*

Từ khóa: *Bột hương thảo sấy phun, patty bò, kháng oxy hóa, DPPH, FRAP*

Keywords: *Keywords: Spray dried rosemary powder, beef patty, antioxidation, DPPH, FRAP*

Lịch sử bài báo

Ngày nhận bài: 21/6/2022

Ngày nhận kết quả bình duyệt: 12/7/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 27/7/2022

Tác giả:

¹ Trường ĐH Yersin Đà Lạt.

² Trường ĐH Bách Khoa – Đại học Quốc gia TP. HCM

³ Trung tâm Y Tế Quận 8, TP. Hồ Chí Minh

Email:

huynhhoangduy90@gmail.com

Nghiên cứu nhằm đánh giá sự ảnh hưởng của bột hương thảo sấy phun (RP) trong hạn chế quá trình oxy hóa lipid trong thịt bò băm (patty bò) khi bảo quản lạnh. Hoạt tính chống oxy hóa của RP và BHT được xác định theo phương pháp DPPH (IC50) và FRAP. Mẫu patty bò có bổ sung RP, BHT ở các nồng độ khác nhau và mẫu đối chứng được bảo quản 12 ngày ở 2-4°C. Sự biến đổi ở các mẫu được đánh giá sau mỗi 48 giờ qua các chỉ tiêu PoV, TBARS, chỉ số màu sắc; định tính sự có mặt của NH₃, H₂S trong quá trình phân giải protein và định lượng tổng số vi sinh vật hiếu khí. Kết quả cho thấy, giá trị IC50 của RP là 3,4 g/L, trong khi giá trị IC50 của BHT là 0,61 g/L. Patty bò chứa RP(2000ppm) cho hiệu quả bảo quản cao nhất vì duy trì giá trị PoV, TBARS ở mức thấp và có thể được bảo quản đến 144 giờ. RP có hiệu quả tốt trong việc ổn định các thuộc tính cảm quan về màu sắc patty bò trong quá trình lưu trữ.

ABSTRACT

The study was conducted to investigate the effect of spray-dried rosemary powder (RP) on limiting lipid oxidation in minced beef (beef patty) during chilled storage. The antioxidant activity of RP and Butylated hydroxytoluene (BHT) was determined by DPPH (IC50) and FRAP methods. The beef patty sample was supplemented with RP and BHT at different concentrations. The control sample was not supplemented with RP or BHT. All samples were stored at 2-4°C for 12 days. The changes of peroxide value (PoV), Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), and color index were evaluated every 48 h; the presence of proteolysis products (such as NH₃ and H₂S) was qualitatively analyzed while the total number of aerobic microorganisms was quantified. The results showed that the IC50 value of RP was 3,4 g/L, while that of BHT was 0,61 g/L. RP (2000ppm) was the most effective in preserving beef patty because it maintained low PoV and TBARS values and could preserve samples for up to 144 hours. RP is effective in stabilizing the beef patty color during storage.

1. Giới thiệu

Thịt và các sản phẩm từ thịt là nguồn nguyên liệu giàu protein quan trọng trong thực phẩm và là thành phần chính cung cấp

đinh dưỡng cho con người hiện nay. Trong đó, patty bò là một nguyên liệu thịt tươi được chế biến rất phổ biến và thông dụng tại Việt Nam với hàm lượng chất béo cao từ 14 - 24% (Blackmer Et Al. 1997). Quá trình oxy

hóa chất béo trong thịt chính là yếu tố làm ảnh hưởng đến màu sắc, hương vị, làm giảm chất lượng và giá trị dinh dưỡng của thịt do phản ứng tạo peroxyde các acid béo không bão hòa. Thịt bằm có xu hướng chuyển thành màu nâu và ôi thiu nhanh hơn so với việc cắt khối thịt lớn do có sự tiếp xúc trên bề mặt nhiều hơn với các tác nhân gây oxy hóa. Vì vậy, có thể cho rằng sự hiện diện của một yếu tố kháng oxy hóa sẽ làm chậm lại quá trình biến đổi về màu sắc và mùi vị của thịt (Kropf, 1980).

Các chất chống oxy hóa tổng hợp như BHT (Butylated hydroxytoluen), BHA (Butylate hydroxyanisole), tocopherol tổng hợp, TBHQ (Tertbutyl hydroquinone),... đã được kiểm soát trong những năm trở lại đây vì có yếu tố nguy cơ đến sức khỏe của con người. Việc thay thế những chất này bằng chất bảo quản tự nhiên, không gây hại đến sức khỏe đã được quan tâm và trở thành xu hướng của ngành công nghệ thực phẩm. Chiết xuất của cây hương thảo (*Rosmarinus officinalis L.*) đã được chứng minh trong việc bảo quản thịt bò beefsteak (Djenane *et al.*, 2003) và patty bò (Sánchez-Escalante *et al.*, 2001). Cây hương thảo (*Rosmarinus officinalis L.*) được khám phá thương mại như một chất chống oxy hóa tự nhiên (Madhavi, Deshpande and Salunkhe, 2020).

Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện trên hương thảo, chủ yếu tập trung vào tiềm năng kháng oxy hóa của các hợp chất phenolic để hạn chế quá trình oxy hóa lipid và các thành phần khác của thực phẩm (Rožman and Jeršek, 2009). Hương thảo có đặc tính chống oxy hóa mạnh, chủ yếu là do có chứa lượng lớn hợp chất polyphenol (Hossain *et al.*, 2011), những hợp chất phenolic như Carnosic acid, Carnosol và các dẫn xuất caffeoyl (Rosmarinic acid) (Meziane-Assami *et al.*, 2013). Kết quả

nghiên cứu của Balentine và cộng sự (2006) cho thấy, khi thêm hương thảo ở giai đoạn cắt khối, nghiền nhỏ, thịt bò xay có giá trị a* cao nhất (đỏ), hàm lượng oxymyoglobin và giá trị TBARS thấp nhất lúc 144 giờ (Balentine *et al.*, 2006). Một nghiên cứu khác của Iulia Movileanu và cộng sự (2013), cho thấy mẫu thịt có bổ sung chiết xuất hương thảo (0,25%) và BHA/BHT (0,02%) là hiệu quả nhất trong việc kháng oxy hóa trong thời gian khảo sát 28 ngày ở nhiệt độ 4°C (Movileanu *et al.*, 2013). Tại Việt Nam, mới nhất là đề tài nghiên cứu ảnh hưởng cao chiết từ cây hương thảo đến chất lượng chả cá từ cá thác lác còm và dè cá tra trong điều kiện bảo quản lạnh (2020). Mẫu chả cá được bổ sung cao chiết hương thảo nồng độ 156 mg/kg đảm bảo được các đặc tính như cảm quan, độ bền gel, tổng số vi khuẩn hiếu khí và có chỉ số peroxide tốt hơn so với mẫu đối chứng và mẫu có bổ sung cao chiết hương thảo nồng độ 13mg/kg. Sản phẩm có thể bảo quản đến 2 tuần trong tủ mát vẫn đảm bảo về mặt vi sinh và giá trị cảm quan (Đào *et al.*, 2020).

Sự sai khác về kết quả từ những nghiên cứu trên có thể kể đến là bởi sự khác biệt về vị trí địa lý (Jamshidi, Afzali and Afzali, 2009)(Meziane-Assami *et al.*, 2012). Từ nền tảng ngoại suy này cho thấy chiết xuất từ hương thảo có khả năng hạn chế quá trình oxy hóa lipid trong các sản phẩm từ thịt. Tuy nhiên, rất khó để biện minh điều này nếu không có các kết quả nghiên cứu thêm về kháng oxy hóa trên patty bò của bột chiết xuất hương thảo được thu hái tại Việt Nam. Do đó, đây chính là mục tiêu của nghiên cứu này. Đầu tiên, sẽ đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của RP và BHT. Sau đó, khảo sát và đánh giá khả năng hạn chế oxy hóa lipid của patty bò khi sử dụng RP. Kết quả nghiên cứu thu được sẽ kỳ vọng hỗ trợ phát triển hơn

nữa các chất chống oxy hóa tự nhiên có nguồn gốc thực vật phong phú tại Lâm Đồng, Việt Nam và có giá thành thấp.

2. Nội dung

2.1. Vật liệu

Bột hương thảo sấy phun (RP): Cao hương thảo được trích ly ở điều kiện chiết tối ưu với dung môi chiết: Ethanol 65%; Nhiệt độ chiết: 65 °C, tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1: 7,5, thời gian chiết trong 15 phút lặp lại theo 2 chu kỳ. Cao hương thảo sẽ được hòa tan bằng dung môi ethanol và nước 40-50°C và phối trộn với Maltodextrin, tiếp tục được sấy phun thành bột mịn. Quy trình sản xuất cao hương thảo đã được Bộ môn Hóa hữu cơ trường Đại học Bách Khoa tiến hành khảo sát nhằm tối ưu hóa quá trình trích ly các polyphenol có trong lá (theo Trương Quốc Cường, Lê Xuân Tiền, Nguyễn Minh Thúy, 2019). Trong đó: hàm lượng cao hương thảo chiếm 12,5% và độ ẩm của bột sau sấy là 5%; được chứa trong bình kín tối màu và bảo quản ở nhiệt độ dưới 0°C.

Mẫu patty bò: Được xay 2 lần từ thịt ức bò tươi mua tại lò giết mổ tại Thôn An Hạ, Huyện Củ Chi, khối lượng mẫu patty 85g, đường kính 8mm, bề dày 3mm, trong quá trình thực hiện cần đảm bảo nhiệt độ từ 7-10°C; Quy cách bao gói patty: mỗi mẫu patty được đặt trên đĩa polypropylene (PP), bọc bằng màng polyvinyl clorua (PVC) và bảo quản trong túi zip bằng màng ghép polyetylen/ polypropylene (PE/PP); Nhiệt độ bảo quản: 2-4°C.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Thiết kế thí nghiệm

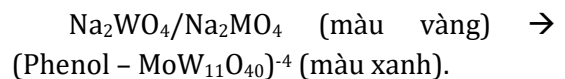
Các mẫu patty bò được bổ sung RP với các nồng độ khảo sát 500 (P5), 1000 (P10), 2000 ppm (P20); bổ sung BHT ở nồng độ 100 (B10), 200(B20), 400 ppm (B40) và mẫu đối chứng (MDC) không dùng chất bảo

quản. Thực hiện khảo sát chỉ số màu sắc, chỉ số peroxyde và giá trị TBARS để đánh giá sự oxy hóa lipid trong các mẫu. Tần suất kiểm tra mẫu là 48 giờ/lần trong suốt quá trình bảo quản 12 ngày.

Để Đánh giá hiệu quả bảo quản của RP bổ sung vào patty bò, tiến hành phân tích định tính sự có mặt NH₃, H₂S của quá trình phân giải protein; định lượng tổng số vi sinh vật hiếu khí tại thời điểm H₂S và NH₃ vượt khỏi ngưỡng giới hạn của các tiêu chuẩn của thịt tươi.

2.2.2. Phương pháp phân tích hàm lượng phenolic tổng

Xác định theo phương pháp quang phổ so màu (Agbor, Vinson and Donnelly, 2014). Thuốc thử Folin- Ciocalteau sẽ chuyển từ màu vàng sang màu xanh đậm khi có mặt của chất chống oxy hóa. Hỗn hợp muối phức polyphosphotungstate-molydate trong môi trường kiềm nhẹ sẽ bị khử thành phức molydenium-tungsten màu xanh, có độ hấp thụ mạnh trong khoảng bước sóng 750-765nm. Gallic acid là chất chuẩn cho phép đo này. Phản ứng giữa thuốc thử và hợp chất phenolic:



Cường độ màu tỷ lệ thuận với hàm lượng các hợp chất phenolic có trong dịch trích. Dựa vào cường độ màu của mẫu phân tích kết hợp với đồ thị đường chuẩn của gallic acid, tính được hàm lượng tổng các hợp chất phenolic (mgGAE/g chất khô nguyên liệu) có trong mẫu phân tích (Prior, Wu and Schaich, 2005).

2.2.3. Phương pháp xác định hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH

Được xác định dựa trên phản ứng của các chất chống oxy hóa có trong mẫu thử với gốc DPPH• (Shahidi and Ho, 2007). DPPH• là

một gốc tự do chứa nitơ, ổn định, có màu tím. Độ hấp thụ cực đại của DPPH· trong ethanol hoặc methanol được ghi nhận tại bước sóng 517nm hoặc 515nm. Khi cho chất chống oxy hóa vào dung dịch chứa DPPH·, các chất chống oxy hóa sẽ khử gốc DPPH· thành DPPH có màu vàng nhạt, do đó làm giảm độ hấp thụ của DPPH·. Hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH được biểu diễn ở dạng giá trị IC₅₀ (lượng chất chống oxy hóa cần thiết để làm giảm 50% nồng độ ban đầu của DPPH·). Nồng độ DPPH· ban đầu sử dụng trong nghiên cứu này là 6.10⁻⁵ M trong dung môi Ethanol, thời gian cho phản ứng là 30 phút, đo độ hấp thụ tại bước sóng 515nm (Molyneux, 2004). Giá trị IC₅₀ (miligam chất khô của nguyên liệu) thu được bằng cách dựng đường tuyến tính giữa lượng mẫu và phần trăm quét gốc tự do, từ đó thu được giá trị biểu diễn hàm lượng chất chống oxy hóa mà tại đó làm giảm 50% hàm lượng gốc tự do.

2.2.4. Phương pháp xác định hoạt tính kháng oxy hóa theo FRAP

Xác định dựa trên phản ứng chất chống oxy hóa cho điện tử phức [Fe(III)-(TPTZ)₂]³⁺ (2,4,6 - tri - 2 - pyridyl - 1,3,5 - triazine) có màu nâu nhạt tạo thành phức [Fe(II)-(TPTZ)₂]²⁺ (2,4,6 - tri - 2 - pyridyl - 1,3,5 - triazine) có màu xanh đậm, độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 593nm (Benzie and Strain, 1996). Đo độ hấp thụ của mẫu cần phân tích, kết hợp với đồ thị đường chuẩn được dựng theo Trolox, chúng ta xác định được hoạt tính chống oxy hóa (μmol TE/g chất khô nguyên liệu lá) của mẫu cần phân tích.

2.2.5. Phương pháp xác định TBARS

Được xác định dựa trên phản ứng giữa thiobarbituric acid (TBA) và malonaldehyde (MA) (MA là chất được hình thành trong quá trình oxy hóa lipid) để tạo ra phức TBA- MA có màu hồng, độ hấp thụ

trong khoảng 530÷535 nm. Đơn vị tính là mg MA/kg mẫu (Devasagayam, Bolor and Ramasarma, 2003).

2.2.6. Phương pháp xác định Peroxyde (PoV)

Được xác định theo TCVN 6121:2010 (ISO 3960 : 2007). Dựa vào thể tích Na₂S₂O₃ dùng để chuẩn độ, tính được PoV của mẫu cần phân tích (meq/kg mẫu).

2.2.7. Định tính amoniac (NH₃)

Nếu trong mẫu thịt có NH₃ tự do thì trong môi trường HCl đậm đặc, NH₃ sẽ kết hợp với HCl tạo thành NH₄Cl, tạo nên một lớp sương mù trắng.

2.2.8. Định tính hydro sulfua (H₂S)

H₂S sinh ra do quá trình hư hỏng nguyên liệu, kết hợp với chì acetat trong môi trường acid tạo kết tủa chì sunfua có màu đen.

2.2.9. Định lượng vi sinh vật hiếu khí

Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 4833- 2002 (ISO 3100- 2:1988) về thịt và sản phẩm thịt. Chuẩn bị mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật. Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí bằng kỹ thuật đếm đĩa. Nguyên tắc: Tổng vi sinh vật hiếu khí được đếm bằng cách đổ đĩa và ủ trong điều kiện hiếu khí ở 30°C trong 72 ± 6 giờ theo TCVN 11039-1:2015 - Phụ gia thực phẩm - phương pháp phân tích vi sinh vật - phần 1: xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí bằng kỹ thuật đếm đĩa.

2.2.10. Phương pháp đo màu

Phân tích màu bằng thiết bị Color-Eye® 3100 Spectrophotometer, hãng GretagMacbeth, Mỹ. Màu sắc được đo ngay lập tức sau khi mở từng mẫu gói, sử dụng hệ thống màu CIELAB. Giá trị a* thể hiện màu sắc từ -a* (xanh lá) đến +a* (đỏ). Giá trị b*

thể hiện độ vàng, có biên độ từ -b* (xanh da trời) đến +b* (màu vàng cam).

2.2.11 Xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần và kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Phân tích ANOVA để đánh giá mức độ sai khác giá trị trung bình của các nghiệm thức (p ≤ 5%).

2.3. Kết quả nghiên cứu

2.3.1. Hoạt tính kháng oxy hóa của RP và BHT (mẫu kiểm chứng)

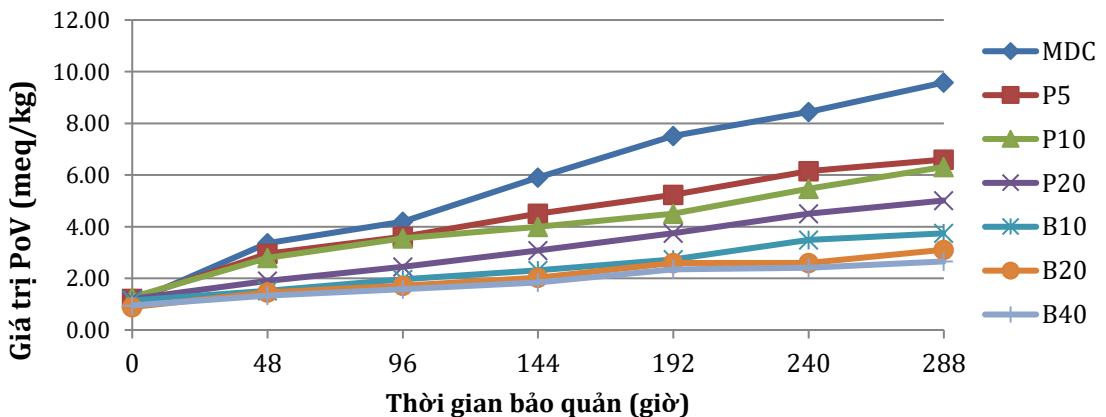
Bảng 1. Hoạt tính kháng oxy hóa của RP và BHT

Thông số khảo sát	Đơn vị	RP	BHT
Phenolic tổng	mg GAE/g	43,28 ± 1,54	
IC ₅₀ (DPPH)	mg/mL	3,39 ± 0,06	0,61 ± 0,07
FRAP	μMTEAC/g chất khô	580,74 ± 0,52	

Giá trị IC₅₀ của BHT là lượng chế phẩm BHT được sử dụng để làm giảm 50% nồng độ gốc DPPH• trong dung dịch ban đầu; IC₅₀ của RP là lượng RP sử dụng để làm giảm 50% nồng độ gốc DPPH• trong dung dịch ban đầu. Giá trị IC₅₀ cho thấy khả năng quét gốc tự do DPPH• của BHT (0,61 mg/ml) gấp 5,57 lần (~6) so với RP (3,39 mg/ml).

Theo kết quả nghiên cứu của Al-Hijazeen và Al-Rawashdeh (2019), khi thực hiện khảo sát tác dụng bảo quản của chiết xuất hương thảo đối với chất lượng thịt gà xay, chiết xuất hương thảo (350 ppm) là chất chống oxy hóa rất hiệu quả và có thể so sánh với các chất chống oxy hóa thương mại khác (Al-Hijazeen And Al-Rawashdeh 2019). Armida Sa’ánchez-Escalante và các đồng sự (2001) đã nghiên cứu về tác dụng của acid ascorbic, taurine, carnosine và bột hương thảo trong việc ổn định màu sắc và chất béo của patty bò được đóng gói trong môi trường có thay đổi không khí, điều kiện bảo quản 20 ngày ở 2 ± 1°C, trong bóng tối. Kết quả thí nghiệm cho thấy, bột hương thảo (1000 ppm) khi được sử dụng riêng lẻ, hoặc kết hợp với Ascorbic acid (500 ppm), hiệu quả nhất trong việc ức chế cả sự hình thành metmyoglobin và sự oxy hóa chất béo; phân tích cảm quan cũng đồng thuận với những kết quả này (Sánchez-Escalante *et al.*, 2001). Qua đó, càng có thể khẳng định hiệu quả bảo quản của chế phẩm từ hương thảo để hạn chế quá trình oxy hóa chất béo trong patty bò.

2.3.2. Biến đổi PoV trong quá trình bảo quản patty bò



Hình 1. Biến đổi PoV trong quá trình bảo quản patty bò

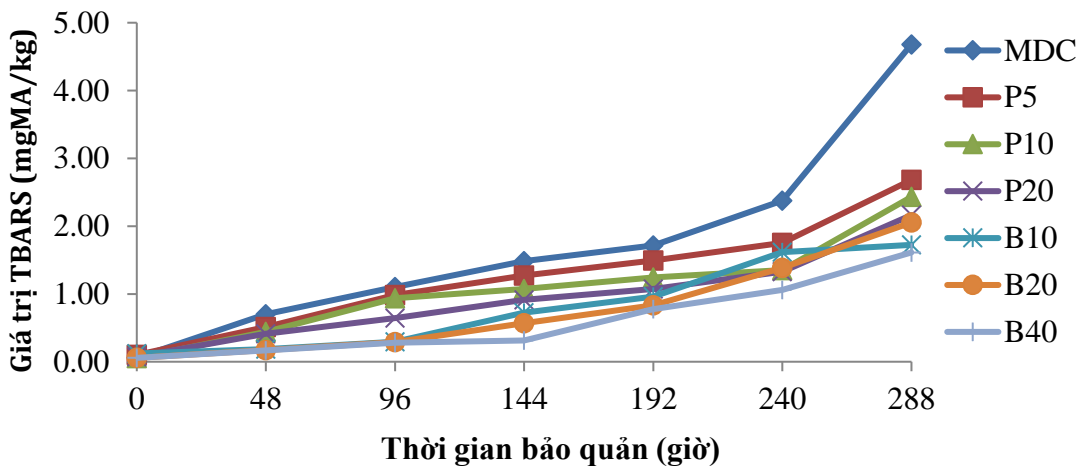
Trong quá trình bảo quản, PoV của tất cả các mẫu tăng dần. PoV của MDC cao hơn các mẫu còn lại, từ thời điểm 0 đến thời điểm 96 giờ giá trị tăng từ $1,079 \pm 0,09$ meq/kg đến $4,188 \pm 0$ meq/kg, tăng hơn 4 lần, và từ thời điểm 96 giờ đến 288 giờ, giá trị PoV của MDC tăng nhanh từ $4,188 \pm 0$ meq/kg đến $9,581 \pm 0,09$ meq/kg, mỗi 48 giờ tăng thêm từ 1,1- 1,3 lần;

Khi bổ sung RP với hàm lượng cao hơn thì PoV sẽ thấp hơn. Tại thời điểm 288 giờ, giá trị PoV của mẫu P5, P10, P20 lần lượt là $6,599 \pm 0,0$ meq/kg, $6,313 \pm 0,045$ meq/kg, $5,013 \pm 0,09$ meq/kg. Kết quả này cho thấy khả năng kháng oxy hóa tỷ lệ thuận với hàm lượng RP bổ sung;

Ở các mẫu sau 288 giờ lưu trữ, tuy PoV tăng dần theo thời gian nhưng vẫn chưa vượt ngưỡng cho phép theo *TCVN 6044: 2013* (10 meq/kg mẫu). Như vậy, sự tác động của các hoạt chất trong các chế phẩm từ hương thảo và tác dụng của nhiệt độ lưu trữ dưới 4°C đã hạn chế được quá trình oxy hóa, các peroxide được sinh ra chậm, chưa đạt đến giá trị tối đa;

Kết quả cho thấy PoV tăng dần theo thời gian bảo quản và PoV của mẫu không bổ sung hương thảo cao hơn hẳn so với mẫu có bổ sung RP. Xu hướng này cũng giống với kết quả nghiên cứu của Kingkarn Thongtan và cộng sự (Thongtan *et al.*, 2005).

2.3.3 Biến đổi giá trị TBARS của patty bò

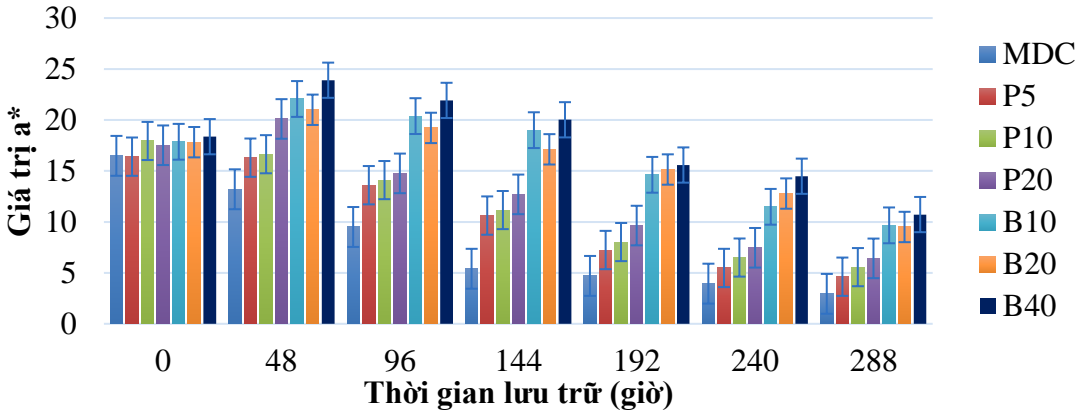


Hình 2. Biến đổi giá trị TBARS của patty bò trong quá trình bảo quản

Giá trị TBARS tăng dần theo thời gian lưu trữ, trong đó tăng cao nhất là MDC, ở thời điểm 288 giờ, TBARS của MDC là $4,68 \pm 0,294$. Mẫu P20 có TBARS gần bằng với TBARS của các mẫu có bổ sung BHT, với giá trị trong khoảng từ $1,59 \pm 0,018$ đến $2,16 \pm 0,015$ mgMA/kg; Từ các kết quả thu được, có thể thấy rằng việc bảo quản thịt càng lâu thì quá trình oxy hóa lipid diễn ra càng nhiều và giá trị TBARS càng lớn. Giá trị TBARS tăng dần đều và khá thấp, chứng tỏ hiệu quả hạn

chế quá trình oxy hóa chất béo của các chất bảo quản. Quy luật này hoàn toàn tương tự như ghi nhận trong khảo sát thịt bò xay được bảo quản 8 ngày ở 4°C khi sử dụng các loại dịch trích khác nhau trong nghiên cứu của Ahmad Shah và cộng sự năm 2014 (Shah *Et al.*, 2014) hoặc nghiên cứu của Martha Rojas và cộng sự năm 2008 (Rojas And Brewer, 2008) khi khảo sát về ảnh hưởng của các chất chống oxy hóa tự nhiên đối với mẫu thịt bò và heo đông lạnh được bao gói chân không.

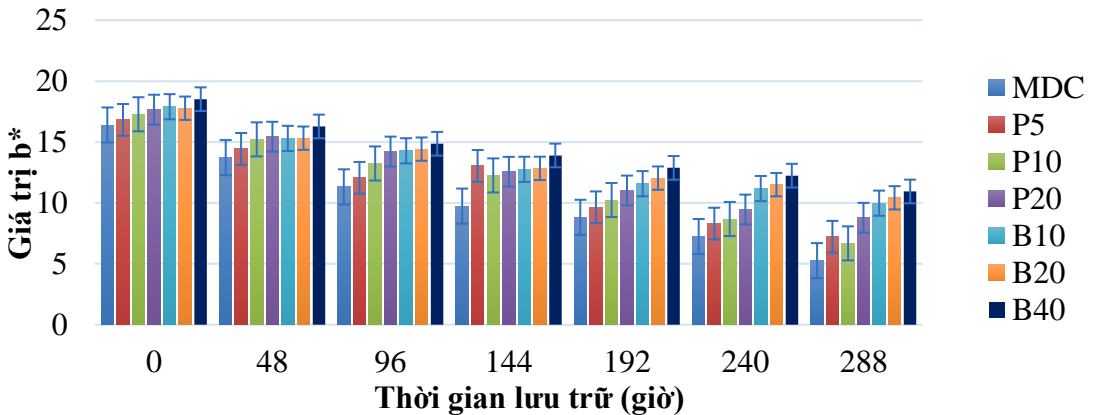
2.3.4 Biến đổi về màu sắc của patty bò



Hình 3. Sự ảnh hưởng đến giá trị màu a* của patty bò trong quá trình bảo quản

Giá trị a* khá quan trọng bởi mảng màu này ảnh hưởng đến sự chấp nhận của người tiêu dùng. Hình 3 cho thấy màu đỏ giảm dần nhưng không đáng kể trong thời gian bảo quản, như vậy, bổ sung RP có ảnh hưởng nhưng không quá nhiều đến độ màu của sản phẩm. Giá trị a* tại thời điểm 48 giờ của các mẫu B10, B20, B40, P20 có xu hướng tăng hơn so với kết quả đo tại thời điểm ban đầu. Sau thời gian 48 giờ, các mẫu patty bò bổ sung RP ở nồng độ P5, P10 và P20 có giá trị a* giảm dần. Đến 288 giờ giá trị a* ở các mẫu này giảm chậm và hầu như không có sự khác biệt khi so sánh kết quả giữa các mẫu với nhau. Theo nghiên cứu của Flávia Carolina

Vargas và các cộng sự (2016), khi tiến hành bổ sung dịch chiết từ lá hương thảo và lá Pitanga, các giá trị đo màu sắc L*, a*, b* của mẫu thịt có bổ sung bột lá hương thảo thường cho kết quả màu thấp hơn so với mẫu đối chứng hoặc bổ sung dịch chiết từ Pitanga. Theo kết luận từ nghiên cứu này, hàm lượng chất diệp lục cao có nhiều khả năng ảnh hưởng đến sự oxy hóa myoglobin. Sắc tố màu xanh chlorophyll là một phân tử nhạy cảm có thể dẫn đến sự hình thành của các loại oxy phản ứng, do đó có thể oxy hóa các phân tử quan trọng trong hệ thống sinh học trong chế phẩm gây ảnh hưởng đến kết quả đo (Vargas *et al.*, 2016)



Hình 4. Sự ảnh hưởng đến giá trị màu b* của patty bò trong quá trình bảo quản

Hình 4 cho thấy giá trị b* của hầu hết các mẫu giảm dần theo thời gian lưu trữ, trong đó MDC có giá trị thấp hơn so với các mẫu còn lại. Điều này được lý giải

do sự có mặt của chlorophyll và sự biến đổi các hợp chất phenolic trong quá trình bảo quản gây ảnh hưởng đến màu sắc sản phẩm.

2.3.5 Sự có mặt của các sản phẩm NH₃, H₂S của quá trình phân giải protein

Bảng 2. Sự thay đổi phản ứng định tính NH₃ của mẫu trong quá trình lưu trữ

Mẫu	Thời gian (giờ)							
	0	24	48	96	144	192	240	288
MĐC	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
P5	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
P10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
P20	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
B10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
B20	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
B40	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)

Bảng 3. Sự thay đổi phản ứng định tính H₂S của mẫu trong quá trình lưu trữ

Mẫu	Thời gian (giờ)							
	0	24	48	96	144	192	240	288
MĐC	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(++)	(+++)	(+++)
P5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(++)
P10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
P20	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
B10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
B20	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
B40	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)

Theo TCVN 7046: 2009 đối với Thịt tươi, hàm lượng ammoniac (NH₃) không lớn hơn 35mg/100g. NH₃ xuất hiện trong thịt chứng tỏ protein bị phân hủy tạo nên NH₃ gây mùi hôi thối. Kết quả ở bảng 2 cho thấy NH₃ xuất hiện rất ít ở thời điểm 48 đến 96 giờ trên mẫu MDC và bắt đầu xuất hiện rõ rệt trên các mẫu MDC, P5 tại thời điểm 144 giờ; tại thời điểm 192 giờ trở đi, hầu hết tất cả các mẫu đều xảy ra phản ứng, quan sát trên nền đen, dễ thấy lượng khói trắng xuất hiện khá nhiều ở các ống nghiệm chứa mẫu MDC và P5.

Theo TCVN 7046: 2009 đối với Thịt tươi thì phản ứng định tính H₂S phải cho kết quả âm tính. Dựa trên kết quả ở bảng 3, tại thời điểm 92 giờ, giấy thử tẩm chì acetat có vết màu rất nhạt ở mẫu MDC chứng tỏ đã bắt đầu có biểu hiện hư hỏng, các mẫu còn lại đều cho kết quả thử âm tính. Tại thời điểm 144 giờ, giấy tẩm chì acetat có viền màu hung hoặc nâu quanh mép giấy ở MDC, nguyên liệu đã xuất hiện sự hư hỏng. Tại thời điểm 192 giờ, giấy tẩm chì acetat chuyển màu nâu gần kín bề mặt giấy khi thử trên mẫu MDC và bắt đầu chuyển màu trên các mẫu P5, P10. Đến thời điểm 240 giờ tất cả các mẫu đều làm giấy tẩm chì acetat chuyển màu;

Kết quả định tính NH₃ và H₂S có thể kết luận các mẫu đều kém tươi, hiệu quả bảo quản của các chế phẩm chỉ có tác dụng trong thời gian lưu trữ dưới 192 giờ ở nhiệt độ 2 - 4°C; Từ đó, lựa chọn thời điểm khảo sát tổng lượng vi sinh vật hiếu khí trên mẫu tại thời điểm 192 giờ, khi hầu hết các mẫu đều đã xuất hiện dấu hiệu hư hỏng.

2.3.6 Sự biến đổi tổng vi sinh vật hiếu khí của thịt trong quá trình bảo quản

Bảng 4. Tổng vi sinh vật hiếu khí có trong mẫu

Mẫu	Tổng vi sinh vật hiếu khí (cfu/g)		
	0 giờ	192 giờ	288 giờ
MĐC	4,8 x 10 ²	1,8 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁶
P5	5,9 x 10 ²	1,1 x 10 ⁴	5,8 x 10 ⁵
P10	6,0 x 10 ²	1,0 x 10 ⁴	4,5 x 10 ⁵
P20	6,4 x 10 ²	0,9 x 10 ³	4,2 x 10 ⁵
B10	4,8 x 10 ²	0,8 x 10 ³	3,5 x 10 ⁵
B20	4,5 x 10 ²	0,7 x 10 ³	3,1 x 10 ⁵
B40	4,3 x 10 ²	0,5 x 10 ³	2,4 x 10 ⁵

Ở thời điểm bắt đầu (0 giờ), đã đo được sự có mặt của các vi sinh vật hiếu khí trong mẫu, điều này do tăng thịt trải qua công đoạn xay nghiền 2 lần trước khi phối trộn với các chất bảo quản và được định hình. Mẫu được đặt trong túi zip, túi chỉ khóa kín miệng và không hút chân không nên dễ tiếp xúc với không khí và các tác nhân oxy hóa. Kết quả khảo sát tổng số vi sinh vật sau 288 giờ chỉ thấy giá trị vượt ngưỡng của MDC, còn lại tất

cả các mẫu đều thấp hơn so với *TCVN 7046: 2009* (tổng số vi sinh vật hiếu khí (cfu/g) đối với các loại thịt tươi phải dưới 10^5 và đối với thịt xay nhỏ là 10^6).

3. Kết luận

Nghiên cứu cho thấy RP có hiệu quả tích cực trong việc hạn chế quá trình oxy hóa chất béo trong mẫu patty bò; RP cho kết quả tốt khi giữ màu sắc thịt sáng, đẹp, giữ được màu

sắc đặc trưng của thịt trong suốt quá trình lưu trữ; Dựa trên các chỉ tiêu oxy hóa chất béo, mẫu bổ sung RP (2000ppm) giúp bảo quản mẫu đến 144 giờ; Dựa trên kết quả đo các yếu tố ảnh hưởng đến sự hư hỏng của thịt, mẫu bổ sung RP (2000ppm) giúp kéo dài thời gian hư hỏng đến 192 giờ thay vì chỉ bảo quản được đến 96 giờ như mẫu không được bổ sung bất cứ chất nào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Agbor, G., Vinson, J. A. And Donnelly, P. E. (2014) 'Folin-Ciocalteu Reagent For Polyphenolic Assay', *International Journal Of Food Science, Nutrition And Dietetics*, Pp. 147–156. Doi: 10.19070/2326-3350-1400028.
- Al-Hijazeen, M. And Al-Rawashdeh, M. (2019) 'Preservative Effects Of Rosemary Extract (Rosmarinus Officinalis L.) On Quality And Storage Stability Of Chicken Meat Patties', *Food Science And Technology*, 39(1), Pp. 27–34. Doi: 10.1590/1678-457x.24817.
- Balentine, C. W. *Et Al.* (2006) 'The Pre- And Post-Grinding Application Of Rosemary And Its Effects On Lipid Oxidation And Color During Storage Of Ground Beef', *Meat Science*, 73(3), Pp. 413–421. Doi: 10.1016/J.Meatsci.2005.12.003.
- Benzie, I. F. F. And Strain, J. J. (1996) 'The Ferric Reducing Ability Of Plasma (FRAP) As A Measure Of "Antioxidant Power": The FRAP Assay', *Analytical Biochemistry*, 239(1), Pp. 70–76. Doi: 10.1006/Abio.1996.0292.
- Blackmer, D. S. *Et Al.* (1997) 'Effect Of Spray Dried Beef Broth On The Sensory, Textural And Cooking Characteristics Of Grilled Or Broiled Low-Fat Ground Beef Patties', *Journal Of Muscle Foods*, 8(4), Pp. 465–479. Doi: 10.1111/J.1745-4573.1997.Tb00732.X.
- Đào, N. L. A. *Et Al.* (2020) 'Ảnh Hưởng Của Cao Chiết Cây Hương Thảo Đến Chất Lượng Chả Cá Từ Cá Thát Lát Còm Và Dè Cá Tra Trong Điều Kiện Bảo Quản Lạnh', *Can Tho University Journal Of Science*, 56(Aquacul, P. 273. Doi: 10.22144/Ctu.Jsi.2020.031.
- Devasagayam, T. P. A., Bloor, K. K. And Ramasarma, T. (2003) 'Methods For Estimating Lipid Peroxidation: An Analysis Of Merits And Demerits', *Indian Journal Of Biochemistry And Biophysics*, 40(5), Pp. 300–308.
- Djenane, D. *Et Al.* (2003) 'Extension Of The Shelf Life Of Beef Steaks Packaged In A Modified Atmosphere By Treatment With Rosemary And Displayed Under UV-Free Lighting', *Meat Science*, 64(4), Pp. 417–426. Doi: 10.1016/S0309-1740(02)00210-3.
- Hossain, M. B. *Et Al.* (2011) 'Optimisation Of Accelerated Solvent Extraction Of Antioxidant Compounds From Rosemary (Rosmarinus Officinalis L.), Marjoram (Origanum Majorana L.) And Oregano (Origanum Vulgare L.) Using Response Surface Methodology', *Food Chemistry*, 126(1), Pp. 339–346. Doi: 10.1016/J.Foodchem.2010.10.076.
- Jamshidi, R., Afzali, Z. And Afzali, D. (2009) 'Chemical Composition Of

- Hydrodistillation Essential Oil Of Rosemary In Different Origins In Iran And Comparison With Other Countries.', *Amer.Eurasian J.Agric.EnvIRON.Sci.*, 5(1), Pp. 78–81. Available At: %5C%5crobsrv-05%5Creference Manager%5carticles%5C12495.Pdf.
- Kropf, D. H. (1980) 'Effects Of Retail Display Conditions On Meat Color', *33rd Reciprocal Meat Conference*, 33, Pp. 15–32. Available At: <http://www.meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/rmc/1980/effects-of-retail-display-conditions-on-meat-color.pdf?sfvrsn=2>.
- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S. And Salunkhe, D. K. (2020) 'Lipid Oxidation In Biological And Food Systems', In *Food Antioxidants*, Pp. 19–78. Doi: 10.1201/9781482273175-9.
- Meziane-Assami, D. *Et Al.* (2013) 'Geographical Differentiation Of Rosemary Based On GC/MS And Fast HPLC Analyses', *Food Analytical Methods*, 6(1), Pp. 282–288. Doi: 10.1007/S12161-012-9430-6.
- Molyneux, P. (2004) 'The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity', *Songklanakarın Journal Of Science And Technology*, 26(December 2003), Pp. 211–219. Doi: 10.1287/Isre.6.2.144.
- Movileanu, I. *Et Al.* (2013) 'Comparison Of Dried Plum Puree, Rosemary Extract, And BHA/BHT As Antioxidants In Irradiated Ground Beef Patties', *International Journal Of Food Science*, 2013, Pp. 1–7. Doi: 10.1155/2013/360732.
- Prior, R. L., Wu, X. And Schaich, K. (2005) 'Standardized Methods For The Determination Of Antioxidant Capacity And Phenolics In Foods And Dietary Supplements', *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 53(10), Pp. 4290–4302. Doi: 10.1021/Jf0502698.
- Rojas, M. C. And Brewer, M. S. (2008) 'Effect Of Natural Antioxidants On Oxidative Stability Of Frozen, Vacuum-Packaged Beef And Pork', *Journal Of Food Quality*, 31(2), Pp. 173–188. Doi: 10.1111/J.1745-4557.2008.00196.X.
- Rožman, T. And Jeršek, B. (2009) 'Antimicrobial Activity Of Rosemary Extracts (*Rosmarinus Officinalis* L.) Against Different Species Of *Listeria*', *Acta Agriculturae Slovenica*, 93(1). Doi: 10.2478/V10014-009-0007-Z.
- Sánchez-Escalante, A. *Et Al.* (2001) 'The Effects Of Ascorbic Acid, Taurine, Carnosine And Rosemary Powder On Colour And Lipid Stability Of Beef Patties Packaged In Modified Atmosphere', *Meat Science*, 58(4), Pp. 421–429. Doi: 10.1016/S0309-1740(01)00045-6.
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D. And Mir, S. A. (2014) 'Plant Extracts As Natural Antioxidants In Meat And Meat Products', *Meat Science*, 98(1), Pp. 21–33. Doi: 10.1016/J.Meatsci.2014.03.020.
- Shahidi, F. And Ho, C.-T. (2007) 'Antioxidant Measurement And Applications: An Overview', In, Pp. 2–7. Doi: 10.1021/Bk-2007-0956.Ch001.
- Thongtan, K. *Et Al.* (2005) 'Effect Of Rosemary Extract On Lipid Oxidation And Sensory Evaluation Of Frozen, Precooked Beef Patties', *Foodservice Research International*, 16(3–4), Pp. 93–104. Doi: 10.1111/J.1745-4506.2005.00013.X.
- Vargas, F. C. *Et Al.* (2016) 'Rosemary And Pitanga Aqueous Leaf Extracts On Beef Patties Stability Under Cold Storage', *Brazilian Archives Of Biology And Technology*, 59. Doi: 10.1590/1678-4324-2016160139.

PHỤ LỤC

Bảng PL1: Sự thay đổi giá trị PoV của mẫu patty bò trong quá trình lưu trữ

TIME (giờ)/ MẪU	0	24	48	92	144	192	240	288
MDC	1,079 ± 0,09aBC	2,506 ± 0,045bJ	3,363 ± 0,09cH	4,188 ± 0dH	5,901 ± 0,09eI	7,519 ± 0,045fK	8,439 ± 0,09gK	9,581 ± 0,09hM
P5	1,206 ± 0,09aCD	2,157 ± 0bH	2,95 ± 0,045cG	3,617 ± 0,09dFG	4,505 ± 0,09eH	5,235 ± 0,045fI	6,155 ± 0,09gH	6,599 ± 0hJ
P10	1,269 ± 0aD	2,221 ± 0,09bHI	2,792 ± 0cF	3,553 ± 0dF	3,997 ± 0,09eG	4,505 ± 0,09fG	5,647 ± 0,09gG	6,313 ± 0,045hI
P20	1,206 ± 0,09aCD	1,459 ± 0,09bCD	1,904 ± 0cC	2,443 ± 0,045dD	3,077 ± 0,045eE	3,744 ± 0,09fD	4,505 ± 0,09gE	5,013 ± 0,09hF
B10	1,142 ± 0aCD	1,396 ± 0bC	1,523 ± 0bB	1,967 ± 0,09cC	2,316 ± 0,045dC	2,728 ± 0,09eB	3,49 ± 0,09fD	3,744 ± 0,09gD
B20	0,888 ± 0aA	1,142 ± 0bA	1,459 ± 0,09cB	1,713 ± 0,09dAB	2,03 ± 0eB	2,601 ± 0,09fB	2,601 ± 0,09fB	3,109 ± 0,09gB
B40	0,952 ± 0,09aAB	1,079 ± 0,09bA	1,332 ± 0,09cA	1,586 ± 0,09dA	1,84 ± 0,09eA	2,348 ± 0,09fA	2,411 ± 0fA	2,665 ± 0gA

^{A-F} Các giá trị có ký tự khác nhau trong cùng một cột thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$),

^{a-h} Các giá trị có ký tự khác nhau trong cùng một hàng thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Bảng PL2: Sự thay đổi giá trị TBARS của mẫu patty bò trong quá trình lưu trữ

TIME (giờ)/ MẪU	0	24	48	92	144	192	240	288
MDC	0,057 ± 0,007aB	0,411 ± 0,037bE	0,702 ± 0,029cG	1,102 ± 0,007dG	1,485 ± 0,033eJ	1,713 ± 0,026eF	2,374 ± 0,077fE	4,68 ± 0,294gH
P5	0,101 ± 0,011aCD	0,346 ± 0,033bD	0,51 ± 0,007cE	0,985 ± 0,011dEF	1,274 ± 0,022eHI	1,492 ± 0,029fE	1,752 ± 0,029gD	2,681 ± 0,011hF
P10	0,055 ± 0,004aB	0,276 ± 0,007bC	0,442 ± 0,007cCD	0,936 ± 0,044dE	1,071 ± 0,022eG	1,245 ± 0,004fE	1,352 ± 0,051gB	2,431 ± 0,026hDE
P20	0,073 ± 0,007aBC	0,278 ± 0,011bC	0,411 ± 0,059cC	0,642 ± 0,018dC	0,913 ± 0,026eF	1,074 ± 0,011fC	1,329 ± 0,077gB	2,163 ± 0,015hBC
B10	0,122 ± 0,011aD	0,138 ± 0,011aA	0,187 ± 0,007aA	0,296 ± 0,044bA	0,725 ± 0,026cD	0,962 ± 0,007dB	1,617 ± 0,015eCD	1,724 ± 0,077fA
B20	0,057 ± 0,044aBC	0,13 ± 0,022aA	0,174 ± 0,026aA	0,289 ± 0 ,011aA	0,569 ± 0,04bC	0,832 ± 0,029cA	1,383 ± 0,272dB	2,054 ± 0,037eB
B40	0,057 ± 0,015aBC	0,125 ± 0,015bA	0,169 ± 0,004bA	0,281 ± 0,015cA	0,312 ± 0,044cA	0,775 ± 0dA	1,058 ± 0,018eA	1,612 ± 0,037fA

^{A-F} Các giá trị có ký tự khác nhau trong cùng một cột thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$),

^{a-h} Các giá trị có ký tự khác nhau trong cùng một hàng thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)