



TRUNG TÂM PHÁT TRIỂN
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TRẺ

Khoa học trẻ



TP. HỒ CHÍ MINH

ISSN: 2354 - 1105

CHUYÊN SAN

PHÁT TRIỂN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

ARTICLE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY DEVELOPMENT

CHỦ ĐỀ: CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

THÔNG TIN KHOA HỌC CÔNG BỐ ĐƯỢC BẢO TRỢ BỞI

TẠP CHÍ
**KHOA HỌC
CÔNG NGHỆ** Việt Nam
BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

SỐ 8 (1) - 2022

MỤC LỤC

CHỊU TRÁCH NHIỆM XUẤT BẢN

Đoàn Kim Thành

HỘI ĐỒNG KHOA HỌC

1. GS.TS. Đông Thị Anh Đào
2. PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Anh
3. PGS.TS. Lê Nguyễn Đoàn Duy
4. TS. Mai Huỳnh Cang
5. TS. Lê Ngọc Liễu

THƯ KÝ BIÊN TẬP

Nguyễn Thị Hồng Hạnh

Lê Ngọc Phong

Giấy phép xuất bản số:

27/GP-XBBT-STTTT

Ngày 01/12/2021 của STT&TT

Thành phố Hồ Chí Minh cấp

Trần Thị Ngọc Lan An toàn vệ sinh thực phẩm trong 1
Đặng Văn Thọ phát triển du lịch

Lưu Hồng Phúc Analysis of factors affecting 12
Trương Thị Xuân seafood safety compliance and
Đỗ Thị Thanh Thủy recommendations of mitigation
actions for seafood distribution
chain in Vietnam.

Nguyễn Thị Hồng Ánh Ảnh hưởng của quá trình tiền xử lý 23
đến hoạt tính kháng oxy hóa của
quả sung (*ficus racemosa*) sấy khô

Nguyễn Văn Linh Ảnh hưởng tỷ lệ phối trộn giá thể 34
và quy cách hom đến sinh trưởng
cây kim tiền thảo (*desmodium*
styracifolium (osbeck) merr.)
trong điều kiện vườn ươm

Hà Thị Tuyết Phượng Chẩn đoán nhanh virus scv 49
(strawberry crinkle virus) trên cây
dâu tây (*fragaria spp.*) bằng
phương pháp rt-pcr

Le Van Nam Investigation of prebiotic activity 55
Luu Thuy Thuy of exopolysaccharide fragments
Le Thi Thuy Hang isolated from cultured broth of
Dinh Minh Hiệp caterpillar fungus *Ophiocordyceps*
sinensis

Nguyễn Thị Hiền Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng 63
Nguyễn Kim Phụng đến chất lượng snack khoai lang
Nguyễn Hữu Thành tím (*Ipomoea batatas L.*)

Đặng Thị Ngọc Thảo Màng thực phẩm ăn được từ bột 72
Nguyễn Vinh Tiến bắp bổ sung mù tôm thủy phân

Trương Quốc Tắt Nghiên cứu sản xuất trà thảo mộc 81
Nguyễn Duy Khánh túi lọc rau càng cua (*Peperomia*
pellucida l.)

Lưu Minh Châu Ứng dụng vi khuẩn lactic trong sản 90
Trần Ngọc Hân xuất nem chua nấm đông cô
Lý Thị Thùy Duyên (*Lentinula edodes*)
Nguyễn Ngọc Thạnh
Huỳnh Xuân Phong

AN TOÀN VỆ SINH THỰC PHẨM TRONG PHÁT TRIỂN DU LỊCH

Trần Thị Ngọc Lan, Đặng Văn Thọ

Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: lanttn@hufi.edu.vn

TÓM TẮT

An toàn vệ sinh thực phẩm luôn là vấn đề quan trọng đối với quá trình phát triển du lịch bền vững. Trong quá trình đi du lịch, du khách không chỉ khám phá các giá trị tài nguyên thiên nhiên mà còn khám phá, thưởng thức và nâng cao hiểu biết về các giá trị văn hóa ẩm thực. Nghiên cứu nhằm mục đích tổng hợp và phân tích thực trạng an toàn thực phẩm trong hoạt động du lịch hiện nay, đặc biệt trong ngành du lịch. Từ đó, tác giả đưa ra những kết luận và khuyến nghị đối với công tác quản lý an toàn vệ sinh thực phẩm trong ngành du lịch. Điều này góp phần tạo sức hút du khách và xây dựng môi trường du lịch an toàn trong bối cảnh đại dịch Covid-19 đang ảnh hưởng nặng nề đến du lịch Việt Nam cũng như trên thế giới.

Từ khóa: An toàn vệ sinh thực phẩm, du lịch ẩm thực, du khách, Covid-19

FOOD SAFETY AND HYGIEN IN TOURISM DEVELOPMENT

Tran Thi Ngoc Lan¹, Dang Van Tho²

¹Ho Chi Minh City University of Food Industry

²College of Technology II

* Corresponding Author: lanttn@hufi.edu.vn

ABSTRACT

Food safety and hygiene is always a critical issue for sustainable tourism development. In the process of traveling, tourists not only discover the values of natural resources but also discover, enjoy and improve their understanding of culinary cultural values. This research aims to synthesize and analyze the current state of food safety and hygiene, especially in the tourism industry. The authors make conclusions and recommendations for the management of food safety and hygiene in tourism sector. This contributes to attracting tourists and building a safe tourism environment in the context of the Covid-19 pandemic heavily affecting Vietnam as well as in the global tourism industry.

Keywords: Food safety and hygiene, gastronomy tourism, tourist, Covid-19

1. Giới thiệu

Trong quá trình đi du lịch, du khách không chỉ khám phá các giá trị tài nguyên thiên nhiên mà còn khám phá, thưởng ngoạn và nâng cao hiểu biết về các giá trị văn hóa ẩm thực bản địa. Thực phẩm ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe của người tiêu dùng nói chung và khách du lịch nói riêng.

Maslow (1943) đã đưa ra mô hình về tháp nhu cầu của con người và đã chỉ ra ăn uống là nhu cầu tối thiểu, chỉ khi được thỏa mãn trọn vẹn, con người mới quan tâm tới các nhu cầu khác. Đối với du lịch, dịch vụ ăn uống là yếu tố cấu thành, có vai trò quan trọng để làm nên thành công, tạo sức hấp dẫn và là yếu tố để quảng bá điểm đến, trở thành một trong những lí do chính khi lựa chọn điểm đến của khách du lịch.

Theo UNWTO (2017), báo cáo toàn cầu về du lịch ẩm thực của Tổ chức Du lịch thế giới, du khách thường chi trung bình 1/3 ngân sách chuyến đi cho ẩm thực. Đồng thời, có tới hơn 80% số đơn vị, tổ chức du lịch khi được điều tra đều xác định du lịch ẩm thực là yếu tố chiến lược đối với điểm đến, là động lực quan trọng cho phát triển du lịch.

Việt Nam, với di sản văn hóa ẩm thực được hình thành qua hàng ngàn năm, đã thu hút không chỉ khách du lịch nội địa, khách du lịch nước ngoài khi đến thăm các vùng miền.

Tuy nhiên, trong những năm gần đây vấn đề ngộ độc thực phẩm đã và đang ảnh hưởng nghiêm trọng đến tâm lý du lịch của nhiều du khách. Tình trạng này diễn ra trên khắp Việt Nam, đặc biệt tại các điểm du lịch nổi tiếng. Do đó, ngành Du lịch cần phải quan tâm đặc biệt, kiểm soát

chặt chẽ công tác vệ sinh an toàn thực phẩm trong quá trình phục vụ du khách nhằm đảm bảo sức khỏe cho người dân cũng như du khách.

2. Tổng quan về an toàn vệ sinh thực phẩm trong du lịch

2.1. Các khái niệm liên quan

Để ngành du lịch phát triển tương xứng với tiềm năng và bền vững, bên cạnh việc đầu tư nâng cao chất lượng hạ tầng, sản phẩm du lịch và dịch vụ, các ngành và nhất là các địa phương cần tập trung tăng cường công tác quản lý môi trường du lịch, bảo đảm an ninh, an toàn cho du khách, đặc biệt là công tác bảo đảm an toàn vệ sinh thực phẩm phải được đặt lên hàng đầu.

Theo Long (1998), Du lịch ẩm thực là sự trải nghiệm văn hóa của du khách đến nơi nào đó qua thụ hưởng ẩm thực. Hình thức du lịch này gồm du lịch khám phá nghệ thuật nấu nướng (gastronomy tourism), hội chợ ẩm thực (food festival), du lịch thưởng rượu (gourmet tourism) và các hoạt động khác liên quan đến ẩm thực.

Theo luật Du lịch (2017) cho rằng: “Khách du lịch là người đi du lịch hoặc kết hợp đi du lịch, trừ trường hợp đi học, làm việc để nhận thu nhập ở nơi đến. Theo đó, khách du lịch bao gồm: khách du lịch nội địa, khách du lịch quốc tế đến Việt Nam và khách du lịch Việt Nam ra nước ngoài”.

Luật An toàn thực phẩm Việt Nam (2010) thì “An toàn vệ sinh thực phẩm là việc bảo đảm để thực phẩm không gây hại đến sức khỏe, tính mạng con người”.

Theo Viện An toàn vệ sinh thực phẩm Úc (AIFS) “An toàn vệ sinh thực phẩm đề cập đến việc xử lý, chuẩn bị và lưu trữ thực phẩm theo cách để giảm thiểu nguy cơ mắc bệnh do thực phẩm gây ra một cách tốt nhất.”

Như vậy, An toàn vệ sinh thực phẩm trong du lịch hiểu một cách đơn giản chính là giữ cho thực phẩm luôn sạch và bảo đảm vệ sinh cho khách du lịch. Những thực phẩm bảo đảm vệ sinh cần được kiểm nghiệm và trải qua quá trình công bố sản phẩm nghiêm ngặt, có sự đồng ý của cơ quan có thẩm quyền.

2.2. Các mối nguy về an toàn vệ sinh thực phẩm

Theo ISO 22000:2018, trong quá trình sản xuất, chế biến, bảo quản, vận chuyển, kinh doanh thực phẩm, nếu không tuân thủ nghiêm ngặt các quy định an toàn, vệ sinh, có thể có các mối nguy làm thực phẩm bị ô nhiễm. Các mối nguy về mất an toàn vệ sinh thực phẩm có thể liên quan đến các yếu tố: hóa học, vật lý và sinh học.

2.2.1. Mối nguy hóa học

Trong sản xuất, chế biến thực phẩm có thể xảy ra ô nhiễm hóa học. Những chất hóa học hay bị ô nhiễm vào thực phẩm gồm:

Các chất ô nhiễm từ môi trường như: Chi trong khí thải của các phương tiện vận tải, có trong sơn, men gốm, mỗi hàn ô nhiễm vào thực phẩm hoặc ô nhiễm cadimi do xử lý nước thải, bùn, đất, rác, quặng...

Các chất hóa học sử dụng trong nông nghiệp như: thuốc bảo vệ thực vật, phân bón, thuốc thú y, thuốc thú y, chất tăng trọng, kích thích tăng trưởng...

Các chất phụ gia thực phẩm sử dụng không đúng quy định như ngoài danh mục cho phép hoặc sử dụng không đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

Các hợp chất không mong muốn có trong bao bì chứa đựng, đóng gói thực phẩm.

Các chất độ tự nhiên có sẵn trong thực phẩm như mầm khoai tây, sắn, măng, nấm độc, cá nóc, cóc, nhuyễn thể hai mảnh, nấm mốc sinh độc tố. Ngộ độc do chất độ tự nhiên thường rất cấp tính, rất nặng, tỷ lệ tử vong rất cao hoặc ảnh hưởng không tốt đến sức khỏe lâu dài.

2.2.2. Mối nguy vật lý

Các mảnh kim loại, thủy tinh, mảnh gỗ, sạn, đất, sỏi, xương, lông tóc...

Ô nhiễm phóng xạ từ các sự cố như rò rỉ phóng xạ từ các trung tâm nghiên cứu phóng xạ, các nhà máy điện nguyên tử... hoặc các thực vật, động vật nuôi trong vùng bị ô nhiễm phóng xạ, kể cả nước uống, sai sót trong việc bảo quản thực phẩm bị nhiễm các chất phóng xạ và gây hại cho người sử dụng khi ăn uống chúng.

2.2.3. Mối nguy sinh học

Các ký sinh trùng: các ký sinh trùng là những sinh vật ký sinh trong cơ thể các sinh vật khác (vật chủ) đang sống, lấy thức ăn từ các sinh vật đó để tồn tại và phát triển.

Mối nguy hại do các siêu vi trùng: Vi rút còn nhỏ hơn vi khuẩn nhiều lần, phải dùng kính hiển vi điện tử phóng hàng vạn lần mới nhìn thấy chúng. Vi rút gây ngộ độc thực phẩm và các bệnh truyền qua thực phẩm thường có trong ruột người.

Mối nguy ô nhiễm do vi khuẩn: Vi khuẩn là mối nguy hay gặp nhất trong các mối nguy ô nhiễm thực phẩm.

2.3. Các nguyên tắc về quản lý vệ sinh An toàn vệ sinh thực phẩm

Quyết định số 3941/QĐ-BKHCN ngày 31/12/2020 của Bộ Khoa học và Công nghệ về việc công bố Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 13259:2020 Du lịch cộng đồng - Yêu cầu về chất lượng dịch vụ, trong đó có yêu cầu về quản lý vệ sinh An toàn vệ sinh thực phẩm là trách nhiệm của mọi tổ chức, cá nhân sản xuất, kinh doanh thực phẩm: (1) Tuân thủ các yêu cầu về vệ sinh An toàn vệ sinh thực phẩm theo quy định hiện hành; (2) Thức ăn phục vụ khách du lịch phải được che đậy để tránh bụi và côn trùng; (3) Khuyến khích sử dụng nguyên liệu tươi, sản vật địa phương trong chế biến thức ăn, đồ uống; (4) Khu vực bảo quản, chế biến, ăn uống phải luôn được duy trì sạch sẽ và được cách ly khỏi khu vực nuôi động vật, khu vệ sinh; phải đảm bảo có đủ nước sạch và xà phòng/dung dịch vệ sinh để rửa tay cho nhân viên chế biến và cho khách du lịch; (5) Dụng cụ chế biến, ăn uống phải được làm sạch trước và sau khi sử dụng. (6) Nhân viên chế biến/phục vụ phải bảo đảm vệ sinh cá nhân thường xuyên trong quá trình làm việc; (7) Sử dụng các sản phẩm từ vật liệu tự nhiên, phân hủy sinh học khi chứa đựng và đóng gói thực phẩm, thức ăn.

2.4. Chính sách về an toàn vệ sinh thực phẩm tại Việt Nam

Quốc hội đã ban hành Luật An toàn vệ sinh thực phẩm số: 55/2010/QH12 ngày 17/6/2010 đã đưa ra một số quy định chính sách của Nhà nước về an toàn vệ sinh thực phẩm như sau: (i) Xây dựng chiến lược, quy hoạch tổng thể về bảo đảm an toàn vệ sinh thực phẩm, quy hoạch vùng sản xuất thực phẩm an toàn theo chuỗi cung cấp thực phẩm được xác định là nhiệm vụ trọng tâm ưu tiên; (2) Sử dụng nguồn lực nhà nước và các nguồn lực khác đầu tư nghiên cứu khoa học và ứng dụng công nghệ phục vụ việc phân tích nguy cơ đối với an toàn vệ sinh thực phẩm; (3) Khuyến khích các cơ sở sản xuất, kinh doanh thực phẩm đổi mới công nghệ, mở rộng quy mô sản xuất; sản xuất thực phẩm chất lượng cao, bảo đảm an toàn; bổ sung vi chất dinh dưỡng thiết yếu trong thực phẩm; xây dựng thương hiệu và phát triển hệ thống cung cấp thực phẩm an toàn; (4) Thiết lập khuôn khổ pháp lý và tổ chức thực hiện lộ trình bắt buộc áp dụng hệ thống Thực hành sản xuất tốt (GMP); (5) Thực hành nông nghiệp tốt (GAP), Thực hành vệ sinh tốt (GHP), phân tích nguy cơ và kiểm soát điểm tới hạn (HACCP) và các hệ thống quản lý An toàn vệ sinh thực phẩm tiên tiến khác trong quá trình sản xuất, kinh doanh thực phẩm; (6) Mở rộng hợp tác quốc tế, đẩy mạnh ký kết điều ước, thoả thuận quốc tế về công nhận, thừa nhận lẫn nhau trong lĩnh vực thực phẩm; (7) Khen thưởng kịp thời tổ chức, cá nhân sản xuất, kinh doanh thực phẩm an toàn; (8) Khuyến khích, tạo điều kiện cho hội, hiệp hội, tổ chức, cá nhân trong nước, tổ chức, cá nhân nước ngoài đầu tư, tham gia vào các hoạt động xây dựng tiêu chuẩn, quy chuẩn kỹ thuật, kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm; (9) Tăng đầu tư, đa dạng các hình thức, phương thức tuyên truyền, giáo dục nâng cao nhận thức người dân về tiêu dùng thực phẩm an toàn, ý thức trách nhiệm và đạo đức kinh doanh của tổ chức, cá nhân sản xuất, kinh doanh thực phẩm đối với cộng đồng.

Nhằm thực hiện Luật An toàn vệ sinh thực phẩm năm 2010 vào thực tiễn, Chính phủ đã ban hành Quyết định số 20/QĐ-TTg năm 2012 phê duyệt “Chiến lược quốc gia An toàn vệ sinh thực phẩm giai đoạn 2011 - 2020 và tầm nhìn 2030” với các mục tiêu cụ thể: Đến năm 2020, giảm 30% số vụ ngộ độc thực phẩm cấp tính từ 30 người mắc trở lên. Tỷ lệ mắc ngộ độc thực phẩm cấp tính được ghi nhận dưới 7 người/100.000 dân. Đến năm 2020, 100% cơ sở sản xuất, chế biến thực phẩm quy mô công nghiệp, tập trung được cấp giấy chứng nhận đủ điều kiện an toàn vệ sinh thực phẩm; tỷ lệ cơ sở sản xuất, bảo quản, sơ chế, chế biến thực phẩm quy mô tập trung áp dụng hệ thống đảm bảo chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm như GMP, HACCP, ISO 9001, ISO 22000... 100% tỉnh, thành phố phê duyệt và triển khai quy hoạch và đảm bảo điều

kiện cơ sở hạ tầng các vùng sản xuất thực phẩm an toàn; Tầm nhìn đến năm 2030, công tác an toàn vệ sinh thực phẩm được quản lý một cách chủ động, có hiệu quả dựa trên các bằng chứng và thực hiện kiểm soát theo chuỗi; 100% người sản xuất, chế biến, kinh doanh thực phẩm, người quản lý và người tiêu dùng có kiến thức và thực hành đúng về an toàn vệ sinh thực phẩm; 100% cơ sở sản xuất, chế biến và kinh doanh thực phẩm đạt điều kiện An toàn vệ sinh thực phẩm.

Để cụ thể hóa các chính sách của nhà nước và chính phủ về quản lý an toàn vệ sinh thực phẩm và trong xu hướng toàn cầu hòa và hội nhập quốc tế, Bộ Khoa học và Công nghệ đã công bố TCVN ISO 22000:2018 Hệ thống quản lý an toàn vệ sinh thực phẩm - Yêu cầu đối với các tổ chức trong chuỗi thực phẩm vào năm 2018. TCVN ISO 22000:2018 hoàn toàn tương đồng với ISO 22000:2018 do tổ chức ISO ban hành trước đó. Những lợi ích tiềm năng cho một tổ chức khi thực hiện FSMS (hệ hống quản lý an toàn vệ sinh thực phẩm): (i) Khả năng liên tục cung cấp thực phẩm an toàn và các sản phẩm cũng như dịch vụ đáp ứng yêu cầu khách hàng và các yêu cầu luật định và chế định hiện hành; (ii) Giải quyết rủi ro liên quan đến các mục tiêu của tổ chức và (iii) Khả năng chứng minh sự phù hợp với các yêu cầu cụ thể của FSMS.

3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu này dựa trên phân tích tổng quan các nguồn dữ liệu thứ cấp về vấn đề an toàn vệ sinh thực phẩm tại Việt Nam trong giai đoạn 2010 đến 2020. Tác giả tổng hợp các nguyên nhân gây nên tình trạng mất an toàn vệ sinh thực phẩm hiện nay. Từ đó, nhóm tác giả đề xuất các khuyến nghị đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm, đặc biệt trong lĩnh vực du lịch nhằm xây dựng môi trường du lịch an toàn và bền vững để thu hút khách du lịch nội địa cũng như du khách quốc tế trong bối cảnh đại dịch Covid-19 ảnh hưởng đến tâm lý du lịch an toàn.

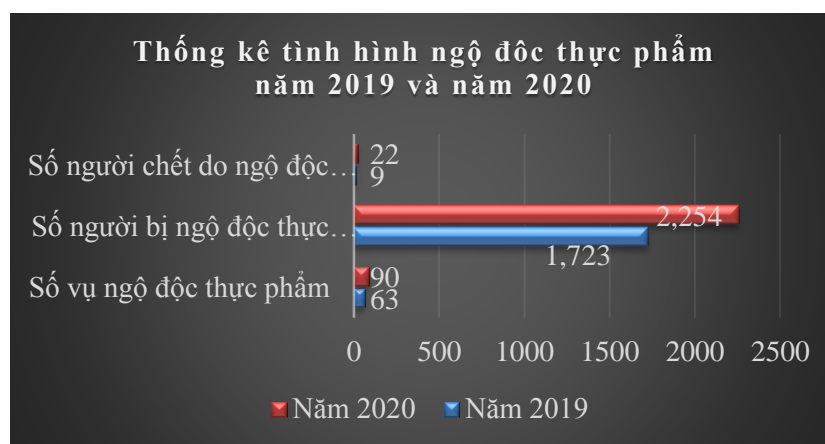
4. Kết quả phân tích và Thảo luận

4.1. Kết quả phân tích

4.1.1. Đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm tại Việt Nam

Theo Ban Quản lý An toàn vệ sinh thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh (2020), cơ quan này đã tiến hành kiểm tra 6.855 cơ sở (giảm 28% so với năm 2019), phát hiện 274 cơ sở vi phạm (tỷ lệ cơ sở vi phạm giảm từ 9,8% xuống 4%), xử phạt 243 cơ sở với tổng số tiền gần 3,622 tỷ đồng, đình chỉ hoạt động có thời hạn 4 cơ sở, buộc tháo gỡ, tháo gỡ quảng cáo 5 cơ sở, buộc kiểm tra vệ sinh thú y, kiểm dịch lại 315kg sản phẩm động vật, thực hiện tịch thu, thu hồi để tái chế, chuyển đổi mục đích sử dụng hoặc tiêu hủy 2.941kg sản phẩm động vật và 12 gói nấm Linh chi...

Theo Cục An toàn vệ sinh thực phẩm (2019), từ năm 2015-2019 số vụ ngộ độc thực phẩm trung bình/năm, số người mắc, số người nhập viện và tử vong trung bình/năm đều giảm so với giai đoạn 2010-2014. Tính chung từ năm 2010 – 2019, trên cả nước ghi nhận 1.556 vụ ngộ độc thực phẩm, với hơn 47.400 người mắc; trong đó có 271 người chết, gần 40.190 người phải nhập viện điều trị. Riêng năm 2020, tính đến ngày 31/5, toàn quốc đã ghi nhận 48 vụ ngộ độc thực phẩm làm hơn 870 người mắc, 824 người nhập viện điều trị và 22 người tử vong. So sánh với cùng kỳ năm 2019, tăng 11 vụ (29,7%) ngộ độc thực phẩm, số người mắc tăng 18 người và tử vong tăng 17 người. Phân tích từ 1.604 vụ ngộ độc được ghi nhận từ năm 2010 đến năm 2020, nguyên nhân gây ngộ độc chủ yếu do vi sinh vật (chiếm 38,7%), độc tố tự nhiên (28,4%), hóa chất (4,2%)...



Biểu đồ 2.1. Thông kê tình hình ngộ độc thực phẩm năm 2019 và năm 2020

(Nguồn: Tổng cục Thống kê, 2020)

4.1.2. Đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm trong hoạt động du lịch tại Việt Nam

Trong cuộc khảo sát gần đây từ 1.004 du khách Australia do Công ty dược phẩm Sanofi thực hiện cho thấy 40% khách du lịch thừa nhận họ từng bị ốm đau khi đi du lịch tại Việt Nam. Hầu hết nguyên nhân chính là do gặp các vấn đề như ngộ độc thực phẩm hay bị côn trùng cắn.

Hầu hết khách du lịch lựa chọn các quán ăn dựa vào trực giác như họ chọn những nơi có nhiều người địa phương ăn hoặc tham khảo trên mạng xem bình luận từ các website du lịch... Cũng có những khách, đoàn khách du lịch quyết định đi theo các chương trình du lịch của các đơn vị lữ hành để yên tâm hơn.

Một vấn đề cấp bách hiện nay về đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm trong du lịch cộng đồng. Phần lớn các cá nhân và hộ gia đình đang kinh doanh dịch vụ du lịch cộng đồng còn thiếu các kiến thức về an toàn vệ sinh thực phẩm, trách nhiệm và nghĩa vụ bảo vệ môi trường trong hoạt động du lịch, các tiêu chuẩn cơ sở vật chất cho việc đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm trong việc chế biến, bảo quản thực phẩm phục vụ du khách... Đây cũng là một trong những khó khăn cho các địa phương trong việc phát triển du lịch cộng đồng. Do thế, ngày 31 tháng 12 năm 2020, Bộ Khoa học và Công nghệ đã ban hành Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) 13259 Du lịch cộng đồng – Yêu cầu về chất lượng dịch vụ. Đây là những tiêu chuẩn rất quan trọng làm cơ sở pháp lý để các nhà quản lý du lịch triển khai các hoạt động hỗ trợ, tập huấn về tầm quan trọng trong việc đảm bảo An toàn vệ sinh thực phẩm gắn với phát triển du lịch cộng đồng bền vững.



Hình ảnh: Lễ hội cồng chiêng Tây Nguyên – văn hóa uống rượu cần



Hình ảnh: Gà rừng nướng muối ớt bên hồ Đak Ke Kon Tum

Tổng cục Du lịch phối hợp với Tổng cục Quản lý thị trường (2021) đã triển khai ứng dụng "Du lịch Việt Nam an toàn" tiếp nhận phản ánh của khách hàng về dịch vụ du lịch. Khách du lịch chỉ cần cài ứng dụng và du khách có thể dễ dàng phản ánh tất cả vấn đề liên quan đến hàng giả, hàng kém chất lượng, lừa đảo, ép giá, quảng cáo không đúng thực tế, mất an toàn vệ sinh thực phẩm... trong lĩnh vực du lịch. Các thông tin phản ánh sẽ được Tổng cục Du lịch phối hợp với Tổng cục Quản lý thị trường tiếp nhận, xác minh và xử lý.

4.1.3. Công tác quản lý An toàn vệ sinh thực phẩm tại một số nước trên thế giới

4.1.3.1. Tại Hàn Quốc

Bộ An toàn vệ sinh thực phẩm và Dược phẩm Hàn Quốc (MFDS) đã thiết lập một hệ thống quản lý An toàn vệ sinh thực phẩm để cung cấp thực phẩm an toàn hơn.

Thực phẩm trong nước được quản lý qua ba khâu: sản xuất, phân phối và tiêu thụ. Trong giai đoạn sản xuất, người điều hành kinh doanh trước tiên phải nộp báo cáo sản xuất thực phẩm và sản xuất mặt hàng, việc tự kiểm tra chất lượng được thực hiện để đảm bảo an toàn cho sản phẩm và hệ thống HACCP được áp dụng để bảo vệ thực phẩm khỏi mọi nguy cơ nguy hiểm một cách ưu tiên. Trong khâu phân phối, sản phẩm thực phẩm được thu gom và kiểm tra để tăng cường phân phối thực phẩm an toàn, và hệ thống truy xuất nguồn gốc thực phẩm được vận hành để truy tìm các tuyến đường phân phối của thực phẩm độc hại, cùng với hoạt động của Hệ thống phòng ngừa bán thực phẩm nguy hại. Trong giai đoạn tiêu thụ, các quảng cáo sai sự thật hoặc phóng đại được giám sát và hệ thống bảo vệ vệ sinh thực phẩm tiêu dùng được vận hành.

4.1.3.2. Tại Singapore

Singapore là quốc gia châu Á duy nhất nằm trong danh sách 20 nước dẫn đầu thế giới về An toàn vệ sinh thực phẩm, theo thống kê của Tạp chí The Economist của Anh năm 2019. Đối với quốc đảo Sư tử, đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm là ưu tiên hàng đầu. Singapore yêu cầu các bếp ăn ở các trường học, nhà hàng, căng-tin đều phải lắp đặt camera và buộc phải cung cấp mẫu thực phẩm nếu được yêu cầu để kiểm tra An toàn vệ sinh thực phẩm. Chính phủ Singapore ý thức được rằng trong cuộc chiến vệ sinh an toàn thực phẩm không thể nào thiếu sự hợp tác với người dân. Singapore hy vọng nâng cao nhận thức về tầm quan trọng của an toàn vệ sinh thực phẩm, mà đầu tiên phải đảm bảo ngay từ khu vực công cộng. Qua các đợt kiểm tra, rà soát, cơ quan chuyên trách về vệ sinh an toàn thực phẩm của Singapore sẽ đăng tải đánh giá về các cơ sở thực phẩm lên website để người dân tiện theo dõi. Đồng thời, đưa ra khuyến cáo người dân nên tránh xa thức ăn không rõ nguồn gốc, không nhãn mác...

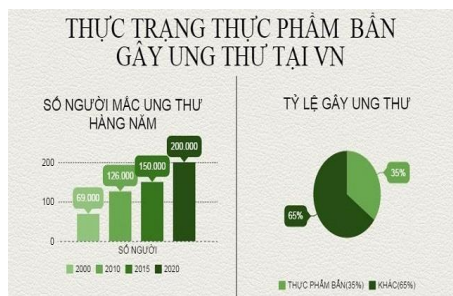
4.1.4.3. Tại Nhật Bản

Nhật Bản cho phép tự chịu trách nhiệm về chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm bán ra thị trường, các doanh nghiệp Nhật Bản luôn chú trọng đến việc đảm bảo tiêu chí “an toàn”. Hệ thống tiêu chuẩn khiến doanh nghiệp không thể lơ là. Về cơ bản các doanh nghiệp Nhật Bản tự quản lý chất lượng sản phẩm cung cấp ra thị trường, tuy nhiên các sản phẩm này phải đáp ứng các tiêu chuẩn vô cùng khắt khe. Nhật Bản có tiêu chuẩn kiểm soát chất lượng thực phẩm ngay từ những bước đầu tiên là trồng trọt và chăn nuôi. Nhật Bản thực hiện cơ chế cho phép doanh nghiệp tự chịu trách nhiệm về an toàn vệ sinh thực phẩm, cơ quan chức năng hậu kiểm. Nếu phát hiện vi phạm, doanh nghiệp có thể bị phạt tù đến 10 năm, rút giấy phép hoạt động, phạt khoản tiền lớn. Với việc được chính phủ cho phép tự chịu trách nhiệm về chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm bán ra thị trường, các doanh nghiệp Nhật Bản luôn chú trọng đến việc đảm bảo tiêu chí “an toàn”.

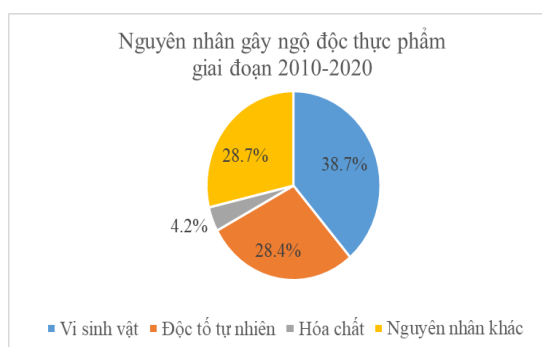
4.2. Thảo luận

4.2.1. Vấn đề thực phẩm bẩn đang tràn lan ngoài thị trường

Các thực phẩm không bảo đảm về chất lượng, không rõ nguồn gốc khiến nhiều người tiêu dùng khó để lựa chọn được những sản phẩm đảm bảo an toàn. Ngày càng có nhiều nhà sản xuất, kinh doanh thực phẩm sử dụng thuốc kích thích tăng trưởng, sử dụng cám tăng trưởng trong chăn nuôi, những hóa chất cấm trong chế biến nông thủy sản và sử dụng nhiều loại chất tẩy rửa thịt, cá ôi thối...



Biểu đồ 2.2: Thực trạng thực phẩm bẩn gây ung thư
(Nguồn: Ban An toàn vệ sinh thực phẩm TP. HCM, 2020)



Biểu đồ 2.3.: Nguyên nhân gây ngộ độc thực phẩm

Nguồn: Tổng cục

4.2.2. Quy trình chế biến không nghiêm ngặt hay do nhiễm độc

Môi trường không bảo đảm vệ sinh: sử dụng nước thải sinh hoạt trong chế biến. Nước thải chăn nuôi để tưới rau làm cho các hàm lượng kim loại nặng và các vi sinh vật gây bệnh trong rau, củ, quả cao hơn nhiều so với quy định, hoặc thực phẩm không được rõ nguồn gốc.... Nhiều cơ sở chế biến không bảo đảm vệ sinh, máy móc không bảo đảm đúng yêu cầu quy định của Nhà nước.

Ngộ độc thực phẩm: tình hình vi phạm tiêu chuẩn an toàn vệ sinh thực phẩm, dịch bệnh gia súc, gia cầm... xảy ra ở một số nơi làm cho người tiêu dùng thêm phần hoang mang, lo lắng.

Trường hợp sản phẩm Pate Minh Chay nhiễm độc tố botulinum. Trong vòng một tháng (từ 13.7 đến 18.8.2020) đã xuất hiện 9 ca bệnh phải điều trị tại Bệnh viện Bạch Mai (2 ca bệnh), Bệnh viện Chợ Rẫy (5 ca) và Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới TP.Hồ Chí Minh (2 ca) từ một số tỉnh/thành phố trong cả nước với triệu chứng mệt mỏi, sụp mí mắt, yếu cơ tứ chi, khó nuốt, liệt cơ, khó thở... Qua điều tra cho thấy các bệnh nhân đều sử dụng sản phẩm Pate Minh Chay của Công ty TNHH Hai Thành viên Lối sống mới có địa chỉ tại tổ 2, thị trấn Đông Anh, huyện Đông Anh, Hà Nội sản xuất và kinh doanh trực tiếp qua mạng đã phát hiện vi khuẩn Clostridium botulinum typ B. Đây là vi khuẩn kỵ khí tuyệt đối, sinh bào tử; độc tố của vi khuẩn Clostridium botulinum có độc lực rất mạnh, ảnh hưởng nặng nề đến sức khỏe, kéo dài và dễ tử vong.



Hình ảnh: Các du khách bị ngộ độc thực phẩm



Hình ảnh: Sản phẩm Pate Minh Chay nhiễm độc tố botulinum

4.2.3. Công tác đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm còn chông chéo, bộc lộ nhiều bất cập

Tình hình vi phạm an toàn vệ sinh thực phẩm vẫn diễn biến hết sức phức tạp và vẫn chưa được xử lý một cách triệt để. Công tác chế biến, sản xuất, kinh doanh trái luật ngày càng tinh vi và có ảnh hưởng nghiêm trọng hơn. Tuy nhiên, công tác đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm tại Việt Nam còn bộc lộ nhiều bất cập.

Thứ nhất, các văn bản quy phạm pháp luật hướng dẫn và quản lý về an toàn vệ sinh thực phẩm chưa đồng bộ, còn xảy ra sự chông chéo, mâu thuẫn, hoặc bỏ sót một số lĩnh vực... gây khó khăn cho việc áp dụng.

Thứ hai, tổ chức bộ máy cơ quan quản lý chuyên ngành còn chưa hoàn thiện. Lực lượng cán bộ quản lý, cán bộ thanh tra chuyên ngành rất mỏng lại phân tán, việc xử lý vi phạm chưa kiên quyết.

Thứ ba, việc triển khai công tác quản lý nhà nước về an toàn vệ sinh thực phẩm còn thụ động, mới tập trung giải quyết được một số vấn đề bức xúc, chưa chủ động quản lý được nguy cơ ô nhiễm theo chuỗi cung cấp thực phẩm theo một chiến lược dài hạn. Chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm của một số sản phẩm thực phẩm chế biến thủ công, quy mô nhỏ tuy vẫn là một khâu yếu.

Thứ tư, thực trạng về tồn dư hóa chất, ô nhiễm hóa chất bảo quản trong một số thực phẩm chưa được cải thiện nhiều. Tỷ lệ số người sản xuất, kinh doanh dịch vụ, người tiêu dùng nhận thức đúng về an toàn thực phẩm tuy còn ở mức trung bình; trách nhiệm của người sản xuất quy mô nhỏ lẻ đối với sức khỏe cộng đồng chưa cao; tỷ lệ cơ sở sản xuất kinh doanh thực phẩm được cấp giấy chứng nhận cơ sở đủ điều kiện an toàn vệ sinh thực phẩm vẫn còn thấp.

Thứ năm, đầu tư nguồn lực cho công tác bảo đảm an toàn vệ sinh thực phẩm còn rất hạn chế.

Thứ sáu, công tác xã hội hóa một số khâu dịch vụ công phục vụ quản lý nhà nước về chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm chưa được quan tâm đúng mức, chưa huy động được sự tham gia của các lực lượng trong xã hội, nhất là sự tham gia của các hội, hiệp hội và doanh nghiệp lớn.

4.2.4. Người dân thiếu thông tin về an toàn vệ sinh thực phẩm

Hiện nay, cả nước chỉ có ba tỉnh, thành phố là TP Hồ Chí Minh (Theo quyết định số: 2349/QĐ-TTg ngày 05 tháng 12 năm 2016), Đà Nẵng (Theo quyết định số: 1268/QĐ-TTg ngày 25 tháng 08 năm 2017) và Bắc Ninh (Theo quyết định số: 123/QĐ-TTg ngày 23 tháng 01 năm 2018) thí điểm quản lý tập trung thông qua ban quản lý an toàn vệ sinh thực phẩm. Việc quản lý tập trung này trên thực tế tại các địa phương mang lại hiệu quả thanh, kiểm tra cao. Tuy nhiên, hiện nay thông tin công khai về thực phẩm vi phạm chất lượng, cụ thể sản phẩm nào, lô nào, nhà sản xuất nào, vi phạm gì, đơn vị nào vi phạm, mức độ vi phạm... thì rất ít cơ quan khác có thông tin để cung cấp cho người dân. Do vậy, những trường hợp sai phạm về chất lượng thực phẩm, người dân muốn nắm rõ cũng không biết tìm thông tin ở đâu và thường chỉ biết thông tin khi có người sử dụng thực phẩm đã ngộ độc và phải nhập viện do báo chí đăng tải. Chính vì vậy, cần thiết sớm có thêm nhiều phương tiện truyền thông, các kênh thông tin và ứng dụng để công bố các vi phạm về thực phẩm, những đợt hậu kiểm về chất lượng thực phẩm từ cơ quan chức năng cung cấp giúp người dân dễ dàng tiếp cận và có phương án phòng ngừa thích hợp.

4.2.5. Các nguyên nhân chủ yếu mất an toàn vệ sinh thực phẩm tại Việt Nam

Một là, do tập quán ăn uống, trình độ dân trí, đặc biệt là do thu nhập thấp nên vẫn còn tình trạng người tiêu dùng sử dụng thực phẩm giá rẻ, không bảo đảm An toàn vệ sinh thực phẩm còn khá phổ biến.

Hai là, nước ta đang chuyển đổi từ nền sản xuất quy mô nhỏ lẻ sang nền sản xuất hàng hóa; công nghệ sản xuất, chế biến thực phẩm còn thủ công; quy hoạch cho sản xuất thực phẩm chưa được xây dựng đồng bộ nên việc bảo đảm An toàn vệ sinh thực phẩm còn gặp nhiều khó khăn..

Ba là, hệ thống văn bản quy phạm pháp luật về quản lý chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm nhiều, nhưng chưa có văn bản có hiệu lực pháp lý cao, điều chỉnh toàn diện các vấn đề về quản lý an toàn vệ sinh thực phẩm.

Bốn là, bộ máy cơ quan quản lý chuyên ngành về An toàn vệ sinh thực phẩm còn chưa hoàn thiện; có nhiều đầu mối tham gia quản lý nhà nước về an toàn vệ sinh thực phẩm nhưng việc phân công trách nhiệm quản lý an toàn vệ sinh thực phẩm ở một số lĩnh vực và đối với một số sản phẩm còn chồng chéo.

Năm là, ý thức chấp hành pháp luật về quản lý chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm và trách nhiệm của người sản xuất, kinh doanh thực phẩm đối với cộng đồng còn chưa cao, một mặt là do người sản xuất, kinh doanh chạy theo lợi nhuận trước mắt, coi thường tính mạng, sức khỏe người tiêu dùng; mặt khác do việc xử lý vi phạm còn nương nhẹ, thiếu kiên quyết và răn đe.

Sáu đó, công tác nghiên cứu khoa học làm cơ sở cho việc xây dựng chiến lược quản lý chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm; công tác quy hoạch các vùng sản xuất thực phẩm an toàn;

cảnh báo, kiểm soát nguy cơ ô nhiễm thực phẩm, ngộ độc thực phẩm, bệnh truyền qua thực phẩm chưa được chú trọng đúng mức.

5. Kết luận và khuyến nghị

5.1. Kết luận

An toàn vệ sinh thực phẩm là một vấn đề luôn được quan tâm trong đời sống hàng ngày. Thực phẩm an toàn đảm bảo cho sức khỏe của mọi người không chỉ tại Việt Nam và trong lĩnh vực du lịch.

Thực trạng ngộ độc thực phẩm luôn có nguy cơ xảy ra mọi lúc và mọi nơi nếu công tác quản lý không được quan tâm một cách đúng mức.

Văn hóa ẩm thực là một trong những yếu tố thu hút khách du lịch nội địa và du khách quốc tế trong quá trình tham gia các hoạt động du lịch. Đặc biệt trong bối cảnh đại dịch Covid-19 đang ảnh hưởng đến xu hướng tâm lý tiêu dùng và du lịch của du khách. An toàn khi đi du lịch đang được du khách đặt lên hàng đầu khi quyết định lựa chọn các sản phẩm du lịch.

Đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm cần có sự tham gia của nhà nước với vai trò định hướng, quản lý chung; sự tham gia và tuân thủ pháp luật của các doanh nghiệp trong ngành du lịch nói riêng và các lĩnh vực khác nói chung; sự tham gia của người dân, du khách trong việc chọn lựa các nguồn thực phẩm an toàn.

5.2. Khuyến nghị

5.2.1. Khuyến nghị về quản lý vệ sinh An toàn vệ sinh thực phẩm từ cơ quan Nhà nước

Để bảo đảm vấn đề an toàn vệ sinh thực phẩm cần có sự phối hợp của toàn xã hội và trước tiên là trách nhiệm của cơ quan Nhà nước.

Một là, cần những văn bản pháp luật quy định về an toàn vệ sinh thực phẩm hướng dẫn cụ thể và chi tiết trong việc thực hiện Luật An toàn vệ sinh thực phẩm 2010. Đồng thời các cơ quan cần kiểm tra và xử phạt nghiêm minh những đối tượng vi phạm an toàn vệ sinh thực phẩm theo Nghị định số 115/2018/NĐ-CP ngày 04/9/2018.

Hai là, tăng cường công tác quản lý trên cơ sở ban hành các quy định cụ thể về tiêu chuẩn an toàn vệ sinh thực phẩm đối với các khách sạn, nhà hàng phục vụ khách du lịch; yêu cầu các khách sạn, nhà hàng cam kết thực hiện các quy định đã đề ra về nguồn nguyên liệu thực phẩm đảm bảo chất lượng, điều kiện vệ sinh các trang thiết bị dụng cụ, môi trường và nhân viên phục vụ.

Ba là, kiểm tra chặt chẽ việc thực hiện các quy định pháp luật về an toàn vệ sinh thực phẩm, đặc biệt tại các cơ sở bếp ăn tập thể, cơ sở cung cấp xuất ăn sẵn, nhà hàng, khách sạn, khu du lịch, lễ hội, thức ăn đường phố, chợ, cảng, trường học, khu công nghiệp và chế xuất; quy định rõ trách nhiệm của các đơn vị có cơ sở dịch vụ ăn uống, kiên quyết không để các cơ sở không đủ điều kiện theo quy định của pháp luật sản xuất, kinh doanh thực phẩm, cung ứng dịch vụ ăn uống.

Bốn là, nâng cao nhận thức và trách nhiệm của các doanh nghiệp đối với việc thực thi các quy định của pháp luật hiện hành về đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

Năm là, chính phủ có chính sách khuyến khích phát triển vùng sản xuất nguyên liệu thực phẩm theo hướng sản xuất lớn, gắn với việc phát triển thị trường hàng hóa nông sản an toàn; khuyến khích, hỗ trợ các doanh nghiệp đổi mới công nghệ, áp dụng hệ thống quản lý chất lượng tiên tiến, xây dựng thương hiệu, phát triển hệ thống cung cấp thực phẩm an toàn.

Sáu là, cần xây dựng cơ chế phối hợp liên ngành, đặc biệt là phối hợp chặt chẽ giữa các cơ quan ban ngành liên quan trong quản lý và thanh tra, kiểm tra, giám sát việc thực hiện và xử lý nghiêm minh các hành vi vi phạm pháp luật về an toàn vệ sinh thực phẩm.

Bảy là, tiếp tục triển khai mạnh mẽ và đồng bộ các hoạt động thông tin, giáo dục và truyền thông thay đổi hành vi để giáo dục an toàn vệ sinh thực phẩm - “nói không với thực phẩm bẩn”

Tám là, cần đẩy nhanh việc thành lập Trung tâm an toàn vệ sinh thực phẩm tại một số quận, huyện trên cả nước để các doanh nghiệp sản xuất kinh doanh thực phẩm và người tiêu dùng nắm bắt được các thông tin, chính sách về an toàn vệ sinh thực phẩm. Hiện chính phủ chỉ thí nghiệm 03 ban An toàn vệ sinh thực phẩm tại các tỉnh/thành phố.

5.2.2. Nhóm khuyến nghị về đảm bảo vệ sinh An toàn vệ sinh thực phẩm từ nhà sản xuất, cơ sở chế biến

Một là, tăng cường công tác tuyên truyền, giáo dục và tập huấn các kiến thức về vệ sinh An toàn vệ sinh thực phẩm cho các nhân viên.

Hai là, tăng cường kiểm soát nguồn nguyên liệu thực phẩm và nguồn nước sử dụng tại doanh nghiệp.

Ba là, kiểm soát chặt chẽ khu vực chế biến. Theo đó, nhà bếp phải được thiết kế và xây dựng theo nguyên tắc một chiều, có cửa cho nguyên liệu thực phẩm vào và có cửa cho sản phẩm đã qua chế biến đi ra.

Bốn là, kiểm soát chặt chẽ máy móc, thiết bị và dụng cụ chế biến món ăn. Các máy móc, thiết bị và dụng cụ chế biến món ăn phải được làm từ các vật liệu chuyên dụng, không phai nhiễm vào món ăn trong quá trình chế biến.

Năm là, kiểm soát các phương tiện vận chuyển nguyên liệu và sản phẩm thực phẩm trong quá trình phục vụ.

Sáu là, kiểm soát vấn đề bảo hộ lao động và vệ sinh cá nhân người chế biến món ăn. Nhân viên phải được khám sức khỏe định kỳ theo quy định của nhà nước.

Bảy là, các nhà sản xuất, các cơ sở chế biến cần phải tuân thủ nghiêm theo các quy định của pháp luật về đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

Tám là, các doanh nghiệp chế biến thực phẩm cần áp dụng các hệ thống quản lý chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm tiên tiến (GMP, GHP, HACCP, ISO 22000) theo hướng hội nhập quốc tế.

6.2.3. *Nhóm khuyến nghị về đảm bảo vệ sinh An toàn vệ sinh thực phẩm chính từ người tiêu dùng*

Một là, người tiêu dùng chính là những người sử dụng trực tiếp các loại thực phẩm vậy nên mỗi người hãy tự tìm hiểu và nắm rõ các kiến thức an toàn vệ sinh thực phẩm để có khả năng lựa chọn, chế biến, bảo quản, sử dụng sao cho có lợi nhất cho sức khỏe của bản thân mình.

Hai là, khi mua thực phẩm hãy chọn mua các thực phẩm có nguồn gốc, xuất xứ rõ ràng trên sản phẩm phải có nhãn mác, có giấy phép an toàn vệ sinh thực phẩm, thông tin cụ thể có đăng ký với cơ quan quản lý và có thể truy xuất nguồn gốc.

Ba là, thực phẩm phải được bảo quản đúng cách và hợp lý (thời gian và nhiệt độ bảo quản) để không làm mất chất dinh dưỡng hoặc khiến cho thực phẩm bị hỏng.

Bốn là, vì sức khỏe của mỗi gia đình và của cả cộng đồng chúng ta hãy cùng hành động “Nói không với thực phẩm bẩn”.

Năm là, người tiêu dùng cần phản ánh các vấn đề vi phạm an toàn vệ sinh thực phẩm của các đơn vị, tổ chức, cá nhân kinh doanh thực phẩm đến các cơ quan chức năng để kịp thời kiểm tra, phát hiện và xử lý theo đó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

AIFS (2019), <https://www.foodsafety.com.au/blog/what-is-food-safety>

Bộ Khoa học và Công nghệ (2020), *TCVN 13259:2020 Du lịch cộng đồng –Yêu cầu về chất lượng dịch vụ.*

Bộ Khoa học và Công nghệ (2018), *Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN ISO 22000:2018 Yêu cầu với các tổ chức trong chuỗi thực phẩm.*

Chính phủ (2012), *Quyết định 20/QĐ-TTg năm 2012 phê duyệt Chiến lược quốc gia An toàn vệ sinh thực phẩm giai đoạn 2011 - 2020 và tầm nhìn 2030.*

Tường Bách (2021), *Tiếp nhận phản ánh về dịch vụ du lịch qua ứng dụng "Du lịch Việt Nam an toàn.* Báo Vneconomy.

Quốc Hội (2012), *Luật số 55/2010/QH12 của Quốc hội: Luật An toàn vệ sinh thực phẩm.*

Long. D. (1998), *Culinary Tourism: A Folklore Perspective on Eating and Otherness*, Southern Folklore, Vol. 55, pp. 181-204.

Maslow, A. H. (1943). *A theory of human motivation.* Psychological Review

Nguyễn Văn Lợi (2015), *Vệ sinh An toàn vệ sinh thực phẩm trong du lịch.* Tạp chí Du lịch Việt Nam.

Tổ Uyên (2018), *Số liệu thống kê thực phẩm bản trên thị trường hiện nay*. Ban An toàn vệ sinh thực phẩm TP. Hồ Chí Minh.

Tạp chí của Ban Tuyên giáo Trung ương (2016), *An toàn vệ sinh thực phẩm - Ưu tiên hàng đầu để phát triển du lịch bền vững*.

UNWTO (2017), *Second Global Report on Gastronomy Tourism*.

**ANALYSIS OF FACTORS AFFECTING SEAFOOD SAFETY COMPLIANCE AND
RECOMMENDATIONS OF MITIGATION ACTIONS FOR SEAFOOD
DISTRIBUTION CHAIN IN VIETNAM.**

Luu Hồng Phúc¹, Trương Thị Xuân, Đỗ Thị Thanh Thủy

¹Food Technology Department, Nha Trang University

*Corresponding: phuclh@ntu.edu.vn

ABSTRACT

It is recognized that the compliance with government regulations to seafood distribution chain in Vietnam has clear necessary and the enhancing food safety and preventing many cases of foodborne diseases. The barriers of implementing compliance were reviewed and the development of specific strategy recommendations addressed to each issue of compliance process. A compliance process model was applied and discussed the problems of seafood distribution chain. The compliance process model also used to analyse the data of interview to identified and develop recommendations for ways to overcome them. It was concluded that governments and professional trade bodies have a clear role to play in facilitating the implementation of compliance process within domestic distribution chain with less developed food safety management systems.

Keyword: *seafood safety, seafood supply chain, seafood safety recommendation*

**PHÂN TÍCH CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN SỰ TUÂN THỦ AN TOÀN VỆ SINH
THỰC PHẨM VÀ CÁC KHUYẾN CÁO CHO CHUỖI CUNG ỨNG THỦY SẢN TẠI
VIỆT NAM**

Luu Hồng Phúc¹, Trương Thị Xuân, Đỗ Thị Thanh Thủy

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

*Tác giả liên lạc: phuclh@ntu.edu.vn

TÓM TẮT

Tuân thủ theo các quy định an toàn về sinh thực phẩm thủy sản là cần thiết để thúc đẩy an toàn thực phẩm và phòng tránh các trường hợp ngộ độc thực phẩm. Nghiên cứu này sẽ phân tích các rào cản làm ảnh hưởng đến việc thực thi các quy định về an toàn vệ sinh thực phẩm thủy sản. Đồng thời, nghiên cứu sẽ đưa ra các khuyến nghị đến từng khía cạnh vấn đề trong chuỗi cung ứng thủy sản. Mô hình tiến trình tuân thủ được áp dụng để phân tích các dữ liệu phỏng vấn và xây dựng lên các giải pháp và các khuyến nghị. Từ đó có thể kết luận rằng, chính phủ và các bên liên quan cần phải chỉ rõ vai trò của từng đơn vị trong việc thực thi các biện pháp nâng cao sự tuân thủ các quy định của nhà nước.

Từ khóa: *An toàn thủy sản, chuỗi cung ứng thủy sản, khuyến nghị về an toàn thủy sản*

1. Introduction

It is recognized that the compliance with government regulations to seafood distribution chain in Vietnam has clear necessary and the enhancing food safety and preventing many cases of foodborne diseases. While the compliance with regulations is making headway in large seafood export industries, the domestic seafood distribution chains have, for different reasons, experienced difficulties in implementing. However, the importance of enhancing food safety in distribution chain in strategies for preventing foodborne illnesses cannot be overemphasized. While not food exporters, domestic distribution chain have a strong impact on local and regional economies and a potentially immense impact on the health of local consumers and therefore national public health. The problems of implementing food safety compliance in distribution chain have been the subject of extensive discussions in Vietnam (MARD, 2008). National governments aim for indigenous small food businesses to thrive, but they must at the same time protect public health. To this end, it is important to develop a food safety policy and strategy for the implementation of compliance in domestic distribution chain. It has been recognized that there is a need to develop a strategy for implementing the seafood safety in Vietnamese

distribution chain where the food safety management system is not fully developed and resources are scarce. The research acknowledged the need to work on facilitating and supporting the implementation of seafood compliance in Vietnamese distribution chain. The aim of this research including: the barriers of implementing compliance were reviewed and the development of specific strategy recommendations addressed to each issue of compliance process. A compliance process model (Henson & Heasman, 1998) was applied and discussed the problems of seafood distribution chain. The compliance process model also used to analyse the data of interview to identified and develop recommendations for ways to overcome them.

Objectives of this study

- * Review the difficulties experienced when implementing compliance with government regulations.
- * Consider the initiatives and approaches taken by different governments or sectors in assisting domestic distribution chain in implementing compliance with regulations.
- * Define the role of governments and professional trade bodies in assisting domestic distribution chain in implementing compliance with regulations.
- * Develop a strategy for implementing compliance in domestic distribution chain, considering different practical options.

2. Methodology

Step 1. Gather information

Information concerning the implementation of seafood safety mitigation actions should be obtained from both international sources and national sources.

* International sources: It is important to learn from the experiences of other countries and the published literature. E.g. Taiwan, Thailand, Australia.

* National sources: Information from seafood control agencies; involved departments of different ministries agricultural/health/economy; consumer's organization. Review of literature: available documents related to national decrees, organizational mandates and national missions reports.

The information may be including:

- Economic and structural profile of the seafood industry; contribution to GDP, seafood business size profile, employment figures, skills and education of staff at all levels, level of quality assurance programs, including basic hygiene programs, availability of skilled personnel
- Seafood safety support structures; government, industry, third party.
- Internal pressures/strengths and challenges; legal requirements, political drivers, basic infrastructure, level of economic development, official seafood control structure, organization and resources, cultural considerations.

* Data of interview

- Semi-structured interview was undertaken within the work place with traders or owners of business. This allowed verified of questionnaire data obtained in surveys and explored fish business attitude and behavior toward a range of food safety issues; and
- A compliance assessment of the fishing ports, retail markets, and traders' establishment and handler's practices in chapter 4 was completed by the researcher in order to establish current compliance levels and validate interview responses.

Step 2: Define barriers and difficulties

The potential barriers that impede the application of hazard mitigation action recommendations will be identified and defined.

The barriers may include: lack of government commitment; lack of customer and business demand; absence of legal requirements; finance constraints; human resource constraints; lack of expertise and/or technical support; inadequate infrastructure and facilities; and inadequate communications.

An analysis of the information available can identify correlations between the barrier and the possible causes.

Step 3: Develop and select possible initiatives and approaches

Data was analysed using a theoretical compliance decision model adapted from work undertaken in large food manufacturing businesses (Henson & Heasman, 1998). This model breaks the compliance process into a series of steps seen to be undertaken by the business, starting with the identification and interpretation of regulations and establishment of whether existing business operations need to be altered. Where changes are required the business has to decide how to respond to this, communicate this information to staffs and implement the necessary steps. The compliance decision process is seen as a continual process, requiring evaluation and monitoring to maintain compliance. This model provided a useful analytical tool in evaluating the data obtained from seafood distribution chain, as well as highlighting the initiatives and approaches that help to overcome the identified barriers will be developed based on;

Identify the role of different government agencies and other main stakeholders in the application of hazard mitigation action recommendations

Refer to information gathered at the start of this performing to ensure that initiatives and approaches are practical.

Focus on national requirements

Incorporate into the hazard mitigation action recommendations any identified incentives (e.g. a province funding agency or schemes for promoting public health) already in place for the application of the recommendation).

Step 4: Draft initiatives and approaches and consult widely

After drafting initiatives and approaches based on the definition of the barriers and the best possible solutions or recommendations, a wide range of stakeholders such as food control agencies, seafood suppliers, involved departments of involved departments of different ministries agricultural/health/economy will be consulted.

Step 5: Modify and finalize initiatives and approaches

On the basis of information gathered from the consultation phase, it may be necessary to modify the recommendation.

3. Result and Discussion

3.1. The challenges to compliance

Challenges within the Vietnamese seafood distribution chain

Infrastructure and facilities

For many seafood traders or seafood suppliers, compliance means additional costs in upgrading facilities before the system is even applied. This can be an insurmountable barrier for some seafood traders or owners unless support is provided by governments or trade associations. Furthermore, hygiene management can be hindered by the local infrastructure (inadequate power, water, sewage disposal and transport facilities) (Luu, et al. 2016) and domestic distribution chain usually lack the resources to provide on-site solutions (e.g. sewage treatment). Again, governments have an undeniable role in resolving these difficulties.

Basic hygiene

Good hygienic practices tend to be lacking in domestic seafood distribution chain more than in other food businesses. It is common for distribution chain to face a variety of problems: inadequate location, layout or size of facility, non-cleanable structures, old non-cleanable equipment and poor staff training (Luu, et al. 2016) Fishing ports, fish markets, and trading establishing face basic sanitation problems, such as easy access to potable water and safe disposal of waste (Luu, et al. 2016)); furthermore, it is often difficult for seafood distribution chain to obtain raw materials from reliable and affordable sources. The prerequisite hygiene therefore result ineffective, compliance is difficult to implement, and there is little effect on hazard control.

Human resource challenges

Lack of awareness and knowledge

90% of seafood handlers and owners of fish business demonstrated a lack of awareness and knowledge of food safety problems within their business. All of this arose from an inadequate

knowledge of food safety requirements and principles, but also because of over-familiarity with a situation led to non-compliance being overlooked:

The owners and traders of distribution chain are unable committed to ensuring food safety because of their immersion in the day-to-day running of their businesses they are often unaware of the importance of compliance (Luu, et al. 2015). On the other hand, they are limited knowledge of food safety and regulations (Luu, et al. 2015), even with several years of government promotion of regulations. Most handlers in distribution chain are not understanding a meaningful microbiological hazards; since this is an early step in the compliance process, this barrier alone can stop the process in its tracks. It is therefore important that the materials produced focus on the needs and abilities of those to whom they are targeted and that they are presented in as user-friendly a way as possible.

Lack of education and training

100% of seafood handlers and owners of fish business have not taken any food safety training. between seemingly similar businesses. Training must take account of the most important strategy. Literacy levels are sometimes low; training must be tailored to account for this and may have to be more practical (i.e. use of demonstrations) than theoretical. Training locations should be suited to the needs of the trainees. The challenges may be further compounded where there is a high turnover of staff – a common situation in domestic supply chain. In Vietnam, fish business are mainly family-run bussiness passed down through generations and employing traditional methods of food production. Many workers and managers in such businesses may not be trained in even basic food hygiene; training may need to include all relevant hygiene aspects rather than simply targeting regulations. In some countries, food hygiene training courses are provided separately; it may now be preferable to provide training courses which integrate basic hygiene and regulations (FAO, 2003).

In short, new training approaches need to be developed to meet the specific needs of distribution chain. A key factor to be taken into consideration is the literacy level, as fish handlers must be able to read and write in order to fill out simple records effectively.

Lack of technical support

Distribution chain often lack the technical expertise required to compliance and may need external support. In particular, they need help to identify the hazards associated with their food processes; such help must be readily accessible (note that the sheer expense of expertise is a further obstacle) and easy to understand. Distribution chain often lack the capacity to differentiate between good and bad experts. Although in developed countries, expertise is available through consultants. In Vietnam, the consultancy is rarely available, governments and industry/trade associations are responsible for providing adequate, accessible technical support for distribution chain.

Challenge of insufficient motivation

With the exception of one, every food SME demonstrated a lack of motivation in relation to food safety. The level of knowledge and understanding of legislation and food safety principles within distribution chain directly affected the level of motivation that distribution chain had in dealing with requirements. For example, if an handlers did not understand that they handled seafood, they were less motivated to implement temperature controls and hazard analysis requirements because they felt these were irrelevant to the business operation. Over 74% of seafood handlers had a reactive attitude towards food safety. This was seen throughout the compliance process, particularly identification, and interpretation of regulations and deciding the way in which to comply. Distribution chain were totally dependent upon external agencies to do this for them. The predominant source of information was the authorities during formal inspections or informal advisory visits. Other information sources used included trade associations, and environmental health consultants and the FSA. Responsibility for identifying non-compliance within the business was seen as part of the authorities' role during inspections. Fish bussiness tended react to non-compliance identified by the authorities at this point, rather than deal with problems as and when they became aware of them.

Challenge of insufficient trust

Some examining barriers to food safety compliance implies that traders or owner of distribution chain are generally skeptical of the relevance and importance of certain legal requirements in food safety (Luu, et al. 2015) and that this may contribute to poor levels of compliance. In the semi-structure interview it was found that 73% of traders or owners demonstrated an “active” lack of trust in both the authorities and in legislative requirements (Luu, et al. 2015). It is meant that this mistrust led to actual behavioural changes in the distribution supply, whereby traders or owners made a conscious decision not to comply with food safety legislation. Examples of this attitude was seen across the range of different food safety requirements, including the prescriptive hygiene standards and the self-regulatory hazard analysis and temperature control requirements.

Challenge of insufficient time

The lack of time was seen to act as a barrier in around 54% of seafood handlers and owners. The way that time affected behaviour differed according to the level of knowledge and understanding that individual traders had. For example, where seafood handlers or traders had a better understanding of food safety principles underpinning hazard analysis requirements, time acted as a barrier in exceeding the minimum standards. Those seafood handlers or traders understood the concept of hazard analysis and had undertaken a hazard analysis often felt that they had insufficient time to document their practices and control procedures. Where did not have a good understanding of the principles behind the regulations, time acted as a barrier in meeting the minimum requirements. Time has previously been shown to prevent the identification and interpretation of regulations, thereby preventing further action being taken by small business (Gerstenfeld & Roberts, 2000). However, traders do not see these steps as part of their business operation, instead viewing this an issue that external agencies will inform the traders about. It is this reactive attitude rather than a lack of time that prevents identification and interpretation of regulations by distribution chain.

Challenges due to inadequate supporting environment

Financial issues

Financial constraints are a practical barrier to implementing compliance with regulations, felt by governments and industry alike, and can be particularly acute in distribution chain. As a result, the assistance provided by governments and trade associations is not adequate to affect change. Good hazard control can lead to savings for governments (e.g. lower public health costs and reduced workplace absenteeism) (FAO, 2003); however, these are rarely appreciated or used to offset initial financial investment. While the costs associated with compliance can be daunting for distribution chain, they may also be perceived to be higher than they actually are (e.g. cost of external consultants). Around 90% of traders or owners perceived financial considerations to determine their food safety compliance (Luu, 2016), particularly in terms of investment in structure, equipment and staff training. Part of this reluctance to spend money appeared to stem from the lack of commitment to the food safety objectives underpinning the regulatory requirements. A real cost is staff time: the time necessary for training and subsequent implementation can hinder the day-to-day running of a fish business. It is necessary to consider the potential long-term savings that a good compliance system can accrue, not least the protection against harm to the consumer and against potential litigation that can follow food poisoning incidents. There is lack of evidence of the cost-benefit ratio of the compliance: the lack of data and studies relating to compliance implementation and its impact on food safety means that the visible benefits of compliances are not so evident.

Government infrastructure and commitment

National governments and their associated agencies and bodies must be committed to improve compliance in distribution chain. External and internal commitment is important for the development and implementation of improving of compliance initiative in distribution chain. An appropriate common policy for the improvement of compliance in distribution chain is needed to achieve uniformity among trainers. Insufficient government commitment, inadequate

professional knowledge of food safety, poor coordination within government structures and/or inconsistency in compliance enforcement or application are not conducive to the creation of a food safety culture in which compliance can thrive. In this respect, one of the most important tasks of governments is to make industry aware of the benefits of and the need for improving compliance to produce safe food. However, the sheer number of fish business poses a major challenge. Governments must train staff responsible for introducing regulation in distribution chain. An important issue is the mindset and skills of inspectors which need to be adapted to ensure they can assess the effectiveness of compliance in food businesses and rely less on traditional inspection methods (FAO, 2005).

Customer awareness

Many seafood traders or owners are customer focused, whether they are conscious of this or not. Indeed, many fish business have direct contact with consumers in a way that larger businesses cannot achieve. Therefore, the consumer can be a very strong driver for change, but when customers (and consumers) do not perceive food safety as an issue of fundamental importance, it is unlikely that fish distribution chain will be driven to improve compliance. In many countries – especially developing countries consumer awareness (and the pressure that can be placed on food businesses) is in the early stages of development: it is the responsibility of government and international organizations to educate consumers in this regard. Where consumers are illiterate, the challenges are compounded: elementary education can supply healthcare knowledge which forms the basis of food safety training. The mass media are in an excellent position to educate consumers and to promote the demand for safe food and appropriate control systems. However, it may also have a negative effect if not handled properly and if journalists are not appropriately informed (Fielding et al, 2011). Food safety should form an important part of business dealings throughout the seafood chain. Raw seafood should be purchased from businesses compliance with regulations.

Communication

Poor communication between governments, industry and consumers can impede the improvement of compliance. Communication strategies – covering the content of the communication as well as the channels for communication – need to be part of any policy or strategy. Often the only point of official contact with distribution chain is through official inspectors; if these people are not resourced, trained and allowed to provide advice as well as conduct official inspections, it can hamper a national strategy aimed at increasing compliance implementation (Karipidis at et, 2009).

3.2. Compliance process model

The compliance process model developed by Henson and Heasman (Henson and Heasman, 1998) provided a framework which allows the impact of food safety regulations to be better understood and identifies the factors influencing non-compliance with regulatory requirements. In turn, an understanding of the compliance process will aid the development of effective food safety compliance guides which facilitate maximum compliance by food businesses. For the Vietnamese seafood distribution chain, using a theoretical compliance decision model is useful analytical tool in analysing data obtained in this research. Combination of obtained data and framework of compliance process, the research will present a strategy for food safety compliance process of the distribution chain. The strategy will divide a series of steps of recommendations that prevent the factor leading non-compliance and support directly factor enhancing compliance process. The recommendation will identify the role and possible methods for different government agencies, other main stakeholders in compliance process. The figure 6.1 present compliance process.

Identifying the regulation

For the domestic distribution chain, with 97% of fish handlers do not know any exiting regulations from government, it is therefore this stage can be applied in distribution. The initial stage of the compliance mode is identifying the regulation once the business becomes aware of a new regulation and it is at this stage that the business first incurs costs. For fish traders or fish

business in distribution chain, this may be just one of a number of responsibilities held by an individual, For this case of the research, individual is supported by a trade association and bureau of food hygiene and safety.

In distribution chain, it is not possible to associate the cost of this stage of the compliance process with the exiting regulations.

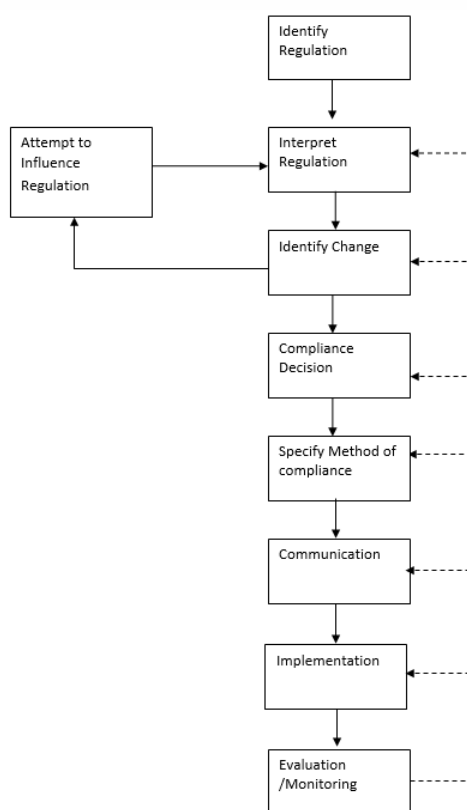


Figure 1: Compliance process model

Interpret Regulation

Once the distribution chain is aware of a exiting regulation it expends administrative effort internally or through a supporting trade association and bureau of food hygiene and safety to identify and interpret any new requirements. the exiting regulation will directly affects the distribution chain, costs will have been imposed on the owners and traders in distribution chain.

Identifying any changes required

Once it is established that the regulation has some bearing on fish bussines’s activities, it must assess what changes are required to establish compliance. This involves an assessment of how the fish business is currently operating in comparison with how it should be operating to comply with the regulation. For the fish business of distribution chain. the fish business is not already in compliance and had not planned to make the necessary changes to bring it into compliance and the process proceeds (Luu et.al 2015; Luu et al. 2016).

In many cases there may be uncertainty associated with the specific changes required for compliance which can impose error costs on the firm (Henson and Heasman, 1998). Ogus (1992) defines error costs as the difference between compliance costs incurred under conditions of perfect information and the costs incurred under the normal conditions of imperfect information. The greater the level of information acquired by the firm about the specific changes required to comply with the regulation, the lower the perceived error costs associated with compliance. Consequently, firms may be required to allocate resources to the compliance process, for example, to gather information, to avoid the risk of potentially greater error costs in the future (Henson and Heasman, 1998).

For the distribution chain of this research, “identifying any changes required” stage will be responsible of both government agencies and traders or owners of distribution chain.

Compliance decisions

In this stage the fish business is required to make changes in order to meet the requirements laid down by the regulations, the fish business must decide whether to comply. It may be expected that businesses will comply with a regulation provided that either the perceived marginal benefit of compliance or the perceived marginal cost of non-compliance is equal to, or exceeds, the perceived marginal cost of compliance (Baron and Baron, 1980). Here, the concept of perceived marginal costs and benefits recognises that costs and benefits are viewed differently by individual fish business. Thus, although fish businesses’ perceptions will reflect the actual costs and benefits of compliance, they will also be influenced by the extent to which fish businesses are actually aware of the costs and benefits they face and their attitude towards these. For example, since benefits are generally more difficult to quantify than costs, there will tend to be an in-built bias towards relatively higher perceived costs. This suggests that an understanding by regulators of fish business’ perceptions of the cost-benefit relationship associated with regulations is as important as a recognition of the actual costs and benefits involved, since it is the former that will actually drive business decisions (Henson and Heasman, 1998).

In this stage applied in seafood distribution chain, the fish business’s compliance decision does not involve a simple question as to whether to comply or not and is closely related to decisions regarding how to comply. Once a fish business has become aware of a regulation, a continuum of responses is available to it, ranging from full compliance to non-compliance. Challenging the regulation itself is possible, as well as ceasing business altogether.

Figure 2 sets out a decision tree which presents a schematic representation of the major Choices when fish business faced with a new regulation (Henson and Heasman, 1998). This is not to say that all firms respond to new regulation by fully evaluating the complete range of possible decisions available to them. Henson and Heasman, (1998) showed that firms tend to adopt a ‘compliance culture’ which is reflected in ‘rules of thumb’ which are applied to most if not all regulations. Consequently, individual firms will tend to make similar decisions with regularity, even if a full economic evaluation would have indicated another decision to be more appropriate.

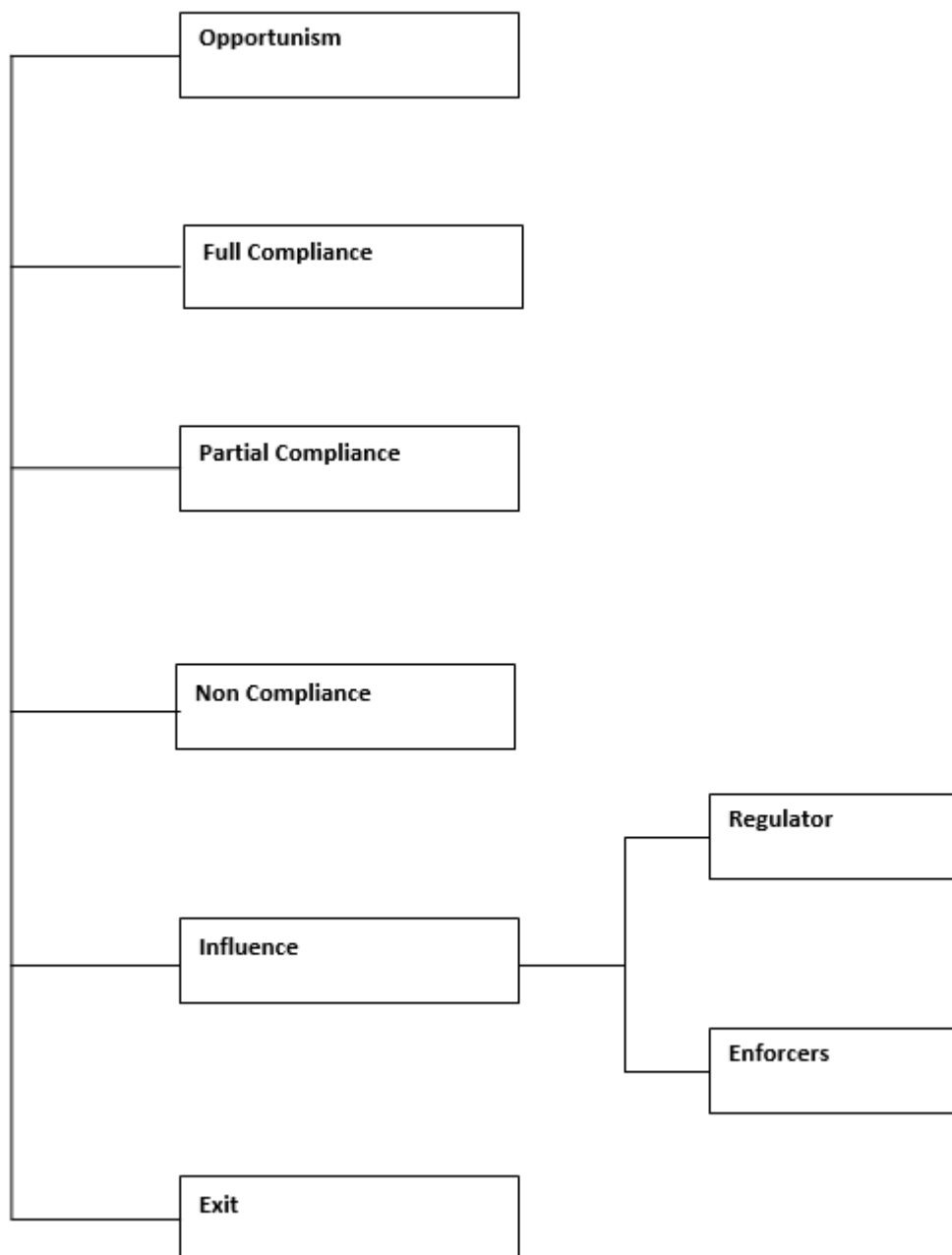


Figure 2: Compliance decision tree

The options in Fig. 2 acknowledge that fish business have strategic choices in responding to new regulations. At one extreme they can stonewall, fight the regulation and do the minimum required for compliance, or at the other regard the regulation as an opportunity and lead the industry in compliance. In practice, however, firms rarely adopt pure strategies such as these, rather they tend to adopt mixed approaches, shifting between stonewalling and opportunism according to the nature of the regulation they face and their own internal organisational structure (Henson and Caswell, 1999).

The major uncertainty associated with this strategy is the success of the opportunities which the fish business is attempting to exploit. Immediate and full compliance may or may not result in competitive advantage for the fish business.

The middle three strategies in Fig. 2 all involve, to differing degrees, quiet compliance with the regulation. Of course the level of compliance is a continuum: three levels have been selected as illustration. The level of compliance will reflect the fish businesses' perceptions of the nature

and level of costs associated with compliance, as well as the potential costs associated with noncompliance

A final possibility is that the fish business exits; it ceases all activities which are subject to the new regulatory requirement. At the extreme this may involve ceasing trading altogether. However, short of that, fish businesses may move into different markets or adapt their products so they do not fall under the jurisdiction of the new regulation. This strategy is generally very costly and will only be considered in cases where the costs of compliance and/or non-compliance with the regulation are prohibitive (Henson and Heasman, 1998).

For the seafood distribution chain, the final possibility can not occur, this will not be discussed in the research. All the policies and method of supporting fish business will be focused on the middle three strategies in figure 2.

It is clear that an important factor influencing the choice of compliance strategy by individual businesses is fish business size. As a consequence small business are more likely to adopt partial or non-compliance as a strategy (Henson and Heasman, 1998).

Specifying the method of compliance

In this stage when the fish business has decided to comply with the regulation, it must decide how to comply. In certain cases the changes the business is required to make are clearly defined and there is little or no discretion at this stage of the compliance process.

The role of government agents is continue define and guide the fish business how to comply suitably with fish business conditions.

In many cases, however, the changes required to comply with the regulation are complex and open to interpretation, and as a consequence the business may have a number of potential compliance methods available to it. The choice of compliance method obviously has a large influence on the costs imposed on the business. In many cases, the business has some idea of the relative costs and benefits associated with each of the available options and chooses the compliance method which is perceived to minimise costs (Henson and Heasman, 1998).

Communication

This stage will require to fish business to communicate within the fish business to all who are involved in the implementation of the required changes. In fish business, with relatively few employees and simple managerial structures characterised by personal contact, this may be a relatively easy and costless task. However, the government agents should be provides guideline books or demonstration in order to make communication effectively.

Implementation

The penultimate stage of the compliance stage is implementation. In practice of fish business condition, this is likely to be a long-term process, within the constraints imposed by the permitted compliance period, which is closely linked to the final stage, evaluation and monitoring. The business generally make the broad changes they consider necessary to comply with the regulation and then progressively modify these in the light of their monitoring activities and comments from outside agencies, in particular, enforcement officials.

Evaluation and monitoring

This is final stage of the compliance process. When the regulation has actually been implemented, the evaluation and monitoring of compliance. It is clear that the majority of business do not routinely monitor compliance with regulations until required to do so by changes in their operations, for example, the introduction of a new product or production process. However, fish business generally lack the resources required to monitor compliance with food regulations, this issues need address fully by government agents. The frequency inspection and guide fish business the method of monitoring should be consider in this stage.

4. Conclusion

It was recognized that, regardless of the stage of development of a country, the seafood distribution chain as small businesses usually have greater difficulties in implementing compliance with regulations is developed from the perspective of large seafood industries and not well-adapted to small businesses. It was concluded that governments and professional trade

bodies have a clear role to play in facilitating the implementation of compliance process within domestic distribution chain with less developed food safety management systems (referred to as less developed businesses), and that there is a need to develop specific guidelines for them. The outcome of the recommendations of the research were also consulted widely by food control agencies, seafood suppliers and experts and led to an extensive discussion on the recommendations. The recommendation will then be published in appropriate journals such as Journal of Fisheries in Vietnam or journal of Agriculture and Fisheries Promotion in order to communicate widely to all stakeholder group such as seafood control agencies; involved departments of different ministries agricultural/health/economy.

REFERENCE

- Gerstenfeld, A., & Roberts, H. (2000). Size matters: barriers and prospects for environmental management in small and medium sized enterprises. In R. Hillary (Ed.), *Small and medium sized enterprises and the environment*. Sheffield: Greenleaf.
- Henson, S., & Heasman, M. (1998). Food safety regulation and the firm: understanding the compliance process. *Food policy*, 23(1), 9–23.
- Henson, S. & Caswell, J. (1999). Food safety regulation: an overview of contemporary issue. *Food policy*, 24, 589 – 603
- Mard. (2008). Fisheries Informatics Centre. *Ministry of Agriculture and Rural Development - Hanoi*.
- FAO/WHO (2005). Assuring food safety and quality in small and medium size food enterprises. Harare, Zimbabwe.
- FAO/WHO (2003). Assuring food safety and quality. Guidelines to access capacity building needs. *Rome, Italy*.
- Fielding, L., Ellis, L., Clayton, D., Peters, A. (2011). An evaluation of process specific information resources, aimed at hazard analysis, in small and medium enterprises in food manufacturing. *Food Control*, (22), 1171-1177.
- Luu, H. P. Michael. D, Belinda D. Warwick, P. (2016) Seafood safety compliance with hygiene regulations within Vietnamese domestic distribution chains. *British Food Journal*. Volume 118, Issues 4, pp 777-794.
- Luu, H. P. Belinda, D., Michael D (2015). The association between factors which affect the food safety practices of seafood distributors within the southern domestic distribution chains in Vietnam. *Food Control*, Volume 73 pp 332-340.
- Luu, H. P. (2016). Evaluation of the quantities, value and proposal of utilization of fish byproduct from fish processing industry in Vietnam. *Journal of Fisheries Science and Technology* No 3, 2016.
- Karipidis, P., Athanassiadis, K., Aggelopoulos, S., Giompliakis, E. (2009). Factor affecting the adoption of quality assurance systems in small food enterprises. *Food Control*, (20), 93-

ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH TIỀN XỬ LÝ ĐẾN HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA CỦA QUẢ SUNG (*FICUS RACEMOSA* (L.)) SẤY KHÔ

Nguyễn Thị Hồng Anh

Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

*Tác giả liên hệ: honganh241199@gmail.com

TÓM TẮT

Sung có tên khoa học là *Ficus racemosa* (L.), là một loại quả dân dã và quen thuộc với người Việt Nam. Theo các tài liệu nghiên cứu, tất cả các bộ phận của Sung đều hữu ích và có giá trị cao. Tuy nhiên, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu được thực hiện để sử dụng hiệu quả dẫn đến giá trị sử dụng của loại quả này chưa cao. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích đánh giá ảnh hưởng của các phương pháp tiền xử lý (ngâm acid, chần kết hợp đông lạnh) lên hoạt tính kháng oxy hóa của quả Sung để đề xuất một số công nghệ phù hợp giúp giữ khả năng kháng oxy hóa, nâng cao giá trị sử dụng. Kết quả cho thấy tiền xử lý có ảnh hưởng đến hoạt tính kháng oxy hóa của Sung. Cụ thể, khi xử lý ngâm acid, Sung ngâm trong dung dịch acid citric 1% giúp giữ hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa tối ưu nhất. Đối với phương pháp chần kết hợp đông lạnh, chần bằng hơi nước với thời gian chần 2 phút trước khi đông lạnh cho hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa cao đồng thời giúp giữ lại hầu hết các khoáng chất và các thành phần hòa tan trong nước, hạn chế hao hụt chất dinh dưỡng so với chần nước nóng.

Từ khóa: Acid ascorbic, Acid citric, chần, Hoạt tính kháng oxy hóa, Polyphenol, Sung, *Ficus racemosa* (L.), Tiền xử lý.

EFFECT OF PRETREATMENT ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DRIED FIGS (*FICUS RACEMOSA* (L.))

Nguyen Thi Hong Anh

Nguyen Tat Thanh University

* Corresponding Author: honganh241199@gmail.com

ABSTRACT

Ficus racemosa (L.) is a wild and familiar fruit to Vietnamese people. According to research literature, all parts of figs are useful, highly valued. However, there have not been many studies done to use effectively, leading to the use value of this fruit is not high. This study was conducted with the aim of evaluating the effects of pretreatment methods (acid soaking, blanching combined with freezing) on antioxidant activity of figs in order to propose some suitable technologies to help keep antioxidation, improve the use value. The results showed that pretreatment had an effect on the antioxidant activity of figs. Specifically, when acid pretreatment, figs soaked in a 1% citric acid solution help keep the polyphenol content and antioxidant activity optimal. For the frozen combined blanching method, steam blanching with a blanching time of 2 minutes before freezing gives a high content of polyphenol and antioxidant activity and also helps to retain most of the minerals and dissolved components water soluble reduces nutrient loss compared to hot water blanching.

Keywords: Acid ascorbic, Acid citric, Antioxidant activity, Blanching, *Ficus racemosa* (L.), polyphenol, Pretreatment.

MỞ ĐẦU

Tên khoa học của Sung là *Ficus racemosa* (L.), thuộc họ *Moraceae* (họ Dâu Tằm) có 53 chi với khoảng 1400 loài, trong đó có khoảng 850 loài thuộc chi *Ficus* phân bố ở khu vực nhiệt đới, tập trung chủ yếu ở vùng Indo-Malaysia đến Australia [1]. Quả Sung là một loại trái cây tươi quan trọng ở nhiều quốc gia, quả Sung khô được tiêu thụ ở một số nơi trên thế giới. Theo Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp của Liên Hợp Quốc việc trồng và tiêu thụ quả Sung rất phát triển, trung bình một thập kỷ quả sung được sản xuất xấp xỉ 1.1 triệu tấn/năm. Thổ Nhĩ Kỳ là

nước sản xuất quả Sung lớn nhất thế giới với 298.914 tấn trong năm 2013, chiếm 26.8% tổng sản lượng của thế giới. Tiếp đến là các nước như Ai Cập, Algeria, Morocco và Iran cũng là nước cung cấp gần 70% quả Sung ra thị trường thế giới năm 2013 [2].

Trong quả Sung có nhiều hợp chất phytochemical (alkaloid, tannin, saponin, β -sitosterol, lupeol và các hợp chất khác) cùng với các chất khoáng (Ca, K, Mg, P, Fe) và vitamin nhóm B, C, A, E, K, ... các chất dinh dưỡng nhất protein, lipid, chất béo thô, đường và tinh bột. Ngoài ra, còn chứa cacbonhydrat dễ tiêu hóa và mang lại giá trị năng lượng cao cùng với các thành phần phytotherapeutic [3]. Từ xa xưa, Sung không chỉ được sử dụng trong đời sống hằng ngày mà còn được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền chữa nhiều loại bệnh như táo bón, đau họng, sỏi mật, ung thư, tiểu đường, bệnh bạch tạng nhiễm trùng, đau bụng kinh, rong kinh, ho ra máu, táo bón, bệnh phong, bệnh tiểu đường, giảm mỡ máu, chống giun sán, bảo vệ dạ dày và chữa lành vết thương [5]–[7]. Ngoài ra, các bộ phận của Sung còn được sử dụng làm thuốc ở các dạng khác nhau, đôi khi kết hợp với thảo mộc do nó có hàm lượng phenolic cao [4].

Theo các tài liệu nghiên cứu, tất cả các bộ phận của Sung đều hữu ích và có giá trị cao có thể mang lại lợi ích cho con người. Tuy nhiên, những nghiên cứu về khả năng kháng oxy hóa của quả Sung vẫn chưa quan tâm nhiều dẫn đến giá trị sử dụng của loại quả này chưa cao. Quả Sung xanh được sử dụng nhiều nhất chỉ để làm sung chua ngọt hay nấu các món ăn. Vì vậy, trên thị trường những mặt hàng về quả Sung xanh còn rất hạn chế. Do đó, nghiên cứu này nhằm khảo sát ảnh hưởng của quá trình tiền xử lý để đánh giá khả năng kháng oxy hóa của Sung từ đó đề xuất một số công nghệ phù hợp giúp giữ khả năng kháng oxy hóa, nâng cao giá trị sử dụng của loại nguyên liệu này.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nguyên liệu: Sung được thu nhận tại phường An Phú Đông, quận 12, Thành phố Hồ Chí Minh. Quả được sử dụng trong nghiên cứu là những quả có đường kính từ 2 – 4 cm, màu xanh, còn nguyên vẹn, không bị hư hỏng, dập nát. Sau khi thu hái và lựa chọn, sung được bảo quản trong tủ lạnh nhiệt độ 4 - 6°C và sử dụng trong ba ngày.

Phụ gia: Acid ascorbic 99%, Acid citric

Hóa chất: Acid acetic 98% (CH_3COOH), muối Natri acetate (CH_3COONa), Acid Clohydric (HCl), Methanol 99.5%, muối natricacbinat (Na_2CO_3) 99.8%, Sắt (III) clorua ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 99%, thuốc thử DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) (97%, Đức), thuốc thử Folin-ciocalteu.

Thiết bị: Nồi hấp (Việt Nam), Bếp điện (Trung Quốc), Cân 4 số lẻ Ohaus PA2102 (Đức), Cân sấy ẩm hồng ngoại (Switzerland), Máy cắt lát (Trung Quốc), Máy đo quang phổ UV – 9000S/VIS SPECTROPHOTOMETER (USA), Máy xay sinh tố Phillip, Nhiệt kế, Tủ lạnh Berjaya, Tủ sấy đối lưu (Việt Nam).

2.2. Phương pháp

2.2.1 Phương pháp tiền xử lý

Quả Sung sau khi thu về được phân loại, rửa sạch và cắt lát với độ dày 0.15 mm. Sau đó, được tiền xử lý theo 2 phương pháp (100g nguyên liệu/1 thí nghiệm tiền xử lý):

Phương pháp ngâm acid: Ngâm trong dung dịch acid citric/acid ascorbic với các nồng độ thay đổi từ 0.25 đến 1.5% w/v. cố định thời gian ngâm là 20 phút.

Phương pháp tiền xử lý chần kết hợp đông lạnh với các điều kiện chần khác nhau: Chần bằng hơi nước (với mức thời gian khảo sát 0, 2, 4, 6 phút) và chần bằng nước nóng (với các mức thời gian 0, 2, 4, 6 phút và nhiệt độ 75, 80, 85, 90°C)

Sau khi tiền xử lý sung được sấy đối lưu ở nhiệt độ 60°C. Sung sau khi sấy sẽ đem đi xay nhuyễn và tiến hành phân tích các chỉ tiêu: hàm lượng polyphenol, hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp khử gốc tự do (DPPH) và hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp khử sắt (FRAP). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.2 Xác định hàm lượng polyphenol

Tổng hàm lượng polyphenol được đo bằng phương pháp phân tích quang phổ hấp thụ phân tử Folin-Ciocalteu sử dụng gallic acid làm chất chuẩn [8] có hiệu chỉnh. Mẫu phân tích 0.5 gam sau khi xay được trích ly với dung môi Methanol 25% . Quá trình trích ly diễn ra ở nhiệt độ

phòng khoảng 1 giờ, sau đó tiến hành lọc qua giấy lọc Whatman No.1. Dịch trích sau khi lọc được pha loãng và tiến hành phân tích: hút 1ml dịch trích vào 3 ống nghiệm, thêm vào 1 ml thuốc thử Folin- Ciocalteu (được pha loãng 10 lần bằng nước cất) và 1 ml dung dịch Natri cacbonate (7.5% w/v). Để trong tối 30 phút sau đó đem đi đo quang phổ ở bước sóng 765 nm. Tổng hàm lượng phenolic được biểu diễn bằng mg đương lượng gallic acid trên gam chất khô (mg GAE/g ck).

2.2.3 Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa

Phương pháp xác định khả năng mất gốc tự do DPPH

Khả năng mất gốc DPPH được xác định bằng thuốc thử DPPH (2,2 – diphenyl – 1 – picrylhydrazyl) [9] có hiệu chỉnh. Mẫu phân tích 0.5 gam sau khi xay được trích ly với dung môi Methanol 25%. Quá trình trích ly diễn ra ở nhiệt độ phòng khoảng 1 giờ, sau đó tiến hành lọc qua giấy lọc Whatman No.1. Dịch trích sau khi lọc được pha loãng và tiến hành phân tích: hút 0.2ml dịch trích lần lượt cho vào 3 ống nghiệm, sau đó hút thêm 3ml dung dịch đệm DPPH đã được phối theo tỉ lệ DPPH/Methanol là 1:4. Để trong tối 30 phút sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 515nm. . Kết quả được biểu diễn bằng mg đương lượng Trolox trên gam chất khô (mgTE/g ck).

Phương pháp xác định khả năng khử gốc sắt (FRAP)

Khả năng kháng oxy hóa được đo bằng khả năng khử sắt (FRAP) [9] có hiệu chỉnh. Mẫu phân tích 0.5 gam sau khi xay được trích ly với dung môi Methanol 25%. Quá trình trích ly diễn ra ở nhiệt độ phòng khoảng 1 giờ, sau đó tiến hành lọc qua giấy lọc Whatman No.1. Dịch trích sau khi lọc được pha loãng và tiến hành phân tích: hút 0.15ml dịch trích lần lượt cho vào 3 ống nghiệm, sau đó hút thêm 2.85ml dung dịch đệm FRAP đã được phối theo tỉ lệ 10 (đệm 3.6) : 1 (TPTZ) : 1 (FeCl₃.6H₂O). Để trong tối 30 phút sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 593nm. . Kết quả được biểu diễn bằng mg đương lượng Trolox trên gam chất khô (mgTE/g ck).

Phương pháp xác định độ ẩm

Xác định độ ẩm bằng cân sấy ẩm, cách 15 phút đo ẩm 1 lần. Sấy đến độ ẩm dưới 5%.

Phương pháp xử lý số liệu

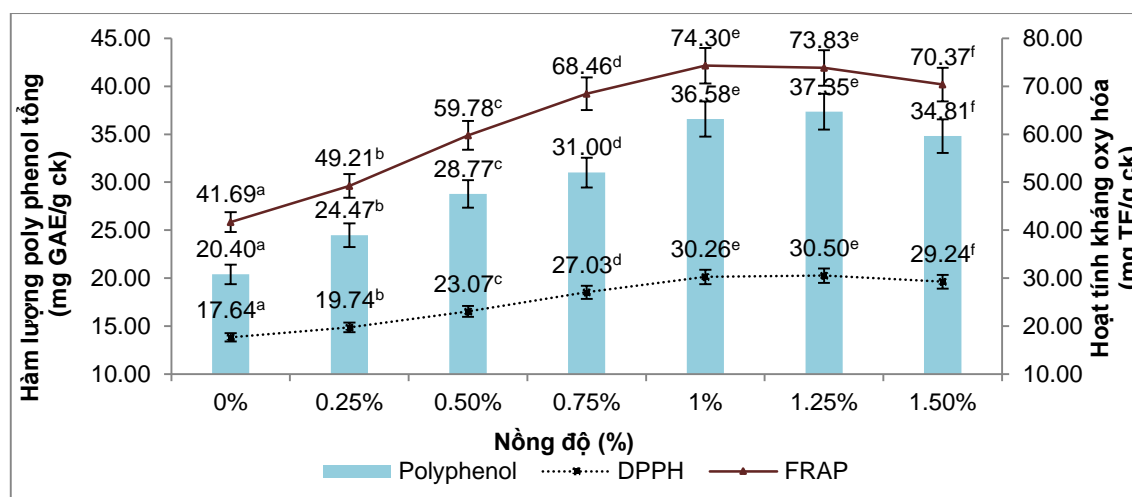
Trong nghiên cứu này, kết quả thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp được trình bày ở dạng giá trị trung bình \pm giá trị sai số và xử lý thống kê trên phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XV, phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định LSD để đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu thí nghiệm với mức ý nghĩa $\alpha < 5\%$. Các biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2010.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của phụ gia chống oxy hoá

Ảnh hưởng của quá trình ngâm acid citric

Acid citric là chất chống hóa nâu được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm với mục đích duy trì màu sắc và kéo dài thời hạn sử dụng cho sản phẩm [10]. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ acid citric lên sự thay đổi hàm lượng các hoạt chất sinh học của sung sau khi sấy được biểu diễn ở hình 3.1



Hình Error! No text of specified style in document..1 Ảnh hưởng của nồng độ acid citric lên hoạt tính sinh học của Sung

(a,b,c,d,e,f: thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê theo phân tích ANOVA ($\alpha=5\%$))

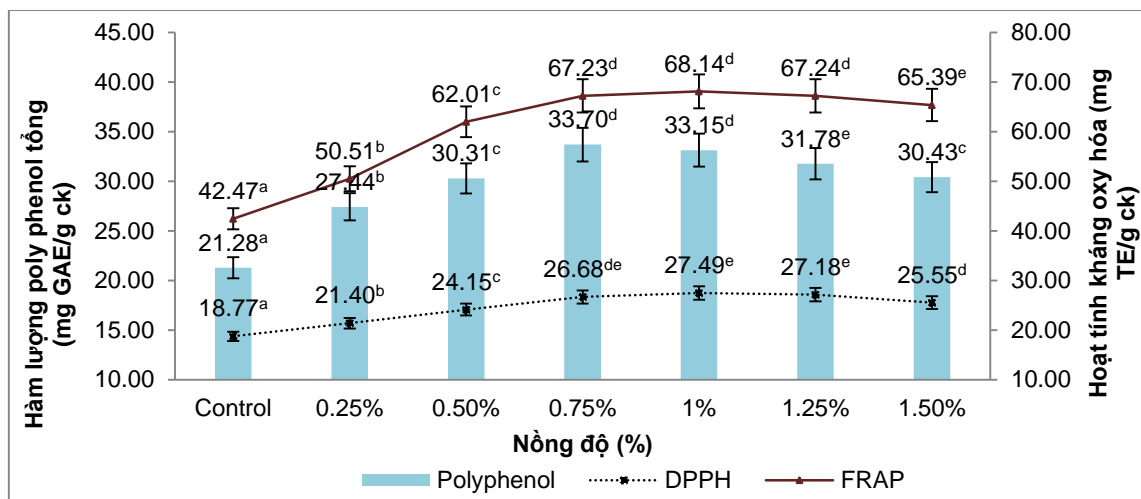
Kết quả ở hình 3.1 cho thấy hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa của sung tăng dần khi nồng độ acid citric tăng đến 1% và khi tiếp tục tăng nồng độ acid thì hoạt tính tăng không có ý nghĩa và sau đó giảm xuống. Cụ thể, hàm lượng polyphenol tăng dần khi xử lý trong dung dịch ngâm có nồng độ 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1% theo thứ tự là 20.40, 24.47, 28.77, 31.00, 36.58 (mg GAE/g ck), khi tiếp tục tăng nồng độ lên 1.5% thì hoạt tính giảm còn 34.81 (mg GAE/g ck). Hoạt tính kháng oxy hóa DPPH của sung các mẫu ngâm có nồng độ từ 0% đến 1% cũng tăng dần từ 17.64 (mg TE/g ck) đến 30.26 (mg TE/g ck), khi tiếp tục tăng nồng độ dung dịch ngâm lên 1.5% thì hoạt tính kháng oxy hóa DPPH của sung giảm còn 29.24 (mg TE/g ck). Tương tự, hoạt tính kháng oxy hóa FRAP của sung khi tăng nồng độ acid citric từ 0% đến 1% cũng tăng dần từ 41.69 đến 74.30 (mg TE/g ck), khi tiếp tục tăng nồng độ dung dịch ngâm lên 1.5% thì hoạt tính kháng oxy hóa FRAP của sung giảm còn 70.37 (mg TE/g ck).

Nguyên nhân của sự giảm hoạt tính sinh học có thể giải thích do khi nồng độ xử lý quá cao có thể dẫn đến hiện tượng giảm hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa do chênh lệch nồng độ chất tan, kết quả là giảm hoạt tính sinh học của sung khi gia tăng nồng độ xử lý [11]. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Nguyễn Văn Mười và đồng tác giả (2014) cho thấy rằng ngó sen ngâm trong dung dịch acid citric 1% giúp duy trì chất lượng sau 30 ngày bảo quản lạnh [11]. Nghiên cứu của Anyasi và đồng tác giả (2015) trên chuối chưa chín cũng cho thấy ở nồng độ tiền xử lý bằng acid citric 10g/L (tương đương 1%) thì hàm lượng polyphenol trong bột chuối thu được đạt giá trị cao nhất là 1130.39 ± 27.26 (mg GAE/g ck) [12]. Ngoài ra, nghiên cứu của Sritongtae và đồng tác giả (2017) cũng chỉ ra rằng hạt lúa (*Vigna umbellata*) trước khi nảy mầm được tiền xử lý với acid citric 1% (w/v) trong 6 giờ làm tăng đáng kể hàm lượng polyphenol và hoạt động chống oxy hóa từ 1.3 – 1.6 lần so với mẫu không trải qua tiền xử lý [13].

Kết luận: Từ kết quả thí nghiệm cho thấy, tiền xử lý với acid citric nồng độ 1% là phù hợp để giúp cho việc giữ hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa tối ưu nhất.

Ảnh hưởng của quá trình ngâm acid ascorbic

Acid ascorbic là một chất chống oxy hóa giúp duy trì trạng thái hoạt động cho nhiều hợp chất hoạt tính sinh học như vitamin E, flavonoid và một số phenol [14]. Ngoài ra, acid ascorbic còn là một trong những acid có khả năng chống các phản ứng oxy hóa và các phản ứng hóa nâu do enzyme. Quá trình hóa nâu do tác dụng của enzyme PPO không chỉ giới hạn ở sự thay đổi màu, mùi vị không mong muốn mà còn liên quan đến mất chất dinh dưỡng [15]. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ acid ascorbic lên sự thay đổi hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa của sung sau khi sấy được biểu diễn ở hình 3.2



Hình Error! No text of specified style in document..2 Ảnh hưởng của nồng độ acid ascorbic lên hoạt tính sinh học của Sung

(a,b,c,d,e: thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê theo phân tích ANOVA (α=5%))

Kết quả hình 3.2 cho thấy, hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa tăng khi xử lý tăng nồng độ acid ascorbic tăng dần đến 1% và khi tiếp tục tăng nồng độ acid thì hoạt tính tăng không có ý nghĩa và sau đó giảm xuống. Cụ thể, hàm lượng polyphenol tăng dần từ 21.28 (mg GAE/g ck) đến 33.15 (mg GAE/g ck) khi ngâm trong dung dịch acid ascorbic có nồng độ từ 0% đến 1%, khi tiếp tục tăng nồng độ dung dịch ngâm lên 1.5% thì hàm lượng polyphenol giảm xuống còn 30.43 (mg GAE/g ck). Đối với hoạt tính kháng oxy hóa DPPH, các mẫu ngâm dung dịch acid ascorbic nồng độ từ 0% đến 1% có giá trị tăng dần từ 18.77 (mg TE/g ck) đến 27.49 (mg TE/g ck), khi tiếp tục tăng nồng độ lên 1.25% và 1.5% thì hoạt tính kháng oxy hóa DPPH giảm dần theo thứ tự là 27.18 (mg TE/g ck) và 25.55 (mg TE/g ck). Tương tự, hoạt tính kháng oxy hóa FRAP của sung khi tăng nồng độ từ 0% đến 1% hoạt tính kháng oxy hóa FRAP cũng tăng dần từ 42.47 đến 68.14 (mg TE/g ck), khi tiếp tục tăng nồng độ dung dịch ngâm lên 1.5% thì hoạt tính kháng oxy hóa FRAP của sung giảm còn 65.39 (mg TE/g ck).

Như nghiên cứu của Sikora và Świeca (2018), tiền xử lý bằng acid ascorbic làm tăng khả năng tiếp cận sinh học tiềm năng của các phenol và ức chế hiệu quả hoạt động của polyphenol oxidase [14]. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ acid ascorbic lên cao có thể xảy ra sự giảm hoạt tính sinh học. Nguyên nhân có thể được giải thích là do khi nồng độ tăng cao làm cho acid ascorbic bị phân hủy theo oxy không khí, ánh sáng, pH và nhiệt độ môi trường. Sự suy thoái của acid ascorbic cũng dẫn đến sự giảm chất lượng dinh dưỡng cũng như thay đổi màu sắc [16]. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Yen và đồng tác giả (2008) đã sử dụng acid ascorbic xử lý mẫu cà rốt, cho kết quả tổng hàm lượng phenolic cao hơn so với mẫu không ngâm trong acid ascorbic lần lượt là $3,71 \pm 0,17$ (mgGAE/g ck) và $3,34 \pm 0,15$ (mgGAE/g ck) [17]. Altukaya và Gökmen (2008) cũng chỉ ra rằng acid ascorbic giúp làm tăng tổng hoạt tính chống oxy hóa và giúp ngăn chặn sự hóa nâu của rau diếp [18].

Kết luận: Từ kết quả thí nghiệm cho thấy, tiền xử lý với acid ascorbic nồng độ 1% là phù hợp để giúp cho việc giữ hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa tối ưu nhất.

So sánh hiệu quả của 2 phương pháp xử lý bằng acid

Từ kết quả thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của 2 phương pháp xử lý bằng acid ở mục 3.2.1 và 3.2.2 ta thấy rằng cả 2 phương pháp ngâm acid citric 1% và acid ascorbic 1% đều cho kết quả hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn so với các nồng độ còn lại. Tuy nhiên, phương pháp xử lý bằng acid citric 1% cho thấy hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn so với xử lý bằng acid ascorbic 1%. Cụ thể, mẫu xử lý bằng acid citric 1% có hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa DPPH, FRAP lần lượt là 36.58 (mg GAE/g ck) và 30.26, 74.30 (mg TE/g ck) cao hơn so với mẫu xử lý bằng acid ascorbic 1% có hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa DPPH, FRAP lần lượt là 33.15 (mg GAE/g

ck) và 27.49, 68.14 (mg TE/g ck). Như vậy có thể thấy rằng phương pháp tiền xử lý bằng acid citric 1% là phù hợp nhất giúp sản phẩm có hoạt tính kháng oxy hóa cao khi xử lý sung dạng lát mỏng.

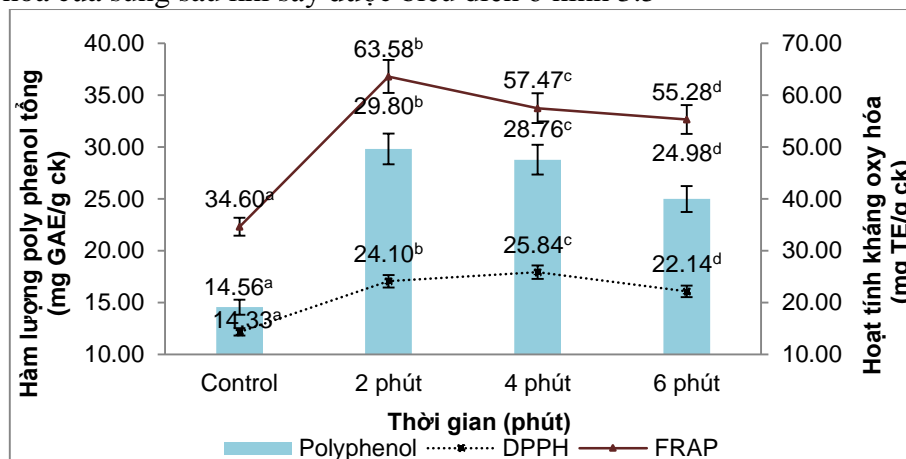
Kết quả khảo sát ảnh hưởng của quá trình chần kết hợp với đông lạnh

Chần là quá trình được thực hiện trước khi sấy nhằm mục đích cấp nhiệt và hỗ trợ phá vỡ các tế bào bên trong nguyên liệu giúp cho quá trình sấy được thoát ẩm nhanh hơn. Chần làm tăng tốc độ sấy khô do làm mềm cấu trúc và phá hủy thành tế bào, dẫn đến khả năng chống chuyển động của hơi ẩm thấp hơn trong quá trình sấy, làm giảm thời gian sấy và tiêu thụ năng lượng [19].

Đông lạnh sau khi chần giúp giảm nhiệt độ xuống dưới điểm đóng băng của sản phẩm cho phép ức chế các quá trình trao đổi chất xảy ra sau khi thu hoạch và làm chậm động học của sự phát triển vi sinh vật và các phản ứng phân hủy chất lượng [20]

Ảnh hưởng của quá trình chần bằng hơi nước kết hợp với đông lạnh lên nguyên liệu

Trong thí nghiệm này, 100g nguyên liệu đã cắt lát, ngâm trong dung dịch acid citric 1% trong 20 phút, sau đó được vớt ra để ráo rồi chần bằng hơi nước được khảo sát ở các mức thời gian 2, 4, 6 phút. Nguyên liệu sau khi chần được làm nguội bằng nước lạnh và làm ráo trong vòng 2 – 3 phút sẽ được đem đi đông lạnh. Sau khi đã đông, sung sẽ được rã đông và đem đi sấy ở nhiệt độ 60°C. Sung sau khi sấy được xay nhuyễn thành bột và phân tích các chỉ tiêu (hàm lượng polyphenol tổng và hoạt tính kháng oxy hóa). Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chần bằng hơi nước kết hợp với đông lạnh lên sự thay đổi hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa của sung sau khi sấy được biểu diễn ở hình 3.5



Hình.3: Ảnh hưởng của thời gian chần hơi nước kết hợp đông lạnh lên hoạt tính sinh học của sung

(^{a,b,c,d}: thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê theo phân tích ANOVA ($\alpha=5\%$))

Theo kết quả ở hình 3.5 ta thấy rằng ở các mức thời gian chần khác nhau các giá trị hoạt tính sinh học có sự thay đổi. Ở thời gian chần 2 phút, hàm lượng các hợp chất sinh học đạt giá trị cao hơn ở các thời gian chần 4 và 6 phút. Cụ thể, mẫu chần hơi 2 phút có hàm lượng polyphenol là 29.80 (mg GAE/g ck), mẫu chần 4 phút và 6 phút có giá trị lần lượt là 28.76 (mg GAE/g ck) và 24.98 (mg GAE/g ck). Hoạt tính kháng oxy hóa DPPH đạt giá trị cao nhất ở mẫu chần 4 phút là 25.84 (mg TE/g ck), mẫu chần 2 phút và 6 phút có các giá trị lần lượt là 24.10 và 22.14 (mg TE/g ck). Đối với hoạt tính kháng oxy hoá FRAP, sự chênh lệch được thể hiện tương tự như hàm lượng polyphenol, mẫu chần trong 2 phút có hoạt tính cao nhất là 63.58 (mg TE/g ck), mẫu chần 4 và 6 phút cũng có sự giảm hoạt tính còn 57.47 và 55.28 (mg TE/g ck). Mẫu không chần cho thấy hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa thấp nhất với các giá trị polyphenol, DPPH, FRAP tương ứng là 14.56 (mg GAE/g ck), 14.33 (mg TE/g ck), 34.60 (mg TE/g ck).

Sự tăng hoạt tính sinh học khi xử lý chần hơi nước kết hợp với đông lạnh có thể giải thích là do những hợp chất sinh học tồn tại dưới dạng liên kết trong màng tế bào thực vật có thể được giải phóng trong quá trình xử lý chần và đông lạnh, do đó có sự gia tăng những hợp chất sinh học sau quá trình chế biến so với sản phẩm tươi [21]. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của

Dương Kim Thanh và đồng tác giả (2016) đã chỉ ra rằng phương pháp kết hợp chân hơi nước với đông lạnh cho hàm lượng các hợp chất sinh học (tổng polyphenol, flavonoid) và hoạt tính chống oxy hóa cao hơn so với nguyên liệu tươi. Cụ thể, tổng hàm lượng polyphenol (5,181 mgGAE/g ck), flavonoid (1,438 mgQE/g ck) và hoạt tính loại trừ gốc tự do (64,148%) cao hơn hàm lượng polyphenol (4,041 mgGAE/g ck), flavonoid (1,199 mgQE/g) và hoạt tính loại trừ gốc tự do (53,993%) của mẫu đối chứng[22]. Theo Heras-Ramírez và đồng tác giả (2012), chân trước khi đông lạnh giúp lưu giữ về màu sắc, tổng hàm lượng phenolic và các hoạt tính kháng oxy hóa [23].

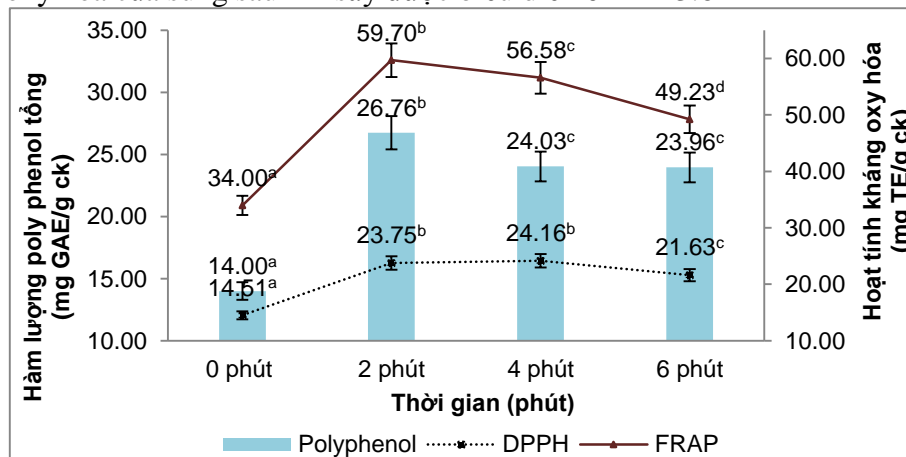
Kết luận: Từ kết quả thí nghiệm cho thấy, khi kết hợp với quá trình đông lạnh thì chân hơi trong 2 phút là biện pháp tiền xử lý hiệu quả cho hàm lượng các hợp chất sinh học và khả năng chống oxy hóa cao.

Ảnh hưởng của quá trình chân bằng nước nóng kết hợp đông lạnh

Chân bằng nước nóng đã được áp dụng rộng rãi để tiền xử lý nông sản để nâng cao tốc độ sấy và nâng cao chất lượng sản phẩm bằng cách thay đổi các đặc tính vật lý của mẫu như tính thấm thấu của màng tế bào, phân tách sáp và hình thành các vết nứt nhỏ trên bề mặt của sản phẩm [19].

3.2.2.1 Ảnh hưởng của thời gian chân bằng nước nóng 80°C kết hợp với đông lạnh lên nguyên liệu

Trong thí nghiệm này, 100g nguyên liệu đã cắt lát, ngâm trong dung dịch acid citric 1% trong 20 phút, sau được vớt ra để ráo rồi chân trong nước nóng 80°C được khảo sát ở các mức thời gian 2, 4, 6 phút. Nguyên liệu sau khi chân được làm nguội bằng nước lạnh và làm ráo trong vòng 2 – 3 phút sẽ được đem đi đông lạnh. Sau khi đã đông, sung sẽ được rã đông và đem đi sấy ở nhiệt độ 60°C. Sung sau khi sấy được xay nhuyễn thành bột và phân tích các chỉ tiêu (hàm lượng polyphenol tổng và hoạt tính kháng oxy hóa). Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chân trong nước nóng kết hợp với đông lạnh lên sự thay đổi hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa của sung sau khi sấy được biểu diễn ở hình 3.6



Hình Error! No text of specified style in document. 4 Ảnh hưởng của thời gian chân nước nóng 80°C kết hợp đông lên hoạt tính sinh học của Sung

(^{a,b,c,d}: thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê theo phân tích ANOVA ($\alpha=5\%$))

Theo kết quả ở hình 3.6 cho thấy thời gian chân bằng nước nóng có ảnh hưởng đến hàm lượng các hợp chất sinh học. Ở các mức thời gian chân khác nhau không có nhiều khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Tuy nhiên ở thời gian chân 2 phút, hàm lượng các hợp chất sinh học đạt giá trị cao hơn ở các thời gian chân 4 và 6 phút. Cụ thể, mẫu được chân bằng nước nóng 80°C trong thời gian 2 phút có hàm lượng polyphenol cao nhất là 26.76 (mg GAE/g ck), tiếp theo ở mẫu chân 4 phút và 6 phút không có sự chênh lệch nhiều về hàm lượng polyphenol lần lượt là 24.03(mg GAE/g d.b) và 23.96 (mg GAE/g ck). Hoạt tính kháng oxy hóa DPPH của mẫu chân trong 4 phút là 24.16 (mg TE/g ck) cao hơn so với mẫu chân 2 phút và 6 phút với các giá trị lần lượt là 23.75 và 21.63 (mg TE/g ck). Đối với hoạt tính kháng oxy hoá FRAP, sự chênh lệch được thể hiện tương tự như hàm lượng polyphenol, mẫu chân trong 2 phút có hoạt tính cao nhất là 59.70 (mg TE/g ck), mẫu chân 4 và 6 phút cũng có sự giảm hoạt tính còn 56.58 và 49.23 (mg

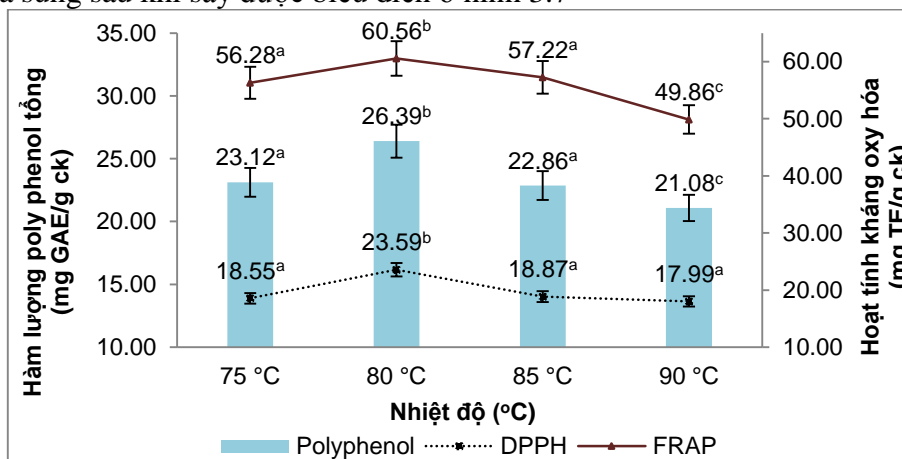
TE/g ck). Mẫu không chần cho thấy hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa thấp nhất với các giá trị polyphenol, DPPH, FRAP tương ứng là 14.00 (mg GAE/g ck), 14.51 (mg TE/g ck), 34.00 (mg TE/g ck).

Nguyên nhân của sự gia tăng hoạt tính sinh học khi chần nước nóng kết hợp với đông lạnh có thể là do khi đông lạnh cấu trúc tế bào thực vật bị phá vỡ tạo ra những vết thương trên nguyên liệu. Khi đó thực vật phản ứng với vết thương nhờ sự gia tăng của các hợp chất phenolic liên quan đến việc chữa vết thương và bảo vệ chống lại sự xâm nhập của vi sinh vật dẫn đến hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học tăng lên đáng kể [24]. Kết quả này tương tự với thí nghiệm của Patras và đồng tác giả (2011) trên nguyên liệu cà rốt, bắp cải và đậu xanh đã chỉ ra rằng các mẫu được xử lý chần bằng nước nóng kết hợp đông lạnh có khả năng duy trì hoạt tính chống oxy hóa và acid ascorbic tốt hơn so với các mẫu đông lạnh không chần khi bảo quản lạnh (4°C) trong 7 ngày [24]. Theo Paciulli và đồng tác giả (2015) chần nước làm tăng đáng kể hoạt tính chống oxy hóa khử sắt của thân măng tây và đậu xanh đông lạnh so với mẫu tươi [25].

Kết luận: Từ kết quả thí nghiệm ta thấy khi kết hợp với quá trình đông lạnh thì chần bằng nước nóng nhiệt độ 80°C trong thời gian 2 phút là biện pháp tiền xử lý hiệu quả cho hàm lượng các hợp chất sinh học và khả năng chống oxy hóa cao.

Ảnh hưởng của nhiệt độ chần bằng nước nóng lên nguyên liệu

Trong thí nghiệm này, 100g nguyên liệu đã cắt lát được chần trong nước ở các mức nhiệt độ khảo sát 75, 80, 85, 90°C trong khoảng thời gian 2 phút. Sau đó, nguyên liệu được làm nguội bằng nước lạnh và làm ráo trong vòng 2 – 3 phút sẽ được đem đi đông lạnh. Sau khi đã đông, sung sẽ được rã đông và đem đi sấy ở nhiệt độ 60°C. Sung sau khi sấy được xay nhuyễn thành bột và phân tích các chỉ tiêu (hàm lượng polyphenol tổng và hoạt tính kháng oxy hóa). Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ chần lên sự thay đổi hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa của sung sau khi sấy được biểu diễn ở hình 3.7



Hình Error! No text of specified style in document..5 Ảnh hưởng của nhiệt độ chần bằng nước nóng trong 2 phút lên hoạt tính sinh học của Sung

(^{a,b,c}: thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê theo phân tích ANOVA ($\alpha=5\%$))

Kết quả ở hình 3.7 cho thấy các mẫu chần bằng nước nóng mẫu chần trong nước nóng ở 80°C có hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp khử gốc tự do DPPH và phương pháp khử sắt FRAP cao nhất. Cụ thể, hàm lượng polyphenol là 26.39 (mg GAE/g ck), hoạt tính kháng oxy hóa DPPH và FRAP lần lượt là 23.59 và 60.56 (mg TE/g ck). Mẫu chần bằng nước nóng ở nhiệt độ 90°C hàm lượng polyphenol, hoạt tính kháng oxy hóa DPPH và FRAP thấp nhất so với các mẫu còn lại. Mẫu chần bằng nước nóng ở nhiệt độ 75°C và 85°C hàm lượng polyphenol, hoạt tính kháng oxy không có sự chênh lệch nhiều. Cụ thể hàm lượng polyphenol của mẫu chần ở 75°C và 85°C lần lượt là 23.12 và 22.86 (mg GAE/g ck), hoạt tính kháng oxy hóa DPPH, FRAP lần lượt là 18.55, 56.28 (mg TE/g ck) đối với mẫu chần ở 75°C và 18.87, 57.22 (mg TE/g ck) đối với mẫu chần ở 85°C.

Nguyên nhân của sự thay đổi hoạt tính sinh học này là do khi tăng nhiệt độ chần hàm lượng polyphenol bị thất thoát sẽ cao hơn do sự biến đổi của các hợp chất polyphenol dưới tác động

nhiệt ở nhiệt độ cao, khi chần ở nhiệt độ thích hợp giúp giải phóng các liên kết của acid phenolic hoặc làm mềm các thành phần của tế bào thực vật dẫn đến hàm lượng các chất chống oxy hóa tăng. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Heras-Ramírez và đồng tác giả (2012) chỉ ra rằng vỏ táo được xử lý chần ở 80°C trước khi sấy tạo ra sản phẩm có tổng lượng phenolic, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa cao đáng kể [23]. Theo Gonçalves và đồng tác giả (2010) chần nước nóng 80°C giúp duy trì hàm lượng phenolic cao nhất đối với nguyên liệu cà rốt (Gonçalves et al., 2010). Tương tự, Nissreen Abu-Ghannam và đồng tác giả thấy rằng nhiệt độ chần từ 80- 90°C làm tổn thất hàm lượng polyphenol lên đến 45% trong thời gian 2 phút đối với nguyên liệu bắp cải [26]

Kết luận: Như vậy khi kết hợp với quá trình đông lạnh thì chần nước nóng ở nhiệt độ 80°C với thời gian chần nước 2 phút là biện pháp tiền xử lý hiệu quả cho hàm lượng các hợp chất sinh học và hoạt tính kháng oxy hóa cao.

So sánh 2 phương pháp chần khi kết hợp với đông lạnh

Từ 2 thí nghiệm khảo sát quá trình chần kết hợp với đông lạnh ở mục 3.2.1 và 3.2.2 ta thấy rằng khi kết hợp với quá trình đông lạnh cả 2 phương pháp: chần bằng hơi nước trong thời gian 2 phút và chần bằng nước nóng 80°C trong thời gian 2 phút đều có tác dụng hiệu quả trong việc giữ hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa cao. Tuy nhiên, so với phương pháp chần bằng nước nóng thì phương pháp chần bằng hơi nước giúp giữ lại hầu hết các khoáng chất và các thành phần hòa tan trong nước hạn chế hao hụt chất dinh dưỡng. Chần hơi tương đối rẻ và tiết kiệm năng lượng hơn so với chần bằng nước nóng. Ngoài ra, nước thải thải ra từ quá trình chần nước nóng chứa hàm lượng chất sinh hóa cao, chất rắn hòa tan do rửa trôi và hòa tan đường, protein, cacbohydrat và các chất khoáng hòa tan trong nước có thể gây ô nhiễm môi trường nếu không được xử lý tốt trước khi thải ra ngoài [27]. Như vậy có thể thấy rằng phương pháp tiền xử lý chần bằng hơi nước kết hợp đông lạnh có nhiều ưu điểm hơn so với phương pháp chần bằng nước nóng khi xử lý Sung dạng lát mỏng.

Kết luận

Từ kết quả của nghiên cứu, có thể đưa ra kết luận rằng tiền xử lý có ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa của Sung. Cụ thể, khi xử lý ngâm acid, Sung ngâm trong dung dịch acid citric 1% là phù hợp để giúp cho việc giữ hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa tối ưu nhất. Đối với phương pháp chần kết hợp đông lạnh, chần bằng hơi nước với thời gian chần 2 phút trước khi đông lạnh cho hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa cao đồng thời giúp giữ lại hầu hết các khoáng chất và các thành phần hòa tan trong nước, hạn chế hao hụt chất dinh dưỡng so với chần nước nóng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Phạm Thị Oanh, Đỗ Thị Xuyên, Đỗ Văn Hải, and Nguyễn Trung Thành, “Ficus squamosa Roxb.(Họ Dâu tằm-Moraceae) được ghi nhận mới cho hệ thực vật Việt Nam,” 2017.
- R. Veberic and M. Mikulic-petkovsek, *Phytochemical Composition of Common Fig (Ficus carica L .) Cultivars*. Elsevier Inc., 2013.
- G. K. Chaware, V. Kumar, S. Kumar, and P. Kumar, “Bioactive compounds, pharmacological activity and food application of ficus racemosa: a critical review,” *Int. J. Fruit Sci.*, vol. 20, no. sup2, pp. S969–S986, 2020.
- P. Deep, A. K. Singh, M. T. Ansari, and P. Raghav, “Pharmacological potentials of Ficus racemosa—a review,” *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, vol. 22, no. 1, pp. 29–34, 2013.
- K. Murti and U. Kumar, “Enhancement of wound healing with roots of Ficus racemosa L. in albino rats,” *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, vol. 2, no. 4, pp. 276–280, 2012.
- F. Ahmed and A. Urooj, “Traditional uses, medicinal properties, and phytopharmacology of Ficus racemosa: A review,” *Pharm. Biol.*, vol. 48, no. 6, pp. 672–681, 2010.
- C. V Rao, A. R. Verma, M. Vijayakumar, and S. Rastogi, “Gastroprotective effect of standardized extract of Ficus glomerata fruit on experimental gastric ulcers in rats,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 115, no. 2, pp. 323–326, 2008.
- Y. S. Velioglu, G. Mazza, L. Gao, and B. D. Oomah, “Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 46, no. 10,

- pp. 4113–4117, 1998.
- A. Braca, N. De Tommasi, L. Di Bari, C. Pizza, M. Politi, and I. Morelli, “Antioxidant principles from *Bauhinia t. arapotensis*,” *J. Nat. Prod.*, vol. 64, no. 7, pp. 892–895, 2001.
- Y. Jiang, L. Pen, and J. Li, “Use of citric acid for shelf life and quality maintenance of fresh-cut Chinese water chestnut,” *J. Food Eng.*, vol. 63, no. 3, pp. 325–328, 2004.
- N. V. Mùì, T. T. Trúç, and T. T. Trúç, “ẢNH HƯỞNG CỦA TIỀN XỬ LÝ VÀ PHƯƠNG THỨC BẢO QUẢN ĐẾN SỰ ỔN ĐỊNH MÀU SẮC VÀ ĐẶC TÍNH CẤU TRÚC CỦA NGÓ SEN SAU THU HOẠCH,” *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, pp. 116–123, 2014.
- T. A. Anyasi, A. I. O. Jideani, and G. R. A. Mchau, “Effect of organic acid pretreatment on some physical, functional and antioxidant properties of flour obtained from three unripe banana cultivars,” *Food Chem.*, vol. 172, pp. 515–522, 2015.
- B. Sritongtae, T. Sangsukiam, M. R. A. Morgan, and K. Duangmal, “Effect of acid pretreatment and the germination period on the composition and antioxidant activity of rice bean (*Vigna umbellata*),” *Food Chem.*, vol. 227, pp. 280–288, 2017.
- M. Sikora and M. Świeca, “Effect of ascorbic acid postharvest treatment on enzymatic browning, phenolics and antioxidant capacity of stored mung bean sprouts,” *Food Chem.*, vol. 239, pp. 1160–1166, 2018.
- M. Inam-ur-Raheem, M. Saeed, H. K. W. Aslam, A. Shakeel, M. S. Raza, and F. Afzal, “Effect of various minimal processing treatments on quality characteristics and nutritional value of spinach,” *Natl. Inst. Food Sci. Technol. Univ. Agric. Faisalabad*, vol. 3, no. 2–3, pp. 76–83, 2015.
- A. Altunkaya and V. Gökmen, “Effect of various anti-browning agents on phenolic compounds profile of fresh lettuce (*L. sativa*),” *Food Chem.*, vol. 117, no. 1, pp. 122–126, 2009.
- Y.-H. Yen, C.-H. Shih, and C.-H. Chang, “Effect of adding ascorbic acid and glucose on the antioxidative properties during storage of dried carrot,” *Food Chem.*, vol. 107, no. 1, pp. 265–
- A. Altunkaya and V. Gökmen, “Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*),” *Food Chem.*, vol. 107, no. 3, pp. 1173–1179, 2008.
- L.-Z. Deng *et al.*, “Chemical and physical pretreatments of fruits and vegetables: Effects on drying characteristics and quality attributes—a comprehensive review,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 59, no. 9, pp. 1408–1432, 2019.
- R. Puupponen-Pimiä *et al.*, “Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 83, no. 14, pp. 1389–1402, 2003.
- S. Y. Leong and I. Oey, “Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables,” *Food Chem.*, vol. 133, no. 4, pp. 1577–1587, 2012.
- Dương Kim Thanh and Nguyễn Minh Thủy, “Ảnh hưởng của phương pháp tiền xử lý đến các hợp chất có hoạt tính sinh học và khả năng loại trừ gốc tự do trong tỏi,” 2016.
- M. E. Heras-Ramírez *et al.*, “Effect of blanching and drying temperature on polyphenolic compound stability and antioxidant capacity of apple pomace,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 5, no. 6, pp. 2201–2210, 2012.
- A. Patras, B. K. Tiwari, and N. P. Brunton, “Influence of blanching and low temperature preservation strategies on antioxidant activity and phytochemical content of carrots, green beans and broccoli,” *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 44, no. 1, pp. 299–306, 2011.
- M. Paciulli *et al.*, “Impact of the industrial freezing process on selected vegetables—Part I. Structure, texture and antioxidant capacity,” *Food Res. Int.*, vol. 74, pp. 329–337, 2015.
- N. Abu-Ghannam and A. K. Jaiswal, “Blanching as a treatment process: effect on polyphenol and antioxidant capacity of cabbage,” in *Processing and impact on active components in food*, Elsevier, 2015, pp. 35–43.
- H. W. Xiao *et al.*, “Recent developments and trends in thermal blanching – A comprehensive

review,” *Inf. Process. Agric.*, vol. 4, no. 2, pp. 101–127, 2017, doi: 10.1016/j.inpa.2017.02.001.

**ẢNH HƯỞNG TỶ LỆ PHỐI TRỘN GIÁ THỂ VÀ QUY CÁCH HOM ĐẾN
SINH TRƯỞNG CÂY KIM TIỀN THẢO (*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.)
TRONG ĐIỀU KIỆN VƯỜM ƯƠM**

Nguyễn Văn Linh

Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM

*Tác giả liên hệ: 17113903@st.hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Để xác định được tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom thích hợp trong nhân giống kim tiền thảo bằng phương pháp giâm hom. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu lô phụ, ba lần lặp lại, 12 nghiệm thức, 36 ô cơ sở với 30 hom/ô. Lô chính là ba quy cách hom giống: hom hai mắt, hom ba mắt và hom bốn mắt; lô phụ là bốn loại giá thể: 100% đất, 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng, nghiệm thức và 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng.

Ở 60 NSG, hom ba mắt (H2) và hom bốn mắt (H3) cho kết quả tốt lần lượt: thời gian bắt đầu nảy chồi (16,4 NSG; 16,3 NSG), tỷ lệ hom sống (92,5%; 95,9%), chiều cao chồi (3,9 cm; 4,6 cm), số rễ/hom (38,4 rễ/hom; 37,3 rễ/hom), chiều dài rễ dài nhất (39,8 cm; 51,6 cm), khối lượng rễ tươi (14,6 g/hom; 17,5 g/hom), khối lượng rễ khô (1,6 g/hom; 1,7 g/hom), tỷ lệ xuất vườn (72,3%; 88,6%). Giữa các tỷ lệ phối trộn giá thể, sử dụng giá thể nghiệm thức G4) cho kết quả tốt: chiều cao chồi là 4,4 cm, đường kính chồi 2,4 mm, số lá trên chồi 3,4 lá/chồi, số lá trên hom 7 lá/hom.

Ở 60 NSG, hom hai mắt (H1) giâm trong giá thể nghiệm thức G1) cho giá thành cây con cao nhất 13.641 đồng/hom và tỷ lệ xuất vườn thấp nhất 20%. Hom bốn mắt (H3) giâm trong giá thể nghiệm thức G1) cho giá thành cây con thấp nhất là 4.136 đồng/hom với tỷ lệ xuất vườn là 72%. Hom bốn mắt (H3) giâm trong giá thể nghiệm thức G4) cho giá thành cây con là 4.506 đồng/hom với tỷ lệ hom sống cao nhất 100%.

**EFFECTS OF MIXING RATE OF PRICE AND GROWTH ON GROWTH OF
DENSMODIUM (*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.) IN NARRATORY
CONDITIONS**

Nguyen Van Linh

Nong Lam University in Ho Chi Minh City

* Corresponding Author: 17113903@st.hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Thesis "Effect of mixing ratio of medium and cutting specifications on growth of primrose (*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.) in nursery conditions".

To determine the appropriate ratio of mixed medium and cuttings in propagation of primrose by cuttings method. The two-factor experiment was arranged in subplots, three replicates, 12 treatments, 36 base plots with 30 cuttings/plot. The main plot is three specifications: two-eyed cuttings, three-eyed cuttings and four-eyed cuttings; sub plots are four types of substrate: 100% soil, 50% soil + 20% coir + 30% manure, 50% soil + 30% coir + 20% manure and 50% soil + 40% coir + 10 % manure.

At 60 NSG, three-eyed cuttings (H2) and four-eyed cuttings (H3) gave good results, respectively: time to budding (16.4 NSG; 16.3 NSG), survival rate (92.5 NSG) %; 95.9%), shoot height (3.9 cm; 4.6 cm), number of roots/cutting (38.4 roots/cutting; 37.3 roots/cut), longest root length (39 0.8 cm; 51.6 cm), fresh root weight (14.6 g/cutting; 17.5 g/cutting), dry root weight (1.6 g/cutting; 1.7 g/cutting), the rate of garden release (72.3%; 88.6%). Between the mixing ratios, using a medium of 50% soil + 40% coir + 10% manure (G4) gave good results: shoot height was 4.4 cm, shoot diameter was 2.4 mm. , the number of leaves on the shoot is 3.4 leaves/bud, the number of leaves on the cutting is 7 leaves/cut.

At 60 NSG, two-eyed cuttings (H1) planted in 100% soil medium (G1) gave the highest seedling cost of 13,641 VND/cut and the lowest yield rate of 20%. Four-eyed cuttings (H3) planted in

100% soil medium (G1) gave the lowest seedling cost of 4,136 VND/cutting with the yield rate of 72%. Four-eyed cuttings (H3) cut in the medium with 50% soil + 40% coir + 10% manure (G4) gave a seedling cost of 4,506 VND/cutting with the highest survival rate of 100%

MỞ ĐẦU

Kim tiền thảo (*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.) (còn được gọi là cây vẩy rồng, cây mắt trâu, đậu vẩy rồng, đuôi chồn quả cong) là cây dược liệu mọc hoang dại ở vùng núi, có tác dụng lợi tiểu, lợi mật, kháng sinh, hạ huyết áp, đặc biệt thường dùng chữa sỏi thận, sỏi bàng quang.

Trong những năm gần đây do nhu cầu tăng cao nên cây kim tiền thảo được trồng ở các tỉnh miền núi và trung du để làm thuốc. Ngày nay, tác dụng dược tính của cây kim tiền thảo đã được chứng minh nên nhu cầu sử dụng cây kim tiền thảo làm thuốc ngày càng tăng. Để đáp ứng nhu cầu sử dụng của người dân thì nhu cầu ở đây chính là nguồn nguyên liệu dồi dào. Tuy nhiên, hiện nay các nghiên cứu về kỹ thuật trồng kim tiền thảo còn hạn chế.

Trong quy trình nhân giống và canh tác cây kim tiền thảo tuy giai đoạn vườn ươm có thời gian ngắn nhưng có ý nghĩa rất quan trọng và quyết định đến sức sống, chất lượng và độ đồng đều của cây giống kim tiền thảo. Do đó, việc tìm ra tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống thích hợp sẽ giúp cho việc cung cấp hom giống kim tiền thảo đồng loạt và chất lượng hơn.

Xuất phát từ nhu cầu trên, đề tài “Ảnh hưởng tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom đến sinh trưởng cây kim tiền thảo (*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.) trong điều kiện vườn ươm” đã được tiến hành.

2.VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu thí nghiệm

2.1.1 Vật liệu phối trộn giá thể

* Đất được lấy ở tầng đất mặt có độ sâu 0 - 20 cm tại vườn thực vật Củ Chi

* Xơ dừa được thu mua từ cơ sở kinh doanh cây cảnh trên địa bàn quận Thủ Đức. Sau khi thu mua về tiến hành xử lý bằng nước vôi Ca(OH)_2 2% trong 15 ngày để khử hàm lượng lignin có trong xơ dừa.

*Phân chuồng đã được ủ hoai mục thu mua từ các trang trại chăn nuôi.

Bảng 2.1 Đặc điểm lý hóa tính của các vật liệu tạo giá thể sau khi xử lý

TT	Chỉ tiêu phân tích		Ký hiệu mẫu		
			Mẫu đất	Xơ dừa	Phân bò
1	H_2O	pH (1:5)	4.84	5.22	6.02
2	KCl		4.02	4.11	5.23
3	Mùn		2.04	4.19	7.73
4	N	tổng số (%)	0.11	0.46	1.18
5	P		0.08	0.26	0.68
6	K		0.03	0.08	1.16
7	C/N		9.05	4.51	3.28
8	Ca^{2+}	Cation (me/100g)	2.00	3.08	6.39
9	Mg^{2+}		1.75	2.00	5.75
10	Độ no Bazo	(%)	62.50		
11	CEC	(meq/100g)	16.15		
12	Dung trọng	(g/cm^3)	1.38		
13	Tỷ trọng	(g/cm^3)	2.51		
14	Độ xốp	(%)	44.94		
15	Thành phần cơ giới (%)	Sét <0.002mm	12.68		
		Thịt 0.02-0.002mm	48.56		

		Cát 0.02-2mm	38.76		
--	--	---------------------	-------	--	--

(Bộ môn Sinh thái - Môi trường rừng, Viện khoa học Lâm nghiệp Nam Bộ, 2020)

Kết quả Bảng 2.2 cho thấy, giá thể đất thuộc đất thịt pha cát, chua vừa. Đất có lượng mùn trung bình, mức độ phân giải chất hữu cơ trung bình. Đạm tổng số trong đất rất nghèo, lân tổng số trong đất thuộc mức khá, kali tổng số trong đất rất nghèo.

Xơ dừa có mức độ phân giải chất hữu cơ rất kém, xơ dừa có $pH_{H2O} = 5,22$ thuộc chua vừa, kali tổng số trong xơ dừa ở mức, lân tổng số trong xơ dừa giàu. Phân bò có lượng mùn giàu, mức độ phân giải chất hữu cơ rất kém, đạm tổng số và lân tổng số trong phân bò giàu, kali tổng số ở mức khá (Bảng 2.2).

2.3.2 Hom giống kim tiền thảo: Giống kim tiền thảo được thu từ vườn thực vật Củ Chi.

2.4 Phương pháp thí nghiệm

2.4.1 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu lô phụ (SPD - Split Plot Design), 12 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, mỗi ô cơ sở có 30 hom, số hom tham gia thí nghiệm là 1080 hom. Trong đó:

G: là yếu tố giá thể, H: là yếu tố hom giống

Yếu tố lô phụ: là giá thể, có 4 loại giá thể được kí hiệu G1, G2, G3, G4:

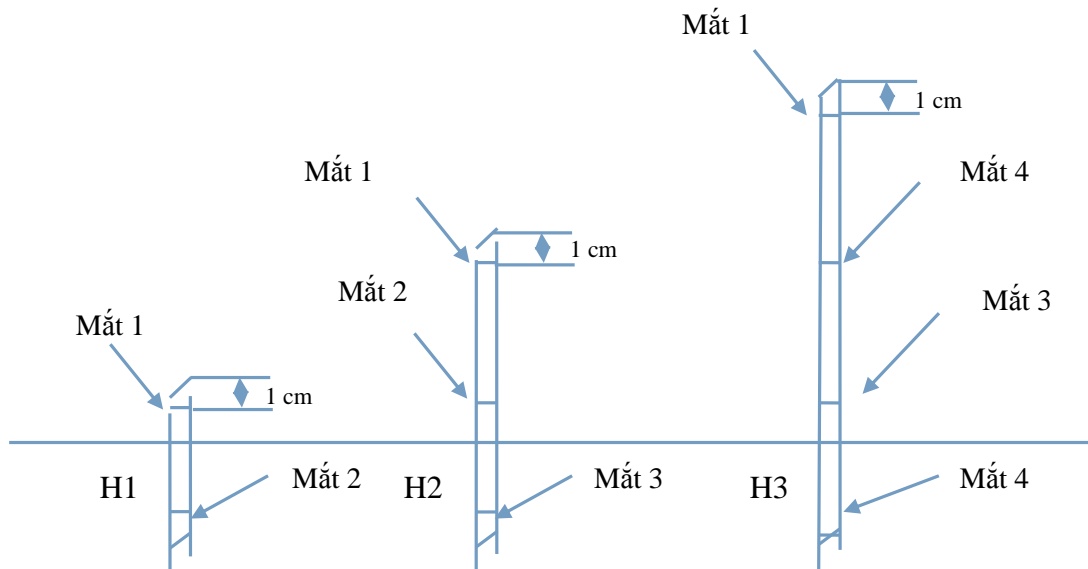
+ G1: 100% đất, G2: 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng, G3: 50% đất + 30% xơ dừa + 20% phân chuồng, G4: 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng

Yếu tố lô chính: có 3 quy cách hom giống khác nhau kí hiệu H1, H2, H3:

+ H1: hom hai mắt, cắt trên mắt thứ nhất 0,5 – 1,0 cm và dưới mắt thứ hai khoảng 0,5 – 1,0 cm; được cắm vào chậu đến dưới vị trí mắt thứ nhất (Hình 2.1)

+ H2: hom ba mắt, cắt trên mắt thứ nhất 0,5 – 1,0 cm và dưới mắt thứ ba 0,5 – 1,0 cm; được cắm vào chậu đến dưới vị trí mắt thứ hai (Hình 2.1)

+ H3: hom bốn mắt, cắt trên mắt thứ nhất 0,5 – 1,0 cm và dưới mắt thứ tư 0,5 – 1,0 cm; được cắm vào chậu đến dưới vị trí mắt thứ ba (Hình 2.1)



Hình 2.1 Quy cách giâm hom

Số nghiệm thức thí nghiệm: 3 quy cách hom x 4 tỷ lệ phối trộn giá thể = 12 nghiệm thức; số ô thí nghiệm: 12 nghiệm thức x 3 lần lặp lại = 36 ô; kích thước ô thí nghiệm: 30 chậu/ô; giâm 1 hom/chậu. Tổng thí nghiệm: 30 chậu/ô x 36 ô = 1080 chậu.

H2	H1	H3		H1	H3	H2		H3	H2	H1
G3	G4	G1		G2	G3	G4		G4	G2	G1
G4	G1	G3		G4	G1	G2		G1	G3	G4
G1	G2	G2		G3	G2	G1		G3	G1	G3
G2	G3	G4		G1	G4	G3		G2	G4	G2
LLL1				LLL2				LLL3		

Hình 2.2 Sơ đồ bố trí thí nghiệm

2.4.2 Các bước tiến hành thí nghiệm

* Chuẩn bị hom giống: chọn quy cách hom giống theo yêu cầu thí nghiệm, chọn hom thẳng, hom giống được lấy từ hom thân 2 năm tuổi, sạch bệnh. Dùng kéo cắt cành thật sắc và sạch để cắt hom giống. Chậu đựng các giá thể kích thước 30 x 35 cm. Chuẩn bị giá thể: hỗn hợp giá thể được phối trộn theo tỷ lệ đã được mô tả ở trên (yếu tố G). Sau đó sắp xếp các chậu giá thể theo sơ đồ bố trí thí nghiệm. Xử lý chất kích thích sinh trưởng bằng dung dịch NAA cho hom giống: nhúng hom giống vào dung dịch NAA pha sẵn ở nồng độ 2000 ppm trong 5 giây, để hom giống khô trong 10 phút. Sau đó tiến hành giâm hom vào chậu giá thể (Ninh Thị Phép, 2013). Chăm sóc sau giâm: giai đoạn đầu từ sau khi giâm đến 50 ngày tưới phun sương nước ngày 2 lần trong ngày sáng và chiều, nhưng nếu ngày nhiệt độ cao, ẩm độ không khí thấp phải tưới phun sương nước 3 lần trong ngày. Giai đoạn sau 50 ngày tưới nước không cần bình phun sương, tuy nhiên vẫn phải đảm bảo độ ẩm trong giá thể, không để giá thể bị ngập úng nước tránh thối hom giống.

2.4.3 Các chỉ tiêu theo dõi

* Các chỉ tiêu theo dõi về hom sống và hom bật chồi trên ô thí nghiệm: Thời gian bắt đầu nảy chồi, tỷ lệ hom sống (%), chiều cao chồi (cm), đường kính chồi (mm), số lá trên chồi (lá/chồi), số lá trên hom (lá/hom), số rễ chính trên hom (rễ/hom), chiều dài rễ dài nhất (cm), khối lượng rễ tươi trên hom (g/hom), khối lượng rễ khô trên hom (g/hom), tiêu chuẩn xuất vườn, tỷ lệ xuất vườn (%), hệ số chất lượng Dickson (DQI) (Dickson, 1960), lượng toán chi phí đầu tư

3.KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến ngày bắt đầu nảy chồi của hom kim tiền thảo

Bảng 3.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom đến ngày bắt đầu nảy chồi (NSG) của hom kim tiền thảo

Loại giá thể (G)	Loại hom giống (H)			TB (G)
	Hom hai mắt (H1)	Hom ba mắt (H2)	Hom bốn mắt (H3)	
G1	17,3	18,0	15,7	17,0 ^a
G2	17,0	16,0	17,3	16,8 ^{ab}
G3	16,0	17,3	17,0	16,8 ^{ab}
G4	15,7	14,3	15,0	15,0 ^b
TB (H)	16,5	16,4	16,3	
CV (%) = 9,6	$F_H = 0,04^{ns}$	$F_G = 3,2^*$	$F_{H*G} = 1,1^{ns}$	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số được đi kèm với cùng ít nhất một chữ cái thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: không có ý nghĩa, *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$. NSG: ngày sau giâm. TB: trung bình. G1: 100% đất; G2: 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng; G3: 50% đất + 30% xơ dừa + 20% phân chuồng; G4: 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng.

Kết quả Bảng 3.1 cho thấy ngày bắt đầu nảy chồi trung bình giữa các quy cách hom kim tiền thảo khác biệt không có ý nghĩa thống kê dao động trong khoảng 16,3 đến 16,5 ngày.

Về loại giá thể: ngày bắt đầu nảy chồi trung bình giữa các tỷ lệ phối trộn giá thể khác biệt có ý nghĩa thống kê: Giá thể nghiệm thức G4 cho ngày bắt đầu nảy chồi sớm nhất 15,0 ngày khác biệt không có ý nghĩa so với các giá thể nghiệm thức G2 và giá thể nghiệm thức G3 và khác biệt rất có ý nghĩa so với giá thể nghiệm thức G1 với 17,0 ngày là muộn nhất. Nguyên nhân do giá thể nghiệm thức G1 rất dễ giữ nước và hay đóng váng ở bề mặt gây ra bất lợi cho sự sinh trưởng của hom giống và hom giống bị thiệt hại nặng nhất hom hai mắt (H1) (Bảng 3.1).

* Sự kết hợp yếu tố hom giống và giá thể cho sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê về ngày bắt đầu nảy chồi dao động trong khoảng 14,3 đến 18,0 ngày.

3.2 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến tỷ lệ hom sống của hom kim tiền thảo

Bảng 3.2 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom kim tiền thảo đến tỷ lệ hom sống (%)

Thời điểm theo dõi (NSG)	Loại giá thể (G)	Loại hom giống (H)			TB (G)
		Hom hai mắt (H1)	Hom ba mắt (H2)	Hom bốn mắt (H3)	
20	G1	83,8	76,9	91,7	84,1 ^b
	G2	95,8	100	96,3	97,4 ^a
	G3	96,3	100	100	98,8 ^a
	G4	96,3	100	100	98,8 ^a
	TB (H)	93,1	94,2	97,0	
	CV (%) = 11,0	$F_H = 1,6^{ns}$	$F_G = 4,2^*$	$F_{H*G} = 0,5^{ns}$	
40	G1	80,5	76,9	91,7	83,0 ^b
	G2	91,7	96,7	96,3	94,9 ^a
	G3	96,3	100	100	98,8 ^a
	G4	85,9	100	100	95,3 ^a
	TB (H)	88,6	93,4	97,0	
	CV (%) = 12,2	$F_H = 2,8^{ns}$	$F_G = 3,3^*$	$F_{H*G} = 0,5^{ns}$	
60	G1	59,9	76,9	87,5	73,7 ^b
	G2	91,7	93,3	96,3	93,8 ^a
	G3	96,3	100,0	100,0	98,8 ^a
	G4	85,9	100,0	100,0	95,3 ^a
	TB (H)	82,7 ^b	92,5 ^{ab}	95,9 ^a	
	CV (%) = 17,3	$F_H = 9,4^*$	$F_G = 4,7^*$	$F_{H*G} = 0,5^{ns}$	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số được đi kèm với cùng ít nhất một chữ cái thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: không có ý nghĩa; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$. NSG: ngày sau giâm. TB: trung bình. G1: 100% đất; G2: 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng; G3: 50% đất + 30% xơ dừa + 20% phân chuồng; G4: 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng.

* Về tỷ lệ hom sống trung bình giữa các quy cách hom ở thời điểm 20 và 40 NSG khác biệt không có ý nghĩa, tuy nhiên đến thời điểm 60 NSG thì cho sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê. Trong đó, thời điểm 60 NSG hom bốn mắt (H3) cho tỷ lệ hom sống trung bình cao nhất là 95,9%, còn thấp nhất là hom hai mắt (H1) với 82,7%.

* Về tỷ lệ hom sống trung bình giữa các loại giá thể ở ba thời điểm 20, 40 và 60 NSG khác biệt có ý nghĩa trong thống kê. Trong đó, ba loại giá thể nghiệm thức G2, nghiệm thức G3 và giá thể nghiệm thức G4 cho tỷ lệ hom sống trung bình cao hơn và khác biệt rất có ý nghĩa so với giá thể nghiệm thức G1 (Bảng 3.2)

* Sự kết hợp hai yếu tố quy cách hom giống và giá thể cho tỷ lệ hom sống khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở ba thời điểm 20, 40 và 60 NSG. Trong đó, hai thời điểm 20 và 40 NSG, tỷ lệ hom sống dao động trong khoảng 76,9 đến 100%. Thời điểm 60 NSG, tỷ lệ hom sống dao động trong khoảng 59,9 đến 100% (Bảng 3.2).

3.3 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến chiều cao chồi của hom kim tiền thảo

Về mặt thống kê, chiều cao chồi giữa các loại hom giống ở thời điểm 30 NSG cho sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Ở thời điểm 40 NSG cho sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê và thời điểm 50 và 60 NSG đều cho sự khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Thời điểm 30 NSG chiều cao chồi trung bình giữa các loại hom giống dao động trong khoảng 1,3 đến 2,3 cm. Ở các thời điểm 40, 50 và 60 NSG thì quy cách hom bốn mắt (H3) luôn cho chiều cao chồi trung bình đạt cao nhất lần lượt là 3,3 cm, 3,9 cm và 4,6 cm so với hai quy cách hom ba mắt (H2) và hom hai mắt (H1). Hom hai mắt (H1) luôn chiều cao chồi trung bình thấp nhất lần lượt là 2,0 cm, 2,3 cm, 2,7 cm.

Về chiều cao chồi giữa các giá thể ở tất cả các thời điểm theo dõi luôn cho chiều cao chồi trung bình có sự khác biệt rất có nghĩa trong thống kê. Ở 30 NSG, giá thể nghiệm thức G3 cho chiều cao chồi trung bình dài nhất 2,4 cm khác biệt không có ý nghĩa so với giá thể nghiệm thức G4 và khác biệt rất có ý nghĩa so với giá thể nghiệm thức G2 và giá thể nghiệm thức G1. Giá thể nghiệm thức G1 cho chiều cao chồi trung bình giữa các giá thể ngắn nhất 1,1 cm (Bảng 3.3).

Bảng 3.3 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến chiều cao chồi (cm) của hom kim tiền thảo

Chi tiêu theo dõi	Loại giá thể (G)	Loại hom giống (H)			TB (G)
		Hom hai mắt (H1)	Hom ba mắt (H2)	Hom bốn mắt (H3)	
30 NSG	G1	1,0 ^d	1,1 ^d	1,1 ^d	1,1 ^c
	G2	1,4 ^{cd}	2,1 ^{bc}	2,4 ^{ab}	2,0 ^b
	G3	1,5 ^{cd}	2,8 ^{ab}	2,9 ^a	2,4 ^a
	G4	1,6 ^{cd}	2,5 ^{ab}	2,8 ^a	2,3 ^{ab}
	TB (H)	1,3	2,1	2,3	
	CV (%) = 15,2	F _H = 4,1 ^{ns}	F _G = 37,8 ^{**}	F _{H*G} = 4,02 ^{**}	
40 NSG	G1	1,2	1,5	1,9	1,6 ^c
	G2	2,1	2,9	3,5	2,9 ^b
	G3	2,3	3,9	3,7	3,3 ^a
	G4	2,3	3,5	4,1	3,3 ^a
	TB (H)	2,0 ^b	2,9 ^{ab}	3,3 ^a	
	CV (%) = 12,3	F _H = 8,8 [*]	F _G = 53,3 ^{**}	F _{H*G} = 2,6 ^{ns}	
50 NSG	G1	1,4	2,0	2,8	2,0 ^c
	G2	2,6	3,1	3,9	3,2 ^b
	G3	2,6	4,3	4,3	3,7 ^{ab}
	G4	2,7	4,1	4,6	3,8 ^a
	TB (H)	2,3 ^b	3,4 ^{ab}	3,9 ^a	

	CV (%) = 14,0	F _H = 32,2**	F _G = 29,5**	F _{H*G} = 1,5 ^{ns}	
60 NSG	G1	2,0	2,6	3,7	2,8 ^b
	G2	2,9	3,7	4,6	3,7 ^a
	G3	3,0	4,8	5,0	4,2 ^a
	G4	3,1	4,7	5,3	4,4 ^a
	TB (H)	2,7 ^b	3,9 ^{ab}	4,6 ^a	
	CV (%) = 14,2	F _H = 25,1**	F _G = 16,5**	F _{H*G} = 1,1 ^{ns}	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số được đi kèm với cùng ít nhất một chữ cái thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: không có ý nghĩa; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$, **: khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$. NSG: ngày sau giâm. TB: trung bình. G1: 100% đất; G2: 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng; G3: 50% đất + 30% xơ dừa + 20% phân chuồng; G4: 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng.

Bảng 3.3 cho thấy ở các thời điểm 40, 50, 60 NSG giá thể nghiệm thức G4 luôn cho chiều cao chồi trung bình dài nhất lần lượt là 3,3 cm, 3,8 cm, 4,4 cm. Giá thể nghiệm thức G1 luôn cho chiều cao chồi trung bình ngắn nhất lần lượt là 1,6 cm, 2,0 cm và 2,8 cm.

Ở thời điểm 30 NSG, sự kết hợp hai yếu tố quy cách hom giống và tỷ lệ phối trộn giá thể cho sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê chiều cao chồi. Trong đó, quy cách hom bốn mắt giâm trong giá thể nghiệm thức G3H3 cho chiều cao chồi dài nhất là 2,9 cm, tiếp đến là quy cách hom bốn mắt giâm trong giá thể nghiệm thức G4H3 cho chiều cao chồi là 2,8 cm. Quy cách hom hai mắt giâm trong giá thể nghiệm thức G1H1 cho chiều cao chồi ngắn nhất 1,0 cm (Bảng 3.3).

Ở thời điểm 40, 50 và 60 NSG, sự kết hợp hai yếu tố quy cách hom giống và tỷ lệ phối trộn giá thể cho sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê chiều cao chồi. Ở thời điểm 40 NSG, chiều cao chồi dao động trong khoảng 1,2 đến 4,1 cm. Ở thời điểm 50 NSG, chiều cao chồi dao động trong khoảng 1,4 đến 4,6 cm. Ở thời điểm 60 NSG, chiều cao chồi dao động trong khoảng 2,0 đến 5,3 cm (Bảng 3.3).

Tóm lại, từ kết quả Bảng 3.3 cho thấy: về quy cách hom giống có thể chọn hom bốn mắt (H3). Đối với giá thể, có thể chọn giá thể nghiệm thức G4 hoặc nghiệm thức G3.

3.4 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến đường kính chồi của hom kim tiền thảo

Bảng 3.4 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom đến đường kính chồi (mm) của hom kim tiền thảo ở thời điểm 30 NSG, 40 NSG, 50 NSG, 60 NSG

Giai đoạn theo dõi	Loại giá thể (G)	Loại hom giống (H)			TB (G)
		Hom hai mắt (H1)	Hom ba mắt (H2)	Hom bốn mắt (H3)	
30 NSG	G1	1,5	1,6	1,5	1,5 ^c
	G2	1,4	1,6	1,6	1,6 ^{bc}
	G3	1,6	1,8	1,8	1,7 ^{ab}
	G4	1,6	1,7	2,1	1,8 ^a
	TB (H)	1,5	1,7	1,8	
	CV (%) = 12,8	F _H = 4,0 ^{ns}	F _G = 3,9 [*]	F _{H*G} = 0,8 ^{ns}	
40 NSG	G1	1,5	1,7	1,8	1,7 ^b
	G2	1,6	1,8	1,8	1,7 ^b
	G3	1,7	2,0	2,0	1,9 ^{ab}
	G4	1,6	2,1	2,3	2,0 ^a

	TB (H)	1,6 ^b	1,9 ^{ab}	2,0 ^a	
	CV (%) = 11,0	F _H = 8,7 [*]	F _G = 5,2 ^{**}	F _{H*G} = 1,0 ^{ns}	
50 NSG	G1	1,7	2,0	2,0	1,9 ^b
	G2	1,8	2,0	2,0	2,0 ^b
	G3	1,9	2,1	2,2	2,0 ^{ab}
	G4	1,9	2,3	2,3	2,2 ^a
	TB (H)	1,8	2,1	2,1	
	CV (%) = 9,3	F _H = 2,6 ^{ns}	F _G = 3,3 [*]	F _{H*G} = 0,4 ^{ns}	
60 NSG	G1	2,1	2,0	2,2	2,1 ^c
	G2	2,3	2,1	2,2	2,2 ^{bc}
	G3	2,4	2,3	2,3	2,3 ^{ab}
	G4	2,4	2,4	2,4	2,4 ^a
	TB (H)	2,3	2,2	2,3	
	CV (%) = 6,5	F _H = 2,1 ^{ns}	F _G = 7,3 ^{**}	F _{H*G} = 1,1 ^{ns}	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số được đi kèm với cùng ít nhất một chữ cái thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: không có ý nghĩa; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$; **: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$. NSG: ngày sau giâm. TB: trung bình. G1: 100% đất; G2: 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng; G3: 50% đất + 30% xơ dừa + 20% phân chuồng; G4: 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng.

Kết quả Bảng 3.4 cho thấy, đường kính chồi trung bình giữa các giá thể ở thời điểm 30 NSG cho sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê, giá thể nghiệm thức G4 cho đường kính chồi trung bình cao nhất 1,8 mm và khác biệt rất có ý nghĩa so với giá thể nghiệm thức G1) 1,5 mm là thấp nhất. Ở hai thời điểm theo dõi 40 và 60 NSG thì đường kính chồi trung bình giữa các giá thể có sự khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Ở 40 NSG và 60 NSG, giá thể nghiệm thức G4 cho đường kính chồi trung bình cao nhất lần lượt là 2,0 mm và 2,4 mm khác biệt không có ý nghĩa so với giá thể nghiệm thức G3 và khác biệt rất có ý nghĩa so với hai giá thể nghiệm thức G2 và giá thể nghiệm thức G1. Ở thời điểm 50 NSG, đường kính chồi trung bình giữa các giá thể cho sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê. Giá thể nghiệm thức G2 cho đường kính chồi trung bình cao nhất là 2,2 mm và giá thể nghiệm thức G1 cho đường kính chồi trung bình thấp nhất 1,9 mm (Bảng 3.4). Ở các thời điểm 30, 50 và 60 NSG, đường kính chồi trung bình giữa các quy cách hom cho sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Ở 30 NSG, đường kính chồi trung bình giữa các quy cách hom dao động trong khoảng 1,5 đến 1,8 mm. Ở 50 NSG, đường kính chồi trung bình giữa các quy cách hom dao động trong khoảng 1,8 đến 2,1 mm Ở 60 NSG, đường kính chồi trung bình giữa các quy cách hom dao động trong khoảng 2,2 đến 2,3 mm (Bảng 3.4). Sự kết hợp hai yếu tố quy cách hom giống và giá thể cho đường kính chồi khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở các thời điểm 30, 40, 50 và 60 NSG. Đường kính chồi dao động trong khoảng 1,4 đến 2,1 mm ở thời điểm 30 NSG. Đường kính chồi dao động trong khoảng 1,5 đến 2,3 mm ở thời điểm 40 NSG. Đường kính chồi dao động trong khoảng 1,7 đến 2,3 mm ở thời điểm 50 NSG. Và đường kính chồi dao động trong khoảng 2,0 đến 2,4 mm ở thời điểm 60 NSG (Bảng 3.4).

3.5 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến số lá trên chồi kim tiền thảo

Bảng 3.5 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến số lá trên chồi của hom kim tiền thảo (lá/chồi) ở thời điểm 30 NSG, 40 NSG, 50 NSG, 60 NSG

hời điểm theo dõi	Loại giá thể (G)	Loại hom giống (H)			TB (G)
		Hom hai mắt (H1)	Hom ba mắt (H2)	Hom bốn mắt (H3)	
30 NSG	G1	1,1	1,2	1,1	1,1 ^c

	G2	1,1	1,9	1,7	1,6 ^b
	G3	1,2	2,2	2,3	1,9 ^{ab}
	G4	1,8	2,2	2,5	2,2 ^a
	TB (H)	1,3	1,9	1,9	
	CV (%) = 19,4	F _H = 3,0 ^{ns}	F _G = 16,2 ^{**}	F _{H*G} = 2,1 ^{ns}	
40NSG	G1	1,4	1,7	2,0	1,7 ^c
	G2	1,9	3,5	3,4	2,9 ^b
	G3	2,6	4,0	3,9	3,5 ^a
	G4	2,7	3,4	4,1	3,4 ^{ab}
	TB (H)	2,2	3,2	3,4	
	CV (%) = 16,8	F _H = 5,2 ^{ns}	F _G = 26,3 ^{**}	F _{H*G} = 1,4 ^{ns}	
50NSG	G1	1,5	2,3	2,8	2,2 ^b
	G2	2,2	3,9	3,7	3,3 ^a
	G3	3,0	4,4	4,2	3,9 ^a
	G4	3,1	4,1	4,4	3,9 ^a
	TB (H)	2,5 ^b	3,7 ^a	3,8 ^a	
	CV (%) = 16,6	F _H = 16,5 [*]	F _G = 18,9 ^{**}	F _{H*G} = 0,6 ^{ns}	
60 NSG	G1	1,7	2,7	4,1	2,8 ^b
	G2	3,0	4,1	4,2	3,8 ^a
	G3	3,3	4,8	4,7	4,3 ^a
	G4	3,7	4,6	5,0	4,4 ^a
	TB (H)	2,9 ^b	4,1 ^a	4,5 ^a	
	CV (%) = 14,3	F _H = 11,0 [*]	F _G = 15,4 ^{**}	F _{H*G} = 1,2 ^{ns}	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số được đi kèm với cùng ít nhất một chữ cái thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: không có ý nghĩa; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$; **: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$. NSG: ngày sau giâm. TB: trung bình. G1: 100% đất; G2: 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng; G3: 50% đất + 30% xơ dừa + 20% phân chuồng; G4: 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng.

Kết quả Bảng 3.5 cho thấy, số lá trung bình trên chồi giữa các loại hom giống khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê ở hai thời điểm 30 và 40 NSG. Tuy nhiên ở hai thời điểm 50 và 60 NSG thì số lá trung bình trên chồi giữa các hom giống có sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê. Trong đó, hai loại hom giống H2 (hom ba mắt) và H3 (hom bốn mắt) đều cho số lá trên chồi nhiều và khác biệt rất có ý nghĩa so với hom giống H1 (hom hai mắt) ở hai thời điểm 50 và 60 NSG. Số lá trung bình trên chồi giữa các loại giá thể cho sự khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê ở các thời điểm theo dõi 30, 40, 50 và 60 NSG. Ở thời điểm 30 NSG, hai giá thể nghiệm thức G2 và nghiệm thức G) cho số lá trung bình trên chồi lần lượt 1,6 lá/chồi và 2,2 lá/chồi nhiều và khác biệt rất có ý nghĩa so với giá thể nghiệm thức G1) cho 1,1 lá/chồi. Ở ba thời điểm 40, 50, 60 NSG thì ba giá thể nghiệm thức G2, giá thể nghiệm thức G3 và giá thể nghiệm thức G4 đều cho số lá trung bình trên chồi nhiều và khác biệt rất có ý nghĩa so với giá thể nghiệm thức G1 (Bảng 3.5). Số lá trung bình trên chồi giữa các quy cách hom giống cho sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê ở thời điểm 50 và 60 NSG. Ở 50 NSG và 60 NSG, hom bốn mắt (H3) cho số lá trung bình trên chồi nhiều nhất lần lượt 3,8 lá/chồi và 4,5 lá/chồi. Ngược lại, hom hai mắt (H1) cho số lá trung bình trên chồi ít nhất lần lượt 2,5 lá/chồi và 2,9 lá/chồi (Bảng 3.5). Thời điểm 30 NSG, số lá trên chồi dao động trong khoảng 1,1 đến 2,5 lá/chồi. Thời điểm 40 NSG, số lá trên chồi dao động trong khoảng 1,4 đến 4,1 lá/chồi. Thời điểm 50 NSG, số lá trên chồi dao động trong khoảng 1,5 đến 4,4 lá/chồi. Và thời điểm 60 NSG, số lá trên chồi dao động

từ 1,7 đến 5,0 lá/chồi (Bảng 3.5). Tóm lại, có thể chọn hai quy cách hom giống: hom bốn mắt (H3) và hom ba mắt (H2). Đối với giá thể, có thể chọn ba loại giá thể nghiệm thức G2 và nghiệm thức G3 và nghiệm thức G4. Bên cạnh đó, giá thể nghiệm thức G3 và giá thể nghiệm thức G4 cho thấy số lá trên chồi vượt trội hơn so với hai loại giá thể còn lại.

3.6 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến số lá trên hom kim tiền thảo

Bảng 3.6 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến số lá trên hom kim tiền thảo (lá/hom) ở thời điểm 30 NSG, 40 NSG, 50 NSG, 60 NSG

Thời điểm theo dõi	Loại giá thể (G)	Loại hom giống (H)			TB (G)
		Hom hai mắt (H1)	Hom ba mắt (H2)	Hom bốn mắt (H3)	
30 NSG	G1	1,1 ^d	1,3 ^d	1,3 ^d	1,2 ^b
	G2	1,1 ^d	2,0 ^{cd}	2,0 ^{cd}	1,7 ^b
	G3	1,2 ^d	2,9 ^{ab}	3,6 ^a	2,6 ^a
	G4	1,8 ^d	2,7 ^{bc}	3,3 ^{ab}	2,6 ^a
	TB (H)	1,3	2,2	2,6	
	CV (%) = 22,2	$F_H = 4,9^{ns}$	$F_G = 20,8^{**}$	$F_{H*G} = 3,7^*$	
40 NSG	G1	1,4 ^d	2,5 ^{cd}	2,8 ^{cd}	2,2 ^c
	G2	1,9 ^d	4,0 ^{bc}	5,4 ^b	3,8 ^b
	G3	2,6 ^{cd}	5,3 ^b	7,6 ^a	5,2 ^a
	G4	2,7 ^{cd}	4,9 ^b	8,5 ^a	5,4 ^a
	TB (H)	2,2 ^b	4,2 ^{ab}	6,1 ^a	
	CV (%) = 21,6	$F_H = 26,2^{**}$	$F_G = 23,9^{**}$	$F_{H*G} = 3,9^*$	
50 NSG	G1	1,5	3,1	4,1	2,9 ^c
	G2	2,2	4,5	6,9	4,5 ^b
	G3	3,0	5,8	8,6	5,8 ^a
	G4	3,1	5,8	9,6	6,2 ^a
	TB (H)	2,5 ^b	4,8 ^{ab}	7,3 ^a	
	CV (%) = 21,8	$F_H = 34,6^{**}$	$F_G = 17,7^{**}$	$F_{H*G} = 2,0^{ns}$	
60 NSG	G1	1,7	4,3	6,7	4,2 ^b
	G2	3,0	5,1	8,0	5,4 ^{ab}
	G3	3,3	6,4	9,3	6,4 ^a
	G4	3,7	6,6	10,7	7,0 ^a
	TB (H)	2,9 ^b	5,6 ^b	8,7 ^a	
	CV (%) = 23,0	$F_H = 70,5^{**}$	$F_G = 7,5^{**}$	$F_{H*G} = 0,5^{ns}$	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số được đi kèm với cùng ít nhất một chữ cái thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: không có ý nghĩa; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$, **: khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$. NSG: ngày sau giám. TB: trung bình. G1: 100% đất; G2: 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng; G3: 50% đất + 30% xơ dừa + 20% phân chuồng; G4: 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng.

Kết quả Bảng 3.6 cho thấy, số lá trung bình trên hom giữa các quy cách hom giống ở thời điểm 30 NSG khác biệt không có ý nghĩa thống kê và dao động từ 1,3 đến 2,6 lá/hom. Tuy nhiên, ở ba thời điểm 40, 50 và 60 NSG số lá trung bình trên hom giữa các quy cách hom giống khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Trong đó, hai thời điểm 40 và 50 NSG, hom bốn mắt (H3) và hom ba mắt (H2) cho số lá trung bình trên hom nhiều và khác biệt rất có ý nghĩa so với hom

hai mắt (H1). Còn thời điểm 60 NSG, hom bốn mắt (H3) cho số lá trung bình trên hom nhiều nhất là 8,7 lá/hom và khác biệt rất có ý nghĩa so với hom hai mắt (H1) 2,9 lá/hom và hom ba mắt (H2) là 5,6 lá/hom. Số lá trung bình trên hom giữa các loại giá thể có sự khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê ở các thời điểm theo dõi 30, 40, 50 và 60 NSG. Trong đó, hai thời điểm 30 và 40 NSG có hai loại giá thể nghiệm thức G3 và giá thể nghiệm thức G4 cho số lá trung bình trên hom nhiều và khác biệt rất có ý nghĩa so với hai loại giá thể nghiệm thức G2 và giá thể nghiệm thức G1. Hai thời điểm 50 và 60 NSG, giá thể nghiệm thức G4 cho số lá trung bình trên hom nhiều nhất lần lượt là 6,2 lá/hom và 7,0 lá/hom, ngược lại giá thể nghiệm thức G1 cho số lá trung bình trên hom ít nhất lần lượt là 2,9 lá/hom và 4,2 lá/hom (Bảng 3.6).

Sự kết hợp hai yếu tố quy cách hom giống và giá thể cho số lá trên hom khác biệt có ý nghĩa trong thống kê ở hai thời điểm 30 và 40 NSG. Tuy nhiên, hai thời điểm 50 và 60 NSG thì số lá trên hom có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3.6). Thời điểm 30 NSG, hom bốn mắt (H3) giâm trong giá thể nghiệm thức G3 cho số lá trên hom nhiều nhất 3,6 lá/hom, ngược lại hom hai mắt (H1) giâm trong hai giá thể nghiệm thức G1 và giá thể nghiệm thức G2 cho số lá trên hom ít nhất 1,1 lá/hom (Bảng 3.6). Thời điểm 40 NSG, hom bốn mắt (H3) giâm trong hai giá thể nghiệm thức G4 và giá thể nghiệm thức G3 cho số lá trung bình trên hom nhiều nhất lần lượt là 8,5 lá/hom và 7,6 lá/hom. Ngược lại, hom hai mắt (H1) giâm trong giá thể nghiệm thức G1 cho số lá trung bình trên hom ít nhất 1,4 lá/hom (Bảng 3.6). Còn hai thời điểm 50 và 60 NSG, sự kết hợp hai yếu tố quy cách hom giống và giá thể cho số lá trên hom dao động trong khoảng lần lượt là 1,5 đến 9,6 lá/hom và 1,7 đến 10,7 lá/hom (Bảng 3.6).

3.7 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến số rễ chính trên hom và chiều dài rễ dài nhất của hom kim tiền thảo

Bảng 3.7 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến số rễ chính trên hom (rễ/hom) và chiều dài rễ dài nhất (cm) của hom kim tiền thảo ở thời điểm 60 NSG

Chỉ tiêu theo dõi	Loại giá thể (G)	Loại hom giống (H)			TB (G)
		Hom hai mắt (H1)	Hom ba mắt (H2)	Hom bốn mắt (H3)	
Số rễ chính trên hom (rễ/hom)	G1	11,3	20,7	21,2	17,7 ^c
	G2	32,9	30,5	37,9	33,8 ^b
	G3	41,4	50,7	40,6	44,2 ^{ab}
	G4	44,3	51,6	49,6	48,5 ^a
	TB (H)	32,5	38,4	37,3	
	CV (%) = 26,6	$F_H = 2,1^{ns}$	$F_G = 18,4^{**}$	$F_{H*G} = 0,6^{ns}$	
Chiều dài rễ dài nhất (cm)	G1	23,8	36,7	47,9	36,2 ^c
	G2	26,0	39,9	51,6	39,2 ^b
	G3	27,7	40,5	53,1	40,4 ^{ab}
	G4	29,3	42,0	53,6	41,6 ^a
	TB (H)	26,7 ^c	39,8 ^b	51,6 ^a	
	CV (%) = 4,7	$F_H = 387^{**}$	$F_G = 14,3^{**}$	$F_{H*G} = 0,2^{ns}$	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số được đi kèm với cùng ít nhất một chữ cái thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: không có ý nghĩa; **: khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$. NSG: ngày sau giâm. TB: trung bình. G1: 100% đất; G2: 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng; G3: 50% đất + 30% xơ dừa + 20% phân chuồng; G4: 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng.

*Số rễ chính trên hom (rễ/hom): Kết quả Bảng 3.7 cho thấy, số rễ chính trung bình trên hom giữa các quy cách hom giống khác biệt không có ý nghĩa thống kê và dao động trong khoảng 32,5 đến 38,4 rễ/hom. Số rễ chính trung bình trên hom giữa các giá thể có sự khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Ba loại giá thể nghiệm thức G4, giá thể nghiệm thức G3 và giá thể nghiệm thức G2 cho số rễ chính trung bình trên hom nhiều lần lượt là 48,5 rễ/hom, 44,2 rễ/hom và 33,8

rễ/hom, ít nhất là giá thể nghiệm thức G1 với 17,7 rễ/hom. Sự kết hợp hai yếu tố quy cách hom giống và giá thể cho số rễ chính trên hom khác biệt không có ý nghĩa thống kê và dao động trong khoảng 11,3 đến 51,6 rễ/hom (Bảng 3.7)

*Chiều dài rễ dài nhất (cm): Bảng 3.7 cho thấy, chiều dài rễ dài nhất trung bình giữa các loại hom giống khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Hom bốn mắt (H3) cho chiều dài rễ dài nhất trung bình dài nhất là 51,6 cm, hom hai mắt (H1) cho chiều dài rễ dài nhất trung bình ngắn nhất là 26,7 cm. Chiều dài rễ dài nhất trung bình giữa các giá thể có sự khác biệt rất có nghĩa trong thống kê. Giá thể nghiệm thức G4 cho chiều dài rễ dài nhất trung bình dài nhất là 41,6 cm khác biệt không có ý nghĩa so với giá thể nghiệm thức G3 và khác biệt rất có ý nghĩa so với hai giá thể nghiệm thức G2 và giá thể nghiệm thức G1. Giá thể nghiệm thức G1 cho chiều dài rễ dài nhất trung bình ngắn nhất 36,2 cm (Bảng 3.7). Sự kết hợp yếu tố quy cách hom giống và giá thể cho chiều dài rễ dài nhất khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Chiều dài rễ dài nhất dao động trong khoảng 23,8 đến 53,6 cm (Bảng 3.7). Như vậy, từ kết quả có thể chọn hom bốn mắt (H3). Còn đối với giá thể, có thể chọn hai giá thể nghiệm thức G4 hoặc giá thể nghiệm thức G3.

3.8 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom đến khối lượng rễ tươi trên hom và khối lượng rễ khô trên hom kim tiền thảo

Bảng 3.8 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến khối lượng rễ tươi trên hom (g/hom) và khối lượng rễ khô trên hom (g/hom) của hom kim tiền thảo ở 60 NSG

Chỉ tiêu theo dõi	Loại giá thể (G)	Loại hom giống (H)			TB (G)
		Hom hai mắt (H1)	Hom ba mắt (H2)	Hom bốn mắt (H3)	
Khối lượng rễ tươi trên hom (g/hom)	G1	7,3	13,6	9,1	10,0 ^c
	G2	10,3	10,7	12,2	11,1 ^c
	G3	11,7	17,3	18,5	15,8 ^b
	G4	19,7	21,1	25,6	22,1 ^a
	TB (H)	12,2 ^c	14,6 ^b	17,5 ^a	
	CV (%) = 13,7	$F_H = 91,1^{**}$	$F_G = 66,8^{**}$	$F_{H*G} = 1,6^{ns}$	
Khối lượng rễ khô trên hom (g/hom)	G1	0,9	1,0	1,4	1,1 ^b
	G2	1,3	1,2	1,2	1,2 ^b
	G3	1,5	1,9	1,7	1,7 ^b
	G4	2,5	2,3	2,6	2,5 ^a
	TB (H)	1,5	1,6	1,7	
	CV (%) = 14,7	$F_H = 6,6^{ns}$	$F_G = 61,7^{**}$	$F_{H*G} = 1,6^{ns}$	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số được đi kèm với cùng ít nhất một chữ cái thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: không có ý nghĩa; **: khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$. NSG: ngày sau giâm. TB: trung bình. G1: 100% đất; G2: 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng; G3: 50% đất + 30% xơ dừa + 20% phân chuồng; G4: 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng.

Kết quả Bảng 3.8 cho thấy, khối lượng rễ tươi trung bình trên hom giữa các quy cách hom giống cho sự khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Hom bốn mắt (H3) cho khối lượng rễ tươi trung bình trên hom nặng nhất là 17,5 g/hom và khác biệt rất có ý nghĩa so với hom ba mắt (H2) và hom hai mắt (H1). Hom hai mắt (H1) cho khối lượng rễ tươi trung bình trên hom nhẹ nhất 12,2 g/hom. Khối lượng rễ tươi trung bình trên hom và khối lượng rễ khô trung bình trên hom giữa các loại giá thể cho sự khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Trong đó, giá thể nghiệm thức G4 cho khối lượng rễ tươi trung bình trên hom và khối lượng rễ khô trung bình trên hom nặng nhất lần lượt là 22,1 g/hom và 2,5 g/hom và khác biệt rất có ý nghĩa so với ba giá thể nghiệm thức G3, giá thể nghiệm thức G2 và giá thể nghiệm thức G1 (Bảng 3.8). Khối lượng rễ khô trung bình trên hom giữa các quy cách hom giống cho sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Khối lượng rễ khô trung bình trên hom dao động trong khoảng 1,5 đến 1,7 g/hom (Bảng 3.8). Sự kết hợp hai yếu tố quy cách hom giống và giá thể cho khối lượng rễ tươi trên hom và khối lượng rễ khô trên hom khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Khối lượng rễ tươi trên hom dao

động trong khoảng 7,3 đến 25,6 g/hom. Khối lượng rễ khô trên hom dao động trong khoảng 0,9 đến 2,6 g/hom (Bảng 3.8).

3.9 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến tỷ lệ xuất vườn của hom kim tiền thảo

Bảng 3.9 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giá thể và quy cách hom giống đến tỷ lệ xuất vườn (%) ở 60 NSG của hom kim tiền thảo

Loại giá thể (G)	Loại hom giống (H)			TB (G)
	Hom hai mắt (H1)	Hom ba mắt (H2)	Hom bốn mắt (H3)	
G1	20,0	33,0	72,5	41,8 ^b
G2	40,0	83,0	85,2	69,4 ^a
G3	53,3	86,7	96,7	78,9 ^a
G4	53,3	86,7	100,0	80,0 ^a
TB (H)	41,7 ^b	72,3 ^{ab}	88,6 ^a	
CV (%) = 16,2	F _H = 34,3 ^{**}	F _G = 23,9 ^{**}	F _{H*G} = 1,8 ^{ns}	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số được đi kèm với cùng ít nhất một chữ cái thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê; **: khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,01$. NSG: ngày sau giâm. TB: trung bình. G1: 100% đất; G2: 50% đất + 20% xơ dừa + 30% phân chuồng; G3: 50% đất + 30% xơ dừa + 20% phân chuồng; G4: 50% đất + 40% xơ dừa + 10% phân chuồng.

Kết quả Bảng 3.9 cho thấy tỷ lệ xuất vườn trung bình giữa các quy cách hom giống cho sự khác biệt rất có nghĩa trong thống kê. Trong đó, hom bốn mắt (H3) cho tỷ lệ xuất vườn cao nhất 88,6% và khác biệt rất có ý nghĩa so với hom hai mắt (H1) với 41,7% thấp nhất. Về tỷ lệ xuất vườn trung bình giữa các loại giá thể cho sự khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Trong đó, nghiệm thức G4 cho tỷ lệ xuất vườn cao nhất là 80,0% khác biệt không có ý nghĩa so với hai loại giá thể nghiệm thức G2 và giá thể nghiệm thức G3 và khác biệt rất có ý nghĩa so với giá thể nghiệm thức G1 với 41,8% (Bảng 3.9). Sự kết hợp hai yếu tố quy cách hom giống và giá thể cho tỷ lệ xuất vườn có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ xuất vườn ở 60 NSG dao động trong khoảng 20 đến 100% (Bảng 3.9).

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết luận

Ở 60 NSG, hom ba mắt (H2) và hom bốn mắt (H3) giâm trong giá thể nghiệm thức(G3) và giá thể nghiệm thứcG4) cho tỷ lệ hom sống cao nhất 100%, chiều cao chồi dài nhất lần lượt là 5,0 cm và 5,3 cm. Hom bốn mắt (H3) giâm trong giá thể nghiệm thứcG4) cho tỷ lệ xuất vườn cao nhất 100% và hom bốn mắt (H3) giâm trong giá thể nghiệm thức(G3) cho tỷ lệ xuất vườn 96,7%.

Ở 60 NSG, hom hai mắt (H1) giâm trong giá thể nghiệm thứcG1) cho giá thành cây con cao nhất 13.641 đồng/hom và tỷ lệ xuất vườn thấp nhất 20%. Hom bốn mắt (H3) giâm trong giá thể nghiệm thứcG1) cho giá thành cây con thấp nhất là 4.136 đồng/hom với tỷ lệ xuất vườn là 72%. Hom bốn mắt (H3) giâm trong giá thể nghiệm thứcG4) cho giá thành cây con là 4.506 đồng/hom với tỷ lệ hom sống cao nhất 100%

Đề nghị:

Về quy cách hom giống kim tiền thảo nên chọn hom bốn mắt (H3), còn về loại giá thể chọn giá thể nghiệm thức G1 hoặc giá thể nghiệm thức G4.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đoàn Khuê. (2014). Nghiên cứu thành phần hóa học cây kim tiền thảo *Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr. thuộc họ cánh bướm Fabaceae.

- Đoàn Thị Thùy Vân. (2006). *Nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể và một số biện pháp tác động đến sinh trưởng của cây dứa Cayene trong giai đoạn vườn ươm*. Luận văn thạc sĩ nông nghiệp, Đại học Nông nghiệp I Hà Nội, Việt Nam.
- Kiều Tuấn Đạt. (2012). *Nghiên cứu gây trồng một số loài cây Lâm sản ngoài gỗ dưới tán rừng tự nhiên, góp phần nâng cao thu nhập cho đồng bào dân tộc thiểu số ở tỉnh Đắk Nông và Đắk Lắk*.
- Lâm sản ngoài gỗ Việt Nam, Dự án Hỗ trợ Chuyên ngành LSNG tại Việt Nam-Pha II (2007), Hà Nội, 2007.
- Lê Thị Mai. (2009). Luận văn tốt nghiệp đề tài: *Khảo sát ảnh hưởng của NAA và GA₃ lên khả năng sinh trưởng và phát triển của cây dâu tây Fragaria vesca (L.) trồng thủy canh trong nhà kính tại huyện Đức Trọng, tỉnh Lâm Đồng*. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư Nông học, Đại học Nông Lâm, Tp. HCM, Việt Nam.
- Nguyễn Ngọc Bình, Phạm Đức Tuấn. (2000). *Trồng cây nông nghiệp, dược liệu và đặc sản dưới tán rừng*, NXBNN, Hà Nội.
- Nguyễn Tập, Bảo vệ nguồn cây thuốc thiên nhiên, *Tạp chí Lâm nghiệp số 9 năm 1990*, trang 9,10.
- Ninh Thị Phíp.(2009). Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống một số cây thuốc tẩm bằng phương pháp ngâm cành tại SaPa - Lào Cai. *Tạp chí khoa học và phát triển*, Tập 7, Phụ bản số 5, p. 612 – 619.
- Phạm Hoàng Hộ. *Cây cỏ Việt Nam, (Tập I, II và III)*. Nhà xuất bản trẻ, 1999, 2000, 2001.
- Phạm Văn Điền.(2005): *Đề án nghiên cứu đề xuất một số giải pháp kinh tế-xã hội nhằm phát triển thực vật cho LSNG ở vùng Hồ thủy điện Hòa Bình, Hà Tây*.
- Phạm Văn Điền.(2009). *Phát triển cây Lâm sản ngoài gỗ*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, 2009.
- Tô Hiền Đệ. (2006). *Một số giải pháp nhằm phát triển sản xuất kinh doanh các loại lâm sản ngoài gỗ tại vùng đệm Vườn quốc gia Pù Mát, tỉnh Nghệ An, 2006*.
- Trần Công Khánh, Cây thuốc dân tộc và vấn đề bảo tồn tri thức bản địa về cách sử dụng cây thuốc, *Tạp chí dược học*, số 10/2000. trang 8,9.
- Trương Thị Cẩm Nhung.(2016). *Giá thể và dinh dưỡng cây trồng*. Trường Đại học Nông Lâm Tp.Hồ Chí Minh, Khoa Môi trường và Tài nguyên.
- Triệu Văn Hùng, Nguyễn Xuân Quát, Hoàng Chương (2002), *Kỹ thuật trồng một số loài cây đặc sản rừng*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, *Tổng quan ngành Lâm sản ngoài gỗ của Việt Nam*, 6/2002.
- Vũ Quang Sáng. (2007). *Giáo trình sinh lý thực vật ứng dụng*. NXB Nông Nghiệp Hà Nội, p. 92.



Hình PL1: Chồi trung bình trên các loại hom giống kim tiền thảo



Hình PL2: Sinh trưởng hom hai mắt (H1) trong các giá thể



Hình PL3: Sinh trưởng hom ba mắt (H2) trong các giá thể



Hình PL4: Sinh trưởng hom bốn mắt (H3) trong các giá thể

**CHẨN ĐOÁN NHANH VIRUS SCV (STRAWBERRY CRINKLE VIRUS)
TRÊN CÂY DÂU TÂY (FRAGARIA SPP.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP RT-PCR**

Hà Thị Tuyết Phương

Khoa Nông nghiệp và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Tiền Giang

*Tác giả liên hệ: hathituyetphuong@tgu.edu.vn

TÓM TẮT

Cây dâu tây mang lại hiệu quả kinh tế cao và ổn định. Quả dâu tây rất có lợi cho sức khỏe con người. Virus SCV (Strawberry Crinkle Virus) gây bệnh xoắn lá trên cây dâu tây, là bệnh virus nghiêm trọng nhất cho cây dâu tây. Virus SCV được lan truyền nhanh qua các môi giới truyền bệnh. Khi cây bị nhiễm bệnh, rất khó phát hiện ở giai đoạn sớm, khi cây biểu hiện triệu chứng bệnh thì không thể khắc phục được. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định được các cây dâu tây sạch virus SCV, làm nguồn nguyên liệu phục vụ cho công tác nhân giống dâu tây sạch bệnh virus cung cấp cho các vùng trồng dâu tây, góp phần nâng cao năng suất và chất lượng quả dâu tây, đồng thời giới thiệu quy trình chẩn đoán nhanh virus bằng phương pháp RT-PCR phục vụ cho công tác chẩn đoán bệnh virus gây hại cho cây dâu tây và cho các loại cây trồng khác. Kết quả chẩn đoán virus SCV trên cây dâu tây in vitro sau khi được trồng ngoài vườn ươm 45 ngày của 3 giống dâu tây Mỹ Đá, Mỹ Hương và dâu Pháp bằng phương pháp RT-PCR ghi nhận 100% mẫu sạch virus. Phương pháp RT-PCR là phương pháp chẩn đoán nhanh và đặc hiệu các bệnh virus hại thực vật.

Từ khóa: *Cây dâu tây, SCV (Strawberry Crinkle Virus), chẩn đoán, phương pháp RT-PCR.*

**RAPID DIAGNOSIS OF SCV (STRAWBERRY CRINKLE VIRUS) ON
STRAWBERRY (FRAGARIA SPP.) BY RT-PCR METHOD**

Ha Thi Tuyet Phuong

Faculty of Agriculture and Food Technology, Tien Giang University

* Corresponding Author: hathituyetphuong@tgu.edu.vn

ABSTRACT

The strawberries has bring high economic and stability for farmers. Moreover, with more nutrients and vitamins, it is also bring a good health for customers. The strawberry Crinkle Virus (SCV), causing a leaf curl disease on strawberries, is the most serious virus that infects this crop. The SCV virus has been spreading rapidly by vectors, which are commonly on the strawberries farm. When infected, it is difficult to detect at early stage, until occurring typical symptoms, it is impossible to recover. This research has was used to verify the SCV on seedlings, serving as a source of source material for the authors propagating virus-free strawberry varieties to supply a good seedling for growing areas to help improving the yield and quality of strawberries. In addition, has been introducing a rapid virus diagnostic process by RT-PCR method to early detecting of virus diseases on strawberry and other crops. Resulted of SCV testing on invitro strawberries after been growing in the garden for 45 days of three varieties of My Da, My Huong and French strawberries by RT-PCR method, has received 100% virus clean. The RT-PCR is a fast and accusative method for almost viral disease on crops detecting.

Keywords: *Strawberry, SCV (Strawberry Crinkle Virus), diagnosis, RT-PCR method.*

1. MỞ ĐẦU

Cây dâu tây (*Fragaria spp.*) là loại cây ăn quả giàu dinh dưỡng, rất có lợi cho sức khỏe con người. Quả dâu tây cung cấp nhiều loại chất khoáng như Ca, K, P, Mg, Fe và nhiều vitamin cần thiết cho cơ thể con người như vitamin A, vitamin B và vitamin C [1]. Bên cạnh đó, trong quả dâu tây còn có chất fisetin, có tác dụng chống oxy hóa, giúp bảo vệ tế bào khỏi bị lão hóa. Quả

dâu tây còn là nguồn cung cấp ellagic acid, một chất có khả năng hạn chế được bệnh ung thư [2].

Cây dâu tây mang lại hiệu quả kinh tế cao và ổn định. Sản phẩm sử dụng từ quả dâu tây rất đa dạng. Ngoài việc được sử dụng ở dạng tươi, quả dâu tây còn được dùng làm rượu vang, mứt, các loại kem, sữa tươi tiệt trùng, tạo hương thơm cho các loại bánh mứt. Do đó, nhu cầu tiêu thụ của quả dâu tây ngày càng được gia tăng.

Cây dâu tây thường được nhân giống truyền thống bằng cách tách thân bò và tách cây con từ thân chính. Phương pháp nhân giống này cho hệ số nhân giống không cao, cây con dễ bị nhiễm một số bệnh từ cây mẹ, đặc biệt là bệnh virus. Trong những năm gần đây, cây dâu tây đã được nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô. So với phương pháp nhân giống truyền thống, phương pháp nuôi cấy mô có những ưu điểm vượt trội là hệ số nhân giống cao, sử dụng rất ít nguồn mẫu ban đầu. Việc sản xuất cây con giống sạch virus là khâu cơ bản nhất của ngành trồng cây dâu tây [3]. Do đó, việc chọn lọc những cây giống dâu tây sạch bệnh làm nguồn mẫu phục vụ cho công tác nhân giống dâu tây là rất cần thiết.

Virus SCV (*Strawberry Crinkle Virus*) gây bệnh xoắn lá cây dâu tây, là bệnh virus nghiêm trọng nhất cho cây dâu tây [4]. Virus SCV có genome là RNA sợi đơn, được lan truyền nhanh qua các môi giới truyền bệnh. Khi cây bị nhiễm bệnh, rất khó phát hiện ở giai đoạn sớm, khi cây biểu hiện triệu chứng bệnh thì không thể khắc phục được.

Hiện nay, có nhiều phương pháp phát hiện virus trên cây trồng. Phương pháp ELISA (enzyme-linked-immunosorbent assays), phương pháp này thực hiện khá đơn giản, cho kết quả nhanh. Tuy nhiên trong trường hợp nồng độ virus trong tế bào thấp (vài chục pg) thì phương pháp này cho kết quả kém chính xác [5]. Phương pháp PCR (Polymerase Chain Reaction) cho phép chẩn đoán các bệnh virus hại thực vật nhanh, nhạy và đặc hiệu. Phương pháp PCR được áp dụng trực tiếp để chẩn đoán các bệnh virus hại thực vật có genome ở dạng DNA. Đối với các bệnh virus gây hại thực vật có genome ở dạng RNA được chẩn đoán bằng phương pháp RT-PCR [6]. Phương pháp RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction), còn được gọi là PCR phục vụ phiên mã ngược. Phương pháp RT-PCR dùng để khuếch đại DNA bổ sung (cDNA) nhờ enzyme Reverse transcriptase. Phân tử RNA sẽ được chuyển mã ngược (reverse transcription) thành cDNA trước khi thực hiện phương pháp PCR thông thường [7].

Trong canh tác cây dâu tây, việc chẩn đoán nhanh virus SCV trên cây dâu tây bằng phương pháp RT-PCR là rất cần thiết giúp loại bỏ sớm cây giống dâu tây nhiễm bệnh virus SCV trên đồng ruộng vì khi cây bị nhiễm bệnh, rất khó phát hiện ở giai đoạn sớm nhưng khi cây có biểu hiện triệu chứng bệnh thì không thể khắc phục được. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm chọn được các cây dâu tây sạch virus SCV, làm nguồn nguyên liệu phục vụ cho công tác nhân giống dâu tây sạch bệnh virus cung cấp cho các vùng trồng dâu tây, góp phần nâng cao năng suất và chất lượng trái dâu tây. Đồng thời giới thiệu quy trình chẩn đoán nhanh virus bằng phương pháp RT-PCR phục vụ cho công tác chẩn đoán bệnh virus gây hại cho cây dâu tây và cho các loại cây trồng khác.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

Cây dâu tây *in vitro* sau khi được trồng ngoài vườn ươm được 45 ngày tuổi thuộc 3 giống dâu gồm dâu Mỹ Đá, dâu Mỹ Hương và dâu Pháp cần chẩn đoán virus SCV. Cây dâu tây Mỹ Đá nhiễm virus SCV được sử dụng làm đối chứng dương. Vật liệu nghiên cứu được cung cấp bởi phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo Giống cây trồng của Viện Sinh học Tây Nguyên.

2.2 Phương pháp

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Chẩn đoán virus SCV trên cây dâu tây *in vitro* sau khi được trồng ngoài vườn ươm 45 ngày trên 3 giống cây dâu tây Mỹ Đá, Mỹ Hương và Dâu Pháp bằng phương pháp RT-PCR. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 yếu tố, 3 nghiệm thức (3 giống dâu tây), 3 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại kiểm tra 10 cây, mỗi giống dâu kiểm tra 30 cây.

2.2.2 Các bước thực hiện chẩn đoán virus SCV trên cây dâu tây

2.2.2.1. Ly trích RNA

Ly trích RNA được thực hiện theo quy trình theo bộ kit AccPrep[®] Viral RNA Extraction của công ty Bioneer.

Ly trích RNA thực hiện trong điều kiện vô trùng, vì trong phòng lab có nhiều RNase tự do, nên trước khi ly trích dụng cụ được xử lý DEPC-water, khử trùng ở 121°C trong 20 phút, sấy khô ở 60°C một ngày đêm, mặc áo blouse, mang khẩu trang, găng tay để bảo vệ mẫu RNA tinh khiết.

Bước 1: Cho 100 mg mẫu lá dâu tây vào cối có sẵn nito lỏng, nghiền mẫu lá thành bột mịn.

Bước 2: Cho mẫu lá đã nghiền vào eppendorf 1,5 ml.

Bước 3: Bổ sung 400 µl VB buffer (có chứa poly A đã được hoà tan bằng DEPC-DW) vào eppendorf, trộn nhẹ bằng vortex 30 giây.

Bước 4: Ủ eppendorf ở nhiệt độ 30°C trong 10 phút.

Bước 5: Bổ sung 100 µl isopropanol, trộn nhẹ bằng vortex 5 giây, lắc đảo khoảng 10 giây.

Bước 6: Cho cột kéo vào tube 2 ml. Chuyển chất lỏng vào cột kéo.

Bước 7: Đóng nắp tube cẩn thận, ly tâm 8.000 vòng/phút ở 4°C trong 1 phút. Có thể ly tâm nhiều lần cho tới khi nào chất lỏng tách khỏi cột kéo hoàn toàn.

Bước 8: Sau khi ly tâm, chuyển cột kéo vào tube 2 ml mới.

Bước 9: Bổ sung 500 µl W1 buffer (W1 buffer đã được bổ sung 30 ml ethanol) vào cột kéo. Đóng nắp tube cẩn thận, ly tâm 8.000 vòng/phút ở 4°C, 1 phút.

Bước 10: Sau khi ly tâm, chuyển cột kéo vào tube 2 ml mới.

Bước 11: Bổ sung 500 µl W2 buffer (W2 buffer đã được bổ sung 80 ml ethanol) vào cột kéo. Đóng nắp tube cẩn thận, ly tâm 8.000 vòng/phút ở 4°C, 1 phút.

Bước 12: Ly tâm 13.000 vòng/phút ở 4°C trong 1 phút để loại bỏ ethanol khỏi cột kéo hoàn toàn. Đảm bảo không còn một giọt ethanol dính ở đáy cột kéo.

Bước 13: Sau khi ly tâm, chuyển cột kéo vào tube 1,5 ml mới. Bổ sung 50 µl EL buffer (EL buffer đã được làm nóng ở 60°C) vào cột kéo, để yên 5 phút.

Bước 14: Tách RNA khỏi cột kéo qua ly tâm 8.000 vòng/phút ở 4°C, 1 phút.

Bước 15: Lưu trữ RNA ở 4°C đến (- 20)°C.

2.2.2.2 Tổng hợp cDNA

Tổng hợp cDNA được thực hiện theo bộ kit RevertAid[™] First Strand cDNA Synthesis của công ty Fermentas gồm các bước như sau:

Bước 1: Chuẩn bị tube 0,5 ml được ủ lạnh trong đá bọt và bổ sung theo thứ tự:

5 µl RNA mẫu.

1 µl oligo (dT)₁₈ primer (0,5 µg/µl).

DEPC-treated water để đạt thể tích tube 12 µl.

Trộn nhẹ bằng cách ly tâm 8.000 vòng/phút ở 4°C trong 5 giây.

Bước 2: Ủ hỗn hợp ở 70°C trong 5 phút. Sau đó ủ tube trong đá bọt, tiếp theo thực hiện ly tâm 8.000 vòng/phút ở 4°C trong 5 giây.

Bước 3: Ủ tube trong đá bọt và bổ sung các thành phần sau theo thứ tự:

4 µl 5x reaction buffer.

1 µl ribolock[™] ribonuclease inhibitor (20 u/µl).

2 µl 10 mM dNTP mix.

Trộn nhẹ, ly tâm 8.000 vòng/phút ở 4°C trong 5 giây.

Bước 4: Ủ hỗn hợp ở 37°C trong 5 phút.

Bước 5: Bổ sung 1µl revertAid[™] M-MuLV reverse transcriptase (200 u/µl), để đạt thể tích cuối của tube là 20 µl.

Bước 6: Ủ hỗn hợp ở 42°C trong 60 phút.

Bước 7: Ngừng phản ứng bằng cách ủ hỗn hợp ở 70°C trong 10 phút.

Bước 8: Tồn trữ cDNA ở 4°C đến (- 20)°C.

2.2.2.3. Khuếch đại cDNA bằng phản ứng PCR

Thành phần hóa chất để thực hiện phản ứng PCR được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hóa chất để thực hiện phản ứng PCR

Thành phần	Nồng độ
PCR buffer	1X
MgCl ₂	1.5 mM
dNTP	200 μM
Taq DNA polymerase	1U
Mồi xuôi	200 nM
Mồi ngược	200 nM
cDNA	5 μl
DEPC – water	
Tổng thể tích	50.0 μl

Trình tự của mồi xuôi: 5' - TTCAGGACCTATTTGATGACA - 3'

Trình tự của mồi ngược: 5' - CATTGGTGGCAGACCCATCA - 3'

Chu trình nhiệt cho phản ứng PCR như sau:

Bước 1	95°C – 1 phút	1 chu kỳ
Bước 2	95°C – 30 giây	} 40 chu kỳ
Bước 3	58°C – 30 giây	
Bước 4	68°C – 2 phút	
Bước 5	68°C – 5 phút	

Sản phẩm PCR được tồn trữ trong tủ lạnh ở 4°C đến (- 20)°C.

2.2.2.4. Điện di sản phẩm PCR

Cho 0,3 g agarose và 15 ml 0,5x TBE buffer vào bình tam giác.

Đun sôi dung dịch trong 3 phút cho agarose tan hoàn toàn.

Để gel nguội ở 65°C, đặt lược vào khay, đổ gel vào khay cẩn thận tránh bọt khí. Để gel nguội khoảng 1 giờ. Lấy lược ra cẩn thận tránh bể gel, hư giếng, ngâm ngập khoảng 1cm trong 0,5x TBE buffer.

Hút 5μl sản phẩm PCR trộn đều với 2 μl loading dye trên giấy parafin.

Bơm cẩn thận hỗn hợp vào giếng.

Điện di cùng với giếng thang chuẩn (DNA có kích thước 1500 bp), giếng đối chứng dương, giếng đối chứng âm (nước cất vô trùng).

Chạy điện di ở hiệu điện thế 100 V trong 60 phút.

Lấy gel ra và ngâm trong dung dịch ethidium bromide (0,1%) và 0,5x TBE buffer trong 20 phút. Rửa gel bằng nước sạch sau đó đặt vào máy chụp gel, xem kết quả bằng phần mềm Quantity one 200.

2.2.2.5. Xác định kết quả dự kiến

Mẫu nhiễm virus SCV sẽ xuất hiện băng có kích thước 345 bp ở giếng tương ứng.

2.2.3. Chỉ tiêu theo dõi

Tỷ lệ (%) mẫu nhiễm và sạch virus SCV trên các giống cây dâu tây thí nghiệm.

2.2.4. Xử lý số liệu

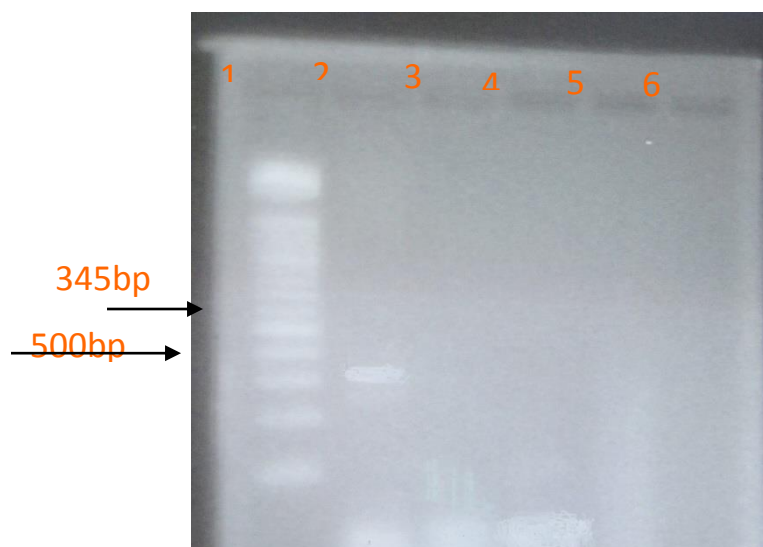
Số liệu thu được từ các thí nghiệm được phân tích bằng phần mềm MSTATC. Dựa vào giá trị Prob trong bảng ANOVA để quyết định trắc nghiệm hay không, nếu có, dùng trắc nghiệm Duncan ở mức 0,05 để đánh giá kết quả thí nghiệm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả thí nghiệm cho thấy các mẫu cây dâu tây của cả ba giống đều thể hiện kết quả âm tính, chứng tỏ không có sự hiện diện của virus SCV. Tỷ lệ cây dâu tây sạch virus SCV ở ba giống Mỹ Đá, Mỹ Hương và Dâu Pháp đều đạt 100% (Bảng 2, Hình 1).

Bảng 2. Tỷ lệ cây dâu tây sạch virus SCV

Giống	Tỷ Lệ Mẫu Sạch Virus (%)
Dâu Mỹ Đá	100,00
Dâu Mỹ Hương	100,00
Dâu Pháp	100,00
F	ns



Hình 1. Kết quả kiểm tra virus SCV trên cây dâu tây ngoài vườn ươm

Giếng 1: Thang chuẩn 1500 bp; 2: Đối chứng dương; 6: Đối chứng âm;

Giếng 3: Mẫu dâu Mỹ Đá; 4: Mẫu dâu Mỹ Hương; 5: Mẫu dâu Pháp

Cây dâu tây sạch virus SCV của ba giống dâu tây tiếp tục được chăm sóc trong vườn ươm. Các cây dâu tây này vừa là nguồn nguyên liệu cho quá trình nhân giống, vừa góp phần cung cấp nguồn cây giống sạch virus, sinh trưởng tốt cho các vùng trồng dâu tây. Đồng thời, các cây dâu tây sạch virus này còn là nguồn nguyên liệu cho các nghiên cứu tiếp theo trên cây dâu tây.

Ngoài được nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô, cây dâu tây thường được nhân giống bằng cách tách thân bò, tách cây con từ thân chính. Với phương pháp nhân giống này, cây con dễ bị nhiễm bệnh từ cây mẹ, đặc biệt là bệnh virus. Bệnh virus thì được lan truyền rất nhanh qua các môi giới truyền bệnh. Khi cây bị nhiễm bệnh, khó phát hiện ở giai đoạn sớm, khi cây biểu hiện triệu chứng thì rất khó khắc phục. Chính vì vậy, để giảm rủi ro trong sản xuất cây dâu tây, cần kiểm tra một cách nghiêm ngặt để đảm bảo tính sạch bệnh virus của cây dâu tây trong vườn ươm.

RT-PCR là phương pháp cho phép chẩn đoán các bệnh virus hại thực vật có genome ở dạng RNA. Phân tử RNA sẽ được chuyển mã ngược thành cDNA trước khi thực hiện phản ứng PCR thông thường [7]. Một số nghiên cứu đã sử dụng phương pháp RT-PCR để chẩn đoán bệnh virus gây hại cây trồng. Ứng dụng phương pháp RT-PCR trong chẩn đoán virus gây bệnh khảm vàng CYMV và bệnh đốm vòng ORSV trên cây hoa lan *Dendrobium* và *Phalaenopsis*. Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự xuất hiện đồng thời của virus gây bệnh khảm vàng CYMV và bệnh đốm vòng ORSV trên cây hoa lan *Dendrobium* và *Phalaenopsis* được thu thập từ các vườn và cây lan *in vitro* từ các phòng thí nghiệm [8]. Kiểm tra tính sạch bệnh virus PMWaV (*Pineapple mealybug wilt-associated virus*) của cây dứa Cayenne (*Ananas comosus* L.) *in vitro* sinh trưởng trong điều kiện vườn ươm bằng kỹ thuật RT-PCR. Kết quả ghi nhận 100% mẫu sạch virus [9]. Kết quả chẩn đoán virus SCV trên cây dâu tây *in vitro* sau khi được trồng ngoài vườn ươm 45 ngày của 3 giống dâu tây Mỹ đá, Mỹ hương và dâu Pháp bằng phương pháp RT-PCR ghi nhận 100% mẫu sạch virus. Phương pháp RT-PCR là phương pháp đáng tin cậy, cho phép chẩn đoán nhanh và đặc hiệu các bệnh virus hại thực vật.



Hình 2. Cây dâu tây được dùng test virus SCV (a: Dâu Mỹ Đá; b: Dâu Mỹ Hương; c: Dâu Pháp) ươm



Hình 3. Cây dâu tây sạch virus SCV được tiếp tục chăm sóc ở vườn ươm

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Đông, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn. ((2004). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, Việt Nam 618-619.
- Kjersti A., Dag E. and Grete S. (2007). *Characterization of Phenolic Compounds in Strawberry (Fragaria x annassa) Fruits by Different HPLC Detectors and Contribution of Individual Compounds to Total Antioxidant Capacity*, Department of Chemistry, Biotechnology and Food Science, Norwegian University of Life sciences: Norway 4395-4406.
- Trần Văn Minh. (1997). *Công nghệ tế bào thực vật: Giáo trình cao học*. nghiên cứu sinh 4-88.
- Maas J.L. (1998). *Compendium of Strawberry diseases*, Department of Agriculture Beltsville, Maryland, USA 1-3.
- Hu, J. S, Ferreira, S., Wang, M. (1993). *Detection of cymbidium mosaic virus, odontoglossum ringspot virus, tomato spotted wilt virus, and potyviruses infecting orchids in Hawaii*, Plant Dis 77 464-468.
- Naidu R.A. and Hughes A. (2002). *Methods for the detection of plant virus diseases*, Department of plant pathology, The University of Georgia, Athens, USA 1233-260.
- Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu. (2005). *Sinh học phân tử: Giới thiệu phương pháp và ứng dụng*, Nhà xuất bản Nông nghiệp 87-95.
- Nguyễn Ngọc Huỳnh, Nguyễn Duy, Hồng Ngọc Trâm, Phạm Thị Mỹ Hạnh, Lý Phương Loan, Bùi Thị Thu Ngân. (2007). *Ứng dụng phương pháp RT-PCR trong chẩn đoán virus gây bệnh khảm vàng CYMV và bệnh đốm vòng ORSV trên cây hoa lan Dendrobium và Phalaenopsis*, *Hội nghị khoa học Công nghệ sinh học thực vật trong công tác nhân giống và chọn tạo giống hoa*, Nhà xuất bản Nông nghiệp TP. Hồ Chí Minh 231-240.
- Trương Bùi Nguyệt Hảo.(2006). *Nghiên cứu tạo cây dứa Cayenne (Ananas comosus (L.) Merr) sạch virus PMWaV (Pineapple Mealybug Wilt associated Virus) bằng phương pháp xử lý nhiệt kết hợp nuôi cấy đỉnh sinh trưởng*, Luận văn Thạc sĩ Khoa học Nông nghiệp, Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam.

INVESTIGATION OF PREBIOTIC ACTIVITY OF EXOPOLYSACCHARIDE FRAGMENTS ISOLATED FROM CULTURED BROTH OF CATEPILLAR FUNGUS *Ophiocordyceps sinensis*

Le Van Nam^{1*}, Luu Thuy Thuy¹, Le Thi Thuy Hang², Dinh Minh Hiep³

¹University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City

²Ho Chi Minh City University of Food Industry

³Ho Chi Minh City Department of Agriculture and Rural Development

*Corresponding Author: levannam16061998@gmail.com

ABSTRACT

Ophiocordyceps sinensis (*O. sinensis*) – commonly known as Dong Chong Xia Cao, is a medicinal fungus that contains valuable bioactive compounds such as cordycepin, polysaccharide..., in which, the exopolysaccharide (EPS) obtained from the cultured medium is a polysaccharide that has been convinced to have various bioactivities such as antioxidant, antibacterial, etc. Several types of exopolysaccharides from some microbial species have been shown to have prebiotic activity to selectively stimulate the growth of intestinal microorganisms, scavenge free radical or protect the intestinal mucosa from inflammatory processes. This study conducted exopolysaccharide fractionation based on molecular weight and investigated antioxidant, anti-inflammatory and prebiotic activities. The fragments of less than 100kDa exopolysaccharide showed highly antioxidant and anti-inflammatory activities with IC₅₀ of 2906.61±61.54 (µg/ml) and 893.90±19.97 (µg/ml), respectively. Those fragments also showed the ability to inhibit the growth of *E. coli* with $\Delta OD_{600} = 0.245 \pm 2.82 \cdot 10^{-3}$ and stimulate the growth of *B. subtilis* with $\Delta OD_{600} = 0.457 \pm 0.072$ and *L. fermentum* with $\Delta OD_{600} = 0.824 \pm 0.0523$. The above results are a premise for in vivo studies.

Keywords: Exopolysacchride, prebiotic activity, *Ophiocordyceps sinensis*

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH PREBIOTIC CỦA CÁC PHÂN ĐOẠN EXOPOLYSACCHARIDE TỪ DỊCH NUÔI CẤY NẤM *Ophiocordyceps sinensis*

Lê Văn Nam^{1*}, Lưu Thuý Thuý¹, Lê Thị Thuý Hằng², Đinh Minh Hiệp³

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP Hồ Chí Minh

³Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn TP Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: levannam16061998@gmail.com

TÓM TẮT

Ophiocordyceps sinensis (*O. sinensis*) – Đông trùng hạ thảo, là một loại nấm dược liệu có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như cordycepin, polysaccharide... Trong đó, exopolysaccharide thu được từ dịch nuôi cấy là một loại polysaccharide đã được chứng minh là có nhiều hoạt tính đối với sức khỏe của con người như kháng oxy hóa, kháng khuẩn... Một số loại exopolysaccharide từ một số loài vi sinh vật khác đã được chứng minh là có hoạt tính prebiotic giúp kích thích tăng trưởng có chọn lọc các vi sinh vật đường ruột, bảo vệ thông qua cơ chế bắt gốc tự do hay bảo vệ niêm mạc ruột khỏi quá trình viêm. Nghiên cứu này tiến hành phân đoạn exopolysaccharide dựa vào trọng lượng phân tử và khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm và hoạt tính prebiotic. Kết quả cho thấy mẫu phân đoạn nhỏ hơn 100kDa loại protein thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm tốt với IC₅₀ lần lượt là 2906,61±61,54 (µg/ml) và 893,90±19,97 (µg/ml). Phân đoạn này cũng cho thấy khả năng ức chế sự phát triển chủng *E. coli* với $\Delta OD_{600nm} = 0,245 \pm 2,82 \cdot 10^{-3}$, kích thích tăng sinh chủng *B. subtilis* với $\Delta OD_{600nm} = 0,457 \pm 0,072$ và *L. fermentum* với $\Delta OD_{600} = 0.824 \pm 0.0523$. Kết quả trên là tiền đề cho những nghiên cứu hoạt tính prebiotic của exopolysaccharide từ *O. sinensis* trên mô hình in vivo.

Từ khóa: Exopolysacchride, hoạt tính prebiotic, *Ophiocordyceps sinensis*

INTRODUCTION

Ophiocordyceps sinensis, also known as Caterpillar fungus, is one of the valuable medicinal mushrooms that have been used so far. A myriad of studies has been performed in both *in vitro* and *in vivo* models to evaluate the biological activities of this fungus. The results elucidated that both wild-harvested mushrooms, as well as mycelium cultures on liquid medium, demonstrated a wide spectrum, which have a variety of pharmacological effects related to liver, kidneys, cardiovascular diseases, nervous system, immune system, and antitumor activities [1]. Additionally, another study of the fungus *O. sinensis* (CS-1) on the immune rejection response is conducted in organ transplantation. The results show that CS-1 can prolong the survival time of the transplanted heart without causing infection and affecting other vital organs.

There are several studies on biologically active components of *O. sinensis* fungus that comprise ribonucleoside, mannitol, sterols, organic acids, polysaccharides, proteins, polyamines, amino acids dipeptides, vitamins, and a variety of trace elements [2]. One of the pivotal bioactive components of *O. sinensis* is the polysaccharide which has been convinced to have a protective effect in acute renal failure caused by gentamicin, upgrade renal function [3], or have an immunomodulatory effect stimulating macrophage function in mice [4]. Exopolysaccharide that is obtained from *O. sinensis* mycelial cultured medium is also a polysaccharide and has anti-tumor immunomodulatory activity tested in B16 tumor-bearing mice. The results showed a decrease in cellular metastasis to the lungs and liver and in Bcl-2 levels of the lungs and liver [5]. In addition, the ability to inhibit the xanthine oxidase enzyme is significant in the gout treatment [6], or the study of Se supplement to the cultured medium improves the inhibitory activity of the enzyme α -glucosidase, which is beneficial in diabetes treatment [7].

The gut microbiome is a complex community of microorganisms that inhabit the digestive tracts of humans and other animals, including insects. Gut microbiota is involved in host physiology, nutrition, food metabolism, regulation of fat metabolism, homeostasis in immune regulation [8]. The composition of the intestinal microbiota is abundant, but of which, two types of beneficial microorganisms (probiotics) and harmful microorganisms are mostly taken into consideration. Probiotics have the benefits of upgrading nutrient absorption, protecting intestinal epithelium, impacting the immune system, and helping compete with harmful microorganisms [9]. The harmful microorganisms in the body are commonly regulated. Disorders that alter the gut microbiota can trigger severe diseases such as necrotizing enterocolitis or involve in obesity [10].

Prebiotics are defined as non-digestible food that selectively stimulates the growth of certain types of microorganisms in the intestinal tract. Studies of prebiotic activity protection illustrated that a protective effect on the function of the cell membrane is due to the impact of reactive oxygen species (ROS) [11]. Short-chain fatty acids (SCFAs), especially butyrate, are produced when prebiotic-using microorganisms increase levels of antioxidant glutathione in the large intestine or reduce H₂O₂-induced DNA damage [12]. Another prebiotic activity is that the use of SCFAs such as acetate, propionate, and butyrate substantially inclines the production of the anti-inflammatory cytokine IL-10 and significantly declines the production of IL-6, IL-1b and TNF- α [11], especially the activity that selectively stimulates beneficial microorganisms. Specifically, β -glucans from fungi (*Pleurotus tuberculosis*, *Polyporoushinocerus* and *Wolfiporia cocos*) can be utilized by human colon bacteria *in vitro*, which shows the growth of *Bifidobacteria* and lactic acid bacteria. Otherwise, D-glucan component extracted from mushrooms is able to stimulate the growth of *Lactobacillus ramosus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Enterococcus* strains. Meanwhile, the letinan component has inhibitory activity on *Salmonella* [13].

MATERIALS AND METHODS

Materials

The strain of *O. sinensis* was provided by Dr. Truong Binh Nguyen - Dalat University, Vietnam. Cultured medium consists of 200 g/L potato, 50 g/L saccharose, 6 g/L peptone, 4 g/L yeast

extract, 0.5 g/L KH₂PO₄, 0.5 g/L K₂HPO₄, 0.5 g/L CaCl₂, 0.2 g/L MgSO₄, cultured at 22 °C for 40 days.

Methods

Obtain raw EPS and EPS fragment

The process of obtaining EPS from the post-culture medium was performed according to the method of Kim et al. [14]. The medium was filtered with a filter cloth then evaporatively reduced by a rotary evaporator at 65°C. Then it is precipitated with 4 volumes of ethanol 96% (v/v), incubated for 24 h at 4°C, then centrifuged at 6000 rpm for 10 minutes to collect the precipitate, wash 2-3 times with ethanol 96 %, dried at 50°C to constant weight. The raw EPS was then divided into 2 samples: sample with protein and deproteinized sample using the Segva method. Then, these two samples were filtered through ultrafilter of 750kDa and 100kDa, respectively. The EPS fragments were evaporated, precipitated and dried similarly to the raw EPS sample.

Antioxidant activity assay

The antioxidant activity was evaluated based on the ABTS·+ free radical scavenging activity of antioxidants and was conducted according to the method of Ozogen et al (2006) with appropriate modifications [15]. 100 µl of sample (0-4000 µg/ml) was added to 3000 µl of ABTS·+ solution, vortexed evenly and incubated for 30 min in the dark at room temperature, measured at 734 nm. The blank was made by adding 100 µl of PBS buffer (pH 7.4) and 3000 µl of ABTS·+. The color sample control was made by adding 100 µl of sample and 3000 µl of PBS buffer (pH 7.4). The free radical scavenging capacity is calculated by the formula:

$$\text{ABTS + scavenging effect (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Where: A₀: optical density of the blank; A₁: optical density of the sample (optical density of the sample- optical density of the color sample control)

Anti-inflammatory activity assay

The anti-inflammatory activity was evaluated through the investigation of albumin denaturation inhibitory activity in an in vitro model by Tran Quoc Tuan et al (2014) [16] with a positive control being diclofenac. 2 ml acetate buffer 0.025 M (pH 5.5), add 1 ml bovine serum albumin 0.16% and 1ml extract at concentrations of 4000; 2000; 1000; 500; 250 µg/ml, then incubated at 37°C for 30 min. Water bath is heated at 67°C for 3 min, cooled, measured at 660 nm. The color sample control was made by adding 2ml of acetate buffer 0.025M (pH 5.5) and 1ml of sample. The anti-inflammatory rate was calculated according to the formula:

$$\text{Anti-inflammantory rate (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Where: A₀: optical density of the blank; A₁: optical density of the sample

Prebiotic activity assay

0.1ml EPS solution concentration 4000µg/ml (control sample add 1ml sterile distilled water) is added to each test tube containing 9.8ml of medium (LB with *E. coli* strain and *B. subtilis* strain, MRS medium with strain *L. fermentum*). Then, 0.1ml of bacterial solution is inoculated into the above test tubes. The cultured medium is shaken at 37°C for 24 hours (for *E. coli* and *L. fermentum* strains, 18 hours for *B. subtilis* strains). Optical density is measured at 600 nm, which is compared between the control samples and the samples with EPS supplement.

RESULT AND DISCUSSION

The harvesting efficiency of raw EPS and EPS fragments

The raw EPS was obtained from the culture fluid. Then 10g of EPS was deproteinized by Segva method and 10g of deproteinized EPS was tangentially filtered to collect the fragments.

The resulting crude EPS content is 2.3825g/L. A previous study by Le Quoc Phong et al on the same *O. sinensis* strain showed an EPS yield of 2.55g/L [7]. Therefore, the EPS harvesting efficiency is compatible with the reported studies.

The mass of EPS fragments is shown in Figure 1.

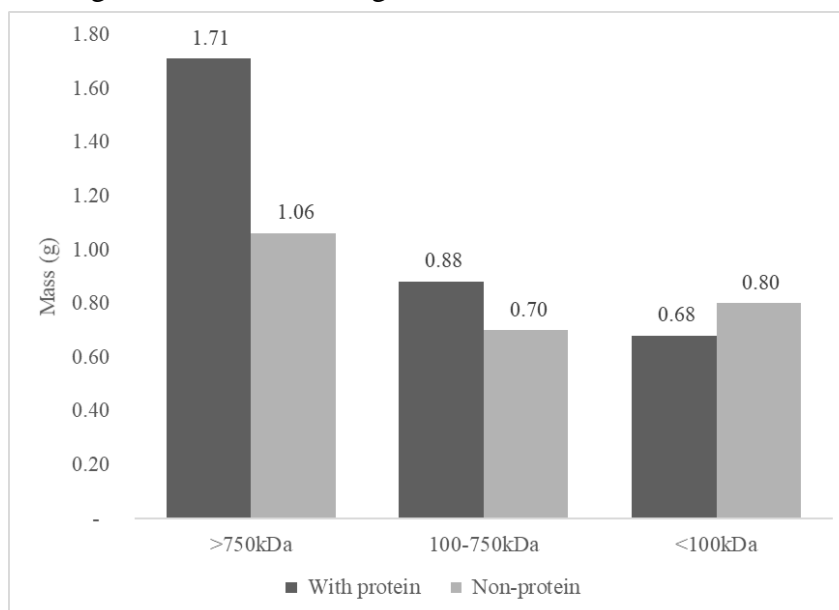


Figure 1. The mass of EPS fragments

The results showed that after protein removal, the amount of EPS obtained in the fragments with protein was less than non-protein except the less-than-100kDa fragments. The fragments that constitute the most mass were larger than 750kDa with a mass of 1.71(g). The fragments that obtained the least mass were less than 100kDa non-protein fragments with a yield of 0.68(g). The results show that the EPS sample has a molecular weight ranging from 0kDa to more than 750kDa. Previous studies on exopolysaccharide of Cs-HK1 strain also showed that the EPS composition has a molecular weight ranging from 5kDa to more than 200kDa [1]. The nature of EPS is associated with polysaccharide and protein. Therefore, the EPS sample after protein removal will have a lower amount of EPS than the EPS sample with protein. The structure and biological activity of EPS depend on the changes in the components in the cultured medium.

Result of antioxidant activity

When reacting with highly oxidizing compounds, $ABTS^{\cdot+}$ is reduced to a colorless form $ABTS - R^+$. Based on this activity, we can qualitative and quantitative the inhibitory capacity of $ABTS^{\cdot+}$ free radicals of the analyte.

The positive control is vitamin C with IC_{50} value = 65.73 ± 5.36 ($\mu\text{g/ml}$). The results of $ABTS^{\cdot+}$ free radical scavenging activity evaluated through the IC_{50} value of the EPS fragmented samples are shown in Table 1.

Table 1. IC_{50} value of EPS fragments in antioxidant activity

EPS	With protein	Non-protein
Raw	3208,49	
>750kDa	3288,77	3346,30
100-750kDa	3109,99	3178,68
<100kDa	3285,37	2906,91

EPS samples less than 100kDa with protein shows the best $ABTS^{\cdot+}$ radical scavenging activity with IC_{50} value = 2906.61 ± 61.54 ($\mu\text{g/ml}$). Another study is implemented on neutral EPS isolated from *Lactobacillus plantarum* C88 and purified by ion exchange chromatography and gel filtration chromatography. The results showed that the structure consisting of two

monosaccharides, galactose and glucose, with a molar ratio of 1:2 respectively, showed antioxidant activity [17]. The study on the structure of EPS obtained from the culture fluid of *O. sinensis* strain showed that the EPS sample contains 6 different monosaccharides rhamnose, arabinose, xylose, mannose, glucose and galactose. Among those, glucose monosaccharide accounts for the largest proportion. It shows that the EPS sample under the study has antioxidant activity.

Result of anti-inflammatory activity

The inflammatory process will produce mediators that increase the body's temperature, affect the binding of proteins in the body, and denature proteins. A compound has anti-inflammatory activity when it is able to protect proteins from denaturation by heat.

The positive control is diclofenac with IC_{50} value = 29.33 ± 2.25 ($\mu\text{g/ml}$). The results of anti-inflammatory activity assessed through the IC_{50} value of the EPS fragmented samples are shown in Table 2.

Table 2. IC_{50} value of EPS fragments in anti-inflammatory activity

	With protein	Non-protein
Raw	>4000	
>750kDa	3159,28	2772,04
100-750kDa	2258,24	1977,82
<100kDa	2019,16	893,90

The results showed that the raw EPS samples had low anti-inflammatory activity (IC_{50} >4000 $\mu\text{g/ml}$). The EPS fragments after protein removal exhibited higher anti-inflammatory activity than the fragments with protein. The non-protein EPS samples less than 100kDa that showed the highest anti-inflammatory capacity with IC_{50} value = 893.90 ± 19.97 ($\mu\text{g/ml}$). A study on EPS-LM-1 purified from crude exopolysaccharide by fermenting mycelium *Cs-HK1*. EPS-LM-1, which is a heteropolysaccharide composed of glucose, mannose, and galactose monosaccharides shows activity against LPS-induced activation of the NF- κ B pathway and related inflammatory responses in THP-1 cells [18]. This shows that the survey results are rational.

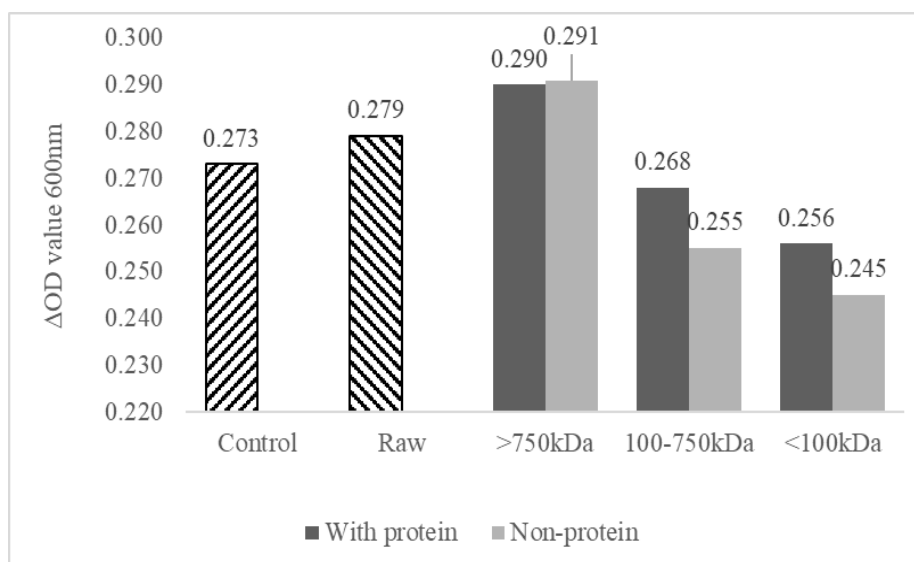


Figure 2. OD value 600 nm of *E. coli* in survey samples

Result of prebiotic activity Results of inhibiting proliferation of *E. coli* The results of the activity of inhibiting the proliferation of harmful bacteria strain *E. coli* of the EPS fragments are shown in Figure 2 The results of the survey on the ability to inhibit harmful bacteria *E. coli* of the EPS fraction samples showed that only fractions from 100-750kDa and fractions less than 100kDa

were able to inhibit the growth of *E. coli*. The fractions deproteinized by Segva method showed higher inhibition against *E. coli* than fractions with protein. The fractions less than 100kDa non-protein that showed the highest inhibition of *E. coli* growth with a ΔOD value of $600\text{ nm} = 0.245 \pm 2.82 * 10^{-3}$. A study on exopolysaccharides (EPS) obtained from *Ligilactobacillus salivarius* strain has a monosaccharide structure composed of 4 types of glucose, fructose, galactose, and mannose. The results of the prebiotic activity survey of EPS showed that it inhibited the growth of harmful microorganisms such as *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* EB-1 and *Escherichia coli* ATCC 11229 [19]. It shows that the EPS sample under the study also has similar monosaccharide components, so it also has prebiotic activity.

1.1.1. Results of proliferative stimulation of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus fermentum*

The results of the activity of stimulating the proliferation of beneficial bacteria *B. subtilis* of the EPS fragments are shown in Figure 3.

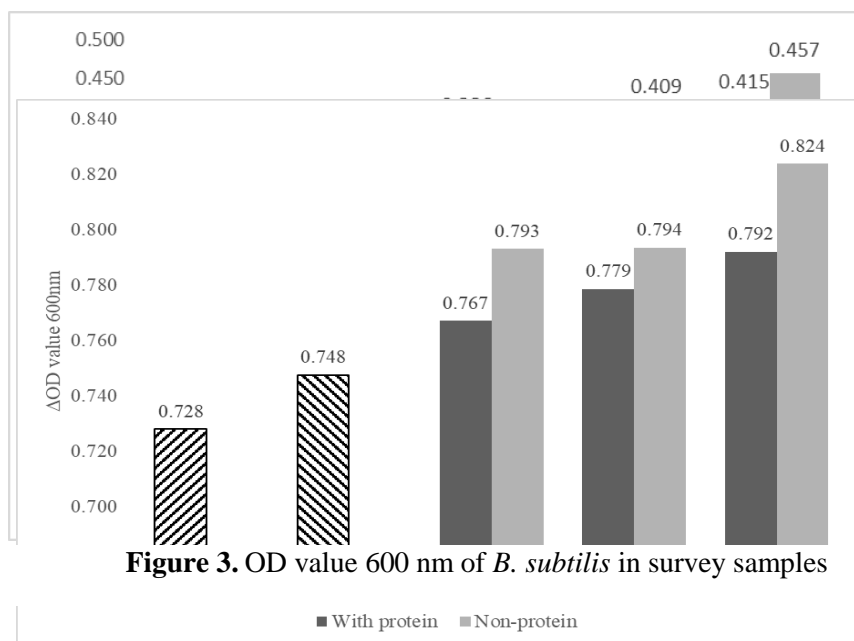


Figure 4. OD value 600 nm of *L. fermentum* in survey samples

The results of the survey on the ability to stimulate the proliferation of *B. subtilis* bacteria of the EPS fragmented samples showed that the EPS fragments had a higher proliferative activity than the raw EPS sample. The fragments deproteinized by Segva method showed a higher ability to stimulate *B. subtilis* proliferation than the fragments with protein, except for larger-than-750kDa fragments. Non-protein sample with fragments less than 100kDa demonstrated the highest ability to stimulate the growth of *B. subtilis* with ΔOD value of $600\text{ nm} = 0.457 \pm 0.072$. The results of the activity of stimulating the proliferation of beneficial bacteria *L. fermentum* of the EPS fragments are shown in Figure 4.

The results of the investigation of the ability of the EPS fragmented samples to stimulate the proliferation of *L. fermentum* bacteria convinced that the EPS fragment samples had a higher proliferative activity than the raw EPS sample. The fragments deproteinized by Segva method showed a higher ability to stimulate *L. fermentum* proliferation than the fractions with protein. Non-protein samples with fragments less than 100kDa have highest the ability to stimulate the growth of *L. fermentum* bacteria with $\Delta OD_{600} = 0.824 \pm 0.0523$. Raw EPS sample with protein has the lowest ability to stimulate growth of *L. fermentum* bacteria with $\Delta OD_{600} = 0.728 \pm 0.1013$. A previous study showed that 3 EPS fragments obtained from the fermentation of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. bulgaricus SRFM-1 with a molecular weight of 397kDa, 386kDa and 345kDa, respectively, contains the monosaccharide components such as glucose and galactose, which significantly impacts on the cell density as well as the maximum growth rate (μ_{max}). From

that, the potential of prebiotics is applied in functional foods to help regulate the balance of the gut microbiota [20]. The results illustrate that the EPS sample under investigation also has the same composition, so it also has prebiotic activity.

CONCLUSIONS

Based on the survey results, samples of fragment less than 100kDa show the ability to inhibit the growth of harmful microorganisms such as *E. coli* with a ΔOD value of $600 \text{ nm} = 0.245 \pm 2.82 \cdot 10^{-3}$, and also have the ability to stimulate the proliferation of two beneficial microorganisms *B. subtilis* with ΔOD value of $600 \text{ nm} = 0.457 \pm 0.072$ and of *L. fermentum* with ΔOD value of $600 \text{ nm} = 0.824 \pm 0.0523$. In addition, this fragment also showed the best antioxidant activity, $IC_{50} = 2906.61 \pm 61.54$ ($\mu\text{g/ml}$) and anti-inflammatory activity, $IC_{50} = 1029.46 \pm 13.11$ ($\mu\text{g/ml}$). As a result, it is elucidated that the EPS fragments less than 100kDa with protein have prebiotic potential, which is a prospect for future studies.

REFERENCES

- Yan J.-K., Li L., Wang Z.-M. and Wu J.-Y. (2010), "Structural elucidation of an exopolysaccharide from mycelial fermentation of a *Tolyposcladium* sp. fungus isolated from wild *Cordyceps sinensis*", *Carbohydrate Polymers*. 79(1), pp. 125-130.
- Zhou F., Chen T. and Yin H. (2008), "Protective role of cordyceps polysaccharide on gentamicin-induced acute renal failure in rats", *Pharmaceutical and Clinical Research*. 16(6), pp. 432-435.
- Zhang W., Yang J., Chen J., Hou Y. and Han X. (2005), "Immunomodulatory and antitumour effects of an exopolysaccharide fraction from cultivated *Cordyceps sinensis* (Chinese caterpillar fungus) on tumour-bearing mice", *Biotechnology and applied biochemistry*. 42(1), pp. 9-15.
- Gong M., Zhu Q., Wang T., Wang X., Ma J. and Zhang W. (1990), "Molecular structure and immunoactivity of the polysaccharide from *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc", *Sheng Wu Hua Hsueh Tsa Chih*. 6(6), pp. 486-92.
- Yin D. and Tang X. (1995), "Advances in the study on artificial cultivation of *Cordyceps sinensis*", *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*. 20(12), pp. 707-9, inside back cover.
- Hoang N.T. (2018), "Effect of rice bran oil on mycelial biomass production, biosynthesis and bioactivities of polysaccharides by *Ophiocordyceps sinensis* fungus", *Vietnam Journal of Science and Technology*. 56(4A), pp. 74.
- Lê Quốc Phong N.K.S., Đẳng N.H., Khoa N.H.Đ., Tú Đ.T.Q.Đ., Tài N.T.H.N. and Hiệp Đ.M. (2020), "Đánh giá hoạt tính kháng viêm, kháng khuẩn và ức chế enzyme α -glucosidase in vitro của nấm *Ophiocordyceps sinensis* giàu selen", *Bản B của Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*. 62(8).
- Neu J., Mshvildadze M. and Mai V. (2008), "A roadmap for understanding and preventing necrotizing enterocolitis", *Current gastroenterology reports*. 10(5), pp. 450-457.
- Quigley E.M. (2010), "Prebiotics and probiotics; modifying and mining the microbiota", *Pharmacological research*. 61(3), pp. 213-218.
- Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V., Mardis E.R. and Gordon J.I. (2006), "An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest", *nature*. 444(7122), pp. 1027-1031.
- Curimbaba T., Almeida-Junior L., Chagas A., Quaglio A., Herculano A. and Di Stasi L. (2020), "Prebiotic, antioxidant and anti-inflammatory properties of edible Amazon fruits", *Food Bioscience*. 36, pp. 100599.
- Hamer H.M., Jonkers D.M., Vanhoutvin S.A., Troost F.J., Rijkers G., de Bruïne A., Bast A., Venema K. and Brummer R.-J.M. (2010), "Effect of butyrate enemas on inflammation and antioxidant status in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis in remission", *Clinical nutrition*. 29(6), pp. 738-744.
- Bhakta M. and Kumar P. (2013), "Mushroom polysaccharides as a potential prebiotics", *Int. J. Health Sci. Res*. 3(8), pp. 77-84.

- Kim H. and Yun J. (2005), "A comparative study on the production of exopolysaccharides between two entomopathogenic fungi *Cordyceps militaris* and *Cordyceps sinensis* in submerged mycelial cultures", *Journal of applied microbiology*. 99(4), pp. 728-738.
- Ozgen M., Reese R.N., Tulio A.Z., Scheerens J.C. and Miller A.R. (2006), "Modified 2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(4), pp. 1151-1157.
- Trần Quốc Tuấn L.T.O., Đinh Minh Hiệp, Ngô Đại Nghiệp (2014), "Chuẩn hóa mô hình sàng lọc in vitro các hợp chất kháng viêm dựa trên khả năng ức chế biến tính albumin bò do nhiệt", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. 52(5B).
- Zhang L., Liu C., Li D., Zhao Y., Zhang X., Zeng X., Yang Z. and Li S. (2013), "Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88", *International Journal of Biological Macromolecules*. 54, pp. 270-275.
- Li L.-Q., Song A.-X., Wong W.-T. and Wu J.-Y. (2021), "Isolation and Assessment of a Highly-Active Anti-Inflammatory Exopolysaccharide from Mycelial Fermentation of a Medicinal Fungus Cs-HK1", *International Journal of Molecular Sciences*. 22(5), pp. 2450.
- Bikric S., Aslim B., Dincer İ., Yuksekdog Z., Ulusoy S. and Yavuz S. (2021), "Characterization of Exopolysaccharides (EPSs) Obtained from *Ligilactobacillus salivarius* Strains and Investigation at the Prebiotic Potential as an Alternative to Plant Prebiotics at Poultry", *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, pp. 1-11.
- Tang W., Han S., Zhou J., Xu Q., Dong M., Fan X., Rui X., Zhang Q., Chen X. and Jiang M. (2020), "Selective fermentation of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* SRFM-1 derived exopolysaccharide by *Lactobacillus* and *Streptococcus* strains revealed prebiotic properties", *Journal of Functional Foods*. 69, pp. 103952.

KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN CHẤT LƯỢNG SNACK KHOAI LANG TÍM (*Ipomoea batatas* L.)

Nguyễn Thị Hiền^{1*}, Nguyễn Kim Phụng¹, Nguyễn Hữu Thành²

¹Trung tâm Công nghệ sau thu hoạch, Khoa Nông nghiệp – Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh.

²Sinh viên ngành Công nghệ thực phẩm, Khoa Nông nghiệp – Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh.

*Tác giả liên hệ: hiennguyen@tvu.edu.vn

TÓM TẮT

Khoai lang tím (*Ipomoea batatas* L.) chứa nhiều chất dinh dưỡng như protein, glucose, tinh bột, vitamins, khoáng chất và bên cạnh đó còn có nhiều hợp chất hoạt tính sinh học (polyphenol và anthocyanin), chứa hàm lượng lớn các chất phytochemical có ích cho sức khỏe. Trên cơ sở khảo sát một số yếu tố trong quá trình chế biến ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm nhằm tạo ra sản phẩm snack khoai lang tím đạt chất lượng tốt nhất. Kết quả nghiên cứu cho thấy quá trình tiền xử lý hấp cho sản phẩm có màu sắc tốt nhất. Ở nhiệt độ chiên 150°C trong thời gian 80 giây, màu sắc sản phẩm phù hợp nhất, phân tích hàm lượng anthocyanin thu được trong sản phẩm là $0.476 \pm 0.039\%$ và polyphenol tổng số là 12.197 ± 1.71 mgGAE/g chất khô. Tỷ lệ phối trộn các thành phần gia vị gồm 1% đường, 1% muối và 8% bột phô mai tạo sản phẩm có giá trị cảm quan cao.

Từ khóa: Khoai lang tím, polyphenol tổng số, Anthocyanin

SURVEYING SOME FACTORS AFFECTING THE QUALITY of Purple Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.)

Nguyen Thi Hien^{1*}, Nguyen Kim Phung¹, Nguyen Huu Thanh²

¹Post-harvest Technology Center, Faculty of Agriculture and Fisheries, Tra Vinh University.

²Students of Food Technology, Faculty of Agriculture and Fisheries, Tra Vinh University.

* Corresponding Author: hiennguyen@tvu.edu.vn

ABSTRACT

Purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) contains many nutrients such as protein, glucose, starch, vitamins, minerals and besides, there are many biologically active compounds (polyphenols and anthocyanins), containing large amounts of phytochemicals are beneficial for health. On the basis of surveying a number of factors in the processing process affecting product quality in order to create the best quality purple sweet potato snack. Research results show that the steam pretreatment process gives the product the best color. At a frying temperature of 150°C for 80 seconds, the most suitable product color, analyzed for anthocyanin content in the product was $0.476 \pm 0.039\%$ and total polyphenol was $12,197 \pm 1.71$ mgGAE/g dry matter. The mixing ratio of spices including 1% sugar, 1% salt and 8% cheese powder creates products with high sensory value.

Keywords: Purple sweet potato, total polyphenols, anthocyanins

MỞ ĐẦU

Ở Việt Nam, khoai lang là cây lương thực truyền thống đứng thứ 3 sau lúa, ngô và đứng thứ 2 về giá trị kinh tế sau khoai tây. Năm 2019, diện tích và sản lượng khoai lang cả nước là hơn 247 nghìn ha, đạt hơn 1.4 triệu tấn, tăng 27.2 nghìn tấn so với năm 2018 (Báo cáo số 209/BC-TCTK, tổng cục thống kê, 2019) [1]. Năm 2014, diện tích trồng khoai lang tím ở Trà Vinh là hơn 200ha năng suất đạt khoảng 6 tấn/ha, tập trung chủ yếu ở huyện Duyên Hải, Cầu Ngang,... Mô hình trồng khoai lang trên địa bàn tỉnh Trà Vinh đã mang lại lợi nhuận kinh tế trong chuyển

dịch cơ cấu cây trồng, đồng thời góp phần đáng kể trong việc thúc đẩy kinh tế - xã hội của xã phát triển. Tuy nhiên theo đánh giá sơ bộ Cục Thống kê Trà Vinh trong năm 2018, tổng diện tích trồng khoai lang có xu hướng giảm do giá cả không ổn định (1.206 ha, sản lượng 18.575 tấn). Thị trường tiêu thụ và công nghệ chế biến chưa thực sự được quan tâm đúng mức, quy mô còn nhỏ lẻ, chất lượng không đảm bảo, không ổn định. Sản phẩm từ khoai lang chủ yếu là tiêu thụ thô, là dùng để xuất khẩu ở dạng củ tươi sang các thị trường các nước.

Khoai lang tím có tên khoa học *Ipomoea batatas* L, là nguồn thực phẩm giàu năng lượng, chứa nhiều tinh bột, protein, các acid amin, vitamin A, B, C, E và hơn 10 loại nguyên tố vi lượng cần thiết khác như (K, Na, Mg, Fe, P...) đem lại nhiều lợi ích sức khỏe cho con người. Bên cạnh đó, trong khoai lang có hợp chất polyphenol - một hợp chất có nguồn gốc tự nhiên có khả năng chống oxy hóa vô cùng hiệu quả, giúp cơ thể chống lại nhiều bệnh khác nhau do gốc tự do gây ra như: Đau nửa đầu, đột quỵ, thoái hóa thần kinh, xơ hóa cơ tim, cao huyết áp,...[2]. Đặc trưng điển hình của khoai lang tím làm cho nó có giá trị hơn so với các loại khoai lang khác là sự có mặt của hợp chất có hoạt tính sinh học cao. Anthocyanins có rất nhiều lợi ích cho sức khỏe như chống viêm, chống oxy hóa, giảm nguy cơ mắc bệnh tim và các bệnh ung thư khác nhau. Nhiều nghiên cứu gần đây đã cho thấy anthocyanin là hợp chất có nhiều hoạt tính sinh học tốt cho sức khỏe như khả năng chống dị ứng, chống oxy hóa, chống các tia phóng xạ, chống viêm, chống vi khuẩn, chống đông huyết tạo các bệnh mạch vành, có tác dụng bảo vệ tim mạch [3, 4]. Nhằm tránh các tình trạng như được mùa mất giá, được giá mất mùa, hoặc các tình trạng khan cấp như dịch bệnh, các cửa khẩu phải đóng cửa thì nguồn nông sản không thể xuất đi dẫn đến những thiệt hại về kinh tế thì việc nghiên cứu các dạng sản phẩm khác trên thị trường là một vấn đề được nhiều người quan tâm. Trước tình hình đó, việc triển khai đề tài “Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng snack khoai lang tím” nhằm tạo ra sản phẩm mới thơm ngon, có mùi vị đặc trưng riêng, có giá trị dinh dưỡng, tốt cho sức khỏe con người, đồng thời cũng góp phần đa dạng hoá sản phẩm, phát triển sản phẩm của địa phương, cải thiện đời sống kinh tế của người dân bằng cách tận dụng nguồn nguyên liệu có sẵn.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG TIỆN NGHIÊN CỨU

Nguyên vật liệu và thiết bị

Khoai lang tím được thu mua từ các hộ nông dân trong tỉnh Trà Vinh.

Hóa chất sử dụng cho nghiên cứu: Na_2CO_3 , thuốc thử Folin, gallic acid của hãng Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA), methanol, KCl (kali clorua), CH_3COONa (Natri acetat)

Thiết bị: bể điều nhiệt Memmert, cân sấy ẩm Kern MLB 50-3, cân phân tích 4 số lẻ, máy đo màu quang phổ Thermor Fisher Scientific, máy vortex.

Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm 1: Khảo sát sự ảnh hưởng của quá trình tiền xử lý đến màu sắc và cấu trúc của sản phẩm

Khoai lang tím được gọt vỏ và rửa sạch. Sau đó cắt lát mỏng khoảng 0.2 cm. Khoai lang tím cắt lát được ngâm trong nước có bổ sung NaHSO_3 0.05% trong 50 phút, xử lý các phương pháp tiền xử lý khác nhau (A1: Lát khoai tím đã được ngâm NaHSO_3 sau đó được hấp ở 2 phút, A2: Lát khoai tím đã ngâm NaHSO_3 sau đó lạnh đông ở -25°C trong 8 giờ, A3: Lát khoai tím đã được ngâm NaHSO_3 sau đó sấy ở 50°C trong 30 phút sau đó thực hiện lạnh đông với thời gian và nhiệt độ lạnh đông như phương pháp A2, A4: Tiến hành tương tự như phương pháp A3, tiến hành rã đông trong không khí ở nhiệt độ phòng). Sau đó chiên ở 150°C trong 80 giây, làm nguội, tiến hành đánh giá màu sắc của sản phẩm, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

Thí nghiệm 2: Khảo sát sự ảnh hưởng thời gian và nhiệt độ chiên đến chất lượng của sản phẩm
Khoai lang tím sau sơ chế, cắt lát mỏng, ngâm trong nước có bổ sung NaHSO_3 0.05% trong 50 phút, xử lý theo phương pháp tốt nhất ở thí nghiệm 1. Sau đó tiến hành chiên ở thời gian và nhiệt độ khác nhau, làm nguội 5 phút ở nhiệt độ phòng và tiến hành kiểm tra các chỉ tiêu. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

Thí nghiệm 3: Khảo sát tỷ lệ phối trộn gia vị ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm

Khoai lang tím sau khi được xử lý cắt lát mỏng tiến hành ngâm trong nước có chứa NaHSO_3 0.05% trong 50 phút, xử lý bằng phương pháp tiền xử lý tốt nhất ở thí nghiệm 1. Sau đó chiên

ở thời gian và nhiệt độ chiên được chọn thí nghiệm 2, làm nguội 5 phút ở nhiệt độ phòng, phối trộn gia vị theo các công thức khác nhau (đường:muối:phô mai (%)) = 1:1:8; 1,5:0,5:8; 0,5:1,5:8). Thực hiện đánh giá cảm quan, mỗi thí nghiệm thực lập lại 3 lần.

2.1. Phương pháp phân tích

Xác định hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) theo phương pháp của Folin-Ciocalteu. Lấy mẫu đem đi trích ly bằng methanol 70% (1:10) ủ trong 2 giờ để trong bóng tối, sau đó pha loãng (1:10) cho vào ống nghiệm, thêm vào 0,5ml thuốc thử Folin- Ciocalteu, lắc đều. Sau 3 phút thêm vào 2ml dung dịch Na₂CO₃ 20%, lắc đều, ủ trong nước sôi 100°C trong 1 phút và làm lạnh nhanh, sau đó lắc đều và đo độ hấp thụ ở bước sóng 750nm [5].

Hàm lượng anthocyanin được xác định bằng phương pháp pH vi sai và dựa theo mô tả của Lee *et al.*(2005)[6]. Các mẫu dịch chiết từ khoai lang tím được pha loãng trong các dung dịch đệm (pH 1,0 và pH 4,5) với tỷ lệ 1:3 và xác định bước sóng có độ hấp thụ cực đại tại pH 1,0 (mỗi nguyên liệu chứa anthocyanin sẽ cho 1 bước sóng có độ hấp thụ cực đại khác nhau). Mẫu dịch chiết có độ hấp thụ cực đại tại bước sóng $\lambda = 520$ nm. Sau đó, đo độ hấp thụ OD tại bước sóng 520 nm và 700 nm. Hàm lượng anthocyanin được tính theo công thức:

$$a = \frac{A \cdot M \cdot K \cdot V}{e \cdot l} \quad (1)$$

Trong đó A = (A_{520nm.pH=1} - A_{700nm.pH=1}) - (A_{520nm.pH=4,5} - A_{700nm.pH=4,5}), a: Lượng anthocyanin (g)
 M: Khối lượng phân tử Anthocyanin (449.2g/mol), l: Chiều dày cuvet (cm), K: Độ pha loãng,
 V: Thể tích dịch chiết (L), e: Hệ số hấp phụ phân tử (26900 mol⁻¹)

Từ đó tính được hàm lượng anthocyanin theo phần trăm:

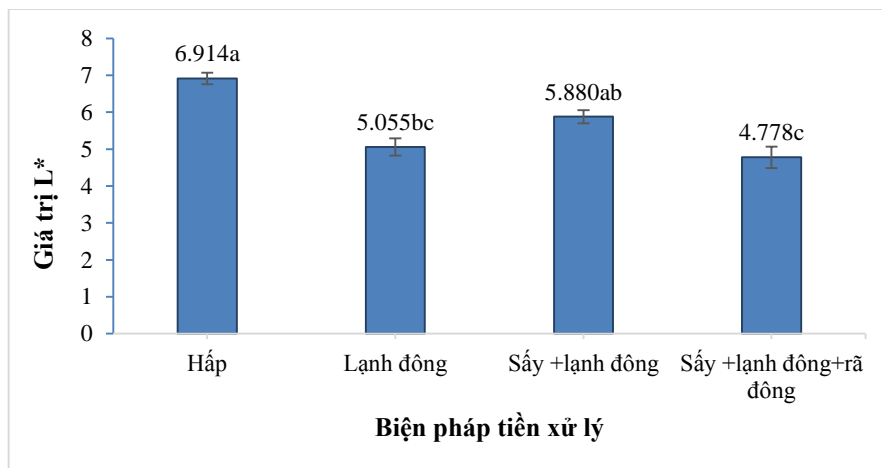
$$\% \text{ Anthocyanin toàn phần} = \frac{a}{m(100 - w) \cdot 10^{-2}} \cdot 100\%$$

Trong đó: a: Lượng anthocyanin tính được theo công thức (1), g; m: Khối lượng nguyên liệu ban đầu, g; w: Độ ẩm nguyên liệu, %.

Đánh giá cảm quan theo thị hiếu sử dụng thang Hedonic (1-7)

KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của biện pháp tiền xử lý đến màu sắc sản phẩm



Hình 1. Ảnh hưởng của biện pháp tiền xử lý đến màu sắc sản phẩm
 (Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt ở mức ý nghĩa $p < 0.05$)

Tiền xử lý là công đoạn thiết yếu trước khi chế biến nguyên liệu thực phẩm (Senadeera *et al.* 2000)[7]. Việc xử lý trước khi chiên tốt thì sản phẩm sau khi chiên giữ được màu sắc tốt và sáng hơn. Qua kết quả hình 1 cho thấy khi xử lý nguyên liệu bằng phương pháp hấp cho giá trị $L^* = 6.914^a \pm 0.155$ có màu sắc sáng hơn 3 biện pháp còn lại là do hấp ở nhiệt độ cao vô hoạt enzyme hóa nâu hiệu quả dẫn đến sau khi chiên có màu sáng hơn. Phương pháp xử lý nguyên liệu sấy kết hợp với lạnh đông sau đó rã đông (sấy + lạnh đông + rã đông), giá trị $L^* = 4.778^c \pm 0.290$ sáng thấp nhất vì ở biện pháp tiền xử lý chưa tốt, hiện tượng hóa nâu vẫn tiếp diễn

đến sau khi chiên màu sắc bị sậm màu (Tanushree Maity *et al.* 2012)[8]. Phương pháp xử lý khoai lang tím bằng cách sấy + lạnh đông và xử lý bằng lạnh màu sắc có giá trị $L^* = 5.880 \pm 0.177^{ab}$ cho thấy giá trị thấp hơn hấp vì sấy kết hợp với lạnh đông, phản ứng hóa nâu trong quá trình sấy vẫn hoạt động (Krokida *et al.* 2001)[9]. AK Pandey *et al.* 2020 [10] cũng đã nghiên cứu so sánh các phương pháp trước xử lý sấy kết hợp với đông lạnh và lạnh đông đủ chín chân không thì kết quả cho thấy đủ khi sấy một phần kết hợp đông lạnh dẫn đến giá trị L^* thấp vì hình thành các sản phẩm phản ứng maillard trong quá trình xử lý làm khô một phần. Mặc dù, giá trị L^* giữa hai phương pháp tiền xử lý hấp và sấy kết hợp với lạnh đông là không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê, để lựa chọn được phương pháp tiền xử lý nhanh và có màu sắc sáng đẹp hơn nên sẽ chọn hấp để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiên đến chất lượng sản phẩm

3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiên đến màu sắc sản phẩm

Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiên đến màu sắc sản phẩm.

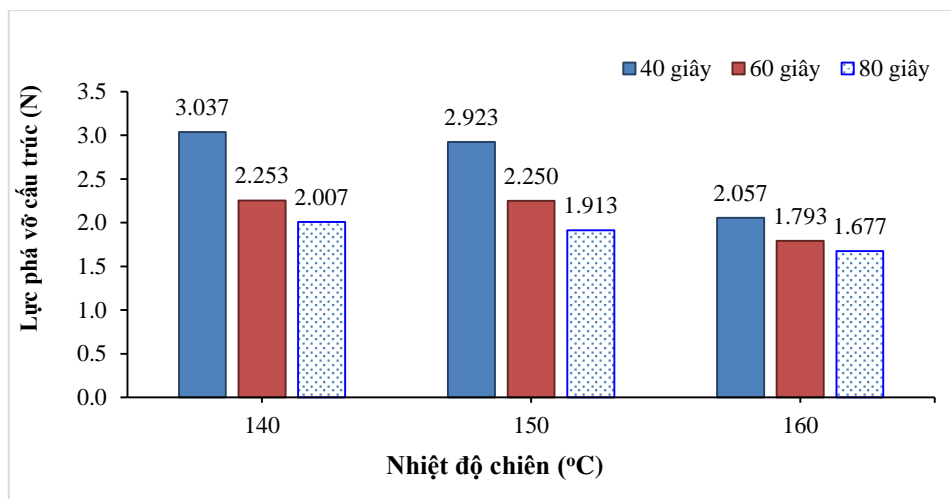
Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giây)	Giá trị L^*
140	40	$11.509^a \pm 0.708$
	60	$9.022^b \pm 0.393$
	80	$8.07^c \pm 0.214$
150	40	$9.235^b \pm 0.338$
	60	$7.989^c \pm 0.634$
	80	$6.838^{de} \pm 0.113$
160	40	$7.607^{cd} \pm 0.538$
	60	$6.57^{ef} \pm 0.534$
	80	$5.871^f \pm 0.521$

(Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt ở mức ý nghĩa $p < 0.05$)

Khi nhiệt độ càng tăng và thời gian chiên càng lâu thì màu sắc của sản phẩm sẽ sậm lại (bảng 1). Khi tăng nhiệt độ chiên từ 140°C lên 160°C giá trị L^* càng giảm do khi chiên anthocyanin bị phá hủy một phần nguyên nhân là do nhiệt độ làm cho sự phân hủy các cấu trúc glucoside có tác động bảo vệ đối với các anthocyanin và oxy thông qua cơ chế oxy hóa trực tiếp hoặc gián tiếp, các thành phần bị oxy hóa của môi trường phản ứng với anthocyanin tạo ra các sản phẩm có sắc tố màu nâu làm cho màu sắc trở nên sậm hơn [11]. Màu sắc khoai lang tím sáng nhất khi chiên ở nhiệt độ 140°C, 40 giây (giá trị $L^* = 11.509^a \pm 0.708$) tăng thời gian lên 60 và 80 giây thì giá trị L^* giảm lần lượt là $9.022^b \pm 0.393$ và $8.07^c \pm 0.214$. Khi tăng nhiệt độ lên 150°C với cùng 3 mức thời gian 40, 60 và 80 giây thì màu sắc L^* giảm từ $9.235^b \pm 0.338$ xuống $6.838^{de} \pm 0.113$. Giá trị L^* ở sản phẩm có nhiệt độ chiên 160°C, 40 giây là $7.607^{cd} \pm 0.538$ thấp nếu tăng thời gian lên 60 và 80 giây thì màu sắc L^* sẽ giảm xuống $6.57^{ef} \pm 0.534$ và $5.871^f \pm 0.521$. Nhiệt độ càng cao và thời gian chiên càng kéo dài thì độ sáng của sản phẩm sẽ càng giảm. Vì vậy 150°C, 80 giây là thích hợp hơn để tạo ra sản phẩm có màu sắc và cấu trúc tốt hơn so với 160°C, 80 giây để tránh sự biến màu của sản phẩm khi tăng nhiệt độ và 140°C có cấu trúc hoàn toàn không tốt.

3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiên đến lực phá vỡ cấu trúc sản phẩm

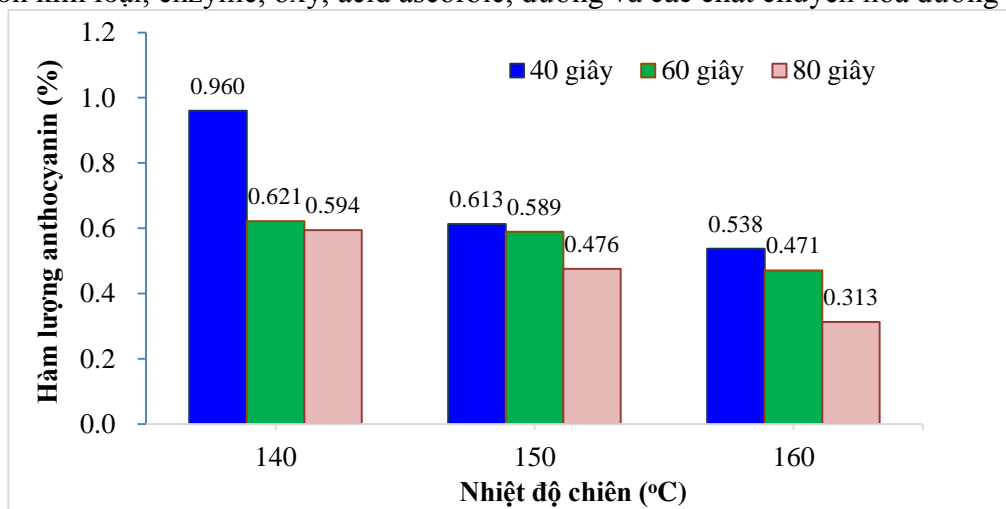
Lực phá vỡ cấu trúc thể hiện độ giòn của sản phẩm, khi lực phá vỡ càng nhỏ thì sản phẩm càng giòn. Cùng nhiệt độ chiên, thời gian càng dài hoặc cùng thời gian chiên và nhiệt độ tăng dần thì lực phá vỡ càng nhỏ, sản phẩm càng xốp.



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiên đến lực phá vỡ cấu trúc sản phẩm. Trong quá trình chiên thực phẩm, mất độ ẩm bề mặt làm cho lớp vỏ bị mất nước, lực phá vỡ cấu trúc của thực phẩm thay đổi (Sobukola et al. 2012) [12]. Khoai lang tím được chiên trong 140oC cần lực phá vỡ cấu trúc cao hơn ở các nhiệt độ chiên khác, khi tăng nhiệt độ lên 150oC và 160oC thì lực phá vỡ cấu trúc của sản phẩm lần lượt là 1.913 ± 0.031 N và 1.676 ± 0.040 N trong thời gian chiên 80 giây, lực phá vỡ cấu trúc nhỏ cho thấy rằng sự tăng nhanh của một lớp vỏ mất nước làm tăng độ giòn. Lực phá vỡ cấu trúc của sản phẩm tăng khi thời gian và nhiệt độ chiên giảm, nhìn chung không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê giữa lực phá vỡ cấu trúc của sản phẩm được chiên ở nhiệt độ 150oC và 160oC, tuy nhiên nhiệt độ chiên 150oC trong 80 giây tạo ra sản phẩm có màu sắc và cấu trúc tốt hơn so với 160oC và 140oC.

Ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ chiên đến hàm lượng anthocyanin

Anthocyanin là hợp chất thuộc họ flavonoid là sắc tố biểu hiện các màu tím, đỏ tía hoặc xanh trong các loại rau củ, trái cây, hoa lá và rễ của các loài thực vật. Cường độ màu và sự ổn định của anthocyanin phụ thuộc vào cấu trúc hóa học và môi trường bên ngoài như pH, nhiệt độ, ánh sáng, ion kim loại, enzyme, oxy, acid ascorbic, đường và các chất chuyển hóa đường [13].



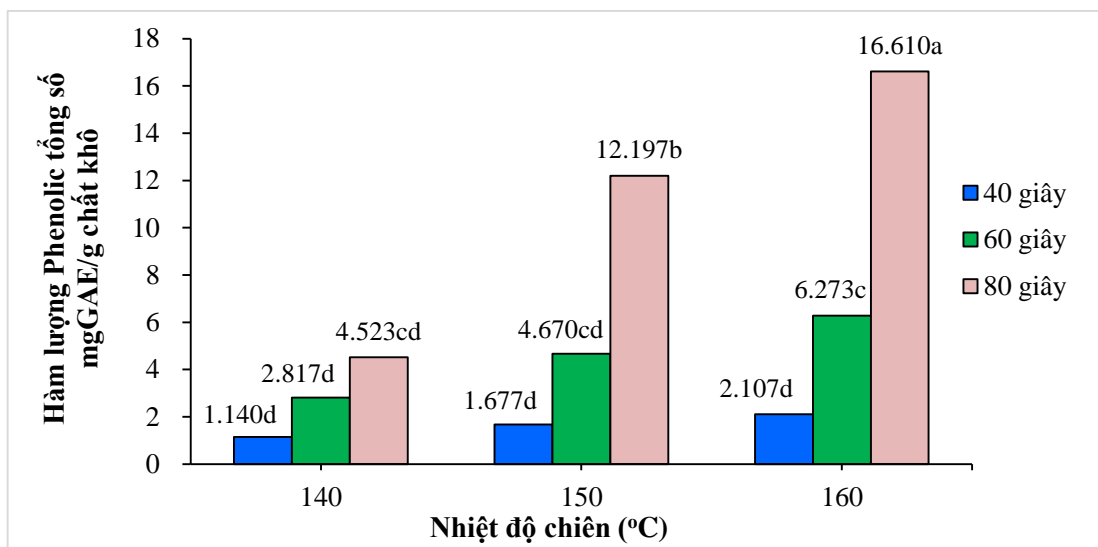
Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ chiên đến hàm lượng anthocyanin. Hình 3. cho thấy hàm lượng anthocyanin có xu hướng giảm khi tăng nhiệt độ và thời gian chiên. Minghuan et al. 2019 [14] cũng cho thấy rằng việc chiên trong không khí sẽ làm giảm đi hàm lượng anthocyanin là do làm giảm tổng số anthocyanin di-acyl hóa. Ở nhiệt độ chiên 140°C trong thời gian 40 giây cho hàm lượng anthocyanin cao nhất $0.960^a \pm 0.041\%$, nếu tăng thời gian lên 60 và 80 giây thì hàm lượng anthocyanin giảm đi lần lượt là $0.621^b \pm 0.027\%$ và $0.594^{bc} \pm 0.112\%$. Ở 140°C giữ lại được nhiều anthocyanin nhất nhưng cấu trúc chưa giòn, nếu tăng nhiệt độ lên thì anthocyanin bị giảm nhưng cấu trúc phù hợp. Tiếp tục tăng nhiệt độ chiên lên 150 °C

với 3 mức thời gian chiên 40, 60 và 80 giây thì hàm lượng anthocyanin lại giảm xuống lần lượt là $0.613^{bc} \pm 0.128\%$, $0.589^{bc} \pm 0.084\%$ và $0.476^{bc} \pm 0.039\%$. Các nghiên cứu của Hye Jin Kim *et al.* 2015, Sastry *et al.* 2018 [15, 16] cho thấy rằng do nhiệt độ chiên và oxy nên hàm lượng anthocyanin bị mất dần, nguyên nhân là do quá trình chiên các anthocyanin acyl hóa đã làm mất nhóm thế acyl hóa, sự phân hủy cấu trúc glycoside có tác động bảo vệ đối với anthocyanin và sự có mặt của oxy làm cho anthocyanin bị oxy hóa. Trong kết quả nghiên cứu của Tian *et al.* 2016 [17] về các phương pháp chế biến, anthocyanin trong khoai lang tím cũng giảm đáng kể, giảm nhiều nhất khi chiên sản phẩm (57.06%) và ít nhất là hấp (14.66%). Hàm lượng anthocyanin thấp nhất ở mẫu được chiên ở nhiệt độ 160°C với thời gian 40, 60 và 80 giây lần lượt là $0.538^{bc} \pm 0.118\%$, $0.471^c \pm 0.105\%$ và $0.313^{d} \pm 0.101\%$.

Ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ chiên đến hàm lượng polyphenol tổng số

Polyphenol là các hợp chất có nguồn gốc từ tự nhiên, có khả năng chống oxy hóa, bảo vệ cơ thể, giúp cơ thể chống lại nhiều loại bệnh khác nhau do gốc tự do gây ra. Đặc điểm chung của chúng là trong phân tử có vòng thơm (vòng benzen) chứa 1, 2 hay 3 hoặc nhiều nhóm hydroxyl (OH) gắn trực tiếp với vòng benzen. Tùy thuộc vào số lượng và vị trí tương hỗ của các nhóm OH với bộ khung hóa học mà các tính chất lý hóa học hoặc hoạt tính sinh học thay đổi. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu trước đây đã chứng minh hàm lượng polyphenol tổng số bị tác động bởi quá trình xử lý nhiệt [18].

Từ kết quả hình 4. cho thấy hàm lượng polyphenol tổng số tăng khi nhiệt độ và thời gian chiên tăng. Sự tăng hàm lượng polyphenol tổng số là do nhiệt quá trình tiền xử lý dẫn đến tăng nồng độ của tổng số acid phenolic của khoai lang tím, một phần bởi sự tăng khả năng chiết xuất của phenol mô mềm nấu chín ướt và sự giải phóng phenol hợp chất liên kết với thành tế bào [19]. Ngoài ra trong nghiên cứu của Khanh Thi Phan Lan *et at.* 2018 [20] còn chỉ ra rằng do các mẫu khoai lang bị gọt vỏ, các cấu trúc tế bào đã bị tổn thương dẫn đến việc tăng hiệu quả chiết xuất.



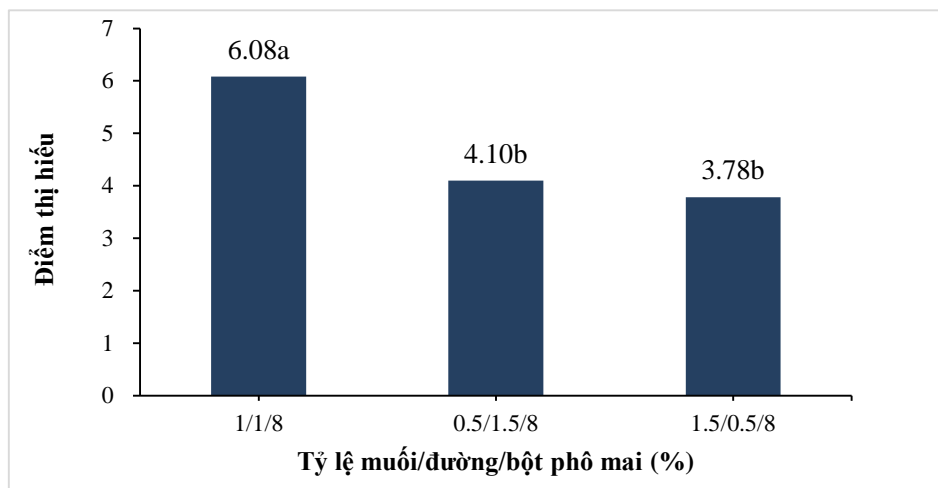
Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiên đến hàm lượng polyphenol tổng số.

(Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt ở mức ý nghĩa $p < 0.05$)

Hàm lượng polyphenol tổng số trong quá trình chiên được trình bày trong hình 4 có sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0.05$) giữa các nhiệt độ và thời gian chiên với sự tăng hàm lượng polyphenol tổng số xảy ra trong thứ tự sau: 140oC, 150oC, 160oC và 40 giây, 60 giây, 80 giây. Hàm lượng polyphenol tổng số thấp nhất trong mẫu chiên ở 140oC trong 40, 60, 80 giây lần lượt là $1.140d \pm 0.126$ mgGAE/g chất khô, $2.817d \pm 0.262$ mgGAE/g chất khô, $4.523cd \pm 1.221$ mgGAE/g chất khô. Khi tăng nhiệt độ chiên lên 150oC với thời gian tương tự 40, 60, 80 giây thì hàm lượng polyphenol tổng số lại tiếp tục tăng lên lần lượt là 1.677 ± 0.347 mgGAE/g chất khô, 4.67 ± 0.665 mgGAE/g chất khô, 12.197 ± 1.71 mgGAE/g chất khô. Hàm lượng polyphenol tổng số đạt cao nhất ở nhiệt độ 160oC với thời gian chiên là 40, 60, 80 giây so với 2 nhiệt độ còn lại và

trong cùng thời gian được khảo sát là $2.107 + 0.155$ mgGAE/g chất khô, 6.373 ± 2.437 mgGAE/g chất khô và $16.610 + 3.355$ mgGAE/g chất khô. Kết quả nghiên cứu tương tự như Ateea A. Bellail et al. 2012 [19] đã nghiên cứu về bốn phương pháp xử lý khoai lang ở 100oC trong 14-17 phút, nướng ở 180oC trong 23-37 phút, lò vi sóng ở 700W trong 6-10 phút và chiên ở 180oC trong 10-15 phút, kết quả cho thấy chiên có tổng số polyphenol và acid phenolic cao hơn so với 3 phương pháp còn lại là do sự giải phóng phenol hợp chất liên kết với thành tế bào hoặc sự bất hoạt polyphenol oxidase và sự phân hủy của lignin dẫn đến phóng thích dẫn xuất acid phenolic hoặc làm phát sinh thêm phenol mới.

Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn đến vị của sản phẩm



Hình 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn đến chất lượng sản phẩm (Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt ở mức ý nghĩa $p < 0.05$)

Yếu tố quan trọng quyết định đến vị của sản phẩm là tỷ lệ phối trộn đường, muối và bột phô mai bổ sung vào sản phẩm. Qua hình 5. cho thấy vị của 3 tỷ lệ phối trộn có sự thay đổi rõ rệt về điểm đánh giá cảm quan. Tỷ lệ muối/đường/bột phô mai (1/1/8) đạt điểm giá trị cảm quan cao nhất là $6.08^a \pm 0.849$ so với 2 tỷ lệ phối trộn còn lại. Đường và muối được bổ sung với tỷ lệ bằng nhau với bột phô mai có vị mặn, ngọt, béo vốn có làm cho cân bằng về vị đồng đều được đa số cảm quan viên đánh giá là vừa miệng, dễ ăn. Trong khi đó 2 tỷ lệ còn lại thì cho điểm cảm quan không cao vì thay đổi tỷ lệ muối/đường/bột phô mai, tỷ lệ muối/đường/bột phô mai (0.5/1.5/8) cho điểm cảm quan $4.10^b \pm 1.612$ do tỷ lệ đường được bổ sung nhiều hơn tỷ lệ muối làm cho sản phẩm nghiêng về độ ngọt, đồng thời trong bản thân khoai lang tím cũng có vị hơi ngọt nên việc tăng đường sẽ tăng vị ngọt, tỷ lệ muối ít dẫn đến vị mặn không nhiều và kết hợp với bột phô mai có vị mặn, ngọt và béo tạo vị chưa được hài hòa. Tỷ lệ muối/đường/bột phô mai (1.5/0.5/8) được cảm quan viên đánh giá điểm thấp nhất $3.78^b \pm 1.552$ do tỷ lệ phối trộn muối nhiều hơn đường làm cho sản phẩm có vị mặn nhiều, vị ngọt ít kèm theo vị của bột phô mai ngọt, mặn và béo làm cho sản phẩm không được đánh giá cao.

Xét về sự tương tác giữa 3 tỷ lệ muối, đường, bột phô mai thì tỷ lệ được đánh giá cảm quan cao nhất về vị là tỷ lệ muối 1%, đường 1% và bột phô mai 8%, điểm cảm quan về vị đạt được $6.08^a \pm 0.849$ cao hơn và có sự khác biệt về mặt ý nghĩa thống kê so với các tỷ lệ phối trộn bổ sung khác.

KẾT LUẬN

Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng snack khoai lang tím nhằm tạo ra sản phẩm mới, tốt cho sức khỏe, góp phần tận dụng nguồn nguyên liệu sẵn có, nâng cao giá trị kinh tế và đa dạng các sản phẩm cho khoai lang tím, đáp ứng nhu cầu thị hiếu của người tiêu dùng. Kết quả chứng tỏ biện pháp tiền xử lý bằng phương pháp hấp cho ra màu sắc tốt nhất, khoai lang tím được chiên ở 150°C với thời gian 80 giây có màu sắc, hàm lượng anthocyanin thu được $0.476 \pm 0.039\%$ và polyphenol tổng số là 12.197 ± 1.71 mg GAE/g chất khô. Tỷ lệ gia vị phối trộn 1% đường, 1% muối, 8% bột phô mai được đánh giá cảm quan cao nhất phù hợp với thị hiếu của người tiêu dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ kế hoạch đầu tư, *Báo cáo số 209/BC, Tổng cục thống kê*. 2019.
- Suda, I., et al., *Physiological Functionality of Purple-Fleshed Sweet Potatoes Containing Anthocyanins and Their Utilization in Foods*. Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ, 2003. **37**(3): p. 167-173.
- Manach, C., et al., *Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies*. Am J Clin Nutr, 2005. **81**(1 Suppl): p. 230s-242s.
- Puupponen-Pimiä, R., et al., *Development of functional ingredients for gut health*. Trends in Food Science & Technology, 2002. **13**(1): p. 3-11.
- Daisy, P., S. Kanakappan, and M. Rajathi, *Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of Clitoria ternatean Linn. in alloxan-induced diabetic rats*. African journal of microbiology research, 2009. **3**(5): p. 287-291.
- Lee, J., R. Durst, and R. Wrolstad, *Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study*. Journal of AOAC International, 2005. **88** **5**: p. 1269-78.
- Senadeera, W., et al., *Physical property changes of fruits and vegetables during hot air drying*. 2000. p. 162-176.
- Maity, T., P. Raju, and A. Bawa, *Effect of Freezing on Textural Kinetics in Snacks During Frying*. Food and Bioprocess Technology, 2012. **5**: p. 155-165.
- Krokida, M.K., et al., *Effect of pre-drying on quality of french fries*. Journal of Food Engineering, 2001. **49**(4): p. 347-354.
- Pandey, A.K., et al., *Use of partial drying and freezing pre-treatments for development of vacuum fried papaya (Carica papaya L.) chips*. J Food Sci Technol, 2020. **57**(6): p. 2310-2320.
- G.H, L., et al., *The Effect of Light, Temperature, pH and Species on Stability of Anthocyanin Pigments in Four Berberis Species*. Pakistan Journal of Nutrition, 2006. **5**.
- Sobukola, O., V. Dueik, and P. Bouchon, *Understanding the Effect of Vacuum Level in Structure Development and Oil Absorption in Vacuum-Fried Wheat Starch and Gluten-Based Snacks*. Food and Bioprocess Technology, 2012. **6**: p. 2010-2017.
- Thị, P., et al., *Biện pháp tiền xử lý và tối ưu hóa quá trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím*. Can Tho University Journal of Science, 2016. **Nông nghiệp 2016**: p. 43-50.
- Liao, M., et al., *Effect of domestic cooking methods on the anthocyanins and antioxidant activity of deeply purple-fleshed sweetpotato GZ9*. Heliyon, 2019. **5**(4): p. e01515.
- Kim, H.J., et al., *Variations in the carotenoid and anthocyanin contents of Korean cultural varieties and home-processed sweet potatoes*. Journal of Food Composition and Analysis, 2015. **41**: p.
- Jayantya, S., K. Diganta, and B. Raven, *Effects of Cooking Methods on Nutritional Content in Potato Tubers*. American Journal of Potato Research, 2018. **96**: p. 183-194.
- Tian, J., et al., *Domestic cooking methods affect the phytochemical composition and antioxidant activity of purple-fleshed potatoes*. Food Chem, 2016. **197 Pt B**: p. 1264-70.
- Gunathilake, K., K. Ranaweera, and H.P.V. Rupasinghe, *Effect of Different Cooking Methods on Polyphenols, Carotenoids and Antioxidant Activities of Selected Edible Leaves*. Antioxidants (Basel), 2018. **7**(9).

Bellail, A., et al., *Effect of Home-Cooking Methods on Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Sweetpotato (Ipomoea batatas (L.) Lam.) Cultivars Grown in Egypt*. Food Nutr Sci, 2012. **3**.

Phan, K., et al., *Effects of Cooking Methods on the Changes of Total Anthocyanins, Phenolics Content and Physical Characteristics of Purple-Fleshed Sweet Potato (Ipomoea batatas L.) Grown in Vietnam*. International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology, 2018. **8**: p. 227.

MÀNG THỰC PHẨM ĂN ĐƯỢC TỪ BỘT BẮP BỔ SUNG MỦ TRÔM THỦY PHÂN

Đặng Thị Ngọc Thảo¹, Nguyễn Vinh Tiến^{1*}

¹Trường đại học Sư phạm Kỹ Thuật Tp.Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: tiennv@hcmute.edu.vn

TÓM TẮT

Hiện nay, nhu cầu sử dụng vật liệu plastic ngày càng lớn đã gây ảnh hưởng nhiều đến môi trường sống và sức khỏe người tiêu dùng. Việc phát triển những màng sinh học có khả năng phân hủy sinh học, thậm chí là ăn được đáp ứng được việc bảo quản thực phẩm sẽ đem lại sự an toàn cho người tiêu dùng là một việc có ý nghĩa vô cùng cần thiết. Trong nghiên cứu này, mủ trôm được biến tính bằng phương pháp thủy phân với NaOH 1M, sau tạo màng với tinh bột bắp và glycerol ở hàm lượng cố định và bổ sung đường saccharose, muối ăn và acid citric ở các nồng độ khác nhau để khảo sát ảnh hưởng của 3 nhân tố đến các tính chất của màng. Khi bổ sung đường saccharose thì khả năng kéo giãn, khả năng hút ẩm, khả năng hòa tan, khả năng hút nước của màng tăng, khả năng kháng đâm xuyên tăng ở nồng độ đường 10%. Độ ẩm của màng có xu hướng giảm khi hàm lượng đường tăng dần và khả năng thấm ẩm của màng tăng lên ở hàm lượng 10% so với mẫu đối chứng. Khi bổ sung muối ăn có khả năng kháng kéo giãn tăng dần ở hàm lượng muối từ 0-20% và sau đó giảm dần. Không có sự thay đổi đáng kể về độ ẩm và khả năng thấm ẩm của màng bổ sung muối ở các hàm lượng khác nhau. Đối với các mẫu màng bổ sung acid citric thì khả năng kháng đâm xuyên của màng tăng dần khi hàm lượng acid citric tăng dần và khả năng kháng kéo giãn của màng tốt nhất ở 4%. Qua kết quả thu được, thay đổi nồng độ đường saccharose, muối ăn và acid citric sẽ có sự thay đổi nhất định ở một số tính chất của màng. Vì là màng ăn được và các màng này được bổ sung đường, muối và acid citric sẽ tăng thêm vị khi thưởng thức nên sẽ có phạm vi ứng dụng khác nhau tùy thuộc vào mục đích sử dụng riêng.

Từ khóa: Màng thực phẩm, saccharose, mủ trôm, acid citric, NaOH

EDGETABLE FOOD FILM FROM SUPPLEMENTED COMBINED POWDER HYDROIDLY

Dang Thi Ngoc Thao¹, Nguyen Vinh Tien^{1*}

¹University of Technical Education Ho Chi Minh City

* Corresponding Author: tiennv@hcmute.edu.vn

ABSTRACT

Currently, the increasing demand for plastic materials has greatly affected the living environment and consumers' health. The development of biodegradable, even edible biofilms that meet the needs of food preservation will bring safety to consumers is a matter of great significance. In this study, Trom latex was denatured by hydrolysis method with 1M NaOH, after forming a film with corn starch and glycerol at fixed concentrations and adding sucrose, table salt and citric acid at different concentrations. to investigate the influence of three factors on the properties of the film. When adding sucrose, the stretchability, hygroscopicity, solubility, water absorption capacity of the film increased, and the penetration resistance increased at 10% sugar concentration. The moisture content of the membrane tended to decrease as the sugar content gradually increased and the moisture permeability of the membrane increased at 10% content compared with the control sample. When adding table salt, the stretching resistance increased gradually at the salt content from 0-20% and then gradually decreased. There was no significant change in the moisture content and moisture permeability of the films supplemented with salt at different concentrations. For membrane samples supplemented with citric acid, the penetration resistance of the film increased gradually with increasing citric acid content, and the tensile strength of the film was best at 4%. Through the obtained results, changing the concentration of sucrose, table salt and citric acid will have certain changes in

some properties of the membrane. As the films are edible and these films are supplemented with sugar, salt and citric acid which will enhance the taste when enjoyed, there will be a different range of applications depending on the individual use.

Keywords: Food film, sucrose, trom latex, citric acid, NaOH

1. MỞ ĐẦU

Ngày nay, cùng với sự phát triển của nền kinh tế, khoa học, kỹ thuật thì nhu cầu của con người càng tăng lên và ngày một đa dạng, đặc biệt là đối với các loại sản phẩm thực phẩm. Ngoài tiêu chí về chất lượng và an toàn vệ sinh được đặt lên hàng đầu khi người tiêu dùng lựa chọn sản phẩm thì các vấn đề về chất thải thực phẩm ảnh hưởng đến môi trường sống cũng được quan tâm, đặc biệt là các loại bao bì thực phẩm. Để giảm thiểu sự ô nhiễm của rác thải từ các túi nylon để đựng và bảo quản thực phẩm, các loại màng bọc thực phẩm có thể phân hủy và ăn được đang liên tục được nghiên cứu và phát triển.

Việc sử dụng các màng bọc thực phẩm ăn được ngoài tác dụng chính là chứa đựng, bảo quản và duy trì cấu trúc, hình dạng của sản phẩm thì các màng đó còn có thể được sử dụng để tạo ra các loại snack để phục vụ cho con người. Tinh bột là một carbohydrate tự nhiên dồi dào và là một vật liệu phổ biến để tạo nên màng bọc thực phẩm ăn được. Mủ trôm là loại nguyên liệu được sử dụng phổ biến trong lĩnh vực thực phẩm nhờ tính sẵn có và giá thành thấp. Ngoài công dụng là một phụ gia ổn định cấu trúc thực phẩm, mủ trôm còn được sử dụng để tạo ra màng mềm dẻo khi kết hợp với các hợp chất glycol như glycerol. Vì là các màng có thể ăn được và để tăng tính cảm quan về vị giác, chúng tôi khảo sát sự thay đổi về tính chất của màng tinh bột-mủ trôm sau khi bổ sung đường saccharose, muối ăn, citric acid và là nền tảng để lựa chọn ứng dụng và tạo ra các sản phẩm snack phù hợp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Thủy phân mủ trôm

Mủ trôm được xử lý bằng kiềm theo phương pháp của (Postulkova et al., 2017). Cho 2 g mủ trôm vào 100 mL nước cất và ngâm trong 24 h để mủ trôm trương nở hoàn toàn. Sau đó, thêm 33.3 mL NaOH 1M vào (tỷ lệ $V_{\text{NaOH}} : V_{\text{mủ trôm}}$ là 1:3) và khuấy 30 phút. Tiếp theo, dùng HCl 1M trung hòa lượng NaOH dư và khuấy 30 phút. Dùng 83 mL ethanol 99% (tỷ lệ $V_{\text{dd mủ trôm}} : V_{\text{ethanol}}$ là 2:1) để kết tủa mủ trôm tan, lọc thu kết tủa và rửa bằng ethanol 75%. Kết quả thu được mủ trôm kết tủa, cắt nhỏ và sấy khô mủ trôm kết tủa ở nhiệt độ 50 °C trong 24 h. Sau đó, nghiền mủ trôm đã sấy khô thành bột và bảo quản trong túi kín.

Tạo màng

Quy trình tạo màng được thực hiện dựa trên phương pháp của (Nawab, Alam, Haq, Lutfi, & Hasnain, 2017). Cân 1.9 g tinh bột bắp, thêm 50 mL nước cất tạo huyền phù có nồng độ 3% (w/v). Tiếp theo, cho đường vào với tỷ lệ 10%, 20%, 30%, 40% so với tổng khối lượng tinh bột và mủ trôm (w/w). (Tiến hành tương tự với các mẫu muối hoặc acid citric với tỷ lệ 1%, 2%, 3%, 4%). Thêm vào hỗn hợp 1,0 g glycerol (50% so với tổng lượng tinh bột và mủ trôm) và khuấy từ gia nhiệt hỗn hợp ở 90 °C trong 25 phút để hồ hóa tinh bột, hỗn hợp sẽ chuyển từ trắng đục sang trong dần. Thêm dung dịch mủ trôm thủy phân để lượng mủ trôm chiếm 5% (so với tổng lượng chất rắn, w/w), tiếp tục khuấy trong 5 phút. Đổ hỗn hợp vào khuôn và sấy khô ở nhiệt độ 50 °C trong 24 h. Các mẫu màng được lấy ra và bảo quản ở môi trường độ ẩm không khí 75% tối thiểu 48 h trước khi tiến hành các phép đo.

Phổ hồng ngoại FTIR – Fourier Transform Infrared Spectroscopy

Phổ hồng ngoại FTIR cho phép định tính các hợp chất hữu cơ qua bước sóng đặc trưng của từng nhóm phân tử trong dải quang phổ với tần số cụ thể, bị ảnh hưởng bởi các nhóm chức xung quanh (Vlachos et al., 2006). Các mẫu màng được sấy khô ở 50 °C và ép chặt lên bệ đo ATR và phổ được đo với số sóng nằm trong khoảng từ 4000 đến 400 cm^{-1} với độ phân giải 4 cm^{-1} bằng máy Jasco FT/IR – 4700 (Nhật Bản).

2.4. Khả năng thấm ẩm (Water vapor permeability – WVP):

Khả năng thấm ẩm của màng được xác định bằng phương pháp trọng lượng theo ASTM E96 với một vài thay đổi. Các lọ thủy tinh có đường kính trong 4 cm, đường kính ngoài 5 cm và chiều cao 6.5 cm được đậy nắp bằng silcagel để tạo độ ẩm tương đối 0% RH trong lọ. Các nắp lọ

sẽ được khoét với các kích thước bằng với đường kính trong của lọ. Các màng bịt kín miệng lọ và dùng nắp để cố định màng và đặt trong môi trường độ ẩm 75% RH (được duy trì bằng dung dịch NaCl bão hòa). Tiến hành đo khối lượng cốc theo tần suất 1 h/lần trong 24 h đầu tiên và 3 h/lần trong 24 h tiếp theo. Ta dựng được đồ thị dựa đường hồi quy tuyến tính ($R^2 \geq 0.99$) theo số liệu về sự tăng khối lượng theo thời gian, để xác định độ dốc của đường thẳng. Tốc độ truyền ẩm (water vapour transmission rate) được xác định bằng độ dốc (S) chia cho diện tích truyền ẩm (Ghasemlou, Khodaiyan, Oromiehie, & Yarmand, 2011). Khả năng thấm ẩm được xác định theo công thức:

$$WVP = \frac{\Delta m}{A \cdot \Delta t} \times \frac{X}{P (RH_1 - RH_2)}$$

Trong đó:

$\frac{\Delta m}{\Delta t}$ là khối lượng độ ẩm tăng lên theo một đơn vị thời gian (g/s)

A là diện tích truyền ẩm (m^2) = $12.56 \times 10^{-4} (m^2)$

X là độ dày trung bình của màng (mm)

P là áp suất hơi bão hòa của nước ở 30 °C (Pa), P = 3167Pa

RH₁ là độ ẩm bên ngoài cốc và RH₂ là độ ẩm bên trong cốc, RH₁-RH₂= 75 %

2.5. Khả năng kháng kéo giãn và kháng đâm xuyên

Các thuộc tính cơ học của màng được thực hiện thông qua 2 phép đo: khả năng kháng kéo giãn và khả năng kháng đâm xuyên, được thực hiện bằng thiết bị đo kết cấu CT3 Texture Analyzer. Trước khi tiến hành phép đo, màng đã được bảo quản ở nhiệt độ phòng và trong môi trường có độ ẩm tương đối 75% (dùng dung dịch NaCl bão hòa) trong 48h.

Khả năng kháng kéo giãn

Đối với phép đo kéo giãn, mẫu sẽ được cắt với kích thước là 120×15mm với các thông số tạo được thiết lập như sau : lực kích hoạt (trigger load) 2g, tốc độ kéo (test speed) 0.2mm.s⁻¹. Tiếp đến 2 đầu mẫu màng sẽ được cố định vào 2 trục của ngàm kéo có $\phi=17.8$ mm. Khoảng cách ban đầu giữa 2 trục là 45mm. Tiến hành đo bằng cách điều khiển thiết bị cho trục lên kéo màng giãn dài cho tới khi đứt hoàn toàn thì dừng. Lập lại phép đo 3 lần với mỗi mẫu. Độ giãn dài của màng được tính theo công thức :

$$\varepsilon (\%) = \frac{\Delta L_o}{L_o} \times 100$$

Trong đó:

ε : % độ giãn dài

L_o: là chiều dài chịu lực ban đầu của màng (mm) = 59mm

Khả năng kháng đâm xuyên

Thí nghiệm được thực hiện nhằm xác định khả năng chống chịu lực cơ học theo phương vuông góc với màng, được thực hiện theo phương pháp của (Saber et al., 2017). Các mẫu đo sẽ được cắt với kích thước 40×40mm và được cố định bằng 2 tấm kẹp có tâm khuyết (đường kính 7.8 mm). Sử dụng đầu dò TA-MTP 4R (đường kính 4mm, đầu dò được đặt vuông góc với mẫu. Sau đó đầu dò sẽ được điều chỉnh di chuyển thẳng đứng tới mẫu với tốc độ 0.1 mm/s đến khi đâm thủng màng. Các giá trị đâm xuyên tối đa (g), khả năng biến dạng (mm) tại thời điểm màng bị thủng được ghi lại để xác định tính ứng suất đâm xuyên (puncture strength) và độ giãn trước khi đâm thủng (mm), độ cứng của màng. Lập lại thí nghiệm 3 lần đối với mỗi mẫu. Ứng suất đâm xuyên được xác định:

$$P = \frac{F}{A} \text{ (Mpa)}$$

Trong đó:

F là lực đâm xuyên lớn nhất

A = $\pi \times \left(\frac{d}{2}\right)^2$ là diện tích vùng đâm xuyên = 12.56 mm²

KẾT QUẢ - BÀN LUẬN

Sau khi thực hiện các thí nghiệm sơ bộ về hàm lượng các chất bổ sung trong màng, nhóm đã lựa chọn các hàm lượng phù hợp với sử dụng màng cùng với thực phẩm. Việc đánh giá cảm quan sơ bộ khi bổ sung hàm lượng saccharose với bước nhảy là 1%, 3%, 5%, 7%, 9% (so với

tổng lượng tinh bột và mù rơm) cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về việc cảm nhận vị ngọt trong miệng. Tương tự như vậy, việc tăng bước nhảy lên 5%, 10%, 15%, 20% thì cũng không có sự khác biệt quá lớn, trong khi tăng nồng độ đường lên 10%, 20%, 30%, 40% trong miệng thì vị ngọt trong miệng được đánh giá là có sự khác biệt rõ rệt. Do các miệng được nghiên cứu với mục đích tạo ra miệng ăn được, như các sản phẩm ăn vặt, nên cần lựa chọn nồng độ phù hợp với khẩu vị chung của người tiêu dùng.

Nồng độ của các sản phẩm acid citric cũng được đánh giá sơ bộ với hàm lượng là 2%, 4%, 6%, 8%. Tuy nhiên, ở nồng độ 6% acid citric tạo ra miệng có vị quá chua, không phù hợp với mục đích của đề tài của nhóm. Việc giảm bước nhảy của các mẫu khảo sát nhỏ lại trong khoảng 1%, 2%, 3%, 4% vẫn tạo ra sự khác biệt trong việc cảm nhận về vị chua tạo ra trong miệng ăn được.

Việc đánh giá về hàm lượng của muối ăn phù hợp trong miệng cũng được thực hiện bằng cách đánh giá cảm quan sơ bộ với các bước nhảy 1%, 3%, 5%, 7% khối lượng muối ăn. Miệng khi bổ sung ở nồng độ 5%, 7% gây ra vị quá mặn cho miệng, do đó chúng tôi giảm hàm lượng muối khảo sát trong miệng xuống trong khoảng 1%, 2%, 3%, 4%. Ở những nồng độ này, sự khác biệt về vị mặn trong miệng vẫn có thể cảm nhận được rõ.

Từ những thí nghiệm sơ bộ đã thực hiện, các miệng được bổ sung các chất tạo vị với hàm lượng phù hợp với mục đích của đề tài thực hiện. Với mẫu miệng được bổ sung saccharose thì hàm lượng khảo sát được thực hiện ở nồng độ 10%, 20%, 30%, 40%. Các miệng bổ sung muối ăn và acid citric thực hiện khảo sát ở hàm lượng 1%, 2%, 3%, 4%.

Độ ẩm, khả năng hút hơi ẩm, khả năng hút nước, khả năng hòa tan

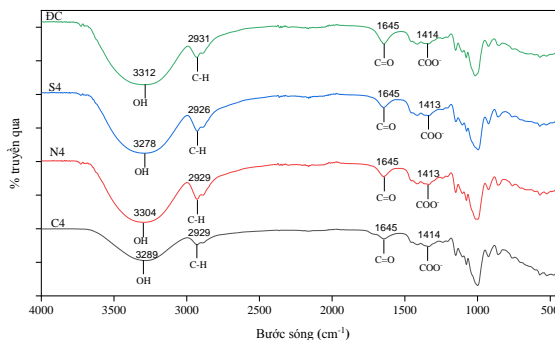
Việc thực hiện các thí nghiệm này để xem xét về hàm lượng ẩm, khả năng hút ẩm ngoài không khí, khả năng hút nước và khả năng hòa tan của miệng. Độ ẩm là một thông số để đánh giá về hàm lượng nước trong miệng, việc này có thể giúp đánh giá về việc bảo quản của miệng cũng như thời gian bảo quản. Khả năng hút ẩm trong không khí là một yếu tố quan trọng trong quá trình bảo quản sản phẩm. Miệng có khả năng hút ẩm nhanh có thể gây ra một số ảnh hưởng đến tính chất của sản phẩm được bao gói trong miệng hoặc dùng miệng tạo ra một sản phẩm ăn vặt như bánh snack nếu khả năng hút ẩm quá cao thì sẽ làm cho sản phẩm nhanh bị mềm, không giữ được độ giòn ban đầu. Còn khả năng hút nước của sản phẩm sẽ cho ta thấy khi tiếp xúc các sản phẩm có nhiều nước thì miệng sẽ thay đổi về các tính chất như thế nào.

Phổ hồng ngoại FTIR

Phổ hồng ngoại FTIR được sử dụng để kiểm tra sự có mặt của các nhóm chức và tương tác của chúng trong mẫu miệng. FTIR thể hiện được cấu trúc của phân tử tinh bột, glycerol và các chất bổ sung. Việc bổ sung thêm một số chất như saccharose, acid citric và muối ăn có thể làm thay đổi vị trí, độ rộng và độ hấp thụ của các nhóm chức. Phổ hồng ngoại của mẫu miệng tinh bột bắp và mù rơm thủy phân với bổ sung thêm saccharose (nồng độ 40%), acid citric (4%) và muối ăn (4%) được thể hiện ở hình 3.13. Phổ của các mẫu chứa các chất bổ sung cho thấy một số đỉnh đặc trưng của miệng tinh bột bắp và mù rơm thủy phân. Đỉnh 3312-3278 là dao động của liên kết hydro của nhóm -OH trong tinh bột, glycerol, saccharose và acid citric (Thompson, 2018). Việc bổ sung các chất vào trong miệng tinh bột làm đỉnh của miệng ĐC ở 3312 cm^{-1} thay đổi, số sóng giảm xuống 3278 cm^{-1} (S400), 3304 cm^{-1} (N4), 3289 cm^{-1} (C4). Đồng thời, cường độ hấp thụ ở các đỉnh này giảm xuống. Sự giảm độ hấp thụ là do có ít nhóm -OH hơn trong miệng. Và giảm số sóng có thể do sự tương tác của saccharose, acid citric và muối ăn với tinh bột bằng liên kết hydro, làm giảm số nhóm -OH tự do trong miệng. Điều này tương tự như kết quả đã được báo cáo về việc tăng hàm lượng gum karaya trong mẫu miệng tinh bột hạt loquat có chứa tinh dầu oregano, gum karaya đã tương tác với tinh bột thông qua tương tác hydro (Cao, 2019).

Sự hấp thụ hồng ngoại ở 1645 cm^{-1} có thể là do sự có mặt của các phân tử nước trong mẫu miệng hoặc do liên kết C=O. Mẫu miệng có độ hấp thụ thấp nhất là mẫu bổ sung thêm saccharose và cao nhất là mẫu ĐC. Việc khác biệt này có thể là do hàm lượng ẩm trong các mẫu S40 thấp hơn ĐC. Các đỉnh hấp thụ nằm trong khoảng $1260 - 1000\text{ cm}^{-1}$ đặc trưng cho các nhóm nhóm CO, C-O-C đặc trưng cho các phân tử tinh bột. Dao động của nhóm C-O-C của các liên kết α -

1,4 glycosidic thấy rõ ở gần 1000 cm^{-1} . Các đỉnh hấp thụ trong khoảng $950\text{-}815\text{ cm}^{-1}$ và $620\text{-}470\text{ cm}^{-1}$ là do nhóm pyranose của tinh bột.



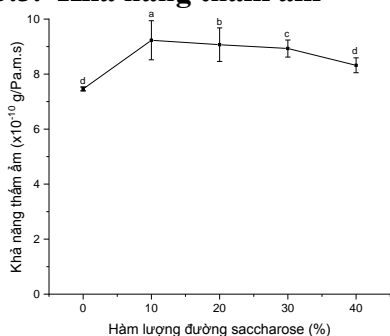
Hình 1: Phổ FTIR của các mẫu màng
Bảng 1: Bảng phân tích phổ hồng ngoại

Liên kết	Số sóng (cm^{-1})			
	ĐC	S40	N4	C4
-OH	3312	3278	3304	3289
C-H	2931	2926	2929	2929
C=O	1645	1645	1645	1645
COO-	1414	1413	1413	1414
CO-	1150, 1103, 1077, 1017	1148, 1104, 1175	1151, 1104, 1077	1151, 1102, 1077, 1000
Nhóm pyranose	923,857	995, 923, 860, 571, 518	925, 860, 822,572, 524	924, 858, 572, 522

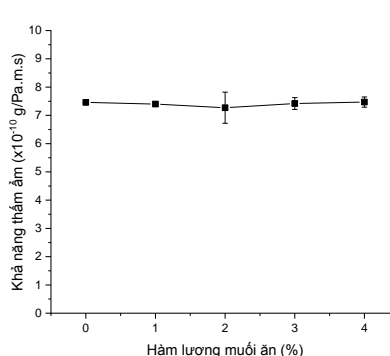
Các mẫu bổ sung thêm các chất tạo vị các đỉnh tương tự như mẫu không bổ sung (ĐC). Tuy nhiên, độ hấp thụ hồng ngoại của màng phụ thuộc vào các nhóm chức nhiều hay ít trong mẫu màng. Điều này cho ta thấy, tương tác chủ yếu trong màng không thay đổi nhiều.

Nếu xem xét kỹ, có thể thấy vị trí đỉnh ở 3312 cm^{-1} của mẫu ĐC bị dịch chuyển ít khi thêm muối ăn (3304 cm^{-1}), nhưng lại dịch chuyển mạnh khi thêm saccharose 40% (3278 cm^{-1}) và acid citric 4% (3289 cm^{-1}). Điều này là do saccharose và acid citric có thể tạo liên kết hydro với các nhóm OH trên tinh bột và mủ trôm, khiến cho vị trí đỉnh hấp thụ của nhóm này bị dịch chuyển.

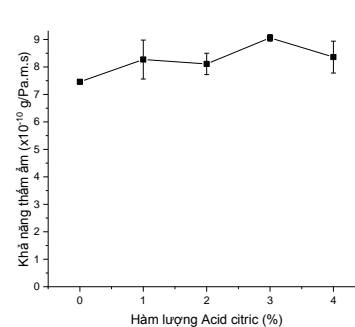
3.3. Khả năng thấm ẩm



Hình 2: Ảnh hưởng của hàm lượng đường saccharose tới khả năng thấm ẩm của màng



Hình 3: Ảnh hưởng của hàm lượng muối ăn tới khả năng thấm ẩm của màng



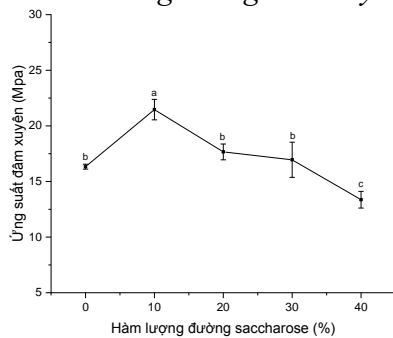
Hình 4. Ảnh hưởng của hàm lượng acid citric tới khả năng thấm ẩm của màng

Trong các ứng dụng đóng gói thực phẩm, màng phải tránh và giảm sự truyền ẩm giữa thực phẩm và không khí xung quanh. Như trong hình 2 và bảng 1, WVP của màng không có saccharose (ĐC) là $7.46 \pm 0.07 \times 10^{-10}\text{ g/Pa.m.s}$ và khi bổ sung thêm saccharose thì khả năng

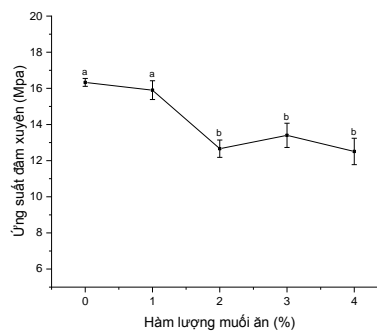
thấm ẩm tăng lên ở mẫu S10 ($9.23 \pm 0.71 \times 10^{-10} \text{g/Pa.m.s}$). Tuy nhiên, khi càng tăng lượng saccharose lên thì khả năng thấm ẩm giảm. Saccharose có thể hình thành các tinh thể ảnh hưởng đến mạng lưới tinh bột trong màng, tạo ra màng ít thấm hơn (Galdeano et al., 2009). Các vùng kết tinh hoạt động như một rào cản hơi nước, do đó tính thấm của màng tinh bột giảm khi tăng nồng độ saccharose (García, Martino, & Zaritzky, 2000). Việc tăng nồng độ saccharose là cho các nhóm -OH trong saccharose có thể tạo liên kết hydro với các thành phần trong màng như tinh bột, glycerol. Điều này làm giảm khả năng hút ẩm của saccharose, làm giảm WVP của màng khảo sát.

Từ kết quả thu được ở hình 3, khi bổ sung muối ăn vào màng ở các nồng độ 1%, 2%, 3% và 4% thì khả năng thấm ẩm là không có sự khác biệt về mặt ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng do sự chênh lệch và hàm lượng muối ăn giữa các màng là không đáng kể. Muối ăn có chứa một lượng muối Mg^{2+} là một chất có khả năng hút ẩm và giữ ẩm tốt nên sẽ làm tăng khả năng hút ẩm của màng dẫn đến khối lượng của ly và màng tăng lên, ẩm có khả năng xuyên qua màng kém hơn.

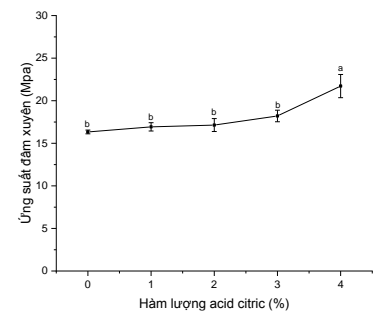
3.4. Khả năng kháng đâm xuyên



Hình 5: Ảnh hưởng của hàm lượng đường saccharose tới ứng suất đâm xuyên của màng



Hình 6: Ảnh hưởng của hàm lượng muối ăn tới ứng suất đâm xuyên của màng



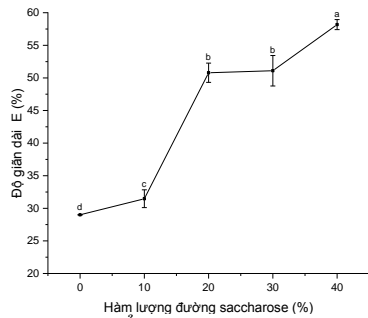
Hình 7: Ảnh hưởng của hàm lượng acid citric tới ứng suất đâm xuyên của màng

Theo kết quả ở hình 5, mẫu bổ sung đường ở nồng độ 10% có ứng suất đâm xuyên cao nhất ($21.46 \pm 0.92 \text{ Mpa}$). Khả năng kháng đâm xuyên tăng lên do trong quá trình hồ hóa, cấu trúc tinh bột bắt thay đổi làm lộ nhóm -OH, điều này giúp các nhóm -OH của saccharose dễ dàng tạo liên kết hydro với tinh bột và mũ trôm thủy phân. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ saccharose lên thì ứng suất đâm xuyên giảm dần. Ứng suất đâm xuyên của màng chứa 20% và 30% saccharose không có sự khác biệt ý nghĩa. Ứng suất đâm xuyên của mẫu S40 đã giảm xuống còn 13.36 ± 0.75 , kết quả này có thể là do quá trình kết tinh của saccharose, lượng saccharose cao thì các phân tử này liên kết với nhau tạo thành tinh thể gây ảnh hưởng đến tính chất của màng (Galdeano et al., 2009).

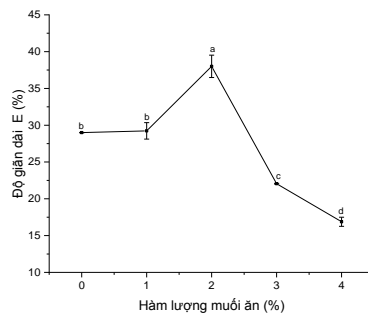
Từ kết quả thu được ở hình 6, ứng suất đâm xuyên của màng giảm lên khi bổ sung muối ăn ở nồng độ cao hơn. Kết quả thu được không có sự khác biệt về mặt thống kê khi tăng nồng độ lên 2%, 3%, 4% do bước nhảy về nồng độ muối giữa các mẫu là không đáng kể.

Ứng suất đâm xuyên của các mẫu được thể hiện ở hình 7, cho ta thấy khi tăng nồng độ acid citric thì ứng suất đâm xuyên của màng tăng. Tuy nhiên, sự tăng lên giữa các mẫu bổ sung 1%, 2%, 3% so với mẫu ĐC không có sự khác biệt, có thể do hàm lượng acid citric của các mẫu có bước nhảy không lớn. Mẫu bổ sung 4% acid citric tăng lên có khả năng kháng đâm xuyên cao nhất và có sự khác biệt về mặt thống kê. Các phân tử acid citric tạo liên kết ngang giữa các phân tử tinh bột – tinh bột hoặc giữa các phân tử tinh bột và mũ trôm, điều này có thể tạo ra một mạng lưới chắc chắn. Điều này tương tự như trong nghiên cứu về ảnh hưởng của hàm lượng acid citric đến tính chất cơ học của màng tinh bột (de Moura et al., 2009).

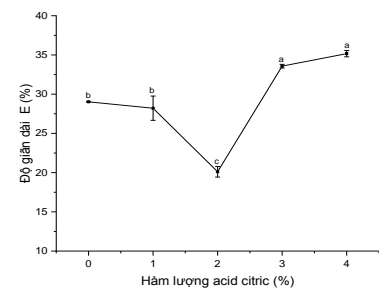
3.5. Khả năng kháng kéo giãn



Hình 8 : Ảnh hưởng của hàm lượng đường saccharose tới độ giãn dài của màng



Hình 9: Ảnh hưởng của hàm lượng muối ăn tới độ giãn dài của màng



Hình 10 : Ảnh hưởng của hàm lượng acid citric tới độ giãn dài của màng

Dựa vào hình 8 cho ta thấy được rằng khi tăng nồng độ đường saccharose của màng thì độ giãn dài khi đứt tăng lên. Khả năng giãn dài khi đứt thấp nhất ở nồng độ saccharose 10% là 31.46% và cao nhất ở nồng độ đường 40% là 58.76%. Kết quả này tương tự với kết quả do (Fadini et al., 2013) thực hiện, tỷ lệ phần trăm độ giãn dài khi đứt cao nhất đã được quan sát đối với những màng chứa nồng độ đường saccharose lớn hơn 20%. Điều này có thể được giải thích do saccharose ảnh hưởng đến độ nhớt của tinh bột trong quá trình hồ hóa, nồng độ đường càng tăng thì độ nhớt của tinh bột càng tăng dẫn đến khả năng kéo giãn khi đứt của màng tăng lên. Tuy nhiên, khi nồng độ saccharose tăng lên hơn nữa (hơn 50%) sẽ làm giảm giá trị cực đại của độ nhớt (Lê Ngọc Tú, 2001) dẫn đến sẽ làm giảm khả năng kéo giãn khi đứt của màng bổ sung saccharose ở nồng độ cao hơn 50%. Thêm vào đó, saccharose được sử dụng như là một chất hóa dẻo trong màng ăn được, dẫn đến khi bổ sung các chất hóa dẻo thì độ giãn dài của màng khi đứt tăng lên do màng trở nên mềm.

Dựa vào hình 9 cho thấy việc bổ sung muối làm tăng độ kéo dài khi đứt của màng tinh ở nồng độ thấp hoặc trung bình. Độ giãn dài của màng cao nhất ở nồng độ muối 2% là 38.5% và thấp nhất ở ở nồng độ 4% là 16.88%. Điều này có thể được giải thích là khi bổ sung muối ăn, muối ăn sẽ tạo liên kết với nước làm giảm lượng nước tự do dẫn đến độ nhớt của hồ tinh bột thay đổi, độ nhớt tăng lên làm tăng độ giãn dài khi đứt của màng tinh bột. Tuy nhiên, độ nhớt của của hồ tinh bột sẽ đạt đến cực điểm rồi bắt đầu giảm xuống dẫn đến khi nồng độ muối càng cao thì độ giãn dài khi đứt sẽ giảm. Kết quả thu được tương tự với kết quả khi bổ sung muối NaCl của màng tinh bột đậu xanh do (Choi et al., 2016) thực hiện.

Theo hình 10, khi bổ sung acid citric ở nồng độ 1%, 2% thì độ giãn dài của màng giảm so với mẫu đối chứng. Tuy nhiên, mẫu C1 có độ giãn dài giống với mẫu ĐC, do hàm lượng acid citric nhỏ nên không gây ra các thay đổi đáng kể cho màng. Ở nồng độ 2% acid citric thì độ giãn dài của mẫu giảm điều này có thể là việc tạo liên kết ngang và đặc tính làm dẻo của acid citric. Độ giãn dài của mẫu tăng lên ở nồng độ 3%, 4% acid citric sẽ cải thiện tính chất cơ học của màng tinh bột (de Moura et al., 2009).

4.KẾT LUẬN

Việc bổ sung đường saccharose, muối ăn và acid citric ở các nồng độ khác nhau có ảnh hưởng nhất định đến một số tính chất của màng. Kết quả đối với các mẫu bổ sung đường saccharose cho thấy khả năng kéo giãn của màng tăng lên khi nồng độ đường tăng lên, khả năng kéo giãn của màng bổ sung 40% đường saccharose tăng lên khoảng 50.2% so với mẫu đối chứng. Khả năng kháng đâm xuyên màng giảm khi nồng độ đường tăng và khả năng kháng đâm xuyên tốt nhất ở nồng độ 10%. Độ ẩm, khả năng hút nước, khả năng thấm ẩm của màng giảm và độ hút ẩm, khả năng hòa tan tăng lên khi nồng độ saccharose tăng. Đối với các mẫu có bổ sung muối ăn, khả năng kháng kéo giãn của màng tăng khi bổ sung muối ăn nhưng đến một nồng độ nhất định thì khả năng đó sẽ giảm. Màng chứa 2% muối ăn có khả năng kháng kéo giãn tốt nhất và

thấp nhất ở nồng độ 4%. Khả năng kháng đâm xuyên của màng là giảm dần khi tăng nồng độ muối. Màng bổ sung muối có độ ẩm và khả năng thấm ẩm không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê ở bốn nồng độ muối khác nhau.

Khi bổ sung acid citric vào màng ở các nồng độ khác nhau, khả năng kháng kéo giãn của màng ở nồng độ 4% là tốt nhất và khả năng kháng đâm xuyên của màng tăng dần khi nồng độ acid citric tăng. Ở các nồng độ tăng dần của acid citric, độ ẩm và khả năng hút nước của màng giảm dần.

Tùy thuộc vào đặc điểm của từng loại sản phẩm mà ta có thể lựa chọn màng có bổ sung đường saccharose, muối ăn và acid citric ở các hàm lượng khác nhau. Dựa trên các đặc tính của màng tinh bột – mủ trôm có bổ sung đường saccharose, muối ăn và acid citric chúng tôi đề xuất một số ứng dụng sơ bộ: thay thế lớp vỏ bọc bên trong của kẹo mềm, tạo ra sản phẩm bánh tráng xoài từ màng ăn, bao gói các sản phẩm có hàm lượng chất béo cao như phô mai lát...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cao, T. L., & Song, K. B. (2019). Effects of gum karaya addition on the characteristics of loquat seed starch films containing oregano essential oil. *Food Hydrocolloids*, 97, 105198.
- Choi, W., Patel, D., & Han, J. J. J. o. f. s. (2016). Effects of ph and salts on physical and mechanical properties of pea starch films. *81(7)*, E1716-E1725.
- de Moura, M. R., Aouada, F. A., Avena-Bustillos, R. J., ĐCHugh, T. H., Krochta, J. M., & Mattoso, L. H. J. J. o. F. E. (2009). Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. *92(4)*, 448-453.
- Fadini, A., Rocha, F., Alvim, I., Sadahira, M., Queiroz, M., Alves, R., & Silva, L. J. F. H. (2013). Mechanical properties and water vapour permeability of hydrolysed collagen–cocoa butter edible films plasticised with sucrose. *30(2)*, 625-631.
- Galdeano, M. C., Mali, S., Grossmann, M. V. E., Yamashita, F., García, M. A. J. M. S., & C, E. (2009). Effects of plasticizers on the properties of oat starch films. *29(2)*, 532-538.
- García, M. A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. J. S. S. (2000). Microstructural characterization of plasticized starch-based films. *52(4)*, 118-124. García, M. A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. J. S. S. (2000). Microstructural characterization of plasticized starch-based films. *52(4)*, 118-124.
- Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., & Entezami, A. A. (2011). Improving the barrier and mechanical properties of corn starch-based edible films: Effect of citric acid and carboxymethyl cellulose. *Industrial Crops products*, 33(1), 229-235.
- Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., Entezami, A. A. J. I. C., & products. (2011). Improving the barrier and mechanical properties of corn starch-based edible films: Effect of citric acid and carboxymethyl cellulose. *33(1)*, 229-235.
- Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Oromiehie, A., & Yarmand, M. S. J. F. C. (2011). Development and characterisation of a new biodegradable edible film made from kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grains. *127(4)*, 1496-1502.
- Nawab, A., Alam, F., Haq, M. A., Lutfi, Z., & Hasnain, A. J. I. j. o. b. m. (2017). Mango kernel starch-gum composite films: Physical, mechanical and barrier properties. *98*, 869-876
- Postulkova, H., Chamradova, I., Pavlinak, D., Humpa, O., Jancar, J., & Vojtova, L. J. F. H. (2017). Study of effects and conditions on the solubility of natural polysaccharide gum karaya. *67*, 148-156.
- Thompson, J. M. (2018). *Infrared spectroscopy*: CRC Press.

Vlachos, N., Skopelitis, Y., Psaroudaki, M., Konstantinidou, V., Chatzilazarou, A., & Tegou, E. J. A. C. A. (2006). Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils. *573*, 459-465.

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT TRÀ THẢO MỘC TÚI LỌC

RAU CÀNG CUA (*Peperomia pellucida* L.)

Trương Quốc Tất¹, Nguyễn Duy Khánh^{2*}

¹Khoa Nông nghiệp & Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Tiền Giang

²Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: duykhanh.tgu98@gmail.com

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu này là thử nghiệm sản xuất sản phẩm trà thảo mộc túi lọc mới, có tính tiện dụng và chứa nhiều nhóm hoạt chất sinh học từ cây rau càng cua (*Peperomia pellucida* L.). Nghiên cứu được thực hiện dựa trên cơ sở đánh giá một số yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm trà là tiêu chuẩn lựa chọn nguyên liệu và tỷ lệ phối trộn nguyên liệu: trà xanh: cỏ ngọt: lá dứa (%). Kết quả nghiên cứu cho thấy, cây rau càng cua lúc ra hoa hoàn toàn là nguyên liệu phù hợp nhất để sấy khô làm nguyên liệu sản xuất trà với dịch trích ethanol 70% của mẫu chứa 20,02 (mgGAE/g DM) và có khả năng khử 77,89% gốc tự do DPPH. Mẫu dịch trà với tỷ lệ phối trộn 60% rau càng cua: 25% trà xanh: 10% cỏ ngọt: 5% lá dứa có giá trị cảm quan tốt nhất với 16,83 điểm, xếp loại khá. Đồng thời, dịch trà còn chứa đa dạng các nhóm hoạt chất sinh học như tannin, flavonoid, saponin,... với 10,71 (mgGAE/g DM) và khử 65,55% gốc tự do DPPH. Đây là sản phẩm thích hợp để dùng hằng ngày, có tác dụng nâng cao sức khỏe người tiêu dùng.

Từ khóa: chống oxy hóa, rau càng cua (*Peperomia pellucida* L.), polyphenol, trà túi lọc.

THE RESEARCH ON THE PROCESS OF PRODUCING HERBAL TEA BAG FROM *Peperomia pellucida* (L.)

Truong Quoc Tat¹, Nguyen Duy Khanh^{2*}

¹The Faculty of Agriculture and Food Technology, Tien Giang University

²The Faculty of Agriculture, Can Tho University

* Corresponding Author: duykhanh.tgu98@gmail.com

ABSTRACT

The objective of this study was to product a new herbal tea bag with convenience and contains many kinds of biologically compounds from *Peperomia pellucida* (L.). The study was based on assessing some factors had affected on the quality of tea bag product such as the selection of materials and the mixing ratio of dried *Peperomia pellucida* (L.): green tea: stevia: pandan leaves (%). The research results showed that the *Peperomia pellucida* when full flowering was the most suitable material for drying to prepare material for tea bag production with the 70% ethanol extract of the sample contained 20.02 (mgGAE/g DM) and reduced 77.89% DPPH free radical. The tea bag sample with the mixing ratio as 60% dried *Peperomia pellucida* (L.): 25% green tea : 10% stevia : 5% pandan leaves was the best sensory value with 16.83 points, good rating . At the same time, tea bag extract contained variety of biologically compounds such as tannins, flavonoids, saponins,... with 10.71 (mgGAE/g DM) and reduced 65.55% DPPH free radical. This product suitable for daily using and improve the health of consumers.

Keywords: anti-oxidants, *Peperomia pellucida* (L.), polyphenols, tea bags.

1. GIỚI THIỆU

Trà là thức uống quen thuộc của người Việt và uống trà là một nét đẹp văn hóa của dân tộc. Để đáp ứng yêu cầu của cuộc sống hiện đại, sản phẩm trà truyền thống đã được thay đổi về thành phần và đặc biệt là cách thưởng thức. Trong đó, sản phẩm trà thảo mộc túi lọc có tính tiện dụng cao với sự kết hợp hài hòa giữa trà truyền thống với các loại thảo mộc khác tạo nên hương vị mới, thơm ngon và có tác dụng hỗ trợ, bảo vệ sức khỏe đang ngày càng được yêu thích.

Về cây rau càng cua (*Peperomia pellucida* L.), đây là loại rau quen thuộc đối với người Việt. Rau càng cua không chỉ được dùng như một loại rau xanh mà còn là một vị thuốc trong các bài thuốc dân gian. Theo Đông y, rau càng cua có tính bình, mọng nước, mùi hơi hăng, thanh mát

và có vị chua nhẹ, có tác dụng thanh nhiệt, giải độc, hoạt huyết, thường được dùng để chữa các bệnh nhiễm trùng đường hô hấp, viêm họng, tiêu hóa kém, đau nhức xương khớp. Trong một số nghiên cứu gần đây, cây rau càng cua đã được phân tích các thành phần hóa học, kết quả cho thấy chúng giàu vitamin C, khoáng Kali và Canxi, tinh dầu và chứa đa dạng các nhóm hoạt chất sinh học. Trong đó nổi bật là nhóm hợp chất polyphenol (TPP), nhóm hợp chất này không chỉ có chức năng sinh lý đối với thực vật mà còn có nhiều tác dụng tích cực đối với sức khỏe con người do có tính chống oxy hóa mạnh, kháng viêm và kháng khuẩn tự nhiên. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy các chất chống oxy hóa tự nhiên từ thực vật có khả năng ngăn ngừa và hỗ trợ điều trị các bệnh tật nguy hiểm ở người như: ung thư, tim mạch, thoái hóa và rối loạn thần kinh như pakinson hay alzheimer; các bệnh liên quan đến đường huyết cao; bệnh xương khớp.

Với mong muốn phát triển sản phẩm mới là trà túi lọc tiện dụng chứa nhiều hoạt chất sinh học có tác dụng hỗ trợ bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng từ nguồn nguyên liệu cây rau càng cua ở địa phương. Từ đó, góp phần nâng cao giá trị kinh tế cho loại rau quen thuộc này và tăng thêm thu nhập cho người nông dân, nghiên cứu sản xuất trà thảo mộc túi lọc rau càng cua (*Peperomia pellucida* L.) đã được thực hiện.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGUYÊN CỨU

Vật liệu

Mẫu

Cây rau càng cua (*Peperomia pellucida* L.) ở 4 thời điểm (cây còn non, cây chuẩn bị ra hoa, cây ra hoa hoàn toàn, cây đang tạo hạt) được thu trong các vườn trồng thanh long ở xã Mỹ Tịnh An, huyện Chợ Gao, tỉnh Tiền Giang vào mùa khô (tháng 4) năm 2021. Nguyên liệu sau khi được vận chuyển về phòng thí nghiệm đã được bỏ rễ, rửa sạch, để ráo và sấy ở 70°C đến khi đạt độ ẩm $\leq 10\%$. Các mẫu rau càng cua khô được xay nhỏ và rây qua rây với $d \leq 3$ mm. Các mẫu bột rau càng cua khô được trữ trong túi zip PA và trữ ở -20°C đến khi sử dụng.



Hình 1. Nguyên liệu rau càng cua tươi (A) và bột rau càng cua (B)

Hóa chất

Hóa chất sử dụng: chất chuẩn gallic acid; thuốc thử folin-cioalteau (Merck, Đức); 2,2 diphenyl 1-2-picrylhydrazyl (DPPH) (TCI, Nhật Bản); cồn tuyệt đối (Cemaco, Việt Nam); các hóa chất thí nghiệm thông thường như: Na_2CO_3 , FeCl_3 , NaOH , HCl ,... (Trung Quốc).

Phương pháp nghiên cứu

Xác định thời điểm thu hoạch nguyên liệu rau càng cua

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 1 nhân tố là các thời điểm thu hoạch cây rau càng cua (cây còn non, cây sắp ra hoa, cây ra hoa hoàn toàn và cây đang tạo hạt). Mỗi nghiệm thức được lặp lại 4 lần. Chỉ tiêu theo dõi của thí nghiệm là giá trị TPC và khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch trích ethanol 70% của nguyên liệu.

Xác định tỷ lệ phối trộn rau càng cua : trà xanh : cỏ ngọt : lá dứa

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 1 nhân tố là tỷ lệ phối trộn rau càng cua (50-70%) : cỏ ngọt (0-20%) : 25% trà xanh : 5% lá dứa. Các mẫu trà với khối lượng 1 g được đóng túi và pha trà bằng nước nóng ở 100°C trong 3 phút. Các mẫu dịch trà được đánh giá cảm quan với hội đồng 9 người, xếp loại của sản phẩm được đánh giá dựa trên điểm tổng của các điểm trung bình của từng chỉ tiêu đã nhân với hệ số quan trọng (HSQT) theo quy định của TCVN 7975:2008 về sản phẩm trà thảo mộc túi lọc. Bên cạnh đó, dịch trà còn được phân tích TPC, hàm lượng đường khử, khả năng khử gốc tự do DPPH và giá trị pH.

Bảng 1. Hệ số quan trọng của các chỉ tiêu ở sản phẩm trà túi lọc

Chỉ tiêu	HSQT
Màu	1,0
Mùi	1,5
Vị	1,5

Bảng 2. Thang điểm các mức chất lượng

Điểm	Xếp loại	Điểm	Xếp loại
18,6 – 20	Tốt	7,2 – 11,0	Kém
15,2 – 18,5	Khá	4,0 – 7,1	Rất kém
11,2 – 15,1	Trung bình	0,0 – 3,9	Hư hỏng

2.2.3. Xác định thành phần hóa học cơ bản

Độ ẩm (%): Cân 3 g mẫu với sai số không vượt quá 0,001 g cho vào chén cân đã được sấy cùng với nắp đến khối lượng không đổi, cho chén cân và nắp vào tủ nâng nhiệt độ lên 105°C và sấy đến khối lượng không đổi. Hàm ẩm trong mẫu được xác định dựa trên độ chênh lệch khối lượng của mẫu trước và sau khi nung.

Carbohydrates (%): thủy phân mẫu bằng cách trộn 5 g bột rau càng cua với 25 mL HCl 5% rồi đun cách thủy trong 5 giờ. Hàm lượng đường khử sinh ra được đo bởi thuốc thử DNS. Hàm lượng đường khử trong mẫu được xác định dựa theo đường chuẩn glucose dựng sẵn.

Protein tổng số (%): trộn 5g mẫu với 10 mL H₂SO₄ 0,1N và 5 g CuSO₄ rồi cho vào ống Kjeldahl sau đó đặt các ống Kjeldahl vào thiết bị vô cơ hóa mẫu. Quá trình đốt đạm kết thúc khi dung dịch trong ống chuyển sang màu xanh trong. Làm nguội, sau đó tiến hành chưng cất đạm. Hàm lượng protein trong mẫu được xác định dựa trên thể tích NaOH 0,1N dùng để chuẩn độ.

Lipid tổng số (%): cân 5 g mẫu được gói trong giấy lọc rồi đặt vào hệ thống soxhlet có chứa ether. Quá trình chiết được tiến hành ở 40-45°C đến khi lipid được chiết hoàn toàn (10-12 giờ). Hàm lượng lipid được xác định dựa trên độ chênh lệch khối lượng của mẫu trước và sau khi chiết.

Tro tổng số (%): cân 5 g mẫu với sai số không vượt quá 0,001 g cho vào chén cân đã được sấy cùng với nắp đến khối lượng không đổi, cho chén cân và nắp vào tủ nâng nhiệt độ lên 550-600°C và trong khoảng 6-8 giờ đến khi tro trắng hoàn toàn. Hàm lượng tro trong mẫu được xác định dựa trên độ chênh lệch khối lượng của mẫu trước và sau khi nung.

2.2.4. Chuẩn bị dịch phân tích

Cân chính xác 0,5 g mẫu cho vào ống nghiệm có nắp dung tích 50 mL. Sau đó, cho 25 mL ethanol 70% vào mỗi ống, để tất cả các ống ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, tiếp theo cho vào bể ổn nhiệt và giữ trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ 55°C. Kết thúc 30 phút, lấy các ống ra khỏi bể và ngâm vào nước đá để làm lạnh nhanh đến nhiệt độ phòng nhằm ngưng quá trình trích ly. Sau đó, đem các ống đi ly tâm để thu dịch trích. Dịch trích được chứa trong ống nghiệm dung tích là 50 mL, thêm dung môi tương ứng vào để định lượng về cùng một thể tích 50 mL để dễ tính toán về sau, đậy nắp kín. Dịch trích có thể được bảo quản ở -20°C nhằm tránh sự biến đổi của các hoạt chất sinh học nếu chưa phân tích.

2.2.5. Xác định hàm lượng polyphenol tổng số (TPC)

Hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu, dựa trên đường thẳng hiệu chuẩn với dung dịch gallic acid nồng độ 0-100 (µg/mL). Hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) được tính theo công thức

$$TPC = [(a \times V \times K) / 1000 \times m \times (1-w)]$$

Trong đó: TPC là hàm lượng polyphenol tổng số (mgGAE/g DM); a là giá trị x từ đường chuẩn với gallic acid (µgGAE/mL); V là thể tích dung dịch trích (mL); m là khối lượng bột vỏ chuối (g); w là độ ẩm của bột vỏ chuối; K là độ pha loãng.

2.2.6. Xác định hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích được xác định thông qua phần trăm khử gốc tự do DPPH. Hút 1 mL dung dịch 2,2 diphenyl 1-2-picrylhydrazyl (DPPH) 0,135 mM trong ethanol và 1 mL của các mẫu dịch trích ly nguyên chất, hỗn hợp được lắc đều và đo độ hấp thụ quang (OD) ở bước sóng $\lambda = 517$ nm sau khi giữ trong bóng tối 30 phút. Mẫu đối chứng được thực hiện tương tự mẫu dịch trích chỉ thay 1 mL dịch trích bằng 1 mL nước cất 2 lần [7]. Phần trăm gốc tự do DPPH bị khử được tính theo công thức:

$$\text{Phần trăm bị khử (\%)} = \frac{[(\text{OD đối chứng} - \text{OD mẫu}) / \text{OD đối chứng}] \times 100}{1}$$

Trong đó: OD đối chứng là độ hấp thụ quang của mẫu đối chứng, OD mẫu là độ hấp thụ quang của các mẫu dịch trích.

2.2.7. Định tính một số nhóm hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học [8]

Tên hoạt chất	Phương pháp	Hiện tượng
Phenolic và tannin	5 mL dịch trích + 2-3 giọt FeCl ₃ (5%)	Tủa màu xanh đen
Flavonoid	5 mL dịch trích + 2-3 giọt Pb(CH ₃ COO) ₂ (10%)	Tủa màu vàng
Quinone	5 mL dịch trích + 3 - 4 giọt HCl	Màu xanh lá
Coumarin	5 mL dịch trích + 2-3 giọt NaOH (10%)	Màu vàng
Alkaloid	5 mL dịch trích + vài giọt thuốc thử Wagner	Tủa màu nâu đỏ
Terpenoid	5 mL dd chiết + 50 mL CHCl ₃ + 2 - 3 giọt H ₂ SO ₄ dd	Màu đỏ gạch hoặc xanh lá
Saponin	5 mL dd chiết + vài giọt dầu oliu + đun nóng 90°C	Nhũ tương màu sữa

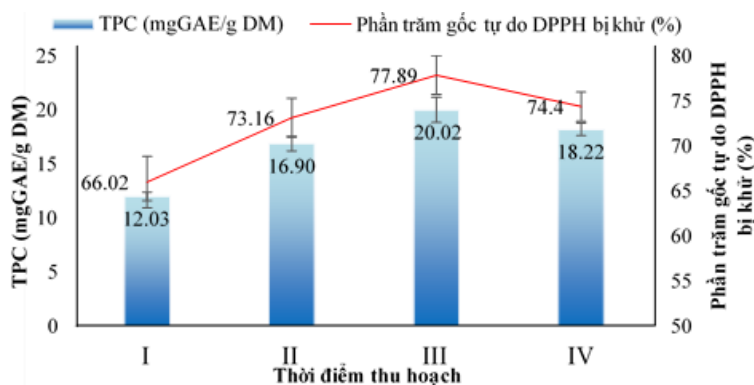
2.2.8. Xử lý số liệu

Số liệu được nhập, tính toán, vẽ biểu đồ bằng phần mềm Excel và xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời điểm thu hoạch đến chất lượng của nguyên liệu rau càng cua

Hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích các mẫu rau càng cua ở 4 thời điểm thu hoạch được thể hiện ở Hình 2.



Hình 2. Hàm lượng polyphenol tổng số và hoạt tính khử gốc tự do DPPH của dịch trích cây rau càng cua tươi ở các thời điểm thu hoạch

*Ghi chú: I: cây còn non; II: cây chuẩn bị ra hoa; III: cây ra hoa hoàn toàn; IV: cây đang tạo hạt. Hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của gallic acid ($y = 0,0118x - 0,0095$ với $R^2 = 0,998$) và được sử dụng cho toàn nguyên cứu.

Qua kết quả ở Hình 2 cho thấy có sự khác biệt về giá trị TPC trong dịch trích cây rau càng cua ở các thời điểm thu hoạch với xu hướng tăng lên khi cây trưởng thành và giảm xuống khi cây tạo hạt. Kết quả phân tích TPC của mẫu dịch trích ethanol 70% rau càng cua lúc cây ra hoa hoàn toàn có giá trị cao nhất với 20,02 (mgGAE/g DM) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% với 2 thời điểm là cây còn non và cây chuẩn bị ra hoa. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của mùa vụ và thời gian sinh trưởng đến giá trị TPC trên cây rau sao nhái (*Cosmos*

caudatus) cũng đã kết luận giá trị TPC trong loại thực vật này cao hơn trong mùa nắng và có khuynh hướng tăng ở giai đoạn 2 đến 8 tuần tuổi và giảm xuống ở giai đoạn 10 đến 12 tuần tuổi. Xu hướng này được lý giải là do hoạt động của các enzyme liên quan đến con đường phenylpropanoid và sự thoái hóa của các polysaccharide trong vách tế bào cũng như các protein dẫn đến giải phóng phenolic ở trạng thái liên kết. Hơn nữa, trong quá trình sinh trưởng của cây con, L-phenylalanine được chuyển thành cinnamic acid dưới sự xúc tác của phenylalanine ammonialyase (PAL) và nhiều hợp chất phenolic được tổng hợp thành như flavonoid, tannin, lignin. Tuy nhiên, năng lượng cần thiết để tổng hợp các chất trao đổi này sẽ bị thay thế để phục vụ cho các hoạt động khác như chuyển hóa của các hợp chất phenolic thành các chất trao đổi khác ở giai đoạn ra hoa và tạo hạt.

Sự oxy hóa tế bào đã được chứng minh là nguyên nhân gây ra nhiều bệnh tật nguy hiểm ở người. Xu hướng sử dụng các loại thực phẩm có nguồn gốc tự nhiên từ thực vật đang là xu thế được ưa chuộng vì đây là nguồn chất chống oxy hóa mạnh mẽ và an toàn. Để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của các hoạt chất sinh học trong cây rau càng cua, nghiên cứu đã sử dụng phương pháp khử gốc tự do DPPH. Kết quả nghiên cứu cho thấy thời điểm thu hoạch có ảnh hưởng đến hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích ethanol 70% từ cây rau càng cua thông qua phần trăm gốc tự do DPPH bị khử và đã được trình bày ở Hình 2. Khả năng khử gốc tự do DPPH càng lớn cho thấy hoạt tính chống oxy hóa càng mạnh. Tương tự sự biến đổi của TPC, hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích ethanol 70% cây rau càng cua cũng tăng lên ở giai đoạn từ khi cây còn non đến khi cây ra hoa hoàn toàn và giảm xuống khi cây đang tạo hạt. Hoạt tính chống oxy hóa của cây rau càng cua biểu hiện mạnh nhất ở giai đoạn cây ra hoa hoàn toàn với 77,98% gốc tự do DPPH đã bị khử. Giá trị TPC và hoạt tính khử gốc tự do DPPH có mối quan hệ mật thiết với nhau với hệ số tương Pearson giữa 2 chỉ tiêu theo dõi này ở các mẫu dịch trích đã được xác định với $r = 0,9264$, điều này chứng tỏ TPC là yếu tố chính tạo nên hoạt tính chống oxy hóa trong nguyên liệu cây rau càng cua.

Khi so sánh với giá trị TPC của một số nguyên liệu thực vật khác cho thấy, TPC của cây rau càng cua là khá cao so với vỏ quả ca cao với 7,23 (mgGAE/g DM) [12, vỏ chuối xiêm với 9,93 (mgGAE/g DM) hay nấm mỡ với 17,64 (mgGAE/g DM). Do đó, có thể xem cây rau càng cua lúc ra hoa hoàn toàn là nguyên liệu tiềm năng để nghiên cứu chế biến thành các sản phẩm thực phẩm chức năng tốt cho sức khỏe.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn đến chất lượng sản phẩm trà

3.2.1. Xác định thành phần hóa học cơ bản của rau càng cua khô

Tỷ lệ hàm lượng của các thành phần hóa học cơ bản trong rau càng cua khô được thể hiện qua Bảng 3 cho thấy, độ ẩm trong nguyên liệu khô là rất thấp chỉ với 4,46%. Độ ẩm thấp giúp kéo dài thời gian bảo quản, tạo ra tính ổn định của nguyên liệu trong quá trình làm thí nghiệm, đồng thời tạo thuận tiện trong bao gói và vận chuyển. Trong nhiều nghiên cứu về lĩnh vực chế biến trà thảo mộc, độ ẩm $\leq 10\%$ được xem là ngưỡng an toàn để bảo quản các loại nguyên liệu. Trong khi đó, carbohydrates là thành phần chiếm tỷ lệ lớn nhất trong nguyên liệu với 68,18% (theo DM) với chủ yếu là cellulose. Carbohydrates và nhóm hợp chất polyphenol có sự tương tác với nhau tạo thành các liên kết có tác dụng tích cực đối với sức khỏe con người. Bên cạnh đó, hàm lượng protein trong nguyên liệu là khá thấp chỉ với 7,31% (theo DM). Protein cũng có khả năng liên kết với hợp chất polyphenol, mức độ liên kết càng cao khi số lượng nhóm -OH của phân tử polyphenol càng lớn. Lipid trong rau càng cua khô là rất thấp chỉ chiếm 5,99% (theo DM), sự tương tác giữa lipid với các hợp chất polyphenol khá đa dạng và phức tạp theo chiều hướng hấp thụ chất béo có tác dụng tốt đối với sức khỏe. Nổi bật, rau càng cua khô có hàm lượng tro khá cao với 18,45% (theo DM), chứng đây là nguồn xanh rau chứa nhiều khoáng chất.

Bảng 3. Thành phần hóa học cơ bản của rau càng cua khô

Thành phần (%)	Hàm lượng
Độ ẩm	4,46 ± 0,23
Carbohydrates	68,18 ± 2,15 (theo DM)
Protein tổng	7,31 ± 3,07 (theo DM)

Lipid tổng	5,99 ± 2,25 (theo DM)
Tro tổng	18,45 + 3,68 (theo DM)

3.2.2. Ảnh hưởng của phối trộn đến giá trị cảm quan của sản phẩm trà

Việc phối trộn tỷ lệ rau càng cua với cỏ ngọt ở các mức độ khác nhau có ảnh hưởng lớn đến giá trị cảm quan của dịch trà trà thông qua điểm đánh giá của cảm quan viên được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Điểm cảm quan của các mẫu dịch trà thảo mộc rau càng cua

Tỷ lệ (%)	Màu	Mùi	Vị	Tổng điểm
70 : 0	2,78 ± 0,41 ^c	3,33 ± 0,71 ^b	2,33 ± 0,70 ^b	11,27
65 : 5	3,22 ± 0,67 ^{bc}	3,22 ± 0,83 ^b	3,00 ± 0,50 ^b	12,55
60 : 10	4,33 ± 0,71 ^a	3,89 ± 0,78 ^a	4,44 ± 0,53 ^a	16,83
55 : 15	3,67 ± 0,71 ^{ab}	3,67 ± 0,71 ^{ab}	3,67 ± 0,87 ^{ab}	14,68
50 : 20	3,44 ± 0,73 ^{bc}	2,89 ± 0,78 ^c	2,33 ± 0,50 ^b	11,27
HSQT	1,00	1,50	1,50	

*Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.



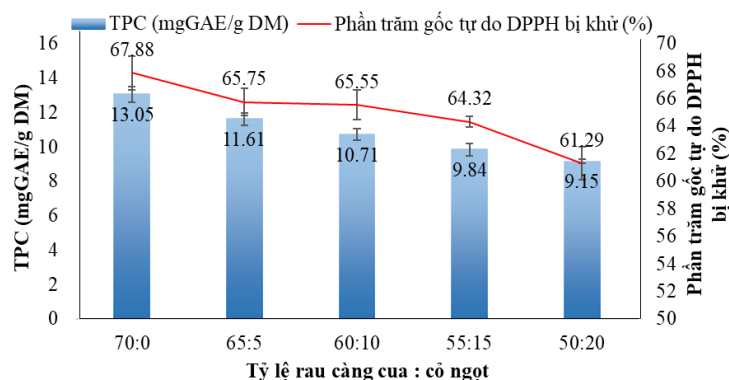
Trà thảo mộc túi lọc có tỷ lệ phối trộn 60% rau càng cua : 25% trà xanh : 10% cỏ ngọt : 5% lá dứa là cho sản phẩm có mức độ yêu thích cao nhất ở cả 3 tiêu chí về màu, mùi và vị của dịch trà với điểm trung bình là 16,83, xếp loại khá. Trong đó, tỷ lệ cỏ ngọt là yếu tố có tác động chính đến giá trị cảm quan của sản phẩm. Ban đầu khi tăng tỷ lệ cỏ ngọt từ 0% đến 10% thì giá trị cảm quan của sản phẩm có xu hướng tăng lên do tạo nên vị ngọt hài hòa. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng tỷ lệ cỏ ngọt thì lại làm giảm chất lượng của sản phẩm, điểm cảm quan của sản phẩm

giảm xuống rõ rệt. Từ kết quả của nghiên cứu đã ghi nhận tỷ lệ cỏ ngọt quá thấp (<10%) tạo sản phẩm khi pha trà có vị rất nhạt nhưng khi tỷ lệ cỏ ngọt quá cao (>10%) lại tạo sản phẩm khi pha trà có vị ngọt gắt, mùi và vị không được hài hòa, hấp dẫn do cỏ ngọt có mùi đặc trưng nên với tỷ lệ lớn sẽ lấn áp đi mùi thơm nhẹ của lá dứa.

Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ cỏ ngọt bổ sung với lượng 10% sẽ cho sản phẩm trà có giá trị cảm quan tốt nhất tương đồng với một số nghiên cứu sản xuất trà thảo mộc bổ sung cỏ ngọt trước đây. Trong quy trình sản xuất trà hoa đậu biếc (*Clitoria ternatean* L.) đã xác định tỷ lệ phối trộn thích hợp nhất là 55% hoa đậu biếc, 10% cỏ ngọt, 25% trà xanh và 10% hoa cúc). Bên cạnh đó, trong quy trình sản xuất trà túi lọc từ cây ngải cứu, nhân trần và cỏ ngọt đã xác định tỷ lệ phối trộn 64% ngải cứu, 26% nhân trần và 10% cỏ ngọt cho thành phẩm trà có chất lượng tốt nhất.

3.2.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn đến giá trị TPC và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trà

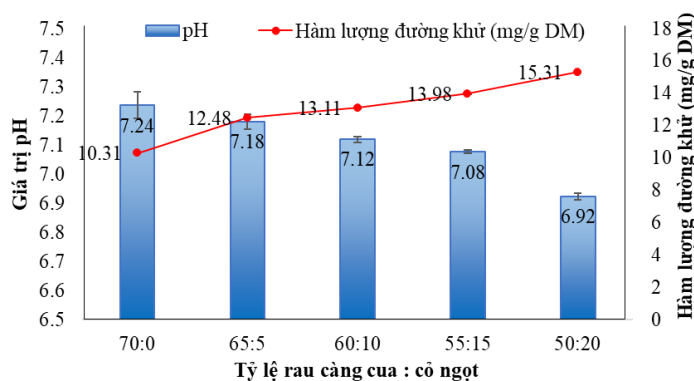
Tỷ lệ phối trộn có sự ảnh hưởng đáng kể đến giá trị TPC và khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch trà (Hình 3). Mẫu dịch trà được pha từ mẫu trà với tỷ lệ 70% rau càng cua, 25% trà xanh, 0% cỏ ngọt cùng với 5% lá dứa chứa hàm lượng hợp chất TPP và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất với 13,05 (mgGAE/g DM) và 67,88% gốc tự do DPPH bị khử. Qua đó, hàm lượng hợp chất TPP và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trà tỷ lệ thuận với tỷ lệ trọng lượng của thành phần rau càng cua trong sản phẩm trà.



Hình 3. Hàm lượng polyphenol tổng số và hoạt tính khử gốc tự do DPPH của dịch trà ở các tỷ lệ phối trộn

3.2.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn đến hàm lượng đường khử và pH của dịch trà

Khi tăng tỷ lệ cỏ ngọt trong sản phẩm, hàm lượng đường khử trong dịch trà tăng lên và pH của dịch trà giảm xuống với kết quả cụ thể được thể hiện ở Hình 4.



Hình 4. pH và hàm lượng đường khử trong các mẫu dịch trà

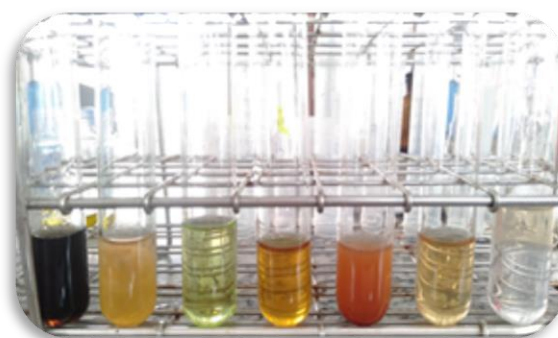
Khi tăng tỷ lệ cỏ ngọt từ 0% đến 20% thì pH của dịch trà giảm nhưng với giá trị không quá lớn từ 7,24 xuống 6,92 chứng tỏ cỏ ngọt có tính acid nhẹ, hàm lượng acid hữu cơ trong các nguyên liệu có ảnh hưởng đến vị của các sản phẩm trà và đôi khi ảnh hưởng đến màu của dịch trà đối với các sản phẩm có nguyên liệu chứa sắc tố anthocyanin như tía tô hoặc hoa đậu biếc. Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng ghi nhận hàm lượng đường khử trong dịch trà tăng theo với hàm lượng dao động từ 7,24 đến 15,31 (mg/g DM). Chất tạo ngọt trong cỏ ngọt là 1 loại glucoside đặc biệt mà cơ thể không thể chuyển hóa và hấp thụ được nên rất có tiềm năng sử dụng ở đối tượng những bệnh nhân tiểu đường, béo phì.

3.2.5. Định tính một số nhóm hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học trong dịch trà

Dựa vào các dấu hiệu phản ứng đặc trưng, cho thấy dịch trà rau càng cua túi lọc chứa đa dạng các nhóm hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học như: nhóm polyphenol (tannin, flavonoids), nhóm saponin và nhóm alkaloids. Các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học từ thực vật có tác dụng tích cực đối với sức khỏe con người vì chúng có tính chống oxy hóa mạnh. Chất chống oxy hóa đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa các quá trình gây bệnh liên quan đến não, ung thư, viêm, rối loạn hay thoái hóa thần kinh, tiểu đường, viêm khớp cũng như tim mạch. Ngoài ra, các hợp chất này còn được báo cáo là có hoạt tính kháng khuẩn tự nhiên chống lại các vi sinh vật gây bệnh khác nhau.

Bảng 5. Bảng kết quả định tính một số hợp chất tự nhiên trong dịch trích cây rau càng cua

Tên hoạt chất	Kết quả
Phenolic và tannin	+
Flavonoids	+
Quinone	+
Coumarin	+
Alkaloid	+
Terpenoid	+
Saponin	+



Hình 5. Kết quả định tính một số hợp chất tự nhiên trong dịch trích bột rau càng cua

4. KẾT LUẬN

Cây rau càng cua thu hoạch ở huyện Chợ Gạo, tỉnh Tiền Giang là nguyên liệu thích hợp để sản xuất các sản phẩm chức năng giàu các hoạt chất sinh học tốt cho sức khỏe. Sản phẩm trà thảo mộc rau càng cua túi lọc được chế biến thành công là cơ sở để đưa quy trình vào sản xuất thực tế nhằm đa dạng hóa sản phẩm trà trên thị trường và góp phần tăng thêm thu nhập cho người nông dân ở địa phương.

Lời cảm ơn: Chân thành cảm ơn Trường Đại học Tiền Giang đã tạo điều kiện để chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB: Y học, Hà Nội (2004).
- Su, X., Na, L., Meng, M.N, Cai, H.Z. Qiao, R.Y., & Ming, W.W, Bioactive Compounds from *Peperomia pellucida*, *Journal of Natural Products*, **69**, (2006), 247-250.
- Idris, O.O., Olatunji, B.P., and Madufor, P., In vitro antibacterial activity of the extracts of *Peperomia pellucida* (L.), *British Microbiology Research Journal*, **11**(4), (2016), 1-7.
- Uddin, S.N., Akond, M.A., Mubassara, S., Yesmin, M.N., Antioxidant and Antibacterial activities of *Trema cannabina*, *Middle-East Journal of Scientific Research*, **3**(2), (2008), 105-108.
- Hà Quang Thanh và Nguyễn Thị Thu Hương, Khảo sát tác dụng của cao chiết cò từ rau càng cua trên mô hình gây loãng xương ở chuột nhắt trắng, *Tạp chí Dược học*, **23**(1), 2018, 33-39.
- Yadav, R.N.S., and Agarwala, M., Phytochemical analysis of some medicinal plants, *Journal of Phytology*, **3**(12), (2011), 10-14.
- Aluko B.T., Alli, S.Y.R., and Omoyeni, O.A., Phytochemical analysis and antioxidant activities of ethanolic leaf extract of *Brillantaisia patula*, *World Journal of Pharmaceutical Research*, **3**(3), (2014), 4914-4924.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., and Kaur, H., Phytochemical screening and Extraction: A Review, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, **1**(1), (2011), 98-106.
- Mediani, A., Abas, F., Ping, T.C., Khatib, A., and Lajis, N.H., Influence of growth stage and season on the antioxidant constituents of *Cosmos caudatus*, *Plant Foods for Human Nutrition*, **67**, (2012), 344-350.
- Cao, X., Zhang, M., Qian, H., Mujumdar, A. S., and Wang, Z., Physicochemical and nutraceutical properties of barley grass powder microencapsulated by spray drying. *Drying Technology*, **35**(11), (2017), 1358-1367.
- Shuib, N.H., Shaari, K., Khatib, A., Maulidiani, R., Zareen. S., Raof. S.M., Lajis. N.H., and Neto, V., Discrimination of young and mature leaves of *Melicope ptelefolia* using 1H NMR and multivariate data analysis. *Food Chemistry*, **126**, (2011), 640-645.

- Nguyễn Văn Tạng, Trần Thanh Giang, Huỳnh Quốc Trung, Phan Thị Bích Trâm, Phạm Châu An và Trần Thị Mỹ Hạnh, Ảnh hưởng của dung môi và phương pháp trích ly đến khả năng chiết tách các hợp chất phenolics, saponins và alkaloids từ vỏ quả ca cao (*Theobroma cacao* L.), Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ, **56(4B)**, (2020), 71-78.
- Phạm Trần Bảo Nghi, Trương Hoài Vương, Nguyễn Văn Mười và Trần Thanh Trúc, Ảnh hưởng của mức độ chín và điều kiện trích ly bằng phương pháp ngâm trích đến hiệu quả thu nhận polyphenol từ vỏ chuối xiêm (*Musa paradisiaca* L.), Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp, **3(2)**, (2019), 1295-1234.
- Ngô Xuân Mạnh, Lương Thị Hà và Ngô Xuân Trung, Hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxi hóa của chúng trong một số loại nấm ăn, Tạp chí Khoa học và Phát triển, **13(2)**, (2015), 272-278.
- Padayachee, A., Netzel, G., Netzel, M., Day, L., Zabaras, D., and Mikkelsen, D., Binding of polyphenols to plant cell wall analogues – Part 1: Anthocyanins. *Food Chemistry*, **134**, (2012), 155-161.
- Jakobek, L., Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, **175**, (2015), 556-567.
- Nguyễn Thị Hiền và Nguyễn Thị Kim Phụng, Nghiên cứu quy trình sản xuất trà hoa đậu biếc. Kỷ yếu Hội nghị An toàn thực phẩm-An ninh lương thực lần 3 năm 2019, (2019), 38-49.
- Nguyễn Thị Hằng, Nghiên cứu xây dựng qui trình sản xuất trà túi lọc từ cây gai cứu, nhân trần và cỏ ngọt, Khóa luận tốt nghiệp ngành công nghệ thực phẩm trường Đại học Nha Trang, (2010).
- Abou-arab, S.M.E. and abu-salem M., F., *Evaluation of bioactive compounds of stevia rebaudiana leaves and callus*, (2010).
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B.D., Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46(10)**, (1998), 4113-4117.
- Caliskan, O. and Polat, A.A., Phytochemical and antioxidant properties of selected fig (*Ficus carica* L.) accessions from the eastern Mediterranean region of Turkey, *Scientia Horticulturae*, **128(4)**, (2011), 473-478.
- Uddin, S.N., Antioxidant and Antibacterial activities of *Trema cannabina*, *Middle-East Journal of Scientific Research*, **3(2)**, (2008), 105-108.
- Megdiche-Ksouri, W., *Artemisia campestris phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity*, *Industrial Crops and Products*, **63**, (2015), 104-113.

ỨNG DỤNG VI KHUẨN LACTIC TRONG SẢN XUẤT NEM CHUA NẤM ĐÔNG CÔ (*Lentinula edodes*)

Luu Minh Châu, Trần Ngọc Hân, Lý Thị Thùy Duyên,
Nguyễn Ngọc Thanh, Huỳnh Xuân Phong*

Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: hxphong@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men và ứng dụng để xác định các điều kiện lên men nem chua nấm đông cô (*Lentinula edodes*). Nghiên cứu sử dụng mười chủng vi khuẩn lactic đã được phân lập và tuyển chọn. Các điều kiện thử nghiệm bao gồm nhiệt độ ủ (nhiệt độ thường, 30°C, 37°C), mật số giống chủng (10^3 , 10^5 , 10^7 tế bào/g), loại nếp (nếp Thái, nếp Thái thơm, nếp Long An dẻo, nếp Long An, nếp Hòa Hảo), tỷ lệ nấm và nếp (40:60, 50:50, 60:40) và nồng độ muối (1%, 2%, 3%). Kết quả cho thấy chủng HCGT31 có khả năng sinh acid lactic cao nhất (20,10 g/L). Điều kiện lên men thích hợp ở nhiệt độ 37°C và mật số 10^7 tế bào/g, sử dụng nếp Long An dẻo với tỷ lệ nấm và nếp là 50:50, nồng độ muối 1%. Sản phẩm nem chua cuối cùng có hàm lượng acid là 12,23 g/L với pH là 4,70 và tổng điểm đánh giá cảm quan là 17,67/20 theo TCVN3215:79.

Từ khóa: *Lentinula edodes*, lên men lactic, nấm đông cô, nem chua, vi khuẩn lactic

STUDY ON THE CONDITIONS OF SHIITAKE MUSHROOMS (*Lentinula edodes*) FERMENTATION USING LACTIC ACID BACTERIA

Luu Minh Chau, Tran Ngoc Han, Ly Thi Thuy Duyen,
Nguyen Ngoc Thanh, Huynh Xuan Phong*

Biotechnology Research and Development Institute, Can Tho University

* Corresponding Author:: hxphong@ctu.edu.vn

ABSTRACT

This study was conducted to select the fermentative lactic acid bacteria strains and investigate the factors affecting the fermentation of fermented shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*). Ten strains of lactic acid bacteria were fermented in the test medium. The study investigated the influence of factors such as incubation temperature (normal temperature, 30°C, 37°C), strain density (10^3 , 10^5 , 10^7 cells/g), type of sticky rice (Thai, Thai fragrant, Long An, Long An sticky, Hoa Hao), the ratio of mushrooms and glutinous rice (40:60, 50:50, 60:40) and salt concentration (1%, 2%, 3%) to the fermented shiitake mushroom. The results showed that strain HCGT31 had the highest ability to produce lactic acid (20.10 g/L). The suitable fermentation conditions were at 37°C and strain density of 10^7 cells/g. Long An sticky rice was used with mushrooms at the ratio of 50:50 and 1% w/w of salt concentration. The final fermented shiitake mushroom has an acid content of 12.23 g/L with a pH of 4.70 and a total sensory evaluation score of 17.67/20 according to TCVN3215:79.

Keywords: Lactic acid bacteria, lactic acid fermentation, *Lentinula edodes*, fermented mushroom, shiitake mushroom.

1. TỔNG QUAN

Nấm ăn còn được biết đến là 'thịt của rừng' do hàm lượng protein của chúng lớn hơn trong hầu hết các loại trái cây và rau quả. Các loại nấm ăn được bao gồm ít nhất 1000 đến 2500 loài có thể được phân biệt và chỉ có khoảng 25 loài được chấp nhận rộng rãi làm thực phẩm, một số loài được trồng cho mục đích thương mại. Hiện nay, có 5 loài được trồng phổ biến gồm *Lentinula* (22%), *Pleurotus* (19%), *Auricularia* (18%), *Agaricus* (15%) và *Flammulina* (11%), chiếm khoảng 85% sản lượng nấm trên thế giới. Nấm tươi có độ ẩm cao, pH ở mức trung tính nên nếu không được bảo quản cẩn thận sẽ dẫn đến sự phát triển của vi khuẩn gây hư hỏng, quả thể bị sẫm màu và thay đổi mùi vị, thậm chí hình thành các chất có hại cho sức khỏe của con người [4]. Nấm thường được sử dụng ở dạng tươi để nấu súp, làm nước sốt, salad, đồ nhồi hay được làm khô, đóng hộp và đông lạnh. Bên cạnh đó, ở nhiều nơi trên thế giới, người ta đã ứng

dụng vi khuẩn lactic trong chế biến và bảo quản nấm. Từ lâu, vi khuẩn lactic và acid lactic đã được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực và đóng vai trò quan trọng trong cuộc sống của con người. Bản chất của quá trình lên men acid lactic là sự chuyển hoá đường glucose thông qua quá trình đường phân và lên men tạo thành acid. Chính quá trình lên men lactic tạo điều kiện bảo quản thực phẩm, làm cho thực phẩm chống lại sự hư hỏng do vi sinh vật, làm tăng giá trị cảm quan cũng như tăng cường các đặc tính bồi bổ sức khỏe của sản phẩm thông qua việc sản xuất các chất chuyển hóa từ hệ vi sinh vật có lợi.

Nấm đông cô (nấm hương) hiện là một trong năm loại nấm ăn được trồng nhiều nhất trên thế giới. Chúng đã được sử dụng trong y học và làm thực phẩm trong hàng nghìn năm ở Nhật Bản, Trung Quốc và Hàn Quốc, hiện đang trở nên phổ biến trong các sản phẩm dinh dưỡng và dược phẩm ở khắp Châu Âu và Bắc Mỹ. Nấm đông cô chứa nhiều chất dinh dưỡng và đã được chứng minh là mang lại nhiều lợi ích sức khỏe như có khả năng chống lại khối u mạnh mẽ bằng đường uống và đường tiêm ở cả động vật và người; chống lại các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn, virus, ký sinh trùng; điều hòa miễn dịch và làm giảm cholesterol. Tuy nhiên, hiện chưa có nhiều nghiên cứu về quá trình lên men của loại nấm này. Vào năm 2017, Khaskheli et al. đã nghiên cứu các đặc tính lý hóa và cảm quan của nấm đông cô ngâm chua. Các tác giả thu được sản phẩm sau quá trình chần, xử lý muối (qua đêm), trộn nấm với gia vị và bảo quản bằng acid acetic và natri benzoate. Vì vậy, đây không phải là quá trình lên men lactic mà là quá trình “ướp” bằng cách sử dụng acid hữu cơ. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm sử dụng vi khuẩn lactic để lên men nem chua nấm đông cô, nhằm tạo ra một sản phẩm mới có giá trị cao về mặt sinh học và dinh dưỡng, giúp đa dạng hóa sản phẩm. Đặc biệt là cung cấp thêm thực phẩm trong khẩu phần người ăn chay, nâng cao hiệu quả và cải thiện đời sống kinh tế cho các hộ dân trồng nấm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên vật liệu và hóa chất

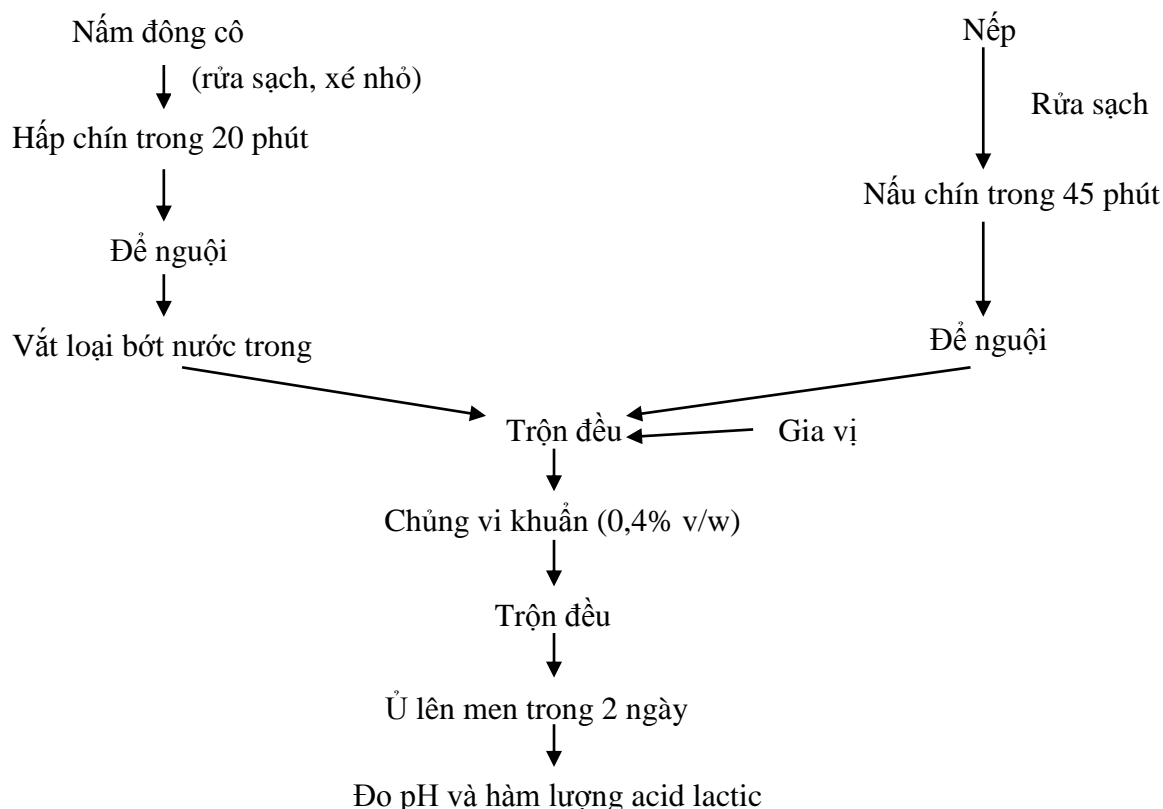
Mười chủng vi khuẩn lactic được tuyển chọn và lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ gồm TX61, HCGT31, HK162, L54, L7, HK221, L39, HCM2, TX3, L30. [15-16]. Môi trường MRS gồm có yeast extract 0,4%, beef extract 0,8%, peptone 1%, D-glucose 2%, K_2HPO_4 0,2%, $MgSO_4$ 0,02%, $MnSO_4$ 0,004%, Tween 80 0,1%, $C_2H_3NaO_2$ (sodium acetate) 0,5% (De Man, Rogosa, & Sharpe, 1960). Các hóa chất phân tích acid tổng bao gồm NaOH 0,1 N (Việt Nam) và phenolphthalein. Nấm đông cô, nếp và các gia vị khác (dầu thực vật, tỏi, đường, tiêu, muối) được mua từ Trung tâm thương mại Sense City Cần Thơ.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men nem chua nấm đông cô

Môi trường thử nghiệm với tỷ lệ nấm đông cô và nếp đã nấu chín là 40:60 (w/w) được phối trộn với 5% (w/w) dầu thực vật, 8% (w/w) tỏi băm nhuyễn, 1,5% (w/w) tiêu xay, 1,5% (w/w) đường, 1,0% (w/w) muối [17]. Chủng 0,4% (v/w) dịch tăng sinh của các chủng vi khuẩn lactic (mật số 10^9 tế bào/mL) vào các mẫu môi trường thử nghiệm, trộn đều và ủ lên men trong 2 ngày. Đo pH và xác định hàm lượng acid lactic sinh ra trong sản phẩm sau 2 ngày lên men bằng phương pháp chuẩn độ sử dụng NaOH 0,1 N.

Hình 1. Sơ đồ quy trình các bước lên men chua nấm đông cô



2.2.2 Khảo sát ảnh hưởng của mật số giống chủng và nhiệt độ ủ đến quá trình lên men

Thí nghiệm được thực hiện với 2 nhân tố là mật số vi khuẩn (10^3 , 10^5 , 10^7 tế bào/g) và nhiệt độ ủ (30°C , 37°C và nhiệt độ môi trường). Tiến hành thực hiện tương tự như thí nghiệm ở mục 2.2.1. Đo pH và xác định hàm lượng acid lactic sinh ra trong sản phẩm sau 2 ngày lên men bằng phương pháp chuẩn độ sử dụng NaOH 0,1 N.

2.2.3 Khảo sát sự thay đổi của nguyên liệu gạo nếp đến quá trình lên men

Thí nghiệm được thực hiện để xác định nguyên liệu nếp thích hợp cho quá trình lên men. Năm loại nếp khác nhau được khảo sát bao gồm nếp Thái thường, nếp Thái thơm, nếp Sáp thường, nếp Sáp dẻo và nếp Hòa Hảo. Tiến hành thực hiện tương tự như thí nghiệm ở mục 2.2.1 với mật số giống chủng và nhiệt độ ủ được chọn ở mục 2.2.2. Đo pH, xác định hàm lượng acid lactic sinh ra và đánh giá cảm quan nem chua nấm đông cô sau 2 ngày lên men.

2.2.4 Khảo sát sự thay đổi tỷ lệ nấm, nếp và nồng độ muối đến cảm quan nem chua nấm đông cô

Thí nghiệm được thực hiện để khảo sát sự thay đổi của tỷ lệ nấm nếp và nồng độ muối đến cảm quan nấm đông cô. Quy trình tiến hành tương tự như sơ đồ ở Hình 1, trong đó thay đổi tỷ lệ nấm bào ngư và nếp (được chọn ở mục 2.2.2) đã nấu chín với các tỷ lệ 40:60, 50:50 và 60:40 (w/w) và hàm lượng muối bổ sung được bố trí ở ba mức độ (1, 2 và 3 % w/w). Đo pH, xác định hàm lượng acid lactic sinh ra và đánh giá cảm quan nem chua nấm đông cô sau 2 ngày lên men.

2.2.5 Phân tích và xử lý kết quả

Cảm quan sản phẩm được đánh giá bằng phương pháp cho điểm theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79 với các chỉ tiêu bao gồm màu sắc, mùi, vị và cấu trúc (thang điểm mô tả từ 0 đến 5) [19] thông qua Hội đồng đánh giá cảm quan gồm 15 thành viên (độ tuổi từ 22 đến 40, thuộc Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ).

Kết quả được xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, USA). Số liệu được xử lý thống kê bằng chương trình Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies, Inc., USA).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men nem chua nấm đông cô

Muối chủng vi khuẩn lactic được phân lập và tuyển chọn đều có khả năng lên men lactic trên môi trường thử nghiệm. Bảng 1 thể hiện giá trị pH và hàm lượng acid lactic sinh ra sau 2 ngày lên men.

Bảng 1: Giá trị pH và hàm lượng acid lactic trung bình của 10 chủng LAB sau 2 ngày lên men

Chủng	pH ban đầu	pH sau lên men	Acid lactic (g/L)	Chủng	pH ban đầu	pH sau lên men	Acid lactic (g/L)
HCM2	6,16	3,64 ^{ab}	10,43 ^{de}	TX3	6,14	3,63 ^{ab}	13,65 ^c
L7	6,04	3,58 ^b	9,45 ^e	TX61	6,13	3,60 ^b	17,48 ^b
L30	6,26	3,64 ^{ab}	14,33 ^c	HK162	6,23	3,59 ^b	12,23 ^{cd}
L39	6,26	3,61 ^b	11,03 ^{de}	HK221	6,12	3,73 ^a	10,80 ^{de}
L54	6,14	3,65 ^{ab}	17,25 ^b	HCGT31	6,15	3,67 ^{ab}	20,10 ^a

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định Duncan

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy tất cả các chủng khảo sát đều có khả năng lên men và sinh ra hàm lượng acid lactic nằm trong khoảng 9,45 g/L đến 20,10 g/L. Hàm lượng acid lactic của các chủng HCGT31, TX61, L54 và L30 là tương đối cao (>14,00 g/L), trong đó chủng HCGT31 có hàm lượng acid lactic cao nhất đạt 20,10 g/L và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Riêng các chủng L7, HCM2, HK221 và L39 có khả năng lên men yếu hơn với giá trị hàm lượng acid lactic lần lượt là 7,05 g/L, 10,43 g/L, 10,8 g/L và 11,03 g/L. Trong lên men rau củ, vi khuẩn lactic phụ thuộc chủ yếu vào đường thực vật và đường bổ sung để sản xuất acid lactic [20]. Nấm đông cô là loại nấm có giá trị dinh dưỡng với hàm lượng protein, chất xơ, vitamin và khoáng chất cao nhưng có hàm lượng chất béo thấp [9]. Cụ thể là chúng chứa khoảng 4,5% protein với các acid amin thiết yếu; 1,73% chất béo và carbohydrate được tìm thấy với tỷ lệ khá cao, khoảng 87,1% (w/w trọng lượng khô). Bên cạnh đó, các loại đường bao gồm fructose, mannitol, trehalose cũng được tìm thấy trong nấm đông cô với khoảng 14,03% (w/w trọng lượng tươi) [21-22]. Từ đó cho thấy nấm đông cô là môi trường có đầy đủ chất dinh dưỡng để vi khuẩn lactic phát triển và thực hiện quá trình lên men. Vi khuẩn lactic được biết đến là nhóm vi khuẩn có nhu cầu dinh dưỡng đặc biệt phức tạp và chính xác và ngoài nguồn năng lượng, chúng cần phải có nhiều yếu tố tăng trưởng thiết yếu [23]. Ngoài ra, môi trường thử nghiệm còn được bổ sung thêm gạo nếp và các loại gia vị với các mục đích khác nhau. Trong đó, gạo nếp không chỉ là chất kết dính mà còn là nguồn cung cấp chất dinh dưỡng thúc đẩy quá trình lên men. Các loại gia vị như muối, đường, tỏi và tiêu giúp hạn chế sự phát triển của vi khuẩn không mong muốn (thông qua tác động điều chỉnh mức độ pH hoặc bằng cách tạo ra các chất ức chế) và có vai trò quyết định hương vị cuối cùng của sản phẩm [20]. Chính vì vậy, môi trường thử nghiệm này là điều kiện thuận lợi để vi khuẩn lactic phát triển và tạo nhiều acid lactic.

Xét về giá trị pH trước lên men, môi trường thử nghiệm của tất cả các nghiệm thức đều có pH nằm trong khoảng 6,04-6,26; theo Tripuraneni (2011), pH tối ưu cho sự phát triển của đa số các vi khuẩn lactic nằm trong khoảng 5,5-6,5. Do đó, pH của môi trường thử nghiệm là hoàn toàn phù hợp. Sau 2 ngày lên men, giá trị pH của 10 chủng vi khuẩn lactic giảm xuống mức 3,59-3,73 và không có sự khác biệt giữa các chủng. Giá trị pH trong thực phẩm lên men cũng được xem là một yếu tố quan trọng để kéo dài thời hạn sử dụng sản phẩm và ở mức an toàn đối với các vi sinh vật có hại. Vì vậy, trong quá trình lên men nấm nói riêng hay lên men thực vật nói chung, điều quan trọng là giá trị pH phải giảm nhiều và nhanh. So sánh với nghiên cứu của Dounghwan et al. (2017) về giá trị pH và acid lactic của xúc xích thịt I-San (Thái Lan) cho thấy mẫu có giá trị pH thấp nhất là 4,35 với hàm lượng acid lactic là 11,7 g/L [24] và nghiên cứu của Jabłońska-Rys et al. (2016), sau quá trình lên men lactic 1 tuần, giá trị pH của nấm nút

Agaricus bisporus giảm xuống còn 3,6-3,75 [25]. Từ các nghiên cứu cho thấy chủng HCGT31 có khả năng sinh acid lactic cao hơn và pH sau lên men thấp hơn nên chủng vi khuẩn này thích hợp cho việc ứng dụng lên men nem chua nấm đông cô.

3.2 Ảnh hưởng của mật số giống chủng và nhiệt độ ủ đến quá trình lên men

Kết quả hàm lượng acid sinh ra và giá trị pH của nem chua nấm đông cô khi lên men bằng chủng HCGT31 ở 3 mức nhiệt độ (nhiệt độ thường, 30°C, 37°C) và 3 mức mật số vi khuẩn (10^3 , 10^5 , 10^7 tb/g) sau 12, 24, 36, 48 giờ được trình bày Bảng 2. Nhìn chung, hàm lượng acid lactic sinh ra có sự khác nhau khi bổ sung vi khuẩn ở 3 nồng độ khác nhau (10^3 , 10^5 , 10^7 tế bào/g) trong cùng điều kiện lên men. Cụ thể, hàm lượng acid lactic ở mật số 10^7 tế bào/g khác biệt có ý nghĩa thống kê so với hai mức còn lại. Sau 24 giờ lên men ở nhiệt độ thường, hàm lượng acid lactic sinh ra ở mật số 10^3 là 3,90 g/L, mật số 10^5 là 4,32 g/L và ở mật số 10^7 là 5,19 g/L. Tương tự, ở 37°C, hàm lượng acid lactic sinh ra lần lượt là 4,68 g/L, 4,62 g/L và 6,18 g/L, tương ứng ở 3 nồng độ từ thấp đến cao. Điều này có thể giải thích rằng vi khuẩn ở mật số thấp khi vào môi trường mới cần có thời gian thích nghi để phát triển đến mật độ thích hợp và thực hiện quá trình lên men. Trong thực tế, các sản phẩm lên men rau củ truyền thống thường tận dụng hệ vi sinh vật có sẵn trong thực vật để thực hiện quá trình lên men. Tuy nhiên, việc bổ sung giống khởi đầu với mật số thích hợp không chỉ giúp định hướng quá trình lên men theo mong muốn mà còn tăng khả năng phát triển của vi khuẩn lactic và có tính cạnh tranh cao với các vi sinh vật khác trong các điều kiện môi trường được sử dụng để tạo ra các sản phẩm lên men [26-27].

Bảng 2: Giá trị pH và hàm lượng acid lactic của chủng HCGT31 sinh ra ở các nghiệm thức lên men

Nghiệm thức		Hàm lượng acid lactic (g/L)				Giá trị pH			
Nhiệt độ	Mật số	12 giờ	24 giờ	36 giờ	48 giờ	12 giờ	24 giờ	36 giờ	48 giờ
Thường	10^3	2,33 ^e	3,90 ^{de}	5,40 ^{cd}	6,45 ^c	5,55 ^a	5,23 ^a	4,92 ^a	4,64 ^c
Thường	10^5	3,00 ^{cd}	4,32 ^{cd}	5,07 ^{cd}	5,40 ^c	5,52 ^a	5,15 ^{bc}	4,89 ^a	4,75 ^a
Thường	10^7	3,45 ^{bcd}	5,19 ^b	6,66 ^c	6,00 ^c	5,46 ^{ab}	5,17 ^b	4,84 ^a	4,72 ^{ab}
30°C	10^3	3,53 ^{bc}	4,17 ^{cd}	4,74 ^d	6,53 ^c	5,38 ^{bc}	5,13 ^{bc}	4,82 ^a	4,66 ^{bc}
30°C	10^5	2,85 ^{de}	3,45 ^e	5,94 ^{cd}	6,38 ^c	5,37 ^{bc}	5,08 ^c	4,77 ^{ab}	4,55 ^d
30°C	10^7	3,75 ^b	4,05 ^{cde}	4,59 ^d	6,30 ^c	5,35 ^{bcd}	5,13 ^{bc}	4,77 ^{ab}	4,48 ^e
37°C	10^3	5,25 ^a	4,68 ^{bc}	8,67 ^b	10,28 ^b	5,27 ^{cde}	4,92 ^d	4,77 ^{ab}	4,27 ^f
37°C	10^5	5,48 ^a	4,62 ^{bc}	9,54 ^b	10,43 ^b	5,17 ^{de}	4,91 ^d	4,41 ^b	4,29 ^f
37°C	10^7	5,48 ^a	6,18 ^a	11,40 ^a	12,53 ^a	5,24 ^e	4,92 ^d	4,42 ^b	4,23 ^f

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định Duncan

Bên cạnh việc chủng mật số vi khuẩn thích hợp thì nhiệt độ cũng là một trong những yếu tố quan trọng để nấm đông cô lên men có chất lượng cao. Nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng và sinh acid của vi khuẩn lactic, tạo lợi thế cạnh tranh so với các loài vi sinh vật khác. Kết quả từ Bảng 2 cho thấy lượng acid sinh ra tăng theo thời gian và có khác biệt giữa các mức nhiệt độ. Trong 12 đến 24 giờ đầu, hàm lượng acid sinh ra tăng nhẹ so với từ 36 đến 48 giờ tiếp theo. Với cùng mật số ban đầu nhưng hàm lượng acid lactic ở nhiệt độ thường và 30°C sinh ra luôn thấp hơn ở 37°C và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Cụ thể là ở nhiệt độ 37°C, với mật số 10^7 tế bào/g, hàm lượng acid sau 12 giờ là 5,48 g/L và sau 24 giờ là 6,18 g/L (tăng 0,7 g/L), sau 36 giờ thì hàm lượng acid lactic tăng mạnh lên 11,40 g/L và 48 giờ sau đó thì đạt 12,53 g/L. Nguyên nhân có thể là do 37°C là nhiệt độ tối ưu cho quá trình sinh trưởng và lên men của vi khuẩn lactic nói chung. Các nghiên cứu trước đây đều cho thấy 37°C là nhiệt độ thích hợp cho việc sản sinh nhiều acid lactic khi khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình sinh acid lactic của các chủng LAB phân lập [28-29].

Bên cạnh hàm lượng acid lactic sinh ra, có thể thấy giá trị pH sau 24 giờ lên men nằm trong khoảng 4,91-5,23. Tuy nhiên, từ giai đoạn 36 đến 48 giờ, lượng lactic sinh ra có sự tăng mạnh dẫn đến pH môi trường chỉ còn khoảng 4,23-4,75, kết quả là sản phẩm sau lên men quá chua. Do đó, thời gian thích hợp để kết thúc quá trình là 24 giờ do sản phẩm có giá trị pH phù hợp với pH của TCVN 7050:2009 đối với các sản phẩm thịt lên men không qua xử lý nhiệt với khoảng pH cho phép 4,5-5,5 [30]. Trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Lâm Đoàn et al. (2013) thì pH trong nem chua cũng nằm trong khoảng 4,3-5,0 [31] và nghiên cứu của Chockchaisawasdee et al. (2010) cũng đã kết thúc quá trình lên men xúc xích nấm bào ngư khi pH đạt 5,0 [17]. Như vậy, thời gian thích hợp cho quá trình lên men nem chua nấm đông cô là 24 giờ khi lên men ở 37°C và mật số ban đầu đạt 10^7 tế bào/g.

3.3 Ảnh hưởng của nguyên liệu gạo nếp đến quá trình lên men

Thí nghiệm được thực hiện để xác định loại nếp thích hợp cho quá trình lên men. Kết quả giá trị pH và hàm lượng acid lactic sinh ra sau 24 giờ lên men của chủng vi khuẩn HCGT31 với 5 loại gạo nếp khác nhau được thể hiện trong Bảng 3. Kết quả cho thấy hàm lượng acid lactic sinh ra giữa 5 loại gạo nếp không có sự chênh lệch lớn và dao động trong khoảng 7,20-8,78 g/L. Trong đó, hàm lượng acid lactic của nếp Thái thơm là thấp nhất (7,20 g/L), kế đến là nếp Hòa Hảo (8,18 g/L), nếp Thái (8,40 g/L), nếp Long An (8,48 g/L) và nếp Long An dẻo tạo ra lượng acid lactic cao nhất với 8,78 g/L. Ngoài nguồn dinh dưỡng từ nấm đông cô, gạo nếp cũng là nguồn cung cấp cơ chất cho vi khuẩn lactic sinh trưởng và phát triển. Thành phần của gạo nếp chứa 74,5% carbohydrate, 8,6% protein, 1,5% lipid và 0,8% khoáng chất (magie, canxi, phospho, sắt,...) cũng như các vitamin (B1, B2, PP) [32]. Do đó, việc phối trộn nguyên liệu giúp tăng cường nguồn dinh dưỡng để cho vi khuẩn lactic hoạt động và lên men một cách hiệu quả nhất.

Bảng 3: Giá trị pH, hàm lượng acid lactic và điểm số đánh giá cảm quan của nem chua nấm đông cô trên các loại nếp khác nhau

Loại nếp	pH ban đầu	pH sau	Acid lactic (g/L)	Chỉ tiêu				Điểm trung bình
				Màu sắc	Mùi	Vị	Cấu trúc	
Long An	6,49	4,42 ^b	8,48 ^a	4,11 ^a	3,89 ^{ab}	3,33 _{bc}	3,56 ^{bc}	3,72
Long An dẻo	6,50	4,44 ^b	8,78 ^a	4,33 ^a	4,33 ^a	4,22 ^a	4,33 ^a	4,30
Thái	6,50	4,36 ^{ab}	8,40 ^a	4,33 ^a	4,33 ^{ab}	3,67 _b	4,33 ^{bc}	4,17
Thái thơm	6,44	4,34 ^a	7,20 ^b	4,0 ^a	4,22 ^{ab}	3,56 _b	3,67 ^b	3,86
Hòa Hảo	6,54	4,38 ^{ab}	8,18 ^{ab}	3,89 ^a	3,56 ^b	3,00 ^c	3,11 ^c	3,39

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định LSD

Xét về quá trình lên men giữa các loại nếp có sự khác biệt nhưng không có ý nghĩa thống kê. Do đó, ngoài yếu tố hàm lượng acid lactic thì để đánh giá khả năng sản phẩm nem chua cần phải dựa vào yếu tố cảm quan sản phẩm. Kết quả đánh giá cảm quan từ 15 thành viên cho thấy, về màu sắc, cả 5 loại gạo nếp sau 24 giờ lên men đều có màu đặc trưng của nấm và nếp, với mức điểm tương đối cao từ 3,89-4,33/5 điểm và không có sự khác biệt. Về mùi của nem cũng không có sự khác biệt về mặt thống kê đối với 5 loại nếp (3,56-4,33/5 điểm), tất cả đều có mùi thơm đặc trưng của nem chua, không có mùi lạ. Về vị, nếp Long An dẻo có giá trị cảm quan cao nhất (4,22/5 điểm) với vị nem hài hòa và khá ngon, có khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê với vị của bốn loại nếp còn lại (3,00-3,67/5 điểm). Về cấu trúc, nếp Long An dẻo có độ dẻo,

mềm và độ kết dính cao, số điểm đạt được là 4,33/5 điểm và có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê. Đối với nếp Hòa Hảo, có độ kết dính và độ dẻo thấp, làm nem bị mềm không đều, cấu trúc nem rời rạc, do đó chỉ đạt 3,11/5 điểm. Nguyên nhân có thể là do sự khác nhau về hàm lượng amylopectin trong các loại nếp. Nếp được biết là khác với gạo thông thường chủ yếu là có ít (<5%) hoặc hầu như không có amylose nhưng lại có hàm lượng amylopectin cao [33]. Chính tỷ lệ của amylose và amylopectin đã chi phối các đặc tính lý hóa của nếp bao gồm các đặc tính về kết cấu, nhiệt độ và sự nấu chín của nếp [34]. Do đó, với hàm lượng acid lactic sinh ra 8,78 g/L cao nhất và giá trị cảm quan đạt được tổng điểm trung bình là 4,30/5 điểm, cao hơn so với các loại nếp còn lại nên nếp Long An dẻo được lựa chọn để sử dụng trong nem chua nấm đông cô ở thí nghiệm tiếp theo.

3.4 Ảnh hưởng của tỷ lệ nấm, nếp và nồng độ muối đến cảm quan nem chua nấm đông cô

Tỷ lệ nấm, nếp và muối thích hợp có vai trò quan trọng trong việc nâng cao cảm quan của sản phẩm. Giá trị pH và hàm lượng acid lactic sinh ra khi thay đổi tỷ lệ nấm, nếp và nồng độ muối sau khi lên men 24 giờ được thể hiện ở Bảng 4. Kết quả cho thấy quá trình lên men nem chua nấm đông cô có thể xảy ra với tỷ lệ nấm, nếp và hàm lượng muối khác nhau, trong đó hàm lượng acid lactic sinh ra sau 24 giờ lên men giữa các nghiệm thức đạt từ 7,80-12,23 g/L. Về nguyên tắc, thực vật có thể được lên men mà không cần bổ sung muối, mặc dù muối là một thành phần rất quan trọng đóng góp vào hương vị, cũng như tạo điều kiện yếm khí trong quá trình lên men [35]. Ngoài ra, nồng độ muối cao còn giúp ức chế sự phát triển của các vi sinh vật không mong muốn và gây ra sự phân giải plasmolysis, góp phần thúc đẩy sự phát triển của vi khuẩn lactic bằng cách giải phóng các chất dinh dưỡng có trong tế bào thực vật. Nồng độ muối trong quá trình lên men rau có thể dao động từ 2% đến 8% trong quá trình lên men và lên đến 16% trong một số loại rau bảo quản [36]. Tuy nhiên, lượng sử dụng còn phụ thuộc vào loại rau và sở thích của người tiêu dùng [37].

Bảng 4: Giá trị pH, hàm lượng acid lactic và điểm số đánh giá cảm quan của nem chua nấm đông cô

Tỷ lệ nấm và nếp	Tỷ lệ muối	pH ban đầu	pH sau	Acid lactic (g/L)	Chỉ tiêu				Điểm trung bình
					Màu	Mùi	Vị	Cấu trúc	
	1%	6,28	4,71 ^{ab}	9,08 ^{bc}	4,00 ^a	3,89 ^a	3,11 ^{bc}	3,78 ^{abc}	3,70
40:60	2%	6,36	4,80 ^{ab}	8,18 ^{bcd}	4,11 ^a	3,78 ^a	3,22 ^{bc}	3,67 ^{bc}	3,70
	3%	6,23	4,98 ^a	6,15 ^d	4,11 ^a	3,78 ^a	2,67 ^c	3,44 ^c	3,50
	1%	6,21	4,70 ^{ab}	12,23 ^a	4,56 ^a	4,22 ^a	4,56 ^a	4,33 ^a	4,42
50:50	2%	6,36	4,69 ^{ab}	10,28 ^{ab}	4,33 ^a	4,11 ^a	3,78 ^b	4,00 ^b	4,06
	3%	6,29	4,74 ^{ab}	7,95 ^{cd}	4,56 ^a	3,89 ^a	3,33 ^{bc}	3,78 ^{bc}	3,89
	1%	6,24	4,69 ^{ab}	12,08 ^a	4,33 ^a	4,00 ^a	3,67 ^b	3,67 ^b	3,92
60:40	2%	6,27	4,72 ^{ab}	9,23 ^{bc}	4,33 ^a	3,67 ^a	3,11 ^{bc}	3,56 ^{bc}	3,67
	3%	6,26	4,59 ^b	7,80 ^{cd}	4,22 ^a	3,44 ^a	3,00 ^{bc}	3,22 ^{bc}	3,47

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định Duncan

Kết quả đánh giá cảm quan từ 15 thành viên cho thấy về màu sắc, các nghiệm thức có số điểm cảm quan đạt từ 4,00-4,56 điểm, không có sự khác biệt lớn với màu tươi đẹp, đặc trưng của nấm và nếp. Về mùi của nem, các mẫu nem đạt giá trị cảm quan từ 3,44-4,22 điểm, có mùi thơm đặc trưng và không xuất hiện mùi lạ của nem chua. Về vị, kết quả cho thấy các mẫu nem có số điểm từ 2,67-4,56 và có khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê. Trong đó các mẫu nem ở hàm lượng muối 3% và 2% đều có giá trị cảm quan thấp với vị nem tương đối mặn. Đối với hàm lượng muối 1% thì nhận được sự đánh giá tốt hơn với số điểm từ 3,11-4,56 điểm, mẫu nem có

vị chua và mặn rất hài hòa. Về cấu trúc, ở tỷ lệ nấm và nếp là 50:50 thì sản phẩm có giá trị cảm quan cao đạt cao nhất với khoảng 3,78-4,33 điểm. Điều này có thể lý giải rằng, lượng nếp trong các mẫu nem vừa đủ, mềm đồng đều giúp định hình tốt, do đó mẫu nem có độ dẻo nhất định và khả năng kết dính cao. Ở 2 tỷ lệ nấm và nếp là 40:60 và 60:40, về mặt cảm quan không được đánh giá cao là do ở tỷ lệ nấm và nếp 60:40 thì lượng nếp không đủ để làm cho mẫu nem mềm đồng đều và độ kết dính bị thấp. Ngược lại ở tỷ lệ nấm và nếp 40:60, lượng nếp dư nhiều làm mẫu nem quá mềm, nem bị rời rạc. Từ các giá trị cảm quan về màu sắc, mùi, vị và cấu trúc có thể kết luận mẫu nem ở tỷ lệ nấm và nếp là 50:50 và hàm lượng muối 1% có số điểm trung bình đạt cao nhất (4,42 điểm) với màu tươi đẹp, đặc trưng cho nấm và nếp, mùi thơm đặc trưng của nem chua, không có mùi lạ, vị chua và vị mặn hài hòa và có độ kết dính cao.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã tuyển chọn được chủng vi khuẩn lactic HCGT31 trong 10 chủng LAB với khả năng sinh acid lactic cao nhất, đạt 20,10 g/L sau 2 ngày lên men. Nếp Long An dẻo được chọn làm môi trường để sản xuất nem chua nấm đông cô với tỉ lệ nếp và nấm là 50: 50 và 1% muối. Điều kiện thích hợp cho quá trình lên men nem chua là được ủ ở 37°C với mật số giống chủng ban đầu là 10^7 tế bào/g, hàm lượng acid lactic sau 48 giờ lên men là 12,23 g/L, pH 4,7 Nhìn chung, kết quả bước đầu cho thấy tiềm năng phát triển sản phẩm nem chua từ nấm đông cô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Siwulski M., Sobieralski K., and Sas-Golak I. Nutritive and health-promoting value of mushrooms. *Food. Science. Technology. Quality.* 1(92) (2014) 16-28.
- Chang S. T. and Miles P. G. *Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact* (2nd ed). Boca Raton, FL: CRC Press. (2008).
- Royse D. J., Baars J., and Tan Q. Current overview of mushroom production in the world. In C. Z. Diego and A. Pardo-Giménez (Eds.), *Edible and medicinal mushrooms: technology and applications* (pp. 5-13). Chichester, UK; Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, (2017)
- Venturini M. E., Reyes J. E., Rivera C. S., Oria R., and Blanco D. Microbiological quality and safety of fresh cultivated and wild mushrooms commercialized in Spain. *Food Microbiology*, 28(8) (2011) 1492-1498.
- Diamantopoulou P. A. and Philippoussis A. Cultivated mushrooms: Preservation and processing. In Y. H. Hui & E. Özgül Evranuz (Eds.), *Handbook of vegetable preservation and processing* (pp. 495-526). Boca Raton, FL: CRC Press. (2015).
- Nguyen D.L., *Traditional Fermented Foods*, In: *Microbiology Technology* (Vol. 3), Science and Technology Publishing House. Ho Chi Minh city, Vietnam (2002).
- Rhee S. J., Lee J. E., and Lee C. H. Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods. *Microbial Cell Factories*, 10 (Suppl 1) (2011) S5.
- Steinkraus K. H. Fermentations in world food processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1 (2002) 23-32.
- Mattila P., Könkö K., Eurola M., Pihlava J. M., Astola J., Vahteristo L., Hietaniemi V., Kumpulainen J., Valtonen M., Piironen V. Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(5) (2001) 2343-2348.
- Wasser, S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60(3) (2002) 258-274.
- Ngai, P. H. K., and Ng T. B. Lentin, a novel and potent antifungal protein from shitake mushroom with inhibitory effects on activity of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase and proliferation of leukemia cells. *Life Sciences*, 73(26) (2003) 3363-3374.
- Hanafusa T., Yamazaki S., Okubo A., Toda S., Suzuki K., Nakajima E., Yasukawa Y. Intestinal absorption and tissue distribution of immunoactive and antiviral water-soluble (^{14}C) lignins in rats. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 5(5) (1990) 661-674.

- Yang B. K., Kim D. H., Jeong S. C., Das S., Choi Y. S., Shin, J. S., Lee S. C., Song C. H. Hypoglycemic effect of a *Lentinus edodes* exo-polymer produced from a submerged mycelial culture. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66(5) (2002) 937-942.
- Khaskheli A., Khaskheli A., Liu S. G., Sheikh Y., Wang S. A., Soomro Y. F., Huang W. Analysis of physicochemical, antioxidant properties and sensory characteristic of shiitake mushroom pickles. *Journal of Food and Nutrition Research*, 5(8) (2017) 562-568.
- Huynh N. N. T., Ngo T. P. D., Huynh X. P., Sonomoto K., Zendo T., and Bui H. D. L. Selection of thermotolerant lactic acid bacteria producing high antibacterial activity and production of biomass from tofu sour liquid. *Can Tho University Journal of Science*, 7 (2017) 51-57.
- Trương Thị Thúy Nguyên, Lê Thị Minh Thu, Trần Ngọc Hân, Nguyễn Thị Mỹ Tiên, Mai Hoài Anh, Nguyễn Ngọc Thanh, Bùi Hoàng Đăng Long và Huỳnh Xuân Phong. Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn lactic và ứng dụng trong lên men nem chua nấm rơm (*Volvariella volvacea*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên* 225(01) (2020) 3-10.
- Chockchaisawasdee S., Namjaidee S., Pochana S., and Stathopoulos C. E. Development of fermented oyster-mushroom sausage. *Asian Journal of Food and AgroIndustry*, 3(1) (2010) 35-43.
- Le T. M., Nguyen T. H., Pham T. T., Nguyen T. H., and Le T. L. C. Analytical methods in fermentation technology. Science and Technics Publishing House, Hanoi, Vietnam (2009).
- Ủy ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79: Sản phẩm thực phẩm – Phân tích cảm quan – Phương pháp cho điểm (1989).
- Montet D., Loiseau G., Zakhia N., and Mouquet C. Fermented fruits and vegetables. In: *Biotechnology: Food Fermentation*. Joshi, V.K. and Pandey, A. (eds.), vol. II. Edu. Publ. Distri., New Delhi. (1999) 951-969.
- Carneiro A. A., Ferreira I. C., Dueñas M., Barros L., da Silva R., Gomes E., Santos-Buelga C. Chemical composition and antioxidant activity of dried powder formulations of *Agaricus blazei* and *Lentinus edodes*. *Food Chemistry*. 138(4) (2013) 2168-2173.
- Reis F. S., Barros L., Martins A., Ferreira I. C. F. R. Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: an inter-species comparative study. *Food and Chemical Toxicology*. 50(2) (2012) 191-197.
- Pederson, C.S. *Microbiology of Food Fermentation*. AVI Publishing Co. Inc., Westport, CT. (1971) 108-152.
- Doungkhwan P., Tavitchasri P., Laosinwattana C., Ngamyeesoon N. and Pilasombut K. Comparison of fermentation process in Thai fermented pork sausage (I-San sausage) on quality and safety. *International Journal of Agricultural Technology*, 13(7) (2017) 2205-2217.
- Jabłońska-Ryś E., Sławińska A., Radzki W., and Gustaw W. Evaluation of the potential use of probiotic strain *Lactobacillus plantarum* 299v in lactic fermentation of button mushroom fruiting bodies. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 15(4) (2016) 399-407.
- Buckenhuskas, H.J. Fermented vegetables. In: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, Doyle, M.P., Beuchat, L.R., and Montville, T.J. (eds.), 2nd edition. ASM Press, Washington, DC. (2001) 665-679.
- Li, K.Y. Fermentation: Principles and microorganisms. Chapter 9. In: *Handbook of Vegetable Preservation and Processing*. Hui, Y. H., Ghazala, S., Graham, D. M., Murrell, K. D., and Nip, W.K. (eds.), CRC Press, Boca Raton, FL. (2003).

- Ahmed T., Kanwal R., and Ayub N. Influence of temperature on growth pattern of *Lactococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* and *Lactobacillus acidophilus* isolated from Camel milk. *Biotechnology*, 5 (2006) 481-488.
- Yang E., Fan L., Yan J., Jiang Y., Doucette C., Fillmore S., and Walker B. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express*. 8(1) (2018) 1-14.
- Vietnamese standard TCVN 7050:2009, Meat and meat products processed without heat treatment - technical requirements, 2009.
- Nguyễn Thị Lâm Đoàn, Van Hoorde Koenraad, Cnockaert Marga, Lê Thanh Bình, Vandamme Peter Nghiên cứu quần xã vi khuẩn trong nem chua bằng phương pháp không phụ thuộc vào nuôi cấy. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 53(2) (2015) 157-168.
- Nguyen K. C., Nguyen L. T., Ha D. A. T., Le D. H., Le M. B., Nguyen S. V., Ha K. H., Bui D. M., and Nguyen L. T., Vietnamese food composition table. Hanoi Medical Publishing House. Hanoi, 2007.
- Chung H.J., Liu Q., Lee L., and Wei D. Relationship between the structure, physicochemical properties and in vitro digestibility of rice starches with different amylose contents. *Food Hydrocolloids*. 25(5) (2011) 968-975.
- Singh N, Kaur L., Sandhu K.S., Kaur J., and Nishinari K. Relationships between physicochemical, morphological, thermal, rheological properties of rice starches. *Food Hydrocolloids*. 20(4) (2006) 532-542.
- Fleming, H. P., McFeeters R. F., and Thompson R. L. Effects of sodium chloride concentration on firmness retention of cucumbers fermented and stored with calcium chloride. *Journal of Food Science*. 52(3) (1987) 653-657.
- Cheigh H. S. and Park K. Y. Biochemical, microbiological, and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented vegetable products). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 34(2) (1994) 175-203.
- Buckenhuskes, H. J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS Microbiol Review*. 12(1-3) (1993) 253-271.