

tổng số tăng. Tỷ lệ protein thô đạt cao nhất ở NT2 và thấp nhất ở NT5 với khoảng chênh lệch là 3,4% (35,11 so với 31,71%), tỷ lệ này của NT1 đến NT3 không sai khác nhau nhưng chúng sai khác rõ rệt so với NT5 ($p < 0,01$); tỷ lệ xơ trong VCK tăng 3,33% (từ 7,02 lên 10,35%), tỷ lệ này của NT5 cao hơn với sự sai khác rõ rệt so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,01$). Như vậy, tăng KCC quá dài (70 ngày) đã làm giảm chất lượng thức ăn xanh (tỷ lệ protein thấp, tỷ lệ xơ cao sẽ làm giảm khả năng thu nhận và tiêu hóa thức ăn của vật nuôi).

Vì KCC có ảnh hưởng lớn đến chất lượng của cây thức ăn xanh nên vấn đề này đã được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Bùi Quang Tuấn (2005) [8] nghiên cứu về KCC đối với cỏ voi, cỏ ghi nê, Từ Quang Hiền và cs (2013) [14] nghiên cứu trên cỏ *B. decumhens*, Nguyễn Văn Quang và cs (2013) [10] nghiên cứu đối với cỏ *S. guianensis*, Fadiyimu và cs (2011) [11], Sanchez (2006) [13], Amaglo và cs (2006) [12], Nouman (2012) [15] nghiên cứu đối với *M. oleifera*. Các tác giả này đều chỉ ra rằng, KCC tăng đã làm tăng tỷ lệ VCK, xơ và giảm tỷ lệ protein. KCC càng dài các tỷ lệ trên càng tăng hoặc giảm mạnh, làm ảnh hưởng lớn đến tỷ lệ sử dụng, tỷ lệ tiêu hóa của cây thức ăn xanh.

Tóm lại, khi tăng KCC, tỷ lệ VCK trong lá tươi cũng tăng theo. Trong VCK, tỷ lệ lipid, khoáng tổng số có biên độ không lớn, tỷ lệ protein thô giảm và tỷ lệ xơ tăng mạnh khi KCC quá dài (70 ngày). Đây là những điều cần lưu ý khi thu hoạch cây thức ăn xanh.

Ảnh hưởng của KCC đến sản lượng của *M. oleifera*

Sản lượng được tính bằng cách cộng năng suất của tất cả các lứa trong năm hoặc nhân năng suất trung bình/lứa với số lứa cắt trong năm, sau đó đổi đơn vị tính từ tạ sang tấn (tấn/ha/năm), cách tính thứ hai sai lệch 1-3% so với cách tính thứ nhất do làm tròn số năng suất trung bình/lứa. Sản lượng sinh khối, lá tươi, VCK và protein thô được trình bày tại bảng 5.

Bảng 5. Sản lượng *M. oleifera* ở các KCC khác nhau (tấn/ha/năm).

Chi tiêu	NT1 30	NT2 40	NT3 50	NT4 60	NT5 70	SEM	P
Sinh khối	91,476 ^f	105,366 ^d	120,445 ^c	136,188 ^b	152,580 ^a	0,1267	0,028
Lá tươi	39,144 ^b	46,278 ^c	46,590 ^c	39,876 ^b	37,720 ^a	0,0279	0,0062
VCK	7,700 ^c	9,570 ^{ab}	10,150 ^b	8,900 ^a	8,932 ^a	0,0039	0,0009
CP	2,650 ^f	3,360 ^b	3,475 ^a	2,982 ^c	2,832 ^d	0,0016	0,0003

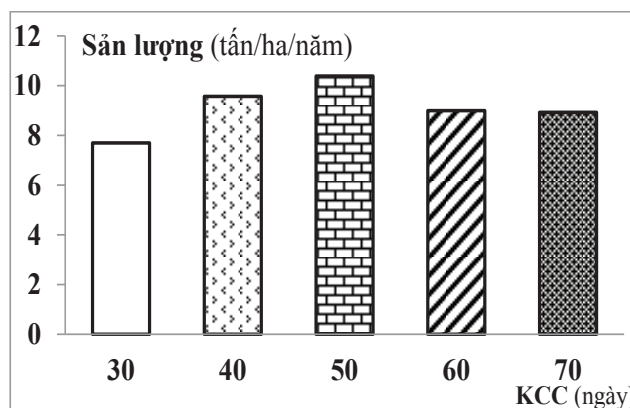
Kết quả bảng 5 cho thấy, tăng KCC từ 30 lên 70 ngày các chỉ tiêu sản lượng có diễn biến như sau: sản lượng sinh khối

tăng từ 91,476 lên 152,580 tấn/ha/năm, tăng KCC từ 30 lên 40 ngày, từ 40-50, từ 50 lên 60 và 60 lên 70 ngày, sản lượng sinh khối tăng thêm tương ứng là 13,890; 15,079; 15,743 và 16,392 tấn/ha/năm. Sản lượng sinh khối của các nghiệm thức sai khác nhau rõ rệt ($p < 0,05$).

Sản lượng lá tươi tăng từ 39,144 tấn (NT1) lên 46,590 tấn (NT3), sau đó giảm xuống còn 37,720 tấn/ha/năm ở NT5. Sản lượng lá tươi của các nghiệm thức sai khác nhau rõ rệt ($p < 0,01$), trừ NT2 so với NT3.

Sản lượng VCK cũng có diễn biến tương tự như sản lượng lá tươi, tăng dần từ NT1 đến NT3, sau đó giảm xuống. Tuy nhiên, chỉ có sản lượng của NT1 sai khác rõ rệt so với các nghiệm thức còn lại và của NT3 sai khác rõ rệt với NT4, NT5 ($p < 0,01$). VCK là chỉ tiêu quan trọng hàng đầu trong việc đánh giá khả năng sản xuất của cây thức ăn xanh. Vì vậy, có thể sơ bộ nhận định *M. oleifera* thu hoạch ở KCC 40 đến 50 ngày là phù hợp.

Mối quan hệ giữa KCC và sản lượng VCK còn được minh họa bằng biểu đồ 2.



Biểu đồ 2. Mối quan hệ giữa KCC và sản lượng VCK.

Biểu đồ 2 cho thấy, sản lượng protein thô tăng dần từ KCC 30 đến 50 ngày, sau đó giảm xuống ở KCC 60 và 70 ngày. Như vậy, kéo quá dài KCC sẽ không làm tăng sản lượng protein thô, vì tỷ lệ protein thô trong VCK giảm xuống. Sản lượng protein thô của các KCC sai khác nhau rõ rệt ($p < 0,001$).

Các tác giả Nguyễn Văn Quang và cs (2013) [10], Bùi Quang Tuấn (2005) [8], Từ Quang Hiền và cs (2013) [14], Từ Trung Kiên và cs (2010) [9] đã nghiên cứu về ảnh hưởng của KCC đến sản lượng một số cây thức ăn xanh. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng tăng KCC làm tăng sản lượng chất xanh, VCK, protein thô, nhưng khi tăng KCC quá dài, sản lượng tăng thêm không đáng kể, thậm chí còn giảm xuống.

Nghiên cứu đối với cây *M. oleifera*, Fadiyimu và cs (2011) [11] cho biết, KCC 28-42 ngày trong mùa mưa và 84 ngày trong mùa khô cho sản lượng cao nhất; Amaglo và

cs (2006) [12] cho rằng KCC 35 ngày là phù hợp nhất; theo Nouman (2012) [15] thì KCC 30 ngày là hợp lý, trừ mùa khô; nhưng Sanchez (2006) [13] lại thông báo rằng KCC 75 ngày cho sản lượng chất xanh, VCK cao nhất đối với tất cả các mật độ trồng mà ông đã nghiên cứu.

Nhìn chung, KCC dài hay ngắn tùy thuộc vào điều kiện khí tượng, dinh dưỡng đất và phải đảm bảo cây tích tụ đủ chất dinh dưỡng dùng cho tái sinh lứa sau [16, 17].

Kết luận

Căn cứ vào sản lượng VCK và protein thô thì không nên thu hoạch *M. oleifera* ở KCC 30, 60 và 70 ngày, nên lựa chọn các KCC 40 hoặc 50 ngày, tối ưu nhất là KCC 50 vì KCC này có sản lượng VCK và protein thô cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Đoàn Văn Cung, Phạm Văn Luyến, Trần Thúc Sơn, Nguyễn Văn Sức, Trần Thị Tâm (1998), *Sổ tay phân tích đất, nước, phân bón và cây trồng*, Viện Thổ nhưỡng nông hóa, NXB Nông nghiệp.

[2] Từ Quang Hiền, Nguyễn Khánh Quốc, Trần Trang Nhung (2002), *Giáo trình đồng cỏ và cây thức ăn gia súc*, NXB Nông nghiệp.

[3] A.O.A.C. (1990), *Official Methods of Analysis of the*, 15th edition. A.O.A.C., Inc. Arlington, Virginia, USA. 746.p.

[4] Đỗ Thị Ngọc Oanh, Hoàng Văn Phụ (2012), *Giáo trình phương pháp thí nghiệm đồng ruộng*, NXB Nông nghiệp.

[5] Trần Thị Hoan, Từ Quang Hiền, Từ Quang Trung (2017), “Nghiên cứu khả năng sản xuất chất xanh và bột lá của cây keo giậu (*Leucaena leucocephala*) tại Thái Nguyên”, *Kỷ yếu Hội nghị chăn nuôi thú y toàn quốc*, tr.290-296.

[6] Từ Quang Hiền, Trần Thị Hoan, Từ Quang Trung (2017), “Nghiên cứu năng suất chất xanh và bột cỏ của cỏ *Stylosanthes guianensis* CIAT 184”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **19(8)**, tr.23-27.

[7] Từ Quang Hiền, Từ Quang Trung (2016), “Nghiên cứu khả năng sản xuất chất xanh và bột lá của sản trồng thu lá tại tỉnh Thái Nguyên”, *Tạp chí Chăn nuôi, Hội chăn nuôi Việt Nam*, **214**, tr.52-56.

[8] Bùi Quang Tuấn (2005), “Ảnh hưởng của tuổi thu hoạch đến năng suất và chất lượng thức ăn của cỏ voi (*P. purpureum*), cỏ Ghi nê (*P. maximum*) trồng tại Đan Phượng, Hà Nội”, *Tạp chí Khoa học Kỹ*

thuật Nông nghiệp, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, **3(3)**, tr.202-206.

[9] Từ Trung Kiên, Từ Quang Hiền, Trần Thị Hoan, Trần Trang Nhung (2010), “Nghiên cứu ảnh hưởng của KCC khác nhau đến khả năng thu nhận, tỷ lệ cỏ được sử dụng và tỷ lệ tiêu hóa của một số giống cỏ nhập nội (*P. atratum*, *B. brizantha*, *B. decumhens*) trên bò thịt”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên*, **67(5)**, tr.109-112.

[10] Nguyễn Văn Quang, Hoàng Đình Hiếu, Bùi Việt Phong, Phí Như Liễu (2013), “Ảnh hưởng của một số biện pháp kỹ thuật đến năng suất chất xanh của giống cỏ *S. guianensis* CIAT 184 và *S. guianensis plus* tại Bến Cát, Bình Dương”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Chăn nuôi, Viện Chăn nuôi*, **44**, tr.21-32.

[11] A.A. Fadiyimu, et al. (2011), “Effect of cutting regimes on seasonal fodder yield of *Moringa oleifera* in the tropical rainforest of Nigeria”, *Livestock Research for Rural Development*, **23(2)**.

[12] N.K. Amaglo, et al. (2006), “Effect of spacing and harvest frequency on the growth and leaf yield of moringa (*M. oleifera*), a leafy vegetable crop”, *Moringa and other highly nutritious plant resources: Strategies, standards and markets for a better impact on nutrition in Africa*.

[13] N.R. Sanchez (2006), *Moringa oleifera and cratylia argentea: potential fodder species for ruminants in Nicaragua*, Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.

[14] Từ Quang Hiền, Từ Trung Kiên, Trần Thị Hoan (2013), “Xác định KCC thích hợp cho cỏ *Brachiria decumhens* basilisk trồng tại Thái Nguyên”, *Tạp chí Khoa học và công nghệ, Đại học Thái Nguyên*, **104(4)**, tr.23-27.

[15] W. Nouman (2012), “Biomass production and nutritional quality of *Moringa oleifera* as field crop”, *Turk. Agric. Fores.*, **37**, pp.410-419.

[16] C.R. Latt, et al. (2000), “Interaction among cutting frequency, reserve carbohydrates, and post-cutting biomass production in *Gliricidia sepium* and *leucaena leucocephala*”, *Agrofor. Syst.*, **50**, pp.27-46.

[17] G. Assefa (1998), “Biomass yield, botanical fractions and quality of tagasaste (*Chamaecytisus palmensis*) as affected by harvesting interval in the highlands of Ethiopia”, *Agrofor. Syst.*, **42**, pp.13-23.

Đánh giá sự biến đổi chất lượng của tôm sú nhằm xác định hạn sử dụng bằng các phương pháp bảo quản khác nhau

Lê Nhất Tâm^{1*}, Đoàn Như Khuê¹, Huỳnh Nguyễn Quế Anh¹,
Trương Huỳnh Anh Vũ², Chu Văn Hải²

¹Trường Đại học Công nghiệp TP Hồ Chí Minh

²Trung tâm Dịch vụ phân tích thí nghiệm TP Hồ Chí Minh,
Sở KH&CN TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 27/12/2018, ngày chuyển phản biện 7/1/2019; ngày nhận phản biện 18/3/2019; ngày chấp nhận đăng 25/3/2019

Tóm tắt:

Những biến đổi chất lượng cảm quan, hóa sinh và vi sinh của tôm sú sau thu hoạch được xem xét trong nghiên cứu này. Tôm được xử lý và bảo quản bằng các phương pháp khác nhau ở 0°C trong 14 ngày. Ba mẫu tôm xử lý được đánh giá so với mẫu đối chứng (bảo quản 0°C). Các phương pháp xử lý, bảo quản bao gồm ngâm trong dịch polyphenol 2,5%, bảo quản chân không, và kết hợp ngâm trong dịch polyphenol trước khi bảo quản chân không. Các chỉ số chất lượng bao gồm TVC (total viable count), QI (quality index), TVB-N (total volatile base nitrogen) và TMA-N (trimethylamine nitrogen) được xác định trong suốt quá trình bảo quản. Kết quả cho thấy, TVC tăng đáng kể vào cuối thời gian bảo quản. TVB-N và TMA-N tăng cùng với thời gian bảo quản nhưng ở hai giai đoạn khác nhau. Giá trị QI tương quan tuyến tính với thời gian bảo quản. Hạn sử dụng của các mẫu xử lý dài hơn so với mẫu đối chứng. Các mẫu đóng gói chân không có thể duy trì chất lượng tôm trong 12 ngày. Thời hạn sử dụng còn lại có thể ước tính thông qua phương trình hồi quy tuyến tính.

Từ khóa: polyphenol, QI, TMA-N, tôm sú, TVB-N, TVC.

Chỉ số phân loại: 4.5

Đặt vấn đề

Tôm sú và tôm thẻ chân trắng là hai loài tôm xuất khẩu mạnh ở Việt Nam trong những năm gần đây. Kim ngạch xuất khẩu từ tôm so với tổng kim ngạch xuất khẩu ngành thủy sản năm 2016: 47% (3,3 tỷ USD/7,45 tỷ USD); năm 2017: 45% (3,8 tỷ USD/8,30 tỷ USD); năm 2018: 39,80% (3,58 tỷ USD/9 tỷ USD). Tuy nhiên, tôm cũng như các loài thủy sản khác, dễ bị hư hỏng sau thu hoạch so với các loài súc sản. Nguyên nhân do cấu trúc cơ thịt của các loài thủy sản lỏng lẻo hơn so với các loài sinh vật trên cạn, thêm vào đó mạng collagen của chúng cũng kém chặt chẽ hơn [1]. Tôm sau khi thu hoạch thường được bảo quản bằng nước đá, sau đó chuyển đến điểm thu mua. Tại đây, tôm được bảo quản đông lạnh. Vì vậy, chất lượng tôm suy giảm đáng kể trong khoảng thời gian bảo quản bằng nước đá. Đây chính là lý do tại sao nhiều nghiên cứu hướng tới kéo dài hạn sử dụng trong khoảng thời gian này [2-4]. Các phương pháp nghiên cứu nhằm kéo dài hạn bảo quản thực phẩm có thể được chia làm 2 nhóm. Nhóm truyền thống như các phương pháp bảo quản lạnh, lên men, ướp muối, và nhóm hiện đại như phương

pháp bảo quản trong biến đổi thành phần khí (MAP), xử lý bằng nước ozon, xử lý bằng các muối acid hữu cơ, xử lý bằng các hợp chất có hoạt tính sinh học [5]. Tiến trình ướp hồng tôm sau khi chết trải qua 2 giai đoạn tự phân và phân hủy. Trong đó, vi khuẩn là tác nhân chính ở giai đoạn sau [6]. Các yếu tố bao gồm enzyme, vi khuẩn, và phản ứng hóa học được xem là nguyên nhân gây ra tiến trình này [1]. Sự tác động của 3 yếu tố trên gây nên những biến đổi trạng thái cảm quan, vật lý, thành phần hóa học, và lượng vi sinh vật ở tôm. TVB-N và TMA-N là hai chỉ số luôn được sử dụng để đánh giá chất lượng thủy sản, và Howgate (2010) đã có 2 công bố về hai chỉ số này [7]. Quality index method (QIM) được xem là phương pháp cảm quan được ưa chuộng nhất hiện nay trong đánh giá chất lượng thủy sản do đặc tính ưu việt của nó. Sự khác biệt của phương pháp này so với các phương pháp trước đây như EC scheme hay Quantitative Descriptive Analysis (QDA) là phương pháp đánh giá được xây dựng trên một loài cụ thể [8, 9]. Điều này giúp cho các chuyên gia đánh giá dễ dàng cảm nhận mức độ biến đổi của các thuộc tính cảm quan. Vì vậy, công tác huấn luyện hội đồng đánh giá cảm quan sản phẩm được tiến hành để đảm bảo

*Tác giả liên hệ: Email: lenhattam@iuh.edu.vn

Evaluation on the changes in black tiger shrimp quality to determine its shelf-life using different preservation methods

Nhat Tam Le^{1*}, Nhu Khue Doan¹, Nguyen Que Anh Huynh¹,
Huynh Anh Vu Truong², Van Hai Chu²

¹Industrial University of Ho Chi Minh City

²Center of Analytical Services and Experimentation Ho Chi Minh City

Received 27 December 2018, accepted 25 March 2019

Abstract:

The changes in sensory, biochemical, and microbiological qualities of post-harvest black tiger shrimp were investigated in this research. Shrimp was treated and stored by different methods during 14 days at 0°C. Three treated shrimp samples were evaluated in comparison to the control sample (stored at 0°C only). The preservation methods included immersing in polyphenol solution, vacuum packing, and combination of polyphenol solution and vacuum packing. Quality indices including total viable count (TVC), quality index (QI), total volatile basic nitrogen (TVB-N) and trimethylamine nitrogen (TMA-N) were determined during the storage. Results showed that TVC increased dramatically at the end of the storage period. TVB-N and TMA-N increased in accordance with the increase of storage time but at two different stages. The QI was linearly correlated with the storage time. The shelf-life of the treated samples was longer than that of the control samples. Vacuum packing could maintain the quality of shrimp samples for 12 days. Shelf-life remaining can estimate through the linear regression equation.

Keywords: black tiger shrimp, polyphenol, QI, TMA-N, TVB-N, TVC.

Classification number: 4.5

hơn, và kết quả đánh giá chính xác hơn. Hyldig cùng cộng sự (2004) dự đoán QIM là một phương pháp sẽ được sử dụng chính thức trong đánh giá chất lượng thủy sản ở cộng đồng châu Âu trong tương lai [8]. Vi khuẩn được xem là nguyên nhân chủ yếu gây nên quá trình hư hỏng thủy sản ở giai đoạn 2 [10]. Vì vậy, chỉ số TVC luôn được xem xét đánh giá [11, 12]. Ở nước ta hiện nay xu hướng phân loại các loại tôm nói chung vẫn theo tiêu chuẩn TCVN 3726-89 [13], và chưa có quy định đánh giá cho từng loại như phương pháp

QIM. Xu hướng nghiên cứu đánh giá kết hợp giữa các yếu tố cảm quan, hóa học, vi sinh đến độ tươi, đồng thời đánh giá phân loại chất lượng bằng các chỉ số chất lượng vẫn ít được đề cập. Đốm đen hay còn gọi là melanin xuất hiện rất nhanh ở loài giáp sát nói chung và tôm nói riêng nếu như bảo quản không hợp lý. Mặc dù đã có những công bố là melanin không ảnh hưởng tới sức khỏe người tiêu dùng, nhưng chúng làm giảm đáng kể giá trị kinh tế của tôm [14]. Nguyên nhân hình thành các đốm đen ở tôm bắt đầu từ các sinh vật gây bệnh chứa các thành phần như PGBP (phức peptidoglycan và protein), LGBP (phức lipopolysaccharide và β -1,3-glucan - protein) và BGBP (β -1,3-glucan kết hợp protein) kích hoạt các enzyme polyphenoloxidase (PPO) từ vô hoạt trở nên có hoạt tính. Tiếp theo, PPO xúc tác chuyển hóa các nhóm phenol ở các acid amine thành quinone không màu. Cuối cùng các phân tử quinone bị oxy hóa bởi oxy không khí hình thành các sắc tố màu đen gọi là melanin [14]. Như vậy, có hai yếu tố liên quan đến sự tạo đốm đen, thứ nhất là sự có mặt các nhóm phenolic tồn tại ở các acid amine như tyrosine, phenylalanine; thứ hai là sự có mặt của oxygen trong quá trình oxy hóa các phân tử quinon thành melanin.

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xem xét mối tương quan giữa các chỉ số chất lượng QI, TVC, TVB-N, TMA-N và thời gian bảo quản, xem xét khả năng ức chế hình thành đốm đen ở tôm. Hai phương pháp bao gồm bảo quản chân không, xử lý tôm với dung dịch polyphenol trước khi bảo quản, và kết hợp cả hai phương pháp trên được đưa vào thực hiện trong nghiên cứu này. Từ đó đưa ra phương pháp cải thiện chất lượng và kéo dài hạn sử dụng tôm sú sau thu hoạch.

Đối tượng và phương pháp

Đối tượng nghiên cứu

Tôm sú: tôm sú được thu mua ở chợ đầu mối Bình Điền (TP Hồ Chí Minh). Tôm được lựa chọn có cấu trúc nguyên vẹn, còn sống, kích cỡ 35-40 con/kg. Khối lượng tôm dùng thí nghiệm là 30 kg, tôm được rửa bằng nước sạch, phân vào 300 túi polyethylene vô trùng. Các túi mẫu được bảo quản trong thùng polystyrene chứa đá bào với tỷ lệ tôm: đá = 1:2 (w/w), và được chuyển đến phòng thí nghiệm sau 2 giờ. Tại phòng thí nghiệm, các túi mẫu được tiếp tục đặt trong thùng xốp và giữ lạnh ở 0°C bằng tủ lạnh.

Hóa chất, thiết bị phân tích:

- Dung dịch polyphenol 2,5%: dung dịch polyphenol được chiết từ rong sụn *Cottonii* (*Kappaphycus alvarezii*) dạng khô, được mua từ một cửa hàng ở phường Trung Mỹ Tây, quận 12, TP Hồ Chí Minh. Cân chính xác 20 g rong sụn, nghiền nhỏ. Dung môi ethanol cho vào rong sụn theo tỷ lệ 15 ml ethanol/1 g rong sụn, trích ly ở nhiệt độ 40°C trong

5 giờ [15]. Dịch chiết thu được được cô quay chân không để lấy cao ethanol có khối lượng từ 1,6 đến 2,0 g. Dung dịch polyphenol 2,5% được chuẩn bị từ kết quả đo tổng hàm lượng polyphenol.

- Hóa chất: chuẩn TMA được đặt mua từ Công ty Sigma-Aldrich (Singapore). Các dung môi và hóa chất sử dụng trong phân tích như ethanol, toluene, acid picric, trichlormethanol được cung cấp từ Công ty Merck.

- Thiết bị sử dụng trong nghiên cứu: thiết bị cô quay chân không eyela/Nhật (N-1200AS, 243110), thiết bị quang phổ hấp thụ UV-Vis Thermo - Mỹ (GENESYS 50 UV-Vis), thiết bị đóng gói chân không Falcon 80 (Henkelmen Hà Lan), thiết bị đo độ chân không Testo 552 (Trung Quốc).

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp bố trí thí nghiệm: tại phòng thí nghiệm, 300 túi tôm được chia làm 4 phần, được bảo quản ở 0°C theo 4 kỹ thuật như sau:

Phần 1: mẫu đối chứng (ĐC): tôm được giữ nguyên và được bảo quản ở 0°C.

Phần 2: mẫu bảo quản trong túi chân không (CK): tôm được cho vào túi hút chân không đạt tới giá trị 2,50 mbar, xác định bởi thiết bị Testo 552, bảo quản ở 0°C.

Phần 3: mẫu xử lý trong dịch chiết polyphenol 2,5% (PP) trước khi bảo quản: tôm được nhúng trong dịch chiết polyphenol 2,5% (PP) trong khoảng thời gian 10 phút ở nhiệt độ 4°C, bảo quản ở 0°C.

Phần 4: mẫu xử lý trong dịch chiết polyphenol 2,5% (PP), sau đó được bảo quản trong túi chân không (PP/CK): tôm được nhúng trong dịch chiết polyphenol 2,5% trong khoảng thời gian 10 phút ở nhiệt độ 4°C. Sau đó các túi mẫu được hút chân không đạt tới giá trị 2,50 mbar, xác định bởi thiết bị Testo 552, bảo quản ở 0°C.

Thời gian, nhiệt độ và nồng độ các dung dịch dùng xử lý tôm trước khi bảo quản được áp dụng như nghiên cứu của Sallam cùng cộng sự (2007) [16]. Tôm được bảo quản trong 14 ngày, tần suất lấy mẫu 1 ngày/lần. Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm TVC, TMA, TVC, và QI.

Phương pháp phân tích:

- Phương pháp xác định TVC: phương pháp xác định TVC được thực hiện theo thông báo của Leboffe và Pierce (2012) [17]. Trong đó, 10 g tôm bảo quản ở những khoảng thời gian khác nhau được nghiền mịn với 90 ml dung dịch NaCl 0,9%, ly tâm và thu lấy phần dịch. Dịch thu được tiến hành pha loãng 10 lần. Các dung dịch có nồng độ pha loãng bao gồm 10⁻³, 10⁻⁴ và 10⁻⁵ được chọn để nghiên cứu. Mật độ vi sinh vật được đánh giá theo phương pháp đếm trên đĩa. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần và giá trị TVC được trình

bày dưới dạng log CFU/g (colony forming units).

- Phương pháp QIM cho tôm sú: phương pháp đánh giá QIM cho tôm sú được thực hiện như của Lê Nhất Tâm và cộng sự (2017) [18]. Hội đồng gồm 6 chuyên gia tham gia xây dựng phương pháp QIM cho tôm sú. Đầu tiên tôm được để ướp tự nhiên, các chuyên gia sẽ quan sát, mô tả các chỉ tiêu bao gồm màu sắc, cấu trúc và mùi. Các thuộc tính của các chỉ tiêu này sẽ được ghi nhận cẩn thận theo trình tự từ lúc tươi cho đến khi ướp hồng hoàn toàn. Tiếp theo, các chuyên gia sẽ sắp xếp thứ tự các thuật ngữ mô tả vào trong khung điểm từ 0 đến 3 theo độ tươi giảm dần. Bảng 1 là khung đánh giá điểm chất lượng cho các mục tiêu màu, cấu trúc và mùi. Các thuộc tính đánh giá bao gồm đầu, thân, đuôi, hình dáng và thịt.

Bảng 1. Chương trình đánh giá QIM cho tôm sú (Penaeus monodon)

Thuộc tính	Mô tả	QI
Đầu	Hồng sáng	0
	Xanh đồng sáng, không có điểm đen	1
	Xanh đồng, hơi đen, có vài vài đốm đen.	2
	Đen	3
Thân	Xanh đồng, sáng óng ánh	0
	Xanh nâu, độ sáng giảm, hơi đục.	1
	Đỏ nâu, đục, có vài đốm đen	2
Màu	Đen	3
	Hồng sáng,	0
	Xanh đồng, sáng	1
Đuôi	Xanh đồng, hơi đen, có vài đốm đen	2
	Đen	3
	Trắng sáng	0
Thịt	Trắng đục	1
	Hơi hồng	2
	Hồng hay hơi vàng	3
Hình dáng	Săn chắc, đầu gắn chặt vào thân	0
	Săn chắc, đầu gắn vào thân hơi lỏng.	1
	Đầu gắn vào thân lỏng, vỏ gắn vào thịt hơi yếu.	2
Cấu trúc	Đầu gần như rụng khỏi thân, thịt dễ tách khỏi vỏ	3
	Cứng, đàn hồi	0
Thịt	Hơi mềm, độ đàn hồi giảm	1
	Mềm vừa phải	2
	Mềm và chảy nước	3
Mùi	Tươi	0
	Rong biển	1
	Không mùi, hơi chua	2
	Chua nồng	3

- Phương pháp xác định TVB-N: hàm lượng TVB-N trong tôm được xác định theo công bố của Jinadasa [19]. Tôm sau khi lột vỏ, bỏ đầu được cân khoảng 5 g rồi xay nhuyễn với 90 ml acid perchloric bằng máy xay (MX-SM1031S, Panasonic, Japan). Dịch sau khi trích ly được ly tâm và lọc qua giấy lọc định lượng Whatman số 1 (Sigma Aldrich, Germany) và định mức bằng nước cất thành 100 ml. Tiến hành chung cất dịch thu được trong môi trường kiềm, các thành phần của TVB được hấp thu bằng một lượng dư NaOH 0,1N và dùng HCl 0,1N để chuẩn độ.

- Phương pháp xác định TMA-N: hàm lượng TMA-N được xác định theo tiêu chuẩn AOAC 971-14 [20]. Cân $10 \pm 0,01$ g thịt tôm rồi tiến hành trích ly 3 lần, mỗi lần 30 ml dung dịch TCA 7,5% (w/v). Toàn bộ dịch trích ly đem đi ly tâm bằng máy ly tâm (Hettich-EBA 20S, Sigma-Aldrich, Germany) ở 4.000 vòng/phút trong 10 phút, sau đó định mức 100 ml bằng nước cất. Tiếp theo trimethylamine cho phản ứng với acid picric tạo muối pirat có màu vàng. Lượng muối này được xác định bằng phương pháp phổ hấp thụ UV-Vis, với bước sóng hấp thụ cực đại ở 410 nm.

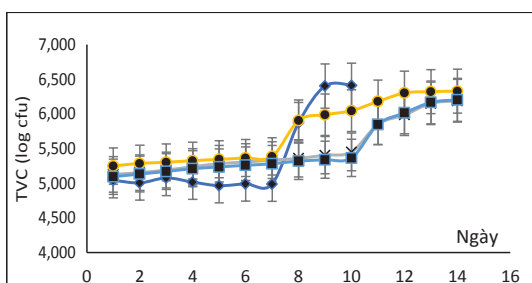
- Phương pháp định lượng tổng polyphenol: hàm lượng polyphenol được xác định theo tiêu chuẩn ISO 145021:2005 [21].

Phương pháp xử lý số liệu: tất cả các thí nghiệm được tiến hành 3 lần. Dữ liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics centurion, xác định mô hình tuyến tính bằng MS. Excel (2010). Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p < 0,05$.

Kết quả và bàn luận

Biến đổi Total viable count (TVC)

Kết quả đánh giá lượng TVC ở các mẫu tôm theo ngày bảo quản được trình bày ở hình 1. Giá trị TVC của các mẫu khảo sát ở ngày 1 gần như không có sự khác biệt đáng kể. Giá trị TVC bằng 5,04; 5,13; 5,25 và 5,09 mg/100 g tương ứng với mẫu ĐC, CK, PP và PP/CK. Giá trị TVC ở các ngày tiếp theo tăng rất chậm (CK, PP, PP/CK), hay hầu như không đổi (mẫu ĐC).



Hình 1. Giá trị TVC của các mẫu thí nghiệm theo thời gian bảo quản (♦ mẫu ĐC, x mẫu CK, ● mẫu PP, ■ mẫu PP/CK).

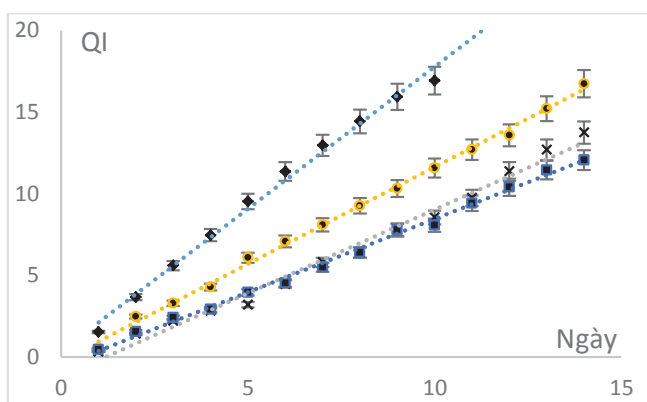
Thời điểm giá trị TVC tăng đột ngột vào ngày thứ 7 cho mẫu ĐC, ngày 10 cho mẫu CK, ngày 7 cho mẫu PP và ngày 10 cho mẫu PP/CK. Điều này có thể giải thích do giai đoạn đầu của quá trình ươn hỏng là tự phân, tác nhân chính trong giai đoạn này được xem là các enzyme nội sinh. Vì vậy lượng TVC tăng không đáng kể [1]. Giá trị TVC của các mẫu vượt ngưỡng $\log \text{cfu} = 6$ tại thời điểm ngày 9, ngày 13, ngày 11 và ngày 13, tương ứng với mẫu ĐC, CK, PP và PP/CK. Theo Ủy ban quốc tế quy định vi sinh thực phẩm (International Commission on Microbiological Specifications for Foods - ICMSF) đối với tôm đông lạnh giá trị TVC = 6 ($\log \text{cfu/g}$). Như vậy, hạn sử dụng của mẫu ĐC, CK, PP và PP/CK tương ứng là 8 ngày, 12 ngày, 10 ngày và 12 ngày. Nguyên nhân chủ yếu gây ra sự hư hỏng thực phẩm nói chung và thủy sản nói riêng do tác nhân vi sinh vật [22]. Naik cùng cộng sự nghiên cứu trên tôm sú bảo quản ở 0°C cho thấy, giá trị TVC ban đầu là 3,72; 4,76; 5,33; 5,52 ($\log \text{cfu/g}$) tương ứng ở ngày 0, ngày 2, ngày 4, ngày 6 và đạt giá trị cao nhất là 6,3 ở ngày 8 [12]. Rohani cùng cộng sự (2008) thông báo giá trị TVC đạt ngưỡng $\log \text{cfu} = 6$ tại thời điểm ngày 11 và ngày 15 ứng với điều kiện bảo quản đá và bảo quản trong điều kiện biến đổi thành phần khí (40% CO_2 , 30% O_2 và 30% N_2) [23].

Biến đổi QIM

Kết quả cho thấy, các giá trị QI của 4 mẫu thí nghiệm đều có sự khác biệt về mặt thống kê giữa các ngày bảo quản như mô tả ở hình 2. Ở ngày đầu tiên, QI có giá trị là 1,53; 0,33; 0,54; 0,45 tương ứng với các mẫu ĐC, CK, PP, PP/CK. Như vậy, ba mẫu được xử lý bằng PP, và bảo quản chân không có giá trị QI ban đầu thấp hơn mẫu đối chứng. Giá trị QI của các mẫu khảo sát tăng tuyến tính theo thời gian bảo quản. Tuy nhiên, do mức độ ảnh hưởng của hoạt chất xử lý và điều kiện bảo quản khác nhau nên độ tăng giá trị QI của mẫu khác nhau. Điều này có thể thấy qua sự tương quan tuyến tính giữa QI và ngày bảo quản (hình 2).

Dựa trên kết quả TVC, chất lượng mẫu đối chứng có hạn sử dụng cho người tiêu dùng là 8 ngày. Tôm bảo quản ở ngày 9 có các dấu hiệu cảm quan: đầu hầu như tách khỏi thân, vỏ tôm tách khỏi phần thịt, thịt biến vàng hay hồng nhạt. Đặc biệt, tôm có mùi chua và tanh rõ rệt. Các đặc tính này cũng thể hiện ở ngày 13, 11, 13 tương ứng với các mẫu CK, PP, PP/CK còn lại. Như vậy, hạn sử dụng của các mẫu tôm là 8 ngày với mẫu ĐC, 12 ngày với mẫu CK, 10 ngày với mẫu PP và 12 ngày với mẫu PP/CK. Tại thời điểm này, các giá trị QI của các mẫu có giá trị 14,33; 11,37; 11,58 và 10,40 tương ứng với mẫu ĐC, CK, PP và PP/CK. Như vậy, QI của các mẫu PP, CK và PP/CK có giá trị thấp hơn mẫu đối chứng tại thời điểm chất lượng không chấp nhận cho người tiêu dùng. Điều này được giải thích liên quan đến sự hình thành các đốm đen ở tôm như đã trình bày ở phần mở

đầu [14]. Các phân tử polyphenol bổ sung vào tôm sẽ tham gia vào các phản ứng chuyển hóa từ phenol thành quinone, bảo vệ thịt tôm không bị biến đen. Ngoài ra, môi trường chân không sẽ ức chế quá trình oxy hóa quinone thành melanin. Thêm vào đó, polyphenol còn có tính khử, chúng có thể ức chế các tiến trình oxy hóa xảy ra ở tôm. Vì vậy, các tiến trình hình thành đốm đen ở các mẫu này bị ức chế, QI của chúng thấp hơn so với mẫu đối chứng. Nghiên cứu ức chế tạo đốm đen ở tôm cũng được thông báo bởi Nirmal, et al. và Padio, et al. Các tác giả này nghiên cứu ảnh hưởng của các dung dịch acid feruvic, acid ascorbic, acid citric, potassium sorbate và 4-hexyl resorcinol đến sự tạo đốm đen ở tôm (*Panaeus aztecus*) [24, 25].



Hình 2. Giá trị QI của các mẫu thí nghiệm theo thời gian bảo quản (♦ mẫu ĐC, x mẫu CK, ● mẫu PP, ■ mẫu PP/CK). Phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng: $y = 1,7392x + 0,3778$, $R^2 = 0,9928$; $y = 1,0253x - 1,2198$, $R^2 = 0,9876$; $y = 1,1875x - 0,2446$, $R^2 = 0,9973$; $y = 0,8974x - 0,5181$, $R^2 = 0,996$, với y là QI, x là ngày bảo quản.

Biến đổi TVB-N

Nhìn chung, giá trị TVB-N của các mẫu có sự khác biệt về mặt thống kê giữa các ngày ($p \leq 0,05$) và tăng dần theo thời gian bảo quản (bảng 2).

Bảng 2. Giá trị TVB-N của các mẫu tôm thí nghiệm theo thời gian bảo quản.

Thời gian bảo quản	Mẫu ĐC	Mẫu CK	Mẫu PP	Mẫu PP/CK
1	6,47 ^a ±0,05	4,32 ^a ±0,01	6,39 ^a ±0,01	4,61 ^a ±0,00
2	7,77 ^b ±0,01	5,07 ^b ±0,04	7,41 ^b ±0,02	4,89 ^b ±0,01
3	9,09 ^c ±0,01	5,48 ^c ±0,08	8,31 ^c ±0,01	5,25 ^c ±0,02
4	11,37 ^d ±0,03	6,72 ^d ±0,03	9,03 ^d ±0,04	6,77 ^d ±0,04
5	14,58 ^e ±0,08	8,89 ^e ±0,07	11,65 ^e ±0,07	8,28 ^e ±0,01
6	18,89 ^f ±0,02	9,49 ^f ±0,04	14,89 ^f ±0,04	9,12 ^f ±0,05
7	22,73 ^g ±0,02	12,19 ^g ±0,09	17,84 ^g ±0,03	11,71 ^g ±0,04
8	26,17 ^h ±0,04	14,41 ^h ±0,07	20,62 ^h ±0,02	13,87 ^h ±0,02

9	32,30 ⁱ ±0,05	15,73 ⁱ ±0,03	23,68 ⁱ ±0,05	15,50 ⁱ ±0,07
10	37,52 ^j ±0,01	18,67 ^j ±0,02	28,05 ^j ±0,02	18,38 ^j ±0,02
11		23,16 ^k ±0,01	32,45 ^k ±0,01	22,71 ^k ±0,01
12		27,49 ^l ±0,01	37,14 ^l ±0,05	27,19 ^l ±0,06
13		32,36 ^m ±0,07		31,78 ^m ±0,03
14		36,12 ⁿ ±0,04		35,15 ⁿ ±0,03
Phương trình hồi quy tuyến tính	$y = 1,60x + 4,67$ $R^2 = 0,979$ x: 1 đến 4	$y = 1,10x + 2,81$ $R^2 = 0,949$ x: 1 đến 6	$y = 1,2x + 4,92$ $R^2 = 0,929$ x: 1 đến 5	$y = 0,92x + 3,19$ $R^2 = 0,894$ x: 1 đến 6
y: TVB x: ngày	$y = 4,52x - 8,57$ $R^2 = 0,991$ x: 5 đến 10	$y = 3,54x - 14,61$ $R^2 = 0,972$ x: 7 đến 14	$y = 4,05x - 11,17$ $R^2 = 0,988$ x: 6 đến 12	$y = 3,49x - 14,59$ $R^2 = 0,991$ x: 7 đến 14

Giá trị TVB-N ở ngày 1 bằng 6,46 mg/100 g; 4,32 mg/100 g; 6,39 mg/100 g và 4,41 mg/100 g, tương ứng với mẫu ĐC, CK, PP và PP/CK. Như vậy, các mẫu được bảo quản chân không có giá trị TVB-N thấp hơn. Điều này giải thích do liên quan đến khả năng tăng sinh của vi sinh vật trong môi trường chân không. Đối với mẫu ĐC, TVB-N ở ngày 1 (6,47 mg/100 g) thấp hơn so với nghiên cứu của Reddy cùng cộng sự [2] trên tôm sú là 8,92 mg/100 g và tôm pacific white là 8,01 mg/100 g [24], 7,9 mg/100 g [26], 7,2 mg/100 g [27]. Sự khác biệt này có thể giải thích là do có sự khác nhau về thành phần hóa học giữa các loài tôm, điều kiện nuôi, môi trường nước, chế độ thức ăn cũng như điều kiện sinh lý ở mỗi loại [28, 29]. Bảng 2 cho thấy, sự biến đổi giá trị TVB-N trải qua 2 giai đoạn chậm và nhanh. Khoảng thời gian giai đoạn 1 từ ngày 1 đến ngày 4 đối với mẫu ĐC, đến ngày 6 đối với mẫu CK, đến ngày 5 đối với mẫu PP và đến ngày 6 đối với mẫu PP/CK. Sau đó, giá trị TVB-N tăng nhanh ở những ngày tiếp theo.

TVB-N là tổng lượng các chất dễ bay hơi có tính kiềm. Các chất chủ yếu tạo nên thành phần này là trimethylamine (TMA, sản phẩm từ vi khuẩn gây uon hồng), ammonia (sản phẩm từ quá trình deamine hóa các amino acid) và DMA (sản phẩm từ quá trình tự phân bởi enzyme trong suốt quá trình bảo quản lạnh). Các hoạt động này xảy ra trong giai đoạn phân hủy [30]. Điều đó giải thích tại sao TVB-N tăng nhanh ở giai đoạn 2. Tại thời điểm được xem là hạn sử dụng (theo kết quả TVC) giá trị TVB-N là 26,17 mg/100 g; 34,39 mg/100 g; 28,05 mg/100 g và 27,19 mg/100 g, tương ứng với các mẫu ĐC, CK, PP và PP/CK. Các giá trị này đều thấp hơn 35 mg/100 g được xem là giới hạn cho phép đối với người tiêu dùng [30].

Biến đổi TMA-N

TMA-N là một thành phần của TVB-N, được hình thành từ TMAO thông qua hoạt động của enzyme TMAOase [31]. Giá trị TMA-N của các mẫu được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Giá trị TMA-N của các mẫu tôm thí nghiệm theo thời gian bảo quản.

Thời gian bảo quản	Mẫu ĐC	Mẫu CK	Mẫu PP	Mẫu PP/CK
1	0,67±0,04	0,40±0,03	0,59±0,02	0,40±0,04
2	0,89±0,05	0,59±0,03	0,75±0,02	0,51±0,04
3	1,08±0,02	0,79±0,01	0,98±0,05	0,66±0,01
4	1,53±0,02	0,89±0,02	1,37±0,04	0,85±0,02
5	2,09±0,01	1,21±0,02	1,63±0,04	1,21±0,03
6	3,34±0,01	1,66±0,05	2,48±0,01	1,43±0,06
7	5,15±0,04	2,24±0,05	3,27±0,01	1,90±0,07
8	7,36±0,07	3,02±0,06	4,94±0,04	2,39±0,02
9	9,14±0,04	3,97±0,07	5,83±0,03	3,28±0,04
10	10,48±0,01	4,42±0,03	7,19±0,02	4,22±0,01
11		6,01±0,05	9,21±0,07	5,41±0,02
12		7,24±0,01	11,41±0,01	7,02±0,03
13		10,13±0,05		9,57±0,05
14		12,24±0,01		11,88±0,05
Phương trình hồi quy tuyến tính y: TMA x: ngày	$y = 0,28x + 0,35$ $R^2 = 0,957$ x: 1 đến 4	$y = 0,24x + 0,10$ $R^2 = 0,948$ x: 1 đến 6	$y = 0,27x + 0,25$ $R^2 = 0,980$ x: 1 đến 5	$y = 0,21x + 0,10$ $R^2 = 0,964$ x: 1 đến 6
	$y = 1,76x - 6,93$ $R^2 = 0,994$ x: 5 đến 10	$y = 1,39x - 8,46$ $R^2 = 0,936$ x: 7 đến 14	$y = 1,46x - 6,82$ $R^2 = 0,977$ x: 6 đến 12	$y = 1,41x - 9,06$ $R^2 = 0,940$ x: 7 đến 14

Kết quả nghiên cứu cho thấy, giá trị TMA-N của ngày 1 là 0,67 mg/100 g; 0,4 mg/100 g; 0,59 mg/100 g và 0,4 mg/100 g, tương ứng với các mẫu ĐC, CK, PP và PP/CK. Tương tự như biến đổi TVB-N, giá trị TMA-N thay đổi chậm ở giai đoạn đầu và nhanh ở giai đoạn sau. Tuy nhiên khoảng thời gian này ở các mẫu hoàn toàn khác nhau, nguyên nhân có thể do ảnh hưởng của việc xử lý và bảo quản mẫu. Khoảng thời gian của giai đoạn chậm từ ngày 1 đến ngày 4 với mẫu ĐC, đến ngày 6 với mẫu CK, đến ngày 5 với mẫu PP và đến ngày 6 với mẫu PP/CK. Tại các thời điểm này giá trị TMA-N là 1,53 mg/100 g; 1,66 mg/100 g; 1,63 mg/100 g và 1,43 mg/100 g, tương ứng cho các mẫu ĐC, CK, PP và PP/CK. Theo thông báo của Bonnell [32], cá tuyết (cod) chất lượng tươi có TMA-N thấp hơn 1,5 mg/100 g. Giá trị này cũng tương đồng với đánh giá của Le, et al. (2017) trên tôm sú, chất lượng tôm đạt loại tốt có giá trị TMA-N thấp hơn 1,51 mg/100 g [18]. TMA-N của các mẫu khảo sát cũng có giá trị gần bằng 1,5 mg/100 g ở thời điểm

cuối của giai đoạn 1 (1,86 mg/100 g; 1,66 mg/100 g; 1,63 mg/100 g; 1,43 mg/100 g), trước khi đi vào giai đoạn phân hủy. Tại thời điểm được xem là giới hạn của hạn sử dụng, giá trị TMA-N của các mẫu đạt như sau: 7,36 mg/100 g; 7,24 mg/100 g; 7,19 mg/100 g và 7,02 mg/100 g, tương ứng với các mẫu ĐC, CK, PP và PP/CK.

Phương trình hồi quy tuyến tính giữa TVB-N, TMA-N và hạn sử dụng đối với các mẫu khảo sát

Các giá trị của các chỉ số nhìn chung tăng theo thời gian bảo quản. Hạn sử dụng của các mẫu khảo sát được đánh giá dựa trên kết quả TVC. Các chỉ số TVB-N và TMA-N tăng theo thời gian bảo quản. Vì vậy, giá trị của chúng có sự tương quan tuyến tính với nhau. Tuy nhiên, phương trình hồi quy tuyến tính được thể hiện ở 2 giai đoạn khác nhau như đã bàn luận ở trên, và có sự khác biệt giữa các khoảng thời gian ở các mẫu. Đánh giá cảm quan theo phương pháp QIM cho kết quả điểm chất lượng tôm sú biến đổi tuyến tính theo ngày bảo quản. Các phương trình hồi quy tuyến tính đã chứng minh điều này. Sử dụng phương trình hồi quy tuyến tính có thể ước tính hạn sử dụng còn lại cho các mẫu khảo sát. Bằng cách tiến hành đánh giá chất lượng tôm bằng QIM để có điểm QI như mô tả ở bảng 1. Tiếp theo, điểm QI được thay thế vào phương trình hồi quy tương ứng để xác định ngày bảo quản. So sánh số ngày bảo quản với hạn sử dụng suy ra hạn bảo quản còn lại. Bảng 4 mô tả những bàn luận đã đề cập trên.

Bảng 4. Phương trình hồi quy tuyến tính giữa TVB-N, TMA-N, hạn sử dụng, và phương trình hồi quy tuyến tính giữa QI và ngày bảo quản của các mẫu khảo sát.

Mẫu ĐC	Mẫu CK	Mẫu PP	Mẫu CK/PP
Giai đoạn biến đổi chậm			
TVB = 5,71TMA + 2,73 $R^2 = 0,996$ Từ ngày 1 đến ngày 4	TVB = 4,50TMA + 2,50 $R^2 = 0,933$ Từ ngày 1 đến ngày 6	TVB = 4,44TMA + 3,84 $R^2 = 0,924$ Từ ngày 1 đến ngày 5	TVB = 4,63TMA + 2,58 $R^2 = 0,985$ Từ ngày 1 đến ngày 6
Giai đoạn biến đổi nhanh			
TVB = 2,55TMA + 9,39 $R^2 = 0,980$ Từ ngày 5 đến ngày 10	TVB = 2,46TMA + 7,32 $R^2 = 0,980$ Từ ngày 7 đến ngày 14	TVB = 2,51TMA + 9,09 $R^2 = 0,994$ Từ ngày 6 đến ngày 12	TVB = 2,41TMA + 8,30 $R^2 = 0,979$ Từ ngày 7 đến ngày 14
Hạn sử dụng và phương trình hồi quy tuyến tính giữa QI và ngày bảo quản			
HSD: 8 ngày $y = 1,74x + 0,3778$ $R^2 = 0,9928$	HSD: 12 ngày $y = 1,03x - 1,2198$ $R^2 = 0,9876$	HSD: 10 ngày $y = 1,19x - 0,2446$ $R^2 = 0,9973$	HSD: 12 ngày $y = 0,90x - 0,5181$ $R^2 = 0,996$

Kết luận

Sự biến đổi chất lượng tôm sú sau thu hoạch được xử lý bằng các kỹ thuật bảo quản khác nhau đã được tiến hành trong nghiên cứu này. Các yếu tố cảm quan, hóa sinh và vi sinh được sử dụng trong nghiên cứu đã chứng minh được hiệu quả của chúng. Các chỉ số chất lượng sử dụng vào tiến trình đánh giá đã phát huy năng lực, phản ánh sự biến đổi chất lượng trong suốt quá trình bảo quản. Các chỉ số chất lượng hóa học TVB-N, TMA-N có tương quan tuyến tính với thời gian bảo quản theo hai giai đoạn khác nhau, tương ứng với giai đoạn tự phân và phân hủy. Tại thời điểm được đánh giá là hạn sử dụng TVB-N = 26,17; 27,49; 28,05 và 27,19 mg/100g tương ứng với các mẫu ĐC, CK, PP và PP/CK. Tương tự, giá trị TMA-N tại thời điểm này là 7,36; 7,24; 7,19; 7,02 tương ứng cho cho các mẫu khảo sát. Phương trình hồi quy tuyến tính giữa TVB-N và TMA-N đã được xây dựng cho từng mẫu khảo sát theo hai giai đoạn khác nhau. Đây là điểm mới của nghiên cứu. Đặc biệt, phương pháp QIM thể hiện hiệu quả trong đánh giá cảm quan. Giá trị QI có thể cho chúng ta ước tính hạn sử dụng còn lại của tôm. Giá trị QI tại thời điểm giới hạn có sự khác biệt giữa các mẫu. Cụ thể QI = 14,33; 11,37; 11,58; 10,40 tương ứng với các mẫu ĐC, CK, PP, PP/CK. Tôm được bảo quản trong điều kiện chân không kết hợp với xử lý qua dung dịch polyphenol có khả năng ức chế tiến trình tạo đốm đen, tăng giá trị về mặt cảm quan, và tăng giá trị kinh tế. Kỹ thuật bảo quản chân không có hạn sử dụng 12 ngày so với bảo quản thông thường là 8 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N.A. Ashie, J.P. Smith, B.K. Simpson, N.F. Haard (1996), "Spoilage and shelflife extension of fresh fish and shellfish", *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, **36(1-2)**, pp.87-121.
- [2] V.K. Reddy, P.A. Shinde, F.R. Sofi, P.S. Shelar, & S.B. Patange (2014), "Effect of antimelanotic treatment and vacuum packaging on melanosis and quality condition of ice stored farmed tiger shrimp (penaeus monodon)", *SAARC Journal of Agriculture*, **11(2)**, pp.33-47.
- [3] C.O.R. Okpala, W.S. Choo, and G.A. Dykes (2014), "Quality and shelf life assessment of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) freshly harvested and stored on ice", *LWT-Food Science and Technology*, **55(1)**, pp.110-116.
- [4] R.K. Kalleda, Y.L. Han, J.E. Toler, F. Chen, H.J. Kim, & P.L. Dawson (2013), "Shelf life extension of shrimp (white) using modified atmosphere packaging", *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, **63(2)**, pp.87-94.
- [5] G.W. Gould (2012), *New methods of food preservation*, Springer Science & Business Media.
- [6] H.H. Huss (1995), *Quality and quality changes in fresh fish*, FAO fisheries technical paper.
- [7] P. Howgate (2010), "A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 2. Formation of the bases, and application in quality assurance", *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, **9(1)**, pp.58-83.
- [8] G. Hyldig & D.M. Green-Petersen (2004), "Quality Index Method-An objective tool for determination of sensory quality", *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **13(4)**, pp.71-80.
- [9] E. Martinsdóttir, R. Schelvis, G. Hyldig, & K. Sveinsdóttir (2009), "Sensory evaluation of seafood: methods. Fishery Products-Quality, Safety and Authenticity", *Wiley-Blackwell*, pp.425-443.
- [10] R.S. Singhal, P. Kulkarni & D. Reg (1997), *Handbook of indices of food quality and authenticity*, Elsevier.
- [11] D.F. Maffei, N.F. de Arruda Silveira, & M.d.P.L.M. Catanosi (2013) "Microbiological quality of organic and conventional vegetables sold in Brazil", *Food Control*, **29(1)**, pp.226-230.
- [12] R.P. Naik, B.B. Nayak, M.K. Chouksey, T.K. Anupama, T.L.S.S. Moses, & V. Kumar (2014), "Microbiological and biochemical changes during ice storage of farmed black tiger shrimp (Penaeus monodon)", *Bionano Frontier*, **7(2)**, pp.249-253.
- [13] TCVN 3726-89: Tôm nguyên liệu tươi - Fresh shrimps for food processing.
- [14] A.A. Gonçalves and A.R.M. de Oliveira (2016), "Melanosis in crustaceans: A review", *LWT-Food Science and Technology*, **65**, pp.791-799.
- [15] R. Kossah, C. Nsabimana, H. Zhang, & W. Chen (2010), "Optimization of extraction of polyphenols from Syrian Sumac", *Research Journal of Phytochemistry*, **4(3)**, pp.146-153.
- [16] K.L. Sallam (2007), "Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids", *Food Chemistry*, **101(2)**, pp.592-600.
- [17] M.J. Leboffe, B.E. Pierce (2012), *Microbiology: laboratory theory and application*, Morton Publishing Company.
- [18] N.T. Le, N.K. Doan, B.T. Nguyen, T.V.T. Tran (2017), "Towards improved quality benchmarking and shelf life evaluation of black tiger shrimp (Penaeus monodon)". *Food Chemistry*, **235**, pp.220-226.
- [19] B. Jinadasa (2014), "Determination of quality of marine fishes based on total volatile base nitrogen test (TVB-N)", *Nature and Science*, **5(12)**, pp.106-111.
- [20] J. Hungerford (1998), "AOAC Official Method 971.14 Trimethylamine Nitrogen in Seafood Colorimetric Method. Fish and Other Marine Products", *Official Methods of Analysis of AOAC International*, **7**, pp.421-434.
- [21] ISO 14502:2005: Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea.

Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent.

[22] G.J.E. Nychas, D.L.Marshall, J.N. Sofos (2007), *Meat, poultry, and seafood*, ASM Press, pp.105-140.

[23] A.C. Rohani, M. Faridah, O.A. Shokri (2008), "The effects of modified atmosphere packaging on chemical, sensory and microbiological changes in black tiger prawn (*Penaeus monodon*)", *J. Trop. Agric. and Fd. Sc.*, **36(2)**, pp.211-219.

[24] N.P. Nirmal, & S. Benjakul (2009), "Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage", *Food Chemistry*, **116(1)**, pp.323-331.

[25] V.T. Pardio, K.N. Waliszewski, & P. Zuñiga (2011), "Biochemical, microbiological and sensory changes in shrimp (*Panaeus aztecus*) dipped in different solutions using face centred central composite design", *International Journal of Food Science & Technology*, **46(2)**, pp.305-314.

[26] J. Huang, Q. Chen, M. Qiu, & S. Li (2012), "Chitosan based edible coatings for quality preservation of postharvest whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)", *Journal of Food Science*, **77(4)**, pp.C491-C496.

[27] H. Mu, H. Chen, X. Fang, J. Mao, H. Gao (2012), "Effect of cinnamaldehyde on melanosis and spoilage of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during storage", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **92(10)**, pp.2177-2182.

[28] R. Rosa, L. Nunes (2004), "Nutritional quality of red shrimp, *Aristeus antennatus* (Risso), pink shrimp, *Parapenaeus longirostris* (Lucas), and Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (Linnaeus)", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **84(1)**, pp.89-94.

[29] L. Srikar, H. Seshadari, A. Fazal (1989), "Changes in lipids and proteins of marine catfish (*Tachysurus dussumieri*) during frozen storage", *International Journal of Food Science & Technology*, **24(6)**, pp.653-658.

[30] L.M. Nollet, F. Toldrà (2009), *Handbook of seafood and seafood products analysis*, CRC Press.

[31] B.Q. Phillippy (1985), *Characterization of the in situ tmaoase system of red hake muscle*, Ph.D. thesis, University of Massachusetts, Amherst.

[32] A.D. Bonnell (2012), *Quality assurance in seafood processing: a practical guide*, Springer Science & Business Media.

Đánh giá khả năng chịu hạn và một số chỉ tiêu sinh hóa của các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* trong điều kiện hạn nhân tạo ở giai đoạn cây con

Đoàn Thị Bích Thảo¹, Nguyễn Xuân Thắng^{1*}, Lê Tuấn Anh¹, Lê Công Tùng¹, Nguyễn Thị Thu Hoài¹, Lê Công Lực¹, Nông Văn Hải², Bùi Mạnh Cường¹

¹Viện Nghiên cứu ngô, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

²Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày nhận bài 12/2/2019; ngày chuyển phản biện 18/2/2019; ngày nhận phản biện 20/3/2019; ngày chấp nhận đăng 8/4/2019

Tóm tắt:

Nhóm yếu tố phiên mã DREB (Dehydration Responsive Element Binding) liên quan chặt chẽ đến cơ chế phản ứng của thực vật đối với điều kiện bất thuận như hạn. Trong nghiên cứu này, các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* đã được đánh giá khả năng chịu hạn và một số chỉ tiêu sinh hóa ở giai đoạn cây con. Trong điều kiện gây hạn nhân tạo, các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* có tỷ lệ sống cao hơn khoảng 2,5 lần so với dòng nền không chuyển gen. Hình thái của dòng mang gen *ZmDREB2A* có biểu hiện chịu hạn tốt hơn so với dòng nền, trong đó chiều dài rễ của dòng chuyển gen lớn hơn 21-28% so với dòng nền. Khi gặp hạn, dòng chuyển gen *ZmDREB2A* cũng duy trì được hàm lượng chlorophyll (Chl) cao hơn 10% so với các dòng nền, đồng thời tích lũy được lượng chất điều hòa thẩm thấu như proline tăng 2,5-4,5 lần, carbohydrate không cấu trúc (Non Structural Carbohydrate - NSC) nhiều hơn 28-35% so với dòng nền.

Từ khóa: cây ngô, chịu hạn, chuyển gen, proline, *ZmDREB2A*.

Chỉ số phân loại: 4.6

Đặt vấn đề

Thực vật luôn phải đối mặt với nhiều yếu tố bất thuận có trong điều kiện môi trường như hạn, mặn, nóng... Các yếu tố bất thuận đã ảnh hưởng tới khoảng 10% diện tích đất trồng và dẫn tới sự sụt giảm hơn 50% sản lượng trung bình của các cây trồng chính trên thế giới, trong đó có cây ngô [1]. Tình hình hạn hán đã, đang và sẽ tiếp tục diễn ra nghiêm trọng, khiến cho việc nghiên cứu nâng cao khả năng chịu hạn của cây trồng nói chung và cây ngô nói riêng ngày càng cấp thiết.

Cơ chế đáp ứng với yếu tố bất thuận của thực vật liên quan đến nhóm gen mã hóa các yếu tố phiên mã. Trong đó, DREB là một nhóm yếu tố phiên mã quan trọng, đóng vai trò chủ đạo trong đáp ứng với nhiều yếu tố bất thuận khác nhau. Thông qua yếu tố DREB có tác động *cis* và vùng bám ADN AP2/ERF, yếu tố phiên mã DREB giúp tăng cường khả năng chống chịu của cây trồng đối với điều kiện hạn, mặn, nóng [2].

Gen *ZmDREB2A* mã hóa cho nhân tố phiên mã nhóm DREB ở cây ngô được tăng cường biểu hiện khi cây ngô gặp điều kiện hạn, mặn, nóng và lạnh. Nghiên cứu chuyển gen *ZmDREB2A* vào cây mô hình *Arabidopsis thaliana* cho thấy, gen này đóng vai trò điều hòa biểu hiện của các gen liên quan đến cả điều kiện hạn và nóng, làm tăng cường biểu hiện các gen mã hóa protein LEA, các gen liên quan đến sốc

nhiệt và giải độc tế bào [3]. Chuyển gen thuộc nhóm DREB cũng giúp tăng khả năng chống chịu điều kiện bất thuận ở các cây trồng khác như thuốc lá [4], lúa [5] và lúa mì [6].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng chịu hạn và một số chỉ tiêu sinh hóa của các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* ở giai đoạn cây con. Kết quả nghiên cứu là cơ sở để sàng lọc và lựa chọn nguồn vật liệu phục vụ cho công tác chọn tạo giống ngô lai có khả năng chịu hạn.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* và dòng nền tương ứng (bảng 1).

Bảng 1. Danh sách các dòng ngô tham gia thí nghiệm.

TT	Tên dòng	Ghi chú
1	K3	Dòng nền không chuyển gen
2	K3-CG	Dòng chuyển gen <i>ZmDREB2A</i>
3	K7	Dòng nền không chuyển gen
4	K7-CG	Dòng chuyển gen <i>ZmDREB2A</i>

*Tác giả liên hệ: Email: nxthang@gmail.com

Evaluation of biochemical parameters and drought resistance in *ZmDREB2A* transgenic maize at the seedling stage

Thi Bich Thao Doan¹, Xuan Thang Nguyen^{1*},
Tuan Anh Le¹, Cong Tung Le¹, Thi Thu Hoai Nguyen¹,
Cong Luc Le¹, Van Hai Nong², Manh Cuong Bui¹

¹National Maize Research Institute

²Institute of Genome Research

Received 12 February 2019; accepted 8 April 2019

Abstract:

DREB transcription factor group is related to responses of plants to abiotic stresses including drought. In this study, the *ZmDREB2A* transgenic maize lines at the seedling stage were evaluated for drought resistance and biochemical characteristics. The survival rate of *ZmDREB2A* lines were 2.5 times higher than wildtype plants in artificial drought tests. Morphological characteristics also showed the root length of *ZmDREB2A* lines were 21-28% higher than that of control groups, which indicates *ZmDREB2A* lines could suffer drought better. Moreover, the chlorophyll concentration of *ZmDREB2A* lines was 10% higher than the wildtype in drought condition. Other parameters such as proline and nonstructural carbohydrate accumulation of the transgenic lines were higher as compared to control groups.

Keywords: drought resistance, maize, proline, transgenic, *ZmDREB2A*.

Classification number: 4.6

Phương pháp nghiên cứu

Gây hạn nhân tạo ở giai đoạn cây con: thí nghiệm gây hạn nhân tạo được tiến hành ở giai đoạn cây con trong nhà lưới theo phương pháp của Camacho và Caraballo (1994) [7]. Hạt ngô được gieo trong xô chứa giá thể xỉ than và đất đã tưới nước bão hòa. Tia bỏ các cây không đồng đều, giữ lại 6 cây/xô, 3 cây bên trái là dòng ngô không mang gen *ZmDREB2A* (dòng nền), 3 cây bên phải dòng ngô mang gen *ZmDREB2A*. Tiến hành không tưới nước liên tục 15 ngày khi cây có 5-7 lá nhằm gây hạn, đánh giá biểu hiện cây trong điều kiện hạn. Sau đó tưới nước trở lại trong 7 ngày và đánh

giá tỷ lệ cây sống, khả năng hồi phục sau hạn.

Xác định hàm lượng Chl: hàm lượng Chl được xác định theo phương pháp của Porra (2006) [8]. Mô lá (10 mg) được đưa vào ống eppendorf. Bổ sung 20 µl aceton 80%, nghiền bằng chày nhựa, sau đó thêm aceton 80% để đạt thể tích 1,5 ml. Ly tâm ở 2.000 vòng/phút trong 1 phút, thu 1 ml dịch nổi. Đo quang phổ hấp thụ ở bước sóng 646 và 664 nm. Hàm lượng Chl được tính theo công thức:

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/mg}) = [12,7 \times (A 664) - 2,69 \times (A 646)] \times \text{hệ số pha loãng}$$

$$\text{Chl b } (\mu\text{g/mg}) = [22,9 \times (A 646) - 4,68 \times (A 664)] \times \text{hệ số pha loãng}$$

Xác định hàm lượng proline: hàm lượng proline được xác định bằng phương pháp so màu [9]. Mô lá (50 mg) được nghiền trong nitor lỏng, bỏ vào ống eppendorf 2 ml. Bổ sung 1,5 ml acid sulfosalicylic 3% (w/v), lắc đều, sau đó ly tâm ở 7.000 vòng/phút trong 20 phút. Thu 300 µl dịch nổi, bổ sung 600 µl axit sulfosalicylic 3%.

Thực hiện phản ứng màu bằng cách lấy 200 µl dịch trong cho vào ống eppendorf, bổ sung 200 µl axit axetic và 200 µl dung dịch ninhydrin (0,1 g ninhydrin + 2,4 ml axit axetic + 1,6 ml acid phosphoric 6M), ủ phản ứng ở 100°C trong 1 giờ, sau đó dừng phản ứng. Bổ sung 400 µl toluence vào hỗn hợp phản ứng, lắc đều, thu 200 µl dịch nổi. Tiếp tục bổ sung 800 µl toluence và đo quang phổ ở bước sóng 520 nm. Xây dựng đường chuẩn để tính hàm lượng proline.

Xác định hàm lượng NSC: hàm lượng NSC được xác định theo phương pháp của Ohnishi và Horie (1999) [10]. Mẫu lá (0,5 g) được nghiền nhỏ, cho vào ống falcon 50 ml, thêm 30 ml nước cất rồi đun ở 100°C trong 60 phút. Sau khi ống nguội, bổ sung 20 ml Sodium phosphate-phosphoric acid buffer (pH 7,4). Lắc ở 200 vòng/phút, nhiệt độ 40°C trong 24h. Lọc mẫu bằng giấy lọc rồi làm khô phần cặn thu được ở 135°C trong 4h. Cân lượng mẫu còn lại và tính hàm lượng NSC theo công thức:

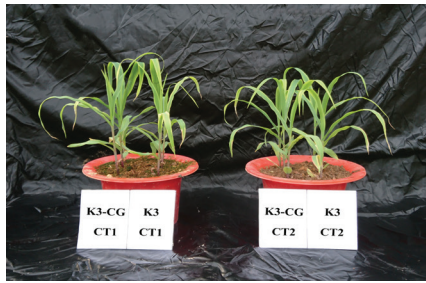
$$\text{NSC } (\%) = (\text{Khối lượng mẫu}/\text{Khối lượng mẫu sau sấy})/\text{Khối lượng mẫu} \times 100$$

Xử lý số liệu: số liệu được xử lý bằng chương trình IRRISTAT 5.0 và Microsoft Excel 2013.

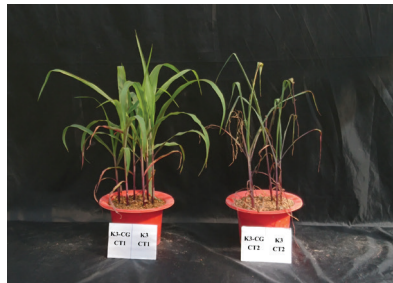
Kết quả và thảo luận

Hình thái và khả năng phục hồi của các dòng ngô mang gen *ZmDREB2A* trong điều kiện hạn

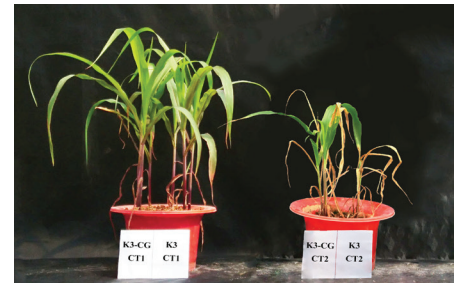
Giai đoạn trước khi xử lý hạn nhân tạo, các dòng ngô đều phát triển bình thường (hình 1A và 2A). Đến giai đoạn gây hạn, các dòng ngô thí nghiệm có biểu hiện cuộn lá ở mức độ khác nhau, sinh trưởng chậm lại so với đối chứng được tưới nước đầy đủ (hình 1B và 2B). Sau 15 ngày gây hạn, cây ngô bị hạn xuất hiện lá chết khô ở tầng lá dưới và đỉnh lá.



A: chưa xử lý hạn



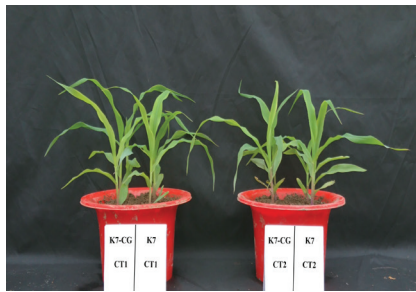
B: đã xử lý hạn



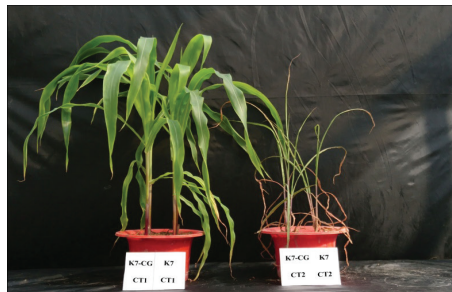
C: sau khi phục hồi

Hình 1. Hình thái các dòng ngô K3 chuyển gen và dòng nền trong giai đoạn gây hạn.

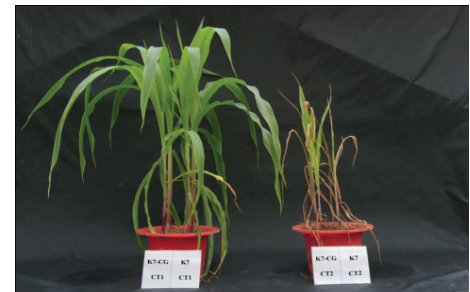
Ghi chú: 3 cây bên trái: dòng chuyển gen; 3 cây bên phải: dòng nền; công thức 1: tưới nước đầy đủ (CT1); công thức 2: gây hạn và phục hồi (CT2); K3: dòng nền; K3-CG: dòng K3 mang gen *ZmDREB2A*.



A: chưa xử lý hạn



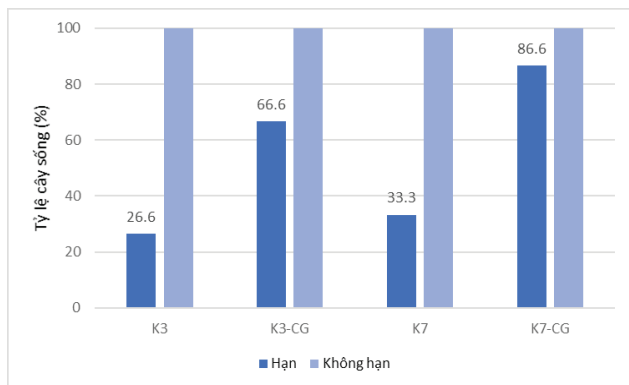
B: đã xử lý hạn



C: sau khi phục hồi

Hình 2. Hình thái các dòng ngô K7 chuyển gen và dòng nền trong giai đoạn gây hạn.

Kết thúc giai đoạn gây hạn và tưới nước trở lại, dòng ngô K3-CG và K7-CG mang gen *ZmDREB2A* có biểu hiện phục hồi sinh trưởng nhanh hơn dòng nền, thể hiện qua hình thái và tỷ lệ cây sống cao hơn (hình 1C và 2C). Tỷ lệ sống của cây K3-CG có gen *ZmDREB2A* (66,6%) cao gấp 2,5 lần so với dòng nền K3 (26,6%). Các cây K7-CG mang gen *ZmDREB2A* có tỷ lệ sống cao hơn 2,6 lần so với dòng nền (hình 3).



Hình 3. Tỷ lệ cây sống của các dòng ngô K3, K7 - mang gen *ZmDREB2A* và các dòng nền tương ứng sau khi kết thúc giai đoạn hạn và được tưới phục hồi.

Đặc điểm thân lá và rễ của các dòng ngô mang gen *ZmDREB2A* trong điều kiện hạn

Trong điều kiện tưới nước đủ, các cây ngô cùng nguồn sinh trưởng, phát triển đồng đều về thân lá và rễ, không có

khác biệt mang ý nghĩa thống kê giữa dòng K3 và K3-CG hoặc giữa dòng K7 và K7-CG. Ở điều kiện hạn nhân tạo, các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* có chiều dài, khối lượng của thân lá và rễ, thể tích rễ cao hơn so với dòng nền (bảng 2). Trong đó, khả năng phát triển bộ rễ trong điều kiện hạn là một đặc điểm quan trọng giúp thực vật chống chịu stress hạn. Do đó, đây là một tiêu chí quan trọng trong chọn giống chịu hạn. Ở điều kiện hạn, chiều dài rễ của dòng K3-CG giảm 11,21% so với không gây hạn, còn dòng nền (K3) giảm đến 30,69%. Tương tự, dòng K7-CG gặp hạn có chiều dài rễ giảm 9,92% so với không gây hạn. Dòng nền tương ứng (K7) có tỷ lệ giảm chiều dài rễ lên tới 25,74%. Qua kết

Bảng 2. Đặc điểm thân lá và rễ tươi của các dòng ngô mang gen *ZmDREB2A* và dòng nền trong điều kiện hạn nhân tạo.

Dòng	Chiều dài thân lá (cm)		Chiều dài rễ (cm)		Khối lượng thân tươi (g)		Khối lượng rễ tươi (g)		Thể tích rễ (ml)						
	Hạn	Không hạn	Hạn	Không hạn	Hạn	Không hạn	Hạn	Không hạn	Hạn	Không hạn					
	Tỷ lệ giảm so với không hạn (%)		Tỷ lệ giảm so với không hạn (%)		Tỷ lệ giảm so với không hạn (%)		Tỷ lệ giảm so với không hạn (%)		Tỷ lệ giảm so với không hạn (%)						
K3	51,7	72,8	28,98	16,08	23,20	30,69	3,97	11,87	66,55	0,32	1,94	83,51	1,01	4,52	77,65
K3-CG	53,5	71,5	25,17	20,60	23,20	11,21	3,84	10,76	64,31	0,84	1,94	56,70	1,91	4,53	57,84
K7	56,7	77,8	27,12	19,50	26,26	25,74	3,06	11,97	74,44	0,34	1,96	82,65	1,13	4,64	75,65
K7-CG	60,2	76,8	21,61	23,60	26,20	9,92	4,16	10,96	62,04	0,89	1,96	54,59	2,09	4,65	55,05
CV%	4,2		5,7		2,8		2,2		0,9						
LSD _{0,05}	1,99		0,92		0,168		0,02		0,013						

qua ở bảng 2 cho thấy, ở tất cả các chỉ tiêu đánh giá (chiều dài thân lá, chiều dài rễ, khối lượng rễ tươi, thể tích rễ tươi) của các dòng nền có tỷ lệ giữa gây hạn và không gây hạn cao hơn ở dòng chuyển gen tương ứng, điều đó chứng tỏ các dòng chuyển gen có khả năng sinh trưởng và phát triển hơn các dòng nền trong điều kiện hạn.

Đánh giá các đặc điểm hình thái giữa hai dòng ngô mang gen *ZmDREB2A* cho thấy, dòng K7-CG có khả năng sinh trưởng, phát triển và chịu hạn cao hơn dòng K3-CG. Ở điều kiện hạn, dòng K7-CG có chiều dài rễ lớn nhất trong các dòng ngô thí nghiệm (23,6 cm), cao hơn 14,5% so với dòng K3-CG. Bên cạnh đó, chiều dài thân lá của dòng K7-CG (60,2 cm) lớn hơn 12,5% so với chiều dài thân lá của dòng K3-CG (53,5 cm).

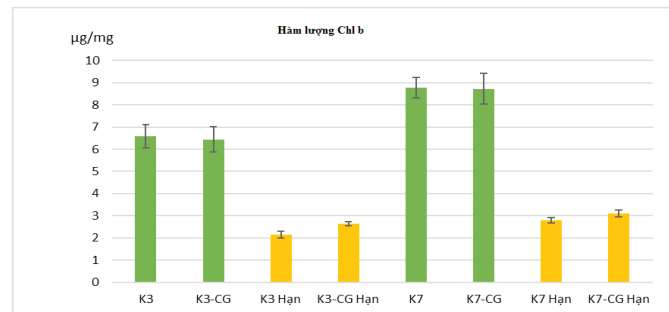
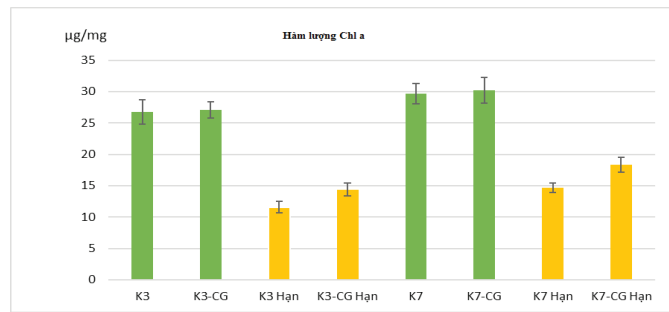
Khả năng tích lũy sinh khối của các cây chuyển gen *ZmDREB2A* cao hơn so với cây không chuyển gen, thể hiện qua khối lượng thân lá và rễ khô (bảng 3). Ở điều kiện hạn nhân tạo, dòng K3-CG và K7-CG có tổng sinh khối khô cao hơn so với dòng nền tương ứng 2,48 và 2,2 lần. Các dòng ngô nền K3, K7 có tỷ lệ giảm mạnh về khối lượng thân khô (87,15-89,5%), rễ khô (83,33-76,27%), trong khi các dòng chuyển gen tương ứng tỷ lệ này thấp hơn rõ rệt.

Bảng 3. Khối lượng thân, rễ khô, tổng sinh khối khô của các dòng ngô mang gen *ZmDREB2A* và dòng nền trong điều kiện hạn nhân tạo.

Dòng	Khối lượng thân khô (g)			Khối lượng rễ khô (g)			Tổng sinh khối khô (g)		
	Hạn	Không hạn	Tỷ lệ giảm so với không hạn (%)	Hạn	Không hạn	Tỷ lệ giảm so với không hạn (%)	Hạn	Không hạn	Tỷ lệ giảm so với không hạn (%)
K3	0,59	5,62	89,50	0,09	0,54	83,33	0,68	6,16	88,96
K3-CG	1,53	5,63	72,82	0,16	0,55	70,91	1,69	6,18	72,65
K7	0,74	5,76	87,15	0,14	0,59	76,27	0,88	6,35	86,14
K7-CG	1,72	5,77	70,19	0,22	0,6	63,33	1,94	6,37	69,54
CV%	0,8			4,7			1		
LSD _{0,05}	0,019			0,012			0,028		

Đánh giá một số chỉ tiêu sinh hóa của các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* trong điều kiện hạn nhân tạo

Hàm lượng Chl của các dòng ngô trong điều kiện hạn giảm mạnh so với điều kiện bình thường (hình 4). Khi tưới đủ nước, hàm lượng Chl a không có khác biệt mang ý nghĩa thống kê giữa cây chuyển gen *ZmDREB2A* và cây không chuyển gen. Hàm lượng Chl a ở các dòng ngô nằm trong khoảng 27-30 µg/mg ở điều kiện bình thường. Trường hợp gặp stress hạn, hàm lượng Chl a ở dòng K3, K3-CG đạt lần lượt 11,6 và 14,4 µg/mg, tương ứng với mức giảm 58 và 48% so với điều kiện không hạn. Dòng K7, K7-CG có hàm lượng Chl a là 14,6 và 18,3 µg/mg, tương ứng giảm 51 và 40% so với điều kiện tưới đầy đủ.



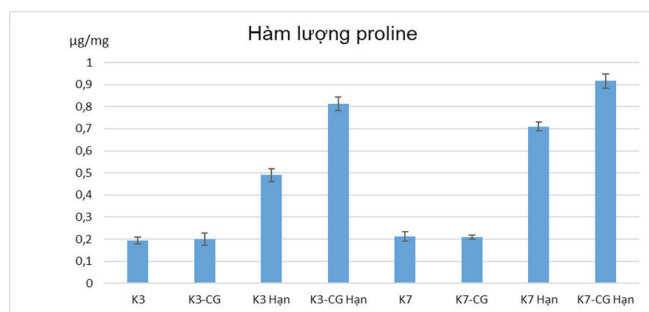
Hình 4. Hàm lượng Chl a và b của các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* và dòng nền.

Với vai trò là nhóm sắc tố phụ, hàm lượng Chl b thấp hơn so với Chl a. Hàm lượng Chl b ở các dòng chuyển gen và dòng nền tương đương nhau khi được tưới đầy đủ. Dưới điều kiện hạn, hàm lượng Chl b ở mẫu K3 và K3-CG giảm xuống còn 2,1 và 2,6 µg/mg, trong khi ở K7 và K7-CG là 2,78 và 3,09 µg/mg.

Tác động của hạn làm giảm mạnh hàm lượng Chl không chỉ ở ngô mà còn ở nhiều loài cây khác nhau [11, 12]. Tuy nhiên, các cây chuyển gen *ZmDREB2A* (K3-CG, K7-CG) duy trì được hàm lượng Chl a và b cao hơn so với cây không chuyển gen khoảng 10%.

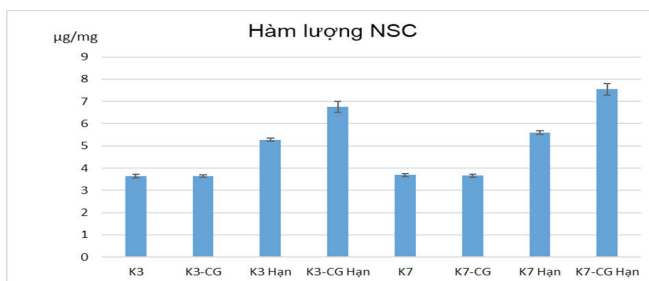
Một trong những cơ chế liên quan đến khả năng chịu hạn của cây trồng là sự tích lũy các chất hòa tan như proline. Proline là axit amin giúp điều hòa áp suất thẩm thấu tế bào, được tăng cường tích lũy khi thực vật gặp điều kiện bất thuận như hạn [13].

Hàm lượng proline tự do ở dòng ngô đạt mức 2 µg/mg trong điều kiện bình thường và tăng mạnh trong điều kiện hạn (hình 5). Dưới tác động của hạn, hàm lượng proline tự do trong dòng ngô K3, K3-CG tăng lần lượt 2,5 lần và 4 lần so với điều kiện bình thường, đạt mức 0,49 và 0,81 µg/mg. Dòng K7 và K7-CG gặp hạn có hàm lượng proline là 0,71 và 0,92 µg/mg, tương ứng gấp 3,55 và 4,5 lần so với điều kiện không hạn. Sự gia tăng hàm lượng proline tự do là một đáp ứng với điều kiện hạn xảy ra ở cả cây chuyển gen và không chuyển gen. So sánh giữa các dòng thí nghiệm, các dòng chuyển gen *ZmDREB2A* tổng hợp lượng proline tự do nhiều hơn so với dòng nền.



Hình 5. Hàm lượng proline của các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* và dòng nền.

Kết quả trên tương đồng với các nghiên cứu trên thế giới về hạn ở cây ngô. Jain và cs (2010) [14] đã sử dụng sorbitol để gây hạn nhân tạo *in vitro*, cho thấy tương quan tuyến tính giữa nồng độ sorbitol trong môi trường và hàm lượng proline ở lá ngô. Nghiên cứu của Efeoğlu và cs (2009) [15] trên 3 giống ngô Doge, Luce, Vero cũng cho thấy, hàm lượng proline tăng lên đáng kể khi gây hạn nhân tạo bằng cách không tưới nước trong 12 ngày.



Hình 6. Hàm lượng NSC của các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* và dòng nền.

Bên cạnh proline, hàm lượng các dạng NSC cũng thường gia tăng khi thực vật gặp stress hạn, với vai trò điều hòa áp suất thẩm thấu. Ở điều kiện tưới nước đầy đủ, hàm lượng NSC ở dòng chuyển gen *ZmDREB2A* và dòng nền tương đương nhau. Khi gặp hạn, dòng K3-CG có hàm lượng NSC lần lượt đạt 6,76 µg/mg, cao hơn 28% so với dòng K3 (5,27 µg/mg). Hàm lượng NSC trong điều kiện hạn ở dòng K7-CG là 7,55 µg/mg, cao hơn 35% so với dòng K7 (5,6 µg/mg) (hình 6).

Như vậy, khi gặp stress hạn, các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* (K3-CG, K7-CG) có hàm lượng Chl, proline và NSC cao hơn dòng nền (K3, K7). Giữa hai dòng chuyển gen, các chỉ số này ở dòng K7-CG cao hơn so với dòng K3-CG. Kết quả phân tích sinh hóa phù hợp với những đánh giá về đặc điểm hình thái của các dòng ngô tham gia thí nghiệm.

Kết luận

Nghiên cứu đã đánh giá được khả năng chịu hạn của dòng ngô K3-CG, K7-CG mang gen *ZmDREB2A* cùng dòng nền tương ứng (K3, K7) ở giai đoạn cây con. Kết quả cho thấy, các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* có tỷ lệ sống cao hơn khoảng 2,5 lần so với dòng nền. Các đặc điểm

hình thái và sinh hóa liên quan đến khả năng chịu hạn ở dòng chuyển gen (K3-CG, K7-CG) biểu hiện tốt hơn dòng nền (K3, K7). Do đó, đây là những nguồn vật liệu tiềm năng cho công tác chọn tạo giống ngô chịu hạn.

Đề nghị tiếp tục đánh giá khả năng chịu hạn của các dòng ngô chuyển gen *ZmDREB2A* ở các giai đoạn sinh trưởng khác (trước và sau trổ).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] E.A. Bray, J. Bailey-Serres, E. Weretilnyk (2000), *Responses to abiotic stresses*, in *Biochemistry and molecular biology of plants*, American Society of Plant Biologists.
- [2] C. Lata, M. Prasad (2011), "Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants", *Journal of Experimental Botany*, **62**(14), pp.4731-4748.
- [3] F. Qin, et al. (2007), "Regulation and functional analysis of *ZmDREB2A* in response to drought and heat stresses in *Zea mays* L.", *The Plant Journal*, **50**(1), pp.54-69.
- [4] M. Kasuga, et al. (2004), "A combination of the Arabidopsis *DREB1A* gene and stress-inducible *rd29A* promoter improved drought- and low-temperature stress tolerance in tobacco by gene transfer", *Plant and Cell Physiology*, **45**(3), pp.346-350.
- [5] S.J. Oh, et al. (2005), "Arabidopsis *CBF3/DREB1A* and *ABF3* in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth", *Plant Physiology*, **138**(1), pp.341-351.
- [6] Y.G. Shen, et al. (2003), "An EREBP/AP2-type protein in *Triticum aestivum* was a DRE-binding transcription factor induced by cold, dehydration and ABA stress", *Theoretical and Applied Genetics*, **106**(5), pp.923-930.
- [7] R.G. Camacho, D.F. Caraballo (1994), "Evaluation of morphological characteristics in Venezuelan maize (*Zea mays* L.) genotypes under drought stress", *Scientia Agricola*, **51**(3), pp.453-458.
- [8] R.J. Porra (2006), "Spectrometric assays for plant, algal and bacterial chlorophyll", *Advances in Photosynthesis and Respiration*, **25**, pp.95-107.
- [9] L. Bates, R. Waldren, I. Teare (1973), "Rapid determination of free proline for water-stress studies", *Plant and Soil*, **39**(1), pp.205-207.
- [10] M. Ohnishi, T. Horie (1999), "A proxy analysis on nonstructural carbohydrate in rice [*Oryza sativa*] plant by using the gravimetric method", *Japanese Journal of Crop Science* (Japan).
- [11] A. Mafakheri, et al. (2010), "Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars", *Australian Journal of Crop Science*, **4**(8), pp.580-585.
- [12] P. Manivannan, et al. (2007), "Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **59**(2), pp.141-149.
- [13] M.M.F. Mansour (2000), "Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress", *Biologia Plantarum*, **43**(4), pp.491-500.
- [14] M. Jain, S. Tiwary, R. Gadre (2010), "Sorbitol-induced changes in various growth and biochemical parameters in maize!", *Plant Soil Environment*, **56**, pp.263-267.
- [15] B. Efeoğlu, et al. (2009), "Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery", *South African Journal of Botany*, **75**(1), pp.34-42.