

## TẠP CHÍ

**NÔNG NGHIỆP  
& PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN**

**p-ISSN 1859-4581  
e-ISSN 2815-6153**

**NĂM THỨ HAI MƯƠI TƯ  
SỐ 487 NĂM 2024  
XUẤT BẢN 1 THÁNG 2 KỲ**

**TỔNG BIÊN TẬP  
TS. NGUYỄN THỊ THANH THỦY  
ĐT: 024.37711070**

**PHÓ TỔNG BIÊN TẬP  
TS. DƯƠNG THANH HẢI  
ĐT: 024.38345457**

**TOÀ SOẠN - TRỊ SỰ**  
Số 10 Nguyễn Công Hoan  
Quận Ba Đình - Hà Nội  
ĐT: 024.37711072  
Fax: 024.37711073  
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn  
Website: www.tapchinongnghiep.vn

**Giấy phép số:**  
114/GP - BTTTT  
Bộ Thông tin và Truyền thông  
cấp ngày 6 tháng 4 năm 2023  
In tại Công ty CP Khoa học và Công  
nghệ Hoàng Quốc Việt

## MỤC LỤC

- ❑ NGUYỄN AN ĐỆ, NGÔ QUANG VINH, NGÔ VIỄN PHƯƠNG, 3-10  
PHẠM HIẾU KIÊN. Nghiên cứu ảnh hưởng của khô hạn trong giai  
đoạn phân hóa mầm hoa đến khả năng ra hoa của giống bưởi Da  
Xanh (*Citrus maxima*) trồng trên đất xám tại tỉnh Bình Dương
- ❑ TRẦN THỊ LAN, NGUYỄN QUANG TIN, NGUYỄN QUỲNH NGA, 11-17  
NGUYỄN THỊ PHƯƠNG, VÕ THUẬN HÓA, NGUYỄN VĂN TÂM.  
Kết quả xác định tên khoa học và phân tích hàm lượng axit  
clorogenic của các mẫu kim ngân thu tại tỉnh Đắk Lắk
- ❑ NGUYỄN TRẦN BẢO DUY, TRƯƠNG VĂN XẠ, NGUYỄN ĐẮC 18-28  
KHOA. Khảo sát cơ chế kích kháng bệnh bạc lá khi phun lên lá lúa  
cao chiết lá sống đời ly trích bằng dung môi methanol
- ❑ NGUYỄN THỊ HIỂN, NGUYỄN ĐỨC LƯƠNG, HOÀNG HIỆP. 29-42  
Nghiên cứu mức độ phát thải khí nhà kính từ đệm lót sinh học được làm từ  
rơm và vỏ cây keo trong chăn nuôi bò thịt
- ❑ NGUYỄN THỊ NGỌC DỄ, CHÂU MINH TÂN, NGUYỄN BẢO LỘC. 43-50  
Nghiên cứu ảnh hưởng của tỉ lệ dịch khoai lang tím bổ sung đến chất  
lượng sữa chua dẻo
- ❑ TRẦN PHƯƠNG CHI, HOÀNG THỊ LỆ HẰNG, TRẦN ĐÌNH THẮNG. 51-60  
Tối ưu hóa một số yếu tố công nghệ trong quá trình lên men hành  
đen bằng phương pháp nhiệt ẩm
- ❑ NGUYỄN NHẬT MINH PHƯƠNG, TRẦN NHƯ ẨM, TRẦN KIM 61-70  
BẢO, LÊ MINH ĐÔ, TRẦN CHÍ NHÂN, TỐNG THỊ ÁNH NGỌC.  
Nghiên cứu sử dụng axit ascorbic trong bảo quản puree bí đỏ  
(*Cucurbita moschata* D.) tiệt trùng đóng hộp
- ❑ LÊ NGUYỄN THIÊN PHÚC, NGUYỄN MINH THÀNH. 71-81  
Đánh giá khả năng diệt vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* của các chế phẩm  
thiên nhiên và hiệu quả của các chế phẩm trong phòng bệnh trên  
tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*)
- ❑ HOÀNG THỊ THU TRANG, PHẠM VĂN ĐIỂN, TRẦN VIỆT HÀ, 82-90  
LƯƠNG KIM CHI, DOÃN CAO CƯỜNG, ĐOÀN THỊ THU HƯƠNG,  
ĐẶNG NGỌC HUYỀN, PHẠM MAI PHƯƠNG, , VŨ ĐÌNH DUY. Đặc  
điểm giải phẫu lá và sinh lý loài Vẹt hainesii (*Bruguiera hainesii* C. G.  
Rogers) tại Vườn Quốc gia Côn Đảo, tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu
- ❑ KIỀU THỊ DƯƠNG, NGUYỄN HÙNG THỊNH, BÙI XUÂN DŨNG, 91-100  
PHÙNG VĂN KHOA, NÔNG LINH KHÁNH HẠ, TRƯƠNG HẢI YẾN.  
Ảnh hưởng của chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài đến khả  
năng thấm và giữ nước của đất ở một số vùng đầu nguồn Việt Nam

**VIETNAM JOURNAL OF  
AGRICULTURE AND RURAL  
DEVELOPMENT**

**p-ISSN 1859-4581  
e-ISSN 2815-6153**

**THE TWENTY FOURTH YEAR**  
No. 487 - 2024

**Editor-in-Chief**  
**Dr. NGUYEN THI THANH THUY**  
Tel: 024.37711070

**Deputy Editor-in-Chief**  
**Dr. DUONG THANH HAI**  
Tel: 024.38345457

**Head-office**  
No 10 Nguyenconghoan  
Badinh - Hanoi - Vietnam  
Tel: 024.37711072  
Fax: 024.37711073  
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn  
Website: www.tapchinongnghiep.vn

License No.114/GP - BTTTT issued  
by the Ministry of Information and  
Communication on April 6, 2023  
Printing in Hoang Quoc Viet technology  
and science joint stock company

**CONTENTS**

- ❑ NGUYEN AN DE, NGO QUANG VINH, NGO VIEN PHUONG, PHAM HIEU KIEN. A study on the effect of water stress in flower bud formation stage on flowering afterward of pomelo (*Citrus maxima*) on gray soil in Binh Duong province 3-10
- ❑ TRAN THI LAN, NGUYEN QUANG TIN, NGUYEN QUYNH NGA, NGUYEN THI PHUONG, VO THUAN HOA, NGUYEN VAN TAM. The result of acid clorogenic content assessment and scientific name identification of collected *Lonicera* accessions in Dak Lak province 11-17
- ❑ NGUYEN TRAN BAO DUY, TRUONG VAN XA, NGUYEN DAC KHOA. Investigation of induced resistance against rice bacterial leaf blight of methanol *Kalanchoe pinnata* leaf extracts using foliar spraying 18-28
- ❑ NGUYEN THI HIEN, NGUYEN DUC LUONG, HOANG HIEP. Greenhouse gas emissions from bio-bedding in cow farming 29-42
- ❑ NGUYEN THI NGOC DE, CHAU MINH TAN, NGUYEN BAO LOC. Effect of purple sweet potato solution ratio on the quality of sticky yogurt 43-50
- ❑ TRAN PHUONG CHI, HOANG THI LE HANG, TRAN DINH THANG. Optimization of some technological factors in the fermentation of black shallot using moist heat method 51-60
- ❑ NGUYEN NHAT MINH PHUONG, TRAN NHU ANH, TRAN KIM BAO, LE MINH DO, TRAN CHI NHAN, TONG THI ANH NGOC. Study on ascorbic acid used in preserving the sterilized pumpkin (*Cucurbita moschata* D.) puree 61-70
- ❑ LE NGUYEN THIEN PHUC, NGUYEN MINH THANH. Evaluation of the antimicrobial capability of bioproducts against *Vibrio parahaemolyticus* and their effectiveness in disease prevention for white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) 71-81
- ❑ HOANG THI THU TRANG, PHAM VAN DIEN, TRAN VIET HA, LUONG KIM CHI, DOAN CAO CUONG, DOAN THI THU HUONG, DANG NGOC HUYEN, PHAM MAI PHUONG, VU DINH DUY. A study on leaf anatomical features and physiological characteristics of *Bruguiera hainesii* C. G. Rogers in Con Dao National Park, Ba Ria - Vung Tau province 82-90
- ❑ KIEU THI DUONG, NGUYEN HUNG THINH, BUI XUAN DUNG, PHUNG VAN KHOA, NONG LINH KHANH HA, TRUONG HAI YEN. Impacts of commercial Acacia plantation rotation on soil water retention capacity in headwaters mountains of Vietnam 91-100

# NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA KHÔ HẠN TRONG GIAI ĐOẠN PHÂN HÓA MẦM HOA ĐẾN KHẢ NĂNG RA HOA CỦA GIỐNG BƯỞI DA XANH (*Citrus maxima*) TRỒNG TRÊN ĐẤT XÁM TẠI TỈNH BÌNH DƯƠNG

Nguyễn An Đề<sup>1,\*</sup>, Ngô Quang Vinh<sup>1</sup>, Ngô Viễn Phương<sup>1</sup>, Phạm Hiếu Kiên<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nông nghiệp

\*Email: trungtamncnn@gmail.com

## TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định thời gian khô hạn phù hợp trong giai đoạn phân hóa mầm hoa, từ đó làm tăng khả năng ra hoa của giống bưởi Da Xanh. Thí nghiệm được thực hiện trên vườn bưởi Da Xanh 8 năm tuổi, trồng trên đất xám tại tỉnh Bình Dương, bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 công thức, 5 lần lặp lại, mỗi công thức 1 cây. Các công thức là 4 mức độ khô hạn trong giai đoạn phân hóa mầm hoa (tạo khô hạn 10, 15, 20 ngày và đối chứng là 25 ngày). Kết quả cho thấy, ẩm độ đất trong giai đoạn phân hóa mầm hoa và số hoa hình thành có tương quan nghịch với nhau; công thức khô hạn 20 ngày tương ứng ẩm độ đất 22,8% giúp số hoa hình thành nhiều nhất so với các công thức còn lại.

**Từ khóa:** Bưởi Da Xanh, xử lý ra hoa, tạo khô hạn.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bưởi Da Xanh (*Citrus maxima*) là cây ăn quả có phẩm chất ngon được trồng nhiều ở Nam bộ, trong đó tỉnh Bình Dương có diện tích trồng bưởi Da Xanh rất lớn, khoảng 1.927 ha [1]. Tuy nhiên, hiện nay nhà vườn đang gặp một số trở ngại trong canh tác cây bưởi Da Xanh, trong đó tình trạng ra hoa không ổn định dẫn đến năng suất không ổn định là khó khăn chính. Vì vậy, việc nghiên cứu biện pháp xử lý ra hoa cho bưởi Da Xanh là rất cần thiết.

Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến khả năng ra hoa cây bưởi Da Xanh như: Tuổi cây, tuổi lá, số lá trên chồi, nhiệt độ, phân bón, ẩm độ đất, stress nước và hóa chất... Trong đó, việc tạo khô hạn gây stress trong giai đoạn phân hóa mầm hoa đóng vai trò rất quan trọng trong quá trình xử lý. Nhằm xác định thời gian khô hạn phù hợp trong giai đoạn phân hóa mầm hoa để giúp cây bưởi Da Xanh ra hoa thuận lợi trong điều kiện tại tỉnh Bình Dương, “Nghiên cứu ảnh hưởng của khô hạn trong giai đoạn phân hóa mầm hoa đến khả năng ra hoa của giống bưởi Da Xanh (*Citrus maxima*) trồng trên đất xám tại tỉnh Bình Dương” đã được thực hiện.

## 2. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống bưởi Da Xanh 8 năm tuổi, mật độ 200 cây/ha (khoảng cách trồng 6 x 8 m).

- Vật tư hệ thống tưới, màng phủ nông nghiệp để cách ly nước mưa khi tạo khô hạn cho cây, phân bón compost, phân urea (46% N), super lân (16,5% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), KCl (60% K<sub>2</sub>O), NPK 16 - 16 - 8 + TE, NPK 20 - 20 - 15 + TE. Phân bón lá Atonik, MKP (0 - 52 - 34), Growmore (6 - 30 - 30). Thuốc trừ côn trùng hoạt chất abamectin, dầu khoáng, bacillus thuringiensis, alpha cypermethrin; thuốc trừ bệnh hoạt chất mancozeb, metalaxyl, pseudomonas fluorescens, kasugamycin.

- Thè treo, máy phun thuốc, máy chụp ảnh, dụng cụ chăm sóc vườn; các thiết bị thí nghiệm liên quan tại phòng thí nghiệm phân tích hóa sinh.

### 2.2. Nội dung nghiên cứu

Ảnh hưởng của các mức khô hạn khác nhau đến khả năng ra hoa của giống bưởi Da Xanh trồng trên đất xám tại tỉnh Bình Dương.

### **2.3. Phương pháp nghiên cứu và bố trí thí nghiệm**

- Phương pháp bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 4 công thức, mỗi công thức 1 cây, nhắc lại 5 lần. Các công thức của thí nghiệm như sau:

Công thức 1 (CT1): Tạo khô hạn giai đoạn phân hóa mầm hoa 10 ngày.

Công thức 2 (CT2): Tạo khô hạn giai đoạn phân hóa mầm hoa 15 ngày.

Công thức 3 (CT3): Tạo khô hạn giai đoạn phân hóa mầm hoa 20 ngày.

Công thức 4 (CT4): Tạo khô hạn giai đoạn phân hóa mầm hoa 25 ngày (Đ/C).

- Phương pháp tiến hành:

*Bước 1 - Tạo lá mới:* Sau khi thu hoạch xong tiến hành vệ sinh vườn, cắt tỉa cành già, cành sâu, bệnh, làm cỏ, quét vôi gốc rồi bón phân NPK 16 - 16 - 8 + TE với lượng 1 kg/cây. Phân bón compost 20 kg/cây. Phun phân bón lá Atonik (khoảng 2 lần cách nhau 7 ngày) để kích thích ra lá mới. Cắt cành để tạo cành chân chim cho vụ sau.

*Bước 2 - Thúc đẩy phân hóa mầm hoa:* Đến 15/3 dương lịch thì bón phân NPK 16 - 16 - 8 + TE với lượng 1 kg/cây. Sau 1 tuần bón tiếp super lân (1 kg/cây), KCl (1 kg/cây). Tưới 3 ngày liên tục (mỗi ngày 1 lần) và tạo điều kiện cho phân tan ngấm vào đất, sau đó dùng tưới tạo khô hạn theo các công thức của thí nghiệm. Trong thời gian khô hạn, dùng các loại phân bón lá MKP (0 - 52 - 34), Growmore (6 - 30 - 30) phun lên cây để giúp lá non nhanh thành thực (lần lượt cách nhau 5 ngày/lần). Lấy lá trên cành chân chim (mỗi cành cấp 1 lấy lá 50 cành chân chim), sau đó bấm ngọn cành chân chim.

*Bước 3 - Kích thích ra hoa:* Sau thời gian khô hạn theo các công thức của thí nghiệm, tưới nước trở lại 3 ngày một lần, lượng nước 120 lít/cây/lần. Kết hợp phun Growmore (10 - 60 - 10), KNO<sub>3</sub> (lần lượt cách nhau 5 ngày) để kích thích ra hoa.

- Các mốc thời gian thực hiện thí nghiệm: Chăm sóc sau thu hoạch bắt đầu từ 15/1. Thời gian phân hóa mầm hoa bắt đầu từ khi tạo khô hạn 25/3 (trong thời gian này lấy lá cành chân chim

vào 5/4). Giai đoạn kích thích ra hoa bắt đầu từ khi tưới nước trở lại (tùy từng công thức thí nghiệm). Thời gian ra hoa tùy từng công thức thí nghiệm (khoảng đầu tháng 5).

- Phương pháp lấy mẫu đất: Đất được lấy 9 điểm theo đường chéo góc trên một vườn, mỗi điểm lấy ở độ sâu 20 - 60 cm bằng khoan chuyên dụng có đường kính lỗ khoan 8,25 cm. Sau đó trộn 9 mẫu đất lại thành hỗn hợp, lấy 5 kg hỗn hợp đem đi phân tích tại Trung tâm Phân tích và Dịch vụ Khoa học Công nghệ Nông nghiệp.

- Phương pháp đo độ ẩm đất: Vị trí đo độ ẩm đất cách gốc cây bưởi 2/3 bán kính hình chiếu tán cây; mỗi cây lấy 4 vị trí ở 4 hướng Đông, Tây, Nam, Bắc của cây, sau đó trộn thành 1 mẫu hỗn hợp; độ sâu lấy mẫu là 30 cm. Dụng cụ đo độ ẩm đất là máy cầm tay EXTECH MO750.

- Phương pháp xác định thời gian ra hoa: Thời gian được tính là số ngày từ khi tưới nước trở lại đến khi cây ra hoa. Thời điểm ra hoa được ghi nhận khi 5% số cành chân chim ra hoa. Bưởi Da Xanh thường ra hoa trong tán, trên những cành chân chim. Chọn 4 cành cấp 1 theo 4 hướng ở giữa tán cây, đếm tổng số hoa hình thành trên cành cấp 1, sau đó lấy giá trị trung bình cho một cành cấp 1.

- Biện pháp chăm sóc nền: Các biện pháp chăm sóc khác như phòng trừ sâu, bệnh, tưới nước, làm cỏ, tỉa cành tạo tán thực hiện như nhau ở các công thức theo quy trình trồng và chăm sóc cây có múi [2].

- Chỉ tiêu theo dõi: Độ ẩm đất (%) ở tầng 30 cm (đo lần đầu trước khi tạo khô hạn và khi cuối thời gian khô hạn). Thời điểm ra hoa (số ngày từ khi tưới nước trở lại đến khi cây ra hoa). Số hoa (trung bình số hoa hình thành/cành cấp 1). Đánh giá tương quan giữa ẩm độ đất giai đoạn phân hóa mầm hoa và số hoa/cành cấp 1 hình thành sau đó. Phân tích hàm lượng proline trong lá (lấy cặp lá non thứ 2 tính từ ngọn xuống) khi bắt đầu tạo khô hạn và ở thời điểm cuối thời gian khô hạn.

- Phương pháp xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm SAS 9.1 để phân tích phương sai (ANOVA) phát hiện sự khác biệt giữa các nghiệm thức, so sánh giá trị trung bình được kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5%. Các số liệu % được chuyển đổi



theo nguyên tắc thống kê. Vẽ đồ thị phân tích hồi quy bằng phần mềm Microsoft Excel.

**3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN****3.1. Điều kiện thời tiết tại nơi thí nghiệm****Bảng 1. Nhiệt độ, lượng mưa và độ ẩm không khí năm 2022 tại tỉnh Bình Dương**

| Tháng | Nhiệt độ (°C) |          |           | Tổng lượng mưa (mm) | Độ ẩm trung bình (%) |
|-------|---------------|----------|-----------|---------------------|----------------------|
|       | Trung bình    | Cao nhất | Thấp nhất |                     |                      |
| 1     | 25,3          | 34,1     | 17,0      | 6,0                 | 80                   |
| 2     | 25,9          | 35,1     | 18,4      | 12,0                | 76                   |
| 3     | 28,3          | 37,7     | 21,8      | 0,0                 | 75                   |
| 4     | 29,1          | 37,9     | 23,2      | 135,4               | 79                   |
| 5     | 29,6          | 37,2     | 23,7      | 123,6               | 84                   |
| 6     | 27,9          | 35,7     | 23,2      | 369,2               | 90                   |
| 7     | 27,6          | 34,5     | 22,8      | 313,6               | 92                   |
| 8     | 27,9          | 34,7     | 24,0      | 236,8               | 91                   |
| 9     | 27,7          | 35,2     | 23,1      | 489,6               | 91                   |
| 10    | 27,8          | 35,5     | 23,3      | 196,8               | 90                   |
| 11    | 27,7          | 35,4     | 22,8      | 197,6               | 89                   |
| 12    | 27,3          | 35,4     | 20,7      | 38,2                | 83                   |
| Năm   | 27,7          | 37,9     | 17,0      | 2.118,8             | 85                   |

*Nguồn: Đài Khí tượng Thủy văn khu vực Nam bộ (2022) [3]*

Khí hậu tại tỉnh Bình Dương thuộc kiểu khí hậu nhiệt đới, 2 mùa (mùa mưa và mùa khô). Mùa mưa bắt đầu từ tháng 6 đến tháng 11; mùa khô từ tháng 12 đến tháng 5 năm sau. Tổng lượng mưa 2.118,8 mm/năm. Độ ẩm biến động từ 75 - 92%,

trong đó mùa mưa từ 89 - 92%, mùa khô từ 75 - 84%. Nhiệt độ trung bình tháng biến động từ 25,3 - 29,6°C, trong đó mùa mưa từ 27,3 - 27,9°C, mùa khô từ 25,3 - 29,6°C.

**3.2. Đặc điểm đất tại nơi thí nghiệm****Bảng 2. Đặc điểm đất tại nơi thí nghiệm**

| STT | Chỉ tiêu           | Đơn vị tính | Giá trị | Xếp loại                |
|-----|--------------------|-------------|---------|-------------------------|
| 1   | Thành phần cơ giới |             |         | Thành phần cơ giới nặng |
|     | - Hạt >0,02 mm     | %           | 30,18   |                         |

|    |                               |           |       |                |
|----|-------------------------------|-----------|-------|----------------|
|    | - Hạt 0,002 - 0,02 mm         | %         | 23,72 |                |
|    | - Hạt <0,002 mm               | %         | 46,10 |                |
| 2  | Độ sâu mực thủy cấp           | m         | > 2,0 | Thoát nước tốt |
| 3  | pH (KCl)                      |           | 5,42  | Chua ít        |
| 4  | CEC                           | meq/100 g | 17,62 | Thấp           |
| 5  | Chất hữu cơ (C)               | %         | 4,68  | Trung bình     |
| 6  | N tổng số                     | %         | 0,17  | Trung bình     |
| 7  | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | %         | 0,86  | Trung bình     |
| 8  | K <sup>+</sup>                | meq/100 g | 0,56  | Thấp           |
| 9  | Ca <sup>2+</sup>              | meq/100 g | 4,79  | Thấp           |
| 10 | Mg <sup>2+</sup>              | meq/100 g | 0,75  | Trung bình     |

*Ghi chú: Độ sâu lấy mẫu 20 - 60 cm.*

*Nguồn: Trung tâm Phân tích và Dịch vụ Khoa học Công nghệ Nông nghiệp (2021) [4].*

Đất tại nơi thí nghiệm thuộc loại đất xám, thành phần cơ giới nặng. Mực thủy cấp >2 m so với mặt đất, thoát nước tốt, phù hợp cho cây bưởi phát triển. Đất chua ít. Khả năng trao đổi cation thấp.

Hàm lượng dinh dưỡng trong đất từ thấp đến trung bình; trong đó, K, Ca ở mức thấp; C, N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> và Mg ở mức trung bình.

### 3.3. Độ ẩm đất trong quá trình thí nghiệm

**Bảng 3. Độ ẩm đất tại nơi thí nghiệm**

| Công thức | Độ ẩm đất (%) đo lần đầu trước khi tạo khô hạn | Độ ẩm đất (%) đo khi cuối thời gian khô hạn |
|-----------|------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| CT1       | 47,70                                          | 35,5 a                                      |
| CT2       | 48,30                                          | 32,8 b                                      |
| CT3       | 47,50                                          | 22,8 c                                      |
| CT4 (ĐC)  | 47,20                                          | 23,7 c                                      |
| P         | ns                                             | < 0,01                                      |
| CV (%)    | 11,08                                          | 12,74                                       |

*Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ít nhất 1 chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê.*

Độ ẩm đất đo lần đầu trước khi tạo khô hạn ở tầng 30 cm biến động từ 47,2 – 48,3%, khác biệt không ý nghĩa thống kê.

Độ ẩm đất cuối thời gian khô hạn ở tầng 30 cm biến động từ 22,8 – 35,5%, khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tạo khô hạn 20 và 25 ngày độ ẩm hạ thấp so với các công thức tạo khô hạn ít hơn; nhưng giữa 2 công thức 20 và 25 ngày khác biệt không ý nghĩa.

Như vậy, khi thời gian khô hạn tăng lên thì độ ẩm đất giảm xuống. Theo Luyện Hữu Cử và Luyện Thị Hà (2017) [5], đối với đất xám độ ẩm cây héo của đất khoảng từ 6,95 - 8,94%; sức chứa ẩm đồng ruộng tối đa dao động từ 24,48 - 28,69%. Độ ẩm hữu hiệu đất chuyên màu khoảng 20,17%, đất trồng rừng sản xuất khoảng 20,12% và đất trồng cây ăn quả khoảng 16,60%. Như vậy, độ ẩm đất cuối thời gian khô hạn trong thí nghiệm này đang ở mức trên ngưỡng độ ẩm héo cây và vẫn trong ngưỡng độ ẩm hữu hiệu. Qua đó cho thấy, với độ khô hạn trong thí nghiệm này không làm ảnh hưởng đến sinh trưởng cây bưởi Da Xanh.

### 3.4. Thời điểm ra hoa

**Bảng 4. Thời điểm ra hoa (ngày sau khi tưới trở lại) của các công thức thí nghiệm**

| Công thức | Số ngày từ khi tưới trở lại đến khi ra hoa |
|-----------|--------------------------------------------|
| CT1       | 24,9 a                                     |
| CT2       | 20,5 b                                     |
| CT3       | 15,3 c                                     |
| CT4 (ĐC)  | 14,8 c                                     |
| P         | < 0,01                                     |
| CV (%)    | 10,38                                      |

*Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ít nhất 1 chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê.*

Thời điểm ra hoa (ngày sau khi tưới nước trở lại) biến động từ 14,8 - 24,9 ngày, khác biệt có ý

nghĩa thống kê. Tạo khô hạn 20 và 25 ngày ra hoa sớm hơn so với các nghiệm thức có thời gian khô hạn ít hơn; nhưng giữa 2 nghiệm thức 20 và 25 ngày khác biệt không ý nghĩa. Qua đó cho thấy, mức tạo khô hạn 20 ngày là phù hợp giúp cây nhanh ra hoa. Kết quả này phù hợp với kết quả của nhiều nghiên cứu khác, theo đó việc tạo khô hạn giúp cho cây ra hoa sớm. Nghiên cứu của Đoàn Hoàn Dương và cs (2019) [6] về xử lý ra hoa trên cây bưởi Da Xanh tại tỉnh Khánh Hòa cho thấy, tạo khô hạn làm cho cây ra hoa sớm hơn đối chứng. Nghiên cứu của Nguyễn An Độ (2015) [7] trên cây măng cụt cũng cho thấy, tạo khô hạn làm cho cây ra hoa sớm.

### 3.5. Khả năng ra hoa sau khi tưới trở lại

**Bảng 5. Số hoa/cành cấp 1 sau khi tưới trở lại**

| Công thức | Số hoa  |
|-----------|---------|
| CT1       | 123,7 a |
| CT2       | 129,9 a |
| CT3       | 151,3 b |
| CT4 (ĐC)  | 158,7 b |
| P         | < 0,01  |
| CV (%)    | 13,16   |

*Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ít nhất 1 chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê.*

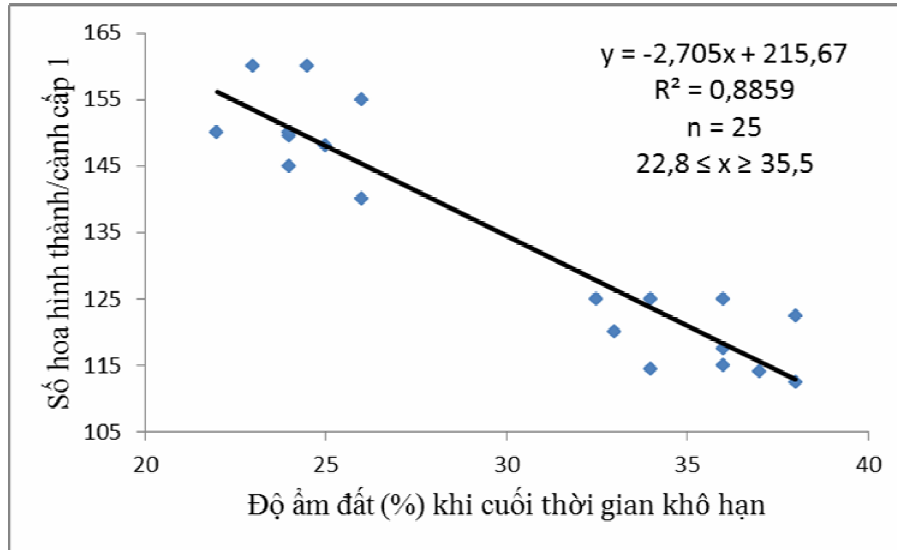
Sau giai đoạn phân hóa mầm hoa, khi tưới nước trở lại thì hoa hình thành. Số hoa biến động từ 123,7 - 158,7, giữa các công thức khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tạo khô hạn 20 và 25 ngày số hoa nhiều hơn so với các công thức tạo khô hạn ít hơn; nhưng giữa 20 và 25 ngày khác biệt không ý nghĩa. Qua đó cho thấy, để giúp cho cây ra hoa thuận lợi, đồng thời vẫn giữ ẩm độ cho cây sinh trưởng tốt thì mức tạo khô hạn 20 ngày là phù hợp.

Kết quả nghiên cứu của Đoàn Hoàn Dương và cs (2019) [6] về xử lý ra hoa trên cây bưởi Da Xanh tại tỉnh Khánh Hòa cho thấy, việc tạo khô hạn trong giai đoạn phân hóa mầm hoa cũng giúp cho

cây ra hoa nhiều hơn so với đối chứng. Kết quả nghiên cứu xử lý ra hoa bưởi Đường Lá Cam tại tỉnh Đồng Nai của Nguyễn An Đệ và cs (2014) [8] cũng cho thấy, xiết nước trong giai đoạn phân hóa mầm hoa giúp cho bưởi Đường Lá Cam ra hoa tỷ lệ cao. Nghiên cứu của Đỗ Đình Ca và cs (2005)

[9]; Ngô Hồng Bình và cs (2015) [10] cũng cho kết quả tương tự khi nghiên cứu xử lý ra hoa trên bưởi Phúc Trạch.

### 3.6. Hồi quy độ ẩm đất giai đoạn khô hạn và số hoa hình thành sau đó



**Hình 1. Đường hồi quy giữa ẩm độ đất khi cuối thời gian khô hạn và số hoa hình thành sau đó**

Trong phạm vi số mẫu  $n = 20$ ;  $22,8 \leq x \leq 35,5$ ; ẩm độ đất và số hoa hình thành có tương quan tỷ lệ nghịch với nhau. Phương trình của đường hồi quy phù hợp có ý nghĩa qua trắc nghiệm F là  $y = -$

$2,705x + 215,67$  với giá trị  $R^2 = 0,8859$ , giá trị F có ý nghĩa ( $FS < 0,05$ ); các hệ số của phương trình đều có ý nghĩa thống kê qua trắc nghiệm t ( $P < 0,05$ ).

### 3.7. Hàm lượng proline trong lá

**Bảng 6. Hàm lượng proline trong lá khi bắt đầu tạo khô hạn và khi cuối thời gian khô hạn**

| Công thức | Hàm lượng proline trong lá (mg/100 g) khi bắt đầu khô hạn | Hàm lượng proline trong lá (mg/100 g) khi cuối thời gian khô hạn |
|-----------|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| CT1       | 0,29                                                      | 0,37                                                             |
| CT2       | 0,25                                                      | 0,39                                                             |
| CT3       | 0,27                                                      | 0,45                                                             |
| CT4 (ĐC)  | 0,24                                                      | 0,57                                                             |

Hàm lượng proline trong lá khi bắt đầu khô hạn ở các công thức biến động từ 0,24 - 0,29 (mg/100 g). Hàm lượng proline trong lá khi cuối thời gian khô hạn các công thức biến động từ 0,37 - 0,57 (mg/100 g).

Xét trong cùng một công thức thì hàm lượng proline trong lá khi cuối thời gian khô hạn tăng lên

so với hàm lượng proline trong lá khi bắt đầu khô hạn. Qua đó cho thấy, khi trải qua stress khô hạn, cây đã có phản ứng thể hiện hàm lượng proline trong lá tăng lên. Mức độ khô hạn càng cao thì hàm lượng proline trong lá tăng lên càng cao.

Kết quả này cũng phù hợp với cơ chế ra hoa được giải thích trong các nghiên cứu khác. Theo

Nels (2004) [11], tình trạng stress của cây gây ra bởi khô hạn làm cho hàm lượng proline và abscisic axit trong chồi tăng lên, làm ức chế sự sinh trưởng của chồi và chuyển sang hình thành mầm hoa. Nghiên cứu của Yoshiko và Toshio (2004) [12] cho thấy, điều kiện khô hạn trong một thời gian phù hợp sẽ tạo ra “stress” ngăn cản hoặc ức chế hoạt động của nơi chứa chất dự trữ, ức chế hình thành tế bào sinh trưởng, tạo điều kiện cần thiết để cây tổng hợp chất kích thích ra hoa dẫn đến sự ra hoa. Beverley (2005) [13] giải thích rằng, biện pháp xiết nước (cùng các biện pháp hỗ trợ khác như bón kali, lân, lấy lá) được xem là những tác động góp làm tăng tỉ lệ C/N trong cây dẫn đến cây ra hoa. Kết quả của nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Stephen và Thomas (1986) [14]; Yoshiko và Toshio (2004) [12] khi nghiên cứu trên cây có múi (*Citrus unshiu*).

#### **4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ**

##### **4.1. Kết luận**

Trên cây bưởi Da Xanh 8 năm tuổi trồng trên đất xám tại tỉnh Bình Dương, tạo khô hạn 20 ngày trong giai đoạn phân hóa mầm hoa vào tháng 3 dương lịch, tương ứng độ ẩm đất cuối chu kỳ tưới đạt 22,8% giúp cho cây ra hoa nhiều hơn so với các công thức còn lại.

Kết quả phân tích hồi quy trong phạm vi số mẫu  $n = 20$ ;  $22,8 \leq$  ẩm độ đất cuối giai đoạn khô hạn  $\leq 35,5$  cho thấy, ẩm độ đất và số hoa hình thành có tương quan tỷ lệ nghịch với nhau.

Hàm lượng proline trong lá khi cuối thời gian khô hạn tăng lên so với khi bắt đầu khô hạn là một trong những dấu hiệu phản ứng của cây trồng khi trải qua stress dẫn đến cây ra hoa sau đó.

##### **4.2. Đề nghị**

Đối với bưởi Da Xanh 8 năm tuổi trở lên, trên đất xám ở tỉnh Bình Dương, có thể đưa kỹ thuật tạo khô hạn 20 ngày trong giai đoạn phân hóa mầm hoa cùng với một số biện pháp hỗ trợ khác vào quy trình xử lý ra hoa để có thêm lựa chọn phương án trong sản xuất.

Cần theo dõi sự ra hoa, năng suất, chất lượng liên tục nhiều năm để có kết luận đầy đủ hơn.

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Sở Nông Nghiệp và PTNT tỉnh Bình Dương (2023). Báo cáo diện tích năng suất và sản lượng một số cây trồng chủ lực tỉnh Bình Dương năm 2023. Tài liệu lưu hành nội bộ.
2. Tiêu chuẩn ngành TCN 481-2001. Quy trình trồng, chăm sóc và thu hoạch cây có múi ở các tỉnh phía Nam.
3. Đài Khí tượng Thủy văn khu vực Nam bộ (2022). Số liệu nhiệt độ, ẩm độ không khí và lượng mưa ở tỉnh Bình Dương năm 2022. Tài liệu lưu hành nội bộ.
4. Trung tâm Phân tích và Dịch vụ Khoa học Công nghệ Nông nghiệp (2021). Kết quả phân tích đất. Tài liệu lưu hành nội bộ.
5. Luyện Hữu Cử và Luyện Thị Hà (2017). Nghiên cứu một số tính chất vật lý của đất xám vùng đồi gò huyện Lạng Giang, tỉnh Bắc Giang. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 4(77): 98 - 100.
6. Đoàn Hoàn Dương, Trần Đức Bình, Huỳnh Thị Bích Tuyền và Nguyễn An Đệ (2019). Ảnh hưởng của biện pháp lấy lá, tạo khô hạn và phun phân bón lá giàu kali đến sự ra hoa trên cây bưởi Da Xanh tại Khánh Hòa. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Khánh Hòa*, 5: 13 - 15.
7. Nguyễn An Đệ (2015). Ảnh hưởng của mức độ tưới nước và hóa chất kích thích đến tỷ lệ ra hoa ở măng cụt ra hoa sớm trong mùa khô ở Đồng Nam bộ. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 6(59): 80 - 82.
8. Nguyễn An Đệ, Huỳnh Thị Bích Tuyền và Nguyễn Thị Nguyên Vân (2014). Kết quả nghiên cứu xử lý ra hoa lệch vụ cho bưởi Đường Lá Cam ở Đồng Nai. Kết quả nghiên cứu khoa học Viện Cây ăn quả miền Nam năm 2014.
9. Đỗ Đình Ca, Nguyễn Văn Dũng và Vũ Việt Hưng (2005). *Nghiên cứu ảnh hưởng của bón phân, tưới nước đến khả năng ra hoa đậu quả, năng suất, phẩm chất bưởi Phúc Trạch tại Hương Khê - Hà Tĩnh*. Nxb Nông nghiệp Hà Nội. Trang 56 - 65.
10. Ngô Hồng Bình, Vũ Việt Hưng và Nguyễn Thị Tuyết (2015). Nghiên cứu hoàn thiện quy trình

cắt tỉa cho bưởi Phúc Trạch tại Hương Khê – Hà Tĩnh. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 1(15): 20 - 27.

11. Nels R. L. (2004). *Flowering Plant Embryology*. Blackwell Publishing. 212 p.

12. Yoshiko K. and Toshio T. (2004). Effect of water stress on flower-bud formation and plant hormone content of satsuma mandarin (*Citrus*

*unshiu* Marc.). *Scientia Horticulturae*, 99(3 - 4): 301 - 307.

13. Beverley J. G. (2005). *Understanding flowers and flowering*. Oxford University Press. 228 p.

14. Stephen S. and Thomas D. (1986). Characterization of water stress and low temperature effects on flower induction in citrus. *Plant Physiology*, 81(1): 26 - 29.

**A STUDY ON THE EFFECT OF WATER STRESS IN FLOWER BUD FORMATION STAGE ON FLOWERING AFTERWARD OF POMELO (*Citrus maxima*) ON GRAY SOIL IN BINH DUONG PROVINCE**

**Nguyen An De<sup>1</sup>, Ngo Quang Vinh<sup>1</sup>, Ngo Vien Phuong<sup>1</sup>, Pham Hieu Kien<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Center for Agricultural Technology Application and Research*

**Summary**

The study aimed to find out the levels of interval watering in flower bud formation stage on the flowering of *Citrus maxima* on gray soil in Binh Duong province. An experiment on *Citrus maxima* orchard (8 years old) was arranged by Randomized Complete Block Design, 4 treatments (4 watering intervals levels of 10 days, 15 days, 20 days and 25 days as control), 5 replications, 1 tree per plot. The results showed that in flower bud formation stage the soil moisture and the number of flowers formed afterward are inversely correlated; watering interval 20 days in flower bud formation stage (in March) increased significantly the number of flowers formed afterward.

**Keywords:** *Citrus maxima*, flowering, watering.

**Ngày nhận bài:** 10/4/2024

**Ngày chuyển phản biện:** 23/4/2024

**Ngày thông qua phản biện:** 3/5/2024

**Ngày duyệt đăng:** 30/7/2024

# KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH TÊN KHOA HỌC VÀ PHÂN TÍCH HẠM LƯỢNG AXIT CLOROGENIC CỦA CÁC MẪU KIM NGÂN THU TẠI TỈNH ĐẮK LẮK

Trần Thị Lan<sup>1\*</sup>, Nguyễn Quang Tín<sup>2</sup>, Nguyễn Quỳnh Nga<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Phương<sup>1</sup>, Võ Thuận Hóa<sup>3</sup>, Nguyễn Văn Tâm<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Viện Dược liệu

<sup>2</sup> Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, Bộ Nông nghiệp và PTNT

<sup>3</sup> Hội Đông Y tỉnh Đắk Lắk

\* Email: tranlanvdl@gmail.com

## TÓM TẮT

Dược liệu kim ngân được sử dụng phổ biến ở các nước châu Á. Trong nghiên cứu này, 7 mẫu kim ngân đã được giám định và đánh giá hoạt chất. Kết quả giám định tên khoa học của 7 mẫu thu thập cho thấy, có 1 mẫu thuộc loài *Lonicera japonica* Thunb., 1 mẫu thuộc loài *Lonicera sinomacrantha* Z. H. Chen, L. X. Ye & X. F. Jin., 5 mẫu kim ngân còn lại thuộc 2 loài khác của chi *Lonicera*, họ Caprifoliaceae. Hàm lượng axit clorogenic của các mẫu thu thập biến động từ 0,04 - 0,44%. Trong đó, mẫu thuộc loài *Lonicera japonica* Thunb. có hàm lượng axit clorogenic cao nhất nên được khuyến cáo mở rộng vùng trồng. Kết quả giám định tên khoa học và phân tích hàm lượng axit clorogenic này cung cấp dữ liệu nhận diện các loài kim ngân địa phương và định hướng phát triển vùng sản xuất dược liệu kim ngân tại tỉnh Đắk Lắk.

**Từ khóa:** Axit clorogenic, kim ngân, *Lonicera*, Đắk Lắk.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi kim ngân (*Lonicera* L.) có sự đa dạng cao và phân bố nhiều nơi trên thế giới như: Bắc Phi, châu Âu, Bắc Mỹ, châu Á [1]. Việt Nam đã công bố và ghi nhận 11 loài, thuộc chi *Lonicera* [2]. Trong đó, loài kim ngân (*Lonicera japonica* Thunb.) được sử dụng phổ biến nhất ở Việt Nam cũng như nhiều quốc gia khác như: Hàn Quốc, Nhật Bản và các nước Đông Nam Á [3]. Dược liệu kim ngân có tác dụng chống viêm [4, 5, 6], chống ô xi hóa, kháng khuẩn [7], thanh nhiệt giải độc (được điển), được sử dụng điều trị sưng vú, mụn nhọt, mẩn ngứa, dị ứng [1, 6], điều trị viêm gan, biến chứng gan, cúm, vết thương và ung thư [3], ban sởi, nhiệt độ huyết li, ho [6]. Vị thuốc kim ngân là thành phần chính của nhiều sản phẩm chức năng, bài thuốc.

Hàng năm, nhu cầu sử dụng dược liệu kim ngân là rất lớn, tuy nhiên, quy mô trồng và trư

lượng dược liệu kim ngân phân bố ở địa phương không nhiều. Hơn nữa, chi kim ngân có sự đa dạng cao về loài nên dẫn tới sự nhầm lẫn và sử dụng một số loài kim ngân có hoạt tính chưa cao. Do đó, nghiên cứu này tập trung giám định tên khoa học và phân tích hàm lượng hoạt chất chính (axit clorogenic) của các mẫu kim ngân thu thập tại tỉnh Đắk Lắk nhằm tìm kiếm các dữ liệu nhận biết và khuyến cáo người dân trồng loài kim ngân phù hợp với khu vực nghiên cứu và các khu vực có điều kiện tương tự.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Tổng số 6 mẫu kim ngân (KH-01, KH-02, KH-03, KH-04, KH-05, KH-06) thu thập tại các điểm sinh thái khác nhau ở tỉnh Đắk Lắk và 1 mẫu kim ngân (mẫu đối chứng KH-07) có nguồn gốc tại tỉnh Hà Nam và được trồng ở xã Hòa Thắng, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk được sử dụng để

giám định tên khoa học và phân tích hàm lượng các mẫu thu thập được trình bày ở bảng 1. hoạt chất (axit clorogenic và loganin). Thông tin

**Bảng 1. Ký hiệu và nơi thu thập các mẫu kim ngân trong thí nghiệm**

| TT | Ký hiệu | Nơi thu thập                                                    |
|----|---------|-----------------------------------------------------------------|
| 1  | KH-01   | Xã Eanuôl, huyện Buôn Đôn, tỉnh Đắk Lắk                         |
| 2  | KH-02   | Xã Eanuôl, huyện Buôn Đôn, tỉnh Đắk Lắk                         |
| 3  | KH-03   | Xã Eanuôl, huyện Buôn Đôn, tỉnh Đắk Lắk                         |
| 4  | KH-04   | Xã Eanuôl, huyện Buôn Đôn, tỉnh Đắk Lắk                         |
| 5  | KH-05   | Xã Eanuôl, huyện Buôn Đôn, tỉnh Đắk Lắk                         |
| 6  | KH-06   | Xã Hòa Thắng, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk             |
| 7  | KH-07   | Xã Hòa Thắng, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk (Đối chứng) |

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Nghiên cứu thực vật

- *Thu thập mẫu ngoài thực địa*: Mẫu phục vụ phân tích thẩm định tên khoa học là mẫu tươi thu từ cây đang mọc hoặc trồng ngoài thực địa, mẫu là những đoạn cành lá mang hoa/quả có chiều dài 20 - 40 cm [4].

- *Phân tích mẫu và giám định tên khoa học*: Các mẫu sau khi thu thập về được đánh mã số từ KH-01, KH-02, KH-03, KH-04, KH-05, KH-06, KH-07 (Đối chứng) và gửi đến Trung tâm Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu để phân tích, giám định tên khoa học và mô tả hình thái theo các bước sau:

- Phân tích các đặc điểm hình thái của các bộ phận sinh dưỡng và đặc biệt là các bộ phận sinh sản là hoa và quả. Sử dụng kính lúp để hỗ trợ quan sát trong phân tích mẫu và máy ảnh để chụp ảnh các bộ phận của mẫu.

- Giám định/định tên khoa học: Sử dụng phương pháp so sánh hình thái, đối chiếu với khóa phân loại và bản mô tả trong các Thực vật chí: Cây cỏ Việt Nam (2000) [8] và Thực vật chí Trung Quốc - Flora of China (2011) [9] để xác định tên khoa học cho loài.

- Đối chiếu mẫu nghiên cứu với bộ mẫu lưu tại Phòng tiêu bản của Viện Dược liệu.

- Mô tả hình thái cũng theo nguyên tắc đi từ tổng thể bên ngoài đến chi tiết bên trong, từ cái lớn đến cái nhỏ. Mô tả mẫu ở dạng sống, thân, lá và hoa.

### 2.2.2. Phân tích hàm lượng axit clorogenic của các mẫu kim ngân thu thập

Mẫu phục vụ phân tích hàm lượng axit clorogenic được thu và đánh cùng mã số với mẫu phục vụ thẩm định tên khoa học, các mẫu phục vụ phân tích được liệu thu về được sấy khô và gửi phân tích ở Trung tâm Ứng dụng Khoa học công nghệ, Viện Dược liệu.

- *Định lượng axit clorogenic bằng phương pháp sắc ký lỏng (theo chuyên luận kim ngân, Dược điển Việt Nam V [10]), cùng các bước thực hiện như sau:*

+ Pha động: Acetonitril - dung dịch axit phosphoric 0,4% (13: 87).

+ Dung dịch chuẩn: Hòa tan axit clorogenic chuẩn trong methanol 50% (TT) để được dung dịch có nồng độ 0,15 mg/ml.

+ Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm chính xác 50,0 ml methanol 50% (TT), đậy nắp, cân xác định khối lượng. Chiết siêu âm trong 30 phút, để nguội, cân lại và bổ sung khối lượng mất đi bằng methanol



50% (TT) nếu cần, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ .

+ Điều kiện sắc ký: Cột Ascentis C18 (5  $\mu\text{m}$ , 250 x 4,6 mm).

+ Cảm biến quang phổ tử ngoại: Đo ở bước sóng 327 nm.

+ Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

+ Thể tích tiêm: 10  $\mu\text{l}$ .

+ Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và ghi sắc ký đồ. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic của axit chlorogenic không được ít hơn 1.000.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử và ghi sắc ký đồ. Tính hàm lượng axit chlorogenic trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của axit chlorogenic chuẩn.

- *Định lượng loganin bằng phương pháp sắc ký lỏng* [11]:

+ Pha động: Axit photphoric acetonitril-0,4% (12: 88) làm pha động 236 nm.

+ Cảm biến phổ tử ngoại: Đo ở bước sóng 327 nm.

+ Chuẩn bị dung dịch chất đối chiếu: Lấy một lượng chất đối chiếu loganin thích hợp, cân chính xác và thêm vào. Sử dụng 50% metanol để chuẩn bị dung dịch có nồng độ 40  $\mu\text{g/ml}$ .

+ Chuẩn bị dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g sản phẩm bột dược liệu (đã qua rây số 3), cân chính xác, cho vào bình Erlenmeyer có nắp đậy kín, thêm chính xác 25 ml cồn 50%, cân và tiến hành xử lý siêu âm (công suất 500 W, tần số 40 kHz) trong 30 phút, để nguội, cân lại, dùng 50% metanol để bù

khối lượng đã mất, lắc đều, lọc, lấy phần dịch lọc còn lại, thu được dung dịch thử.

+ Phương pháp xác định: Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và ghi sắc ký đồ. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic của loganin không được ít hơn 3.000. Bơm chính xác dung dịch đối chiếu 10  $\mu\text{l}$  và dung dịch thử tương ứng 2 ~ 10  $\mu\text{l}$ . Tiến hành sắc ký dung dịch thử và ghi sắc ký đồ. Tính hàm lượng loganin trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng loganin chuẩn. Dược liệu là sản phẩm khô và chứa không dưới 0,10% loganin ( $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{O}_{10}$ ).

### **3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**

#### **3.1. Kết quả phân tích, định danh tên khoa học của các mẫu thu thập**

Hình ảnh các bộ phận: Thân, lá, lá bắc, hoa của 7 mẫu kim ngân đã được ghi lại bằng máy ảnh và kính và phân tích.

Sau khi phân tích các mẫu kim ngân, tham khảo các tài liệu hiện có, kết hợp đối chiếu với tiêu bản của chi *Lonicera* đang lưu giữ tại Phòng Tiêu bản của Khoa Tài nguyên Dược liệu (có số hiệu NIMM-1826, NIMM-5008, NIMM-6416, NIMM-7649, NIMM-7674), đã xác định được tên khoa học đến cấp độ loài của 2 mẫu kim ngân thu thập (KH-06, KH-07 (Đối chứng)). Các mẫu còn lại KH-01, KH-02, KH-03, KH-04, KH-05 trong nghiên cứu này mới chỉ xác định tên khoa học đến cấp độ họ và chi. Tên Việt Nam, tên khoa học và tên đồng danh của từng mẫu như sau:

##### *3.1.1. Mẫu KH-01*



**Hình 1. Mẫu KH-01**



Hình 2. Các mẫu KH-02, KH-03, KH-04, KH-05

Tên Việt Nam là kim ngân, nhãn đông, kim ngân nhật; tên khoa học *Lonicera* sp.1, thuộc chi kim ngân (*Lonicera*), họ kim ngân (Caprifoliaceae). Cây leo bằng thân quấn, phân cành nhiều. Thân và thân già hóa gỗ nhiều; cành non nhẵn. Lá mọc đối, hơi dày, hình trứng thuôn, dài 4 - 7 cm, rộng 2 - 4 cm, gốc tròn, đầu nhọn, mặt trên không lông, mặt dưới có lông rải rác; cuống lá dài 5 - 6 mm, có lông (Hình 1).

### 3.1.2. Mẫu KH-02, KH-03, KH-04, KH-05

Tên Việt Nam là kim ngân, nhãn đông, kim ngân nhật, tên khoa học *Lonicera* sp.2, thuộc chi kim ngân (*Lonicera*), họ kim ngân (Caprifoliaceae). Cây leo bằng thân quấn, phân cành nhiều. Thân và thân già hóa gỗ nhiều; cành không lông. Lá mọc đối, hình trứng, dài 8 - 10 cm, rộng 3 - 6 cm, gốc tròn đến hình tim, đầu nhọn, hai mặt không lông; cuống lá dài 5 - 8 mm (Hình 2).

### 3.1.3. Mẫu KH-06

Tên Việt Nam là kim ngân lông, tên khoa học là *Lonicera sinomacrantha* Z. H. Chen, L. X. Ye & X. F. Jin, thuộc chi kim ngân (*Lonicera*), họ kim ngân (Caprifoliaceae). Cây leo bằng thân quấn, phân cành nhiều. Thân và thân già hóa gỗ nhiều; cành, cuống lá và cuống hoa có lông dài và lông nằm dày đặc. Lá mọc đối, hình trứng đến mác hẹp, dài (3)8 - 10(13) cm, rộng 2 - 5 cm, gốc tròn, đầu nhọn, 2 mặt có lông nằm và dài, mép có lông dài thưa, mặt dưới sáng màu; cuống lá dài 5 - 6 mm, có lông. Hoa mọc từng đôi một ở các nách lá gần ngọn; lá bắc không có dạng lá. Đài 5 răng mảnh, có lông đứng; tràng hoa có phần dưới hợp thành ống, phần trên chia làm 2 môi, môi dưới 4 thùy bằng nhau, môi trên 1 thùy, mặt ngoài tràng phủ lông đứng; nhị 5, thò ra ngoài cánh hoa (Hình 3).



Hình 3. Mẫu KH-06





Hình 4. Mẫu KH-07 (Đối chứng)

#### 3.1.4. Mẫu KH-07 (Đối chứng)

Tên Việt Nam là kim ngân, nhẵn đông, kim ngân nhật. Tên khoa học *Lonicera japonica* Thunb., thuộc chi kim ngân (*Lonicera*). Cây leo bằng thân quấn, phân cành nhiều. Thân và thân già hóa gỗ nhiều; cành non có lông đơn ngắn và tuyến có cuống, sau nhẵn, màu hơi đỏ có vân. Lá mọc đối, hơi dày, hình trứng thuôn, dài 4 - 7 cm, rộng 2 - 4 cm, gốc tròn, đầu nhọn, mặt trên có lông thưa, mặt dưới có lông dày; cuống lá dài 5 - 6 mm, có lông. Hoa mọc từng đôi một ở các nách lá gần ngọn; lá bắc dạng lá hình trứng đến elip. Khi mới nở, cánh hoa màu trắng, sau chuyển sang vàng nhạt, mùi thơm nhẹ; đài 5 răng mảnh, có lông; tràng hoa có phần dưới hợp thành ống, phần trên chia làm 2 môi, môi dưới 4 thùy bằng nhau, môi trên 1 thùy; nhị 5, thò ra ngoài cánh hoa. Quả hình cầu hoặc hình trứng, dài khoảng 5 mm, màu đen khi chín (Hình 4). Kết quả nghiên cứu này tương tự với kết quả nghiên cứu của Trần Thị Lan và cs (2022) [2].

Kết quả nghiên cứu cho thấy, các mẫu kim ngân đã được giám định tên khoa học. Trong đó,

2 loài đã giám định đến cấp độ loài là: Mẫu KH-07 (Đối chứng), thuộc loài *Lonicera japonica* Thunb. và mẫu KH-06, thuộc loài *Lonicera sinomacrantha* Z. H. Chen, L. X. Ye & X. F. Jin. Các mẫu thu thập còn lại được chia làm 2 nhóm loài khác nhau bao gồm: Mẫu KH-01 thuộc một loài riêng biệt, các mẫu KH-02, KH-03, KH-04, KH-05 thuộc một loài khác. Các mẫu này đều thuộc chi Kim ngân (*Lonicera*), họ kim ngân (Caprifoliaceae) (Hình 1).

#### 3.2. Kết quả phân tích hàm lượng axit clorogenic của các mẫu kim ngân thu thập tại tỉnh Đắk Lắk

Hàm lượng axit clorogenic và loganin là những chỉ tiêu chính để đánh giá chất lượng dược liệu kim ngân cuống (dược liệu kim ngân được sơ chế biến từ thân cành cây kim ngân hoa) [2, 10, 11]. Chỉ tiêu này cao chứng tỏ chất lượng dược liệu tốt và ngược lại. Kết quả định lượng axit clorogenic và loganin của các mẫu kim ngân thu thập được thể hiện qua bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng axit clorogenic trong các mẫu kim ngân cuống thu thập tại tỉnh Đắk Lắk

| STT | Ký hiệu mẫu | Kết quả                       |                       |
|-----|-------------|-------------------------------|-----------------------|
|     |             | Hàm lượng axit clorogenic (%) | Hàm lượng loganin (%) |
| 1   | KH-01       | 0,14                          | 0,05                  |

|   |                   |      |      |
|---|-------------------|------|------|
| 2 | KH-02             | 0,05 | 0,01 |
| 3 | KH-03             | 0,09 | 0,01 |
| 4 | KH-04             | 0,04 | 0,11 |
| 5 | KH-05             | 0,04 | 0,12 |
| 6 | KH-06             | 0,17 | 0,04 |
| 7 | KH-07 (Đối chứng) | 0,44 | 0,11 |

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng hoạt chất chính của các mẫu kim ngân thu thập có xu hướng sai khác nhau (Bảng 2). Các mẫu dược liệu kim ngân cuộng trong thí nghiệm có hàm lượng axit clorogenic dao động trong khoảng 0,04 - 0,44% tính theo khối lượng khô kiệt, cao hơn hàm lượng loganin chỉ dao động trong khoảng 0,01 - 0,12%. Trong đó, các mẫu kim ngân KH-01, KH-02, KH-07 (Đối chứng) đạt đạt tiêu chí của Dược điển Trung Quốc (2015) về hàm lượng axit clorogenic ( $\geq 0,1\%$ ) đối với dược liệu kim ngân cuộng [11]. Đặc biệt, mẫu kim ngân KH-07 (Đối chứng) có hàm lượng axit clorogenic và loganin vượt trội nhất lần lượt là 0,44% và 0,11%. Mẫu kim ngân này phù hợp và hứa hẹn một tiềm năng lớn trong canh tác sản xuất dược liệu kim ngân tại tỉnh Đắk Lắk, cần được nhân rộng theo quy hoạch và nhu cầu của các công ty, doanh nghiệp sản xuất dược liệu trong và ngoài khu vực. Loài kim ngân này được trồng tại tỉnh Hải Dương đã cho kết quả phân tích hàm lượng hoạt chất cao hơn các loài thu thập tại tỉnh Hải Dương [2].

#### **4. KẾT LUẬN**

Tổng 6 mẫu kim ngân thu thập tại vùng trồng và môi trường tự nhiên của tỉnh Đắk Lắk và một mẫu có nguồn gốc tại tỉnh Hà Nam đã được định danh tên khoa học, có 1 mẫu thuộc loài *Lonicera japonica* Thunb., 1 mẫu thuộc loài *Lonicera sinomacrantha* Z. H. Chen, L. X. Ye & X. F. Jin., 5 mẫu kim ngân còn lại thuộc 2 loài *Lonicera* sp. Tất cả các mẫu thu thập đều thuộc chi kim ngân (*Lonicera* L.), họ kim ngân (Cơm cháy) (Caprifoliaceae).

Mẫu KH-07 (Đối chứng) thuộc loài *Lonicera japonica* Thunb., có chất lượng dược liệu (kim

ngân cuộng) cao nhất trong 7 mẫu thu thập (hàm lượng axit clorogenic: 0,44%), đạt tiêu chuẩn Dược điển Trung Quốc (2015), cần được khuyến cáo mở rộng quy mô sản xuất dược liệu tại tỉnh Đắk Lắk và các khu vực có điều kiện tương tự.

#### **LỜI CẢM ƠN**

*Nghiên cứu này được thực hiện nhờ sự hỗ trợ kinh phí từ chương trình Quỹ gen được quản lý bởi Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Đắk Lắk - UBND tỉnh Đắk Lắk để thực hiện đề tài: “Nghiên cứu bảo tồn và phát triển nguồn gen hoài sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk) và kim ngân hoa (*Lonicera japonica* Thunb) tại tỉnh Đắk Lắk.*

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học.
2. Trần Thị Lan, Nguyễn Quỳnh Nga, Nguyễn Thị Phương, Đặng Văn Hùng (2022). Kết quả xác định tên khoa học và phân tích hàm lượng axit clorogenic của các mẫu kim ngân hoa thu tại Hải Dương và Hà Nam. Bản B, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 64(9), 14 - 18.
3. Zhengyi, W., P. Raven and H. Deyuan (2011). Cucurbitaceae through valerianaceae with annonaceae and berberidaceae, science press beijing a missouri botanical garden press. *Flora of China*, 19.
4. W. J. Kwak, C. K. Han, H. W. Chang, H. P. Kim, S. S. Kang, K. H. Son (2003). *Loniceroside* C, an Anti - inflammatory Saponin from *Lonicera japonica*, *Chem. Pharm. Bull* (Tokyo) Mar, 51(3), 333 - 335.
5. J H. Lee, W S. Ko, Y H. Kim, H S. Kang, H D. Kim and B T. Choi (2001). Anti inflammatory

effect of the aqueous extract from *Lonicera japonica* flower is related to inhibition of NF-kappaB activation through reducing ikappaBalpha degradation in rat liver, *Int J Mol Med*, 7(1), 79 - 83

6. M. H. Han, W. S. Lee, A. Nagappan, S. H. Hong, J. H. Jung, C. Park, H. J. Kim, G. Y. Kim, G. S. Kim, J. M. Jung, Ch. H. Ryu, S. C. Shin, S. C. Hong, Y. H. Choi (2016). Flavonoid Isolated from Flowers of *Lonicera japonica* Thunb. Inhibit Inflammatory Responses in BV2 Microglial Cells by Suppressing TNF- $\alpha$  and IL- $\beta$  Through PI3K/Akt/NF-Kb Signaling Pathways. *Phytotherapy Research*, 30(11), 1824 - 1832.

7. Nguyễn Thị Thanh Hà, Lê Phương Hồng Thủy, Nguyễn Văn Thanh, Nguyễn Thị Thu Hằng, Đào Văn Cường, Nguyễn Văn Cường, Nguyễn Huy Thái, Nguyễn Thanh Hải (2021). Khảo sát hàm lượng polyphenol, hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn trên vi khuẩn *Escherichia coli* ATCC

25922 của một số loài thảo dược. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 19(12), 1628 – 1639.

8. Phạm Hoàng Hộ (2000). *Cây cỏ Việt Nam*, quyển 3. Nxb Trẻ, thành phố Hồ Chí Minh, trang 226 - 228.

9. Q. Yang, S. Landrein, J. Osborne, R. Borosova, Caprifoliaceae. In: Wu, Z. Y., P. H. Raven & D. Y. Hong (2011). *Flora of China*, Cucurbitaceae through Valerianaceae, with Annonaceae and Berberidaceae, Vol. 19, Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, 637 - 639.

10. Bộ Y tế (2017). *Dược điển Việt Nam V* (Chuyên luận kim ngân). Nxb Y học, trang 1221 - 1222.

11. Pharmacopoeia Commission of the Ministry of Health of the People's Republic of China (2015). *Pharmacopoeia of people republic of China Part1*. China medical science press. page 193.

## **THE RESULT OF ACID CLOROGENIC CONTENT ASSESSMENT AND SCIENTIFIC NAME IDENTIFICATION OF COLLECTED LONICERA ACCESSIONS IN DAK LAK PROVINCE**

**Tran Thi Lan<sup>1</sup>, Nguyen Quang Tin<sup>2</sup>, Nguyen Quynh Nga<sup>1</sup>,  
Nguyen Thi Phuong<sup>1</sup>, Vo Thuan Hoa<sup>3</sup>, Nguyen Van Tam<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*National Insitute of Medicinal Material*

<sup>2</sup>*Department of Science Technology and Environment,  
Ministry of Agriculture and Rural Development*

<sup>3</sup>*Oriental medicine association of Daklak province*

### **Summary**

Honeysuckle is a medicinal plant commonly used in Asian countries. In this study, 7 *Lonicera* were classified and evaluated for active ingredients. The results of scientific name assessment of 7 collected accessions showed that 1 accession belonged to *Lonicera japonica* Thunb. species, 1 accession belonged to *Lonicera sinomacrantha* Z. H. Chen, L. X. Ye & X. F. Jin. species, the remaining 5 accessions belong to two other *Lonicera* sp. species, Caprifoliaceae family. The chlorogenic acid content of the collected accessions varied from 0.04 - 0.44%. Among them, the accession belongs to *Lonicera japonica* Thunb. species has the highest chlorogenic acid content, so it is recommended to expand the growing area. The results of scientific name assessment and analysis of chlorogenic acid content provide data to identify local honeysuckle species and guide the development of honeysuckle medicinal production areas in Dak Lak province.

**Keywords:** *Acid clorogenic, Lonicera, Dak Lak.*

**Ngày nhận bài:** 27/5/2024

**Ngày chuyển phản biện:** 18/6/2024

**Ngày thông qua phản biện:** 28/6/2024

**Ngày duyệt đăng:** 12/8/2024

# **KHẢO SÁT CƠ CHẾ KÍCH KHÁNG BỆNH BẠC LÁ KHI PHUN LÊN LÁ LÚA CAO CHIẾT LÁ SỐNG ĐỜI LY TRÍCH BẰNG DUNG MÔI METHANOL**

Nguyễn Trần Bảo Duy<sup>1</sup>, Trương Văn Xạ<sup>2</sup>, Nguyễn Đắc Khoa<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Trường Đại học Sư phạm Kỹ Thuật Vĩnh Long

\*Email: ndkhoa@ctu.edu.vn

## **TÓM TẮT**

Bạc lá (cháy bìa lá) do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* là một trong những bệnh gây hại trên ruộng lúa. Nghiên cứu này khảo sát cơ chế kích thích tính kháng bệnh lưu dẫn (kích kháng) trong cây lúa liên quan đến khả năng giúp giảm bệnh khi phun lên lá lúa cao chiết lá sống đời (*Kalanchoe pinnata*) ly trích bằng phương pháp tách chiết lỏng - lỏng với dung môi methanol. Ba nồng độ cao chiết (1; 1,5; 2%) và ba biện pháp phun gồm: (1) phun ở thời điểm 14 ngày trước chủng bệnh (NTCB), (2) phun ở thời điểm 7 NTCB và (3) phun kết hợp cả hai thời điểm này được sử dụng để khảo sát khả năng giúp giảm bệnh trong điều kiện nhà lưới. Phun cao chiết 1% lên lá lúa ở thời điểm 14 NTCB giúp giảm chiều dài vết bệnh, tương đương với đối chứng dương sử dụng thuốc hóa học Starner 20WP ở tất cả các thời điểm khảo sát. Kết quả khảo sát hoạt tính của bốn enzyme liên quan đến cơ chế kháng bệnh gồm: Peroxidase, catalase, polyphenol oxidase và phenylalanine ammonia lyase cho thấy, khả năng giúp giảm bệnh cháy bìa lá của cao chiết lá sống đời có liên quan đến cơ chế kích kháng. Hoạt tính của cả bốn enzyme tăng sớm khi cây lúa được xử lý với cao chiết và tăng cao hơn khi có sự hiện diện của cả mầm bệnh và cao chiết.

**Từ khóa:** Bạc lá, sống đời, *Kalanchoe pinnata*, kích kháng, lúa, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

## **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) là tác nhân gây bệnh bạc lá (cháy bìa lá) lúa, là mối đe dọa nghiêm trọng đối với sản xuất lúa gạo trên toàn cầu [1]. Ở Việt Nam, bệnh có sức tàn phá đặc biệt, gây thiệt hại năng suất lên tới 65% [2], làm ảnh hưởng đến chất lượng gạo và tiềm năng xuất khẩu gạo chất lượng cao của Việt Nam [2, 3].

Các phương pháp kiểm soát bệnh hiện nay bao gồm: Sử dụng hóa chất [4], vi khuẩn đối kháng [5] và sử dụng gen kháng [6]. Tuy nhiên, những phương pháp này hiệu quả không cao và có những hạn chế về tính bền vững. Phương pháp kích kháng hứa hẹn là một chiến lược để kiểm soát bệnh thay thế cho các phương pháp truyền thống [7, 8]. Phương pháp này tập trung vào cơ chế bảo vệ vốn có của cây lúa, kích thích phản ứng tự bảo vệ khi tiếp xúc với các tác nhân gây bệnh.

Khoa và cs (2017) [8] đã chứng minh, dịch trích lá sống đời (*Kalanchoe pinnata*) có khả năng kích thích tính kháng bệnh bạc lá, bằng cách ngâm hạt với dịch trích lá sống đời tươi đã làm giảm vết bệnh, tương đương sử dụng thuốc hóa học. Hiệu quả giảm bệnh này tương quan với việc kích hoạt sớm hơn và mạnh hơn các enzyme có liên quan đến cơ chế tự vệ là enzyme peroxidase (POX) và enzyme catalase (CAT) sau khi chủng bệnh [8]. Nguyễn Thị Thu Hương và cs (2018) [9] đã quan sát thấy, hoạt động của enzyme polyphenol oxidase (PPO) và enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL) được tăng cường sau khi phun dịch trích lá sống đời lên lá lúa ở các nồng độ khác nhau [9]. Nghiên cứu của Xạ và cs (2023) [10, 11] đã chứng minh hiệu quả giảm bệnh của dịch chiết lá sống đời ly trích bằng dung môi methanol trong việc ngâm hạt, kết quả cho thấy, hiệu quả giảm bệnh được duy trì đến 21 ngày sau chủng bệnh (NSCB).

Nghiên cứu này đánh giá khả năng giảm bệnh của bệnh bạc lá lúa của dịch trích lá sống đời ly trích bằng dung môi methanol thông qua phương pháp phun qua lá. Đồng thời, cơ chế kích kháng trên lúa thông qua hoạt tính của các enzyme POX, CAT, PPO và PAL cũng được khảo sát. Với mục tiêu bảo vệ môi trường, bảo vệ sức khỏe người dân và hướng đến nền nông nghiệp bền vững, kết quả nghiên cứu này có tiềm năng cung cấp một giải pháp hữu ích cho việc quản lý bệnh bạc lá ở Việt Nam.

## **2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Nguồn cao chiết và mầm bệnh**

Cao chiết lá sống đời bằng phương pháp tách chiết lỏng - lỏng được thực hiện theo phương pháp của Hanson (2013) [12] và tham khảo của Kagale và cs (2004) [13] lần lượt gồm: Sử dụng 300 g lá sống đời cắt nhỏ (2 - 3 cm) và cho vào 1.500 mL methanol (1/5, w/v), xay nhuyễn bằng máy xay (BL-T60, Toshiba) trong 5 phút. Hỗn hợp được xử lý sóng siêu âm bằng bể siêu âm (S300, Elmasonic) ở công suất 120 W trong 60 phút. Sau đó, hỗn hợp được lọc bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  khan và giấy lọc (Whatman Ø 110 mm) để thu được dịch chiết. Dịch chiết được cô quay chân không bằng máy cô quay (RV, IKA) ở tốc độ 5.000 vòng/phút và nhiệt độ bể chứa bình cô quay ở  $50 \pm 2^\circ\text{C}$ . Dịch chiết sau khi cô cạn (còn khoảng 100 mL) được sấy ở nhiệt độ  $50 \pm 2^\circ\text{C}$  cho đến khi thu được cao tổng đạt ẩm độ từ 10% thì dừng quá trình sấy để thu được cao chiết.

Giống lúa Jasmine 85 và chủng *Xoo* CT-13 có độc lực cao được cung cấp bởi nhóm nghiên cứu Bệnh học thực vật, Phòng Thí nghiệm Sinh học phân tử, Viện Công nghệ Sinh Học và Thực Phẩm, Trường Đại học Cần Thơ.

### **2.2. Khảo sát khả năng giảm bệnh bạc lá khi phun lên lá lúa cao chiết**

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại gồm hai yếu tố được nghiên cứu: (1) 3 nồng độ cao chiết (1; 1,5; 2%) và (2) biện pháp phun 7, 14 NTCB, kết hợp hai thời điểm là 14 và 7 NTCB. Thuốc hóa học Starner 20WP được sử dụng làm nghiệm thức đối chứng dương, được phun ở ba thời điểm: 5, 10 và 15 NSCB [14, 8]. Đối chứng âm phun nước cất.

Chủng bệnh nhân tạo: Lúa được loại hết hạt lép và được xử lý ngâm trong nước 3 sôi 2 lạnh ( $50 - 55^\circ\text{C}$ ) để hạn chế mầm bệnh tiềm ẩn trên hạt. Hạt được ủ từ 24 - 48 giờ đến khi nảy mầm và được gieo vào chậu. Cây lúa được chủng bệnh vào giai đoạn 45 ngày sau khi gieo, thực hiện theo phương pháp của Kauffman và cs (1973) [15] và điều chỉnh của Khoa và cs (2017) [8] gồm: Dùng kéo đã thanh trùng nhúng vào huyền phù vi khuẩn *Xoo*  $10^9$  CFU/mL. Cắt 3 chóp lá/cây (khoảng 2 - 3 cm từ chóp lá). Mỗi bụi cắt ngẫu nhiên 5 cây.

Ghi nhận chỉ tiêu: Chiều dài vết bệnh được đo ở thời điểm 7, 14 và 21 NSCB [16, 8]. Chiều dài vết bệnh trên lá lúa được tính từ đầu lá lúa đến hết vị trí vết bệnh lan trên lá.

### **2.3. Khảo sát hoạt tính enzyme**

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại gồm bốn nghiệm thức, bao gồm: (1) cây lúa được phun lên lá bằng nước, không chủng bệnh; (2) cây lúa được phun lên lá cao chiết và không chủng bệnh; (3) cây lúa được phun lên lá cao chiết, có chủng bệnh; (4) cây lúa được phun lên lá bằng nước và có chủng bệnh.

#### **2.3.1. Thu mẫu lá lúa và ly trích enzyme**

Lá lúa được thu ngay sau khi chủng bệnh (0 NSCB) và cách nhau 24 giờ trong 7 ngày. Tất cả các lá thu được ngay lập tức được trữ trong nito lỏng để duy trì hoạt động của enzyme. Sau đó, mẫu được trữ ở  $-20^\circ\text{C}$  [8, 10].

Sử dụng 0,1 g mẫu lá lúa được cắt nhỏ và cho vào ống eppendorf 2 ml có chứa bi sắt đã được thanh trùng, tiếp theo ngâm trong nito lỏng 20 phút và nghiền thành bột mịn bằng máy nghiền mẫu. Sau đó mẫu được đông nhất trong 1,5 ml dung dịch đệm, hỗn hợp được ly tâm 10.000 vòng/phút trong 30 phút ở  $4^\circ\text{C}$ . Sau khi ly tâm, chuyển phần dung dịch nổi trên mặt sang tuýp mới và sử dụng như nguồn dịch chiết enzyme thô. Tất cả các mẫu được bảo quản trên đá trong suốt quá trình chiết để giảm thiểu sự biến tính enzyme [8, 10].

#### **2.3.2. Khảo sát hoạt tính enzyme POX**

Hoạt tính enzyme POX được thể hiện thông qua sự thay đổi giá trị hấp thụ quang phổ ở bước

sóng 470 nm của nồng độ sản phẩm tetraguaiacol sinh ra từ phản ứng chuyển hóa  $\text{H}_2\text{O}_2$  và guaiacol dưới sự xúc tác của enzyme POX theo phương pháp của Hammerschmidt và cs (1982) [17] và điều chỉnh theo Khoa và cs (2017) [8]. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Mẫu đối chứng gồm: 1,6 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  0,05 M; 0,15 mL guaiacol 0,15 M và 0,15 mL dung dịch đệm sodium phosphate 0,1 M, pH 6,5. Mẫu khảo sát gồm: Hỗn hợp 1,6 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  0,05 M; 0,15 mL guaiacol 0,15 M và 0,15 mL dung dịch enzyme được pha loãng 2 lần trong dung dịch đệm sodium phosphate 0,1 M, pH 6,5. Giá trị  $\Delta\text{OD}_{470\text{ nm}}$  được ghi nhận từ lúc bắt đầu phản ứng đến 2 phút và mỗi 30 giây ghi nhận một lần. Hoạt tính POX được thể hiện qua sự thay đổi giá trị hấp thụ quang phổ ở bước sóng 470 nm ( $\Delta\text{OD}_{470\text{ nm}} \times \text{phút}^{-1} \times \text{g}^{-1}$  mô lá lúa) và được lấy trung bình của ba lần lặp lại [17, 18].

### 2.3.3. Khảo sát hoạt tính enzyme CAT

Hoạt tính enzyme CAT được thể hiện thông qua sự thay đổi giá trị hấp thụ quang phổ ở bước sóng 240 nm của nồng độ cơ chất  $\text{H}_2\text{O}_2$  dưới sự xúc tác của enzyme CAT theo phương pháp của Beers và Sizer (1952) [19] và điều chỉnh theo Khoa và cs (2017) [8]. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Mẫu đối chứng gồm: 1,75 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  0,1 M và 0,15 mL dung dịch đệm potassium phosphate 0,1 M, pH 7,0. Mẫu khảo sát gồm: Hỗn hợp 1,75 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  0,1 M và 0,15 mL dung dịch enzyme được pha loãng 5 lần trong dung dịch đệm potassium phosphate 0,1 M, pH 7,0. Giá trị  $\Delta\text{OD}_{240\text{ nm}}$  được ghi nhận từ lúc bắt đầu phản ứng đến 2 phút và mỗi 30 giây ghi nhận một lần. Hoạt tính CAT được thể hiện qua khả năng phân hủy cơ chất  $\text{H}_2\text{O}_2$  thông qua sự thay giảm giá trị hấp thụ quang phổ ở bước sóng 240 nm ( $\Delta\text{OD}_{240\text{ nm}} \times \text{phút}^{-1} \times \text{g}^{-1}$  mô lá lúa) và được lấy trung bình của ba lần lặp lại [19].

### 2.3.4. Khảo sát hoạt tính enzyme PPO

Hoạt tính của enzyme PPO được thể hiện thông qua sự thay đổi giá trị hấp thụ quang phổ ở bước sóng 490 nm của nồng độ sản phẩm benzoquinone do phản ứng chuyển hóa catechol dưới sự xúc tác của enzyme PPO theo phương pháp của Mayer và cs (1966) [20], Nisha và cs (2012) [18]. Mẫu đối chứng gồm: 1,75 mL catechol 0,1 M và 0,15 mL đệm potassium phosphate 0,1 M

(pH 6,5). Mẫu khảo sát gồm: Hỗn hợp 1,75 mL catechol 0,1 M và 0,15 mL dịch trích enzyme. Các mẫu được đo hấp thụ quang phổ ở bước sóng 490 nm được ghi nhận từ lúc bắt đầu phản ứng đến 2 phút và mỗi 30 giây ghi nhận một lần. Hoạt tính enzyme polyphenol oxidase được thể hiện qua sự thay đổi giá trị hấp thụ quang phổ ( $\Delta\text{OD}_{490\text{ nm}} \times \text{phút}^{-1} \times \text{g}^{-1}$  mô lá lúa) và được lấy trung bình của ba lần lặp lại [18, 20].

### 2.3.5. Khảo sát hoạt tính enzyme PAL

Hoạt tính của enzyme PAL được thể hiện thông qua sự thay đổi giá trị hấp thụ quang phổ ở bước sóng 290 nm của nồng độ sản phẩm trans-cinnamate do phản ứng chuyển hóa L-phenylalanine dưới sự xúc tác của enzyme PAL [21]. Mẫu đối chứng gồm: 0,7 mL đệm sodium borate 0,1 M (pH 8,7); 1 mL L-phenylalanine 1 M và 0,15 mL nước cất thanh trùng. Mẫu khảo sát gồm: Hỗn hợp 0,5 mL đệm sodium borate 0,1 M (pH 8,7), 1 mL L-phenylalanine 1 M, 0,15 mL nước cất thanh trùng và 0,2 mL dịch trích enzyme. Phản ứng được thực hiện trong 40 phút ở nhiệt độ 35°C. Sau đó, phản ứng được dừng lại bằng 0,2 mL HCl 5 N. Hoạt tính enzyme được thể hiện qua sự thay đổi giá trị hấp thụ quang phổ ( $\Delta\text{OD}_{290\text{ nm}} \times \text{phút}^{-1} \times \text{g}^{-1}$  mô lá lúa), được lấy trung bình của 3 lần lặp lại [21].

## 2.4. Phân tích số liệu

Số liệu về chiều dài vết bệnh được phân tích phương sai ANOVA từ phần mềm IBM SPSS Statistics 20 để kiểm tra sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức thông qua phép thử Duncan với mức ý nghĩa 5%.

Đối với số liệu khảo sát hoạt tính enzyme, giá trị hấp thụ OD của mỗi enzyme sẽ được tính toán và biểu diễn trên biểu đồ để minh họa hoạt động của enzyme của bốn nghiệm thức trong 7 NSCB bằng phần mềm Microsoft Excel 2013.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Khả năng giảm bệnh bạc lá của cao chiết lá sống đời trong điều kiện nhà lưới

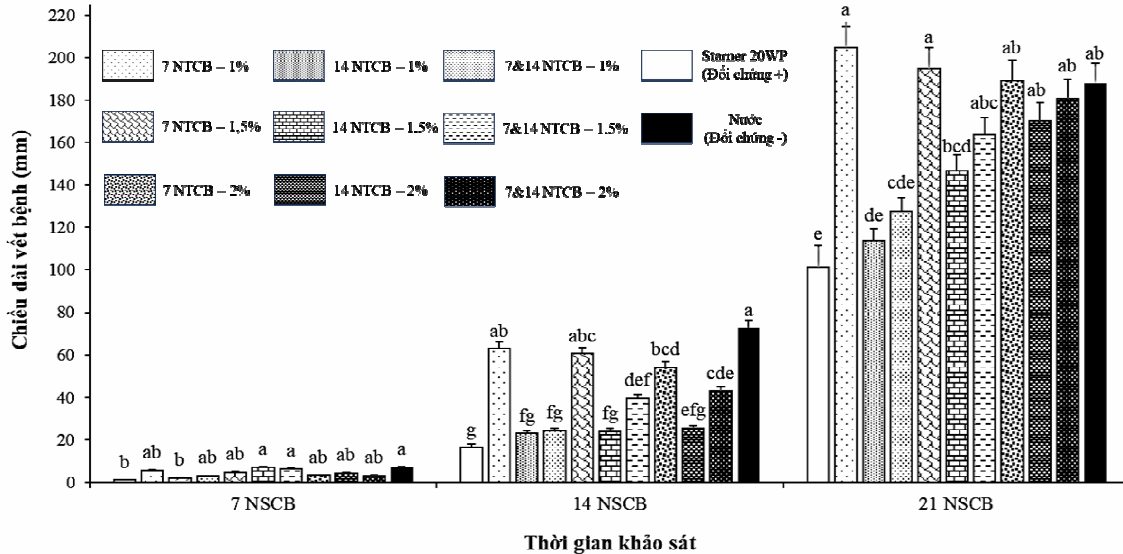
Để đánh giá hiệu quả của cao chiết lá sống đời trong việc giảm bệnh, ba nồng độ của cao chiết (1; 1,5; 2% w/v) đã được phun lên lá lúa. Hiệu quả giảm bệnh được đánh giá bằng cách so sánh chiều



dài vết bệnh ở tất cả các nghiệm thức tại ba thời điểm: 7, 14 và 21 NSCB.

Ở thời điểm 7 NSCB, nghiệm thức phun 1% tại 14 NTCB có chiều dài tổn thương trung bình ngắn hơn so với đối chứng âm. Nghiệm thức phun 1,5%

tại 7 NTCB và 1,5% kết hợp tại 7 và 14 NTCB cho thấy, không có sự khác biệt đáng kể so với đối chứng âm. Hầu hết các nghiệm thức khác không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95% so với đối chứng dương và đối chứng âm.



**Hình 1. Chiều dài vết bệnh trung bình (mm) của bệnh bạc lá khi phun lên lá cao chiết methanol lá sống đời với 3 nồng độ khác nhau (1; 1,5; 2%) ở 3 thời điểm 14 NTCB, 7 NTCB, kết hợp 14 và 7 NTCB.**

*Ghi chú: Starner 20 WP (axit oxolinic 20%, 1 mg/mL) được sử dụng (đối chứng dương). Các thanh có cùng chữ cái ở cùng thời điểm thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức  $P \leq 0,05$  theo phép thử Duncan.*

Ở thời điểm 14 NSCB, nghiệm thức phun 1% tại 7 NTCB và 1,5% tại 7 NTCB cho thấy, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng âm. Nghiệm thức phun 2% tại 7 NTCB và 2% kết hợp 7 và 14 NTCB đều có sự khác biệt đáng kể so với cả hai nghiệm thức đối chứng. Tất cả các nghiệm thức còn lại khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng dương nhưng khác biệt đáng kể so với nghiệm thức đối chứng âm. So sánh hiệu quả giảm bệnh ở hai thời điểm 14 NSCB với 7 NSCB có thể thấy, ngoại trừ nghiệm thức phun 1% tại 7 NTCB, 1,5% tại 7 NSCB không hiệu quả thì các nghiệm thức còn lại vẫn có hiệu quả giảm bệnh. Trong đó, nghiệm thức phun 1% tại 14 NTCB cho hiệu quả giảm bệnh tốt nhất.

Ở thời điểm 21 NSCB, chỉ còn hai nghiệm thức, phun 1% tại 14 NTCB và phun 1% kết hợp 7 và 14 NTCB có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng âm và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng dương.

Tóm lại, nghiệm thức phun 1% tại 14 NTCB và 1% kết hợp tại 7 và 14 NTCB có tác dụng giảm bệnh cao nhất và duy trì hiệu quả đến 21 ngày. Sau khi xử lý thống kê thì nghiệm thức phun 1% tại 14 NTCB được chọn cho thí nghiệm tiếp theo, vì hiệu quả giảm bệnh cao hơn và tiện lợi hơn so với nghiệm thức phun 1% kết hợp 7 và 14 NTCB. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Hương và cs (2018) [9] chứng minh rằng, phun dịch trích lá sống đời tại thời điểm 14 NTCB có hiệu quả giảm bệnh nhiều hơn so với phun ở thời điểm 7 NTCB.

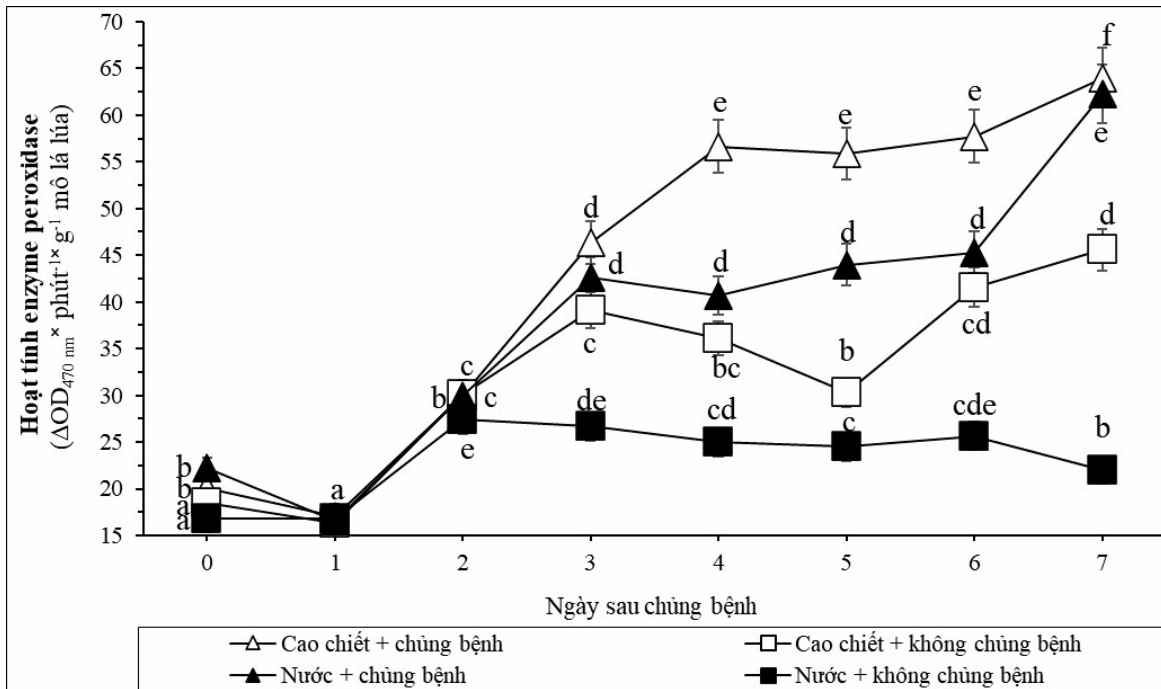
### 3.2. Cơ chế kích kháng của cao chiết lá sống đời đối với bệnh bạc lá

#### 3.2.1. Hoạt tính enzyme POX

Đối với nghiệm thức phun nước + không chủng bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ tăng từ 0 - 2 NSCB và ổn định từ 3 - 7 NSCB, điều này cho thấy hoạt tính của POX tăng dần. Sự gia tăng hoạt động

của enzyme này có thể là do sự tổng hợp các hợp chất cần thiết cho sự tăng trưởng trong giai đoạn

phát triển của cây lúa, trong đó POX đóng vai trò tích cực trong quá trình này.



Hình 2. Giá trị hấp thụ quang phổ ( $\Delta OD_{470 \text{ nm}}/\text{phút}/\text{g}$  mô lá) của sản phẩm tetraguaiacol trong phản ứng phân hủy  $H_2O_2$  xúc tác bởi enzyme peroxidase

Đối với nghiệm thức phun nước + chủng bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ có xu hướng tăng lên từ 1 - 7 NSCB, nhưng tăng mạnh nhất từ 1 - 3 NSCB. Từ 3 - 6 NSCB, giá trị hấp thụ quang phổ tăng nhẹ, nhưng vẫn cao hơn so với nghiệm thức phun nước + không chủng bệnh. Cuối cùng, hoạt tính của POX tăng vọt từ 6 - 7 NSCB. Những kết quả này cho thấy, hoạt động của POX tăng lên theo thời gian ở cả hai nghiệm thức phun nước. Sự hiện diện của vi khuẩn *Xoo* đã làm cho hoạt tính của POX tăng lên mạnh mẽ và rõ rệt hơn. Nguyên nhân có thể do phản ứng tự vệ của cây lúa trước sự xâm nhiễm của vi khuẩn *Xoo* bằng quá trình tổng hợp các hợp chất biến dưỡng, trong đó có sự gia tăng hoạt tính của POX để ngăn cản quá trình xâm nhiễm của vi khuẩn *Xoo*. Tuy nhiên, ở giai đoạn đầu khi chủng bệnh thì quá trình tự vệ tự nhiên của cây lúa là không đủ để ngăn cản sự xâm nhiễm của *Xoo* do trong giai đoạn này hoạt tính của POX chưa kịp tổng hợp. Nhưng sau khi có sự xâm nhiễm của mầm bệnh vào trong cây thì quá trình sinh trưởng và phát triển của mầm bệnh có thể kích thích tính kháng bệnh của cây lúa, từ đó khả

năng tự vệ của cây lúa được tăng cao hơn. Do vậy, hoạt tính của POX có sự tăng vọt ở thời điểm 6 và 7 NSCB.

Đối với nghiệm thức phun cao chiết + không chủng bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ tương tự như nghiệm thức phun nước ở thời điểm 1 NSCB, nhưng tăng mạnh ở thời điểm 3 NSCB. Đến ngày 4 sau chủng bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ có giảm nhẹ đến ngày 5, nhưng tăng ở trở lại vào 6 và 7 NSCB.

Đối với nghiệm thức phun cao chiết + chủng bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ tăng mạnh từ ngày 1 - 4 NSCB và duy trì ổn định ở mức cao hơn so với các nghiệm thức còn lại cho đến 7 NSCB. Nhìn chung, hoạt tính POX của nghiệm thức này luôn tăng lên từ 1 - 7 NSCB. Nguyên nhân hoạt tính enzyme tăng mạnh hơn so với các nghiệm thức khác có thể do phun cao chiết và chủng bệnh là hai điều kiện cần và đủ để kích thích cây lúa sản sinh hoạt tính POX, giúp cây lúa ngăn chặn sự xâm nhiễm và phát triển của vi khuẩn *Xoo*.

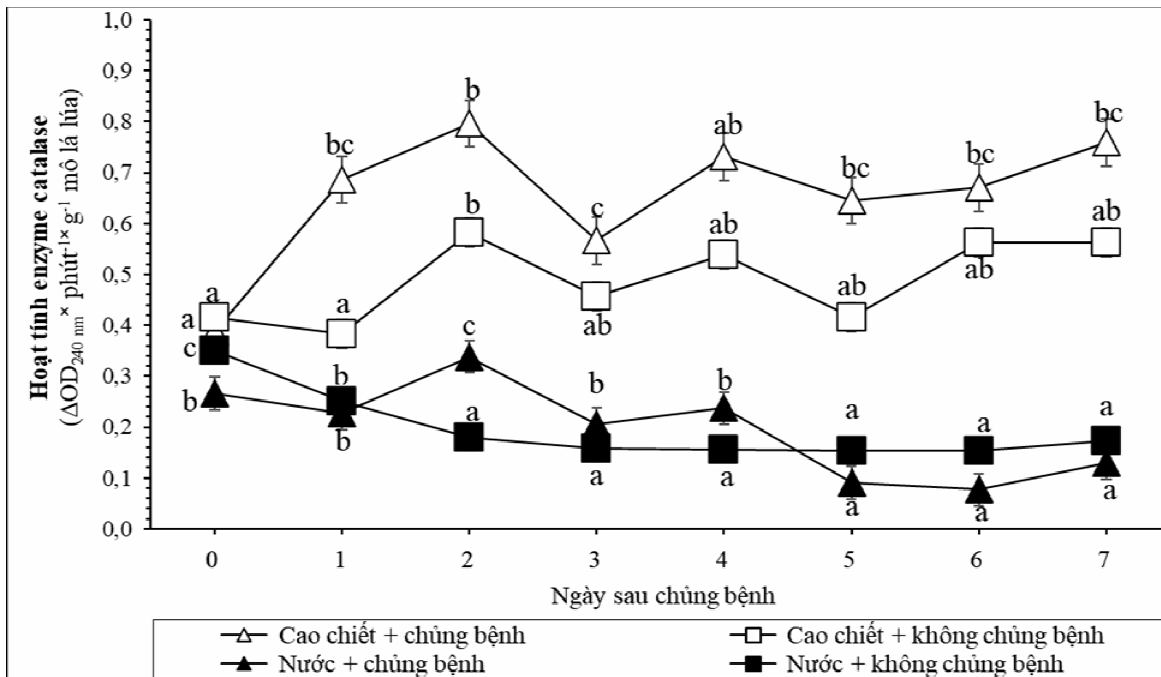
Kết quả nghiên cứu này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Kagale và cs (2004) [13], khi

phun lên lá chiết xuất cây cà độc dược (*Datura stramonium*). Govindappa và cs (2011) [22], khi ngâm lúa với chiết xuất lá cây dứa càn (*Catharanthus roseus*) đã làm tăng hoạt tính của POX, hoạt tính của enzyme này tăng liên tục từ 0 - 96 giờ sau chủng bệnh (GSCB) [22]. Theo Nisha và cs (2012) [18], việc ngâm lúa với chiết xuất nước và metanol của lá cây bạch tật lê (*Tribulus terrestris*) cũng gia tăng hoạt tính của POX, tăng liên tục từ 0 - 100 GSCB (chiết xuất metanol) và từ 0 - 120 GSCB (chiết xuất nước) [18]. Khoa và cs (2017) [8] cũng ghi nhận hoạt tính POX tăng

từ 0 - 6 NSCB khi ngâm lúa với dịch chiết lá sống đời.

### 3.2.2. Hoạt tính enzyme CAT

Sau khi chủng bệnh, vi khuẩn *Xoo* xâm nhập vào hệ thống mạch của lá, sử dụng chất dinh dưỡng để tồn tại và phát triển nhanh chóng. Từ 2 - 3 NSCB, *Xoo* lây lan dọc theo hệ thống mạch và gây bệnh trên lá lúa [23, 24]. Sự gia tăng sớm hoạt động của hai enzyme POX và CAT trong quá trình nhiễm *Xoo* là rất quan trọng đối với cơ chế bảo vệ của cây lúa, giúp cây lúa tự bảo vệ kịp thời và tốt hơn trước sự tấn công của mầm bệnh [25, 26].



Hình 3. Giá trị hấp thụ quang phổ ( $\Delta OD_{240\text{nm}} / \text{phút} / \text{g mô lá}$ ) của sản phẩm hóa nâu trong phản ứng oxy hóa catechol xúc tác bởi enzyme catalase

Đối với nghiệm thức phun nước + không chủng bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ giảm từ 0 - 2 NSCB và duy trì ổn định cho đến 7 NSCB. Đối với nghiệm thức phun nước + chủng bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ có xu hướng tăng từ 1 - 2 NSCB. Sau đó giảm từ 4 - 5 NSCB và giữ ổn định cho đến 7 NSCB. Đối với nghiệm thức phun cao chiết + không chủng bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ luôn cao hơn hai nghiệm thức phun nước ở hầu hết các thời điểm khảo sát. Giá trị độ hấp thụ quang phổ vẫn tăng từ 1 - 2 NSCB và duy trì ở mức cân bằng cho đến 7 NSCB. Đối với nghiệm thức phun cao chiết + chủng bệnh, giá trị hấp thụ

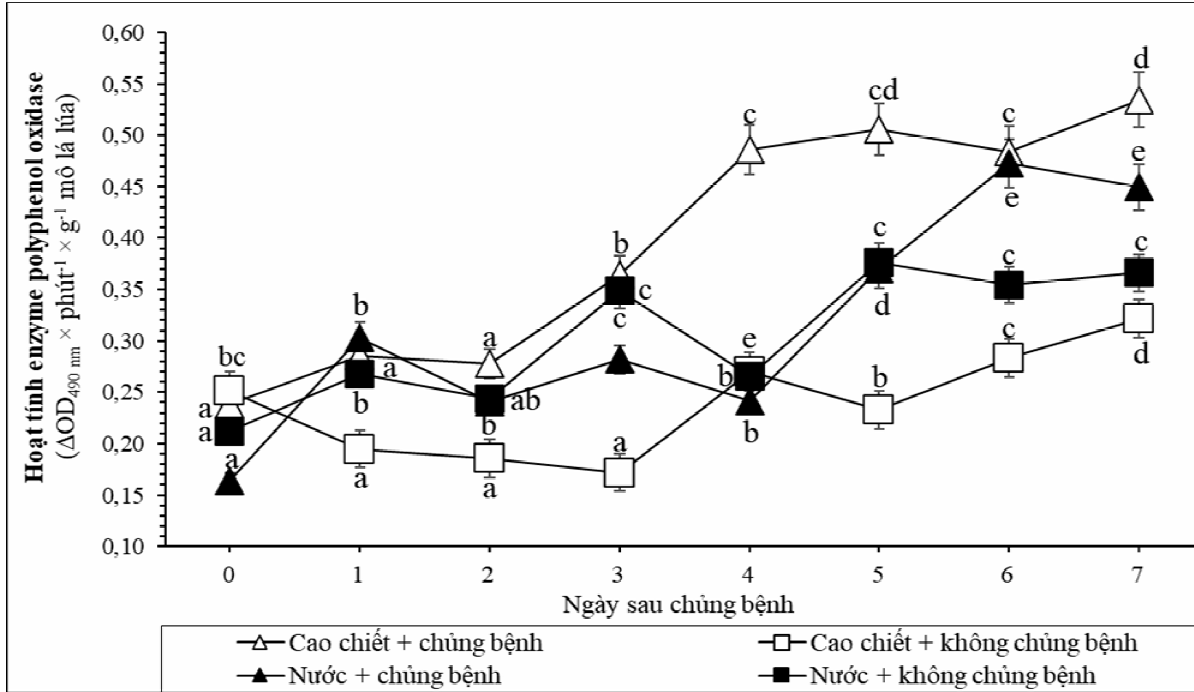
quang phổ được duy trì tăng liên tục từ 0 - 2 NSCB. Sau đó, ở 3 NSCB vẫn cao hơn các nghiệm thức khác cùng thời điểm khảo sát. Tại thời điểm 4 NSCB, giá trị hấp thụ quang phổ tăng trở lại và duy trì ổn định đến 7 NSCB. Một trong những cơ chế bảo vệ cây lúa chống lại mầm bệnh là quá trình sinh tổng hợp  $H_2O_2$  liên tục để chống lại sự phát triển của vi khuẩn.  $H_2O_2$  còn góp phần hình thành các rào cản cấu trúc như lignin và suberin trong thành tế bào, kích hoạt các gen liên quan đến phòng vệ và kích thích tổng hợp phytoalexin, là những hợp chất độc hại ức chế sự phát triển của mầm bệnh [25, 27]. Tuy nhiên,  $H_2O_2$  được tổng

hợp quá mức có thể gây độc cho cây. Do đó, để duy trì cân bằng nội môi tế bào, hai enzyme CAT và POX tăng lên nhằm phân hủy  $H_2O_2$  trong tế bào [13, 22].

Tóm lại, hoạt tính CAT luôn cao hơn ở nghiệm thức phun cao chiết và nghiệm thức phun nước.

Nguyên nhân có thể là do kết hợp việc phun qua lá bằng cao chiết và có sự xâm nhiễm của vi khuẩn *Xoo* là hai điều kiện đủ để cây lúa sản sinh CAT nhằm bảo vệ cây lúa khỏi mầm bệnh.

### 3.2.3. Hoạt tính enzyme PPO



Hình 4. Giá trị hấp thụ quang phổ ( $\Delta OD_{490 \text{ nm}} / \text{phút} / \text{g}$  mô lá) của sản phẩm hóa nâu trong phản ứng oxy hóa catechol xúc tác bởi enzyme polyphenol oxidase

Đối với nghiệm thức phun nước + không chủng bệnh, từ 0 - 7 ngày giá trị quang phổ được giữ ở mức cân bằng, có sự dao động nhỏ nhưng không có sự tăng lên hay giảm xuống ý nghĩa. Đối với nghiệm thức phun nước + chủng bệnh, giá trị quang phổ có xu hướng tăng lên, nhưng tăng mạnh nhất từ 4 - 6 NSCB. Sau đó được giữ ổn định và luôn cao hơn so với nghiệm thức phun nước + không chủng bệnh đến thời điểm 7 NSCB. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Trương Văn Xạ (2015) [28] chứng minh hiệu quả giảm bệnh qua cơ chế kích kháng đối với bệnh bạc lá lúa của các loại dịch trích. Nguyên nhân hoạt tính enzyme PPO tăng 1 NSCB có thể do vi khuẩn *Xoo* vừa là tác nhân gây bệnh cho cây lúa, đồng thời cũng là tác nhân kích thích tính kháng bệnh trong cây lúa, do vậy khi mầm bệnh tấn công thì các tính kháng bệnh của cây lúa được kích hoạt, trong đó có sự gia tăng hoạt tính PPO.

Đối với hai nghiệm thức phun cao chiết, nghiệm thức được chủng bệnh có hoạt động PPO tăng mạnh và sớm hơn so với nghiệm thức không chủng bệnh. Giá trị hấp thụ phổ ổn định từ 0 - 2 NSCB và sau đó tăng đáng kể từ 3 - 7 NSCB. Sự tăng chậm này của hoạt động PPO có thể là do cây lúa ưu tiên tổng hợp các enzyme phòng thủ khác như POX và CAT trong giai đoạn đầu của nhiễm bệnh.

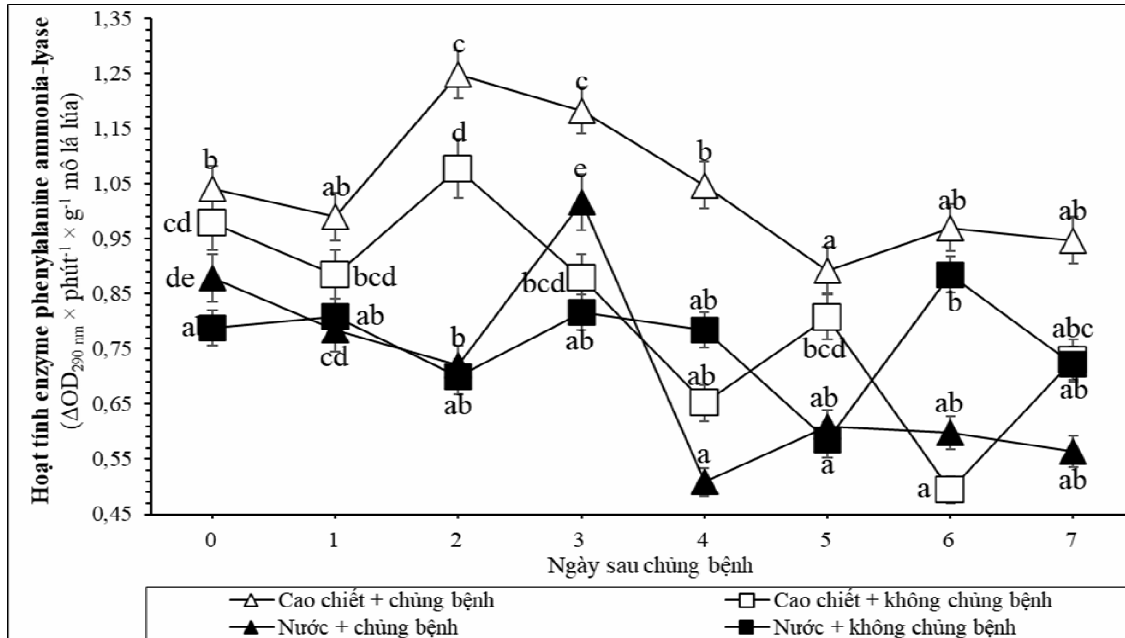
Tóm lại, khi phun qua lá cao chiết lá sống đòi ly trích bằng dung môi methanol thì hoạt tính của enzyme polyphenol oxidase sẽ thấp hơn khi phun bằng nước. Nhưng khi có sự xuất hiện của mầm bệnh thì hoạt tính của enzyme polyphenol oxidase sẽ tăng lên, trong đó nghiệm thức phun cao chiết có chủng bệnh sẽ tăng mạnh hơn nghiệm thức phun nước có chủng bệnh. Những phát hiện này cho thấy, sự xâm nhập của mầm bệnh kết hợp với phun cao chiết đã làm tăng đáng kể hoạt động của

PPO, đặc biệt là trong khoảng thời gian từ 0 - 5 NSCB.

### 3.2.4. Hoạt tính enzyme PAL

Enzyme PAL đóng vai trò then chốt trong chu trình phenylpropanoid để sinh tổng hợp các hợp chất phenolic như: Flavonoid, isoflavonoid, phytoalexin và tiền chất lignin [29]. Các hợp chất

này thường được phân loại là chất chuyển hóa thứ cấp ở thực vật, thể hiện các cấu trúc hóa học và chức năng đa dạng [30]. Chúng phục vụ nhiều mục đích ở thực vật, hoạt động như chất chống oxy hóa và bảo vệ chống lại mầm bệnh thông qua các cơ chế như kích hoạt phản ứng siêu nhạy cảm hoặc ức chế các mầm bệnh [17, 27].



Hình 5. Giá trị hấp thụ quang phổ ( $\Delta OD_{290 \text{ nm}} / \text{phút} / \text{g}$  mô lá) của sản phẩm trans-cinnamate trong phản ứng phân hủy L-phenylalanine xúc tác bởi enzyme phenylalanine ammonia lyase

Đối với hai nghiệm thức không có sự xuất hiện của mầm bệnh là nghiệm thức phun bằng nước và phun bằng cao chiết không chủng bệnh đều ghi nhận hoạt tính của enzyme PAL giảm từ 1 - 7 NSCB. Tuy có sự dao động nhưng không có sự tăng lên hay giảm xuống ý nghĩa. Nhìn chung, đối với nghiệm thức phun qua lá bằng cao chiết không chủng bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ có sự giảm nhẹ từ ngày 1 đến ngày 2. Tuy nhiên, có sự tăng trở lại đạt đỉnh cao nhất tại ngày 3 sau chủng bệnh. Từ ngày 4, giá trị hấp thụ quang phổ giảm và có xu hướng tăng trở lại vào ngày 7 sau chủng bệnh. Nhìn chung, giá trị quang phổ vẫn cao hơn nghiệm thức phun qua lá bằng nước không chủng bệnh. Kết quả nghiên cứu này tương đồng với thí nghiệm khảo sát hoạt tính enzyme PAL trong nghiên cứu sử dụng dịch trích cà độc dược (*Datura metel*) để kích kháng bệnh đốm vằn (*Rhizoctonia solani*) trên lúa ở Ấn Độ [13].

Đối với hai nghiệm thức có sự xuất hiện của mầm bệnh là nghiệm thức phun nước có chủng bệnh và phun cao chiết có chủng bệnh, giá trị hấp thụ quang phổ tăng ở thời điểm từ 1 - 2 NSCB, đó là giai đoạn khi mầm bệnh bắt đầu tấn công. Sau đó, ghi nhận giá trị hấp thụ quang phổ bắt đầu giảm tương tự như ở hai nghiệm thức không có sự xuất hiện của mầm bệnh. Tuy nhiên, đối với nghiệm thức phun cao chiết có chủng bệnh thì giá trị hấp thụ quang phổ luôn cao hơn so với các nghiệm thức còn lại.

Tóm lại, khi phun qua lá cao chiết dịch trích lá sống đời ly trích bằng dung môi methanol giúp cây được kích thích tính kháng bệnh bạc lá. Khả năng kích thích được thể hiện qua sự gia tăng hoạt tính enzyme PAL ngay từ khi có sự xâm nhiễm của vi khuẩn *Xoo*. Tuy nhiên, hoạt tính của enzyme PAL không được thể hiện sự tăng rõ ràng ở các thời điểm sau khi có sự tấn công của vi khuẩn.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả khảo sát hiệu quả giảm bệnh trong điều kiện nhà lưới cho thấy, khi phun lên lá cao chiết lá sống đời ly trích bằng dung môi methanol giúp cây lúa tăng khả năng kháng bệnh. Phun ở nồng độ 1% vào thời điểm 14 NTCB có hiệu quả giảm bệnh tương đương với sự dùng thuốc hóa học Starner 20WP và duy trì được đến 21 NSCB. Hơn nữa, các thí nghiệm cho thấy, cơ chế kích kháng có liên quan đến khả năng của cao chiết lá sống đời trong việc tăng cường hoạt động của các enzyme tự vệ. Enzyme POX và CAT đều tăng đáng kể khi mầm bệnh xuất hiện. Đặc biệt, khi phun cao chiết methanol lá sống đời dẫn đến sự gia tăng sớm hơn và mạnh hơn các hoạt động của enzyme này. Cụ thể, hoạt tính enzyme POX tăng đáng kể từ 1 - 6 NSCB và hoạt tính enzyme CAT tăng đáng kể từ 0 - 2 NSCB.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Swings J., Van Den Mooter M., Vauterin L., Hoste B., Gillis M., Mew T. W. *et al.* (1990). Reclassification of the causal agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 40(3): 309 - 311
- Dinh H. D., Oanh N. K., Toan N. D., Du P. V., Loan L. C. (2008). Pathotype profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates from the rice ecosystem in Cuu Long river Delta. *Omonrice*, 16: 34 - 40.
- Vũ Triệu Mân, Nguyễn Văn Tuất, Bùi Cách Tuyến, Phạm Văn Kim (2018). *Bệnh hại cây trồng Việt Nam*. Nxb Học viện Nông nghiệp Việt Nam, trang 107 - 113.
- Khan J. A., Siddiq R., Arshad H. M. I., Anwar H. S., Saleem K., Jamil F. F. (2012). Chemical control of bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Pak J Phytopathol*, 24(2), 97 - 100.
- Khoa N. D., Giau N. D. N., Tuan T. Q. (2016). Effects of *Serratia nematodiphila* CT-78 on rice bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Biological Control*, 103, 1 - 10.
- Kumar A., Kumar R., Sengupta D., Das S. N., Pandey M. K., Bohra A. *et al.* (2020). Deployment of genetic and genomic tools toward gaining a better understanding of rice *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* interactions for development of durable bacterial blight resistant rice. *Frontiers in Plant Science*, 11: 1 - 23.
- Kloepper J. W., Tuzun S., Kuc J. A. (1992). Proposed definitions related to induced disease resistance. *Biocontrol Science and Technology*, 2(4): 349 - 351
- Khoa N. D., Xa T. V., Hao L. T. (2017). Disease-reducing effects of aqueous leaf extract of *Kalanchoe pinnata* on rice bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* involve induced resistance. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 100: 57 - 66.
- Nguyễn Thị Thu Hương, Lâm Tấn Hào, Nguyễn Đắc Khoa (2018). Hiệu quả giảm bệnh và cơ chế kích kháng liên quan đến enzyme phenylalanine ammonia-lyase và polyphenol oxidase. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 54(7): 13.
- Xa T. V., Thoa T. K., Do N. D., Khoa N. D. (2023). Seed soaking using methanol *Kalanchoe pinnata* leaf extracts induces rice resistance against bacterial leaf blight. *International Journal of Plant Biology*, 14(4), 1155 - 1166.
- Xa T. V., Thoa T. K., Thu T. T. A., Khoa N. D. (2023). Effects of seed soaking and foliar spraying of *Kalanchoe pinnata* aqueous leaf extracts against rice bacterial leaf blight. *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development*, 15(3), 12 - 22.
- Hanson C. (2013). Recent Advances in Liquid-Liquid Extraction. Pergamon press, pp. 429 - 465.
- Kagale S., Marimuthu T., Thayumanavan B., Nandakumar R., Samiyappan R. (2004). Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas*

*oryzae* pv. *oryzae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 65(2), 91 - 100.

14. Kleitman F., Shtienberg D., Blachinsky D., Oppenheim D., Zilberstaine M., Dror O., Manulis S. (2005). *Erwinia amylovora* populations resistant to oxolinic acid in Israel: prevalence, persistence and fitness. *Plant pathology*, 54(2), 108 - 115.

15. Kauffman, H. E., Reddy, A. P. K., Hsieh, S. P. Y., Merca, S. D. (1973). An Improved Technique for Evaluating Resistance of Rice Varieties to *Xanthomonas oryzae*. *Plant Disease Report*, 57, 737 - 741.

16. Mew T. W. (1993). Focus on Bacterial Blight of Rice. *Plant Disease*, 77(1): 5.

17. Hammerschmidt R., Nuckles E.M., Kuć J. (1982). Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology*, 20(1): 73 - 82.

18. Nisha S., Revathi K., Chandrasekaran R., Kirubakaran S. A., Sathish-Narayanan S., Stout M.J et al. (2012). Effect of plant compounds on induced activities of defense-related enzymes and pathogenesis related protein in bacterial blight disease susceptible rice plant. *Physiological and molecular plant pathology*, 80: 1 - 9.

19. Beers R., Sizer I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 195(1): 133 - 140

20. Mayer A. M., Harel E., Ben-Shaul R. (1966). Assay of catechol oxidase-a critical comparison of methods. *Phytochemistry*, 5(4): 783 - 789

21. Dickerson D. P., Pascholati S. F., Hagerman A. E., Butler L. G., Nicholson R. L. (1984). Phenylalanine ammonia-lyase and hydroxycinnamate: CoA ligase in maize mesocotyls inoculated with *Helminthosporium maydis* or *Helminthosporium carbonum*. *Physiological Plant Pathology*, 25(2): 111 - 123

22. Govindappa M., Umesha S., Lokesh S. (2011). *Adhatoda vasica* leaf extract induces

resistance in rice against bacterial leaf blight disease (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 3(1): 6 - 14.

23. Leach J. E., Roberts P. D., Guo A., Barton-Willis P. (1989). Multiplication of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in rice leaves. *Bacterial blight of rice*, 1989: 43 - 53.

24. Niño-Liu D. O., Ronald P. C., Bogdanove A. J. (2006). *Xanthomonas oryzae* pathovars: Model pathogens of a model crop. *Molecular Plant Pathology*, 7(5): 303 - 324.

25. Shetty N. P., Mehrabi R., Lütken H., Haldrup A., Kema G. H. J., Collinge D. B. (2007). Role of hydrogen peroxide during the interaction between the hemibiotrophic fungal pathogen *Septoria tritici* and wheat. *New Phytologist*, 174(3): 637 - 647.

26. Sohag A. A. M., Tahjib-Ul-Arif M., Brestic M., Afrin S., Sakil M. A., Hossain M. T. (2020). Exogenous salicylic acid and hydrogen peroxide attenuate drought stress in rice. *Plant, Soil and Environment*, 66(1): 7 - 13.

27. Van Loon L. C., Rep M., Pieterse C. M. J. (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology*, 44: 135 - 162

28. Trương Văn Xạ (2015). Khảo sát khả năng và cơ chế kích thích tính kháng bệnh cháy bìa lá lúa của dịch trích thực vật. Luận văn thạc sĩ Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ. 110 trang.

29. Garcion C., Lamotte O., Cacas J. L., Métraux J. P. (2014). Mechanisms of defence to pathogens: biochemistry and physiology. *Induced Resistance for Plant Defense*, 106 - 136.

30. Potato S., Tanaka Y., Matsuoka M., Yamamoto N., Ohashi Y., Kano-murakami Y. (1989). Structure and characterization of a cDNA clone for phenylalanine ammonia-lyase from cut-injured roots of sweet potato. *Plant Physiology*, 90(4), 1403 - 1407.

INVESTIGATION OF INDUCED RESISTANCE AGAINST RICE BACTERIAL LEAF BLIGHT OF  
METHANOL *Kalanchoe pinnata* LEAF EXTRACTS USING FOLIAR SPRAYING

Nguyen Tran Bao Duy<sup>1</sup>, Truong Van Xa<sup>2</sup>, Nguyen Dac Khoa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Can Tho University

<sup>2</sup>Vinh Long University of Technology Education

**Summary**

Bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is one of the important diseases in rice fields. This study aims at testing for disease-reducing effects of methanol *Kalanchoe pinnata* leaf extracts using foliar spraying and investigating the mechanism involved in the observed disease reduction, focusing on induced resistance. The extracts were prepared by the liquid-liquid extraction method. Three spraying methods, i.e., (1) spraying at 14 days before inoculation (DBI), (2) at 7 DBI and (3) at both 14 and 7 DBI, using three extract concentrations (1, 1.5, 2%) were tested under greenhouse conditions. Spraying 14 DBI using 1% extract showed significant disease reduction similar to that of the chemical control (Starner 20WP) at all disease assessment timepoints. Induced resistance involved in the observed disease reduction through activities of the four defense-related and/or antioxidant enzymes, i.e., peroxidase, catalase, polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase. Indeed, the activities of all enzymes increased in early stage with extract application and reached higher levels with both extract application and pathogen inoculation.

**Keywords:** *Bacterial leaf blight, induced resistance, Kalanchoe pinnata, rice, Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

**Ngày nhận bài:** 02/4/2024

**Ngày gửi phản biện:** 03/6/2024

**Ngày thông qua phản biện:** 16/6/2024

**Ngày duyệt đăng:** 23/7/2024



# **NGHIÊN CỨU MỨC ĐỘ PHÁT THẢI KHÍ NHÀ KÍNH TỪ ĐỆM LÓT SINH HỌC ĐƯỢC LÀM TỪ ROM VÀ VỎ CÂY KEO TRONG CHĂN NUÔI BÒ THỊT**

Nguyễn Thị Hiền<sup>1,\*</sup>, Nguyễn Đức Lương<sup>1,2</sup>, Hoàng Hiệp<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Khoa Tài nguyên và Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup> Viện Nghiên cứu Tăng trưởng xanh, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

\*Email: [hienhuuco@gmail.com](mailto:hienhuuco@gmail.com)

## **TÓM TẮT**

Để góp phần tìm ra hướng giảm phát thải khí nhà kính (KNK) từ chất thải chăn nuôi, nghiên cứu đã tiến hành đánh giá mức độ phát thải các KNK từ đệm lót sinh học được làm từ rom và vỏ cây keo trong chăn nuôi bò thịt. Thí nghiệm được thực hiện trên diện tích chuồng 100 m<sup>2</sup>, nuôi 20 con bò, theo dõi thí nghiệm trong 54 ngày với 6 lần lấy mẫu. Kết quả cho thấy, sự phát thải các KNK giai đoạn đầu sử dụng đệm lót chủ yếu là quá trình phân hủy hiếu khí, lượng phát thải CO<sub>2</sub> khá lớn và đạt cực đại trong khoảng từ 21 - 32 ngày, sau đó phát thải CO<sub>2</sub> giảm, quá trình yếm khí trở nên chiếm ưu thế. Trong 42 ngày đầu, phát thải CH<sub>4</sub> rất thấp, chỉ từ 0,6 g/tấn đệm lót khô/ngày đến 151 g/tấn đệm lót khô/ngày; sau đó tăng lên rất mạnh ở lần lấy mẫu 54 ngày, lên tới 2,28 kg/tấn đệm lót khô/ngày và được dự đoán còn tiếp tục tăng. Phần mềm thống kê IBM SPSS (2023) cho kết quả sự phát thải CH<sub>4</sub> tỉ lệ thuận với mật độ vi sinh vật (VSV) và nhiệt độ, trong khi tỉ lệ nghịch với độ xốp của đệm lót. Phát thải N<sub>2</sub>O đạt cực đại ở ngày thứ 32 sau đó giảm mạnh. Phát thải CH<sub>4</sub> tăng rất nhanh sau 42 ngày sử dụng đệm lót, trong khi phát thải CO<sub>2</sub> và N<sub>2</sub>O đều giảm. So sánh hệ số phát thải quy đổi trung bình theo 42 ngày (F42) và 54 ngày (F42) cho thấy, F42 nhỏ hơn nhiều so với F54. Như vậy, đệm lót sinh học nên được thay thế hoặc thay thế một phần sau 42 ngày sử dụng để hạn chế phát thải methane. Bên cạnh đó, các chỉ tiêu H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub> và SO<sub>2</sub> của mẫu không khí xung quanh chuồng nuôi ở các đợt lấy mẫu đều rất thấp so với giới hạn cho phép của QCVN 01-79:2011/BNNPTNT.

**Từ khóa:** Khí nhà kính, đệm lót sinh học, phát thải, chăn nuôi bò, phụ phẩm nông nghiệp.

## **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Chăn nuôi bò thịt và bò sữa được xác định là một trong những định hướng ưu tiên phát triển quốc gia về tái cơ cấu ngành chăn nuôi theo hướng nâng cao giá trị gia tăng và phát triển bền vững trong giai đoạn 2021 - 2030 và định hướng đến 2045 [1, 2]. Theo Bộ Nông nghiệp và PTNT (2014) [2], trong giai đoạn 2016 - 2019, tổng đàn gia súc, gia cầm trung bình hàng năm của nước ta đạt 27,28 triệu con lợn, 420,34 triệu con gia cầm, 6,02 triệu con bò và 2,48 triệu con trâu. Năm 2022, chất thải chăn nuôi ước tính 81,8 triệu tấn, trong đó chăn nuôi lợn chiếm 44,9%, bò thịt 26,7%, trâu 15,3%, gia cầm 8,1% và bò sữa 4,9% tổng chất thải.

Theo Trần Khánh Vân (2013) [3], tổng lượng phát thải KNK từ hoạt động chăn nuôi ở Việt Nam năm 2012 tương đương 14,96 triệu tấn CO<sub>2eq</sub>, trong đó trâu và bò là những đối tượng tạo ra phần lớn lượng khí thải gây hiệu ứng nhà kính, lần lượt đóng góp 25% và 42% lượng khí thải từ vật nuôi. Nhiều nghiên cứu cũng đã chỉ ra rằng, phát thải các KNK (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> và N<sub>2</sub>O) chủ yếu từ quá trình lên men bởi quần thể VSV trong dạ cỏ của trâu, bò [4, 5] và quá trình phân hủy chất thải chăn nuôi [6]. Ngoài ra, chất thải chăn nuôi còn là nguồn phát thải nhiều chất khí độc hại, ảnh hưởng tới sức khỏe con người và môi trường sống nói chung như: NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S, SO<sub>2</sub> [7, 8].

Hiện nay, nghiên cứu nhằm giảm thiểu phát thải KNK trong chăn nuôi đang là một đề tài rất được quan tâm. Một số nghiên cứu đã chỉ ra khẩu phần ăn có ảnh hưởng nhiều tới lượng khí phát thải [9, 10]. Ngoài ra, việc dùng đệm lót sinh học để xử lý phân và nước thải trong chăn nuôi bò góp phần giảm phát thải KNK cũng như các khí độc hại [11, 12], đặc biệt phát thải khí  $H_2S$  được chứng minh là liên quan đến phân hủy chất thải lỏng và việc dùng đệm lót sinh học góp phần giảm đáng kể phát thải  $H_2S$  [13 - 15]. Vật liệu được sử dụng làm đệm lót sinh học trong chăn nuôi đều dùng nguyên liệu từ phế phụ phẩm nông nghiệp - lâm nghiệp như: Thân cây ngô, thân cây đậu, rơm rạ, dăm gỗ thông, mùn cưa, trấu... [11, 16 - 21]. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, vật liệu của đệm lót ảnh hưởng nhiều tới lượng phát thải các khí trong chăn nuôi, trong đó đệm lót sinh học làm từ dăm gỗ thông phát thải lượng KNK ít nhất, trong khi đệm lót từ thân cây ngô phát thải lượng  $NH_3$  thấp nhất [21].

Ở Việt Nam, lượng phụ phẩm nông nghiệp hàng năm là rất lớn. Theo Bảo Hân (2023) [22], tổng lượng rơm rạ thải ra từ hoạt động trồng lúa ở Việt Nam là khoảng 47 triệu tấn, trong đó chỉ khoảng 30% được thu gom để sử dụng làm nấm rơm, thức ăn chăn nuôi, đệm lót chăn nuôi và trồng trọt, còn lại phần lớn là đốt và bỏ lại ruộng. Do đó, tạo ra một lượng lớn khí thải độc hại, bụi mịn, KNK vào môi trường [22]. Bên cạnh đó, theo Tô Xuân Phúc và cs (2021), năm 2020, diện tích trồng keo ở nước ta đạt 2,35 triệu ha, tương đương trên 53% trong tổng diện tích rừng trồng. Lượng gỗ keo khai thác đạt 47 triệu  $m^3$ /năm [23], trong đó vỏ chiếm khối lượng từ 5,9 - 6,3% [24]. Như vậy, lượng vỏ cây keo thải ra hàng năm ước tính khoảng 1,7 triệu tấn/năm (1  $m^3$  gỗ keo có khối lượng 0,6 tấn) [25, 26] và phần lớn vỏ cây keo đã được tận dụng làm nhiên liệu. Rơm rạ và vỏ cây keo là phế phụ phẩm cần được xử lý, hoặc là những nguồn nguyên liệu hết sức dồi dào để sử dụng vào những mục đích thiết thực để vừa tận dụng được giá trị, vừa góp phần bảo vệ môi trường. Chính vì vậy, “Nghiên cứu mức độ phát thải khí nhà kính từ đệm lót sinh học được làm từ rơm và vỏ cây keo trong chăn nuôi bò thịt” được thực hiện nhằm mục

đích đánh giá diễn biến phát thải KNK và một số yếu tố môi trường khi sử dụng đệm lót sinh học từ rơm và vỏ cây keo trong chăn nuôi bò thịt.

## **2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Vật liệu nghiên cứu**

Nguyên liệu làm đệm lót:

Để sản xuất 1 tấn đệm lót (dùng cho 20  $m^2$  chuồng bò), sử dụng nguyên liệu như sau: 500 kg rơm rạ (có độ ẩm khoảng 30%), 500 kg vỏ cây keo (có độ ẩm khoảng 30%), 5 kg rỉ mật và 2 kg men vi sinh Balasa N01 - chế phẩm VSV để phân giải xenlulo.

Quy trình ủ đệm lót sinh học:

Bước 1. Chuẩn bị nguyên liệu: Pha loãng 2 kg chế phẩm Balasa N01 với 300 lít nước và 5 kg rỉ mật đường, khuấy đều, ủ hỗn hợp này trong 2 ngày. Rơm rạ và vỏ cây keo được cắt nhỏ thành từng đoạn khoảng 10 cm hoặc nhỏ hơn.

Bước 2. Trộn ủ đệm lót: Phun hỗn hợp men vi sinh đã ủ đều lên trên bề mặt vật liệu đệm lót, vừa phun vừa đảo để lớp đệm có độ ẩm khoảng 55 - 60%. Đánh đồng nguyên liệu có chiều cao khoảng 0,8 - 1,0 m, phủ kín toàn bộ bề mặt bằng bạt hoặc bằng ni lông, tiến hành ủ trong 3 ngày. Sau 3 ngày, mở bạt ra, tiến hành đảo trộn, đảo từ trong ra ngoài, từ ngoài vào trong để trộn đều nguyên liệu tránh nhiệt độ lên quá cao. Sau đó đánh đồng lại như trên và phủ bạt kín, ủ tiếp trong 7 ngày. Sản phẩm sau ủ có màu vàng nâu sậm (pH 6 - 7, độ ẩm 55 - 60%) tạo thành đệm lót sinh học.

### **2.2. Bố trí thí nghiệm**

Chuẩn bị chuồng nuôi: Diện tích 100  $m^2$ , đệm lót sau khi ủ đạt yêu cầu được trải đều trên nền chuồng nuôi, bề dày 40 cm. Sau một thời gian đệm lót sẽ bị xẹp xuống, có thể đảo đệm lót hoặc bổ sung đệm lót mới.

Thí nghiệm tiến hành nuôi 20 con bò thịt cùng độ tuổi, khối lượng trung bình  $255,63 \pm 23,19$  kg. Bò được cho ăn ngày hai bữa: 8.00 - 9.00 giờ và 15.00 - 16.00 giờ. Khẩu phần ăn bao gồm: Thức ăn thô (cỏ, rơm) và thức ăn tinh lần lượt là 15,6 và 3,6 kg/bò/ngày.

### 2.3. Phương pháp lấy mẫu

Tiến hành lấy mẫu 6 lần vào các ngày sau khi trải đệm lót lần lượt là: 0, 11, 21, 32, 42 và 54 ngày. Mỗi đợt lấy mẫu, tiến hành lấy đồng thời các mẫu sau: Mẫu đệm lót (phân tích độ ẩm, độ xốp, VSV), mẫu không khí chuồng nuôi (phân tích  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_2$ , vi khuẩn hiếu khí tổng số), mẫu KNK (phân tích  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ ).

Lấy mẫu đệm lót tại 9 điểm khác nhau (chia chuồng thành 9 ô cơ sở, chiều dài và chiều rộng chia làm 3 phần bằng nhau) rồi trộn đều, lấy 2 - 3 kg mẫu cho vào túi zip kín. Cân ngay 25 g mẫu cho vào 225 ml môi trường tăng sinh BPW ủ trong tủ bảo ôn ở  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  trong 8 - 12 tiếng để xác định các chỉ tiêu VSV, phần còn lại đưa về phòng thí nghiệm.

Đối với các mẫu chất lượng không khí chuồng nuôi được thực hiện ở giữa chuồng, nhiệt độ và độ ẩm được đo trực tiếp, các chỉ tiêu  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{NH}_3$  được hấp thụ vào các dung dịch tương ứng lần lượt là: Natri tetracoloromercurat (TCM), hỗn hợp axit sulfanilic với N-(1-naphtyl)-etylendiamin dihydroclorua, hỗn hợp  $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  với NaOH và Arabinogalactan,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1N. Sử dụng máy lấy mẫu Minipump Sibata, dung dịch hấp thụ sẽ được cho vào 2 ống impinger nối tiếp nhau với thể tích 10 mL, ống thứ 3 để silica gel, tốc độ hút 0,2 - 0,8 lít/phút, thời gian lấy mẫu từ 30 - 60 phút.

Mẫu vi khuẩn hiếu khí trong không khí sử dụng môi trường thạch thường đã chuẩn bị sẵn. Đặt 4 đĩa thạch trong chuồng nuôi với độ cao 1,0 - 1,2 m. Thời gian lấy mẫu 30 phút, sau đó đĩa petri được đặt lại, bọc kín bằng màng phủ thực phẩm sạch, bảo quản ở  $25 \pm 3^\circ\text{C}$  và chuyển về phòng thí nghiệm, tiếp tục để trong tủ nuôi ở  $37^\circ\text{C}$  trong 48 giờ.

Lấy mẫu KNK ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ): Dụng cụ lấy mẫu là các buồng kín (chamber) cấu tạo gồm 2 phần với kích thước phần đế và phần nắp là 50 x 50 x 50 cm. Chân đế chamber được làm bằng inox, phía trên chân đế có rãnh để đặt phần nắp và đổ nước để làm kín giữa chân đế và nắp chamber. Phần nắp được trang bị thêm 2 quạt gió phía trong (giúp không khí bên trong chamber được đảo đều), nhiệt kế và dây nối với nắp van 3 cổng để hút

mẫu. Chia chuồng nuôi thành 4 phần theo hai đường chéo, đặt 4 chamber cách đều nhau tại 4 điểm giữa của 4 phần trên. Các chân đế chamber được đặt trên sàn chuồng, ngập dưới đệm lót, để ổn định phần đệm lót quanh chân đế trong 3 giờ, sau đó đặt phần nắp chamber lên chân đế và đổ nước làm kín chamber, bật quạt thông khí và lấy mẫu. Hút khí bằng xi lanh 60 ml qua van 3 cổng rồi bơm vào ống chứa mẫu khí thể tích 12 ml, có nắp cao su kín. Thời gian lấy mẫu là 0 phút, 30 phút, 60 phút, 90 phút và 120 phút sau khi đặt nắp chamber.

### 2.4. Các phương pháp phân tích

Độ ẩm và độ xốp của đệm lót được xác định bằng phương pháp khối lượng theo TCVN 9297:2012 [27] và TCVN 11399:2016 [28]. Các chỉ tiêu vi khuẩn hiếu khí trong không khí; *E. coli*, *coliform*, *E. coli* chịu nhiệt, *coliform* chịu nhiệt, vi khuẩn tổng số và *Salmonella* được phân tích bằng phương pháp đếm số lượng khuẩn lạc trên môi trường nuôi cấy chuyên tính dựa theo TCVN 5376-1991 [29], TCVN 11039-3:2015 [30], TCVN 6187-2:2020 [31], TCVN 4884-1:2015 [32] và TCVN 4829:2005 [33].

Khối lượng vật chất khô của đệm lót được tính dựa trên khối lượng đệm lót cân được từ phần đặt đế của 4 chamber lấy mẫu và độ ẩm của mẫu đệm lót.

Các chỉ tiêu môi trường không khí xung quanh và mẫu đệm lót được phân tích tại Phòng thí nghiệm, Viện Nghiên cứu Tăng trưởng xanh, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Các chỉ tiêu  $\text{NO}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  được phân tích bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử với dãy chuẩn tương ứng và đo trên máy UV-Vis theo TCVN 6137:2009 [34], TCVN 5971:1995 [35], TCVN 5293:1995 [36] và MASA Method 701:1988 [37].

Các chỉ tiêu KNK:  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$  sẽ được phân tích bằng hệ thống sắc ký khí GC với 3 detector tương ứng là: FID, ECD, TCD, sử dụng máy Shimadzu, Nhật Bản tại Trung tâm Phân tích và Chuyển giao công nghệ, Viện Môi trường Nông nghiệp.

Hệ số phát thải KNK được xác định từ sự thay đổi tuyến tính hoặc phi tuyến tính của nồng độ

trong một bộ bốn mẫu được lấy trong khoảng thời gian lấy mẫu 45 phút theo phương trình 1.

$$F = \rho * \frac{V * M * 273 * 24}{m * 22,4 * (273 + T) * 1000} \quad (1)$$

Trong đó: F là hệ số phát thải KNK (kg/tấn đệm lót khô/ngày);  $\rho$  là mật độ khí trong chamber lấy mẫu ở điều kiện tiêu chuẩn tính theo hàm Slope (g/giờ); V là thể tích của chamber phía trên mặt đệm lót (lít); m là khối lượng đệm lót khô có trong chân đế chamber lúc lấy mẫu; M là khối lượng mol của mỗi KNK; T là nhiệt độ bên trong chamber trong khi lấy mẫu (°C).

Tổng lượng KNK phát thải tích lũy được tính toán từ hệ số phát thải từ các lần lấy mẫu liên tiếp được tính theo phương trình 2.

$$CE = \sum \left( \frac{F_i + F_{i+1}}{2} \right) * d \quad (2)$$

Trong đó: CE là tổng phát thải KNK (kg/tấn đệm lót khô);  $F_i$  và  $F_{i+1}$  là hệ số phát thải tính được của 2 đợt lấy mẫu liên tiếp (kg/tấn đệm lót khô/ngày); d là số ngày giữa hai đợt lấy mẫu liên tục.

Hệ số phát thải KNK trung bình trong cả đợt thí nghiệm được tính theo công thức 3.

$$F_{TB} = \frac{CE}{\sum d} \quad (3)$$

Hệ số phát thải quy sang CO<sub>2</sub>eq được tính theo công thức 4.

$$F_{CO2eq} = F_{CO2} + 289 * F_{N2O} + 25 * F_{CH4} \quad (4)$$

## 2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được tính toán trên phần mềm Excel và trình bày dưới dạng sơ đồ, biểu bảng. Số liệu phân tích KNK được xử lý bằng phần mềm thống kê IBM SPSS (2023) nhằm đánh giá tương quan giữa các chất KNK với các yếu tố môi trường và đặc trưng đệm lót. Các chỉ tiêu sẽ được thể hiện trên đồ thị nhằm đưa ra nhận định về sự khác biệt của các kết quả nghiên cứu giữa các đợt.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Đánh giá một số yếu tố môi trường nền có ảnh hưởng đến phát thải

#### 3.1.1. Một số đặc trưng của đệm lót

**Bảng 1. Một số tính chất của đệm lót sinh học được sử dụng**

| Chỉ tiêu phân tích                | Số ngày sử dụng đệm lót |                     |                     |                     |                     |                     |
|-----------------------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                                   | 0                       | 11                  | 21                  | 32                  | 42                  | 54                  |
| Độ ẩm (%)                         | 56,60                   | 61,59               | 58,14               | 58,64               | 56,70               | 57,5                |
| Độ xốp (%)                        | 74,30                   | 74,04               | 70,00               | 76,40               | 71,40               | 73,4                |
| Khối lượng* (kg)                  | -                       | 2.000               | 5.025               | 5.355               | 5.836               | 6.514               |
| VSV tổng số (CFU/g)               | 4,5*10 <sup>7</sup>     | 1,4*10 <sup>8</sup> | 4,3*10 <sup>7</sup> | 1,3*10 <sup>7</sup> | 1,8*10 <sup>8</sup> | 6,8*10 <sup>8</sup> |
| <i>E. coli</i> tổng số (CFU/g)    | 2,8*10 <sup>4</sup>     | 1,2*10 <sup>5</sup> | 1,3*10 <sup>5</sup> | 2*10 <sup>5</sup>   | 2,8*10 <sup>6</sup> | 1,3*10 <sup>7</sup> |
| <i>Coliform</i> tổng số (CFU/g)   | 8,7*10 <sup>5</sup>     | 2,4*10 <sup>6</sup> | 3,0*10 <sup>6</sup> | 2,4*10 <sup>6</sup> | 9,6*10 <sup>6</sup> | 2,9*10 <sup>7</sup> |
| <i>E. coli</i> chịu nhiệt (CFU/g) | 2,2*10 <sup>4</sup>     | 1,2*10 <sup>5</sup> | 1,1*10 <sup>5</sup> | 1,8*10 <sup>5</sup> | 2,7*10 <sup>6</sup> | 1,1*10 <sup>7</sup> |

|                                    |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <i>Coliform</i> chịu nhiệt (CFU/g) | $6,3 \cdot 10^5$ | $1,2 \cdot 10^6$ | $2,8 \cdot 10^5$ | $2,2 \cdot 10^6$ | $7,8 \cdot 10^6$ | $2,7 \cdot 10^7$ |
| <i>Salmonella</i> (CFU/g)          | $4,0 \cdot 10^3$ | $4,9 \cdot 10^3$ | $9,4 \cdot 10^4$ | $2,9 \cdot 10^5$ | $2,9 \cdot 10^5$ | $1,3 \cdot 10^6$ |

*Ghi chú: \* Khối lượng vật chất khô của đệm lót.*

Độ ẩm của đệm lót sau khi ủ để đưa vào chuồng nuôi được xác định là 56,6%. Trong quá trình sử dụng, đệm lót sẽ bị mất nước do quá trình bay hơi (chuồng hở), nhưng lại được nhận phân thải và nước tiểu của bò, do đó độ ẩm trung bình của đệm lót tăng lên 61,59% ở lần lấy mẫu đợt 2. Thí nghiệm bố trí bổ sung đệm lót sau 2 tuần đảm bảo lớp đệm dày 40 cm, do hoạt động đi lại của bò trên nền đệm lót làm đệm lót bị xẹp xuống. Đệm lót được bổ sung và đảo đều trước khi lấy mẫu đợt 3, do đó độ ẩm của đệm lót giảm xuống 58,14%. Các đợt lấy mẫu sau, độ ẩm đệm lót có sự thay đổi không đáng kể. Nhìn chung, độ ẩm đệm lót có giá trị dao động thấp, trong khoảng 56,6 - 61,59%. Độ xốp của đệm lót có giá trị tương đối cao và có biên độ thay đổi nhỏ trong suốt thời gian sử dụng. Giá trị độ xốp của mẫu đệm lót dao động trong khoảng 70 - 76,4%. Mặc dù lượng chất thải của bò được thêm vào đệm lót mỗi ngày và có sự xẹp lún do khối lượng bò nhưng độ xốp của đệm lót ít thay đổi trong 54 ngày sử dụng, điều này có thể do có sự đảo đều đệm lót định kì (2 tuần 1 lần). Nhờ vậy giúp lớp đệm lót giữ được độ thoáng khí và tránh nhiệt độ lên quá cao, thích hợp cho sự phát triển của hệ VSV trong đệm lót.

Kết quả phân tích trong cả quá trình theo dõi cho thấy, các chỉ tiêu VSV nhìn chung có xu hướng tăng lên theo thời gian lưu của đệm lót trong chuồng nuôi. Cụ thể, mật độ VSV tổng số của mẫu đệm lót tại ngày đầu tiên chế phẩm được sử dụng cho chuồng nuôi là  $4,5 \cdot 10^7$  CFU/g, mật độ này tăng lên sau 11 ngày sử dụng chế phẩm, đạt

$1,4 \cdot 10^8$  CFU/g. Sau 21 ngày, kết quả mật độ VSV tổng số trở về  $4,3 \cdot 10^7$  CFU/g, tương đương với kết quả của ngày đầu tiên (do vừa được bổ sung đệm lót mới ủ) và thấp hơn mật độ VSV tổng số của đợt lấy mẫu ngày thứ 11 nhưng không nhiều. Kết quả phân tích mật độ của VSV tổng số trong đợt lấy mẫu thứ 5 (sau 32 ngày) đạt  $1,3 \cdot 10^7$  CFU/g, có thể do VSV trong đệm lót mới và cũ cần thời gian thích nghi trong điều kiện môi trường bắt đầu có sự gia tăng nhiều chất độc hại gây ra ảnh hưởng, xung đột dẫn đến làm giảm mật độ VSV tổng số ở đợt lấy mẫu thứ 4. Tuy nhiên, sau đó kết quả phân tích mật độ VSV tổng số đã tăng lên ở các đợt lấy mẫu 5, 6 khi VSV đã thích nghi với điều kiện môi trường và tăng mật độ trở lại. Như vậy, trong suốt thời gian sử dụng đệm lót, mật độ VSV tổng số đều đạt trên  $10^7$  CFU trên 1 g vật liệu. Mật độ các VSV không có lợi từ chất thải của bò như: *E. coli*, *coliform*, *E. coli* chịu nhiệt, *coliform* chịu nhiệt và *Salmonella*, đồng thời được kiểm tra trong mẫu đệm lót. Kết quả cho thấy, cùng với số lượng VSV tổng số và khối lượng chất thải trong đệm lót tăng mỗi ngày thì các loài này cũng tăng. Đặc biệt, sau 54 ngày sử dụng, mật độ các loài này tăng lên rất cao, *E. coli* tổng số đạt  $1,3 \cdot 10^7$  CFU/g, *coliform* tổng số lên tới  $2,9 \cdot 10^7$  CFU/g đệm lót và *Salmonella* là  $1,3 \cdot 10^6$  CFU/g. Sự tăng mạnh của các nhóm vi khuẩn này sẽ ảnh hưởng tới hoạt động của nhóm sinh vật có lợi trong đệm lót.

### 3.1.2. Hiện trạng môi trường không khí xung quanh chuồng nuôi

**Bảng 2. Kết quả phân tích các mẫu không khí xung quanh chuồng nuôi**

| Chỉ tiêu             | Nhiệt độ (°C) | Độ ẩm (%) | SO <sub>2</sub> (µg/m <sup>3</sup> ) | NO <sub>2</sub> (µg/m <sup>3</sup> ) | H <sub>2</sub> S (µg/m <sup>3</sup> ) | NH <sub>3</sub> (µg/m <sup>3</sup> ) | VKHK* (CFU/m <sup>3</sup> ) |
|----------------------|---------------|-----------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| Ngày sử dụng đệm lót |               |           |                                      |                                      |                                       |                                      |                             |
| 0                    | 19,0          | 64,1      | <45                                  | <45                                  | <24                                   | <15                                  | $7,2 \cdot 10^3$            |

|                              |      |      |       |     |      |       |                      |
|------------------------------|------|------|-------|-----|------|-------|----------------------|
| 11                           | 25,9 | 42,7 | 130,0 | <45 | <24  | 75,0  | 1,02*10 <sup>4</sup> |
| 21                           | 32,9 | 46,1 | 273,0 | <45 | <24  | 1705  | 1,2*10 <sup>4</sup>  |
| 32                           | 26,9 | 77,7 | 181,0 | <45 | <24  | 859,0 | 1,1*10 <sup>4</sup>  |
| 42                           | 21,9 | 70,4 | 412,0 | <45 | <24  | 2167  | 8,5*10 <sup>3</sup>  |
| 54                           | 24,2 | 83,5 | <45   | <45 | 50,0 | 130,0 | 8,4*10 <sup>3</sup>  |
| Các quy chuẩn so sánh        |      |      |       |     |      |       |                      |
| QCVN 05:2023/BTNMT [38]      |      |      | 350   | 200 | 42   | 200   |                      |
| QCVN 01-79:2011/BNNPTNT [39] |      |      |       |     | 6953 | 6953  | 1,0*10 <sup>6</sup>  |

*Ghi chú: VKHK\* - Vi khuẩn tổng số hiếu khí.*

Các chỉ tiêu phân tích chất lượng mẫu không khí chuồng nuôi được lựa chọn dựa trên đặc trưng phát thải chất thải chăn nuôi và được so sánh với QCVN 05:2023/BTNMT [38]. Kết quả phân tích các mẫu không khí được so sánh với QCVN 01-79:2011/BNNPTNT [39].

Kết quả cho thấy, nhiệt độ và độ ẩm trong quá trình thí nghiệm biến đổi khá rộng, nhiệt độ thấp nhất là 19°C và cao nhất là 32,9°C, trong khi độ ẩm không khí cũng biến đổi khá rộng, từ 42,7 - 83,5%. Kết quả phân tích các mẫu lấy lần đầu (0 ngày), chỉ tiêu SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S và NH<sub>3</sub> đều dưới ngưỡng phát hiện, chỉ tiêu NO<sub>2</sub> vẫn không phát hiện ở 5 đợt lấy mẫu tiếp theo. Tổng bụi lơ lửng trong các mẫu dao động trong khoảng 85 - 105 µg/m<sup>3</sup>, đều thấp hơn tiêu chuẩn cho phép của QCVN 05:2023/BTNMT [38] và trong các đợt phân tích hầu như không tăng nhiều so với mẫu lấy đợt đầu. Hai chỉ tiêu SO<sub>2</sub> và H<sub>2</sub>S là các khí thải sinh ra từ sự phân hủy protein, kết quả phân tích các mẫu sau 11, 21, 32 và 42 ngày đều không phát hiện nồng độ H<sub>2</sub>S, trong khi nồng độ của SO<sub>2</sub> khá cao. Tuy nhiên, kết quả mẫu sau 54 ngày nồng độ khí H<sub>2</sub>S tăng cao đột ngột lên 50 µg/m<sup>3</sup>, vượt trên nồng độ cho phép các chất khí độc hại trong không khí theo QCVN 05:2023/BTNMT [38]; trong khi đó, nồng độ SO<sub>2</sub> giảm đột ngột dưới ngưỡng định lượng. Như vậy, trong 42 ngày đầu dùng đệm lót, thành phần lưu huỳnh trong chất thải được hệ VSV

chuyển hóa thành dạng SO<sub>2</sub> là chủ yếu. Chỉ có kết quả đợt 5 là vượt ngưỡng cho phép theo QCVN 05:2023/BTNMT [38], nhưng đến 54 ngày thì sản phẩm chuyển hóa chủ yếu là H<sub>2</sub>S, dẫn đến mùi thối tăng mạnh. Mật độ vi khuẩn hiếu khí tổng số được xác định trong cả 6 đợt cho kết quả có sự biến động nhỏ, trong khoảng 7,2.10<sup>3</sup> - 1,2.10<sup>4</sup> CFU/m<sup>3</sup>. Mặc dù đệm lót sinh học có mật độ VSV rất lớn nhưng VSV tổng số trong mẫu không khí đều rất thấp so với ngưỡng cho phép theo QCVN 01-79:2011/BNNPTNT [39]. Kết quả phân tích NH<sub>3</sub> cho kết quả khác biệt rõ rệt nhất trong các đợt phân tích. Đợt đầu chưa phát hiện NH<sub>3</sub> trong mẫu, sau 11 ngày nồng độ NH<sub>3</sub> trong không khí tăng nhanh lên 75 µg/m<sup>3</sup> và tới 1.705 µg/m<sup>3</sup> sau 21 ngày dùng đệm lót. Kết quả đợt 4 (sau 32 ngày) giảm, do được bổ sung đệm lót mới nên tăng khả năng hấp phụ nước thải của đệm lót, lượng khí thải NH<sub>3</sub> cũng như SO<sub>2</sub> cùng giảm. Nồng độ khí NH<sub>3</sub> tăng mạnh ở lần lấy mẫu sau 42 ngày và giảm đột ngột ở lần lấy mẫu sau 54 ngày. Nồng độ khí NH<sub>3</sub> trong 3 đợt lấy mẫu (21, 32 và 42 ngày) vượt ngưỡng cho phép theo QCVN 05:2023/BTNMT [38] nhiều lần, nhưng đối chiếu với QCVN 01-79:2011/BNNPTNT [39] thì kết quả vẫn thấp hơn ngưỡng cho phép rất nhiều.

Nhìn chung, chất lượng các mẫu không khí xung quanh chuồng nuôi trong thời gian thí nghiệm có một số mẫu vượt ngưỡng so với tiêu

chuẩn chất lượng không khí xung quanh, đặc biệt là chỉ tiêu  $\text{NH}_3$ , nhưng theo quy chuẩn về vệ sinh chuồng nuôi thì các kết quả đều dưới ngưỡng cho phép nhiều lần. Kết quả phân tích chất lượng các mẫu không khí xung quanh cũng cho thấy, có sự biến đổi khá mạnh và đồng bộ của các chỉ tiêu trong khoảng từ 42 - 54 ngày sử dụng đệm lót. Sự thay đổi này có thể do lượng chất thải đã bão hòa trong đệm lót và hệ sinh vật trong lớp đệm lót đã có sự thay đổi lớn, tổng số vi khuẩn tăng mạnh và số lượng các vi khuẩn không có lợi như: *Coliform*, *E. coli*, *Salmonella* cũng tăng mạnh đã tạo ra sự cạnh tranh giữa các nhóm vi khuẩn.

Bên cạnh đó, đệm lót sinh học giúp cho bò trong lô thí nghiệm luôn sạch sẽ, đi lại và nghỉ ngơi thoải mái do được sinh hoạt trên lớp đệm êm và khô, vì vậy chúng luôn tỏ ra rất thoải mái, không có con nào bị bệnh móng chân. Đồng thời, trên đệm lót có rất ít ruồi, muỗi nên bò không bị ảnh hưởng bởi các loài này.

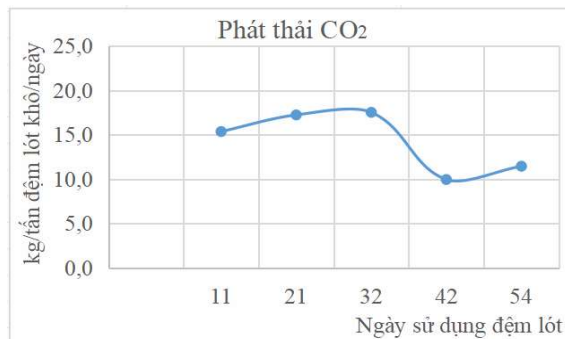
### 3.2. Phát thải KNK khi dùng đệm lót sinh học trong chăn nuôi bò thịt

Mẫu thu đợt 1 là ngay sau khi rải đệm lót, lượng chất thải chưa có nên quá trình phân hủy yếm khí chất thải chưa xảy ra vì trên đệm lót hầu như chưa có chất thải, do đó kết quả phát thải các KNK trên nền đệm lót được phân tích từ đợt lấy mẫu thứ 2.

#### 3.2.1. Diễn biến phát thải $\text{CO}_2$

Phát thải  $\text{CO}_2$  diễn ra mạnh mẽ, tăng dần theo thời gian và đạt độ phát thải đạt mạnh nhất trong khoảng 21 - 32 ngày, hệ số phát thải  $\text{CO}_2$  đo được ở ngày thứ 32 đạt 17,51 kg/tấn vật chất khô đệm lót/ngày. Tuy nhiên, kết quả đo được ở ngày thứ 42 hệ số phát thải  $\text{CO}_2$  lại giảm mạnh còn dưới 10 kg/tấn vật chất khô/ngày và đến ngày thứ 54 hệ số phát thải tăng nhẹ lên 11,44 kg/tấn vật chất khô/ngày. Phát thải  $\text{CO}_2$  khá cao, nguyên nhân chính là do trong lớp đệm lót sinh học đã được bổ sung một lượng khá lớn chủng vi khuẩn phân giải hiếu khí các hợp chất hữu cơ. Các vi khuẩn này đã được kích hoạt 10 ngày trong quá trình ủ lớp đệm nên hoạt lực vi khuẩn rất mạnh, dẫn đến quá trình phân hủy hiếu khí diễn ra mạnh mẽ.

Tổng lượng phát thải khí  $\text{CO}_2$  trong công thức chăn nuôi với đệm lót sinh học trong giai đoạn thí nghiệm là 719,9 kg/tấn vật chất khô/54 ngày. Với diện tích chuồng là 100  $\text{m}^2$  và 20 con bò, hệ số phát thải  $\text{CO}_2$  tính được theo diện tích là 30.000  $\text{mg}/\text{m}^2/\text{giờ}$ , lượng phát thải  $\text{CO}_2$  này gấp 3 lần so với kết quả nghiên cứu của Jaderborg và cs (2021) [21], theo đó khi nghiên cứu sự phát thải KNK với quy mô phòng thí nghiệm, với việc bổ sung phân và nước tiểu của gia súc 3 lần mỗi tuần vào đệm lót được làm từ các vật liệu khác nhau, đã đo được đệm lót làm từ rơm lúa mì phát thải  $\text{CO}_2$  khoảng 10.000  $\text{mg}/\text{m}^2/\text{giờ}$ , đệm lót làm từ dăm gỗ thông phát thải  $\text{CO}_2$  khoảng 6.000  $\text{mg}/\text{m}^2/\text{giờ}$ . Sự phát thải  $\text{CO}_2$  cao ở giai đoạn đầu dùng đệm lót có thể giải thích do VSV hiếu khí hoạt động mạnh mẽ, lớp đệm lót tơi xốp, diện tích tiếp xúc của chất thải và VSV trong đệm lót với không khí rất lớn, nên quá trình phân giải hiếu khí tạo  $\text{CO}_2$  diễn ra mạnh làm tăng phát thải  $\text{CO}_2$ .



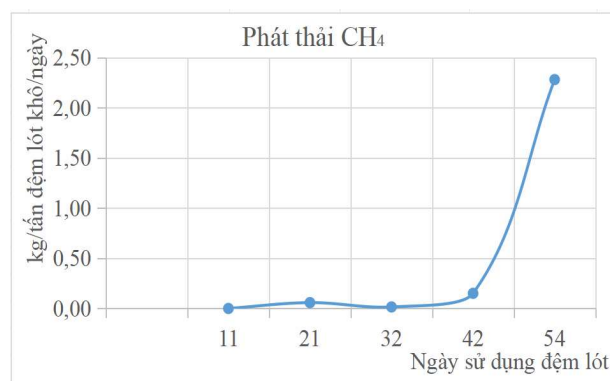
Hình 1. Diễn biến phát thải khí  $\text{CO}_2$  trong quá trình nghiên cứu

#### 3.2.2. Diễn biến phát thải $\text{CH}_4$

Phát thải  $\text{CH}_4$  từ đệm lót sinh học diễn ra rất chậm trong 3 đợt lấy mẫu đầu (11, 21 và 32 ngày). Sau đó, phát thải  $\text{CH}_4$  tăng dần sau ngày thứ 42, tương ứng với sự suy giảm trong phát thải  $\text{CO}_2$ . Tổng lượng phát thải khí  $\text{CH}_4$  là 0,38 kg  $\text{CH}_4$ /tấn đệm lót khô/ngày, tương ứng với 20,28 kg  $\text{CH}_4$ /tấn đệm lót khô trong 54 ngày. Trong 20,28 kg  $\text{CH}_4$  có chứa 15,21 kg carbon, tương ứng với tỷ lệ mất carbon dạng  $\text{CH}_4$  là 1,52%. Nếu tính trong 42 ngày đầu sử dụng đệm lót thì hệ số phát thải  $\text{CH}_4$  là 0,05 kg/tấn đệm lót khô/ngày, rất nhỏ so với sự phát thải ở giai đoạn sau 42 ngày. Theo thời gian, lượng chất thải bò tích lũy trong đệm lót tăng



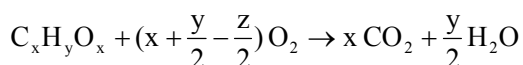
lên, quá trình phân giải hiếu khí diễn ra trong giai đoạn đầu tiêu thụ oxy trong lớp đệm, tạo ra môi trường yếm khí phía dưới lớp đệm, tạo điều kiện cho quá trình phân hủy yếm khí tạo ra  $\text{CH}_4$  ngày càng tăng (Hình 2). Đồng thời, do mật độ VSV trong đệm lót tăng mạnh, tăng sự cạnh tranh oxy nên hoạt động hiếu khí giảm và hoạt động yếm khí tăng lên. Từ kết quả trên, có thể dự đoán phát thải  $\text{CH}_4$  sẽ tiếp tục tăng trong giai đoạn tiếp theo do số lượng vi khuẩn hiếu khí không có lợi và lượng chất thải tăng làm cho hàm lượng oxy khuếch tán cho phân hủy hiếu khí ngày càng giảm, thúc đẩy quá trình phân giải yếm khí.



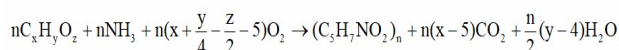
**Hình 2. Diễn biến phát thải khí  $\text{CH}_4$  trong quá trình nghiên cứu**

Theo Nguyễn Quang Khải, Nguyễn Gia Lượng (2010) [40], cơ chế phân hủy các hợp chất hữu cơ từ phân và nước thải gia súc, gia cầm dưới tác động của các VSV yếm khí hay hiếu khí tạo thành các chất hòa tan và chất khí. Sau đó, quá trình tiếp tục trải qua rất nhiều phản ứng hóa học khác nhau để chuyển hóa các nguyên tố carbon, hydro, oxy thành các khí methane và carbonic. Quá trình phân giải được đề xuất diễn ra theo hai giai đoạn như sau:

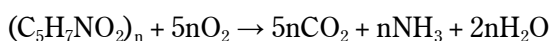
*Giai đoạn 1: Oxi hóa các hợp chất hữu cơ*



*Giai đoạn 2: Tổng hợp các tế bào mới*



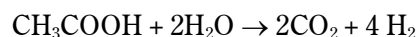
*Giai đoạn 3: Phân hủy nội sinh*



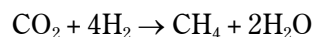
VSV hiếu khí sinh trưởng và sinh sản mạnh mẽ để phân hủy các chất hữu cơ thông qua quá trình oxy hóa. Với đệm lót sinh học trong chăn nuôi, lượng chất thải tăng lên theo thời gian, lượng vi khuẩn không có lợi tăng lên cạnh tranh oxy với các vi khuẩn có lợi, dẫn đến phân giải hiếu khí giảm dần, phân giải yếm khí tăng lên. Quá trình phân giải yếm khí, các hợp chất hữu cơ như xellulozo, tinh bột bị oxy hóa thành các axit hữu cơ:



Tiếp theo là sự phân hủy axit axetic tạo ra  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2$ :



Sau đó là quá trình tổng hợp khí methane từ phản ứng hóa học giữa  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2$  dưới tác động của các vi khuẩn yếm khí:



Có rất ít nghiên cứu về phát thải KNK của đệm lót sinh học. Theo Jaderborg và cs (2021) [21], nghiên cứu quy mô phòng thí nghiệm, các yếu tố pH, độ xốp, độ ẩm, nhiệt độ, độ dày của đệm lót và tuổi thọ của đệm lót sinh học là các yếu tố chính ảnh hưởng đến khả năng giảm phát thải  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  và một số chất khí độc. Với mô hình thùng cao 0,42 m, đường kính 0,38 m, 400 g đệm lót, ở  $30^\circ\text{C}$ , bổ sung 900 g phân, 900 g nước tiểu gia súc và 200 g vật liệu đệm lót mỗi tuần, sự phát thải khí methane đo được ở tuần thứ 6 là  $12,59 \text{ mg/m}^2/\text{giờ}$  với vật liệu đệm lót là vỏ thân cây ngô. Theo Bộ Tài nguyên và Môi trường (2022) [41], khả năng sản sinh khí  $\text{CH}_4$  tối đa từ chất thải của bò thịt là  $0,13 \text{ m}^3/\text{kg}$  chất thải, tương đương  $92,9 \text{ kg CH}_4/\text{tấn}$  chất thải; hệ số chuyển đổi  $\text{CH}_4$  của chất thải vật nuôi được xử lý bằng hệ thống đệm lót sinh học ở vùng có nhiệt độ trung bình trên  $25^\circ\text{C}$  là 1,5%, tức là phát thải  $15 \text{ kg CH}_4/1 \text{ tấn}$  chất thải. Như vậy, phát thải  $\text{CH}_4$  từ đệm lót sinh học làm từ rơm và vỏ cây keo thấp hơn nhiều so với hệ số phát thải tối đa được công bố của Bộ Tài nguyên và Môi trường (2022) [41]. Từ kết quả phân tích đặc điểm của đệm lót sinh học, đã xây dựng mối tương quan giữa phát thải  $\text{CH}_4$  và  $\text{N}_2\text{O}$  với đặc điểm đệm lót bằng phần mềm IBM SPSS (2023), kết quả được trình bày trong bảng 3 và 4.



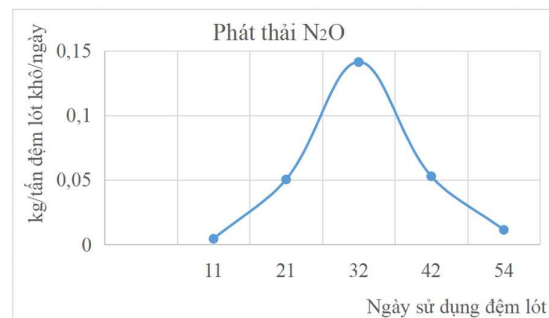
Bảng 3. Sự tương quan giữa phát thải khí CH<sub>4</sub> với đặc điểm của đệm lót

| Mối tương quan giữa các thông số     |                    |                 |          |         |          |         |
|--------------------------------------|--------------------|-----------------|----------|---------|----------|---------|
| Các thông số                         |                    | CH <sub>4</sub> | Tổng VSV | Độ ẩm   | Nhiệt độ | Độ xốp  |
| CH <sub>4</sub>                      | Tương quan Pearson | 1               | 0,999**  | -0,030  | 0,850*   | 0,867*  |
|                                      | Mức độ đáng kể (t) |                 | 0,000    | 0,955   | 0,032    | -0,025  |
| Tổng VSV                             | Tương quan Pearson | 0,999**         | 1        | -0,009  | 0,857*   | 0,866*  |
|                                      | Mức độ đáng kể (t) | 0,000           |          | 0,986   | 0,029    | 0,026   |
| Độ ẩm                                | Tương quan Pearson | -0,030          | 0,95*    | 1       | 0,977**  | 0,91**  |
|                                      | Mức độ đáng kể (t) | 0,955           | 0,086    |         | -0,738   | -0,77   |
| Nhiệt độ                             | Tương quan Pearson | 0,850*          | 0,857*   | 0,977** | 1        | 0,957** |
|                                      | Mức độ đáng kể (t) | 0,032           | 0,029    | -0,738  |          | 0,003   |
| Độ xốp                               | Tương quan Pearson | 0,867*          | 0,866*   | 0,154   | 0,957**  | 1       |
|                                      | Mức độ đáng kể (t) | -0,025          | 0,026    | 0,771   | 0,003    |         |
| *. Tương quan có ý nghĩa ở mức 0,05  |                    |                 |          |         |          |         |
| **. Tương quan có ý nghĩa ở mức 0,01 |                    |                 |          |         |          |         |

Bảng 3 cho thấy, lượng phát thải khí CH<sub>4</sub> có xu hướng tăng và tỷ lệ thuận với tổng VSV (0,999), nhiệt độ (0,857) và tỷ lệ nghịch với độ xốp (-0,025). Điều này cho thấy, độ xốp càng giảm thì lượng oxi khuếch tán vào trong đệm lót càng giảm và nhiệt độ tăng dần tới quá trình hoạt động của VSV trong môi trường yếm khí tăng, thúc đẩy quá trình phân giải yếm khí. Bên cạnh đó, bằng phần mềm IBM SPSS cho thấy, hệ số tác động  $\beta$  của các yếu tố giảm dần, lần lượt là tổng VSV, độ xốp, nhiệt độ. Điều này cho thấy, độ xốp tỷ lệ thuận với hàm lượng oxi khuếch tán trong đệm lót và tỷ lệ nghịch với nhiệt độ dẫn tới độ xốp càng giảm thì lượng oxi khuếch tán vào trong đệm lót càng giảm và nhiệt độ tăng dần tới hoạt động của VSV yếm khí tăng, quá trình phân giải yếm khí tăng mạnh.

### 3.2.3. Diễn biến phát thải N<sub>2</sub>O

Phát thải N<sub>2</sub>O của lớp đệm lót ở 11 ngày đầu tiên của thí nghiệm rất thấp sau đó tăng dần ở ngày thứ 21 và đạt đỉnh ở ngày thứ 32 của thí nghiệm, sau đó giảm nhanh ở ngày thứ 42 và tiếp tục giảm nhanh ở ngày thứ 54 (Hình 3).



Hình 3. Diễn biến phát thải khí N<sub>2</sub>O trong quá trình nghiên cứu

Phát thải khí N<sub>2</sub>O trung bình trong thời gian tương ứng với lượng phát thải N<sub>2</sub>O là 3,37 kg/tấn nghiên cứu là 60 g N<sub>2</sub>O/tấn độn lót khô/ngày, vật chất khô trong 54 ngày (Hình 3).

**Bảng 4. Sự tương quan giữa N<sub>2</sub>O với đặc điểm của độn lót**

| Mối tương quan giữa các thông số     |                    |                  |          |         |          |         |
|--------------------------------------|--------------------|------------------|----------|---------|----------|---------|
| Các thông số                         |                    | N <sub>2</sub> O | Tổng VSV | Độ ẩm   | Nhiệt độ | Độ xốp  |
| N <sub>2</sub> O                     | Tương quan Pearson | 1                | 0,959**  | 0,810   | 0,890*   | 0,987*  |
|                                      | Mức độ đáng kể (t) |                  | 0,000    | 0,955   | 0,032    | -0,025  |
| Tổng VSV                             | Tương quan Pearson | 0,999**          | 1        | -0,009  | 0,857*   | 0,866*  |
|                                      | Mức độ đáng kể (t) | 0,000            |          | 0,986   | 0,029    | 0,026   |
| Độ ẩm                                | Tương quan Pearson | -0,030           | 0,95*    | 1       | 0,977**  | 0,91**  |
|                                      | Mức độ đáng kể (t) | 0,955            | 0,086    |         | -0,738   | -0,77   |
| Nhiệt độ                             | Tương quan Pearson | 0,850*           | 0,857*   | 0,977** | 1        | 0,957** |
|                                      | Mức độ đáng kể (t) | 0,032            | 0,029    | -0,738  |          | 0,003   |
| Độ xốp                               | Tương quan Pearson | 0,867*           | 0,866*   | 0,154   | 0,957**  | 1       |
|                                      | Mức độ đáng kể (t) | -0,025           | 0,026    | 0,771   | 0,003    |         |
| *. Tương quan có ý nghĩa ở mức 0,05  |                    |                  |          |         |          |         |
| **. Tương quan có ý nghĩa ở mức 0,01 |                    |                  |          |         |          |         |

Amoniac được giải phóng từ quá trình phân hủy ure trong nước thải chăn nuôi trải qua quá trình phân hủy của VSV hiếu khí chuyển thành nitrat:



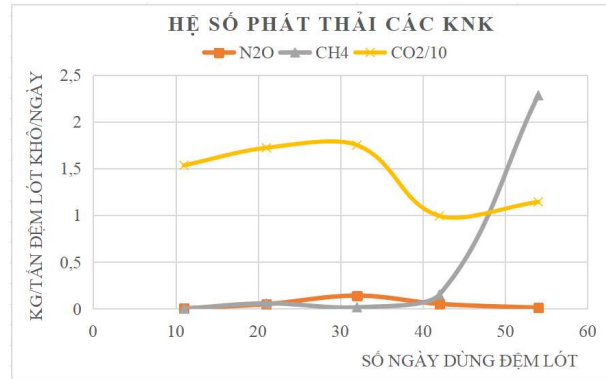
Sau đó, quá trình hoạt động của các VSV yếm khí chuyển hóa nitrat thành khí N<sub>2</sub>O, các vi khuẩn chuyển hóa NO<sub>3</sub><sup>-</sup> thành NO<sub>2</sub><sup>-</sup> rồi thành N<sub>2</sub>O trong điều kiện yếm khí. Theo thời gian, sự tích tụ của phân và nước thải của bò hàng ngày tăng lên và mật độ VSV trong lớp độn cũng tăng, do vậy phát thải N<sub>2</sub>O tăng dần trong giai đoạn 32 ngày đầu thí nghiệm. Sang giai đoạn sau 32 ngày, quá trình phân hủy độn lót khiến cho độn lót toi xốp, sự tương quan nghịch biến giữa

N<sub>2</sub>O và độ xốp (-0,025) và quá trình tích tụ nước tiểu chứa oxi dẫn đến quá trình yếm khí không hoàn toàn diễn ra, lúc này N<sub>2</sub>O sẽ giảm. Đồng thời, sau 42 ngày, hoạt động yếm khí phân giải chất hữu cơ tạo CH<sub>4</sub> tăng mạnh sẽ cạnh tranh với quá trình phân giải NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, làm cho chuyển hóa nitrat giảm.

Hình 4 mô tả diễn biến hệ số phát thải các KNK trong 54 ngày thí nghiệm tương ứng với các đường minh họa hệ số phát thải CO<sub>2</sub> (hệ số phát thải CO<sub>2</sub> chia 10 lần), hệ số phát thải N<sub>2</sub>O và hệ số phát thải CH<sub>4</sub>. Kết quả cho thấy, sự phát thải chủ yếu là CO<sub>2</sub>, tức là quá trình phân hủy hiếu khí là chủ yếu trong 42 ngày đầu, sau đó lượng phát thải CO<sub>2</sub> tăng nhẹ trong khi CH<sub>4</sub> tăng rất mạnh. Điều đó chứng tỏ, sau một thời gian sử dụng, số lượng

VSV có hại tăng lên, cạnh tranh hoạt động với VSV có lợi, lượng chất thải trong đệm lót đạt mức bão hòa, làm giảm mạnh hoạt động phân giải hiếu khí và quá trình phân giải yếm khí tăng lên. Đây là một kết quả mang lại gợi ý tốt cho thời hạn sử dụng đệm lót là khoảng 42 ngày để giảm thiểu quá trình phát thải khí methane. Sau thời gian 42 ngày, mặc dù đệm lót vẫn được dùng tiếp tục đến 54 ngày mà khu chuồng nuôi vẫn không có mùi nặng nề (nồng độ khí  $\text{NH}_3$ ,  $\text{SO}_2$  và  $\text{H}_2\text{S}$  thấp) và bò vẫn rất khỏe mạnh, tuy nhiên, lượng phát thải khí methane tăng mạnh. Vì vậy, khuyến cáo sau 42 ngày đệm lót cần thiết được lấy ra mang đi ủ thành phân bón và thay bằng một lớp đệm lót mới, hoặc

thay thế một phần bằng đệm lót mới kết hợp với đảo đều.



Hình 4. Diễn biến phát thải các KNK trong 54 ngày thí nghiệm

Bảng 5. Hệ số phát thải KNK trung bình tính theo 42 ngày (F42) và 54 ngày (F54)

| Chỉ tiêu KNK                                                    | CO <sub>2</sub> |       | N <sub>2</sub> O |      | CH <sub>4</sub> |      | CO <sub>2</sub> eq |       |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------|-------|------------------|------|-----------------|------|--------------------|-------|
| Hệ số phát thải trung bình (kg khí thải/1 tấn đệm lót khô/ngày) | F42             | F54   | F42              | F54  | F42             | F54  | F42                | F54   |
|                                                                 | 14,36           | 13,33 | 0,07             | 0,06 | 0,05            | 0,38 | 36,37              | 41,33 |

Việc tính toán hệ số phát thải trung bình theo số liệu 42 ngày nghiên cứu (F42) và 54 ngày nghiên cứu (F54) cho thấy, hệ số phát thải trung bình của 1 tấn đệm lót khô được sử dụng phát thải CO<sub>2</sub> và N<sub>2</sub>O giảm (F54 < F42), phát thải CH<sub>4</sub> F54 tăng so với F42 gần 8 lần. Do đó, tổng hệ số phát thải quy theo CO<sub>2</sub> tương đương F54 cũng cao hơn so với F42 rất nhiều.

#### 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

Hiện trạng phát thải các KNK phụ thuộc vào thời gian sử dụng đệm lót, độ xốp, nhiệt độ và mật độ VSV. Giai đoạn đầu sử dụng đệm lót chủ yếu là quá trình phân hủy hiếu khí, lượng phát thải CO<sub>2</sub> khá lớn và đạt cực đại trong khoảng từ 21 - 32 ngày, sau đó phát thải CO<sub>2</sub> giảm, quá trình yếm khí trở nên chiếm ưu thế. Trong 42 ngày đầu, phát thải CH<sub>4</sub> rất thấp, chỉ từ 0,6 - 151 g/tấn đệm lót khô/ngày; sau đó tăng lên rất mạnh ở lần lấy mẫu 54 ngày, lên tới 2,28 kg/tấn đệm lót khô/ngày và được dự đoán còn tiếp tục tăng. Phần mềm thống kê IBM SPSS (2023) cho kết quả sự phát thải CH<sub>4</sub> tỉ lệ thuận với mật độ VSV

và nhiệt độ, trong khi tỉ lệ nghịch với độ xốp. Phát thải N<sub>2</sub>O đạt cực đại ở ngày thứ 32 sau đó giảm mạnh. Sau khoảng 42 ngày sử dụng đệm lót sinh học, phát thải CH<sub>4</sub> tăng rất nhanh còn phát thải CO<sub>2</sub> và N<sub>2</sub>O đều giảm, do đó khuyến cáo sử dụng đệm lót trong 42 ngày sau đó cần thay thế 1 phần hoặc toàn bộ đệm lót, ủ phần đệm lót đã sử dụng để làm phân bón.

Môi trường không khí xung quanh chuồng nuôi có một số chỉ tiêu ở một số đợt phân tích vượt ngưỡng cho phép theo QCVN 05:2023/BTNMT, đó là NH<sub>3</sub> của đợt 3, 4, 5; H<sub>2</sub>S đợt 6 và SO<sub>2</sub> của đợt 5, nhưng kết quả đều rất thấp so với giới hạn cho phép theo QCVN 01-79:2011/BNNPTNT.

Đệm lót trong quá trình sử dụng có thay đổi ít về một số đặc trưng như độ ẩm, độ xốp. Tổng VSV trong đệm lót tăng lên theo thời gian sử dụng, đồng thời, số lượng các vi khuẩn có hại cũng tăng lên, dẫn đến sự cạnh tranh và xung đột giữa nhóm vi khuẩn có lợi và vi khuẩn có hại trong đệm lót.

##### 4.2. Kiến nghị

Cần có thêm nghiên cứu về công thức phối trộn vật liệu làm đệm lót (rơm rạ, vỏ cây keo và

chế phẩm vi sinh) để tìm ra công thức tối ưu nhất, giúp kéo dài thời gian sử dụng, giảm phát thải KNK và các khí có hại; đồng thời tiết kiệm chi phí, tăng lợi nhuận cho người chăn nuôi.

#### **LỜI CẢM ƠN**

*Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn thầy Bùi Hữu Đoàn (Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam), các thành viên Dự án VN-SIPA, Tổ chức GIZ, các cán bộ và công nhân Trang trại Lúa Vàng, huyện Yên Dũng, tỉnh Bắc Giang đã nhiệt tình hỗ trợ và tạo điều kiện cho nhóm thực hiện thu thập số liệu cho nghiên cứu này.*

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Thủ tướng Chính phủ (2020). *Quyết định số 1520/QĐ-TTg ngày 6/10/2020 phê duyệt Chiến lược phát triển chăn nuôi giai đoạn 2021 - 2030, tầm nhìn 2045.*
2. Bộ Nông nghiệp và PTNT (2014). *Quyết định số 984/QĐ-BNN-CN phê duyệt Đề án tái cơ cấu ngành chăn nuôi theo hướng nâng cao giá trị gia tăng và phát triển bền vững.*
3. Trần Khánh Vân (2013). *Báo cáo điều tra đánh giá tác động của biến đổi khí hậu tới chăn nuôi và phòng trừ dịch bệnh, đề xuất các giải pháp thích ứng.* Viện Chăn nuôi.
4. Johnson, K. A. & Johnson, D. E. (1995). Methane emissions from cattle. *J. Animal Sci.*, 73(8): 2483 - 2492.
5. Kebreab, E., Johnson, K. A., Archibeque, S. L., Pape, D. & Wirth, T. (2008). Model for estimating enteric methane emissions from United States dairy and feedlot cattle. *J. Animal Sci.*, 86(10): 2738 - 2748.
6. Mackie, R. I., Stroot, P. G. & Varel, V. H. (1998). Biochemical identification and biological origin of key odor components in livestock waste. *J. Animal Sci.*, 76(5): 1331 - 1342.
7. Mitloehner, F. M. & Calvo, M. S. (2008). Worker health and safety in concentrated animal feeding operations. *J. Agric. Saf. Health*, 14(2): 163 - 187.
8. Ludwig, H. R., Cairelli, S. G. & Whalen, J. J. (1994). Documentation for immediately dangerous to life or health concentrations (IDLHs). Washington, DC: NIOSH. Retrieved from ValuesBackgroundDocs.pdf.
9. Nguyễn Văn Thu, Nguyễn Thị Kim Đông (2016). Ảnh hưởng của các mức độ bổ sung dầu dừa vào khẩu phần đến sự phát thải khí gây hiệu ứng nhà kính, tiêu hóa đường chất và các chỉ tiêu dịch dạ cỏ của bò lai Sind. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*. Số chuyên đề: Nông nghiệp, 2: 135 - 141.
10. Đinh Văn Dũng, Lê Đình Phùng, Lê Đức Ngoan, Timothy D. Searchinger (2016). Hiện trạng và kịch bản giảm phát thải khí mê-tan từ hệ thống nuôi bò thịt bán thâm canh quy mô nông hộ ở Quảng Ngãi. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 14(5): 699 - 706.
11. Spiehs, M. J., Brown-Brandl, T. M., Parker, D. B., Miller, D. N., Berry, E. D. & Wells, J. E. (2016). Ammonia, total reduced sulfides and greenhouse gases of pine chip and corn stover bedding packs. *J. Environ. Qual.*, 45(2): 630 - 637.
12. Ayadi, F. Y., Cortus, E. L., Spiehs, M. J., Miller, D. N. & Djira, G. D. (2015). Ammonia and greenhouse gas concentrations at surfaces of simulated beef cattle bedded manure packs. *Trans. ASABE*, 258(3): 783 - 795.
13. Parker, D. B., Caraway, E. A., Rhoades, M. B., Cole, N. A., Todd, R. W. & Casey, K. D. (2010). Effect of wind tunnel air velocity on VOC flux from standard solutions and CAFO manure/wastewater. *Trans. ASABE*, 53(3): 831 - 845.
14. Ni, J. Q., Heber, A. J., Sutton, A. L. & Kelly, D. T. (2009). Mechanisms of gas releases from swine wastes. *Trans. ASABE*, 52(6): 2013 - 2025.
15. Zang, B., Li, S., Michel, F. C., Li, G., Zhang, D. & Li, Y. (2017). Control of dimethyl sulfide and dimethyl disulfide odors during pig manure composting using nitrogen amendment. *Bioresour. Tech.*, 224: 419 - 427.
16. Doran, B., Euken, R. & Spiehs, M. J. (2010). Hoops and mono slopes: What we have learned about management and performance. Proc. Feedlot Forum. Ames, IA: Iowa State University, Iowa Beef Center, 8 - 16.
17. Misselbrook, T. H. & Powell, J. M. (2005). Influence of bedding material on ammonia

emissions from cattle excreta. *J. Dairy Sci*, 88(12): 4304 - 4312.

18. Garlipp, F., Hessel, E. F. & van den Weghe, H. F. A. (2011). Characteristics of gas generation ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) from horse manure added to different bedding materials used in 1208 transactions of the asabe deep litter bedding systems. *J. Equine Vet. Sci.*, 31(7): 383 - 395.

19. Spiehs, M. J., Brown-Brandl, T. M., Parker, D. B. & Miller, D. N. (2012). Effect of bedding material on air quality of bedded manure packs in livestock facilities. *ASABE Paper No.* 121337890. St. Joseph, MI: ASABE.

20. Spiehs, M. J., Brown-Brandl, T. M., Parker, D. B., Miller, D. N., Jaderborg, J. P., DiCostanzo, A., Wells, J. E. (2014). Use of wood-based materials in beef bedded manure packs: 1. Effect on ammonia, total reduced sulfide and greenhouse gas concentrations. *J. Environ. Qual.*, 43(4): 1187 - 1194.

21. Jaderborg, J. P. S., Mindy J.; Woodbury, Bryan L.; DiCostanzo, Alfredo and Parker, David B. (2021). Use of bedding materials in beef bedded manure packs in hot and cool ambient temper cool ambient temperatures: Effects on ammonia, hy ect s on ammonia, hydrogen sulfide and greenhouse gas emissions. Roman L. Hruska U.S. Meat Animal Research Center, 562.

22. Bảo Hân (2023). Nông nghiệp tuần hoàn và phát thải thấp nhìn từ cách xử lý rơm rạ. *Báo Nhân Dân*. <https://nhandan.vn/nong-nghiep-tuan-hoan-va-phat-thai-thap-nhin-tu-cach-xu-ly-rom-ra-post762908.html>. Truy cập ngày 15/4/2024.

23. Tô Xuân Phúc, Trần Lê Huy, Cao Thị Cẩm (2021). *Nguồn cung gỗ keo nguyên liệu của Việt Nam: Thực trạng và xu hướng*. Kỳ yếu hội thảo “Chuỗi cung ứng nguyên liệu gỗ cho chiến lược phục hồi ngành công nghiệp gỗ sang Covid-19”. Hội thảo trực tuyến ngày 24/9/2021.

24. Nguyễn Trọng Nhân, Nguyễn Đình Hợi (2005). Nghiên cứu xác định đặc điểm cây gỗ Keo tai tượng, Keo lá tràm, Keo lai ở Đông Hà, Quảng trị. *Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam*. <https://vafs.gov.vn/vn/nghien-cuu-xac-dinh-dac>

diem-cay-go-keo-tai-tuong-keo-la-tram-keo-lai-o-dong-ha-quang-tri/. Truy cập ngày 10/4/2024.

25. Nguyễn Thị Thuý Nga, Phạm Quang Thu, Nguyễn Minh Chí, Nguyễn Văn Thành, Lê Xuân Phúc (2016). Nghiên cứu các đặc trưng cơ bản của phân hữu cơ sinh học được ủ từ phế thải khai thác rừng keo làm hỗn hợp ruột bầu sản xuất cây con ở vườn ươm. *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*, 2: 4308 - 4314.

26. Tạ Thị Phương Hoa, Vũ Đình Thịnh, Vũ Huy Đại (2013). Thành phần hóa học và tính chất vật lý chủ yếu của vỏ cây tai tượng. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 2(22), 117 – 120.

27. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 9297:2012. Phân bón - Phương pháp xác định độ ẩm.

28. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 11399:2016. Chất lượng đất - Phương pháp xác định khối lượng riêng và độ xốp.

29. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 5376:1991. Trại chăn nuôi - Phương pháp kiểm tra vệ sinh.

30. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 11039-3:2015. Phụ gia thực phẩm - Phương pháp phân tích vi sinh vật - Phần 3: Phát hiện và định lượng *coliform* và *E.coli* bằng kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất (Phương pháp chuẩn).

31. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 6187-2:2020 (ISO 9308-2:2012). Chất lượng nước - Phương pháp định lượng vi khuẩn *Escherichia coli* và *coliform* - Phần 2: Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất.

32. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013). Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật - Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30 độ C bằng kỹ thuật đổ đĩa.

33. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4829:2005 (ISO 6579:2002). Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện *Salmonella* trên đĩa thạch.

34. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 6137:2009 (ISO 6768:1998). Không khí xung quanh - Xác định nồng độ khối lượng của nitơ điôxit - Phương pháp Griess-Saltzman cải biên.

35. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 5971:1995 (ISO 6767:1990). Không khí xung quanh - Xác định nồng độ khối lượng của lưu huỳnh điôxit -

Phương pháp tetrachloromercurat (TCM)/pararosanilin.

36. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 5293:1995 (ST SEV 5299-80). Chất lượng không khí - Phương pháp Indophenol xác định hàm lượng amoniac.

37. Methods of Air Sampling and Analysis (1988). James P. Lodge, Jr.; Lewis Publishers, USA.

38. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 05:2023/BTNMT về Chất lượng không khí.

39. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01-79:2011/BNNPTNT về Cơ sở chăn nuôi gia súc, gia cầm - Quy trình kiểm tra, đánh giá điều kiện vệ sinh thú y.

40. Nguyễn Quang Khải, Nguyễn Gia Lượng (2010). *Công nghệ khí sinh học chuyên khảo*. Nxb Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.

41. Bộ Tài nguyên và Môi trường (2022). *Quyết định số 2626/QĐ-BTNMT, ngày 10/10/2022 công bố Danh mục hệ số phát thải phục vụ kiểm kê khí nhà kính*.

## **GREENHOUSE GAS EMISSIONS FROM BIO-BEDDING IN COW FARMING**

**Nguyen Thi Hien<sup>1</sup>, Nguyen Duc Luong<sup>1,2</sup>, Hoang Hiep<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> *Faculty of Natural Resources & Environment, Vietnam National University of Agriculture*

<sup>2</sup> *Academy for Green Growth, Vietnam National University of Agriculture*

### **Summary**

Researching a way to reduce greenhouse gas (GHG) emissions from livestock waste is very important now. The study assessed of the GHG emissions from biological bedding made from straw and acacia bark in beef cattle raising. The experiment was conducted with 20 cows on a barn with 100 m<sup>2</sup> area. The experiment time was 54 days and there were 6 sampling times. The results showed that the GHG emissions in the early stages of using bedding was mainly the aerobic decomposition process, the amount of CO<sub>2</sub> emissions was quite large and reached a maximum in the period from 21 days to 32 days, then it decreased and the process Anaerobic became dominant. During the first 42 days, the CH<sub>4</sub> emissions was very low, from only 0.6 grams/ton of dry bedding/day to 151 grams/ton of dry bedding/day; then increased very strongly at the 54 - day sampling up to 2.28 kg/ton of dry bedding/day and is predicted to continue to increase. IBM SPSS statistical software (2023) shows that the CH<sub>4</sub> emission was proportional to the microbial-density and temperature while it was inversely proportional to the porosity. The N<sub>2</sub>O emissions peaked at the 32<sup>th</sup> day and then decreased sharply. CH<sub>4</sub> emissions increased very rapidly after 42 days of using the bedding while both CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O emissions decreased. Comparing the average converted emission factor over 42 days (F42) and 54 days (F54) showed that F42 was much smaller than F54. Thus, bio-bedding should be replaced or partially replaced after 42 used days to limit methane emissions. In addition, the H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub> and SO<sub>2</sub> indicators of air samples around the cages in some sampling times exceeded the allowable thresholds of surrounding air environment (QCVN 05:2023/BTNMT) of the Ministry of Natural Resources and Environment but all of them were very low compared to the barn hygiene standards (QCVN 01-79:2011/BNNPTNT) of the Ministry of Agriculture and Rural Development.

**Keywords:** *Greenhouse gases (GHGs), bio-bedding, emissions, cow farming, agricultural by-products.*

**Ngày nhận bài:** 23/5/2024

**Ngày chuyển phản biện:** 30/5/2024

**Ngày thông qua phản biện:** 14/6/2024

**Ngày duyệt đăng:** 19/7/2024

# **NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA TỈ LỆ DỊCH KHOAI LANG TÍM BỔ SUNG ĐẾN CHẤT LƯỢNG SỮA CHUA DẸO**

Nguyễn Thị Ngọc Đế<sup>1,\*</sup>, Châu Minh Tân<sup>1</sup>, Nguyễn Bảo Lộc<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ - Thủy sản, Trường Cao đẳng Kinh tế Kỹ thuật Cần Thơ

<sup>2</sup>Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

\*Email: ntnde@ctec.edu.vn

## **TÓM TẮT**

Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá ảnh hưởng của tỉ lệ dịch khoai lang tím (KLT) bổ sung vào quy trình sản xuất sữa chua dẻo. Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát tỉ lệ dịch KLT bổ sung so với hỗn hợp sữa (0, 25, 50, 75, 100% v/v) thông qua đánh giá các chỉ tiêu bao gồm tính chất cơ lý (độ cứng, độ nhớt, pH, giá trị màu sắc về độ sáng  $L^*$  và thành phần hóa học (hàm lượng axit lactic và hàm lượng anthocyanin) theo thời gian lên men (0, 2, 4, 6, 8 giờ). Kết quả cho thấy, so với mẫu đối chứng thì tỉ lệ bổ sung 75% (v/v) dịch KLT vào quy trình sản xuất sữa chua dẻo sẽ làm giảm độ cứng, độ nhớt và độ chua, lần lượt là 1,97; 1,3; 1,03 lần. Tuy nhiên, hàm lượng anthocyanin tăng xấp xỉ 80 lần.

**Từ khóa:** *Khoai lang tím, sữa chua, tỉ lệ bổ sung.*

## **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Sữa chua (Yoghurt) là một trong những sản phẩm lên men từ sữa, tác dụng rất tốt đến sức khỏe con người do có nguồn protein và carbohydrate thủy phân, vitamin, khoáng chất dồi dào [1] và được tiêu thụ trên toàn cầu. Mỗi quốc gia có sản phẩm đặc trưng riêng. Tuy nhiên, cơ chế chung của quá trình sản xuất sữa chua là nhờ vào hoạt động của chủng vi khuẩn lactic, sản sinh axit lactic làm thay đổi pH của dịch sữa ban đầu [2]. Sữa chua được khuyến cáo dùng làm thức ăn tráng miệng hoặc ăn kèm với bữa ăn chính trong ngày [3]. Hiện nay, trên thị trường có nhiều loại sữa chua được bổ sung các thành phần chất xơ, trái cây như: Dâu tây, dịch khóm, nha đam... nhằm nâng cao giá trị dinh dưỡng và góp phần đa dạng sản phẩm sữa chua trên thị trường.

Khoai lang tím (KLT) là một trong những nông sản được quan tâm vào những năm gần đây do có màu sắc bắt mắt và chứa thành phần các chất có hoạt tính sinh học cao, đặc biệt là anthocyanin. Anthocyanin có khả năng chống oxy hóa, trung hòa gốc tự, có thể ngăn ngừa lão hóa, ung thư và các bệnh thoái hóa, như: Xơ vữa động mạch và viêm khớp, bảo vệ gan, hạ huyết áp, hạ

đường huyết, kháng khuẩn, chống viêm và chống béo phì [4 - 6]. Tuy nhiên, những năm gần đây, sản lượng KLT tăng nhưng giá thành thấp do biến động của thị trường và dịch bệnh. Trung bình mỗi năm có khoảng 18% KLT phụ phẩm (bao gồm các củ khoai bị trầy xước trong quá trình thu hoạch, kích thước không đạt chuẩn so với khoai xuất khẩu) thường có giá trị kinh tế rất thấp [7].

Để góp phần nâng cao giá trị sử dụng của KLT phụ phẩm, đa dạng hóa sản phẩm sữa chua và giảm giá thành sản xuất, sự kết hợp giữa quy trình sản xuất sữa chua dẻo và KLT là hướng đi mới. Tuy nhiên, dịch KLT bổ sung vào quy trình sản xuất sữa chua dẻo có khả năng ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Chính vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá ảnh hưởng của tỉ lệ dịch KLT bổ sung đến sự thay đổi chất lượng của sữa chua dẻo cũng như chọn được tỉ lệ phù hợp nhất cho quy trình sản xuất sản phẩm.

## **2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Nguyên liệu**

Các nguyên liệu sử dụng trong nghiên cứu: Sữa cô đặc Ngôi sao Phương Nam (loại hộp giấy, Vinamilk, hàm lượng đậm 2,7 g/100 g, hàm lượng chất béo 10,08 g/100 g), sữa tươi tiệt trùng (loại

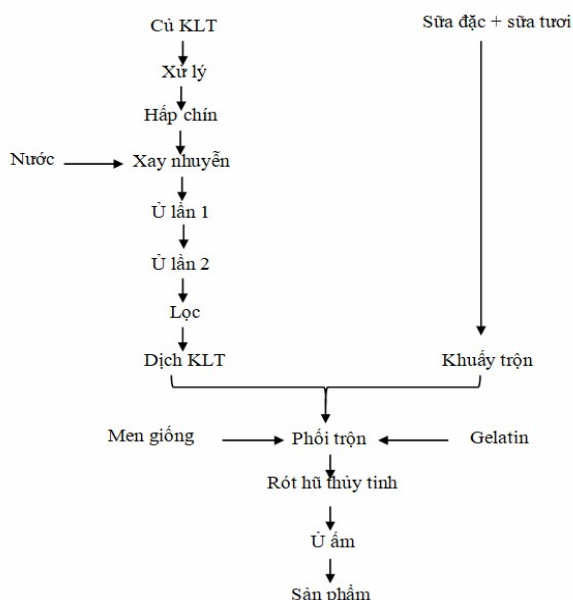


hộp giấy, Vinamilk, hàm lượng đậm 3,0 g/100 ml, hàm lượng chất béo 3,3 g/ml), gelatin (dạng bột, xuất xứ Đức, độ Bloom 250) được mua tại siêu thị. Giống vi khuẩn axit lactic thương mại YC381 (bao gồm hệ *Lactobacillus bulgaricus* và *Streptococcus thermophilus*, có mật số ban đầu  $10^{11}$  cfu/ml được sản xuất bởi Công ty CHR HANSEN - Đan Mạch, nhiệt độ ủ 35 - 45°C). Enzyme chịu nhiệt  $\alpha$ -amylase (từ *Bacillus licheniformis*, 132 KNU/g, tên thương mại là Termamyl 120L), glucoamylase (từ *Aspergillus niger*, 296,5 AGU/g, tên thương mại là Dextrozyme GA), được sản xuất bởi Novozymes - Đan Mạch.

KLT được thu mua tại Công ty TNHH MTV Thanh Bình Tân (xã Thành Trung, huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long).

Hóa chất phân tích bao gồm: Ethanol (GHTech - Trung Quốc, độ tinh khiết 99,7%), axit clohydric (Xilong - Trung Quốc, độ tinh khiết 36%), ống NaOH chuẩn 0,1N (Cemaco - Việt Nam), kali clorua (GHTech - Trung Quốc, độ tinh khiết 99,7%), natri acetat (Xilong - Trung Quốc, độ tinh khiết 99%).

## 2.2. Quy trình chế biến



Hình 1. Quy trình sản xuất sữa chua bổ sung dịch KLT

## 2.3. Tiến hành thí nghiệm

Lựa chọn những củ KLT đạt tiêu chuẩn chế biến, rửa sạch và hấp chín (100°C/15 phút). Sau

hấp chín, KLT được xay với nước theo tỉ lệ 1: 2 (w/v). Sau đó tiến hành ủ lần 1 với enzyme  $\alpha$ -amylase (0,05%, v/v) ở nhiệt độ kiểm soát 80°C trong 40 phút. Tiếp tục ủ lần 2 với enzyme glucoamylase (0,1%, v/v) ở nhiệt độ kiểm soát là 60°C trong 120 phút. Sau thời gian ủ, dịch KLT thô được lọc bằng vải mùng 3 lớp, thu được dịch KLT [8].

Sữa cô đặc và sữa tươi tiệt trùng được khuấy trộn với nhau theo tỉ lệ 1: 1 (w/v) tạo thành hỗn hợp sữa. Tiến hành phối trộn dịch KLT vào hỗn hợp sữa theo tỉ lệ bổ sung (0, 25, 50, 75, 100% v/v) và thêm 3% men giống, 2% gelatin vào hỗn hợp sữa và KLT (w/v). Tiến hành rót hũ thủy tinh (đường kính 50 mm, cao 70 mm) và ủ ấm ở nhiệt độ 40°C  $\pm$  1°C. Sản phẩm sữa chua dẻo bổ sung KLT được phân tích các chỉ tiêu theo thời gian khảo sát.

Chỉ tiêu theo dõi: Độ cứng, độ nhớt, pH, giá trị màu sắc về độ sáng ( $L^*$ ), hàm lượng axit lactic và hàm lượng anthocyanin.

## 2.4. Phương pháp phân tích

### 2.4.1. Xác định độ cứng

Sử dụng thiết bị đo cấu trúc thực phẩm (TMS - PRO - Mỹ). Mẫu sữa chua được giữ lạnh ở tủ mát (10°C/15 phút) để ổn định cấu trúc. Sau đó được cắt thành khối hình trụ, có đường kính 25 mm, chiều cao 30 mm, tốc độ di chuyển của đầu đo 100 mm/phút, tải tối đa 500 N, đầu đo hình tròn (đường kính 75 mm). Tất cả các thông số cài đặt được cố định cho toàn bộ các mẫu phân tích. Kết quả được ghi nhận hoàn toàn tự động.

### 2.4.2. Xác định độ nhớt

Sữa chua sau ủ được lấy ra để ở nhiệt độ phòng (khoảng 5 phút), khuấy đồng nhất (khuấy nhẹ nhàng, tránh hình thành bọt). Độ nhớt được đo bằng cách sử dụng máy đo độ nhớt Brookfield (Brookfield DVII, Mỹ), que đo số 6 với tốc độ 2 vòng/phút. Kết quả được ghi lại sau 50 giây [9].

### 2.4.3. Xác định giá trị pH

Sử dụng máy đo pH để bàn (Inolab pH 7110 SET 4, Đức) để xác định pH của sản phẩm sữa chua. Trước khi đo, máy được hiệu chuẩn với dung dịch pH đệm chuẩn 4, 7 và 10 [9].

### 2.4.4. Xác định hàm lượng axit lactic

Hàm lượng axit lactic được xác định bằng phương pháp xác định độ chua; kết quả độ chua được quy đổi ra lượng axit lactic [10].



#### 2.4.5. Xác định hàm lượng anthocyanin

Hàm lượng anthocyanin được xác định theo phương pháp vi sai. Độ hấp thụ màu anthocyanin trong dung dịch đệm khác nhau (pH 1 và 4,5) được đo tại các bước sóng tương ứng 520 và 700 nm bằng máy hấp thụ quang phổ U-2800 (Simadzu, Nhật Bản) [11].

#### 2.4.6. Xác định giá trị màu sắc

Sử dụng máy đo màu cầm tay MiniScan EZ 4500L – Mỹ để phân tích sự thay đổi về độ sáng và màu sắc của sản phẩm thông qua thông số độ sáng ( $L^*$ ). Tiến hành đo đặc ở 3 vị trí khác nhau tại 3 điểm (theo đường chéo khối sữa chua) cho cùng một mẫu trên mỗi lần đo. Kết quả đo là kết quả trung bình của 3 lần đo được hiển thị trên máy.

#### 2.4.7. Phương pháp xử lý số liệu

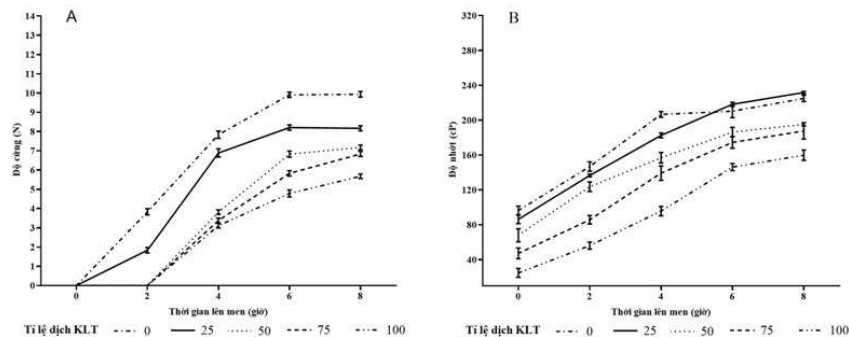
Phân tích phương sai (ANOVA) được sử dụng để đánh giá sự khác biệt đáng kể giữa nhiều nhóm theo các phương pháp khảo sát khác nhau, sau đó là thử nghiệm LSD bằng phần mềm thống kê Statgraphics (VA, Mỹ) và phần mềm GraphPad

Prism (GraphPad Software, LLC, Mỹ) được sử dụng để vẽ đồ thị. Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $\pm$  SD) của thí nghiệm ba lần với  $p < 0,05$  có ý nghĩa thống kê. Kết quả nghiên cứu được tính trên khối lượng khô.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ dịch KLT bổ sung đến tính chất cơ lý của sữa chua dẻo theo thời gian lên men

Sữa chua là sản phẩm khá phổ biến trên thế giới, ngoài việc có hương vị thơm ngon, cấu trúc mềm mịn thì giá trị sức khỏe mang lại cho con người là rất lớn [12]. Cấu trúc của sữa chua được hình thành do quá trình tạo gel bởi tác nhân axit được sinh ra từ vi khuẩn lactic. Cấu trúc gel khác nhau tạo thành các sản phẩm sữa chua khác nhau và được đặc trưng bởi độ cứng và độ nhớt trong suốt quá trình lên men sản phẩm [13]. Kết quả ảnh hưởng của tỉ lệ dịch KLT bổ sung đến độ cứng và độ nhớt của sữa chua dẻo theo thời gian lên men được thể hiện qua hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của tỉ lệ dịch KLT bổ sung đến tính chất cơ lý sữa chua dẻo

A: Độ cứng; B: Độ nhớt

Kết quả ở hình 2.A cho thấy, tỉ lệ dịch KLT bổ sung có ảnh hưởng đến độ cứng của sản phẩm sữa chua theo thời gian lên men. Theo đó, độ cứng sữa chua có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa các tỉ lệ bổ sung dịch KLT từ 0 – 100% và theo thời gian lên men từ 0 – 8 giờ. Cụ thể, độ cứng của sữa chua đo được có xu hướng giảm dần độ cứng theo tỉ lệ bổ sung, lần lượt là 0% (6,30 N), 25% (5,02 N), 50% (3,56 N), 75% (3,21 N) và 100% (2,71 N). Nghĩa là, khi bổ sung lượng dịch KLT càng nhiều thì độ cứng càng giảm. Nguyên nhân do cấu trúc của sữa chua hình thành là do quá trình lên men, sự tập hợp của các hạt micelle casein liên kết nhau

bằng liên kết kỵ nước, tương tác tĩnh điện giữa protein k-casein và whey dẫn đến hình thành cấu trúc mạng lưới ba chiều. Khi bổ sung các thành phần không phải protein sẽ làm giảm đi tính liên kết của mạng lưới gel, dẫn đến giảm độ cứng của sản phẩm [14, 15]. Bên cạnh đó, thời gian ủ lên men sẽ làm gia tăng độ cứng của sữa chua từ 0 – 8 giờ lên men. Tuy nhiên, nếu xét cùng một thời điểm lên men (6 giờ ủ) thì lượng dịch khoai bổ sung càng nhiều, độ cứng càng giảm so với mẫu đối chứng (9,91 N), với độ cứng lần lượt là 25% (8,21 N), 50% (6,82 N), 75% (5,83 N) và 100% (4,78 N). Mật số vi khuẩn lactic sẽ gia tăng theo thời gian lên men, sản

sinh ra một lượng axit lactic đáng kể làm giảm pH của hỗn hợp sữa. Khi pH của dịch sữa tiến dần về điểm đẳng điện (pI) thì hình thành các nút mạng gel protein được chặt chẽ [16]. Độ bền của cấu trúc gel này thay đổi phụ thuộc vào độ giảm của pH và lực liên kết giữa casein và whey protein thông qua cầu nối disulfure [17].

Hình 2.B thể hiện kết quả đánh giá độ nhớt của sữa chua khi bổ sung tỉ lệ dịch KLT khác nhau theo thời gian lên men. Độ nhớt của sữa chua có xu hướng tăng dần theo thời gian lên men và giảm dần khi gia tăng tỉ lệ bổ sung dịch KLT từ 25 – 100% so với mẫu không bổ sung dịch KLT. Cụ thể, mẫu sữa chua không bổ sung dịch KLT có độ nhớt cao nhất là 177,04 cP, so với mẫu bổ sung 100% dịch KLT là 96,52 cP và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các tỉ lệ còn lại từ 25 – 75%, lần lượt là 171,09 - 126,91 cP. Nếu xét ở 6 giờ ủ, độ nhớt của sữa chua ở mẫu đối chứng và ở tỉ lệ bổ sung 25% dịch KLT không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê, với độ nhớt lần lượt là 210,35 cP và 218,23 cP. Tuy nhiên, ở các tỉ lệ bổ sung dịch KLT còn lại thì độ nhớt của sữa chua đều có xu hướng giảm và khác biệt ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng từ 50 - 100% là 186,38 – 146,17 cP. Kết quả này có được là do mẫu sữa chua không bổ sung dịch KLT thì hàm lượng chất khô hòa tan cao nhất, khi bổ sung dịch KLT theo tỉ lệ từ 25 – 100% thì lượng nước thêm vào lớn hơn so với lượng chất khô có trong hỗn hợp. Chính vì vậy mà độ nhớt của sản phẩm có xu hướng giảm theo tỉ lệ dịch KLT bổ sung. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian lên men, mật số vi khuẩn lactic gia tăng, đưa pH về gần bằng pI, các phân tử protein có xu hướng liên kết lại với nhau bởi cầu nối disulfide làm tăng độ nhớt của sản phẩm [9].

### 3.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ dịch KLT bổ sung đến thành phần hóa học của sữa chua dẻo theo thời gian lên men

Giá trị pH và hàm lượng axit lactic là các yếu tố quan trọng quyết định chất lượng, thời hạn sử dụng, sự ổn định và sự chấp nhận của các sản phẩm sữa chua. Hơn nữa, độ pH cũng rất quan trọng đến mức độ an toàn của sản phẩm thực phẩm [18]. Kết quả phân tích sự thay đổi thành

phần hóa học (pH, hàm lượng axit lactic và anthocyanin) được thể hiện ở hình 3.

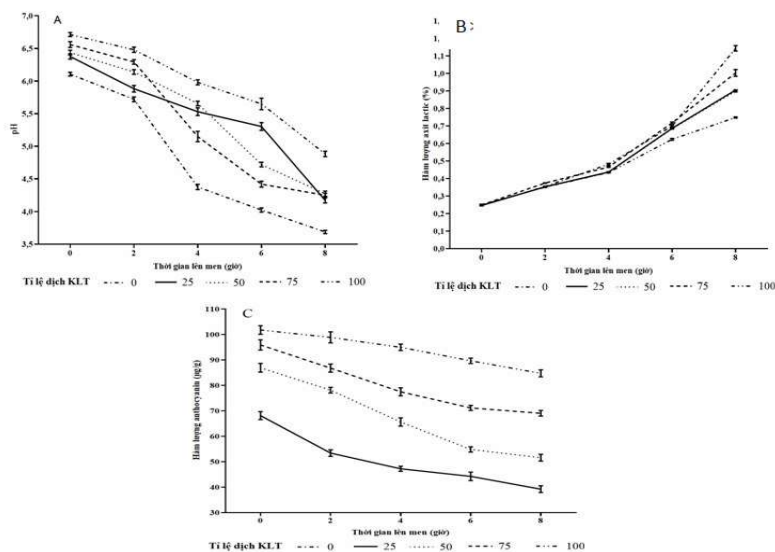
Giá trị pH có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa các tỉ lệ bổ sung dịch KLT và các khoảng thời gian lên men được thể hiện qua hình 3.A. Nhìn chung, giá trị pH của sản phẩm sữa chua bổ sung dịch KLT có xu hướng giảm theo thời gian lên men. Đối với mẫu sữa chua không bổ sung dịch KLT thì giá trị pH đạt thấp nhất là 4,78 và cao nhất là mẫu sữa chua bổ sung 100% dịch KLT là 5,94. Tuy nhiên, ở mẫu bổ sung 25% và 50% dịch KLT không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) giữa 2 tỉ lệ này với giá trị pH lần lượt là 5,45 và 5,44. Bên cạnh đó, kết quả ở hình 3.A còn cho thấy, khi xét ở cùng một mốc thời gian lên men (8 giờ ủ), giá trị pH của mẫu đối chứng thấp nhất (3,69) và có xu hướng tăng lên theo tỉ lệ bổ sung từ 25 - 100%, tương ứng với giá trị pH từ 4,17 – 4,88. Tuy nhiên, nếu xét ở 6 giờ ủ thì tỉ lệ bổ sung 75% dịch KLT có giá trị pH là 4,42, phù hợp với cảm quan chung của nhiều người (pH 4,0 - 4,4) và an toàn thực phẩm (pH > 4,5 sẽ tạo điều kiện cho các vi khuẩn như *Salmonella* và *Escherichia coli* phát triển) [19, 20].

Hàm lượng axit lactic (Hình 3.B) cũng có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các tỉ lệ dịch KLT bổ sung và thời gian lên men sản phẩm sữa chua. Theo đó, ở mẫu không bổ sung dịch KLT, hàm lượng axit lactic cao nhất (0,58%) và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các tỉ lệ còn lại 25% (0,52%), 50% (0,53%), 75% (0,56%), 100% (0,48%). Tuy nhiên, không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ bổ sung từ 25 – 50% dịch KLT. Đồng thời, hàm lượng axit lactic cũng tăng dần theo thời gian lên men và có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các khoảng thời gian theo khảo sát. Theo đó, khi xét ở tỷ lệ bổ sung 75% dịch KLT cho thấy, hàm lượng axit tăng theo thời gian lên men. Hàm lượng axit lactic thấp nhất ở 0 giờ ủ (0,249%), sau đó tăng từ 2 - 8 giờ ủ với hàm lượng axit lactic lần lượt tăng tương ứng từ 0,374 - 1,003%. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Son và cs (2023) [21], khi đánh giá hàm lượng axit lactic sinh ra theo thời gian lên men sữa chua bởi chủng vi khuẩn lactic *Bifidobacterium longum*. Bên cạnh đó, theo Nguyễn Chí Dũng và cs (2016) [22], mật số vi

khuẩn lactic sẽ tăng theo thời gian lên men sữa chua, chính vì vậy mà hàm lượng axit lactic cũng gia tăng ở một khoảng thời gian nhất định trước khi sản phẩm bị hư hỏng.

Hàm lượng anthocyanin trong sản phẩm sữa chua dẻo bổ sung KLT được thể hiện ở hình 3.C. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng anthocyanin có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các tỉ lệ bổ sung khác nhau theo thời gian khảo sát. Theo đó, khi bổ sung tỉ lệ dịch KLT càng nhiều thì hàm lượng anthocyanin có xu hướng tăng. Đồng thời, thời gian ủ lên men càng dài thì hàm lượng anthocyanin có xu hướng giảm. Cụ thể, ở mẫu đối chứng (không bổ sung dịch KLT) thì hàm lượng anthocyanin bằng 0 µg/g. Nhưng đối với các mẫu bổ sung dịch KLT từ 25 – 100% thì hàm lượng anthocyanin có sự thay đổi đáng kể ( $p < 0,05$ ). Hàm lượng anthocyanin cao nhất đối với mẫu sữa chua bổ sung 100% dịch KLT ở 0 giờ ủ lên men và thấp nhất đối với mẫu sữa chua được ủ 8 giờ, với tỉ lệ bổ sung 25% dịch KLT. Tính ổn định anthocyanin trong quá trình bảo quản cực kỳ nhạy

cảm với các điều kiện môi trường, bao gồm: pH, oxy, nhiệt độ và ánh sáng... [22]. Đối với nghiên cứu này, nhiệt độ và ánh sáng có thể loại trừ vì các mẫu sữa chua được lên men ở cùng điều kiện. Một số nghiên cứu đã kết luận rằng, tốc độ thoái hóa của anthocyanin có tương quan tỉ lệ thuận với các giá trị pH trong các điều kiện ủ [23]. Nghĩa là hàm lượng anthocyanin giảm khi giá trị pH giảm (hàm lượng axit tăng). Anthocyanin được cấu tạo từ anthocyanidin và đường, rất có khả năng vi khuẩn lactic phát triển sẽ sử dụng phần đường của anthocyanin dẫn đến hàm lượng anthocyanin giảm [23]. Qua nghiên cứu cho thấy, hàm lượng anthocyanin trong sữa chua bổ sung dịch KLT giảm khi pH giảm theo thời gian. Tuy nhiên, đối với tỉ lệ dịch KLT bổ sung 75% thì giữa 6 và 8 giờ lên men khác biệt không ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Điều này có thể giải thích, mặc dù anthocyanin giảm theo chiều giảm của pH nhưng trong một khoảng pH nhỏ nào đó thì hàm lượng anthocyanin vẫn ổn định.



Hình 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ dịch KLT bổ sung đến thành phần hóa học của sữa chua dẻo

A: Giá trị pH; B: Hàm lượng axit lactic; C: Hàm lượng anthocyanin

### 3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ dịch KLT bổ sung đến giá trị màu sắc của sữa chua dẻo theo thời gian lên men

Màu sắc là một chỉ tiêu quan trọng đánh giá tính chất cảm quan của thực phẩm. Sản phẩm có màu sắc đặc trưng, bắt mắt góp phần nâng cao

giá trị của thực phẩm. Đối với sản phẩm sữa chua dẻo bổ sung dịch KLT, màu tím đặc trưng của KLT được xuất hiện ở cường độ màu khác nhau phụ thuộc vào tỉ lệ bổ sung dịch KLT và thời gian lên men sản phẩm. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1. Ảnh hưởng của tỉ lệ dịch KLT bổ sung đến giá trị L\* của sữa chua dẻo**

| Tỉ lệ dịch KLT bổ sung (%) | Thời gian ủ lên men (giờ)    |                              |                              |                              |                              |
|----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                            | 0                            | 2                            | 4                            | 6                            | 8                            |
| 0                          | 86,33 ± 0,41 <sup>a NS</sup> | 87,28 ± 1,75 <sup>a NS</sup> | 85,85 ± 1,12 <sup>a NS</sup> | 87,68 ± 0,52 <sup>a NS</sup> | 86,47 ± 1,55 <sup>a NS</sup> |
| 25                         | 54,55 ± 1,64 <sup>b E</sup>  | 59,58 ± 0,73 <sup>b D</sup>  | 67,03 ± 1,94 <sup>b C</sup>  | 74,93 ± 3,24 <sup>b B</sup>  | 78,51 ± 0,83 <sup>b A</sup>  |
| 50                         | 47,05 ± 1,67 <sup>c E</sup>  | 49,08 ± 0,74 <sup>c D</sup>  | 54,04 ± 0,81 <sup>c C</sup>  | 59,80 ± 0,40 <sup>c B</sup>  | 64,31 ± 0,89 <sup>c A</sup>  |
| 75                         | 40,92 ± 1,37 <sup>d E</sup>  | 46,22 ± 0,54 <sup>d D</sup>  | 50,09 ± 1,25 <sup>d C</sup>  | 56,09 ± 1,47 <sup>d B</sup>  | 60,72 ± 1,90 <sup>d A</sup>  |
| 100                        | 35,47 ± 1,70 <sup>e E</sup>  | 40,59 ± 1,31 <sup>e D</sup>  | 46,76 ± 0,60 <sup>e C</sup>  | 51,33 ± 0,91 <sup>e B</sup>  | 57,58 ± 1,08 <sup>e A</sup>  |

*Ghi chú: Các ký tự viết thường (a - e) trong cùng một cột thể hiện cùng 1 mốc thời gian ủ lên men sữa chua dẻo theo các tỉ lệ bổ sung dịch KLT khác nhau. Các ký hiệu (A - E) trên cùng một dòng, thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của một tỉ lệ bổ sung dịch KLT ở các mốc thời gian ủ lên men khác nhau. NS: Không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê.*

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tỉ lệ bổ sung dịch KLT vào sữa chua có ảnh hưởng rất lớn đến sự thay đổi độ sáng (L\*) của sản phẩm. Mẫu đối chứng không bổ sung dịch KLT có độ sáng cao nhất (màu trắng), tuy nhiên khi bổ sung dịch KLT thì độ sáng có xu hướng giảm. Nghĩa là bổ sung càng nhiều dịch KLT thì màu của sữa chua dẻo có xu hướng sậm màu hơn. Đồng thời, độ sáng của sữa chua có xu hướng tăng lên theo thời gian lên men. Nói cách khác, quá trình lên men sẽ giúp cho sản phẩm sáng màu hơn. Nguyên nhân là do sự khác độ sáng, chủ yếu là do sự thay đổi màu của anthocyanin trong dịch KLT. Theo đó, khi thời gian lên men kéo dài, lượng axit lactic sinh ra nhiều, làm giảm giá trị pH dẫn đến màu của anthocyanin có xu hướng chuyển sang màu hồng sáng. Bên cạnh đó, thời gian ủ lên men dài cũng làm giảm hàm lượng anthocyanin trong sản phẩm. Theo Scibisz và cs (2012) [24], quá trình lên men và bảo quản sẽ làm thay đổi độ sáng của sữa chua bổ sung quả việt quất. Nguyên nhân là do sự chuyển đổi cation flavylium từ có màu của anthocyanin thành dạng không màu. Wallace và Giusti (2008) [25] cũng khẳng định rằng, sữa chua bổ sung 10 mg quả hoàng liên gai (*Berberis boliviana*) sẽ có độ sáng cao hơn so với bổ sung 20 mg quả hoàng liên gai giàu anthocyanin.

#### 3.4. Tương quan giữa các chỉ tiêu đánh giá sản phẩm sữa chua dẻo bổ sung dịch KLT

Kết quả đánh giá mối tương quan giữa các chỉ tiêu đánh giá chất lượng sữa chua bổ sung dịch

KLT cho thấy, tất cả các chỉ tiêu đánh giá đều có mối liên hệ với nhau và ảnh hưởng đến nhau. Giá trị tương quan R<sup>2</sup> khá cao (R<sup>2</sup> > 0,9) [26]. Theo đó, hàm lượng axit lactic có mối tương quan thuận chiều độ cứng (R<sup>2</sup> = 0,96) và độ sáng (R<sup>2</sup> = 0,98), nghĩa là hàm lượng axit lactic tăng sẽ là tăng độ cứng và độ sáng của sản phẩm sữa chua dẻo bổ sung dịch KLT. Tuy nhiên, hàm lượng axit lactic lại có mối tương quan nghịch chiều với giá trị pH (R<sup>2</sup> = -0,98) và hàm lượng anthocyanin (R<sup>2</sup> = -0,98). Điều này cho thấy, khi hàm lượng axit lactic tăng thì giá trị pH sẽ giảm và làm giảm hàm lượng anthocyanin có trong sản phẩm.

|                       | Hàm lượng axit lactic | Độ cứng | Giá trị pH | Hàm lượng anthocyanin | Độ sáng L* |
|-----------------------|-----------------------|---------|------------|-----------------------|------------|
| Hàm lượng axit lactic | 1,00                  | 0,96    | -0,98      | -0,98                 | 0,98       |
| Độ cứng               | 0,96                  | 1,00    | -0,95      | -0,94                 | 0,96       |
| Giá trị pH            | -0,98                 | -0,95   | 1,00       | 0,97                  | -0,98      |
| Hàm lượng anthocyanin | -0,98                 | -0,94   | 0,97       | 1,00                  | -0,96      |
| Độ sáng L*            | 0,98                  | 0,96    | -0,98      | -0,96                 | 1,00       |

**Hình 4. Tương quan giữa các chỉ tiêu đánh giá sữa chua dẻo bổ sung dịch KLT**

*Ghi chú: Dấu (-) thể hiện mối tương quan nghịch chiều.*

Hàm lượng anthocyanin trong sản phẩm cũng có mối tương quan mật thiết với các chỉ tiêu còn lại

khi đánh giá sản phẩm sữa chua dẻo bổ sung KLT. Hàm lượng anthocyanin có mối tương quan nghịch chiều với hàm lượng axit, độ cứng và độ sáng, với giá trị  $R^2$  lần lượt là -0,98; -0,94; -0,96 nhưng lại cùng chiều với giá trị pH ( $R^2 = 0,97$ ). Kết quả này cho thấy, nếu sản phẩm lên men ở thời gian dài, pH xuống thấp thì ảnh hưởng rất lớn đến hàm lượng anthocyanin có trong sản phẩm.

#### **4. KẾT LUẬN**

Tỉ lệ dịch KLT bổ sung vào quy trình sản xuất sữa chua làm thay đổi tính chất cơ lý và thành phần hóa học cũng như màu sắc của sản phẩm. Theo đó, khi bổ sung tỉ lệ 75% dịch KLT vào sữa chua và được ủ lên men 6 giờ sẽ cho sản phẩm có chất lượng tốt nhất về độ cứng, độ nhớt, cũng như giữ được hàm lượng anthocyanin cao trong sản phẩm.

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Campos, D. C. S., Neves, L. T. B. C., Flach, A., Costa, L. A. M. A. & De Sousa, B. O. (2017). Post-acidification and evaluation of anthocyanins stability and antioxidant activity in açai fermented milk and yogurts (*Euterpe oleracea* Mart.). *Rev Bras Frutic*, 39(5), 1 - 13.
2. Deshwal, G. K., Tiwari, S., Kumar, A., Raman, R. K. & Kadyan, S. (2021). Review on factors affecting and control of post-acidification in yoghurt and related products. *Trends Food Sci Technol*, 109, 499 - 512.
3. Hadjimbei, E., Botsaris, G. & Chrysostomou, S. (2022). Beneficial effects of yoghurts and probiotic fermented milks and their functional food potential. *Foods*, 11, 1 - 15. Doi.org/10.3390/foods11172691
4. Jiao, Y., Jiang, Y., Zhai, W. & Yang, Z. (2012). Studies on antioxidant capacity of anthocyanin extract from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Afr J Biotechnol*, 11(27).
5. Wang, S., Nie, S. & Zhu, F. (2016). Chemical constituents and health effects of sweet potato. *Food Res Int*, 89(1), 90 - 116.
6. Lim, S., Xu, J., Kim, J., Chen, T. Y., Su, X. & Standard, J. (2013). Role of anthocyanin-enriched purple-fleshed sweet potato p40 in colorectal cancer prevention. *Mol Nutr Food Res*, 57(11), 1908 - 1917.
7. Hồ Thanh Thâm, Mai Trương Hồng Hạnh (2020). Năng suất và thành phần hóa học của dây và củ khoai lang phụ phẩm làm thức ăn cho gia súc, gia cầm tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 56(5), 87.
8. Huỳnh Văn Vũ, Nguyễn Minh Thủy (2014). Ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung và enzyme  $\alpha$ -amylase trong thủy phân tinh bột KLT Nhật. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*. Chuyên đề Nông nghiệp, tập 1, 28 - 34.
9. Krisnaningsih, A. T., Radiati, L. E., Purwadi, Evanuarini, H. & Rosyidi, D. (2019). The effect of incubation time to the physicochemical and microbial properties of yoghurt with local taro (*Colocasia esculenta* (L.) schott) starch as stabilizer. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 7(2), 547 - 554.
10. Ibrahim, S. (2013). Effects of enzyme concentration, temperature, pH and time on the degree of hydrolysis of protein extract from viscera of tuna (*Euthynnus affinis*) by using alcalase. *Sains Malaysiana*, 42(3), 279 - 287.
11. Wrolstad, R. E. & Culver, C. A. (2012). Alternatives to those artificial FD&C food colorants. *Annu Rev Food Sci Technol*, 3(1), 59 - 77.
12. Macori, G. & Cotter, P. D. (2018). Novel insights into the microbiology of fermented dairy foods. *Curr Opin Biotechnol*, 49, 172 - 178.
13. Li, S., Ye, A. & Singh, H. (2021). Effects of seasonal variations on the quality of set yogurt, stirred yogurt and Greek-style yogurt. *J Dairy Sci*, 104(2), 1 - 9.
14. Yang, L., Wang, L., Chi, Y. & Chi, Y. (2024). Effect of whole egg liquid on physicochemical, quality, fermentation and sensory characteristics of yogurt. *Foods*, 13(2), 321.
15. Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S. & Donkor, O. N. (2016). Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 978 - 986.
16. Ozcan, T., Ozdemir, T. & Avci, H. R. (2021). Survival of *Lactobacillus casei* and

functional characteristics of reduced sugar red beetroot yoghurt with natural sugar substitutes. *Int J Dairy Technol*, 74(1), 148 - 160.

17. Ozcan, T., Ozdemir, T. & Avci, H. R. (2020). Survival of lactobacillus casei and functional characteristics of reduced sugar red beetroot yoghurt with natural sugar substitutes. *Int J Dairy Tecno*, 74(1), 148 - 160.

18. Gonçalves, R. F. S., Rodrigues, R., Vicente, A. A. & Pinheiro, A. C. (2023). Incorporation of solid lipid nanoparticles into stirred yogurt: Effects in physicochemical and rheological properties during shelf-life. *Nanomaterials*, 13(1), 83 - 93.

19. Robinson, R. K. & Itsaranuwat, P. (2007). Properties of yoghurt and their appraisal. *Fermented Milks*, 76 - 94.

20. Granata, L. A. & Morr, C. V. (1996). Improved acid, flavor and volatile compound production in a high protein and fiber soymilk yogurt-like product. *J Food Sci*, 61(2), 331 - 336.

21. Son, J. K., Jo, Y. J., Jung, Y. J., Lee, Y. R., Lee, J. & Jeong, H. S. (2023). Fermentation and quality characteristics of yogurt treated with bifidobacterium longum. *Nutrients*, 15(15), 23 - 29.

22. Nguyễn Chí Dũng, Phạm Thị Mỹ Lê & Nguyễn Thị Kim Chi (2016). Nghiên cứu chế biến

sản phẩm yaourt bổ sung KLT (*Solanum andigenum*). *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Đồng Tháp*, 22, 115 - 120.

23. Hosoda, K., Eruden, B., Matsuyama, H. & Shioya, S. (2009). Silage fermentative quality and characteristics of anthocyanin stability in anthocyanin-rich corn (*Zea mays* L.). *Asian-Australas J Anim Sci*, 22(4), 528 - 533.

24. Scibisz, I., Ziarno, M., Mitek, M. & Zare, D. (2012). Effect of probiotic cultures on the stability of anthocyanins in blueberry yoghurts. *LWT - Food Science and Technology*, 49, 208 - 212.

25. Wallace, T. C. & Giusti, M. M. (2008). Determination of color, pigment and phenolic stability in yogurt systems colored with nonacylated anthocyanins from *Berberis boliviana* L. as compared to other natural/synthetic colorants. *Journal of Food Science*, 73(4), 241 - 248.

26. Gong, W., Wang, X., Wang, F. & Wang, J. (2023). Correlation analysis between wheat flour solvent retention capacity and gluten aggregation characteristics. *Foods*, 12(9), 1 - 11. <https://doi.org/10.3390/FOODS12091879>

## EFFECT OF PURPLE SWEET POTATO SOLUTION RATIO ON THE QUALITY OF STICKY YOGURT

Nguyen Thi Ngoc De<sup>1</sup>, Chau Minh Tan<sup>1</sup>, Nguyen Bao Loc<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Technology and Fisheries, Can Tho Technical Economic College

<sup>2</sup> Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University

### Summary

The study aimed to evaluate the impact of varying ratios of purple sweet potato solution on yogurt production. Accordingly, the study investigated the effects of adding different proportions of the solution (0, 25, 50, 75, 100% v/v) to the milk mixture. Through the assessment of physical and mechanical properties (hardness, viscosity, pH, color values L\*, a\*, b\*) and chemical composition (lactic acid and anthocyanin content) over fermentation periods (0, 2, 4, 6, 8 hours). The results showed that the addition of 75% (v/v) purple sweet potato solution produced yogurt with optimal quality, including a pH of 4.42, hardness of 5.83 N, viscosity of 174.58 cP, color values L\* (56.08), a\* (5.15), b\* (-0.33), lactic acid content (0.72%) and anthocyanin content (71.17 µg/g).

**Keywords:** Yogurt, purple sweet potato, adding ratio.

**Ngày nhận bài:** 3/6/2024

**Ngày chuyển phản biện:** 21/6/2024

**Ngày thông qua phản biện:** 01/7/2024

**Ngày duyệt đăng:** 15/7/2024

# **TỐI ƯU HOÁ MỘT SỐ YẾU TỐ CÔNG NGHỆ TRONG QUÁ TRÌNH LÊN MEN HÀNH ĐEN BẰNG PHƯƠNG PHÁP NHIỆT ẨM**

Trần Phương Chi<sup>1\*</sup>, Hoàng Thị Lệ Hằng<sup>2</sup>, Trần Đình Thắng<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Viện Công nghệ Hóa sinh Môi trường, Trường Đại học Vinh

<sup>2</sup> Viện Nghiên cứu Rau quả

<sup>3</sup> Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh

\*Email: [phuongchi53@gmail.com](mailto:phuongchi53@gmail.com)

## **TÓM TẮT**

Bài báo trình bày kết quả nghiên cứu khảo sát và tối ưu hoá một số yếu tố ảnh hưởng đến công đoạn xử lý nhiệt ẩm trong quá trình chế biến hành đen từ củ hành tím. Các thí nghiệm được bố trí theo phương án quy hoạch thực nghiệm Box - Behnken (BBD), với 3 yếu tố thực nghiệm tương ứng miền khảo sát gồm: Nhiệt độ xử lý 65 - 75°C, thời gian xử lý 12 - 18 ngày và độ ẩm tương đối của không khí 70 - 90%. Mục tiêu thực nghiệm đa yếu tố gồm hàm lượng phenolic tổng số (mgGAE/g ck), hàm lượng flavonoid tổng số (mgQE/g ck), chất lượng cảm quan (điểm). Tối ưu hóa sử dụng thuật toán hàm mong đợi với hàm lượng phenolic tổng số, hàm lượng flavonoid tổng số, chất lượng cảm quan tương ứng hệ số quan trọng 5/5, 4/5, 4/5. Kết quả đã xác định được chế độ xử lý nhiệt ẩm tối ưu nhằm thu được sản phẩm hành đen có chất lượng tốt, tăng cường hàm lượng các hoạt chất sinh học như sau: Nhiệt độ xử lý 71°C với độ ẩm tương đối 82% trong thời gian 14,9 ngày. Ở điều kiện này, hành đen thu được có hàm lượng phenolic tổng số, flavonoid tổng số và điểm đánh giá chất lượng cảm quan lần lượt là  $24,12 \pm 0,08$  mg GAE/g ck,  $6,65 \pm 0,03$  mgQE/g ck và  $18,95 \pm 0,09$  điểm.

**Từ khóa:** *Allium ascalonicum*, hành đen, xử lý nhiệt ẩm, tối ưu hóa, phenolic, flavonoid.

## **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Hành tím có tên khoa học là *Allium ascalonicum* L., được sử dụng phổ biến làm gia vị thực phẩm và thuốc dân gian ở châu Á. Bên cạnh các thành phần dinh dưỡng như: Protein, carbohydrate, chất béo không no, khoáng chất (Ca, K, Na, Cu, Fe, Zn và Se), vitamin A, B và C, trong hành chứa một lượng lớn các hợp chất: Lưu huỳnh, flavonoid, saponin và các dẫn xuất polyphenol khác. Trong đó, quercetin là một flavonoid điển hình có trong hành tím, được biết đến với khả năng chống oxy hóa cũng như khả năng bảo vệ chống lại bệnh tim mạch, chúng còn có tác dụng rõ rệt trong điều trị dị ứng, hen suyễn, viêm khớp, ung thư, biến chứng tiểu đường, rối loạn thoái hóa thần kinh và bệnh loãng xương [1].

Hành tím mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe nhưng vẫn bị hạn chế bởi mùi hăng và vị cay nên chỉ được sử dụng như một loại gia vị. Tuy nhiên, quá trình chế biến với các phương pháp xử lý nhiệt

như: Luộc, xào, hấp, chiên, sấy... đã làm giảm mùi vị hăng cay. Trong đó, hành đen là một dạng sản phẩm mới được chế biến bằng cách xử lý củ hành tím tươi trong điều kiện nhiệt độ và độ ẩm được kiểm soát mà không sử dụng chất phụ gia, ở điều kiện này hành có sự thay đổi về màu sắc (chuyển sang màu đen), trạng thái kết cấu (mềm dẻo hơn), đồng thời các hợp chất kém bền và có mùi khó chịu trong hành tươi sẽ chuyển thành hợp chất bền và mùi vị ngọt dịu hơn [2]. Theo một số nghiên cứu đối với sản phẩm hành, tỏi đen (được chế biến từ nguyên liệu hành tây, tỏi, cùng chi *Allium* và có nhiều thành phần hoá học tương đồng với hành tím), sự thay đổi trên liên quan đến quá trình thủy phân fructans và oligosaccharit (quá trình chiếm ưu thế ở giai đoạn đầu) và tiếp theo là phản ứng hóa nâu phi enzym, bao gồm phản ứng Maillard, quá trình oxy hóa phenol được thực hiện đồng thời trong quá trình lên men. Kết quả nghiên cứu của Herlina và cs (2019) [3], Trần Phương Chi

và cs (2023) [4] cho thấy, phương pháp tiền xử lý và chế độ lên men (xử lý nhiệt ẩm) là những yếu tố chính ảnh hưởng đến chất lượng của hành tỏi đen. Kết quả nghiên cứu của Trần Phương Chi và cs (2023) [4], khi áp dụng các phương pháp tiền xử lý nguyên liệu hành tím (tiền xử lý lạnh đông, tiền xử lý sóng siêu âm) kết hợp lên men nội sinh (giai đoạn đầu), trước khi xử lý nhiệt ẩm cao trong quá trình chế biến hành, đã góp phần nâng cao chất lượng sản phẩm hành đen và giảm thời gian chế biến. Trong đó, mẫu hành đen ở phương pháp tiền xử lý lạnh đông có hàm lượng các chất chống oxy hoá (các hợp chất phenolic, flavonoid) cao nhất, đồng thời có thời gian chế biến ngắn nhất. Theo Trần Phương Chi và cs (2024) [5], chế độ tiền xử lý lạnh đông ở nhiệt độ -20°C trong 30 giờ, chế độ lên men nội sinh (giai đoạn 1) ở nhiệt độ 45°C trong 2 ngày là phù hợp, sản phẩm hành đen thu được đạt chất lượng tốt và rút ngắn tổng thời gian lên men còn 17 ngày so với đối chứng 24 ngày.

Nhiệt độ, độ ẩm tương đối của không khí, thời gian xử lý nhiệt ẩm là những yếu tố liên quan chặt chẽ hoạt động của các enzym nội tại và tốc độ của các phản ứng hóa học liên quan đến sự biến đổi các thành phần hoá học trong hành tím, đặc biệt là phản ứng hoá nâu phi enzyme (phản ứng Maillard). Theo Sang và cs (2014) [6], xử lý tỏi ở nhiệt độ 40°C phù hợp cho enzym  $\gamma$  - glutamyl transpeptidaza, làm tăng hàm lượng S-allyl-L-cysteine. Việc tăng nhiệt độ từ 40°C lên 80°C trong quá trình xử lý nhiệt ẩm dẫn đến sự gia tăng đáng kể hoạt tính chống oxy hóa DPPH của tỏi đen (DPPH 22,5% khi ủ ở 40°C; 44,77% khi ủ ở 80°C; 6,21% đối với tỏi tươi ban đầu) [6]. Fang (2017) [7] đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng của độ ẩm tương đối của không khí (70%, 80%, 90% và 98%) đến chất lượng tỏi đen cho thấy, độ ẩm không khí liên quan chặt chẽ với quá trình thủy phân các chất cao phân tử và các phản ứng hóa nâu phi enzym ở nhiệt độ cao. Độ ẩm tương đối của không khí cao có thể dẫn đến hàm lượng đường khử và phenolic trong tỏi đen cao hơn thông qua quá trình thủy phân các polysaccharide và polyphenol, trong đó độ ẩm tương đối của không khí 80% là điều kiện phù hợp dựa trên đặc tính cảm quan và thành phần của tỏi đen thu được.

Nhằm tạo ra sản phẩm hành đen có chất lượng tốt, có hàm lượng các hoạt chất sinh học cao, nghiên cứu “*Tối ưu hoá một số yếu tố công nghệ trong quá trình lên men hành đen bằng phương pháp nhiệt ẩm*” là rất cần thiết.

## **2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Nguyên vật liệu**

Hành tím (*Allium ascalonium* L.) trồng tại huyện Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng được thu hoạch ở độ già 70 - 75 ngày (kể từ thời gian bắt đầu trồng), đóng thùng carton và vận chuyển đến Trung tâm Thực hành Thí nghiệm, Trường Đại học Vinh trong thời gian tối đa 3 ngày. Tại đây, tiến hành lựa chọn các củ hành đồng đều về màu sắc và kích thước (đường kính 20 - 30 mm), rửa sạch, cắt bỏ rễ rồi làm khô đến độ ẩm 75 - 80%.

### **2.2. Hóa chất và thiết bị sử dụng**

#### **2.2.1. Thiết bị và dụng cụ:**

+ Tủ lên men tự động CYF - 32P (Hãng Chin Ying Fa, Đài Loan) gồm 32 khay, kích thước (46 x 72 cm)/khay. Thiết bị có chức năng điều khiển tự động 2 thông số gồm nhiệt độ trong khoảng (30 - 100°C) và độ ẩm không khí (30 - 100%).

+ Tủ lạnh âm sâu ULT340 (Anh).

+ Cân kỹ thuật và cân phân tích điện tử, máy xay Philips HR2221 (Trung Quốc)...

#### **2.2.2. Hóa chất:**

Axit gallic, quercetin,  $\text{AlCl}_3$ , NaOH,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , axit 3,5-dinitrosalicylic (DNS), ninhydrin, ethanol,...

### **2.3. Phương pháp nghiên cứu**

#### **2.3.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm đơn yếu tố**

Hành tím sau tiền xử lý bằng phương pháp đông lạnh ở nhiệt độ -20°C trong 30 giờ [4], được chia thành các mẫu có cùng khối lượng ( $m = 1$  kg) rồi được bọc trong giấy bạc có đục lỗ và thực hiện quá trình lên men nội sinh trong tủ lên men ở 45°C, độ ẩm tương đối của không khí (RH) 80% trong thời gian 2 ngày [5]. Kết thúc thời gian lên men nội sinh, tiến hành khảo sát ảnh hưởng của ba yếu tố trong quá trình xử lý nhiệt ẩm, bao gồm: Nhiệt độ, RH, thời gian. Mỗi thí nghiệm đơn yếu tố gồm 5 công thức. Mỗi công thức lặp lại 3 lần.

+ Thí nghiệm 1 (TN1) - Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ khác nhau: 60°C, 65°C, 70°C, 75°C,



80°C (các yếu tố khác cố định: RH 80%, thời gian 15 ngày).

+ Thí nghiệm 2 (TN2) - Khảo sát ảnh hưởng của RH khác nhau: 50%, 60%, 70%, 80%, 90% (các yếu tố khác cố định: Nhiệt độ lựa chọn từ TN1, thời gian 15 ngày).

+ Thí nghiệm 3 (TN3) - Khảo sát ảnh hưởng của thời gian khác nhau: 9, 12, 15, 18, 21 ngày (các yếu tố khác cố định: Nhiệt độ lựa chọn từ TN1, RH được lựa chọn từ TN2).

Sau đó, các mẫu được sấy bơm nhiệt ở nhiệt độ 53 - 55°C cho đến khi sản phẩm đạt độ ẩm yêu cầu ( $45 \pm 2\%$ ). Trên cơ sở theo dõi sự thay đổi chất lượng của củ hành đen tạo ra (pH, sự biến đổi màu sắc, axit amin tổng số, đường khử, hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số và các chỉ tiêu cảm quan), từ đó xác định được miền ảnh hưởng của các đơn yếu tố.

### *2.3.2. Phương pháp thực nghiệm đa yếu tố*

Miền tối ưu được chọn sau khi khảo sát đơn yếu tố được đưa vào quy hoạch thực nghiệm. Các thí nghiệm được bố trí theo phương án quy hoạch thực nghiệm Box-Behnken (BBD). Các biến độc lập là  $X_1$  - nhiệt độ (°C),  $X_2$  - độ ẩm tương đối (%),  $X_3$  - thời gian (ngày) và các hàm mục tiêu là  $Y_1$  - hàm lượng phenolic tổng số (mgGAE/g ck),  $Y_2$  - hàm lượng flavonoid tổng số (mgQE/g ck),  $Y_3$  - chất lượng cảm quan (điểm). Tiến hành giải bài toán tối ưu bằng cách chấp mục tiêu theo thuật toán "Hàm mong đợi" được đưa ra bởi Derringer và Suich (1980) [8].

### *2.3.3. Phương pháp phân tích*

- Xác định pH theo TCVN 7806:2007 (ISO 1842:1991) [9].

- Xác định sự biến đổi màu sắc củ hành ( $\Delta E$ ) qua từng giai đoạn bằng máy đo màu (Konica Minolta, Nhật Bản).

- Xác định hàm lượng đường khử theo phương pháp DNS, dựa vào phản ứng tạo màu giữa đường khử với thuốc thử 3,5-Dinitrosalicylic axit (DNS) [10].

- Hàm lượng axit amin được xác định theo phương pháp của McGrath (1972) [11].

- Hàm lượng phenolic tổng số (TPC) được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu [12].

- Hàm lượng flavonoid tổng số (TFC) được xác định theo phương pháp tạo màu với  $AlCl_3$  trong môi trường kiềm - trắc quang [13].

- Đánh giá chất lượng cảm quan bằng phương pháp cho điểm dựa theo TCVN 3215 - 79 [14]. Với 4 chỉ tiêu đánh giá gồm màu sắc, trạng thái, mùi, vị của hành đen. Các chỉ tiêu được đánh giá riêng rẽ bằng phương pháp mô tả đối với màu sắc, trạng thái và thử nếm với mùi và vị theo thang 5 điểm, điểm cao nhất là 5, điểm thấp nhất là 1. Mức độ quan trọng của từng chỉ tiêu thông qua hệ số quan trọng (HSQT) tương ứng: Màu sắc (0,8), trạng thái (0,8), mùi (1,2) và vị (1,2). Mức xếp loại theo tổng điểm: Tốt từ 18,6 - 20, khá từ 15,2 - 18,5, trung bình từ 11,2 - 15,1, kém từ 7,2 - 11,1, hỏng  $\leq 7,1$ .

### *2.3.4. Phương pháp xử lý thống kê*

Sử dụng phần mềm Exel để phân tích dữ liệu, phần mềm Design-Expert 12.0 để đánh giá ảnh hưởng của các thông số của quá trình xử lý nhiệt ẩm và tìm ra điều kiện tối ưu.

## **3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**

### **3.1. Khảo sát ảnh hưởng của các đơn yếu tố (nhiệt độ, độ ẩm tương đối, thời gian xử lý nhiệt ẩm) đến chất lượng hành đen**

#### *3.1.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ xử lý đến chất lượng hành đen*

Nhiệt độ là yếu tố quan trọng trong quá trình xử lý nhiệt ẩm, liên quan chặt chẽ đến sự đứt gãy các liên kết trong cấu trúc phức tạp (các hợp chất polysaccharide, polyphenol,...) và phản ứng Maillard, tạo màu, mùi, vị, cấu trúc đặc trưng cho hành đen. Kết quả theo dõi ảnh hưởng của nhiệt độ xử lý nhiệt ẩm đến chất lượng hành đen được thể hiện ở bảng 1.

Sự thay đổi màu sắc của hành trong quá trình xử lý nhiệt là melanoidin (polyme có khối lượng phân tử lớn và màu nâu) được hình thành trong phản ứng Maillard. Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tốc độ hóa nâu trong các mẫu tỷ lệ thuận với nhiệt độ xử lý và tương đồng với kết quả nghiên cứu của Zhang và cs (2016) [15]. Độ pH của các mẫu tỷ lệ nghịch với nhiệt độ ủ, nguyên nhân do đường hexose và pentose bị phân huỷ tạo P-carbonyl hoặc dicarbonyl ở nhiệt độ cao, dẫn đến sự hình thành các axit, góp phần tạo nên hương vị đặc trưng như vị chua nhẹ [16].

Sự thay đổi màu sắc của hành trong quá trình xử lý nhiệt là melanoidin (polyme có khối lượng phân tử lớn và màu nâu) được hình thành trong phản ứng Maillard. Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tốc

độ hóa nâu trong các mẫu tỷ lệ thuận với nhiệt độ xử lý và tương đồng với kết quả nghiên cứu của Zhang và cs (2016) [15].

**Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến chất lượng hành đen**

| Nhiệt độ (°C)                      | 60                  | 65                  | 70                 | 75                   | 80                  |
|------------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|----------------------|---------------------|
| Chỉ tiêu                           |                     |                     |                    |                      |                     |
| Sự biến đổi màu sắc ( $\Delta E$ ) | $37,29 \pm 0,74^a$  | $50,11 \pm 0,98^b$  | $61,09 \pm 0,98^c$ | $68,45 \pm 1,13^d$   | $72,80 \pm 1,21^e$  |
| pH                                 | $4,78 \pm 0,05^e$   | $4,43 \pm 0,03^d$   | $4,11 \pm 0,03^c$  | $3,85 \pm 0,04^b$    | $3,37 \pm 0,03^a$   |
| Đường khử (mg/g ck)                | $475,97 \pm 2,55^a$ | $667,87 \pm 2,14^d$ | $756,8 \pm 2,25^e$ | $654,32 \pm 2,18^c$  | $588,17 \pm 1,23^b$ |
| Axit amin (mg/g ck)                | $6,19 \pm 0,03^a$   | $7,56 \pm 0,05^c$   | $8,21 \pm 0,05^d$  | $7,43 \pm 0,04^{bc}$ | $7,26 \pm 0,05^b$   |
| TPC (mgGAE/g ck)                   | $15,26 \pm 0,19^a$  | $18,33 \pm 0,28^c$  | $23,67 \pm 0,16^e$ | $19,72 \pm 0,28^d$   | $17,76 \pm 0,24^b$  |
| TFC (mgQE/g ck)                    | $4,95 \pm 0,02^a$   | $5,87 \pm 0,03^c$   | $6,60 \pm 0,05^e$  | $6,15 \pm 0,04^d$    | $5,20 \pm 0,03^b$   |
| Đánh giá cảm quan                  | $15,49 \pm 0,08^a$  | $16,37 \pm 0,09^b$  | $18,78 \pm 0,05^d$ | $17,19 \pm 0,06^c$   | $16,54 \pm 0,03^b$  |

*Ghi chú: Kết quả phân tích được trình bày dưới dạng trung bình  $\pm$  SD, các chữ cái khác trong một cột thể hiện ý nghĩa của dữ liệu ở mức  $p < 0,05$ .*

Độ pH của các mẫu tỷ lệ nghịch với nhiệt độ ủ, nguyên nhân do đường hexose và pentose bị phân huỷ tạo P-carbonyl hoặc dicarbonyl ở nhiệt độ cao, dẫn đến sự hình thành các axit, góp phần tạo nên hương vị đặc trưng như vị chua nhẹ [16].

Hàm lượng đường khử, axit amin trong hành đen phụ thuộc vào hai quá trình: sự thủy phân các polysaccharite thành đường khử, protein thành các axit amin và sự tiêu thụ đường khử, axit amin khi tham gia phản ứng Maillard [17]. Hàm lượng đường khử, axit amin trong các mẫu được ủ ở 65°C, 70°C cao hơn khi ủ ở nhiệt độ 75°C, 80°C cho thấy, dưới những nhiệt độ này tốc độ hình thành đường khử, axit amin nhanh hơn tốc độ tiêu thụ. Tốc độ phản ứng Maillard tăng ở nhiệt độ cao (75°C, 80°C), dẫn đến tỷ lệ tiêu thụ đường khử, axit amin vượt quá tốc độ tạo thành [18].

TPC tăng lên do các liên kết đứt gãy trong cấu trúc phức tạp (liên kết este, liên kết glycozit) dưới tác dụng của nhiệt độ dẫn đến việc giải phóng hợp chất tự do [19]. Tương tự, sự tăng lên của TFC có thể giải thích do sự thoái hóa nhiệt của quercetin-diglucoside tạo thành quercetin aglycone trong quá trình xử lý nhiệt. Sau 15 ngày ủ, TPC và TFC trong mẫu hành ủ ở 70°C đạt giá trị cao nhất.

Tuy nhiên, khi nhiệt độ tăng lên đến 75°C và 80°C thì TPC và TFC không tăng nữa mà lại giảm, do lúc này một số hợp chất phenolic, flavonoid nhạy cảm với nhiệt bị phân huỷ ở điều kiện nhiệt độ cao kéo dài, dẫn đến tốc độ phân huỷ lớn hơn tốc độ hình thành.

Chất lượng cảm quan của hành đen sau 15 ngày xử lý nhiệt ẩm ở 65°C, 70°C, 75°C cho thấy, lượng đường khử tích lũy cao, với hương vị ngọt dễ chịu, có màu nâu đen đồng nhất từ trong ra ngoài, trạng thái mềm dẻo, được đánh giá cao hơn so với hành đen được xử lý nhiệt độ 60°C, 80°C.

Dựa vào xu hướng số liệu về thành phần dinh dưỡng và hoạt chất sinh học, kết hợp với điểm đánh giá cảm quan của sản phẩm, quyết định chọn nhiệt độ xử lý 70°C cho nghiên cứu tiếp theo, và lựa chọn khoảng nhiệt độ 65 - 75 °C để tiến hành quy hoạch thực nghiệm đa yếu tố.

### 3.1.2. Ảnh hưởng của độ ẩm tương đối (RH) đến chất lượng hành đen

Sự tương tác giữa nhiệt độ xử lý và RH liên quan chặt chẽ tới độ ẩm sản phẩm và quá trình thủy phân các chất cao phân tử và các phản ứng hóa nâu phi enzym [7]. Ảnh hưởng của độ ẩm tương đối (RH) đến chất lượng hành đen được thể hiện ở bảng 2.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của độ ẩm tương đối đến chất lượng hành đen**

| RH (%)                             | 50                             | 60                             | 70                             | 80                            | 90                             |
|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Chỉ tiêu                           |                                |                                |                                |                               |                                |
| Sự biến đổi màu sắc ( $\Delta E$ ) | 33,29 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>  | 41,11 $\pm$ 0,56 <sup>b</sup>  | 50,97 $\pm$ 0,75 <sup>c</sup>  | 61,13 $\pm$ 0,78 <sup>d</sup> | 62,80 $\pm$ 1,21 <sup>d</sup>  |
| pH                                 | 5,58 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>   | 4,94 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>   | 4,45 $\pm$ 0,04 <sup>bc</sup>  | 4,12 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>  | 3,97 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>   |
| Đường khử (mg/g ck)                | 405,97 $\pm$ 1,35 <sup>a</sup> | 504,32 $\pm$ 2,52 <sup>b</sup> | 621,87 $\pm$ 2,34 <sup>c</sup> | 754,7 $\pm$ 2,13 <sup>c</sup> | 743,17 $\pm$ 2,23 <sup>d</sup> |
| Axit amin(mg/g ck)                 | 5,19 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>   | 6,43 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>   | 7,26 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>   | 8,24 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>  | 7,66 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>   |
| TPC (mgGAE/g ck)                   | 12,26 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>  | 15,33 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>  | 17,45 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>  | 23,77 $\pm$ 0,08 <sup>d</sup> | 17,76 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>  |
| TFC (mgQE/g ck)                    | 4,29 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>   | 5,07 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>   | 5,75 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>   | 6,56 $\pm$ 0,08 <sup>d</sup>  | 5,83 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>   |
| Đánh giá cảm quan                  | 12,49 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>  | 13,87 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>  | 15,79 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>  | 18,73 $\pm$ 0,07 <sup>e</sup> | 16,54 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>  |

*Ghi chú: Kết quả phân tích được trình bày dưới dạng trung bình  $\pm$  SD, các chữ cái khác trong một cột thể hiện ý nghĩa của dữ liệu ở mức  $p < 0,05$ .*

Bảng 2 cho thấy, xử lý nhiệt ẩm ở môi trường không khí có độ ẩm tương đối thấp (50%, 60%) thì các mẫu hành nhanh khô, nên tốc độ các phản ứng thủy phân bên trong diễn ra chậm. Khi RH tăng (70%, 80%), khả năng hoà tan và độ linh động của các cơ chất phản ứng tăng, dẫn đến tốc độ các phản ứng tăng. Cụ thể, RH tăng tỷ lệ thuận với sự biến đổi màu sắc  $\Delta E$ , hàm lượng đường khử, axit amin, TPC, TFC, tỷ lệ nghịch với độ pH. Tuy nhiên, khi RH tăng đến 90%, hành trong quá trình xử lý nhiệt ẩm có trạng thái ướt nhão, dính vỏ ngoài nên hàm lượng đường khử, axit amin, TPC, TFC bị tổn thất.

Điều kiện xử lý nhiệt ẩm với RH 80%, hành đen khô ráo, vị ngọt hài hoà với trạng thái mềm, dẻo, độ đàn hồi tốt hơn, các lớp của củ hành đã

không còn phân biệt rõ ràng so với xử lý nhiệt ẩm với RH 90%. Khi xử lý nhiệt ẩm ở RH 50%, 60%, hành đen trạng thái khô và cứng, vị hơi đắng. Điều này được thể hiện rõ trong kết quả đánh giá cảm quan của các mẫu hành đen thành phẩm.

Do đó, lựa chọn xử lý nhiệt ẩm ở RH 80% cho nghiên cứu tiếp theo và lựa chọn khoảng RH 70 - 90% để tiến hành quy hoạch thực nghiệm đa yếu tố.

### 3.1.3. Ảnh hưởng của thời gian xử lý nhiệt ẩm đến chất lượng hành đen

Các mẫu hành được xử lý nhiệt ẩm ở nhiệt độ 70°C, RH 80% trong các khoảng thời gian khác nhau (9, 12, 15, 18, 21 ngày). Kết quả theo dõi ảnh hưởng của thời gian xử lý nhiệt ẩm đến chất lượng hành đen được thể hiện ở bảng 3.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian xử lý nhiệt ẩm đến chất lượng hành đen**

| Thời gian                          | 9 ngày                         | 12 ngày                        | 15 ngày                       | 18 ngày                        | 21 ngày                        |
|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Chỉ tiêu                           |                                |                                |                               |                                |                                |
| Sự biến đổi màu sắc ( $\Delta E$ ) | 37,29 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>  | 50,11 $\pm$ 0,98 <sup>b</sup>  | 61,17 $\pm$ 0,68 <sup>c</sup> | 62,45 $\pm$ 0,93 <sup>d</sup>  | 63,01 $\pm$ 1,21 <sup>d</sup>  |
| pH                                 | 4,98 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>   | 4,53 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>   | 4,09 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>  | 3,85 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>   | 3,52 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>   |
| Đường khử (mg/g ck)                | 475,97 $\pm$ 1,55 <sup>a</sup> | 618,32 $\pm$ 2,58 <sup>c</sup> | 757,4 $\pm$ 2,92 <sup>c</sup> | 637,87 $\pm$ 2,14 <sup>d</sup> | 598,17 $\pm$ 2,23 <sup>b</sup> |
| Axit amin (mg/g ck)                | 5,73 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>   | 6,83 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>   | 8,26 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>  | 7,19 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>   | 5,81 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>   |
| TPC (mgGAE/g ck)                   | 15,26 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>  | 18,25 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>  | 23,79 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup> | 17,72 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>  | 15,76 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>  |
| TFC (mgQE/g ck)                    | 4,39 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>   | 5,67 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>   | 6,55 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>  | 6,05 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>   | 5,43 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>   |
| Đánh giá cảm quan                  | 13,49 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>  | 15,17 $\pm$ 0,07 <sup>c</sup>  | 18,71 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>  | 16,59 $\pm$ 0,08 <sup>d</sup>  | 14,24 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>  |

*Ghi chú: Kết quả phân tích được trình bày dưới dạng trung bình  $\pm$  SD, các chữ cái khác trong một cột thể hiện ý nghĩa của dữ liệu ở mức  $p < 0,05$ .*

Bảng 3 cho thấy, khi thời gian xử lý nhiệt ẩm tăng thì tỷ lệ thuận với sự biến đổi màu sắc và tỷ lệ nghịch với độ pH, làm cho hành thành phẩm chuyển sang màu nâu đen và có vị chua ngọt hài

hoà. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian xử lý đến 21 ngày thì sự biến đổi màu sắc không đáng kể và hành có vị hơi chua.

Hàm lượng đường khử, axit amin của hành có xu hướng tăng khi tăng thời gian xử lý từ 9 - 15 ngày, tuy nhiên khi kéo dài thời gian đến 18, 21 ngày thì có xu hướng giảm, thể hiện lượng đường khử, axit amin tham gia phản ứng Maillard nhiều hơn so với lượng đường khử, axit amin sinh ra từ các phản ứng thủy phân [17]. Tương tự, TPC và TFC đạt giá trị cao nhất sau 15 ngày, sau đó có xu hướng giảm khi kéo dài thời gian xử lý. Nguyên nhân do một số hợp chất phenolic, flavonoid bị phân huỷ ở điều kiện nhiệt độ cao kéo dài, dẫn đến tốc độ hình thành nhỏ hơn tốc độ phân huỷ [19].

Kết quả ở bảng 3 cũng cho thấy, hành đen sau 15 ngày xử lý nhiệt ẩm có hàm lượng các chất dinh dưỡng và các hoạt chất sinh học cao nhất và giá trị cảm quan tốt nhất. Do đó, lựa chọn khoảng thời gian 12 - 18 ngày để tiến hành quy hoạch thực nghiệm đa yếu tố.

### 3.2. Thiết lập mô hình

Sau khi khảo sát sơ bộ ảnh hưởng của các đơn yếu tố (nhiệt độ, độ ẩm tương đối, thời gian xử lý nhiệt ẩm), tiến hành tối ưu hoá quá trình xử lý nhiệt ẩm nhằm thu được hành đen thành phẩm có hàm lượng các hoạt chất sinh học (hàm lượng phenolic, flavonoid tổng số) và chất lượng cảm quan cao nhất. Các mức tiến hành thực nghiệm cho cả 3 yếu tố được trình bày trong bảng 4. Kết quả của thực nghiệm đa yếu tố được tổng hợp tại bảng 5. Phần mềm Design Expert 12 được áp dụng để phân tích sự phù hợp, có ý nghĩa của mô hình và các chỉ số tương quan (Bảng 6).

**Bảng 4. Bảng giá trị mã hóa và thực nghiệm của các yếu tố**

| Biến số         | Đơn vị | Mã hóa         | Mức |    |    |
|-----------------|--------|----------------|-----|----|----|
|                 |        |                | -1  | 0  | 1  |
| Nhiệt độ        | °C     | X <sub>1</sub> | 65  | 70 | 75 |
| Độ ẩm tương đối | %      | X <sub>2</sub> | 70  | 80 | 90 |

**Bảng 5. Tổng hợp kết quả thực nghiệm đa yếu tố**

| Số TT | X <sub>1</sub> | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> | Y <sub>1</sub> | Y <sub>2</sub> | Y <sub>3</sub> |
|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1     | 65             | 70             | 15             | 18,32          | 4,67           | 14,12          |
| 2     | 75             | 70             | 15             | 21,60          | 5,7            | 16,03          |
| 3     | 65             | 90             | 15             | 21,69          | 5,52           | 16,67          |
| 4     | 75             | 90             | 15             | 22,51          | 5,94           | 17,07          |
| 5     | 65             | 80             | 12             | 20,70          | 5,54           | 13,72          |
| 6     | 75             | 80             | 12             | 23,28          | 5,75           | 15,46          |
| 7     | 65             | 80             | 18             | 19,36          | 4,09           | 15,93          |
| 8     | 75             | 80             | 18             | 20,06          | 5,13           | 16,98          |
| 9     | 70             | 70             | 12             | 21,21          | 5,06           | 13,81          |
| 10    | 70             | 90             | 12             | 23,05          | 6,36           | 14,46          |
| 11    | 70             | 70             | 18             | 19,69          | 4,79           | 14,27          |
| 12    | 70             | 90             | 18             | 20,85          | 4,55           | 16,54          |
| 13    | 70             | 80             | 15             | 24,02          | 6,74           | 19,02          |
| 14    | 70             | 80             | 15             | 23,87          | 6,48           | 18,78          |
| 15    | 70             | 80             | 15             | 23,77          | 6,37           | 18,86          |

**Bảng 6. Kết quả phân tích hồi quy cho mô hình đa thức bậc hai**

| Nguồn          | Y <sub>1</sub> |           | Y <sub>2</sub> |           | Y <sub>3</sub> |           |
|----------------|----------------|-----------|----------------|-----------|----------------|-----------|
|                | Giá trị F      | Giá trị p | Giá trị F      | Giá trị p | Giá trị F      | Giá trị p |
| Mô hình        | 60,34          | 0,0001    | 61,98          | 0,0001    | 88,68          | < 0,0001  |
| X <sub>1</sub> | 83,29          | 0,0003    | 58,92          | 0,0006    | 55,71          | 0,0007    |

|               |        |        |        |          |        |          |
|---------------|--------|--------|--------|----------|--------|----------|
| $X_2$         | 81,04  | 0,0003 | 37,36  | 0,0017   | 90,78  | 0,0002   |
| $X_3$         | 104,84 | 0,0002 | 139,21 | < 0,0001 | 84,21  | 0,0003   |
| $X_1X_2$      | 18,51  | 0,0077 | 6,02   | 0,0578   | 9,77   | 0,0261   |
| $X_1X_3$      | 10,81  | 0,0218 | 11,14  | 0,0206   | 2,04   | 0,2126   |
| $X_2X_3$      | 1,41   | 0,2878 | 38,34  | 0,0016   | 11,24  | 0,0203   |
| $X_1^2$       | 116,12 | 0,0001 | 76,89  | 0,0003   | 73,91  | 0,0004   |
| $X_2^2$       | 70,95  | 0,0004 | 60,89  | 0,0006   | 212,66 | < 0,0001 |
| $X_3^2$       | 92,80  | 0,0002 | 166,46 | < 0,0001 | 329,86 | < 0,0001 |
| Thiếu phù hợp | 7,94   | 0,1139 | 0,0473 | 0,9829   | 5,85   | 0,1495   |
| $R^2$         | 0,9909 |        | 0,9911 |          | 0,9938 |          |

Các giá trị p và  $R^2$  tương ứng trong bảng 6 đánh giá kết quả ANOVA cho phân tích hồi quy và mô hình bề mặt đáp ứng bậc hai của  $Y_1$ ,  $Y_2$  và  $Y_3$ . Giá trị F của  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$  được tính là 60,34; 61,98; 88,68 (với  $p < 0,01$ ) cho thấy, cả 3 mô hình đều rất có ý nghĩa thống kê. Các giá trị F thể hiện sự thiếu phù hợp của  $Y_1$ ,  $Y_2$  và  $Y_3$  lần lượt tương ứng là 7,94; 0,0473 và 5,85 cho thấy, sự thiếu phù hợp là không đáng kể so với sai số thuần túy. Hệ số xác định của các mô hình ( $R^2$ ) lần lượt là 0,9909; 0,9911; 0,9938, nghĩa là hơn 99,09%; 99,11%; 99,38% các biến đáp ứng và cho thấy, mô hình đã thiết lập có độ chính xác cao.

Mô hình thực nghiệm đa thức bậc hai tổng quát của hàm mục tiêu  $Y_1, Y_2, Y_3$  như sau:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j$$

Trong đó:  $\gamma$  là hàm mục tiêu;  $\beta_0$  là hệ số chặn;  $\beta_i$  là hệ số tuyến tính;  $\beta_{ii}$  là hệ số bình phương;  $\beta_{ij}$  là hệ số tương tác;  $X_i$  và  $X_j$  là các biến độc lập được mã hóa.

Kết quả chạy phần mềm Design Expert 12 đưa ra mô hình thực nghiệm đa thức bậc hai của TPC ( $Y_1$ ), TFC ( $Y_2$ ), chất lượng cảm quan ( $Y_3$ ) theo biến

coded đã được mã hóa (1a, 2a, 3a) và biến thực (1b, 2b, 3b) như sau:

$$Y_1 = 23,89 + 0,923A + 0,91B - 1,04C - 0,615AB - 0,47AC - 0,17BC - 1,6A^2 - 1,25B^2 - 1,43C^2 \quad (1a)$$

$$Y_1 = -530,01 + 10,62X_1 + 3,04X_2 + 7,08X_3 - 0,012X_1X_2 - 0,031X_1X_3 - 0,006X_2X_3 - 0,064X_1^2 - 0,013X_2^2 - 0,159X_3^2 \quad (1b)$$

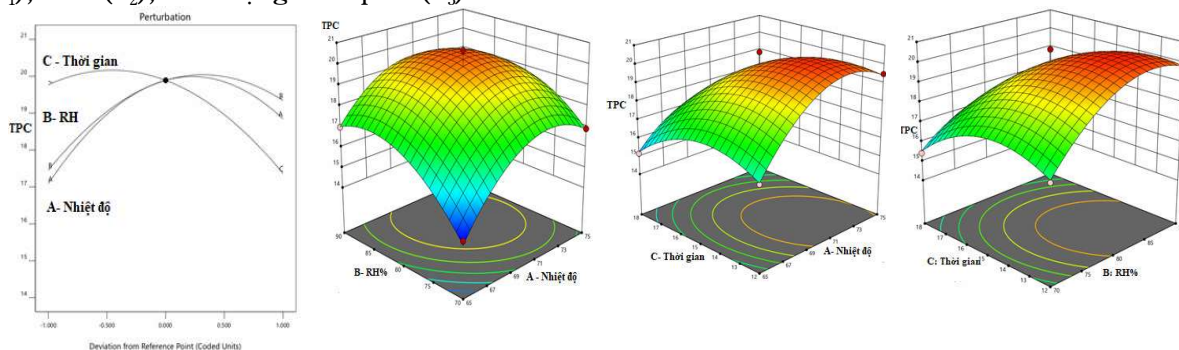
$$Y_2 = 6,53 + 0,34A + 0,27B - 0,52C - 0,15AB + 0,21AC - 0,39BC - 0,57A^2 - 0,51B^2 - 0,84C^2 \quad (2a)$$

$$Y_2 = -180,13 + 3,28X_1 + 1,24X_2 + 2,67X_3 - 0,003X_1X_2 + 0,014X_1X_3 - 0,013X_2X_3 - 0,023X_1^2 - 0,005X_2^2 - 0,093X_3^2 \quad (2b)$$

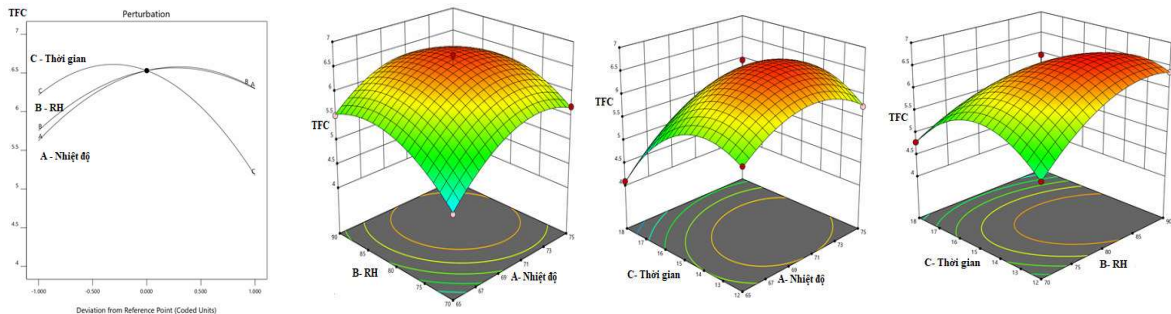
$$Y_3 = 18,89 + 0,64A + 0,81B + 0,78C - 0,38AB - 0,17AC + 0,41BC - 1,08A^2 - 1,83B^2 - 2,28C^2 \quad (3a)$$

$$Y_3 = -424,88 + 6,96X_1 + 3,34X_2 + 7,59X_3 - 0,0076X_1X_2 - 0,0115X_1X_3 + 0,0135X_2X_3 - 0,043X_1^2 - 0,018X_2^2 - 0,254X_3^2 \quad (3b)$$

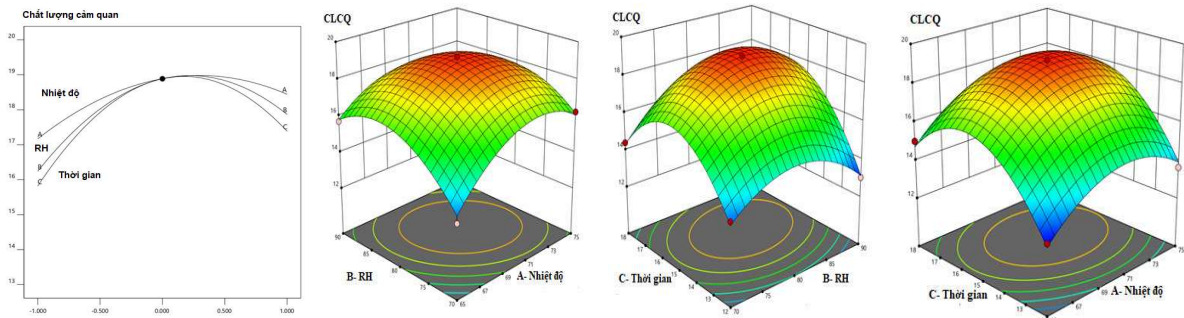
Các đồ thị mô hình 2D và 3D (Hình 1, 2, 3) thể hiện ảnh hưởng của các biến như nhiệt độ, độ ẩm tương đối và gian xử lý nhiệt ẩm đối với TPC, TFC và chất lượng cảm quan.



Hình 1. Biểu diễn 2D và 3D quan hệ giữa các yếu tố thực nghiệm đến hàm mục tiêu  $Y_1$  (TPC)



Hình 2. Biểu diễn 2D và 3D quan hệ giữa các yếu tố thực nghiệm đến hàm mục tiêu  $Y_2$  (TFC)



Hình 3. Biểu diễn 2D và 3D quan hệ giữa các yếu tố thực nghiệm đến hàm mục tiêu  $Y_3$  (Chất lượng cảm quan)

Hình 1, 2, 3 cho thấy: Thời gian xử lý nhiệt ẩm là yếu tố có ảnh hưởng lớn nhất đến các hàm mục tiêu  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$ , tiếp theo đến nhiệt độ và độ ẩm tương đối của không khí. Ở khoảng thời gian 12 - 15 ngày, TPC và TFC có xu hướng tăng chậm, sau đó giảm nhanh khi kéo dài thời gian đến 18 ngày; trong khi đó chất lượng cảm quan có xu hướng tăng nhanh từ 12 - 15 ngày, sau đó giảm đều khi kéo dài đến 18 ngày. Ở khoảng nhiệt độ 65 - 70°C, TPC, TFC và chất lượng cảm quan có xu hướng tăng nhanh và giảm chậm khi tăng nhiệt độ lên đến 75°C. Ảnh hưởng của yếu tố độ ẩm tương đối của không khí đến TPC, TFC và chất lượng cảm quan trong miền khảo sát tương tự yếu tố nhiệt độ. Do vậy với mục tiêu của quá trình xử lý nhiệt ẩm tạo hành đen có TPC, TFC, chất lượng cảm quan cao thì cần ưu tiên tăng nhiệt độ và độ ẩm tương đối, đồng thời rút ngắn thời gian so với tâm thực nghiệm (70°C; 80%; 15 ngày).

### 3.3. Tối ưu hóa quá trình xử lý nhiệt ẩm

Tiến hành giải bài toán tối ưu bằng cách chấp nhận mục tiêu theo thuật toán “hàm mong đợi” được

đưa ra bởi Derringer và Suich (1980) [8] với các điều kiện như ở bảng 7.

Bảng 7. Điều kiện và hệ số quan trọng của các hàm mục tiêu

| TT | Các biến và hàm mục tiêu    | Điều kiện    | Hệ số quan trọng |
|----|-----------------------------|--------------|------------------|
| 1  | Nhiệt độ                    | 65 - 75°C    | 4/5              |
| 2  | Độ ẩm tương đối             | 70 - 90%     | 3/5              |
| 3  | Thời gian                   | 12 - 18 ngày | 5/5              |
| 5  | Hàm lượng phenolic tổng số  | Cực đại      | 5/5              |
| 6  | Hàm lượng flavonoid tổng số | Cực đại      | 4/5              |
| 7  | Chất lượng cảm quan         | Cực đại      | 4/5              |

Dựa theo mức độ ảnh hưởng của các yếu tố thực nghiệm, lựa chọn hệ số quan trọng của thời gian xử lý nhiệt ẩm (5/5), nhiệt độ (4/5) và độ ẩm tương đối của không khí (3/5). Đối với các hàm mục tiêu thì hệ số quan trọng của hàm lượng phenolic tổng số được ưu tiên (5/5), trong khi hàm lượng flavonoid tổng số và chất lượng cảm quan chọn mức ưu tiên thấp hơn (4/5).

Kết quả tối ưu bằng phần mềm Design-Expert 12.0 như sau: Nhiệt độ 71,31°C, RH 82,08%, thời gian xử lý nhiệt ẩm 14,88 ngày. Khi đó sản phẩm hành đen thu được có hàm lượng phenolic tổng số, flavonoid tổng số và điểm đánh giá cảm qua dự đoán lần lượt là 24,16 mgGAE/g ck; 6,63 mgQE/g ck và 19,01 điểm.

Dựa trên khả năng hoạt động sản xuất thực tế, đã tiến hành điều chỉnh thông số phù hợp trong điều kiện xử lý nhiệt ẩm như sau: Nhiệt độ là 71°C, RH là 82%, thời gian 14,9 ngày (tương ứng với 357 giờ). Thực nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần với điều kiện trên, thu được kết quả ở bảng 8.

Bảng 8 cho thấy, quá trình xử lý nhiệt ẩm thực nghiệm hoàn toàn phù hợp với giá trị dự đoán từ mô hình tối ưu.

**Bảng 8. Giá trị dự đoán và thực nghiệm của các đáp ứng trong điều kiện tối ưu**

| Đáp ứng             | Điều kiện xử lý nhiệt ẩm tối ưu |     |           | Giá trị lớn nhất |         |
|---------------------|---------------------------------|-----|-----------|------------------|---------|
|                     | Nhiệt độ                        | RH  | Thời gian | Thử nghiệm       | Dự đoán |
| TPC (mg GAE/g)      | 71°C                            | 82% | 14,9 ngày | 24,12 ± 0,08     | 24,16   |
| TFC (mg QE/g)       |                                 |     |           | 6,65 ± 0,03      | 6,63    |
| Chất lượng cảm quan |                                 |     |           | 18,95 ± 0,09     | 19,01   |

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu ảnh hưởng của một số thông số trong quá trình xử lý nhiệt ẩm tối ưu củ hành tím nhằm tạo ra sản phẩm hành đen có chất lượng tốt, tăng cường tối đa hàm lượng các hoạt chất sinh học. Kết quả thu được các thông số của quá trình xử lý nhiệt ẩm tối ưu như sau: Nhiệt độ 71°C, độ ẩm tương đối 82%, thời gian 14,9 ngày. Ở điều kiện này, hành đen thu được có hàm lượng phenolic tổng số, flavonoid tổng số và điểm đánh giá chất lượng cảm quan lần lượt là 24,12 ± 0,08 mgGAE/g ck, 6,65 ± 0,03 mgQE/g ck và 18,95 ± 0,09 điểm.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Montazeri EA Amin M, Mashhadizadeh MA, Sheikh AF (2009). Characterization of shallot, an antimicrobial extract of allium ascalonicum. *Pak J Med Sci*, 25(6): 948 - 952.

2. José Manuel Moreno-Rojas, Alicia Moreno-Ortega, José Luis Ordóñez, Rafael Moreno-Rojas, Jesús Pérez-Aparicio & Gema Pereira-Caro (2018). Development and validation of UHPLC-HRMS methodology for the determination of flavonoids, amino acids and organosulfur compounds in black onion, a novel derived product from fresh shallot onions (*Allium cepa* var. aggregatum). *Lwt*, 97: 376 - 383.

3. Herlina Herlina, Triana Lindriati, Sulistyani Sulistyani, Muhammad Yunus & Siswoyo Soekarno (2019). Effect of Duration and Temperature of Fermentation on Black Garlic Properties. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 17(5): 86 - 93.

4. Trần Phương Chi, Lê Thế Tâm, Nguyễn Tân Thành, Hoàng Thị Lệ Hằng, Nguyễn Ngọc Tuấn, Trần Thanh Lưu, Trần Đình Thắng (2023). Ảnh hưởng của các phương pháp tiền xử lý đến chất lượng hành đen. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 1(6): 224 - 232.

5. Trần Phương Chi, Hoàng Thị Lệ Hằng, Trần Đình Thắng (2024). Nghiên cứu ảnh hưởng của tiền xử lý lạnh đông và lên men nội sinh đến chất lượng và thời gian chế biến hành đen bằng phương pháp nhiệt ẩm. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 66(8): 58 - 63.

6. Sang Eun Bae, Seung Yong Cho, Yong Duk Won, Seon Ha Lee & Hyun Jin Park (2014). Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. *LWT*, 55(1): 397 - 402.

7. L. Fang (2017). Effects of humidity on the quality of black garlic (MS dissertation). *Shandong Agricultural University*, Shandong, China.

8. George Derringer & Ronald Suich (1980). Simultaneous Optimization of Several Response Variables. *Journal of Quality Technology*, 12(4): 214 - 219.

9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7806:2007 (ISO 1842:1991) Sản phẩm rau, quả - Xác định độ pH.

10. G. L. Miller (2002). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3): 426 - 428.

11. R. McGrath (1972). Protein measurement by ninhydrin determination of amino acids



released by alkaline hydrolysis. *Anal Biochem*, 49(1): 95 - 102.

12. V. L. Singleton, Orthofer, R., Lamuela-Raventos, & R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin - Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol*, 299: 152 - 178.

13. C. C. Chang, M. H. Yang, H. M. Wen & J. C. Chern (2020). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3): 178 - 182.

14. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215 - 79 Sản phẩm thực phẩm - phân tích cảm quan - phương pháp cho điểm.

15. X. Zhang, N. Li, X. Lu, P. Liu & X. Qiao (2016). Effects of temperature on the quality of black garlic. *J Sci Food Agric*, 96(7): 2366 - 2372

16. Ya-Ru Yang, Jeong - Yong Cho & Yang - Kyun Park (2012). Isolation and Identification of

Antioxidative Compounds 3,4-Dihydroxybenzoic acid from Black Onion. *Korean Journal of Food Preservation*, 19(2): 229 - 234.

17. F. Li, J. Cao, Q. Liu, X. Hu, X. Liao & Y. Zhang (2020). Acceleration of the Maillard reaction and achievement of product quality by high pressure pretreatment during black garlic processing. *Food Chem*, 318: 126517.

18. A. Moreno-Ortega, G. Pereira-Caro, J. Luis Ordonez, J. Manuel Munoz-Redondo, R. Moreno-Rojas, J. Perez-Aparicio & J. Manuel Moreno-Rojas (2020). Changes in the antioxidant activity and metabolite profile of three onion varieties during the elaboration of 'black onion'. *Food Chem*, 311: 125958.

19. Ji-Sang Kim, Ok - Ju Kang & Oh - Cheon Gweon (2013). Comparison of phenolic acids and flavonoids in black garlic at different thermal processing steps. *Journal of Functional Foods*, 5(1): 80 - 86.

## OPTIMIZATION OF SOME TECHNOLOGICAL FACTORS IN THE FERMENTATION OF BLACK SHALLOT USING MOIST HEAT METHOD

Tran Phuong Chi<sup>1</sup>, Hoang Thi Le Hang<sup>2</sup>, Tran Dinh Thang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biotechnology and Environmental Technology, Vinh University

<sup>2</sup>Fruit and Vegetable Research Institute

<sup>3</sup>Industrial University of Ho Chi Minh city

### Summary

The purpose of this study was to survey and optimize several factors affecting the moist heat treatment during black shallot processing. The experiments were arranged according to the Box - Behnken (BBD) experimental planning model, three corresponding experimental elements survey domains, including treatment temperature (65 - 75°C), treatment time (12 - 18 days) and relative humidity (70 - 90%). The multi - factor experimental goals included total phenolic content (mgGAE/g ck), total flavonoid content (mgQE/g ck), sensory quality (score). Optimization was done using the expected function algorithm with total phenolic content, total flavonoid content, and sensory points, corresponding to important factors 5/5, 4/5, 4/5. The results determined the optimal technology mode for the moist heat treatment to obtain good quality black shallots products, increasing the content of biologically active ingredients as: Treatment temperature 71°C, relative humidity 82%, time 14.9 days. In this condition, the obtained black shallots have total phenolic content, total flavonoid content and sensory quality scores of  $24.12 \pm 0.08$  mg GAE/g ck,  $6.65 \pm 0.03$  mgQE/g ck and  $18.95 \pm 0.09$  points.

**Keywords:** *Allium ascalonicum*, black shallot, moist heat treatment, optimization, flavonoids, phenolics.

Ngày nhận bài: 8/7/2024

Ngày chuyển phản biện: 26/7/2024

Ngày thông qua phản biện: 5/8/2024

Ngày duyệt đăng: 14/8/2024



# **NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG AXIT ASCORBIC TRONG BẢO QUẢN PUREE BÍ ĐỎ (*Cucurbita moschata* D.) TIỆT TRÙNG ĐÓNG HỘP**

Nguyễn Nhật Minh Phương<sup>1</sup>, Trần Như Ảnh<sup>2</sup>, Trần Kim Bảo<sup>2</sup>,

Lê Minh Đô<sup>2</sup>, Trần Chí Nhân<sup>1</sup>, Tống Thị Ánh Ngọc<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Sinh viên ngành Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

\* Email: ttangoc@ctu.edu.vn

## **TÓM TẮT**

Nghiên cứu nhằm đánh giá sự thay đổi một số chỉ tiêu hóa lý và sự an toàn đối với sức khỏe cộng đồng của puree bí đỏ đóng hộp tiệt trùng. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của nồng độ axit ascorbic (0,025, 0,05, 0,10%) bổ sung đến chất lượng của puree bí đỏ trong quá trình bảo quản. Quá trình bảo quản sử dụng phương pháp gia tốc nhiệt (nhiệt độ 60°C, Q<sub>10</sub> = 3) trong 28 ngày. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng axit ascorbic bổ sung có ảnh hưởng đến giá trị pH, màu sắc và hàm lượng carotenoid. Hàm lượng carotenoid giảm 22% (mẫu bổ sung 0,10% axit ascorbic) sau 756 ngày (thời gian tương đương tại 30°C). Tổng số nấm mốc - nấm men, tổng số vi khuẩn kỵ khí, vi sinh vật mục tiêu *Clostridium botulinum* không phát hiện, bảo đảm thực phẩm an toàn trong 567 ngày ở nhiệt độ thường (30°C). Sản phẩm puree bí đỏ đóng hộp tiệt trùng (121°C, 5 phút) bổ sung 0,10% axit ascorbic duy trì được chất lượng tốt và an toàn sức khỏe cộng đồng trong 567 ngày bảo quản ở nhiệt độ thường.

**Từ khóa:** Axit ascorbic, bí đỏ, đồ hộp, puree, phương pháp gia tốc nhiệt, tiệt trùng.

## **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Bí đỏ là một trong những nguồn nông sản được dùng trong chế biến thực phẩm rộng rãi do hương vị thơm ngon, cung cấp nhiều dưỡng chất, vitamin và mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe con người. Các phần khác nhau của quả bí đỏ (hạt, vỏ và thịt) đều là nguồn giàu chất chống oxy hóa, cân bằng về mặt dinh dưỡng, đa dạng về thành phần vi lượng như: Vitamin, carotenoid và phenolic [1]. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra khả năng chữa bệnh của quả bí đỏ như: Chống bệnh đái tháo đường [2], ung thư [3], chữa bệnh viêm khớp [4], giảm trầm cảm [5]... Do đó, việc nâng cao giá trị sử dụng của bí đỏ thông qua các phương pháp chế biến nhằm đa dạng hóa sản phẩm, kéo dài thời gian sử dụng là cần thiết.

Puree bí đỏ đóng hộp vừa là lựa chọn thay thế hoàn hảo cho trái bí đỏ đã qua mùa thu hoạch, vừa bảo quản lâu dài nhưng vẫn giữ được giá trị dinh dưỡng; ngoài ra puree bí đỏ có thể được sử dụng làm nguyên liệu cho các sản phẩm thực phẩm khác như: Mì ăn liền, kem, bột súp dinh dưỡng.

Hiện nay, trên thị trường Việt Nam đã có sản phẩm thương mại từ puree bí đỏ. Tuy nhiên, các công trình nghiên cứu về thời gian bảo quản puree bí đỏ hay sự thay đổi chất lượng trong quá trình bảo quản sản phẩm vẫn còn hạn chế. Trong khi đó, puree bí đỏ đóng hộp có khả năng bị biến đổi về mặt cảm quan, hóa lý và sự phát triển của vi sinh vật trong quá trình bảo quản. Vì vậy, đây là một trong những hướng nghiên cứu cần thiết nhằm đa dạng hóa sản phẩm cũng như duy trì chất lượng của puree bí đỏ đóng hộp.

Nhằm ổn định chất lượng sản phẩm trong quá trình bảo quản, quá trình xử lý nhiệt kết hợp bổ sung phụ gia với liều lượng cho phép trong quá trình chế biến là sự lựa chọn của các nhà khoa học và sản xuất hiện nay. Quá trình tiệt trùng puree bí đỏ ở 110°C trong 15 phút, kết hợp bảo quản đông lạnh ở -20°C, puree bí đỏ có khả năng bảo quản 6 tháng [6]. Axit ascorbic thường được sử dụng để giữ màu cho rau củ quả trong quá trình chế biến. Có nhiều nghiên cứu đã được công bố quốc tế về việc sử dụng axit ascorbic để hạn chế sự hóa nâu,

làm sáng màu sản phẩm và giữ được chất lượng sản phẩm trong thời gian dài. Trong nghiên cứu của Li và cs (2014) [7], cà tím thái nhỏ hình hạt lựu được xử lý với dung dịch axit ascorbic 0,5% kết hợp bao gói polyethylene có thể giữ được bề mặt sáng (không bị hóa nâu) trong 12 ngày ở nhiệt độ 4°C. Một nghiên cứu khác trên khoai tây của Limbo và Piergiovanni (2006, 2007) [8, 9], axit ascorbic có khả năng hạn chế sự hóa nâu và duy trì được chất lượng sản phẩm. Khi sử dụng axit ascorbic (300 ppm) kết hợp với axit citric (300 ppm) có thể hạn chế sự hóa nâu không mong muốn trong quá trình chế biến puree của hoa sen Đa Lộc (*Etlingera elatior*) [10]. Trong nghiên cứu của Fan và cs (2023) [11], axit ascorbic được sử dụng như chất phụ gia bổ sung vào bột bí đỏ có khả năng giữ được màu sắc của sản phẩm khi ép đùn. Việc sử dụng axit ascorbic để giữ màu cho puree bí đỏ trong quá trình tiệt trùng còn rất hạn chế. Do đó, việc nghiên cứu xác định thông số thích hợp của axit ascorbic bổ sung, đồng thời xác định thời gian bảo quản nhằm đảm bảo sản phẩm puree bí đỏ tiệt trùng đóng hộp đạt chất lượng tốt về mặt dinh dưỡng, cảm quan và an toàn thực phẩm, góp phần đa dạng hoá sản phẩm là cần thiết.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu và hóa chất

Đối tượng nghiên cứu là giống bí đỏ hạt đậu trái dài lai F1 (vỏ trái có màu vàng đến đỏ sậm với nhiều sọc có màu vàng nhạt, thân không phân thùy) được thu hoạch ở 70 ngày tuổi [12], quả tươi, không bị hư hỏng được cung cấp bởi các nhà vườn ở tỉnh Trà Vinh. Nghiên cứu được thực hiện tại Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ.

Hóa chất: n-hexane, ethanol, axit ascorbic, phenolphthalein, sodium hydroxide (Xilong, Trung Quốc). Môi trường Plate Count Agar – PCA (Merck, Đức), môi trường Yeast Glucose Chloramphenicol Agar – YGC (Merck, Đức) và maltodextrin DE 10-12 (Tereos FKS, Indonesia).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Chuẩn bị nguyên liệu và bố trí thí nghiệm

Bí đỏ sau khi mua về được rửa sạch dưới vòi nước chảy trong 1 - 2 phút để loại bỏ hoàn toàn đất, cát, bụi bẩn, một phần vi sinh vật trên bề mặt trái và tiến hành để ráo. Phần thịt trái bí đỏ sau khi được sơ chế (bỏ vỏ, rửa sạch) cắt thành các lát mỏng đều nhau với kích cỡ cố định (5 x 5 x 0,5 cm).

Lát bí đỏ được chần với nước theo tỉ lệ 1: 3, ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 7 phút, sau đó được nghiền thành puree. Puree bí đỏ được bổ sung maltodextrin với tỉ lệ cố định là 10%, axit ascorbic theo điều kiện bố trí ở các nồng độ 0,025; 0,05; 0,10%. Puree được cho vào lon sắt (190 ml, Ø52 x 110) và tiệt trùng ở chế độ 121°C trong 5 phút ( $F_0 > 10$ ). Sau khi tiệt trùng, tiến hành bảo quản sản phẩm bằng phương pháp gia tốc nhiệt (nhiệt độ 60°C,  $Q_{10}$  tham chiếu = 3) [13], [14] và lấy mẫu phân tích tại các khoảng thời gian cố định khác nhau trong 28 ngày để theo dõi chất lượng của sản phẩm. Tiến hành phân tích các chỉ tiêu (màu sắc, pH, °Brix, hàm lượng axit tổng số, hàm lượng carotenoid tổng số, tổng số vi khuẩn kỵ khí, tổng số nấm men - nấm mốc và bào tử vi khuẩn (*Clostridium botulinum*)).

#### 2.2.2. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu

Màu sắc được xác định bằng máy đo màu FRU với hệ màu  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  (model WR10QC, hãng FRU sản xuất, Trung Quốc); hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix) được xác định bằng chiết quang kế (model 95000-002, hãng Alla sản xuất, Pháp); pH được xác định bằng máy đo pH cầm tay (hãng Hanna sản xuất, Romania); hàm lượng axit tổng số (%): Chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1 N với chất chỉ thị phenolphthalein [15]; hàm lượng carotenoid tổng số (mg/100 g CBK): Phương pháp đo màu tại bước sóng 450 nm [16], [17]; tổng số nấm mốc - nấm men (CFU/g): Đếm khuẩn lạc trên môi trường Yeast Glucose Chloramphenicol Agar (YGC); tổng số vi khuẩn kỵ khí (CFU/g): Đếm khuẩn lạc trên môi trường Plate Count Agar (PCA); bào tử vi khuẩn *C. botulinum*: Xác định bằng kỹ thuật Real-time PCR.

#### 2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được thu nhận từ 2 lần bố trí thí nghiệm độc lập. Mỗi chỉ tiêu phân tích trong từng thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Xử lý thống kê thông qua phân tích phương sai ANOVA và LSD (Least

Significant Difference) từ chương trình Statgraphics Centurion XVI để kiểm tra sự khác biệt ý nghĩa giữa các nghiệm thức (độ tin cậy 95%). Số liệu được tính toán, trình bày dưới dạng trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn và vẽ đồ thị từ phần mềm Microsoft Excel 2019.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Sự thay đổi về màu sắc của puree bí đỏ tiết trưng trong thời gian bảo quản

Sự thay đổi màu sắc của puree bí đỏ đóng hộp trong quá trình bảo quản ở các nghiệm thức bổ sung axit ascorbic với nồng độ khác nhau được qua bảng 1.

**Bảng 1. Sự thay đổi giá trị  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  và  $\Delta E$  của puree bí đỏ đóng hộp trong quá trình bảo quản tại 60°C**

| Màu sắc | Thời gian bảo quản (ngày) | 0                             | 0,025                         | 0,05                          | 0,10                          | Trung bình nghiệm thức         |
|---------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| $L^*$   | 0                         | 37,85 $\pm$ 0,86              | 38,15 $\pm$ 0,74              | 39,24 $\pm$ 0,34              | 40,24 $\pm$ 0,30              | 38,87 $\pm$ 1,09 <sup>a</sup>  |
|         | 1                         | 37,24 $\pm$ 0,78              | 37,63 $\pm$ 0,54              | 38,56 $\pm$ 1,16              | 39,39 $\pm$ 0,07              | 38,21 $\pm$ 0,96 <sup>bc</sup> |
|         | 4                         | 35,88 $\pm$ 0,37              | 37,61 $\pm$ 0,15              | 39,10 $\pm$ 0,03              | 39,20 $\pm$ 0,25              | 37,95 $\pm$ 1,56 <sup>c</sup>  |
|         | 7                         | 35,68 $\pm$ 0,52              | 37,19 $\pm$ 0,07              | 38,38 $\pm$ 0,31              | 38,70 $\pm$ 0,36              | 37,49 $\pm$ 1,37 <sup>c</sup>  |
|         | 10                        | 34,19 $\pm$ 0,62              | 36,12 $\pm$ 0,87              | 37,69 $\pm$ 0,49              | 37,88 $\pm$ 0,16              | 36,47 $\pm$ 1,71 <sup>d</sup>  |
|         | 14                        | 33,22 $\pm$ 0,97              | 36,31 $\pm$ 0,14              | 37,64 $\pm$ 0,79              | 37,88 $\pm$ 0,16              | 36,31 $\pm$ 2,19 <sup>d</sup>  |
|         | 17                        | 31,87 $\pm$ 0,11              | 33,99 $\pm$ 0,59              | 35,04 $\pm$ 0,32              | 35,82 $\pm$ 0,12              | 34,18 $\pm$ 1,71 <sup>e</sup>  |
|         | 21                        | 30,94 $\pm$ 0,48              | 33,35 $\pm$ 0,28              | 35,39 $\pm$ 0,12              | 36,88 $\pm$ 0,19              | 34,14 $\pm$ 2,56 <sup>e</sup>  |
|         | 25                        | 30,56 $\pm$ 0,39              | 32,77 $\pm$ 1,23              | 35,01 $\pm$ 0,55              | 36,25 $\pm$ 0,05              | 33,65 $\pm$ 2,51 <sup>e</sup>  |
|         | 28                        | 29,29 $\pm$ 0,42              | 32,61 $\pm$ 1,17              | 35,30 $\pm$ 0,30              | 36,46 $\pm$ 0,43              | 33,41 $\pm$ 3,19 <sup>e</sup>  |
|         | Trung bình nghiệm thức    | 33,67 $\pm$ 0,26 <sup>d</sup> | 35,57 $\pm$ 0,42 <sup>c</sup> | 37,13 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup> | 37,89 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup> |                                |
| $a^*$   | 0                         | 2,68 $\pm$ 0,11               | 3,00 $\pm$ 0,30               | 2,93 $\pm$ 0,62               | 3,16 $\pm$ 0,06               | 2,94 $\pm$ 0,20 <sup>ab</sup>  |
|         | 1                         | 2,70 $\pm$ 0,09               | 3,11 $\pm$ 0,57               | 2,99 $\pm$ 0,51               | 3,06 $\pm$ 0,06               | 2,96 $\pm$ 0,18 <sup>ab</sup>  |
|         | 4                         | 2,68 $\pm$ 0,38               | 3,17 $\pm$ 0,41               | 3,21 $\pm$ 0,19               | 2,99 $\pm$ 0,47               | 3,01 $\pm$ 0,24 <sup>ab</sup>  |
|         | 7                         | 3,00 $\pm$ 0,45               | 3,04 $\pm$ 0,18               | 3,04 $\pm$ 0,12               | 2,87 $\pm$ 0,44               | 2,98 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>  |
|         | 10                        | 2,69 $\pm$ 0,48               | 2,77 $\pm$ 0,12               | 3,06 $\pm$ 0,11               | 2,70 $\pm$ 0,12               | 2,80 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>   |
|         | 14                        | 3,01 $\pm$ 0,32               | 3,02 $\pm$ 0,12               | 3,09 $\pm$ 0,48               | 2,70 $\pm$ 0,12               | 2,99 $\pm$ 0,11 <sup>ab</sup>  |
|         | 17                        | 3,16 $\pm$ 0,44               | 2,52 $\pm$ 1,01               | 3,15 $\pm$ 0,50               | 2,90 $\pm$ 0,00               | 2,93 $\pm$ 0,30 <sup>ab</sup>  |
|         | 21                        | 2,87 $\pm$ 0,44               | 3,03 $\pm$ 0,35               | 3,10 $\pm$ 0,52               | 2,77 $\pm$ 0,54               | 2,94 $\pm$ 0,15 <sup>ab</sup>  |
|         | 25                        | 2,81 $\pm$ 0,30               | 3,29 $\pm$ 0,48               | 3,38 $\pm$ 0,06               | 3,31 $\pm$ 0,27               | 3,19 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>   |
|         | 28                        | 3,15 $\pm$ 0,12               | 3,29 $\pm$ 0,57               | 2,96 $\pm$ 0,54               | 2,58 $\pm$ 0,45               | 3,00 $\pm$ 0,31 <sup>ab</sup>  |
|         | Trung bình nghiệm thức    | 2,87 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>  | 3,02 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>  | 3,09 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>  | 2,92 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>  |                                |
| $b^*$   | 0                         | 18,00 $\pm$ 1,90              | 20,07 $\pm$ 0,56              | 18,74 $\pm$ 0,53              | 20,14 $\pm$ 0,24              | 19,24 $\pm$ 1,05 <sup>a</sup>  |
|         | 1                         | 19,47 $\pm$ 0,43              | 18,42 $\pm$ 0,50              | 18,66 $\pm$ 0,52              | 18,51 $\pm$ 0,08              | 18,76 $\pm$ 0,48 <sup>ab</sup> |
|         | 4                         | 19,10 $\pm$ 0,10              | 19,56 $\pm$ 0,39              | 19,17 $\pm$ 0,35              | 18,90 $\pm$ 0,02              | 19,18 $\pm$ 0,28 <sup>ab</sup> |
|         | 7                         | 17,61 $\pm$ 1,15              | 18,66 $\pm$ 0,37              | 19,03 $\pm$ 0,06              | 18,89 $\pm$ 0,27              | 18,55 $\pm$ 0,64 <sup>ab</sup> |
|         | 10                        | 19,19 $\pm$ 0,13              | 18,63 $\pm$ 0,71              | 18,29 $\pm$ 0,88              | 18,39 $\pm$ 0,11              | 18,62 $\pm$ 0,40 <sup>ab</sup> |
|         | 14                        | 18,03 $\pm$ 0,11              | 18,10 $\pm$ 0,30              | 18,36 $\pm$ 0,86              | 19,57 $\pm$ 0,30              | 18,51 $\pm$ 0,71 <sup>b</sup>  |
|         | 17                        | 18,78 $\pm$ 0,28              | 19,60 $\pm$ 0,63              | 19,49 $\pm$ 0,55              | 18,88 $\pm$ 0,53              | 19,19 $\pm$ 0,42 <sup>ab</sup> |
|         | 21                        | 19,76 $\pm$ 0,96              | 19,27 $\pm$ 0,77              | 18,64 $\pm$ 1,03              | 18,66 $\pm$ 0,04              | 19,08 $\pm$ 0,54 <sup>ab</sup> |
|         | 25                        | 18,23 $\pm$ 0,49              | 19,06 $\pm$ 0,73              | 18,61 $\pm$ 0,86              | 18,33 $\pm$ 0,09              | 18,56 $\pm$ 0,37 <sup>ab</sup> |
|         | 28                        | 19,08 $\pm$ 0,25              | 18,49 $\pm$ 0,44              | 19,03 $\pm$ 0,36              | 18,78 $\pm$ 0,14              | 18,84 $\pm$ 0,27 <sup>ab</sup> |

|            |                           |                    |                    |                    |                      |                      |
|------------|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|
|            | Trung bình<br>thực nghiệm | $18,72 \pm 0,59^a$ | $18,99 \pm 0,16^a$ | $18,80 \pm 0,30^a$ | $18,90 \pm 0,10^a$   |                      |
| $\Delta E$ | 1                         | $1,89 \pm 1,67$    | $2,07 \pm 0,51$    | $1,35 \pm 0,81$    | $1,85 \pm 0,03$      | $1,79 \pm 0,31^d$    |
|            | 4                         | $2,42 \pm 1,83$    | $0,86 \pm 0,29$    | $0,79 \pm 0,33$    | $1,72 \pm 0,09$      | $1,45 \pm 0,77^d$    |
|            | 7                         | $3,12 \pm 0,17$    | $1,88 \pm 0,36$    | $1,02 \pm 0,16$    | $2,04 \pm 0,43$      | $2,02 \pm 0,86^{cd}$ |
|            | 10                        | $4,02 \pm 1,95$    | $2,62 \pm 0,76$    | $1,77 \pm 0,59$    | $2,99 \pm 0,29$      | $2,85 \pm 0,93^{bc}$ |
|            | 14                        | $4,83 \pm 1,75$    | $2,80 \pm 0,22$    | $2,10 \pm 1,02$    | $2,29 \pm 0,06$      | $3,01 \pm 1,25^b$    |
|            | 17                        | $6,22 \pm 1,18$    | $4,24 \pm 0,07$    | $4,33 \pm 0,17$    | $4,61 \pm 0,33$      | $4,85 \pm 0,93^a$    |
|            | 21                        | $7,15 \pm 0,59$    | $4,86 \pm 0,49$    | $4,09 \pm 0,20$    | $3,71 \pm 0,41$      | $4,95 \pm 1,54^a$    |
|            | 25                        | $7,37 \pm 0,52$    | $5,61 \pm 1,67$    | $4,40 \pm 0,83$    | $4,40 \pm 0,17$      | $5,44 \pm 1,40^a$    |
|            | 28                        | $8,75 \pm 1,53$    | $5,83 \pm 0,73$    | $3,96 \pm 0,62$    | $4,10 \pm 0,47$      | $5,66 \pm 2,23^a$    |
|            | Trung bình<br>thực nghiệm | $5,09 \pm 2,41^a$  | $3,42 \pm 1,77^b$  | $2,65 \pm 1,52^c$  | $3,08 \pm 1,15^{bc}$ |                      |

Ghi chú: \* Số liệu trong bảng là giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $n = 6$ ); các giá trị trung bình thực nghiệm có cùng chữ cái a, b, c, d đi kèm trong cùng một hàng hoặc cột thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Kết quả bảng 1 cho thấy, trong quá trình bảo quản puree bí đỏ đóng hộp, nồng độ axit ascorbic bổ sung có ảnh hưởng đến sự thay đổi màu  $L^*$  ( $p < 0,05$ ). Nghiệm thức ở mẫu đối chứng có giá trị  $L^*$  thấp nhất và tăng dần đến nghiệm thức được bổ sung 0,10% axit ascorbic. Việc bổ sung axit ascorbic giúp làm giảm quá trình hoá nâu và ức chế hoạt động của enzyme polyphenol oxidase [7]. Giá trị  $L^*$  giảm dần trong 28 ngày bảo quản ( $60^\circ\text{C}$ ) (tương đương 756 ngày ở nhiệt độ thường) [14] và có ý nghĩa về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ). Nguyên nhân là các phản ứng oxy hoá phi enzym có thể ảnh hưởng đến các sắc tố màu như: Carotenes, flavones và flavonones [6]. Do có liên kết đôi trong mạch cacbon nên carotenoid dễ bị tác động bởi một số phản ứng như oxy hóa và đồng phân hóa (cis – trans) trong quá trình chế biến và bảo quản thực phẩm, đặc biệt là do ánh sáng, nhiệt độ, hàm lượng axit và oxy; do đó làm mất màu và giảm hoạt tính sinh học của sản phẩm [18], [19]. Theo Chisari và cs (2007) [20], quá trình oxy hóa các hợp chất phenolic thành o-quinone sau đó có thể trùng hợp tạo thành phức màu gây sẫm màu sản phẩm, làm giảm giá trị  $L^*$ .

Bên cạnh đó, không có sự thay đổi đáng kể của giá trị  $a^*$  và  $b^*$  sau 28 ngày bảo quản ( $60^\circ\text{C}$ ) nên nồng độ axit ascorbic bổ sung không ảnh hưởng đến giá trị  $a^*$  và  $b^*$  trong quá trình bảo

quản puree bí đỏ đóng hộp ( $p > 0,05$ ). Nghiên cứu của Provesi và cs (2011) [21] cũng cho kết quả tương tự khi phân tích màu sắc của puree bí đỏ sau 180 ngày bảo quản ở nhiệt độ môi trường sau khi tiệt trùng, giá trị  $L^*$  của puree bí đỏ giảm theo thời gian, giá trị  $a^*$  và  $b^*$  ổn định trong suốt thời gian bảo quản. Một nghiên cứu khác về bảo quản puree đào đóng hộp cũng cho kết quả tương tự [22].

Sự khác biệt về màu sắc của puree bí đỏ trong thời gian bảo quản so với thời điểm ban đầu được ghi nhận thông qua giá trị  $\Delta E$  (Bảng 1). Mặc dù giá trị  $a^*$ ,  $b^*$  không thay đổi rõ rệt, nhưng sự thay đổi màu của puree theo thời gian được thấy rõ từ ngày bảo quản thứ 10 (ở  $60^\circ\text{C}$ ) với giá trị  $\Delta E$  là  $2,85 \pm 0,93$  ( $p > 0,05$ ). Giá trị  $\Delta E$  tăng dần đến cuối thời điểm theo dõi (28 ngày) là  $5,66 \pm 2,23$ . Với mẫu puree bí đỏ bổ sung 0,05 và 0,1% axit ascorbic thì sự khác biệt màu sắc sau 28 ngày bảo quản thấp hơn so với mẫu không bổ sung axit ascorbic hay bổ sung với hàm lượng thấp là 0,025%. Nếu một mặt, các enzym gây hóa nâu, chẳng hạn như polyphenol oxidase và peroxidase, bị bất hoạt trong quá trình xử lý nhiệt, thì mặt khác có một số phản ứng hóa nâu không do enzym cũng có thể dẫn đến thay đổi màu sắc của sản phẩm trong quá trình bảo quản, chẳng hạn như sự phân hủy của carotenoid và các hợp chất phenolic [23]. Vì thế, mặc dù tại nồng độ 0,1% axit ascorbic, màu sắc của

puree bí đỏ vàng sáng, nhưng trong quá trình bảo quản màu của puree vẫn bị sẫm lại theo thời gian.

### 3.2. Sự thay đổi hàm lượng chất khô hoà tan của puree bí đỏ tiệt trùng trong thời gian bảo quản

Sự thay đổi về hàm lượng chất khô hoà tan ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) trong quá trình bảo quản puree bí đỏ đóng hộp ở các nghiệm thức bổ sung axit ascorbic với

các nồng độ khác nhau được trình bày trong bảng 2. Kết quả cho thấy, trong quá trình bảo quản puree bí đỏ đóng hộp, nồng độ axit ascorbic bổ sung không ảnh hưởng đến hàm lượng chất khô hoà tan ( $p>0,05$ ); đồng thời không có sự thay đổi đáng kể của  $^{\circ}\text{Brix}$  sau 28 ngày bảo quản ( $p>0,05$ ).

**Bảng 2. Sự thay đổi  $^{\circ}\text{Brix}$  của puree bí đỏ đóng hộp trong quá trình bảo quản tại  $60^{\circ}\text{C}$**

| Thời gian bảo quản (ngày) | Nồng độ axit ascorbic (%) |                    |                    |                    | Trung bình nghiệm thức |
|---------------------------|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------------|
|                           | 0                         | 0,025              | 0,05               | 0,10               |                        |
| 0                         | $20,00 \pm 0,00$          | $19,00 \pm 0,00$   | $19,50 \pm 0,71$   | $19,50 \pm 0,71$   | $19,50 \pm 0,41^{bc}$  |
| 1                         | $19,75 \pm 0,35$          | $19,50 \pm 0,71$   | $19,75 \pm 0,35$   | $19,50 \pm 0,71$   | $19,63 \pm 0,14^a$     |
| 4                         | $20,25 \pm 0,35$          | $19,25 \pm 0,35$   | $19,75 \pm 0,35$   | $19,50 \pm 0,71$   | $19,63 \pm 0,48^a$     |
| 7                         | $19,50 \pm 0,71$          | $19,25 \pm 0,35$   | $19,50 \pm 0,71$   | $19,25 \pm 0,35$   | $19,38 \pm 0,14^{bcd}$ |
| 10                        | $19,25 \pm 0,35$          | $19,50 \pm 0,71$   | $20,00 \pm 0,00$   | $19,50 \pm 0,00$   | $19,56 \pm 0,31^a$     |
| 14                        | $19,25 \pm 0,35$          | $19,25 \pm 0,35$   | $20,00 \pm 0,00$   | $19,75 \pm 0,35$   | $19,56 \pm 0,38^a$     |
| 17                        | $19,50 \pm 0,71$          | $20,00 \pm 0,00$   | $19,00 \pm 0,00$   | $19,50 \pm 0,71$   | $19,50 \pm 0,41^{bc}$  |
| 21                        | $19,50 \pm 0,71$          | $19,50 \pm 0,71$   | $19,75 \pm 0,35$   | $20,00 \pm 0,00$   | $19,69 \pm 0,24^a$     |
| 25                        | $19,00 \pm 0,00$          | $19,25 \pm 0,00$   | $19,25 \pm 0,00$   | $19,25 \pm 0,00$   | $19,13 \pm 0,14^{cd}$  |
| 28                        | $19,00 \pm 0,00$          | $19,00 \pm 0,00$   | $19,00 \pm 0,00$   | $19,25 \pm 0,35$   | $19,06 \pm 0,13^d$     |
| Trung bình nghiệm thức    | $19,50 \pm 0,41^a$        | $19,33 \pm 0,31^a$ | $19,55 \pm 0,37^a$ | $19,48 \pm 0,25^a$ |                        |

Ghi chú: \* Số liệu trong bảng là giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $n = 6$ ); các giá trị trung bình nghiệm thức có cùng chữ cái a, b, c, d đi kèm trong cùng một hàng hoặc cột thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Provesi và cs (2011) [21], nghiên cứu đặc tính và sự ổn định của các chỉ tiêu chất lượng trong quá trình bảo quản puree bí đỏ ở nhiệt độ môi trường sau khi tiệt trùng. Nghiên cứu này cho thấy, không có sự thay đổi đáng kể của hàm lượng chất khô hoà tan trong 180 ngày bảo quản. Một nghiên cứu khác về bảo quản puree việt quất đóng hộp cũng cho kết quả tương tự.

hàm lượng chất khô hoà tan của puree việt quất ổn định sau 285 ngày bảo quản ở nhiệt độ thường [24].

### 3.3. Sự thay đổi pH của puree bí đỏ tiệt trùng trong thời gian bảo quản

Ghi nhận sự thay đổi pH của puree bí đỏ tiệt trùng đóng hộp trong thời gian bảo quản ở  $60^{\circ}\text{C}$  trong 28 ngày được ghi nhận và trình bày trong bảng 3.

**Bảng 3. Sự thay đổi pH của puree bí đỏ đóng hộp trong quá trình bảo quản tại  $60^{\circ}\text{C}$**

| Thời gian bảo quản (ngày) | Nồng độ axit ascorbic (%) |                 |                 |                 | Trung bình nghiệm thức |
|---------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------|
|                           | 0                         | 0,025           | 0,05            | 0,10            |                        |
| 0                         | $5,19 \pm 0,01$           | $5,09 \pm 0,01$ | $4,97 \pm 0,01$ | $4,86 \pm 0,03$ | $5,03 \pm 0,14^f$      |
| 1                         | $5,27 \pm 0,01$           | $5,10 \pm 0,02$ | $5,01 \pm 0,03$ | $4,84 \pm 0,01$ | $5,05 \pm 0,18^{ef}$   |
| 4                         | $5,19 \pm 0,01$           | $5,07 \pm 0,02$ | $5,02 \pm 0,02$ | $4,87 \pm 0,02$ | $5,03 \pm 0,14^f$      |
| 7                         | $5,23 \pm 0,01$           | $5,12 \pm 0,01$ | $5,07 \pm 0,01$ | $4,86 \pm 0,01$ | $5,07 \pm 0,16^e$      |
| 10                        | $5,25 \pm 0,01$           | $5,20 \pm 0,01$ | $5,07 \pm 0,03$ | $4,91 \pm 0,04$ | $5,08 \pm 0,14^e$      |
| 14                        | $5,31 \pm 0,04$           | $5,21 \pm 0,01$ | $5,13 \pm 0,02$ | $4,93 \pm 0,02$ | $5,14 \pm 0,16^d$      |
| 17                        | $5,31 \pm 0,04$           | $5,28 \pm 0,02$ | $5,17 \pm 0,01$ | $4,98 \pm 0,01$ | $5,18 \pm 0,15^c$      |

|                           |                          |                          |                          |                          |                           |
|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| 21                        | 5,39 ± 0,03              | 5,28 ± 0,02              | 5,20 ± 0,01              | 5,02 ± 0,04              | 5,22 ± 0,16 <sup>b</sup>  |
| 25                        | 5,42 ± 0,01              | 5,29 ± 0,01              | 5,20 ± 0,05              | 5,03 ± 0,01              | 5,23 ± 0,16 <sup>ab</sup> |
| 28                        | 5,45 ± 0,01              | 5,32 ± 0,02              | 5,21 ± 0,02              | 5,05 ± 0,02              | 5,25 ± 0,17 <sup>a</sup>  |
| Trung bình<br>nghiệm thức | 5,30 ± 0,09 <sup>a</sup> | 5,18 ± 0,10 <sup>b</sup> | 5,10 ± 0,09 <sup>c</sup> | 4,93 ± 0,08 <sup>d</sup> |                           |

*Ghi chú: \* Số liệu trong bảng là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 6); các giá trị trung bình nghiệm thức có cùng chữ cái a, b, c, d đi kèm trong cùng một hàng hoặc cột thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.*

Kết quả cho thấy, trong quá trình bảo quản puree bí đỏ đóng hộp, nồng độ axit ascorbic bổ sung có ảnh hưởng đến sự thay đổi giá trị pH ( $p < 0,05$ ). pH càng giảm khi bổ sung nồng độ axit ascorbic càng cao, vì axit ascorbic tạo môi trường pH, làm hạ pH sản phẩm [25]. Giá trị pH trong 4 ngày bảo quản đầu tiên (60°C) (tương đương với 108 ngày bảo quản ở nhiệt độ thường) thay đổi không đáng kể về mặt thống kê ( $p > 0,05$ ). Nghiên cứu của Provesi và cs (2011) [21] cũng cho kết quả tương tự, độ pH của puree bí đỏ ổn định trong 180 ngày bảo quản ở nhiệt độ môi trường. Ahmed và cs (2004) [25] đã nghiên cứu bảo quản puree rau mùi trong 6 tháng ở nhiệt độ môi trường và cũng cho kết quả tương tự.

Trong các ngày bảo quản tiếp theo, giá trị pH có sự tăng đáng kể, có ý nghĩa về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ). Cụ thể, độ pH ở các ngày 4 và 28 có giá trị lần lượt là 5,03 và 5,25. Nguyên nhân của sự thay đổi này là do axit bị phân hủy trong quá trình bảo quản dẫn đến giá trị pH tăng [27]. Nguyên nhân dẫn đến sự phân hủy axit tổng số là do ảnh hưởng của nhiệt độ, đây là nhân tố ảnh hưởng trực tiếp đến tốc độ phân hủy của axit [28]. Quá trình phân hủy của axit cũng bị ảnh hưởng bởi pH, nồng độ oxy, các ion kim loại chuyển tiếp và các oxyase [29].

Độ axit có thể cho biết tình trạng bảo quản của một sản phẩm thực phẩm, giúp phát hiện các quá trình phân hủy hóa học hoặc vi sinh vật. Mặc dù có thể có mối quan hệ giữa độ axit chuẩn độ và độ pH nhưng không phải lúc nào cũng đúng. Điều này có thể là do đặc tính của axit, một số tác dụng đệm của quả hoặc các yếu tố khác [30].

#### **3.4. Sự thay đổi hàm lượng carotenoid của puree bí đỏ tiệt trùng trong thời gian bảo quản**

Ghi nhận sự thay đổi hàm lượng carotenoid của puree bí đỏ tiệt trùng đóng hộp trong thời gian bảo quản ở 60°C trong 28 ngày được ghi nhận và trình bày trong bảng 4. Kết quả ở bảng 4 cho thấy, trong quá trình bảo quản puree bí đỏ, hàm lượng carotenoid có xu hướng giảm dần sau 28 ngày bảo quản (60°C), có ý nghĩa về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ). Hàm lượng carotenoid trong mẫu là  $22,00 \pm 0,77$  mg/100 g CBK trước khi bảo quản, sau đó giảm dần đến ngày 28 ( $16,12 \pm 1,71$  mg/100 g CBK). Nguyên nhân gây ra sự suy giảm hàm lượng carotenoid trong quá trình bảo quản là do bị oxy hoá, chuỗi polyene liên hợp của carotenoid dễ bị phân hủy bởi oxy, nhiệt độ, ánh sáng và enzyme [31]. Việc bảo quản puree bí đỏ ở nhiệt độ cao (trên 30°C) cũng thúc đẩy nhanh quá trình phân hủy carotenoid [21].

**Bảng 4. Sự thay đổi hàm lượng carotenoids (mg/100 g CBK) của puree bí đỏ đóng hộp trong quá trình bảo quản tại 60°C**

| Thời gian bảo quản (ngày) | Nồng độ axit ascorbic (%) |              |              |              | Trung bình nghiệm thức    |
|---------------------------|---------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------------------|
|                           | 0                         | 0,025        | 0,05         | 0,10         |                           |
| 0                         | 21,18 ± 0,27              | 21,68 ± 0,14 | 22,17 ± 0,29 | 22,98 ± 0,09 | 22,00 ± 0,77 <sup>a</sup> |
| 1                         | 20,74 ± 0,69              | 21,15 ± 0,09 | 22,16 ± 0,06 | 22,69 ± 0,02 | 21,69 ± 0,90 <sup>a</sup> |
| 4                         | 19,76 ± 0,37              | 20,71 ± 0,43 | 22,01 ± 0,21 | 21,96 ± 0,08 | 21,11 ± 1,08 <sup>b</sup> |
| 7                         | 19,28 ± 0,53              | 20,49 ± 0,14 | 21,12 ± 0,28 | 22,27 ± 0,59 | 20,79 ± 1,25 <sup>b</sup> |
| 10                        | 18,32 ± 0,12              | 20,09 ± 0,28 | 20,66 ± 0,34 | 21,10 ± 0,09 | 20,04 ± 1,22 <sup>c</sup> |
| 14                        | 18,13 ± 0,33              | 19,82 ± 0,09 | 20,25 ± 0,24 | 20,92 ± 0,26 | 19,78 ± 1,19 <sup>c</sup> |
| 17                        | 17,99 ± 0,01              | 19,12 ± 0,35 | 19,68 ± 0,24 | 20,46 ± 0,09 | 19,31 ± 1,04 <sup>d</sup> |

|                           |                           |                           |                           |                           |                           |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 21                        | 17,68 ± 0,21              | 19,06 ± 0,19              | 19,67 ± 0,13              | 20,19 ± 0,12              | 19,15 ± 1,08 <sup>d</sup> |
| 25                        | 16,33 ± 0,44              | 17,15 ± 0,12              | 18,06 ± 0,17              | 18,84 ± 0,06              | 17,59 ± 1,09 <sup>e</sup> |
| 28                        | 13,95 ± 0,31              | 15,73 ± 0,35              | 16,87 ± 0,34              | 17,95 ± 0,17              | 16,12 ± 1,71 <sup>f</sup> |
| Trung bình<br>nghiệm thức | 18,34 ± 2,12 <sup>d</sup> | 19,50 ± 1,84 <sup>c</sup> | 20,26 ± 1,77 <sup>b</sup> | 20,93 ± 1,64 <sup>a</sup> |                           |

Ghi chú: \* Số liệu trong bảng là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 6); các giá trị trung bình nghiệm thức có cùng chữ cái a, b, c, d đi kèm trong cùng một hàng hoặc cột thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Nồng độ axit ascorbic bổ sung có ảnh hưởng đến sự thay đổi hàm lượng carotenoid ( $p < 0,05$ ). Bổ sung axit ascorbic càng nhiều thì hàm lượng carotenoid được duy trì cao hơn. Trong 28 ngày bảo quản, hàm lượng carotenoid ở nghiệm thức không bổ sung axit ascorbic bị giảm nhiều nhất, trong khi đó nghiệm thức được bổ sung 0,10% nồng độ axit ascorbic ít bị suy giảm nhất. Cụ thể, nghiệm thức không bổ sung axit ascorbic ở ngày 28 mất 34% hàm lượng carotenoid so với ngày 0 (hàm lượng carotenoid ở ngày 0 là 21,18 mg/100 g CBK và ở ngày 28 là 13,95 mg/100 g CBK). Trong khi đó, nghiệm thức được bổ sung 0,10% nồng độ axit ascorbic mất 22% hàm lượng carotenoids sau 28 ngày bảo quản (hàm lượng carotenoids ở ngày 0 là 22,98 mg/100 g CBK và ở ngày 28 là 17,95 mg/100 g CBK). Theo Klaui và Bauernfeind (1981) [32], axit ascorbic đóng vai trò bảo vệ carotenoid nên có thể hạn chế bị oxy hoá. Sudhakar và Maini (1994) [33] đã nghiên cứu tính ổn định của carotenoid trong củ xoài được bổ sung axit ascorbic và cũng cho kết luận tương tự.

### 3.5. Xác định mật số vi sinh vật của puree bí đỏ tiết trùng trong thời gian bảo quản

Sản phẩm puree bí đỏ đóng hộp trong quá trình bảo quản phải đạt yêu cầu theo Bộ Y tế về giới hạn tổng số nấm mốc - nấm men, tổng số vi khuẩn kỵ khí, bào tử vi khuẩn *Clostridium botulinum* cho phép là “Không có” [33]. Vì vậy nghiên cứu tiến hành xác định chỉ tiêu vi sinh cho mẫu puree bí đỏ trong thời gian bảo quản để đảm bảo tính an toàn cho người tiêu dùng. Do mẫu puree bí đỏ có bổ sung axit ascorbic 0,1% có màu vàng sáng hơn và hàm lượng carotenoid được giữ lại nhiều hơn so với các mẫu có bổ sung nồng độ axit khác, nghiên cứu tiến hành phân tích chỉ tiêu vi sinh cho mẫu puree bí đỏ bổ sung axit ascorbic 0,1% và mẫu không bổ sung axit ascorbic làm đối

chứng. Kết quả tổng số vi khuẩn kỵ khí và tổng số nấm mốc - nấm men (CFU/g) của puree bí đỏ đóng hộp trong quá trình bảo quản bằng phương pháp gia tốc nhiệt tại 60°C được thể hiện qua bảng 5.

**Bảng 5. Tổng số vi khuẩn kỵ khí và nấm mốc - nấm men (CFU/g) của puree bí đỏ đóng hộp trong quá trình bảo quản tại 60°C**

| Ngày                                   | Nồng độ axit ascorbic (%)  |                            |
|----------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                        | 0                          | 0,10                       |
| <i>Tổng số vi khuẩn kỵ khí (CFU/g)</i> |                            |                            |
| 0                                      | Không có                   | Không có                   |
| 7                                      | Không có                   | Không có                   |
| 14                                     | Không có                   | Không có                   |
| 21                                     | Không có                   | Không có                   |
| 28                                     | Không có                   | Không có                   |
| <i>Nấm mốc - nấm men (CFU/g)</i>       |                            |                            |
| 0                                      | Không có                   | Không có                   |
| 7                                      | Không có                   | Không có                   |
| 14                                     | Không có                   | Không có                   |
| 21                                     | Không có                   | Không có                   |
| 28                                     | $8 \times 10^1 \pm 4,24^*$ | $9,5 \times 10^1 \pm 0,71$ |

Ghi chú: \* Số liệu trong bảng là kết quả phân tích từ 2 lần bố trí thí nghiệm độc lập.

Kết quả cho thấy, trong 28 ngày bảo quản, puree bí đỏ đóng hộp không xuất hiện vi khuẩn kỵ khí và trong 21 ngày bảo quản (60°C) (tương đương với 567 ngày ở nhiệt độ thường), puree bí đỏ đóng hộp không xuất hiện nấm mốc - nấm men. Điều này chứng tỏ, sản phẩm puree bí đỏ đóng hộp trong 28 ngày bảo quản đã đạt yêu cầu về giới hạn tổng số vi khuẩn kỵ khí cho phép và trong 21 ngày bảo quản đã đạt yêu cầu về giới hạn tổng số nấm mốc - nấm men cho phép. Riêng đối với ngày bảo quản thứ 28, tổng số nấm mốc - nấm men ở mẫu đối chứng và mẫu bổ sung axit ascorbic 0,10% lần lượt là  $8 \times 10^1$  và  $9,5 \times 10^1$  CFU/g. Như vậy, sản phẩm puree bí đỏ đóng hộp sau 28 ngày bảo quản

đã vượt quá giới hạn tổng số nấm mốc - nấm men cho phép của Bộ Y tế [34].

Mẫu đối chứng và mẫu bổ sung 0,10% axit ascorbic tại ngày thứ 28 được phân tích để kiểm tra sự xuất hiện bào tử vi khuẩn *Clostridium botulinum* (Bảng 6). Kết quả cho thấy, bào tử vi khuẩn *Clostridium botulinum* cho kết quả âm tính. Điều này chứng tỏ, sản phẩm puree bí đỏ đóng hộp trong 28 ngày bảo quản (60°C) (tương đương với 756 ngày ở nhiệt độ thường) đã đạt yêu cầu về giới hạn bào tử vi khuẩn *Clostridium botulinum* cho phép của Bộ Y tế [34].

**Bảng 6. Kết quả phân tích bào tử vi khuẩn *Clostridium botulinum* của puree bí đỏ đóng hộp trong quá trình bảo quản tại 60°C**

| Mẫu                 | Thời gian bảo quản (ngày) | Kết quả (CFU/g) |
|---------------------|---------------------------|-----------------|
| 0% axit ascorbic    | 28                        | Không phát hiện |
| 0% axit ascorbic    | 28                        | Không phát hiện |
| 0,10% axit ascorbic | 28                        | Không phát hiện |
| 0,10% axit ascorbic | 28                        | Không phát hiện |

Dựa vào kết quả các chỉ tiêu phân tích, mẫu puree bí đỏ đóng hộp được bảo quản trong lon sắt tây là 21 ngày ở nhiệt độ 60°C đảm bảo về mặt chất lượng và an toàn thực phẩm. Bằng phương pháp gia tốc nhiệt với  $Q_{10} = 3$  [14], sản phẩm puree bí đỏ đóng hộp được dự đoán có thời gian sử dụng ở nhiệt độ thường (30°C) là 567 ngày.

#### 4. KẾT LUẬN

Sau 28 ngày bảo quản puree bí đỏ đóng hộp bằng phương pháp gia tốc nhiệt (60°C) (tương đương với 756 ngày ở nhiệt độ thường), các chỉ tiêu màu sắc, pH, hàm lượng axit tổng số, hàm lượng carotenoids có sự biến đổi đáng kể ở tất cả các nồng độ axit ascorbic (0,025, 0,05 và 0,10%) bổ sung; trong khi đó, nồng độ axit ascorbic không ảnh hưởng đến nồng độ chất khô theo thời gian bảo quản. Bên cạnh đó, nghiên cứu còn xác định được thời gian bảo quản của puree bí đỏ đóng hộp là 21 ngày (60°C) tương đương với 567 ngày ở nhiệt độ thường (30°C). Sản phẩm puree bí đỏ đóng hộp bổ sung 0,10% axit ascorbic trong 567 ngày (30°C) duy trì được chất lượng tốt nhất so với các mẫu bổ sung nồng độ 0,025 và 0,05% axit

ascorbic và đảm bảo an toàn thực phẩm theo Bộ Y tế [34].

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu nhận được sự tài trợ từ Sở Khoa học Công nghệ tỉnh Trà Vinh (CT.KT.05-2022).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nayik G. A. & Gull A. (2020). Antioxidants in Vegetables and Nuts - Properties and Health Benefits. *Springer Singapore*. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-7470-2>.
2. Kwon Y. I., Apostolidis E., Kim Y. C. & Shetty K. (2007). Health benefits of traditional corn, beans, and pumpkin: in vitro studies for hyperglycemia and hypertension management. *Journal of Medicinal Food*, 10(2), 266 - 275. <https://doi.org/10.1089/jmf.2006.234>.
3. Huang X. E., Hirose K., Wakai K., Matsuo K., Ito H., Xiang J., Takezaki T., Tajima K. (2004). Comparison of lifestyle risk factors by family history for gastric, breast, lung and colorectal cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 5, 419 - 427.
4. Fahim A. T., Abd-el A. A., Agha A. M. & Gad M. Z. (1995). Effect of pumpkin-seed oil on the level of free radical scavengers induced during adjuvant-arthritis in rats. *Pharmacological Research*, 31(1), 73 - 79. [https://doi.org/10.1016/1043-6618\(95\)80051-4](https://doi.org/10.1016/1043-6618(95)80051-4).
5. Eagles J. M. (1990). Treatment of depression with pumpkin seeds. *The British Journal of Psychiatry*, 157(6), 937 - 938. <https://doi.org/10.1192/S000712500004767X>.
6. Kampuse S., Tomsone L., Klava D., Ozola L. & Galoburda R. (2019). The influence of processing and storage conditions on quality parameters of pumpkin puree. *Foodbalt*, 137 - 142. <https://doi.org/10.22616/FoodBalt.2019.013>.
7. Li X., Jiang Y., Li W., Tang Y. & Yun J. (2014). Effects of ascorbic acid and high oxygen modified atmosphere packaging during storage of fresh-cut eggplants. *Food Science and Technology International*, 20(2), 99 - 108. <https://doi.org/10.1177/1082013212472351>.
8. Limbo S and Piergiovanni L. (2006). Shelf life of minimally processed potatoes Part 1. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on enzymatic



browning. *Postharvest Biology and Technology*, 39: 254 - 264.

9. Limbo S. and Piergiovanni L. (2007). Minimally processed potatoes Part 2. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acid on loss of some quality traits. *Postharvest Biology and Technology*, 43: 221 – 229.

10. Anuar N. A. F. M., Kormin F., Abidin N. A. Z., Bakar F. A., Fuzi S. F. Z. M. & Sabran F. (2019, July). Prevention of enzymatic browning by chemical treatment on Etlingera elatior puree processing. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 269, No. 1, p. 012033). IOP Publishing.

11. Fan, Wendong, Jing Zhao and Quanhong Li (2023). "Effect of different food additives on the color protection of instant pumpkin flour. *Food Chemistry Advances*, 3: 100413.

12. Pham N. B., Ma H. T., Cao N. T., Ngo H. T., Le D. T. & Tong N. T. (2023). Effects of the Variety and Harvesting Age on Physicochemical Characteristics and Nutritional Composition of Hybrid Pumpkin (*Cucurbita moschata*) in Vietnam. *Chemical Engineering Transactions*, 106, 865 - 870.

13. Nguyễn Hoàng (2009). *Xác định nhanh hạn sử dụng của sản phẩm*. Nxb Giáo dục thành phố Hồ Chí Minh.

14. Saarniit K., Lang H., Kuldjäär R., Laaksonen O. & Rosenväld S. (2023). The Stability of Phenolic Compounds in Fruit, Berry, and Vegetable Purees Based on Accelerated Shelf-Life Testing Methodology. *Foods*, 12(9), 1777. <https://doi.org/10.3390/foods12091777>.

15. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4689:1988. Đồ hộp – Phương pháp xác định hàm lượng axit tổng số và axit bay hơi.

16. Ordoñez-Santos L. E. & Ledezma-Realpe D. P. (2013). Lycopene Concentration and Physico-Chemical Properties of Tropical Fruits. *Food and Nutrition Sciences*, 4(7), 758 - 762. <https://doi.org/10.4236/fns.2013.47097>.

17. Potosí-Calvache D. C., Vanegas-Mahecha P. & Martínez Correa H. A. (2017). Convective drying of squash (*Cucurbita moschata*): Influence of temperature and air velocity on effective

moisture diffusivity, carotenoid content and total phenols. *DYNA*, 84(202), 112 - 119. <https://doi.org/10.15446/dyna.v84n202.63904>.

18. Rao A.V. & Rao L.G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 55(3), 207 - 216. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.012>.

19. Rodríguez-Amaya D. B. (2001). *A guide to carotenoid analysis in foods*. International Life Sciences Institute (ILSI) Press, Washington.

20. Chisari M., Barbagallo R. N. & Spagna G. (2007). Characterization of Polyphenol Oxidase and Peroxidase and Influence on Browning of Cold Stored Strawberry Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(9), 3469 - 3476. <https://doi.org/10.1021/jf063402k>.

21. Provesi J. G., Dias C. O. & Amante E. R. (2011). Changes in carotenoids during processing and storage of pumpkin puree. *Food Chemistry*, 128(1), 195 - 202. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.027>.

22. Wani S., Bakshi R. A., Khan Z. S., Fayaz S., Muzaffar K. & Dar B. N. (2021). Physicochemical, sensorial and rheological characteristics of puree developed from Kashmiri peaches: influence of sugar, KMS and storage conditions. *Heliyon*, 7(8). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07781>.

23. Talcott S. T. & Howard L. R. (1999). Phenolic Autoxidation Is Responsible for Color Degradation in Processed Carrot Puree. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47, 2109 - 2115. <https://doi.org/10.1021/jf981134n>.

24. Chen Y. & Martynenko A. (2017). Storage stability of cranberry puree products processed with hydrothermodynamic (HTD) technology. *LWT-Food Science and Technology*, 79, 543 - 553. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.060>.

25. Booth I. R. & Stratford M. (2003). Acidulants and low pH. *Food Preservatives*, 25 - 47. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-30042-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-0-387-30042-9_3)

26. Ahmed J., Shivhare U. S. & Singh P. (2004). Colour kinetics and rheology of coriander leaf puree and storage characteristics of the paste. *Food Chemistry*, 84(4), 605 - 611. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00285-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00285-1).

27. Mgaya - Kilima B., Remberg S. F., Chove B. E. & Wicklund T. (2014). Influence of storage

temperature and time on the physicochemical and bioactive properties of roselle – fruit juice blends in plastic bottle. *Food Science & Nutrition*, 2(2), 181 - 191.

<https://doi.org/10.18697/ajfand.63.13475>.

28. Dhakal S., Balasubramaniam V. M., Ayvaz H. & Rodriguez-Saona L. E. (2018). Kinetic modeling of ascorbic acid degradation of pineapple juice subjected to combined pressure-thermal treatment. *Journal of Food Engineering*, 224, 62 - 70. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.12.016>

29. Yin X., Chen K., Cheng H., Chen X., Feng S., Song Y. & Liang L. (2022). Chemical stability of ascorbic acid integrated into commercial products: A review on bioactivity and delivery technology. *Antioxidants*, 11(1), 153. <https://doi.org/10.3390/antiox11010153>.

30. Chitarra M. I. F. & Chitarra A. B. (2005). *Pós-colheita de frutas e hortaliças*. Lavras, BR: UFLA.

31. Sanchez-Moreno C., Plaza L., De Ancos B. & Cano M. P. (2003). Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressurized orange juice during refrigerated storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 647 - 653. <https://doi.org/10.1021/jf020795o>.

32. Klaui H. & Bauernfeind J. C. (1981). Carotenoids as food colors. *Carotenoids as colorants*, 48 - 317. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-082850-0.50009-3>.

33. Sudhakar D. V. & Maini S. B. (1994). Stability of carotenoids during storage of mango pulp. *Journal Of Food Science and Technology*, 31, 228 - 230.

34. Bộ Y tế (2007). Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT, ngày 19/12/2007. Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm.

#### STUDY ON ASCORBIC ACID USED IN PRESERVING THE STERILIZED PUMPKIN (*Cucurbita moschata* D.) PUREE

Nguyen Nhat Minh Phuong<sup>1</sup>, Tran Nhu Anh<sup>2</sup>, Tran Kim Bao<sup>2</sup>,  
Le Minh Do<sup>2</sup>, Tran Chi Nhan<sup>1</sup>, Tong Thi Anh Ngoc<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University*

<sup>2</sup>*Student of Food Technology, Can Tho University*

#### Summary

The objectives of the study were to evaluate the change of the physicochemical parameters as well as the safety in public health of sterilized pumpkin puree. The study was conducted to evaluate the addition of ascorbic acid (0.025, 0.05, 0.10%) to the quality of pumpkin puree during storage. The accelerated shelf-life testing methodology was used with  $Q_{10}$  of 3 at 60°C for 28 days. The results showed that the ascorbic acid had effects on the pH value, color and carotenoid content which was lost with 22% (0.10% ascorbic acid) after 756 days of storage (equivalent time at 30°C). Total mold & yeast, total anaerobic bacteria, target microorganisms of *Clostridium botulinum* showed negative results, ensuring food safety for 567 days at room temperature (30°C). Canned pumpkin puree products (sterilized at 121°C, 5 min) supplemented with 0.10% ascorbic acid maintained the best quality and the safety in public health for 567 days at room temperature.

**Keywords:** Ascorbic acid, canned food, pumpkin, puree, sterilization, accelerated shelf-life method.

Ngày nhận bài: 8/02/2024

Ngày chuyển phản biện: 14/02/2024

Ngày thông qua phản biện: 01/3/2024

Ngày duyệt đăng: 31/7/2024

# **ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG DIỆT VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus* CỦA CÁC CHẾ PHẨM THIÊN NHIÊN VÀ HIỆU QUẢ CỦA CÁC CHẾ PHẨM TRONG PHÒNG BỆNH TRÊN TÔM CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)**

Lê Nguyễn Thiên Phúc<sup>1,\*</sup>, Nguyễn Minh Thành<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

Email: lntphuc@hcmiu.edu.vn

## **TÓM TẮT**

Nghiên cứu này được tiến hành để đánh giá và so sánh khả năng diệt vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* của 4 chế phẩm vi sinh thương mại (VS01, VS02, VS03 và VS04), 3 chế phẩm thảo dược (trầu không, rau má, húng quế) và 3 loại kháng sinh (amoxicillin, tetracycline, doxycycline) dựa vào các chỉ tiêu đường kính vòng vô khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu, khả năng diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus* đang tăng sinh và hiệu quả phòng bệnh của các chế phẩm trên ấu trùng tôm chân trắng *Litopenaeus vannamei* được gây cảm nhiễm bằng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Kết quả đánh giá đã phân loại các chế phẩm và kháng sinh thành 4 nhóm: i) nhóm có hiệu quả diệt khuẩn rất cao bao gồm 3 chế phẩm thảo dược và kháng sinh doxycycline; ii) nhóm có hiệu quả cao bao gồm: 3 chế phẩm vi sinh (VS01, VS02, VS03) và tetracycline; iii) nhóm có hiệu quả trung bình: Amoxicillin; iv) nhóm không có hiệu quả diệt khuẩn: Chế phẩm VS04. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hầu hết các chế phẩm thiên nhiên đều có hiệu quả cải thiện đáng kể tỷ lệ sống của tôm sau khi gây cảm nhiễm, trong đó 3 chế phẩm thảo dược có tỷ lệ sống cao nhất. Nghiên cứu này cung cấp các thông tin về tác dụng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* của các loại chế phẩm thiên nhiên và ứng dụng các chế phẩm thiên trong phòng bệnh trên tôm chân trắng.

**Từ khóa:** *V. parahaemolyticus*, chế phẩm vi sinh, dịch chiết thảo dược, kháng sinh, *Litopenaeus vannamei*.

## **1. BẬT VẤN ĐỀ**

Kháng sinh và chất diệt khuẩn đang được sử dụng rộng rãi trong kiểm soát bệnh thủy sản nhưng đồng thời gây ra nhiều vấn đề nghiêm trọng cho môi trường và sức khỏe cộng đồng. Vi khuẩn và chất diệt khuẩn đẩy nhanh quá trình hình thành các chủng vi khuẩn đa kháng thuốc có khả năng lan truyền theo chuỗi thực phẩm và gây hại cho người tiêu dùng. Nhiều nghiên cứu đã công bố các kháng sinh thông dụng như nhóm  $\beta$ -lactam đều gây ra các chủng *Vibrio* sp. kháng mạnh, chỉ các kháng sinh thế hệ mới là duy trì được hiệu quả diệt khuẩn [1]. Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được xác định là nguyên nhân chính gây ra bệnh hoại tử gan tụy cấp (acute

hepatopancreatic necrosis disease - AHPND) trên tôm, gây thiệt hại lên đến trên 16 tỷ USD trong 15 năm gần nhất và 80% thiệt hại xảy ra ở các nước xuất khẩu tôm hàng đầu tại châu Á, trong đó có Việt Nam [2]. Do đó, việc sử dụng các chế phẩm có nguồn gốc thiên nhiên thay thế kháng sinh ngày càng được quan tâm. Chế phẩm thảo dược có nguồn gốc từ dịch chiết thực vật đã được chứng minh có hiệu quả trong tiêu diệt vi khuẩn thủy sinh gây hại [3]. Trong đó, trầu không (*Piper betle*) [4], rau má (*Centella asiatica*) [3] và húng quế (*Ocimum basilicum*) [5] là các thảo dược dễ dàng tìm kiếm và được báo cáo có hiệu quả tiêu diệt các chủng vi khuẩn *Vibrio* sp. đa kháng thuốc kháng sinh. Ngoài ra, chế phẩm vi sinh có nguồn gốc là các lợi khuẩn *Lactobacillus* sp. và *Bacillus*

sp. cũng được chứng minh có tác dụng tiêu diệt và đối kháng vi khuẩn gây bệnh, tăng cường miễn dịch và cân bằng hệ vi sinh đường ruột, có tiềm năng thay thế kháng sinh trong kiểm soát bệnh do *Vibrio* sp. gây ra trên tôm [6].

Ở Việt Nam, vấn đề đa kháng thuốc kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản và các giải pháp thay thế an toàn cũng được quan tâm nghiên cứu. Ứng dụng dịch chiết tỏi và bột tỏi trong kiểm soát AHPND đã được công bố [7]. Việc bổ sung trầu không, rau má và tỏi trong chế độ dinh dưỡng cũng cho thấy cải thiện khả năng chống chịu của tôm chân trắng *V. parahaemolyticus* [8]. Tuy nhiên, các nghiên cứu nhằm so sánh chế phẩm có nguồn gốc tự nhiên đang có mặt trên thị trường để thay thế cho kháng sinh nhằm kiểm soát *V. parahaemolyticus* vẫn chưa có nhiều. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* của các chế phẩm vi sinh thương mại và các chế phẩm thảo dược có nguồn gốc tại địa phương. Khả năng diệt khuẩn của các chế phẩm thiên nhiên được so sánh với các kháng sinh thông dụng trong điều trị bệnh do *V. parahaemolyticus* gây ra. Nghiên cứu cũng đánh giá hiệu quả của các chế phẩm trong kiểm soát

bệnh trên ấu trùng tôm chân trắng gây cảm nhiễm bằng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại Khu Thực nghiệm Công nghệ Sinh học, Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

### 2.2. Vật liệu nghiên cứu

#### 2.2.1. Hoá chất và môi trường nuôi cấy

Kháng sinh thương mại dùng cho nghiên cứu là dạng tinh khiết sản xuất bởi Sigma-Aldrich (Dorset, Liên hiệp Anh và Bắc Ireland). Tất cả môi trường nuôi cấy và hoá chất (Sigma-Aldrich, Liên hiệp Anh và Bắc Ireland) được chuẩn bị với nước đã khử ion và được hấp khử trùng (121°C, 15 phút) hoặc lọc qua màng polypolyethersulphone cỡ 0,22 µm (Millipore, Liên hiệp Anh và Bắc Ireland).

#### 2.2.2. Chế phẩm vi sinh thương mại

Bốn chế phẩm vi sinh thương mại thông dụng trên thị trường Việt Nam được sử dụng cho nghiên cứu này, để đảm bảo tính bảo mật và khách quan, các chế phẩm được đánh số từ VS01 - VS04, với thành phần và định lượng vi sinh được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1. Các chế phẩm vi sinh thương mại, thành phần và định lượng vi sinh (theo nhãn công bố của nhà sản xuất)**

| Chế phẩm vi sinh | Thành phần vi sinh                | Định lượng vi sinh (CFU×mL <sup>-1</sup> ) |
|------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------|
| VS01             | <i>Lactobacillus plantarum</i>    | 6,00 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | <i>Bacillus subtilis</i>          | 6,00 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | <i>Bacillus licheniformis</i>     | 6,00 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | Các chủng nấm men                 |                                            |
| VS02             | <i>Lactobacillus acidophilus</i>  | 4,00 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | <i>Bacillus subtilis</i>          | 4,00 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | <i>Bacillus licheniformis</i>     | 6,00 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | Yeast                             |                                            |
| VS03             | <i>Bacillus subtilis</i>          | 9,00 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | <i>Bacillus megaterium</i>        | 4,00 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> | 7,08 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | <i>Bacillus licheniformis</i>     | 7,08 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | <i>Bacillus pumilus</i>           | 1,30 × 10 <sup>8</sup>                     |
| VS04             | <i>Bacillus subtilis</i>          | 5,00 × 10 <sup>8</sup>                     |
|                  | <i>Bacillus licheniformis</i>     | 5,00 × 10 <sup>8</sup>                     |

### 2.2.3. Chuẩn bị chế phẩm thảo dược

Ba chế phẩm thảo dược: i) trầu không (*P. betle*), ii) rau má (*C. asiatica*) và iii) húng quế (*O. basilicum*) được chuẩn bị bằng phương pháp chiết xuất [8]. Thảo dược tươi được rửa sạch và loại bỏ các cành thừa, sau đó được cắt nhỏ, sấy khô (50°C, 24 giờ), nghiền và sàng thu bột mịn. Với mỗi loại chế phẩm, 250 g bột mịn thảo dược được chiết xuất bằng cách ngâm 7 ngày trong bình Duran chứa 1 L dung môi ethanol 95%, theo sau là 3 lần lọc bằng giấy lọc Whatman 42 µm. Dung dịch sau lọc được tiếp tục loại bỏ ethanol ở 75°C bằng máy cô quay chân không Hei-VAP Precision (Heildolph, Đức). Chế phẩm được lưu giữ ở nhiệt độ 4°C cho đến khi sử dụng.

### 2.2.4. Vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Chủng *V. Parahaemolyticus* 2187 sử dụng cho nghiên cứu được cung cấp bởi Khoa Khoa học và Công nghệ, Đại học Suan Sunandha Rajabhat (Thái Lan). Đây là chủng gây bệnh AHPND (đã kiểm tra bằng phương pháp PCR) có nguồn gốc được phân lập từ các ao nuôi ở miền Bắc Việt Nam. Chủng thuần được nuôi định kỳ trên môi trường thạch tryptic soy agar (TSA) có bổ sung 1% NaCl.

Dịch vi khuẩn sử dụng cho các thí nghiệm được chuẩn bị theo phương pháp nuôi tăng sinh. Ba khuẩn lạc được chọn ngẫu nhiên, cấy và nuôi (30°C, 150 rpm) trong môi trường lỏng tryptic soy broth (TSB) có bổ sung 1% NaCl đến khi đạt giai đoạn hậu pha cấp số thông qua việc xác định bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) ở 600 nm và so sánh với đường chuẩn sinh trưởng. Dịch khuẩn được quay ly tâm (2.000 g, 10 phút, 4°C) để thu tế bào vi khuẩn và tiếp tục rửa sạch 2 lần bằng dung dịch đệm phosphate-buffered saline (PBS). Tế bào vi khuẩn sau đó được pha đến nồng độ CFU×mL<sup>-1</sup> cần sử dụng của các nghiệm thức thí nghiệm. Nồng độ vi khuẩn được định lượng bằng phương pháp đo mật độ quang cùng phương pháp pha loãng theo dãy nồng độ và đếm khuẩn lạc sau khi nuôi cấy trên môi trường thạch Mueller Hinton (MH) (30°C, 24 giờ) [9].

### 2.2.5. Tôm thí nghiệm

Tôm chân trắng (*L. vannamei*) giai đoạn hậu ấu trùng PL12 (khối lượng: 0,012 ± 0,004 g; chiều dài: 8,0 ± 0,05 mm) có chất lượng tốt, khỏe mạnh được sử dụng cho thí nghiệm cảm nhiễm.

## 2.3. Thiết kế và bố trí thí nghiệm

### 2.3.1. Đánh giá khả năng diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

Bốn chế phẩm vi sinh thương mại (VS01, VS02, VS03, VS04), 3 chế phẩm thảo dược (trầu không, rau má, húng quế) được sử dụng để đánh giá khả năng diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus* bằng phương pháp khuếch tán thuốc qua đĩa giấy của Kirby-Bauer [10]. Ba loại kháng sinh (amoxicillin, tetracycline, doxycycline) được bố trí thí nghiệm để so sánh kết quả của các chế phẩm. Chỉ tiêu đánh giá là đường kính vòng vô khuẩn (ZDI: zone diameter of inhibition). Dung dịch gốc của các chế phẩm và kháng sinh được chuẩn bị ở nồng độ 100 ppm và được pha loãng đến nồng độ cần thiết cho thí nghiệm. Ở mỗi nghiệm thức, các đĩa giấy Whatman vô trùng (cỡ số 3) được thấm đều với chế phẩm hoặc kháng sinh đã pha nhằm tải lượng thuốc tương ứng 10 µg/đĩa giấy và để khô tự nhiên. Sau đó đĩa giấy đã thấm thuốc được bố trí trên đĩa thạch MH đã trải sẵn vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (10<sup>7</sup> CFU×mL<sup>-1</sup>) và được ủ (30°C, 24 giờ). Tất cả nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

### 2.3.2. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh với *V. parahaemolyticus*

#### - Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Giá trị MIC được xác định bằng phương pháp vi pha loãng theo quy trình chuẩn của CLSI [11]. Bốn chế phẩm vi sinh, 3 chế phẩm thảo dược và 3 loại kháng sinh được pha tương ứng trong đĩa ELISA 96 giếng đáy phẳng với thể tích cuối cùng là 100 µL/giếng bằng kỹ thuật pha loãng nối tiếp để đảm bảo dung dịch sau có nồng độ gấp đôi dung dịch trước. Mỗi loại chế phẩm và kháng sinh đều có được dãy nồng độ cuối cùng là 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1.024, 2.048, 4.096 ppm. Sau đó, 5 µL dịch gốc vi khuẩn ban đầu với nồng độ 10<sup>7</sup>

CFU×mL<sup>-1</sup> được cho vào tất cả các giếng khảo sát. Đĩa được phủ kín bằng parafilm và ủ ở 30°C trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, nồng độ chế phẩm hay kháng sinh thấp nhất ức chế được sự tăng trưởng của *V. parahaemolyticus* trong mỗi dãy nồng độ khảo sát được xác định là giá trị MIC. Tất cả các nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

Đối chứng dương được bố trí chứa môi trường MH lỏng và cho cùng lượng vi khuẩn ban đầu để ủ. Đối chứng âm bao gồm các giếng chứa lượng ethanol tương đương nhằm thay thế cho môi trường dinh dưỡng và cũng được cho vào cùng lượng vi khuẩn ban đầu. Các giếng có chứa môi trường MH lỏng nhưng không cho dịch vi khuẩn cũng được chuẩn bị để kiểm soát tình trạng nhiễm.

#### *- Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC)*

Giá trị MBC được xác định bằng phương pháp trải đĩa theo quy trình chuẩn [12]. Với mỗi dãy nồng độ (miêu tả ở phần MIC) được khảo sát cho mỗi nghiệm thức chế phẩm và kháng sinh, 20 µL dịch từ tất cả các giếng không có dấu hiệu tăng trưởng của *V. parahaemolyticus* sau 24 giờ ủ sẽ được trải và nuôi trên môi trường thạch MH (30°C, 24 giờ). Nồng độ thuốc thấp nhất diệt được 99,9% vi khuẩn gốc ban đầu được xác định là MBC. Tất cả các nghiệm thức cũng được lặp lại 6 lần.

#### *2.3.3. Đánh giá khả năng diệt khuẩn V. parahaemolyticus đang trong giai đoạn tăng sinh của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh*

Bốn chế phẩm vi sinh, 3 chế phẩm thảo dược và 3 loại kháng sinh được dùng để đánh giá khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* đang trong giai đoạn tăng sinh. Cụ thể, dịch khuẩn gốc (5×10<sup>7</sup> CFU×mL<sup>-1</sup>) được cho vào bình tam giác 100 mL chứa môi trường TSA. Từ đây, 2 nghiệm thức riêng rẽ được bố trí. Ở nghiệm thức 1, bình tam giác đã được chuẩn bị sẽ được ủ ở 30°C trong tủ ủ vi sinh có lắc ở tốc độ 150 vòng/phút để vi khuẩn phát triển trong 24 giờ. Tiếp đến, các chế phẩm và kháng sinh được bổ sung (nồng độ 16 ppm) nhằm đánh giá khả năng diệt khuẩn đang ở giai đoạn tăng sinh. Mức nồng độ bổ sung 16 ppm được chọn từ mức MIC cao nhất của các chế phẩm và kháng sinh có hiệu quả diệt khuẩn xác định được từ kết quả thí nghiệm. Ở nghiệm thức 2, các chế

phẩm và kháng sinh (nồng độ 16 ppm) được bổ sung ngay từ đầu cùng với dịch khuẩn gốc nhằm mục đích đánh giá khả năng hạn chế từ đầu lượng vi khuẩn tăng sinh. Các nghiệm thức đều được lặp lại 3 lần.

Thí nghiệm kéo dài trong 48 giờ, trong đó cứ mỗi 24 giờ thì lượng khuẩn có trong từng bình được xác định thông qua phương pháp đếm khuẩn lạc sau khi nuôi cấy trên môi trường thạch MH (30°C, 24 giờ) [9]. Đối chứng cũng được bố trí nuôi tăng sinh nhưng không bổ sung chế phẩm và kháng sinh.

#### *2.3.4. Đánh giá hiệu quả phòng bệnh giai đoạn sớm trên tôm của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh*

Tôm ở giai đoạn hậu ấu trùng - PL12 được chọn ngẫu nhiên (50 cá thể/lần lặp) cho cảm nhiễm. Thí nghiệm cảm nhiễm được bố trí trong các đĩa petri vô trùng [13] bằng phương pháp ngâm trong dịch vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (0,8 × 10<sup>8</sup> CFU×mL<sup>-1</sup>) trong 10 phút và tiếp tục theo dõi trong 48 giờ [14]. Các chế phẩm và kháng sinh (nồng độ 16 ppm) được bổ sung vào các đĩa petri chứa hậu ấu trùng gây cảm nhiễm nhằm khảo sát hiệu quả bảo vệ. Sau đó, tôm và môi trường nước có chứa dịch vi khuẩn và chế phẩm hoặc kháng sinh được chuyển sang các bình nhựa thí nghiệm 500 mL ở môi trường nước độ mặn 12 ppt, có sục khí. Chế phẩm và kháng sinh tiếp tục được bổ sung thêm vào các bình nhựa thí nghiệm để duy trì nồng độ 16 ppm.

Các đối chứng cũng được bố trí theo cách tương tự: i) đối chứng dương: Tôm cảm nhiễm nhưng không bổ sung chế phẩm và kháng sinh và ii) đối chứng âm: Tôm không cảm nhiễm. Các nghiệm thức đều được lặp lại 3 lần. Tảo *Thalassiosira weissflogii* (10<sup>3</sup> cell×mL<sup>-1</sup>) được cho vào các bình thí nghiệm mỗi 2 giờ.

Tỷ lệ sống của tôm được ghi nhận khi kết thúc thí nghiệm. Tôm cảm nhiễm và đối chứng dương được kiểm tra nhiễm *V. parahaemolyticus* bằng phương pháp cấy và đếm khuẩn lạc trên thạch Thiosulfate–citrate–bile salts–sucrose (TCBS). Tôm có kích thước nhỏ nên toàn bộ cơ thể tôm được nghiền và pha loãng theo dãy nồng độ, trải trên đĩa thạch TCBS (30°C, 48 giờ) và đếm mật độ vi khuẩn tương ứng. Mẫu nước nuôi của đối chứng

âm cũng được xác nhận không tạp nhiễm *V. parahaemolyticus* với cùng phương pháp.

## 2.4. Thu thập số liệu

### 2.4.1. ZDI

ZDI được đo theo đơn vị milimét với thước đo kỹ thuật Mitutoyo 527-121. Độ nhạy cảm theo ZDI với 3 mức là kháng, trung bình và nhạy cảm được đánh giá theo chuẩn CLSI của Viện Tiêu chuẩn phòng xét nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ: i) bộ quy chuẩn m100 cho doxycycline [15] và ii) bộ quy chuẩn m45 cho amoxicillin và tetracycline [16].

### 2.4.2. Tỷ lệ sống

Tỷ lệ sống tôm sau cảm nhiễm được thu thập khi kết thúc thí nghiệm sau 48 giờ.

$$\text{Tỷ lệ sống (\%)} = \frac{\text{Số lượng tôm còn sống}}{\text{Số lượng tôm thả ban đầu}} \times 100$$

## 2.5. Phân tích thống kê

Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của tất cả các chỉ tiêu theo dõi được tính toán bằng phần mềm Excel (Microsoft 365 for macOS). Các nghiệm thức được so sánh và kết luận có khác biệt mang tính thống kê ( $P < 0,05$ ) bằng phương pháp ANOVA một yếu tố và thử nghiệm Duncan bằng phần mềm SPSS 25 cho hệ điều hành macOS. Các số liệu % được chuyển đổi sang arsin của căn bậc 2.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá độ nhạy cảm của *V. parahaemolyticus* với các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

3.1.1. Đánh giá khả năng tạo vòng vô khuẩn của các chế phẩm và kháng sinh

**Bảng 2. ZDI, MIC, MBC và độ nhạy (theo chuẩn CLSI) của chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) với các loại chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh**

| Chế phẩm và kháng sinh    | Chủng VP2187 (gây bệnh AHPND) |              |              |                      |
|---------------------------|-------------------------------|--------------|--------------|----------------------|
|                           | ZDI (mm)                      | MIC (ppm)    | MBC (ppm)    | Độ nhạy (chuẩn CLSI) |
| <b>Chế phẩm vi sinh</b>   |                               |              |              |                      |
| VS01                      | 17,0 ± 0,35 <sup>f</sup>      | 8,0 ± 0,00   | 64 ± 0,00    | N/A                  |
| VS02                      | 18,7 ± 0,15 <sup>e</sup>      | 8,0 ± 0,00   | 32 ± 0,00    | N/A                  |
| VS03                      | 12,2 ± 0,38 <sup>g</sup>      | 16,0 ± 0,00  | 128 ± 0,00   | N/A                  |
| VS04                      | 0,0 ± 0,00 <sup>j</sup>       | 2.048 ± 0,00 | 4.096 ± 0,00 | N/A                  |
| <b>Chế phẩm thảo dược</b> |                               |              |              |                      |
| Trầu không                | 26,1 ± 0,15 <sup>b</sup>      | 1,0 ± 0,00   | 2,0 ± 0,00   | N/A                  |
| Rau má                    | 24,8 ± 0,47 <sup>c</sup>      | 2,0 ± 0,00   | 4,0 ± 0,00   | N/A                  |

ZDI của 3 chế phẩm thảo dược đều cho thấy tác dụng diệt *V. parahaemolyticus* và cao hơn đáng kể ( $P < 0,05$ ) so với 3 chế phẩm vi sinh (VS01, VS02, VS03). Chế phẩm VS04 không có tác dụng. Trong các kháng sinh sử dụng để so sánh, chỉ doxycycline có tác dụng diệt *V. parahaemolyticus* vượt trội (37,0 ± 0,35 mm), trong khi tetracycline và amoxicillin đều có tác dụng diệt kém hơn các chế phẩm vi sinh và thảo dược. Tất cả khác biệt giữa các nghiệm thức đều có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) (Bảng 2).

3.1.2. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh với *V. parahaemolyticus*

Nhóm chế phẩm thảo dược có giá trị MIC và MBC thấp hơn so với nhóm chế phẩm vi sinh. Riêng giá trị MIC và MBC của chế phẩm VS04 rất cao (MIC: 2.048,0 ± 0,00 ppm; MBC: 4.096,0 ± 0,00 ppm) cho thấy, chế phẩm này không có tác dụng ức chế hoặc diệt khuẩn *V. parahaemolyticus*. Trong các kháng sinh, chỉ doxycycline có MIC và MBC thấp (cùng 2,0 ± 0,00 ppm), trong khi các giá trị này của tetracycline và amoxicillin đều cao hơn các chế phẩm khác. Riêng tetracycline có giá trị MIC cao hơn giá trị này của các chế phẩm, nhưng giá trị MBC cao hơn so với giá trị của chế phẩm thảo dược và tương đương hoặc thấp hơn giá trị của chế phẩm vi sinh (Bảng 2).

|              |                   |                  |                  |          |
|--------------|-------------------|------------------|------------------|----------|
| Húng quế     | $22,6 \pm 0,40^d$ | $1,0 \pm 0,00$   | $2,0 \pm 0,00$   | N/A      |
| Kháng sinh   |                   |                  |                  |          |
| Amoxicillin  | $7,4 \pm 0,30^i$  | $128,0 \pm 0,00$ | $256,0 \pm 0,00$ | Kháng    |
| Tetracycline | $11,3 \pm 0,40^h$ | $16,0 \pm 0,00$  | $32,0 \pm 0,00$  | Kháng    |
| Doxycycline  | $37,0 \pm 0,35^a$ | $2,0 \pm 0,00$   | $2,0 \pm 0,00$   | Nhạy cảm |

Ghi chú: Số liệu trình bày: giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $n=6$ ). Các chữ cái khác nhau trong cùng cột chỉ tiêu ZDI thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức. Độ nhạy cảm đánh giá theo chuẩn CLSI của Viện Tiêu chuẩn phòng xét nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ. N/A: Các chế phẩm vi sinh và thảo dược không có chuẩn để đánh giá theo chuẩn CLSI.

Kết quả ZDI, MIC và MBC của các chế phẩm thảo dược là tương đồng với kết quả của các nghiên cứu gần đây cho từng loại thảo dược trên *Vibrio* spp. nhằm đánh giá tính diệt khuẩn của chúng: i) trầu không (*P. betle*) trên *V. paraharmolyticus* đa kháng thuốc tại Mexico [4], rau má (*C. asiatica*) trên một số khuẩn thủy sinh gây hại như: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* và *V. paraharmolyticus* tại Ấn Độ [3]; húng quế (*O. basilicum*) cũng trên *V. paraharmolyticus* ở Malaysia [5]. Tuy nhiên, cơ chế tác động là đa dạng do sự có mặt của nhiều hợp chất có tính kháng khuẩn và oxy hóa vẫn còn chưa được nghiên cứu cụ thể. Các chế phẩm vi sinh trong nghiên cứu này cũng cho thấy khả năng tạo vòng vô khuẩn, từ đó chỉ ra khả năng ức chế và diệt *V. parahaemolyticus*. Tuy lợi khuẩn được báo cáo có tác động tốt lên vật nuôi thông qua nhiều cơ chế gián tiếp như tăng cường miễn dịch, cân bằng vi sinh đường ruột, cạnh tranh thức ăn và môi trường sống, nghiên cứu gần đây đã chỉ ra nhiều chủng *Lactobacillus* sp. và *Bacillus* sp. được phối trộn trong chế phẩm vi sinh thương mại còn cho thấy khả năng sản sinh các chất bacteriocin có thể tiêu diệt trực tiếp vi khuẩn trên đĩa thạch [17].

**3.2. Đánh giá khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* đang trong giai đoạn tăng sinh của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh**

### 3.2.1. Nghiệm thức 1

Sau 48 giờ thí nghiệm, các chế phẩm thảo dược và chế phẩm vi sinh có hiệu quả (mục 3.1.) đều cho thấy khả năng diệt và làm giảm đáng kể ( $P < 0,05$ ) lượng *V. parahaemolyticus* đang tăng

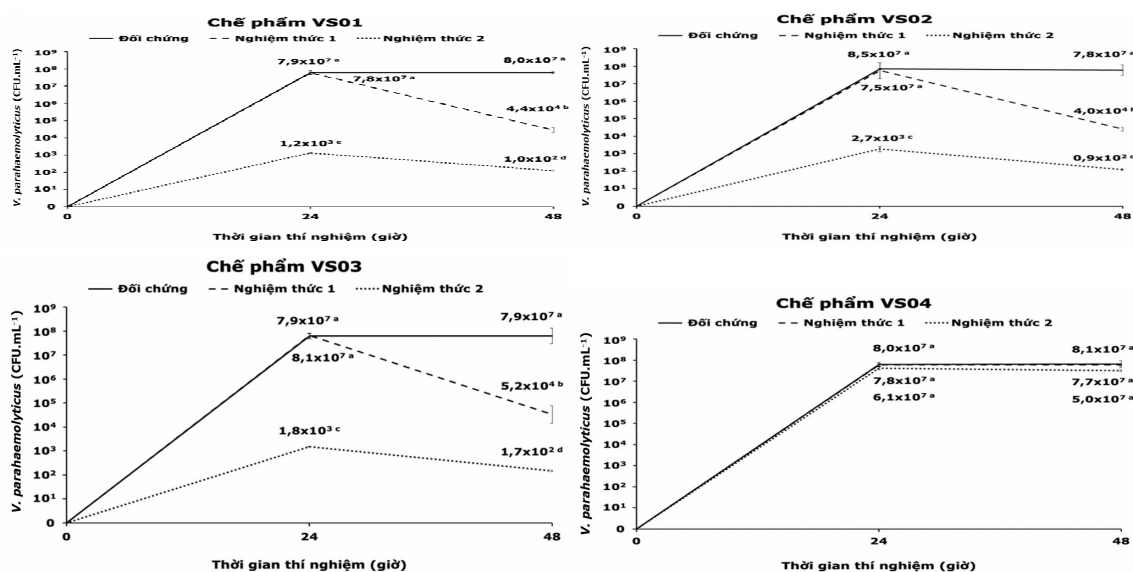
sinh (dao động  $1,8 \times 10^2 - 5,2 \times 10^4$  CFU $\times$ mL $^{-1}$ ) so với lượng ban đầu và so với đối chứng ( $7,5 \times 10^7 - 8,2 \times 10^7$  CFU $\times$ mL $^{-1}$ ) khi các chế phẩm được bổ sung ở thời điểm 24 giờ sau khi nuôi tăng sinh. Trong đó, trầu không và húng quế có tác dụng diệt khuẩn cao nhất (nồng độ vi khuẩn lần lượt còn  $1,5 \times 10^2$  CFU $\times$ mL $^{-1}$  và  $1,8 \times 10^2$  CFU $\times$ mL $^{-1}$ ) ( $P < 0,05$ ). Chế phẩm VS04 không có tác dụng diệt khuẩn (Hình 1 và 2).

Trong các kháng sinh so sánh, doxycycline và tetracycline có tác dụng diệt *V. parahaemolyticus* cao (lần lượt giảm nồng độ vi khuẩn còn  $0,9 \times 10^2$  CFU $\times$ mL $^{-1}$  và  $2,8 \times 10^3$  CFU $\times$ mL $^{-1}$ ), trong khi amoxicillin có tác dụng diệt khuẩn kém (nồng độ còn đến  $1,2 \times 10^6$  CFU $\times$ mL $^{-1}$ ) (Hình 3)

### 3.2.2. Nghiệm thức 2

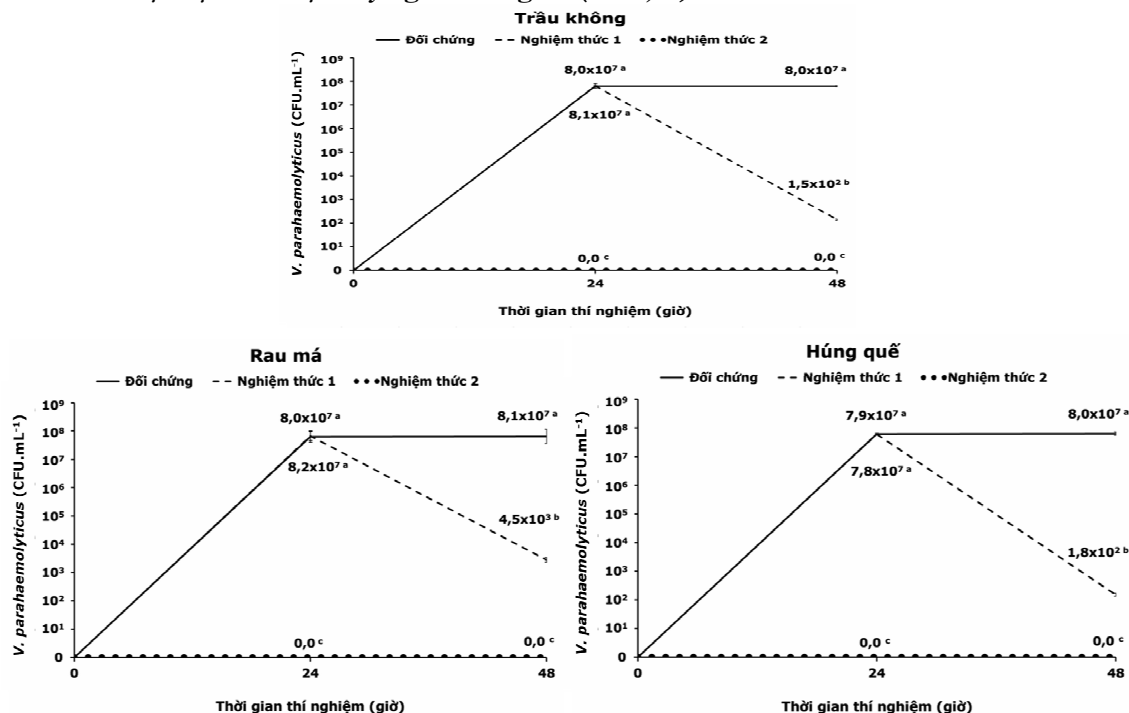
Khi được sử dụng ngay từ đầu, hiệu quả diệt khuẩn của các chế phẩm và kháng sinh có thể được chia thành ba nhóm sau 48 giờ thí nghiệm. Nhóm có hiệu quả diệt khuẩn rất cao bao gồm cả 3 chế phẩm thảo dược và kháng sinh doxycycline có khả năng diệt hoàn toàn *V. parahaemolyticus*. Nhóm có hiệu quả diệt khuẩn cao bao gồm 3 chế phẩm vi sinh (VS01, VS02, VS03) và kháng sinh tetracycline có khả năng làm giảm đáng kể và duy trì lượng khuẩn *V. parahaemolyticus* trong môi trường thấp, dao động  $0,9 \times 10^2 - 2,7 \times 10^3$  CFU $\times$ mL $^{-1}$ . Amoxicillin cho hiệu quả diệt khuẩn trung bình ( $1,2 \times 10^4 - 2,3 \times 10^4$  CFU $\times$ mL $^{-1}$ ). VS04 không có hiệu quả trong diệt khuẩn. Tất cả khác biệt giữa các nghiệm thức đều có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) (Hình 1, 2, 3).





Hình 1. Khả năng diệt chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) đang trong giai đoạn tăng sinh của 4 chế phẩm vi sinh thương mại (VS01, VS02, VS03, VS04) theo chỉ tiêu biến động về lượng khuẩn (CFU×mL<sup>-1</sup>) trong 48 giờ khảo sát

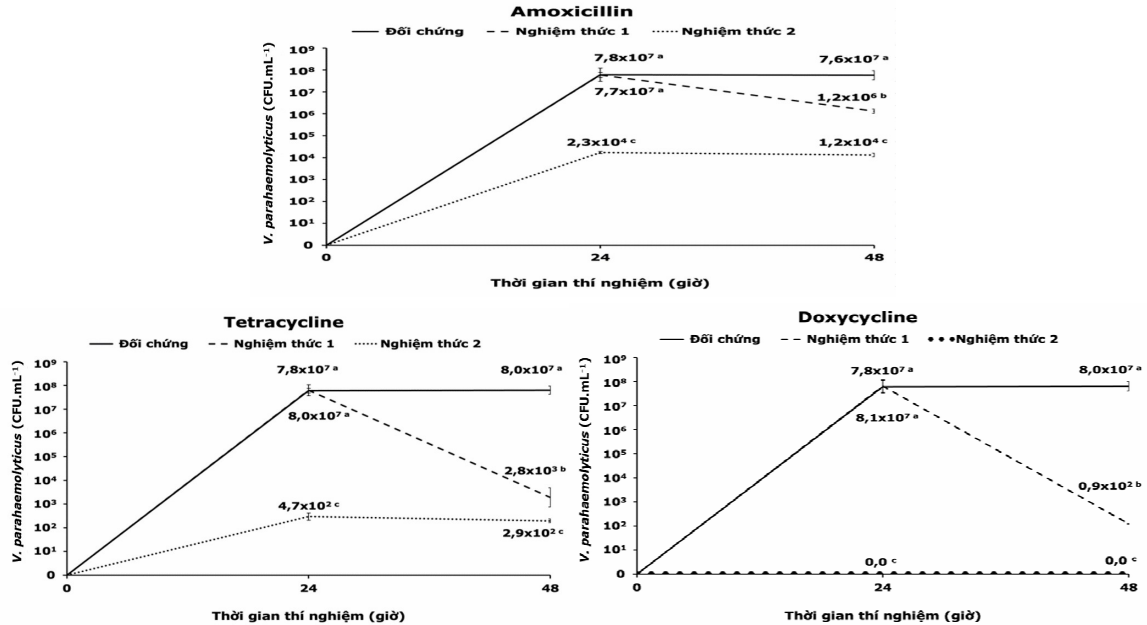
Ghi chú: Đối chứng: Không dùng chế phẩm/kháng sinh; nghiệm thức 1: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào sau 24 giờ tăng sinh; nghiệm thức 2: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào trước khi tiến hành tăng sinh. Số liệu trình bày: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3). Các chữ cái khác nhau trong cùng một hình thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).



Hình 2. Khả năng diệt chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) đang trong giai đoạn tăng sinh của 3 chế phẩm thảo dược: i) trầu không (*Piper betle*), ii) rau má (*Centella asiatica*) và iii) húng quế (*Ocimum basillicum*) theo chỉ tiêu biến động về lượng khuẩn (CFU×mL<sup>-1</sup>) trong 48 giờ khảo sát

Ghi chú: Đối chứng: Không dùng chế phẩm/kháng sinh; nghiệm thức 1: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào sau 24 giờ tăng sinh; nghiệm thức 2: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào trước khi tiến hành tăng sinh.

Số liệu trình bày: Giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $n=3$ ). Các chữ cái khác nhau trong cùng một hình thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).



Hình 3. Khả năng diệt chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) đang trong giai đoạn tăng sinh của 3 loại kháng sinh: i) amoxicillin, ii) tetracycline và iii) doxycycline theo chỉ tiêu biến động về lượng khuẩn (CFU×mL<sup>-1</sup>) trong 48 giờ khảo sát

Ghi chú: Đối chứng: Không dùng chế phẩm/kháng sinh; nghiệm thức 1: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào sau 24 giờ tăng sinh; nghiệm thức 2: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào trước khi tiến hành tăng sinh.

Số liệu trình bày: Giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $n=3$ ). Các chữ cái khác nhau trong cùng một hình thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

Ở nghiệm thức 1, các chế phẩm hoặc kháng sinh được bổ sung sau khi vi khuẩn *V. parahaemolyticus* đã tăng sinh được 24 giờ. Tất cả các chế phẩm (trừ chế phẩm VS04) đều có khả năng làm giảm đáng kể lượng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* với mức độ khác nhau, tùy thuộc loại chế phẩm. Các kháng sinh sử dụng để so sánh cũng cho kết quả tương tự. Tuy nhiên, nghiệm thức 2 đã chỉ ra các chế phẩm hoặc kháng sinh được sử dụng ngay từ đầu có khả năng ức chế tối đa lượng vi khuẩn, có thể đạt được trong giai đoạn tăng sinh. Các chế phẩm thảo dược chứa nhiều hợp chất tự nhiên có hoạt tính cao như: Piperidine, eugenyl acetate và chlorogenic axit... đã chứng minh có khả năng diệt khuẩn hoàn toàn tương

đương với các kháng sinh mà ít hoặc không gây ra hiện tượng kháng thuốc [4].

Tương tự, các chế phẩm vi sinh được cấu thành bởi một lượng lớn các lợi khuẩn có khả năng tiết bacteriocin, cạnh tranh đối kháng với hại khuẩn như *V. parahaemolyticus*, đồng thời giúp cân bằng hệ vi sinh đường ruột, tăng cường hệ miễn dịch và tăng trưởng. Chế phẩm vi sinh có thể dễ dàng áp dụng trong ao nuôi nên phù hợp trong kiểm soát lâu dài AHPND [18]. Tuy nhiên, hiện tượng chết sớm ở tôm do bệnh AHPND gây ra, thảo dược với cơ chế tác động trực tiếp mang lại hiệu quả diệt khuẩn tức thì cao hơn vì chế phẩm vi sinh cần nhiều thời gian hơn để tương tác với vật nuôi [6].

### 3.3. Đánh giá hiệu quả phòng bệnh trên tôm cảm nhiễm của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

Tỷ lệ sống cao nhất của tôm ngay sau cảm nhiễm thuộc về 3 nghiệm thức thảo dược (trầu không:  $36,7 \pm 3,06\%$ ; rau má:  $33,3 \pm 1,15\%$ ; húng quế  $34,7 \pm 2,31\%$ ) và doxycycline ( $34,7 \pm 1,15\%$ ), theo sau là tetracycline ( $30,0 \pm 0,00\%$ ) ( $P < 0,05$ ). Ba chế phẩm vi sinh có tỷ lệ sống thấp hơn (VS01:  $26,7 \pm 1,15\%$ ; VS02:  $26,0 \pm 2,00\%$ ; VS03:  $23,3 \pm 2,31\%$ ) nhưng vẫn cao hơn VS04 ( $14,7 \pm 1,15\%$ ) và đối chứng dương ( $14,0 \pm 2,0\%$ ) ( $P < 0,05$ ). Đối chứng âm có tỷ lệ sống  $83,3 \pm 2,31\%$  (Bảng 3).

Trong nghiên cứu trước đây, trầu không và rau má được báo cáo giúp cải thiện khả năng chống chịu của tôm chân trắng với *V. parahaemolyticus* trong thời gian dài sau cảm nhiễm [8]. Kết quả nghiên cứu này ngoài việc bổ sung thêm húng quế như một giải pháp thay thế kháng sinh thì còn xác nhận khả năng hạn chế gây chết tức thì cho tôm sau cảm nhiễm của tất cả chế phẩm thảo dược và một số chế phẩm vi sinh. Trong 3 kháng sinh, doxycycline và tetracycline vẫn cho thấy khả năng diệt khuẩn hiệu quả. Tuy nhiên, việc sử dụng lâu dài các kháng sinh cần phải cân nhắc vì có thể tạo ra các chủng vi khuẩn kháng thuốc. Điều này không xảy ra khi sử dụng các chế phẩm thảo dược hoặc vi sinh.

Chế phẩm VS04 tuy cho thấy kết quả chưa khả quan về diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trong nghiên cứu này, nhưng điều này có thể được lý giải: i) do đặc tính của 2 chủng lợi khuẩn cấu thành sản phẩm không có đặc tính tiết bacteriocine do đó chưa phù hợp để dùng trong việc kiểm soát và tiêu diệt *V. parahaemolyticus* và ii) thành phần chế phẩm có ít chủng vi sinh có lợi hơn cũng như ít hơn về nồng độ vi sinh tổng so với 3 chế phẩm còn lại. Do đó, kết quả nghiên cứu chỉ ra chế phẩm VS04 sẽ phù hợp hơn cho mục tiêu làm sạch hữu cơ, giảm khí độc, giảm sự phát triển của tảo cũng như bổ sung vi sinh có lợi cho ao nuôi nhằm cạnh tranh với vi khuẩn có hại.

Thí nghiệm cảm nhiễm diễn ra trong 48 giờ và tỷ lệ chết của đối chứng dương đạt mức cao, 86%. Điều này là tương đồng với nghiên cứu cảm nhiễm với *V. parahaemolyticus* trong 48 giờ nhằm khảo sát ảnh hưởng của biofloc lên tôm chân trắng [15],

khi mà tôm đối chứng đạt mức tỷ lệ chết lên đến 100%. Trong nghiên cứu này, mật độ *V. parahaemolyticus* tổng số kiểm tra trên tôm đối chứng sau cảm nhiễm đếm được ở mức cao ( $6,89 \times 10^6 \pm 0,18 \times 10^6$  CFU $\times$ g $^{-1}$ ), chỉ ra tỷ lệ chết cao là do *V. parahaemolyticus*. Trong khi đó, mẫu nước nuôi của đối chứng âm cho kết quả âm tính với *V. parahaemolyticus*. Nghiên cứu hiện tại chỉ mới khảo sát hiệu quả bảo vệ của các chế phẩm và kháng sinh trong thời gian ngắn 48 giờ sau cảm nhiễm. Các nghiên cứu tiếp theo cần thực hiện kéo dài sau gây cảm nhiễm để đánh giá đầy đủ khả năng diệt khuẩn của các chế phẩm sau cảm nhiễm nhằm mô phỏng chính xác hơn điều kiện sản xuất thực tế.

**Bảng 3. Tỷ lệ sống (%) của tôm chân trắng sau khi cảm nhiễm với chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) và được xử lý với các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh**

| Chế phẩm và kháng sinh    | Tỷ lệ sống (%)    |
|---------------------------|-------------------|
| <b>Chế phẩm vi sinh</b>   |                   |
| VS01                      | $26,7 \pm 1,15^d$ |
| VS02                      | $26,0 \pm 2,00^d$ |
| VS03                      | $23,3 \pm 2,31^d$ |
| VS04                      | $14,7 \pm 1,15^e$ |
| <b>Chế phẩm thảo dược</b> |                   |
| Trầu không                | $36,7 \pm 3,06^b$ |
| Rau má                    | $33,3 \pm 1,15^b$ |
| Húng quế                  | $34,7 \pm 2,31^b$ |
| <b>Kháng sinh</b>         |                   |
| Amoxicillin               | $23,3 \pm 2,31^d$ |
| Tetracycline              | $30,0 \pm 0,00^e$ |
| Doxycycline               | $34,7 \pm 1,15^b$ |
| <b>Đối chứng dương</b>    |                   |
| Đối chứng âm              | $83,3 \pm 2,31^a$ |

Ghi chú: Số liệu trình bày: Giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $n = 3$ ). Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đánh giá được tác dụng của các chế phẩm thảo dược (trầu không, rau má, húng quế) và các chế phẩm vi sinh thương mại phổ biến

(VS01, VS02, VS03 và VS04) trong việc tiêu diệt hại khuẩn *V. parahaemolyticus*, đặc biệt là trong việc giảm thiểu lượng lớn vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và giúp hạn chế tỷ lệ chết của tôm. Nghiên cứu cũng cung cấp thông tin tham khảo cho người nuôi tôm về các chế phẩm thảo dược và chế phẩm vi sinh có hiệu quả trong phòng bệnh và thay thế kháng sinh trong quản lý bệnh do *V. parahaemolyticus* gây ra trên tôm thẻ chân trắng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Zhang, F., Zhang, J., Li, G., Chen, X., Huang, H., Xu, C., Chi, H. (2024). Antibiotic resistance and genetic profiles of *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from farmed pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in ningde regions. *Microorganisms*, 12:152. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010152>.
2. Hong, X., Lu, L., Xu, D. (2016). Progress in research on acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture International*, 24: 577 – 593. <https://doi.org/10.1007/s10499-015-9948-x>.
3. Banerjee, S., Chakraborti, J., Panda, S., Bandyopadhyay, P. K. (2011). Antibacterial effect of some locally available plant extracts against some fish pathogenic bacteria. *22<sup>nd</sup> National Congress of Parasitology*, 265 - 270.
4. Acosta-Smith, E., Leon-Sicaire, N., Tiwari, S., Flores-Villaseñor, H., Canizalez-Roman, A., Kumavath, R., Ghosh, P., Azevedo, V., Barh, D. (2019). *Piper betel* compounds piperidine, eugenyl acetate, and chlorogenic acid are broad-spectrum anti-*Vibrio* compounds that are also effective on MDR strains of the pathogen. *Pathogens*, 8(64). doi:10.3390/pathogens8020064.
5. Hossain, A. M., Kabir, M. J., Salehuddin, S. M., Mizanur Rahman, S. M., Das, A. K., Singha, S. K., Alam, M. K., Rahman, A. (2010). Antibacterial properties of essential oils and methanol extracts of sweet basil *Ocimum basilicum* occurring in Bangladesh. *Pharmaceutical Biology*, 48(5): 504 - 511.
6. Baharuddin, N-A., S., Ghani, W-A., Othman, S. F. C., Nawi, M. F., Haziyaamin, T., Hamid, T. A. (2024). The effect of supplementation

of *Lactococcus lactis* strain as probiotic on the growth and survival of *Litopenaeus vannamei*. *Notulae Scientia Biologicae*, 16(1): 11641. DOI:10.15835/nsb16111641.

7. Pham, H. T. H., Quach, T. V. C., Nguyen, T. P., Nguyen, L. T. (2023). Multi-antibiotics resistance phenotype of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolated from acute hepatopancreatic necrosis disease in *Litopenaeus vannamei* farmed in the Mekong Delta. *Journal of the world aquaculture society*, 54: 1070 – 1087. Doi: 10.1111/jwas.12945.

8. Lê Nguyễn Thiên Phúc, Nguyễn Minh Thành (2022). Đánh giá ảnh hưởng của các loại thảo dược lên tăng trưởng, tỷ lệ sống và chất lượng thịt của tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 8(2): 73 - 80.

9. Le, P. N. T., Desbois, A. P. (2017). Antibacterial effect of eicosapentaenoic acid against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*: killing kinetics, selection for resistance, and potential cellular target. *Marine Drugs*, 15(11): 334. <https://doi.org/10.3390/md15110334> <https://doi.org/10.3390/md15110334>.

10. Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of clinical pathology*, 45(4): 493 - 496. PMID: 5325707.

11. Clinical and Laboratory Standards Institute (2009). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard M07-A8. *CLSI: Wayne, PA, USA*.

12. Clinical and Laboratory Standards Institute (1999). Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; Approved guideline M26-A Vol. 19 No. 18. *CLSI: Wayne, PA, USA*.

13. Vikash, K., Mathieu, W., Margarida, L. T., Peter, B. (2020). Biofloc-based enhanced survival of *Litopenaeus vannamei* upon AHPND-causing *Vibrio parahaemolyticus* challenge is partially mediated by reduced expression of its virulence genes. *Frontiers in microbiology*, 11.

14. Tran, L., Nunan, L., Redman, R. M., Mohny, L. L., Pantoja, C.R., Fitzsimmons, K.

- (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of aquatic organisms*, 105(1): 45 – 55. <https://doi.org/10.3354/dao02621> PMID: 23836769.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (2018). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th Edn. *CLSI: Wayne, PA, USA*, p.38.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (2010). Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria, Approved guideline—Second edition. *CLSI: Wayne, PA, USA*, p.30.
17. Hamid, T. A. T. H., Khairil, I. A. Z., Mohammed, A. (2020). Lactococcus lactis strains from intestinal organ of black tips shark *Carcharhinus limbatus* producing nisin-like bacteriocin active against shrimp and fish pathogens (*Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus*). *Journal of microbiology, biotechnology and food science*, 10(3). <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.10.3.354> - 360.
18. Anee, I. J., Alam, S., Begum, R.A., Shahjahan, R. M., Khandaker, A. M. (2021). The role of probiotics on animal health and nutrition. *The journal of basic and applied zoology*, 82(1): 52. <https://doi.org/10.1186/s41936-021-00250-x>.

# EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL CAPABILITY OF BIOPRODUCTS AGAINST *Vibrio parahaemolyticus* AND THEIR EFFECTIVENESS IN DISEASE PREVENTION FOR WHITE LEG SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)

Le Nguyen Thien Phuc<sup>1</sup>, Nguyen Minh Thanh<sup>1</sup>

<sup>1</sup> International University, Vietnam National University Ho Chi Minh City

## Summary

This study evaluated the antibacterial activity of 4 commercial probiotics (VS01, VS02, VS04 and VS04), 3 herbal bioproducts (*P. betle*, *C. asiatica*, *O. basilicum*) against *V. parahaemolyticus* in comparison with 3 common antibiotics (amoxicillin, tetracycline, doxycycline) via zone diameter of inhibition, minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration, capability in the reduction of enumerating pathogens and the protection of the white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *V. parahaemolyticus*. Results showed that bioproducts and antibiotics can be categorized into 4 groups regarding antimicrobial activity: i) very high: *P. betle*, *C. asiatica*, *O. basilicum* and doxycycline; ii) high: probiotic VS01, VS02, VS03 and tetracycline; iii) moderate: amoxicillin; and iv) non-effective: probiotic VS04. Most of the bioproducts significantly improved the survival of challenged post larvae ( $P < 0.05$ ) in which the 3 herbal products showed the highest results. The study provided more information on the antibacterial capability of bioproducts against *V. parahaemolyticus* and their application in the control of shrimp diseases.

**Keywords:** *V. parahaemolyticus*, probiotics, herbal extract, antibiotics, *Litopenaeus vannamei*.

Ngày nhận bài: 6/5/2024

Ngày gửi phản biện: 6/6/2024

Ngày thông qua phản biện: 3/7/2024

Ngày duyệt đăng: 25/7/2024

# **ĐẶC ĐIỂM GIẢI PHẪU LÁ VÀ SINH LÝ LOÀI VỆ HAINESII (*Bruguiera hainesii* C. G. Rogers) TẠI VƯỜN QUỐC GIA CÔN ĐẢO, TỈNH BÀ RỊA - VŨNG TÀU**

Hoàng Thị Thu Trang<sup>1</sup>, Phạm Văn Điển<sup>1</sup>, Trần Việt Hà<sup>1</sup>,  
Lương Kim Chi<sup>1</sup>, Doãn Cao Cường<sup>2</sup>, Đoàn Thị Thu Hương<sup>3</sup>,  
Đặng Ngọc Huyền<sup>4</sup>, Phạm Mai Phương<sup>4</sup>, Vũ Đình Duy<sup>4</sup>\*,

<sup>1</sup> Trường Đại học Lâm nghiệp; <sup>2</sup> Vườn Quốc gia Xuân Thủy

<sup>3</sup> Viện Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Lâm nghiệp

<sup>4</sup> Viện Sinh thái Nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

\*Email: duydingvu87@gmail.com

## **TÓM TẮT**

Rừng ngập mặn bao gồm nhiều loại cây nhiệt đới hoặc cây bụi thân gỗ mọc ở vùng tiếp giáp giữa vùng biển và đất liền tạo thành một hệ sinh thái quan trọng về mặt sinh thái. Vệ hainesii (*Bruguiera hainesii* C. G. Rogers), thuộc họ Đước (Rhizophoraceae), là một cây ngập mặn thực thụ. Loài này được ghi nhận phân bố ở khu vực Đầm Quốc (hòn Bà) thuộc quần đảo Côn Sơn, Vườn Quốc gia Côn Đảo, tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu. Mục đích của nghiên cứu hiện tại là xác định các đặc điểm sinh lý và cấu tạo giải phẫu từ lá của loài Vệ hainesii hoang dã được thu thập từ Vườn Quốc gia Côn Đảo. Nghiên cứu cho thấy, các mẫu Vệ hainesii có nhu cầu ánh sáng cao. Tỷ lệ giữa mô dậu/mô khuyết là 2,46. Hàm lượng diệp lục a là 2,006 mg/l; tỷ lệ diệp lục a/b là 6,22 và cường độ quang hợp là 2,03 mg/dm<sup>2</sup>. Lá Vệ hainesii là tầng cutin và lớp biểu bì dày, mật độ khí khổng 235,13/mm<sup>2</sup>, cường độ thoát hơi nước thấp; sức hút nước của tế bào bằng 21,26 atm. Kết quả cho thấy, Vệ hainesii có khả năng thích nghi cao với tình trạng khô của mô, cũng như chịu hạn tốt. Lá Vệ hainesii bị tổn thương nặng ở nhiệt độ 55°C và có thể chết hoàn toàn ở nhiệt độ 60°C. Khả năng chịu nhiệt của Vệ hainesii là cao, so với nhiệt độ cao nhất ở Vườn Quốc gia Côn Đảo là 34°C thì loài này vẫn phát triển được. Từ kết quả nghiên cứu, sự thích nghi về hình thái và giải phẫu với điều kiện địa phương có thể cho phép cây phát huy tối đa hiệu quả quang hợp.

**Từ khóa:** *Vệ hainesii*, giải phẫu lá, sinh lý, quang hợp.

## **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Rừng ngập mặn (RNM) ở Vườn Quốc gia (VQG) Côn Đảo là rừng nguyên sinh duy nhất của cả nước với 45 loài cây ngập mặn thực thụ, trong đó 35 loài cây gỗ, 5 loài cây bụi và 5 loài dây leo [1]. Loài Vệ hainesii (*Bruguiera hainesii* C. G. Rogers) là loài được phát hiện tại khu vực Đầm Quốc, đảo Hòn Bà, VQG Côn Đảo dưới 10 cá thể. Vệ hainesii là loài ngập mặn thực thụ, có thể cao đến 15 m, rễ có hình củi chỏ, vỏ cây màu nâu và màu xám. Lá có hình bầu dục và hình thoi, hoa tự xim có từ 2 - 3 hoa nở ở các đốt chồi. Do số lượng còn rất ít nên hiện nay, Vệ hainesii được xác định là cực kỳ nguy cấp (CR), nằm trong Danh lục Đỏ của IUCN về các loài bị đe dọa [2]. Điều đáng lo ngại tại khu vực

phân bố loài Vệ hainesii, mùa ra hoa gần như quanh năm nhưng lại không ghi nhận đậu quả, vì vậy, khả năng tái sinh từ trụ mầm trong điều kiện tự nhiên là rất khó khăn [3]. Mặc dù loài này dễ bị tuyệt chủng nhưng các đặc điểm hình thái trung gian cho thấy, loài này có thể có nguồn gốc lai giữa Vệ trụ (*Bruguiera cylindrica*) và Vệ dù (*Bruguiera gymnorrhiza*) [4].

Các dữ liệu khoa học về loài Vệ hainesii rất hạn chế với một vài nét sơ lược về đặc điểm sinh học, sinh thái, khả năng tái sinh, đặc điểm cấu tạo giải phẫu và sinh lý của loài. Gần đây, nghiên cứu của Trần Thị Mai (2015) [5] đã đánh giá khả năng sinh trưởng, một số đặc điểm giải phẫu, sinh lý của loài Vệ hainesii (*Bruguiera hainesii* Rog.) (Trụ



mầm được nhập từ Myanmar) và Vẹt dù (*Bruguiera gymnorhiza* (Lour.) Poir.) (Trụ mầm có nguồn gốc từ tỉnh Quảng Ninh và Nam Định) trong giai đoạn vườn ươm (cây 1 tuổi) tại xã Giao Lạc, huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra độ dày lá của Vẹt hainesii ( $644,21 \pm 144,49 \mu\text{m}$ ) lớn hơn so với Vẹt dù Nam Định ( $446,76 \pm 73,39 \mu\text{m}$ ) và Vẹt dù Quảng Ninh ( $506,07 \pm 24,41 \mu\text{m}$ ). Biểu bì trên của Vẹt hainesii và Vẹt dù lấy từ tỉnh Nam Định dày hơn so với biểu bì trên của lá Vẹt dù tỉnh Quảng Ninh. Độ dày hạ bì của Vẹt dù thu nhận ở tỉnh Quảng Ninh nhỏ hơn hẳn so với Vẹt dù thu nhận từ tỉnh Nam Định và Vẹt hainesii. Không có sự sai khác nhau về kích thước mô giậu giữa Vẹt hainesii với Vẹt dù Nam Định. Lá của cây Vẹt hainesii và Vẹt dù bản địa không có sự khác biệt rõ ràng cả về diện lục a và diện lục b. Trong khi đó, những thay đổi về mặt giải phẫu trên lá của loài Vẹt dù trong điều kiện độ mặn thay đổi và ảnh hưởng của stress muối đến sự phát triển của cây đã được phân tích [6]. Trong các bộ phận của cây, lá cây có các chức năng chính là chặn ánh sáng và sử dụng năng lượng ánh sáng để quang hợp. Ngoài ra, chúng còn giúp duy trì môi trường bên trong ổn định cho các quá trình sinh lý

bằng cách điều chỉnh nhiệt độ của lá. Duy trì tính toàn vẹn về cấu trúc cho phép lá quang hợp dưới các áp lực cơ học khác nhau như: Trọng lực, gió, lượng mưa. Đồng thời, lá còn có chức năng vận chuyển nước, chất quang hợp và chất dinh dưỡng để thực hiện chức năng hiệu quả của cây [7].

Do vậy, nghiên cứu này với mục đích bước đầu là nghiên cứu các đặc điểm chung về giải phẫu của lá liên quan đến chức năng của nhằm cung cấp một số thông tin về cấu tạo giải phẫu lá, nhu cầu ánh sáng, cường độ thoát hơi nước và sức hút nước của mô thực vật và khả năng chịu nóng làm cơ sở để nghiên cứu khả năng nhân giống và bảo tồn nguồn gen của loài Vẹt hainesii ở Việt Nam. Kết quả của nghiên cứu là cơ sở khoa học quan trọng cho các nghiên cứu tiếp theo về đặc điểm mô - sinh lý cụ thể loài giúp nhận định khả năng thích nghi và phát triển rộng rãi Vẹt hainesii ở các vùng ven biển khác nhau ở Việt Nam.

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

### **2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu**

Nghiên cứu chủ yếu tập trung vào đặc điểm giải phẫu của lá Vẹt hainesii được thu thập vào tháng 8 - 10/2023 tại khu vực Đầm Quốc (Hòn Bà) thuộc quần đảo Côn Sơn, VQG Côn Đảo (Hình 1).



Hình 1. Một số cá thể cây Vẹt hainesii trưởng thành ở đảo Hòn Bà thuộc quần đảo Côn Sơn, VQG Côn Đảo

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Giải phẫu lá: 30 mẫu lá bánh tẻ (lá thứ 2 từ ngọn xuống) của 4 cá thể loài Vẹt hainesii khác nhau (Hình 1), trên mỗi phiến lá, chọn 3 vị trí của phần thịt lá để giải phẫu. Giải phẫu theo bề mặt dưới của lá để đo đếm số lượng khí khổng và theo độ dày lá để đo đếm độ dày của các mô bên trong thịt. Trên mỗi lá nghiên cứu, cắt 1 miếng lá có diện tích 0,5 cm x 1 cm ở giữa lá, kẹp miếng lá trên vào miếng xốp có kích thước 1 x 1 x 1,5 cm đã xẻ đôi một phần. Dùng dao lam sắc cắt cả xốp lẫn lá tạo ra một bề mặt phẳng vuông góc, tiếp đến cắt các lát cắt thật mỏng (bề dày lát cắt < bề dày lá), vuông góc. Chọn những lát cắt đẹp nhất đặt vào giọt nước cất đã nhỏ sẵn trên bản lam kính sạch, đặt lamên và đưa lên kính hiển vi quan sát. Chọn vị trí đẹp nhất trên tiêu bản, sử dụng công cụ đo kích thước của kính hiển vi OPTIKA microscopes, M-699 có gắn Optikam PRO 3 Digital camera, ở độ phóng đại 40 để đo đếm độ dày các mô bên trong thịt lá: Cutin trên, biểu bì trên, hạ bì mô giậu, mô khuyết, hạ bì, biểu bì dưới, cutin dưới [8].

- Xác định hàm lượng và tỷ lệ diệp lục a và b: Theo phương pháp so màu của Lichtenthaler và cs (1983) [9]; xác định cường độ thoát hơi nước theo phương pháp cân nhanh của Ivanov và cs (1950) [10].

- Xác định cường độ quang hợp theo phương pháp của Ivanov và cs (1950) [10]: Cường độ quang hợp được xác định bằng bình cầu quang hợp (Bình 1: Đối chứng, bình 2: Quang hợp). Sau khi làm thí nghiệm với cành lá, cho vào mỗi bình (qua lỗ trên nút bình) 20 ml dung dịch Ba(OH)<sub>2</sub> 0,025N và 2 - 3 giọt phenolphthalein; nghiêng bình để Ba(OH)<sub>2</sub> tiếp xúc được với toàn bộ không khí trong bình (tránh Ba(OH)<sub>2</sub> tiếp xúc với nút bình), lắc bình đều, nhẹ trong 30 phút. Dùng HCl 0,025 N chuẩn độ lượng Ba(OH)<sub>2</sub> dư cho tới khi loại được màu hồng trong bình. Ghi kết quả lại và tính cường độ quang hợp I theo công thức 1.

$$I = \frac{(A - B) \cdot K \cdot 0,55 \cdot 60}{S \cdot t} \quad (1)$$

Trong đó: A là lượng HCl chuẩn bình quang hợp; B là lượng HCl chuẩn bình kiểm tra (bình đối chứng); K là hệ số điều chỉnh chuẩn độ theo

chuẩn độ của HCl (1 ml HCl 0,025N tương ứng với 0,55 mg CO<sub>2</sub>); S là diện tích lá (dm<sup>2</sup>); t là thời gian thí nghiệm; 60 là chỉ số chuyển đổi phút sang giờ.

- Xác định cường độ thoát hơi nước bằng phương pháp cân nhanh trên cùng 1 cây. Trước khi thí nghiệm, đo nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng. Dùng kéo hoặc dao sắc cắt cành có lá của cây định nghiên cứu (không nên lấy cành có ít lá và nếu lá ướt phải lau khô), cắt lá xong phải làm thí nghiệm ngay. Ướt cành trong cốc (hoặc chậu thủy tinh) đã đựng nước sẵn sao cho phần định cắt ngập trong nước, dùng dao (kéo) cắt nhanh cành trong cốc nước để không làm ngưng dòng nước liên tục hút vào cây, sau đó chuyển cành vào ống nghiệm có sẵn nước, dùng bông bọc xung quanh cành và gắn kín ống nghiệm. Cân toàn bộ hệ thống, gọi khối lượng này là P<sub>0</sub>. Sau đó để lá thoát hơi nước ở những điều kiện khác nhau (nhiệt độ, ánh sáng, gió). Sau 30 - 60 phút cân lại toàn bộ hệ thống trên để tính toán sự biến đổi khối lượng qua các thời gian tương ứng nói trên. Gọi khối lượng của hệ thống sau khi lá thoát hơi nước 30 phút là P<sub>30</sub>, trọng lượng của hệ thống sau khi lá thoát hơi nước 60 phút là P<sub>60</sub>. Như vậy, sự biến đổi khối lượng của hệ thống sau 30 phút là: P<sub>0</sub>-P<sub>30</sub>, sau 60 phút là P<sub>0</sub>-P<sub>60</sub>. Tính sự biến đổi khối lượng của hệ thống trong thời gian 1 phút. Gọi giá trị này là P', ta có:

$$P' = \frac{\frac{P_0 - P_{30}}{30} + \frac{P_0 - P_{60}}{60}}{2}$$

Tính diện tích lá cây bằng phương pháp so sánh khối lượng đồng nhất: Đặt toàn bộ các lá đã cân lên tờ giấy (có độ dày như nhau ở mọi vị trí). Dùng bút vẽ lại hình dạng các lá cây trên giấy, lấy kéo cắt theo đường vừa vẽ để được toàn bộ lá giấy có diện tích tương đương diện tích lá cây. Sau đó cho lên cân toàn bộ các lá giấy và cân 1 dm<sup>2</sup> cũng giấy đó. Ta có diện tích lá là S = a/b (dm<sup>2</sup>) (trong đó a là khối lượng toàn bộ các lá giấy đã cân, b là khối lượng 1 dm<sup>2</sup> giấy)

Cuối cùng, cường độ thoát hơi nước sẽ là:

$$I = \frac{P' \times 60}{S} \text{ (g/dm}^2\text{/h)}$$

- Xác định sức hút nước của mô thực vật: Chuẩn bị 2 dây ống nghiệm từng đôi một (đối



chúng và thí nghiệm) có cùng nồng độ NaCl từ 0,1 M đến 1 M (cách nhau 0,1 M). Lần lượt lấy vào mỗi ống đối chứng 3 ml NaCl có các nồng độ như trên, còn mỗi ống thí nghiệm lấy 2 ml. Lấy khoan nút chai khoan 50 mảnh lá cây, rồi cho vào các ống thí nghiệm mỗi ống 5 mảnh lá. Ngâm các mảnh lá này khoảng 30 - 40 phút (thỉnh thoảng lắc đều). Sau đó, vớt các mảnh lá ra và thêm vào mỗi ống thí nghiệm 1 vài giọt xanh metylen, lắc đều. Dùng pipet mũi nhỏ hút giọt dung dịch thí nghiệm có màu xanh và thả từ từ vào giữa dung dịch đối chứng có nồng độ tương ứng. Mỗi lần thả dung dịch phải rửa pipet và lau khô. Quan sát sự chuyển động của các giọt dịch màu xanh, tìm ra nồng độ mà ở đó giọt dung dịch màu xanh đứng yên, tức là tại đó nồng độ trong tế bào và nồng độ dung dịch như nhau ( $C_{tb} = C_{dd}$ ) và sức hút nước của tế bào bằng sức hút nước của dung dịch ( $S_{tb} = S_{dd}$ ).

Sức hút nước của tế bào được tính theo công thức 2:

$$S_{tb} = S_{dd} = R \cdot T \cdot C_i - 0 \quad (2)$$

Trong đó:  $S_{tb}$  là sức hút nước của tế bào;  $S_{dd}$  là sức hút nước của dung dịch;  $R = 0,0821$  = hằng số khí;  $C$  là nồng độ dịch bào;  $i$  là hằng số đẳng trương;  $i = 1 + \alpha (n-1)$ ;  $\alpha$  là bậc điện ly;  $n$  là hệ số ion khi điện ly.

- Phương pháp xác định tính chịu nóng: Đun nước sôi, pha nước vào cốc sứ (xô, chậu) được các nhiệt độ khác nhau: 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C. Dùng nhiệt kế điều chỉnh để nhiệt độ trong các cốc sứ luôn ổn định. Cho vào mỗi cốc có nhiệt độ khác nhau 1 lá. Ngâm lá trong các cốc nước nóng 30 phút, rồi vớt lá ra cho vào cốc nước ở nhiệt độ thường. Sau đó, thay nước trong cốc bằng dung dịch HCl 0,2N, sau 20 phút vớt lá ra và tính mức độ tổn thương theo số lượng các vết nâu xám xuất hiện. Tính tỷ lệ % diện tích lá bị tổn thương.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Đặc điểm giải phẫu của lá

Để kiểm tra xem mức độ ảnh hưởng của các mô khác nhau lên độ dày lá, đồng thời để tìm hiểu khả năng thích nghi của các cây thí nghiệm, đã thực hiện giải phẫu lá của Vẹt hainesii và tiến hành phân tích đặc điểm kích thước của từng mô khác nhau trong lá (Hình 2). Lá Vẹt hainesii có lớp cutin

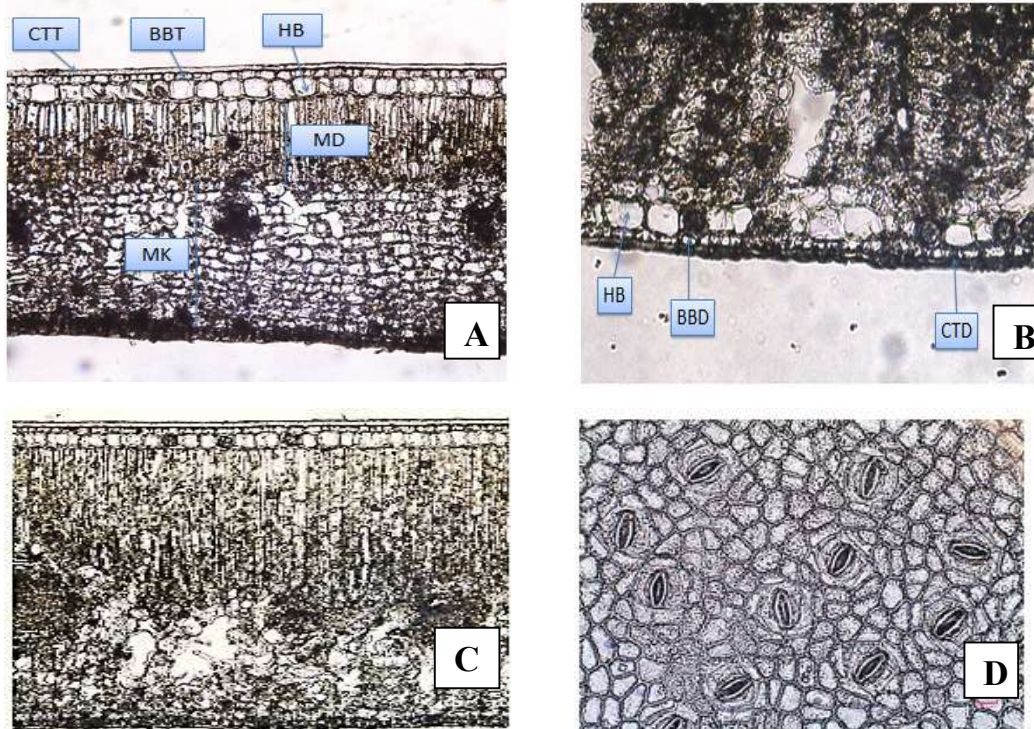
và lớp biểu bì dày giúp làm chậm quá trình thoát hơi nước. Có các lớp hạ bì ở hai mặt có thể thực hiện các chức năng khác nhau, bao gồm: Trữ nước, tích lũy muối hoặc điều hòa thẩm thấu và bảo tồn chất dinh dưỡng thông qua phản xạ ánh sáng và tản nhiệt [11]. Khí khổng tập trung ở mặt dưới của lá làm giảm sự thoát hơi nước. Các tinh thể muối và các tế bào chứa tannin được tìm thấy trong các mô của cây. Tannin giúp ngăn ngừa sự xâm nhập của vi khuẩn và nấm [12]. Dưới lớp biểu bì trên của lá là lớp tế bào mô giậu dày chứa nhiều lục lạp. Các tế bào mô giậu được xếp khít với nhau theo từng lớp, nhằm hấp thu được nhiều năng lượng ánh sáng. Đây là lớp mô đồng hóa của lá. Sát với lớp mô đồng hóa là lớp mô khuyết, có các khoảng trống gian bào lớn - nơi chứa  $CO_2$  cung cấp cho quá trình quang hợp. Sống trong điều kiện nồng độ muối cao nên các tế bào mô giậu có xu hướng giảm kích thước và thường các tế bào phía ngoài dài hơn các tế bào phía trong, mô khuyết gồm các tế bào xếp thưa nhau nhưng vẫn tạo ra các khoảng trống chứa khí. Khoảng trống này khác nhau tùy thuộc vào từng loài và mức độ ngập mặn. Trong lá còn có mạng lưới mạch dẫn chằng chịt làm nhiệm vụ dẫn nước và muối khoáng cho hoạt động quang hợp. Cuối cùng là hệ thống khí khổng dày đặc ở mặt trên và mặt dưới lá, giúp cho  $CO_2$ ,  $O_2$ ,  $H_2O$  đi vào và đi ra khỏi lá dễ dàng. Lá Vẹt hainesii càng già thì độ dày lá càng tăng lên, không phải do sinh ra các tế bào mới mà do sự tăng kích thước các tế bào trong thịt lá. Đặc điểm này phù hợp với chức năng tích lũy muối thừa để thải ra ngoài khi lá rụng.

Lá là một bộ phận của cơ quan dinh dưỡng của cây, thực hiện chức năng dinh dưỡng rất quan trọng như: Quang hợp, hô hấp, thoát hơi nước, cơ quan tạo ra chất hữu cơ cho cây nhờ các diệp lục tố. Là cơ quan hoạt động mạnh mẽ nhất để thể hiện sự thích nghi với điều kiện môi trường giúp cây thích nghi tốt hơn. Đặc biệt với những cây RNM thì lá cây có vai trò vô cùng quan trọng, là cơ quan tích tụ muối thừa để thải ra ngoài, giúp cây thích nghi tốt với điều kiện khắc nghiệt của RNM, cũng là đặc điểm đặc trưng của cây RNM. Nhiều nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng, ở những loài cây ngập mặn không có tuyến tiết muối, độ dày lá

liên quan đến khả năng tích muối, đặc biệt trong các lá già. Trước khi khảo sát cấu trúc mô của lá các nhóm cây, nghiên cứu đã tiến hành đo độ dày lá. Kết quả cho thấy, lá Vẹt hainesii có độ dày lá khá lớn, trung bình là  $616,99 \mu\text{m}$  (Bảng 1). Kết quả này tương đồng với kết quả các nghiên cứu trước đây về giải phẫu lá Vẹt hainesii với độ dày lá  $644,21 \pm 144,49 \mu\text{m}$  trong giai đoạn vườn ươm, cây con 1 tuổi (Trụ mầm được nhập từ Myanmar, gieo trồng tại Trạm nghiên cứu rừng ngập mặn xã Giao Lạc, huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định), loài Vẹt dù (*B. gymnorrhiza*) phân bố tự nhiên ở tỉnh Nam Định ( $446,76 \pm 73,39 \mu\text{m}$ ) và Vẹt dù phân bố tự nhiên ở tỉnh Quảng Ninh ( $506,07 \pm 24,41 \mu\text{m}$ ) [5]. Lớp biểu bì trên không có chứa lục lạp, màu sáng, vì vậy, có khả năng phản xạ ánh sáng cao. Các chỉ số về tỷ lệ chiều dày của biểu bì trên so với biểu bì dưới ở loài Vẹt hainesii ở VQG Côn Đảo ( $14,23/9,83 \mu\text{m}$ ) khác biệt khá nhỏ với biểu bì trên và dưới ở loài Vẹt hainesii ở trong giai đoạn vườn ươm ( $19,53/15,22$ ) [5]. Sự khác biệt này có thể liên

quan đến lá ở giai đoạn tuổi, cũng như nơi phân bố của cây. Lớp cutin trên khá dày ( $11,57 \mu\text{m}$ ) chứng tỏ tính chống chịu các điều kiện bất lợi từ môi trường ngoài là khá cao và cutin trên với cutin dưới ( $11,57/7,40$ ) là chênh lệch phản ánh sự tiếp nhận không đồng đều các điều kiện ngoại cảnh (ánh sáng) đến hai mặt của lá Vẹt hainesii (Bảng 1).

Nằm giữa hai lớp biểu bì trên và biểu bì dưới là lớp mô đồng hóa. Ở Vẹt hainesii, lớp mô này đã biệt hóa rất rõ rệt thành hai loại mô chuyên hóa là mô giậu và mô khuyết. Lớp mô giậu được biệt hóa thành 3 - 4 lớp có dạng hình trụ kéo dài, xếp sát nhau, nằm ngay sát lớp hạ bì trên. Theo hình 1, mô khuyết gồm các tế bào hình trứng xếp lỏng lẻo và chứa nhiều khoảng gian bào chứa khí, phục vụ quá trình quang hợp. Tỷ lệ của mô giậu/mô khuyết là 2,46 chứng tỏ các sản phẩm đồng hóa được tạo ra ở Vẹt hainesii là khá cao, cho thấy Vẹt hainesii có nhu cầu ánh sáng cao.



Hình 2. Hình ảnh giải phẫu mặt cắt ngang của lá Vẹt hainesii (A, B, C) và khí khổng mặt dưới của lá Vẹt hainesii (D)

Ghi chú: CTT: Cutin trên; BBT: Biểu bì trên; HB: Hạ bì; MD: Mô giậu; MK: Mô khuyết; BBD: Biểu bì dưới; CTD: Cutin dưới.

**Bảng 1. Đặc điểm cấu tạo giải phẫu lá của Vẹt hainesii tại VQG Côn Đảo**

| Đối tượng    | Chỉ tiêu giải phẫu (µm) |       |       |        |        |       |       |       |      |        | MDH/<br>1 mm <sup>2</sup> |
|--------------|-------------------------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|------|--------|---------------------------|
|              | CTT                     | BBT   | HB    | MD     | MK     | MD/MK | HB    | BBD   | CTD  | BDL    |                           |
| Vẹt hainesii | 12,52                   | 14,24 | 30,76 | 369,20 | 154,4  | 2,39  | 23,36 | 10,64 | 7,96 | 623,08 | 261,07                    |
|              | 10,24                   | 15,36 | 32,48 | 374,88 | 141,12 | 2,66  | 26,16 | 10,28 | 7,40 | 617,92 | 230,41                    |
|              | 11,96                   | 13,08 | 31,28 | 360,04 | 154,76 | 2,33  | 23,44 | 8,56  | 6,84 | 609,96 | 216,90                    |
| TB           | 11,57                   | 14,23 | 31,51 | 368,04 | 150,09 | 2,46  | 24,32 | 9,83  | 7,40 | 616,99 | 236,13                    |

Ghi chú: CTT: Cutin trên; BBT: Biểu bì trên; HB: Hạ bì; MD: Mô giậu; MK: Mô khuyết; BBD: Biểu bì dưới; CTD: Cutin dưới; BDL: Bề dày lá; MDH: Mật độ khí khổng/mm<sup>2</sup>.

Do sống trong những độ mặn khác nhau, nên việc phát triển các loại mô của các loài có với tỷ lệ khác nhau. Đối với những loài sống ở nơi có ánh sáng, sự phát triển của mô giậu chiếm tỷ lệ cao nên phần mô khuyết phát triển với tỷ lệ thấp hơn so với độ dày của lá và ngược lại.

Khí khổng có vai trò quan trọng đối với thực vật và đảm nhận vai trò lớn trong việc thoát hơi nước, tế bào có hình hạt đậu gồm 2 thành: Thành mỏng và thành dày. Thành mỏng ở bên ngoài, còn thành dày nằm ở bên trong. Chính thành dày hình thành một cái lỗ ở giữa không bao giờ đóng hoàn toàn. Khí khổng ở lá Vẹt hainesii có hình dạng hơi thuôn dài, được xếp theo kiểu vòng bào (khí khổng được bao xung quanh bằng một vòng tế bào biểu bì nhỏ), số lượng khí khổng là 236,13/mm<sup>2</sup> lá, nằm cùng mặt phẳng với lớp biểu bì.

Kết quả trên cho thấy, cấu tạo giải phẫu của lá Vẹt hainesii mang nhiều đặc điểm của cây ưa sáng, chịu hạn, chịu mặn và có khả năng chống chịu điều kiện bất lợi của môi trường. Điều này là hoàn toàn phù hợp với thực trạng sinh trưởng của Vẹt hainesii tại VQG Côn Đảo. Tính ưa sáng, chịu hạn

và chịu mặn của cây Vẹt hainesii thể hiện ở đặc điểm biểu bì có lớp cutin và lớp biểu bì dày, có lớp hạ bì ở cả hai mặt trên và mặt dưới của lá, mô giậu phát triển xếp sát nhau, nhiều lớp tế bào mô xốp và có các khoảng trống chứa khí.

### 3.2. Hàm lượng diệp lục a/b và cường độ quang hợp

Diệp lục có vai trò hết sức quan trọng trong quá trình tạo ra sản phẩm hữu cơ của cây trong quang hợp. Đây là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá khả năng quang hợp của cây. Những loài cây ưa sáng hàm lượng diệp lục trong lá thấp, tỷ lệ diệp lục a/b cao; những loài cây chịu bóng có hàm lượng diệp lục trong lá cao, tỷ lệ diệp lục a/b thấp. Đây là những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá nhu cầu ánh sáng của loài. Theo phương pháp so màu của Lichtenthaler và cs (1983) [9] cây ưa sáng có tỷ lệ diệp lục a/b lớn hơn 3, cây trung tính có tỷ lệ diệp lục nằm trong khoảng 2,3 - 3 và cây ưa bóng có tỷ lệ diệp lục a/b nhỏ hơn 3. Do đó, nhu cầu ánh sáng của cây có thể được thể hiện qua hai yếu tố là hàm lượng diệp lục và tỷ lệ diệp lục a/b.

**Bảng 2. Hàm lượng các sắc tố quang hợp và cường độ quang hợp**

| Loài         | Hàm lượng và tỷ lệ diệp lục a/b |                         |      | Cường độ quang hợp<br>(mg/dm <sup>2</sup> /h) |
|--------------|---------------------------------|-------------------------|------|-----------------------------------------------|
|              | Chlorophyll a<br>(mg/l)         | Chlorophyll b<br>(mg/l) | a/b  |                                               |
| Vẹt hainesii | 2,00                            | 0,32                    | 6,22 | 2,03                                          |

Như vậy, căn cứ vào kết quả trên có thể khẳng định Vẹt hainesii là loài ưa sáng. Điều này là hoàn toàn phù hợp với đặc điểm về giải phẫu và cho thấy nhu cầu ánh sáng của Vẹt hainesii tương đối cao, tương ứng với tầng cutin và bề dày của phiến

lá rất dày, mô giậu phát triển nhiều lớp tế bào (ở lá Vẹt hainesii có 3 - 4 lớp tế bào mô giậu). Cường độ quang hợp của Vẹt hainesii là 2,03 mg/dm<sup>2</sup>/h là khá cao, phù hợp với tỷ lệ diệp lục a/b ở Vẹt hainesii là 6,22 và các dấu hiệu giải phẫu được

phân tích như trên.

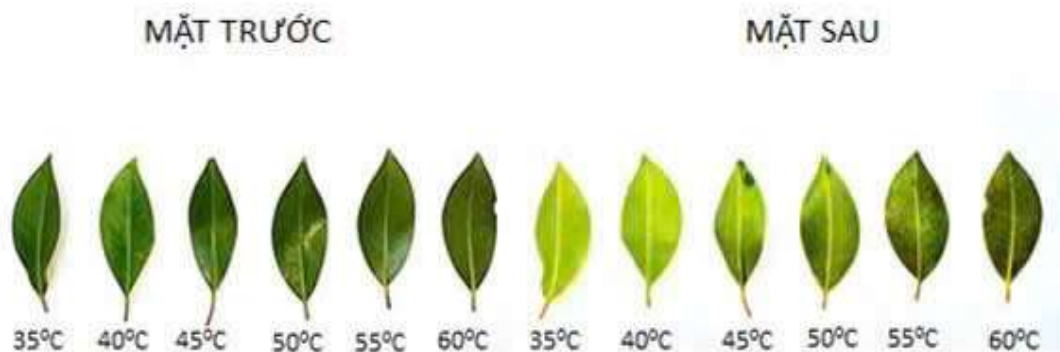
### 3.3. Cường độ thoát hơi nước, sức hút nước của tế bào và khả năng chịu nóng

Sự thoát hơi nước của lá đóng vai trò quan trọng trong quá trình hạ nhiệt của cây và tạo lực

chuyển nước và muối khoáng từ rễ lên lá. Do đó, phân tích sự thoát hơi nước của lá có thể biết được nhu cầu về nước và chất khoáng đối với cây cũng như sự phát triển của cây.

**Bảng 3. Khả năng chịu nóng của Vẹt hainesii**

| Loài cây     | Mức độ tổn thương (%) |      |        |      |        |      |
|--------------|-----------------------|------|--------|------|--------|------|
|              | 35°C                  | 40°C | 45°C   | 50°C | 55°C   | 60°C |
| Vẹt hainesii | 0%                    | 0%   | 13,65% | 37%  | 82,95% | 100% |



**Hình 3. Khả năng chịu nóng của Vẹt hainesii**

Cường độ thoát hơi nước ở Vẹt hainesii là 0,054, cho thấy quá trình thoát hơi nước diễn ra chậm và phù hợp với các kết quả về giải phẫu bởi sự xuất hiện của tầng cutin dày trên bề mặt của lá với các chỉ số về quang hợp, hàm lượng diệp lục. Khả năng chịu hạn của cây liên quan mật thiết đến nồng độ các chất chuyển hóa trong tế bào chất của tế bào, đóng vai trò quan trọng trong việc tạo ra lực hấp phụ cho rễ. Qua việc xác định sức hút nước của mô thực vật theo phương pháp tỷ trọng cho thấy, ở Vẹt hainesii là 21,26 atm. Như vậy, loài Vẹt hainesii có khả năng chịu hạn tốt.

Kết quả ở bảng 3 và hình 3 cho thấy, Vẹt hainesii có khả năng chịu nóng tốt: Ở 35°C và 40°C, Vẹt hainesii chưa bị tổn thương, mức độ tổn thương tăng dần khi tăng nhiệt độ. Ở 45°C, tỷ lệ tổn thương của Vẹt hainesii 13,65% nhưng khi tăng nhiệt độ lên 55°C thì mức độ tổn thương lên tới 82,95%, có nhiều chỗ lá chuyển sang màu nâu, đặc biệt lá không còn màu xanh ở 60°C. Kết quả cho thấy, màng tế bào bị tổn thương dẫn đến HCl xâm

nhập vào gây tổn thương các thành phần tế bào chất và diệp lục. Theo số liệu kế thừa về nghiên cứu thống kê nhiệt độ của khu vực Đầm Quốc cho thấy, vùng này có nhiệt độ cao nhất là 34°C vào tháng 5, nhiệt độ trung bình năm là 26,9°C [13]. Với kết quả chịu nóng của Vẹt hainesii nói trên, có thể khẳng định: Vẹt hainesii có khả năng thích ứng tốt với nền nhiệt của khu vực Đầm Quốc, VQG Côn Đảo; tại thời điểm nóng nhất trong năm, chúng vẫn không bị tổn thương.

### 4. KẾT LUẬN

Vẹt hainesii có nhu cầu ánh sáng cao. Hàm lượng diệp lục a là 2,00 mg/l; tỷ lệ diệp lục a/b là 6,22; cường độ quang hợp 2,03 mg/dm<sup>2</sup>/giờ. Lá Vẹt hainesii có biểu bì và lớp cutin dày giúp làm chậm quá trình thoát hơi nước. Có các lớp hạ bì đóng vai trò quan trọng trong việc chứa nước, tích lũy muối và bảo tồn chất dinh dưỡng. Khí khổng chỉ có ở biểu bì dưới làm giảm sự thoát hơi nước, mật độ khí khổng 235,13/mm<sup>2</sup> lá, cường độ thoát hơi nước thấp; sức hút nước tế bào bằng 21,26 atm.



Từ những đặc điểm và số liệu này cho thấy, Vẹt hainesii có khả năng chịu hạn rất tốt.

Lá Vẹt hainesii bị tổn thương 13,65% ở nhiệt độ 45°C; mức độ tổn thương nặng 82,95% ở nhiệt độ 55°C và có thể chết hoàn toàn ở 60°C. Như vậy, khả năng chịu nhiệt (chịu nóng) của Vẹt hainesii là rất cao và với nhiệt độ cao nhất ở VQG Côn Đảo là 34°C, Vẹt hainesii vẫn phát triển tốt.

#### **LỜI CẢM ƠN**

*Kết quả nghiên cứu này được tài trợ bởi nguồn kinh phí của đề tài cơ sở của Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga năm 2023.*

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Vien Ngoc Nam and Tran Dinh Hue (2009). Mangrove flora biodiversity in Con Dao National Park, Ba Ria - Vung Tau province, Vietnam. Proceedings of International conference on Coastal environment and management. Nagoya University, Japan, p. 96 - 104
2. Duke N., Kathiresan K., Salmo S. G., Fernando E. S., Peras J. R., Sukardjo S., Miyagi T., Ellison J., Koedam N. E., Wang Y., Primavera J., Eong O., Yong J. and Vien N. N. (2010). *Bruguiera hainesii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010. e.T178834A7621565.
3. Tran V. H., Hoang T. T. T., Pham M. P., Vu D. G., Nguyen Q. K. and Vu D. D. (2023). Complete chloroplast genome of endangered *Bruguiera hainesii* C. G Rogers 1919 and phylogenetic analysis with associated species. *Biomedical and Biotechnology Research Journal*, 7(4): 590 - 597.
4. Ono J., Yong J. W., Takayama K., Saleh M. N. B., Wee A. K., Asakawa, T. and Kajita T. (2016). *Bruguiera hainesii*, a critically endangered mangrove species, is a hybrid between *B. cylindrica* and *B. gymnorhiza* (Rhizophoraceae). *Conservation Genetics*, 17: 1137 - 1144.
5. Trần Thị Mai (2015). Nghiên cứu khả năng sinh trưởng, một số đặc điểm giải phẫu, sinh lý của loài Vẹt haiensis (*Bruguiera hainesii* Rog.) và Vẹt dù (*Bruguiera gymnorhiza* (Lour.) Poir.) trồng thí nghiệm tại xã Giao Lạc, huyện Giao Thủy, Nam Định. Luận văn Thạc sĩ Khoa học Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 126 trang.
6. Liu R., Sun W., Chao M., Ji C., Wang M and Ye B. (2009). Leaf anatomical changes of *Bruguiera gymnorhiza* seedlings under salt stress. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 17(2): 169 - 175.
7. Oguchi R., Onoda Y., Terashima I. and Tholen D. (2018). *Leaf anatomy and function*. The leaf: A platform for performing photosynthesis, p. 97 - 139.
8. Trần Công Khánh (1981). *Thực tập hình thái và giải phẫu thực vật*. Nxb Đại học và Trung học chuyên nghiệp Hà Nội, tr. 21 - 30.
9. Lichtenthaler, K. and Wellburn, A. R. (1983). Determination of total carotenoids and Chlorophylls A and B of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11: 591 - 592.
10. Ivanov, L. A., Silina, A. A. and Tsel'niker, Y. L. (1950). Rapid method of weighing for transpiration measurement under natural conditions. *Botanical Journal (Leningrad)*, 35: 171 - 185.
11. Saenger P. (2002). Mangrove ecology, silviculture and conservation. Kluwer Academic, The Netherlands.
12. Giner-chavez B. I. (1996). Condensed tannin in tropical forages. Ph.D. thesis. Cornell University, Ithaca.
13. Nguyễn Đình Thống (2012). *Côn Đảo: Từ góc nhìn lịch sử*. Nxb Tổng hợp thành phố Hồ Chí Minh.

A STUDY ON LEAF ANATOMICAL FEATURES AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *Bruguiera hainesii* C. G. Rogers IN CON DAO NATIONAL PARK, BA RIA - VUNG TAU PROVINCE

Hoang Thi Thu Trang<sup>1</sup>, Pham Van Dien<sup>1</sup>, Tran Viet Ha<sup>1</sup>,  
Luong Kim Chi<sup>1</sup>, Doan Cao Cuong<sup>2</sup>, Doan Thi Thu Huong<sup>3</sup>,  
Dang Ngoc Huyen<sup>4</sup>, Pham Mai Phuong<sup>4</sup>, Vu Dinh Duy<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Vietnam National University of Forestry; <sup>2</sup> Xuân Thủy National Park

<sup>3</sup> College of Forestry Bbiotechnology, Vietnam National University of Forestry

<sup>4</sup> Join Vietnam - Russia Tropical Science and Technology Research Center

Summary

Mangroves consist of a wide variety of tropical trees or woody shrubs like plants growing at the interface between sea and land zones and form an ecologically important ecosystem. *B. hainesii* belonging to the family (Rhizophoraceae) is a true mangrove tree. This species was discovered in the Dam Quoc area (Hon Ba) of the Con Son archipelago, Con Dao National Park, Ba Ria - Vung Tau province. The current work aims to study various anatomical features and physiological from leaves of *B. hainesii* collected in Con Dao National Park. The study revealed that *B. hainesii* light demand is high. The rate of palisade and spongy parenchyma is 2.46. Chlorophyll a is 2.006 mg/l and the rate of a/b chlorophylls in leaves is 6.22. Photosynthetic intensity is 2.03 mg/dm<sup>2</sup>. The cutin layer in the leaves of *B. hainesii* is thick. The number of stomata is 235.13/mm<sup>2</sup>, the magnitude of evapotranspiration is low and water attraction is 21.26 atm. From all the above evidence to conclude that *B. hainesii* has good drought tolerance. Its leaf tissues come to harm at 55°C and die completely at 60°C. Compared to the highest temperature in Con Dao National Park of 34°C, *B. hainesii* can withstand heat and still grow well. From the study, it was clear that the morphological and anatomical adaptations to local conditions may allow the trees to maximize their photosynthetic efficiency.

**Keywords:** *B. hainesii*, leaf anatomy, photosynthesis, physiology.

Ngày nhận bài: 20/5/2024

Ngày chuyển phản biện: 3/6/2024

Ngày thông qua phản biện: 8/8/2024

Ngày duyệt đăng: 12/8/2024

# **ẢNH HƯỞNG CỦA CHU KỲ KINH DOANH RỪNG TRỒNG KEO THUẦN LOẠI ĐẾN KHẢ NĂNG THẨM VÀ GIỮ NƯỚC CỦA ĐẤT Ở MỘT SỐ VÙNG ĐẦU NGUỒN VIỆT NAM**

Kiều Thị Dương<sup>1,\*</sup>, Nguyễn Hưng Thịnh<sup>2,3</sup>, Bùi Xuân Dũng<sup>1</sup>,  
Phùng Văn Khoa<sup>1</sup>, Nông Linh Khánh Hạ<sup>4</sup>, Trương Hải Yến<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Trường Đại học Lâm nghiệp

<sup>2</sup> Nghiên cứu sinh Trường Đại học Lâm nghiệp

<sup>3</sup> Cục Kiểm lâm, Bộ Nông nghiệp và PTNT

<sup>4</sup> Sinh viên Trường Đại học Lâm nghiệp

\*Email: duongkt@vnuf.edu.vn

## **TÓM TẮT**

Để đánh giá ảnh hưởng của chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài đến khả năng thẩm, giữ nước của đất ở một số vùng đầu nguồn Việt Nam, nghiên cứu đã tiến hành đo tốc độ thẩm nước của đất bằng ống vòng khuyên kép 74 lần. Cụ thể, 20 lần đo đã được thực hiện tại rừng trồng keo lai và 6 lần đo cho đối chứng là rừng tự nhiên và rừng trồng cây bản địa tại tỉnh Phú Thọ ở 5 chu kỳ kinh doanh; 18 lần đo tại rừng trồng keo lai và 6 lần đo đối chứng là rừng tự nhiên cho mỗi tỉnh Nghệ An và Bình Định ở 3 chu kỳ kinh doanh khác nhau. Thời gian cho mỗi lần đo được kéo dài cho đến khi đạt giá trị thẩm ổn định dao động từ 120 - 125 phút. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sau mỗi chu kỳ kinh doanh, thẩm nước của đất dưới rừng trồng keo ở tỉnh Phú Thọ, Nghệ An và Bình Định đều suy giảm và giảm dần theo thời gian đo. Tốc độ thẩm ban đầu, tốc độ thẩm ổn định, lượng nước thẩm tích lũy sau 2 giờ đều giảm đi trung bình từ 16 - 58% sau mỗi chu kỳ kinh doanh. Thẩm nước của đất tại tỉnh Phú Thọ cao hơn ở tỉnh Nghệ An và Bình Định; lượng nước thẩm của rừng trồng keo sau mỗi chu kỳ kinh doanh đều nhỏ hơn từ 20 - 57% khi so sánh với rừng trồng cây bản địa và từ 32 - 82% so với rừng tự nhiên đối chứng. Điều này thể hiện rõ năng lực giữ và điều tiết nước của rừng trồng keo thuần loài có xu hướng thấp hơn nhiều so với rừng tự nhiên và rừng trồng cây bản địa. Chức năng này của rừng trồng keo cũng suy giảm dần sau mỗi chu kỳ kinh doanh.

**Từ khóa:** *Chu kỳ kinh doanh, hiệu quả giữ nước của rừng, keo thuần loài, lượng nước thẩm, tốc độ thẩm nước.*

## **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Việt Nam là đất nước có nguồn tài nguyên rừng phong phú và đa dạng. Theo báo cáo hiện trạng rừng năm 2024 của Bộ Nông nghiệp và PTNT, năm 2023 diện tích rừng toàn quốc là 14.860.309 ha rừng, bao gồm rừng tự nhiên và rừng trồng, tỉ lệ che phủ rừng là 42,02% [1]. Hiện nay, keo là một trong những loài cây lấy gỗ được trồng nhiều tại Việt Nam do sinh trưởng nhanh và thường đạt khoảng 90 m<sup>3</sup> gỗ tròn sau 6 năm [2]. Mặc dù mô hình rừng trồng keo đã trở nên phổ biến ở các quốc gia như Việt Nam vì mang lại

nhiều lợi ích về kinh tế [3]. Tuy nhiên, việc phát triển kinh doanh rừng trồng keo thiếu bền vững đã và đang tác động tiêu cực đến tài nguyên đất và nước vì làm gia tăng xói mòn đất, giảm khả năng thẩm và giữ nước, từ đó làm suy thoái tài nguyên đất, nước. Kết quả nghiên cứu của Bui Xuan Dung và cs (2019b) [4] cho thấy, xói mòn từ rừng trồng keo thuần loài dao động từ 13 - 30 tấn/ha/năm, thuộc loại xói mòn mạnh. Cả xói mòn và dòng chảy mặt từ rừng trồng keo thường cao hơn so với các loại rừng trồng khác từ 1,5 - 2 lần [4]. Kết quả nghiên cứu của Bui Xuan Dung và cs (2019b) [4],

Trần Thị Trà My và cs (2022) [5] đã chỉ ra năng lực giữ nước và bảo vệ đất chống xói mòn của rừng trồng keo là khác nhau theo từng giai đoạn của rừng trồng. Xói mòn đất và dòng chảy mặt xảy ra mạnh nhất ở giai đoạn khai thác trắng và đốt xử lý thực bì, sau đó giảm dần khi bắt đầu trồng cây và nhỏ nhất khi cây khép tán từ 5 - 7 tuổi [4, 5]. Ở tuổi cây non, rừng trồng keo có nguy cơ xói mòn cao hơn do thiếu sự che phủ của thảm thực vật [4, 6] và các tác động từ quá trình xử lý thực bì. Bên cạnh đó, cùng với sự phát triển của cây keo, kết cấu đất sẽ trở nên ổn định hơn do không có các hoạt động làm đất và canh tác, do đó rừng keo càng lớn tuổi càng có khả năng bảo vệ đất tốt hơn [7]. Tương tự, với năng lực thấm và giữ nước của rừng keo, Bui Xuan Dung và Kieu Thuy Quynh (2021) [8] đã chỉ ra tốc độ thấm ban đầu, tốc độ thấm ổn định và lượng nước thấm trong 1 giờ giảm mạnh sau các giai đoạn khai thác, đốt xử lý thực bì và phục hồi sau trồng rừng mới.

Những tác động tiêu cực đến môi trường đất và nước của rừng trồng sản xuất keo thuần loài nếu không được xem xét đầy đủ có thể sẽ dẫn đến năng lực phòng hộ ngày càng suy giảm, đặc biệt là năng lực giữ và điều tiết nước. Kết quả làm cho đất dưới rừng trồng keo thuần loài sẽ ngày càng suy thoái, nước được thấm vào trong đất và tầng nước ngầm ngày càng ít hơn. Nguy cơ thiếu hụt nước vào mùa khô và lũ lụt vào mùa mưa ở những vùng trồng sản xuất keo thuần loài sẽ có thể gia tăng hơn. Mặc dù đây là vấn đề quan trọng với mức độ tác động và phạm vi ảnh hưởng rộng lớn nhưng đến nay chưa có nghiên cứu nào đánh giá khả năng điều tiết và bảo vệ nguồn tài nguyên đất và nước sau nhiều chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài. Để góp phần làm rõ vấn đề trên, nghiên cứu “*Ảnh hưởng của chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài đến khả năng thấm và giữ nước của đất ở một số vùng đầu nguồn Việt Nam*” đã được thực hiện.

## **2. ĐỊA ĐIỂM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Địa điểm nghiên cứu**

Nghiên cứu được thực hiện tại 3 vùng đầu nguồn: Ở tỉnh Phú Thọ (Công ty Lâm nghiệp Yên Lập thuộc lưu vực sông Hồng); tỉnh Nghệ An

(Công ty TNHH MTV Lâm nông nghiệp sông Hiếu thuộc lưu vực sông Hiếu (Phụ lưu của sông Lam, tỉnh Nghệ An); tỉnh Bình Định (Công ty Lâm nghiệp Quy Nhơn thuộc lưu vực sông Côn - Hà Thanh, tỉnh Bình Định). Các địa điểm nghiên cứu này đáp ứng tối thiểu 3 chu kỳ rừng trồng keo thuần loài.

Tại tỉnh Phú Thọ: Đánh giá năng lực thấm và giữ nước của 5 chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài. Cụ thể, chu kỳ kinh doanh 1: 2 ô rừng trồng keo lai, 2 ô đối chứng là rừng trồng cây bản địa; chu kỳ kinh doanh 2 đo 3 ô rừng trồng keo lai, 1 ô rừng trồng cây bản địa; chu kỳ kinh doanh 3 và 4 đều đo ở 5 ô rừng trồng keo lai, 1 ô đối chứng là rừng trồng cây bản địa; chu kỳ kinh doanh 5 đo ở 5 ô rừng trồng keo lai, 1 ô đối chứng là rừng tự nhiên. Tại tỉnh Nghệ An và Bình Định, đo ở 3 chu kỳ kinh doanh từ 1 - 3, mỗi chu kỳ kinh doanh đều đo ở 8 ô tiêu chuẩn gồm: 6 ô rừng trồng keo lai và 2 ô đối chứng là rừng tự nhiên.

### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

Lập ô tiêu chuẩn có diện tích 500 m<sup>2</sup>, tại các ô tiêu chuẩn tiến hành đánh giá khả năng thấm giữ nước bằng phương pháp vòng đo kép. Vòng trong có đường kính 20 cm, vòng ngoài có đường kính 25 cm, phần phía dưới tiếp xúc với đất được mài sắc để dễ dàng dùng búa cố định 2 vòng sâu xuống dưới đất. Vòng trong cắm một chiếc đinh cao 5 cm. Dùng ống đồng có chia vạch liên tục đổ nước vào vòng trong và ghi lại thể tích nước thêm vào trong 5 phút. Đổ nước vào vòng ngoài để giảm sai số do nước thấm ra bên ngoài vòng trong vì chênh lệch áp suất. Thời gian đo dao động từ 120 - 125 phút.

74 lần đo tốc độ thấm nước của đất theo các chu kỳ kinh doanh và đối chứng. Trong đó, 20 lần đo ở rừng trồng keo lai và 6 lần đo đối chứng là rừng tự nhiên và rừng trồng cây bản địa tại tỉnh Phú Thọ; 18 lần đo ở rừng trồng keo lai và 6 lần đo đối chứng là rừng tự nhiên cho mỗi tỉnh Nghệ An và Bình Định.

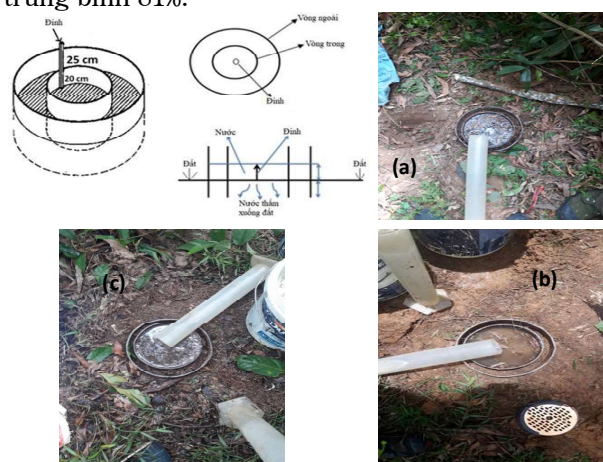
Tại tỉnh Phú Thọ: Vị trí đo thấm nước có độ dốc dao động từ 10 - 40°, trung bình 26°; độ xấp dao động từ 38 - 68%, trung bình 51%; độ ẩm dao động từ 23 - 38%, trung bình 31%; tàn che dao động từ 15 - 93%, trung bình 76%; che phủ dao động từ 91



- 100%, trung bình 97%; thâm mục dao động từ 89 - 100%, trung bình 96%.

Tại tỉnh Nghệ An: Vị trí đo thấm nước có độ dốc dao động từ 13 - 21°, trung bình 17°; độ xốp dao động từ 37 - 54%, trung bình 46%; độ ẩm dao động từ 20 - 44%, trung bình 32%; tàn che dao động từ 67 - 81%, trung bình 73%; che phủ dao động từ 76 - 100%, trung bình 91%; thâm mục dao động từ 80 - 100%, trung bình 92%.

Tại tỉnh Bình Định: Vị trí đo thấm nước có độ dốc dao động từ 8 - 35°, trung bình 17°; độ xốp dao động từ 18 - 41%, trung bình 27%; độ ẩm dao động từ 7 - 12%, trung bình 9%; tàn che dao động từ 74 - 86%, trung bình 79%; che phủ dao động từ 78 - 89%, trung bình 83%; thâm mục dao động từ 76 - 88%, trung bình 81%.



**Hình 1. Thí nghiệm đo thấm tại: a - Tỉnh Phú Thọ; b - Tỉnh Bình Định; c - Tỉnh Nghệ An**

Sau khi đo đạc ngoài thực địa, tiến hành xử lý số liệu và phân tích ảnh hưởng của chu kỳ kinh doanh đến đặc điểm thấm nước theo thời gian thông qua các giá trị tốc độ thấm ban đầu, tốc độ thấm ổn định và ảnh hưởng của chu kỳ kinh doanh đến trữ lượng nước thấm thông qua giá trị nước thấm trong 1 giờ, thấm trong 2 giờ.

Tốc độ thấm nước được xác định cho 5 phút (ml/5 phút) mỗi lần đo. Số liệu này sẽ được đổi ra mm/phút theo công thức: Tốc độ thấm (mm/5 phút) =  $V/S$ , trong đó:  $V$  là thể tích nước thấm trong 5 phút (ml) và  $S$  là diện tích của vòng khuyên trong ( $\text{cm}^2$ ).

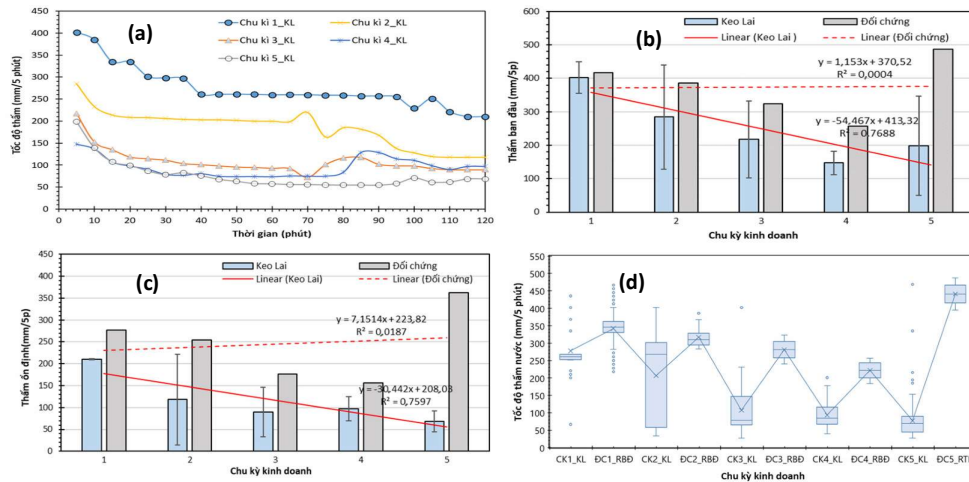
### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Ảnh hưởng của chu kỳ kinh doanh đến đặc điểm thấm nước theo thời gian

##### 3.1.1. Tại tỉnh Phú Thọ

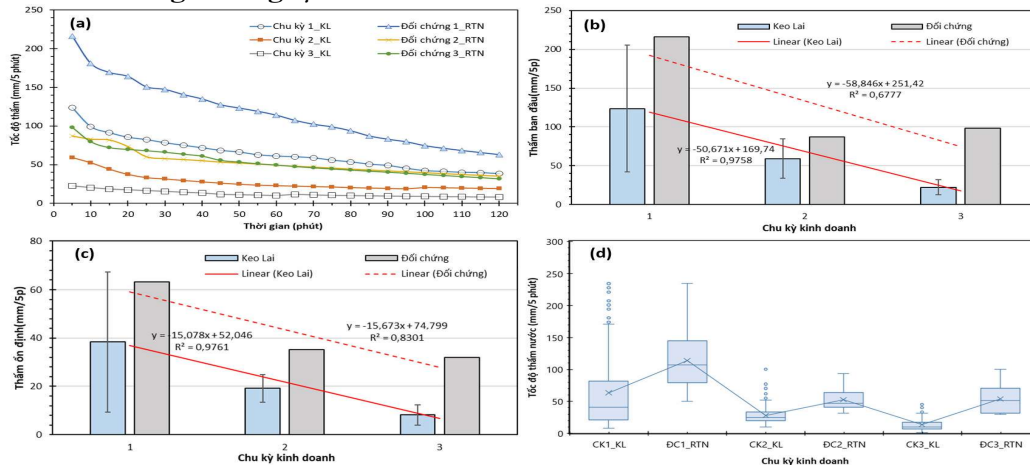
Tốc độ thấm trong cả 5 chu kỳ kinh doanh rừng trồng sản xuất keo thuần loài tại tỉnh Phú Thọ đều giảm dần theo thời gian và sau mỗi chu kỳ kinh doanh. Giá trị lớn nhất đạt được là ở tốc độ thấm ban đầu và đạt giá trị ổn định sau khoảng 120 phút đo (Hình 2a). Tốc độ thấm ban đầu của chu kỳ kinh doanh 1 là 402 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 2 là 285 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 3 là 218 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 4 là 147 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 5 là 198,4 mm/5 phút. Trong khi đó, tốc độ thấm ổn định của chu kỳ kinh doanh 1 là 210 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 2 là 118 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 3 là 90 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 4 là 97 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 5 là 69 mm/5 phút (Hình 2b, c). Tốc độ thấm trung bình trong 5 phút vẫn cao nhất ở chu kỳ kinh doanh 1 là 277,8 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 2 là 206,8 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 3 là 107,6 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 4 là 93,6 mm/5 phút; chu kỳ kinh doanh 5 là 77,2 mm/5 phút. Sự suy giảm sau mỗi chu kỳ dao động từ 13,01 - 47,97%, trung bình là 26,2% (Hình 2d).

Ở tất cả các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài đều có tốc độ thấm ban đầu, tốc độ thấm ổn định và tốc độ thấm trung bình trong 5 phút đo nhỏ hơn so với rừng đối chứng là rừng trồng cây bản địa và rừng tự nhiên. Cụ thể, từ chu kỳ kinh doanh 1 đến chu kỳ kinh doanh 4, rừng trồng keo thuần loài nhỏ hơn so với đối chứng là rừng trồng cây bản địa dao động từ 1 - 1,7 lần ở tốc độ thấm ban đầu và 1,3 - 2 lần ở tốc độ thấm ổn định. Ở chu kỳ kinh doanh 5, rừng trồng keo thuần loài nhỏ hơn 2,4 lần ở tốc độ thấm ban đầu và 5,3 lần ở tốc độ thấm ổn định so với đối chứng là rừng tự nhiên (Hình 2b, c). Còn tốc độ thấm trung bình trong 5 phút của rừng trồng keo dao động từ 277,8 mm/5 phút (Chu kỳ kinh doanh 1) đến 77,2 mm/5 phút (Chu kỳ kinh doanh 5); trong khi của rừng trồng cây bản địa là 342 mm/5 phút (Đối chứng chu kỳ kinh doanh 1) đến 221,6 mm/5 phút (Đối chứng chu kỳ kinh doanh 4) và rừng tự nhiên là 441,2 mm/5 phút (Hình 2d).



Hình 2. Biểu đồ đặc điểm thấm nước tại tỉnh Phú Thọ: a - Thấm theo thời gian; b - Thấm ban đầu; c - Thấm ổn định; d - Thấm trung bình trong 5 phút

Ghi chú: CK1\_KL: Chu kỳ kinh doanh 1 - keo lai; ĐC1\_RBD: Đối chứng 1 - rừng trồng cây bản địa; CK2\_KL: Chu kỳ kinh doanh 2 - keo lai; ĐC2\_RBD: Đối chứng 2 - rừng trồng cây bản địa; CK3\_KL: Chu kỳ kinh doanh 3 - keo lai; ĐC3\_RBD: Đối chứng 3 - rừng trồng cây bản địa; CK4\_KL: Chu kỳ kinh doanh 4 - keo lai; ĐC4\_RBD: Đối chứng 4 - rừng trồng cây bản địa; CK5\_KL: Chu kỳ kinh doanh 5 - keo lai; ĐC5\_RTN: Đối chứng 5 - rừng tự nhiên



Hình 3. Biểu đồ đặc điểm thấm nước tại tỉnh Nghệ An: a - Thấm theo thời gian; b - Thấm ban đầu; c - Thấm ổn định; d - Thấm trung bình trong 5 phút

Ghi chú: CK1\_KL: Chu kỳ kinh doanh 1 - keo lai; ĐC1\_RTN: Đối chứng 1 - rừng tự nhiên; CK2\_KL: Chu kỳ kinh doanh 2 - keo lai; ĐC2\_RTN: Đối chứng 2 - rừng tự nhiên; CK3\_KL: Chu kỳ kinh doanh 3 - keo lai; ĐC3\_RTN: Đối chứng 3 - rừng tự nhiên

### 3.1.2. Tại tỉnh Nghệ An

Tốc độ thấm trong cả 3 chu kỳ kinh doanh rừng trồng sản xuất keo thuần loài tại tỉnh Nghệ An đều giảm dần theo thời gian và sau mỗi chu kỳ kinh doanh. Giá trị lớn nhất đạt được là ở tốc độ thấm ban đầu và đạt giá trị ổn định sau khoảng 120 phút đo (Hình 3a). Tốc độ thấm ban đầu của chu kỳ kinh doanh 1 là 124 mm/5 phút, chu kỳ kinh doanh 2 là 59 mm/5 phút và chu kỳ kinh

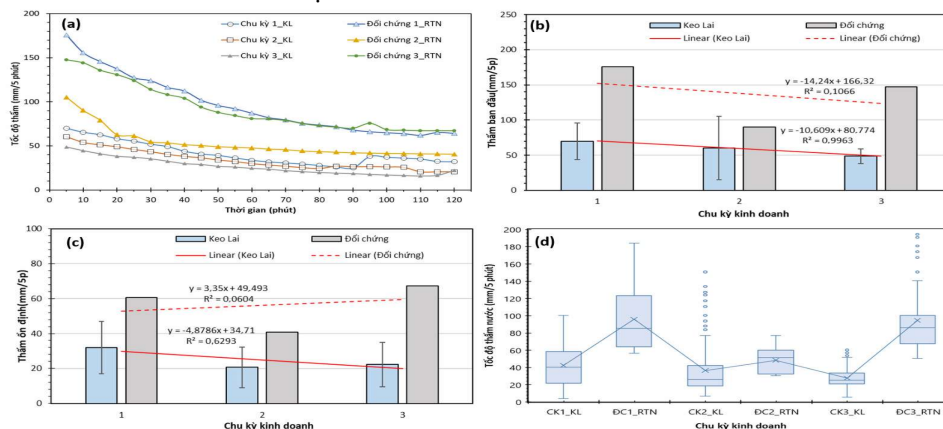
doanh 3 là 22 mm/5 phút. Trong khi đó, tốc độ thấm ổn định của chu kỳ kinh doanh 1 là 38 mm/5 phút, chu kỳ kinh doanh 2 là 19 mm/5 phút và chu kỳ kinh doanh 3 là 8 mm/5 phút (Hình 3b, c). Tốc độ thấm trong 5 phút cũng cao nhất ở chu kỳ kinh doanh 1 là 63 mm/5 phút, chu kỳ kinh doanh 2 là 28 mm/5 phút và chu kỳ kinh doanh 3 là 14 mm/5 phút. Sự suy giảm sau mỗi chu kỳ kinh doanh dao động từ 50% (Từ chu kỳ kinh doanh 2 đến chu kỳ

kinh doanh 3) đến 55,56% (Từ chu kỳ kinh doanh 1 đến chu kỳ kinh doanh 2), trung bình là 52,78% (Hình 3d).

Ở tất cả các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài đều có tốc độ thấm ban đầu, tốc độ thấm ổn định và tốc độ thấm trung bình trong 5 phút đo nhỏ hơn so với rừng đối chứng là rừng tự nhiên. Ở chu kỳ 1 - 2 rừng trồng keo thuần loài nhỏ hơn 1,4 - 1,7 lần ở tốc độ thấm ban đầu và 1,6 - 1,8 lần ở tốc độ thấm ổn định; ở chu kỳ kinh doanh 3 nhỏ hơn 4,4 lần ở tốc độ thấm ban đầu và 3,9 lần ở tốc độ thấm ổn định so với đối chứng là rừng tự nhiên (Hình 3b, c). Đối với tốc độ thấm trung bình trong 5 phút của rừng trồng keo thuần loài nhỏ hơn 1,8 lần (Chu kỳ kinh doanh 1) đến 4 lần (Chu kỳ kinh doanh 3) so với đối chứng là rừng tự nhiên (Hình 3d).

### 3.1.3. Tại tỉnh Bình Định

Tốc độ thấm trong cả 3 chu kỳ kinh doanh rừng trồng sản xuất keo thuần loài tại tỉnh Bình



Hình 4. Biểu đồ đặc điểm thấm nước tại tỉnh Bình Định: a - Thấm theo thời gian; b - Thấm ban đầu; c - Thấm ổn định; d - Thấm trung bình trong 5 phút

Ghi chú: CK1\_KL: Chu kỳ 1 - keo lai; ĐC1\_RTN: Đối chứng 1 - rừng tự nhiên; CK2\_KL: Chu kỳ 2 - keo lai; ĐC2\_RTN: Đối chứng 2 - rừng tự nhiên; CK3\_KL: Chu kỳ 3 - keo lai; ĐC3\_RTN: Đối chứng 3 - rừng tự nhiên.

Ở tất cả các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài đều có tốc độ thấm ban đầu, tốc độ thấm ổn định và tốc độ thấm trung bình trong 5 phút đo nhỏ hơn so với rừng đối chứng là rừng tự nhiên. Cụ thể, ở chu kỳ kinh doanh 1 rừng trồng keo thuần loài nhỏ hơn 2,5 lần ở tốc độ thấm ban đầu và 1,8 lần ở tốc độ thấm ổn định; ở chu kỳ kinh doanh 2 - 3 nhỏ hơn dao động từ 1,4 - 3 lần ở tốc độ thấm ban đầu và 2 - 3 lần ở tốc độ thấm ổn định so với đối chứng là rừng tự nhiên (Hình 4b, c). Đối

Định đều giảm dần theo thời gian và sau mỗi chu kỳ kinh doanh. Giá trị lớn nhất đạt được là ở tốc độ thấm ban đầu và đạt giá trị ổn định sau khoảng 120 phút đo (Hình 4a). Tốc độ thấm ban đầu của chu kỳ kinh doanh 1 là 70 mm/5 phút, chu kỳ kinh doanh 2 là 60 mm/5 phút và chu kỳ kinh doanh 3 là 49 mm/5 phút. Trong khi đó, tốc độ thấm ổn định của chu kỳ kinh doanh 1 là 32 mm/5 phút, chu kỳ kinh doanh 2 là 21 mm/5 phút và chu kỳ kinh doanh 3 là 22 mm/5 phút (Hình 4b, c). Tốc độ thấm trong 5 phút cũng cao nhất ở chu kỳ kinh doanh 1 là 42 mm/5 phút, chu kỳ kinh doanh 2 là 37 mm/5 phút và chu kỳ kinh doanh 3 là 28 mm/5 phút. Sự suy giảm sau mỗi chu kỳ kinh doanh dao động từ 12% (Từ chu kỳ kinh doanh 1 đến chu kỳ kinh doanh 2) đến 24% (Từ chu kỳ kinh doanh 2 đến chu kỳ kinh doanh 3), trung bình là 18% (Hình 4d).

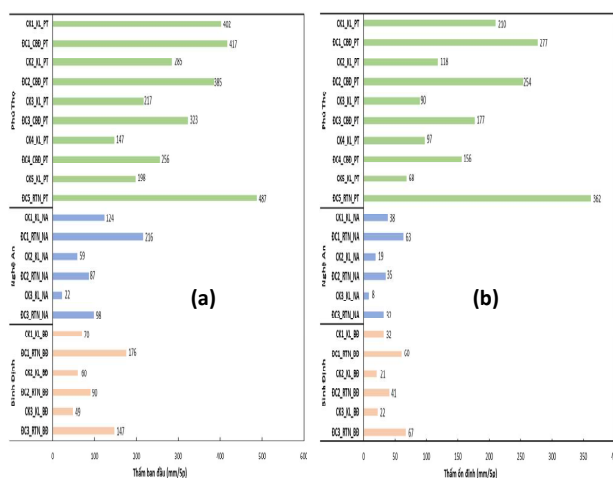
với tốc độ thấm trung bình trong 5 phút của rừng trồng keo thuần loài nhỏ hơn 2,2 lần (Chu kỳ kinh doanh 1) đến 3,4 lần (Chu kỳ kinh doanh 3) so với đối chứng là rừng tự nhiên (Hình 4d).

### 3.1.4. So sánh cho cả 3 khu vực nghiên cứu

Tốc độ thấm ban đầu và thấm ổn định ở cả 3 khu vực nghiên cứu đều giảm dần theo chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài và ở các chu kỳ kinh doanh tại tỉnh Phú Thọ đều lớn hơn so với các chu kỳ kinh doanh tại tỉnh Nghệ An và Bình

Định. Còn tại tỉnh Nghệ An và Bình Định nhìn chung không có sự chênh lệch quá lớn. Tốc độ thấm ban đầu của chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài ở tỉnh Phú Thọ lớn gấp 3,2 - 9,7 lần so với tốc độ thấm ban đầu ở tỉnh Nghệ An và gấp 4,5 - 5,8 lần so với ở tỉnh Bình Định; đối với tốc độ thấm ổn định, tỉnh Phú Thọ lớn gấp 5,5 - 10,9 lần so với tốc độ thấm ổn định tại tỉnh Nghệ An và gấp 4 - 6,6 lần so với tỉnh Bình Định; trong khi đó tại tỉnh Nghệ An và Bình Định chỉ chênh lệch 1 - 2 lần ở tốc độ thấm ban đầu và 1,1 - 2,7 lần ở tốc độ thấm ổn định (Hình 5a, b). Điều này có thể do sự khác biệt về đặc điểm đất và thảm thực vật dưới tán ở các khu vực nghiên cứu.

Ở tất cả các chu kỳ kinh doanh, rừng đối chứng ở tỉnh Phú Thọ đều lớn hơn so với rừng đối chứng ở các chu kỳ kinh doanh tại tỉnh Nghệ An và Bình Định. Tốc độ thấm ban đầu ở rừng đối chứng tại tỉnh Phú Thọ gấp 1,9 - 4,4 lần so với tỉnh Nghệ An và gấp 2,2 - 4,3 lần so với tỉnh Bình Định; đối với tốc độ thấm ổn định tại tỉnh Phú Thọ lớn gấp 4,4 - 7,2 lần so với tỉnh Nghệ An và 2,6 - 6,2 lần so với ở tỉnh Bình Định. Còn tại tỉnh Nghệ An và Bình Định, nhìn chung không có sự chênh lệch quá lớn; cụ thể chỉ chênh lệch 1 - 1,5 lần ở tốc độ thấm ban đầu và 1 - 2,1 lần ở tốc độ thấm ổn định (Hình 5a, b).



Hình 5. Biểu đồ so sánh đặc điểm thấm nước: a - Thấm ban đầu; b - Thấm ổn định của cả 3 khu vực nghiên cứu

Ghi chú: PT là tỉnh Phú Thọ; NA là tỉnh Nghệ An; BD là tỉnh Bình Định.

Kết quả này cũng tương đồng với đặc điểm thấm nước của đất dưới rừng trồng keo lai ở cả 3 khu vực. Nguyên nhân có thể do có sự khác biệt về đặc điểm đất, khí hậu và thảm thực vật dưới tán rừng giữa các khu vực. Đất tại vị trí nghiên cứu của tỉnh Phú Thọ có xu hướng xốp hơn, ngày đo đặc điểm thấm đất khô hơn và tỷ lệ che phủ của cây bụi thảm tươi cũng tốt hơn so với 2 khu vực còn lại. Điều này có thể là nguyên nhân làm cho thấm nước ở tỉnh Phú Thọ cao hơn so với 2 khu vực nghiên cứu còn lại.

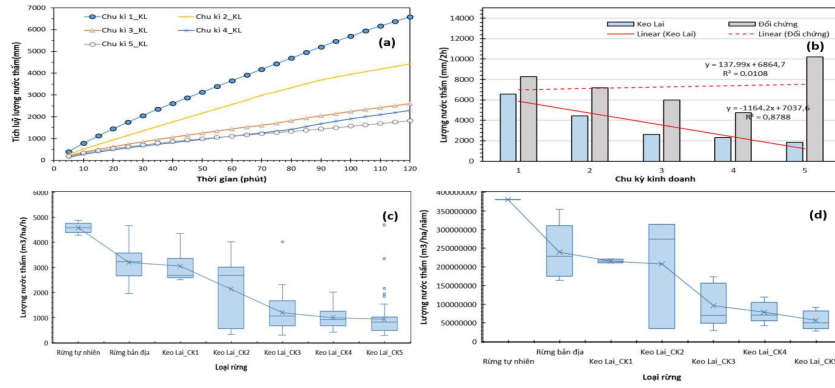
### 3.2. Ảnh hưởng của chu kỳ kinh doanh đến trữ lượng nước thấm của đất

#### 3.2.1. Tại tỉnh Phú Thọ

Lượng nước thấm tích lũy được sau 120 phút đo giảm dần theo các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài tại tỉnh Phú Thọ. Lượng nước thấm tích lũy sau 2 giờ đo của chu kỳ kinh doanh 1 là 6.585 mm; chu kỳ kinh doanh 2 là 4.422 mm; chu kỳ kinh doanh 3 là 2.599 mm; chu kỳ kinh doanh 4 là 2.290 mm; chu kỳ kinh doanh 5 là 1.830 mm. Như vậy, sau mỗi chu kỳ kinh doanh, lượng nước thấm và giữ được suy giảm dao động từ 11,89% (Từ chu kỳ kinh doanh 3 đến chu kỳ kinh doanh 4) đến 41,22% (từ chu kỳ kinh doanh 2 đến chu kỳ kinh doanh 3), trung bình suy giảm là 26,51% (Hình 6a).

Tổng lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ ở các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài đều nhỏ hơn so với đối chứng là rừng tự nhiên và rừng trồng cây bản địa. Ở chu kỳ kinh doanh 5 rừng trồng keo thuần loài so với đối chứng là rừng tự nhiên có khác biệt lớn nhất, lượng nước thấm trong 2 giờ ở rừng trồng keo thuần loài nhỏ hơn 5,6 lần so với đối chứng là rừng tự nhiên; từ chu kỳ kinh doanh 1 - 4 nhỏ hơn dao động từ 1,2 - 2,3 lần so với đối chứng là rừng trồng cây bản địa (Hình 6b). Trữ lượng nước thấm theo m<sup>3</sup>/ha/giờ và lượng nước thấm ổn định m<sup>3</sup>/ha/năm tại tỉnh Phú Thọ đều cao nhất ở đối chứng là rừng tự nhiên, sau đó là đối chứng là rừng trồng cây bản địa và cuối cùng là rừng trồng keo thuần loài (Hình 6c, d).



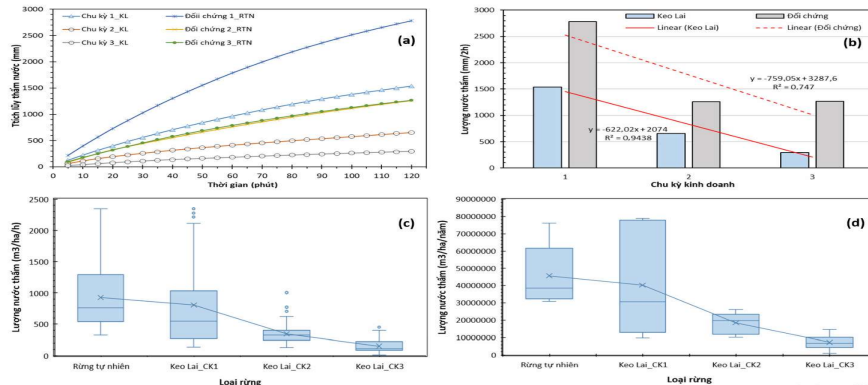


Hình 6. Biểu đồ biến động của trữ lượng nước thấm theo chu kỳ kinh doanh tại tỉnh Phú Thọ: a - Tích lũy thấm nước; b - Tích lũy thấm trong 2 giờ; c - Thấm m³/ha/giờ; d - Thấm ổn định theo m³/ha/năm.

Ghi chú: CK là chu kỳ kinh doanh.

### 3.2.2. Tại tỉnh Nghệ An

Lượng nước thấm tích lũy được sau 120 phút đo giảm dần theo các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài tại tỉnh Nghệ An. Lượng nước thấm tích lũy sau 2 giờ đo của chu kỳ kinh doanh 1 là 1.540 mm; chu kỳ kinh doanh 2 là 655 mm; chu kỳ kinh doanh 3 là 296 mm. Như vậy, sau mỗi chu kỳ kinh doanh lượng nước thấm và giữ được suy giảm dao động từ 54,86% (Từ chu kỳ kinh doanh 2 đến chu kỳ kinh doanh 3) đến 57,47% (Từ chu kỳ kinh doanh 1 đến chu kỳ kinh doanh 2), trung bình suy giảm là 56,16% (Hình 7a).



Hình 7. Biểu đồ biến động của trữ lượng nước thấm theo chu kỳ kinh doanh tại tỉnh Nghệ An: a - Tích lũy thấm nước; b - Tích lũy thấm trong 2 giờ; c - Thấm m³/ha/giờ; d - Thấm ổn định theo m³/ha/năm.

Ghi chú: CK là chu kỳ kinh doanh.

### 3.2.3. Tại tỉnh Bình Định

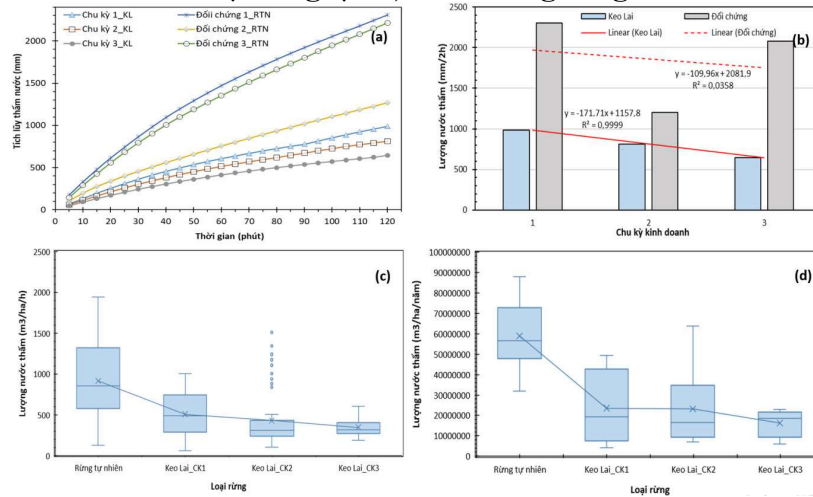
Lượng nước thấm tích lũy được sau 120 phút đo giảm dần theo các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài tại tỉnh Bình Định. Lượng nước thấm tích lũy sau 2 giờ đo của chu kỳ kinh doanh 1 là 987 mm; chu kỳ kinh doanh 2 là 813 mm; chu kỳ kinh doanh 3 là 643 mm. Như vậy, sau mỗi chu kỳ kinh doanh, lượng nước thấm và giữ

Tổng lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ ở các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài đều nhỏ hơn so với đối chứng là rừng tự nhiên. Từ chu kỳ kinh doanh 1 - 2 rừng trồng keo thuần loài có lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ nhỏ hơn 1,8 - 1,9 lần; ở chu kỳ kinh doanh 3 nhỏ hơn 4,3 lần so với đối chứng là rừng tự nhiên (Hình 7b). Cũng giống như ở tỉnh Phú Thọ, trữ lượng nước thấm theo m³/ha/giờ và lượng nước thấm ổn định m³/ha/năm tại tỉnh Nghệ An đều cao nhất ở đối chứng là rừng tự nhiên và sau đó là rừng trồng keo thuần loài (Hình 7c, d).

được suy giảm dao động từ 17,63% (Từ chu kỳ kinh doanh 1 đến chu kỳ kinh doanh 2) đến 20,85% (Từ chu kỳ kinh doanh 2 đến chu kỳ kinh doanh 3), trung bình suy giảm là 19,24% (Hình 8a).

Tổng lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ ở các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài đều nhỏ hơn so với đối chứng là rừng tự nhiên. Rừng trồng keo thuần loài có lượng nước thấm tích

lũy 2 giờ nhỏ hơn 2,3 lần ở chu kỳ kinh doanh 1; 1,5 lần ở chu kỳ kinh doanh 2 và 3,2 lần ở chu kỳ kinh doanh 3 so với đối chứng là rừng tự nhiên (Hình 8b). Cũng giống như ở tỉnh Phú Thọ và Nghệ An,



**Hình 8. Biểu đồ biến động của trữ lượng nước thấm theo chu kỳ kinh doanh tại tỉnh Bình Định: a - Tích lũy thấm nước; b - Tích lũy thấm trong 2 giờ; c - Thấm m³/ha/giờ; d - Thấm ổn định theo m³/ha/năm.**

*Ghi chú: CK là chu kỳ kinh doanh.*

#### 3.2.4. Trữ lượng nước thấm cho cả 3 khu vực

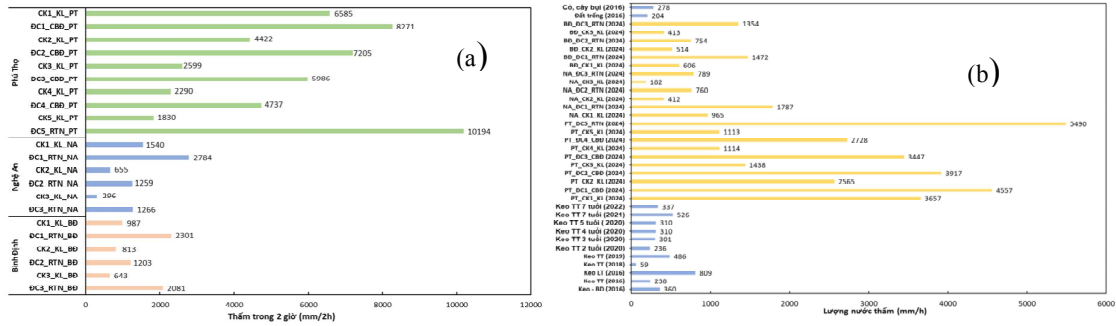
Tổng lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ ở cả 3 khu vực nghiên cứu đều giảm dần theo chu kỳ kinh doanh và ở các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài tại tỉnh Phú Thọ đều có tổng lượng nước thấm trong 2 giờ lớn hơn nhiều so với tại tỉnh Nghệ An và Bình Định. Trong khi đó, ở tỉnh Nghệ An và Bình Định nhìn chung không có sự chênh lệch quá lớn. Cụ thể, tổng lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ ở các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài tại tỉnh Phú Thọ lớn gấp 4,3 – 8,8 lần so với tổng lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ tại tỉnh Nghệ An và gấp 4 – 6,7 lần so với tại tỉnh Bình Định; trong khi đó tại tỉnh Nghệ An và Bình Định chỉ chênh lệch 1,2 – 2,2 lần (Hình 9a). Điều này có thể do sự khác biệt về vật lý đất và thảm thực vật dưới tán rừng giữa các loại hình sử dụng đất tại các khu vực nghiên cứu.

Ở các chu kỳ kinh doanh, tổng lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ tại rừng đối chứng của tỉnh Phú Thọ đều lớn hơn so với tại tỉnh Nghệ An và Bình Định. Cụ thể, tổng lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ ở rừng đối chứng của tỉnh Phú Thọ lớn gấp 3 - 5,7 lần so với tỉnh Nghệ An và gấp 2,9 - 6 lần so với tỉnh Bình Định; trong khi đó tại tỉnh Nghệ An và Bình Định, tổng lượng nước thấm tích

trữ lượng nước thấm theo m³/ha/giờ và lượng nước thấm ổn định m³/ha/năm tại tỉnh Bình Định đều cao nhất ở đối chứng là rừng tự nhiên và sau đó là rừng trồng keo thuần loài (Hình 8c, d).

lũy trong 2 giờ ở rừng đối chứng chỉ chênh lệch dao động từ 1 - 1,6 lần (Hình 9a).

Kết quả tổng hợp lượng nước thấm trong 1 giờ của nghiên cứu này so với kết quả nghiên cứu của Bui Xuan Dung và cs (2019a) [3], Trần Thị Trà My và cs (2022) [5], Bui Xuan Dung, Kieu Thuy Quynh (2021) [8], Dang Thi Thanh Hoa và Bui Xuan Dung (2020) [9], Pham Thuy Linh và cs (2018) [10], Bùi Xuân Dũng (2016) [11] cho thấy: Lượng nước trong rừng trồng keo dao động từ 59 - 3.657 mm/giờ. Lượng nước thấm trong 1 giờ ở tất cả các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo tại tỉnh Phú Thọ, Nghệ An và Bình Định đều cao hơn so với tổng lượng nước thấm ở các nghiên cứu trước đây. Lượng nước thấm của rừng keo lai luôn lớn hơn nhiều so với rừng trồng keo tai tượng. Lượng nước thấm có giá trị thấp nhất ở đất trống, sau đó đến cây bụi, thảm tươi và tăng lên ở rừng keo tai tượng, keo lai. Rừng tự nhiên và rừng trồng cây bản địa ở nghiên cứu này đều có lượng nước thấm cao so với rừng trồng keo. Khác biệt về lượng nước thấm của cùng một loài keo có thể do ảnh hưởng của các nhân tố khác bên cạnh thực vật như: Đặc điểm đất, địa hình, thời gian đo và phương pháp đo (Hình 9b).



Hình 9. Biểu đồ so sánh trữ lượng nước: a - Thấm trong 2 giờ tại cả 3 khu vực nghiên cứu; b - Tổng lượng thấm trong 1 giờ với các nghiên cứu khác

Ghi chú: Các số liệu dùng so sánh ở biểu đồ b được dùng từ các nguồn sau: Bui Xuan Dung và cs (2019a, b) [3, 4]; Trần Thị Trà My và cs (2022) [5]; Bui Xuan Dung, Kieu Thuy Quynh (2021) [8]; Dang Thi Thanh Hoa và Bui Xuan Dung (2020) [9]; Pham Thuy Linh và cs (2018) [10]; Bùi Xuân Dũng (2016) [11]; TT là tại tượng; LT là lá trầm; PT là tỉnh Phú Thọ; NA là tỉnh Nghệ An; BD là tỉnh Bình Định.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả cho thấy: Tốc độ thấm nước của đất dưới rừng trồng keo ở tỉnh Phú Thọ, Nghệ An và Bình Định đều tuân theo quy luật giảm dần theo thời gian và sau mỗi chu kỳ kinh doanh. Giá trị lớn nhất đạt được là ở tốc độ thấm ban đầu và đạt giá trị ổn định sau khoảng 120 phút đo. Lượng nước thấm tích lũy ở cả 3 khu vực nghiên cứu cũng đều giảm dần theo chu kỳ kinh doanh. Khi so sánh 3 khu vực nghiên cứu thì tốc độ thấm ban đầu, tốc độ thấm ổn định và tổng lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ tại tỉnh Phú Thọ cao hơn so với tỉnh Nghệ An và Bình Định từ 2 - 9 lần, trong khi đó tại tỉnh Nghệ An và Bình Định nhìn chung không có sự chênh lệch quá lớn.

Ở tất cả các chu kỳ kinh doanh rừng trồng keo thuần loài tại ba khu vực nghiên cứu tỉnh Phú Thọ, Nghệ An và Bình Định đều có tốc độ thấm ban đầu, tốc độ thấm ổn định, tốc độ thấm trung bình trong 5 phút đo và tổng lượng nước thấm tích lũy nhỏ hơn so với rừng đối chứng. Về trữ lượng nước thấm theo  $m^3/ha/giờ$  và lượng nước thấm ổn định  $m^3/ha/năm$  ở các khu vực nghiên cứu đều tuân theo quy luật lớn nhất ở đối chứng là rừng tự nhiên, sau đó là rừng trồng cây bản địa và cuối cùng là rừng trồng keo thuần loài. Khi so sánh 3 khu vực nghiên cứu thì tốc độ thấm ban đầu, tốc độ thấm ổn định và tổng lượng nước thấm tích lũy trong 2 giờ tại rừng đối chứng ở các chu kỳ kinh doanh của tỉnh Phú Thọ cũng đều lớn hơn so với tại tỉnh Nghệ An và Bình Định.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Nông nghiệp và PTNT (2024). Quyết định số 816/QĐ-BNN-KL công bố hiện trạng rừng toàn quốc 2023.
- Đỗ Hương (2024). Phấn đấu rừng trồng sản xuất gỗ lớn đạt 1 triệu ha, <https://baohinhphu.vn/phan-dau-rung-trong-san-xuat-go-lon-dat-1-trieu-ha-102240226102707888.htm>, truy cập ngày 8/3/2024.
- Bui Xuan Dung, Vu Thi Hoai Thu, Nguyen Thi My Linh, Gomi Takashi (2019a). Temporal and spatial infiltration characteristics of soil under Acacia and pine plantations in the mountainous area of Van Don, Quang Ninh, Vietnam. *Journey of Vietnam Environment*, (11): 51 - 64. DOI: 10.13141/jve.vol11.no2.pp51-64.
- Bui Xuan Dung, Pham Quynh Trang, Nguyen Thi My Linh, Dang Thi Hoa, Gomi Takashi (2019b). Soil erosion and overland flow from Acacia plantation forest in headwater catchment of Vietnam. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, (266). DOI: 10.1088/1755-1315/266/1/012012.
- Trần Thị Trà My, Bùi Xuân Dũng, Kiều Thúy Quỳnh, Trần Thanh Tú, Triệu Đức Trí, Sandar Kyaw (2022). Rừng trồng keo thuần loài trước khai thác và ảnh hưởng môi trường: Trường hợp nghiên cứu tại Lương Sơn, Hòa Bình. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, (3): 102 - 113. DOI: <https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.2022.3.102-113>.

6. Casermeiro M. A., Molina J. A., de la Cruz Caravaca M. T., Costa J. H., Massanet M. I. H. & Moreno P. S. (2004). Influence of scrubs on runoff and sediment loss in soils of Mediterranean climate. *Catena*, (57): 91 - 104. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0341-8162\(03\)00160-7](https://doi.org/10.1016/S0341-8162(03)00160-7).
7. Kabiri V, Raiesi F & Ghazavi MA. (2015). Six years of different tillage systems affected aggregate - associated SOM in a semi - arid loam soil from Central Iran. *Soil Till Res.* (154): 114 - 125. DOI: 10.1016/j.still.2015.06.019.
8. Bui Xuan Dung, Kieu Thuy Quynh (2021). Soil infiltration responds to post-harvesting prescribed burning of *Acacia* plantation in a headwater mountain. *Journal of forest science and technology*, (11): 47 - 58.
9. Dang Thi Thanh Hoa, Bui Xuan Dung (2020). Temporal infiltration characteristics of soil at different ages of *Acacia* plantation forest in a headwater of Hoa Binh, Vietnam. *Journal of forest science and technology*, (10): 38 - 47.
10. Pham Thuy Linh, Bui Xuan Dung, Tran Quang Bao (2018). Infiltration characteristics of soil under Cinnamon and *Acacia* plantation forest in headwater of Vietnam. *Vietnam Journal of Forest Science*, (4): 64 - 74.
11. Bùi Xuân Dũng (2016). Đặc điểm thấm nước của đất dưới một số loại hình sử dụng đất tại Núi Lướt, Xuân Mai, Hà Nội. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, (4): 47 - 58.

### **IMPACTS OF COMMERCIAL ACACIA PLANTATION ROTATION ON SOIL WATER RETENTION CAPACITY IN HEADWATERS MOUNTAINS OF VIETNAM**

**Kieu Thi Duong<sup>1</sup>, Nguyen Hung Thinh<sup>2,3</sup>, Bui Xuan Dung<sup>1</sup>,  
Phung Van Khoa<sup>1</sup>, Nong Linh Khanh Ha<sup>4</sup>, Truong Hai Yen<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> *Vietnam National University of Forestry*

<sup>2</sup> *PhD candidate Vietnam National University of Forestry*

<sup>3</sup> *Forest Protection Department, Ministry of Agriculture and Rural Development*

<sup>4</sup> *Students Vietnam National University of Forestry*

#### **Summary**

To assess the impacts of commercial *Acacia* plantation rotations on soil infiltration, 74 measurements were conducted in some headwater areas of Vietnam using the double-ring method at different rotations of *Acacia* plantations and reference forests. Specifically, 20 measurements were conducted in *Acacia* hybrid plantations and 6 measurements were made for natural forests and native plantations forest in Phu Tho province for 5 rotations; 18 measurements were made in *Acacia* hybrid plantations and 6 measurements were made for natural forests in each province of Nghe An and Binh Dinh for 3 different rotations. Each measurement session continued until reaching a stable permeability value ranging from 120 - 125 minutes. The main results obtained are as follows: (1) After each rotation, soil infiltration under *Acacia* plantations in all three study areas decreased progressively over time. Specifically, the initial infiltration rate, stable infiltration rate and cumulative infiltrated water after 2 hours decreased on average from 16 - 58% after each rotation. Soil infiltration in Phu Tho province was higher than in Nghe An and Binh Dinh provinces; (2) The amount of infiltrated water in *Acacia* plantations after each rotation was consistently lower, ranging from 20 - 57% compared to indigenous forest plantations and from 32 - 82% compared to natural forests. This suggests that the water retention and regulation capacity of monoculture *Acacia* plantations tends to be significantly lower than that of natural forests and indigenous forests. This function of *Acacia* plantations also gradually decreased after rotation.

**Keywords:** *Commercial Acacia plantation, rotation, soil infiltration, soil water retention.*

**Ngày nhận bài:** 12/4/2024

**Ngày chuyển phản biện:** 26/4/2024

**Ngày thông qua phản biện:** 10/5/2024

**Ngày duyệt đăng:** 12/8/2024