

p-ISSN 1859-4581

e-ISSN 2815-6153

Tạp chí

NÔNG NGHIỆP & PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

*Science and Technology Journal
of Agriculture & Rural Development*

MINISTRY OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT, VIETNAM

Tạp chí Khoa học và Công nghệ

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

12

2024

TẠP CHÍ

**NÔNG NGHIỆP
& PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN**

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

**NĂM THỨ HAI MƯƠI TƯ
SỐ 483 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

- CAO THỊ VIỆT NGA, NGUYỄN THỊ NHƯ QUỲNH, NGUYỄN THỊ THƠ, VŨ QUANG NAM. Nghiên cứu nhân giống cây hoa tiên (*Asarum glabrum* Merr.) bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* 3-9
- TRẦN THỊ THÙY TRANG, PHAN CHÍ NGUYỄN, NGUYỄN TUẤN ANH, TRẦN TRỌNG KHÔI NGUYỄN, NGUYỄN ĐỨC TRỌNG, NGUYỄN QUỐC KHƯƠNG. Đặc tính hình thái và hóa học của phẫu diện đất canh tác lúa tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang 10-19
- PHẠM HỒNG HIỂN, NGÔ THỊ LAN, NGUYỄN VĂN GIANG. Đánh giá tiềm năng kích thích sinh trưởng thực vật của các chủng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ cây hương nhu tím (*Ocimum sanctum* L.) 20-29
- NGUYỄN THỊ THÚY, NGUYỄN ĐỨC TRUNG. Một số đặc điểm sinh học, sinh thái của sâu *Luthrodes pandava* gây hại trên cây Vạn tuế trồng tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An 30-40
- HUỲNH QUỐC TRUNG, NGUYỄN THỊ VÂN LINH. Động học phân hủy sắc tố anthocyanin trong dịch trích đài hoa búp giấm (*Hibiscus sabdariffa* L.) dưới ảnh hưởng của maltodextrin, gum arabic và gelatin 41-50
- LÊ THẾ HOÀI, NGUYỄN THỊ THANH MAI, NGUYỄN THỊ HỒNG HẠNH. Nghiên cứu bào chế trà thảo dược từ loài Vẩy ốc (*Ficus pumila* L.) và Thổ phục linh (*Smilax glabra* Roxb) 51-60
- LÊ ANH TUẤN, NGUYỄN VĂN LỢI. Nghiên cứu xây dựng quy trình chế biến rượu vang từ dịch quả nhàu 61-72
- TẠ THỊ PHƯƠNG HOA, VŨ HUY ĐẠI, NGUYỄN THỊ LOAN, TỐNG THỊ PHƯỢNG, PHẠM VĂN THANH. Nghiên cứu công nghệ tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang từ gỗ tếch sử dụng trong sản xuất đồ gỗ và trang trí nội thất 73-82
- LÊ NGUYỄN THIÊN PHÚC, NGUYỄN MINH THÀNH. Đánh giá hiệu quả ức chế, diệt khuẩn và khả năng kích thích kháng thuốc của các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng lên vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* 83-94
- NGUYỄN CÔNG SƠN, NGUYỄN THÀNH NAM, TRẦN THỊ THÙY ANH, TRẦN TRUNG THÀNH. Phân biệt hình thái ấu trùng, cá con thuộc họ cá sơn (Ambassidae), cá móm (Gerreidae), cá tráp (Sparidae) ở Việt Nam 95-100

**VIETNAM JOURNAL OF
AGRICULTURE AND RURAL
DEVELOPMENT**

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

**THE TWENTY FOURTH YEAR
No. 483 - 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

- ❑ CAO THI VIET NGA, NGUYEN THI NHU QUYNH, NGUYEN THI THO, VU QUANG NAM. Research on propagation of *Asarum glabrum* Merr. by *in vitro* 3-9
- ❑ TRAN THI THUY TRANG, PHAN CHI NGUYEN, NGUYEN TUAN ANH, TRAN TRONG KHOI NGUYEN, NGUYEN DUC TRONG, NGUYEN QUOC KHUONG. Morphological and chemical characteristics of soil profiles for rice cultivation in Long My town, Hau Giang province 10-19
- ❑ PHAM HONG HIEN, NGO THI LAN, GIANG VAN NGUYEN. Characterisation of potential plant growth properties of some bacterial endophytes isolated from the root of holy basil (*Ocimum sanctum* L.) 20-29
- ❑ NGUYEN THI THUY, NGUYEN DUC TRUNG. Some biological and ecological characteristics of *Luthrodes pandava* Horsfield infestation on *Cycas revoluta* in Vinh city, Nghe An province 30-40
- ❑ HUYNH QUOC TRUNG, NGUYEN THI VAN LINH. The influence of maltodextrin, gum arabic and gelatin on anthocyanin degradation kinetics in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract 41-50
- ❑ LE THE HOAI, NGUYEN THI THANH MAI, NGUYEN THI HONG HANH. Research for preparation of herbal tea from *Ficus pumila* L. to supporting treatment osteoarthritis 51-60
- ❑ LE ANH TUAN, NGUYEN VAN LOI. Study on the process developmental for wine processing from noni fruit juice 61-72
- ❑ TA THI PHUONG HOA, VU HUY DAI, NGUYEN THI LOAN, TONG THI PHUONG, PHAM VAN THANH. Researching on technology of manufacturing end grain board from teak wood for furniture and interior decoration 73-82
- ❑ LE NGUYEN THIEN PHUC, NGUYEN MINH THANH. Evaluation of the efficacy of common antibiotics and disinfectants against *Vibrio parahaemolyticus* and their resistance stimulation degree 83-94
- ❑ NGUYEN CONG SON, NGUYEN THANH NAM, TRAN THI THUY ANH, TRAN TRUNG THANH. Morphological distinguishing of larvae and juveniles of ambassidae, gerreidae and sparidae in Vietnam 95-100

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CÂY HOA TIÊN (*Asarum glabrum* Merr.) BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY *IN VITRO*

Cao Thị Việt Nga¹, Nguyễn Thị Như Quỳnh¹, Nguyễn Thị Thơ¹, Vũ Quang Nam^{1,*}

¹ Trường Đại học Lâm nghiệp

* Email: namvq@vnuf.edu.vn

TÓM TẮT

Hoa tiên (*Asarum glabrum* Merr.), họ Mộc hương (Aristolochiaceae) là loài cây thảo có tác dụng dùng làm thuốc ho, thuốc viêm họng và thuốc bổ,... Hoa tiên có khu phân bố rộng, nhưng mức độ phân bố rải rác, điều này dẫn đến khả năng tái sinh bằng hạt của loài kém... Chính vì vậy, Hoa tiên được xếp hạng sẽ nguy cấp (VU A1c,d) trong Sách Đỏ Việt Nam (2007). Kết quả nghiên cứu cho thấy, các đoạn nhánh Hoa tiên được khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% trong 7 phút cho tỷ lệ mẫu sạch đạt 81,11% và tỷ lệ mẫu sạch bật chồi đạt 77,78%, thời gian bật chồi là 28 ngày. Chồi Hoa tiên được nhân nhanh trên môi trường MS bổ sung 0,9 mg/l thidiazuron (TDZ), 30 g/l đường sucrose, 7 g/l agar cho 100% mẫu tạo đa chồi, hệ số nhân chồi trung bình đạt 9,13 lần và chiều cao chồi trung bình đạt 3,9 cm. Bổ sung α -NAA ở nồng độ 1,75 mg/l và IBA ở nồng độ 0,5 mg/l vào môi trường MS cho 86,67% chồi ra rễ, số rễ trung bình là 2,77 và chiều dài rễ trung bình đạt 0,65 cm. Kết quả cho thấy, khả năng ứng dụng phương pháp nuôi cấy *in vitro* vào nhân giống cây Hoa tiên, tạo ra số lượng cây giống lớn, chất lượng cao cung ứng cho nhu cầu trồng và phát triển loài cây dược liệu quý này.

Từ khóa: *Asarum glabrum*, *Aristolochiaceae*, bảo tồn, Hoa tiên, *in vitro*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa tiên (*Asarum glabrum* Merr.), họ Mộc hương (Aristolochiaceae) là loài cây thảo sống nhiều năm, cao 20 - 30 cm; thân rễ tròn có đốt, mang nhiều rễ phụ dài, có thể phân nhánh; lá mọc so le, phiến lá mỏng, gốc hình tim, đầu nhọn, có lông phần gân ở mặt dưới của lá. Rễ và thân rễ của chúng dùng làm thuốc ho, chữa viêm họng, hoa làm thuốc bổ [1, 2]. Ngoài phân bố ở Trung Quốc (Quảng Đông, Giang Tây, Hồ Nam, Hồ Bắc), chúng còn có phân bố tự nhiên tại một số tỉnh ở miền Bắc của Việt Nam như: Lai Châu, Lào Cai, Hà Giang, Tuyên Quang, Thái Nguyên, Vĩnh Phúc, Quảng Ninh, Hà Nội [1, 3, 4]. Nhìn chung, Hoa tiên là loài đặc biệt ưa ẩm, ưa bóng; thường mọc trên đất nhiều mùn dọc theo hành lang khe suối, dưới tán rừng kín thường xanh ẩm, ở độ cao 1.000 - 1.600 m so với mực nước biển [1]. Tuy Hoa tiên có khu phân bố rộng, nhưng mức độ phân bố rải rác, điều này dẫn đến khả năng tái sinh bằng hạt của

loài kém...Chính vì vậy, Hoa tiên được xếp vào hạng sẽ nguy cấp (VU A1c,d) trong Sách Đỏ Việt Nam (2007) [1].

Hiện nay, việc nghiên cứu Hoa tiên ở Việt Nam chủ yếu tập trung vào phân tích thành phần hóa học [5]. Các nghiên cứu về nhân giống cây Hoa tiên nói chung và nhân giống *in vitro* nói riêng còn khá hạn chế [2]. Do vậy, nghiên cứu nhân giống cây Hoa tiên (*Asarum glabrum* Merr.) bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* là cần thiết, góp phần vào công tác bảo tồn và phát triển loài cây dược liệu quý này ở Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là các đoạn thân Hoa tiên được thu thập tại Vườn Quốc gia Ba Vì, Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tạo mẫu sạch: Các đoạn thân Hoa tiên được rửa sạch bề mặt bằng nước xà phòng loãng, sau đó

được tráng sạch xà phòng dưới vòi nước chảy, rồi được rửa trong nước cất vô trùng 2 - 3 lần trước khi được khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,1% với các thời gian khác nhau (từ 3 - 9 phút). Cuối cùng, mẫu vật được rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 - 5 lần. Mẫu vật sau khi khử trùng được cắt thành những đoạn có kích thước từ 3 - 5 cm (chứa một mắt ngủ) và được cấy vào môi trường nuôi cấy khởi động (MS có bổ sung 30 g/l sucrose và 7 g/l agar). Kết quả được thu thập sau 8 tuần vào mẫu theo các chỉ tiêu: Tỷ lệ mẫu sạch, tỉ lệ mẫu sạch bật chồi và thời gian bắt đầu bật chồi.

Nhân nhanh chồi: Cắt những chồi có chiều cao 1 - 1,5 cm cấy chuyển sang môi trường MS có bổ sung 6-Benzylaminopurine (BAP) từ 0 - 0,75 mg/l hoặc thydiazuron (TDZ) ở các nồng độ từ 0 - 1,1 mg/l và 30 g/l đường sucrose, 7 g/l agar. Số liệu được thu thập sau 8 tuần nuôi cấy, theo các chỉ tiêu: Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%), hệ số nhân chồi (lần), chiều cao chồi trung bình (cm) và chất lượng chồi.

Tạo cây hoàn chỉnh: Những chồi đạt tiêu chuẩn với chiều cao từ 3 - 5 cm, có từ 1 - 2 lá màu lục đậm được cấy chuyển sang môi trường ra rễ: MS có bổ sung 0,5 mg/l IBA kết hợp với 0,5 - 2,5 mg/l α-NAA, 25 g/l sucrose, 7 g/l agar. MS không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng được xem như

công thức đối chứng trong thí nghiệm này. Số liệu được thu thập sau 6 tuần nuôi cấy, theo các chỉ tiêu: Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%), chiều dài rễ trung bình (cm), số rễ trung bình trên mẫu và chất lượng rễ.

Tất cả các môi trường nuôi cấy được chuẩn độ bằng NaOH 1N đạt giá trị pH = 5,8 ± 0,1. Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhiệt độ 25 ± 2°C, cường độ chiếu sáng 2.000 lux, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày. Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần mỗi lần 30 mẫu.

Phân tích số liệu: Số liệu thu thập được xử lý phần mềm Excel và bằng phần mềm SPSS version 22.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả tạo mẫu sạch *in vitro*

Tạo mẫu sạch là bước khởi đầu, góp phần vào sự thành công của một quy trình nhân giống bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*. Điều quan trọng nhất trong quá trình tạo mẫu sạch là tìm được công thức khử trùng thích hợp cho tỉ lệ mẫu sạch có khả năng tái sinh chồi cao nhất. Trong nghiên cứu này HgCl₂ 0,1% được dùng làm hóa chất khử trùng với thời gian khử trùng khác nhau. Hiệu quả của các công thức khử trùng được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng thời gian sử dụng HgCl₂ 0,1% lên khả năng khử trùng và tạo mẫu sạch chồi ngủ Hoa tiên

Công thức thí nghiệm	Thời gian (phút)	Tỉ lệ mẫu sạch (%)	Tỉ lệ mẫu sạch bật chồi (%)	Thời gian bật chồi (ngày)
KT1	3	42,22	33,67	23
KT2	5	60,00	55,56	25
KT3	7	81,11	77,78	28
KT4	9	87,78	60,00	32
Sig		0,001		

Nghiên cứu cho thấy cả 4 công thức thí nghiệm đều cho tỉ lệ mẫu sạch > 42% chứng tỏ HgCl₂ 0,1% là chất khử trùng phù hợp với Hoa tiên. Tuy nhiên, giữa 4 công thức thí nghiệm có sự khác biệt nhau khá rõ rệt. Tỉ lệ mẫu sạch bật chồi cao nhất là ở công thức KT3 (sử dụng HgCl₂ 0,1% trong 7 phút) đạt 77,78%, trong khi ở KT1 có tỉ lệ bật

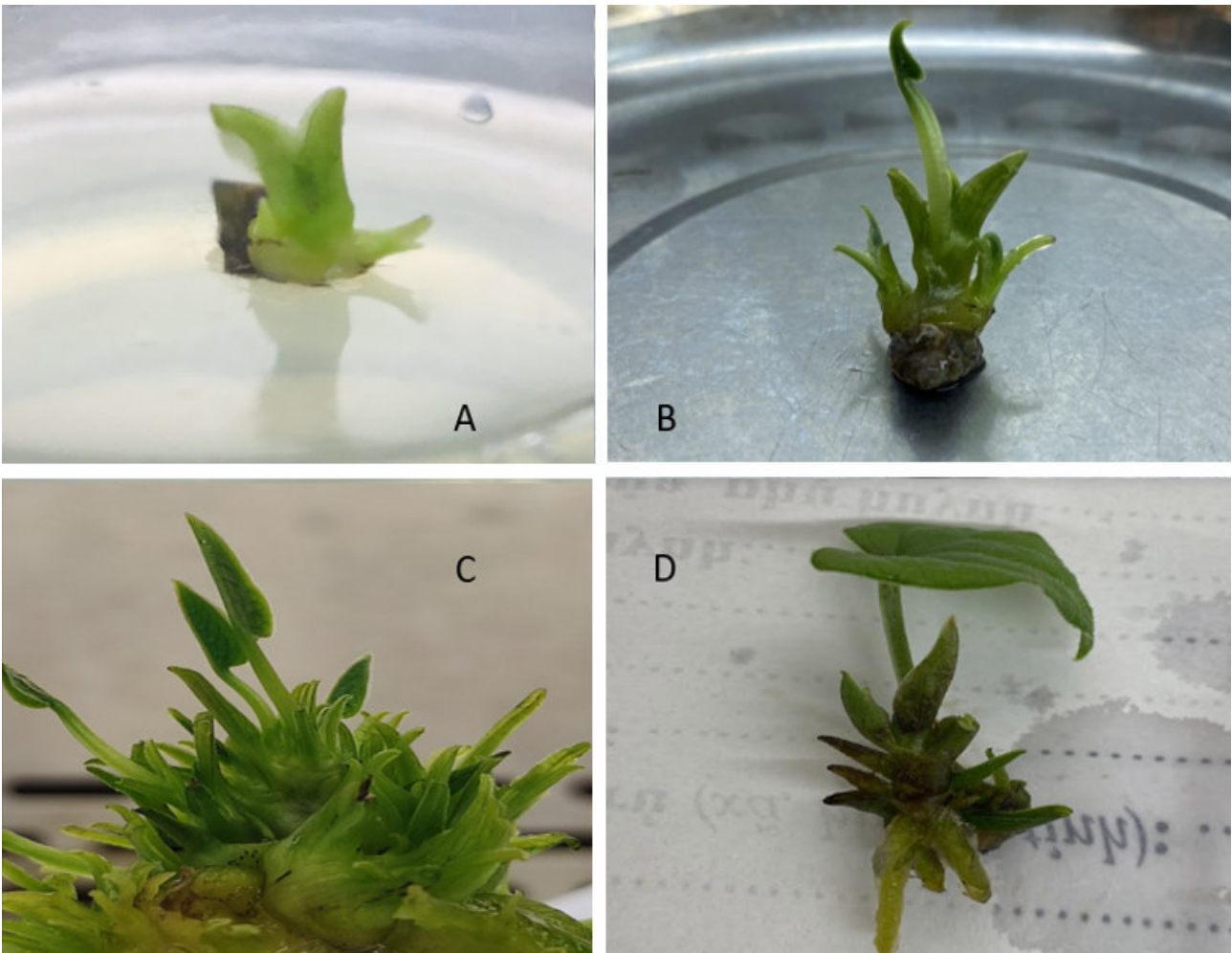
chồi thấp nhất đạt 33,67%. Nếu đối chiếu giữa thời gian khử trùng với tỉ lệ mẫu sạch và thời gian bật chồi thì chúng hoàn toàn hợp lý. Tuy nhiên, điều này lại không hợp lý với tỉ lệ mẫu sạch bật chồi bởi với thời gian khử trùng là 9 phút thì tỉ lệ mẫu sạch bật chồi lại giảm xuống còn 60%. Điều này có thể được lý giải là khi kéo dài thời gian sử dụng HgCl₂

0,1% giúp làm sạch mẫu hơn nhưng đồng thời cũng gây độc và giảm sức sống của đoạn thân mang mắt ngủ dẫn đến giảm tỉ lệ mẫu sạch bột chồi.

Thời gian chồi ngủ bột chồi càng ngắn thì càng tăng hiệu quả của phương pháp nuôi cấy *in vitro* (KT1 và KT2 chỉ với 23 - 25 ngày). Ở KT3 và KT4, thời gian bột chồi kéo dài hơn (từ 28 - 32 ngày). Như vậy, HgCl₂ 0,1% ngoài tác dụng loại

trừ các tác nhân gây nhiễm mẫu còn làm giảm sức sống của thân chứa mắt ngủ.

Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian sử dụng HgCl₂ 0,1% khử trùng trong 7 phút thu được tỷ lệ mẫu sạch là 81,11%, tỷ lệ bột chồi là 77,78% và thời gian mẫu bột chồi là 28 ngày là phù hợp cho nhân giống *in vitro* loài Hoa tiên (Hình 1).



Hình 1. Cây Hoa tiên nuôi cấy *in vitro*

(A) Hoa tiên bột chồi sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường khời động; (B) Chồi Hoa tiên sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường HTB4; (C) Chồi Hoa tiên sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường TDC4; (D) Hoa tiên với lá và rễ sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường RBA4.

3.2. Kết quả ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên khả năng nhân nhanh chồi

Trong nuôi cấy *in vitro*, chất điều hòa sinh trưởng đóng vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy quá trình sinh trưởng và phát triển của mẫu cấy. Tùy thuộc vào từng loài và mục đích mà hàm lượng và loại chất điều hòa sinh trưởng được sử dụng trong nuôi cấy là khác nhau. Cytokinin được biết đến là một nhóm hoocmon thực vật làm

tăng sự phân chia tế bào và biệt hóa chồi bất định, việc tìm ra loại cytokinin và hàm lượng phù hợp nhất sẽ quyết định đến thành công của quá trình nuôi cấy. Do đó trong thí nghiệm này, mẫu cấy được thử nghiệm riêng lẻ trên từng môi trường chứa BAP từ 0 - 0,75 mg/l và môi trường chứa TDZ từ 0 - 1,1 mg/l. Kết quả đánh giá khả năng nhân nhanh của chồi trên các môi trường sau 8 tuần nuôi cấy.

3.2.1. Kết quả tác động của BAP lên khả năng nhân chồi Hoa tiên

Bảng 2 cho thấy, sự ảnh hưởng của BAP giữa các công thức thí nghiệm có sự khác biệt rõ rệt về các chỉ tiêu nghiên cứu. Các chồi *in vitro* được nuôi cấy trong môi trường nền MS + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar kết hợp BAP với nồng độ thay đổi (0; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 mg/l) có phản ứng khác nhau ở các công thức khác nhau (Bảng 2, Hình 1). Khi thay đổi nồng độ BAP đã ảnh hưởng đến hệ số nhân, sinh trưởng và phát triển của chồi Hoa tiên *in vitro*. Hệ số nhân chồi và chiều cao chồi tăng tỉ lệ thuận khi chồi được nuôi cấy

trên môi trường bổ sung BAP tại các nồng độ từ 0,1 - 0,5 mg/l. Hệ số nhân chồi cao nhất ở công thức HTB3, HTB4 và HTB5 (bổ sung 0,25; 0,5 hoặc 0,75 mg/l BAP), là 1,86 - 2,1 lần và chiều cao chồi cao nhất (1,95 - 2,66 cm) ở HTB2 và HTB3 và sai khác có ý nghĩa thống kê so với các công thức còn lại. Ở công thức có nồng độ BAP là 0,25 và 0,5 mg/l thì chất lượng chồi là tốt nhất. Do đó, công thức HTB4 với tỉ lệ mẫu tạo đa chồi đạt 80%, hệ số nhân chồi đạt 2,1 lần và chiều cao chồi trung bình đạt 2,66 cm là công thức phù hợp nhất nhân nhanh chồi Hoa tiên khi sử dụng chất điều hòa sinh trưởng BAP.

Bảng 2. Kết quả tạo cụm chồi Hoa tiên ở các nồng độ BAP khác nhau

Công thức thí nghiệm	BAP (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Chất lượng chồi
HTB1	0	36,67	1,43 ^a	0,92 ^a	Chồi ngắn, nhỏ,
HTB2	0,1	53,33	1,60 ^a	1,5 ^b	Chồi ngắn, nhỏ
HTB3	0,25	76,67	1,93 ^b	1,95 ^c	Chồi tốt, xanh
HTB4	0,5	80,00	2,10 ^b	2,66 ^d	Chồi tốt, xanh
HTB5	0,75	83,33	1,86 ^b	1,58 ^b	Chồi trung bình, thân mọng nước
Sig		0,0001	0,001	0,0001	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có kí tự theo sau giống nhau không có sự khác biệt về mặt thống kê với độ tin cậy P = 0,05 (Duncan's test).

3.2.2. Kết quả tác động của TDZ lên khả năng nhân chồi Hoa tiên

Kết quả bảng 3 cho thấy, sử dụng TDZ ở các nồng độ khác nhau ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số nhân, sinh trưởng và phát triển của chồi Hoa tiên *in vitro* và đều tốt hơn khi sử dụng chất điều hòa sinh trưởng BAP. Cụ thể hệ số nhân nhanh chồi tối thiểu là từ 3,13 lần trở lên, chiều cao chồi cũng được nâng lên rõ rệt so với môi trường sử dụng BAP khi chiều cao chồi đạt từ 1,95 - 3,9 cm. Hệ số nhân chồi cao nhất ở công thức TDC4 (bổ sung 0,9

mg/l) là 9,13 lần và chiều cao chồi cao nhất là 3,9 cm và sai khác có ý nghĩa thống kê so với các công thức còn lại. Khi nồng độ TDZ vượt mức 1 mg/l hiện tượng xoắn lá xảy ra ảnh hưởng đến khả năng tạo lá thật của cụm chồi. Vì vậy, TDZ có ảnh hưởng lớn đến khả năng tạo cụm chồi của mẫu nghiên cứu, nồng độ bổ sung 0,9 mg/l TDZ ở công thức TDC4 là phù hợp nhất khi cho hệ số nhân nhanh cao cũng như chất lượng chồi tốt, tạo nhiều lá thật.

Bảng 3. Kết quả tạo cụm chồi Hoa tiên ở các nồng độ TDZ khác nhau

Công thức thí nghiệm	TDZ (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Chất lượng chồi
ĐC	0	36,67	1,43 ^a	0,92 ^a	Chồi ngắn, nhỏ,

TDC1	0,3	66,67	3,13 ^b	1,95 ^b	Chồi nhỏ,
TDC2	0,5	80	3,77 ^c	2,87 ^c	Chồi trung bình
TDC3	0,7	90	6,23 ^d	3,15 ^d	Chồi tốt
TDC4	0,9	100	9,13 ^e	3,9 ^e	Chồi tốt, nhiều lá thật
TDC5	1,1	100	5,31 ^f	3,27 ^d	Chồi trung bình, lá xanh nhạt, nhiều lá xoắn
Sig		0,0001	0,0001	0,0001	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có kí tự theo sau giống nhau không có sự khác biệt về mặt thống kê với độ tin cậy $P = 0,05$ (Duncan's test); ĐC: Đối chứng.

3.3. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ IBA và α -NAA lên khả năng ra rễ của chồi Hoa tiên

Tỉ lệ sống và khả năng sinh trưởng, phát triển của cây con *in vitro* trong giai đoạn ngoài vườn ươm phụ thuộc rất nhiều vào chất lượng cũng như sức sống của chồi được tạo thành trong giai đoạn cảm ứng chồi *in vitro* tạo rễ. Mỗi loài có phản ứng riêng đối với chất cảm ứng tạo rễ và ở nồng độ khác nhau nhưng tất cả đều phải đảm bảo chồi phát triển tốt cho chất lượng rễ và số lượng rễ tốt nhất.

Theo các nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* về các loài cùng bộ và họ của loài Hoa tiên [6 - 9] thì α -NAA và IBA là chất cảm ứng chồi tạo rễ tốt nhất trong hầu hết các công thức được đưa ra. Do đó, thí nghiệm về khả năng ra rễ của chồi Hoa tiên được thử nghiệm trên các môi trường MS có bổ sung IBA nồng độ 0,5 mg/l và α -NAA ở các nồng độ từ 1 - 2 mg/l. Kết quả thu sau 6 tuần nuôi cấy và được tổng hợp ở bảng 4.

Bảng 4. Sự ảnh hưởng nồng độ của IBA và α -NAA lên khả năng cảm ứng chồi Hoa tiên ra rễ

Công thức thí nghiệm	IBA	α -NAA	Tỉ lệ chồi tạo rễ	Chiều dài rễ trung bình (cm)	Số rễ trung bình trên mẫu	Chất lượng rễ
ĐC	0	0	0	0	0	Không tạo rễ
RBA1	0,5	0,5	23,33	0,24 ^a	1,23 ^a	Trung bình
RBA2	0,5	1	40,00	0,49 ^b	1,53 ^b	Tốt
RBA3	0,5	1,5	63,33	0,56 ^c	2,28 ^c	Tốt
RBA4	0,5	2	86,67	0,65 ^d	2,77 ^d	Tốt
RBA5	0,5	2,5	87,67	0,48 ^b	2,89 ^d	Trung bình
Sig			0,0001	0,0001	0,0001	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có kí tự theo sau giống nhau không có sự khác biệt về mặt thống kê với độ tin cậy $P = 0,05$ (Duncan's test); ĐC: Đối chứng.

Trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, hầu hết các chồi *in vitro* không thể tự tổng hợp auxin như cây con ngoài tự nhiên nên việc bổ sung auxin phù hợp giúp tạo rễ cho cây là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này sử dụng 2 loại auxin là α -NAA và IBA. Sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường ra rễ có bổ sung 0,5 mg/l IBA và α -NAA với các nồng độ khác nhau. Kết quả cho thấy, nồng độ 0,5 mg/l IBA kết hợp 2 mg/l α -NAA cho khả năng ra rễ, sinh trưởng và phát triển chồi Hoa tiên tốt nhất trong số các nồng độ khảo sát và so với đối chứng. Tỷ lệ chồi cảm ứng tạo rễ đạt 86,67%, chiều dài rễ trung bình đạt 0,65 cm và số rễ trung bình trên mẫu đạt 2,77.

Bảng 4 cho thấy, công thức RBA4 bổ sung 0,5 mg/l IBA và 1,75 mg/l α -NAA cho tỷ lệ chồi tạo rễ là 86,67%, chiều dài rễ trung bình đạt 0,65 cm và số lượng rễ trung bình đạt 2,77 rễ/mẫu là phù hợp nhất để kích thích tạo cây hoàn chỉnh Hoa tiên.

4. KẾT LUẬN

Công thức khử trùng phù hợp với thân chứa chồi ngủ Hoa tiên là $HgCl_2$ 0,1% trong 7 phút cho tỷ lệ mẫu sạch là 81,11% và tỷ lệ thân chứa chồi ngủ nảy mầm 77,78% sau 28 ngày.

Môi trường nhân nhanh chồi Hoa tiên tốt nhất TDC4: MS + 0,9 mg/l TDZ + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar; cho tỷ lệ 100% mẫu tạo đa chồi, hệ số nhân chồi trung bình đạt 9,13 lần và chiều cao chồi trung bình đạt 3,9 cm sau 8 tuần nuôi cấy.

Môi trường nuôi cấy kích thích chồi *in vitro* Hoa tiên ra rễ tốt nhất sau 6 tuần: MS + 0,5 mg/l IBA + 1,75 mg/l α -NAA + 25 g/l sucrose + 7 g/l agar cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 86,67% sau 6 tuần nuôi cấy; số rễ trung bình trên cây là 2,77 rễ và chiều dài rễ trung bình là 0,65 (cm), rễ mập.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.03-2021.05 và Trường Đại học Lâm nghiệp. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của các cán bộ Vườn Quốc gia Ba Vì trong quá trình thu mẫu cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học và Công nghệ, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2007). *Sách Đỏ Việt Nam*. Phần II – Thực vật. Nxb Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
2. Trần Huy Thái, Nguyễn Thị Hiền, Đỗ Thị Minh, Nguyễn Anh Tuấn (2010). Thành phần hóa học của tinh dầu Hoa tiên (*Asarum glabrum* Merr.) ở Hà Giang, Việt Nam. *Tạp chí Sinh học*, 32(1): 94 - 96.
3. Nguyễn Tiến Bân (2005). *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*. Tập III. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
4. Võ Văn Chi (2004). *Từ điển thực vật thông dụng*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
5. Võ Văn Chi (2015). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nxb Y học, Hà Nội.
6. Bùi Thị Thanh Phương, Nguyễn Phương Lan, Đỗ Thị Kim Trang, Trần Bảo Trâm, Phan Xuân Bình Minh (2020). Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân giống *in vitro* cây Trầu tiên (*Asarum glabrum* Merr.). *Tạp chí Khoa học Tự nhiên*, 62(6): 19 - 23.
7. M. Remya, V. Narmatha Bai & V. N. Mutharaian (2013). *In vitro* regeneration of *Aristolochia tagala* and production of artificial seeds. *Biologia Plantarum*, 57: 210 - 218.
8. Abidemi James Akindele, Zahoor Wania Girish Mahajan, Sadhana Sharma, a Flora Ruth Aigbe, Naresh Satti, Olufunmilayo Olaide Adeyemi, b and Dilip Manikrao Mondhea (2015). Anticancer activity of *Aristolochia ringens* Vahl. (Aristolochiaceae). *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(1): 35 - 41.
9. D. Sivaraj, S. Shanmugam, M. Rajan (2018). Evaluation of *Aristolochia indica* L. and *Piper nigrum* L. methanol extract against centipede *Scolopendra moristans* L. using Wistar albino rats and screening of bioactive compounds by high pressure liquid chromatography: a polyherbal formulation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97: 1603 - 1612.

RESEARCH ON PROPAGATION OF *Asarum glabrum* Merr. BY *IN VITRO*

Cao Thi Viet Nga¹, Nguyen Thi Nhu Quynh¹, Nguyen Thi Tho¹, Vu Quang Nam¹

¹ *Vietnam National University of Forestry*

Summary

Asarum glabrum Merr. (Aristolochiaceae) is an herbaceous plant used as a cough medicine, sore throat medicine and tonic, etc. They are being overexploited for their needs in domestic demand and selling across borders. Besides, deforestation also destroys their habitat. *Asarum glabrum* is ranked as Vulnerable (VU A1c,d) in the Vietnam Red Data Book (2007). Therefore, it is extremely necessary to apply *in vitro* propagation method - an advanced propagation method for *Asarum glabrum*. The results show that *Asarum glabrum*'s segments were sterilized with 0.1% HgCl₂ for 7 minutes, resulting in a clean sample rate of 81.11% and a clean sample budding rate of 77.78% with 28 days. Its shoots were rapidly multiplied on Murashige & Skoog (MS) medium supplemented with 0.9 mg/l thidiazuron (TDZ), 30 g/l sucrose, 7 g/l agar for 100% of samples to create multiple shoots with the average shoot multiplication coefficient of 9.13 times and the average shoot height is 3.9 cm. Adding α -NAA at a concentration of 1.75 mg/l and IBA at a concentration of 0.5 mg/l to MS medium resulted in 86.67% of shoots taking root, with an average number of 2.77 roots and the average length of 0.65 cm. Initial research results show the possibility of applying *in vitro* methods to propagating the *Asarum glabrum*, creating a large number of high-quality sapplings to supply the needs of growing and developing precious medicinal plants.

Keywords: *Asarum glabrum*, *Aristolochiaceae*, *conservation*, *in vitro*.

Ngày nhận bài: 26/4/2024

Ngày chuyển phản biện: 7/5/2024

Ngày thông qua phản biện: 24/5/2024

Ngày duyệt đăng: 10/6/2024

ĐẶC TÍNH HÌNH THÁI VÀ HOÁ HỌC CỦA PHẪU ĐIỆN ĐẤT CANH TÁC LÚA TẠI THỊ XÃ LONG MỸ, TỈNH HẬU GIANG

Trần Thị Thùy Trang¹, Phan Chí Nguyễn², Nguyễn Tuấn Anh³,
Trần Trọng Khôi Nguyễn³, Nguyễn Đức Trọng³, Nguyễn Quốc Khương^{3,*}

¹Học viên cao học ngành Khoa học cây trồng Khóa 29, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²Bộ môn Tài nguyên Đất đai, Khoa Môi trường và Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

³Khoa Khoa học cây trồng, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Email: nqkhuong@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu xác định đặc điểm hình thái và đặc tính hóa học của phễu điện đất canh tác lúa tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang. Mô tả đặc tính hình thái dựa trên bảng so màu đất Munsell trong điều kiện đồng ruộng và phân tích đặc tính hóa học của 5 phễu điện đất trồng lúa trong điều kiện phòng thí nghiệm. Dựa vào đặc tính hình thái, đất canh tác lúa được xác định phù hợp cho việc phát triển cây lúa, với độ sâu xuất hiện tầng chứa vật liệu sinh phèn ở rất sâu (>100 cm so với mặt đất), các phễu điện thuộc nhóm đất phù sa và có tầng Mollic. Tên đất phân loại theo hệ thống phân loại của FAO-WRB (2006) là Molli Gleysols (Bathi Proto Thionic) - Glmo(dtíp). Kết quả phân tích đặc tính hóa học cho thấy, pH_{KCl} tầng mặt của 5 phễu điện dao động 3,01 - 6,15, được đánh giá ở ngưỡng chua. Hàm lượng đạm tổng số (0,126 - 0,406%) được đánh giá ở mức trung bình và hàm lượng P tổng số (0,014 - 0,042%) được đánh giá ở mức nghèo. Hàm lượng đạm hữu dụng và P dễ tiêu được xác định lần lượt là 43,9 - 264,3 mg NH₄⁺ kg⁻¹ và 0,11 - 25,6 mg P kg⁻¹ đất. Hàm lượng độc chất Fe²⁺ và Al³⁺ lên đến 88 mg Fe²⁺ kg⁻¹ đất và 3,38 meq Al³⁺ 100 g⁻¹ đất, theo thứ tự. Hàm lượng chất hữu cơ được đánh giá ở mức trung bình cao. Khả năng trao đổi cation ở mức thấp.

Từ khóa: Đất phèn, đất Gleysols, lúa, đặc tính đất.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, tình trạng sử dụng phân bón hoá học cao hơn khuyến cáo do thâm canh lúa có tiềm năng gây chua hoá đất, giảm chất lượng đất [1], cùng với việc canh tác lúa trên đất phèn gắn liền với các trở ngại từ độc chất Al³⁺, Fe²⁺ cao và pH thấp [2], [3]. Điều này không chỉ ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của cây lúa [4] mà còn làm giảm hiệu quả sử dụng phân lân vì hình thành các hợp chất khó tan AlPO₄.2H₂O và FePO₄.2H₂O [5]. Do đó, nhiều biện pháp được thực hiện để cải thiện hiệu quả sử dụng phân bón như hợp chất dicarboxylic axit polyme [6], [7], [8], các biện pháp giảm độ chua như sử dụng giống kháng

nhôm, sắt, vi khuẩn có lợi, bón vôi [9], [10] hay sử dụng hệ thống thuỷ lợi [11]. Tuy nhiên, các biện pháp này có thể gây ra sự thay đổi về đặc điểm hình thái và tính chất hóa học đất. Kết quả nghiên cứu của Guan và cs (2020) [12], da Silva và cs (2022) [13] thường chỉ chú trọng vào các tính chất của đất ở tầng đất mặt mà ít chú trọng đến tính chất và hình thái của đất ở các tầng đất bên dưới. Do đó, nghiên cứu đặc điểm hình thái phễu điện và đánh giá các tính chất hoá học của nhóm đất canh tác lúa tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang được thực hiện để hướng đến việc đưa ra khuyến cáo các biện pháp khai thác sử dụng đất canh tác lúa hợp lý.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Vật liệu**

Địa điểm và thời gian: Nghiên cứu được thực hiện tại vùng đất canh tác lúa ở xã Tân Phú, xã Long Phú, xã Long Bình, phường Thuận An, phường Bình Thạnh, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang từ tháng 12/2022 đến 3/2023.

Dụng cụ: Khoan có độ sâu 2,0 m, bảng so màu đất Munsell, giấy đo pH và dung dịch H_2O_2 , dao có mũi nhọn.

Chỉ tiêu theo dõi: Các đặc tính hóa học đất được xác định gồm pH (đất: chất trích là 1: 5, với chất trích là H_2O và KCl), EC, chất hữu cơ, N tổng số, N hữu dụng dạng NH_4^+ , P tổng số, P dễ tiêu, các thành phần P bao gồm Al-P, Fe-P, Ca-P, Al^{3+} , Fe^{2+} , khả năng trao đổi cation (CEC), các cation trao đổi (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}), Fe tổng số và Fe_2O_3 .

2.2. Phương pháp

Phương pháp mô tả đặc tính hình thái đất: Mẫu đất được mô tả theo phương pháp của FAO (2006a) [14] bằng cách khoan phẫu diện đất đến độ sâu 2,0 m để xác định các đặc tính hình thái dựa trên bảng so màu đất Munsell.

Phương pháp phân loại đất: Phân loại đất theo hệ thống phân loại FAO (2006b) [15] từ tầng chẩn đoán và đặc tính chẩn đoán.

Phương pháp thu mẫu đất và xử lý mẫu đất: Mẫu đất được thu theo tầng phát sinh để phân tích các đặc tính hóa học. Mỗi tầng đất thu khoảng 500,0 g, mang về phòng thí nghiệm. Đất được phơi khô tự nhiên trước khi nghiền qua rây có kích thước 0,5 và 2,0 mm.

Phương pháp phân tích mẫu đất: Theo Sparks và cs (1996) [16], các phương pháp phân tích được tóm tắt như sau: pH_{H_2O} và pH_{KCl} được trích tỷ lệ đất: nước ở tỷ lệ 1: 5 và đất: KCl 1,0 M (cùng tỷ lệ 1: 5), sau đó dung dịch trích được đo bằng pH kế. Dung dịch trích đo pH_{H_2O} được sử dụng để đo EC bằng EC kế. Đạm tổng số được vô cơ bằng hỗn hợp H_2SO_4 đậm đặc- $CuSO_4$ -Se, tỷ lệ: 100-10-1 và xác định bằng phương pháp chưng cất Kjeldahl. Đạm hữu dụng được xác định bằng phương pháp blue phenol ở bước sóng 640 nm. P tổng số được

chuyển sang dạng vô cơ bằng hợp chất H_2SO_4 đậm đặc- $HClO_4$, hiện màu bằng ascorbic axit ở bước sóng 880 nm. Thành phần P trong đất gồm Al-P, Fe-P và Ca-P được trích bằng các hợp chất theo thứ tự sau NaOH 0,1 M, NH_4F 0,5 M và H_2SO_4 0,25 M. P dễ tiêu (Bray II) được xác định bằng phương pháp trích đất với hỗn hợp 0,1 N HCl + 0,03 N NH_4F , tỷ lệ đất: nước bằng 1: 7. Để xác định nhôm trao đổi, đất được trích bằng KCl 1,0 N và xác định bằng phương pháp quang phổ ở bước sóng 395 nm. Fe^{2+} được trích bằng KCl 1,0 M và đo bằng phương pháp so màu ở bước sóng 510 nm. Fe_2O_3 được trích bằng oxalate-oxalic axit để đo trên máy hấp thụ nguyên tử. Fe tổng được vô cơ hóa và đo ở bước sóng 248,3 nm. Các bon hữu cơ trong đất (OC) được đo theo phương pháp Walkley-Black, oxy hoá bằng H_2SO_4 đậm đặc- $K_2Cr_2O_7$ trước khi chuẩn độ bằng $FeSO_4$ 0,5 N. Sau đó, chất hữu cơ trong đất được tính bằng công thức: $OM = OC \times 1,724$ (với 1,724 được qui đổi từ hàm lượng các bon hữu cơ trong đất là 58% theo hệ số Van Bemmelen). Đất được trích bằng $MgSO_4$ 0,02 M, chuẩn độ với EDTA 0,01 M để xác định khả năng trao đổi cations (CEC). Hàm lượng K^+ , Na^+ , Ca^{2+} và Mg^{2+} trích bằng $BaCl_2$ 0,1 M, được xác định trên máy hấp thụ nguyên tử.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**3.1. Đặc điểm hình thái của các phẫu diện đất canh tác lúa tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang****3.1.1. Đặc điểm hình thái của phẫu diện đất phèn canh tác lúa TXLM01**

Phẫu diện đất phèn canh tác lúa tại phường Thuận An, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang (tọa độ: X-9.679482; Y-105.577226), được ký hiệu TXLM01. Hiện trạng vào thời điểm thu mẫu là đất lúa 10 ngày tuổi trên nền đất lúa 2 vụ. Dựa vào tầng phát sinh, phẫu diện được phân chia thành bốn tầng chính với các đặc điểm được mô tả trong bảng 1. Phẫu diện đất này thuộc nhóm đất Gleysols, có vật liệu sinh phèn xuất hiện rất sâu và có tầng Mollic, với tên phân loại theo hệ thống phân loại đất FAO-WRB (2006) là Molli Gleysols (Bathi Proto Thionic), ký hiệu Glmo(dtíp).

Bảng 1. Đặc điểm hình thái của các phẫu diện đất phèn canh tác lúa TXLM01 tại phường Thuận An, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang

Tầng đất	Độ sâu (cm)	Mô tả
Ap	0 - 25	Đất có nền màu đen (5Y 2.5/1); sa cấu sét pha, ẩm, dẻo dính trung bình; bán thuần thực (r); rễ thực vật trung bình, tươi; có nhiều chất hữu cơ ở dạng phân hủy khuếch tán trong nền đất, chuyển tầng rõ.
Bg1	25 - 70	Đất có nền màu xám (Gley 1 6/N); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính nhiều; bán thuần thực (r); có ít rễ thực vật, tươi và ít chất hữu cơ ở dạng phân hủy. Có sự xuất hiện của đốm rỉ dạng ống khoảng 3%, đốm rỉ có màu vàng nâu nhạt (10YR 6/8), chuyển tầng rõ.
Bg2	70 - 125	Đất có nền màu xám (7.5YR 5/1); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính nhiều; bán thuần thực (r); tầng đất chứa ít chất hữu cơ ở dạng phân hủy; đốm rỉ chiếm khoảng 1 - 3%, ở dạng ống và đốm rỉ có màu nâu đen sẫm (7.5YR 2.5/2); chuyển tầng rõ.
Cr	≥ 125	Tầng đất có nền màu nâu (7.5YR 4/2); sa cấu thịt pha sét, ẩm, ít dẻo dính; bán thuần thực (r); có chứa ít chất hữu cơ ở dạng phân hủy đến bán phân hủy lẫn trong nền đất; tầng đất có chứa vật liệu sinh phèn ($pH_{H_2O_2} < 2$).

3.1.2. Đặc điểm hình thái của phẫu diện đất canh tác lúa TXLM02

Phẫu diện đất phèn canh tác lúa TXLM02 tại phường Bình Thạnh, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang (Tọa độ: X-9.720041; Y-105.592903). Là đất canh tác 2 vụ lúa, hiện trạng vào thời

điểm thu mẫu đất lúa 7 ngày tuổi. Dựa vào tầng phát sinh, phẫu diện được phân chia thành bốn tầng chính với các đặc điểm được mô tả trong bảng 2. Phẫu diện đất này thuộc nhóm đất Gleysols và có tầng Mollic, tên Molli Gleysols, ký hiệu GLmo.

Bảng 2. Đặc điểm hình thái của các phẫu diện đất canh tác lúa TXLM02 tại phường Bình Thạnh, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang

Tầng đất	Độ sâu (cm)	Mô tả
Ap	0 - 25	Đất có nền màu đen (5Y 2.5/1); sa cấu thịt pha sét, ẩm, tính dẻo dính ít; bán thuần thực (r); rễ thực vật trung bình, tươi; có ít chất hữu cơ ở dạng phân hủy và bán phân hủy, chất hữu cơ khuếch tán trong nền đất; chuyển tầng rõ.
Bg1	25 - 50	Đất có nền màu xám nâu sẫm (10YR 3/1); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính cao; bán thuần thực (r); có ít rễ thực vật, tươi và ít chất hữu cơ ở dạng phân hủy. Có sự xuất hiện của đốm rỉ dạng ống rễ, đốm rỉ chiếm khoảng 2 - 3%, đốm rỉ có màu đỏ vàng nhạt (5YR 5/8) và màu vàng oliu (2.5Y 6/8); chuyển tầng rõ.
Bg2	50 - 100	Đất có nền màu xám sẫm (Gley 1 4/N); sa cấu thịt pha sét, ẩm, tính dẻo dính trung bình; bán thuần thực (r); tầng đất chứa ít chất hữu cơ ở dạng phân hủy và bán phân hủy; chuyển tầng rõ.
Bg3	>100	Tầng đất có nền màu xám (Gley 1 6/N); sa cấu sét, ẩm, dẻo dính trung bình; bán thuần thực (r); tầng đất có khoảng 2% đốm rỉ ở dạng ống rễ, đốm rỉ có màu nâu sẫm (7.5YR 3/3).

3.1.3. Đặc điểm hình thái của phẫu diện đất phèn canh tác lúa TXLM03

Phẫu diện đất phèn canh tác lúa (TXLM03) tại xã Long Bình, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang (Tọa độ: X-9.724642; Y-105.604783), là đất canh tác 2 vụ lúa, hiện trạng là chuẩn bị sạ vào thời điểm thu mẫu. Dựa vào tầng phát sinh, phẫu diện được

phân chia thành 4 tầng chính với các đặc điểm được mô tả trong bảng 3. Phẫu diện đất này thuộc nhóm đất Gleysols, có chứa vật liệu sinh phèn rất sâu và có tầng Mollic. Tên phân loại theo hệ thống phân loại đất của FAO-WRB (2006) là Molli Gleysols (Bathi Proto Thionic) và có ký hiệu là Glmo(dtíp).

Bảng 3. Đặc điểm hình thái của các phẫu diện đất phèn canh tác lúa tại xã Long Bình, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang (TXLM03)

Tầng đất	Độ sâu (cm)	Mô tả
Ap	0 - 40	Đất có nền màu đen (5Y 2.5/1); sa cấu sét pha thịt, ẩm, dẻo dính trung bình; bán thuần thực (r); rễ thực vật trung bình, tươi; có nhiều chất hữu cơ ở dạng phân hủy khuếch tán trong nền đất, chuyển tầng rõ.
Bg1	40 - 60	Đất có nền màu xám xanh sáng (Gley 1 7/5G); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính trung bình; bán thuần thực (r); có ít rễ thực vật, tươi và ít chất hữu cơ ở dạng phân hủy; chuyển tầng rõ.
Bg2	60 - 120	Đất có nền màu xám sáng (2.5Y 7/1); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính cao; bán thuần thực (r); đóm rỉ chiếm khoảng 3 - 5%, đóm rỉ có dạng đóm, ống rễ và dạng ổ, đóm rỉ có màu đỏ (2.5YR 4/8) và nâu vàng nhạt (10YR 5/8); chuyển tầng rõ.
Cr	>120	Tầng đất có nền màu xám (5Y 5/1); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính trung bình; bán thuần thực (r); tầng đất có chứa vật liệu sinh phèn ($pH_{H_2O_2} < 2$).

3.1.4. Đặc điểm hình thái của phẫu diện đất phèn canh tác lúa TXLM04

Phẫu diện đất phèn canh tác lúa tại xã Tân Phú, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang Tọa độ: X-9.668357; Y-105.630549 (ký hiệu TXLM04). Là đất canh tác 2 vụ lúa, hiện trạng vào thời điểm thu mẫu đất lúa 7 ngày tuổi. Dựa vào tầng phát sinh,

phẫu diện được phân chia làm 4 tầng chính với các đặc điểm được mô tả trong bảng 4. Phẫu diện đất TXLM04 thuộc nhóm đất Gleysols, có chứa vật liệu sinh phèn rất sâu (phèn tiềm tàng) và có tầng Mollic. Tên phân loại theo hệ thống phân loại đất của FAO-WRB (2006) [14, 15] là Molli Gleysols (Bathi Proto Thionic) và có ký hiệu là Glmo(dtíp).

Bảng 4. Đặc điểm hình thái của các phẫu diện đất phèn canh tác lúa tại xã Tân Phú, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang (TXLM04)

Tầng đất	Độ sâu (cm)	Mô tả
Ap	0 - 25	Đất có nền màu đen (5Y 2.5/1); sa cấu thịt pha sét, ẩm, dẻo dính trung bình; bán thuần thực (r); rễ thực vật trung bình, tươi; có nhiều chất hữu cơ ở dạng phân hủy và bán phân hủy, chất hữu cơ phân hủy được khuếch tán trong nền đất; chuyển tầng rõ.
Bg1	25 - 70	Đất có nền màu xám sẫm (2.5Y 4/1); sa cấu thịt pha sét, ẩm, tính dẻo dính trung bình; bán thuần thực (r); rễ thực vật trung bình, tươi; chất hữu cơ trung bình ở dạng phân hủy và bán phân hủy; chuyển tầng rõ.

Bg2	70 - 130	Đất có nền màu xám (10YR 5/1); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính cao; bán thuần thực (r); ít chất hữu cơ ở dạng phân hủy; đốm rỉ chiếm khoảng 1%, đốm rỉ có dạng ống rỗng, đốm rỉ có màu nâu oliu sẫm (2.5Y 3/3); chuyển tầng rõ.
Cr	>130	Tầng đất có nền màu xám xanh nhạt (Gley 2 6/10B); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính trung bình; bán thuần thực (r); tầng đất có chứa vật liệu sinh phèn ($pH_{H_2O_2} < 2$).

3.1.5. Đặc điểm hình thái của phẫu diện đất phèn canh tác lúa TXLM05

Phẫu diện đất phèn canh tác lúa tại xã Long Phú, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang Tọa độ: X-9.6600360; Y-105.6172400 ký hiệu TXLM05. Là đất canh tác 2 vụ lúa, hiện trạng vào thời điểm thu mẫu đất lúa 7 ngày tuổi. Dựa vào tầng phát sinh,

phẫu diện được phân chia làm bốn tầng chính với các đặc điểm được mô tả trong bảng 5. Phẫu diện đất này thuộc nhóm đất Gleysols, có chứa vật liệu sinh phèn rất sâu và có tầng Mollic. Tên phân loại theo hệ thống phân loại đất của FAO-WRB (2006) là Molli Gleysols (Bathi Proto Thionic) và có ký hiệu là Glmo(dtíp).

Bảng 5. Đặc điểm hình thái của các phẫu diện đất phèn canh tác lúa tại xã Long Phú, thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang (TXLM05)

Tầng đất	Độ sâu (cm)	Mô tả
Ap	0 - 20	Đất có nền màu đen (5Y 2.5/1); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính ít; bán thuần thực (r); rễ thực vật nhiều, tươi; có nhiều chất hữu cơ ở dạng phân hủy, chất hữu cơ khuếch tán trong nền đất, chuyển tầng rõ.
Bg1	20 - 50	Đất có nền màu xám sẫm (2.5Y 4/1); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính cao; bán thuần thực (r); có ít rễ thực vật, tươi và chất hữu cơ trung bình ở dạng phân hủy; có sự xuất hiện của đốm rỉ dạng ống rỗng, đốm rỉ chiếm khoảng 3%, đốm rỉ có màu đỏ vàng nhạt (5YR 5/8) và nâu vàng nhạt (10YR 5/8), chuyển tầng rõ.
Bg2	50 - 110	Đất có nền màu xám (7.5YR 6/1); sa cấu sét, ẩm, tính dẻo dính trung bình; bán thuần thực (r) đến thuần thực (R); tầng đất có khoảng 3% đốm rỉ dạng ổ, đốm rỉ có màu vàng đỏ nhạt (5YR 6/8) và đỏ (2.5YR 5/8); chuyển tầng rõ.
Cr	>110	Tầng đất có nền màu xám sáng (5Y 7/1); sa cấu sét, ẩm, dẻo dính trung bình; thuần thực (R).

Nhìn chung, về mặt hình thái đất của các phẫu diện khảo sát tại thị xã Long Mỹ, phù hợp cho sự phát triển của cây lúa bởi độ sâu xuất hiện của tầng chứa vật liệu sinh phèn hầu hết xuất hiện ở độ sâu dưới 100 cm so với mặt đất và không hoặc rất ít ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển đối với quá trình canh tác lúa.

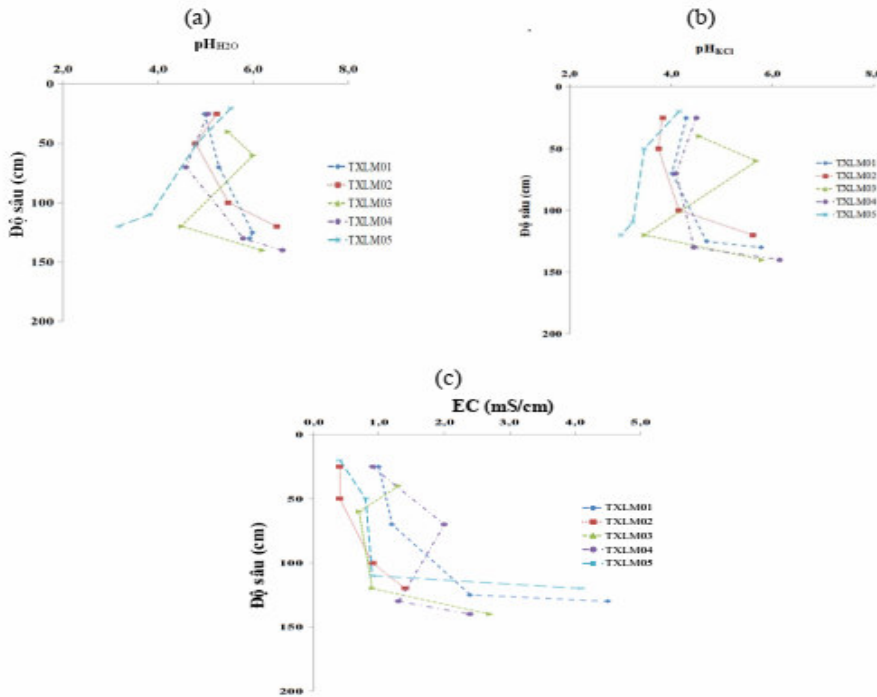
3.2. Đặc tính hoá học của phẫu diện đất canh tác lúa tại thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang

3.2.1. pH đất và hàm lượng độc chất Al^{3+} , Fe^{2+} trong đất canh tác lúa

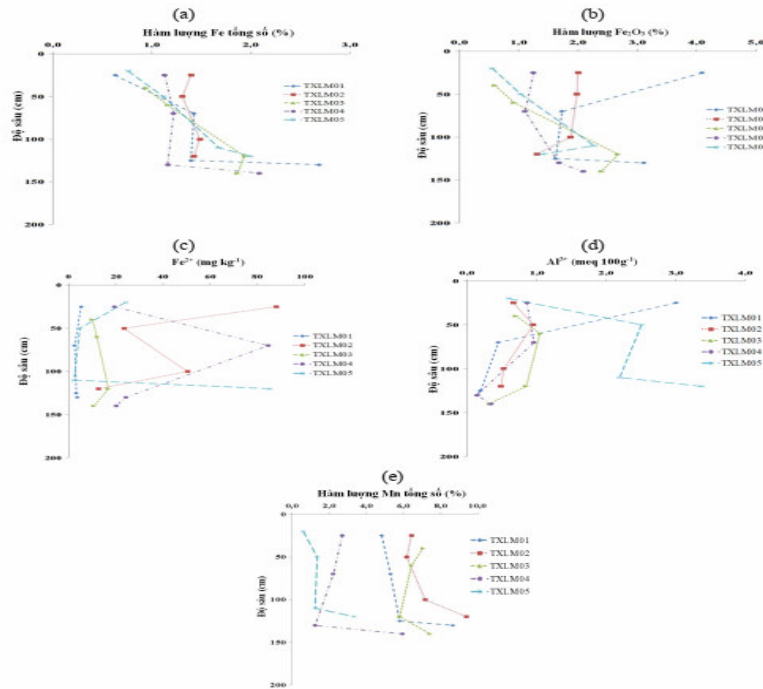
Mẫu đất canh tác lúa khác nhau thu từ 5 địa điểm tại thị xã Long Mỹ có giá trị pH_{H_2O} đất biến động ở các tầng đất lần lượt là 4,98 - 5,99, 4,79 - 6,49, 4,49 - 6,19, 4,59 - 6,62 và 3,17 - 5,54 (Hình 1a).

Các giá trị này cho thấy, pH được đánh giá thấp chỉ ở mức độ chua theo thang đánh giá của Horneck và cs (2011) [17]. Tương tự, độ chua tiềm tàng (pH_{KCl}) của các phẫu diện cũng được ghi nhận 4,02 - 5,78, 3,75 - 5,61, 3,48 - 5,79, 4,10 - 6,15

và 3,01 - 4,16 (Hình 1b). Tuy nhiên, phẫu diện TXLM05 có giá trị pH_{KCl} là 3,01 - 4,16 được đánh giá là rất chua. Các phẫu diện còn lại đều có giá trị lớn hơn 4,0. Ngoài ra, độ dẫn điện của các phẫu diện có giá trị 0,40 - 4,50 (mS/cm) (Hình 1c).



Hình 1. Giá trị pH_{H_2O} (a), pH_{KCl} (b) và độ dẫn điện (c) ở đất canh tác lúa tại thị xã Long Mỹ



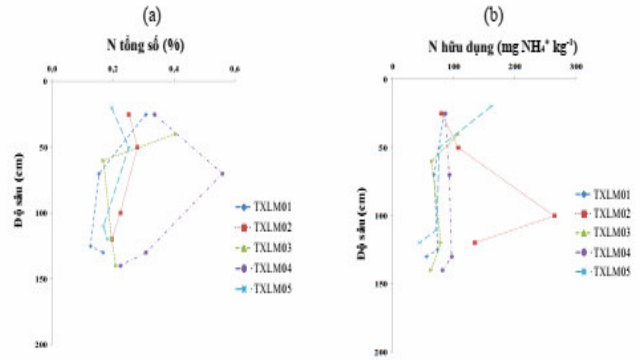
Hình 2. Hàm lượng Fe tổng số (a), Fe_2O_3 (b), Fe^{2+} (c), Al^{3+} (d) và Mn tổng số (e) trong các phẫu diện đất canh tác lúa tại thị xã Long Mỹ

Hàm lượng Fe tổng số ở các phẫu diện dao động ở tầng mặt là 0,63 - 1,40% và ở các tầng bên dưới là 1,12 - 2,69% (Hình 2a). Tương tự, hàm lượng Fe_2O_3 dao động ở tầng mặt là 0,55 - 4,09% và các tầng còn lại là 0,93 - 3,11% (Hình 2b). Hàm lượng Fe^{2+} được ghi nhận 2,29 - 88,0 $mg\ kg^{-1}$ đất (Hình 2c) trong khi đó hàm lượng độc chất Al^{3+} có giá trị là 0,14 - 3,38 meq $100\ g^{-1}$ đất ở các tầng của các phẫu diện (Hình 2d). Bên cạnh đó, hàm lượng Mn tổng số của các phẫu diện dao động 0,62 - 9,41%.

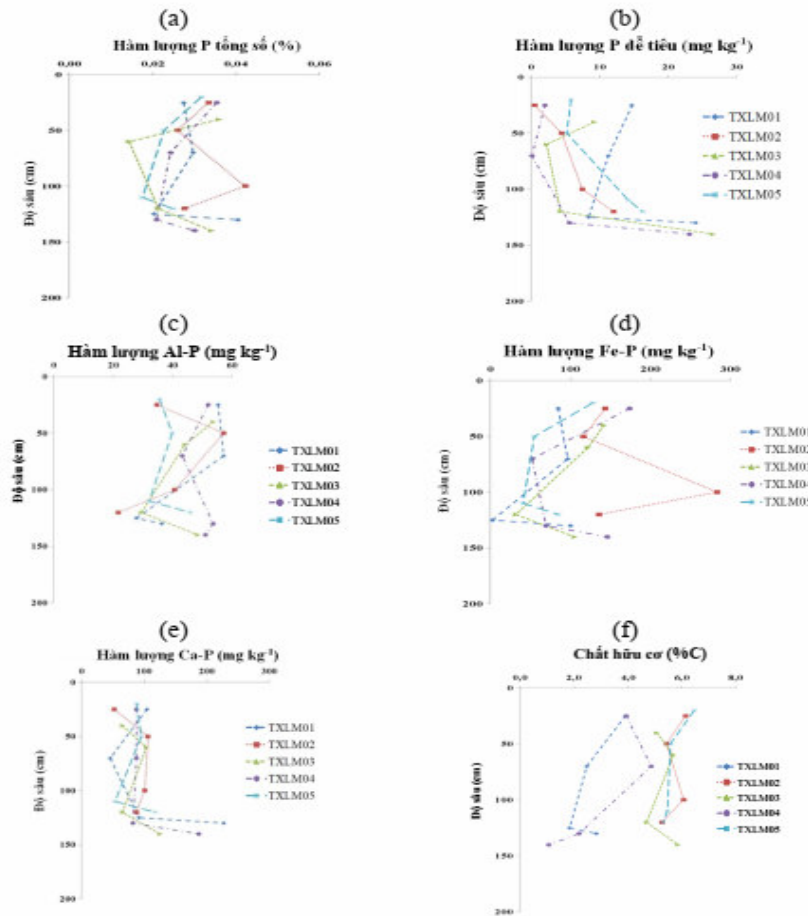
3.2.2. Hàm lượng dưỡng chất N, P và chất hữu cơ trong đất canh tác lúa

Hàm lượng N tổng số ở đất tầng mặt của 5 phẫu diện ghi nhận ở mức trung bình, với dao động 0,20 - 0,41%. Tuy nhiên, phẫu diện TXLM04 có hàm lượng N tổng số ở các tầng còn lại được đánh giá ở mức trung bình đến cao, dao động 0,22

- 0,56% (Hình 3a) theo thang đánh giá của Metson (1961) [18]. Trong đó, hàm lượng đạm hữu dụng được xác định 43,9 - 264,3 $mg\ NH_4^+\ kg^{-1}$ đất (Hình 3b).



Hình 3. Hàm lượng đạm tổng số (a), đạm hữu dụng (b) trong các tầng đất ở các phẫu diện đất phen canh tác lúa tại thị xã Long Mỹ

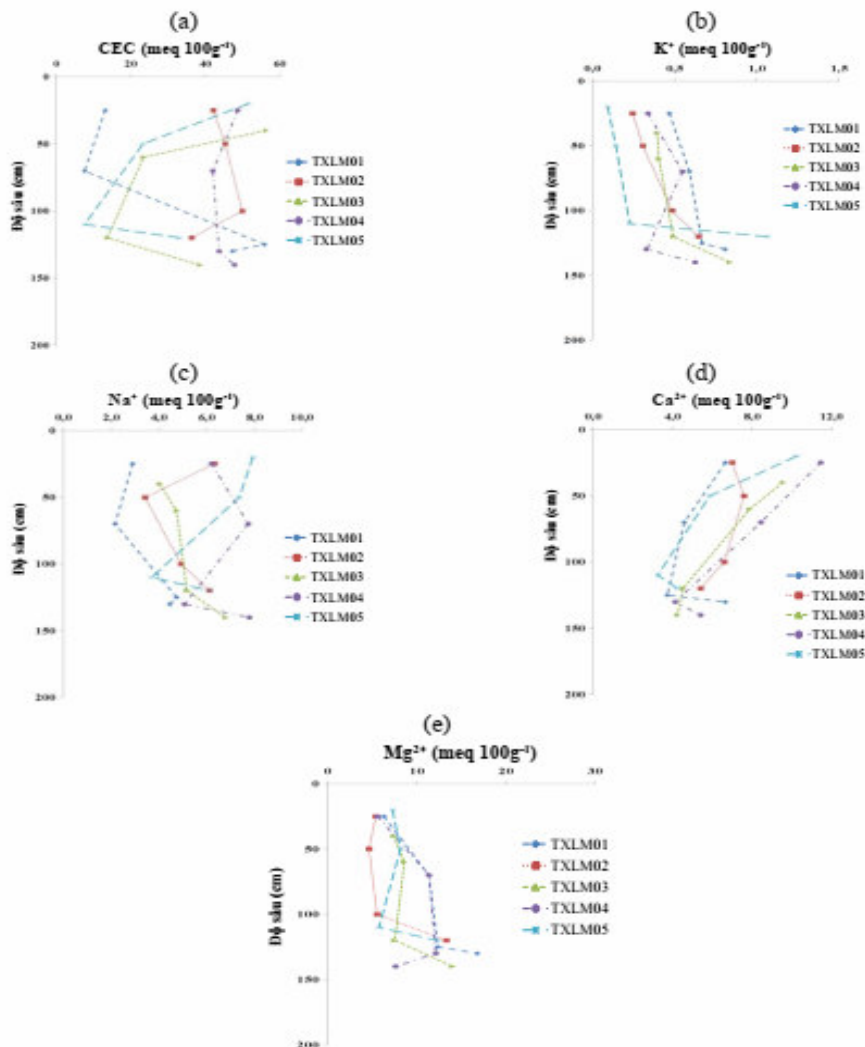


Hình 4. Hàm lượng P tổng số (a), P dễ tiêu (b) và thành phần P gồm Al-P (c), Fe-P (d), Ca-P (e) và chất hữu cơ (f) trong các phẫu diện đất canh tác lúa tại thị xã Long Mỹ

Hàm lượng P tổng số của các phẫu diện đều nhỏ hơn 0,06 (Hình 4a), được đánh giá là nghèo theo thang đánh giá của Nguyễn Xuân Cự và cs (2000) [19]. Hàm lượng P dễ tiêu trong đất dao động 0,11 - 26,5 mg P kg⁻¹ đất (Hình 4b). Hàm lượng P khó tan bao gồm Al-P, Fe-P, Ca-P được xác định lần lượt 21,8 - 57,1, 2,77 - 283,9, 46,2 - 227,2 mg kg⁻¹ đất (Hình 4c, 4d và 4e). Hàm lượng các bon hữu cơ của các phẫu diện dao động ở mức trung bình cao, nhưng ở phẫu diện TXLM04 có tầng đất ghi nhận mức rất thấp 1,08% OC [18] (Hình 4f).

Hàm lượng kali trao đổi trong các phẫu diện đất được đánh giá trung bình thấp theo thang đánh giá Horneck và cs (2011) [17]. Ngoại trừ tầng >110

cm của phẫu diện TXLM05 là 1,07 meq K⁺ 100 g⁻¹ (Hình 5b) được đánh giá là giàu kali. Hàm lượng natri tầng mặt (độ sâu <45 cm) và các tầng bên dưới lần lượt là 2,91 - 7,93 và 2,16 - 7,79 meq Na⁺ 100 g⁻¹ đất (Hình 5c). Theo thang đánh giá của Dierolf và cs (2001) [20] hàm lượng canxi ghi nhận ở phẫu diện TXLM01 (độ sâu <125 cm), TXLM03 (độ sâu > 60 cm), TXLM05 (độ sâu 70 - 130 cm) và TXLM05 (độ sâu >50 cm) được đánh giá ở mức thấp với giá trị 3,24 - 4,58 meq Ca²⁺100 g⁻¹ đất (Hình 5d) và hàm lượng magie ở mức cao 4,67 - 16,8 meq Mg²⁺ 100 g⁻¹ đất ở cả 5 phẫu diện đất canh lúa (Hình 5e). Khả năng trao đổi cation của tất cả 5 phẫu diện là rất thấp đến trung bình với giá trị 7,56 - 56,3 meq 100 g⁻¹ đất (Hình 5a).



Hình 5. Khả năng trao đổi cation (a), hàm lượng các cation trao đổi gồm K⁺ (b), Na⁺ (c), Ca²⁺ (d), Mg²⁺ (e) và trong đất ở các phẫu diện đất phèn canh tác lúa tại thị xã Long Mỹ

4. KẾT LUẬN

Dựa vào đặc tính hình thái, các phẫu diện thuộc nhóm đất Gleysols và có tầng Mollic, với tên phân loại là Molli Gleysols (Bathi Proto Thionic) - Gmo(dtíp).

Đất canh tác lúa tại 5 xã, phường của thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang có pH_{KCl} các tầng khoảng 3,01 - 6,15. Hàm lượng N tổng số và P tổng số được đánh giá ở mức thấp đến trung bình và nghèo (0,13 - 0,56% và 0,014 - 0,042%). Hàm lượng độc chất Fe²⁺ lên đến 88,0 meq Fe²⁺ kg⁻¹ đất và Al³⁺ lên đến 3,38 meq Al³⁺ 100 g⁻¹ đất. Hàm lượng đạm hữu dụng và P dễ tiêu tối đa được xác định lần lượt là 264,3 mg NH₄⁺ kg⁻¹ đất, 26,5 mg P₂O₅ kg⁻¹ đất. Hàm lượng chất hữu cơ đều được đánh giá ở mức trung bình cao. Khả năng trao đổi cation ở mức thấp.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Phòng Kinh tế thị xã Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này theo hợp đồng số 01/HĐ-KHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Bá Linh, Võ Thị Gương, Bùi Nhuận Điền, Ngô Ngọc Hưng (2013). Biện pháp cải thiện độ phì nhiêu đất và năng suất lúa trên đất phù sa cổ thâm canh lúa tại huyện Mộc Hoá, tỉnh Long An. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, số 26, 43 - 49.

2. Huang, Q., Tang, S., Huang, X., Yang, S. & Yi, Q. (2016). Characteristics of the acidity and sulphate fractions in acid sulphate soils and their relationship with rice. *The Journal of Agricultural Science*, 154(8), 1463 - 1473.

3. Roy, B. & Bhadra, S. (2014). Effects of toxic levels of aluminium on seedling parameters of rice under hydroponic culture. *Rice Science*, 21(4), 217 - 223.

4. Soomro, A. A., Abro, M. A., Leghari, N., Leghari, G. M. & Soomro, A. A. (2015). Evaluation of aluminum toxicity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Science International*, 27(3), 2251 - 2255.

5. Margennot, A. J., Sommer, R., Mukalama, J. & Parikh, S. J. (2017). Biological P cycling is

influenced by the form of P fertilizer in an Oxisol. *Biology and Fertility of Soils*, 53(8), 899 - 909.

6. Nguyễn Quốc Khương, Lưu Quang Thái, Trần Thanh Huy, Đoàn Vũ Nam và Ngô Ngọc Hưng (2015). Đáp ứng năng suất lúa đối với việc bón lân phối trộn dicarboxylic acid polymer DCAP) trên đất phèn ở đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Đất*, số 46, 49 - 55.

7. Nguyễn Quốc Khương, Trần Ngọc Hữu, Lê Phước Toàn, Ngô Ngọc Hưng. (2017). Ảnh hưởng của bón vôi và lân trộn dicarboxylic acid polymer đến năng suất, hấp thu dưỡng chất của cây lúa vụ hè thu trên đất phèn ở đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số 24, 28 - 37.

8. Dang, L. V., Hung, N. N., Toan, L. P. & Ngoc, N. P. (2023). Influence of dicarboxylic acid polymer in enhancing the growth and productivity of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) in acidic soil. *PeerJ*, 11, e14803.

9. Khuong, N. Q., Kantachote, D., Onthong, J., Xuan, L. N. T. & Sukhoom, A. (2018). Enhancement of rice growth and yield in actual acid sulfate soils by potent acid-resistant *Rhodopseudomonas palustris* strains for producing safe rice. *Plant and Soil*, 429(1-2), 483 - 501.

10. Sadiq, A. A. & Babagana, U. (2012). Influence of lime materials to ameliorate acidity on irrigated paddy fields: A review. *Academic Research International*, 3(1), 413 - 420.

11. Sulaiman, A. A., Sulaeman, Y. & Minasny, B. (2019). A framework for the development of wetland for agricultural use in Indonesia. *Resources*, 8(1), 34. <https://doi.org/10.3390/resources8010034>

12. Guan, X. J., Chen, J., Chen, X. M., Xie, J., Deng, G. Q., Hu, L. Z., Li, Y., Qian, Y. F., Qiu, C. F. & Peng, C. R. (2020). Root characteristics and yield of rice as affected by the cultivation pattern of strong seedlings with increased planting density and reduced nitrogen application. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(5), 1278 - 1289.

13. da Silva, B. M., Moreira, L. F., Vendramin, D., Stenert, C., Rocha, O. & Maltchik, L. (2022). Using topsoil translocation from natural wetlands to restore rice field systems. *Restoration Ecology*, 30(3), e13526.

14. FAO (2006a). Guide line for soil profile description, 4th edition. ISBN 92-5-105521-1. 97 pp.
15. FAO (2006b). World reference base for soil resources 2006, first update 2007 - A framework for international classification, correlation and communication. World soil resources reports No. 103. FAO, Rome. Italy.
16. Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., Loeppert, R. H., Soltanpour, P. N., Tabatabai, M. A., Johnston, C. T. & Sumner, M. E. (Eds.). (1996). Methods of soil analysis. *Chemical Methods*, 3, 1125 - 1131.
17. Horneck, D. A., Sullivan, D. M., Owen, J. S. & Hart, J. M. (2011). Soil test Soil test interpretation guide, 12 page.
18. Metson, A. L. (1961). Methods of chemical analysis for soil survey samples. Soil Bur Govt printer, wellington, New Zealand.
19. Nguyễn Xuân Cự, Bùi Thị Ngọc Dung, Lê Đức, Trần Khắc Hiệp và Cái Văn Tranh (2000). *Phân tích thành phần khoáng của đất (Chương 6). Trong phương pháp phân tích đất nước phân bón cây trồng*. Nxb Giáo dục. Trang 78 - 99.
20. Dierolf, T. S., Fairhurst T. H. & Mutert, E. W. (2001). Soil Fertility Kit. A toolkit for acid, upland soil fertility management in Southeast Asia. Potash and Phosphate Institute of Canada, Potash and Phosphate Institute. Agriculture Organisation and Gesellschaft fur Technische Zusammenarbeit. pp. 150.

MORPHOLOGICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOIL PROFILES FOR RICE CULTIVATION IN LONG MY TOWN, HAU GIANG PROVINCE

Tran Thi Thuy Trang¹, Phan Chi Nguyen², Nguyen Tuan Anh³,

Tran Trong Khoi Nguyen³, Nguyen Duc Trong³, Nguyen Quoc Khuong³

¹*Graduate student in Crop Science, Course 29, College of Agriculture, Can Tho University*

²*Department of Land Resources, College of Environment and Natural Resources, Can Tho University*

³*Faculty of Crop Science, College of Agriculture, Can Tho University*

Summary

The study was performed with an aim to determine morphological and chemical features of the soil profiles for rice growth in Long My town, Hau Giang province. The morphological description was based on the Munsell soil colour chart comparison table under the field condition, and the analysis of soil chemical properties of 5 profiles for rice soil was performed under the laboratory condition. Based on the morphological characteristics, the soil for growing rice was suitable for rice development, with extremely deep acid sulfate-bearing materials (>100 cm below the surface). The profiles belonged to the alluvial soil series, and had the Mollic horizon. The soil name, according to the classification of FAO-WRB (2006), was Molli Gleysols (Bathi Proto Thionic) - Glmo(dtip). The chemically analytic results showed that pH_{KCl} at the surface of the 5 profiles fluctuated roughly 3.01 - 6.15, and was considered to be at the acidic threshold. The total nitrogen content (0.126 - 0.406%) was moderate, and the total P content (0.014 - 0.042%) was considered poor threshold. The available nitrogen content and the soluble P content were determined as 43.9 - 264.3 mg NH₄⁺ kg⁻¹ of soil, and 0.11 - 25.6 mg P kg⁻¹ of soil, respectively. The toxicity of Fe²⁺ and Al³⁺ was up to 88.0 mg Fe²⁺ kg⁻¹ of soil and 3.38 meq 100 g⁻¹ of soil, respectively. The organic matter content was moderately high, while the cation exchange capacity was low.

Keywords: *Acid sulfate soil, alluvial soil, rice, soil properties.*

Ngày nhận bài: 6/5/2024

Ngày chuyển phản biện: 17/5/2024

Ngày thông qua phản biện: 7/6/2024

Ngày duyệt đăng: 13/6/2024

ĐÁNH GIÁ TIỀM NĂNG KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG THỰC VẬT CỦA CÁC CHỦNG VI KHUẨN NỘI SINH PHÂN LẬP TỪ RỄ CÂY HƯƠNG NHU TÍM (*Ocimum sanctum* L.)

Phạm Hồng Hiến¹, Ngô Thị Lan², Nguyễn Văn Giang^{2,*}

¹ Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

² Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

* Email: nvgiang@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Vi khuẩn nội sinh là những vi khuẩn sống bên trong cây chủ, không gây hại cây chủ. Ngược lại chúng có thể mang lại một số lợi ích cho cây chủ thông qua quá trình tổng hợp các phytohormone, phân giải phosphate khó tan và sinh siderophore, tăng cường hấp thụ dinh dưỡng và tính kháng bệnh của cây chủ. Trong nghiên cứu này, 4 chủng vi khuẩn nội sinh (RH2.1, RH2.2, RH5.1 và RH5.2) đã được phân lập từ rễ cây hương nhu tím và đánh giá các đặc tính kích thích sinh trưởng thực vật. Các chủng vi khuẩn nội sinh này có khả năng phân giải phosphate khó tan, sinh siderophore và tổng hợp IAA với nồng độ từ 36,0; 73,9; 49,95; 8,16 µg/ml. Chủng RH2.2 có khả năng sinh IAA cao nhất sau 72 giờ nuôi cấy tại điều kiện nhiệt độ 30 - 35°C trong môi trường có pH=7, nguồn các bon là glucose và lactose, nguồn nitrogen là peptone. Các chủng vi khuẩn nội sinh này là nguồn vật liệu tiềm năng trong sản xuất các chế phẩm sinh học phục vụ sản xuất nông nghiệp bền vững.

Từ khóa: Vi khuẩn nội sinh, hòa tan phosphate, tổng hợp siderophore, IAA, hương nhu tím.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây hương nhu tím hay hương nhu tía (*Ocimum sanctum* L.) là loại cây nhỏ, sống hàng năm hay lâu năm. Thân và cành có màu tím, có lông quặp. Hoa màu tím, mọc thành chùm, xếp thành vòng từ 6 - 8 hoa/chùm. Hương nhu tím được trồng rất phổ biến ở Việt Nam, từ các vùng đồng bằng đến vùng miền núi cao. Theo y học cổ truyền, hương nhu tím là một vị thuốc có tính ấm, vị cay. Các bộ phận khác nhau (lá, thân, hoa, rễ, hạt và thậm chí toàn bộ cây) của cây hương nhu tím cũng được sử dụng để chữa các bệnh như: Cảm mạo, đau bụng, viêm phế quản, sốt rét, tiêu chảy, kiết lỵ, bệnh ngoài da, viêm khớp, bệnh về mắt, côn trùng cắn, kháng khuẩn, bảo vệ tim mạch...[1]. Trong cây hương nhu tím, tinh dầu chiếm tỷ lệ khoảng 0,2 - 0,3% (khối lượng tươi), chứa các thành phần gồm: Ogenola (45 - 70%), khoảng 20% ete metylic của ogenola và 3%

carvacrol, o.xymen, p.xymen, camphen, limonene, α và β pinene. Ogenola là một vị thuốc rất cần thiết dùng trong nha khoa và trong việc tổng hợp chất vanillin [1].

Vi khuẩn nội sinh là những vi sinh vật sống bên trong cây nhưng không gây hại cho cây chủ, ngược lại còn cung cấp nhiều đặc tính có lợi cho quá trình sinh trưởng và phát triển của cây chủ [2]. Một trong những vai trò quan trọng của vi khuẩn nội sinh đối với sự sinh trưởng của thực vật là khả năng tổng hợp các phytohormone, ví dụ như Indole 3 acetic axit (IAA), một phytohormone thúc đẩy sự tăng trưởng của cây [2, 3]. Bên cạnh đó, vi khuẩn nội sinh còn có khả năng tăng hàm lượng các chất khoáng, tăng khả năng kháng bệnh, chống lại các điều kiện bất lợi của môi trường, tăng tính miễn dịch cho cây trồng. Hiện nay, đã có nhiều nghiên cứu ứng dụng vi sinh vật nội sinh để sản xuất phân bón, thuốc trừ sâu, chế phẩm sinh

học trong nông nghiệp hay dược phẩm ứng dụng trong lĩnh vực y tế và mỹ phẩm. Nghiên cứu này được tiến hành với mục đích tuyển chọn được một số chủng vi khuẩn nội sinh từ cây hương nhu tím có tiềm năng kích thích tăng trưởng cây trồng để ứng dụng trong canh tác cây hương nhu nói riêng, cây dược liệu nói chung theo hướng an toàn, đảm bảo chất lượng sản phẩm ứng dụng trong sản xuất dược liệu.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu thập mẫu

Các mẫu rễ cây hương nhu tím khỏe mạnh, không có triệu chứng bệnh được thu thập từ Viện Dược liệu. Sau đó, các mẫu được chuyển về Phòng Thí nghiệm thuộc Bộ môn Công nghệ vi sinh, Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam để tiến hành nghiên cứu và được bảo quản ở 4°C cho đến khi phân lập.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn nội sinh

Mẫu rễ cây hương nhu tím sau thu thập được rửa nhiều lần bằng nước sạch để loại bỏ đất bám ở rễ và cắt thành các đoạn nhỏ dài 1 - 2 cm. Các đoạn rễ sau đó được ngâm trong ethanol 70% trong 3 phút, rửa lại bằng nước cất vô trùng, tiếp tục khử trùng bằng NaOCl trong 3 phút, ethanol 70% trong 30 giây và rửa lại bằng nước cất vô trùng để loại bỏ hóa chất bám trên bề mặt rễ. Để kiểm tra sự vô trùng bề mặt, sau khi khử trùng 0,1 ml nước rửa lần cuối cùng được cấy trang trên đĩa petri chứa môi trường Nutrient Agar (NA). Các đĩa này sau đó được đặt trong tủ nuôi ở điều kiện nhiệt độ 30°C trong 48 giờ và quan sát sự phát triển của vi khuẩn. Nếu không có sự phát triển của vi khuẩn thì việc khử trùng mẫu đã đạt yêu cầu. Mẫu rễ cây hương nhu tím sau khi xử trùng xong được cắt thành các đoạn 0,5 cm và đặt trên môi trường NA và ủ ở điều kiện nhiệt độ 30°C. Quan sát sự hình thành khuẩn lạc sau 2 - 4 ngày. Các khuẩn lạc thuần được cấy chuyển trên môi trường LB và được bảo quản trong ống thạch nghiêng ở 4°C để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo [4].

2.2.2. Đánh giá khả năng phân giải phosphate khó tan của các chủng vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn sau khi được làm thuần sẽ được tiến hành nuôi trong ống nghiệm chứa 5 ml môi trường NBRIP lỏng (10 g/l glucose, 5 g/l $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 5 g/l $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,25 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g/l KCl, 0,1 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) ủ ở điều kiện nhiệt độ 30°C trong 4 ngày với tốc độ lắc 200 vòng/phút. Dịch nuôi được ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút ở điều kiện nhiệt độ 4°C. Phần dịch nổi được thu và xác định hàm lượng PO_4^{3-} bằng phương pháp xanh Molybdate [4], cụ thể như sau: Chuyển 50 μl dịch nổi vào ống nghiệm và bổ sung 3,45 ml nước cất sau đó thêm vào 1,5 ml dung dịch thuốc thử (tỷ lệ mẫu và thuốc thử là 7: 3) và ủ ở điều kiện nhiệt độ 37°C trong 1 giờ. Đo OD ở bước sóng 820 nm và thay giá trị OD vào đường chuẩn $y = 0,2878x + 0,0429$, $R^2 = 0,9919$ để tính nồng độ phosphate được giải phóng vào môi trường

2.2.3. Đánh giá khả năng sinh siderophore

Các chủng vi khuẩn nội sinh được cấy trên môi trường CAS đặc ở 30°C trong 48 giờ. Vi khuẩn sử dụng sắt trong môi trường sẽ tiết vào môi trường hợp chất siderophore làm xuất hiện vùng màu cam xung quanh khuẩn lạc. Môi trường CAS gồm 60,5 mg chrome azurol S (CAS), 72,9 mg hexadecyltrimethyl amoni bromua (HDTMA), 30,24 g Piperazin-1,4-bis (axit 2-ethanesulfonic) (PIPETS), 1 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ trong 10 ml HCl 10 mM, agar (0,9% w/v) [5].

2.2.4. Xác định khả năng tổng hợp IAA

Các chủng vi khuẩn mới phân lập được nuôi trong môi trường Nutrient Broth (NB) có bổ sung 1 g/l tryptophan, nuôi ở điều kiện nhiệt độ 30°C và lắc ở điều kiện 200 vòng/phút. Nồng độ IAA trong dịch nuôi vi khuẩn được định lượng bằng thuốc thử Salkowski [6]. Sau 72 giờ nuôi, dịch vi khuẩn được ly tâm ở điều kiện 6.000 vòng/phút trong 10 phút và dịch trong được thu lại. Chuyển 1 ml dịch trong thu được vào các ống nghiệm và trộn với 2 ml thuốc thử Salkowski (300 ml H_2SO_4 98%, 15 ml FeCl_3 0,5 M) lắc đều, để trong bóng tối trong 20 phút ở nhiệt độ phòng để phản ứng tạo màu xảy ra hoàn toàn. Dung dịch được so màu ở bước sóng λ

= 530 nm. Kết quả đo OD của các chủng phân lập được thay vào phương trình đồ thị đường chuẩn $y = 0,0054x + 0,0096$, $R^2 = 0,994$, từ đó tính toán được nồng độ IAA được tổng hợp bởi các chủng vi khuẩn thí nghiệm.

2.2.5. Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp IAA

Ảnh hưởng của pH, nhiệt độ môi trường và thời gian nuôi cấy. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu một nhân tố. Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường NB có bổ sung L-tryptophan (1 g/l) với các giá trị pH môi trường ban đầu là 5, 6, 7, 8 và 9, hàm lượng IAA trong dịch được xác định sau 72 giờ nuôi cấy. Sau khi xác định được pH môi trường thích hợp, khả năng tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn được xác định sau 1, 2, 3, 4 và 5 ngày nuôi cấy.

Ảnh hưởng của nguồn các bon và nitrogen. Các chủng vi khuẩn chọn lọc được nuôi cấy trong môi trường thí nghiệm gồm muối khoáng cơ bản có bổ sung thêm 1% các nguồn các bon (lactose, sucrose, tinh bột, D-sorbitol và mannitol) để xác định ảnh hưởng của nguồn các bon. Để tìm được nguồn nitrogen phù hợp, các chủng vi khuẩn được nuôi trong môi trường có nguồn các bon phù hợp bổ sung 0,1% nguồn nitrogen (peptone, NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4Cl và KNO_3) trong 72 giờ ở điều kiện nhiệt độ 30°C. Hàm lượng IAA được xác định ở như đã mô tả tại mục 2.2.4.

2.3. Môi trường

Môi trường khoáng cơ bản để khảo sát ảnh hưởng của nguồn các bon: 2 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,2 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,5 g/l $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 0,1 g/l $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,5 g/l KH_2PO_4 ; 1 lít nước cất. Môi trường khoáng cơ bản để khảo sát ảnh hưởng của nguồn nitrogen: 1,36 g/l KH_2PO_4 ; 0,03 g/l CaCl_2 ; 2,13 g/l NaH_2PO_4 ; 0,2 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,01 g/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 10 g/l nguồn các bon (thích hợp với từng chủng vi sinh vật); 1 lít nước cất. Môi trường thạch nutrient agar (NA): 5 g/l peptone; 5 g/l NaCl; 2 g/l cao thịt; 2 g/l cao nấm men; 15 g/l agar. Môi trường nutrient broth (NB): 5 g/l peptone; 5 g/l NaCl; 2 g/l cao thịt; 2 g/l cao nấm men, 1 lít nước cất.

2.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện từ tháng 10/2022 - 5/2023 tại Phòng Thí nghiệm Công nghệ vi sinh, Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và Phòng Thí nghiệm của Viện Bảo vệ thực vật, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập, tuyển chọn các chủng vi khuẩn nội sinh có khả năng hòa tan phosphate

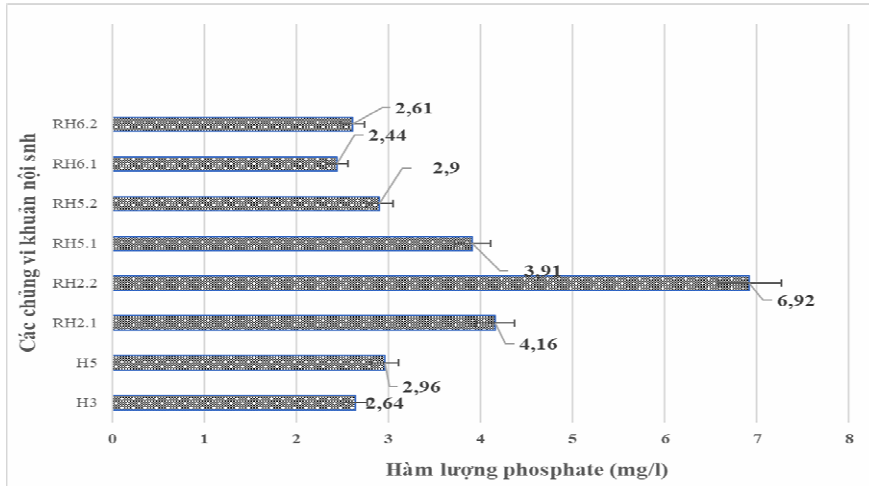
Từ mẫu cây hương nhu tím thu thập từ Viện Dược liệu, 18 chủng vi khuẩn nội sinh khác nhau đã được phân lập trên môi trường LB. Các chủng vi khuẩn nội sinh này được cấy chuyển vào môi trường NBRIP để đánh giá khả năng phân giải phosphate khó tan. Sau 48 giờ nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ 30°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút, tiến hành ly tâm dịch nuôi cấy và thu dịch nổi. Kết quả thu được trên cơ sở so màu theo phương pháp được mô tả tại mục 2.2.2 cho thấy, 10 chủng trong số 18 chủng vi khuẩn nội sinh có khả năng phân giải được phosphate khó tan là: H1, H9, H3, H5, RH2.1, RH2.2, RH5.1, RH5.2, RH6.1 và RH6.2 (Hình 1). Nồng độ PO_4^{3-} được các chủng vi khuẩn nội sinh này giải phóng dao động 0,15 - 6,92 mg/l. Chủng RH2.2 biểu hiện hoạt tính phân giải phosphate khó tan trong dung dịch mạnh nhất, lượng PO_4^{3-} được giải phóng đạt 6,92 mg/l. Khả năng phân giải phosphate khó tan của chủng H1 là thấp nhất, chỉ giải phóng được 0,15 mg/l PO_4^{3-} , các chủng còn lại biểu hiện khả năng phân giải phosphate khó tan ở mức trung bình so với chủng RH2.2 (Hình 1).

Phospho là nguyên tố dinh dưỡng quan trọng, tham gia vào các quá trình trao đổi chất, hô hấp, quang hợp của cây trồng, cấu trúc của các axit nucleic, các phân tử cao năng lượng ATP, ADP, phospholipid. Phân bón chứa phospho giúp kích thích sự phát triển của rễ, làm cứng cây, cải thiện sự hình thành hoa, đậu hạt và cải thiện chất lượng sản phẩm. Thiếu phospho sẽ ảnh hưởng tới quá trình sinh trưởng và phát triển của cây trồng. Sự thiếu hụt phospho thường được người sản xuất khắc phục bằng cách bón phân lân hóa học. Tuy nhiên, một phần lượng phân lân bón vào đất sẽ bị cố định bởi các cation kim loại như Ca^{2+} , Fe^{3+} hay

Al^{3+} tạo thành các hợp chất phosphate khó tan, làm giảm hiệu quả sử dụng phân lân.

Vi sinh vật sử dụng nhiều phương thức khác nhau như tiết ra các axit hữu cơ hay tổng hợp siderophore. Các axit hữu cơ cùng với các nhóm carboxyl, hydroxyl sẽ chelate các cation kim loại gắn với PO_4^{3-} hay giảm pH môi trường xung quanh từ đó làm tăng lượng PO_4^{3-} được giải phóng. Các hợp chất phospho hữu cơ sẽ được khoáng hóa bởi các enzyme được vi sinh vật tiết ra [7]. Trong thí

nhệm này, các hợp chất chứa phospho được sử dụng là chất vô cơ nên có thể kết luận các chủng vi sinh vật nội sinh mới được phân lập đã tiết vào môi trường các hợp chất siderophore hoặc tổng hợp các axit hữu cơ để tăng cường khả năng hòa tan phosphate trong môi trường nuôi cấy. Các chủng vi khuẩn nội sinh có khả năng phân giải phosphate khó tan được đánh giá khả năng tổng hợp siderophore.

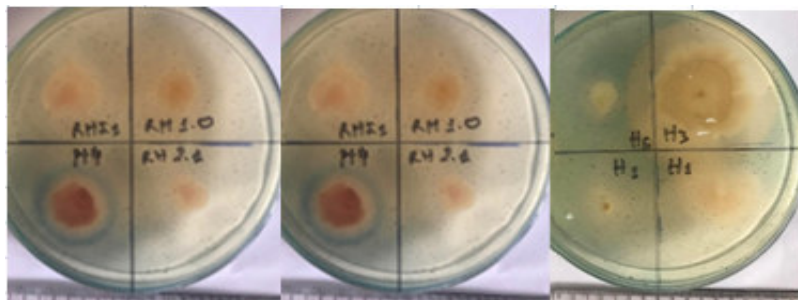


Hình 1. Khả năng phân giải phosphate khó tan của các chủng vi khuẩn nội sinh

3.2. Đánh giá khả năng tổng hợp siderophore

Siderophore là hợp chất do vi khuẩn tiết ra để thu nhận các ion sắt (Fe^{2+}) từ môi trường khi chúng sống trong điều kiện thiếu sắt, vì thế giúp cây trồng vượt qua khó khăn do thiếu sắt. Vi sinh vật gây bệnh cũng cần sắt để sinh trưởng, tuy

nhiên ái lực với sắt của cây trồng và vi sinh vật hữu ích mạnh hơn ái lực với sắt của các vi sinh vật gây bệnh. Điều này làm giảm khả năng sinh trưởng của mầm bệnh trong môi trường [8] và thúc đẩy sự sinh trưởng và phát triển của cây chủ [9].



Hình 2. Khả năng sinh siderophore của một số chủng vi khuẩn nội sinh trên môi trường CAS

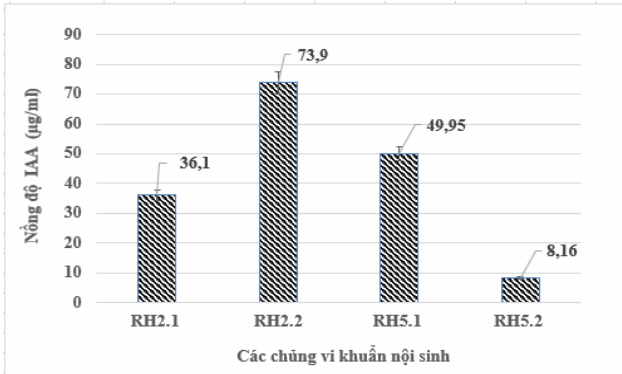
Màu vàng cam xuất hiện xung quanh khuẩn lạc của một số chủng vi khuẩn nội sinh mới được phân lập có khả năng phân giải phosphate khó tan gồm: RH2.1 và RH5.1 (Hình 2). Điều đó chứng tỏ chúng có khả năng sản xuất siderophore, vì theo như mô tả về đặc tính của các chủng vi sinh vật sinh siderophore [9], các vi sinh vật sinh

siderophore sẽ có màu vàng cam trên môi trường CAS.

3.3. Khả năng sinh tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn tuyển chọn

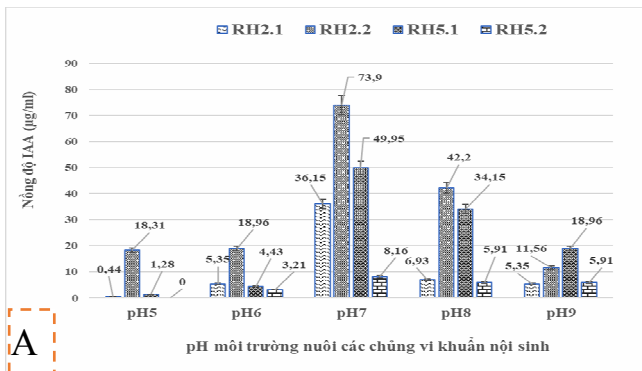
Các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải phosphate khó tan được nuôi trong môi trường NB có bổ sung 1 g/l tryptophan ở điều kiện nhiệt độ

30°C và lắc 200 vòng/phút. Sau 72 giờ nuôi cấy, dịch nuôi cấy các chủng vi khuẩn nội sinh được ly tâm và dịch nổi được thu để xác định nồng độ IAA có trong dịch. Các chủng RH2.1, RH2.2, RH5.1 và RH5.2 có khả năng tổng hợp IAA với nồng độ IAA đạt lần lượt là 36,0; 73,9; 49,95 ; 8,16 µg/ml. Các chủng vi khuẩn nội sinh này có tiềm năng phân giải phosphate khó tan và tổng hợp IAA được sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo (Hình 3).



Hình 3. Nồng độ IAA được tổng hợp bởi các vi khuẩn nội sinh được tuyển chọn

IAA là hormone kích thích sinh trưởng của cây trồng, được tổng hợp bởi cả cây trồng và vi sinh vật. Vi sinh vật sử dụng một số con đường sinh tổng hợp IAA khác nhau, một chủng vi khuẩn đôi khi cũng sử dụng nhiều hơn một con đường sinh tổng hợp IAA. Nồng độ IAA được tổng hợp phụ

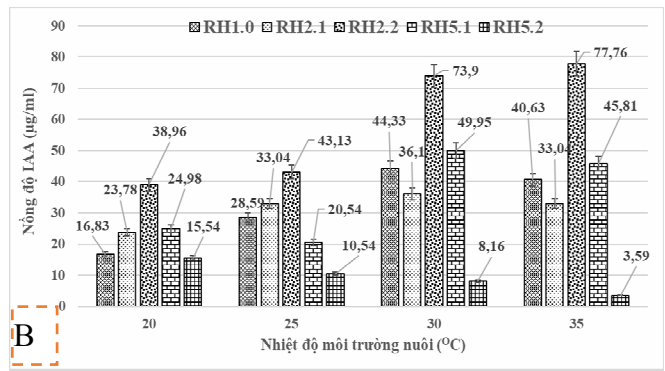


thuộc vào con đường sinh tổng hợp mà chúng vi sinh vật sử dụng. Vị trí phân bố của các gen tham gia vào con đường sinh tổng hợp IAA có thể phân bố trên nhiễm sắc thể hoặc ADN plasmid. Cơ chế điều hòa sinh tổng hợp IAA cũng như các enzyme có thể chuyển IAA từ trạng thái hoạt động sang trạng thái nghỉ/bất hoạt [10]. Do đó, các chủng vi sinh vật nội sinh được phân lập từ các cây trồng khác nhau có khả năng tổng hợp lượng IAA không giống nhau. Vi khuẩn nội sinh được phân lập từ rễ cây nha đam tổng hợp IAA với hàm lượng từ 17,18 - 23,23 µg/ml [11]. Nghiên cứu của Phạm Hồng Hiến và cs (2021) [4] cho thấy, hàm lượng IAA được các chủng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ cây sù tổng hợp đạt từ 4,34 - 47,02 µg/ml.

3.4. Ảnh hưởng của môi trường nuôi đến khả năng sinh tổng hợp IAA

3.4.1. Ảnh hưởng của pH, nhiệt độ môi trường và thời gian nuôi

Các chủng vi khuẩn nội sinh được tuyển chọn gồm RH2.1, RH2.2, RH5.1 và RH5.2 được nuôi cấy trong môi trường NB có bổ sung 1 g/l tryptophan ở điều kiện nhiệt độ 30°C, lắc 200 vòng/phút với các giá trị pH môi trường ban đầu tương ứng là 5, 6, 7, 8 và 9. Sau 72 giờ nuôi cấy, tiến hành ly tâm dịch nuôi cấy và định lượng IAA (Mục 2.2.4.)



Hình 4. Ảnh hưởng của pH (A) và nhiệt độ môi trường nuôi (B) đến khả năng tổng hợp IAA của các chủng vi khuẩn nội sinh được tuyển chọn

Khi được nuôi cấy trong môi trường có pH = 7, các chủng vi khuẩn nội sinh có khả năng tổng hợp được hàm lượng IAA nhiều nhất, dao động 8,16 - 73,9 µg/ml (Hình 4A). Trong điều kiện pH của môi trường nuôi cấy các chủng vi khuẩn nội sinh thấp hoặc cao hơn 7, lượng IAA được tổng hợp bởi các chủng vi khuẩn nội sinh này bị giảm đáng kể,

đặc biệt trong điều kiện môi trường axit (Hình 4A).

Ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ môi trường nuôi cấy (20, 25, 30 và 35°C) đến nồng độ IAA được tổng hợp bởi các chủng RH2.1, RH2.2, RH5.1 và RH5.2 đã được đánh giá. Nhiệt độ thích hợp để các chủng vi khuẩn nội sinh tổng hợp IAA là trong

khoảng nhiệt độ 30 - 35°C (Hình 4B). Điều kiện nhiệt độ môi trường nuôi cấy từ 20 - 25°C đã làm giảm hàm lượng IAA được tổng hợp bởi các chủng vi khuẩn nội sinh thí nghiệm.

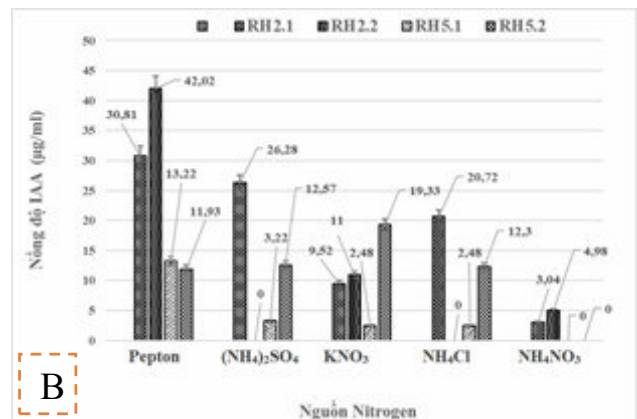
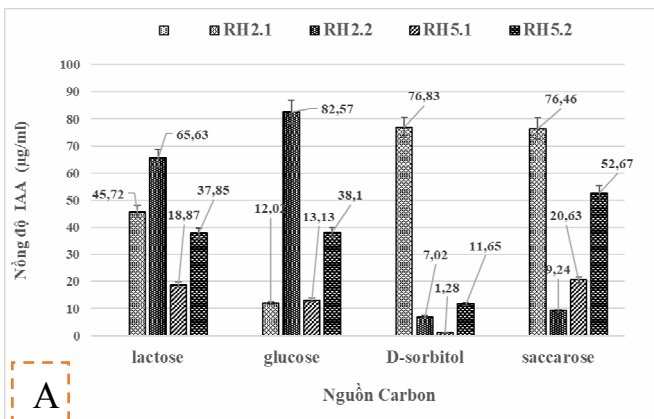
Điều kiện pH thấp đã hạn chế sự phát triển của thực vật, vì trong điều kiện pH thấp, đất dễ bị chua, làm nồng độ một số ion kim loại đạt đến mức độ độc hại cho đất và cây, làm ảnh hưởng tới quá trình sinh trưởng của vi sinh vật [3], [12]. Mohite (2013) [3] đã kết luận, các chủng vi khuẩn tổng hợp IAA cao nhất khi pH môi trường trong khoảng 7 - 9. Lượng IAA được tổng hợp nhiều nhất bởi hai chủng vi khuẩn HY9 và TT3 trong nghiên cứu của Phạm Hồng Hiến và cs (2022) [13], khi pH môi trường nuôi bằng 7. Các chủng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ rễ cây sù có khả năng tổng hợp IAA nhiều nhất khi được nuôi cấy trong môi trường có pH 7 - 8 [14]. Nghiên cứu của Chandra và cs (2018) [12] cho thấy, các chủng vi sinh vật có thể tổng hợp IAA khi pH môi trường trong khoảng 5 - 9. Adeleke và cs (2022) [2] cho rằng, chủng *Stenotrophomonas indicatrix* BOVIS40 tổng hợp nhiều nhất IAA trong điều kiện pH=7. Có thể khẳng định rằng, pH của đất tác động tới nhiều quá trình sinh học diễn ra trong vùng rễ cây.

Các chủng vi sinh vật sử dụng các con đường tổng hợp IAA được điều hòa bởi hoạt động của các gen và xúc tác bởi các enzyme khác nhau [10], do đó việc thay đổi nhiệt độ dẫn đến thay đổi hoạt động của các gen và enzyme xúc tác phản ứng tổng hợp IAA [15]. Các chủng vi khuẩn nội sinh trong nghiên cứu của Adeleke và cs (2022) [2] có khả năng tổng hợp IAA cao nhất tại pH=7 và nhiệt

độ 22 - 37°C. Nghiên cứu của Mohite (2013) [3] đã chỉ rõ, 30°C là nhiệt độ tối ưu để các chủng vi sinh vật tổng hợp IAA. *Rhizobium* spp. và *Bacillus* spp. có khả năng tổng hợp IAA nhiều nhất tại điều kiện nhiệt độ 37°C [16]. Chandra và cs (2018) [12] cho rằng, nhiệt độ tối ưu để chủng CA 1001 tổng hợp IAA là 37°C. Vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ cây sù tổng hợp IAA nhiều nhất khi được nuôi cấy trong môi trường có pH=7 và 30°C [14]. Chủng vi khuẩn nội sinh HY9 và TT3 được phân lập từ rễ cây kim ngân có khả năng tổng hợp IAA cao nhất tại điều kiện nhiệt độ 30 và 37°C [13]. Nghiên cứu của Nguyễn Văn Giang và cs (2016) [11] cho thấy, chủng vi khuẩn nội sinh được phân lập từ rễ cây nha đam có khả năng tổng hợp IAA cao nhất tại điều kiện nhiệt độ 35°C.

3.4.2. Ảnh hưởng của nguồn các bon và nitrogen trong môi trường nuôi cấy

Các chủng vi khuẩn thí nghiệm (RH1.0, RH2.1, RH2.2, RH5.1 và RH5.2) được nuôi cấy trong môi trường chứa các nguồn các bon gồm: Lactose, glucose, sorbitol và saccharose. Lượng IAA được tổng hợp của các chủng này thay đổi tùy theo nguồn các bon có trong môi trường (Hình 5A). Glucose và lactose là nguồn các bon thích hợp nhất đối với chủng RH2.2, lượng IAA được tổng hợp tương ứng là 82,57 và 65,63 µg/ml và giảm xuống 7,02 và 9,24 µg/ml khi trong môi trường nuôi có sorbitol và saccharose. Ngược lại, sorbitol và saccharose là nguồn các bon tốt nhất đối với chủng RH2.1, hàm lượng IAA được chủng này tổng hợp đạt 76,83 và 76,46 µg/ml.



Hình 5. Ảnh hưởng của nguồn các bon (A) và nitrogen (B) đến hàm lượng IAA được tổng hợp bởi các chủng vi khuẩn nội sinh được tuyển chọn

Các chủng vi khuẩn nội sinh được tuyển chọn được nuôi cấy trong môi trường với các nguồn nitrogen: Peptone, NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KNO_3 và NH_4NO_3 . Sau 72 giờ nuôi cấy, hàm lượng IAA có trong môi trường được xác định. Các chủng vi khuẩn này tổng hợp IAA nhiều nhất khi peptone được bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Khi môi trường nuôi cấy được bổ sung các nguồn nitrogen vô cơ, nồng độ IAA được các chủng vi khuẩn nội sinh tổng hợp giảm đáng kể. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ và NH_4Cl là thích hợp nhất đối với chủng RH2.1, lượng IAA được tổng hợp cao nhất (26,28 và 20,72 $\mu\text{g/ml}$), KNO_3 là thích hợp nhất đối với chủng RH5.2, nồng độ IAA được chủng vi khuẩn nội sinh này tổng hợp đạt 19,23 $\mu\text{g/ml}$, cao hơn nồng độ IAA được tổng hợp bởi các chủng vi khuẩn nội sinh khác. Nồng độ IAA được các chủng vi khuẩn nội sinh tổng hợp thấp nhất trong môi trường có NH_4NO_3 (Hình 5B).

Nguồn các bon được vi sinh vật sử dụng để tổng hợp các thành phần cần thiết của tế bào và các sản phẩm trao đổi chất thứ cấp nên có ảnh hưởng tới các quá trình sinh tổng hợp của tế bào. Nguồn các bon ảnh hưởng đến hiệu quả tổng hợp IAA của chủng vi sinh vật do đã thay đổi tốc độ các phản ứng sinh hóa của tế bào, từ đó ảnh hưởng tới tốc độ sinh trưởng và tổng hợp các chất trao đổi của tế bào vi sinh vật. Trong nghiên cứu của Panigrahi và cs (2020) [17] lượng IAA được các chủng vi khuẩn nội sinh tổng hợp tăng lên khi saccharose được bổ sung vào môi trường nuôi. Emami và cs (2019) [18] cho rằng, các chủng vi khuẩn nội sinh tổng hợp IAA nhiều nhất khi môi trường được bổ sung glucose, tiếp theo là saccharose. Nồng độ IAA cao nhất được *Stenotrophomonas maltophilia* JVB5 và *Bacillus cereus* T4S tổng hợp khi môi trường có nguồn

saccharose và glucose [2]. Lactose và glucose được xem là nguồn các bon giúp chủng vi khuẩn *Enterobacter* sp. và *Rhizobium* spp. tổng hợp nhiều IAA nhất [19]; nguồn các bon cung cấp năng lượng cho các quá trình sinh học và tăng cường các hoạt động tổng hợp các chất trao đổi thứ cấp của tế bào [12].

Nguồn nitrogen trong môi trường nuôi là nhân tố quan trọng với sinh trưởng và tổng hợp các chất trao đổi của vi sinh vật. Nguồn nitrogen khác nhau đã ảnh hưởng tới quá trình tổng hợp IAA của chúng. Vi sinh vật khai thác nguồn nitrogen thích hợp để tối ưu hóa quá trình tổng hợp IAA. NH_4NO_3 và NH_4Cl là nguồn nitrogen thích hợp với các chủng vi sinh vật nội sinh phân lập từ rễ cây sù [14]. Hai chủng vi khuẩn HY9 và TT3 được phân lập từ rễ cây kim ngân tổng hợp IAA nhiều nhất khi được nuôi trong môi trường có NH_4Cl [13]. Nghiên cứu của Chandra và cs (2018) [12] cho thấy, nồng độ IAA cao nhất được chủng vi khuẩn CA 2004 tổng hợp khi trong môi trường có NH_4NO_3 và thịt bò, nồng độ IAA được tổng hợp bởi hai chủng vi khuẩn CA1001 và CA2003 giảm khi bổ sung nguồn nitrogen vào môi trường nuôi, hai chủng CA1001 và CA2003 sinh trưởng yếu nếu trong môi trường có nguồn nitrogen vô cơ và nồng độ IAA cao nhất khi chủng CA2004 được nuôi trong môi trường có KNO_3 và NH_4NO_3 . Nghiên cứu của Sridevi và cs (2008) [20] cho thấy, các nguồn nitrogen vô cơ trong môi trường nuôi làm tăng nồng độ IAA được chủng vi khuẩn *Rhizobium* spp. tổng hợp, trong khi các nguồn nitrogen hữu cơ là giảm nồng độ IAA được chủng này tổng hợp.

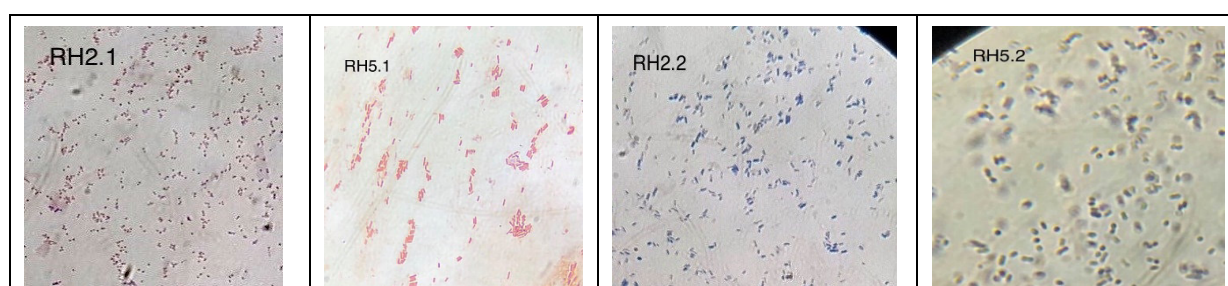
3.5. Đặc điểm hình thái, sinh học của các chủng vi khuẩn nội sinh được tuyển chọn

Bảng 1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào và một số đặc tính hóa sinh của các chủng vi khuẩn nội sinh tuyển chọn

Chủng Đặc điểm	RH2.1	RH2.2	RH5.1	RH5.2
Bề mặt khuẩn lạc	Trơn, tròn	Trơn, hơi lồi ở giữa khuẩn lạc	Trơn, nhầy	Trơn, hơi lồi ở giữa khuẩn lạc
Màu sắc khuẩn lạc	Trắng sữa	Trắng đục	Trắng đục	Vàng nhạt

Hình thái tế bào	Trực khuẩn	Trực khuẩn	Trực khuẩn	Trực khuẩn
Nhuộm gram	Hồng	Tím	Hồng	Tím
Catalase	+	+	+	+
Methyl Red (MR)	+	+	-	-
Citrate	+	+	+	+
Voges Proskauer (VP)	+	+	+	-

Chú thích: (+) có phản ứng; (-) không có phản ứng



Hình 6. Đặc điểm hình thái tế bào của các chủng vi khuẩn nội sinh được tuyển chọn

Năm chủng vi khuẩn đã được tuyển chọn có hình thái và màu sắc đa dạng (Bảng 1, hình 6). Khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn nội sinh đều có bề mặt trơn, tròn đều, màu trắng và trắng đục hoặc vàng nhạt. Tế bào của hai chủng RH2.2 và RH5.2 có dạng que, bắt màu tím khi nhuộm gram. Tế bào của chủng RH2.1 và RH5.1 có dạng que, bắt màu hồng khi nhuộm gram. Hai chủng RH2.1 và RH2.2 đều phản ứng dương tính với 4 phản ứng hóa sinh catalase, Methyl Red (MR), citrate và Voges Proskauer (VP). Chủng RH5.1 phản ứng dương tính với catalase, citrate và VP, không biểu hiện phản ứng với MR. Chủng RH5.2 phản ứng dương tính với catalase, citrate và không biểu hiện phản ứng MR và VP.

4. KẾT LUẬN

Các chủng RH2.1, RH2.2, RH5.1, và RH5.2 đã được phân lập và tuyển chọn từ rễ cây hương nhu tím đều biểu hiện khả năng phân giải phosphate khó tan, tổng hợp IAA với hàm lượng cao. Nồng độ phosphate và IAA được các chủng này tổng hợp tương ứng là 4,16; 6,92; 3,91; 2,9 và 36,0; 73,9; 49,95 và 8,16 µg/ml.

Trong các điều kiện nuôi cấy *in vitro*, các chủng này có thể sử dụng các nguồn cacbon và nitrogen khác nhau để tổng hợp IAA. Sorbitol và saccharose trong môi trường nuôi cấy là nguồn cacbon thích hợp nhất đối với chủng RH2.1, saccharose phù hợp nhất đối với chủng RH5.2, lactose và glucose tăng nồng độ IAA được tổng hợp bởi chủng RH2.2. Các chủng vi sinh vật nội sinh được tuyển chọn đều tổng hợp được lượng IAA nhiều nhất khi được nuôi cấy trong môi trường có peptone. Các chủng này cần được tiếp tục nghiên cứu trong điều kiện *in vivo* trên cây trồng để có thể được sử dụng như chế phẩm sinh học kích thích quá trình sinh trưởng thực vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2001). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học. Hà Nội.
2. Adeleke B.S, Ayangbenro A.S and Babalola O. O. (2022). *In vitro* screening of sunflower associated endophytic bacteria with plant growth-promoting traits. *Front. Sustain. Food Syst*, 6: 903114.

3. Mohite B. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3), 638 - 649.
4. Phạm Hồng Hiến, Vũ Thị Tươi, Vũ Thị Linh, Nguyễn Văn Giang (2021). Phân lập và khảo sát đặc tính kích thích sinh trưởng thực vật của một số chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây sù. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 07(128), tr. 71 - 75.
5. Schwyn B. and Neilands J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160: 47 - 56.
6. Glickmann E. and Y. Dessaux (1995). A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(2): 793 - 796.
7. Oteino N., Lally R. D., Kiwanuka S., Lloyd A., Ryan D., Germaine K. J. and Dowling D. N (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic Pseudomonas isolates. *Front. Microbiol.*, 6: 745. doi: 10.3389/fmicb.2015.00745
8. Chung H., Park M., Madhaiyan M., Seshadri S., Song J., Cho H., Sa T. (2005). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. *Soil Biology & Biochemistry*, 37(10): 1970 - 1974.
9. Loudon BC, Haarmann D, Lynne A. M (2011). Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *J Microbiol Biol Educ*;12(1): 51 - 3. doi: 10.1128/jmbe.v12i1.249. PMID: 23653742; PMCID: PMC3577196.
10. Patten Cheryl L., Glick Bernard R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid *Can. J. Microbiol*, 42: 207 - 220, <https://doi.org/10.1139/m96-03>.
11. Nguyễn Văn Giang, Trần Thị Đào, Trịnh Thị Thúy An (2016). Phân lập và đánh giá đặc điểm sinh học của một số chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây nha đam (*Aloe vera*). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, tập 14, số 5, tr. 772 - 778.
12. Chandra S, Askari K, Kumari M. (2018). Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *J Genet Eng Biotechnol*, 16(2): 581 - 586. doi: 10.1016/j.jgeb.2018.09.001.
13. Phạm Hồng Hiến, Trần Thị Đào, Tạ Hà Trang, Hoàng Thị Liễu và Nguyễn Văn Giang (2022). Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng tổng hợp IAA của chủng vi khuẩn nội sinh HY9 và TT3. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 20(12): 1640 - 1648.
14. Nguyễn Văn Giang, Vũ Thị Tươi, Vũ Thị Linh, Phạm Hồng Hiến (2021). Ảnh hưởng của môi trường và điều kiện nuôi cấy đến khả năng tổng hợp IAA của một số chủng vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ cây sù (*Aegiceras corniculatum*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 06(127), tr. 49 - 55.
15. Duca D, Lorv J, Patten CL, Rose D, Glick B. R. (2014). Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106(1): 85 - 125. doi: 10.1007/s10482-013-0095-y.
16. Sudha, M., Shyamala, G. R., Prbhavati, P., Astapriya, P., Yamuna Devi, Y., Saranya, A. (2012). Production and optimization of Indole acetic acid by indigenous microflora using agro waste as substrate. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15, 39 - 43.
17. Panigrahi S., Mohanty S. & Chandi C. R. (2020). Characterization of endophytic bacteria *Enterobacter cloacae* MG00145 isolated from *Ocimum sanctum* with Indole Acetic Acid (IAA) production and plant growth promoting capabilities against selected crops. *South African Journal of Botany*. 134: 17 - 26.
18. Emami E., Alikhani H. A., Pourbabaei A. A., Etesami H., Sarmadian F. & Motessharezadeh B. (2019). Assessment of the potential of Indole-3-acetic acid producing Bacteria to manage chemical fertilizers application. *International Journal of Environmental Research*, 13: 603 - 611
19. Basu, P. and Ghosh, A. (2001). Production of indole acetic acid in culture by a *Rhizobium*

species from the root nodules of a monocotyledonous tree, *Roystonea regia*. *Acta Biotechnol.* 21, 65 - 72. doi: 10.1002/1521-3846 (200102)21:1

20. Sridevi M, N. C. S. Yadav and K. V. Mallaiah, (2008). Production of Indole-acetic-acid by Rhizobium Isolates from *Crotalaria* Species. *Research Journal of Microbiology*, 3: 276 - 281.

CHARACTERISATION OF POTENTIAL PLANT GROWTH PROPERTIES OF SOME BACTERIAL ENDOPHYTES ISOLATED FROM THE ROOT OF HOLY BASIL (*Ocimum sanctum* L.)

Pham Hong Hien¹, Ngo Thị Lan², Giang Van Nguyen²

¹*Vietnam Academy of Agricultural Sciences.*

²*Faculty of Biotechnology, Vietnam National University of Agriculture,*

Summary

Bacterial endophytes can offer several benefits to the host plant, particularly growth promotion as phytohormone biosynthesis, phosphate solubilization, siderophore production and stimulation of nutrient adsorption and increase of pathogen resistance of the host plant. In this study, 4 bacterial endophytic strains RH2.1, RH2.2, RH5.1 and RH5.2 isolated from roots of *Ocimum sanctum* L. and their plant growth-promoting properties were evaluated. All of them exhibited phosphate solubilizing ability, siderophore production and IAA-producing activity. At pH=7, the RH2.2 strain showed the highest ability in IAA production after 72 hours of the incubation period, at 30-35°C in a culture medium with carbon and nitrogen sources, respectively glucose, lactose and peptone. These selected endophytic bacteria are potential materials for the production of bioproducts used in agriculture sustainable.

Keywords: *Endophytic bacteria, phosphate solubilizing, siderophore, IAA production, Ocimum sanctum L.*

Ngày nhận bài: 20/11/2023

Ngày chuyển phản biện: 5/12/2023

Ngày thông qua phản biện: 19/12/2023

Ngày duyệt đăng: 10/6/2024

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC, SINH THÁI CỦA SÂU *Luthrodes pandava* GÂY HẠI TRÊN CÂY VẠN TUẾ TRỒNG TẠI THÀNH PHỐ VINH, TỈNH NGHỆ AN

Nguyễn Thị Thúy^{1,*}, Nguyễn Đức Trung¹

¹ Viện Nông nghiệp và Tài nguyên, Trường Đại học Vinh

*Email: nguyenthuyqh@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã cung cấp các dẫn liệu về đặc điểm hình thái, sinh học và sinh thái của sâu *Luthrodes pandava* gây hại trên cây Vạn tuế trồng tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An. Nhiệt độ và ẩm độ ảnh hưởng đến thời gian phát triển và sức sống của sâu *Luthrodes pandava*. Thời gian vòng đời của sâu ở nhiệt độ 23,0°C và ẩm độ 84,3% RH trung bình là $17,7 \pm 1,2$ ngày; ở nhiệt độ 21,6°C và ẩm độ 86,5% RH trung bình là $19,9 \pm 1,4$ ngày. Sâu *Luthrodes pandava* là đối tượng gây hại chính cho cây Vạn tuế trồng tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An. Sâu xuất hiện quanh năm, đạt đỉnh cao vào tháng 9/2020 với mật độ là 9,73 con/cây, tỉ lệ hại 46,67%; đỉnh cao vào tháng 5/2021 với mật độ là 10,06 con/cây, tỉ lệ hại 51,72%. Các kết quả nghiên cứu về đặc điểm sinh học, sinh thái làm cơ sở để kiểm soát loài sâu *L. pandava* trên cây Vạn tuế hiệu quả hơn.

Từ khóa: *Cycas revoluta*, *Luthrodes pandava*, sinh học, sinh thái.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Vạn tuế (*Cycas revoluta*) nằm trong nhóm cây mang ý nghĩa tâm linh, có sức sống mãnh liệt, chịu nóng, chịu hạn tốt, kỹ thuật trồng tương đối đơn giản nên được trồng nhiều nơi ở trong nhà, khu đô thị hay các công trình dân cư. Ở thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An, cây Vạn tuế được trồng làm cảnh dưới nhiều hình thức như trồng làm tiểu cảnh để tạo cảnh quan quảng trường, đường phố, công viên,

Sâu *Luthrodes pandava* (trước đây gọi là *Chilades pandava*) có nguồn gốc từ Nam Á và đã được phát hiện ở nhiều quốc gia và vùng lãnh thổ trên thế giới như: Trung Quốc, Đài Loan, Thái Lan, Ai Cập... [1]. Tại Thái Lan, đã ghi nhận sâu *L. pandava* gây hại cho 85 loài vật chủ thuộc họ Cycadaceae [2]. Những năm gần đây, sâu *L. pandava* được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu về đặc điểm sinh học, sinh thái và biện pháp phòng trừ [3 - 6]. Ở Việt Nam, nghiên cứu về sâu *L. pandava* còn rất hạn chế, chỉ có một vài dẫn liệu về thành phần loài [7], [8].

Tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An, sâu *L. pandava* xuất hiện quanh năm và gây hại mạnh

cho cây Vạn tuế. Một số biện pháp kiểm soát loài sâu này đã được đưa ra nhưng hiệu quả chưa cao, lượng thuốc hóa học sử dụng còn nhiều. Sâu gây hại đã làm giảm giá trị kinh tế của cây Vạn tuế và ảnh hưởng đến cảnh quan môi trường. Mặt khác, ở Việt Nam, sâu *L. pandava* còn ít được nghiên cứu, các biện pháp phòng trừ chủ yếu bằng thuốc hóa học. Vì vậy, việc nghiên cứu đặc điểm hình thái, sinh học, sinh thái làm cơ sở để kiểm soát loài sâu này hiệu quả và an toàn hơn là rất cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Sâu *Luthrodes pandava* (Horsfield, [1829]) (Lepidoptera: Lycaenidae) gây hại cây Vạn tuế.

- Cây Vạn tuế (*Cycas revoluta*) từ 10 - 12 tuổi, cao 1,5 - 2,0 m, tán rộng 1,2 - 1,5 m được trồng tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: Từ tháng 6/2020 đến tháng 6/2021.

- Địa điểm: Mẫu vật sâu thu thập trên cây Vạn tuế trồng tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An; phân loại, theo dõi, đo đếm các chỉ tiêu nghiên cứu tại

Phòng thí nghiệm của Viện Nông nghiệp và Tài nguyên, Trường Đại học Vinh.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Điều tra thu thập mẫu theo QCVN 01-38:2010/BNNPTNT [9].

Thời gian điều tra định kỳ 7 ngày/lần, khi mật độ sâu cao điều tra bổ sung, với số lượng là 30 cây. Các mẫu vật sâu hại thu thập trên cây Vạn tuế được cho vào các ống nghiệm, hộp nhựa, đưa về phòng thí nghiệm để phân loại và bảo quản.

Nuôi sâu *L. pandava* trong điều kiện phòng thí nghiệm với số lượng cá thể mỗi pha từ 20 - 30 con/hộp. Sâu non nuôi bằng thức ăn lá non cây Vạn tuế. Trưởng thành nuôi theo cặp đực, cái. Hộp nuôi sâu có đường kính từ 15 cm, cao 20 cm. Mỗi hộp đều có ký hiệu riêng, có phiếu theo dõi hàng

ngày tương ứng. Số mẫu theo dõi ở mỗi pha phát dục trên 30 cá thể.

- Đo đếm kích thước, quan sát mô tả hình dạng, màu sắc, chụp ảnh.

- Xác định thời gian các pha phát dục, vòng đời, tỉ lệ sống sót, tập tính gây hại.

- Xác định mật độ sâu (con/cây), tỉ lệ hại (%).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái, sinh vật học của sâu

L. pandava

3.1.1. Pha trứng

Sâu *L. pandava* đẻ trứng trên chồi non của cây Vạn tuế, khi chồi cây vẫn còn bao phủ bởi lớp lông màu nâu, các lá màu xanh vẫn chưa bung ra. Một số con cái đẻ trứng nhiều lần trên một chồi, một chồi có nhiều trứng đẻ vào các thời điểm khác nhau. Sâu đẻ trứng rời từng quả (Hình 1).



Hình 1. Trứng của sâu *L. pandava*

Mỗi quả trứng có đường kính khoảng 0,4 - 0,5 mm, màu xanh lục nhạt, có hình bầu dục có một lỗ nhỏ ở tâm của bề mặt phía trên. Bề mặt quả trứng được tạo hình lưới với các đường gờ và vết lõm nhỏ. Trứng sâu chuyển dần từ màu xanh lục nhạt sang màu vàng nhạt khi nở.

3.1.2. Sâu non

- Sâu non tuổi 1: Cơ thể có màu vàng nhạt, phần đầu có màu đen, có vệt dài ở lưng và dọc theo rìa cơ thể. Sâu non mới nở không ăn phần còn lại của vỏ trứng mà kiếm ăn bằng cách gặm nhấm lớp biểu bì của lá. Sâu non tuổi 1 khi có chiều dài khoảng 1,2 - 1,8 mm, trung bình là $1,5 \pm 0,3$ mm. Sâu non cuối tuổi 1 chiều dài cơ thể có thể đạt 1,7 - 1,9 mm,

- Sâu non tuổi 2: Sâu non bắt đầu phân hóa với 2 màu khá rõ rệt là màu vàng nhạt và nâu sẫm. Có

những nốt sần dài xuất hiện ở mặt lưng và dọc theo rìa cơ thể, còn có những đám lông ngắn và mảnh bao phủ bề mặt cơ thể. Sâu non tuổi 2 đạt chiều dài khoảng 3,2 - 3,6 mm, trung bình là $3,4 \pm 0,3$ mm.

- Sâu non tuổi 3: Sang tuổi 3 sâu non có một lớp lông trên cơ thể dày đặc hơn so với sâu non tuổi 2. Sâu non tuổi 3 có màu vàng nhạt hoặc nâu sẫm, ngoài ra còn xuất hiện dạng có cả màu vàng với các dải màu nâu sẫm. Sâu non tuổi 3 chiều dài cơ thể đạt khoảng 6,5 - 7,5 mm, trung bình $7,0 \pm 0,6$ mm. Sâu non tuổi 3 ăn hết phần lớn các lá non và chồi non, chỉ còn sót lại cồi và gân lá.

- Sâu non tuổi 4: Đặc trưng với một lớp lông dày đặc, ngắn màu trắng trên khắp bề mặt cơ thể. Một lần nữa, ba dạng màu tương tự sâu non tuổi 3 được quan sát trong giai đoạn trước đó lại xuất

hiện. Sâu non tuổi 4 có thể ăn theo bề mặt lá hoặc dọc theo mép lá. Chiều dài sâu non tuổi 4 khoảng 11,0 - 13,0 mm, trung bình $11,8 \pm 0,9$ mm. Bước

vào giai đoạn tiền nhộng thì cơ thể của sâu non dần co ngắn lại, ngừng ăn và tìm kiếm nơi hóa nhộng.



Sâu non tuổi 1, 2, 3, 4

Sâu non đang lột xác



Sâu non tuổi 1

Sâu non tuổi 2

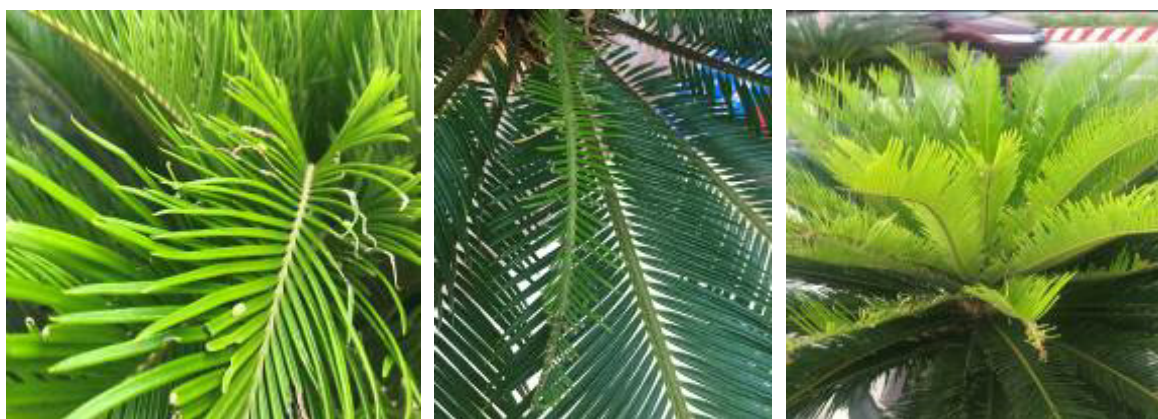
Sâu non tuổi 3

Sâu non tuổi 4 (có 2 màu)

Hình 2. Các tuổi sâu non của sâu *L. pandava*



Vết cắn trên lá, đọt non của sâu non tuổi 1 và 2



Vết cắn của sâu non tuổi 3 và 4

Hình 3. Vết cắn của sâu *L. pandava* ở các tuổi sâu non khác nhau

3.1.3. Nhộng

Tùy thuộc vào màu sắc của sâu non mà nhộng có màu vàng lục hoặc vàng nhạt đến nâu đỏ sẫm, có nhiều đốm đen. Khi chuẩn bị cho quá trình vũ hóa trưởng thành thì nhộng dần chuyển sang màu đen, đầu tiên ở đầu, ngực, cánh, sau đó lan dần xuống bụng.

Nhộng có hình dạng elip điển hình và được bảo vệ bằng lớp kén bám chặt vào giá thể (lá, thân). Chiều dài khoảng 9 – 10 mm, trung bình $9,5 \pm 0,4$ mm. Sâu thường chọn một khoảng trống giữa 2 lá hoặc hốc lá để làm nơi hóa nhộng. Sâu tuổi cuối chuẩn bị cho quá trình hóa nhộng bằng cách quay một sợi tơ và một tấm đệm tơ để tự gắn vào qua móc hậu môn. Sau khoảng 1 ngày ở giai đoạn tiền nhộng, thì diễn ra quá trình hóa nhộng.



Hình 4. Nhộng của sâu *L. pandava*

3.1.4. Trưởng thành

- Trưởng thành đực: Mặt trên của cánh trước và cánh sau đều có màu xanh lam; mép cánh có màu đen và viền trắng ngoài cùng. Mặt dưới cánh sau có màu nâu, có các đốm đen viền màu trắng, một đốm đen viền màu cam lớn nhất nằm ở góc cánh sau.

- Trưởng thành cái: Mặt trên của cánh trước và cánh sau có màu xanh lam nhạt hơn con đực; mép cánh có màu nâu sẫm và viền trắng ngoài cùng. Mặt dưới của cánh trước có màu nâu nhạt, có các vết màu nâu đậm. Mặt dưới cánh sau có một dải màu nâu bên trong và một dải bên ngoài; có các

đốm màu đen viền trắng nằm phần giữa cánh; một đốm đen viền màu cam là lớn nhất nằm ở góc cánh sau, đốm màu cam ở cánh sau con đực lớn hơn con cái.

Trưởng thành được quan sát thấy bay trong khu vực xung quanh cây ký chủ, thường mở cánh để tắm nắng khi trời nắng. Kích thước trưởng thành khoảng 22 - 26 mm, trung bình $24 \pm 1,5$ mm.

Kết quả nghiên cứu về đặc điểm hình thái các pha phát triển của sâu *L. pandava* có nhiều điểm tương đồng với kết quả nghiên cứu của Abu-shall và cs (2014) [1], Chung (2012) [3], Marler và cs (2012) [2] (Hình 4, 5).



Trưởng thành cái



Trưởng thành đực

Hình 5. Trưởng thành đực, cái của sâu *L. pandava*

Bảng 1. Hình thái của sâu *L. pandava*

Pha phát triển	Kích thước của sâu (mm)		Màu sắc của sâu
	Chiều dài (ngắn nhất - dài nhất)	Trung bình (TB ± SD)	
Trứng	0,4 - 0,6	0,5 ± 0,1	Xanh lục nhạt
Sâu non tuổi 1	1,2 - 1,8	1,5 ± 0,3	Vàng nhạt
Sâu non tuổi 2	3,2 - 3,6	3,4 ± 0,3	Vàng nhạt, nâu sẫm
Sâu non tuổi 3	6,5 - 7,5	7,0 ± 0,6	Vàng nhạt, nâu sẫm hoặc kết hợp cả màu vàng với dải màu nâu sẫm
Sâu non tuổi 4	11,0 - 13,0	11,8 ± 0,9	Vàng nhạt, nâu sẫm hoặc kết hợp cả màu vàng với dải màu nâu sẫm
Nhộng	9,0 - 10,0	9,5 ± 0,4	Vàng xanh, nâu sẫm
Trưởng thành	22,0 - 26,0	24,0 ± 1,5	Xanh lam, nâu xám

Ghi chú: TB: Trung bình; SD: Độ lệch chuẩn.

3.2. Thời gian phát triển của sâu *L. pandava*

Theo dõi thời gian các pha phát triển của sâu *L. pandava* gây hại trên cây Vạn tuế ở điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 2 cho thấy:

- Ở nhiệt độ 23,0°C và ẩm độ 84,3% RH thời gian vòng đời của sâu *L. pandava* khoảng 15,4 - 20,2 ngày, trung bình là 17,7 ± 1,2 ngày. Trong đó, thời gian phát triển trung bình các pha phát dục của sâu như sau: Pha trứng 1,6 ± 0,2 ngày; pha sâu non 5,6 ± 0,6 ngày; pha nhộng 5,5 ± 0,5 ngày và từ

trưởng thành đến đẻ trứng lần đầu là 5,0 ± 0,6 ngày.

- Ở nhiệt độ 21,6°C và ẩm độ 86,5% RH thời gian vòng đời của sâu *L. pandava* khoảng 18,6 - 22,9 ngày, trung bình là 19,9 ± 1,4 ngày. Trong đó, thời gian phát triển trung bình các pha phát dục của sâu như sau: Pha trứng 2,0 ± 0,1 ngày; pha sâu non 6,1 ± 0,6 ngày; pha nhộng 6,3 ± 0,3 ngày và từ trưởng thành đến đẻ trứng lần đầu là 5,5 ± 0,5 ngày.

Bảng 2. Thời gian các pha phát triển và vòng đời của sâu *L. pandava*

Pha phát triển	Thời gian phát triển của sâu ở các điều kiện thí nghiệm (ngày)			
	Nhiệt độ 23,0°C, ẩm độ 84,3% RH		Nhiệt độ 21,6°C, ẩm độ 86,5% RH	
	Ngắn nhất - dài nhất	Trung bình (TB ± SD)	Ngắn nhất - dài nhất	Trung bình (TB ± SD)

Trứng	1,5 - 2,0	1,6 ± 0,2	2,0 - 2,2	2,0 ± 0,1
Sâu non tuổi 1	1,2 - 1,5	1,4 ± 0,2	1,5 - 2,0	1,8 ± 0,3
Sâu non tuổi 2	1,0 - 1,3	1,1 ± 0,1	1,1 - 1,3	1,1 ± 0,1
Sâu non tuổi 3	1,0 - 1,2	1,1 ± 0,1	1,0 - 1,2	1,1 ± 0,1
Sâu non tuổi 4	1,7 - 2,0	2,0 ± 0,2	2,0 - 2,2	2,1 ± 0,1
Nhộng	5,0 - 6,0	5,5 ± 0,5	6,0 - 7,0	6,3 ± 0,3
Trưởng thành đến đẻ trứng lần 1	4,0 - 6,0	5,0 ± 0,6	5,0 - 7,0	5,5 ± 0,5
Vòng đời phát triển	15,4 - 20,0	17,7 ± 1,2	18,6 - 22,9	19,9 ± 1,4

Ghi chú: TB: Trung bình; SD: Độ lệch chuẩn; n: Số lượng mẫu theo dõi.

Như vậy, ở nhiệt độ 23,0°C và ẩm độ 84,3% RH thời gian các pha phát triển của sâu *L. pandava* diễn ra nhanh hơn so với khi nhiệt độ giảm xuống 21,6°C và ẩm độ 86,5% RH. Theo Ravuiwasa và cs (2012) [4], sâu *L. pandava* có khả năng thích nghi cao với môi trường nhiệt độ từ 25 - 31°C; thời gian vòng đời của sâu ở các mức nhiệt

độ 25°C, 28°C và 31°C lần lượt là 22,72 ngày; 19,10 ngày và 28,67 ngày.

3.3. Tỷ lệ sống sót của sâu *L. pandava* ở các pha phát triển

Tỷ lệ sống sót là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá sức sống của sâu và chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố khác nhau như điều kiện nhiệt độ và ẩm độ (Bảng 3).

Bảng 3. Tỷ lệ sống sót của sâu *L. pandava* qua các pha phát triển ở điều kiện phòng thí nghiệm

Pha phát triển	Tỷ lệ sống sót của sâu ở các điều kiện thí nghiệm (%)	
	Nhiệt độ 23,0°C, ẩm độ 84,3% RH	Nhiệt độ 21,6°C, ẩm độ 86,5% RH
Trứng	59,56	61,53
Sâu non tuổi 1	70,11	75,56
Sâu non tuổi 2	73,22	78,57
Sâu non tuổi 3	75,17	79,59
Sâu non tuổi 4	80,05	86,45
Nhộng	52,11	58,54
Trưởng thành đến đẻ trứng lần 1	58,22	63,14

Ở nhiệt độ 23,0°C, ẩm độ 84,3% RH, tỉ lệ sống sót của sâu *L. pandava* đạt cao nhất ở pha sâu non, tuổi càng lớn thì sức sống càng cao, trong đó sâu non tuổi 1 là 70,11%, sâu non tuổi 2 là 73,22%, sâu non tuổi 3 là 75,17% và sâu non tuổi 4 là 80,05%. Tiếp đến, tỉ lệ sống sót pha trứng đạt 59,56% và trưởng thành đến đẻ trứng lần 1 là 58,22%. Pha nhộng có tỉ lệ sống sót thấp nhất, chỉ đạt 52,11%.

Ở nhiệt độ 21,6°C, ẩm độ 86,5% RH, tỉ lệ sống sót của sâu *L. pandava* cũng đạt cao nhất ở pha sâu non, tuổi càng lớn thì sức sống càng cao, trong đó sâu non tuổi 1 là 75,56%, sâu non tuổi 2 là 78,57%, sâu non tuổi 3 là 79,59% và sâu non tuổi 4 là 86,45%. Tiếp đến, tỉ lệ sống sót pha trứng đạt 61,53% và trưởng thành đến đẻ trứng lần 1 là 63,14%. Pha nhộng có tỉ lệ sống sót thấp nhất, chỉ đạt 58,54%.

Như vậy, ở 2 điều kiện nhiệt độ và độ ẩm thí nghiệm thì tỉ lệ sống sót của sâu *L. pandava* đạt tương đối thấp ở pha trứng, nhộng và trưởng thành đến đẻ trứng lần 1 (52,11 - 63,14%); đạt mức cao hơn ở pha sâu non (70,11 - 86,45%). Kết quả trên cho thấy, mức nhiệt độ 21,6 - 23°C không phải ngưỡng thích hợp cho sâu *L. pandava* phát triển. Khi điều tra ngoài vườn cây Vạn tuế về diễn biến mật độ và tỉ lệ hại của sâu *L. pandava* cũng đạt đỉnh cao vào tháng 5 và tháng 9, nhiệt độ khoảng 28 - 30°C (Bảng 4). Kết quả trên cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Ravuiwasa và cs (2012) [4], theo đó sâu *L. pandava* thích hợp phát triển ở điều kiện môi trường nhiệt độ từ 25 - 31°C.

3.4. Diễn biến mật độ sâu *L. pandava* gây hại trên cây Vạn tuế trồng tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An

Kết quả điều tra tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An từ tháng 6/2020 đến tháng 6/2021 cho thấy, sâu *L. pandava* là đối tượng gây hại mạnh nhất và xuất hiện tất cả các thời điểm trong năm. Đây là loài sâu ăn lá non nên chúng chỉ xuất hiện cao điểm khi cây Vạn tuế ra lá non. Bình thường cây Vạn tuế mỗi năm ra 2 đợt lá non chính vào tháng 5 và tháng 9 và đây cũng là mốc thời điểm mà mật độ sâu *L. pandava* đạt 2 đỉnh cao và gây hại mạnh nhất (Bảng 4, hình 6).

Cụ thể, đỉnh cao vào đợt ra lộc tháng 9/2020 khi mật độ sâu gây hại đạt 9,73 con/cây, với tỉ lệ hại là 46,67%. Mật độ sâu đạt đỉnh cao khi cây ra lá non vào tháng 5/2021 với mật độ đạt 10,06 con/cây và tỉ lệ hại lên đến 51,72%. Mỗi đợt ra lá non tính từ khi nhú chồi đến lúc lá thẳng khoảng 20 ngày. Sau khi lá non dần già thì mật độ sâu cũng sẽ giảm dần theo thời gian, vì sâu rất ít ăn lá già. Mật độ sâu giảm thấp nhất vào tháng 11/2020, còn 0,41 con/cây.

Mặt khác, hình 7 và 8 cho thấy, mối liên quan giữa diễn biến tỉ lệ hại của sâu *L. pandava* với yếu tố nhiệt độ và ẩm độ tại thành phố Vinh. Trong đó, tháng 9/2020 và tháng 5/2021 có nhiệt độ trung bình đạt 28,5°C và 30,6°C; ẩm độ 80% và 85% là điều kiện thích hợp cho sâu phát sinh, phát triển và gây hại. Còn ở điều kiện nhiệt độ cao, ẩm độ thấp vào khoảng tháng 6 hoặc khi nhiệt độ xuống thấp từ tháng 12 đến tháng 2 đã ảnh hưởng làm giảm đến sức sống và mức độ gây hại của sâu trên cây Vạn tuế. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Mohammed và cs (2019) [5] tại Ai Cập, theo đó sâu *L. pandava* gây hại cho cây Vạn tuế cũng đạt 2 đỉnh cao vào tuần đầu tiên của tháng 5 và tháng 9 năm 2018, với tỉ lệ hại lên tới 63,89%.

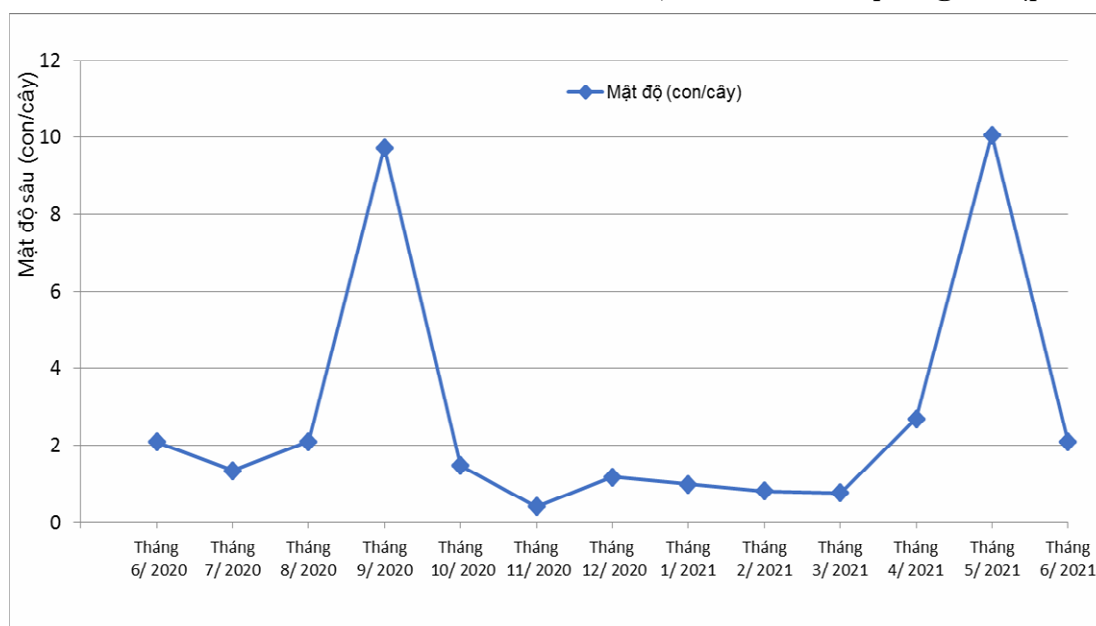
Bảng 4. Diễn biến mật độ và tỉ lệ hại của sâu *L. pandava* trên cây Vạn tuế trồng tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An

TT	Thời gian theo dõi	Mật độ sâu (con/cây)	Tỉ lệ hại (%)	Nhiệt độ (°C)	Ẩm độ (% RH)
1	Tháng 6/2020	2,09	34,48	33,2	62
2	Tháng 7/2020	1,34	31,03	30,7	73
3	Tháng 8/2020	2,10	40,00	29,8	75

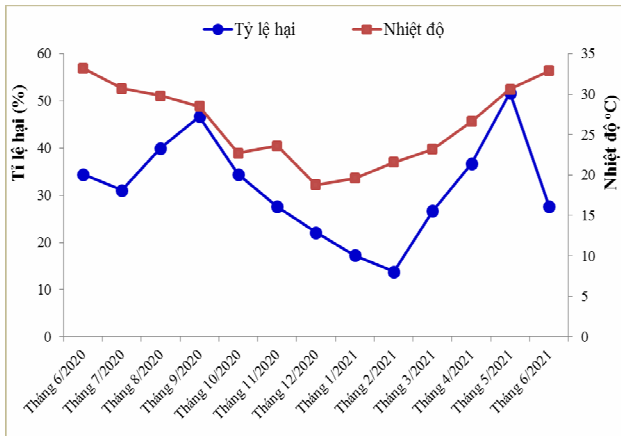
4	Tháng 9/2020	9,73	46,67	28,5	85
5	Tháng 10/2020	1,47	34,48	22,7	83
6	Tháng 11/2020	0,41	27,59	23,6	86
7	Tháng 12/2020	1,18	22,13	18,8	80
8	Tháng 1/2021	0,99	17,24	19,6	86
9	Tháng 2/2021	0,81	13,79	21,6	87
10	Tháng 3/2021	0,76	26,67	23,2	86
11	Tháng 4/2021	2,69	36,67	26,6	88
12	Tháng 5/2021	10,06	51,72	30,6	80
13	Tháng 6/2021	2,09	27,59	32,9	64

Mặc dù, cây Vạn tuế thường chỉ có 2 đợt ra lá non chính nhưng lại mọc các chồi ở trên thân rải rác quanh năm. Các chồi này mọc lên sẽ bị cắt bỏ và sau khoảng 2 tuần lại mọc chồi mới. Mặt khác, trong những năm gần đây, các đợt ra lá non không đều, cây sớm, cây muộn. Từ những điều kiện trên làm cho sâu *L. pandava* xuất hiện, duy trì tồn tại và gây hại quanh năm cho cây Vạn tuế trồng tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An.

Để tăng hiệu quả phòng trừ, giảm mức độ gây hại của sâu cho lá non cây Vạn tuế nên tiến hành phun phòng trước khi cây ra lá non. Cụ thể, nên phun phòng sâu *L. pandava* trước tháng 5 và tháng 9 dương lịch hàng năm. Ngoài ra, công tác xử lý cắt tỉa chồi thân phải tiến hành thường xuyên, liên tục quanh năm nhằm cắt nguồn thức ăn nuôi sâu. Với vòng đời tương đối ngắn, sức ăn sâu non mạnh nên tốc độ gây hại của sâu *L. pandava* diễn ra khá nhanh, cần theo dõi và phòng trừ kịp thời.



Hình 6. Diễn biến mật độ sâu *L. pandava* gây hại trên cây Vạn tuế tại thành phố Vinh



Hình 7. Diễn biến tỉ lệ hại của sâu *L. pandava* và nhiệt độ tại thành phố Vinh

4. KẾT LUẬN

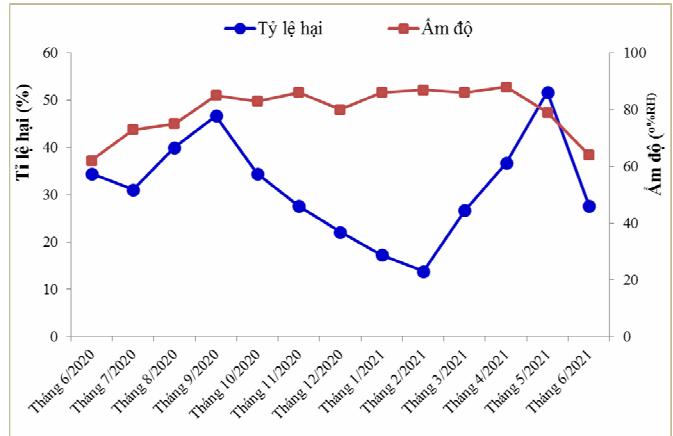
Đã mô tả được một số đặc điểm hình thái các pha phát triển của sâu *L. pandava* gây hại trên cây Vạn tuế trồng tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An.

Ở nhiệt độ 23,0°C và ẩm độ 84,3% RH, thời gian vòng đời của sâu *L. pandava* trung bình là 17,7 ± 1,2 ngày, ngắn hơn so với ở nhiệt độ 21,6°C, 86,5% RH có thời gian vòng đời trung bình là 19,9 ± 1,4 ngày. Mức nhiệt độ 21,6 - 23°C không phải ngưỡng thích hợp cho sâu *L. pandava* phát triển. Tỷ lệ sống sót của sâu tương đối thấp ở cả pha trứng, nhộng và trưởng thành đến đẻ trứng lần 1 chỉ đạt 52,11 - 63,14%; đạt mức cao hơn ở pha sâu non là 70,11 - 86,45%.

Sâu *L. pandava* là đối tượng gây hại chính cho cây Vạn tuế trồng tại thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An. Sâu xuất hiện quanh năm, đạt 2 đỉnh cao tương ứng với 2 đợt ra lá non vào tháng 9/2020 với mật độ là 9,73 con/cây, tỉ lệ hại 46,67%; đỉnh cao vào tháng 5/2021 với mật độ là 10,06 con/cây, tỉ lệ hại 51,72%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abu-shall A., H. Ramadan, M. A. Abu-Ghonem (2014). Immature stages of *Chilades pandava* (Lepidoptera: Lycaenidae), a new pest of *Cycas* spp. in Egypt. *Alex. J. Agric. Res*, Vol. 59, No.3, pp. 197 - 204.
2. Marler, T. E., A. J. Lindstrom. and L. I. Terry (2012). *Chilades pandava* damage among



Hình 8. Diễn biến tỉ lệ hại của sâu *L. pandava* và ẩm độ tại thành phố Vinh

85 *Cycas* species in a common garden setting. *HortScience*, Vol. 47(12), pp. 1832 - 1836.

3. Chung A. Y. C (2012), Infestation of *Chilades pandava* (Lepidoptera: Lycaenidae) on ornamental cycads and its control measures, Forest Research Centre, Sabah Forestry Department, P. O. Box 1407, 90715 Sandakan, Sabah, Malaysia.

4. Ravuiwasa K., Ching-Wen Tan, Shaw-Yhi Hwang (2012). Temperature-Dependent Demography of *Chilades pandava* peripatria (Lepidoptera: Lycaenidae). *Journal of economic entomology*, Vol. 105(5), pp. 1581 - 1590.

5. Mohammed Abd El-Ghany Batt, Gamal Mohamed Hassan and Masoud Rashad El-Aassar (2019). A study on infestation factors of cycas and zamia palms with butterfly. *Chilades pandava* and its control in Egypt. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, Vol. 22, pp. 477 - 485.

6. Neelam Purti, Lal Ji Singh, Arun K. Pandey (2022). New hosts for the cycad blue butterfly, *Luthrodes pandava*. Horsfield (Lepidoptera: Lycaenidae) in an island ecosystem. *Feddes Repertorium*, Vol. 133(3).

7. Trần Thị Thanh Bình, Vũ Văn Liên (2014). Đa dạng bướm và ngài ở khu rừng đặc dụng Krông Trai, Phú Yên. *Tạp chí Sinh học*, 36(2): 160 - 168.

8. Huỳnh Vũ Ngọc Quý, Đỗ Thị Bích Lộc, Đào Phú Quốc (2017). *Nghiên cứu đa dạng sinh*

học khu hệ côn trùng tỉnh An Giang. Kỷ yếu Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 7, tr. 333 - 339.

9. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01-38:2010/BNNPTNT về Phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng.

SOME BIOLOGICAL AND ECOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *Luthrodes pandava* Horsfield INFESTATION ON *Cycas revoluta* IN VINH CITY, NGHE AN PROVINCE

Nguyen Thi Thuy¹, Nguyen Duc Trung¹

¹*Institute of Agricultural and Resource, Vinh University*

Summary

This study provides data for morphological, biological and ecological characteristics of *Luthrodes pandava* infestation on *Cycas revoluta* in Vinh city, Nghe An province. Temperature and humidity affecting development time and survival of *Luthrodes pandava*. The total life cycle of *Luthrodes pandava* was completed with an average period of 17.7 ± 1.2 days at the 23.0°C temperature and 84.3% humidity; 19.9 ± 1.4 days at the 21.6°C temperature and 86.5% humidity. *Luthrodes pandava* is a major pest of Cycad plants in Vinh city, Nghe An province. *Luthrodes pandava* appears all year round, reaching its peak in September 2020 with the mean density of 9.73 larvae per tree and damage rate 46.67% and in May 2021 with the mean density of 10.06 larvae per tree and damage rate 51.72%. Studies results on biological and ecological characteristics serve as the basis for more effective control of *Luthrodes pandava* on *Cycas revoluta*.

Keywords: *Biolog, Cycas revoluta, ecology, Luthrodes pandava.*

Ngày nhận bài: 8/9/2023

Ngày chuyển phản biện: 25/9/2023

Ngày thông qua phản biện: 10/10/2023

Ngày duyệt đăng: 15/5/2024

ĐỘNG HỌC PHÂN HUỶ SẮC TỐ ANTHOCYANIN TRONG DỊCH TRÍCH ĐÀI HOA BỤP GIẤM (*Hibiscus sabdariffa* L.) DƯỚI ẢNH HƯỞNG CỦA MALTODEXTRIN, GUM ARABIC VÀ GELATIN

Huyền Quốc Trung¹, Nguyễn Thị Vân Linh¹ *

¹ Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

* Email: ntvlinh@ntt.edu.vn

TÓM TẮT

Hoa búp giấm (*Hibiscus sabdariffa* L.) là nguyên liệu giàu hợp chất anthocyanin với hoạt tính sinh học cao. Tuy nhiên thành phần anthocyanin dễ bị phân huỷ dưới ảnh hưởng của ánh sáng, nhiệt độ, pH. Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu là phân tích động học phân huỷ sắc tố anthocyanin trong dịch trích đài hoa búp giấm dưới ảnh hưởng của các thành phần hydrocolloid nhằm xác định điều kiện ổn định sắc tố anthocyanin trong bảo quản. Kết quả cho thấy, thành phần anthocyanin trong dịch trích với các công thức hydrocolloid khác nhau đã bị phân huỷ trong suốt thời gian bảo quản ở nhiệt độ 5 và 30°C. Mô hình phân huỷ anthocyanin được xác định tuân theo bậc 1. Tốc độ phân huỷ của anthocyanin được xác định càng chậm ở nhiệt độ bảo quản càng thấp, hằng số phân huỷ dao động từ 0,010327 - 0,036358 1/ngày khi bảo quản ở 5°C và dao động từ 0,030576 - 0,071112 1/ngày khi bảo quản ở 30°C. Bên cạnh đó, tỉ lệ phối trộn của các thành phần maltodextrin, gum arabic và gelatin càng cao thì tốc độ phân huỷ càng thấp. Trong tương lai cần đánh giá thêm về ảnh hưởng của hydrocolloid đến đặc tính lưu biến của sản phẩm nhằm chọn ra được công thức tối ưu.

Từ khóa: Hoa búp giấm, động học, anthocyanin, hydrocolloid.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa búp giấm (*Hibiscus sabdariffa* L.), thuộc họ Malvaceae [1] rất giàu polyphenol, đặc biệt là anthocyanin như delphi-nidin-3-sambubioside và cyanidin-3-sambubioside chất chống oxy hóa mạnh [2]. Thực phẩm giàu hàm lượng anthocyanin (ACN) được chứng minh là có nhiều lợi ích về dược lý, ứng dụng điều trị do có đặc tính chống oxy hóa. Các sản phẩm chứa hợp chất tự nhiên thường được dùng thay thế để điều trị bệnh [3]. Tuy nhiên, thành phần anthocyanin rất dễ bị tổn thất do phân huỷ bởi nhiệt độ, oxy, ánh sáng, pH, nồng độ đường, các tác nhân khác và đáng chú ý nhất là sự mất ổn định, khó duy trì và giữ được các sắc tố tạo màu trong các quá trình chế biến và bảo quản. Để ổn định thành phần anthocyanin trong dịch trích, một số nghiên cứu đã chứng minh các thành phần hydrocolloid có tác dụng ổn định anthocyanin thông qua những tương tác nội phân tử

hoặc do sự gắn kết của thành phần anthocyanin vào cấu trúc của hydrocolloid [4].

Trong nghiên cứu về sự ổn định của thành phần hoá học thì việc dự báo xu hướng thay đổi của thành phần khảo sát sẽ mang đến thuận lợi trong kiểm soát và cải tiến quá trình công nghệ. Do vậy, động học phân huỷ anthocyanin cũng được quan tâm, một nhóm cấu trúc hóa học có hoạt tính sinh học cao thuộc polyphenol [5-12]. Các phản ứng bậc 0, 1, 2 là kết quả của động học biến đổi phenolic tổng cũng như các hợp chất khác [13]. Động học phân huỷ anthocyanin trong các dịch trích [6], [8], [10], [11] hay trong suốt quá trình bảo quản sản phẩm dạng bột [5], [9] trong suốt quá trình sấy [7] cũng tuân theo bậc 1. Tuy nhiên, nghiên cứu động học phân huỷ anthocyanin trong hoa búp giấm vẫn chưa được thực hiện. Vì vậy, mục đích của nghiên cứu này là phân tích động học phân huỷ của anthocyanin trong dịch

trích hoa búp giấm với những ảnh hưởng của các thành phần hydrocolloid khác nhau như maltodextrin, gum arabic và gelatin. Kết quả của nghiên cứu nhằm tìm ra được điều kiện phù hợp để tăng cường sự ổn định của anthocyanin hướng đến phát triển sản phẩm nước giải khát giàu thành phần sắc tố tự nhiên này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Hoa búp giấm khô được mua từ Công ty Việt Hibiscus (thành phố Hồ Chí Minh). Sản phẩm khô được bảo quản trong túi polyethylene ở nơi khô ráo, thoáng mát, tránh để tiếp xúc trực tiếp với ánh nắng mặt trời.

2.2. Hóa chất

Hóa chất chính dùng trong nghiên cứu gồm: Maltodextrin, gum arabic, gelatin có nguồn Merck, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (độ tinh khiết 99%), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic axit (99%), axit galic (99%), thuốc thử Folin (99%) có nguồn gốc Sigma-Aldrich, dung dịch HCl có nồng độ 38%, $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (độ tinh khiết 99%), natri carbonate (độ tinh khiết 99,8%), KCl (độ tinh khiết 99%) có nguồn gốc từ Ấn Độ và nước cất đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.3. Quy trình trích ly anthocyanin từ đài hoa búp giấm

Hoa búp giấm khô sau khi được mua về phòng thí nghiệm sẽ được tiến hành đi xay nhuyễn các hoa búp giấm và tiếp tục rây để cho kích thước hạt sao khi xay ra đồng đều. Anthocyanin từ hoa búp giấm được cố định trích ly trong dung môi là nước với tỉ lệ trích ly là 1: 10 (g/mL). Điều kiện trích ly được chọn lựa dựa vào tham khảo nghiên cứu của Nguyen và cs (2022) [14], theo đó dung môi trích ly được hiệu chỉnh về pH 2 và thực hiện trích ly ở 50°C trong 30 phút. Cuối cùng, hỗn hợp được lọc để loại bã và thu dịch trích anthocyanin từ hoa búp giấm để sử dụng trong nghiên cứu.

2.4. Quy hoạch thực nghiệm

Ứng dụng phương pháp bề mặt đáp ứng, thí nghiệm được quy hoạch theo phương pháp thiết kế Box-Behnken sử dụng phần mềm Design-Expert phiên bản 13.0 trong thiết kế và xử lý số liệu thực nghiệm. Trong nghiên cứu này có 4 yếu tố khảo sát gồm nhiệt độ bảo quản (ký hiệu T) (2 mức khảo sát), gum arabic (ký hiệu A) (3 mức khảo sát), maltodextrin (ký hiệu M) (3 mức khảo sát) và gelatin (ký hiệu G) (3 mức khảo sát). Đồng thời thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Chi tiết các thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Quy hoạch thực nghiệm trong nghiên cứu động học phân hủy anthocyanin trong dịch trích hoa búp giấm dưới những điều kiện khác nhau

STT	Nhiệt độ (°C)	Gum arabic (%)	Maltodextrin (%)	Gelatin (%)
1	5	0	1	1
2	5	1	1	0,5
3	5	2	1	0
4	5	1	0	1
5	5	2	2	0,5
6	5	2	1	1
7	5	2	0	0,5
8	5	0	0	0,5

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

9	5	1	0	0
10	5	1	1	0,5
11	5	1	2	0
12	5	1	1	0,5
13	5	0	2	0,5
14	5	0	1	0
15	5	1	2	1
16	30	0	1	1
17	30	1	1	0,5
18	30	2	1	0
19	30	1	0	1
20	30	2	2	0,5
21	30	2	1	1
22	30	2	0	0,5
23	30	0	0	0,5
24	30	1	0	0
25	30	1	1	0,5
26	30	1	2	0
27	30	1	1	0,5
28	30	0	2	0,5
29	30	0	1	0
30	30	1	2	1

Mỗi mẫu thí nghiệm được tiến hành phân tích hàm lượng anthocyanin ở những thời điểm cách nhau 4 ngày và tổng thời gian theo dõi hàm lượng anthocyanin là 12 ngày. Dữ liệu được dùng để phân tích động học phân huỷ của anthocyanin nhằm đánh giá mối tương quan giữa yếu tố khảo

sát đến sự ổn định của thành phần này trong dịch trích hoa búp giấm.

2.5. Xác định độ ẩm

Độ ẩm được xác định bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi.

Mẫu thí nghiệm (2 g) được sấy khô đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 105 °C. Độ ẩm của mẫu thí nghiệm được xác định theo công thức sau:

$$W (\%) = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó: W(%) là độ ẩm của mẫu thí nghiệm, m_0 (g) là khối lượng ban đầu của mẫu thí nghiệm, m_1 (g) là khối lượng lúc sau của mẫu thí nghiệm.

2.6. Xác định hàm lượng anthocyanin

Hàm lượng anthocyanin được xác định theo phương pháp mô tả bởi Lee và cs (2005) [15]. Sử dụng hai dung dịch đệm KCl pH 1 (0,025 M) và CH_3COONa pH 4 (0,4 M). Rút 0,5 ml dịch phân tích vào ống nghiệm rồi bổ sung 2 ml dung dịch đệm KCl. Tương tự rút 0,5 ml vào ống nghiệm khác và bổ sung 2 ml dung dịch đệm CH_3COONa . Các mẫu được đo ở bước sóng 520 nm và 700 nm bằng máy đo quang UV-Vis. Hàm lượng anthocyanin (mg/L) được xác định theo công thức:

$$\text{ACN}(\text{mg/L}) = \Delta A \varepsilon \times 1 \times M \times 103 \times D \quad (1)$$

Trong đó: ACN: hàm lượng anthocyanin; $\Delta A = (A_{520\text{nm pH } 1,0} - A_{700\text{nm pH } 1,0}) - (A_{520\text{nm pH } 4,5} - A_{700\text{nm pH } 4,5})$; ε : (hệ số tắt mol) = 26,900 L/mol/cm đối với cyanidin-3-glucoside; 1: chiều dài đường dẫn tính bằng cm; M: (khối lượng phân tử) = 448,8 g/mol đối với cyanidin-3-glucoside; D: hệ số pha loãng; 103: chuyển đổi từ g sang miligam.

2.7. Mô hình động học mô tả sự phân hủy anthocyanin trong suốt quá trình bảo quản ở những điều kiện khác nhau

Tổng hợp tài liệu cho thấy, mô hình động học bậc 1 đã có nhiều thành công trong mô tả quy luật phân hủy của các thành phần polyphenol tổng nói chung và anthocyanin trong chế biến và bảo quản. Do vậy, trong nghiên cứu này sử dụng mô hình động học bậc 1 để nghiên cứu về sự phân hủy anthocyanin trong dịch trích hoa búp giấm khi bổ sung các thành phần polymer sinh học khác nhau. Mô hình động học phân hủy bậc 1 được mô tả như sau:

$$C_t = C_0 \exp(-k_1 t) \quad (2)$$

Trong đó: C_t là hàm lượng anthocyanin tại thời điểm t , C_0 là hàm lượng anthocyanin ban đầu, t là thời gian xử lý, k_1 là hằng số động học bậc một.

2.8. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được tiến hành làm lặp 3 lần. Giá trị hàm lượng anthocyanin được tính là kết quả trung bình của các lần lặp bằng phần mềm Excel. Các giá trị thống kê được áp dụng để đánh giá sự tương thích của mô hình với hệ số mô tả (R^2) càng cao càng tốt, độ lệch chuẩn của các phần dư (RSME) càng thấp càng tốt. Phần mềm Minitab được ứng dụng để thực hiện hồi quy tuyến tính thiết lập mối tương quan giữa yếu tố khảo sát và hàm mục tiêu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích động học phân hủy anthocyanin trong suốt quá trình bảo quản dịch trích hoa búp giấm với những công thức bổ sung hydrocolloid khác nhau

Sự thay đổi của anthocyanin trong suốt quá trình bảo quản được ghi nhận. Trong nghiên cứu này, trong suốt quá trình bảo quản ghi nhận sự suy giảm của hàm lượng anthocyanin. Sự phân hủy anthocyanin được xác định dưới tác dụng của enzyme β -glucosidase, polyphenoloxidases và peroxidase [16]. Một nghiên cứu được thực hiện của [17] về cyanidin-3-glucoside tinh khiết từ quả mâm xôi đỏ dưới tác dụng của xung điện trường (1,2e3,0 kV/cm) chứng minh sự hình thành của chalcone. Hiện tượng mở vòng pyrylium và hình thành chalcone được coi là bước đầu tiên cho quá trình phân hủy anthocyanins [18]. Nghiên cứu này chỉ ra rằng khi vô hoạt được nhóm enzym như β -glucosidase, polyphenoloxidases và peroxidase có thể góp phần vào việc hạn chế tổn thất anthocyanin. Ngoài ra, sự hiện diện của axit ascorbic và các hợp chất polyphenol cũng ảnh hưởng đến sự phân hủy anthocyanin, sự tương tác qua lại giữa anthocyanin và axit ascorbic dẫn đến sự phân hủy lẫn nhau đã được báo cáo ở mô hình nước trái cây [19], [20], [21]. Mô hình bậc 1 được sử dụng để đánh giá mức độ tương thích với dữ liệu thực nghiệm. Các kết quả phân tích hồi quy phi tuyến được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2 cho thấy giá trị R^2 trong nghiên cứu này trong khoảng 0,9505 - 0,9965 gần bằng 1. Tương ứng đó RMSE dao động từ (0,007009 - 0,036196). Kết quả cho thấy, mô hình động học bậc 1 phù hợp mô tả sự thay đổi của anthocyanin

trong dịch trích hoa búp giấm dưới những điều kiện bảo quản khác nhau. Kết quả nghiên cứu mô hình động học của nghiên cứu này cũng giống như các kết quả nghiên cứu mô hình động học bậc 1 của các nghiên cứu khác như: Nghiên cứu bảo quản chiết xuất anthocyanin từ nước ép dâu đen [11], nước ép cam đỏ [22], củi quả mâm xôi

[23]. Ngoài ra không chỉ anthocyanin mà những nghiên cứu khác cũng thấy mô hình này thành công mô tả sự phân hủy chlorophyll trong quá trình churn puree lá ngò ri (80 -100 °C) [24], đậu xanh (70, 80, 90, 100 °C) [25], puree đậu hà lan (80, 90, 100 °C) [26].

Bảng 2. Phân tích hồi quy phi tuyến động học phân hủy anthocyanin trong suốt quá trình bảo quản dịch trích hoa búp giấm với những công thức bổ sung hydrocolloid khác nhau

STT	Nhiệt độ (°C)	Gum arabic (%)	Maltodextrin (%)	Gelatin (%)	Hằng số động học (1/ngày)	R ²	RMSE
1	5	0	1	1	0,016395	0,9914	0,007009
2	5	1	1	0,5	0,013764	0,9616	0,013200
3	5	2	1	0	0,020972	0,9517	0,018481
4	5	1	0	1	0,012707	0,9799	0,008302
5	5	2	2	0,5	0,010327	0,9610	0,009717
6	5	2	1	1	0,010817	0,9846	0,006070
7	5	2	0	0,5	0,027362	0,9636	0,023022
8	5	0	0	0,5	0,028497	0,9846	0,015185
9	5	1	0	0	0,036338	0,9965	0,008584
10	5	1	1	0,5	0,013490	0,9860	0,007482
11	5	1	2	0	0,028618	0,9854	0,014562
12	5	1	1	0,5	0,013376	0,9637	0,011963
13	5	0	2	0,5	0,027245	0,9594	0,023288
14	5	0	1	0	0,034011	0,9757	0,020238
15	5	1	2	1	0,011271	0,9514	0,011272

STT	Nhiệt độ (°C)	Gum arabic (%)	Maltodexin (%)	Gelatin (%)	Hằng số động học (1/ngày)	R ²	RMSE
16	30	0	1	1	0,040606	0,9852	0,018926
17	30	1	1	0,5	0,050760	0,9738	0,031445
18	30	2	1	0	0,053757	0,9842	0,025194
19	30	1	0	1	0,036996	0,9843	0,018317
20	30	2	2	0,5	0,033889	0,9741	0,022486
21	30	2	1	1	0,033463	0,9882	0,015637
22	30	2	0	0,5	0,042066	0,9781	0,024243
23	30	0	0	0,5	0,055770	0,9821	0,027167
24	30	1	0	0	0,057613	0,9950	0,014967
25	30	1	1	0,5	0,050211	0,9909	0,018814
26	30	1	2	0	0,046894	0,9505	0,036196
27	30	1	1	0,5	0,050223	0,9787	0,028226
28	30	0	2	0,5	0,052947	0,9896	0,020201
29	30	0	1	0	0,071112	0,9853	0,028404
30	30	1	2	1	0,030576	0,9812	0,018667

Ghi chú: RMSE: Độ lệch chuẩn của các phần dư; R²: Hệ số mô tả.

3.2. Mô hình tương quan giữa hằng số động học với các yếu tố nhiệt độ và thành phần hydrocolloid

Tất cả dữ liệu về hằng số động học phân hủy

anthocyanin được sử dụng để phân tích mối tương quan giữa hằng số phân hủy và các yếu tố khảo sát. Kết quả phân tích ANOVA đối với mô hình đề xuất được trình bày ở bảng 3 với R² điều chỉnh 0.9248.

Bảng 3. Bảng phân tích phương sai đối với mô hình đề xuất

Nguồn	df	SS	MS	Giá trị F	Giá trị P
Mô hình	10	0,007811	0,000781	36,66	0
T	1	0,005379	0,005379	252,43	0

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

A	1	0,000551	0,000551	25,88	0
M	1	0,000193	0,000193	9,06	0,007
G	1	0,00153	0,00153	71,83	0
T*A	1	0,000026	0,000026	1,24	0,279
T*M	1	0	0	0	0,97
T*G	1	0,000023	0,000023	1,06	0,317
A*M	1	0,000056	0,000056	2,62	0,122
A*G	1	0,000039	0,000039	1,83	0,192
M*G	1	0,000014	0,000014	0,66	0,428
Lack-of-Fit	15	0,000405	0,000027	390,62	0

Ghi chú: df: Bậc tự do; SS: Tổng các bình phương; MS: Tổng các bình phương trung bình.

Bảng 3 cho thấy, các yếu tố có giá trị $p > 0,05$ có mức độ ảnh hưởng không ý nghĩa đến hằng số phân hủy. Vì vậy các yếu tố này sẽ bị loại bỏ khỏi mô hình. Kết quả phân tích phương sai đối với mô hình mới được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Phân tích phương sai đối với mô hình tuyến tính

Nguồn	df	SS	MS	Giá trị F	Giá trị P
Mô hình	4	0,007654	0,001913	85	0
T	1	0,005379	0,005379	238,93	0
A	1	0,000551	0,000551	24,5	0
M	1	0,000193	0,000193	8,58	0,007
G	1	0,00153	0,001530	67,99	0
Lack-of-Fit	21	0,000562	0,000027	387,95	0

Ghi chú: df: Bậc tự do; SS: Tổng các bình phương; MS: Tổng các bình phương trung bình.

Từ kết quả ở bảng 4 thu được phương trình thể hiện sự tương quan giữa hằng số phân hủy với các yếu tố khảo sát với giá trị R^2 điều chỉnh 0,9205 như sau:

$$k = 0,033736 + 0,01339 \times T - 0,00587 \times A - 0,00347 \times M - 0,00978 \times G \quad (3)$$

Phương trình (3) thể hiện rõ hằng số phân hủy anthocyanin có mối tương quan dương với T (nhiệt độ bảo quản) và tương quan âm với A (gum arabic), M (maltodextrin) và G (gelatin). Ở nhiệt độ càng cao thì mức độ phân hủy anthocyanin càng nhanh. Sự ổn định anthocyanin trong nước trái cây giàu hoạt tính sinh học bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như nhiệt độ ảnh hưởng đến độ bền do tác động lên enzyme của polyphenoloxidase làm tăng tốc độ phân hủy anthocyanin [22]. Việc bổ sung các thành phần hydrocolloid cho thấy, tác dụng làm giảm mức độ phân hủy anthocyanin. Nguyên nhân do hiệu quả của mạng lưới không gian ba chiều của hydrocolloid trong pha ái nước dẫn đến hiệu quả ngăn cách các thành phần anthocyanin [4]. Nghiên cứu gần đây cũng đồng thuận về việc bổ sung thành phần hydrocolloid có tác dụng tăng cường sự ổn định của thành phần anthocyanin trong nước giải khát [4]. Theo Idham và cs (2012) [5], sự kết hợp của maltodextrin và gum arabic đã có hiệu quả bảo vệ anthocyanin nhờ vậy kéo dài thời gian bán hủy.

4. KẾT LUẬN

Sự ảnh hưởng của các thành phần maltodextrin, gum arabic, galetin đến động học phân hủy anthocyanin trong dịch trích đài hoa búp giấm đã được khảo sát. Kết quả cho thấy, mô hình phản ứng bậc 1 phù hợp tiên đoán sự phân hủy anthocyanin trong suốt quá trình bảo quản ở 5°C và 30°C dưới những công thức phối trộn hydrocolloid khác nhau. Kết quả thu được hằng số phân hủy anthocyanin có mối tương quan dương với nhiệt độ bảo quản và tương quan âm với các thành phần hydrocolloid bổ sung (maltodextrin, gum arabic, guar gum). Như vậy, các thành phần hydrocolloid có hiệu quả trong việc tăng tính ổn định của anthocyanin trong sản phẩm dạng lỏng. Điều này tạo tiềm năng cho việc cải thiện, ổn định

anthocyanin trong các sản phẩm đồ uống,...đem lại nhiều lợi ích sức khỏe người tiêu dùng.

LỜI CẢM ƠN

Xin cảm ơn Trường Đại học Nguyễn Tất Thành đã hỗ trợ điều kiện cơ sở vật chất trong suốt quá trình nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. R. Mohamed, J. Fernández, M. Pineda, M. Aguilar (2007). Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Seed Oil Is a Rich Source of α -Tocopherol. *J. Food Sci.*, vol. 72, no. 3, pp. S207 - S211, doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00285.x.
2. S. Fernández-Arroyo *et al.* (2011). Quantification of the polyphenolic fraction and *in vitro* antioxidant and *in vivo* anti-hyperlipemic activities of *Hibiscus sabdariffa* aqueous extract. *Food Res. Int.*, vol. 44, no. 5, pp. 1490 - 1495, doi: 10.1016/j.foodres.2011.03.040.
3. J. Vergara-Galicia *et al.* (2010). Vasorelaxant and antihypertensive effects of methanolic extract from roots of *Laelia anceps* are mediated by calcium-channel antagonism. *Fitoterapia*, vol. 81, no. 5, pp. 350 - 357, doi: 10.1016/j.fitote.2009.10.009.
4. M. Teleszko, P. Nowicka, A. Wojdyło (2019). Effect of the addition of polysaccharide hydrocolloids on sensory quality, color parameters and anthocyanin stabilization in cloudy strawberry beverages. *Pol J Food Nutr Sci*, vol. 69, no. 2, pp. 167 - 178, doi: 10.31883/pjfn-2019-0014.
5. Z. Idham, I. I. Muhamad, and M. R. Sarmidi (2012). Degradation kinetics and color stability of spray-dried encapsulated anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. *J. Food Process Eng.*, vol. 35, no. 4, pp. 522 - 542.
6. C. P. Kechinski, P. V. R. Guimarães, C. P. Z. Noreña, I. C. Tessaro, and L. D. F. Marczak (2010). Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *J. Food Sci.*, vol. 75, no. 2, pp. C173 - C176.
7. L. Méndez-Lagunas, J. Rodríguez-Ramírez, M. Cruz-Gracida, S. Sandoval-Torres, G. Barriada-Bernal (2017). Convective drying kinetics of

- strawberry (*Fragaria ananassa*): Effects on antioxidant activity, anthocyanins and total phenolic content. *Food Chem.*, vol. 230, pp. 174 - 181.
8. G. D. Mercali, D. P. Jaeschke, I. C. Tessaro, L. D. F. Marczak (2013). Degradation kinetics of anthocyanins in acerola pulp: Comparison between ohmic and conventional heat treatment. *Food Chem.*, vol. 136, no. 2, pp. 853 - 857.
9. A. Sinela, N. Rawat, C. Mertz, N. Achir, H. Fulcrand, M. Dornier (2017). Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products. *Food Chem.*, vol. 214, pp. 234 - 241.
10. K. Solyom, R. Solá, M. J. Cocero and R. B. Mato (2014). Thermal degradation of grape marc polyphenols. *Food Chem.*, vol. 159, pp. 361 - 366.
11. W. -D. Wang and S.-Y. Xu (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *J. Food Eng.*, vol. 82, no. 3, pp. 271 - 275.
12. M. Zhou, Q. Chen, J. Bi, Y. Wang and X. Wu (2017). Degradation kinetics of cyanidin 3-O-glucoside and cyanidin 3-O-rutinoside during hot air and vacuum drying in mulberry (*Morus alba* L.) fruit: A comparative study based on solid food system. *Food Chem.*, vol. 229, pp. 574 - 579.
13. R. Villota and J. G. Hawkes (2018). Reaction kinetics in food systems, in *Handbook of food engineering*, CRC Press, pp. 225 - 484.
14. Q. Nguyen, T. Dang, T. Nguyen, T. Nguyen, N. Nguyen (2022). Microencapsulation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) anthocyanins: Effects of drying conditions on some physicochemical properties and antioxidant activities of spray-dried powder. *Food Sci. Nutr.*, vol. 10, no. 1, pp. 191 - 203.
15. J. Lee *et al.* (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative Study. *J. AOAC Int.*, vol. 88, no. 5, pp. 1269 -1278, doi: 10.1093/jaoac/88.5.1269.
16. R. N. Barbagallo, R. Palmeri, S. Fabiano, P. Rapisarda, G. Spagna (2007). Characteristic of β -glucosidase from Sicilian blood oranges in relation to anthocyanin degradation. *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 41, no. 5, pp. 570 - 575.
17. Y. Zhang, X. S. Hu, F. Chen, J. H. Wu, X. J. Liao, Z. F. Wang (2008). Stability and colour characteristics of PEF-treated cyanidin-3-glucoside during storage. *Food Chem.*, vol. 106, no. 2, pp. 669 - 676.
18. G. Hrazdina (1971). Reactions of the anthocyanidin-3, 5-diglucosides: Formation of 3, 5-di-(O- β -d-glucosyl)-7-hydroxy coumarin. *Phytochemistry*, vol. 10, no. 5, pp. 1125 - 1130.
19. R. Golaszewski, C. A. Sims, S. F. O'keefe, R. J. Braddock and R. C. Littell (1998). Sensory attributes and volatile components of stored strawberry juice. *J. Food Sci.*, vol. 63, no. 4, pp. 734 - 738.
20. G. Skrede, R. E. Wrolstad, P. Lea, G. Enersen (1992). Color stability of strawberry and blackcurrant syrups. *J. Food Sci.*, vol. 57, no. 1, pp. 172 - 177.
21. S. Kouniaki, P. Kajda and I. Zabetakis (2004). The effect of high hydrostatic pressure on anthocyanins and ascorbic acid in blackcurrants (*Ribes nigrum*). *Flavour Fragr. J.*, vol. 19, no. 4, pp. 281 - 286.
22. A. Kırca and B. Cemeroğlu (2003). Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chem.*, vol. 81, no. 4, pp. 583 - 587.
23. M. R. Ochoa, A. G. Kessler, M. B. Vulloud, J. E. Lozano (1999). Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: storage effect on composition and color. *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 32, no. 3, pp. 149 - 153.
24. S. G. Rudra, B. C. Sarkar and U. S. Shivhare (2008). Thermal degradation kinetics of chlorophyll in pureed coriander leaves. *Food Bioprocess Technol.*, no. 1, pp. 91 - 99, doi: 10.1007/s11947-007-0016-z.

25. N. Koca, F. Karadeniz and H. S. Burdurlu (2007). Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. *Food Chem.*, vol. 100, no. 2, pp. 609 - 615, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.09.079.
26. T. Ryan-Stoneham and C. H. Tong (2000). Degradation kinetics of chlorophyll in peas as a function of pH. *J. Food Sci.*, vol. 65, no. 8, pp. 1296 - 1302.

THE INFLUENCE OF MALTODEXTRIN, GUM ARABIC AND GELATIN ON ANTHOCYANIN DEGRADATION KINETICS IN ROSELLE (*Hibiscus sabdariffa* L.) EXTRACT

Huynh Quoc Trung¹, Nguyen Thi Van Linh¹

¹ *Nguyen Tat Thanh University*

Summary

Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) is a raw material abundant in anthocyanin compounds with high biological activity. However, anthocyanin components are easily decomposed when exposed to light, heat, and pH. Therefore, the purpose of this study is to investigate the kinetics of anthocyanin decomposition in roselle extract under the influence of hydrocolloid components in order to determine the conditions for stabilizing anthocyanin during storage. The results demonstrated that the anthocyanin component of the extract with various hydrocolloid formulations degraded during storage at 5 and 30°C. The first order was determined to be the model for anthocyanin degradation. It was discovered that reduced storage temperatures resulted in a delay in the degradation rate of anthocyanin. Specifically, the degradation rate varied between 0.010327 and 0.036358 1/day when stored at 5°C and between 0.030576 and 0.071112 1/day when stored at 30°C. Additionally, as the mixing ratios of maltodextrin, gum arabic and gelatin increased, the rate of anthocyanin degradation decelerated. In order to select the optimal formula, it would be necessary in the future to conduct additional evaluations of the impact of hydrocolloids on the rheological properties of the product.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa* L., kinetics, anthocyanins, hydrocolloids.

Ngày nhận bài: 15/02/2024

Ngày chuyển phản biện: 26/02/2024

Ngày thông qua phản biện: 11/3/2024

Ngày duyệt đăng: 10/6/2024

NGHIÊN CỨU BẢO CHẾ TRÀ THẢO DƯỢC TỪ LOÀI VẪY ỐC (*Ficus pumila* L.) VÀ THỔ PHỤC LINH (*Smilax glabra* Roxb)

Lê Thế Hoài¹, Nguyễn Thị Thanh Mai^{1*}, Nguyễn Thị Hồng Hạnh²

¹ Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

² Khoa Tài nguyên và Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Email: thanhmaint@hau.edu.vn

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, hợp chất kaempferol (3,4',5,7 – tetrahydroxyflavone) được tìm thấy trong dịch trích ly từ loài Vẩy ốc (*Ficus pumila* L.) được thu hái tại huyện Trùng Khánh, tỉnh Cao Bằng. Kaempferol là hợp chất có hoạt tính chống viêm, chống oxy hóa, chống ung thư, trị đái tháo đường và bảo vệ thần kinh. Trên cơ sở đó, trà thảo dược được bào chế từ dịch trích ly ethanol - nước của loài Vẩy ốc kết hợp với Thổ phục linh (*Smilax glabra* Roxb) - một dược liệu có hoạt tính sinh học đa dạng giúp khử phong thấp, tiêu độc, giảm đau và chống viêm, tăng cường sức mạnh gân cốt, chữa đau xương khớp. Dược chất kaempferol có trong thành phẩm trà thảo dược đã được định lượng bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC, hàm lượng khoảng $98,3 \pm 2,01$ mg/g. Độc tính cấp của sản phẩm trà thảo dược đã được khảo sát trên phôi cá ngựa vằn theo hướng dẫn của tổ chức OECD 236, kết quả cho thấy, sản phẩm không có độc tính. Sản phẩm trà thảo dược được xác định các chỉ tiêu hóa lý như: Độ ẩm 3,22%, độ tro 11,28%, đạt yêu cầu theo TCVN 9739:2013.

Từ khóa: Vẩy ốc, trà thảo dược, kaempferol.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm khớp dạng thấp là một bệnh viêm đa khớp, bệnh có thể ảnh hưởng lên các cơ quan ngoài khớp như: Viêm mao mạch, gân, cơ, dây chằng, bao khớp, viêm màng ngoài tim, rối loạn nhịp tim, van tim, hội chứng thiếu máu... Theo Bộ Y tế (2016), tại Khoa Cơ xương khớp, Bệnh viện Bạch Mai, từ năm 1991 - 2000 cho thấy, tỷ lệ bệnh viêm khớp dạng thấp chiếm 21,94%, trong đó nữ giới chiếm 92,3%, lứa tuổi thường gặp từ 36 – 65 (72,6%) [1]. Một trong các mục đích điều trị căn bệnh này là giảm tối đa cảm giác đau của người bệnh do ảnh hưởng của hội chứng viêm sinh học.

Vẩy ốc (*Ficus pumila* L.) còn có tên gọi khác như: Cây Sộp, Bị lệ, quả là Vương bắt lưu hành. Theo y học cổ truyền, lá và rễ cây có tính mát, tác dụng trừ phong tiêu thũng, hoạt huyết giải độc

[2]. Các nghiên cứu cho thấy, Vẩy ốc có chứa một số thành phần hóa học như: Dehydrovomifoliol (6R,9S)-3-oxo- α -ionol- β -D-glucopyranoside có hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên các dòng tế bào Hela, MCF-7 và A549, neohopane được phân lập từ loài Vẩy ốc thể hiện hoạt tính kháng khuẩn với chủng *Esherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* và *Candila albicans* với giá trị IC₅₀ lần lượt là: 0,5; 0,3; 0,3; 0,7 ở nồng độ 30 μ g/mL; pumilaside A, B và C cùng với benzyl β -D-glucopyranoside, (E)-2-methyl-2-butenyl β -D- glucopyranoside là những hợp chất có hoạt tính sinh học đa dạng [3 - 7]. Thổ phục linh (*Smilax glabra* Roxb) là loài thảo dược có tính bình, chứa các hợp chất: Astilbin, neoastilbin, isoastilbin, engeletin, isoengeletin, là những hợp chất có khả năng kháng viêm, chống oxy hóa và điều hòa miễn

dịch... Sự kết hợp giữa Vẩy ốc và Thổ phục linh với nhau theo tương tu, có khả năng tương hỗ làm tăng cường hiệu quả kháng viêm, giảm đau [8 - 10].

Hiện nay, đã có nghiên cứu trong nước về việc sử dụng loài Vẩy ốc tạo sản phẩm giúp giảm thiểu đau nhức xương khớp. Tuy nhiên, các sản phẩm nghiên cứu về trà thảo dược từ Vẩy ốc có bổ vị Thổ phục linh vẫn chưa được công bố. Vì vậy, nghiên cứu này trình bày kết quả phân lập được hợp chất có tác dụng kháng viêm, giảm đau, chống oxy hóa kaempferol (3,4',5,7 - tetrahydroxyflavone) từ dịch chiết ethanol - nước của loài Vẩy ốc, phân tích hàm lượng dược chất này trong chế phẩm và bước đầu kiểm chứng độ an toàn của sản phẩm bằng phương pháp khảo sát độc tính cấp trên phôi cá ngựa vằn theo hướng dẫn của OECD 236.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Thân, lá, rễ loài Vẩy ốc (*Ficus pumila* L.) khô; rễ Thổ phục linh (*Smilax glabra* Roxb) được lấy từ huyện Trùng Khánh, tỉnh Cao Bằng; mẫu tiêu bản cây được lưu giữ tại Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội. Cá ngựa vằn bố mẹ được ghép đôi để thu phôi mới thụ tinh, nghiên cứu tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Hóa chất, thiết bị

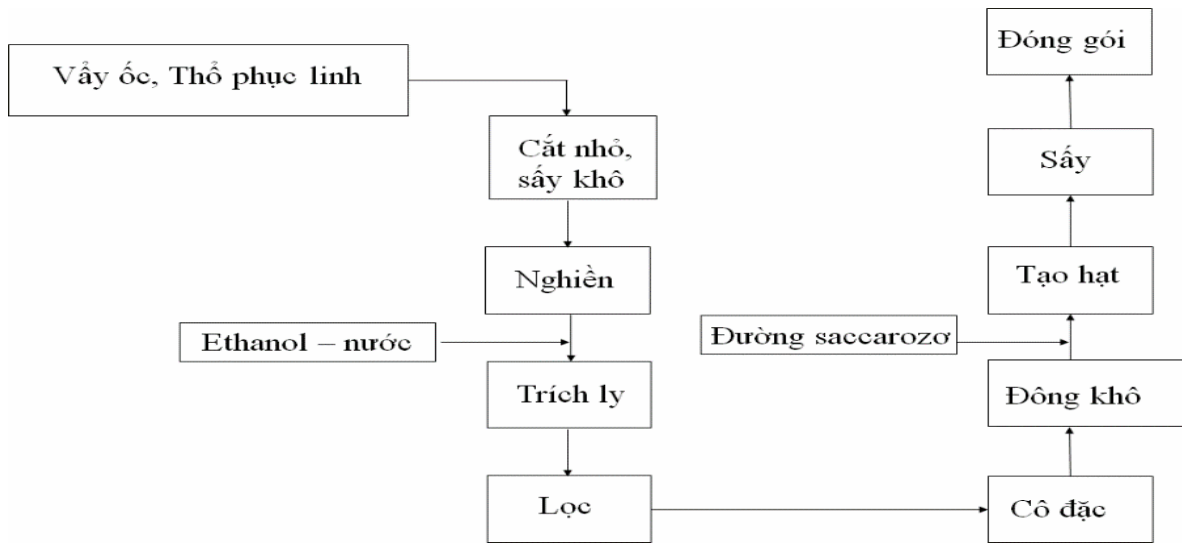
Hóa chất: Ethanol (EtOH) (HPLC grade_Fisher Scientific, Mỹ); *n*-Hexane; Ethyl Acetate (EtOAc); Methanol (MeOH) độ tinh khiết 99%, Sigma Aldrich; Methanol (MeOH) (HPLC grade_Fisher Scientific, Mỹ); bản mỏng TLC Silica gel 60 F254 (Merck, Damstadt, Đức); nước phân tích (H₂O) (HPLC grade_Fisher Scientific, Mỹ); phosphoric acid (H₃PO₄) (Merck, Đức); chất tham chiếu kaempferol độ sạch 98% (Sigma Aldrich, Mỹ).

Thiết bị: Tủ sấy chân không Memmert VO200 (Memmert, Berlin, Đức); máy cô quay chân không; máy nghiền búa nhiều mắt sàng; máy đông khô Lyovapor L300. Phổ NMR được đo trong dung môi DMSO trên máy Bruker Avance (Brucker, Berlin, Đức) tại tần số 600 MHz và 150 MHz tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam; máy HPLC-DAD: Agilent 1100 Series Single; cột sắc ký: Hector-M C18 250 x 4,6 mm, 5 μm; cân điện tử (max 220 g, d = 10⁻⁴ g), model: PRACTUM224 - 1S (Sartorius Lab, Micropipet loại 200, 1.000 μL, ống eppendorf 2 mL (Eppendorf, Đức); màng lọc mẫu có kích thước lỗ lọc 0,22 μm (Membrane Solutions, Mỹ); bình định mức 500 mL, 5 mL (Duran, Đức).

2.2.2. Phân lập và xác định hợp chất kaempferol trong mẫu Vẩy ốc

Vẩy ốc (350 g) được ngâm chiết với EtOH 70°; dịch trích ly được thu hồi và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 55,09 g cao chiết EtOH; tiếp tục chiết phân bố lần lượt với *n*-hexan và ethyl acetate thu được hai loại cặn chiết tương ứng. Cặn ethyl acetate (EtOAc) (10,57 g) được phân tích trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi tăng dần từ *n*-hexan đến MeOH thu được 8 phân đoạn ký hiệu là VO1 đến VO8. Phân đoạn VO4 (2,3 g) được đưa lên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải tăng dần từ *n*-hexan đến (CH₂Cl₂-MeOH 8: 2) thu được 4 phân đoạn (VO4.1 đến VO4.4). Phân đoạn VO 4.2 (0,89 g) đưa lên cột silicagel, rửa giải với hệ dung môi CH₂Cl₂/MeOH với tỉ lệ 99: 1 đến 9: 1 thu được 3 phân đoạn (VO4.2.1 đến VO4.2.3). Phân đoạn VO4.2.2 (198,5 mg) để kết tinh lại, rửa bằng MeOH thu được hợp chất VO2 (185 mg) dưới dạng tinh thể, sau khi tinh chế và tiến hành xác định cấu trúc hợp chất VO2 bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR và ¹³C-NMR.

2.2.3. Quy trình bào chế trà thảo dược



Hình 1. Sơ đồ quy trình bào chế trà thảo dược Vây ốc

Nguyên liệu Vây ốc, Thổ phục linh được băm nhỏ, thái mỏng, sấy chân không ở nhiệt độ 45°C trong 74 giờ đến khi hàm ẩm còn khoảng 10%. Mẫu được đưa qua máy nghiền búa có sàng 60 Mesh. Phối trộn hai nguyên liệu theo tỷ lệ 5: 1 (5.000 g Vây ốc: 1.000 g Thổ phục linh). Hai loài này có thể bổ trợ cho nhau để tăng mục đích sử dụng theo tương tu [11, 12].

Hỗn hợp nguyên liệu được trích ly bằng hệ dung môi ethanol – nước (3 giờ/1 lần) ở 60°C, tỷ lệ 100/350 g dược liệu/ml dung môi chiết, quá trình chiết lặp lại 3 lần để tận thu dược chất. Lọc loại bã, gộp chung dịch chiết của các lần chiết, rồi đem cất loại bỏ dung môi bằng máy cô quay chân không với chế độ 60°C; 0,6 atm, thu được cao chiết thành phẩm 1.203,6 g, hiệu suất chiết đạt khoảng 20% (tính trên khối lượng hỗn hợp nguyên liệu khô).

Đông khô cao chiết bằng thiết bị Lyovapor L300 đến hàm ẩm 5%, tránh nhựa hóa sản phẩm khi dùng nhiệt và để dễ nghiền nhỏ trộn bột kếp. Phối trộn 50 g cao chiết đã được đông khô với 10 g bột đường, tiến hành tạo hạt qua rây, đem sấy ở nhiệt độ 45°C, sau 6 giờ tiếp tục rây sản phẩm để sửa cho hạt có kích thước đồng đều, thuận lợi cho việc làm khô sản phẩm, rồi sấy cho đến khi hàm ẩm còn 5%. Tiến hành đóng gói sản phẩm trà thảo dược và bảo quản trong túi kín với khối lượng 0,5 g/gói.

2.2.4. Phương pháp phân tích hàm lượng dược chất kaempferol trong mẫu trà thảo dược [13]

- Chuẩn bị chất tham chiếu: Mẫu chất tham chiếu kaempferol được pha trong dung môi EtOH, sau đó pha loãng thành dãy các nồng độ khác nhau trong khoảng từ 10 - 300 µg/mL để thiết lập đường chuẩn định lượng.

- Chuẩn bị mẫu phân tích: Mẫu dược hòa tan hoàn toàn trong EtOH, rồi pha loãng đến nồng độ thích hợp để tiến hành phân tích.

Điều kiện phân tích được thiết lập dựa theo điều kiện tham khảo từ Dược điển Việt Nam V [13].

Bảng 1. Điều kiện phân tích kaempferol bằng phương pháp HPLC-DAD

Hệ thống HPLC	Agilent 1100 series single
Cột	Hector-M C18 250 x 4,6 mm, 5 µm
Nhiệt độ cột	40°C
Nhiệt độ ủ mẫu	25°C
Tốc độ dòng	1,2 mL/phút
Thể tích tiêm mẫu	10 µL
Bước sóng phát hiện	360 nm
Pha động	MeOH – H ₃ PO ₄ 0,4% (55: 45) (isocratic)

Hàm lượng chất tham chiếu (H_k - mg/g) trên trong mẫu phân tích, sau khi được xử lý và phân tích ở cùng điều kiện với các chất chuẩn (lặp lại ba lần), được xác định theo công thức sau:

$$H_k = \frac{S-b}{a} \times \frac{1}{C_0} \times P \text{ (mg/g)}$$

Trong đó: S là diện tích tín hiệu; b là hệ số tự do của phương trình đường chuẩn ($b = -201,5$); a là hệ số góc của phương trình đường chuẩn ($a = 33,2$); C_0 là nồng độ của mẫu đo (mg/mL); P là độ sạch của chất chuẩn theo HPLC ($P = 98\%$).

2.2.5. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu hóa lý, vi sinh của trà Vẩy ốc

- Độ ẩm được xác định theo TCVN 9741:2013 [14].

- Hàm lượng tro được xác định theo TCVN 9742:2013 [15].

Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí theo TCVN 4884-1:2015 [16].

Xác định vi khuẩn *E. coli* theo TCVN 7924-2:2008 [17].

Xác định vi khuẩn *Coliform* theo TCVN 6848:2007 [18].

- Xác định tổng số bào tử nấm men, nấm mốc theo TCVN 8275-2:2010 [19].

2.2.6. Phương pháp đánh giá độc tính in vivo

- Cá ngựa vằn bố mẹ được ghép đôi để thu phôi mới thụ tinh. Các phôi được rửa sạch và chuyển sang đĩa petri 90 mm. Đến giai đoạn từ 4 – 16 tế bào, chọn lọc những cá thể phát triển đồng đều.

- Hóa chất thử nghiệm được chuẩn bị trong chai thủy tinh 500 mL, gói chế phẩm thử nghiệm (10 g bột trà thảo dược) được hòa tan trong 250 mL E3 (nước nuôi phôi bao gồm 4 muối thành phần: 5 mM NaCl; 0,17 mM KCl; 0,33 mM CaCl₂; 0,33 mM MgSO₄). Các nồng độ thí nghiệm được pha từ dung dịch gốc ngay trước khi sử dụng. Dung dịch thử nghiệm gốc được thay mới mỗi tuần.

- Phôi cá ngựa vằn sau khi chọn lọc sẽ được chuyển sang đĩa 6 giếng đã chứa các nồng độ hóa chất thử nghiệm (Bảng 2). Mật độ phôi cá ngựa vằn trong mỗi giếng là 20 phôi, thể tích dung dịch thử là 5 mL.

- Từ khi tiến hành thí nghiệm cho đến 96 giờ, hàng ngày vào một giờ xác định tương ứng với giờ bắt đầu thí nghiệm, đĩa nuôi phôi cá ngựa vằn sẽ được quan sát để ghi nhận số lượng phôi tử vong và có bất thường hình thái. Kết quả thu được sẽ được phân tích trong phần mềm Graph Pad Prism 8.0. Thử nghiệm chính thức được thực hiện ít nhất 3 lần lặp lại với dải nồng độ được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Nồng độ bố trí thí nghiệm

Mẫu thử nghiệm	Đơn vị tính	1	2	3	4	5
Tỷ lệ pha	Gói/mL	1: 500	1: 1.000	1: 1.250	1: 1.500	1: 2.000
Nồng độ	µg/mL	20.000	10.000	8.000	6.667	5.000

Kết quả phân tích được đối chiếu với tiêu chuẩn phân loại nhóm chất có độc tính theo tiêu chuẩn của Hệ thống điều hòa toàn cầu về phân loại và ghi nhãn hóa chất (GHS) được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Đánh giá LC50 (Acute toxicity estimate - ATE) theo tiêu chuẩn GHS [20, 21]

Đường phơi nhiễm	Độ độc 1	Độ độc 2	Độ độc 3	Độ độc 4	Độ độc 5
Ăn uống (mg/kg thể trọng)	ATE ≤ 5	5 ≤ ATE ≤ 50	50 ≤ ATE ≤ 300	300 ≤ ATE ≤ 2.000	2.000 ≤ ATE ≤ 5.000
Da (mg/kg thể trọng)	ATE ≤ 50	50 ≤ ATE ≤ 200	200 ≤ ATE ≤ 1.000	1.000 ≤ ATE ≤ 2.000	

Không khí (ppmV)	ATE ≤ 100	100 ≤ ATE ≤ 500	500 ≤ ATE ≤ 2.500	2.500 ≤ ATE ≤ 20.000	
Hơi (mg/l)	ATE ≤ 0,5	0,5 ≤ ATE ≤ 2,0	2,0 ≤ ATE ≤ 10,0	10,0 ≤ ATE ≤ 20,0	
Dạng bụi và sương mù (mg/l)	ATE ≤ 0,05	0,05 ≤ ATE ≤ 0,5	0,5 ≤ ATE ≤ 1,0	1,0 ≤ ATE ≤ 5,0	

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân tích thành phần kaempferol trong mẫu nghiên cứu

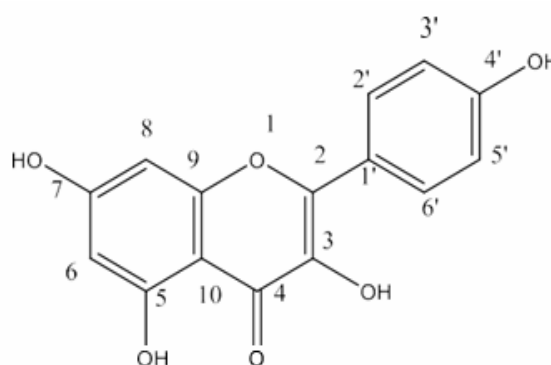
3.1.1. Kết quả xác định sự có mặt của kaempferol trong mẫu nghiên cứu

Hợp chất VO2 (185 mg) được kết tinh dưới dạng tinh thể, sau khi tinh chế. Tiến hành xác định cấu trúc bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR và ¹³C-NMR, so sánh với kết quả nghiên cứu của Bai M và cs (2019) cho thấy, hợp chất phân lập được chính là 3,4',5,7 - tetrahydroxyflavone (kaempferol) [6].

Kết quả phân tích phổ ¹H-NMR (DMSO-d₆, δ, ppm): 12,46 (1H, s, 5-OH); 10,75 (1H, s, 3-OH); 10,07 (1H, s, 7-OH); 8,04 (2H, dd, J = 9 Hz, H-2' & H-6'), 6,43 (1H, d, J = 2,4 Hz, H-8); 6,92 (2H, dd, J = 9 Hz, H-3' & H-5'); 6,18 (1H, d, J = 1,8 Hz, H-6), 6,0 (1H, s, H-8).

Kết quả phân tích phổ ¹³C NMR (DMSO-d₆, δ, ppm): 175,8 (C-4); 163,8 (C-7); 159,1 (C-9); 146,7 (C-2); 156,1 (C-4'); 135,6 (C-3); 129,4 (C-2' & C-6'); 115,3 (C-3' & C-5'); 121,6 (C-1'); 103,0 (C-10); 98,1 (C-5 & C-6); 93,4 (C-8).

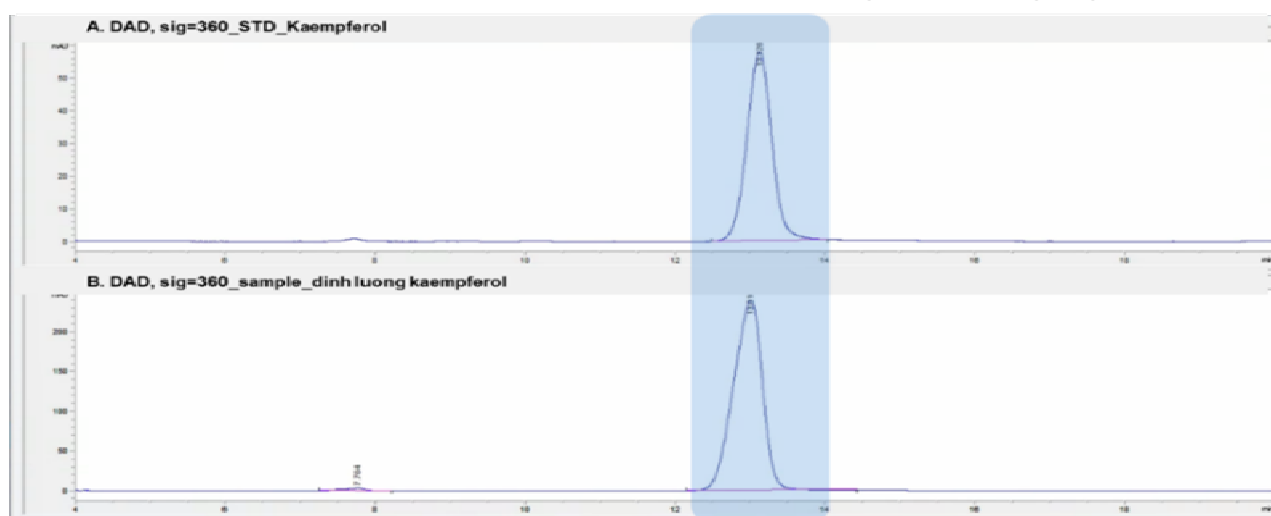
Qua đó cho thấy, trong thành phần dịch chiết ethanol - nước của dược liệu Vây ốc được sử dụng dùng để chế tạo trà có chứa hợp chất 3,4',5,7 - tetrahydroxyflavone (kaempferol).



Hình 2. Công thức cấu tạo của kaempferol

3.1.2. Kết quả xác định hàm lượng kaempferol trong mẫu trà thảo dược

Trên hệ thống HPLC, tín hiệu được lựa chọn của kaempferol được phát hiện một cách ổn định với thời gian lưu Rt trong khoảng 13,0 - 13,1 phút đối với các mẫu chất tham chiếu dùng trong thang định lượng. Đường chuẩn được xây dựng dựa trên diện tích tín hiệu trên sắc ký đồ ở bước sóng UV 360 nm tại thời gian lưu tương ứng.



Hình 3. Sắc ký đồ của kaempferol (A) và mẫu phân tích (B) ở bước sóng 360 nm

Thiết lập đường chuẩn: Đường chuẩn định lượng có dạng $y = ax + b$ được xây dựng dựa trên mối quan hệ giữa diện tích pic UV được chọn (y) và nồng độ tương ứng của chất tham chiếu (x).

Đường chuẩn định lượng thu được đạt độ tuyến tính cao với hệ số tương quan $R^2 \geq 0,99$ đối với phương pháp định lượng bằng DAD.

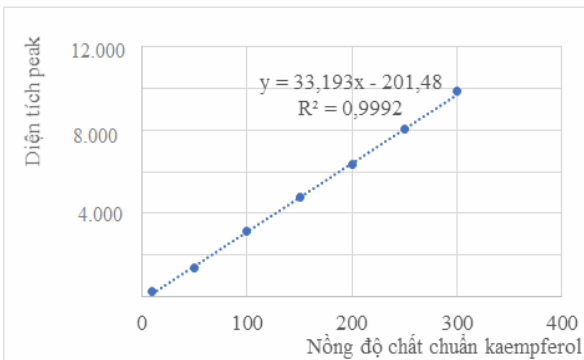
Bảng 4. Dải nồng độ và diện tích tín hiệu phân tích

C (µg/mL)	10	50	100	150	200	250	300
Diện tích peak	254,3 ± 1,0	1.341,7 ± 3,3	3.164,8 ± 3,2	4.752,0 ± 7,2	6.346,6 ± 7,9	8.031,3 ± 3,4	9.884,0 ± 5,4

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) được xác định bằng cách phân tích 8 mẫu có nồng độ thấp (5 µg/mL), sau đó tính độ lệch chuẩn trung bình (SD) của các tín hiệu. LOD và LOQ được xác định bằng các công thức:

$$LOD = \frac{3,3 \times SD}{a} \text{ và } LOQ = \frac{10 \times SD}{a}$$

Với a là hệ số góc của phương trình đường chuẩn.



Hình 4. Đường chuẩn của chất tham chiếu kaempferol

Kết quả các lần phân tích LOD và LOQ được trình bày trong bảng 5.

Bảng 5. LOD và LOQ của phương pháp phân tích

C (µg/mL)	Diện tích tín hiệu	SD	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
5	126,35	10,36	1,03	3,12
5	152,85			
5	153,95			
5	143,45			
5	128,53			
5	142,89			
5	143,53			
5	133,36			

Sau khi xử lý mẫu phân tích và xây dựng đường chuẩn, xác định giới hạn phát hiện LOD: 1,03 (µg/mL) và giới hạn định lượng LOQ: 3,12 (µg/mL).

Bảng 6. Kết quả định lượng kaempferol trong mẫu phân tích

Số lần lặp lại	Diện tích tín hiệu	Nồng độ cao chiết (mg/mL)	Kết quả (mg/g)	Trung bình (mg/g)
Lần 1	7.248,1	2,2	100,5	98,3 ± 2,01
Lần 2	7.055,2	2,2	97,9	
Lần 3	6.955,0	2,2	96,6	

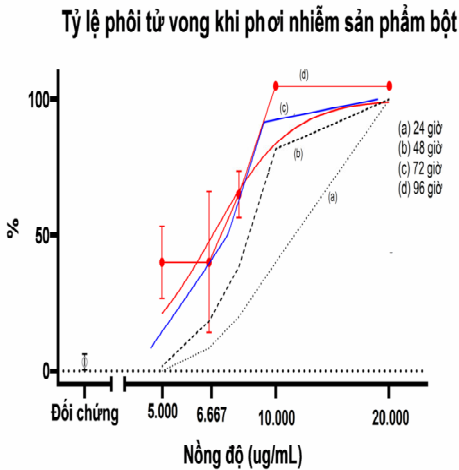
Như vậy, bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC, đã xây dựng được đường chuẩn và xác định hàm lượng kaempferol có trong mẫu phân tích. Phương pháp phân tích có độ tuyến tính đảm bảo cho quá trình định lượng với $R^2 > 0,99$. Mẫu

phân tích có hàm lượng kaempferol khoảng 98,3 ± 2,01 mg/g.

3.2. Kết quả thử độc tính cấp trên phôi cá ngựa vằn *Danio rerio*

Độc tính cấp của chế phẩm trà thảo dược được thể hiện ở hình 5. Nhìn chung, các mẫu sản phẩm

bột gây tử vong trên phôi cá ngựa vằn từ nồng độ 8.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (tương đương pha loãng 1 gói sản phẩm thử nghiệm 10 g với 1.250 mL nước), đồng thời sản phẩm gây chậm quá trình phát triển của cá rõ rệt trong 48 giờ đầu và ức chế quá trình nở của phôi cá.



Hình 5. Đồ thị biểu thị ảnh hưởng của mẫu chế phẩm lên sự phát triển của phôi cá ngựa vằn

Hình 5 thể hiện ảnh hưởng của chế phẩm bột trà lên sức sống của phôi cá ngựa vằn trong 96 giờ thử nghiệm bằng 4 đường đại diện cho độc tính của chế phẩm bột trà ở lần lượt các khoảng thời gian 24, 48, 72, 96 giờ thí nghiệm và sai số thể hiện độ lệch chuẩn.

Ở nồng độ 5.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, không quan sát được phôi chết trong giai đoạn 48 giờ đầu, sau 96 giờ sau phơi nhiễm, tỷ lệ phôi chết đạt xấp xỉ 38%. Với nồng độ 20.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, độc tính thể hiện rõ rệt từ ngay 24 giờ đầu và gây tử vong trên 100% ấu thể cá sau 96 giờ. Sau 96 giờ thí nghiệm, tỷ lệ tử vong của phôi cá ở các nồng độ 6.667; 8.000; 10.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ lần lượt đạt 41%, 60% và 100%. Từ đồ thị hình 5 cho thấy, giá trị gây tử vong 50% lượng ấu thể (LC50) ở thời điểm 96 giờ sau thử nghiệm là 6.817 $\mu\text{g}/\text{mL}$ tham chiếu với bảng 3 về phân loại độc tính thì sản phẩm bột trà không được xếp hạng và hầu như không có độc tính.

Một trong những quy tắc phối ngũ của y học phương Đông là việc kết hợp nhiều dược liệu với nhau để bào chế một sản phẩm với mục đích tăng tương tác, nâng công dụng và giảm thiểu độc tính là điều cần thiết. Lựa chọn phối hợp Thổ phục linh với Vẩy ốc theo tương tu có tác dụng tương hỗ nâng hiệu quả của nhau [11, 12], với mong muốn tăng cường khả năng kháng viêm, giảm đau. Tuy nhiên, Thổ phục linh lại rất hạn chế với người có chứng can thận âm hư, tỳ vị hư hàn. Do vậy, trong nghiên cứu này, chỉ bổ sung thêm một lượng nhỏ. Hiện tượng viêm chủ yếu là sự kích hoạt của hệ thống miễn dịch hoặc phản ứng enzyme. Ngoài việc bảo vệ hoạt động của các enzyme chống oxy hóa khác nhau, hoạt chất kaempferol còn được biết đến với vai trò là chất loại bỏ các gốc tự do và superoxide. Kaempferol có thể kích hoạt yếu tố hạt nhân kappa B (NF- κ B) để điều chỉnh hoạt động chống viêm; kaempferol tăng cường khả năng thu dọn gốc tự do và kích hoạt sự tăng sinh tế bào T và điều chỉnh việc sản xuất oxit nitric (NO), hoặc các loại oxy phản ứng (ROS) trong các tế bào đại thực bào RAW 264,7 do lipopolysaccharit gây ra. Kaempferol làm giảm sự hình thành prostaglandin E2 và NO cũng như sự biểu hiện của synthase oxit cảm ứng và cyclooxygenase (COX)-2, cùng với sự ức chế thoái hóa I κ B α và NF- κ B. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng, kaempferol còn có khả năng ức chế các cytokine gây viêm [22 - 31].

3.3. Kết quả khảo sát hàm lượng ẩm, độ tro, chỉ tiêu vi sinh vật của chế phẩm

Thành phẩm trà dược liệu Vẩy ốc được bảo quản trong túi nilon hàn kín, ở nhiệt độ không quá 30°C. Sản phẩm dạng bột có màu nâu sậm, vị ngọt nhẹ, thanh mát, mùi thơm của dược liệu và dễ uống khi pha trong nước nóng. Kết quả thực nghiệm xác định độ ẩm và độ tro được trình bày trong bảng 7.

Bảng 7. Kết quả thử nghiệm độ ẩm và độ tro của trà Vẩy ốc

Chỉ tiêu	Đơn vị	Lần đo			Trung bình	SD (%)	RSD (%)	TCVN 9739:2013 [32]
		1	2	3				
Độ ẩm	%	3,26	3,22	3,19	3,22	0,01	0,31	6
Độ tro	%	11,27	11,32	11,26	11,28	0,03	0,26	20

Sản phẩm trà thảo dược thu được có độ ẩm trung bình đạt 3,22% và độ tro đạt khoảng 11,28%, phù hợp với TCVN 9739:2013 [32], yêu cầu có độ ẩm nhỏ hơn 6% và độ tro tổng số nhỏ hơn 20%.

Bảng 8. Kết quả đánh giá chỉ tiêu vi sinh vật của mẫu trà Vẩy ốc

STT	Chỉ tiêu thử nghiệm	Phương pháp phân tích	Kết quả	Đơn vị tính
1	Tổng số vi sinh vật hiếu khí	TCVN 4884-1:2015 [16]	Không phát hiện (LOD=10)	CFU/g
2	<i>E. coli</i>	TCVN 7924-2:2008 [17]	Không phát hiện (LOD=10)	CFU/g
3	<i>Coliforms</i>	TCVN 6848:2007 [18]	Không phát hiện (LOD=10)	CFU/g
3	Tổng số bào tử nấm men, nấm mốc	TCVN 8275-2:2010 [19]	Không phát hiện (LOD=10)	CFU/g

Kết quả đánh giá các chỉ tiêu vi sinh vật của mẫu trà thảo dược Vẩy ốc được thể hiện trong bảng 8. Kết quả cho thấy, các chỉ tiêu vi sinh vật như tổng số, vi sinh vật hiếu khí, tổng số bào tử nấm men, nấm mốc, vi khuẩn *E. coli* và *Coliforms* có trong mẫu trà đều không phát hiện, ở dưới ngưỡng phát hiện (LOD = 10) được quy định trong các TCVN [16 - 19].

4. KẾT LUẬN

Từ dịch chiết Vẩy ốc đã phân lập ra hợp chất kaemferol, cấu trúc hợp chất được nhận biết bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ ¹H-NMR và ¹³C-NMR. Định lượng được hợp chất này trong thành phẩm bột trà 98,3 ± 2,01 mg/g. Thành phẩm trà thảo dược đã được khảo sát độc tính cấp theo hướng dẫn của OECD 236 trên phôi cá ngựa vằn, phép thử cho thấy, sản phẩm bước đầu khá an toàn bởi chỉ số đại độc tính LC50 là 6.817 µg/mL; nồng độ an toàn theo kết quả thử độc LC10 là 4.064 µg/mL, cùng các chỉ tiêu hóa lý như: Độ ẩm đạt 3,22%, độ tro trung bình khoảng 11,28%, các chỉ tiêu đều nằm trong giới hạn cho phép của TCVN 9741:2013, TCVN 9742:2013 và theo Dược điển Việt Nam V. Kết quả của nghiên cứu là tiền đề, mở ra các nghiên cứu sâu hơn trong việc sử dụng loài Vẩy ốc để điều trị chứng đau nhức xương khớp do viêm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội với đề tài mã số 19-2024-RD/HĐ-ĐHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế (2016). *Viêm khớp dạng thấp - Bệnh học Cơ xương khớp nội khoa*. Nxb Giáo dục Việt Nam.
- Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học.
- Leong Cheng Ning Abraham, Tako Masakuni, Hanashiro Isao, Tamaki Hajime (2008). Antioxidant flavonoid glycosides from the leaves of *Ficus pumila* L. *Food Chemistry*, Vol 109, pp. 415 – 420.
- Zhi-Yong Qi, Jia-Ying Zhao, Fang-Jun Lin, Wan-Lai Zhou, Ren-You Gan (2021). Bioactive Compounds, Therapeutic Activities and Applications of *Ficus pumila* L. *Agronomy*, Vol 11(1): 89. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010089>
- Wen-Lin Xiao, Wen-Hao Chen, Wei Li, Guang-Ying Chen, Xiao-Ping Song, Chang-Ri Han (2024). Chemical constituents from the stem of *Ficus pumila*. *Nat Prod Res*, Vol 38(3), pp. 408 – 414.
- Bai M, Cai Y, Wu SY, Song XP, Chen GY, Zheng CJ, Han CR. (2019). A new norisoprenoid

from the leaves of *Ficus pumila*. *National Product Research*, Vol 33(9), pp. 1292 – 1297.

7. Eitel Ngoh Misse Mouelle, Mohamed Foundikou Nsangou, Vanini Samiyatou Michiren Mandou, Jean Duplex Wansi, Sergi Herve Akone and Emmanuel Ngeufa Happi (2022). Chemical constituents from *Ficus sur* Forssk (Moraceae). *Zeitschrift fur Naturforschung*, Vol 3, 78(5 - 6), pp. 201 – 207.

8. Rathee P., Chaudhary H., Rathee S., Rathee D., Kumar V., Kohli K. (2009). Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: A review. *Inflamm Allergy Drug Targets*, Vol 8(3), pp. 229 – 235.

9. Hao Wu, Yu Wang, Bing Zhang, Yao-lei Li, Zhi-xin Ren, Jing-jian Huang, Zhi-qi Zhang, Zhi-jian Lin and Xiao-meng Zhang (2022). *Smilax glabra* Roxb.: A Review of Its Traditional Usages, Phytochemical Constituents, Pharmacological Properties and Clinical Applications. *Drug Design, Development and Therapy*, Vol 16, pp. 3621 – 3643.

10. Fei Sa, Jian-Li Gao, Kwok-Pui Fung, Ying Zheng, Simon Ming-Yuen Lee, Yi-Tao Wang (2008). Anti-proliferative and pro-apoptotic effect of *Smilax glabra* Roxb. extract on hepatoma cell lines. *Chemico-Biological Interactions*. Vol 171, pp. 1 – 14.

11. Trần Văn Kỳ (2013). *Dược học cổ truyền*. Nxb Đà Nẵng.

12. Nguyễn Huy Công (2015). *Hóa dược - Dược lý*. Bộ Y tế - Nxb Y học.

13. Bộ Y tế (2017). *Dược điển Việt Nam V*. Nxb Y học.

14. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 9741:2013. Chè hòa tan dạng rắn – Xác định độ ẩm (hao hụt khối lượng ở 103°C).

15. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 9742:2013 (ISO 7514:1990). Chè hòa tan dạng rắn – Xác định tro tổng số.

16. 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°C bằng kỹ thuật đổ đĩa.

17. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7924-2:2008 (ISO 16649-2:2001). Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp định lượng *Escherichia coli* dương tính β -glucuronidaza - Phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 44°C sử dụng 5-bromo-4-clo-3-indolyl β -d-glucuronid.

18. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 6848:2007 (ISO 4832:2007). Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng *Coliform* – Kỹ thuật đếm khuẩn lạc.

19. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8275-2:2010 (ISO 21527-2:2008). Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng nấm men và nấm mốc – Phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc trong các sản phẩm có hoạt độ nước nhỏ hơn hoặc bằng 0,95.

20. Vereinte Nationen (2021). Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (GHS), United Nations, New York Geneva.

21. S. Jarque, M. Rubio-Brotons, J. Ibarra, V. Ordoñez, S. Dyballa, R. Miñana, J. Terriente, Morphometric (2020). Analysis of developing zebrafish embryos allows predicting teratogenicity modes of action in higher vertebrates. *Reproductive Toxicology*, Vol 96, pp. 337 - 348.

22. Pont M., Day A., Bennett R., Mellon F., Kroon P (2024). Absorption of kaempferol from endive, a source of kaempferol-3-glucuronide, in humans. *Eur. J. Clin. Nutr*, Vol 58(6): 947 - 54. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601916.

23. Seo EH, Kang J, Kim KH, Cho MC, Lee S, Kim HJ, et al. (2008). Detection of expressed IL-32 in human stomach cancer using ELISA and immunostaining. *J Microbiol Biotechnol*, Vol 18(9), pp. 1606 - 1612.

24. Rong Y, Xiang XD, Li YM, Peng ZY, Li JX. (2015). IL-32. was involved in cigarette smoke-induced pulmonary inflammation in COPD. *Clin Respir J*, Vol 9(4), pp. 430 - 435.

25. Devi KP, Malar DS, Nabavi SF, Surenda A, Xiao J, Nabavi SM, et al. (2015) Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine. *Pharmacol Res*, Vol 99, pp. 1 – 10.

26. Xie JH, Dong CJ, Nie SP, Li F, Wang ZJ, Shen MY, *et al.* (2015). Extraction, chemical composition and antioxidant activity of flavonoids from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja leaves. *Food Chem*, Vol 186, pp. 97 - 105.
27. Ibrahim RR, Ibrahim HA, Shabana SS, El-Hosari DG, Ali SA, Mahgoub S, *et al.* (2021). New phenolic compounds from *Calothamnus quadrifidus* R. Br. aerial parts and their antioxidant activity. *Nat Prod Res*, Vol 35(23), pp. 5183 - 5191.
28. Ghareeb MA, Saad AM, Abdou AM, Refahy LAG, Ahmed WS. (2016). A new kaempferol glycoside with antioxidant activity from *Chenopodium ambrosioides* growing in Egypt. *Orient J Chem*, Vol 32(6), pp. 3053 - 3061.
29. Simunkova M, Barbierikova Z, Jomova K, Hudecova L, Lauro P, Alwasel SH, *et al.* (2021). Antioxidant vs. prooxidant properties of the flavonoid, kaempferol, in the presence of Cu(II) ions: A ROS-scavenging activity, fenton reaction and dna damage study. *Int J Mol Sci*, Vol 22(4), pp. 16 - 19.
30. Zang Y, Zhang D, Yu C, Jin C, Igarashi K. (2017). Antioxidant and hepatoprotective activity of kaempferol 3-O- β -D-(2,6-di-O- α -L-rhamnopyranosyl)galactopyranoside against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Food Sci Biotechnol*, Vol 26(4), pp. 1071 - 1076.
31. Al-Numair KS, Veeramani C, Alsaif MA, Chandramohan G. (2015). Influence of kaempferol, a flavonoid compound, on membrane-bound ATPases in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol*, Vol 53(9), pp. 1372 - 1378.
32. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 9739:2013 (ISO 6079:1990). Chè hòa tan dạng rắn - Yêu cầu.

**RESEARCH FOR PREPARATION OF HERBAL TEA FROM *Ficus pumila* L.
TO SUPPORTING TREATMENT OSTEOARTHRITIS**

Le The Hoai¹, Nguyen Thi Thanh Mai¹, Nguyen Thi Hong Hanh²

¹*Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry*

²*Faculty of Natural Resources and Environment, Vietnam National University of Agriculture*

Summary

In this study, kaempferol compound (3,4',5,7-tetrahydroxyflavone) was found in the extract from *Ficus pumila* L. collected in Trung Khanh district, Cao Bang province. Kaempferol is a compound with anti-inflammatory, antioxidant, anti-cancer, antidiabetic and neuroprotective activities. On that basis, herbal tea is prepared from the ethanol-water extract of the *Ficus pumila* L. species combined with *Smilax glabra* Roxb - a medicine with diverse biological activities that helps reduce rheumatism and detoxify, reduces pain and inflammation, enhances tendon strength and support in osteoarthritis treatment. The medicinal substance kaempferol in the herbal tea product was quantified by using high-performance chromatography technique, with a content of about 98.3 ± 2.01 mg/g. The toxicity of the herbal tea product was surveyed on zebrafish embryos according to guidelines of OECD 236 organisation, the results show that the product is none toxic. The herbal tea was determined with physicochemical criteria such as moisture of 3.22% and ash level of 11.28%, meeting the requirements according to TCVN 9739:2013 - National standard for Instant tea in solid form

Keywords: *Ficus pumila* L., herbal tea, kaempferol.

Ngày nhận bài: 20/3/2024

Ngày chuyển phản biện: 28/3/2024

Ngày thông qua phản biện: 15/4/2024

Ngày duyệt đăng: 30/5/2024

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH CHẾ BIẾN RƯỢU VANG TỪ DỊCH QUẢ NHÀU

Lê Anh Tuấn^{1*}, Nguyễn Văn Lợi¹

¹ Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

*Email: letuan.fes@hus.edu.vn

TÓM TẮT

Rượu vang nhàu là dòng rượu được lên men từ dịch quả nhàu và có nồng độ cồn thấp. Quả nhàu giàu giá trị dinh dưỡng như: Đường, vitamin, chất khoáng và chất xơ, đặc biệt là chứa nhiều axit amin, caroten, vitamin C và các hợp chất có hoạt tính sinh học. Quả nhàu có nhiều tác dụng như: Phòng chống cao huyết áp, tăng cường sinh lý, ngăn ngừa mất trí nhớ, phòng chống đau lưng, phòng chống viêm khớp, trị nhức mỏi xương khớp và nhuận tràng. Mục đích của nghiên cứu này là xây dựng quy trình chế biến rượu vang từ dịch quả nhàu. Kết quả là pha loãng theo tỷ lệ dịch quả nhàu 50 ml, nước lọc 200 ml, phối trộn với 10 g đường trắng và 2 g nấm men. Bên cạnh đó, xác định được các thông số công nghệ và xây dựng được quy trình chế biến nước nhàu lên men với các thông số công nghệ là: Nhiệt độ lên men 31°C và thời gian lên men 72 giờ. Sản phẩm chế biến theo công thức và quy trình này có hàm lượng etanol 15,1 mg/100 ml, độ axit bay hơi 1,98 g/L, đường tổng số 2,55 g/100 ml; không phát hiện sự có mặt của metanol, hàm lượng SO₂ và tổng số vi sinh vật hiếu khí. Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm đặc trưng hài hòa của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ và êm dịu, trạng thái trong suốt, không lắng cặn, có nhiều bọt mịn, đồng đều và bền.

Từ khóa: Chỉ tiêu hoá sinh, chỉ tiêu cảm quan, dịch quả nhàu, rượu vang, quy trình chế biến.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rượu vang là sản phẩm được chế biến từ các nguyên liệu như: Nho, dứa, vải thiều, cam, bưởi... và có nồng độ cồn thấp khác nhau [1, 2]. Rượu vang nhàu là dòng rượu vang được lên men từ dịch quả nhàu và có nồng độ cồn thấp. Cây nhàu có tên khoa học là *Morinda citrifolia*, thường mọc ở vùng nhiệt đới và ôn đới. Ở Việt Nam, cây nhàu được trồng nhiều ở những vùng ẩm thấp dọc theo bờ sông, bờ suối, ao hồ hoặc nương rạch ở khắp các tỉnh miền Nam và một số tỉnh miền Trung. Trong quả nhàu phần thịt quả chiếm tỉ lệ cao, gần 70%, mềm dễ nhuyển và có màu trắng, hạt quả chiếm hơn 10% và có màu nâu đen, vỏ quả mỏng, dễ nát và có màu trắng phớt xanh. Quả nhàu giàu giá trị dinh dưỡng như: Đường, vitamin, chất khoáng và chất xơ, đặc biệt là chứa nhiều axit amin, caroten, vitamin C và các hợp chất có hoạt tính sinh học.

Các kết quả nghiên cứu cho thấy, quả nhàu có nhiều tác dụng như: Phòng chống cao huyết áp, tăng cường sinh lý, ngăn ngừa mất trí nhớ, phòng

chống đau lưng, phòng chống viêm khớp, trị nhức mỏi xương khớp và nhuận tràng [3, 4]. Hiện nay, quả nhàu được sử dụng nhiều làm sa lát, ngâm rượu, sản xuất đồ uống hoặc sử dụng trong đông y. Việc chế biến quả nhàu thành các sản phẩm thực phẩm quy mô công nghiệp có thời hạn sử dụng dài ngày, vận chuyển được đi xa thì vẫn chưa được quan tâm nghiên cứu và chế biến một cách hiệu quả.

Quả nhàu là quả có mùi hôi, do đó việc khử mùi hôi trong quá trình chế biến các sản phẩm thực phẩm là rất cần thiết. Loại quả này thường phải để chín trên cây, sau khi thu hoạch hầu như không chín tiếp, quá trình chín của quả nhàu bắt đầu từ phía cuống và dần dần đến đầu quả [4 - 6]. Ở trong nước, đến thời điểm này đã có một số công trình nghiên cứu chế biến quả nhàu [5 - 7]. Tuy nhiên, việc nghiên cứu sản xuất rượu vang từ dịch quả nhàu có rất ít các công trình nghiên cứu đã công bố. Do đó, việc nghiên cứu xây dựng quy trình chế biến rượu vang từ dịch quả nhàu là rất

cần thiết, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu, dụng cụ thiết bị và địa điểm thực hiện

2.1.1. Nguyên liệu chính

Quả nhàu đạt độ chín sinh lý (vì quả nhàu sau khi thu hoạch không xảy ra quá trình chín tiếp theo, do đó phải để chín ở trên cây), thời gian thu hoạch của quả nhàu thường từ 200 - 210 ngày kể từ khi đậu quả. Ở độ chín này, vỏ quả có màu trắng phớt hồng, hơi phớt xanh, vỏ quả căng, chiều dài quả khoảng 5 - 7 cm, thịt quả mềm, có màu trắng và có mùi hôi (khi chưa được xử lý mùi).

Quả nhàu được thu mua tại tỉnh Đắk Nông, sau khi thu hái được chứa đựng trong thùng xốp đục lỗ và vận chuyển bằng ô tô đến phòng thí nghiệm để tiến hành sơ chế, ép và thu hồi dịch quả. Sử dụng dịch quả nhàu có màu nâu vàng, mùi hôi hơi khai, vị hơi chua và nồng. Do những đặc tính cảm quan này của dịch quả nhàu, vì thế trước khi đưa vào chế biến vang nhàu cần phải xử lý để nâng cao chất lượng cảm quan của dịch quả nhàu. Dịch quả nhàu được chứa đựng trong can hoặc chai nhựa PE tối màu chuyên dụng và bảo quản lạnh ở nhiệt độ từ 2 - 4°C để chờ đưa đi chế biến vang nhàu.

2.1.2. Nguyên liệu phụ và vật liệu

Các nguyên liệu phụ và vật liệu sử dụng gồm: Đường trắng, nước lọc, nấm men, axit citric, axit ascorbic, axit malic, rượu rum và rượu gạo... Các nguyên vật liệu này có nguồn gốc xuất xứ tại Việt Nam và đảm bảo chất lượng.

2.1.3. Dụng cụ, máy móc và thiết bị

Dụng cụ, máy móc và thiết bị sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: Thiết bị lên men có cánh khuấy và điều chỉnh được nhiệt độ, chiết quang kế ATAGO N-1 α của Nhật Bản, cân phân tích 5 số lẻ (ABT 220-5DNM) của hãng Kern - Đức, thiết bị đông hóa, tủ lạnh, bình định mức, cốc thủy tinh, ống đong thủy tinh... Các dụng cụ, máy móc và thiết bị này đảm bảo các tiêu chuẩn chất lượng và được vệ sinh sạch sẽ.

2.1.4. Địa điểm thực hiện

Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm, Bộ môn Khoa học và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội; Phòng thí nghiệm thuộc Khoa Cơ điện và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nông lâm Bắc Giang, Phòng thí nghiệm thuộc Viện Kiểm nghiệm và Kiểm định chất lượng VNTEST.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Dựa vào kết quả nghiên cứu thăm dò, đã đưa ra mô hình thí nghiệm như sau:

Thí nghiệm 1- Xác định tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, nguyên liệu phụ và các vật liệu: Để xác định tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, nguyên liệu phụ và các vật liệu thích hợp cho chế biến vang nhàu, thí nghiệm được bố trí theo 5 công thức và được lặp lại 3 lần theo các công thức của Nguyễn Văn Lợi và Lê Anh Tuấn (2023) [6] như sau:

TT	Tỷ lệ nguyên liệu	Các công thức thí nghiệm				
		CT-1	CT-2	CT-3	CT-4	CT-5
1	Dịch quả nhàu (ml)	50	50	50	50	50
2	Nước lọc (ml)	100	150	200	250	300
3	Đường trắng (g)	6	8	10	12	14
4	Nấm men (g)	1	1,5	2	2,5	3

Trong 5 công thức thí nghiệm, tiến hành phân tích xác định các chỉ tiêu hoá lý, hoá sinh, vi sinh và cảm quan. Sau đó, lựa chọn công thức phù hợp nhất để xây dựng quy trình chế biến vang nhàu.

- Thí nghiệm 2- Xác định ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến độ cồn và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm: Dựa vào kết quả nghiên cứu thăm dò,

đã đưa ra thí nghiệm lên men ở các dải nhiệt độ 25°C, 28°C, 31°C, 34°C và 37°C, thời gian lên men là 72 giờ và tỷ lệ các nguyên liệu thực hiện theo công thức CT-3, các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần. Từ đó, căn cứ vào nhiệt độ lên men để chọn nhiệt độ nghiên cứu phù hợp. Các thí nghiệm này được thực hiện trong môi trường yếm khí trên

thiết bị lên men chuyên dụng được làm bằng vật liệu inox, có cánh khuấy và điều chỉnh được nhiệt độ [6].

- *Thí nghiệm 3- Xác định ảnh hưởng của thời gian lên men đến độ cồn và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm:* Dựa vào kết quả nghiên cứu thăm dò, đã đưa ra thí nghiệm lên men ở các mức thời gian lên men là 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ và 120 giờ. Các yếu tố cố định như: Nhiệt độ lên men 31°C, tỷ lệ các nguyên liệu theo công thức CT-3, các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Căn cứ vào thời gian lên men để chọn thời gian nghiên cứu phù hợp. Các thí nghiệm này được thực hiện trong môi trường yếm khí trên thiết bị lên men chuyên dụng được làm bằng vật liệu inox, có cánh khuấy và điều chỉnh được nhiệt độ [6].

2.2.2. Phương pháp phân tích

2.2.2.1. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu hóa lý và hóa sinh

Đối với sản phẩm vang nhàu, tiến hành phân tích một số chỉ tiêu hóa lý và hóa sinh như sau:

- Phương pháp xác định hàm lượng etanol: Độ cồn của sản phẩm vang nhàu được xác định theo TCVN 8008:2009 [7].

- Phương pháp xác định hàm lượng metanol: Hàm lượng metanol trong vang nhàu được xác định theo TCVN 8010:2009 bằng phương pháp sắc khí [8].

- Phương pháp xác định độ axit: Độ axit của vang nhàu được xác định theo TCVN 8012:2009 [9].

- Phương pháp xác định hàm lượng SO₂: Hàm lượng SO₂ trong vang nhàu được xác định theo TCVN 9519-1:2012 [10].

- Phương pháp xác định hàm lượng đường tổng số: Hàm lượng đường tổng số của vang nhàu được xác định theo TCVN 4594:1988 [11].

2.2.2.2. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu vi sinh vật

Vi sinh vật tổng số được xác định theo TCVN 4884:2001 [12]. Chuẩn bị hai đĩa rót môi trường nuôi cấy quy định và cấy vào đó một lượng mẫu thử, xác định nếu sản phẩm ban đầu là chất lỏng hoặc dùng một lượng huyền phù ban đầu xác định

nếu các sản phẩm ở dạng khác. Nuôi cấy hiếu khí các đĩa ở 30°C trong 72 giờ. Tính số lượng vi sinh vật trên ml hoặc trên g mẫu từ số khuẩn lạc phát triển trong các đĩa được chọn.

2.2.2.3. Phương pháp đánh giá cảm quan

Để đánh giá chất lượng cảm quan của vang nhàu, sử dụng TCVN 3215:1979 [13], được thực hiện với hội đồng gồm 30 người cho mỗi lần thử. Những người này có độ tuổi khác nhau từ 18 - 40 tuổi, cả nam và nữ để tìm ra sự hài lòng và ưa thích đối với các mẫu sản phẩm thực phẩm này. Trạng thái, màu sắc, mùi, vị, độ bọt của các sản phẩm được xác định theo thang điểm 5 gồm 6 bậc. Tổng điểm của các chỉ tiêu cảm quan cao nhất là 20 điểm và thấp nhất là 0 điểm. Tính điểm trung bình của các thành viên hội đồng đối với từng chỉ tiêu cảm quan, tiếp theo nhân với hệ số quan trọng tương ứng của chỉ tiêu đó gọi là điểm có trọng lượng của từng chỉ tiêu, sau đó tính tổng số điểm có trọng lượng của tất cả các chỉ tiêu cảm quan được số điểm chung (có trọng lượng). Với loại tốt (18,6 - 20 điểm), loại khá (15,2 - 18,5), loại trung bình (11,2 - 15,1), loại kém (7,2 - 11,1), loại rất kém (4,0 - 7,2) và loại hỏng (0 - 3,9). Hệ số quan trọng được hội đồng thống nhất là màu sắc (1,1), độ bọt (0,7), mùi (0,9) và vị (1,3). Người đánh giá cảm quan sẽ nhận được một phiếu phân tích và các mẫu vang nhàu. Người đánh giá cảm quan được yêu cầu sắp xếp theo các mẫu thử tự ưa thích về màu sắc, độ bọt, mùi và vị của sản phẩm đồng thời cho điểm vào phiếu phân tích.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm tối ưu hóa Design-Expert phiên bản 7.1 để phân tích các hệ số hồi quy. Sử dụng phần mềm Excel để hệ thống hóa các thông tin, số liệu phục vụ phân tích và đánh giá. Các số liệu phân tích được xử lý phân tích thống kê SAS 9.0. Phân tích giả thiết thống kê theo ANOVA và các giá trị trung bình được so sánh bằng LSD ở mức $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ phối trộn giữa nguyên liệu chính, các nguyên liệu phụ và vật liệu thực phẩm

Để có cơ sở khoa học cho việc xác định tỷ lệ phối trộn giữa nguyên liệu chính, các nguyên liệu

phụ và vật liệu thực phẩm một cách phù hợp trong quá trình xây dựng quy trình chế biến vang nhàu thì cần phải dựa vào các chỉ tiêu hoá lý, hoá sinh và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm. Do đó, việc phân tích các chỉ tiêu này là có ý nghĩa rất lớn về khoa học và thực tiễn.

3.1.1. Chỉ tiêu hóa lý và hóa sinh của vang nhàu

Tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, các nguyên liệu

phụ và vật liệu thực phẩm có ảnh hưởng rất lớn tới các chỉ tiêu hóa lý và hóa sinh của vang nhàu. Đối với sản phẩm vang nhàu, khi xác định đúng tỷ lệ thích hợp nguyên liệu chính, các nguyên liệu phụ và vật liệu thực phẩm còn góp phần hạn chế rất lớn mùi hôi từ dịch quả nhàu. Thí nghiệm được bố trí ở mục 2.2.1, kết quả xác định chỉ tiêu hóa lý và hóa sinh của vang nhàu được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Chỉ tiêu hóa lý và hóa sinh của vang nhàu

TT	Các chỉ tiêu hóa lý và hóa sinh	Đơn vị	Kết quả phân tích				
			CT-1	CT-2	CT-3	CT-4	CT-5
1	Hàm lượng etanol	mg/100 ml	8,1 ^a	9,05 ^b	15,1 ^c	9,5 ^d	11 ^e
2	Hàm lượng metanol	mg/100 ml	< 3	< 3	KPH	< 3	< 3
3	Độ axit bay hơi	g/L	1,58 ^a	1,85 ^b	1,98 ^{cd}	1,98 ^{cd}	2,05 ^e
4	Hàm lượng SO ₂	mg/L	KPH	KPH	KPH	KPH	KPH
5	Đường tổng số	g/100 ml	7,59 ^a	4,96 ^b	2,55 ^c	4,64 ^d	7,55 ^e

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (p<0,05), KPH - Không phát hiện.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, vang nhàu ở công thức CT-1 có hàm lượng etanol thấp nhất là 8,1 mg/100 ml, tiếp theo là ở công thức CT-2 có hàm lượng etanol là 9,05 mg/100 ml, ở công thức CT-4 là 9,5 mg/100 ml, ở công thức CT-5 là 11 mg/100 ml và cao nhất là ở công thức CT-3 với 15,1 mg/100 ml. Điều đó cho thấy, ở công thức CT-3, với tỷ lệ dịch quả nhàu 50 ml, nước lọc 200 ml, đường kính trắng 10 g, nấm men 2 g có tác dụng hiệu quả trong quá trình lên men chuyển hóa đường thành etanol. Trong quá trình thực hiện, các thí nghiệm thăm dò sử dụng dịch ép quả nhàu nguyên chất (không pha loãng), dịch quả nhàu pha loãng tỷ lệ 1/1 (v/v) đều không xảy ra quá trình lên men. Nguyên nhân, trong dịch quả nhàu nguyên chất và dịch quả nhàu pha loãng tỷ lệ 1/1 (v/v) có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao sẽ ức chế sự hoạt động của nấm men, làm ảnh hưởng đến hiệu suất lên men. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Min G và cs (2020) [14].

Thí nghiệm với tỷ lệ pha loãng dịch quả nhàu/nước lọc là 50 ml dịch quả nhàu và 100 ml nước lọc ở công thức CT-1, 50 ml dịch quả nhàu và

150 ml nước lọc ở công thức CT-2 đều thu được hàm lượng etanol thấp hơn công thức CT-3. Sở dĩ có hiện tượng này là do dịch quả nhàu khi pha loãng với tỷ lệ thấp, trong dịch quả nhàu có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao sẽ ức chế sự hoạt động của nấm men, làm ảnh hưởng đến hiệu suất lên men [14]. Khi pha loãng tỷ lệ dịch quả nhàu/nước lọc là 50 ml dịch quả nhàu và 250 ml nước lọc ở công thức CT-4 thì sản phẩm có màu vàng nhạt, kém hấp dẫn, không đặc trưng. Đồng thời, đã tăng hàm lượng đường kính trắng lên 12 g, nấm men lên 2,5 g, nhưng hàm lượng etanol chỉ thu được là 9,5 mg/100 ml. Tiếp tục pha loãng tỷ lệ dịch quả nhàu/nước lọc là 50 ml dịch quả nhàu và 300 ml nước lọc ở công thức CT-5 thì sản phẩm chỉ hơi có màu của dịch nhàu, kém hấp dẫn và không đặc trưng. Bên cạnh đó, tăng hàm lượng đường kính trắng lên 14 g, nấm men lên 3 g, nhưng hàm lượng etanol cũng chỉ thu được là 11 mg/100 ml.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, trong mẫu vang nhàu ở công thức CT-3 không phát hiện sự có mặt của metanol, các mẫu vang nhàu ở công thức CT-1, CT-2, CT-4 và CT-5 đều phát hiện sự có mặt của metanol < 3 mg/100 ml. Độ axit bay hơi của mẫu

vang nhàu ở công thức CT-1 là thấp nhất, sau đó đến CT-2, CT-3 và CT-4 có độ axit bay hơi đều bằng nhau là 1,98 g/l, công thức CT-5 có độ axit bay hơi cao nhất là 2,05 g/l. Trong 5 công thức thí nghiệm thì công thức CT-3 có hàm lượng đường tổng số thấp nhất là 2,55 g/100 ml. Sở dĩ có hiện tượng này là vì phần lớn đường đã bị lên men và chuyển hóa thành etanol, dẫn tới hàm lượng đường tổng số giảm. Do đó, dựa vào chỉ tiêu hóa lý, hóa sinh của vang nhàu, để đảm bảo hiệu quả của quá trình lên men và tiết kiệm được chi phí trong quá trình sản xuất, chọn công thức CT-3 để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

3.1.2. Chỉ tiêu vi sinh của vang nhàu

Ngoài chỉ tiêu hóa sinh, để xác định tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, các nguyên liệu phụ và vật liệu thực phẩm cần phải xác định chỉ tiêu vi sinh vật của sản phẩm. Kết quả xác định chỉ tiêu vi sinh vật của vang nhàu được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Chỉ tiêu vi sinh vật của vang nhàu

TT	Các công thức thí nghiệm	Tổng số vi sinh vật hiếu khí (CFU/ml)
1	CT-1	8.10^2
2	CT-2	$5,1.10^2$
3	CT-3	KPH
4	CT-4	$2,6.10^2$
5	CT-5	$9,7.10^3$

Bảng 2 cho thấy, mẫu vang nhàu ở công thức

CT-1 có tổng số vi sinh vật hiếu khí 8.10^2 CFU/ml, CT-2 có tổng số vi sinh vật hiếu khí $5,1.10^2$ CFU/ml. Trong 5 công thức thí nghiệm thì vang nhàu ở công thức CT-5 có tổng số vi sinh vật hiếu khí cao nhất là $9,7.10^3$ CFU/ml, sau đó đến các mẫu vang nhàu ở CT-1, CT-2 và CT-4 là $2,6.10^2$ CFU/ml, riêng mẫu vang nhàu ở công thức CT-3 không phát hiện sự có mặt của tổng số vi sinh vật hiếu khí. Điều đó cho thấy, việc phối hợp tỷ lệ nguyên liệu chính, các nguyên liệu phụ và vật liệu thực phẩm một cách phù hợp đã thúc đẩy quá trình lên men chuyển hóa đường thành etanol với hiệu suất cao có tác dụng ức chế sự hoạt động của tổng số vi sinh vật hiếu khí. Vì vậy, dựa vào chỉ tiêu vi sinh vật của vang nhàu, chọn công thức CT-3 để thực hiện các nghiên cứu tiếp sau về chế biến vang nhàu.

3.1.3. Chỉ tiêu cảm quan của vang nhàu

Chỉ tiêu cảm quan của thực phẩm là thông tin đầu tiên để người tiêu dùng có quyết định lựa chọn thực phẩm đó hay không [5, 6]. Cảm quan là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng của các sản phẩm thực phẩm nói chung và vang nhàu nói riêng. Do đó, việc xác định chỉ tiêu cảm quan của vang nhàu là rất cần thiết, là cơ sở khoa học để lựa chọn công thức phù hợp cho việc xây dựng quy trình chế biến sản phẩm thực phẩm này. Kết quả xác định chỉ tiêu cảm quan của vang nhàu được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Chỉ tiêu cảm quan của vang nhàu

Chỉ tiêu cảm quan	Điểm cảm quan				
	CT-1	CT-2	CT-3	CT-4	CT-5
Màu sắc	$3,18 \pm 0,02$	$4,52 \pm 0,04$	$4,63 \pm 0,01$	$4,47 \pm 0,02$	$3,63 \pm 0,04$
	Màu nâu	Màu nâu vàng	Màu vàng đặc trưng	Màu vàng nhạt	Hơi có màu của dịch nhàu
Mùi	$3,27 \pm 0,03$	$4,07 \pm 0,03$	$4,16 \pm 0,04$	$3,96 \pm 0,04$	$3,15 \pm 0,05$
	Có mùi của rượu xen lẫn mùi hôi của dịch nhàu	Mùi thơm nhẹ của rượu	Mùi thơm đặc trưng hài hòa của rượu	Mùi thơm nhẹ của rượu	Có mùi của rượu
Vị	$3,34 \pm 0,03$	$3,45 \pm 0,05$	$4,07 \pm 0,04$	$4,02 \pm 0,04$	$3,06 \pm 0,03$
	Vị hơi ngọt và	Vị hơi cay xen	Vị hơi cay, xen	Vị hơi cay xen	Vị hơi ngọt và

	nồng	lẫn vị ngọt nhẹ	lẫn vị ngọt nhẹ và êm dịu	lẫn vị ngọt nhẹ	nồng
Trạng thái	3,46 ± 0,04	3,57 ± 0,04	3,61 ± 0,03	3,59 ± 0,02	3,39 ± 0,04
	Trong suốt, không lắng cặn	Trong suốt, không lắng cặn	Trong suốt, không lắng cặn	Trong suốt, không lắng cặn	Trong suốt, không lắng cặn
Tổng điểm	13,25 ± 0,03	15,61 ± 0,04	16,47 ± 0,03	16,04 ± 0,03	13,23 ± 0,04
Xếp loại	Trung bình	Khá	Khá	Khá	Trung bình

Dựa vào kết quả đánh giá cảm quan cho thấy, các mẫu vang nhàu ở công thức CT-2, CT-3 và CT-4 có tổng điểm cảm quan cao nhất. Cụ thể, mẫu vang nhàu ở công thức CT-3 là 16,47 ± 0,03 điểm, CT-4 là 16,04 ± 0,03 điểm và CT-2 là 15,61 ± 0,04 điểm. Với tổng số điểm như vậy thì cả ba công thức này đều được xếp loại khá. Trong khi đó, mẫu vang nhàu ở các công thức CT-1 và CT-5 đều được xếp loại trung bình, với tổng số điểm tương ứng của vang nhàu ở CT-1 là 13,25 ± 0,03 điểm và vang nhàu ở CT-5 là 13,23 ± 0,04 điểm. Các thành viên hội đồng cảm quan đều cho rằng, mẫu vang nhàu ở công thức CT-3 có mùi thơm đặc trưng hài hòa của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ và êm dịu, màu vàng đặc trưng, trong suốt và không lắng cặn, mẫu vang nhàu ở công thức này có tổng số điểm cao nhất trong tất cả các công thức thí nghiệm. Do đó, dựa vào các chỉ tiêu cảm quan lựa chọn công thức CT-3 để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo cho việc chế biến vang nhàu.

Dựa vào chỉ tiêu hóa lý, hóa sinh, vi sinh và cảm quan, chọn tỷ lệ nguyên liệu chính, các nguyên liệu phụ và vật thực phẩm ở công thức CT-3 (tỷ lệ dịch quả nhàu 50 ml, nước lọc 200 ml, đường trắng 10 g, nấm men 2 g) để xây dựng quy trình chế biến vang nhàu.

3.2. Các thông số công nghệ của quá trình chế biến vang nhàu

3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến hàm lượng etanol và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm

Nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng rất lớn đến quá trình lên men, việc xác định được nhiệt độ lên men tối thích góp phần tăng hiệu suất lên men và rút ngắn được thời gian lên men. Dựa vào kết quả nghiên cứu thăm dò, thí nghiệm được tiến hành lên men ở các dải nhiệt độ 25°C, 28°C, 31°C, 34°C và 37°C, thời gian lên men là 72 giờ và tỷ lệ các nguyên liệu thực hiện theo công thức CT-3, các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần. Kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến hàm lượng etanol và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm

TT	Nhiệt độ lên men (°C)	Hàm lượng etanol (mg/100 ml)	Chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm	
			Tổng điểm và xếp loại	Đặc điểm cảm quan
1	25	14,85	13,97 ± 0,04	Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm rượu nhẹ, vị hơi cay nhẹ, xen lẫn vị ngọt nhẹ, trạng thái trong suốt, không lắng cặn và có ít bọt.
			Trung bình	
2	28	14,93	16,03 ± 0,02	Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ, trạng thái trong suốt, không lắng cặn và có ít bọt.
			Khá	
3	31	15,1	16,59 ± 0,04	Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm đặc trưng hài hòa của

			Khá	rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ và êm dịu, trạng thái trong suốt và không lắng cặn. Đồng thời sản phẩm có nhiều bọt mịn, đồng đều và bền.
4	34	14,97	16,17 ± 0,03	Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ, trạng thái trong suốt, không lắng cặn và có ít bọt.
			Khá	
5	37	13,68	13,64 ± 0,02	Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm rượu nhẹ, vị hơi cay nhẹ, xen lẫn vị ngọt nhẹ, trạng thái trong suốt, có ít bọt, nhưng có lớp cặn mỏng lắng dưới đáy chai.
			Trung bình	

Khi lên men ở nhiệt độ 25°C, hiệu suất lên men chậm, đến ngày lên men thứ 3 hàm lượng etanol thu được là 14,85 mg/100 ml, tổng điểm cảm quan là 13,97 ± 0,04 điểm và xếp loại trung bình, sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm rượu nhẹ, vị hơi cay nhẹ, xen lẫn vị ngọt nhẹ, trạng thái trong suốt, có ít bọt và không lắng cặn. Cũng tại thời điểm ngày lên men thứ 3, nhưng lên men ở nhiệt độ 28°C, hàm lượng etanol thu được là 14,93 mg/100 ml, tổng điểm cảm quan là 16,03 ± 0,02 điểm và xếp loại khá. Các thành viên hội đồng cảm quan cho rằng, sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ, trạng thái trong suốt, không lắng cặn và có ít bọt. Khi tăng nhiệt độ lên men lên 31°C thì ở ngày lên men thứ 3 hàm lượng etanol thu được là 15,1 mg/100 ml, với tổng điểm cảm quan là 16,59 ± 0,04 điểm, cao nhất trong các công thức thí nghiệm và được xếp loại khá. Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm đặc trưng hài hòa của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ và êm dịu, trạng thái trong suốt, không lắng cặn, có nhiều bọt mịn, đồng đều và bền. Với nhiệt độ lên men là 34°C, ở ngày lên men thứ 3 hàm lượng etanol thu được là 14,97 mg/100 ml và tổng điểm cảm quan được hội đồng cảm quan đánh giá là 16,17 ± 0,03 điểm, được xếp loại khá. Các thành viên hội đồng cảm quan đều cho rằng, sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ, trạng thái trong suốt, ít bọt và không lắng cặn.

Tiếp tục tăng nhiệt độ lên men đến 37°C thì hàm lượng etanol lại giảm và đến ngày lên men thứ 3 hàm lượng etanol thu được là 13,68 mg/100 ml, tổng điểm cảm quan là 13,64 ± 0,02 điểm và được xếp loại trung bình. Lên men ở nhiệt độ này sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm rượu nhẹ, vị hơi cay nhẹ, xen lẫn vị ngọt nhẹ, trạng thái trong, ít bọt, nhưng có lớp cặn mỏng lắng dưới đáy chai. Kết quả ở bảng 4 cho thấy, lên men ở nhiệt độ 31°C cho hiệu quả cao hơn các nhiệt độ lên men khác. Vì vậy, chọn nhiệt độ 31°C để lên men sản xuất rượu vang nhàu.

3.2.2. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến hàm lượng etanol và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm

Việc xác định ảnh hưởng của thời gian lên men đến hàm lượng etanol và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm vang nhàu có vai trò rất quan trọng trong quá trình sản xuất. Thời gian lên men phù hợp góp phần tăng hiệu suất lên men, nâng cao chất lượng sản phẩm và tiết kiệm được chi phí. Dựa vào kết quả nghiên cứu thăm dò, thí nghiệm được thực hiện ở các mức thời gian lên men là 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ và 120 giờ. Các yếu tố cố định như: Nhiệt độ lên men 31°C, tỷ lệ các nguyên liệu theo công thức CT-3, các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần. Kết quả xác định ảnh hưởng của thời gian lên men đến hàm lượng etanol và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm vang nhàu được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến hàm lượng etanol và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm

TT	Thời gian lên men (giờ)	Hàm lượng etanol (mg/100 ml)	Chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm	
			Tổng điểm và xếp loại	Đặc điểm cảm quan
1	24	8,96	11,03 ± 0,02	Sản phẩm có màu vàng nâu, mùi của dịch nhàu, vị hơi ngọt của đường xen lẫn vị hơi chua của dịch nhàu, trạng thái trong suốt, có xuất hiện bọt khí nhưng rất ít và không lắng cặn.
			Kém	
2	48	12,67	13,17 ± 0,03	Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm nhẹ, vị hơi cay nhẹ, xen lẫn vị ngọt nhẹ, trạng thái trong suốt, có lớp bọt mỏng và không lắng cặn.
			Trung bình	
3	72	15,31	15,94 ± 0,03	Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm đặc trưng hài hòa của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ và êm dịu, trạng thái trong suốt, không lắng cặn, có nhiều bọt mịn, đồng đều và bền.
			Khá	
4	96	15,23	15,81 ± 0,02	Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị hơi chua, trạng thái trong suốt, không lắng cặn và có ít bọt.
			Khá	
5	120	14,95	15,06 ± 0,03	Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm nhẹ của rượu, vị hơi cay nhẹ, xen lẫn vị hơi chua, trạng thái trong suốt, có ít bọt và có lớp cặn mỏng lắng dưới đáy chai.
			Trung bình	

Bảng 5 cho thấy, sau 24 giờ lên men, hàm lượng ethanol thu được rất thấp, chỉ chiếm 8,96 mg/100 ml, tổng điểm cảm quan thu được là 11,03 ± 0,02 điểm và xếp loại kém. Ở thời điểm này mới bắt đầu quá trình lên men, chỉ xuất hiện ít bọt khí, sản phẩm có màu vàng nâu, mùi của dịch nhàu, vị hơi ngọt của đường xen lẫn vị hơi chua của dịch nhàu, trạng thái trong suốt và không lắng cặn. Đến thời điểm 48 giờ lên men, hàm lượng etanol thu được tăng lên 12,67 mg/100 ml, tổng điểm cảm quan là 13,17 ± 0,03 điểm và được xếp loại trung bình. Tại thời điểm này bọt khí xuất hiện nhiều hơn, sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm nhẹ, vị hơi cay nhẹ, xen lẫn vị ngọt nhẹ, trạng thái trong suốt, có lớp bọt mỏng và không lắng cặn. Tiếp tục lên men đến 72 giờ, hàm lượng etanol thu

được là 15,31 mg/100 ml, sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm đặc trưng hài hòa của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ và êm dịu, trạng thái trong suốt, không lắng cặn, có nhiều bọt mịn, đồng đều và bền. Tổng điểm cảm quan đạt được là 15,94 ± 0,03 điểm và được xếp loại khá. Đến thời điểm lên men 96 giờ, hàm lượng etanol thu được là 15,23 mg/100 ml, tổng điểm cảm quan đạt được là 15,81 ± 0,02 điểm và xếp loại khá, sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị hơi chua, trạng thái trong suốt, không lắng cặn và có ít bọt. Tương tự, ở thời điểm lên men 120 giờ, hàm lượng etanol thu được là 14,95 mg/100 ml, tổng điểm cảm quan đạt được là 15,06 ± 0,03 điểm và được xếp loại trung bình. Sản phẩm ở giai đoạn này có màu vàng đặc trưng, mùi

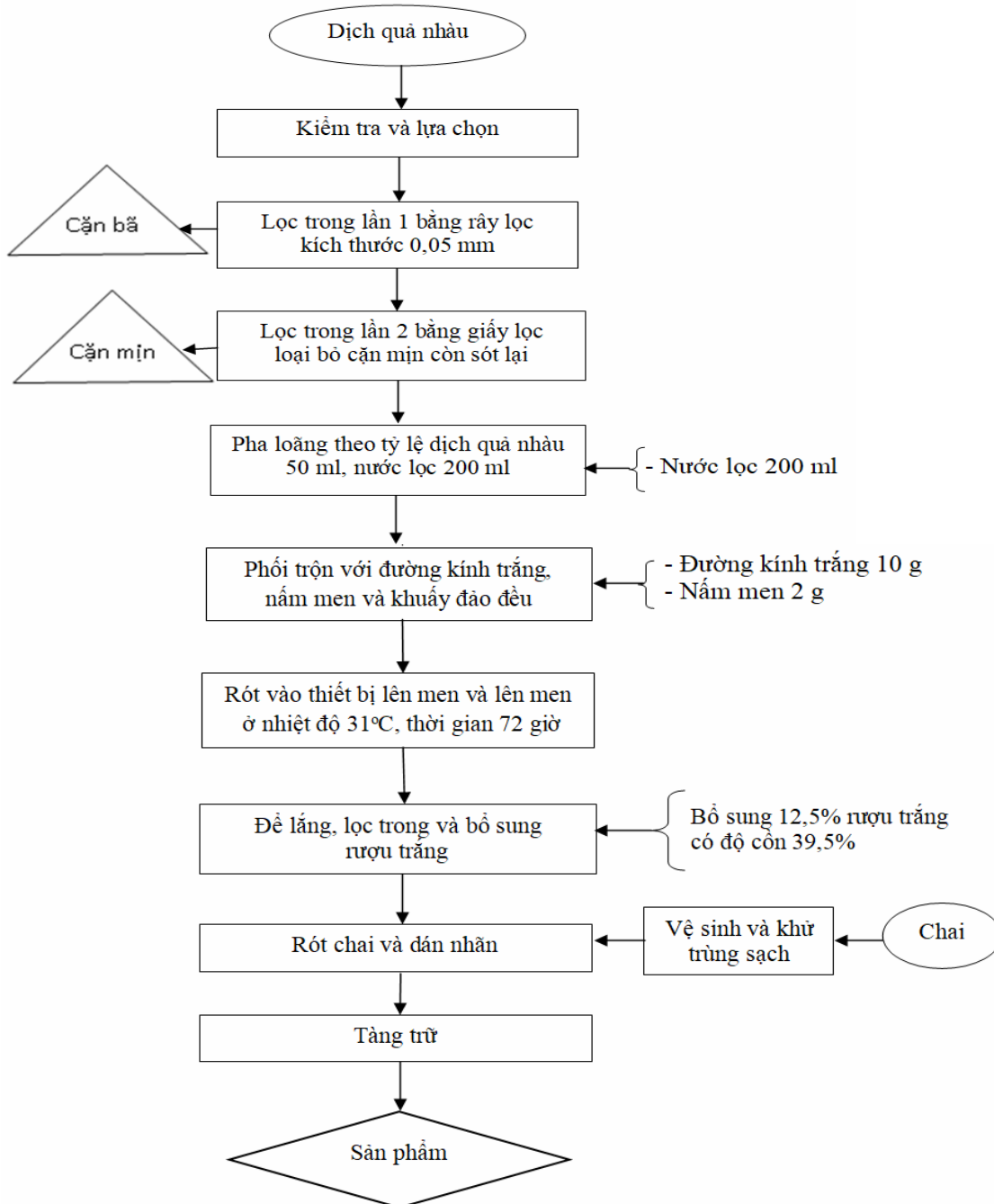
thơm nhẹ của rượu, vị hơi cay nhẹ, xen lẫn vị hơi chua, trạng thái trong suốt, có ít bọt và có lớp cặn mỏng lắng dưới đáy chai. Sờ dĩ có hiện tượng ở thời điểm lên men 96 và 120 giờ, hàm lượng etanol và hàm lượng bọt thu được thấp hơn 72 giờ là vì lúc này quá trình lên men đã chuyển sang giai đoạn kết thúc, một lượng etanol đã bị chuyển hóa thành các sản phẩm trung gian khác, dẫn tới hàm lượng etanol và hàm lượng bọt bị giảm dần. Vì vậy, để đảm bảo hiệu quả của quá trình lên men, tiết

kiệm thời gian lên men và tiết kiệm các chi phí, chọn thời gian lên men vang nhàu 72 giờ là phù hợp để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Quy trình chế biến vang nhàu

3.3.1. Sơ đồ quy trình chế biến vang nhàu

Từ các kết quả nghiên cứu, đã đưa ra sơ đồ quy trình chế biến vang nhàu, bao gồm các bước được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Sơ đồ quy trình chế biến vang nhàu

3.3.2. Thuyết minh quy trình chế biến vang nhàu

- *Bước 1. Nguyên liệu:* Sử dụng dịch quả nhàu có màu nâu vàng, có mùi hôi hơi khai, vị hơi chua và nồng, dịch quả nhàu đục. Dịch quả nhàu có giá trị dinh dưỡng cao, có chứa nhiều hoạt chất sinh học có tác dụng tốt cho sức khỏe và được sử dụng nhiều trong y học. Chất khô hòa tan 9,41%Bx, đường tổng số 3,18%, protein tổng số 5,84%, axit hữu cơ tổng số 0,12%, vitamin C 82,96 mg/100 g và chất khoáng tổng số 1,26% [4]. Do những đặc tính cảm quan này của dịch quả nhàu, vì thế trước khi đưa vào chế biến các loại đồ uống hoặc một số thực phẩm khác cần phải xử lý để nâng cao chất lượng cảm quan của dịch quả nhàu. Trước khi đưa vào chế biến vang nhàu, dịch quả nhàu được lọc qua rây lọc để loại bỏ bã và các tạp chất còn lẫn.

- *Bước 2. Kiểm tra và lựa chọn:* Dịch quả nhàu trước khi đưa vào sử dụng cần kiểm tra các chỉ tiêu hóa lý, hóa sinh, hàm lượng chất khô hòa tan, chỉ tiêu vi sinh, độ sạch và chỉ tiêu cảm quan. Nếu không đảm bảo chất lượng và độ sạch thì không được đưa vào sử dụng.

- *Bước 3. Lọc trong:* Mục đích của quá trình này là làm trong dịch quả nhàu. Dịch quả nhàu được lọc qua hai lần lọc, lần 1 được lọc bằng rây lọc kích thước 0,05 mm để loại bỏ bã. Sau đó, dịch quả nhàu này được lọc lần 2 bằng giấy lọc để loại bỏ cặn mịn còn sót lại. Quá trình lọc được thực hiện trong phòng sạch, có nhiệt độ từ 12 - 15°C.

- *Bước 4. Pha loãng dịch quả nhàu:* Trong dịch quả nhàu nguyên chất có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao, sẽ ức chế sự hoạt động của nấm men. Do đó, để đảm bảo hiệu quả của quá trình lên men, dịch quả nhàu được pha loãng đến nồng độ thích hợp để vừa đảm bảo hiệu quả lên men, vừa giữ được giá trị dinh dưỡng, giá trị cảm quan và các đặc tính đặc trưng cho sản phẩm. Dịch quả nhàu được pha loãng với tỷ lệ dịch quả nhàu 50 ml, nước lọc 200 ml.

- *Bước 5. Phối trộn với đường kính trắng, nấm men và khuấy đảo đều:* Sau khi pha loãng, dịch quả nhàu được rót vào bình chứa, phối trộn đường

kính trắng 10 g và nấm men 2 g, sau đó khuấy đảo đều. Tốc độ khuấy 500 vòng/phút, quá trình khuấy cũng được thực hiện trong phòng sạch, có nhiệt độ từ 12 - 15°C.

- *Bước 6. Rót vào thiết bị lên men và lên men:* Sau khi khuấy đảo đều và rót vào thiết bị lên men, hỗn hợp được lên men ở nhiệt độ 31°C, thời gian lên men 72 giờ. Trong quá trình lên men diễn ra hàng loạt các phản ứng sinh hoá, để tạo ra etanol, bọt, các chất thơm và các sản phẩm trung gian khác. Quá trình lên men nhằm mục đích tạo ra các sản phẩm lên men, trong đó ethanol là chủ yếu dưới tác dụng của *Saccharomyces cerevisiae*. Sau đó, nhờ hệ enzyme của vi khuẩn *Leuconostoe oenos* sẽ chuyển hóa một số axit hữu cơ, trong đó phản ứng chuyển hóa axit malic thành axit lactic. Các chất thơm trong rượu vang gồm: Este của các axit hữu cơ, ethyl este của các axit béo acetat ethyl, 3-methyl butylacetate, este 2-hydroxyl propanoic, malic và succinic.

- *Bước 7. Để lắng, lọc trong và bổ sung rượu trắng:* Sau khi lên men xong, sản phẩm lên men được để lắng trong thiết bị lên men, sau đó lọc trong để loại bỏ cặn bã còn lại, nấm men còn sót lại trong quá trình lên men. Quá trình lọc được thực hiện bằng rây lọc kích thước 0,05 mm. Sau khi lọc trong xong, để tăng nồng độ cồn cho sản phẩm, tiến hành bổ sung 12,5% rượu trắng có nồng độ cồn 39,5%, khuấy đều và tàng trữ trong chai thủy tinh có nắp vặn chặt kín hoặc tàng trữ trong thùng gỗ sồi.

- *Bước 8. Rót chai, dán nhãn và bảo quản:* Chai phải được vệ sinh, khử trùng sạch sẽ và thổi khô bằng hơi nóng hoặc được tráng qua bằng vang nhàu. Vang nhàu sau khi lên men và lọc trong xong, được rót vào các chai thủy tinh tối màu, vặn chặt nắp, dán nhãn và tàng trữ trong kho thoáng mát, tránh ánh nắng mặt trời tác động trực tiếp. Nơi bảo quản vang nhàu phải cách xa nguồn lửa, phải ở nơi khô ráo, nhiệt độ trong kho bảo quản duy trì dưới 20°C, trong quá trình bảo quản phải thường xuyên kiểm tra, khi xếp kho không được xếp cao tầng tránh đổ vỡ.

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được tỷ lệ phối trộn các nguyên liệu chính, các nguyên liệu phụ và vật liệu thực phẩm là pha loãng theo tỷ lệ dịch nhàu 50 ml, nước lọc 200 ml, phối trộn với đường trắng 10 g và nấm men 2 g. Bên cạnh đó, xác định được các thông số công nghệ và xây dựng được quy trình chế biến nước nhàu lên men với các thông số công nghệ là: Nhiệt độ lên men 31°C và thời gian lên men 72 giờ. Sản phẩm chế biến theo công thức và quy trình này có hàm lượng etanol 15,1 mg/100 ml, độ axit bay hơi 1,98 g/L, đường tổng số 2,55 g/100 ml; không phát hiện sự có mặt của metanol, hàm lượng SO₂ và tổng số vi sinh vật hiếu khí. Sản phẩm có màu vàng đặc trưng, mùi thơm đặc trưng hài hòa của rượu, vị hơi cay, xen lẫn vị ngọt nhẹ và êm dịu, trạng thái trong suốt, không lắng cặn, có nhiều bọt mịn, đồng đều và bền.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Joshi A. A, Chilkawar P. M., Jadhav B. A (2012). Studies on Physico-Chemical Properties of Noni Fruit (*Morinda Citrifolia*) and Preparation of Noni Beverages. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics (IJFS)*, 2326 - 3350.
2. Thirukkumar S, Vennila P, Kanchana S, Uma Maheswari T (2017). Studies on Extraction of Juice from Noni Fruits (*Morinda citrifolia* Linn.). *Indian Journal of Natural Sciences*, 7(40), 254 - 260.
3. Đỗ Tất Lợi (2014). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học, 409 - 410.
4. Nguyễn Văn Lợi (2022). Xác định một số điều kiện công nghệ thích hợp để nâng cao hiệu

suất thu hồi dịch của quả nhàu. *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Sư phạm Hà Nội*, 67(1), 54 - 62.

5. Nguyễn Văn Lợi, Lê Anh Tuấn (2023). Nghiên cứu xây dựng quy trình chế biến cao từ quả nhàu tỉnh Đắk Nông. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 2(1), 101 - 109.

6. Nguyễn Văn Lợi, Lê Anh Tuấn (2023). Nghiên cứu xây dựng quy trình chế biến thạch từ quả nhàu. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 7, 35 - 45.

7. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8008:2009. Rượu chưng cất - Xác định độ cồn, 1 - 5.

8. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8010:2009. Rượu chưng cất - Xác định hàm lượng metanol, 1 - 5.

9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8012:2009. Rượu - Xác định độ axit, 1 - 6.

10. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 9519-1:2012. Thực phẩm - Xác định sulfit - Phần 1: Phương pháp Monier-Williams đã được tối ưu hoá, 1 - 5.

11. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4594:1988. Đồ hộp - Phương pháp xác định đường tổng số, đường khử và tinh bột, 1 - 4.

12. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4884:2001. Vi sinh vật học - Hướng dẫn chung về định lượng vi sinh vật - Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30°C, 1 - 6.

13. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 3215:1979. Sản phẩm thực phẩm - Phân tích cảm quan - Phương pháp cho điểm, 1 - 10.

14. Min G, Bingyong M, Faizan A. S, Yujie H, Shumao C, Meihua Y, Qi'en H, Yuan K. L, Jianxin Z (2020). Effects of noni fruit and fermented noni juice against acute alcohol induced liver injury in mice. *Journal of Functional Foods*, 70, 1 - 9.

**STUDY ON THE PROCESS DEVELOPMENTAL FOR WINE PROCESSING
FROM NONI FRUIT JUICE**

Le Anh Tuan¹, Nguyen Van Loi¹

¹University of Sciences, Vietnam National University, Hanoi

Summary

Noni wine is a type of wine fermented from noni fruit juice and has low alcohol content. Noni fruit is rich in nutritional value such as sugar, vitamins, minerals and fiber, especially containing many amino acids, carotene, vitamin C and biologically active compounds. Noni fruit has many effects such as preventing high blood pressure, enhancing physiology, preventing memory loss, preventing back pain, preventing arthritis, treating bone and joint pain and being a laxative. The aim of this study is to develop a process for making wine from noni fruit juice. The result is diluted according to the ratio of 50 ml noni liquid, 200 ml filtered water, mix with 10 g white sugar and 2 g yeast. Besides, the technological parameters were determined and the process for processing fermented noni juice was built with the technological parameters being fermentation temperature of 31°C and fermentation time of 72 hours. Products processed according to this formula and process have 15.1 mg/100 ml ethanol content, 1.98 g/L volatile acidity, 2.55 g/100 ml total sugar; the presence of methanol was not detected, SO₂ content and total aerobic microorganisms were not detected. The product has a characteristic yellow color, a harmonious characteristic aroma of wine, a slightly spicy taste, mixed with a light and mellow sweetness, a transparent state, no sediment, with many fine, uniform and durable foam.

Keywords: *Biochemical index, sensory index, noni fruit juice, wine, processing process.*

Ngày nhận bài: 15/3/2024

Ngày chuyển phản biện: 22/3/2024

Ngày thông qua phản biện: 12/4/2024

Ngày duyệt đăng: 20/5/2024

NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ TẠO VÁN GỖ GHÉP MẶT CẮT NGANG TỪ GỖ TẾCH SỬ DỤNG TRONG SẢN XUẤT ĐỒ GỖ VÀ TRANG TRÍ NỘI THẤT

Tạ Thị Phương Hoa¹, Vũ Huy Đại^{1*}, Nguyễn Thị Loan¹,

Tống Thị Phương¹, Phạm Văn Thanh²

¹ Trường Đại học Lâm nghiệp

² Trường Cao đẳng cơ điện và Xây dựng Bắc Ninh

* Email: huydai2003@yahoo.com

TÓM TẮT

Ván gỗ ghép mặt cắt ngang có bề mặt rộng của ván là mặt cắt ngang của gỗ, bề mặt rộng của ván vuông góc với chiều dọc thớ gỗ. Xu thế hiện nay trong sản xuất đồ gỗ và trang trí nội thất là phát triển những sản phẩm gỗ mới có vẻ đẹp thẩm mỹ thể hiện chất tự nhiên của gỗ. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu về công nghệ tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang sử dụng sản xuất đồ gỗ, trong đó đưa ra kết quả nghiên cứu đề xuất quy trình công nghệ tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang từ gỗ Tếch sử dụng trong sản xuất đồ gỗ và trang trí nội thất; chất lượng ván gỗ ghép mặt cắt ngang được xác định bằng các tính chất cơ lý theo các tiêu chuẩn hiện hành và đáp ứng được yêu cầu sử dụng. Kết quả xác định: Khối lượng riêng 0,696 g/cm³; độ trương nở thể tích 4,15%; độ bền trượt màng keo là 7,91 MPa; tỷ lệ tách mạch keo là 4,13%; độ bền uốn tĩnh 12,7 MPa; mô đun đàn hồi uốn tĩnh 3.125,8 MPa; độ cứng tĩnh 7.716,7 N. Ván gỗ ghép mặt cắt ngang có tính thẩm mỹ cao, rất phù hợp làm nguyên liệu sản xuất đồ gỗ và trang trí nội thất.

Từ khóa: Ván gỗ ghép mặt cắt ngang, trang trí nội thất, gỗ Tếch.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, các sản phẩm đồ gỗ đều được sản xuất theo công nghệ truyền thống là sử dụng nguyên liệu gỗ được xẻ theo chiều dọc thớ gỗ, qua các quá trình gia công chế biến tạo nên sản phẩm gỗ có vân thớ mặt cắt dọc của gỗ (mặt cắt xuyên tâm, mặt cắt tiếp tuyến). Ván gỗ ghép có chiều dọc thớ vuông góc với mặt phẳng gia công, đây là sự khác biệt với các tấm ván gỗ thông thường. Đặc điểm về tính chất ván gỗ ghép mặt cắt ngang có nhiều ưu điểm so với gỗ ghép thông thường. Công nghệ sản xuất ván gỗ ghép mặt cắt ngang khác với ván gỗ ghép thông thường ở chỗ, sau khi tạo ván gỗ ghép thông thường sẽ tiến hành cắt ngang ván gỗ ghép sau đó tiến hành ghép các thanh gỗ lại sao cho mặt cắt ngang của các thanh gỗ được hướng tới bề mặt phía trên. Ở nhiều nước trên thế giới đã sử dụng ván gỗ ghép mặt cắt ngang làm thớt gỗ có kích thước hình chữ nhật: (30 - 50) x (20 - 35) x (4 - 5) cm (dài x rộng x dày), hoặc hình tròn 50 x 5 cm (đường kính x chiều dày). Ván gỗ

ghép mặt cắt ngang có thể sử dụng làm mặt bàn, mặt bậc cầu thang có tính thẩm mỹ và khả năng chịu lực cao (độ cứng, độ bền nén, độ cứng va đập...). Trong những năm gần đây, nhiều nước trên thế giới ở châu Âu, Mỹ, Nhật bản đã thương mại hóa các sản phẩm gỗ mới dùng trong xây dựng và nội thất: Ván sản gỗ mặt cắt ngang nâng cao tính chất cơ lý của sản phẩm thông qua việc thay đổi kết cấu và chất lượng sản phẩm khi sử dụng thông qua việc lợi dụng các đặc tính tự nhiên của gỗ, lợi dụng các ưu điểm của mặt cắt ngang của gỗ [1]. Sản phẩm ván gỗ mặt cắt ngang có tính thẩm mỹ cao, độ bền, tiêu âm và cách nhiệt, dễ thi công, lắp đặt và bảo trì đồng thời sử dụng hiệu quả nguyên liệu gỗ [2]. Gurit® balsaflex™ (2013) [3], đã phát triển, thương mại các sản phẩm ván mặt cắt ngang dùng làm mặt bàn bếp sử dụng các loại gỗ Sồi, gỗ Thích, gỗ Anh đào. Kích thước sản phẩm dạng mô đun, chiều dài x chiều rộng x chiều dày là 1.200 x 600 x (40 - 60) mm [4]. Do vậy, việc nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ tạo ván

gỗ ghép mặt cắt ngang làm cơ sở cho việc nghiên cứu ứng dụng và phát triển ở nước ta có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Gỗ Tếch được khai thác ở Sơn La, đường kính $D \geq 14$ cm.

- Sử dụng Keo EPI 1922/1999 (*Emulsion Polymeric Isocyanate*) làm chất kết dính. Keo EPI

không phát thải formadehyde, thân thiện với môi trường và người sử dụng. Đây là loại keo 2 thành phần dễ sử dụng, có thời gian bảo quản dài trong điều kiện thường, được sử dụng nhiều trong sản xuất đồ gỗ (ghép ngang, ghép mộng, sản xuất gỗ ghép khối). Thông số kỹ thuật của keo EPI và chất đóng rắn được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Thông số kỹ thuật keo EPI 1922/1999

Chỉ tiêu kỹ thuật	Chất kết dính EPI 1922	Chất đóng rắn 1999
Trạng thái	Lỏng	Lỏng
Màu sắc	Trắng sữa	Nâu trong suốt
Độ nhớt (ở nhiệt độ 25°C)	8.000 – 15.000 mPas	150 - 450 mPas
Tỷ lệ trộn	100 phần khối lượng	10 - 15 phần khối lượng
Điều kiện bảo quản	Nhiệt độ: 5 – 35°C	Nhiệt độ: 5 - 35°C

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Trên cơ sở kết quả nghiên cứu các nội dung liên quan đến tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang từ gỗ ghép dạng tấm, quy trình công nghệ, các bước thực hiện và thông số công nghệ được đề xuất lựa chọn. Tiến hành khảo nghiệm quy trình công nghệ thông qua thực nghiệm tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang theo quy trình đề xuất và xác định tính chất ván gỗ mặt cắt ngang.

2.2.1. Khảo nghiệm quy trình công nghệ - Thực nghiệm tạo ván gỗ mặt cắt ngang

Ván gỗ ghép mặt cắt ngang có kích thước (dài x rộng x dày): 1.200 x 600 x 40 mm.

Ván gỗ ghép mặt cắt ngang được tạo từ các phiêu gỗ Tếch với kích thước thanh cơ sở (dài x rộng x dày): (400 - 600) x 53 x 35 mm.

Thực nghiệm được tiến hành 3 lần lặp.

Các bước thực nghiệm tạo ván gỗ mặt cắt ngang:

- *Tạo thanh cơ sở*

+ Xẻ gỗ: Áp dụng phương pháp xẻ suốt tạo các thanh gỗ có kích thước theo yêu cầu của sản phẩm. Chiều dày ván xẻ sau khi gia công tinh sẽ là kích thước bề rộng của các chi tiết gỗ mặt cắt

Nguồn: Nhà cung cấp chất kết dính

ngang. Kích thước tinh của thanh cơ sở: 53 x 35 mm, kích thước thô của thanh cơ sở là 58,5 x 40 mm.

+ Sấy thanh: Sấy gỗ trong lò sấy đến độ ẩm $10 \pm 2\%$;

+ Gia công thanh: Các thanh gỗ được cắt lựa (loại bỏ khuyết tật như mắt gỗ) và bào nhẵn trên máy bào 4 mặt với tốc độ cuốn phiêu 10 - 15 m/phút.

- *Tạo gỗ ghép dạng tấm:*

+ Tráng keo: Sử dụng keo EPI với lượng keo tráng là 200 g/m²;

+ Xếp thanh;

+ Ghép ngang có thể thực hiện trên máy ghép ngang cao tần trong thời gian 2,5 phút, với áp suất ép biên 1,2 MPa và áp suất ép mặt 0,8 Mpa; đối với ghép bằng vạm vít, thời gian ép trong 60 phút.

+ Lưu giữ ổn định sau khi ghép ít nhất 24 giờ.

+ Đánh nhẵn gỗ ghép dạng tấm trên máy nhám thùng.

- *Cắt ngang tấm gỗ ghép tạo thanh ghép.*

- *Tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang.*

+ Tráng keo các thanh ghép: Tiến hành xoay 90° để tạo các thanh gỗ hướng bề mặt cắt ngang ở

phía trên. Tráng keo các thanh ghép với lượng keo tráng là 200 g/m².

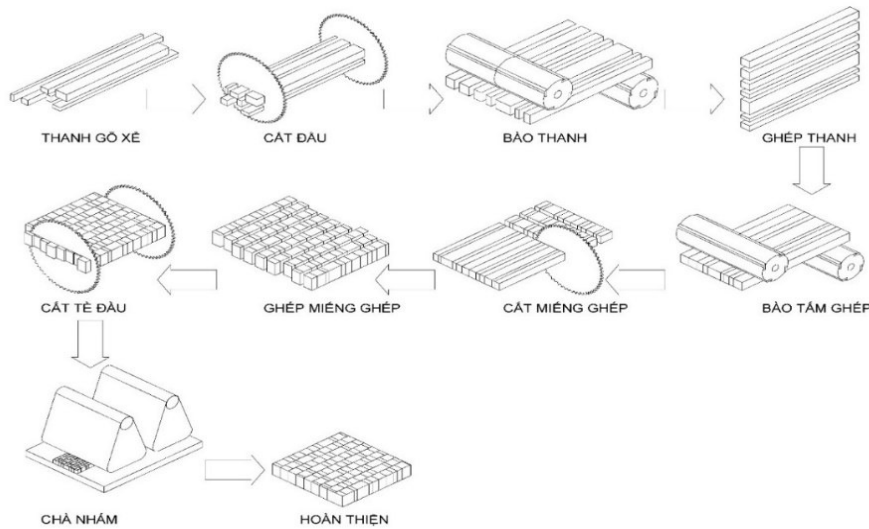
+ Xếp thanh: Các thanh gỗ ghép mặt cắt ngang được tráng keo ở mặt cạnh, sau đó tiến hành xếp các thanh, sao cho các mạch ghép không trùng nhau ở các thanh liền kề.

+ Ghép ngang các thanh ghép có thể thực hiện trên máy ghép ngang cao tần hoặc máy ghép nguội chuyên dụng: Ghép trên máy ghép cao tần trong thời gian 2,5 phút với áp suất ép biên 1,2 MPa và áp suất ép mặt 1,0 MPa; ghép bằng văm vít trong 60 phút.

+ Lưu giữ ổn định ván gỗ ghép mặt cắt ngang sau khi ghép ít nhất 24 giờ.

+ Xử lý bề mặt và hoàn thiện ván gỗ mặt cắt ngang: Đánh nhẵn bề mặt ván gỗ ghép mặt cắt ngang trên máy nhám thùng với tốc độ đẩy ván gỗ mặt cắt ngang phù hợp đảm bảo độ nhẵn bề mặt đạt yêu cầu và chất lượng dán dính giữa các chi tiết gỗ ghép 10 - 15 m/phút.

Công nghệ sản xuất ván gỗ ghép mặt cắt ngang dựa trên công nghệ gia công gỗ, sản xuất gỗ ghép. Tuy nhiên, phiêu gỗ ở đây hướng mặt cắt ngang lên phía trên. Đây là điểm khác biệt so với công nghệ sản xuất thông thường. Mô phỏng sơ đồ tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang được đưa ra ở hình 1 [1].



Hình 1. Mô phỏng sơ đồ tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang

2.2.2. Xác định tính chất ván gỗ ghép mặt cắt ngang

Sau khi lưu giữ ổn định trong ít nhất 48 giờ, tiến hành xác định các tính chất của ván gỗ ghép mặt cắt ngang.

2.2.2.1. Phương pháp xác định khối lượng riêng, độ dẫn nở, độ hút nước

Khối lượng riêng được xác định theo TCVN 8048-2:2009 [5].

Độ dẫn nở được xác định theo TCVN 8048-16:2009 [5], GOST 9621-87 [6].

Mẫu thử: Xác định khối lượng riêng, độ dẫn nở theo chiều ngang, thể tích, độ hút nước sau 24 giờ ngâm nước trên cùng các mẫu.

- Kích thước mẫu thử: Dài x rộng x dày: 100 x 100 x 40 mm (t40 mm- chiều dày ván gỗ ghép mặt cắt ngang).

- Số lượng: 27 mẫu/lần lặp x 3 lần lặp.

Thiết bị: Thước kẹp điện tử, độ chính xác 0,01 mm; cân điện tử, độ chính xác 0,01 g; tủ sấy thí nghiệm, có thể điều chỉnh nhiệt độ từ 0 - 300°C.

Các bước tiến hành:

- Đánh dấu vị trí đo kích thước 3 chiều của mẫu thử;

- Đo kích thước 3 chiều tại các vị trí đánh dấu: Dài, rộng, dày, chính xác đến 0,01 mm;

- Cân khối lượng mẫu thử, chính xác đến 0,01 g;

- Ngâm các mẫu gỗ trong nước trong 24 giờ;

- Lấy mẫu ra, để ráo và cân khối lượng mẫu, đo các kích thước mẫu thử 3 chiều dài, rộng, dày ở các vị trí đã đánh dấu, chính xác đến 0,01 mm;

Khối lượng riêng của mỗi mẫu thử ở độ ẩm W tại thời điểm thử, ρ_w , tính bằng g/cm³, theo công thức:

$$\rho_w = \frac{m_w}{a_w \times b_w \times l_w} = \frac{m_w}{V_w}$$

Trong đó: m_w là khối lượng của mẫu thử ở độ ẩm W (g); a_w , b_w và l_w là các kích thước của mẫu thử ở độ ẩm W (mm); V_w là thể tích của mẫu thử ở độ ẩm W (mm³).

$$Y = \frac{100 \times (KT_{s.ng} - KT_{t.ng})}{KT_{t.ng}}$$

Trong đó: $KT_{t.ng}$ là kích thước (hoặc thể tích) mẫu thử trước khi ngâm nước (ở độ ẩm lúc thí nghiệm) mm (hoặc mm³); $KT_{s.ng}$ là kích thước hoặc thể tích mẫu thử sau ngâm nước 24 giờ, mm (hoặc mm³).

Độ hút nước sau 24 giờ ngâm nước được tính theo công thức:

$$Y = \frac{100 \times (KL_{s.ng} - KL_{t.ng})}{KL_{t.ng}}$$

Trong đó: $KL_{t.ng}$ là khối lượng mẫu thử trước khi ngâm nước (g); $KL_{s.ng}$ là khối lượng mẫu thử trước khi ngâm nước (g).

2.2.2.2. Phương pháp xác định độ bền trượt màng keo

Theo GOST 33120-2014 [7] xác định độ bền kéo trượt màng keo.

Mẫu thử được cắt từ ván gỗ mặt cắt ngang, sao cho bề mặt thử trượt màng keo là bề mặt dán dính giữa 2 chi tiết gỗ.

Kích thước mẫu 40 x 40 x t mm.

Trong đó: t là kích thước chiều dọc thớ của mẫu thử, bằng chiều dày ván gỗ mặt cắt ngang.

Kích thước tiết diện thử trượt màng keo: Dài x rộng = 30 x 40 mm.

Hình dạng, kích thước mẫu được thể hiện ở hình 2.

Số lượng mẫu: 30 mẫu/lần lặp x 3 lần lặp.

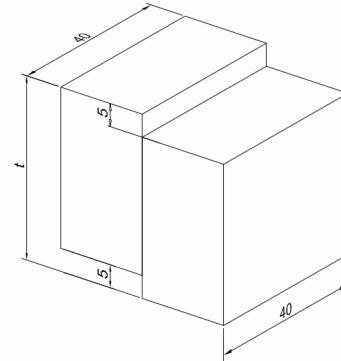
Thiết bị: Thước kẹp điện tử, độ chính xác 0,01 mm; cân điện tử, độ chính xác 0,01 g; máy thử tính

chất cơ học của vật liệu; tủ sấy thí nghiệm, có thể điều chỉnh nhiệt độ từ 0 - 300°C.

Công thức xác định:

$$\tau_k = \frac{P}{S}$$

Trong đó: τ_k là độ bền kéo trượt màng keo (Mpa); P là lực phá hủy mẫu (N); S là diện tích bề mặt kéo trượt.



Hình 2. Hình dạng mẫu thử độ bền kéo trượt màng keo giữa các thanh

2.2.2.3. Tỷ lệ % tách mạch keo

Tỷ lệ % tách mạch keo các thanh được xác định theo TCVN 8577:2010 [8].

Kích thước mẫu (dài x rộng x dày): 150 x 150 x t mm = 150 x 150 x 40 mm (t = 40 mm - là chiều dày mẫu, cũng là chiều dày ván).

Thử nghiệm phương pháp A: Các mẫu thử được ngâm nước 1 giờ và sấy ở 60 - 70°C cho đến khi mẫu thử đạt khối lượng bằng 100 - 110% khối lượng mẫu thử trước khi ngâm nước. Trong vòng tối đa 1 giờ sau khi kết thúc chu kỳ sấy, phải tiến hành đo chiều dài của mạch keo hở trên các bề mặt đầu thớ gỗ của các mẫu thử. Chỉ xác định chiều dài vết tách mạch keo, không tính các vết nứt thuộc phần gỗ. Bỏ qua các mạch keo hở tại các mắt gỗ và sự phá hủy trong gỗ do các vết nứt hướng tâm hoặc các nguyên nhân khác không được tính là tách, vết tách cục bộ ngắn hơn 3 mm và cách vị trí tách gần nhất lớn hơn 5 mm cũng được bỏ qua. Nếu vết tách nằm trong gỗ, kể cả khi vết đó gắn sát với mạch keo thì vết đó vẫn được coi là sự phá hủy trong gỗ hoặc do nứt hướng tâm.

Tỷ lệ % tách mạch keo các thanh ghép được xác định theo công thức:

$$TL_{tách} = 100\% \times \frac{l_{tách\ mk}}{l_{tất\ cả\ mk}}$$

Trong đó: $TL_{tách}$ là tỷ lệ % tách mạch keo trên mặt cắt ngang của mẫu (%); $l_{tách\ mk}$ là tổng chiều dài các vết tách mạch keo trên mặt cắt ngang của mẫu (mm); $l_{tất\ cả\ mk}$ là tổng chiều dài tất cả các mạch keo trên mặt cắt ngang của mẫu (mm).

2.2.2.4. Phương pháp xác định độ bền uốn tĩnh và mô đun đàn hồi uốn tĩnh

Xác định độ bền uốn tĩnh và mô đun đàn hồi uốn tĩnh của ván gỗ mặt cắt ngang được xác định theo TCVN 8574:2010 [9].

Mẫu thử được cắt từ các tấm ván gỗ mặt cắt ngang.

+ Kích thước mẫu: Dài x rộng x dày = $(18t + 50) \times 100 \times t$ mm

Trong đó: t là chiều cao mẫu thử (Bằng chiều dày ván gỗ mặt cắt ngang).

+ Số lượng mẫu thử: 27 mẫu/lần lặp x 3 lần lặp.

- Vị trí đặt lực 1 điểm tại vị trí giữa khoảng cách 2 gối đỡ.

Độ bền uốn tĩnh được tính theo công thức:

$$MOR = \frac{3 \cdot P \cdot L_g}{2 \cdot t^2 \cdot b}$$

Trong đó: MOR là độ bền uốn tĩnh (Mpa); P là lực phá hủy mẫu (N); L_g là khoảng cách giữa 2 gối đỡ (mm), lấy bằng $(18t)$; t là chiều cao (chiều dày) mẫu thử (mm); B là chiều rộng mẫu thử (mm).

Sau khi mẫu bị phá hủy, cắt mẫu xác định độ ẩm về 2 phía của vị trí bị phá hủy. Xác định độ ẩm mẫu tại thời điểm thử nghiệm bằng phương pháp cân sấy.

Thiết bị, dụng cụ: Cân điện tử có độ chính xác 0,01 g, tủ sấy thí nghiệm.

Mẫu thử độ ẩm được cắt từ các mẫu thử độ bền uốn tĩnh.

Mẫu được cân khối lượng (m) trước khi cho vào sấy tới khô kiệt, sau đó cân mẫu xác định khối lượng (m_0).

Công thức xác định độ ẩm:

$$MC = \frac{m - m_0}{m} \times 100$$

Trong đó: MC là độ ẩm (%); m là khối lượng mẫu trước khi sấy (g); m_0 là khối lượng mẫu khô kiệt (g).

2.2.2.5. Xác định độ cứng tĩnh

Độ cứng tĩnh được xác định theo TCVN 8048-12:2009 [5].

Kích thước mẫu (Dài x Rộng x Dày): $50 \times 50 \times t$ mm = $50 \times 50 \times 40$ mm.

(Chiều dày mẫu lấy bằng chiều dày ván gỗ mặt cắt ngang).

Sử dụng máy thử cơ lý và mũi ấn có đầu hình bán cầu với bán kính $(5,64 \pm 0,01)$ mm. Tác động tải trọng với tốc độ không đổi từ 3 - 6 mm/phút cho đến khi đạt chiều sâu vết lõm 5,64 mm, xác định trị số của tải trọng (tính bằng N).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Quy trình công nghệ sản xuất ván gỗ ghép mặt cắt ngang từ gỗ Tếch

Trong công nghệ sản xuất ván gỗ mặt cắt ngang, các thanh gỗ ghép mặt cắt ngang được ghép theo công nghệ sản xuất ván ghép thanh thông thường, sự khác biệt là phôi ghép có bề mặt cắt ngang hướng lên trên và trùng với bề mặt rộng của ván. Ở đây không cần khâu phay ngón ghép hoặc ghép dọc để tạo thanh ghép dài như ván ghép thanh thông thường. Phôi gỗ ghép mặt cắt ngang có chiều dài nhỏ nên không cần qua công đoạn phay ngón, ghép dọc, việc này làm tăng đáng kể tỷ lệ lợi dụng nguyên liệu gỗ do không bị mất một lượng gỗ ở phần ghép ngón.

- Tạo thanh gỗ ghép

+ *Chuẩn bị nguyên liệu:* Gỗ không bị mục, mọt, nếu có khuyết tật này cần phải loại bỏ. Sử dụng chất kết dính EPI 1922/1999 (Yêu cầu chất kết dính như bảng 1).

Xẻ gỗ tròn tạo thanh gỗ ghép: Áp dụng phương pháp xẻ suốt tạo các thanh gỗ xẻ có kích thước theo yêu cầu của sản phẩm. Chiều dày ván xẻ sau khi gia công tĩnh sẽ là kích thước bề rộng của các chi tiết gỗ mặt cắt ngang.

+ *Yêu cầu kỹ thuật đối với thanh ghép:* Các thanh ghép phải sấy đến độ ẩm $10 \pm 2\%$; vết nứt trên thanh ghép nhỏ hơn (hoặc bằng) 20 mm,

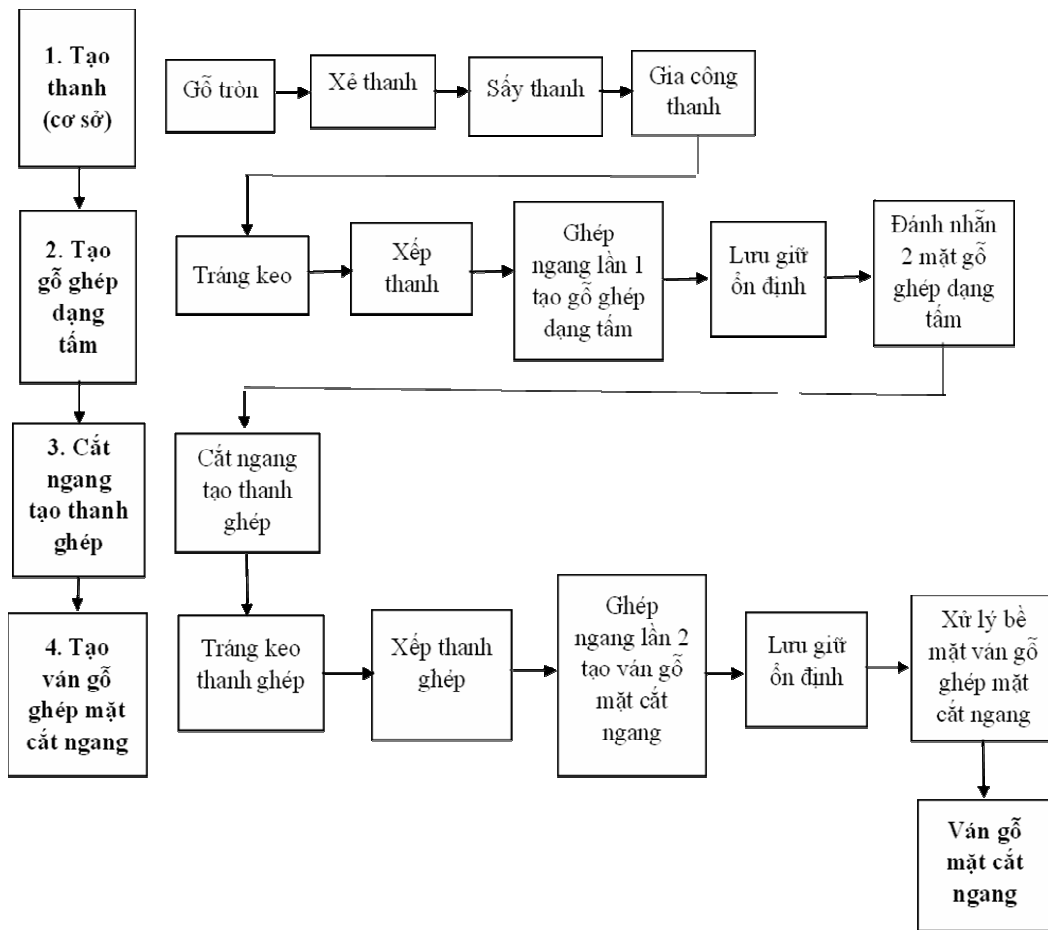
không cho phép mục, mọt; nếu thanh ghép có đường kính mắt lớn hơn 10 mm thì phải cắt bỏ hoặc đắp, vá để tạo điều kiện liên kết tốt cho lớp mặt. Độ lẹm cạnh nhỏ hơn 1%, độ cong các chiều nhỏ hơn (hoặc bằng) 1%; độ nhẵn bề mặt thanh ghép lớn hơn (hoặc bằng) $\nabla 8$; chiều dày phôi chênh lệch nhau ≤ 2 mm, chiều dài của phôi ghép ≥ 200 mm.

Từ các yêu cầu trên, phải tiến hành xử lý, lựa chọn các thanh ghép đạt các yêu cầu kỹ thuật sản xuất ván ghép thanh.

Gia công phôi: Phôi gỗ sau quá trình sấy đảm bảo độ ẩm được phân loại, cắt loại các khuyết tật mắt chết, cắt khử cong... Sau khi loại trừ các

khuyết tật phôi sẽ được gia công lần lượt trên các máy bào 2 mặt để chuẩn hóa kích thước và hình dạng.

Cắt tinh: Căn cứ vào chiều dày sản phẩm gỗ ghép mặt cắt ngang, các phôi sẽ được cắt chuẩn về kích thước và loại bỏ hoàn toàn các khuyết tật như nứt đầu, lẹm đầu sau quá trình gia công trên máy phay. Phôi được cắt trên máy cắt 2 đầu chuyên dụng hoặc trên máy cưa bàn trượt có cữ cắt chiều dài. Để tạo ra các thanh ghép thỏa mãn yêu cầu trên, các thanh ghép được gia công qua máy bào 4 mặt. Yêu cầu chất lượng bề mặt thanh ghép sau khi qua máy bào phải đạt cấp độ nhẵn $\nabla 8$.



Hình 3. Sơ đồ công nghệ tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang

- Tạo gỗ ghép dạng tấm

+ *Tráng keo*: Vị trí tráng keo phải sạch sẽ, không bụi bặm, keo phải được trải đều trên toàn bộ bề mặt của mỗi ghép. Lượng keo trải trên bề mặt mỗi ghép 200 g/m². Tráng keo xong trong vòng 2 - 5 phút là phải đưa ghép ngay vì để lâu bề

mặt keo đã trải bị khô se làm cho mối ghép kém chất lượng. Khi tráng keo để đảm bảo đúng thứ tự ván đã xếp ướm, đánh dấu, tiến hành lật thanh ghép từ phải qua trái để khi xếp ván ghép lật xuống theo hướng ngược lại thì đúng thứ tự, đánh dấu mặt phải của tấm ván.

+ Ghép ngang tạo gỗ ghép dạng tấm: Có thể thực hiện trên máy ghép ngang cao tần hoặc văm vít.

Thông số chế độ ghép ngang bằng phương pháp văm vít như sau: Loại keo EPI; lượng keo tráng là 250 g/m²; thời gian văm vít là 60 phút.

Thông số công nghệ ghép ngang trên máy ghép ngang cao tần như sau: Loại keo EPI; lượng keo tráng là 250 g/m²; áp suất ép biên: 1,2 MPa; áp suất ép mặt là 0,8 MPa; thời gian ghép ngang trên máy ghép cao tần là 2,5 phút.

+ Gia công bề mặt gỗ ghép dạng tấm: Sau khi ghép ngang, gỗ ghép dạng tấm được lưu giữ ít nhất 24 giờ, sau đó tiến hành đánh nhẵn trên máy nhám thùng.

- Cắt ngang tạo thanh ghép: Để tạo thanh gỗ ghép mặt cắt ngang, tiến hành cắt ngang ván gỗ ghép tạo các thanh gỗ, sau đó tiến hành xoay 90° để tạo các thanh gỗ hướng bề mặt cắt ngang ở phía trên.

- Tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang

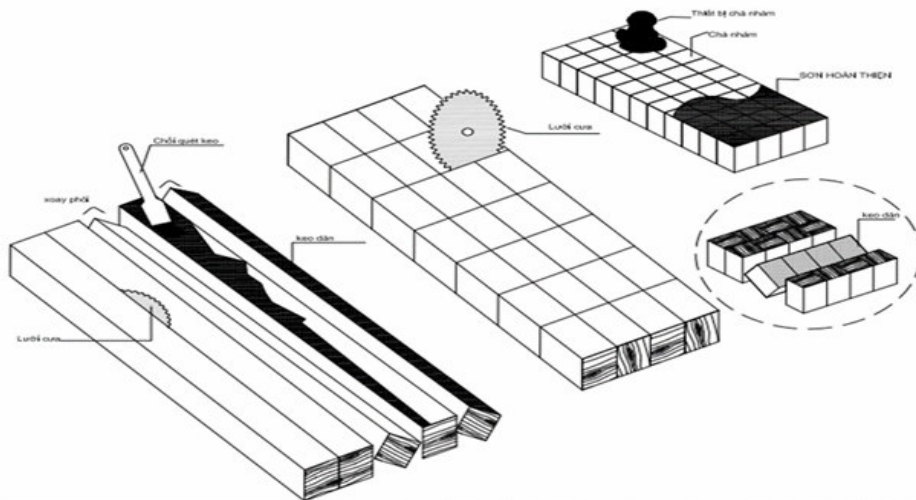
+ Tráng keo các thanh ghép: tiến hành xoay 90° để tạo các thanh gỗ hướng bề mặt cắt ngang lên phía trên. Tráng keo các thanh ghép với lượng keo tráng là 200 g/m²;

+ Xếp thanh: Các thanh gỗ ghép mặt cắt ngang được tráng keo ở mặt cạnh, sau đó tiến hành xếp các thanh, sao cho các mạch ghép không trùng nhau ở các thanh liền kề.

+ Ghép ngang các thanh ghép có thể thực hiện bằng văm vít hoặc trên máy ghép cao tần hoặc máy ghép nguội chuyên dụng.

Thông số chế độ ghép ngang bằng phương pháp văm vít như sau: Loại keo EPI; lượng keo tráng là 200 g/m²; thời gian văm vít là 60 phút.

Thông số công nghệ ghép ngang trên máy ghép ngang cao tần như sau: Loại keo EPI; lượng keo tráng là 200 g/m²; áp suất ép biên là 1,2 MPa; áp suất ép mặt là 1,0 MPa thời gian ghép ngang trên máy ghép cao tần là 2,5 phút.



Hình 4. Sơ đồ tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang



Hình 5. Sản phẩm ván gỗ ghép mặt cắt ngang từ gỗ Tẻch

- Lưu giữ ổn định ván gỗ mặt cắt ngang sau khi ghép ít nhất 24 giờ

- Xử lý bề mặt và hoàn thiện ván gỗ mặt cắt ngang: Đánh nhẵn bề mặt ván gỗ ghép mặt cắt ngang trên máy nhám thùng với tốc độ đầy 10 - 15 m/phút.

Ván sau khi ghép được cắt theo kích thước tùy vào mục đích sử dụng: mặt bàn; mặt bậc cầu thang hoặc mặt bàn bếp.

Có thể xử lý sơ bộ bề mặt bằng dầu thực vật để bảo vệ ván gỗ mặt cắt ngang dưới tác động của các yếu tố môi trường.

3.2. Kết quả xác định tính chất ván gỗ ghép mặt cắt ngang

Kết quả xác định tính chất cơ lý của ván gỗ ghép mặt cắt ngang được xác định theo các tiêu chuẩn được trình bày ở mục 2.2. Kết quả được xử lý thống kê và tổng hợp ở bảng 3.

Bảng 3. Tính chất ván gỗ ghép mặt cắt ngang từ gỗ Téch

TT	Tính chất ván gỗ ghép mặt cắt ngang	Đơn vị	Trị số
1	Khối lượng riêng	g/cm ³	0,696 (± 0,050)
2	Độ trương nở thể tích	%	4,15 (± 0,55)
3	Độ bền uốn tĩnh	MPa	12,7 (± 1,6)
4	Mô đun đàn hồi uốn tĩnh	MPa	3.125,8 (± 353,7)
5	Độ cứng tĩnh	N	7.716,7 (± 208,2)
6	Độ bền trượt màng keo	MPa	7,91 (± 0,95)
7	Tỷ lệ % tách mạch keo các thanh ghép	%	4,13 (± 0,61)
8	Độ ẩm	%	11,28 (± 1,16)

Ghi chú: Kết quả ở bảng là trị số trung bình cộng của 3 lần lặp khi khảo nghiệm quy trình công nghệ tạo ván gỗ mặt cắt ngang [1]

Sản phẩm ván gỗ ghép mặt cắt ngang từ gỗ Téch có khối lượng riêng 0,696 g/cm³, độ trương nở thể tích của ván gỗ mặt cắt ngang gỗ Téch bằng 4,15%, bằng trị số các đại lượng này của gỗ Téch (là nguyên liệu tạo nên ván). Độ bền kéo trượt màng keo 7,91 MPa, tỷ lệ % tách mạch keo các thanh ghép bằng 4,13%, đáp ứng yêu cầu chất lượng dán dính đối với ghép: Độ bền kéo trượt màng keo ≥ 4 MPa, tỷ lệ % tách mạch keo các thanh ghép ≤ 20%,

Độ cứng tĩnh bề mặt của ván gỗ mặt cắt ngang khá cao 7.716,7 N, cao hơn độ cứng tĩnh của ván ghép thông thường làm từ cùng loại gỗ, do bề mặt ván gỗ mặt cắt ngang là mặt cắt ngang của gỗ, còn ván ghép thông thường có bề mặt là mặt cắt dọc (mặt cắt xuyên tâm hoặc mặt cắt tiếp tuyến).

Độ bền uốn tĩnh bằng 12,7 MPa, tương đối thấp.

Kết quả xác định tính chất ván gỗ mặt cắt ngang 3 lần khảo nghiệm quy trình công nghệ cho thấy tính chất sản phẩm ván gỗ ghép ổn định.

Điều này cho phép khẳng định, quy trình công nghệ đã đề xuất phù hợp và đảm bảo tính chất ván gỗ ghép mặt cắt ngang.

Do gỗ Téch có vòng năm rõ nên ván gỗ mặt cắt ngang từ gỗ Téch có vòng năm rõ, vân thớ đẹp, sự đan xen các vòng năm gỗ ở mặt cắt ngang tạo nên sự đa dạng về tính trang trí tự nhiên và thân thiện môi trường.

Kết quả xác định tính chất ở bảng 3 cho thấy, ván gỗ ghép mặt cắt ngang có độ cứng cao, khả năng chịu lực theo hướng vuông góc bề mặt ván cao do đó là chiều dọc thớ gỗ. Vì thế ván gỗ ghép mặt cắt ngang rất phù hợp để sử dụng làm sản phẩm chịu lực như ván sàn, bậc cầu thang trong điều kiện tiếp xúc trực tiếp với sàn nhà. Ván gỗ ghép mặt cắt ngang có độ bền uốn tĩnh thấp nên cần chú ý khi sử dụng làm mặt bàn. Khi làm mặt bàn từ ván gỗ ghép mặt cắt ngang cần phải có các thanh, khung kim loại đỡ chịu lực ở phía dưới. Hình 6 là hình ảnh sản phẩm bàn nội thất với mặt bàn làm từ ván gỗ ghép mặt cắt ngang gỗ Téch.



Hình 6. Sản phẩm bàn gỗ mặt cắt ngang

4. KẾT LUẬN

Đề xuất quy trình công nghệ tạo ván gỗ ghép mặt cắt ngang từ gỗ Tếch làm nguyên liệu sử dụng trong đồ gỗ và trang trí nội thất.

Chất lượng ván gỗ ghép mặt cắt ngang được xác định bằng các tính chất cơ lý của ván gỗ ghép mặt cắt ngang theo các tiêu chuẩn hiện hành và đáp ứng được yêu cầu sử dụng. Kết quả đã xác định được khối lượng riêng $0,696 \text{ g/cm}^3$; độ trương nở thể tích 4,15%; độ bền trượt màng keo 7,91 MPa, tỷ lệ tách mạch keo là 4,13%; độ bền uốn tĩnh 12,7 MPa; mô đun đàn hồi uốn tĩnh 3.125,8 MPa; độ cứng tĩnh 7.716,7 N,

Ván gỗ ghép mặt cắt ngang có tính thẩm mỹ cao, rất phù hợp cho sản xuất đồ gỗ và trang trí nội thất, có thể dễ dàng thay đổi kích thước ván gỗ mặt cắt ngang phù hợp với mục đích sử dụng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là kết quả nghiên cứu thuộc đề tài nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ cấp Thành phố (Hà Nội) “Nghiên cứu công nghệ và thiết bị sản xuất ván gỗ mặt cắt ngang sử dụng trong xây dựng nội thất”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tạ Thị Phương Hoa và cộng sự (2023). Nghiên cứu công nghệ và thiết bị sản xuất ván gỗ mặt cắt ngang sử dụng trong xây dựng nội thất. Báo cáo kết quả các nội dung nghiên cứu, Đề tài cấp thành phố (Hà Nội) năm 2023.

2. Wood floors & Accessories (2018). End grain flooring, installation guidelines, wfa - maintenance guidelines. T 020 8501 6730, www.wfa.uk.net. Registered in England under Company No: 03746590 VAT No: 765 9995 45.

3. Gurit® balsaflexA (2013). delivering the future of composite solutions, www.gurit.com, truy cập ngày 31/12/2021.

4. Hacı Ismail Kesik, Mehmet Karamanoğlu (2020). End Grain Wooden Parquet Production, 1th international forestry & nature tourism congress “New approaches and Trends in Forestry”, Kastamonu Üniversitesi.

5. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8048-2:2009 (ISO 3131:1975) Gỗ - Phương pháp thử cơ lý - Phần 2: Xác định khối lượng thể tích cho các phép thử cơ lý.

6. GOST 9621-87 Laminated glued wood. Methods for determination of physical properties

7. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8577:2010 (ISO 12580:2007) Kết cấu gỗ - gỗ ghép thanh bằng keo - phương pháp thử tách mạch keo.

8. GOST 33120-2014, Glued timber structures. Methods for determining strength of glue joints.

9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8574:2010 (ISO 8375:2009) Kết cấu gỗ - Gỗ ghép thanh bằng keo - Phương pháp thử xác định các tính chất cơ lý.

**RESEARCHING ON TECHNOLOGY OF MANUFACTURING END GRAIN BOARD FROM
TEAK WOOD FOR FURNITURE AND INTERIOR DECORATION**

Ta Thi Phuong Hoa¹, Vu Huy Dai¹, Nguyen Thi Loan¹,

Tong Thi Phuong¹, Pham Van Thanh²

¹Vietnam National Forestry University

²Bac Ninh College of Electromechanics and Construction

Summary

End gain boards have the wide surface of the board being the cross-section of the wood, the wide surface of the board being perpendicular to the longitudinal grain of the wood. The current trend of interior decoration is to develop new wooden products with aesthetic beauty that show the natural origin of wood and are different from the traditional way of decorating and using wood and wooden materials. This article presents the results of research on technology for manufacturing end grain board used in furniture production, in which a technological process for creating end grain board from teak wood has been proposed. The quality of end grain board was determined by evaluating the physical and mechanical properties of materials. The results showed that density reached 0.696 g/cm³ while volumetric swelling gained 4.15%; the adhesive film shear strength is 7.91 Mpa; the rate of adhesive separation is 4.13%. The static bending strength was 12.7 MPa; followed by modulus of elasticity at 3,125.8 MPa. The stiffness of material was 7,716.7 N. The end grain board has a high aesthetics and is very suitable for furniture production and interior decoration

Keywords: *End grain board, decoration, Teak wood.*

Ngày nhận bài: 7/5/2024

Ngày chuyển phản biện: 23/5/2024

Ngày thông qua phản biện: 6/6/2024

Ngày duyệt đăng: 14/6/2024

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ ỨC CHẾ, DIỆT KHUẨN VÀ KHẢ NĂNG KÍCH THÍCH KHÁNG THUỐC CỦA CÁC LOẠI KHÁNG SINH VÀ CHẤT DIỆT KHUẨN THÔNG DỤNG LÊN VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus*

Lê Nguyễn Thiên Phúc¹, Nguyễn Minh Thành¹

¹ Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

* Email: lntphuc@hcmiu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu sử dụng 6 loại kháng sinh và 4 loại chất diệt khuẩn thông dụng nhằm đánh giá độ nhạy cảm và khả năng kháng thuốc của 2 chủng *Vibrio parahaemolyticus* phân lập từ ao nuôi tôm. Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm: Đường kính vòng vô khuẩn, nồng độ ức chế và diệt khuẩn tối thiểu và mô hình kích thích tạo chủng *V. parahaemolyticus* kháng kháng sinh và chất diệt khuẩn. Kết quả nghiên cứu có thể phân chia các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thành 4 nhóm: i) nhóm hiệu quả cao: Doxycycline, enrofloxacin, erythromycin, benzalkonium chloride (BKC); ii) nhóm hiệu quả trung bình: Iodine; iii) nhóm hiệu quả thấp: Ampicillin, chlorine, oxytetracycline, amoxicillin; iv) nhóm không hiệu quả: Cypermethrin. Kết quả của các nghiệm thức thí nghiệm khác biệt nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Kết quả kích thích tạo chủng *V. parahaemolyticus* kháng thuốc cho thấy 3 mô hình kháng thuốc riêng biệt. Nhóm ampicillin, amoxicillin, cypermethrin và chlorine có mô hình kháng tăng dần đều theo thời gian, kích thích khả năng tạo kháng nhanh và cao nên có tác dụng điều trị thấp và ngắn (5 - 10 ngày). Nhóm oxytetracycline, enrofloxacin và iodine duy trì hiệu quả với *V. parahaemolyticus* trong thời gian tương đối dài (14 - 28 ngày) trước khi dẫn đến tình trạng vi khuẩn kháng mạnh. Riêng nhóm doxycycline, erythromycin và BKC có hiệu quả diệt khuẩn rất cao và hiệu lực ổn định kéo dài. Nghiên cứu đã làm rõ hiệu quả diệt khuẩn của các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng và khả năng tạo ra các chủng kháng thuốc theo thời gian sử dụng. Kết quả nghiên cứu có thể định hướng sử dụng đúng các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn trong phòng ngừa và xử lý *V. parahaemolyticus* trong ao nuôi tôm.

Từ khóa: *Vibrio parahaemolyticus*, thuốc kháng sinh, chất diệt khuẩn, chủng kháng thuốc.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của Liên minh thủy sản toàn cầu, Ngành nuôi tôm ở Việt Nam đã đóng góp 15% tổng sản lượng của thế giới với 700 nghìn tấn năm 2019 [1]. Tuy nhiên, nuôi thâm canh mật độ cao dễ dẫn đến dịch bệnh, trong đó có bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND: Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease). Trong giai đoạn 2010 - 2016, tổng thiệt hại toàn cầu do AHPND được ước tính trên 44 tỷ USD, tỷ lệ chết sớm của tôm giai đoạn hậu ấu trùng có thể lên đến 100% chỉ trong 20 ngày sau khi thả giống [2]. *Vibrio parahaemolyticus* được xác định là nguồn gây bệnh khi phá hủy quá trình sinh năng lượng của tôm thông qua biến đổi các chu trình chuyển hoá amino axit, Krebs và quá

trình tạo đường, cũng như thay thế quá trình chuyển hoá chất béo và sản sinh các enzyme có trong gan [2].

Kháng sinh và thuốc diệt khuẩn đã và đang được sử dụng một cách rộng rãi để điều trị và phòng ngừa bệnh thủy sản, trong đó có AHPND, vì các chất này có hiệu quả trong thời gian ngắn nên giảm thiệt hại kinh tế và người nuôi có thể tiếp cận chúng một cách dễ dàng. Tuy nhiên, tình trạng lạm dụng kháng sinh và chất diệt khuẩn trong thời gian dài đã dẫn đến sự xuất hiện của các chủng vi khuẩn đa kháng thuốc làm giảm hoặc vô hiệu hoá thuốc, từ đó ảnh hưởng trực tiếp đến sức khoẻ con người và vật nuôi. Thống kê gần đây cho thấy, các kháng sinh thông dụng trong thủy sản

điển hình như nhóm β -lactam đều đã bị kháng mạnh, chỉ còn các kháng sinh thế hệ mới là duy trì được hiệu quả [3]. Nhằm giải quyết thiệt hại do AHPND gây ra, các nghiên cứu đánh giá hiệu quả các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng, đặc biệt là các loại được khuyến cáo dùng là rất cần thiết, nhất là trong việc đánh giá lại tác dụng thực tế của các loại thuốc và chất diệt khuẩn để khuyến cáo liều lượng sử dụng hữu hiệu.

Một số nghiên cứu gần đây về sử dụng kháng sinh trong phòng trị *Vibrio* spp. đã được công bố, điển hình như đánh giá công dụng một số kháng sinh trong nuôi tôm với tác nhân gây AHPND phân lập được từ đồng bằng sông Cửu Long [4] và khảo sát độ nhạy với kháng sinh của *Vibrio* spp. từ ao nuôi tôm chân trắng tại Indonesia [5]. Tuy nhiên, các công bố đều tập trung vào xác định độ nhạy cảm với thuốc của vi khuẩn hoặc đánh giá hiệu quả kháng sinh thông qua liều lượng ức chế và tiêu diệt. Hiện tại chưa có nghiên cứu toàn diện thực hiện theo hướng kích thích tạo ra các chủng kháng thuốc để khảo sát khả năng kháng của *V. parahaemolyticus* với từng loại thuốc khi sử dụng chúng trong thời gian dài. Ngoài ra, nghiên cứu hiệu quả các chất diệt khuẩn trong phòng trị *V. parahaemolyticus* cũng chưa được công bố. Mục tiêu của nghiên cứu này không chỉ đánh giá độ nhạy cảm của 2 chủng *V. parahaemolyticus* phân lập từ ao nuôi tôm và xác định liều lượng bị ức chế và tiêu diệt với 6 loại kháng sinh và 4 chất diệt khuẩn thông dụng, mà còn tiến hành khảo sát khả năng kháng thuốc của *V. parahaemolyticus* đối với từng loại thuốc khi được sử dụng trong thời gian dài.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Khu Thực nghiệm 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 (Sigma-Aldrich, UK) và thuốc diệt khuẩn (Himedia, Ấn Độ) dùng cho nghiên cứu này là hoá chất tinh khiết dạng thương mại. Môi

trường nuôi cấy và hoá chất (Sigma-Aldrich, UK) được chuẩn bị với nước khử ion và được khử khuẩn bằng phương pháp hấp vô trùng (121°C, 15 phút) hoặc màng lọc polypolyethersulphone kích cỡ 0,22 μ m của Millipore (Watford, UK).

*2.2.2. Vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus**

Hai chủng *V. parahaemolyticus* dùng cho nghiên cứu: i) 2187 (gây bệnh AHPND) và ii) 2161 (không gây bệnh) là các chủng phân lập có nguồn gốc từ các ao nuôi ở miền Bắc Việt Nam, kiểm tra AHPND bằng phương pháp PCR và được cung cấp bởi Khoa Khoa học và Công nghệ, Đại học Suan Sunandha Rajabhat (Thái Lan). Chủng thuần được định kỳ duy trì trên môi trường thạch tryptic soy agar (TSA) có bổ sung 1% NaCl. Dịch vi khuẩn dùng cho các thí nghiệm được chuẩn bị theo phương pháp nuôi tăng sinh các khuẩn lạc được chọn lọc trong môi trường lỏng Mueller Hinton (MH) broth bổ sung 1% NaCl (30°C, 150 rpm) đến khi đạt giai đoạn hậu pha cấp số bằng phương pháp đo quang phổ ở 600 nm và so sánh với đường chuẩn sinh trưởng. Tế bào vi khuẩn được thu bằng phương pháp ly tâm (2.000 g, 10 phút, 4°C), rửa sạch 2 lần với dung dịch phốt phát-buffered saline (PBS) và pha loãng đến nồng độ CFU/mL cần sử dụng. Nồng độ dịch khuẩn được xác định bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) và kiểm tra chéo bằng cách pha loãng theo dãy nồng độ, cấy trên môi trường MH (30°C, 48 giờ) và đếm khuẩn lạc [6].

2.3. Bố trí thí nghiệm và thu thập số liệu

*2.3.1. Khảo sát độ nhạy cảm của các chủng *V. parahaemolyticus* với các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng dựa trên chỉ tiêu đường kính vòng vô khuẩn*

Phương pháp khuếch tán thuốc qua đĩa giấy của Bauer và cs (1966) [7] được dùng để khảo sát độ nhạy cảm của các chủng *V. parahaemolyticus* với các loại thuốc thông qua đánh giá tiêu chí đường kính vòng vô khuẩn (ZDI: Zone diameter of inhibition) của 6 nghiệm thức kháng sinh (oxytetracycline, ampicillin, amoxicillin, enrofloxacin, erythromycin, doxycycline) và 4 nghiệm thức chất diệt khuẩn thông dụng (chlorine, iodine, benzalkonium chloride,

cypermethrin). Trong đó, enrofloxacin và cypermethrin được bố trí thí nghiệm cho mục đích nghiên cứu để so sánh với các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng. Kết quả nghiên cứu của 2 chất này không được khuyến cáo sử dụng vì chúng thuộc danh mục kháng sinh không được phép sử dụng trong nuôi trồng thủy sản. Dung dịch gốc của các loại thuốc được chuẩn bị ở nồng độ 100 ppm và được pha loãng đến nồng độ thí nghiệm. Ở mỗi nghiệm thức, các đĩa giấy Whatman vô trùng (cỡ số 3) được nhúng đều vào dung dịch thuốc tương ứng (10 µg thuốc/đĩa giấy) và để khô tự nhiên. Sau đó đĩa giấy đã nhúng thuốc được đặt lên đĩa thạch MHA đã trải sẵn vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (10^7 CFU.mL⁻¹) và được ủ ở 30°C trong 24 giờ. Tất cả nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

ZDI xuất hiện được đo theo đơn vị milimét với thước đo kỹ thuật Mitutoyo 527-121. Độ nhạy cảm theo ZDI (phân loại theo 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 erythromycin và doxycycline [8]; ii) bộ quy chuẩn m45 cho các thuốc còn lại [9].

2.3.2. Khảo sát độ nhạy cảm của các chủng V. parahaemolyticus với các loại thuốc thông dụng dựa vào chỉ tiêu nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu

2.3.2.1. Chỉ tiêu nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Phương pháp pha loãng theo quy trình chuẩn của CLSI [10] được sử dụng để xác định giá trị MIC. Cụ thể, 6 nghiệm thức kháng sinh (oxytetracycline, ampicillin, amoxicillin, enrofloxacin, erythromycin, doxycycline) và 4 nghiệm thức chất diệt khuẩn (chlorine, iodine, benzalkonium chloride – BKC, cypermethrin) được chuẩn bị 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. Vì vậy dung dịch sau có nồng độ gấp đôi dung dịch trước để mỗi loại thuốc đều có được dãy nồng độ cuối cùng là 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128; 256; 512; 1.024; 2.048; 4.096; 8.192; 16.384 ppm. Trong trường hợp kết quả MIC

của thuốc thu được ở mốc 2 ppm, một dãy nồng độ thấp hơn sẽ được bố trí riêng cho thuốc đó cũng với kỹ thuật pha loãng nối tiếp: 0,0039; 0,0078; 0,0156; 0,0312; 0,0625; 0,0125; 0,025; 0,5; 1; 2 ppm nhằm tăng tính chính xác của thử nghiệm. Tiếp đến, 5 µL dịch gốc vi khuẩn ban đầu với nồng độ 10^7 CFU.mL⁻¹ được cho vào tất cả các giếng khảo sát. Đĩa được bọc kín bằng parafilm và ủ ở 30°C trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, nồng độ thấp nhất ức chế *V. parahaemolyticus* tăng trưởng trong mỗi dãy nồng độ khảo sát được xác định là MIC. Tất cả các nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

Đối chứng dương và đối chứng âm được chuẩn bị tương ứng gồm các giếng có môi trường dinh dưỡng lỏng hoặc ethanol và cho vào cùng lượng vi khuẩn ban đầu để ủ. Giếng có môi trường dinh dưỡng lỏng nhưng không cho dịch vi khuẩn ban đầu cũng được chuẩn bị để kiểm soát tình trạng tạp nhiễm. Độ nhạy cảm theo MIC (phân loại theo 3 mức là kháng, trung bình và nhạy cảm) cũng được đánh giá theo chuẩn CLSI của Viện Tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ: i) bộ quy chuẩn m100 cho erythromycin và doxycycline [8]; ii) bộ quy chuẩn m45 cho các thuốc còn lại [9].

2.3.2.2. Chỉ tiêu nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC)

Phương pháp trải đĩa theo quy trình chuẩn của CLSI [11] được dùng để tiếp tục xác định giá trị MBC. Cụ thể, trong dãy nồng độ khảo sát ở mỗi nghiệm thức, 20 µL dịch từ tất cả các giếng không có dấu hiệu tăng trưởng sau 24 giờ ủ sẽ được trải lên môi trường thạch MH và tiếp tục ủ ở 30°C trong 24 giờ. Nồng độ thuốc thấp nhất diệt được 99,9% dịch khuẩn gốc ban đầu được xác định là MBC. Tất cả các nghiệm thức cũng được lặp lại 6 lần.

2.3.3. Chọn lọc chủng kháng và khảo sát mô hình kháng của các chủng V. parahaemolyticus với các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng

Phương pháp kích thích tạo chủng vi khuẩn kháng nối tiếp [6] được sử dụng để khảo sát khả năng kháng và mô hình kháng của các chủng *V. parahaemolyticus* khi liên tục phơi nhiễm với liều lượng ngay dưới ngưỡng ức chế của 6 loại kháng

sinh và 4 chất diệt khuẩn trong thời gian dài. Cụ thể, việc bố trí các dãy nồng độ nhằm thiết lập điểm MIC cho các loại thuốc được thực hiện với các đĩa 96 giếng giống như mô tả ở mục 2.3.2. Sau mỗi 24 giờ ủ, 5 µL dịch vi khuẩn từ giếng nuôi của ngày hôm trước có chứa nồng độ thuốc cao nhất ngay dưới điểm MIC nhưng vẫn có dấu hiệu sinh trưởng của vi khuẩn (giếng mục tiêu) được sử dụng để làm vi khuẩn gốc cho đợt bố trí MIC mới của ngày tiếp theo. Phần dịch còn lại trong các giếng mục tiêu của từng ngày sẽ được trữ đông ở -70°C trong dung dịch glycerol 15%. Quá trình này được lặp lại trong 30 ngày liên tiếp.

Sau khi kết thúc 30 ngày chọn chủng kháng, nhằm thiết lập mô hình kháng, thí nghiệm khảo sát toàn diện các mốc MIC của chủng gốc và các chủng kháng với các loại kháng sinh và thuốc diệt khuẩn được tiến hành với cùng bố trí như mô tả ở mục 2.3.2. Cụ thể, 10 nghiệm thức thuốc cũng được chuẩn bị tương ứng bằng pha loãng nối tiếp để có dãy nồng độ cuối cùng là 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1.024, 2.048, 4.096, 8.192, 16.384 ppm. Sau đó, 5 µL dịch gốc vi khuẩn của chủng *V. parahaemolyticus* gốc và của các chủng kháng từ các giếng mục tiêu đã được trữ đông qua từng ngày (đã được nuôi tăng sinh trở lại với nồng độ 10^7 CFU.mL⁻¹) được cho vào tất cả các giếng và ủ ở 30°C trong 24 giờ để xác định các mốc MIC. Tất cả các nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

Bảng 1. Đường kính vòng vô khuẩn (ZDI) và độ nhạy của hai chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) và 2161 (không gây bệnh) với 6 loại kháng sinh và 4 loại chất diệt khuẩn thông dụng

Kháng sinh và chất diệt khuẩn	Chủng VP2187 (gây bệnh AHPND)		Chủng VP2161 (không gây bệnh)	
	ZDI (mm)	Độ nhạy (chuẩn CLSI)	ZDI (mm)	Độ nhạy (chuẩn CLSI)
Nhóm 1				
Doxycycline	36,9 ± 0,17 ^a	Nhạy cảm	37,1 ± 0,12 ^a	Nhạy cảm
Enrofloxacin	34,2 ± 0,32 ^b	Nhạy cảm	34,0 ± 0,06 ^b	Nhạy cảm
Erythromycin	33,2 ± 0,23 ^c	Nhạy cảm	33,0 ± 0,20 ^c	Nhạy cảm
BKC	28,1 ± 0,12 ^e	N/A	30,0 ± 0,25 ^d	N/A
Nhóm 2				
Iodine	21,0 ± 0,12 ^g	N/A	19,0 ± 0,15 ^h	N/A

2.4. 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 % đều được chuyển đổi sang arsin của căn bậc 2.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát độ nhạy cảm của các chủng *V. parahaemolyticus* với các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng

3.1.1. Chỉ tiêu đường kính vòng vô khuẩn

Các kháng sinh và chất diệt khuẩn được khảo sát có khả năng diệt *V. parahaemolyticus*, trừ trường hợp của cypermethrin. Căn cứ kết quả ZDI, thuốc có thể được chia thành bốn nhóm dựa trên hiệu quả ức chế: i) nhóm 1: Hiệu quả cao, ii) nhóm 2: Hiệu quả trung bình, iii) nhóm 3: Hiệu quả thấp, và iv) nhóm 4: Không hiệu quả. Nhóm 1 và nhóm 2 có ZDI lần lượt cao gấp 3 lần và gấp 2 lần so với nhóm 3. ZDI các nghiệm thức chênh lệch nhau có tính thống kê ($P < 0,05$) (Bảng 1). Riêng chủng 2161 nhạy cảm với chlorine hơn chủng 2187.

Nhóm 3				
Ampicillin	13,1 ± 0,26 ⁱ	Kháng	3,2 ± 0,12 ⁿ	Kháng
Chlorine	12,1 ± 0,15 ^j	N/A	26,0 ± 0,31 ^t	N/A
Oxytetracycline	11,2 ± 0,25 ^k	Kháng	4,9 ± 0,21 ^m	Kháng
Amoxicillin	7,4 ± 0,32 ^l	Kháng	3,2 ± 0,26 ⁿ	Kháng
Nhóm 4				
Cypermethrin	0,0 ± 0,00 ^o	N/A	0,0 ± 0,00 ^o	N/A

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n=6). Các chữ cái khác nhau trong cùng cột và giữa các cột 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: Chất diệt khuẩn không có chuẩn để đánh giá trong chuẩn CLSI.

3.1.2. Chỉ tiêu nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu

Giá trị MIC và MBC của thuốc được khảo sát biến thiên lớn tùy theo đặc tính từng loại thuốc và cũng được phân thành 4 nhóm như Mục 3.1.1: i) nhóm 1 (hiệu quả cao): Enrofloxacin, erythromycin, doxycycline, BKC với liều lượng để tiêu diệt hoàn toàn MBC (cả 2 chủng 2187 và 2161 đều lần lượt là 0,125; 1; 2; 0,000078 ppm) ngang bằng so với liều ức chế MIC (cả 2 chủng 2187 và 2161 đều lần lượt là 0,125; 1; 2; 0,000078 ppm); ii) nhóm 2 (hiệu quả trung bình): Iodine với MBC (chủng 2187 là 16 ppm; chủng 2161 là 16 ppm) cao hơn so với MIC (chủng 2187: 4 ppm; chủng 2161: 2

ppm); iii) nhóm 3 (hiệu quả thấp): Oxytetracycline, ampicillin, amoxicillin và chlorine với MBC (chủng 2187 lần lượt là 32, 256, 256, 512 ppm; chủng 2161 lần lượt là 128, 512, 512, 256 ppm) cao hơn so với MIC (chủng 2187 lần lượt là 16, 64, 128, 128 ppm; chủng 2161 lần lượt là 64, 256, 256, 32 ppm); iv) nhóm 4 (không hiệu quả): Cypermethrin với MBC (chủng 2187 là 8192 ppm; chủng 2161 là 16384 ppm) cao hơn một ít so với MIC (chủng 2187 là 1024 ppm; chủng 2161 là 2048 ppm) (Bảng 2 và 3). Chủng 2161 không gây bệnh có mức độ kháng cao hơn so với chủng 2187 gây bệnh.

Bảng 2. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) và độ nhạy (theo chuẩn CLSI) của chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) với 6 loại kháng sinh và 4 loại chất diệt khuẩn thông dụng

Kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng	Chủng VP2187 (gây bệnh AHPND)		Đánh giá độ nhạy chủng với kháng sinh (theo chuẩn CLSI)
	MIC (ppm)	MBC (ppm)	
Nhóm 1 (hiệu quả cao)			
Doxycycline	2 ± 0,00	2 ± 0,00	Nhạy cảm
Enrofloxacin	0,125 ± 0,00	0,125 ± 0,00	Nhạy cảm
Erythromycin	1 ± 0,00	1 ± 0,00	Nhạy cảm
BKC	0,000078 ± 0,00	0,000078 ± 0,00	N/A
Nhóm 2 (hiệu quả trung bình)			
Iodine	4 ± 0,00	16 ± 0,00	N/A

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

Nhóm 3 (hiệu quả thấp)			
Ampicillin	64 ± 0,00	256 ± 0,00	Kháng
Chlorine	128 ± 0,00	512 ± 0,00	N/A
Oxytetracycline	16 ± 0,00	32 ± 0,00	Kháng
Amoxicillin	128 ± 0,00	256 ± 0,00	Kháng
Nhóm 4 (không hiệu quả)			
Cypermethrin	1.024 ± 0,00	8.192 ± 0,00	N/A

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Khảo sát MIC và MBC được tiến hành với 6 lần lặp cho mỗi nghiệm thức (n=6). Độ nhạy cảm đánh giá theo chuẩn CLSI của Viện Tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ. N/A: Chất diệt khuẩn không có chuẩn để đánh giá trong chuẩn CLSI.

Bảng 3. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) và độ nhạy (theo chuẩn CLSI) của chủng *V. parahaemolyticus* 2161 (không gây bệnh AHPND) với 6 loại kháng sinh và 4 loại chất diệt khuẩn thông dụng

Kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng	Chủng VP2161 (không gây bệnh)		Đánh giá độ nhạy chủng với kháng sinh (theo chuẩn CLSI)
	MIC (ppm)	MBC (ppm)	
Nhóm 1 (hiệu quả cao)			
Doxycycline	2 ± 0,00	2 ± 0,00	Nhạy cảm
Enrofloxacin	0,125 ± 0,00	0,125 ± 0,00	Nhạy cảm
Erythromycin	1 ± 0,00	1 ± 0,00	Nhạy cảm
BKC	0,000078 ± 0,00	0,000078 ± 0,00	N/A
Nhóm 2 (hiệu quả trung bình)			
Iodine	2 ± 0,00	16 ± 0,00	N/A
Nhóm 3 (hiệu quả thấp)			
Ampicillin	256 ± 0,00	512 ± 0,00	Kháng
Chlorine	32 ± 0,00	256 ± 0,00	N/A
Oxytetracycline	64 ± 0,00	128 ± 0,00	Kháng
Amoxicillin	256 ± 0,00	512 ± 0,00	Kháng
Nhóm 4 (không hiệu quả)			
Cypermethrin	2.048 ± 0,00	16.384 ± 0,00	N/A

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Khảo sát MIC và MBC được tiến hành với 6 lần lặp cho mỗi nghiệm thức (n = 6). Độ nhạy cảm đánh giá theo chuẩn CLSI của Viện Tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ. N/A: Chất diệt khuẩn không có chuẩn để đánh giá trong chuẩn CLSI.

Tình trạng kháng thuốc của *V. parahaemolyticus* trên thủy sản ở miền Bắc Việt Nam cho thấy, 85,71% chủng phân lập kháng với ít nhất một loại kháng sinh, trong đó ampicillin gây kháng cao nhất (81,43%) [12]. Hiện tại, oxytetracycline, enrofloxacin và doxycycline được khuyến dùng trong điều trị nhiễm khuẩn nặng và kéo dài do *V. parahaemolyticus*. Tuy nhiên, chỉ có hiệu quả diệt khuẩn của enrofloxacin và doxycycline là tương đồng với nghiên cứu này.

Theo chuẩn đánh giá CLSI, hai chủng gốc *V. parahaemolyticus* 2187 và 2161 dùng cho nghiên cứu đều nhạy cảm với kháng sinh trong nhóm 1 nêu trên. Nhóm 1 bao gồm các kháng sinh thế hệ mới được đưa vào sử dụng trong trị bệnh do *Vibrio* spp. trên người và vật nuôi. Kết quả này có sự tương đồng với các công bố gần đây trên cá mú ở Malaysia cũng về độ nhạy của *Vibrio* spp. với erythromycin [13] và tôm chân trắng ở Indonesia cho trường hợp của doxycycline [5]. Tuy nhiên, độ nhạy của *V. parahaemolyticus* với enrofloxacin và erythromycin được công bố ở mức kháng là trái ngược với kết quả của nghiên cứu này [5].

Hai chủng vi khuẩn cũng cho độ nhạy ở mức kháng với thuốc nhóm 3, trong đó trường hợp giảm hiệu quả diệt khuẩn của các kháng sinh nhóm β -lactam như ampicillin và amoxicillin là có sự tương đồng với các nghiên cứu gần đây với *Vibrio* spp. trên tôm chân trắng tại Malaysia [14]. Ngược lại, công bố về kháng thuốc trên *Vibrio* spp. tại Nigeria vẫn khẳng định tính hiệu quả của hai loại kháng sinh này [15]. Một kháng sinh khác rất thông dụng trong nuôi trồng thủy sản là oxytetracycline cũng được báo cáo độ nhạy ở mức trung bình [15], [5], trong khi nghiên cứu hiện tại cho thấy, độ nhạy đã ở mức kháng.

Kháng sinh từ lâu đã được sử dụng rộng rãi để kiểm soát và điều trị *V. parahaemolyticus* trong nuôi trồng thủy sản, nhưng *V. parahaemolyticus* đã kháng lại nhiều loại kháng sinh và thuốc diệt khuẩn thông dụng, gây nhiều thiệt hại kinh tế và ảnh hưởng sức khỏe cộng đồng. Tuy nhiên, mức độ kháng thuốc của các chủng vi khuẩn đang tồn tại trong ao nuôi vẫn còn ít được quan tâm, đặc biệt là với các chủng đã có khả năng kháng thuốc.

Ngoài ra, các chất diệt khuẩn thường được người dân sử dụng do chi phí thấp, nhưng chưa có quy chuẩn CLSI để đánh giá độ kháng của vi khuẩn đối với các chất này. Do đó, đánh giá mức độ kháng của *V. parahaemolyticus* với các chất diệt khuẩn là cần thiết.

3.2. Khảo sát khả năng kháng và mô hình kháng của các chủng *V. parahaemolyticus* với các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng

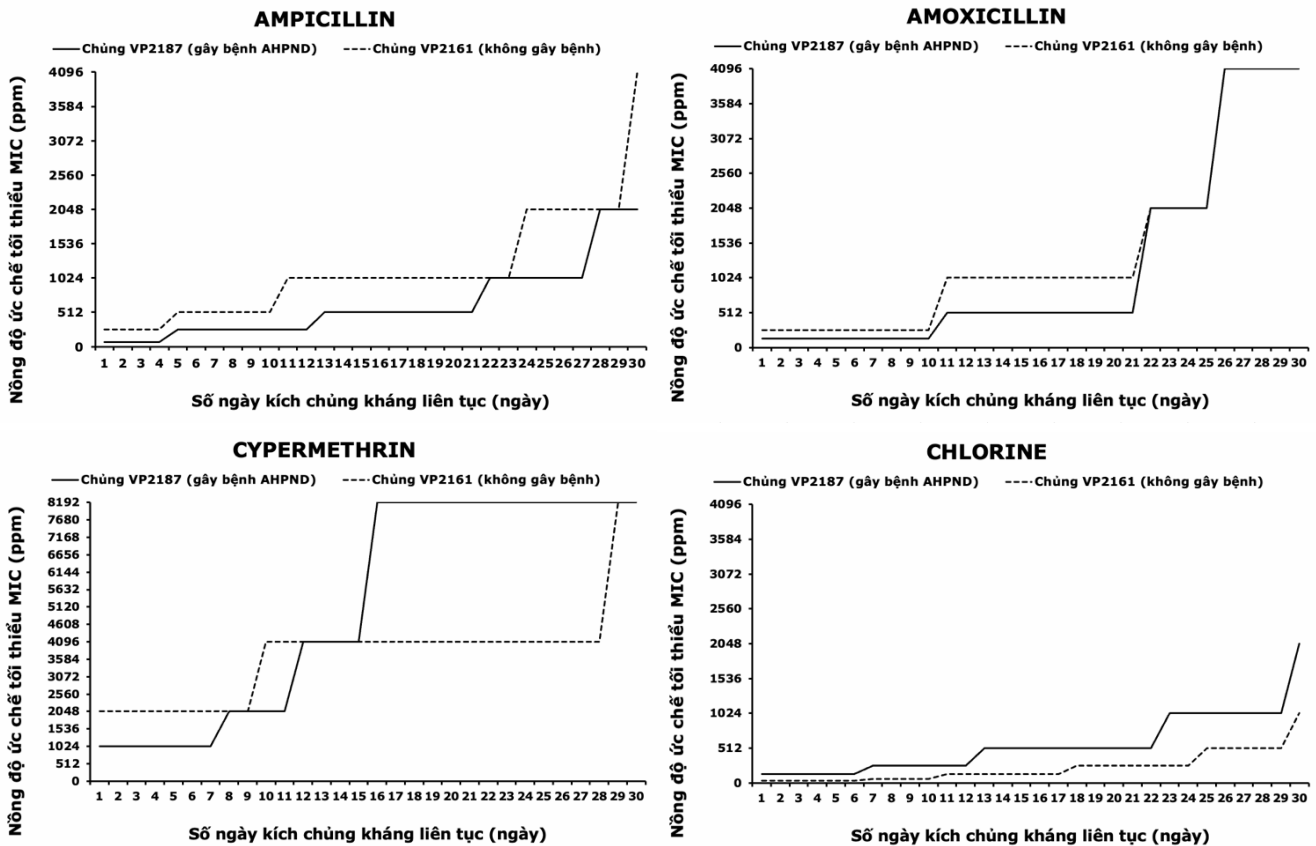
3.2.1. Mô hình kháng 1: Ampicillin, amoxicillin, cypermethrin và chlorine

Sau 30 ngày chọn chủng kháng với 2 loại kháng sinh và 2 chất diệt khuẩn, mô hình kháng cho thấy mức độ kháng tăng dần theo thời gian và kích thích khả năng tạo kháng cao trên *V. parahaemolyticus*. Khi kết thúc thí nghiệm, nồng độ MIC cuối và số lần tăng so với MIC gốc lần lượt là: i) ampicillin (chủng 2187: 2.048 ppm - gấp 32 lần; chủng 2161: 4.096 ppm - gấp 16 lần); ii) amoxicillin (chủng 2187: 4.096 ppm - gấp 32 lần; chủng 2161: 4.096 ppm - gấp 16 lần); iii) cypermethrin (chủng 2187: 8.192 ppm - gấp 8 lần; chủng 2161: 8.192 ppm - gấp 4 lần); iv) chlorine (chủng 2187: 2.048 ppm - gấp 16 lần; chủng 2161: 1.024 ppm - gấp 32 lần) (Hình 1). Kết quả chỉ ra 4 loại thuốc trên có hiệu quả điều trị thấp và không phù hợp cho phác đồ lâu dài. Ở mỗi mốc nồng độ sử dụng, thuốc chỉ có thể ức chế duy trì trong một khoảng thời gian giới hạn theo chu kỳ từ 5 - 10 ngày trước khi phải dùng liều cao hơn. Sự khác nhau trong mô hình kháng là do bản chất thuốc khác nhau dẫn đến cơ chế ức chế và tiêu diệt vi khuẩn khác nhau, cũng như do bản chất chủng vi khuẩn và nguồn gốc chủng [16].

Việc tạo thời gian dài tiếp xúc giữa vi khuẩn và thuốc mà không có hiệu quả tiêu diệt triệt để sẽ dẫn đến việc hình thành các cơ chế kháng thuốc. Điển hình như kháng sinh nhóm β -lactam ức chế quá trình tạo màng tế bào [17]. Tuy nhiên, *V. parahaemolyticus* sinh β -lactamase phân giải thuốc, gắn kết protein transpeptidase làm giảm hiệu quả thâm nhập của thuốc và giảm ái lực giữa protein và thuốc là những nguyên nhân chính khiến ampicillin và amoxicillin giảm hiệu quả [5]. Chlorine là thuốc diệt khuẩn được sử dụng rộng

rãi trong chuẩn bị ao nuôi hoặc xử lý bệnh cấp tính và chất này vẫn cho thấy tác dụng tốt hơn cypermethrin. Tuy nhiên, độ hữu dụng vẫn giảm dần theo thời gian do vi khuẩn có khả năng kháng thuốc. Thuốc trừ sâu cypermethrin có tác dụng rất thấp trong ức chế khuẩn khi phải dùng trong thời gian dài ở liều cao gây độc hại cho vật nuôi và môi trường. Chất này cũng thúc đẩy khả năng kháng thuốc nhanh hơn ở chủng vi khuẩn gây bệnh

AHPND (sớm hơn 13 ngày) so với chủng không gây bệnh khi so sánh với 3 loại thuốc còn lại. Điều này phù hợp với các nghiên cứu phát hiện chlorine có tính oxy hoá mạnh nhưng lại dễ bị vi khuẩn kháng thông qua phản ứng chống quá trình sốc oxy hoá [18] và cypermethrin gây phản ứng SOS dẫn đến vi khuẩn khoá các cơ chế truyền tải thuốc qua màng tế bào [19].



Hình 1. Mô hình kháng theo nồng độ ức chế tối thiểu MIC (ppm) của 2 chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) và 2161 (không gây bệnh) khi liên tục phơi nhiễm với liều lượng dưới ngưỡng ức chế của ampicillin, amoxicillin, chlorine và cypermethrin trong thời gian 30 ngày

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Khảo sát mô hình kháng được tiến hành với 6 lần lặp cho mỗi nghiệm thức (n = 6).

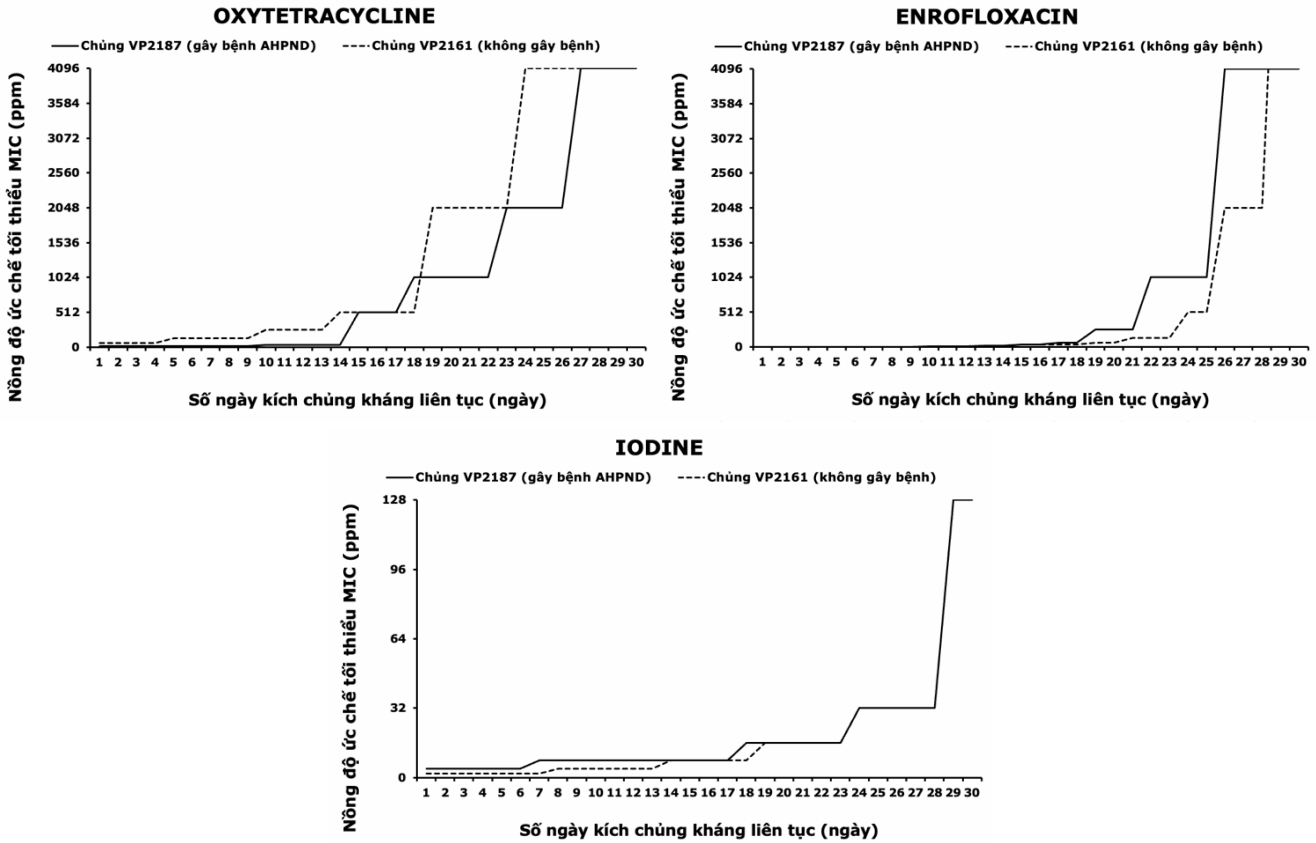
3.2.2. Mô hình kháng 2: Oxytetracycline, enrofloxacin và iodine

Oxytetracycline, enrofloxacin và iodine có khả năng duy trì hiệu quả với *V. parahaemolyticus* trong thời gian tương đối dài trước khi dẫn đến đề kháng: i) oxytetracycline: 14 ngày; enrofloxacin: 18 ngày; iii) iodine: 28 ngày. Khi kết thúc thí nghiệm, nồng độ MIC cuối và số lần tăng so với MIC gốc lần lượt là: i) oxytetracycline (chủng 2187: 4.096 ppm - gấp 256 lần; chủng 2161: 4.096 ppm - gấp 64

lần); ii) enrofloxacin (chủng 2187: 4.096 ppm - gấp 32.768 lần; chủng 2161: 4.096 ppm - gấp 32.768 lần); iii) iodine (chủng 2187: 128 ppm - gấp 32 lần; chủng 2161: 128 ppm - gấp 64 lần) (Hình 2). Kết quả này có thể được giải thích do các cơ chế tác động mạnh của các loại thuốc trên lên *V. parahaemolyticus*: oxytetracyclin ức chế quá trình sản sinh protein ở vi khuẩn [20], enrofloxacin ức chế DNA gyrase từ đó ngăn chặn quá trình nhân đôi DNA [21] và iodine làm oxy hoá dẫn đến làm

mất tính năng hoặc phân hủy các thành phần quan trọng của tế bào vi khuẩn [22]. Tuy nhiên, sau thời gian ức chế có hiệu quả thì cả ba chất đều gây kháng thuốc. Đặc biệt, enrofloxacin là kháng sinh mới có độ nhạy tốt với *V. parahaemolyticus* (MIC gốc chỉ 0,125 ppm) nhưng khi dùng dưới ngưỡng

trong thời gian dài vẫn gây ra kháng ở mức rất cao (4.096 ppm sau 30 ngày). Nguyên nhân có thể lý giải từ việc các thuốc trên đều có cùng cơ chế bị vi khuẩn kháng là khoá vận chuyển thuốc qua màng tế bào, từ đó hạn chế gần như phần lớn tác động của thuốc [23].



Hình 2. Mô hình kháng theo nồng độ ức chế tối thiểu MIC (ppm) của 2 chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) và 2161 (không gây bệnh) khi liên tục phơi nhiễm với liều lượng dưới ngưỡng ức chế của oxytetracycline, enrofloxacin và iodine trong thời gian 30 ngày

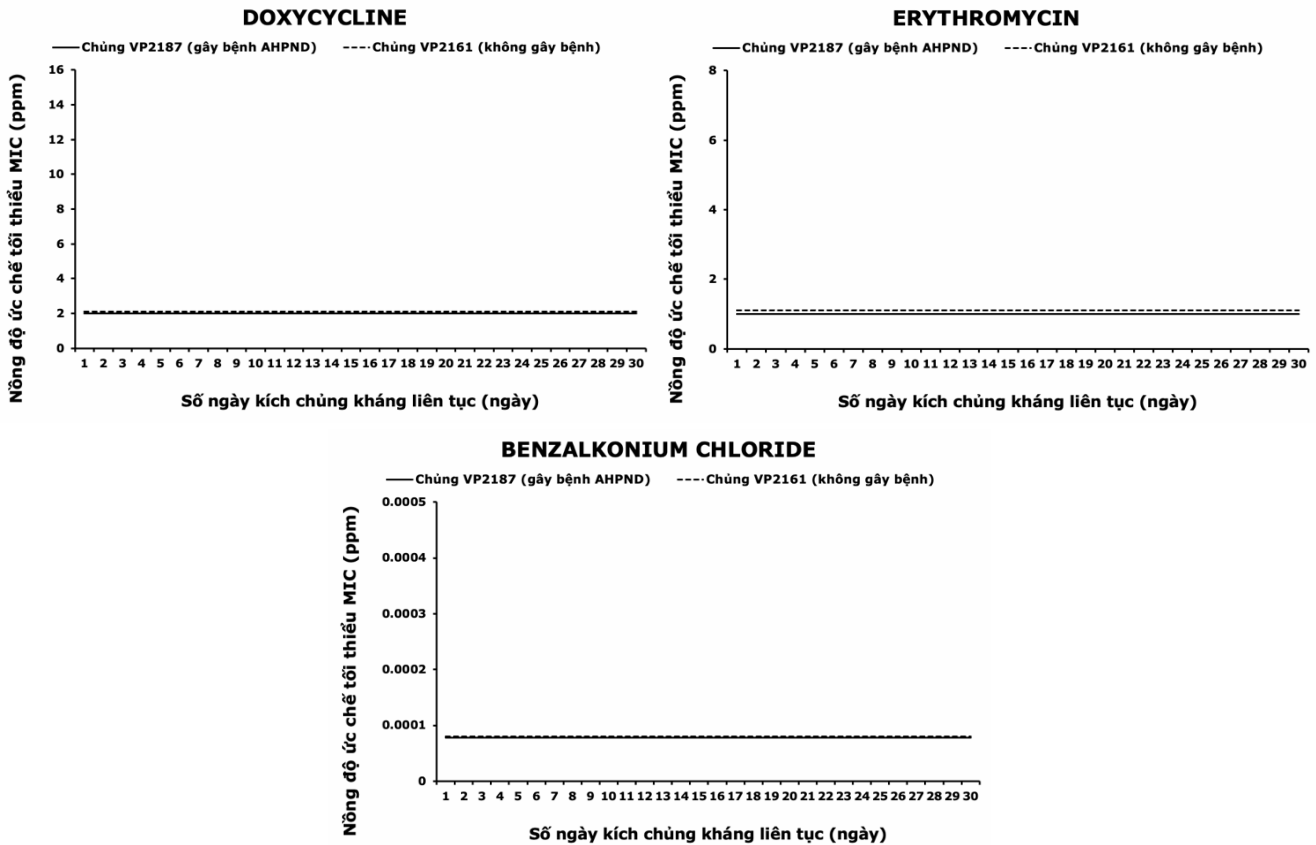
Ghi chú: giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Khảo sát mô hình kháng được tiến hành với 6 lần lặp cho mỗi nghiệm thức (n=6).

3.2.3. Mô hình kháng 3: Doxycycline, erythromycin, benzalkonium chloride

Mô hình kháng của doxycycline, erythromycin và BKC cho thấy đây là những loại thuốc có hiệu quả rất cao trong ức chế các chủng *V. parahaemolyticus* thử nghiệm. MIC của thuốc đều duy trì không đổi như mức MIC gốc trong suốt quá trình kích chủng kháng 30 ngày và không có kết quả chọn lọc được chủng kháng. Tương tự như mô hình kháng 2, cả ba loại thuốc đều có cơ chế diệt khuẩn mạnh mẽ trên *V. parahaemolyticus*. Chất diệt khuẩn BKC thay đổi tính chất màng bán thấm của vi khuẩn, từ đó gây

hiện tượng xuất bào của các chất thành phần dẫn đến khả năng tiêu diệt mạnh và nhanh. Tuy thuộc hai nhóm kháng sinh khác nhau nhưng doxycycline và erythromycin đều ức chế sinh tổng hợp protein vi khuẩn, nhưng cũng cùng có chung cơ chế để vi khuẩn kháng được đó là khoá vận chuyển thuốc qua màng tế bào [23]. Tuy nhiên, kết quả khả quan ở nghiên cứu này có thể được lý giải do đây là các loại kháng sinh mới, chưa được sử dụng rộng rãi và được kiểm soát sử dụng chặt chẽ trong y tế và chăn nuôi. Ngoài ra, liều lượng của doxycycline và erythromycin được sử dụng đúng nên cũng không gây tích lũy dư lượng thuốc

và giảm khả năng tạo chủng kháng so với quả diệt khuẩn. oxytetracyclin, từ đó vẫn còn bảo toàn được hiệu



Hình 3. Mô hình kháng theo nồng độ ức chế tối thiểu MIC (ppm) của 2 chủng *Vibrio parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) và 2161 (không gây bệnh) khi liên tục phơi nhiễm với liều lượng dưới ngưỡng ức chế của doxycycline, erythromycin, benzalkonium chloride trong thời gian 30 ngày

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Khảo sát mô hình kháng được tiến hành với 6 lần lặp cho mỗi nghiệm thức (n = 6).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được mức độ hiệu quả của doxycycline, erythromycin và BKC trong ức chế và tiêu diệt các chủng *V. parahaemolyticus* có nguồn gốc trong ao nuôi tôm, đặc biệt là khi sử dụng các thuốc này để điều trị trong thời gian dài lên đến 30 ngày mà không gây ra tình trạng kháng thuốc. Các loại thuốc còn lại được khảo sát đều có hiệu quả điều trị thấp và có nguy cơ gây kháng thuốc cao, đặc biệt là thuốc trừ sâu cypermethrin. Kết quả của nghiên cứu này chỉ được khảo sát trong điều kiện phòng thí nghiệm. Nghiên cứu tiếp theo cần bố trí thí nghiệm trong điều kiện ao nuôi thực tế để có thể khuyến cáo các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn phù hợp trong phòng trị *V. parahaemolyticus*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anderson, J. L., Valderrama, D., Jory, D. E. (2019). GOAL 2019: Global shrimp production review. Retrieved November 4, 2019, from <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/goal-2019-global-shrimp-production-review>.
- Tang, K. F. J., Bondad-Reantaso, M. G. (2019). Impacts of acute hepatopancreatic necrosis disease on commercial shrimp aquaculture. *Reviews in Science and Technology*, 38(2):477-490. English, French, Spanish. doi: 10.20506/rst.38.2.2999. PMID: 31866681.
- Ronald, L., Emmanuel Joseph, R., Alfaro, A. C. (2020). Antibiotic use in aquaculture, policies and regulation, health and environmental risks: A review of the top 15 major producers. *Reviews in Aquaculture*, 12:640–663.

4. Dang, O. T. H., Truong, P. Q., Nguyen, P. T. (2022). Antibacterial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from shrimp farms located in east coastal region of the Mekong Delta, Viet Nam. *Can Tho University Journal of Science*, 14(2):1 - 7
5. Yudiati, E, Subagiyo, S., Azhar, Nu. (2021). Antimicrobial susceptibility and minimum inhibition concentration of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and *Vibrio harveyi* isolated from a white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) pond. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 763. 012025. 10.1088/1755-1315/763/1/012025.
6. 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>
7. 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.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 28th Edn. *CLSI: Wayne, PA, USA*, p.38.
9. 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
10. 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*.
11. 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*.
12. Vu, T. T. T., Hoang, T. T. H., Fleischmann, S., Pham, H. N., Lai, T. L. H., Cam, T. T. H., Truong, L. O., Le, V. P., & Alter, T. (2022). Quantification and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in retail seafood in Hanoi, Vietnam. *Journal of Food Protection*, 85(5): 786–791. <https://doi.org/10.4315/JFP-21-444>
13. Mohamad, N., Mohd Roseli, F. A., Azmai, M. N. A., Saad, M. Z., Md Yasin, I. S., Zulkiply, N. A., Nasruddin, N. S. (2019). Natural Concurrent Infection of *Vibrio harveyi* and *V. alginolyticus* in Cultured Hybrid Groupers in Malaysia. *Journal of Aquatic Animal Health*, 31: 88 - 96. <https://doi.org/10.1002/aah.10055>
14. Muthukrishnan S., Defoirdt, T., Ina-Salwany, M. Y., Yusoff, F. M., Shariff, M., Ismail, S. I., Natrah, I. (2019). *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* causing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) isolated from Malaysian shrimp ponds. *Aquaculture*, 511: 734227
15. Beshiru, A., Okareh, O. T., Okoh, A. I., Igbinosa, E. O. (2020). Detection of antibiotic resistance and virulence genes of *Vibrio* strains isolated from ready-to-eat shrimps in Delta and Edo States, Nigeria. *Journal of Applied Microbiology*, 129(1): 17 - 36. doi: 10.1111/jam.14590. Epub 2020 Feb 3. PMID: 31977129.
16. Cao, Q., Zhang, C., Guo, Q., Ren, C., Li, Y., Adil Farooq, M. (2022). Enhancement of *Vibrio parahaemolyticus* resistance and immune responses in *Exopalaemon carinicauda* by synergistic bacteriostasis of *Crataegus pinnatifida* Bunge and oxytetracycline. *Journal of the World Aquaculture Society*, 53(6):1183–1196. <https://doi.org/10.1111/jwas.12903>.
17. Waxman, D. J., Strominger, J. L. (1983). Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of beta-lactam antibiotics. *Annual Review of Biochemistry*, 52: 825 - 69. doi: 10.1146/annurev.bi.52.070183.004141. PMID: 6351730.
18. Tong, C., Hu, H., Chen, G., Li, Z., Li, A., Zhang, J. (2021). Chlorine disinfectants promote microbial resistance in *Pseudomonas* sp.

Environmental Research, 199: 111296, ISSN 0013 - 9351.

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111296>.

19. Qiu, D., Ke, M., Zhang, Q., Zhang, F., Lu, T., Sun, L., Qian, H. (2022). Response of microbial antibiotic resistance to pesticides: An emerging health threat. *Science of The Total Environment*, 850: 158057, ISSN 0048 - 9697. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158057>.

20. Chukwudi, C. U. (2016). rRNA Binding Sites and the Molecular Mechanism of Action of the Tetracyclines. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(8): 4433 - 4441. doi: 10.1128/AAC.00594-16. PMID: 27246781; PMCID: PMC4958212.

21. Grabowski, Ł., Gaffke, L., Pierzynowska, K., Cyske, Z., Choszcz, M., Węgrzyn, G., Węgrzyn, A. (2022). Enrofloxacin—The Ruthless Killer of

Eukaryotic Cells or the Last Hope in the Fight against Bacterial Infections. *International Journal of Molecular Sciences*, 23: 3648. doi: 10.3390/ijms23073648.

22. Eggers, M. (2019). Infectious Disease Management and Control with Povidone Iodine. *Infectious Diseases and Therapy*. 8(4):581-593. doi: 10.1007/s40121-019-00260-x. Epub 2019 Aug 14. Erratum in: *Infectious Diseases and Therapy*, 2019 Aug 22; PMID: 31414403; PMCID: PMC6856232.

23. Urban-Chmiel, R., Marek, A., Stępień-Pyśniak, D., Wieczorek, K., Dec, M., Nowaczek, A., Osek, J. (2022). Antibiotic Resistance in Bacteria-A Review. *Antibiotics (Basel)*, 11(8): 1079. doi: 10.3390/antibiotics11081079. PMID: 36009947; PMCID: PMC9404765.

EVALUATION OF THE EFFICACY OF COMMON ANTIBIOTICS AND DISINFECTANTS AGAINST *V. parahaemolyticus* AND THEIR RESISTANCE STIMULATION DEGREE

Le Nguyen Thien Phuc¹, Nguyen Minh Thanh¹

¹ *International University, Vietnam National University Ho Chi Minh City*

Summary

This study evaluated the antibacterial susceptibility and the antibiotic resistance of two *Vibrio parahaemolyticus* isolates from shrimp ponds using 6 antibiotics and 4 disinfectants. Main parameters included the zone diameter of inhibition, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration, and resistant patterns of *V. parahaemolyticus* towards drugs. Results of susceptibility categorized all drugs into 4 groups: i) high efficiency: doxycycline, enrofloxacin, erythromycin, benzalkonium chloride (BKC); ii) intermediate efficiency: iodine; iii) low efficiency: ampicillin, chlorine, oxytetracycline, amoxicillin; iv) inefficiency: cypermethrin. Differences of all treatments were statistically significant ($P < 0,05$). Results from the stimulation for antibiotic resistance of *V. parahaemolyticus* indicated three typical resistant patterns. The group of ampicillin, amoxicillin, cypermethrin and chlorine showed extremely low and short efficacy (5 - 10 days) with a gradual increase in resistance. Meanwhile, oxytetracycline, enrofloxacin and iodine maintained a relatively stable efficacy (14 - 28 days) prior to the sudden increase in resistance. Exceptionally, doxycycline, erythromycin and BKC expressed high efficacy in inhibiting and killing *V. parahaemolyticus* and did not stimulate the antibiotic resistance within the test time. The study revealed an insight into the actual efficacy of common antibiotics and disinfectants against *V. parahaemolyticus* and their resistance stimulation degree. Results can orientated proper uses of drugs in prevention and treatment of *V. parahaemolyticus* in the shrimp farms.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*, antibiotics, disinfectants, resistant strains.

Ngày nhận bài: 29/3/2024

Ngày chuyển phản biện: 12/4/2024

Ngày thông qua phản biện: 29/4/2024

Ngày duyệt đăng: 10/6/2024

PHÂN BIỆT HÌNH THÁI ẤU TRÙNG, CÁ CON THUỘC HỌ CÁ SƠN (Ambassidae), CÁ MÓM (GERREIDAE), CÁ TRÁP (Sparidae) Ở VIỆT NAM

Nguyễn Công Sơn^{1,2}, Nguyễn Thành Nam²,

Trần Thị Thùy Anh², Trần Trung Thành^{2,*}

¹ Viện Khoa học Môi trường, Biển và Hải đảo

² Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

* Email: thanhtran@hus.edu.vn

TÓM TẮT

Họ cá sơn (Ambassidae), cá móm (Gerreidae) và cá tráp (Sparidae) là những họ cá đa dạng, thường sinh sống ở khu vực cửa sông ven biển từ nhiệt đới đến ôn đới trong giai đoạn con non đến trưởng thành. Ấu trùng, cá con của các họ này thường có khu vực ương dưỡng, mùa xuất hiện trùng nhau và nhiều đặc điểm tương đồng về hình thái ngoài, gây ra những khó khăn trong định loại mẫu vật. Dựa trên các mẫu vật thu được tại vùng đất ngập nước ven biển huyện Tiên Yên, tỉnh Quảng Ninh, nghiên cứu này cung cấp dẫn liệu so sánh hình thái ngoài, thảo luận các cơ sở phân biệt ấu trùng, cá con của 3 họ cá. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mặc dù tỉ lệ các phần cơ thể có khác biệt dựa trên thống kê sinh học nhưng khoảng biến thiên các tỉ lệ này lớn và giao nhau giữa các họ cá. Các số đếm về tiết cơ, vây hậu môn, vây bụng, vây ngực không có nhiều khác biệt lớn giữa ba họ. Sự khác biệt thể hiện rõ ở tổng số tia vây và số lượng tia vây cứng ở vây lưng. Họ cá móm được phân biệt rõ do có phần miệng có thể co duỗi. Khóa định loại đối với ấu trùng (giai đoạn ấu trùng muộn) và cá con của 3 họ cá được xây dựng dựa trên các đặc điểm về phần miệng, tổng số tia vây lưng. Nghiên cứu này lần đầu tiên so sánh trực tiếp ấu trùng, cá con của 3 họ cá, bổ sung nguồn tài liệu phục vụ định loại giai đoạn sớm của các họ cá phổ biến này.

Từ khóa: Ambassidae, Sparidae, Gerreidae, hình thái, đất ngập nước ven biển.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Họ cá sơn (Ambassidae), cá móm (Gerreidae) và cá tráp (Sparidae) là những họ cá đa dạng, có giá trị về mặt kinh tế, khoa học ở khu vực cửa sông ven biển từ nhiệt đới đến ôn đới [1, 2]. Ấu trùng, cá con của các họ này thường cư trú vùng nước nông ven bờ và có khu vực ương dưỡng, mùa xuất hiện trùng nhau [3, 4, 5]. Thêm vào đó, giai đoạn sớm của 3 họ cá có nhiều đặc điểm tương đồng về hình thái ngoài, gây ra những khó khăn trong quá trình định loại mẫu vật [6 - 9], [5, 10, 11, 12].

Trong quá trình thực địa tại vùng đất ngập nước ven biển huyện Tiên Yên, tỉnh Quảng Ninh, nghiên cứu ghi nhận mẫu ấu trùng và cá con của họ cá sơn (Ambassidae), họ cá móm (Gerreidae) và họ cá tráp (Sparidae). Nghiên cứu này cung cấp

dẫn liệu so sánh hình thái ngoài, thảo luận các cơ sở phân biệt ấu trùng, cá con của 3 họ cá, bổ sung nguồn tài liệu phục vụ định loại giai đoạn sớm của các họ cá phổ biến này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thực địa tiến hành tại khu vực đất ngập nước ven biển huyện Tiên Yên, tỉnh Quảng Ninh. Khu vực nghiên cứu ghi nhận sự xuất hiện đồng thời ấu trùng, cá con của họ cá sơn (Ambassidae), họ cá móm (Gerreidae) và họ cá tráp (Sparidae) [13]. Mẫu vật được thu bằng lưới kéo ven bờ với tuần suất 1 lần/2 tháng trong khoảng thời gian từ tháng 9/2019 đến 8/2020 và từ tháng 2/2021 đến 1/2022. Lưới hình chữ nhật có kích thước 1 × 4 m với mắt lưới 1 mm được kéo bởi 2 người ở vùng nước nông ven bờ có độ sâu từ 0 đến khoảng 1,5 m. Hỗn hợp thu được tại thực địa được định hình bằng dung dịch phooc-môn 5% ngay khi thu được. Sau 2 - 3

giờ, mẫu cá được tách và bảo quản bằng dung dịch cồn 70%.

Mẫu vật được quan sát, đo đếm trên kính lúp hai mắt Nikon SMZ800N, độ bội giác 10 - 80 lần. Giai đoạn của cá được phân chia theo hướng dẫn của Kendall và cs (1984) [14]. Phương pháp đo, đếm, các ký hiệu, viết tắt và mô tả hình thái ngoài dựa theo hướng dẫn của Leis & Carson-Ewart (2000) [9]. Các kí hiệu chỉ tiêu số đo, số đếm sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: Chiều dài cơ thể (BL), khoảng cách trước vây lưng (PDL), khoảng cách trước hậu môn (PAL), chiều cao thân (BD), chiều dài đầu (HL), đường kính mắt (ED), chiều dài mõm (SnL), chiều dài cuống đuôi (CPL), chiều cao cuống đuôi (CPD), khoảng cách từ hậu môn đến vây hậu môn (VAFL), số tia vây lưng (D), số tia vây hậu môn (A), số tiết cơ (M). Mẫu đại diện các kích thước được chụp bằng kính lúp 2 mắt Stemi 508 gắn camera Axiocam 105 color. Khác biệt về các chỉ số hình thái giữa các họ cá được kiểm định bằng phân tích hiệp phương sai - ANCOVA ($p < 0,05$). Ấu trùng, cá con được định loại đến bậc họ dựa trên các đặc điểm hình thái ngoài được mô tả bởi Kinoshita (2014); Leis và Carson - Ewart (2000) [7, 9].

Nghiên cứu được dựa trên tổng số 362 mẫu ấu trùng (giai đoạn ấu trùng muộn), cá con, bao gồm: 80 mẫu họ cá sơn (Ambassidae: *Ambassis* sp., 4,2 - 17,0 mm BL); 201 mẫu họ cá móm (Gerreidae: *Gerres* spp., 4,6 - 17,6 mm BL); 181 mẫu họ cá

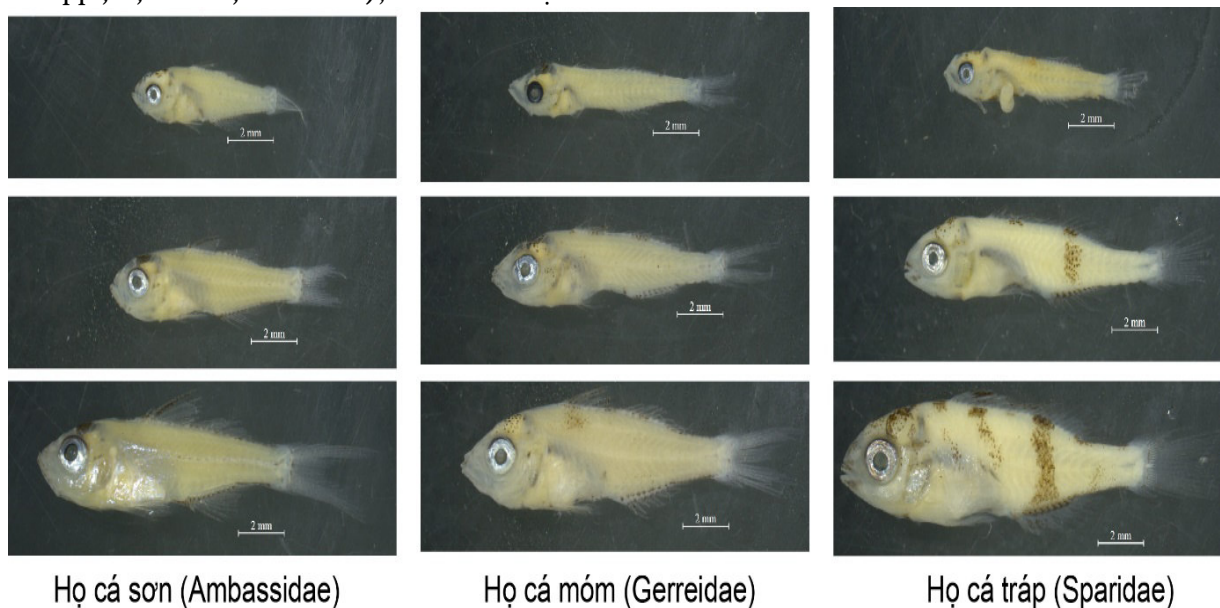
tráp (Sparidae: *Acanthopagrus* spp., 7,4 - 16,0 mm BL). Mẫu vật được lưu tại Trung tâm Nghiên cứu Khoa học Sự sống, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

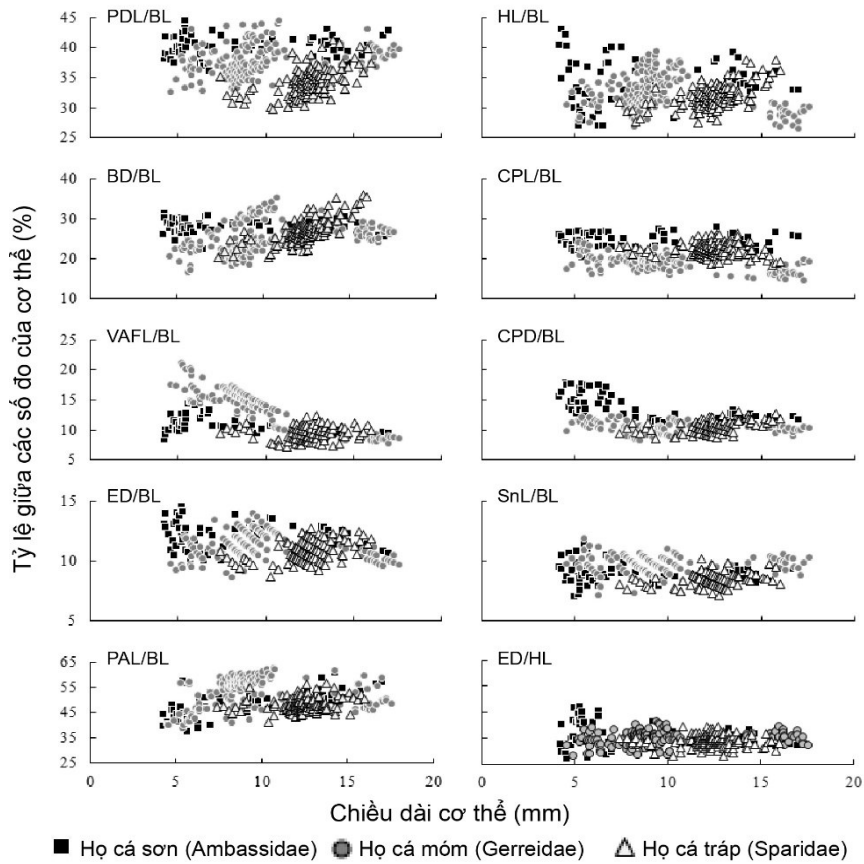
Ấu trùng, cá con của ba họ cá thể hiện các đặc điểm giống nhau: Cơ thể dẹp bên, thon dài vừa phải; ống ruột cuộn với hậu môn ở khoảng giữa cơ thể; đầu ở mức trung bình tới mức lớn với mắt lớn; 24 tiết cơ; vây lưng liên tục, phân thành 2 phần, phần trước cao, phần sau thấp, phân biệt bởi một lõm lớn ở phía sau các tia gai cứng; gai đầu nhỏ và yếu; ít các sắc tố trên thân trong giai đoạn ấu trùng.

Ở cả 3 họ cá, tỉ lệ của các phần cơ thể bao gồm: Đầu, mõm, phần trước hậu môn và chiều cao thân so với chiều dài cơ thể đều tăng dần cùng với sự lớn lên của ấu trùng. Ngược lại, tỉ lệ phần trước vây lưng và mắt giảm dần cùng với sự phát triển của ấu trùng. Đến giai đoạn cá có kích thước trên 10 mm, các tỉ lệ trên đều có xu hướng dần ổn định (Hình 1).

Hình dạng phần đầu của 3 họ cá cũng có sự giống nhau với đầu lớn, mắt to và tròn. Phần mõm của họ cá móm nhọn và dài hơn, trong khi họ cá sơn và họ cá tráp tù và ngắn. Miệng của cá móm có thể co duỗi, lúc hoàn toàn duỗi ra thì ống miệng hướng xuống dưới (Hình 1).



Hình 1. Sự phát triển của 3 họ cá sơn (Ambassidae), móm (Gerreidae) và tráp (Sparidae) ở Việt Nam



Hình 2. Tỷ lệ phần trăm giữa chiều dài các số đo cơ thể của 3 họ cá sơn (Ambassidae), móm (Gerreidae) và tráp (Sparidae)

Kết quả phân tích cho thấy, hầu hết các tỷ lệ phần trăm cơ thể giữa 3 họ cá trong nghiên cứu đều có sự khác biệt (Bảng 1). Sự khác biệt này thể hiện rõ nhất trên nhóm cá có chiều dài cơ thể dưới 8 mm. Ở nhóm cá này khoảng cách giữa hậu môn đến trước vây hậu môn (VAFL) lớn nhất ở họ cá móm (VAFL = 12,5–20,7% BL), tiếp theo là họ cá sơn (VAFL = 8,3 - 14,4% BL) và họ cá tráp (VAFL =

9,4 - 11,2% BL); chiều cao cuống đuôi lớn nhất ở họ cá sơn (CPD = 12,0 - 17,6% BL), thấp hơn ở hai họ cá còn lại (CPD = 10,2 - 12,0% BL) (Hình 2). Ở nhóm cá thể có kích thước lớn hơn 10 mm và so sánh tỉ lệ các phần khác, sự khác biệt dựa trên thống kê sinh học ($p < 0,05$, Bảng 1) nhưng khoảng biến thiên các tỉ lệ này lớn và giao nhau giữa các họ cá (Hình 2).

Bảng 1. Kết quả kiểm định sự khác nhau về tỷ lệ các phần cơ thể so với chiều dài cơ thể giữa họ cá sơn (Ambassidae), cá móm (Gerreidae) và cá tráp (Sparidae) bằng phân tích hiệp phương sai - ANCOVA

Tỉ lệ các phần cơ thể so với chiều dài cơ thể	Chỉ số p		
	Ambassidae × Gerreidae	Ambassidae × Sparidae	Gerreidae × Sparidae
Khoảng cách trước vây lưng	0,001	0,001	0,001
Khoảng cách trước hậu môn	0,001	0,054	0,001
Chiều cao thân	0,001	0,001	0,001
Chiều dài đầu	0,002	0,001	0,544
Đường kính mắt	0,001	0,001	0,001
Chiều dài mõm	0,001	0,001	0,052

Tỉ lệ các phần cơ thể so với chiều dài cơ thể	Chỉ số p		
	Ambassidae × Gerreidae	Ambassidae × Sparidae	Gerreidae × Sparidae
Khoảng cách từ hậu môn đến vây hậu môn	0,001	0,002	0,001
Chiều dài cuống đuôi	0,001	0,001	0,001
Chiều cao cuống đuôi	0,001	0,001	0,001

Số lượng tia vây thể hiện sự khác biệt giữa ba họ cá. Số lượng tia vây lưng lớn nhất là họ cá tráp (tổng số 21 - 24 tia vây với 11 - 13 tia vây cứng, 10 - 13 tia vây mềm), tiếp theo là họ cá móm (tổng số 19 tia vây với 9 - 10 tia vây cứng, 9 - 10 tia vây mềm) và ít nhất là họ cá sơn (tổng số 17 - 18 tia vây với 8 tia vây cứng, 9 - 10 tia vây mềm). Số lượng tia vây hậu môn không khác biệt lớn giữa 3 họ cá với tổng số 10 - 12 tia vây gồm 3 tia vây cứng, 7 - 9 tia vây mềm. Trong quá trình lớn lên của cá thể, tia vây hình thành ở kích thước nhỏ hơn đối với họ cá sơn so với hai họ cá còn lại. Tất cả các tia vây đã hình thành và được quan sát rõ ở kích thước cơ thể 5,0 - 6,0 mm đối với họ sơn, trong khi các đặc điểm này chỉ xuất hiện ở các cá thể lớn hơn 7 mm ở họ cá móm và cá tráp.

Gai đầu xuất hiện ở bờ trước và bờ sau xương trước nắp mang ở cả 3 loài cá. Những gai nhỏ này sắp xếp thành hình răng cưa và giảm dần về số lượng và kích thước cùng với sự lớn lên của cá thể.

Ở kích thước nhỏ, sắc tố đen xuất hiện ở phần đầu, mặt bụng của thân, đuôi và ít (hoặc không có) sắc tố ở mặt bên cơ thể. Cùng với sự lớn lên của cá thể, sắc tố đen dần xuất hiện ở mặt lưng của thân, đuôi và mặt bên cơ thể, hình thành các sọc sắc tố dọc cơ thể ở cá móm và cá tráp. Ở một số loài cá sơn, các sắc tố đen ở hai bên thân tạo thành các đường nét đứt nhỏ dọc theo đường bên ở đuôi từ giai đoạn ấu trùng và cá con.

4. THẢO LUẬN

Trong công tác phân biệt ấu trùng, cá con của các họ cá vây tia, các đặc điểm hình thái thường được sử dụng bao gồm: Các số đếm, số đo, sắc tố và một số đặc trưng hình thái ở từng họ cá [10]. Họ cá sơn (Ambassidae), cá móm (Gerreidae) và cá tráp (Sparidae) không có các đặc trưng về sắc tố để phân biệt giữa ba họ [6 - 12]. Kết quả nghiên cứu các số đo cho thấy, mặc dù có sự khác biệt về tỉ lệ các phần cơ thể dựa trên thống kê sinh học nhưng khoảng biến thiên các tỉ lệ này lớn và giao nhau giữa các họ cá. Do vậy, dữ liệu hình thái này ít có tính ứng dụng trong định loại ba họ cá này. Tuy nhiên, ở kích thước dưới 8 mm, họ cá móm có khoảng cách giữa hậu môn và vây hậu môn lớn hơn hoàn toàn so với họ cá sơn và họ cá tráp. Do vậy, đặc điểm này có thể sử dụng để bước đầu phân biệt ấu trùng họ cá móm.

Đặc điểm về số đếm thường được áp dụng để định loại cá do các dẫn liệu này rõ ràng và có thể được quan sát sớm. Các số đếm về tiết cơ, vây hậu môn, vây bụng, vây ngực không có nhiều khác biệt giữa ba họ cá trong nghiên cứu này (Bảng 2). Sự khác biệt thể hiện rõ ở tổng số tia vây và số lượng tia vây cứng ở vây lưng. Trong nghiên cứu thực tế [7 - 10], việc phân biệt các loại tia vây khá khó khăn ở các kích thước nhỏ, do vậy, tổng số tia vây là đặc điểm được ưu tiên sử dụng.

Bảng 2. So sánh các chỉ số đếm tia vây và số tiết cơ của 3 họ cá sơn (Ambassidae), móm (Gerreidae), tráp (Sparidae) xuất hiện ở Việt Nam

Họ cá	Số đếm				
	Vây lưng	Vây hậu môn	Vây ngực	Vây bụng	Tiết cơ
Ambassidae					
Ambassis	VIII, 7 - 11	III, 7 - 11	13 - 17	I, 5	10 + 14 = 24
Gerreidae					
Gerres	IX - X, 9 - 11	III, 7 - 10	15 - 17	I, 5	10 + 14 = 24

Sparidae					
<i>Acanthopagrus</i>	XI - XII, 10 - 12	III, 8 - 9	14 - 17	I, 5	10 + 14 = 24
<i>Argyrops</i>	XII - XII, 8 - 11	III, 8 - 9	15	I, 5	10 + 14 = 24
<i>Dentex</i>	XII - XIII, 9 - 10	III, 8 - 10	15 - 16	I, 5	10 + 14 = 24
<i>Evynnis</i>	XII, 10 - 11	III, 8 - 9	15	I, 5	10 + 14 = 24
<i>Pagrus</i>	XII - XIII, 9 - 10	III, 8 - 9	14 - 16	I, 5	10 + 14 = 24
<i>Rhabdosargus</i>	XI - XII, 11 - 15	III, 10 - 13	13 - 15	I, 5	10 + 14 = 24

Ghi chú: Tham khảo Leis và Carson-Ewart (2000) [9], Nguyễn Văn Hào (2005) [1], Trần Đắc Định và cs (2013) [15], Kimura và cs (2018) [16].

Các đặc điểm ở phần đầu cá được áp dụng nhiều trong định loại ấu trùng, cá con. Đối với 3 họ cá trong nghiên cứu này, họ cá móm được phân biệt rõ với phần miệng có thể co duỗi linh hoạt. Đặc điểm định loại này tồn tại ở cả giai đoạn ấu trùng và cá con.

Khóa định loại đối với ấu trùng (giai đoạn ấu trùng muộn) và cá con họ cá son (Ambassidae), họ cá móm (Gerreidae) và cá tráp (Sparidae):

1a. Cá thể có phần miệng linh hoạt co duỗihọ cá móm (Gerreidae).

1b. Cá thể không có phần miệng linh hoạt co duỗi2.

2a. Tổng số tia vây lưng <20 họ cá son (Ambassidae).

2a. Tổng số tia vây lưng >20 họ cá tráp (Sparidae).

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.06-2020.22.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Hào (2005). *Cá nước ngọt Việt Nam*, tập 3. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
2. Nelson J. S, Grande T. C & Wilson M. V. H. (2016). *Fishes of the world*, fifth edition. John Wiley & Sons, Hoboken.
3. Blaber S. J. M & Blaber T. G. (1980). Factors affecting the distribution of juvenile estuarine and inshore fish. *Journal of Fish Biology*, 17(2): 143 - 162.

4. Fujita S, Kinoshita I, Takahashi I & Azuma K. (2002). Species composition and seasonal occurrence of fish larvae and juveniles in the Shimanto estuary, Japan. *Fisheries Science*, 68(2): 364 - 370.

5. Tran T. T, Tran D. H, Chu H. N & Ta T. T (2018). Habitat segregation of *Gerres japonicus* and *G. limbatus* in early stages in the Tien Yen estuary, Northern Vietnam. *Academia Journal of Biology*, 40(4): 133 – 141.

6. Kinoshita I. (2014). Ambassidae. In: Okiyama M (ed) *An atlas of early stage fishes in Japan*, 2nd edition. Tokai University Press, Hadano, pp. 658 - 659.

7. Kinoshita I. (2014). Gerreidae. In: Okiyama M (ed) *An atlas of early stage fishes in Japan*, 2nd edition. Tokai University Press, Hadano, pp. 846 - 849.

8. Kinoshita I. (2014). Sparidae. In: Okiyama M (ed) *An atlas of early stage fishes in Japan*, 2nd edition. Tokai University Press, Hadano, pp. 865 – 875.

9. Leis J. M & Carson-Ewart B. M. (2000). *The larvae of Indo-Pacific coastal fishes: a guide to identification*. Brill, Leiden.

10. Tran T. T, Tran D. H & Kinoshita I. (2019). Simultaneous and sympatric occurrence of early juveniles of *Acanthopagrus latus* and *A. schlegelii* (Sparidae) in the estuary of Northern Vietnam. *Limnology*, 20(3): 321 – 326.

11. Tran T. T, Tran D. H & Nguyen T. N. (2021). Notes on morphology and spatio-temporal distribution of early-stage juveniles of

Acanthopagrus pacificus (Sparidae) in the estuary of northern Vietnam. Sustainable Water Resources Management, 7(5), 80.

12. Tran T. T, Tran D. H & Ta T. T. (2014). Morphological description of saddleback silver-biddy (*Gerres limbatus*) larvae and juveniles from the Tien Yen estuary, Vietnam. *HNUE Journal of Science, Chemical and Biological Science*, 59(9): 88 - 94.

13. Tran T. T. (2018). Comparison of early life histories of euryhaline fishes in estuaries between Vietnam and Japan. PhD dissertation, Kochi University.

14. Kendall A.W Jr, Ahlstorm E. H & Moser H. G. (1984). Early life history stages of fishes and their characters. In: Moser H G, Richards W J,

Cohen D M, Fahay M P, Kendall A W Jr & Richardson SL (eds) Ontogeny and systematics of fishes. American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Special Publication 1, Lawrence, pp. 11 - 22.

15. Trần Đắc Định, Shibukawa Koichi, Nguyễn Thanh Phương, Hà Phước Hùng, Trần Xuân Lợi, Mai Văn Hiếu, Utsugi Kenzo (2013). *Mô tả định loại cá đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam*. Nxb Đại học Cần Thơ, Cần Thơ, 174 trang.

16. Kimura S, H Imamura, Nguyen V. Q & Pham T. D. (2018). Fishes of Ha Long Bay, the natural world heritage site in Northern Vietnam. Fisheries Research Laboratory, Mie University, Shima, Japan. ix + 314 pages.

MORPHOLOGICAL DISTINGUISHING OF LARVAE AND JUVENILES OF AMBASSIDAE, GERREIDAE AND SPARIDAE IN VIETNAM

Nguyen Cong Son^{1,2}, Nguyen Thanh Nam², Tran Thi Thuy Anh², Tran Trung Thanh²

¹ *Vietnam Environment and Marine Science Institute*

² *VNU University of Science, Vietnam National University, Hanoi*

Summary

The families Ambassidae, Gerreidae and Sparidae are diverse and widely distributed along coastal regions from tropical to temperate, both in their early and adult stages. Larvae and juveniles from these families often share similar morphological traits and frequently inhabit the same nursery grounds during overlapping seasons, posing challenges in specimen identification. Based on samples collected from the coastal wetland of Tien Yen, Quang Ninh province, this study provides comparative data on external morphology and discusses the characteristics used to distinguish among larvae and juveniles of these three families. Statistical analysis reveals significant differences in body part ratios, yet substantial variability and overlap persist across fish families. While the numbers of myomeres, anal fin rays, and pelvic fin rays were not much different among the families, notable distinctions emerge in the total count of dorsal fin rays and dorsal fin spines. Gerreidae stands out with its unique protrusible mouth structure. An identification key is proposed for postflexion larvae and juveniles of the three families based on mouth characteristics and total dorsal fin ray count. This study provides the first comparative analysis of larvae and juveniles from Ambassidae, Gerreidae and Sparidae, enriching resources for classifying the early stages of these common marine fish families.

Keywords: *Ambassidae, Gerreidae, Sparidae, morphology, coastal wetland.*

Ngày nhận bài: 5/3/2024

Ngày chuyển phản biện: 20/4/2024

Ngày thông qua phản biện: 6/5/2024

Ngày duyệt đăng: 10/6/2024

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

THÔNG BÁO

Về việc chấp nhận Đơn đăng ký bảo hộ giống cây trồng mới

Văn phòng Bảo hộ giống cây trồng – Cục Trồng trọt công bố chấp nhận đơn đăng ký bảo hộ giống cây trồng mới sau:

TT	Số đơn	Ngày nộp	Tên giống	Tên loài	Đại diện của chủ đơn	Người có quyền đăng ký	Tác giả giống	Ngày đơn hợp lệ
1	2024_07	9/01/2024	SR20	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Không	Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh	Tác giả chính Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam, Đào Minh Sô và đồng tác giả Trần Anh Vũ, Nguyễn Thị Thanh Huyền, Vũ Văn Quý, Võ Minh Thu	27/02/2024
2	2024_08	9/01/2024	SR21					
3	2024_32	31/01/2024	SUNNY HEART	Nho - <i>Vitis</i> L.	Trung tâm Hỗ trợ dịch vụ Nông nghiệp Việt Nam	National agriculture and food research organization	Saito Toshihiro; Sato Akihiko; Kono Atsushi; Onoue Noriyuki, Mitani Nobuhito; Azuma Akifumi, BanYusuke; Yamada Masahiko; Ueno Toshihito; Shiraishi Mikio; Shimizu Takeo; Matsuzaki Ryusuke; Nakajima Ikuko; Ueno Taketoshi; Ito Takao; Haji Takashi; Chiaki Yuya	13/11/2023
4	2024_34	11/3/2024	VNR32	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Không	Công ty Cổ phần Tập đoàn Giống cây trồng Việt Nam	Công ty Cổ phần Tập đoàn Giống cây trồng Việt Nam	25/3/2024
5	2024_41	21/3/2024	A2 VAAS 24	Đào – <i>Prunus persica</i> L.	Không	Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam	Vũ Mạnh Hải, Bùi Quang Đăng, Lương Thị Huyền, Trần Văn Luyện, Trần Ngọc Hùng, Lê Thị Mỹ Hà	01/4/2024
6	2024_42	21/3/2024	B1 VAAS 24					
7	2024_43	25/3/2024	G-DV23	Gừng – <i>Zingiber officinale</i> Rosc.	Không	Công ty TNHH Giống cây mô Đất Việt		08/5/2024

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

8	2024_44	25/3/2024	DV23	Chuối đỏ Dacca - <i>Musa x paradisiaca</i> L. (<i>Musa acuminata</i> Colla x <i>Musa balbisiana</i> Colla.)	Không	Công ty TNHH Giống cây mô Đất Việt	Công ty TNHH Giống cây mô Đất Việt	09/4/2024
9	2024_46	03/4/2024	Tùng Linh	Hồ tiêu- <i>Piper nigrum</i> L.	Không	Cơ sở kinh doanh giống Tùng Linh	Lê Tùng Linh	08/5/2024
10	2024_47	09/4/2024	Ridley 1602	Việt quất - <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Công ty Luật TNHH T & G	Mountain Blue Orchards Pty Ltd	Ridley Bell.	15/5/2024
11	2024_57	11/4/2024	BB15	Bách bộ - <i>Stemona tuberosa</i> Lour	Không	Trung tâm Nghiên cứu Dược liệu Bắc Trung Bộ - Viện Dược liệu		08/5/2024
12	2024_58	02/5/2024	TLP 922	Mướp đắng - <i>Momordica charantia</i> L.	Không	Công ty TNHH Hạt Giống Tân Lộc Phát		08/5/2024
13	2024_51	11/4/2024	PHA407209	Lan hồ điệp - <i>Phalaenopsis Blume</i> (syn. x <i>Doritaenopsis hort.</i>)	Công ty TNHH Fresh Studio Innovations Asia	Anthura B.V.	Martinus Nicolaas, Gerardus van Swieten	05/6/2024
14	2024_52		PHA515727					
15	2024_53		PHA567431					
16	2024_54		PHA601241					
17	2024_55		PHA777638					
18	2024_59	3/5/2024	NSK207	Ngô - <i>Zea mays</i> L.	Không	Công ty Cổ phần Tập đoàn Thaibinh Seed	Trần Mạnh Báo, Đặng Cao Cường	17/5/2024
19	2024_60	3/5/2024	ST21	Lúa - <i>Oryza sativa</i> L.	Không	Doanh nghiệp Tư nhân Hồ Quang Trí	Hồ Quang Cua, Trần Tấn Phương, Nguyễn Thị Thu Hương	15/5/2024
20	2024_61	3/5/2024	VNR33	Lúa - <i>Oryza sativa</i> L.	Không	Công ty Cổ phần Tập đoàn Giống cây trồng Việt Nam	Công ty Cổ phần Tập đoàn Giống cây trồng Việt Nam	15/5/2024
21	2024_62	10/5/2024	Ridley 2503	Việt quất - <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Công ty Luật TNHH T & G	Mountain Blue Orchards Pty Ltd	Ridley Bell.	15/5/2024
22	2024_63	10/5/2024	Ridley 1702					
23	2024_64	14/5/2024	MTDJ-30000	Đậu tương -	Không	- Trường Đại	Nguyễn Châu	12/6/2024

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

24	2024_65		MTDJ-1600-1	<i>Glycine max</i> (L.) Merr		học Cần Thơ - Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS)	Thanh Tùng, Nguyễn Phước Đăng, Thái Kim Tuyến, Japan International Research Center for Agricultural Sciences	
25	2024_66	14/5/2024	Ridley 1607	Việt quất - <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Công ty Luật TNHH T & G	Mountain Blue Orchards Pty Ltd	Ridley Bell.	15/5/2024
26								
27	2024_67	17/5/2024	CLONE FANCY CL915D	Lan hồ điệp <i>Phalaenopsis</i> Blume	Trung tâm Hỗ trợ dịch vụ Giống cây trồng Việt Nam (VSC)	CLONE International Biotech Co., Ltd		05/6/2024
28	2024_68		CLONE PEARL CL913G					
29	2024_69		CLONE PARADISE CL926B					
30	2024_70		CLONE WONDERLAND CL155					
31	2024_71	22/5/2024	LT2 KBL	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Không	Công ty Cổ phần Giống cây trồng Nam Định	Vũ Hồng Quảng, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thanh Tùng, Nguyễn Thị Huế, Mai Văn Đức, Trần Quốc Toàn, Nguyễn Đăng Năm	5/6/2024
32	2024_72	31/5/2024	Gimli	Cần tây – <i>Apium graveolens</i> L. var. dulce (Mill.) Pers	Công ty TNHH Rijk Zwaan Việt Nam	Rijk Zwaan Zaadteelt En Zaadhandel B.V.		18/6/2024
33	2024_73	03/6/2024	Nếp 68	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Không	Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm	Nguyễn Trọng Khanh, Nguyễn Thị Bích Hợp, Phạm Văn Tính, Lê Thu Hằng, Trần Thị Yến, Phạm Thị Bích, Lê Thị Ngoan	10/6/2024

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ**QUYẾT ĐỊNH****Về việc cấp Bằng bảo hộ giống cây trồng**

Văn phòng Bảo hộ Giống cây trồng - Cục Trồng trọt công bố cấp bằng bảo hộ giống cây trồng sau:

TT	Số đơn	Số bằng	Tên giống	Tên loài	Chủ sở hữu bằng bảo hộ	Tác giả giống	Ngày cấp
1	2021_08	18.VN.2024	KU57	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Công ty TNHH Hạt giống Việt	Công ty Hữu hạn Khả Thành Hà Khẩu và đồng tác giả Công ty TNHH hạt giống Việt	22/02/2024
2	2019_126	31.VN.2024	SD57	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Công ty TNHH Hạt giống Việt	Tác giả chính Đỗ Thanh Tùng và đồng tác giả Vương Văn Khả	19/3/2024
3	2021_100	32.VN.2024	VDT99	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Võ Thị Minh Tuyền	Tác giả chính Võ Thị Minh Tuyền và đồng tác giả Đoàn Văn Sơn, Nguyễn Thị Huệ	19/3/2024
4	2017_255	52.VN.2024	DLFYINX1	Hoa Cúc - <i>Chrysanthemum</i> L.	Delifor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	17/5/2024
5	2017_260	53.VN.2024	DLFLIC11		Delifor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	17/5/2024
6	2017_261	54.VN.2024	DLFINN3		Delifor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	17/5/2024
7	2020_147	55.VN.2024	HUONG NGOC	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Công ty Cổ phần Giống cây trồng Cửu Long	Công ty Cổ phần Giống cây trồng Cửu Long	17/5/2024
8	2021_137	56.VN.2024	BĐR79	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp Duyên Hải Nam Trung Bộ	Phạm Văn Nhân và đồng tác giả: Hồ Huy Cường, Hồ Sỹ Công, Tạ Thị Huy Phú, Phạm Vũ Bảo, Nguyễn Hòa Hân, Nguyễn Thị Như Thoa, Nguyễn Trần Thủy Tiên, Trần Thị Mai	17/5/2024
9	2023_56	57.VN.2024	OM42	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long	Tác giả chính: Võ Thanh Toàn và đồng tác giả: Nguyễn Thúy Kiều Tiên, Trần Ngọc Thạch	17/5/2024
10	2020_124	58.VN.2024	DLFILV11	Hoa cúc – <i>Chrysanthemum</i> L.	Deliflor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	28/5/2024
11	2020_125	59.VN.2024	DLFABB12				
12	2020_126	60.VN.2024	DLFABB13				
13	2020_127	61.VN.2024	DLFBOHE7				
14	2020_128	62.VN.2024	DLFCIPR3				
15	2020_130	63.VN.2024	DLFMAT3				
16	2020_131	64.VN.2024	DLFROSC10				
17	2020_132	65.VN.2024	DLFROSSD5				
18	2021_19	66.VN.2024	OM46	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long	Tác giả chính: Nguyễn Thúy Kiều Tiên và đồng tác giả: Đồng Thanh	28/5/2024

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

						Liên, Trần Thu Thảo, Trần Anh Thái, Võ Thanh Toàn, Trần Ngọc Thạch, Nguyễn Khắc Thắng, Trần Đình Giới	
19	2021_36	67.VN.2024	Nếp Hương Tiền	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Viện Nghiên cứu Nông nghiệp Lộc Trời	Viện Nghiên cứu Nông nghiệp Lộc Trời	28/5/2024
20	2022_59	68.VN.2024	PNF-22	Nho - <i>Vitis</i> L.	Công ty TNHH Phú Nhuận Farm	Dương Thế Mạnh	29/5/2024
21	2023_35	69.VN.2024	CHIKUMASSH U T033	Nấm enokitake – <i>Flammulina velutipes</i> (Er.) Sing.	Chikumakasei Co., Ltd.	Tadao Ikeda.	29/5/2024
22	2023_36	70.VN.2024	CHIKUMASSH U H-150	Nấm - Bunasimeji - <i>Hypsizygus marmoreus</i> (Peck.) Bigelow	Chikumakasei Co., Ltd.	Tadao Ikeda.	29/5/2024
23	2023_37	71.VN.2024	CHIKUMASSH U CS-2	Nấm Shiitake – <i>Lentinus edodes</i> (Berk) Sing	Chikumakasei Co., Ltd.	Tadao Ikeda.	29/5/2024
24	2023_38	72.VN.2024	CA901		Hokken Co., Ltd.	Fumikazu Goto.	29/5/2024
25	2023_103	73.VN.2024	CA902		Hokken Co., Ltd.	Fumikazu Goto.	29/5/2024
26	2020_168	74.VN.2024	DLFJUJU1	Hoa Cúc - <i>Chrysanthemum</i> L.	Delifor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	29/5/2024
27	2020_169	75.VN.2024	DLPITA7				
28	2020_171	76.VN.2024	DLFROC5				
29	2020_172	77.VN.2024	DLSERE11				
30	2018_38	78.VN.2024	DLFFIR6				
31	2018_40	79.VN.2024	DLFGANA7				
32	2024_12	80.VN.2024	TM181	Ngô – <i>Zea mays</i> L.	Viện Nghiên cứu ngô	Nguyễn Xuân Thắng, Đoàn Bích Thảo, Nguyễn Thị Thu Hoài, Tạ Thị Thùy Dung, Phạm Thanh Thủy, Ngô Thị Minh Tâm, Lương Thái Hà, Nguyễn Chí Thành	10/6/2024
33	2024_13	81.VN.2024	TM237	Ngô – <i>Zea mays</i> L.	Viện Nghiên cứu ngô	Nguyễn Xuân Thắng, Lương Thái Hà	10/6/2024
34	2020_10	82.VN.2024	DLFROSY3	Hoa Cúc - <i>Chrysanthemum</i> L.	Delifor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	10/6/2024
35	2020_12	83.VN.2024	DLFHAI4				
36	2020_13	84.VN.2024	DLFASTR2				
37	2023_189	85.VN.2024	PY8	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.	Trung tâm Giống nông nghiệp Phú Yên	Phạm Thị Thỏ, Trần Hưng Lợi, Đỗ Thị Ngọc Lan, Phạm Lý Dương, Huỳnh Thị Hoài Phương	19/6/2024
38	2023_190	86.VN.2024	PY10	Lúa – <i>Oryza sativa</i> L.			

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

39	2024_22	87.VN.2024	G828	Ngô – <i>Zea mays</i> L.	Viện Nghiên cứu ngô	Nguyễn Văn Trường, Nguyễn Phúc Quyết, Bùi Mạnh Cường, Ngô Thị Minh Tâm, Nguy Thị Hương Lan, Nguyễn Thị Ánh Thu, Nguyễn Thị Kim Lệ, Nguyễn Như Tiền, Nguyễn Ngọc Diệp, Bùi Đức Hải	19/6/2024
----	---------	------------	------	--------------------------	---------------------	---	-----------

QUYẾT ĐỊNH

Về việc phục hồi hiệu lực Bằng bảo hộ giống cây trồng

Văn phòng Bảo hộ Giống cây trồng mới - Cục Trồng trọt công bố phục hồi hiệu lực bằng bảo hộ giống cây trồng sau:

TT	Số đơn	Số bằng	Tên giống	Tên loài	Chủ sở hữu bằng bảo hộ	Lý do phục hồi	Thời gian phục hồi từ ngày
1	2015_79	43.VN.2016	D4121Z	Ngô - <i>Zea mays</i> L.	Công ty TNHH Bayer Việt Nam	Chủ sở hữu đã thực hiện đầy đủ nghĩa vụ nộp phí duy trì hiệu lực bằng	03/11/2022
2	2020_29	14.VN.2022	TBH686	Lúa - <i>Oryza sativa</i> L.	Công ty Cổ phần Tập đoàn Thái Bình Seed	Chủ sở hữu đã khắc phục lý do bị đình chỉ (không nộp phí duy trì hiệu lực bằng)	15/5/2022
3	2018_50	70.VN.2018	DT82		Viện Di truyền nông nghiệp		17/8/2023
4	2013_56	101.VN.2017	MT10		Trần Thị Lợi		02/12/2023
5	2018_74	18.VN.2020	BT7KBL-01		Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm		06/3/2023
6	2022_16	37.VN.2022	ND4		Huỳnh Quang Tấn		08/6/2023
7	2018_202	05.VN.2021	An Phú		Hoàng Thị Giang		19/3/2021
8	2020_195	27.VN.2021	Long Hương 8117		Công ty HH ngành giống KTC Long Bình Tứ Xuyên		12/6/2023
9	2020_215	81.VN.2021	VNUA Đ2		Đậu tương - <i>Glycine max</i> L.		Học viện Nông nghiệp Việt Nam