

# ĐÁNH GIÁ ĐỘ TƯƠI CỦA TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*LITOPENAEUS VANNAMEI*) THÔNG QUA XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ HISTAMINE BẰNG HPLC VÀ QIM

LÊ NHẤT TÂM<sup>1\*</sup>, PHAN THUY XUÂN UYÊN<sup>1</sup>, HUỲNH NGUYỄN QUẾ ANH<sup>1</sup>,  
ĐOÀN NHƯ KHUÊ<sup>1</sup>, NGUYỄN THỊ HƯƠNG<sup>1</sup>, PHẠM MINH TUẤN<sup>1</sup>, TRẦN THIÊN ÂN<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Viện Công Nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh  
<sup>2</sup>Vườn Quốc Gia Bạch Mã, Lộc Trì, Phú Lộc, Thừa Thiên Huế  
\*Tác giả liên hệ: lenhattam@iuh.edu.vn  
DOIs: <https://doi.org/10.46242/jstiuh.v68i02.5079>

**Tóm tắt.** Trong bài báo này, chúng tôi trình bày một phương pháp xác định histamin trong tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) bằng kỹ thuật HPLC. Histamin được phản ứng tạo dẫn xuất với o-phthalaldehyde (OPA) trước cột và được đo bằng đầu dò huỳnh quang. Các điều kiện sắc ký được khảo sát và dung môi trích ly histamin từ tôm cũng được xem xét trong nghiên cứu này. Kết quả cho thấy, pha động có thành phần 80% etanol, khoảng tuyến tính: 55 ppb – 330 ppb và thời gian phản ứng tạo dẫn xuất tối ưu từ là 10 phút. Đáng chú ý, dung môi etanol cho thấy hiệu quả cao hơn trong việc trích ly histamin (%H = 81,95%) so với metanol thường được sử dụng (%H = 46,29%). Dựa trên kết quả nghiên cứu, chúng tôi đề xuất một phương pháp xác định histamin trong tôm thẻ chân trắng bằng kỹ thuật HPLC. Phương pháp đánh giá chỉ số chất lượng (QIM) được sử dụng để đánh giá chất lượng cảm quan tôm thẻ chân trắng được lưu trữ ở nhiệt độ 0°C trong 10 ngày, và chỉ số chất lượng (QI) được ghi nhận theo ngày lưu trữ. Độ tươi của tôm thẻ chân trắng được ước tính bằng cấp độ phân loại dựa trên sự kết hợp của hàm lượng histamin và chỉ số QI.

**Từ khóa.** histamin, *Litopenaeus vannamei*, HPLC, QIM

## 1 GIỚI THIỆU

Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) là một trong những loài quan trọng nhất về mặt thương mại có nhu cầu liên tục tăng trên thị trường thế giới do đặc tính riêng biệt về hương vị, kết cấu và giá trị dinh dưỡng cao [1, 2]. Tuy nhiên, tôm nhanh hỏng sau khi thu hoạch nếu không được xử lý thích hợp [2]. Tôm thường được bảo quản trong nước đá sau khi thu hoạch, sau đó được cấp đông, phân phối đến thị trường và người tiêu dùng. Do đó, chất lượng tôm bị suy giảm mạnh trong quá trình bảo quản trong nước đá. Sự biến đổi chất lượng của tôm nói riêng và thủy sản nói chung xảy ra do 3 yếu tố gồm tác động enzyme nội sinh, tác động vi sinh vật và tác động bởi các phản ứng hóa học [3]. Những tác động này gây ra những biến đổi trạng thái cảm quan, thành phần hóa học, thành phần vi sinh vật và cấu trúc vật lý. Từ đây, các phương pháp đánh giá chất lượng như phương pháp cảm quan, phương pháp hóa học, phương pháp vi sinh vật và phương pháp vật lý được hình thành [4]. Trong quá trình bảo quản, protein phân hủy sinh ra một số amin sinh học. Trong đó, năm amine sinh học gồm histamin (His), cadaverin (Cad), putrescin (Put), spermidin (Spd) và Spermin (Spm) thường được xem xét để đánh giá chất lượng [5]. Đặc biệt, histamine được quan tâm nghiên cứu nhiều nhất do độc tính của nó ảnh hưởng đến người tiêu dùng và hàm lượng histamine cho phép dùng để đánh giá chất lượng của thủy sản [6]. Việc xác định histamine bằng kỹ thuật HPLC đã được nhiều nhà nghiên cứu thực hiện, tuy nhiên, histamine gần như chỉ mới được xác định bằng kỹ thuật HPLC trên tôm sú [7, 8], riêng đối với tôm thẻ chân trắng vẫn còn rất ít, chưa cụ thể, chưa có tiền trình phân tích hoàn chỉnh từ tôm thẻ chân trắng. Quality index method (QIM) là phương pháp đánh giá cảm quan cho điểm trên các thuộc tính bao gồm màu sắc, mùi, vị và cấu trúc. Điểm khác với phương pháp EC scheme hay Quantitative Descriptive Analysis, QIM được xây dựng trên một loài cụ thể [9] và điểm chất lượng (QI) được đánh giá trên từng thuộc tính. Điều này giúp cho các chuyên gia đánh giá dễ dàng cảm nhận mức độ biến đổi của các thuộc tính cảm quan. Kết quả đánh giá QIM là tổng số điểm QI đánh giá trên từng thuộc tính, và cho thấy tương quan tuyến tính với thời gian bảo quản. Vì vậy, dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính để ước tính hạn sử dụng còn lại.

## ĐÁNH GIÁ ĐỘ TƯƠI CỦA TÔM THẺ CHÂN TRẮNG...

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày phát triển phương pháp xác định histamine trên mẫu tôm thẻ chân trắng bằng kỹ thuật HPLC, có kết hợp tạo dẫn xuất tiền cột với *o*-phthalaldehyd (OPA). Xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính giữa QI và ngày bảo quản. Phân loại chất lượng tôm thẻ chân trắng được phân loại dựa trên hàm lượng histamine và QI.

## 2 THỰC NGHIỆM

### 2.1 Hóa chất, mẫu phân tích và thiết bị

Hoá chất sử dụng: OPA, 2-mecaptoetanol,  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , etanol, metanol đều thuộc loại PA(Merck).

Tôm thẻ chân trắng được cung cấp từ chợ đầu mối Bình Điền (thuộc thành phố Hồ Chí Minh). Tôm được lựa chọn có cấu trúc phù hợp, còn sống phục vụ cho thí nghiệm. Lượng tôm dùng là 20 kg có kích cỡ 30-35 con/kg. Sau khi thu mua, tôm rửa nước sạch, cho vào 200 túi polyethylene đã vô trùng. Các túi mẫu được bảo quản trong thùng polystyrene chứa nước đá bào với tỷ lệ tôm: đá = 1: 2 (w/w) và đưa đến phòng thí nghiệm. Tại phòng thí nghiệm, các túi mẫu được đặt trong thùng xốp polystyrene và giữ lạnh ở 0°C bằng thiết bị refrigerator dùng cho tất cả các thí nghiệm khảo sát.

Thiết bị HPLC Agilent 1260 (Agilent Technologies, USA), đầu dò huỳnh quang (Agilent 1260 detector), cột sắc ký RP  $\text{C}_{18}$  4mm - 250 mm - 5 $\mu\text{m}$  (Nacalai Tesque, Japan).

Màng lọc Whatman N<sup>o</sup>1 0,45  $\mu\text{m}$  để lọc mẫu; bể siêu âm Kerry để đuổi khí hòa tan trong pha động, trong dung dịch mẫu; ly tâm bằng máy Megafuge 2.0.

### 2.2 Các phương pháp thực nghiệm

Nội dung các phương pháp thực nghiệm bao gồm 3 phần:

- + Phần 1: Xây dựng điều kiện xác định histamine bằng kỹ thuật HPLC: khảo sát thành phần pha động, khảo sát thời gian bền dẫn xuất, khảo sát khoảng tuyến tính
- + Phần 2: Xây dựng tiến trình chiết histamine từ mẫu tôm thẻ chân trắng, xác định hiệu suất thu hồi
- + Phần 3: Khảo sát biến đổi trạng thái cảm quan.

Dựa trên một số nghiên cứu Lasekan (2000), Ben-Gigirey cùng cộng sự (2000), Soleas (1999), Koros cùng cộng sự (2008) [10], TCVN 11047:2015. Điều kiện chạy sắc ký ban đầu dùng khảo sát như sau: tạo dẫn xuất tiền cột với OPA (precolum), cột sắc ký RP  $\text{C}_{18}$  4mm - 250 mm (Nacalai Tesque, Japan), nhiệt độ cột 40°C, pha động Acetonitrile-  $\text{H}_2\text{O}$  hoặc  $\text{CH}_3\text{OH}$ -  $\text{H}_2\text{O}$  hoặc Natri acetat 0,05M – metanol, đầu dò huỳnh quang  $\lambda_{\text{EX}} = 359$  nm,  $\lambda_{\text{EM}} = 445$  nm, tốc độ dòng 1ml/phút. Trong đó, hệ dung môi Natri acetat 0,05M – metanol chạy theo chế độ dòng biến đổi như sau: từ phút 0 đến 10 tỷ lệ Natriacetat : metanol là 74 : 26; từ phút 10 đến 25 tỷ lệ Natriacetat : metanol là 62 : 38; từ phút 25 đến 43 tỷ lệ Natriacetat : metanol là 25 : 75; từ phút 43 đến 50 tỷ lệ Natriacetat : metanol là 50 : 50; từ phút 50 đến 60 tỷ lệ Natriacetat : metanol là 74 : 26.

#### 2.2.1 Khảo sát loại dung môi pha động

Histamine tạo dẫn xuất tiền cột với *o*-phthalaldehyd (OPA) như sau: Hút 200  $\mu\text{l}$  Histamine 110 ppb + 800  $\mu\text{l}$   $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  (có mặt 2-mecaptoetanol) + 150  $\mu\text{l}$  OPA. Hút 50  $\mu\text{l}$  tiêm vào hệ thống HPLC. Ba dung môi khảo sát gồm đệm natri acetate- metanol, acetonitril-  $\text{H}_2\text{O}$ : tỷ lệ 60:40, metanol- nước tỷ lệ 80:20. Chọn dung môi có khả năng phân giải tốt.

#### 2.2.2 Khảo sát thành phần pha động

Từ kết quả 2.2.1 tiến hành khảo sát để chọn thành phần pha động tối ưu.

#### 2.2.3 Khảo sát thời gian tạo dẫn xuất

Từ kết quả 2.2.1; 2.2.2 tiến hành khảo sát khoảng thời gian lượng dẫn xuất tạo ra nhiều nhất trước khi tiêm vào hệ thống HPLC. Mục đích của khảo sát này nhằm đảm bảo độ nhạy của phương pháp.

#### 2.2.4 Khảo sát khoảng tuyến tính của phương pháp

Tiến hành chạy sắc ký trên các chuẩn lần lượt 25 ppb, 55 ppb, 110 ppb, 165 ppb, 220 ppb, 330 ppb, 440 ppb để chọn khoảng tuyến tính ứng dụng của phương pháp với điều kiện chạy sắc ký có từ mục 2.2.1; 2.2.2; 2.2.3.

#### 2.2.5 Khảo sát dung môi chiết histamine từ tôm

Mẫu sau khi lột vỏ, bỏ đầu được xay mịn, trộn đều đồng nhất, tiến hành chiết bằng 2 hệ dung môi triclo acetat (TCA), metanol [10]. Dịch chiết được đưa qua cột SPE  $\text{C}_{18}$  (Agilent) để loại tạp. Sau đó tiến hành

chạy sắc ký với điều kiện thu được từ thí nghiệm 2.2.1; 2.2.2; 2.2.3; 2.2.4. Từ kết quả thu được sẽ định hướng cho việc chọn dung môi trích ly.

### 2.2.6 Quality index method (QIM) cho tôm thẻ chân trắng

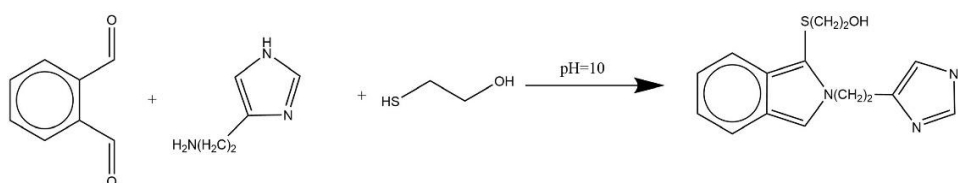
QIM cho tôm thẻ chân trắng được thực hiện như thông báo của Lê Nhất Tâm và cộng sự (2021) [11, 12]. Các mẫu bảo quản ở 0°C được tiến hành đánh giá chất lượng cảm quan theo ngày bảo quản. Điểm chất lượng (QI) được xử lý trên phần mềm MS. Excel (2010) để đưa ra phương trình hồi quy tuyến tính.

### 2.2.7 Phương pháp xử lý số liệu

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

## 3 KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

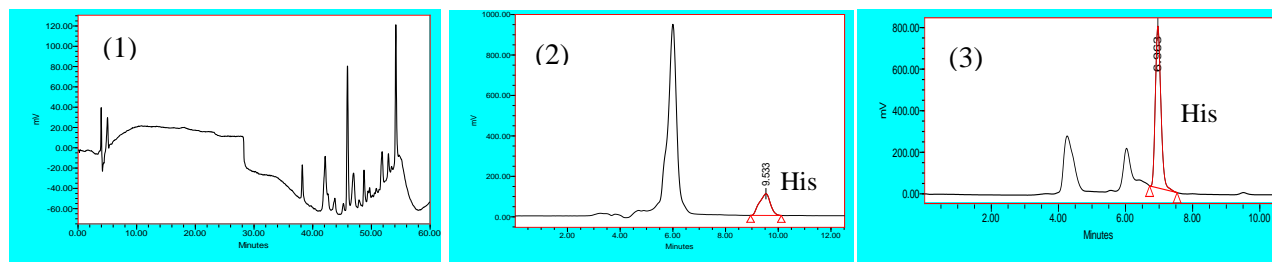
Một số thuốc thử thường dùng cho các quá trình tạo dẫn xuất với các amine sinh học là: FMOC (9-fluorenylmethylchloroformate), ninhydrin (2,2-dihydroxy-1,3-indandione), OPA (ortho-phthalaldehyde), PITC (phenylisothio-cyanate). Trong quá trình nghiên cứu chúng tôi đã chọn OPA làm thuốc thử tạo dẫn xuất tiền cột (precolumn). Hình 1 là phản ứng tạo dẫn xuất như sau [13]:



Hình 1. Phản ứng tạo dẫn xuất giữa histamine và OPA có mặt 2-mecaptoetanol

### 3.1 Khảo sát thành phần pha động

Nghiên cứu trên 3 hệ pha động: (1) đối với hệ dung môi pha động là natri acetat- metanol: chạy theo chế độ dòng biến đổi (gradient), (2) đối với hệ dung môi pha động là acetonitril- H<sub>2</sub>O: chạy theo chế độ đẳng dòng (isocratic) theo tỷ lệ 60:40, (3) đối với hệ dung môi pha động là metanol- nước: chạy theo chế độ đẳng dòng (80:20).



Hình 2. Sắc ký đồ thu được tương ứng với các thành phần pha động khác nhau (His: peak dẫn xuất histamin) (1) natri acetat - metanol (chế độ Gradient); (2) aceton - H<sub>2</sub>O (60: 40) (chế độ đẳng dòng; (3) metanol - H<sub>2</sub>O (80:20) (chế độ đẳng dòng)

Kết quả cho thấy là hệ dung môi pha động metanol - nước (80:20) có khả năng tách được histamin, tạo peak khá cân đối, đặc trưng nhất trên sắc ký đồ. Dựa vào kết quả chọn hệ dung môi metanol - H<sub>2</sub>O. Tiến hành khảo sát cơ tỷ lệ metanol - H<sub>2</sub>O khác nhau. Bảng 1 là các thông số quá trình sắc ký bao gồm: thời gian chết T<sub>M</sub>, thời gian lưu T<sub>R</sub>, hệ số phân bố K, hiệu quả cột N khi khảo sát ở 3 hệ dung môi khác nhau, bao gồm metanol - H<sub>2</sub>O : 70 : 30 ; 75 : 25 ; 80 : 20. Kết quả trên Bảng 1 cho thấy metanol:H<sub>2</sub>O (80:20) có số lượng đĩa lý thuyết là cao nhất, với N = 1491 so 1054 với metanol - H<sub>2</sub>O 7:25 và 972 với metanol - nước 70:30, từ phút thứ 10 phút đến phút thứ 12 trở đi thì cột đã quay trở về trạng thái ban đầu, vì vậy chọn chu kỳ chạy mẫu là chạy là 12 phút.

## ĐÁNH GIÁ ĐỘ TƯƠI CỦA TÔM THẺ CHÂN TRẮNG...

Bảng 1. Kết quả các thông số tách từ tiến trình sắc ký HPLC, pha động là metanol- nước với tỷ lệ khác nhau

Các thông số tiến trình tách sắc ký	Metanol- H <sub>2</sub> O 70: 30	Metanol- H <sub>2</sub> O 75: 25	Metanol- H <sub>2</sub> O 80: 20
T <sub>M</sub> (phút)	4,079	4,124	4,211
T <sub>R</sub> (phút)	7,856	7,173	6,964
Hệ số K'	0,896	0,769	0,675
Hiệu quả cột (N)	972	1.054	1491

### 3.2 Khảo sát thời gian phản ứng tạo dẫn xuất

Khảo sát lượng dẫn xuất tạo ra theo thời gian phản ứng cho phép xác định lượng dẫn xuất tạo ra lớn nhất. Từ đó xác định thời điểm tiêm vào hệ thống HPLC. Mẫu chuẩn histamine 330 ppb được tạo dẫn xuất với OPA, có mặt 2-mecaptoetanol dùng để khảo sát. Kết quả được trình bày như Bảng 2.

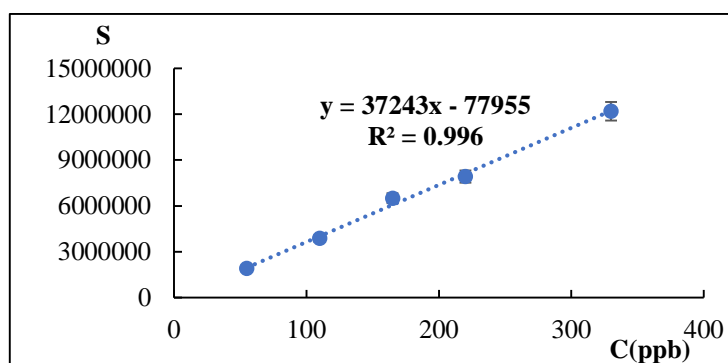
Bảng 2. Thời gian bền của dẫn xuất histamin thể hiện trên sắc ký đồ HPLC.

Thời gian (phút)	Diện tích peak (S. 10 <sup>3</sup> )
4	3.786
5	6.519
6	7.953
7	10.798
8	12.058
10	12.156
11	7.485

Kết quả phân tích trên HPLC thể hiện ở Bảng 2 cho thấy lượng dẫn xuất được tạo ra ở phút thứ 10 là nhiều nhất thông qua diện tích S của peak trên sắc ký đồ.

### 3.3 Khảo sát khoảng tuyến tính

Tiến hành chạy sắc ký trên các chuẩn lần lượt 25 ppb, 55 ppb, 110 ppb, 165 ppb, 220 ppb, 330 ppb, 440 ppb để chọn khoảng tuyến tính. Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa diện tích peak S và nồng độ trong khoảng từ 55 ppb đến 330 ppb. Hình 3 là kết quả xử lý trên phần mềm MS Excel (2010). Phương trình hồi quy tuyến tính có dạng  $y = 37243x - 77955$  ( $R^2 = 0.996$ ).



Hình 3. Đường chuẩn biểu thị tương quan giữa nồng độ histamin và diện tích peak trong khoảng khảo sát

### 3.4 Khảo sát kết quả trích ly histamine bằng các dung môi khác nhau

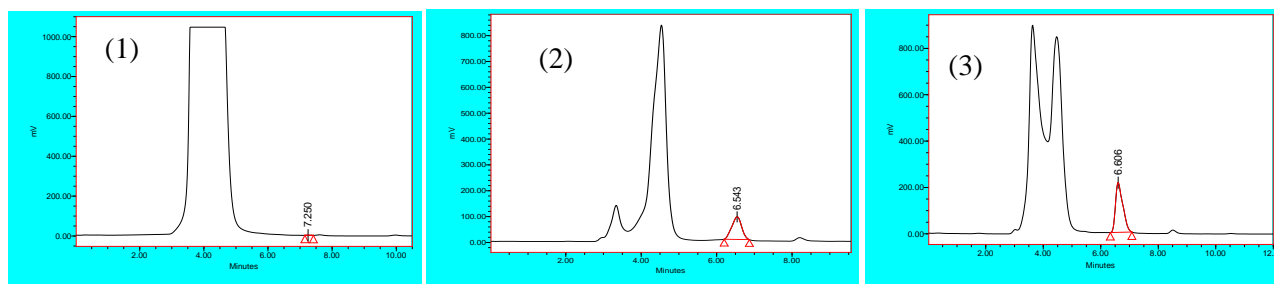
Tiến trình khảo sát chọn lựa dung môi cho quá trình trích ly histamine từ mẫu tôm thẻ chân trắng được thực hiện trên 2 dung môi TCA 10% [14] và metanol 75% [15]. Tiêm 2 mL chuẩn histamine 12,8ppm vào 12,78 gam mẫu tôm sống, tiến hành trích ly, thu dịch, tạo dẫn xuất, phân tích và tính hiệu suất thu hồi theo công thức:

$$\%H = \frac{(\text{Lượng ppm his tìm thấy} - \text{lượng ppm his mẫu tôm sống})100\%}{\text{Lượng ppm histamine tiêm vào}}$$

Kết quả khảo sát trích ly histamine bằng các dung môi khác nhau được trình bày như Bảng 4. Hình 3 là các sắc ký đồ của histamine ghi nhận khi trích ly bởi các dung môi khác nhau.

Bảng 3. Hiệu suất thu hồi khi chiết xuất bằng các dung môi khác nhau

Dung môi	TCA	Metanol				Etanol			
Hiệu suất thu hồi (%)	Không thể xác định	Lần 1	Lần 2	Lần 2	Giá trị TB	Lần 1	Lần 2	Lần 2	Giá trị TB
		45,15%	47,25%	46,47%	46,29%	80,17%	82,27%	83,42%	81,95%



Hình 4. Sắc ký đồ tương ứng với dung môi sử dụng trích ly lần lượt là: (1) TCA; (2) metanol (3) etanol

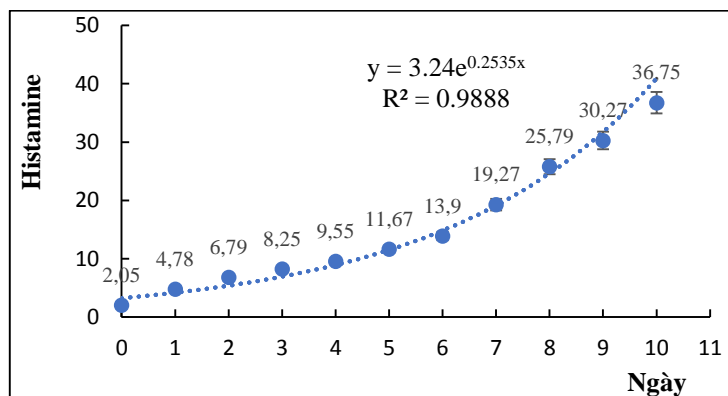
Kết quả cho thấy với dung môi TCA 10%, peak histamine thể hiện trên sắc đồ rất thấp, không thể tính được %H. Với dung môi metanol 75%, peak histamine được xác định ở thời gian lưu 6,543 phút,  $\%H_{tb} = 46,29\%$ . Điều này cho thấy dung môi metanol 75% có độ phân cực kém hơn trích ly histamine trong tôm và cho hiệu suất cao hơn. Từ nhận xét này, chúng tôi chọn dung môi là etanol tuyệt đối làm nghiên cứu tiếp theo. Kết quả cho thấy peak histamine xuất hiện phút 6,606, hiệu suất thu hồi trung bình  $\%H_{tb} = 81,95\%$ . Đây là điểm mới của nghiên cứu so với những nghiên cứu trước đây. Dung môi etanol vượt trội so với dung môi TCA 10% và cả metanol 75%. Việc sử dụng dung môi TCA cho tiến trình trích ly cho hiệu suất không đáng kể có thể giải thích do TCA có tính acid và histamine có tính base, vì vậy, phản ứng xảy ra giữa hai thành phần này làm giảm đáng kể thành phần histamine. Từ kết quả nghiên cứu, kết hợp kết quả nghiên cứu điều kiện chạy sắc ký, Quy trình định lượng histamin từ mẫu tôm thẻ chân trắng bằng phương pháp tạo dẫn xuất tiền cột với OPA trên thiết bị HPLC được hình thành như Hình 4. Quy trình cho thấy sự khác biệt về giai đoạn xử lý mẫu khi sử dụng etanol làm dung môi trích ly so với phương pháp theo tiêu chuẩn TCVN 11047:2015. Sự thay đổi này làm tăng hiệu suất thu hồi trong tiến trình trích ly như đã trình bày trên. Ngoài ra, dịch sau khi trích ly được làm sạch trên cột SPE  $C_{18}$  (Agilent) nên sắc ký đồ thu được có đường nền đẹp hơn, ít peak tạp hơn so với nghiên cứu xác định histamine trên tôm sú của Lê Nhất Tâm và cộng sự (2015) [16].

### 3.5 Khảo sát hàm lượng histamine ở mẫu tôm thẻ chân trắng bảo quản 0°C

Sơ đồ quy trình phân tích được thể hiện tóm tắt trên Hình 4.

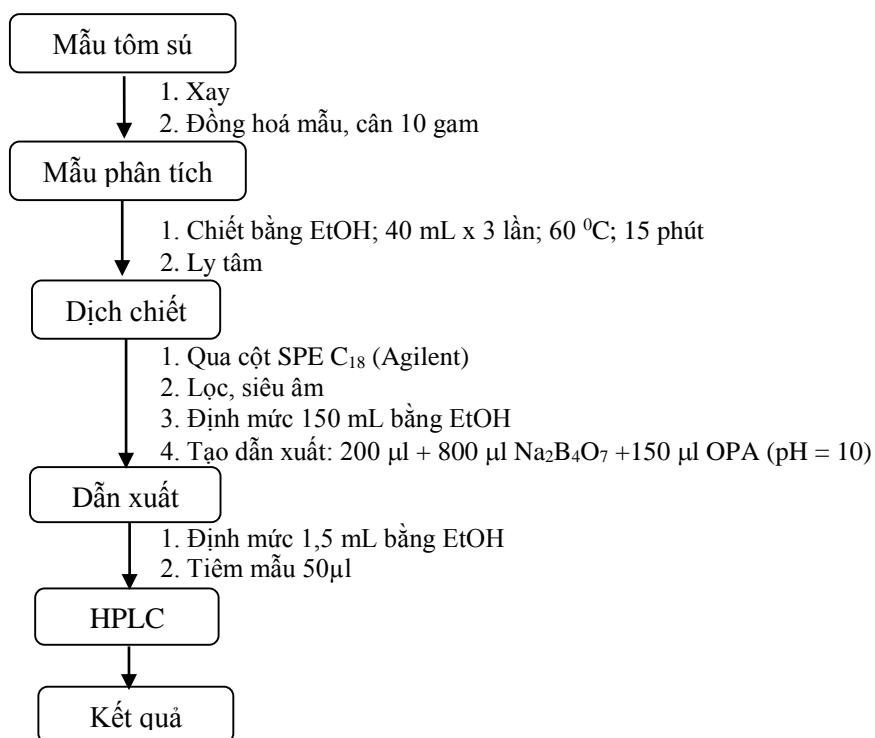
Histamine là một amine sinh học, hình thành từ histidine qua phản ứng decarboxyl hóa, vi khuẩn *Achromobacter histamineum* được xác định liên quan đến tiến trình này [17]. Vì vậy, lượng histamine sẽ tăng chậm ở giai đoạn đầu và nhanh ở giai đoạn sau. Hình 5 là giá trị histamine (mg/1000g) ở các mẫu khảo sát theo ngày bảo quản ở 0°C.

## ĐÁNH GIÁ ĐỘ TƯƠI CỦA TÔM THẺ CHÂN TRẮNG...



Hình 5. Giá trị histamine biến đổi trong 10 ngày bảo quản

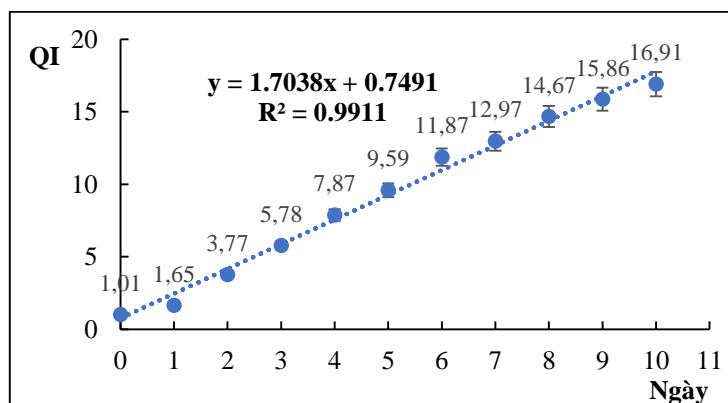
Kết quả khảo sát ở Hình 5 cho thấy, giai đoạn tăng chậm từ ngày 0 đến ngày 4, giai đoạn tăng nhanh từ ngày 5 đến ngày 10. Đồ thị có dạng hàm mũ, phương trình hồi quy  $y = 3.24e^{0.2535x}$  ( $R^2 = 0.9545$ ). Theo tiêu chuẩn của EU và FDA ngưỡng giá trị histamine cho phép tương ứng 200 mg/1000g và 50 mg/1000 g [18]. Như vậy, các mẫu khảo sát đều đạt yêu cầu về tiêu chuẩn histamine.



Hình 6. Quy trình thực nghiệm để định lượng histamin từ mẫu tôm thẻ chân trắng

### 3.6 Kết quả khảo sát độ tươi tôm theo QIM

Các giá trị QI của 4 mẫu thí nghiệm đều có sự khác biệt về mặt thống kê giữa các ngày bảo quản, và được trình bày ở Hình 6.



Hình 7. Biến đổi điểm QI của các mẫu tôm thẻ chân trắng bảo quản theo ngày ở 0°C

Kết quả khảo sát biến đổi QI cho thấy điểm chất lượng tăng tuyến tính theo ngày bảo quản, phương trình hồi quy tuyến tính có dạng  $y = 1.7126x + 0.5977$  ( $R^2 = 0.9923$ ). Trạng thái cảm quan được ghi nhận như sau: tôm ở ngày 0 đến ngày 2 tôm gần như không có sự biến đổi, điểm QI tương ứng từ 1,01 đến 3,77. Từ ngày 3 đến ngày 4 tôm có biến đổi một phần như có xuất hiện đốm đen nhưng rất ít, thịt vẫn chắc, gắn kết vào vỏ, màu thịt có màu trắng đục, độ sáng, độ bóng của lớp vỏ giảm không đáng kể, tôm không xuất hiện mùi tanh, điểm QI tương ứng từ 5,78 đến 7,87. Từ ngày 5 đến ngày 6 tôm biến đổi khá rõ rệt thịt hơi ngả vàng, đốm đen thấy rõ khoảng 30% bề mặt, đầu hơi lỏng không gắn chắc vào thân, vỏ tôm bị bẻ một phần, mất độ sáng bóng, điểm QI tương ứng từ 9,59 đến 11,87. Từ ngày 7 đến ngày 8 thịt tôm có màu vàng nhạt, vỏ mềm, đục, thấy rõ phân thịt sau lớp vỏ, đầu tôm lỏng, có xuất hiện mùi tanh nhưng không mạnh, đốm đen chiếm khoảng 50% bề mặt tôm, điểm QI tương ứng là 12,97 đến 14,67. Tôm ở ngày 9 và ngày 10 xuất hiện những tín hiệu ươn hỏng rõ rệt, đốm đen gần như xuất hiện trên 80% bề mặt, đầu tôm rụng, tôm có mùi tanh mạnh, điểm QI tương ứng từ 15,85 đến 16,91, tôm có chất lượng cảm quan không đáp ứng cho người tiêu dùng. Kết quả nghiên cứu có thể kết luận phân hạng chất lượng tôm như sau: tôm có  $QI \leq 3,77$  xuất sắc,  $3,77 < QI \leq 7,87$  tốt,  $7,87 < QI \leq 11,87$  chấp nhận,  $11,87 < QI \leq 14,67$  tạm chấp nhận,  $QI > 14,67$  không đáp ứng cho người tiêu dùng.

Từ những kết quả khảo sát hàm lượng histamine và QI trên các mẫu tôm thẻ chân trắng bảo quản ở 0°C trong 10 ngày bảo quản. Phân loại chất lượng tôm thẻ chân trắng theo hàm lượng histamine (His) và QI được trình bày ở Bảng 5.

Bảng 4. Phân loại chất lượng tôm thẻ chân trắng theo hàm lượng histamine (His) và QI

Phân loại	Xuất sắc	Tốt	Chấp nhận	Tạm chấp nhận
Histamine (mg/1000g)	$2,05 < His \leq 6,79$	$6,79 < His \leq 9,55$	$9,55 < His \leq 13,90$	$13,90 < His \leq 25,79$
QI	$QI \leq 3,77$	$3,77 < QI \leq 7,87$	$7,87 < QI \leq 11,8$	$11,87 < QI \leq 14,67$

#### 4 KẾT LUẬN

Phương pháp xác định histamine bằng kỹ thuật HPLC bằng cách tạo dẫn xuất OPA tiền cột, detector huỳnh quang đã được xây dựng. Đặc biệt, kết quả của nghiên cứu cho thấy rằng hiệu quả trích ly bằng etanol tinh khiết cải thiện đáng kể so với sử dụng metanol 75% theo phương pháp TCVN 11047:2015. QIM cho tôm thẻ chân trắng được áp dụng vào nghiên cứu cho thấy chất lượng tôm có thể phân loại theo chất lượng dựa trên sự kết hợp chỉ số QI và hàm lượng histamine trong tôm. Kết quả của nghiên cứu có thể là cơ sở xem xét lại việc chọn dung môi trích ly trong khâu xử lý mẫu ở số một tiêu chuẩn liên quan.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. N. Pushparajan, and P. Soundarapandian, "Recent farming of marine black tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius) in South India," *African Journal of Basic & Applied Sciences*, 2(1-2): p. 33-36, 2010.

## ĐÁNH GIÁ ĐỘ TƯƠI CỦA TÔM THÈ CHÂN TRẮNG...

- [2]. D.S. Dabadé, H.M. Den Besten, P. Azokpota, M.R. Nout, D.J. Hounhouigan & M.H. Zwietering, "Spoilage evaluation, shelf-life prediction, and potential spoilage organisms of tropical brackish water shrimp (*Penaeus notialis*) at different storage temperatures," *Food microbiology*, 48, 8-16, 2015.
- [3]. A.E. Ghaly, D. Dave, S. Budge, & M.S. Brooks, "Fish spoilage mechanisms and preservation techniques," *American journal of applied sciences*, 7(7), 859, 2010.
- [4]. L.M. Nollet, & F. Toldrá (Eds.), "Handbook of seafood and seafood products analysis," *CRC Press*, 2009.
- [5]. Le Nhat Tam, Huynh Nguyen Que Anh, Le tan Khanh trinh, Doan Nhu Khue, Tran Thi Van Thi, Do Thi Bich Thuy, "The Effect of organic acids salt on the quality and shelf-life of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in storage at 0 °C," *Vietnam Journal of Chemistry*, 55(4E23), 153-159, 2017.
- [6]. R. Paseiro-Cerrato, A.R.B. De Quirós, R. Sendon, J. Cruz, & P. Paseiro-Losada, "Analysis of histamine as indicator of shelf-life in seafood," *SLIM 2010*, 23, 2010.
- [7]. N.T. Le, N.K. Doan, T.N. Ba, & T.V.T. Tran, "Towards improved quality benchmarking and shelf life evaluation of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)," *Food chemistry*, 235, 220-226, 2017
- [8]. L.N. Tam, P.T. Xuan Uyen, & T.H. Anh Vu, "Effect of treatment on quality of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)," *Vietnam Journal of Chemistry*, 56(6), 773-777, 2018
- [9]. E. Martinsdóttir, R. Schelvis, G. Hyldig, & K. Sveinsdóttir, "Sensory evaluation of seafood: methods," *Fishery Products: Quality, safety and authenticity*, 425-443, 2009
- [10]. L.M. Nollet, and F. Toldrá, "Food analysis by HPLC," *CRC press*, 2012
- [11]. N.T. Le, N. Q .A. Huynh, N.K. Doan, T.X.U. Phan, B.T. Nguyen, T.V.T. Tran, & H.V.A. Truong, "The combination of microbiological, biochemical, and quality index methods in quality evaluation of pacific white shrimps (*Litopenaeus vannamei*) preserved at 0 C," *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 63(2), 45-51, 2021.
- [12]. Lê Nhất Tâm, "Nghiên Cứu Kéo Dài Hạn Sử Dụng Tôm Thè Chân Trắng (*Litopenaeus Vannamei*) Bởi Các Hoạt Chất Sinh Học Bảo Quản 0° C," *Journal of Science and Technology-IUH*, 53(05), 2021.
- [13]. K. Blau, and J. Halket, "Handbook of derivatives for chromatography," *Journal of Forensic Toxicology & Pharmacology*, 1993.
- [14]. Y.H. Tsai, H.F. Kung, T.M. Lee, H.C. Chen, S.S. Chou, C.L. Wei, & D.F. Hwang, "Determination of histamine in canned mackerel implicated in a food borne poisoning," *Food control*, 16(7), 579-585, 2005.
- [15]. K. Bjornsdottir-Butler, F.A. Bencsath, & J.R.A. Benner, "Modification and single-laboratory validation of AOAC official method 977.13 for histamine in seafood to improve sample throughput," *Journal of AOAC International*, 98(3), 622-627, 2015.
- [16]. Le Nhat Tam; Tran ThiVan Thi; Tran Bich Lam, "Preliminary Study On Evaluation Of Prawn Quality Through The Combined Between Sensory Method And Examination Of Indicators As Trimethyl Amine, Total Vapor Bases, Histamine," *Tạp Chí Hóa Học*, 2015.
- [17]. Lê Nhất Tâm., Phan Thụy Xuân Uyên., Huỳnh Nguyễn Quế Anh., Đoàn Như Khuê., & Nguyễn Bá Thanh, "Đánh Giá Biến Đổi Hóa Sinh, Cảm Quan, Và Hạn Sử Dụng Của Tôm Sú (*Penaeus Monodon*) Xử Lý Bằng Các Điều Kiện Khác Nhau," *Journal of Science and Technology-IUH*, 39(03), 2019
- [18]. K.B. Biji, C.N. Ravishankar, R. Venkateswarlu, C.O. Mohan, & T.S. Gopal, "Biogenic amines in seafood: a review," *Journal of food science and technology*, 53, 2210-2218, 2016.



## EVALUATING THE FRESHNESS OF *LITOPENAEUS VANNAMEI* THROUGH THE DETERMINATION OF HISTAMINE INDEX BY HPLC AND QUALITY INDEX METHOD (QIM)

LE NHAT TAM<sup>1\*</sup>, PHAN THUY XUAN UYEN<sup>1</sup>, HUYNH NGUYEN QUE ANH<sup>1</sup>,  
DOAN NHU KHUE<sup>1</sup>, NGUYEN THI HUONG<sup>1</sup>, PHAM MINH TUAN<sup>1</sup>, TRAN THIEN AN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biotechnology and Food Technology, Industrial University of Ho Chi Minh City*

<sup>2</sup>*Bach Ma National Park, Loc Tri, Phu Loc, Thua Thien Hue Province*

\*Corresponding author: lenhattam@iuh.edu.vn

**Abstract.** In this paper, we present a method for determining histamine in *Litopenaeus vannamei* using HPLC. Histamine is derivatized with o-phthalaldehyde (OPA) precolumn and measured by fluorescence detector. Chromatographic conditions are investigated and the solvent for histamine extraction from shrimp is also considered in this study. The results show that the mobile phase containing 80% ethanol, a linear concentration range of 55 ppb – 330 ppb, and a derivatization reaction time of 10 minutes are optimal. Notably, ethanol solvent exhibits higher efficiency in histamine extraction (%H = 81,95%) than the commonly used metanol (%H = 46.29%). Based on our findings, we propose a method for determining histamine in *Litopenaeus vannamei* using HPLC. Quality Index Method (QIM) is utilized for sensory quality assessment of *Litopenaeus vannamei* stored at 0°C for 10 days, and the quality index (QI) is recorded according to the storage date. The freshness of *Litopenaeus vannamei* is estimated by a classification level based on a combination of histamine content and QI.

**Keywords.** histamin, *Litopenaeus vannamei*, HPLC, QIM

Ngày gửi bài: 16/05/2023

Ngày chấp nhận đăng: 24/08/2023