

KÉO DÀI HẠN SỬ DỤNG VÀ ỨC CHẾ TIẾN TRÌNH TẠO ĐÓM ĐEN Ở TÔM THẺ TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*) BẰNG CÁC CHIẾT XUẤT TỰ NHIÊN

LÊ NHẤT TÂM

Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh
lenhattan@iuh.edu.vn

Tóm tắt. Mục đích của nghiên cứu này là kéo dài hạn sử dụng và ức chế tiến trình tạo đốm đen ở tôm thẻ trắng (*Litopenaeus vannamei*) bằng các dung dịch polyphenol trích ly từ rong nho, rong sụn và vỏ bưởi. Các mẫu tôm được nhúng trong các dung dịch có hàm lượng polyphenol 2.0%, trong 10 phút, ở 4 °C và bảo quản ở 0 °C trong 15 ngày. Các chỉ số chất lượng gồm tổng lượng vi sinh vật hiếu khí, tổng base dễ bay hơi ở dạng nito, trimethylamine, giá trị K và mật độ đốm đen được đánh giá theo ngày bảo quản. Kết quả cho thấy, giá trị của các chỉ số chất lượng tăng theo thời gian bảo quản cùng sự giảm chất lượng tôm. Các mẫu tôm xử lý có hạn sử dụng cao so với mẫu đối chứng (8 ngày) và tiến trình tạo đốm đen chậm hơn. Đặc biệt, mẫu được xử lý với dịch rong nho có hạn sử dụng là 14 ngày, so với mẫu xử lý dịch rong sụn 13 ngày và với vỏ bưởi là 12 ngày. Kết quả nghiên cứu có thể ứng dụng trong bảo quản thủy sản sau thu hoạch.

SHELF-LIFE EXTENSION AND INHIBITION FORMATION BLACK SPOT OF WHITE PACIFIC SHRIMP (*LITOPENAEUS VANNAMEI*) USING NATURAL EXTRACTS

Abstract. This study aimed to improve the shelf life of white pacific shrimps (*Litopenaeus vannamei*) and inhibit the development of black spots in shrimps by polyphenols. Polyphenols were extracted from three different extracts, i.e. seaweed grape, cottonii, and grapefruit peel. The shrimp samples were dipped in the extract with the polyphenol concentration of 2.0%, at 4 °C, for 10 minutes, and then stored for 15 days at 0°C. Quality indicators including total visible count (TVC), total volatile nitrogen (TVB-N), trimethylamine (TMA-M), K value, and the density of black spots of samples were evaluated during the storage time. The results showed that the values of the quality indicators increased with storage time as the shrimp quality decreased. The treated shrimp samples had a higher shelf life than the control samples (8 days), and the formation of black spots was slowed down. In particular, samples treated with grape seaweed had a shelf life of 14 days, compared to 13 days for samples treated with seaweed cartilage, and 12 days for grapefruit peel. Research results could be applied in the field of preserving post-harvest seafood.

Keywords. K value, hạn sử dụng, melanosis, tôm thẻ trắng

1. Giới thiệu

Tôm thẻ trắng (white pacific shrimp, tên khoa học *Litopenaeus vannamei*) là loài tôm được nuôi trồng phổ biến miền Tây Nam Bộ, và có giá trị xuất khẩu đứng đầu trong ngành Thủy sản Việt Nam trong những năm gần đây [1]. Bên cạnh giá trị dinh dưỡng vốn có, tôm thẻ trắng còn có hương vị thơm ngon đặt trung và thường được chọn trong các thực đơn gia đình. Tuy nhiên, bên cạnh đó tôm thẻ trắng cũng như các loài giáp sát khác chúng nhanh chóng ươn hỏng sau khi thu hoạch do tác động của các yếu tố hóa học, hóa sinh, vi sinh và enzyme nội sinh. Những tác động này dẫn đến những biến đổi về mặt cảm quan, vật lý và thành phần của tôm [2]. Vì vậy, kéo dài hạn sử dụng, tăng chất lượng cảm quan là mục tiêu được nhiều nhóm nghiên cứu khoa học quan tâm và đã đưa ra nhiều phương pháp bảo quản khác nhau nhằm kéo dài hạn sử dụng [3]. Một số phương pháp phổ biến hiện nay như phương pháp bảo quản chân không, biến đổi thành phần khí, bổ sung các chất có hoạt tính sinh học, sử dụng khí ozon để vô hoạt vi sinh vật trước khi bảo quản và nhiều phương pháp khác [4]. Đốm đen hay còn gọi là melanosis (black spot) thường hình thành trên các loài giáp sát sau khi thu hoạch bảo quản trong điều kiện hiếu khí. Đã có nhiều nhà khoa học giải thích về cơ chế hình thành này, tuy nhiên gần đây Concalves cùng cộng sự (2016) đã

trình bày quá trình này khá rõ ràng. Theo nhóm nghiên cứu các phân tử gây bệnh như: PGBP (Peptidoglycan binding protein), LGBP (Lipopolysaccharide và β -1,3-glucan binding protein) và BGBP (β -1,3-glucan binding protein (nấm) ở tôm, kích hoạt serine proteinase cascade, giúp tiền polyphenoloxidases (PPO) vô hoạt trở nên PPO có hoạt tính. Tiếp theo, PPO xúc tác cho phản ứng chuyển hóa các phenol thành các quinone không màu. Sau đó, các quinone này bị oxy hóa bởi không khí hình thành các sắc tố màu đen gọi là melanin [5]. Như vậy, sự hình thành đốm đen ảnh hưởng hai yếu tố sự có mặt của oxygen và enzyme polyphenoloxidases. Vì vậy, một số nghiên cứu sử dụng các hoạt chất thuộc họ polyphenol như axit feruvic, cinnamaldehyde, một số dịch trích ly chứa thành phần polyphenol như hạt bưởi, vỏ trái lựu, vỏ cam, lá chamuang (một loại lá ở Thailan dùng chế biến món ăn), lá trà, các phương pháp bảo quản chân không được áp dụng để ức chế tiến trình hình thành đốm đen [6-13]. Rong nho và rong sụn là hai loài rong có nhiều vùng biển Nha Trang, Bình Thuận ở Việt Nam và được biết có nhiều thành phần có giá trị dinh dưỡng cao như polysaccharit, polyphenol và một số thành phần dinh dưỡng có giá trị. Rong sụn cũng được sử dụng để bảo quản thịt, cá, bánh trong nghiên cứu của Osullivan cùng cộng sự (2013)[14]. Ngoài ra, một sáng chế của Trung Quốc công bố vào 2014 cho thấy đã sử dụng dịch chiết từ rong nho trong bảo quản tôm ở 4 °C tăng hạn sử dụng lên đến 10 ngày [15]. Ở Việt nam trong những năm gần đây, nhiều nhóm nghiên cứu đã công bố về xu hướng bảo quản bằng các hợp chất có hoạt tính sinh học, như Lê Nhật Tâm và cộng sự (2019) sử dụng dịch chiết từ rong sụn trong bảo quản tôm sú, Phan Thanh Tâm, Nguyễn Mạnh Cường (2019) nghiên cứu dịch chiết từ gừng, riềng bảo quản tôm thẻ trắng [16, 17]. Tuy nhiên, rong nho và rong sụn ít được xem xét trong bảo quản và ức chế tiến trình hình thành đốm đen trên tôm thẻ trắng. TVB-N và TMA-N là hai số được dùng phổ biến trong đánh giá chất lượng thủy sản. Trong đó TVB-N là tổng các hợp chất base chứa nito dễ bay hơi và TMA-N được hình thành từ TMAO do tác động của TMAOase. Các thành phần này đều liên quan đến giai đoạn phân hủy do tác động của vi khuẩn và được đánh giá là hai chỉ số chất lượng quan trọng[18, 19]. Ngay sau khi thu hoạch nucleotide Adenosine triphosphate (ATP) lập tức phân hủy do tác động của enzyme nội sinh và chuyển hóa tạo ra các nucleotide khác như ADP, AMP cùng với các thành phần khác như inosine monophosphate, inosine, hypoxanthine. Những thành phần này được Saito (1959) đưa ra trong chỉ số K đánh giá chất lượng [20] và từ đó được nhiều nhà khoa học đưa vào sử dụng trong các nghiên cứu. Tuy nhiên, chỉ số K được áp dụng nhiều trong cá và vẫn chưa nhiều ở tôm, đặc biệt đối với tôm thẻ trắng [21]. Yếu tố vi sinh luôn được xem xét trong đánh giá chất lượng cho người tiêu dùng. Ở thủy sản, vi khuẩn là tác nhân chính gây ra qua trình hư hỏng. Hoạt động của nó liên quan đến những biến đổi hóa học, trạng thái cảm quan và cả trạng thái vật lý, Giá trị TVC là một trong những chỉ số đặt trung để đánh giá về mặt vi sinh.

Nghiên cứu này trình bày kết quả khảo sát ức chế sự tạo đốm đen và kéo dài hạn sử dụng của tôm thẻ trắng bảo quản ở 0 °C. Dịch chứa polyphenol được trích ly từ rong nho, rong sụn và vỏ bưởi lần đầu tiên được xem xét nghiên cứu trong bảo quản tôm thẻ trắng với mục đích xem xét khả năng ức chế và kéo dài hạn sử dụng của các vật liệu. Các yếu tố hóa học, cảm quan, vi sinh đều được xem xét từng ngày thông qua các chỉ số chất lượng và ảnh hưởng của các yếu tố trên đến chất lượng tôm bảo quản ở 0 °C. Các thông tin thu được khá thú vị và rất hữu ích nếu được áp dụng đúng, góp phần cải thiện lĩnh vực kỹ thuật sau thu hoạch, đem lại giá trị cao hơn và góp phần cải thiện sự phát triển của ngành thủy sản trong tương lai.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Thu mẫu và bảo quản mẫu

Hóa chất bao gồm: Chuẩn Adenosine-5'-triphosphate (PubChem CID: 5957), Adenosine-5'-diphosphate (PubChem CID: 6022), Adenosine-5'-monophosphate (PubChem CID: 6083), inosinmonophosphate (PubChem CID: 8582), inosine (PubChem CID: 6021) Hypoxanthine (PubChem CID: 790), TMA (PubChem CID: 1146) được đặt mua từ công ty Sigma –Aldrich (Singapore). Các dung môi methanol, ethanol, toluene, acid picric, trichlometanol và nước cất theo chuẩn HPLC được cung cấp công ty Merck Vietnam Co.Ltd.

Mẫu rong nho (seaweed grape), mẫu rong sụn (*cottonii*) ở dạng khô có độ % W = 9% được cung cấp của Công ty TNHH Nguyên Hà, địa chỉ: 14/7 Bis Kỳ Đồng, Phường 9, Quận 3, TP.HCM. Mẫu vỏ bưởi (grapefruit peel) dạng khô có % W = 15% được cung cấp của Công ty Thảo Dược Gia Phát, địa chỉ 235/9 Lê Văn Thọ, Phường 9, Quận Gò Vấp, TP.HCM. Cân chính xác 20 g mẫu (mẫu rong sụn, rong nho hay vỏ bưởi), nghiền nhỏ. Dung môi ethanol được cho vào theo tỷ lệ 15ml ethanol với 1g rong sụn, trích ly ở

nhệt độ 40 °C, trong 5 giờ [22]. Dịch chiết thu được cô quay chân không, thu cao ethanol có khối lượng từ 1,6 g đến 2,0 g. Hàm lượng polyphenol được xác định theo tiêu chuẩn ISO 145021:2005 [23]. Dung dịch polyphenol 2,0 % được chuẩn bị từ kết quả đo tổng hàm lượng polyphenol.

Tôm thẻ trắng được thu mua tại chợ đầu mối Bình Điền, TP.HCM. Tôm thu mua có cấu trúc hoàn chỉnh, nguyên vẹn và còn sống phù hợp cho quá trình khảo sát. Khối lượng tôm dùng thí nghiệm là 20 kg với kích cỡ 35-40 con/kg. Tôm được rửa bằng nước sạch phân vào 200 túi polyethylene. Các túi mẫu được đặt thẳng đứng, lưng tôm phía trên, bảo quản trong thùng polystyrene chứa nước đá bào với tỷ lệ tôm: đá bào = 1: 2 (w/w), và chuyển đến phòng thí nghiệm sau 2 giờ. Tại phòng thí nghiệm các túi polyethylene được tiếp tục đặt trong thùng xốp polystyrene và giữ lạnh ở 0 °C.

Tôm được chia làm 4 phần: một phần dùng làm mẫu đối chứng (ĐC), 3 phần được xử lý với các dịch trích ly từ các mẫu (mẫu vỏ buri – mẫu A, rong sụn – mẫu B, và rong nho – mẫu C). Tất cả các dung dịch này có hàm lượng polyphenol là 2.0% như theo nghiên cứu của Fan và cộng sự (2008) [24]. Các mẫu tôm được nhúng vào các dung dịch trong thời gian 10 phút ở nhiệt độ 4 °C theo nghiên cứu của Salam cùng cộng sự (2007) [25]. Các mẫu sau khi được xử lý bao gồm cả mẫu ĐC được bảo quản ở 0 °C để phục vụ cho quá trình nghiên cứu.



Hình 1. Mẫu tôm khi thu mua và được bảo quản tại phòng thí nghiệm sau khi xử lý

2.2. Thiết bị

Thiết bị HPLC Agilent 1260, detector 1260 DAD Serial No: DEAAX01475, phần mềm điều khiển Agilent ChemStation, dùng khảo sát đánh giá chỉ số K.

Thiết bị UV-Vis Thermo absorption equipment - USA (GENESYS 50 UV-Vis) dùng đo chỉ số TMA-N

2.3. Các phương pháp thực nghiệm

2.3.1. Phương pháp xác định TVC Chỉ số TVC được xác định theo thông báo của Leboffe và Pierce (2012) [26]. Trong đó, 10 g tôm đã lột vỏ bảo quản ở những khoảng thời gian khác nhau được nghiền mịn với 90 ml dung dịch NaCl 0,9%, ly tâm và thu lấy phần dịch. Dịch thu được tiến hành pha loãng 10 lần cho đến nồng độ phù hợp để nghiên cứu. Mật độ vi sinh vật được đánh giá theo phương pháp đếm trên đĩa. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần và giá trị TVC được trình bày dưới dạng log CFU/g (colony forming units).

2.3.2. Đánh giá mật độ đốm đen Đốm đen (melanosis hay black spot) ở tôm được đo bởi 6 thành viên đánh giá cảm quan, với khung điểm 10 theo thông báo của Montero và cộng sự (2001) [6]. Các thành viên được yêu cầu quan sát, ghi nhận và cho điểm từ 0 đến 10. Ở đây, 0 = hoàn toàn không xuất hiện; 2 = rất ít (đốm đen chiếm từ 0 đến 20% bề mặt); 4 = trung bình (đốm đen chiếm từ 20 đến 40 % bề mặt); 6 = không phù hợp (đốm đen chiếm từ 40 đến 60 % bề mặt); 8 = nghiêm trọng (đốm đen chiếm từ 60 đến 80 % bề mặt); 10 = cực kỳ nghiêm trọng (đốm đen chiếm từ 80 đến 100 % bề mặt).

2.3.3. Xác định TVB-N Hàm lượng TVB-N trong tôm được xác định theo tiêu chuẩn EU số 2074/2005 [27]. Tôm sau khi lột vỏ, bỏ đầu được cân khoảng 5 gam rồi xay nhuyễn với 90 ml axit perchloric bằng máy xay (MX-SM1031S, Panasonic, Japan). Dịch sau khi trích ly được ly tâm và lọc qua giấy lọc định lượng Whatman số 1 (Sigma Aldrich, Germany) và định mức bằng nước cất thành 100ml. Tiến hành chung cất dịch thu được trong môi trường kiềm, các thành phần trong TVB được hấp thu bằng một lượng dư NaOH 0,1N và dùng HCl 0,1N để chuẩn độ với chỉ thị methylene red (MR).

2.3.3. Xác định TMA-N Hàm lượng TMA-N được xác định theo tiêu chuẩn AOAC 971-14 [28]. Cân 10 thịt tôm rồi tiến hành trích ly 3 lần, mỗi lần 30ml dung dịch TCA 7,5% (w/v.). Thu toàn bộ dịch trích ly đem đi ly tâm bằng máy ly tâm (Hettich-EBA 20S, Sigma-Aldrich, Germany) ở 4000vòng/ phút trong 10 phút, sau đó định mức 100ml bằng nước cất. Tiếp theo trimethylamine cho phản ứng với axit picric tạo thành muối pirat có màu vàng. Lượng muối này được xác định bằng phương pháp phổ hấp thụ UV-Vis, với bước sóng hấp thụ cực đại ở 410 nm.

2.3.4. Xác định chỉ số K Các nucleotide và các dẫn xuất của chúng được đo bằng phương pháp HPLC với đầu dò detector diode array (DAD). Trong phương pháp này, các nucleotide và các thành phần liên quan được trích ly bằng acid perchloric 0.6 M và xác định bởi phương pháp của công ty Cosmosil - Nacalai [29]. Dịch sau khi trích ly được trung hòa tới pH 7.0 và lọc qua giấy lọc Whatman No. 1 (Whatman, Sigma - Aldrich, Germany), trước khi đem tinh sạch. Dịch thu được sau khi lọc được tinh sạch trên cột SPE C18 (Agilent Technologies, USA), với dung dịch rửa giải là K_2HPO_4 0,05 M sau đó phân tích trên thiết bị HPLC. Chế độ chạy HPLC được thực hiện trên cột 5C18-PAQ (kích cỡ hạt 5 mm, dài 250 mm, đường kính 4,6 mm) (Nacalai Tesque, Japan), nhiệt độ cột 30 °C, pha động K_2HPO_4 0,05 M, tốc độ dòng 1 ml/min. Detector được đặt ở bước sóng 260 nm.

Giá trị K-value được tính theo công thức sau:

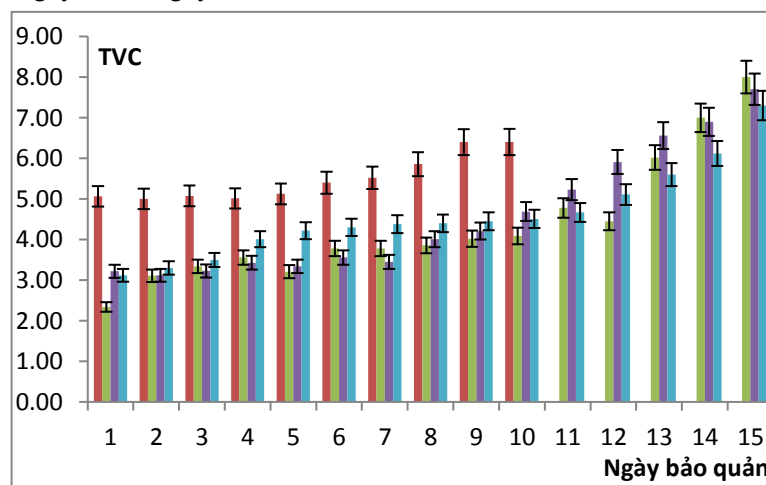
$$K (\%) = 100 (\text{inosine} + \text{hypoxanthine}) / (\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP} + \text{IMP} + \text{inosine} + \text{hypoxanthine})$$

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

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Biến đổi TVC

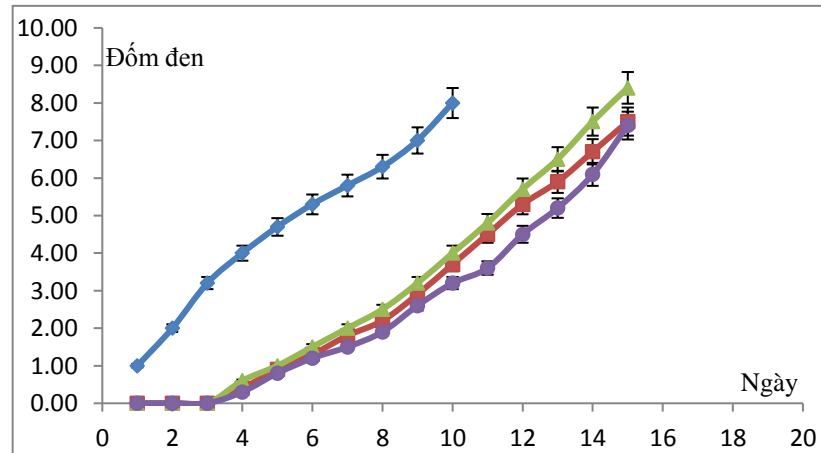
Kết quả đánh giá chỉ số TVC ở các mẫu tôm theo ngày bảo quản được trình bày ở Hình 2. Giá trị TVC của các mẫu khảo sát ở ngày 1 có sự khác biệt về mặt thống kê ($p < 0,05$). Giá trị TVC bằng 5,04; 2,34; 3,22 và 3,12 (lg cfu/g) tương ứng với mẫu ĐC, mẫu A, mẫu B và mẫu C. Điều này có thể giải thích ở các mẫu A, B, và C có qua xử lý nên lượng TVC thấp. Giá trị TVC ở các ngày tiếp theo tăng chậm ở tất cả các mẫu ĐC, A, B, C. Thời điểm giá trị TVC tăng đột ngột vào ngày thứ 6 cho mẫu ĐC, ngày 11 cho mẫu A, mẫu B, và ngày 12 cho mẫu C. Điều này có thể giải thích do giai đoạn đầu của quá trình ươn hỏng là tự phân, tác nhân chính trong giai đoạn này được xem là các enzyme nội sinh. Vì vậy lượng TVC tăng không đáng kể. Giá trị TVC của các mẫu vượt ngưỡng $\log \text{cfu} = 6$ tại thời điểm ngày 9, ngày 13, ngày 14 và ngày 15, tương ứng với mẫu ĐC, mẫu A, mẫu B và mẫu C. Theo Ủy ban quốc tế quy định vi sinh thực phẩm (International Commission on Microbiological Specifications for Foods - ICMSF) đối với tôm đông lạnh giá trị TVC = 6 (log cfu/g). Như vậy, hạn sử dụng của mẫu ĐC, mẫu A, mẫu B, và mẫu C tương ứng là 8 ngày, 12 ngày, 13 ngày và 14 ngày.



Hình 2. Kết quả biến đổi TVC (các cột theo thứ tự cho các mẫu ĐC, mẫu A, Mẫu B, Mẫu C)

3.2. Biến đổi mật độ đốm đen

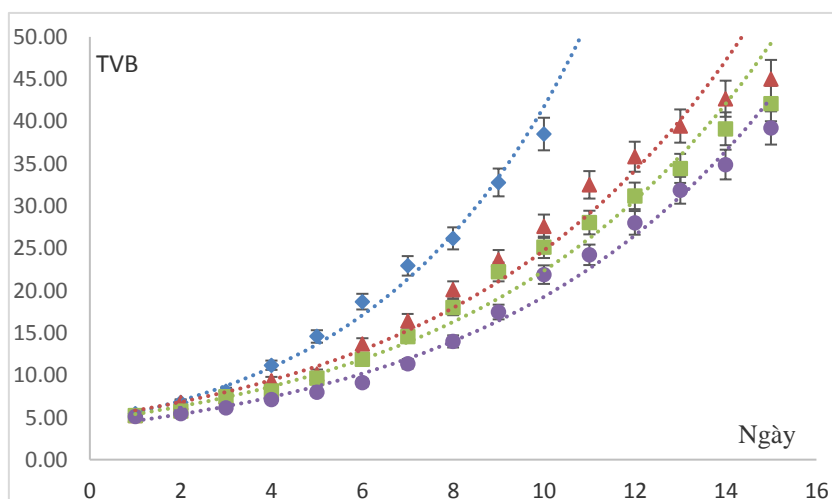
Kết quả đánh giá mật độ đốm đen trên các mẫu tôm theo ngày bảo quản được trình bày ở Hình 3. Nhìn chung, giá trị đốm đen ở các mẫu có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các ngày ($p < 0.05$) ngoài trừ 3 ngày đầu tiên ở các mẫu A, B, C, do điểm đốm đen của chúng bằng 0 ở 3 ngày đầu tiên. Nhìn chung, tất cả các mẫu khảo sát có tốc độ hình thành đốm đen (kể từ khi xuất hiện) tăng tuyến tính theo thời gian. Ở các mẫu xử lý, đốm đen xuất hiện ngày thứ 4, tuy nhiên, tốc độ hình thành có khác nhau giữa các mẫu. Có thể thấy tốc độ hình thành chậm dần từ mẫu A đến B và C, thông qua đường biểu diễn của chúng ở Hình 3. Điểm đốm đen đạt giá trị gần bằng 6 (đây là ngưỡng được cho là không phù hợp) ở ngày 8 đối với mẫu ĐC, ngày 12 với mẫu A, ngày 13 với mẫu B và ngày 14 với mẫu C [6].



Hình 3. Kết quả biến đổi mật độ đốm đen (♦ mẫu ĐC, ▲ mẫu A, ■ mẫu B ● mẫu C)

3.3. Biến đổi hàm lượng TVB-N

TVB-N được xem là chỉ số quan trọng trong đánh giá chất lượng thủy sản [30]. Giá trị TVB-N của các mẫu khảo sát có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các ngày bảo quản ($p < 0,05$). Tại thời điểm ban đầu các giá trị TVB-N là 5,47mg/100g với mẫu ĐC; 5,22 mg/100g với mẫu A; 5,22 mg/100g với mẫu B và 5,12mg/100g với mẫu C (Hình 4).



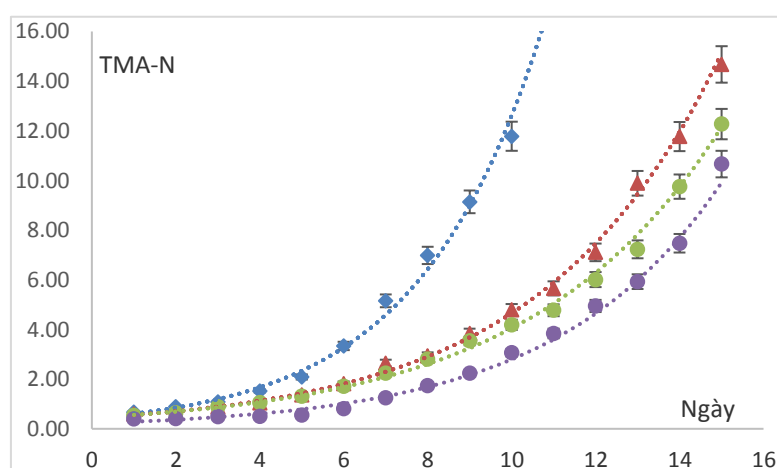
Hình 4. Kết quả biến đổi hàm lượng TVB-N (♦ mẫu ĐC, ▲ mẫu A, ■ mẫu B, ● mẫu C)

Giá trị TVB-N tăng nhẹ ở các ngày tiếp theo nhưng có sự khác biệt giữa các mẫu về khoảng thời gian. Có thể thấy ở mẫu ĐC khoảng thời gian từ ngày 1 đến ngày 4, mẫu A và B từ ngày 1 đến ngày 5, mẫu C từ ngày 1 đến ngày 6. Tại thời điểm này giá trị TVB-N đạt được là 11,17 mg/100g với mẫu ĐC; 10,14 mg/100g với mẫu A; 9,66 mg/100g với mẫu B và 9,12 mg/100g với mẫu C. Sau đó giá trị TVB-N ở các mẫu tăng nhanh hơn ở các ngày tiếp theo. Nếu chọn thời điểm xem xét đối với mẫu ĐC là ngày 8 thì giá

trị TVB-N là 26,17mg/100g. Trong lúc đó giá trị TVB-N của các mẫu có xử lý rất thấp bao gồm 20,09 mg/100g với mẫu A; 17,9 mg/100g với mẫu B và 13,99 mg/100g với mẫu C. Các giá trị TVB-N của các mẫu xử lý ở các thời điểm hạn sử dụng tương ứng là 12 ngày (mẫu A), 13 ngày (mẫu B) và 14 ngày (mẫu C) là 26,17 mg/100g, 32,51 mg/100g, 34,44 mg/100g, và 34,89 mg/100g. Tuy nhiên, giới hạn TVB-N khác nhau tùy thuộc vào từng loài, mùa đánh bắt, kỹ thuật đánh bắt, lứa tuổi và cả điều kiện sinh lý [31]. Các giá trị TVB-N của các mẫu nghiên cứu có giá trị thấp hơn 35 mg N/100 g. Đây là giới hạn được khuyến cáo cho người tiêu dùng (Commission Decision 95/149/EC, 1995). Phương trình hồi quy tuyến tính giữa giá trị TVB-N theo ngày bảo quản được trình bày ở Bảng 1.

3.4. Biến đổi hàm lượng TMA-N

TMA-N là một trong những thành phần chính của TVB-N, thành phần này sinh ra do quá trình chuyển hóa bởi vi khuẩn trong giai đoạn phân hủy từ TMAO [32]. Giá trị TMA-N của các mẫu khảo sát có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các ngày bảo quản ($p < 0,05$) (Hình 5). Giá trị TMA-N ban đầu ở các mẫu là 0,67 mg/100g, 0,60 mg/100g, 0,55mg/100g, 0,4 mg/100g tương ứng các mẫu ĐC, mẫu A, mẫu B, và mẫu C. Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Sallam (2007) với khoảng TMA-N từ 0,65 đến 0,73mg/100g [25].



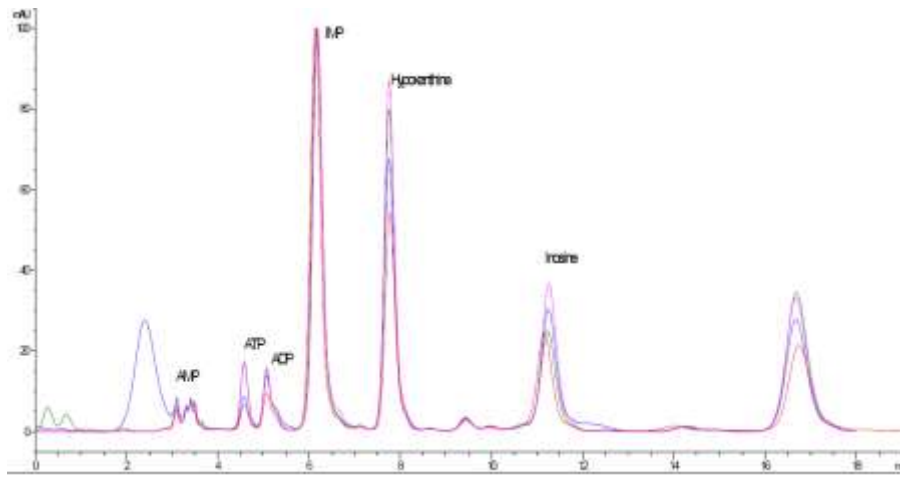
Hình 5. Kết quả biến đổi hàm lượng TMA-N (◆ mẫu ĐC, ▲ mẫu A, ■ mẫu B, ● mẫu C)

Kết quả cho thấy, giá trị TMA-N tăng chậm ở giai đoạn 1, và tăng nhanh ở giai đoạn 2 với các khoảng thời gian tìm thấy như giá trị TVB-N (mẫu ĐC – ngày 4, mẫu A, B – ngày 5, mẫu C – ngày 6). Tại giới hạn cuối của khoảng thời gian đầu giá trị TMA-N đạt được 1,53 mg/100g; 1,37 mg/100g; 1,32 mg/100g và 0,82 mg/100g tương ứng với mẫu ĐC, mẫu A, mẫu B, và mẫu C. Ở giai đoạn 2 lượng TMA-N ở cả 4 mẫu tăng nhanh, trong đó mẫu ĐC có tốc độ tăng nhanh nhất. Giá trị TMA-N ở mẫu ĐC đạt được tại thời điểm ngày thứ 8 là 6,98mg/100g, được xem là giá trị tại thời điểm tôm bị loại. Các giá trị TMA-N được xem xét ở các mẫu còn lại tại thời điểm được xem là hạn sử dụng là 12 ngày với mẫu A tương ứng là 7,11 mg/100g; 13 ngày với mẫu B là 7,23 mg/100g; 14 ngày với mẫu C là 7,47 mg/100g. Tuy nhiên, tất cả các giá trị tới hạn TMA-N ở các mẫu đều nhỏ hơn 10 – 15mg/100g được thông báo là giá trị TMA-N của các mẫu cá bị loại [33]. Phương trình hồi quy tuyến tính giữa giá trị TMA-N theo ngày bảo quản được trình bày ở Bảng 1

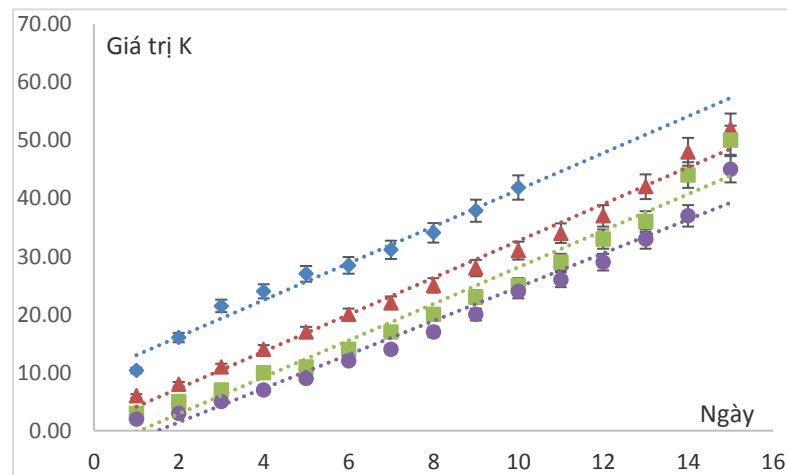
3.5. Biến đổi chỉ số K

Tôm sau khi thu hoạch, tiến trình tự phân nhanh chóng xảy ra và ATP là một trong những thành phần chuyển hóa đầu tiên. Tiến trình chuyển hóa nucleotide đã được mô tả bởi Flick cùng cộng sự (1970) qua 7 bước [34]. Trong đó, 5 bước đầu tiên của tiến trình xảy ra nhanh chóng và liên quan đến hoạt động của enzyme nội sinh. Ngược lại tiến trình oxy hóa hypoxanthine đến xanthine, tiếp theo là acid uric xảy ra rất chậm và liên quan đến enzyme của vi sinh vật [35]. Vì vậy, lượng hypoxanthine tăng theo thời gian bảo quản. Hình 6 là sắc ký đồ nhận được từ các mẫu có thời gian bảo quản là 4 ngày. Thời gian lưu (t_R) lần lượt của các thành phần ATP, ADP, AMP, IMP, inosine, hypoxanthine lần lượt $t_R = 4,62$; $t_R = 5,21$; $t_R = 3,15$; $t_R = 6,24$; $t_R = 10,42$; $t_R = 7,81$ phút. Kết quả nghiên cứu cho thấy giá trị K của các mẫu nghiên cứu

tăng theo thời gian bảo quản ở 0 °C và có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0.05$). Tuy nhiên, có thể thấy ở 3 mẫu A, B, C hệ số góc của đường thẳng biểu thị phương trình hồi quy tuyến tính thấp hơn rất nhiều so với mẫu ĐC (Hình 7). Giá trị K tại thời điểm tới hạn cho phép đối với người tiêu dùng suy ra từ kết quả TVC là 34,06%; 33,00%; 42,00%; 37,00% và mức chất lượng từ rất tốt đến tốt là 24%; 11%; 17%, 12% tương ứng các mẫu ĐC, A, B, C. Các giá trị này khá tương đồng khi Saito cùng cộng sự (1959) nghiên cứu trên 12 loài thủy sản khác nhau bao gồm cá, cua, mực [20]. Các giá trị K nhóm nghiên cứu Saito cùng cộng sự tìm được là khoảng từ 25% đến 46% ở mức chất lượng trung bình và ở mức chất lượng từ rất tốt đến tốt là từ 0,1 % đến 29%. Phương trình hồi quy tuyến tính giữa giá trị K theo ngày bảo quản được trình bày ở Bảng 1



Hình 6. Sắc ký của 4 mẫu nghiên cứu ĐC, A, B, C (sắc ký đồ có chiều cao từ thấp đến cao tương ứng cho các mẫu C, B, A, ĐC)



Hình 7. Đồ thị biểu thị phương trình hồi quy tuyến tính chỉ số K các mẫu đo.

3.6. Phương trình hồi quy tuyến tính của các chỉ số chất lượng TVB-N, TMA-N, giá trị K và ngày bảo quản các mẫu tôm khảo sát.

Kết quả nghiên cứu cho thấy các chỉ số chất lượng bao gồm TVB-N, TMA-N, chỉ số K tăng tuyến tính theo thời gian. Tuy nhiên, có điểm khác biệt là hai chỉ số TVB-N và TMA-N thể hiện ở hai giai đoạn khác nhau. Một giai đoạn tăng chậm tương ứng với quá trình tự phân và một giai đoạn tăng nhanh ứng với quá trình phân hủy (Bảng 1).

Bảng 1. Phương trình hồi quy tuyến tính của các chỉ số chất lượng TVB-N, TMA-N và chỉ số K theo ngày bảo quản.

Mẫu ĐC		
TVB-N = 1.84ngày + 3.27 R ² = 0.9473 Ngày: 1 đến 4	TMA-N = 0.28x + 0.35 R ² = 0.9565 Ngày: từ 1 đến 4	K = 3.17ngày + 9.8182 R ² = 0.9787 Ngày: từ 1 đến 10
TVB-N = 4.72ngày - 9.79 R ² = 0.987 Ngày: 5 đến 10	TMA-N = 1.93ngày - 8.09 R ² = 0.987 Ngày: từ 5 đến 10	
Mẫu vỏ bươi		
TVB-N = 1.24ngày + 4.06 R ² = 0.9809 Ngày: từ 1 đến 5	TMA-N = 0.193ngày + 0.333 R ² = 0.9534 Ngày: từ 1 đến 5	K = 3.18ngày + 0.98 R ² = 0.986 Ngày: từ 1 đến 15
TVB-N = 3.66ngày - 8.75 R ² = 0.9963 Ngày: từ 6 đến 15	TMA-N = 1.3632ngày - 7.7991 R ² = 0.9208 Ngày: từ 6 đến 15	
Mẫu rong sụn		
TVB-N = 1.12ngày + 3.87 R ² = 0.9767 Ngày: từ 1 đến 5	TMA-N = 0.195ngày + 0.309 R ² = 0.9828 Ngày: từ 1 đến 5	K = 3.16ngày - 3.4 R ² = 0.966 Ngày: từ 1 đến 15
TVB-N = 3.37ngày - 8.73 R ² = 0.998 Ngày: từ 6 đến 15	TMA-N = 1.0761ngày - 5.8436 R ² = 0.9073 Ngày: từ 6 đến 15	
Mẫu rong nho		
TVB-N = 0.74ngày + 4.138 R ² = 0.9705 Ngày: từ 1 đến 6	TMA-N = 0.07ngày + 0.28 R ² = 0.795 Ngày: từ 1 đến 6	K = 2.90ngày - 4.31 R ² = 0.972 Ngày: từ 1 đến 15
TVB-N = 3.39x - 12.39 R ² = 0.9961 Ngày: từ 7 đến 15	TMA-N = 1.07ngày - 7.18 R ² = 0.916 Ngày: từ 7 đến 15	

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đánh giá chất lượng tôm thẻ trắng sau thu hoạch bảo quản ở 0 °C, xử lý qua các dung dịch polyphenol từ các nguyên liệu khác nhau đã được thực hiện. Các tiến trình đánh giá chất lượng bằng nhiều phương pháp khác nhau bao gồm cảm quan, hóa học, và vi sinh. Kết quả cho thấy mẫu tôm được xử lý với dịch polyphenol 2,0% từ các nguyên liệu vỏ bươi, rong sụn, và rong nho có sự khác biệt đáng kể về thời gian bảo quản, cũng như khả năng ức chế đốm đen trên tôm. Các giá trị 12, 13, 14 ngày của các mẫu A, B, C cách biệt giá trị 8 ngày của mẫu ĐC, và tại các thời điểm này mật độ đốm đen đạt 60%. Từ đó, cho thấy hoạt tính polyphenol trích ly từ rong nho mạnh nhất trong khía cạnh ức chế tiến trình ươn hỏng, cũng như ức chế hình thành đốm đen. Bên cạnh đó, kết quả đánh giá từ các chỉ số chất lượng bao gồm TVC, TVB, TMA, và chỉ số K cho thấy sự biến đổi của chúng theo ngày bảo quản, cũng như sự khác biệt giữa các chỉ số ở các mẫu khảo sát nhau. Lần đầu tiên dịch polyphenol từ rong sụn, và rong nho được đưa vào nghiên cứu nhằm ức chế sự tạo đốm đen, và kéo dài hạn bảo quản đã có những kết quả hứa hẹn cho ngành công nghệ bảo quản sau thu hoạch tôm thẻ trắng nói riêng và thủy sản nói chung. Kết quả nghiên cứu là một tư liệu có giá trị nếu được công bố, và rất hữu ích khi áp dụng cho các ngành liên quan, cũng như là tài liệu tham khảo cho các nghiên cứu cùng lĩnh vực.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/Tong-cuc-thuy-san.gov.vn>.

- 184 KÉO DÀI HẠN SỬ DỤNG VÀ ỨC CHẾ TIẾN TRÌNH TẠO ĐÓM ĐEN Ở TÔM THẺ TRẮNG
(*Litopenaeus vannamei*) BẰNG CÁC CHIẾT XUẤT TỰ NHIÊN
2. Nollet, L. M., Toldrá, F. (Eds.). (2009). Handbook of seafood and seafood products analysis. *CRC Press*.
 3. López-Caballero, M. E., Pérez-Mateos, M., Borderias, J. A., Montero, P. (2000). Extension of the shelf life of prawns (*Penaeus japonicus*) by vacuum packaging and high-pressure treatment. *Journal of food protection*, 63(10), 1381-1388.
 4. Gould, G. W. (2012). New methods of food preservation. *Springer Science & Business Media*.
 5. Gonçalves, A. A., de Oliveira, A. R. M. (2016). Melanosis in crustaceans: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 791-799.
 6. Montero, P., Lopez- Caballero, M. E., Pérez- Mateos, M. (2001). The effect of inhibitors and high pressure treatment to prevent melanosis and microbial growth on chilled prawns (*Penaeus japonicus*). *Journal of Food Science*, 66(8), 1201-1206.
 7. Nirmal, N. P., & Benjakul, S. (2009). Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage. *Food chemistry*, 116(1), 323-331.
 8. Mu, H., Chen, H., Fang, X., Mao, J., Gao, H. (2012). Effect of cinnamaldehyde on melanosis and spoilage of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(10), 2177-2182.
 9. Reddy, V. K., Shinde, P. A., Sofi, F. R., Shelar, P. S., & Patange, S. B. (2013). Effect of antimelanotic treatment and vacuum packaging on melanosis and quality condition of ice stored farmed tiger shrimp (*penaeus monodon*). *SAARC Journal of Agriculture*, 11(2), 33-47..
 10. Vakili, S., & Yasini Ardakani, S. A. (2018). Antioxidant Effect of Orange Peel Extract on Chemical Quality, Sensory Properties, and Black Spots of Farmed White Shrimp. *Journal of Nutrition and Food Security*, 3(1), 19-26.
 11. Udayasoorian, L., Peter, M., Sabina, K., Indumathi, C., Muthusamy, S. (2017). Comparative evaluation on shelf life extension of MAP packed *Litopenaeus vannamei* shrimp treated with natural extracts. *LWT*, 77, 217-224..
 12. Shiekh, K. A., Benjakul, S., Sae-leaw, T. (2019). Effect of Chamuang (*Garcinia cowa* Roxb.) leaf extract on inhibition of melanosis and quality changes of Pacific white shrimp during refrigerated storage. *Food chemistry*, 270, 554-561.
 13. Li, J. (2015). Application of tea polyphenols in combination with 6-gingerol on shrimp paste of during storage: biogenic amines formation and quality determination. *Frontiers in microbiology*, 6, 981.
 14. O'sullivan, A. M., O'callaghan, Y. C., O'grady, M. N., Hayes, M., Kerry, J. P., & O'brien, N. M. (2013). The effect of solvents on the antioxidant activity in Caco-2 cells of Irish brown seaweed

- extracts prepared using accelerated solvent extraction (ASE®). *Journal of Functional Foods*, 5(2), 940-948.
15. CN103054131B, (2014) *Method for preparing high purity Caulerpa racemosa polyphenols and methods for protection Shrimp*.
 16. Lê Nhất Tâm, Đoàn Như Khuê, Huỳnh Nguyễn Quế Anh, Trương Huỳnh Anh Vũ, Chu Vân Hải. (2019). Đánh giá sự biến đổi chất lượng của tôm sú nhằm xác định hạn sử dụng bằng các phương pháp bảo quản khác nhau. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, (5B), 47..
 17. Phạm Thanh Tâm, Nguyễn Mạnh Cường, (2019). Nghiên cứu ứng dụng dịch chiết có hoạt tính sinh học từ gừng (*Zingiber officinale*), riềng (*Alpinia officinarum*) để bảo quản tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, (12B): p. 51.
 18. Howgate, P. (2010). A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 2. Formation of the bases, and application in quality assurance. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, 9(1).
 19. Howgate, P. (2010). A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 1. Determination. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, 9(1).
 20. Saito, T. (1959), *A new method for estimating the freshness of fish*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **24**: p. 749-750.
 21. P Pardio, V. T., Waliszewski, K. N., & Zuñiga, P. (2011). Biochemical, microbiological and sensory changes in shrimp (*Panaeus aztecus*) dipped in different solutions using face- centred central composite design. *International journal of food science & technology*, 46(2), 305-314.
 22. Kossah, R., Nsabimana, C., Zhang, H., & Chen, W. (2010). Optimization of extraction of polyphenols from Syrian sumac (*Rhus coriaria* L.) and Chinese sumac (*Rhus typhina* L.) fruits. *Research Journal of Phytochemistry*, 4(3), 146-153.
 23. ISO14502, (2005). Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent.
 24. Fan, W., Chi, Y., & Zhang, S. (2008). The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food chemistry*, 108(1), 148-153.
 25. Sallam, K.I. (2007). Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids. *Food Chemistry*, 101(2): p. 592-600.
 26. Leboffe, M.J., B.E. Pierce, (2012). Microbiology: laboratory theory and application. *Morton Publishing Company*.
 27. EURO. Commission, (2005). Determination of the concentration of TVB-N in fish and fishery products.

- 186 KÉO DÀI HẠN SỬ DỤNG VÀ ỨC CHẾ TIẾN TRÌNH TẠO ĐÓM ĐEN Ở TÔM THẺ TRẮNG
(*Litopenaeus vannamei*) BẰNG CÁC CHIẾT XUẤT TỰ NHIÊN
28. Hungerford, J, (1998). AOAC Official Method 971.14 Trimethylamine Nitrogen in Seafood Colorimetric Method. Fish and Other Marine Products. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 7.
29. Nacalai, (2018). <https://www.nacalai.co.jp/cosmosil/data/csmosrchnpng.cfm?sFile=AP-1485&columnID=011&lc=E&pg=Application>, *Fish freshness indicator, K value*.
30. Dalgaard, P, (2000). Freshness, Quality and Safety in Seafoods: *F-FE 380A/00 (May 2000)*, Teagasc, *The National Food Centre*.
31. Chaijan, M., Jongjareonrak, A., Pattacharat, S., Benjakul, S., & Rawdkuen, S. (2010). Chemical compositions and characteristics of farm raised giant catfish (*Pangasianodon gigas*) muscle. *LWT-Food Science and Technology*, 43(3), 452-457.
32. Huss, H.H, (1995). Quality and quality changes in fresh fish. FAO fisheries technical paper, (348).
33. Huss, H.H, (1988). Fresh fish--quality and quality changes: a training manual prepared for the FAO/DANIDA Training Programme on Fish Technology and Quality Control, *Food & Agriculture Org*.
34. Flick, G., R. Lovell, (1970), Postmortem degradation of nucleotides and glycogen in Gulf shrimp. *Food Technol*, **30**: p. 1743.
35. Ashie, I. N. A., Smith, J. P., Simpson, B. K., & Haard, N. F. (1996). Spoilage and shelf- life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 36(1-2), 87-121.

Ngày nhận bài: 22/03/2019

Ngày chấp nhận đăng: 23/06/2020