

**BAN BIÊN TẬP TẠP CHÍ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN**

| STT       | Họ và tên                    | Đơn vị                                                                      | Nhiệm vụ      |
|-----------|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>I</b>  | <b>Thành viên trong nước</b> |                                                                             |               |
| 1         | Chế Minh Tùng                | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM                                              | Tổng biên tập |
| 2         | Nguyễn Đình Phú              | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM<br>University of California, Irvine, Mỹ      | Biên tập viên |
| 3         | Lê Đình Đôn                  | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM                                              | Biên tập viên |
| 4         | Lê Quốc Tuấn                 | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM                                              | Biên tập viên |
| 5         | Nguyễn Bạch Đằng             | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM                                              | Biên tập viên |
| 6         | Nguyễn Huy Bích              | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM                                              | Biên tập viên |
| 7         | Phan Tại Huân                | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM                                              | Biên tập viên |
| 8         | Nguyễn Phú Hòa               | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM                                              | Biên tập viên |
| 9         | Võ Thị Trà An                | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM                                              | Biên tập viên |
| 10        | Tăng Thị Kim Hồng            | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM                                              | Biên tập viên |
| <b>II</b> | <b>Thành viên nước ngoài</b> |                                                                             |               |
| 11        | Tô Phúc Tường                | Nguyên chuyên gia IRRI, Việt Nam                                            | Biên tập viên |
| 12        | Peeyush Soni                 | Asian Institute of Technology, Thái Lan                                     | Biên tập viên |
| 13        | Ta-Te Lin                    | National Taiwan University, Đài Loan                                        | Biên tập viên |
| 14        | Glenn M. Young               | University of California, Davis, Mỹ                                         | Biên tập viên |
| 15        | Soroosh Sorooshian           | University of California, Irvine, Mỹ                                        | Biên tập viên |
| 16        | Katleen Raes                 | Ghent University, Bỉ                                                        | Biên tập viên |
| 17        | Vanessa Louzier              | Lyon University, Pháp                                                       | Biên tập viên |
| 18        | Wayne L. Bryden              | The University of Queensland, Úc                                            | Biên tập viên |
| 19        | Jitender Singh               | Sardar Vallabhbhai Patel University of<br>Agriculture and Technology, Ấn Độ | Biên tập viên |
| 20        | Kevin Fitzsimmons            | University of Arizona, Mỹ                                                   | Biên tập viên |
| 21        | Cyril Marchand               | University of New-Caledonia, Pháp                                           | Biên tập viên |
| 22        | Koichiro Shiomori            | University of Miyazaki, Nhật Bản                                            | Biên tập viên |
| 23        | Kazunari Tsuji               | Saga University, Nhật Bản                                                   | Biên tập viên |
| 24        | Sreeramanan Subramaniam      | Universiti Sains Malaysia, Malaysia                                         | Biên tập viên |
| 25        | Thomas L. Rost               | University of California, Davis, Mỹ                                         | Biên tập viên |
| 26        | James E. Hill                | University of California, Davis, Mỹ                                         | Biên tập viên |

**BAN THƯ KÝ TẠP CHÍ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN**

| STT | Họ và tên         | Đơn vị                         | Nhiệm vụ          |
|-----|-------------------|--------------------------------|-------------------|
| 1   | Nguyễn Thị Thương | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM | Trưởng ban thư ký |
| 2   | Trương Quang Bình | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM | Trưởng ban trị sự |
| 3   | Hoàng Minh Phương | Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM | Thành viên        |

**Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển**

Giấy phép xuất bản:  
567/GP-BVHTT-24/12/2002  
175/GP-BTTTT-20/04/2018

**Tòa soạn:**

Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM  
Khu phố 6, Phường Linh Trung, TP. Thủ Đức, TP.HCM  
Điện thoại: (028)37245670  
Email: jad@hcmuaf.edu.vn

## MỤC LỤC (CONTENT)

### Nông học, Lâm nghiệp (Agronomy and Forestry Sciences)

- 1 Refinement of the *in vitro* propagation process of Petunia (*Petunia hybrida*) plants  
Duyen T. T. Nguyen, & Hao N. Hy  
Hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cây hoa Dạ yến thảo (*Petunia hybrida*)  
Nguyễn Thị Thanh Duyên & Hy Nhật Hà
- 12 Evaluation of nitrogen use efficiency and N-supplying capacity on pomelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) grown on alluvial soil in the Cuu Long Delta  
Em H. Tran, Quynh N. Le, Ngoc P. Ngo, Mo T. H. Le, & Hung N. Ngo  
Đánh giá hiệu quả sử dụng phân đạm và khả năng cung cấp đạm của đất phù sa trồng bưởi (*Citrus grandis* L. Osbeck) ở đồng bằng sông Cửu Long  
Trần Hoàng Em, Lê Ngọc Quỳnh, Ngô Phương Ngọc, Lê Thị Hằng Mơ & Ngô Ngọc Hưng
- 22 Application of ergonomics in the design of desks and chairs for primary school students in Ho Chi Minh City  
Nghia Q. Le, Huong T. T. Hoang, Hai M. Dang, & Tien V. Nguyen  
Nghiên cứu ứng dụng công thái học trong thiết kế bàn ghế học sinh cấp tiểu học tại Thành phố Hồ Chí Minh  
Lê Quang Nghĩa, Hoàng Thị Thanh Hương, Đặng Minh Hải, & Nguyễn Văn Tiến

### Chăn nuôi, Thú y, Thủy sản (Animal Sciences, Veterinary Medicine and Aquaculture)

- 34 Effects of artemia and tilapia density on the ability to treat organic matter in wastewater from white leg shrimps (*Litopenaeus vannamei*) farming  
Hong T. B. Truong, & Huy D. Nguyen  
Ảnh hưởng của mật độ artemia và cá rô phi tới khả năng xử lý chất hữu cơ có trong nước thải của nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) công nghiệp  
Trương Thị Bích Hồng & Nguyễn Đình Huy

### Công nghệ sinh học (Biotechnology)

- 45 Evaluation of fermentative activities of yeasts isolated from guava fruit (*Psidium guajava* L.)  
Nhu Q. Lam, Dat Q. Le, Thien D. Nguyen, Minh N. Le, Phong V. Nguyen, & Thanh T. L. Bien  
Đánh giá hoạt tính lên men của các mẫu nấm men phân lập từ quả ổi (*Psidium guajava* L.)  
Lâm Quỳnh Như, Lê Quốc Đạt, Nguyễn Đông Thiên, Lê Nhật Minh, Nguyễn Vũ Phong & Biện Thị Lan Thanh

### Công nghệ thực phẩm (Food Science and Technology)

- 61 Processing of oolong tea from passion fruit buds of *Passiflora edulis*  
Mai T. N. Tran, & Huyen T. M. Nguyen  
Nghiên cứu quy trình sản xuất trà oolong từ ngọn chanh dây *Passiflora edulis*  
Trần Thị Ngọc Mai & Nguyễn Thị Mai Huyền

- 72 Optimization of enzymatic-assisted extraction of polyphenol from cashew nut testa by using cellulase and pectinase

*Huan T. Phan, Tuyen T. M. Dao, & Phuong T. Nguyen*

Tối ưu hóa quá trình trích ly polyphenol từ vỏ lụa hạt điều với sự hỗ trợ của hỗn hợp enzyme cellulase và pectinase

*Phan Tại Huân, Đạo Thị Mộng Tuyền & Nguyễn Thị Phương*

Refinement of the *in vitro* propagation process of Petunia (*Petunia hybrida*) plants

Duyen T. T. Nguyen\*, & Hao N. Hy

Department of Plant Genetics and Breeding, Faculty of Agronomy, Nong Lam University,  
Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: January 15, 2024

Revised: March 08, 2024

Accepted: March 12, 2024

Keywords

Growth media

Growth regulator

*In vitro* propagation

*Petunia hybrida*

\*Corresponding author

Nguyen Thi Thanh Duyen

Email:

ntthanhduyen@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

*Petunia (Petunia hybrida)* is currently one of the most favored ornamental potted flowers. Tissue culture-based propagation has proven to be effective in terms of multiplication rates and consistent seedling quality, meeting the demand for Purple *Petunia* varieties. In this study, Sodium hypochlorite (NaOCl) with various culture media [Murashige and Skoog (MS), ½ MS, and Knudson C] and growth regulators [6-benzyladenine (BA), Indole 3-butyric acid (IBA), and Naphthaleneacetic acid (NAA)] were utilized to determine the appropriate concentrations and durations for sample sterilization, shoot multiplication, and root induction processes of Purple *Petunia*. Evaluation criteria for *in vitro* Purple *Petunia* included parameters, such as survival rate, contamination rate, dead samples, number of shoots, shoot height, number of roots, and root length. The results indicated that stem sample sterilization at a 5% NaOCl concentration for 10 min yielded the highest survival rate (70.7%) at 14 days post-culture initiation. Purple *Petunia* stem samples, when cultured in MS medium supplemented with 0.5 mg/L BA combined with 0.1 mg/L IBA, demonstrated the most efficient shoot multiplication with a multiplication rate of 26.9, a shoot weight of 3.6 g, a leaf/shoot ratio of 4.6, and a shoot height of 3.0 cm. The MS medium supplemented with 0.1 mg/L NAA was found to be optimal for root induction, resulting in the highest number of roots at 32.1 roots/plant and a root length of 7.0 cm. Briefly, this research provided fundamental insights into the *in vitro* propagation process of disease-free Purple *Petunia* multiplication.

**Cited as:** Nguyen, D. T. T., & Hy, H. N. (2024). Refinement of the *in vitro* propagation process of *Petunia (Petunia hybrida)* plants. *The Journal of Agriculture and Development* 23(5), 1-11.



## Hoàn thiện quy trình nhân giống in vitro cây hoa Dạ yến thảo (*Petunia hybrida*)

Nguyễn Thị Thanh Duyên\* & Hỷ Nhật Hào

Bộ Môn Di Truyền Chọn Giống Cây Trồng, Khoa Nông Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM,  
TP. Hồ Chí Minh

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 15/01/2024

Ngày chỉnh sửa: 08/03/2024

Ngày chấp nhận: 12/03/2024

#### Từ khóa

Chất điều hoà sinh trưởng

Dạ yến thảo

*In vitro*

Môi trường nuôi cấy

#### \*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thị Thanh Duyên

Email:

ntthanhduyen@hcmuaf.edu.vn

### TÓM TẮT

Hoa Dạ yến thảo (*Petunia hybrida*) là một trong những loại hoa trồng chậu trang trí đang được ưa chuộng hiện nay. Nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô mang lại hiệu quả về hệ số nhân giống và chất lượng cây giống đồng đều, đáp ứng được nhu cầu giống hoa Dạ yến thảo. Trong nghiên cứu này, Natri hypoclorit (NaOCl) với các nồng độ khác nhau và chất điều hoà sinh trưởng [6-benzyladenine (BA), Indole 3-butyric acid (IBA), and Naphthaleneacetic acid (NAA)] đã được sử dụng để xác định được nồng độ và thời gian phù hợp cho quá trình vào mẫu, nhân chồi và tạo rễ cây hoa Dạ yến thảo. Các chỉ tiêu về tỷ lệ mẫu sống, mẫu nhiễm, mẫu chết, số chồi, chiều cao chồi, số rễ và chiều dài rễ của cây hoa Dạ yến thảo *in vitro* đã được đánh giá. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khử trùng mẫu thân ở nồng độ 5% NaOCl và thời gian 10 phút đã cho tỉ lệ mẫu sống cao nhất (70,7%) ở 14 ngày sau cấy và mẫu thân cây hoa Dạ yến thảo khi được cấy vào môi trường MS (Murashige and Skoog) có bổ sung 0,5 mg/L BA kết hợp với 0,1 mg/L IBA cho kết quả nhân nhanh tốt nhất với hệ số nhân chồi đạt 26,9 lần, trọng lượng chồi đạt 3,6 g, số lá/chồi đạt 4,6 lá, chiều cao chồi đạt 3,0 cm. Môi trường MS có bổ sung 0,1 mg/L NAA cho kết quả hình thành rễ tốt nhất với số rễ đạt 32,1 rễ/cây, chiều dài rễ đạt 7,0 cm.

### 1. Đặt Vấn Đề

Hoa Dạ yến thảo (*Petunia hybrida*) còn có tên gọi khác là dã yên, là loài thực vật thuộc họ cà (Solanaceae), có nguồn gốc từ các nước miền Nam châu Mỹ. Hoa có màu sắc đa dạng như trắng, hồng, đỏ, tím và dáng cây phong phú. Hiện nay, cây hoa Dạ yến thảo được trồng từ hạt hoặc được nhân giống bằng phương pháp giâm cành. Tuy nhiên giá hạt giống đắt và việc nhân giống bằng phương pháp giâm cành thường cho hệ số nhân giống thấp, cây con sinh trưởng kém và dễ

nhiễm các loại bệnh (Bui & ctv., 2017). Trong khi đó, việc sử dụng phương pháp nuôi cấy mô có ưu thế hệ số nhân giống (Tran, 2005), cây giống tạo ra với số lượng lớn và đồng nhất (Thorpe, 2007). Vì vậy, việc thiết lập được quy trình nhân giống hoa Dạ yến thảo bằng phương pháp nuôi cấy mô thông qua việc xác định được nồng độ và thời gian chất khử trùng, môi trường nền và chất điều hoà sinh trưởng phù hợp cho quá trình vào mẫu, nhân chồi và tạo cây con hoa Dạ yến thảo hoàn chỉnh là rất cần thiết. Hiện nay phần lớn chất khử trùng được sử dụng là HgCl<sub>2</sub> - chất

độc gây ra những ảnh hưởng tiêu cực cho sức khỏe người sử dụng (WHO, 2000). Do đó, việc nghiên cứu và tìm ra chất khử trùng an toàn cho sức khỏe con người là mối quan tâm lớn của các nhà vi nhân giống. Đồng thời, ngoài sự tác động riêng lẻ của nhóm chất điều hòa sinh trưởng cytokinin đến quá trình nhân chồi thì sự kết hợp giữa nhóm cytokinin và auxin mang lại hiệu quả cao cho giai đoạn nhân chồi trong nuôi cấy mô (Moubayidin, 2013). Vì vậy việc xác định được nồng độ NaOCl, thời gian khử trùng mẫu thân cây Dạ yến thảo, cùng với việc xác định nồng độ thích hợp của sự kết hợp giữa 6-benzyladenine (BA) và Indole 3-butyric acid (IBA) đến quá trình

nhân nhanh chồi và nồng độ Naphthaleneacetic acid (NAA) thích hợp cho giai đoạn tạo rễ là cần thiết để hoàn thiện quy trình nhân giống cây hoa Dạ yến thảo *in vitro*.

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp

Cây Dạ yến thảo (*Petunia hybrida*) đã phân cành dài 15 - 20 cm và chưa ra hoa có xuất xứ từ Mỹ do công ty TNHH Hạt giống hoa Việt Nam cung cấp.

Vật liệu nuôi cấy khởi đầu là đoạn thân mang mắt ngủ của cây giống khỏe mạnh, không bị sâu bệnh (Hình 1).



**Hình 1.** Cây và đoạn thân mang mắt ngủ của cây Dạ yến thảo.

Các chất khử trùng và điều hòa sinh trưởng thực vật được sử dụng:

- Javel công nghiệp (NaOCl: 12%).
- BA độ tinh khiết  $\geq 99\%$  (hãng BioBasic - Canada).
- IBA độ tinh khiết  $\geq 98\%$  (hãng BioBasic - Canada).
- NAA độ tinh khiết  $\geq 99\%$  (hãng BioBasic - Canada).
- Tween 20 (Polysorbate 20) (hãng Fisher - Mỹ).

Môi trường nền được sử dụng trong các thí nghiệm là môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962) bổ sung 8 g agar/L + 30 g đường/L.

Nội dung nghiên cứu bao gồm 3 thí nghiệm tương ứng với các giai đoạn trong quy trình nhân giống *in vitro* bao gồm thí nghiệm khử trùng mẫu, thí nghiệm về nhân chồi và thí nghiệm tạo rễ.

### 2.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng lên mẫu cây Dạ yến thảo

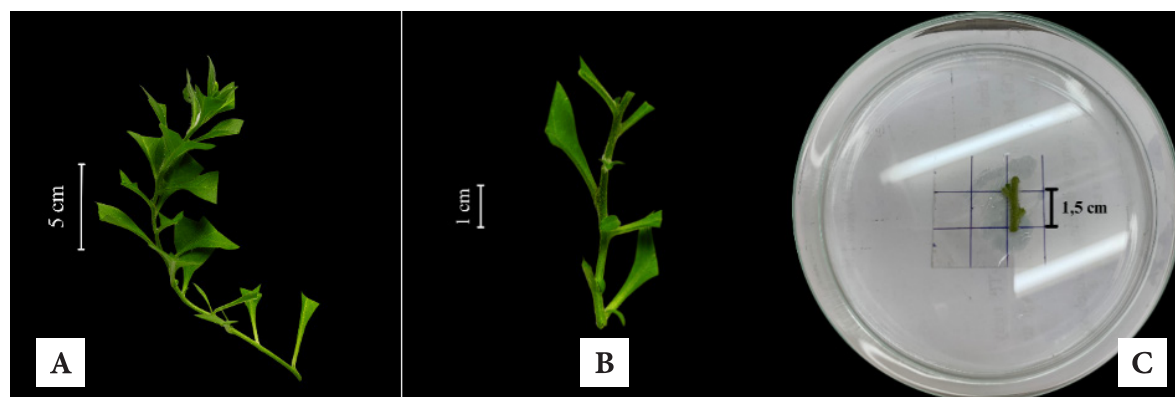
Thí nghiệm nhằm đánh giá ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu, từ

đó xác định được nồng độ NaOCl và thời gian thích hợp để vào mẫu thân cây hoa Dạ yến thảo. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 9 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Số ô cơ sở  $9 \times 3 = 27$  ô, mỗi ô có 25 chai, mỗi chai 1 mẫu. Tổng số lượng mẫu là 675 mẫu.

Yếu tố A gồm 3 nồng độ NaOCl (A1: 5%; A2: 7%; A3: 9%)

Yếu tố B gồm 3 khoảng thời gian (B1: 5 phút; B2: 10 phút; B3: 15 phút).

Quy trình khử trùng: Rửa sạch thân dưới vòi nước sạch, ngâm trong dung dịch xà phòng trong 5 phút, rửa sạch thân cây hoa Dạ yến thảo bằng nước cất, ngâm cồn 70° trong 1 phút, rửa lại bằng nước cất và ngâm mẫu trong NaOCl, có bổ sung Tween 20 theo nồng độ và thời gian của các nghiệm thức. Sau đó cắt chồi với kích thước 1,5 cm (Hình 2) để cấy vào chai có chứa môi trường nền MS. Theo dõi toàn bộ số mẫu cấy với các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu chết (%) và tỷ lệ mẫu sống (%) tại thời điểm 21 ngày sau khi vào mẫu.



**Hình 2.** Chồi cây Dạ yến thảo được xử lý để làm vật liệu khởi đầu cho thí nghiệm 1.

A: Mẫu ban đầu; B: Mẫu được khử trùng; C: Mẫu được cấy vào chai môi trường.

## 2.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của BA và IBA đến khả năng nhân chồi cây Dạ yến thảo *in vitro*

Thí nghiệm được thực hiện nhằm xác định các nồng độ BA và IBA thích hợp cho giai đoạn nhân chồi *in vitro*. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 9 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Số ô cơ sở  $9 \times 3 = 27$  ô, mỗi ô có 13 chai, mỗi chai 1 mẫu. Tổng số lượng mẫu là 351 mẫu.

Yếu tố A gồm 3 mức nồng độ BA (A1: 0,5 mg/L; A2: 0,7 mg/L; A3: 0,9 mg/L).

Yếu tố B gồm 3 mức nồng độ IBA (B1: 0,1 mg/L; B2: 0,2 mg/L; B3: 0,3 mg/L).

Các bước tiến hành: Sử dụng nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu được xác định ở thí nghiệm 1 để khử trùng và chuẩn bị mẫu để làm vật liệu cho thí nghiệm 2. Cắt mẫu cấy với kích thước 1,5 cm có mang mắt mầm, cấy vào chai với các môi trường của từng nghiệm thức tương ứng.

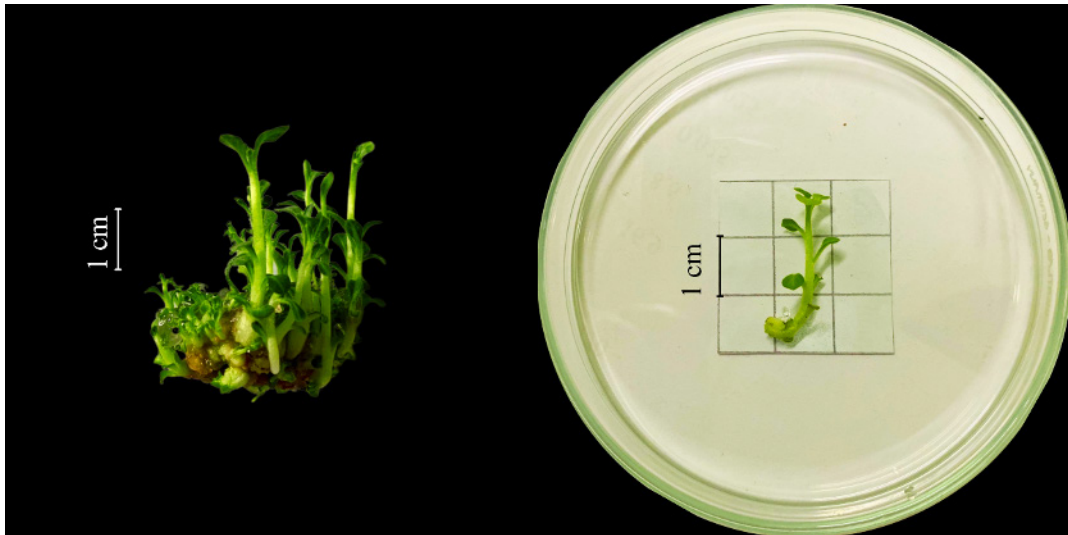
Chỉ tiêu theo dõi: Hệ số nhân chồi, số chồi/mẫu (chồi), chiều cao chồi (cm) và số lá/chồi (lá), khối lượng chồi (g), theo dõi ở 42 ngày sau cấy (NSC).

## 2.3. Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của nồng độ NAA lên khả năng tạo rễ của cây hoa Dạ yến thảo

Thí nghiệm được thực hiện nhằm xác định được nồng độ NAA thích hợp cho giai đoạn tạo

rễ *in vitro*. Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 5 nghiệm thức với các mức nồng độ NAA (0 mg/L (Đối chứng), 0,1 mg/L, 0,2 mg/L, 0,3 mg/L, 0,4 mg/L)

với 3 lần lặp lại. Số ô cơ sở  $5 \times 3 = 15$  ô, mỗi ô có 15 chai, mỗi chai 2 mẫu. Số lượng mẫu là 450 mẫu.



**Hình 3.** Chồi cây Dạ yến thảo được xử lý để làm vật liệu cho thí nghiệm 3.

Cách tiến hành: Sử dụng chồi được tạo ra từ thí nghiệm 1 và 2 (cao 1,5 cm, có 4 - 5 lá) cấy vào các môi trường có bổ sung NAA tương ứng với từng nghiệm thức (Hình 3).

Chỉ tiêu theo dõi: Chọn 10 mẫu/lần lặp lại của từng nghiệm thức để theo dõi chỉ tiêu số rễ (rễ/cây) với chiều dài rễ (cm), theo dõi ở thời điểm 21 ngày sau cấy.

#### 2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập, tổng hợp tính toán bằng phần mềm Microsoft Excel; phân tích phương sai “ANOVA” và trắc nghiệm phân hạng LSD bằng phần mềm R 4.2.

### 3. Kết Quả và Thảo Luận

#### 3.1. Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu thân Dạ yến thảo *in vitro*

Số liệu Bảng 1 cho thấy: Ở thời điểm 21 NSC, khi khử trùng mẫu thân của hoa Dạ yến thảo bằng NaOCl với nồng độ khác nhau cho kết quả về tỷ lệ mẫu sống khác biệt có ý nghĩa trong thống kê. Trong đó, khi khử trùng mẫu với nồng độ 10% cho kết quả tỷ lệ mẫu sống cao nhất đạt 52,4%. Khử trùng mẫu trong thời gian càng dài thì tỷ lệ mẫu sống càng giảm, sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê, tỷ lệ mẫu sống cao nhất khi được khử trùng trong thời gian là 5 phút đạt 49,3%.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu đến tỷ lệ mẫu sống, mẫu nhiễm và mẫu chết của mẫu thân Dạ yến thảo *in vitro* ở thời điểm 21 ngày sau cấy

| Chỉ tiêu            | Thời gian (phút) (A) | Nồng độ NaOCl (%) (B)    |                          |                          | TB NaOCl          |
|---------------------|----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------|
|                     |                      | 5                        | 7                        | 9                        |                   |
| Tỷ lệ mẫu sống (%)  | 5                    | 50,7 <sup>bc</sup>       | 52,0 <sup>bc</sup>       | 48,0 <sup>c</sup>        | 50,2 <sup>A</sup> |
|                     | 10                   | 70,7 <sup>a</sup>        | 57,3 <sup>a</sup>        | 29,3 <sup>d</sup>        | 52,4 <sup>A</sup> |
|                     | 15                   | 26,7 <sup>d</sup>        | 34,7 <sup>d</sup>        | 12,0 <sup>c</sup>        | 24,4 <sup>B</sup> |
|                     | TB                   | 49,3 <sup>A</sup>        | 48,0 <sup>A</sup>        | 29,8 <sup>B</sup>        |                   |
|                     | CV (%) = 4,9         | F <sub>A</sub> = 108,9** | F <sub>B</sub> = 213,7** | F <sub>AB</sub> = 31,1** |                   |
| Tỷ lệ mẫu nhiễm (%) | 5                    | 49,3 <sup>a</sup>        | 41,3 <sup>ab</sup>       | 36,0 <sup>bc</sup>       | 42,2 <sup>A</sup> |
|                     | 10                   | 25,3 <sup>dc</sup>       | 29,3 <sup>cd</sup>       | 28,0 <sup>cdc</sup>      | 27,6 <sup>B</sup> |
|                     | 15                   | 18,7 <sup>c</sup>        | 6,7 <sup>f</sup>         | 22,7 <sup>dc</sup>       | 16,0 <sup>C</sup> |
|                     | TB                   | 31,1 <sup>A</sup>        | 25,8 <sup>AB</sup>       | 28,9 <sup>AB</sup>       |                   |
|                     | CV (%) = 7,0         | F <sub>A</sub> = 9,1**   | F <sub>B</sub> = 141,1** | F <sub>AB</sub> = 16,4** |                   |
| Tỷ lệ mẫu chết (%)  | 5                    | 0,0 <sup>f</sup>         | 6,7 <sup>cf</sup>        | 16,0 <sup>d</sup>        | 7,6 <sup>C</sup>  |
|                     | 10                   | 4,0 <sup>f</sup>         | 13,3 <sup>dc</sup>       | 42,6 <sup>c</sup>        | 20,0 <sup>B</sup> |
|                     | 15                   | 54,7 <sup>b</sup>        | 58,7 <sup>ab</sup>       | 65,3 <sup>a</sup>        | 59,6 <sup>A</sup> |
|                     | TB                   | 19,6 <sup>C</sup>        | 26,2 <sup>B</sup>        | 41,3 <sup>A</sup>        |                   |
|                     | CV (%) = 7,4         | F <sub>A</sub> = 182,2** | F <sub>B</sub> = 710,8** | F <sub>AB</sub> = 25,7** |                   |

Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, \*\*: khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,01$ ), ns: không có khác biệt thống kê; TB: trung bình; Số liệu được chuyển đổi bằng công thức  $\arcsin\sqrt{x}$  để phân tích thống kê.

Khi mẫu được khử trùng với nồng độ NaOCl 10% trong thời gian 5 phút cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất (70,7%), tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu chết thấp (25,3% và 4%). Sự tương tác giữa hai yếu tố nồng độ và thời gian khử trùng mẫu cũng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu chết. Nhìn chung, khi tăng nồng độ NaOCl và kéo dài thời gian khử mẫu thì tỷ lệ mẫu nhiễm giảm nhưng tỷ lệ mẫu chết tăng. Kết quả này phù hợp với nghiên

cứu của Nguyen (2015) khi sử dụng nồng độ NaOCl 5% và thời gian 10 phút vẫn cho hiệu quả khử trùng nhưng chưa cao với tỉ lệ sống (30%), tỉ lệ mẫu chết (24%), tỉ lệ mẫu nhiễm (46%). Vì vậy, việc sử dụng nồng độ NaOCl 10% trong thời gian 5 phút là thích hợp để khử trùng mẫu chồi của cây hoa Dạ yến thảo.

### 3.2. Ảnh hưởng của BA và IBA đến khả năng nhân cụm chồi mẫu thân Dạ yến thảo

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của môi trường nền và nồng độ BA đến hệ số nhân chồi, chiều cao chồi số lá và trọng lượng chồi của cây hoa Dạ yến thảo ở thời điểm 42 ngày sau cấy

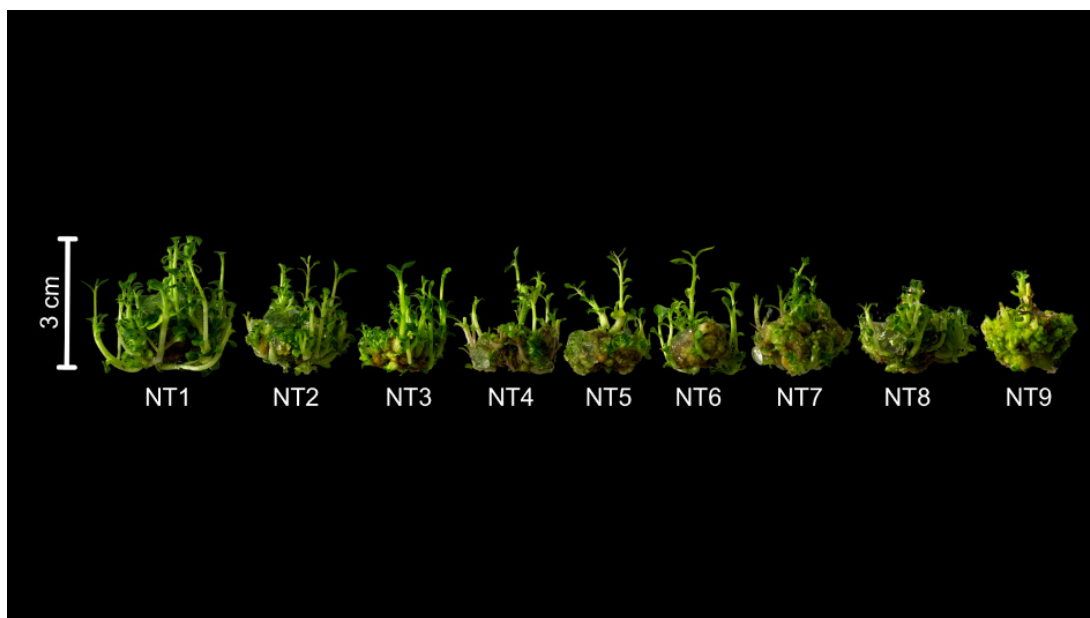
| Chỉ tiêu theo dõi     | Nồng độ BA (mg/L) (A) | Nồng độ IBA (mg/L) (B)               |                                      |                                      | TB                |
|-----------------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|
|                       |                       | 0,1                                  | 0,2                                  | 0,3                                  |                   |
| Hệ số nhân chồi (lần) | 0,5                   | 26,9 <sup>a</sup>                    | 20,3 <sup>b</sup>                    | 20,8 <sup>b</sup>                    | 22,7 <sup>A</sup> |
|                       | 0,7                   | 19,5 <sup>b</sup>                    | 17,5 <sup>c</sup>                    | 11,3 <sup>d</sup>                    | 16,1 <sup>B</sup> |
|                       | 0,9                   | 12,0 <sup>d</sup>                    | 16,6 <sup>c</sup>                    | 9,4 <sup>e</sup>                     | 12,6 <sup>C</sup> |
|                       | TB                    | 19,4 <sup>A</sup>                    | 18,1 <sup>A</sup>                    | 13,8 <sup>B</sup>                    |                   |
|                       | CV (%) = 4,9          | F <sub>A</sub> = 599,0 <sup>**</sup> | F <sub>B</sub> = 197,9 <sup>**</sup> | F <sub>AB</sub> = 73,1 <sup>**</sup> |                   |
| Chiều cao chồi (cm)   | 0,5                   | 3,0 <sup>a</sup>                     | 2,7 <sup>bc</sup>                    | 2,4 <sup>bc</sup>                    | 2,7 <sup>A</sup>  |
|                       | 0,7                   | 2,9 <sup>ab</sup>                    | 2,6 <sup>bc</sup>                    | 1,7 <sup>e</sup>                     | 2,4 <sup>B</sup>  |
|                       | 0,9                   | 2,5 <sup>c</sup>                     | 2,0 <sup>d</sup>                     | 1,6 <sup>e</sup>                     | 2,0 <sup>C</sup>  |
|                       | TB                    | 2,8 <sup>A</sup>                     | 2,4 <sup>B</sup>                     | 1,9 <sup>C</sup>                     |                   |
|                       | CV (%) = 3,9          | F <sub>A</sub> = 119,1 <sup>**</sup> | F <sub>B</sub> = 197,5 <sup>**</sup> | F <sub>AB</sub> = 12,7 <sup>**</sup> |                   |
| Số lá/chồi (lá)       | 0,5                   | 4,6 <sup>a</sup>                     | 3,6 <sup>b</sup>                     | 3,5 <sup>bc</sup>                    | 3,9 <sup>A</sup>  |
|                       | 0,7                   | 3,2 <sup>cd</sup>                    | 3,1 <sup>cd</sup>                    | 2,8 <sup>de</sup>                    | 3,0 <sup>B</sup>  |
|                       | 0,9                   | 2,4 <sup>ef</sup>                    | 2,1 <sup>fg</sup>                    | 1,7 <sup>g</sup>                     | 2,0 <sup>C</sup>  |
|                       | TB                    | 3,4 <sup>A</sup>                     | 2,9 <sup>B</sup>                     | 2,7 <sup>C</sup>                     |                   |
|                       | CV (%) = 4,5          | F <sub>A</sub> = 403,1 <sup>**</sup> | F <sub>B</sub> = 69,0 <sup>**</sup>  | F <sub>AB</sub> = 10,0 <sup>**</sup> |                   |
| Trọng lượng chồi (g)  | 0,5                   | 3,6 <sup>a</sup>                     | 3,2 <sup>ab</sup>                    | 3,0 <sup>bc</sup>                    | 3,3 <sup>A</sup>  |
|                       | 0,7                   | 2,9 <sup>bc</sup>                    | 2,9 <sup>bc</sup>                    | 2,7 <sup>bcd</sup>                   | 2,9 <sup>B</sup>  |
|                       | 0,9                   | 2,6 <sup>cd</sup>                    | 3,3 <sup>ab</sup>                    | 2,2 <sup>d</sup>                     | 2,7 <sup>B</sup>  |
|                       | TB                    | 3,0 <sup>A</sup>                     | 3,3 <sup>A</sup>                     | 2,7 <sup>B</sup>                     |                   |
|                       | CV (%) = 6,6          | F <sub>A</sub> = 21,4 <sup>**</sup>  | F <sub>B</sub> = 14,6 <sup>**</sup>  | F <sub>AB</sub> = 0,7 <sup>**</sup>  |                   |

Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê; \*\*: khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,01$ ), ns: không có khác biệt thống kê; MT: môi trường; TB: trung bình.



Theo Sakakibara & ctv. (2006), việc kết hợp giữa cytokinin (BA) và auxin (IBA) ở nồng độ và tỉ lệ thích hợp có thể nâng cao hệ số nhân chồi và chất lượng chồi. Qua Bảng 2 và Hình 4 cho thấy yếu tố BA và IBA cũng như sự tương tác của hai yếu tố này đã ảnh hưởng đến sự nhân chồi của cây hoa Dạ yến thảo in vitro và sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nồng độ khác nhau.

Khi bổ sung vào môi trường MS cùng với 0,5 mg/L BA + 0,1 mg/L IBA cho kết quả tốt nhất về hệ số nhân chồi (26,9 lần), chiều cao chồi (3,0 cm), số lá/chồi (4,6 lá) và trọng lượng chồi (3,6 g). Điều này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyen & ctv. (2021) với tỷ lệ cytokinin/auxin tương tự khi bổ sung 1 mg BA/L kết hợp với 0,2 mg IBA/L cho kết quả tốt nhất, thể hiện ở số chồi được tạo ra nhiều nhất là 19,5 chồi/mẫu.



**Hình 4.** Ảnh hưởng của 6-benzyladenine và Indole 3-butyric acid đến sự phát triển của của cụm chồi mẫu cây Dạ yến thảo thời điểm 42 ngày sau cấy.

### 3.3. Ảnh hưởng của NAA đến quá trình hình thành rễ của mẫu cây Dạ yến thảo

Qua kết quả ở Bảng 3 cho thấy chồi Dạ yến thảo có thể ra rễ ngay trên môi trường MS không

bổ sung NAA với tỷ lệ ra rễ đạt 100% sau 21 ngày nuôi cấy, tuy nhiên rễ nhỏ và yếu, có màu nhạt và kết quả khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê so với các nồng độ khác.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của nồng độ Naphthaleneacetic acid (NAA) đến tỷ lệ ra rễ, số rễ, chiều dài rễ của cây hoa Dạ yến thảo ở thời điểm 21 ngày sau cấy

| Nồng độ NAA (mg/L) | Tỷ lệ ra rễ (%)   | Số rễ (rễ/chồi)     | Chiều dài rễ (cm)   |
|--------------------|-------------------|---------------------|---------------------|
| 0 (Đối chứng)      | 100,0             | 18,9 <sup>c</sup>   | 5,4 <sup>c</sup>    |
| 0,1                | 97,3              | 32,1 <sup>a</sup>   | 7,0 <sup>a</sup>    |
| 0,2                | 98,7              | 23,8 <sup>b</sup>   | 5,8 <sup>b</sup>    |
| 0,3                | 94,7              | 14,1 <sup>d</sup>   | 3,3 <sup>d</sup>    |
| 0,4                | 93,3              | 10,0 <sup>e</sup>   | 2,6 <sup>e</sup>    |
| CV (%)             | 8,9               | 3,4                 | 2,7                 |
| F <sub>tính</sub>  | 1,4 <sup>ns</sup> | 500,7 <sup>**</sup> | 610,0 <sup>**</sup> |

Ghi chú: Trong cùng một cột giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, \*\*: khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê.

Khi bổ sung chất điều hòa sinh trưởng NAA theo chiều tăng nồng độ, chiều dài rễ và số rễ đều có xu hướng giảm, cụ thể ở nồng độ 0,2 mg/L cho chiều dài rễ là 5,4 cm, số rễ đạt 23,8 rễ/chồi, rễ dài nhưng nhỏ và yếu. Nồng độ 0,3 mg/L cho chiều dài rễ đạt 3,3 cm, số rễ đạt 14,1 rễ/chồi, rễ ngắn, xoắn, gốc bắt đầu có hiện tượng hình thành ít mô sẹo. Ở nồng độ 0,4 mg/L cho chiều dài rễ ngắn nhất là 2,6 cm và số rễ thấp nhất là 10,0 rễ/chồi, rễ ở nghiệm thức này rễ phát triển ngang mà không đi theo hướng xuống môi trường nuôi cấy, sau 21 ngày nuôi cấy, gốc hình thành nhiều mô sẹo, rễ phát triển không đáng kể, cây sinh trưởng yếu.

Sử dụng chất điều hòa sinh trưởng NAA ở nồng độ thích hợp (0,1 mg/L NAA) giúp kích thích sự tạo rễ của chồi *in vitro* cây Dạ yến thảo, nhưng khi tăng nồng độ, NAA đã ức chế quá trình hình thành rễ, kích thích tạo mô sẹo ở gốc rễ cây Dạ yến thảo *in vitro* (Hình 5). Điều này có thể giải thích do chồi của cây Dạ yến thảo ban đầu khi không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng NAA đã có một lượng auxin nội sinh vừa đủ để tạo rễ nên chỉ cần bổ sung nồng độ 0,1 mg/L NAA là thích hợp cho quá trình hình thành và phát triển rễ cây Dạ yến thảo. Chadwick & Burg (1967) cũng cho rằng, sự tăng cường auxin sẽ kích thích sự phát triển rễ, tuy nhiên nồng độ auxin quá cao sẽ là làm ức chế sự phát triển của tế bào rễ và sự phát triển tổng thể của rễ.





Hình 5. Ảnh hưởng của Naphthaleneacetic acid đến sự phát triển của mẫu cây Dạ yến thảo thời điểm 21 ngày sau cấy.

#### 4. Kết Luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy sử dụng NaOCl nồng độ 5% và thời gian 10 phút là mức nồng độ và thời gian thích hợp nhất cho khử trùng mẫu cây Dạ yến thảo với tỉ lệ sống đạt 70,7%. Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/L BA và 0,1 mg/L IBA cho kết quả tốt nhất với hệ số nhân chồi (26,9 lần), trọng lượng chồi (3,6 g), số lá/chồi đạt (4,6 lá/chồi), chiều cao chồi (2,3 cm). Môi trường MS bổ sung 0,1 mg/L NAA cho kết quả tốt nhất về chiều dài rễ (7,0 cm), số rễ/cây (32,1 rễ/cây).

#### Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

#### Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Bui, C. T., Dong, G. H., & Bui, H. T. T. (2017). *In vitro* propagation of *Petunia hybrida*. *Journal of Forestry Science and Technology* 7, 3-10.
- Chadwick, A. V., & Burg, S. P. (1967). An explanation of the inhibition of root growth caused by indole-3-acetic acid. *Plant Physiology* 42(3), 415-420. <https://doi.org/10.1104%2Fpp.42.3.415>.
- Moubayidin, L., Mambro, R. D., Sozzani, R., Pacifici, E., Salvi, E., Terpstra, I., & Benfey, P. N. (2013). Spatial coordination between stem cell activity and cell differentiation in the root meristem. *Developmental Cell* 26(4), 405-415. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.06.025>.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Journal of Physiology Plantarum* 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Nguyen, L. T., La, H. T. T., Tran, H. T. T., Duong, T. T., & Le, C. N. (2021). A study on the primary materials for *in vitro* propagation of *Petunia hybrida* L. *Vietnam Science and Technology Journal* 63(7), 53-56. <https://doi.org/10.31276/vjst.63%287%29.53-56>.
- Nguyen, V. T. (2015). *Multiplication of Petunia hybrida flowers using plant tissue culture techniques* (Unpublished bachelor's thesis). Ha Noi National University of Education, Ha Noi, Vietnam.

- Sakakibara, H., Takei, K., & Hirose, N. (2006). Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends in Plant Science* 11(9), 440-448. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.07.004>.
- Thorpe, T. A. (2007). History of plant tissue culture. In Vasil, I. K., & Thorpe, T. A. (Eds.). *Plant cell and tissue culture* (7-55). Dordrecht, Netherlands: Springer.
- Tran, M. V. (2005). *Plant cell biotechnology textbook*. Institute of Tropical Biology, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- WHO (World Health Organization) (2000). *Air quality guidelines for Europe* (2<sup>nd</sup> ed.). Copenhagen, Denmark: World Health Organization Regional Office for Europe.

Evaluation of nitrogen use efficiency and N-supplying capacity on pomelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) grown on alluvial soil in the Cuu Long Delta

Em H. Tran<sup>1</sup>, Quynh N. Le<sup>2</sup>, Ngoc P. Ngo<sup>2\*</sup>, Mo T. H. Le<sup>1</sup>, & Hung N. Ngo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Soil Sciences, College of Agriculture, Can Tho University, Can Tho City, Vietnam

<sup>2</sup>Department of Biochemistry - Plant Physiology, College of Agriculture, Can Tho University, Can Tho City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: October 19, 2023

Revised: April 01, 2024

Accepted: April 08, 2024

Keywords

Nam Roi pomelo

Nitrogen uptake

Recovery efficiency (RE)

Yield response (YR)

\*Corresponding author

Ngo Phuong Ngoc

Email:

npgoc@ctu.edu.vn

ABSTRACT

The study was conducted to determine the nitrogen use efficiency (NUE) and the ability to provide nitrogen from alluvial soil for growing pomelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) in the Mekong Delta. The experiment was arranged in a randomized complete block design including two treatments (NPK treatment: 673 N - 385 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> -192 K<sub>2</sub>O g/plant and PK treatment: 0 N - 385 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 192 K<sub>2</sub>O g/plant) and three replicates (3 plants for each replicate). The results showed that fruit yield was highest (39.1 kg/plant, N recovery efficiency of 53.8%) in the full NPK fertilization treatment and lowest in the PK fertilization treatment (18.5 kg/plant). Calculation results of the ability to supply nitrogen to pomelo trees in Chau Thanh, Hau Giang showed that alluvial soil had the ability to provide 49.6% of N and the remaining 50.4% from additional fertilizer sources for maximizing fruit yield.

**Cited as:** Tran, E. H., Le, Q. N., Ngo, N. P., Le, M. T. H., & Ngo, H. N. (2024). Evaluation of nitrogen use efficiency and N-supplying capacity on pomelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) grown on alluvial soil in the Cuu Long Delta. *The Journal of Agriculture and Development* 23(5), 12-21.

**Đánh giá hiệu quả sử dụng phân đạm và khả năng cung cấp đạm của đất phù sa trồng bưởi (*Citrus grandis* L. Osbeck) ở đồng bằng sông Cửu Long**

**Trần Hoàng Em<sup>1</sup>, Lê Ngọc Quỳnh<sup>2</sup>, Ngô Phương Ngọc<sup>2\*</sup>, Lê Thị Hằng Mơ<sup>1</sup> & Ngô Ngọc Hưng<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Khoa Khoa Học Đất, Trường Nông Nghiệp, Đại Học Cần Thơ, Thành Phố Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Sinh Lý - Sinh Hóa, Trường Nông Nghiệp, Đại Học Cần Thơ, Thành Phố Cần Thơ

**THÔNG TIN BÀI BÁO**

**Bài báo khoa học**

Ngày nhận: 19/10/2023

Ngày chỉnh sửa: 01/04/2024

Ngày chấp nhận: 08/04/2024

**Từ khóa**

Bưởi Năm Roi

Đáp ứng năng suất

Hấp thu đạm

Hiệu quả thu hồi đạm

**\*Tác giả liên hệ**

Ngô Phương Ngọc

Email:

npgoc@ctu.edu.vn

**TÓM TẮT**

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định hiệu quả sử dụng phân đạm và khả năng cung cấp N từ đất phù sa trồng bưởi Năm Roi (*Citrus grandis* L. Osbeck) tại khu vực đồng bằng sông Cửu Long. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên gồm hai nghiệm thức (nghiệm thức NPK: 673 N - 385 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 192 K<sub>2</sub>O g/cây và nghiệm thức PK: 0 N - 385 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 192 K<sub>2</sub>O g/cây), ba lần lặp lại (3 cây/mỗi lần lặp lại). Kết quả cho thấy năng suất trái đạt cao nhất (39,1 kg/cây) ở nghiệm thức bón đầy đủ NPK, hiệu quả thu hồi đạm đạt 53,8%; thấp nhất ở nghiệm thức bón PK (18,5 kg/cây). Kết quả tính toán khả năng cung cấp đạm cho cây bưởi Năm Roi tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang cho thấy đất phù sa có khả năng cung cấp 49,6% N và lượng N còn lại 50,4% từ nguồn phân bón bổ sung để cho năng suất tối đa.

**1. Đặt Vấn Đề**

Bưởi Năm Roi là một trong những loại trái cây có giá trị kinh tế cao của huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang (Nguyễn & Ngô, 2019). Để đạt được năng suất và chất lượng tốt, đạm đóng vai trò quan trọng nhất trong các nguyên tố dinh dưỡng của cây. Đạm đóng vai trò cấu trúc nên các đại phân tử trong tế bào như protein, axit nucleic và enzyme trong tế bào (Ennab, 2023).

Theo kết quả điều tra của tác giả Nguyễn & Ngô (2019), lượng phân đạm bón cho cây bưởi

Năm Roi tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang chênh lệch nhau giữa các vườn canh tác trên địa bàn huyện. Hiện nay chưa có khuyến cáo cụ thể về lượng phân đạm bón cho cây bưởi Năm Roi trồng trên đất phù sa tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang. Năng suất cây trồng phụ thuộc vào lượng dinh dưỡng cây trồng hấp thu từ nguồn phân bón và từ nền đất canh tác. Do đó, các khuyến cáo về phân bón cần căn cứ dựa trên tình trạng dinh dưỡng của cây trồng, hiệu quả sử dụng phân bón và khả năng cung cấp dưỡng chất từ đất (Yi & ctv., 2022). Một số nghiên cứu

cho thấy hiệu quả thu hồi đạm khác nhau giữa các vùng đất khác nhau, ví dụ 26 - 35% ở Trung Quốc (Chojnacka & ctv., 2023), 52 - 68% ở Mỹ và một số nước ở châu Âu (Ladha & ctv., 2005). Tuy nhiên, các nghiên cứu về hiệu quả sử dụng phân đạm trên cây ăn trái tại khu vực đồng bằng sông Cửu Long còn hạn chế.

Vì vậy, nghiên cứu xác định hiệu quả sử dụng phân đạm và khả năng cung cấp N từ đất phù sa trồng trồng bưởi Năm Roi tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang là cần thiết.

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

### 2.1. Thời gian, địa điểm và đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 05 năm 2019 đến tháng 02 năm 2020 tại huyện Châu

Thành, tỉnh Hậu Giang. Đối tượng nghiên cứu giống bưởi Năm Roi 5 năm tuổi. Loại phân bón sử dụng trong thí nghiệm là phân đạm Ure (46% N), super lân (16%  $P_2O_5$ ) và phân kali clorua (60%  $K_2O$ ).

Đặc tính lý hóa của đất tại khu vực thí nghiệm được mô tả ở Bảng 1. Kết quả phân tích đất ở hai độ sâu lấy mẫu (0 - 20 cm) và (20 - 40 cm) cho thấy đất có thành phần cơ giới sét,  $pH_{H_2O}$  được đánh giá ở mức chua vừa, độ dẫn điện, khả năng trao đổi cation và hàm lượng lân dễ tiêu ở mức phù hợp và không có dấu hiệu cho thấy ảnh hưởng đến năng suất cây trồng. Tuy nhiên hàm lượng chất hữu cơ trong đất được đánh giá ở mức trung bình (3,52% ở độ sâu 0 - 20 cm) và mức nghèo (1,91% ở độ sâu 20 - 40 cm) (Bảng 1).

**Bảng 1.** Đặc tính lý hóa của đất trước thí nghiệm

| Độ sâu  | Cấp hạt (%) |      |     | $pH_{H_2O}$ | EC <sup>1</sup> | P dễ tiêu<br>(mg P/kg) | CEC <sup>2</sup><br>(cmol <sup>+</sup> /100 g) | Chất hữu<br>cơ (%) |
|---------|-------------|------|-----|-------------|-----------------|------------------------|------------------------------------------------|--------------------|
|         | Sét         | Thịt | Cát |             |                 |                        |                                                |                    |
| 0 - 20  | 55,7        | 43,9 | 0,4 | 5,52        | 0,20            | 50,3                   | 21,1                                           | 3,52               |
| 20 - 40 | 57,0        | 41,9 | 1,1 | 5,21        | 0,09            | 12,9                   | 19,2                                           | 1,91               |

<sup>1</sup>EC: electrical conductivity.

<sup>2</sup>CEC: cation exchange capacity.

### 2.2. Phương pháp

Công thức phân cho cây bưởi Năm Roi trồng tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang là 210 N - 120  $P_2O_5$  - 60  $K_2O$  (kg/ha) (Nguyen & Ngo, 2019). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nghiệm thức: nghiệm thức NPK (673 N - 385  $P_2O_5$  - 192  $K_2O$  g/cây) và nghiệm thức PK (0 N - 385  $P_2O_5$  - 192  $K_2O$  g/cây). Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại gồm 3 cây. Kỹ thuật chăm sóc cây, tưới nước, phòng trừ sâu bệnh hại và quản lý cỏ dại theo tập quán canh tác của nông dân. Khoảng cách cây cách cây là 4 × 4 m, mật độ trồng 312 cây/ha, tỷ lệ mương liếp là 1:1.

Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: số trái/cây (đếm toàn bộ số trái trên cây, đơn vị trái/cây), khối lượng trái/cây (cân toàn bộ trái và lấy số liệu trung bình, đơn vị kg/trái), đường kính trái (dùng thước kẹp đo ở vị trí giữa trái, đơn vị cm), chỉ tiêu năng suất trái (tổng khối lượng trái/cây, đơn vị kg/cây).

Đối với mẫu rễ: Dùng xẻng đào từ lớp đất mặt đến độ sâu 50 cm để lấy toàn bộ rễ của cây (Hình 1). Rễ sau khi loại bỏ sạch đất tiến hành cân trọng lượng tươi. Sau đó thu một phần mẫu rễ mang về phòng thí nghiệm sấy khô ở nhiệt độ 70°C trong 72 giờ. Sau đó cân và quy về tổng khối lượng khô toàn bộ rễ. Mẫu rễ sau đó được cắt nhỏ và nghiền để phân tích hàm lượng đạm.



**Hình 1.** Rễ cây bưởi được thu từ lớp đất mặt đến độ sâu 50 cm  
(Châu Thành, Hậu Giang, tháng 02/2020).

Đối với mẫu thân: Là vị trí tiếp xúc với mặt đất đến vị trí phân cành cấp một. Mẫu cành: Tất cả các cành trên cây. Mẫu lá: Thu toàn bộ tất cả các lá trên cây. Mẫu trái: Trái thu về cân trọng lượng tươi sau đó sử dụng phương pháp sấy thăng hoa. Các mẫu thân, lá, cành, trái được xử lý tương tự như mẫu rễ.

Các chỉ tiêu đất phân tích: pH H<sub>2</sub>O, EC (electrical conductivity), lân dễ tiêu, hàm lượng đạm trong thực vật, CEC (cation exchange capacity), chất hữu cơ và sa cấu theo phương pháp của Houba & ctv. (1995).

Phương pháp tính toán dựa theo Dobermann & ctv. (2002).

Hấp thu đạm trong rễ (g N/cây) = hàm lượng đạm trong rễ (g/kg) × sinh khối (kg/cây) (tương tự tính cho hấp thu đạm trong thân, cành, lá và trái).

Tổng hấp thu đạm (g N/cây) = tổng hấp thu các thành phần của cây (rễ, thân, lá, cành, trái).

$$RE_N (\%) = \frac{U_{NPK} - U_{PK}}{F_N} \times 100\% (\%)$$

$$\text{Tỷ lệ N cung cấp từ đất } (\%) = \frac{(U_{NPK} - U_{PK})}{U_{NPK}} \times 100\% (\%)$$

Tỷ lệ N cung cấp từ phân bón

$$= 100\% - \text{tỷ lệ N cung cấp từ đất } (\%)$$

$$INS = U_{PK} \text{ (g N/cây)}$$

$$YR = Y_{NPK} - Y_{PK} \text{ (kg)}$$

Trong đó: REN: Hiệu quả thu hồi đạm (nitrogen recovery efficiency) (%)

INS: Khả năng cung cấp đạm từ đất (g N/cây)

YR: Đáp ứng năng suất (yield response) (kg)

$Y_{NPK}$ : Năng suất nghiệm thức bón N, P, K (kg/cây)

$Y_{PK}$ : Năng suất nghiệm thức bón P, K (kg/cây)

$U_{NPK}$ : Tổng hấp thu nghiệm thức bón N, P, K (g N/cây)

$U_{PK}$ : Tổng hấp thu nghiệm thức bón P, K (g N/cây)

$F_N$ : Lượng phân N bón vào (g/cây)

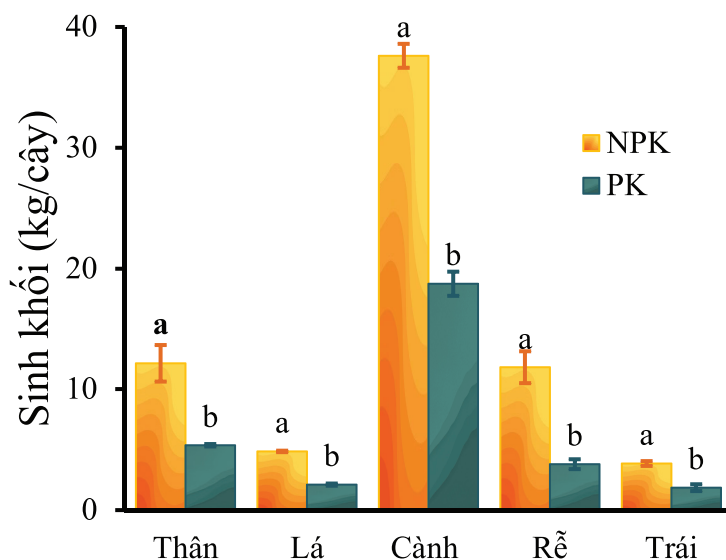
Phương pháp xử lý thống kê: Số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel 2010, phân tích thống kê T-Test sử dụng phần mềm SPSS 16.0.



### 3. Kết Quả và Thảo Luận

#### 3.1. Ảnh hưởng của phân bón đến sinh khối, hàm lượng đạm và hấp thu đạm

Kết quả thống kê cho thấy, sinh khối khô của các bộ phận bao gồm thân, lá, cành, rễ và trái ở nghiệm thức bón NPK đều cao hơn so với nghiệm thức bón PK. Trong đó, sinh khối thân ở nghiệm thức bón NPK là 12,15 kg/cây, cao hơn so với 5,37 kg/cây ở nghiệm thức bón PK (Hình 2).



**Hình 2.** Ảnh hưởng của phân bón đến sinh khối các bộ phận của cây bưởi. Thanh đứng giữa các cột thể hiện giá trị SD; các ký tự khác nhau trong cùng một nhóm bộ phận cây bưởi chỉ sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức  $P < 0,05$ .

Kết quả Hình 2 cũng cho thấy sự phân bố sinh khối chiếm tỷ lệ cao nhất ở bộ phận cành, tiếp theo là thân và rễ, thấp nhất là lá và trái.

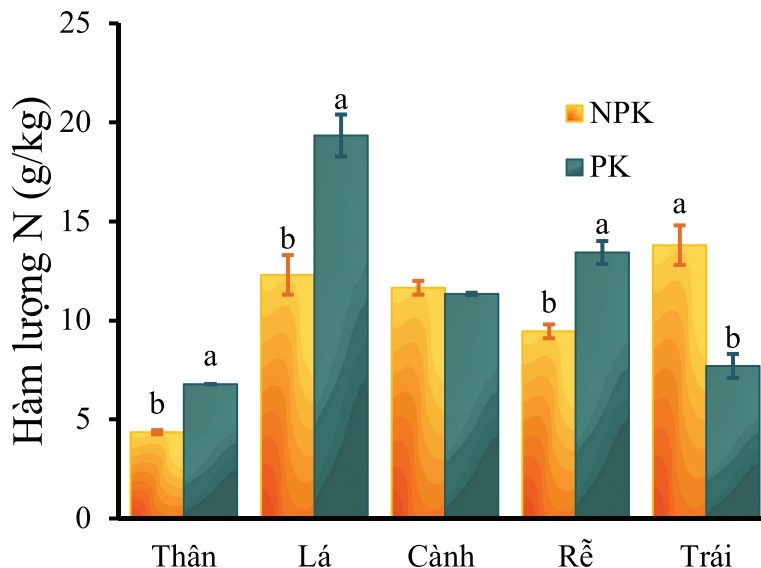
Hàm lượng đạm trong thân ở nghiệm thức bón NPK là 4,36 g/kg thấp hơn ý nghĩa ( $P < 0,05$ ) so với nghiệm thức PK (6,78 g/kg). Tương tự hàm lượng đạm trong lá là 12,3 g/kg ở nghiệm thức bón NPK và 19,3 g/kg ở nghiệm thức bón PK; đối với rễ là 9,45 g/kg và 13,4 g/kg theo cùng thứ tự. Tuy nhiên, kết quả phân tích cho thấy hàm lượng đạm trong trái ở nghiệm thức bón NPK đạt 13,8 g/kg, cao hơn ý nghĩa ( $P < 0,05$ ) so với nghiệm

Tương tự, sinh khối lá, cành, rễ và trái ở nghiệm thức bón PK lần lượt là 2,11; 18,74; 3,80 và 3,86 kg/cây thấp hơn so với nghiệm thức bón NPK theo thứ tự 4,86; 37,61; 11,83 và 3,86 kg/cây (Hình 2). Bón phân đạm giúp tăng quá trình quang hợp, tổng hợp chất và phân chia tế bào dẫn đến tăng sinh khối tươi và sinh khối khô các bộ phận như thân, lá, rễ trên các loại cây có múi (Habasy, 2017; Ismaiel & Habasy, 2021; Ennab & ctv., 2023).

thức bón PK, chỉ đạt 7,70 g/kg. Ngoài ra, hàm lượng đạm trong cành giữa 2 nghiệm thức ghi nhận tương khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ) (Hình 3).

Hàm lượng đạm trong lá bưởi Năm Roi dao động từ 2,25% - 2,69% trong trường hợp bón phân đạm 154 - 345 kg N/ha (Ennab, 2023), tương tự như kết quả Hình 2, bón 210 kg N/ha hàm lượng đạm trong lá đạt 2,27%. Hàm lượng đạm trong lá bưởi trong thời kỳ cho trái dao động 2,2 - 2,3% được đánh giá là tối hảo (He & ctv., 2003).

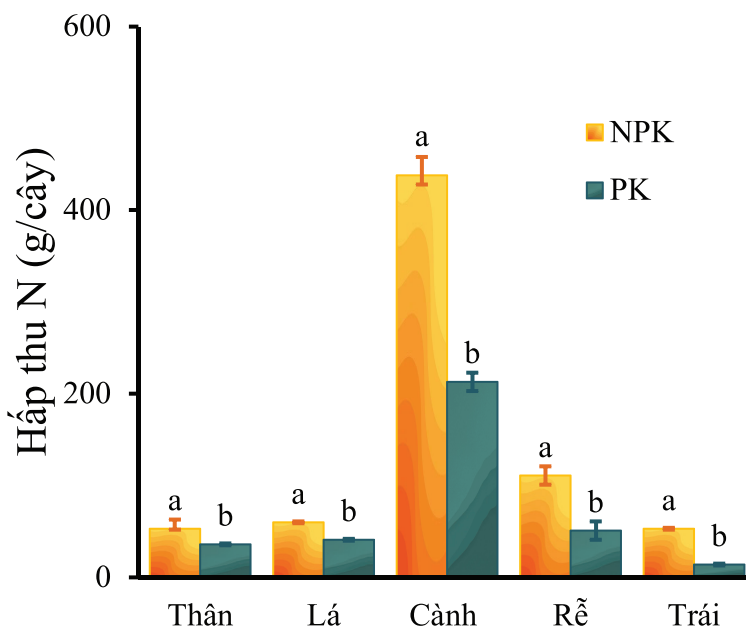




**Hình 3.** Ảnh hưởng của phân bón đến hàm lượng đạm (N) trong các bộ phận của cây bưởi. Thanh đứng giữa các cột thể hiện giá trị SD; các ký tự khác nhau trong cùng một nhóm bộ phận chỉ sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức  $P < 0,05$ .

Hấp thu đạm trong các bộ phận thân, lá, cành, rễ và trái ở nghiệm thức bón NPK đạt lần lượt là 53,0; 60,0; 438; 110 và 53,1 g N/cây, cao hơn so với nghiệm thức bón PK là 36,0; 41,0; 210; 51,0 và 14 g N/cây

theo cùng thứ tự (Hình 3). Kết quả cho thấy lượng đạm hấp thu trong cành cao nhất ở cả 2 nghiệm thức bón NPK và bón PK (Hình 3) do sinh khối cành cao hơn so với các bộ phận còn lại (Hình 2).



**Hình 4.** Ảnh hưởng của phân bón đến hấp thu đạm (N) trong các bộ phận của cây bưởi. Thanh đứng giữa các cột thể hiện giá trị SD; các ký tự khác nhau trong cùng một nhóm bộ phận chỉ sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức  $P < 0,05$ .

Hàm lượng đạm trong rễ, thân và lá ở nghiệm thức bón NPK thấp hơn so với nghiệm thức bón PK (Hình 3). Ngược lại sinh khối khô và hấp thu đạm ở các bộ phận rễ, thân, lá ở nghiệm thức NPK cao hơn so với nghiệm thức bón PK (Hình 2 & 4).

Kết quả nghiên cứu của Jarrell & Beverly (1981) cho thấy có sự liên hệ chặt chẽ giữa sinh khối, hàm lượng đạm và tổng hấp thu đạm. Cây thiếu dưỡng chất đạm làm giảm sinh khối chất khô, tuy nhiên hàm lượng đạm trong cây vẫn không giảm do đó tổng hấp thu đạm giảm. Tuy nhiên, cây được bón phân đạm đầy đủ giúp tăng

sinh khối và giảm hàm lượng đạm trong cây do đó hấp thu đạm tăng. Theo nhiều nghiên cứu, cây trồng được bón đầy đủ dưỡng chất đạm giúp sinh khối và hấp thu đạm tăng cây tăng lên, ngược lại hàm lượng đạm trong cây giảm (Greenwood & ctv., 1990; Du & ctv., 2020).

### 3.2. Ảnh hưởng của phân bón đến năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất

Nghiệm thức bón đầy đủ NPK có số trái trên cây (23,0 trái/cây); khối lượng trái trung bình (1,70 kg/trái) và đường kính trái (18,4 cm) đều cao hơn so với nghiệm thức PK với 16,8 trái/cây; 1,10 kg/trái và 12,4 cm theo cùng thứ tự (Bảng 2).

**Bảng 2.** Ảnh hưởng phân bón đến các yếu tố cấu thành năng suất bưởi Năm Roi

| Nghiệm thức | Số trái/cây $\pm$ SD<br>trái/cây | Khối lượng trái $\pm$ SD<br>kg/trái | Đường kính trái $\pm$ SD<br>cm |
|-------------|----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| NPK         | 23,0 $\pm$ 3,91                  | 1,70 $\pm$ 0,20                     | 18,4 $\pm$ 0,56                |
| PK          | 16,8 $\pm$ 1,05                  | 1,10 $\pm$ 0,10                     | 12,4 $\pm$ 0,31                |

Ở nghiệm thức bón NPK, năng suất bưởi Năm Roi đạt 39,1 kg/cây, trong khi đó năng suất chỉ đạt 18,5 kg/cây ở nghiệm thức PK (Bảng 2). Theo nghiên cứu của Thamrin & ctv. (2015), bón N - P - K với liều lượng 450 - 582 - 496 g/cây giúp cải thiện sinh trưởng và năng suất bưởi Năm Roi. Ngoài ra, bón phân NPK theo tỉ lệ 1:0,5:1 đã giúp tăng năng suất trái và tăng chất lượng trái bưởi (*Citrus grandis* L. Osbeck. cv. Duweiwendan) được nghiên cứu bởi Peng & ctv. (2014). Tại vùng trồng bưởi Ai Cập, bón 297 - 345 kg N/ha đã tăng sinh trưởng và năng suất trái bưởi *Citrus maxima*, Merr (Ennab, 2023). Hơn nữa, bón phân cân đối giúp cây hấp thu đầy đủ các dưỡng chất trong đất giúp cân bằng dưỡng chất trong lá dẫn đến tăng năng suất và chất lượng trái (Thamrin & ctv., 2014).

Đáp ứng năng suất đối với phân đạm (YR) là giá trị thể hiện mức độ khác biệt giữa nghiệm thức bón NPK so với nghiệm thức không bón đạm. Cụ thể, năng suất trái của nghiệm thức có bón N (nghiệm thức NPK) là 39,1  $\pm$  0,63 (kg/cây) cao hơn so với năng suất trái nghiệm thức không bón N (nghiệm thức PK) là 18,5  $\pm$  0,89 (kg/cây). Như vậy đáp ứng năng suất trong trường hợp này là 20,6  $\pm$  0,26 kg/cây. Trong trường hợp đất màu mỡ, độ phì nhiêu cao giá trị YR thấp và ngược lại (Van Ittersum & ctv., 2013). Vì vậy, YR là trị số quan trọng để đánh giá độ phì nhiêu của đất trồng và hiệu quả sử dụng phân bón (Marchant & ctv., 2019), tăng lượng phân đạm bón cho cây trồng thì YR sẽ tăng lên theo hình parapol (Yi & ctv., 2022).

**Bảng 3.** Năng suất trái, tổng N hấp thu và hiệu quả thu hồi đạm

| Thông số nông học                  | Đơn vị  | Trung bình | Độ lệch chuẩn (SD) |
|------------------------------------|---------|------------|--------------------|
| Năng suất nghiệm thức NPK          | kg/cây  | 39,1       | $\pm 0,63$         |
| Năng suất nghiệm PK                | kg/cây  | 18,5       | $\pm 0,89$         |
| Đáp ứng năng suất trái của phân N  | kg/cây  | 20,6       | $\pm 0,26$         |
| Tổng hấp thu N (đất +s phân N)     | g N/cây | 716        | $\pm 65,1$         |
| Hấp thu N từ đất                   | g N/cây | 355        | $\pm 55,1$         |
| Hiệu quả thu hồi phân N ( $RE_N$ ) | %       | 53,8       | $\pm 1,57$         |

Kết quả Bảng 3 cho thấy tổng lượng N hấp thu ở trái từ nguồn phân bón và đất là 716 g N/cây, trong đó lượng N hấp thu từ đất ước tính là 355 g N/cây, do đó hiệu quả thu hồi phân N đạt 53,8%. Đạm có vai trò quan trọng giúp cây quang hợp, tăng sinh khối, giúp cây hấp thu đạm tốt hơn. Ngược lại, cây thiếu đạm sẽ có sinh khối các bộ phận rễ, thân, lá, cành trái thấp dẫn đến hấp thu dưỡng chất đạm tương ứng ở các bộ phận thấp. Đạm là một trong 3 nguyên tố khoáng đa lượng có ảnh hưởng lớn nhất đến sinh khối khô và năng suất trái của cây trồng (Peng & ctv., 2014).

Vì vậy, để đánh giá được hiệu quả của việc bón phân đến hấp thu dưỡng chất của cây các nhà khoa học đã tính ra hiệu quả thu hồi đạm ( $RE_N$ ). Với khả năng cung cấp đạm từ đất (g N/cây) nghiệm thức không bón đạm (PK = 355  $\pm$

55,1), so với nghiệm thức bón đầy đủ các dưỡng chất N, P, K (NPK = 716  $\pm$  65,1), hiệu quả thu hồi đạm ( $REN$ ) đạt 53,8%, có nghĩa là bón 210 kg N/ha, cây bưởi hấp thu được 113 kg N/ha. Theo báo cáo của Yi & ctv. (2022) lượng đạm cây không hấp thu có thể do vi sinh vật sử dụng, bay hơi, rửa trôi, hoặc trực di hoặc do tiến trình khác.

### 3.3. Khả năng cung cấp dưỡng chất đạm từ đất trồng cây bưởi

Kết quả tính toán cho thấy lượng đạm cung cấp từ đất trồng cho cây bưởi Năm Roi tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang (2019 - 2020) chiếm 49,6  $\pm$  1,15% tổng lượng đạm hấp thu toàn cây, còn lại 50,4  $\pm$  1,82% đạm được cung cấp từ phân bón (Bảng 4).

**Bảng 4.** Khả năng cung cấp đạm (N) từ đất và phân bón trên đất trồng bưởi Năm Roi huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang (2019 - 2020)

| Cung cấp từ đất trồng | Cung cấp từ phân bón |
|-----------------------|----------------------|
| 50,4 $\pm$ 1,82%      | 49,6 $\pm$ 1,15%     |

Lượng phân bón cho cây bưởi Năm Roi ở các vùng đất khác nhau là không giống nhau, bởi khả năng cung cấp đạm trong các loại đất khác nhau thì không giống nhau. Như trường hợp lượng phân đạm được sử dụng cho cây bưởi ở Ai cập là 297 - 345 kg N/ha, lượng phân đạm được

sử dụng ở Hậu Giang là 210 kg N/ha (Nguyen & Ngo, 2019). Khả năng cung cấp dưỡng chất từ đất được xác định từ phương pháp bón khuyết, là thông số quan trọng để đánh giá mức độ phì nhiêu của đất mà không cần phân tích tính chất đất (Dobermann & ctv., 2003).

Chỉ số “khả năng cung cấp dưỡng chất của đất” không những bao gồm các dưỡng chất trong đất, chất dinh dưỡng được khoáng hóa từ đất, tàn dư thực vật từ vụ trước mà còn bao gồm cả quá trình cố định đạm, khoáng hóa, lắng đọng từ quá trình sinh học và phi sinh học. Khả năng cung cấp dưỡng của đất là một trong những mối quan tâm hàng đầu trong các khuyến cáo sử dụng phân bón (Cassman & ctv., 1996). Theo nghiên cứu của Dobermann & ctv. (2003), dưỡng chất được cung cấp từ đất bao gồm các nguồn: biến đổi hóa sinh trong đất, quá trình cố định đạm trong đất, tổng hợp đạm từ khí quyển, từ các trầm tích lắng đọng (hay “trầm tích lắng đọng”). Trong nghiên cứu này, thí nghiệm được bố trí dựa vào phương pháp lô khuyết (SSNM) để tìm ra khả năng cung cấp đạm từ đất và hiệu quả thu hồi đạm. Đây là một trong những giá trị quan trọng để tìm ra được lượng phân đạm cho cây bưởi Năm Roi tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang.

#### 4. Kết luận

Sử dụng lượng bón 673 g N/cây trên đất phù sa trồng bưởi Năm Roi ở huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang giúp năng suất bưởi Năm Roi đạt 39,1 kg/cây, với đáp ứng năng suất (YR) là 20,6 kg/cây và hiệu quả thu đạm (REN) là 53,8%.

Tổng lượng N hấp thu trong trái do được cung cấp từ đất là 49,6% và 50,4% còn lại từ nguồn phân bón N bổ sung.

Kết quả nghiên cứu này đã cung cấp thêm một số thông tin về hiệu quả bón phân đạm và khả năng cung cấp đạm từ đất trồng, từ đó làm cơ sở cho việc xây dựng các công thức phân bón cho giống bưởi Năm Roi canh tác trên nền đất phù sa tại khu vực đồng bằng sông Cửu Long và một số khu vực lân cận.

#### Lời Cam Đoan

Các tác giả cam đoan không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

#### Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Cassman, K. G., Dobermann, A., Cruz, P. C. S., Gines, G. C., Samson, M. I., Descalsota, J., Alcantara, J. M., Dizon, M. A., & Olk, D. C. (1996). Soil organic matter and the indigenous nitrogen supply of intensive irrigated rice systems in the tropics. *Plant and Soil* 182(2), 267-278. <https://doi.org/10.1007/BF00029058>.
- Chojnacka, K., Skrzypczak, D., Szopa, D., Izydorczyk, G., Moustakas, K., & Witek-Krowiak, A. (2023). Management of biological sewage sludge: Fertilizer nitrogen recovery as the solution to fertilizer crisis. *Journal of Environmental Management* 326(Part A), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116602>.
- Dobermann, A., Witt, C., Abdulrachman, S., Gines, H. C., Nagarajan, R., Son, T. T., Tan, P. S., Wang, G. H., Chien, N. V., Thoa, V. T. K., Phung, C. V., Stalin, P., P., Muthukrishnan, Ravi, V., Babu, M., Simbahan, G. C., & Adviento, M. A. A. (2003). Soil fertility and indigenous nutrient supply in irrigated rice domains of Asia. *Agronomy Journal* 95(4), 913-923. <https://doi.org/10.2134/agronj2003.9130>.
- Dobermann, A., Witt, C., & Dawe, D. (2002). Performance of site - specific nutrient management in intensive rice cropping systems of Asia. *Better Crops International* 16(1), 25-30.
- Du, J. L., Du, L., Li, Q., Li, L., Wu, W. Y., Zhou, F., Liu, X. B., Zhao, B., Li, L. X., Liu, L. Q., Kong, L. F., & Yuan, J. (2020). Construction of a critical nitrogen dilution curve for maize in Southwest China. *Scientific Reports* 10(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70065-3>.
- Ennab, H. A. (2023). Impact of different fertilization levels on the growth, leaf mineral content, yield and fruit quality of Pummelo (*Citrus maxima*) trees. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor* 61(1), 167-176. <https://doi.org/10.21608/assjm.2023.292533>.

- Greenwood, D. J., Lemaire, G., Gosse, G., Cruz, P., Draycott, A., & Neeteson, J. J. (1990). Decline in percentage N of C3 and C4 crops with increasing plant mass. *Annals of botany* 66(4), 425-436. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a088044>.
- Habasy, R. E. Y. (2017). Effect of different levels and sources of nitrogen on tree growth, yield and fruit quality of navel orange trees. *Middle East Journal of Agriculture Research* 6(3), 639-645.
- He, Z. L., Calvert, D. V., Alva, A. K., Banks, D. J., & Li, Y. C. (2003). Thresholds of leaf nitrogen for optimum fruit production and quality in grapefruit. *Soil Science Society of America Journal*, 67(2), 583-588. <https://doi.org/10.2136/sssaj2003.5830>.
- Houba, V. J. G., Van, D., Lee, J. J., & Novozamsky, I. (1995). *Soil analysis procedures; other procedures* (Soil and plant analysis, part 5B). Wageningen Agricultural University, Wageningen, Netherlands.
- Ismail, H. M. H., & Habasy, R. E. Y. (2021). The influence of citrus rootstocks and NPK nutrition on the growth, leaf chemical components and some fruiting aspects of Balady lime trees. *Middle East Journal of Agriculture Research* 10(2), 501-507. <http://dx.doi.org/10.36632/mejar/2021.10.2.35>.
- Jarrell, W. M., & Beverly, R. B. (1981). The dilution effect in plant nutrition studies. *Advances in Agronomy* 34, 197-224. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60887-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60887-1).
- Ladha, J. K., Pathak, H., Krupnik, T. J., Six, J., & Kessel, C. (2005). Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production: retrospects and prospects. *Advances in Agronomy* 87, 85-156. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(05\)87003-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)87003-8).
- Marchant, B., Rudolph, S., Roques, S., Kindred, D., Gillingham, V., Welham, S., Coleman, C., & Sylvester-Bradley, R. (2019). Establishing the precision and robustness of farmers' crop experiments. *Field Crops Research* 230, 31-45. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.10.006>.
- Nguyen, K. T. T., & Ngo, H. N. (2019). Investigation of cultivation status of Nam Roi pummelo grown in raised beds of alluvial soil in Hau Giang province. *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology* 12(109), 15-20. 161-164.
- Peng, P. J., Zheng, L. Y., Li, M. W., & Chen, S. W. (2014). Effect of fertilization and water treatment on fruit cracking, yield and quality of Duweiwendan pomelo. *Fujian Journal of Agriculture Sciences* 29(11), 1074-1078. <https://doi.org/10.19303/j.issn.1008-0384.2014.11.006>.
- Thamrin, M., Susanto, S., Susila, A. D., & Sutandi, D. A. (2014). Correlation between nitrogen, phosphorus and potassium leaf nutrient with fruit production status of nitrogen, phosphorus, and potassium of Pummelo (*Citrus maxima*). *Asian Journal of Applied Sciences* 7(3), 129-139. <https://doi.org/10.3923/ajaps.2014.129.139>.
- Van Ittersum, M., Cassman K. G., Grassini, P., Wolf, J. Tittone, P., & Hochman, Z. (2013). Yield gap analysis with local to global relevance - A review. *Field Crops Research* 143, 4-17.
- Yi, Q., Li, L. G., Tang, H. S., Huang, X., Pang, W. Y., & Zhang, M. (2022). Characteristics and Validation of a Recommended Fertilization Approach for Lychee Based on Yield Response and Agronomic Efficiency. *Horticultural Science and Technology* 40(4), 361-375. <https://doi.org/10.7235/HORT.20220033>.

## Application of ergonomics in the design of desks and chairs for primary school students in Ho Chi Minh City

Nghia Q. Le\*, Huong T. T. Hoang, Hai M. Dang, & Tien V. Nguyen

Department of Forestry, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: February 06, 2024

Revised: April 23, 2024

Accepted: May 13, 2024

#### Keywords

Acacia wood

Body size

Ergonomic

Primary school furniture

#### \*Corresponding author

Le Quang Nghia

Email:

lqnghia@hcmuaf.edu.vn

### ABSTRACT

The application of ergonomics in the product design is currently of great interest, especially for products used in schools, to reduce school-related health issues. This article presented statistical data on the body size of male and female primary school students, aged 7 - 8 years old in Ho Chi Minh City including average body size, size in standing and sitting position. Additionally, the article also gave the specifications of sawn acacia wood, acacia finger joint wood used for the production of student desks and chairs. By integrating the students' body dimensions, ergonomic parameters, Ministry of Health guidelines, and the selection of acacia wood materials, the author devised a set of desks and chairs suitable for elementary school students up to grade 3. The desk dimensions were as follows: height 570 mm, desk width 450 mm, desk length 600 mm; for the chair: height 650 mm, seat height 340 mm, seat width 310 mm, seat depth 264 mm. The angle between the backrest and the chair surface was 95°. As a result, a desk and chair set was designed, followed by trial production, and a proposed manufacturing process for student desks and chairs.

**Cited as:** Le, N. Q., Hoang, H. T. T., Dang, H. M., & Nguyen, T. V. (2024). Application of ergonomics in the design of desks and chairs for primary school students in Ho Chi Minh City. *The Journal of Agriculture and Development* 23(5), 22-33.



Nghiên cứu ứng dụng công thái học trong thiết kế bàn ghế học sinh cấp tiểu học tại Thành phố Hồ Chí Minh

Lê Quang Nghĩa\*, Hoàng Thị Thanh Hương, Đặng Minh Hải, & Nguyễn Văn Tiến  
Khoa Lâm Nghiệp, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 06/02/2024

Ngày chỉnh sửa: 23/04/2024

Ngày chấp nhận: 13/05/2024

Từ khóa

Công thái học

Đồ nội thất trường tiểu học

Gỗ trầm bông vàng

Kích thước cơ thể

\*Tác giả liên hệ

Lê Quang Nghĩa

Email: lqngheia@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Ứng dụng công thái học trong thiết kế sản phẩm hiện nay đang rất được quan tâm, đặc biệt là dùng cho các sản phẩm trong trường học, nhằm giảm các bệnh lý học đường. Trong bài báo này, tác giả đã đưa thống kê kích thước cơ thể của học sinh tiểu học của cả nam và nữ từ 8 - 9 tuổi tại TP.HCM về kích thước trung bình cơ thể, kích thước ở tư thế đứng và ở tư thế ngồi. Bên cạnh đó, bài báo cũng đưa ra các chỉ tiêu của gỗ trầm bông vàng xẻ và gỗ ghép thanh trầm bông vàng dùng cho sản xuất bàn ghế học sinh. Từ các kích thước cơ thể học sinh đã đưa ra, kết hợp với các thông số tiêu chuẩn công thái học và thông tư liên tịch số: 26/2011 của Bộ Y tế kết hợp với việc lựa chọn nguyên liệu gỗ trầm bông vàng, tác giả đã thiết kế được bộ sản phẩm bàn ghế dùng cho học sinh tiểu học - lớp 3. Kích thước chiều cao bàn 570 mm, chiều rộng bàn 450 mm, chiều dài bàn 600 mm; chiều cao ghế 650 mm, chiều cao mặt ngồi 340 mm, chiều rộng mặt ngồi 310 mm, chiều sâu ngồi 264 mm. Góc nghiêng giữa lưng tựa và mặt ghế là góc 95°. Kết quả đã thiết kế bộ bàn ghế và tiến hành sản xuất thử, cùng với đề xuất quy trình gia công bàn ghế học sinh tiểu học.

1. Đặt Vấn Đề

Trong không gian trường học luôn cần có các sản phẩm đáp ứng được yêu cầu sử dụng cho học sinh để có trạng thái học tập tốt nhất và sức khỏe được tốt (MOET - MOST - MOH, 2011). Các sản phẩm bàn ghế dành cho học sinh cũng cần đáp ứng được yêu cầu về nhân trắc học, sao cho sản phẩm phải đáp ứng được nhu cầu công năng, thẩm mỹ, kinh tế và hạn chế các vấn đề về bệnh lý trong học đường (Ly, 2001).

Bên cạnh đó, các số liệu thống kê về kích thước của các nhóm học sinh trên địa bàn TP.

Hồ Chí Minh cũng là cơ sở quan trọng cho thiết kế bàn ghế học sinh. Nên việc cập nhật, thu thập các số liệu mới để đưa vào ứng dụng công thái học cho công việc thiết kế và sản xuất bàn học đạt chuẩn cho cấp học sinh tiểu học là một yêu cầu cần thiết, khách quan để nâng cao hiệu quả trong học tập.

Vấn đề cần đặt ra của quá trình thiết kế là phải xác định được các yếu tố về kích thước của học sinh tiểu học, đưa ra các thông số về công thái học tối ưu và kiểu dáng phù hợp cho đối tượng sử dụng. Bên cạnh đó, việc chọn lựa nguyên liệu

gỗ tràm bông vàng và gỗ ghép thanh tràm bông vàng đạt tiêu chuẩn cũng phù hợp với điều kiện sản xuất sản phẩm bàn ghế học sinh (Hoang, 2018). Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu là ứng dụng công thái học trong thiết kế bàn ghế học sinh cấp tiểu học tại TP. Hồ Chí Minh.

## 2. Vật Liệu, Đối Tượng và Phương Pháp

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguyên liệu: gỗ tràm bông vàng; gỗ ghép thanh tràm bông vàng về tính chất cơ lý, độ bền uốn, độ bền nén, độ bền kéo...

### 2.2. Đối tượng nghiên cứu

Kích thước cơ thể học sinh lớp 3 từ 8 - 9 tuổi tại TP. Hồ Chí Minh: tổ chức, thu thập số đo kích thước cơ thể của 200 học sinh nam và 200 học sinh nữ với các thông số:

Tư thế đứng: chiều cao cơ thể; chiều dài tay; chiều dài cánh tay; chiều dài cẳng tay; chiều cao chân; chiều dài đùi; chiều dài cẳng chân; Chiều cao mắt; chiều cao vai; chiều cao khuỷu tay; chiều cao công năng của tay; chiều cao xương cẳng chân;

Tư thế ngồi: chiều cao ngồi; chiều cao điểm gáy; chiều cao của mắt; chiều cao của vai; chiều cao của thắt lưng; chiều dày đùi; chiều cao đầu gối; chiều cao cẳng chân + bàn chân; chiều sâu ngồi; chiều sâu ngồi và chiều dày cổ chân; chiều dài chân; chiều rộng của vai.

Các yếu tố liên quan đến công thái học, TCVN, thông tư của Bộ Y tế trong lựa chọn kích thước bàn ghế học sinh, các tiêu chuẩn cho vật liệu gỗ, quy trình thiết kế sản phẩm.

Các chỉ tiêu đặc trưng cho từng mẫu sản phẩm theo đối tượng sử dụng.

## 2.3. Phương pháp nghiên cứu

### 2.3.1. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu cơ thể học sinh

Tiến hành khảo sát, đo đặc kích thước cơ thể học sinh tiểu học, lớp 3 từ 8 - 9 tuổi tại TP. Hồ Chí Minh: Khi đo, người được đo không đi giày, không đội mũ. Khi thu thập các kích thước đứng thẳng hay kích thước ngồi, người được đo phải giữ thẳng trong tư thế tự nhiên sao cho ba điểm lưng, mông và gót chân nếu đo tư thế đứng, nằm trên một đường thẳng vuông góc với mặt đất. Đầu để thẳng sao cho đuôi mắt và lỗ tai ngoài tạo thành một đường thẳng song song với mặt đất. Khi đo hạ dần thước từ số đo cao nhất đến số đo thấp nhất. Khi đo, đặt dụng cụ đo ôm sát trên cơ thể, không kéo căng hoặc để trùng

Xử lý số liệu kích thước cơ thể học sinh bằng các phương pháp thống kê, thực nghiệm. Từ các kết quả thu được, tiến hành đánh giá, phân tích số liệu.

### 2.3.2. Phương pháp thiết kế

Tham khảo các tài liệu có liên quan công thái học, TCVN, thông tư của Bộ y tế, các số liệu thống kê kích thước cơ thể học sinh đã thu thập, tổng hợp các yêu cầu của sản phẩm để từ đó làm cơ sở thiết kế mẫu sản phẩm thích hợp với đối tượng sử dụng.

Ứng dụng phần mềm thiết kế, đồ họa để thể hiện ba hình chiếu, xây dựng mô hình phối cảnh thực tế nhằm đem lại cái nhìn trực quan nhất về sản phẩm sau khi hoàn thiện.

Áp dụng một số công thức tính toán sức bền để kiểm tra độ bền sản phẩm, các chỉ tiêu kỹ thuật về nguyên vật liệu và công nghệ gia công sản xuất.

### 2.3.3. Thiết bị và dụng cụ

Các công thức tính toán, kiểm tra.

Thiết bị đo kích thước cơ thể: Thước dây, thước đo chiều cao, cân...

Các phần mềm hỗ trợ: Word, Excel, Autocad, 3dsMax, Inventor...

Thiết bị thí nghiệm: Kính lúp, tủ sấy, máy đo độ ẩm, thước kẹp điện tử, cân điện tử, máy thử cơ học gỗ, thiết bị sản xuất thử, máy đo độ dày màn sơn, máy đo độ bám dính, máy đo độ nhẵn bề mặt... tại Trung tâm nghiên cứu Chế biến lâm sản, giấy và bột giấy - Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.

### 3. Kết Quả và Thảo Luận

#### 3.1. Kết quả khảo sát kích thước cơ thể học sinh tiểu học

Theo Hoang (2018) và Luật Giáo dục Việt Nam (NAV, 2019), giáo dục tiểu học được thực

hiện trong 5 năm học, từ lớp một đến hết lớp năm. Tuổi của học sinh vào học lớp một là 6 tuổi và được tính theo năm. Học sinh tiểu học bao gồm những trẻ em nằm trong độ tuổi từ 6 - 11 tuổi, đây là giai đoạn chuyển tiếp từ thời thơ ấu sang thời niên thiếu. Và cũng là giai đoạn cực kỳ quan trọng trong quá trình phát triển về thể chất, trí tuệ, đặc biệt là nhân cách của trẻ nhỏ.

Ở độ tuổi này, các bộ phận trên cơ thể của trẻ đang trong quá trình phát triển và dần hoàn thiện. Hệ xương còn nhiều mô sụn, xương hông, xương sống, xương tay, xương chân chưa cứng cáp nên dễ bị gãy gập, cong vẹo... Chiều cao, cân nặng cơ thể, kích thước tay và chân của trẻ sẽ tăng theo mỗi năm.

**Bảng 1.** Kích thước trung bình của học sinh tiểu học (mm)

| STT | Chỉ tiêu            | Nam  | Nữ   | Trung bình |
|-----|---------------------|------|------|------------|
| 1   | Chiều cao cơ thể    | 1409 | 1419 | 1414       |
| 2   | Cân nặng (kg)       | 41   | 39   | 40         |
| 3   | Chiều dài tay       | 522  | 516  | 519        |
| 4   | Chiều dài cánh tay  | 237  | 228  | 232.5      |
| 5   | Chiều dài cẳng tay  | 285  | 294  | 289.5      |
| 6   | Chiều cao chân      | 734  | 765  | 749.5      |
| 7   | Chiều dài đùi       | 354  | 408  | 381        |
| 8   | Chiều dài cẳng chân | 417  | 356  | 386.5      |

TP.HCM, thu thập ngày 15 tháng 05 năm 2023.

Qua Bảng 1 và 2, cho thấy ở độ tuổi từ 8 - 9 tuổi, trẻ nam và nữ có kích thước cơ thể về chiều cao không chênh lệch với nhau nhiều. Đối với

nam thì chiều cao trung bình là 1.409 mm và nữ là 1.419 mm. Bên cạnh đó kích thước tay, chân cũng không có sự khác biệt nhiều.

**Bảng 2.** Kích thước trung bình học sinh tiểu học tư thế đứng (mm)

| STT | Chỉ tiêu                    | Nam  | Nữ   | Trung bình |
|-----|-----------------------------|------|------|------------|
| 1   | Chiều cao mắt               | 1283 | 1270 | 1276.5     |
| 2   | Chiều cao vai               | 1097 | 1117 | 1107       |
| 3   | Chiều cao khuỷu tay         | 861  | 851  | 856        |
| 4   | Chiều cao công năng của tay | 589  | 583  | 586        |
| 5   | Chiều cao xương cẳng chân   | 361  | 405  | 383        |

TP.HCM, thu thập ngày 15 tháng 05 năm 2023.

**Bảng 3.** Kích thước trung bình học sinh trung học tư thể ngồi (mm)

| STT | Chỉ tiêu                            | Nam | Nữ  | Trung bình |
|-----|-------------------------------------|-----|-----|------------|
| 1   | Chiều cao ngồi                      | 739 | 765 | 752        |
| 2   | Chiều cao điểm gáy                  | 556 | 562 | 559        |
| 3   | Chiều cao của mắt                   | 623 | 652 | 637.5      |
| 4   | Chiều cao của vai                   | 504 | 501 | 502.5      |
| 5   | Chiều cao của thắt lưng             | 143 | 138 | 140.5      |
| 6   | Chiều dày đùi                       | 114 | 125 | 119.5      |
| 7   | Chiều cao đầu gối                   | 412 | 456 | 434        |
| 8   | Chiều cao cẳng chân + bàn chân      | 368 | 384 | 376        |
| 9   | Chiều sâu ngồi                      | 336 | 362 | 349        |
| 10  | Chiều sâu ngồi và chiều dày cổ chân | 370 | 460 | 415        |
| 11  | Chiều dài chân                      | 784 | 823 | 803.5      |
| 12  | Chiều rộng của vai                  | 337 | 357 | 347        |

TPHCM, thu thập ngày 15 tháng 05 năm 2023.

Đối với tư thế ngồi ở học sinh nam tiểu học - lớp 3 được trình bày tại Bảng 3 cho thấy: Chiều cao ngồi dao động từ 620 đến 840 mm; Chiều cao điểm gáy dao động từ 490 đến 640 mm; Chiều cao của mắt từ 540 đến 720 mm; Chiều cao của vai từ 430 đến 580 mm; Chiều cao của thắt lưng từ 120 đến 170 mm; Chiều dày đùi từ 80 đến 150 mm; Chiều cao đầu gối từ 310 tới 510; Chiều cao cẳng chân + bàn chân từ 250 đến 430 mm; Chiều sâu ngồi từ 230 đến 450 mm; Chiều sâu ngồi và chiều dày cổ chân từ 270 đến 510 mm; Chiều dài chân 660 đến 920 mm; Chiều rộng của vai 280 đến 410 mm.

Đối với tư thế ngồi ở học sinh nữ tiểu học - lớp 3 cho thấy: Chiều cao ngồi dao động từ 570 đến 870 mm; Chiều cao điểm gáy dao động từ 460 đến 670 mm; Chiều cao của mắt dao động từ 560 đến 730 mm; Chiều cao của vai dao động từ 420 đến 570 mm; Chiều cao của thắt lưng dao động từ 130 đến 210 mm; Chiều dày đùi dao động từ 90 đến 150 mm; Chiều cao đầu gối dao động từ 330 đến 520 mm; Chiều cao cẳng chân + bàn chân dao động từ 330 đến 420 mm; Chiều sâu ngồi dao

động từ 290 đến 440 mm; Chiều sâu ngồi và chiều dày cổ chân dao động từ 350 đến 510 mm; Chiều dài chân dao động từ 710 đến 890 mm; Chiều rộng của vai dao động từ 310 đến 370 mm.

### 3.2. Kết quả xác định chỉ tiêu nguyên liệu gỗ Tràm Bông vàng

Tên Việt Nam: Tràm bông vàng, keo lá tràm

Tên khoa học: *Acacia auriculiformis*

Nhóm: IV theo TCVN 12619-2:2019 (VS, 2019).

Mô tả gỗ: Khi mới chặt hạ gỗ giác có màu hồng nhạt, gỗ lõi có màu nâu đỏ sau chuyển sang màu nâu vàng có phản quang mạnh, màu ánh vàng. Mặt gỗ trung bình, gỗ khá thẳng thớ. Gỗ cứng và nặng trung bình. Gỗ thường sử dụng đóng đồ mộc nội thất, làm ván sàn.

Phương pháp kiểm tra và tài liệu căn cứ: TCVN 8048-16:2009 (VS, 2009); TCVN 8044:2014 (VS, 2014) Gỗ - Phương pháp lấy mẫu và yêu cầu chung đối với phép thử cơ và lý. Theo Pham & Nguyen (2019), tính chất hóa học và tính chất cơ học của gỗ.

**Bảng 4.** Kết quả kiểm tra mẫu gỗ Tràm Bông vàng

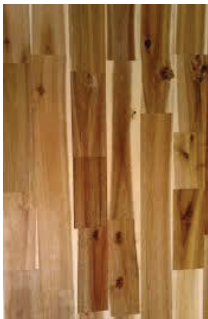
| Hình mẫu gỗ Tràm Bông Vàng                                                        | Kết quả kiểm nghiệm theo các tiêu chuẩn<br>TCVN 8048 - 1,2,3,5,6,9, 10:2009                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | 1: Độ ẩm gỗ Tràm bông vàng thử nghiệm: 12%<br>2: Khối lượng riêng ( $W_{g12\%}$ ): 0,65) $g/cm^3$<br>3: Độ bền uốn tĩnh gỗ: 92,8 Mpa<br>4: Môđun đàn hồi uốn tĩnh gỗ: 9050 Mpa<br>5: Độ bền nén vuông góc thớ gỗ: 42,9 Mpa<br>6: Ứng suất kéo song song thớ gỗ: 80,5 Mpa<br>9: Độ bền cắt song song thớ gỗ: 10,5 Mpa<br>10: Độ bền uốn va đập gỗ: 9,7 $kJ/m^2$ |

### 3.3. Kết quả xác định chỉ tiêu nguyên liệu Gỗ ghép thanh Tràm bông vàng

Căn cứ về yêu cầu nguyên liệu sản xuất bàn ghế học sinh nhằm kiểm tra gỗ ghép thanh tràm

bông vàng bằng keo theo tiêu chuẩn TCVN 8574:2010 (VS, 2010), TCVN 8578:2010 (VS, 2010), TCVN 8575:2010 (VS, 2010). Theo Phạm (2006), công nghệ sản xuất ván ghép thanh.

**Bảng 5.** Kết quả kiểm tra tính chất cơ lý mẫu gỗ ghép thanh Tràm Bông vàng

| Hình mẫu gỗ Tràm bông vàng ghép thanh bằng keo                                      | Kết quả kiểm tra mẫu gỗ ghép thanh bằng keo theo<br>TCVN 8574:2010                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | 1. Độ ẩm của mẫu thử: 12%<br>2. Khối lượng riêng ( $W_{g12\%}$ ): 0,65 $g/cm^3$<br>3. Độ bền uốn: 91,5 MPa<br>4. Độ bền kéo dọc thớ: 81,5 MPa<br>5. Độ bền nén dọc thớ: 58,6 MPa<br>6. Độ bền kéo ngang thớ: 47 MPa<br>7. Độ bền nén ngang thớ: 31,5 MPa<br>8. Độ bền trượt dọc thớ: 9,7 MPa |

Từ các kết quả kiểm tra tính chất của gỗ tràm bông vàng ở Bảng 4 và gỗ ghép thanh tràm bông vàng ở Bảng 5, kết luận được rằng các loại nguyên liệu này phù hợp và đáp ứng đủ các yêu cầu về tiêu chuẩn trong sản xuất bàn ghế dành cho học sinh.

### 3.4. Mẫu thiết kế bàn ghế học sinh tiểu học theo công thái học

Khi tiến hành thiết kế sản phẩm bàn ghế dành cho học sinh cần lưu ý đến các yêu cầu:

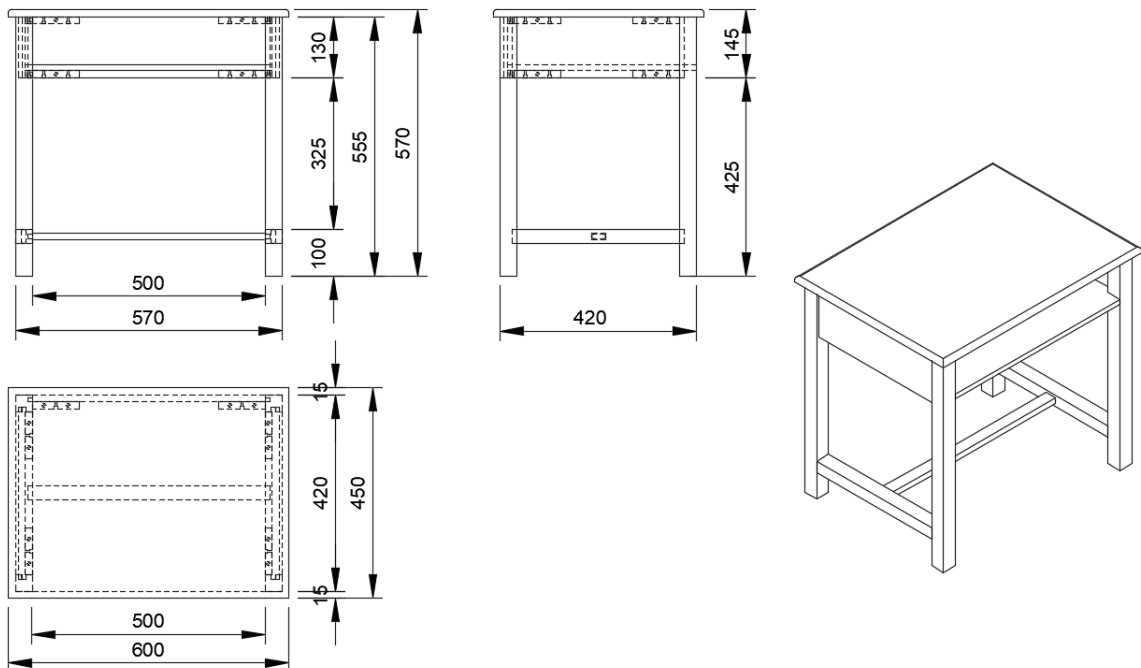
Theo Ly (2001) và Nguyen (2000), kích thước cơ thể ảnh hưởng đến kích thước bàn ghế. Dựa vào TCVN 7490:2005 (VS, 2005), do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC 159 "Ergonomi" biên soạn trên cơ sở dự thảo đề nghị của Viện Y học lao động và Vệ sinh môi trường - Bộ Y tế, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng xét duyệt, Bộ khoa học và Công nghệ ban hành. Chia học sinh thành từng nhóm theo chiều cao, theo cơ sở đó, thiết kế kích thước chiều cao, chiều sâu, chiều rộng của bàn và ghế sao cho tỷ

lệ học sinh trong từng nhóm chiều cao phù hợp với kích thước bàn ghế đạt tối đa.

**Chiều cao ngồi:** Chiều cao ngồi đóng vai trò quan trọng vì nó ảnh hưởng trực tiếp đến kích thước của bàn và ghế, gầm bàn, lưng tựa... bên cạnh đó, chiều cao tầm mắt, chiều dày đùi, chiều rộng vai cũng ảnh hưởng đến các thông số kích thước bàn ghế.

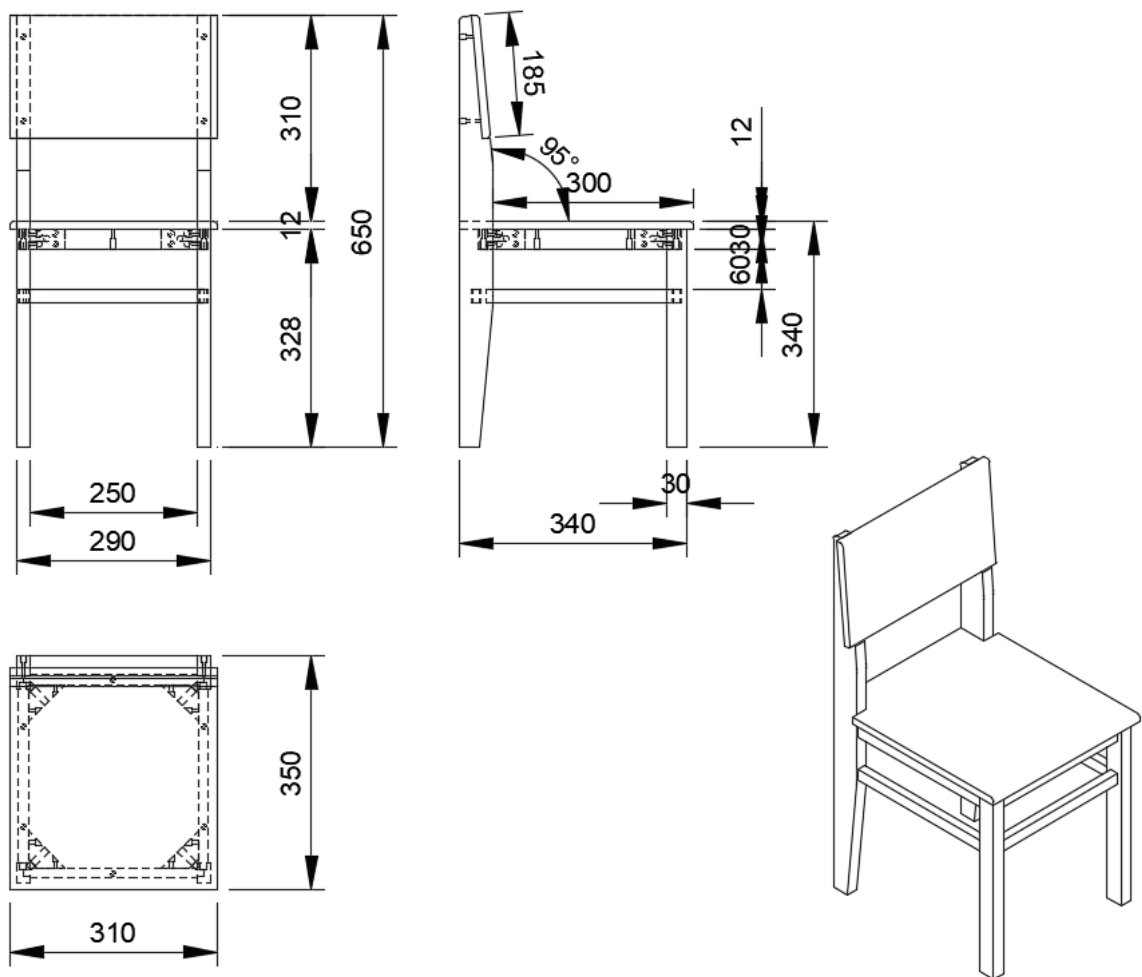
Với kích thước ở tư thế ngồi của học sinh tiểu học đã thống kê tại Bảng 1, 2, 3, chiều cao ngồi trung bình của nam và nữ là 752 mm, chiều cao tầm mắt là 637,5 mm; chiều cao đầu gối là 434 mm và chiều cao cẳng chân và bàn chân là 376 mm kết hợp với thông tư liên tịch

số: 26/2011 của Bộ y tế. Từ đó chọn kích thước tiêu chuẩn cho bàn ghế học sinh cấp tiểu học là loại bàn đơn Hình 1, bàn và ghế rời, ghế có lưng tựa Hình 2. Với chiều cao bàn là 570 mm, chiều rộng bàn 450 mm chiều dài bàn 600 mm; chiều cao ghế 650 mm, chiều cao mặt ngồi 340 mm, chiều rộng mặt ngồi 310 mm, chiều sâu ngồi 264 mm. Góc nghiêng giữa lưng tựa và mặt ghế được chọn theo công thái học về góc nghiêng lưng tựa đối với ghế tác nghiệp loại hình nhẹ trong đó có ghế dùng cho học sinh. Từ đó thiết kế chọn nghiêng góc 95°.



**Hình 1.** Mẫu sản phẩm bàn học sinh tiểu học.





**Hình 2.** Mẫu sản phẩm ghế học sinh tiểu học.

Sau khi tính toán, phân tích và thiết kế sản phẩm cũng như đề xuất quy trình gia công sản phẩm, đã tiến hành sản xuất thử bộ sản phẩm theo mô hình đã thiết kế. Quy trình sản xuất thử chi tiết với các yêu cầu kỹ thuật được thể hiện tại Bảng 6.

Thiết lập bản vẽ mẫu sản phẩm, lựa chọn kích thước chi tiết cho sản phẩm → kiểm tra bản thiết kế → bóc tách chi tiết sản phẩm → lựa chọn nguyên

liệu → xác định kích thước phôi nguyên liệu → xử lý nguyên liệu về độ ẩm theo tiêu chuẩn từ 8 - 12% → gia công phôi, gia công sơ chế: rong cạnh, cắt ngắn, bào → gia công tinh chế: cắt tinh, tubi, khoan lỗ, phay mộng âm – dương, chà nhám → lắp ráp theo cụm chi tiết → trang sức bề mặt → lắp ráp hoàn thiện sản phẩm → kiểm tra, đánh giá chất lượng mẫu sản phẩm theo các chỉ tiêu.

**Bảng 6.** Các bước tiến hành quy trình sản xuất bàn ghế học sinh từ gỗ

| STT | Nội dung thực hiện                                                                 | Thiết bị, dụng cụ                                                            | Yêu cầu chất lượng                                                                                                                                                                                                                     |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | Tổng hợp yêu cầu của sản phẩm                                                      | -                                                                            | Bản vẽ phối cảnh, 3 hình chiếu, chi tiết đã phê duyệt, số lượng sản phẩm, chất lượng, chủng loại gỗ.                                                                                                                                   |
| 2   | Lựa chọn nguyên liệu gỗ xẻ đã sấy đạt độ ẩm theo yêu cầu.                          | Thước kẹp, thước kéo, máy đo độ ẩm..                                         | Nguồn gốc xuất xứ gỗ, đúng chủng loại. Kích thước gỗ xẻ, gỗ ghép đúng yêu cầu sản phẩm, độ ẩm đạt 8 - 12%.                                                                                                                             |
| 3   | Gia công phôi - Pha cắt gỗ xẻ thành phôi. Gia công sơ chế                          | Máy cửa đĩa xẻ dọc, cắt ngắn, máy bào, máy CNC...                            | Đúng kích thước theo bản vẽ cộng thêm lượng dư gia công                                                                                                                                                                                |
| 4   | Gia công tinh chế.                                                                 | Máy cắt tinh, máy phay mộng, máy khoan lỗ, máy chà nhám...                   | Đúng kích thước chi tiết theo bản vẽ. Dung sai trong phạm vi cho phép, độ nhẵn đạt yêu cầu.                                                                                                                                            |
| 5   | Lắp ráp sản phẩm: (Lắp cụm chi tiết – lắp hoàn chỉnh sản phẩm).                    | Thiết bị lắp ráp...                                                          | Cụm chi tiết, sản phẩm đúng theo bản vẽ, mối ghép mộng phải kín khít, gia cố đinh, vít, chốt, keo khi lắp ráp. Dung sai kích thước sản phẩm trong phạm vi cho phép.                                                                    |
| 6   | Sơn phủ hoàn thiện bề mặt sản phẩm: (Kiểm tra, xử lý bề mặt - sơn lót - sơn bóng). | Thiết bị chà nhám, máy pha sơn, khuấy sơn, máy phun sơn, sấy khô màng sơn... | Kiểm tra chất lượng bề mặt trước sơn, kiểm tra chất lượng sơn. Sơn lót, sơn bóng đúng chiều dày màng sơn qui định. Chất lượng bề mặt sau sơn đồng màu, không chảy sơn, không chảy xước, không có vết đốm keo sơn, độ bóng đúng yêu cầu |
| 7   | Kiểm tra, nghiệm thu sản phẩm.                                                     | Máy đo độ ẩm, độ bóng, mẫu chuẩn...                                          | Sản phẩm đạt yêu cầu theo bản vẽ thiết kế về kích thước và chất lượng đạt theo các yêu cầu của tiêu chuẩn bàn ghế học sinh.                                                                                                            |



**Hình 3.** Bộ sản phẩm bàn ghế học sinh tiểu học sau khi sản xuất thử.

Sau khi tiến hành sản xuất thử, đạt được kết quả như Hình 3, bàn và ghế có kiểu dáng chắc chắn, không có góc cạnh nhọn. Bề mặt sản phẩm được xử lý đúng yêu cầu kỹ thuật. Sản phẩm được trang sức bề mặt bằng sơn NC, là loại sơn bán tổng hợp, màu nâu cánh gián, phù hợp với môi trường sử dụng và đảm bảo cho sức khỏe người sử dụng.

Trải qua quá trình khảo sát, phân tích và đánh giá về thông số kích thước cơ thể học sinh cùng với ứng dụng các chỉ tiêu công thái học kết hợp so sánh với tiêu chuẩn của Bộ y tế về kích thước cơ thể học sinh với kích thước bàn ghế học sinh, nghiên cứu này đã đưa ra được mẫu thiết kế bàn ghế học sinh dùng cho cấp tiểu học – học sinh lớp 3. Bộ sản phẩm đạt được tiêu chuẩn về công thái học sẽ mang lại cho người sử dụng cảm giác thoải mái và đảm bảo sức khỏe cho người sử dụng, góp phần phòng tránh được các bệnh về mắt và cột sống ở lứa tuổi học sinh.

Việc sử dụng vật liệu gỗ trầm bông vàng, gỗ ghép thanh trầm bông vàng đạt chuẩn vào các sản phẩm thiết kế đem lại chất lượng tốt hơn cho sản phẩm, an toàn cho sức khỏe người sử dụng. Thiết kế này không mang tính đặc biệt, phò

trương, độc nhất vì nó phục vụ cho nhu cầu thực tế của cuộc sống và ứng dụng vào trường học.

## 5. Kết Luận

Kích thước cho mẫu sản phẩm bàn ghế học sinh tiểu học - lớp 3 đã được thiết kế dựa trên cơ sở kích thước trung bình cơ thể học sinh lớp 3 tại TP.HCM. Từ kết quả đánh giá các chỉ tiêu chất lượng về nguyên liệu gỗ dùng trong mẫu thiết kế kết luận được gỗ trầm bông vàng và gỗ ghép thanh trầm bông vàng đáp ứng được tiêu chuẩn nguyên liệu dùng cho sản xuất bàn ghế học sinh.

Kết quả nghiên cứu đề xuất bộ sản phẩm bàn ghế dùng cho học sinh tiểu học - lớp 3, có kích thước bàn 600 x 450 x 570 mm; ghế 310 x 340 x 650 mm, chiều cao mặt ngồi 340 mm, góc nghiêng giữa lưng tựa và mặt ghế là góc 95°. Bộ sản phẩm đã đáp ứng được các yêu cầu về công thái học và thông tư liên tịch số: 26/2011/TTLT-BGDĐT-BKHCN-BYT của Bộ Y tế.

Bộ sản phẩm bàn học cho học sinh tiểu học - lớp 3, có kiểu dáng hài hòa, cân đối, độ bền cao, an toàn trong quá trình sử dụng và được làm từ nguyên liệu đạt tiêu chuẩn như: gỗ trầm bông

vàng, gỗ ghép thanh tràm bông vàng. Bộ sản phẩm đạt được các yêu cầu, chỉ tiêu về công thái học trong kích thước cơ thể người đối với kích thước sản phẩm mộc. Kích thước chi tiết được tính toán chính xác, hợp lý và được chọn theo kích thước tiêu chuẩn của học sinh.

Công nghệ sản xuất thử mẫu thiết kế và quy trình sản xuất tương đối đơn giản phù hợp với công nghệ sản xuất tại các nhà máy chế biến gỗ ở Việt Nam.

### Lời Cam Đoan

Các tác giả tuyên bố không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

### Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu này là một phần của đề tài khoa học và công nghệ cấp cơ sở mã số CS-CB23-LN-01 được cấp kinh phí bởi Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.

### Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Hoang, H. T. T. (2018). *Woodworking production technology, processing process of carpentry products*. Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Ly, L. V. (2001). *Ergonomic in architectural interior design and carpentry*. Ha Noi, Vietnam: Forestry Publishing House.
- MOET - MOST - MOH (The Ministry of Education and Training - The Ministry of Science and Technology - The Ministry of Health). (2011). Joint Circular No. 26/2011/TTLT-BGDDT-BKHCN-BYT dated on June 16, 2011. Guide to standards for student desks and chairs in elementary schools, middle schools, and high schools. Retrieved June 20, 2023, from <https://luatvietnam.vn/giao-duc/thong-tu-lien-tich-26-2011-ttlt-bgddt-bkhn-byt-bo-giao-duc-va-dao-tao-62619-d1.html>.
- NAV (National Assembly of Vietnam). (2019). Law No. 43/2019/QH14 dated on June 14, 2019. Education law. Retrieved April 2, 2023, from [https://thuvienphapluat.vn/van-ban/Giao-duc/Luat-giao-duc-2019-367665.aspx?anchor=dieu\\_28](https://thuvienphapluat.vn/van-ban/Giao-duc/Luat-giao-duc-2019-367665.aspx?anchor=dieu_28).
- Nguyen, N. B. (2000). *Ergonomics in design and production*. Ha Noi, Vietnam: Education Publishing House.
- Pham, N. N. (2006). *Artificial board production technology*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Pham, N. N., & Nguyen, N. T. A. (2019). *Wood science*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- VS (Vietnam Standard). (2019). Standard No. TCVN 12619-2:2019 dated on October 8, 2019. Wood - Classification - Part 2: According to physical and mechanical properties. Retrieved April 29, 2023, from <https://luatvietnam.vn/cong-nghiep/tieu-chuan-quoc-gia-tcvn-12619-2-2019-phan-loai-go-theo-tinh-chat-vat-ly-va-co-hoc-184341-d3.html>.
- VS (Vietnam Standard). (2014). Standard No. TCVN 8044:2009 dated on April 5, 2018. General requirements for wood mechanical tests. Retrieved April 29, 2023, from <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+8044%3A2014>.
- VS (Vietnam Standard). (2010). Standard No. TCVN 8578:2010 dated on December 31, 2010. Timber structures - Glued laminated timber - Face and edge joint cleavage test. Retrieved May 5, 2023, from <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+8578%3A2010>.
- VS (Vietnam Standard). (2010). Standard No. TCVN 8575:2010 dated on December 31, 2010. Timber structures - Glued laminated timber - Component performance and production requirements. Retrieved May 5, 2023, from <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+8575%3A2010>.
- VS (Vietnam Standard). (2010). Standard No. TCVN 8574:2010 dated on December 31, 2010. Timber structures - Glued laminated timber - Test

methods for determination of physical and mechanical properties. Retrieved May 5, 2023, from <https://luatvietnam.vn/cong-nghiep/tieu-chuan-tcvn-8574-2010-xac-dinh-tinh-chat-co-ly-cua-go-ghep-thanh-bang-keo-163749-d3.html>.

VS (Vietnam Standard). (2009). Standard No. TCVN 8048-16:2009 dated on July 16, 2009. Wood - Physical and mechanical methods of test - Part 16: Determination of volumetric swelling. Retrieved April 29, 2023, from <https://tieuchuan>.

[vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN%208048-16:2009](https://vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN%208048-16:2009).

VS (Vietnam Standard). (2005). Standard No. TCVN 7490:2005 dated August 1, 2007. Ergonomics - desks and chairs for primary and secondary school students - basic size requirements according to students' anthropometric index. Retrieved June 20, 2023, from <https://lawnet.vn/tcvn/TCVN-7490-2005-Ecgonomi-kich-thuoc-co-ban-theo-chi-so-nhan-trac-hoc-DDA9A.html>.

## Effects of artemia and tilapia density on the ability to treat organic matter in wastewater from white leg shrimps (*Litopenaeus vannamei*) farming

Hong T. B. Truong\*, & Huy D. Nguyen

Institute of Aquaculture, Nha Trang University, Khanh Hoa, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: January 17, 2024

Revised: April 01, 2024

Accepted: April 19, 2024

#### Keywords

Artemia

Tilapia

Wastewater of shrimp farming

#### \*Corresponding author

Truong Thi Bich Hong

Email:

hongttb@ntu.edu.vn

### ABSTRACT

White leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) farming effluent contains pollutants that include high levels of total suspended solid (TSS), chemical oxygen demand (COD) and growth promoting substances. This study investigated the possibility of using artemia to filter suspended solids and Tilapia (*Oreochromis niloticus*) to consume organic waste of shrimp, uneaten food at the bottom of wastewater tanks of industrial shrimp farming. Both artemia and Tilapia had the ability to rapidly reduce organic matter content in wastewater of industrial shrimp farming in tanks. This contributed to reducing total suspended solid in wastewater when discharged into the environment. The biochemical oxygen demand (BOD<sub>5</sub>), chemical oxygen demand (COD), total suspended solid (TSS) met effluent standards in Circular No. 44/2010/TT-BNNPTNT and QCVN 11-MT:2015/BTNMT in all of the investigated plots. In the surface wastewater of wastewater tanks, the remaining TSS, BOD<sub>5</sub>, and COD contents were the lowest at  $6.2 \pm 1.1$  mg/L,  $3.9 \pm 0.5$  mg/L, and  $8.6 \pm 1.4$  mg/L, respectively, in the stocking density of 300 artemia individuals/L. In the bottom wastewater, the remaining TSS, BOD<sub>5</sub>, and COD contents were the lowest at  $21.4 \pm 5.1$  mg/L,  $8.5 \pm 1.5$  mg/L, and  $11.6 \pm 3.6$  mg/L, respectively, in the stocking density of 16 Tilapia individuals/m<sup>3</sup>.

**Cited as:** Truong, H. T. B., & Nguyen, H. D. (2024). Effects of artemia and tilapia density on the ability to treat organic matter in wastewater from white leg shrimps (*Litopenaeus vannamei*) farming. *The Journal of Agriculture and Development* 23(5), 34-44.



Ảnh hưởng của mật độ artemia và cá rô phi tới khả năng xử lý chất hữu cơ có trong nước thải của nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) công nghiệp

Trương Thị Bích Hồng\* & Nguyễn Đình Huy

Viện Nuôi Trồng Thủy Sản, Trường Đại Học Nha Trang, Khánh Hòa, Việt Nam

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 17/01/2024

Ngày chỉnh sửa: 01/04/2024

Ngày chấp nhận: 19/04/2024

Từ khóa

Artemia

Cá rô phi

Nước thải nuôi tôm công nghiệp

\*Tác giả liên hệ

Trương Thị Bích Hồng

Email: hongttb@ntu.edu.vn

TÓM TẮT

Nước thải nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) chứa các chất có thể gây ô nhiễm môi trường như hàm lượng chất rắn lơ lửng (TSS), nhu cầu oxy hóa học (COD) và các chất kích thích tăng trưởng ở mức cao. Nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng sử dụng artemia để lọc chất thải rắn lơ lửng và cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) sử dụng chất thải hữu cơ của tôm, thức ăn thừa ở tầng đáy trong bể nước thải của nuôi tôm công nghiệp trong bể. Điều này góp phần làm giảm hàm lượng hữu cơ trong nước thải khi xả nước ra môi trường. Cả artemia và cá rô phi đều có khả năng làm giảm nhanh chất thải rắn ở tầng mặt và tầng đáy trong bể nước thải từ nuôi tôm công nghiệp trong bể. Kết thúc thí nghiệm, nhu cầu oxy hóa sinh học (BOD<sub>5</sub>), nhu cầu oxy hóa hóa học (COD), tổng chất rắn lơ lửng (TSS) trong nước đầu ra của tất cả các nghiệm thức đều đạt quy chuẩn cho phép của nước thải theo quy định Thông tư 44/2010/TT-BNNPTNT và QCVN 11-MT: 2015/BTNMT. Đối với thí nghiệm xử lý hàm lượng chất rắn lơ lửng ở nước thải bề mặt của bể nước thải từ nuôi tôm công nghiệp trong bể, hàm lượng TSS, BOD<sub>5</sub>, COD còn lại là thấp nhất 6,2 ± 1,1 mg/L, 3,9 ± 0,5 mg/L và 8,6 ± 1,4 mg/L, tương ứng, ở nghiệm thức thả với mật độ 300 con artemia/L. Đối với thí nghiệm xử lý nước thải tầng đáy của bể nước thải từ nuôi tôm công nghiệp trong bể, hàm lượng TSS, BOD<sub>5</sub> và COD còn lại là thấp nhất 21,4 ± 5,1 mg/L, 8,5 ± 1,5 mg/L và 11,6 ± 3,6 mg/L, tương ứng, ở nghiệm thức thả với mật độ 16 con cá rô phi/m<sup>3</sup>.

1. Đặt Vấn Đề

Giảm thiểu chất thải rắn và các thông số môi trường khác của nước thải trong các mô hình nuôi tôm công nghiệp là một trong những chỉ tiêu quan trọng để duy trì mô hình nuôi trồng thủy sản bền vững. Trong những năm gần đây, để tăng năng suất người dân đã áp dụng những mô hình nuôi hiện đại như nuôi tôm hai giai

đoạn, nuôi tôm 3 giai đoạn. Các mô hình nuôi tôm hiện đại đều hướng tới tăng mật độ thả nuôi để nâng cao năng suất của hệ thống nuôi. Khi vận hành mô hình nuôi tôm 2, 3 giai đoạn, người nuôi thường xuyên thay nước. Để sản xuất ra 1 kg tôm thương phẩm tại Việt Nam tiêu tốn 45,5 m<sup>3</sup> nước, Thái Lan là 14 m<sup>3</sup>, Indonesia là 55 m<sup>3</sup>, Ấn Độ là 39,2 m<sup>3</sup>, Ecuador là 76,8 m<sup>3</sup> (Boyd & ctv., 2021). Trong nước thải của nuôi tôm công

nghiệp chứa các hợp chất hữu cơ là chất thải của tôm, thức ăn thừa, vỏ lột xác, xác tôm chết (Boyd & ctv., 2012; Iber & Kasa, 2021). Các chất hữu cơ tồn tại ở dạng lơ lửng, lắng đáy hoặc hòa tan (Chen & ctv., 2018). Nếu các chất hữu cơ trong nước thải không được xử lý trước khi xả thải ra môi trường sẽ gây ô nhiễm hữu cơ vùng tiếp nhận nước thải.

Chất hữu cơ trong nước thải nuôi tôm có thể làm thức ăn cho các nhóm động vật khác nhau. Chất hữu cơ có kích thước nhỏ ở dạng lơ lửng là thức ăn cho nhóm động vật nổi ăn lọc không lựa chọn như artemia (Nguyen & ctv., 2007). Chất hữu cơ có kích thước lớn có thể làm thức ăn cho các loài cá ăn tạp như cá rô phi. Do đó, có thể sử dụng các nhóm động vật có tập tính ăn khác nhau để giảm hàm lượng chất hữu cơ trong nước thải. Chính vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng sử dụng artemia để lọc chất thải rắn lơ lửng và cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) sử dụng chất thải hữu cơ của tôm, thức ăn thừa ở tầng đáy trong bể nước thải của nuôi tôm công nghiệp trong bể.

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

### 2.1 Vật liệu

Nguồn nước sử dụng cho thí nghiệm là nước thải nuôi tôm công nghiệp giai đoạn 1 từ ngày nuôi thứ 15 trở đi được gom thu vào bể chứa có thể tích 5 m<sup>3</sup>. Sau 4 giờ không sục khí, hút 50% nước từ bể mặt xuống vào bể 2 m<sup>3</sup> dùng để nuôi sinh khối artemia ở thí nghiệm 1. Lượng nước còn lại trong bể được sử dụng để bố trí thí nghiệm 2.

Nguồn gốc artemia: Artemia trưởng thành 10 ngày tuổi, chiều dài cơ thể đạt  $7,2 \pm 0,5$  mm đã được nuôi thuần trong nước thải tương ứng từ 5 ngày tuổi đến 10 ngày tuổi, đảm bảo quen với điều kiện môi trường của nước thải trước khi bố trí thí nghiệm.

Nguồn cá rô phi: Cá rô phi được bắt từ ao chứa nước tại Trại Nuôi trồng thực nghiệm Cam Ranh của Viện Nuôi trồng Thủy sản, cá có khối lượng đạt  $53,2 \pm 5,0$  g/con. Cá được thuần dưỡng trong bể bằng nguồn nước thay ra của bể nuôi tôm giai đoạn 1 trong thời gian hai tuần, giúp cá quen với môi trường thí nghiệm.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### ▫ Điều kiện thí nghiệm

**Thí nghiệm 1:** Ảnh hưởng của mật độ artemia tới khả năng xử lý chất hữu cơ có trong nước thải tầng mặt được bố trí trong các bình thủy tinh có thể tích 10 L với thể tích nước là 8 L/bình. Bình thí nghiệm đặt trong nhà có mái che, được sục khí liên tục 24/24 giờ, thời gian thí nghiệm 1 ngày (24 giờ).

**Thí nghiệm 2:** Ảnh hưởng của mật độ cá rô phi tới khả năng xử lý chất hữu cơ có trong nước thải tầng đáy được bố trí ở bể 1 m<sup>3</sup> với thể tích nước nuôi là 800 L/bể, trong nhà có hệ thống mái che, được sục khí liên tục 24/24 giờ. Thời gian thí nghiệm là 8 ngày.

#### ▫ Bố trí thí nghiệm

**Thí nghiệm 1:** được bố trí theo 3 nghiệm thức khác nhau về mật độ artemia, mỗi nghiệm thức được lặp lại 5 lần, tương ứng với 15 đơn vị thí nghiệm:

Nghiệm thức 1: 100 con /L

Nghiệm thức 2: 200 con /L

Nghiệm thức 3: 300 con /L

Các nghiệm thức được bố trí một cách ngẫu nhiên. Thời gian bố trí thí nghiệm 1 ngày. Sau 1 ngày thả artemia thì tiến hành thu mẫu nước đem phân tích chỉ tiêu tổng chất rắn lơ lửng (TSS) còn lại trong nước để so sánh với tổng hàm lượng TSS của nước đầu vào, đánh giá khả năng lọc chất hữu cơ của artemia.

**Thí nghiệm 2:** được bố trí với 3 nghiệm thức khác nhau về mật độ cá rô phi, mỗi nghiệm thức được lặp lại 5 lần, tương ứng với 15 đơn vị thí nghiệm.

Nghiem thức 1: 8 con/bể

Nghiem thức 2: 12 con/bể

Nghiem thức 3: 16 con/bể

Các nghiệm thức được bố trí một cách ngẫu nhiên. Thời gian bố trí thí nghiệm kéo dài 8 ngày. Định kỳ 2 ngày thu mẫu nước tầng đáy một lần, đem phân tích chỉ tiêu TSS, nhu cầu oxy hóa sinh học ( $BOD_5$ ), nhu cầu oxy hóa hóa học (COD) để so sánh với tổng hàm lượng TSS,  $BOD_5$ , COD của nước đầu vào để đánh giá khả năng xử lý chất hữu cơ của cá rô phi.

### 2.3. Thu thập và xử lý số liệu

Nhiệt độ, pH,  $NH_3$  và  $NO_2$  được đo trước khi đưa artemia, cá rô phi vào bố trí thí nghiệm nhằm đảm bảo yếu tố môi trường không ảnh hưởng tới sức khỏe của artemia, cá rô phi. Trong đó, nhiệt độ được đo bằng nhiệt kế thủy ngân độ chính xác  $1^\circ C$ , Nitrite ( $NO_2$ ) được đo bằng bộ test AQUA NITE, Amonia ( $NH_3$ ) được đo bằng bộ test AQUA AM và pH nước thải được đo bằng kit test.

Để đánh giá khả năng xử lý chất hữu cơ trong nước thải của artemia, cá rô phi ở các nghiệm thức chúng tôi tiến hành đo các yếu tố môi trường  $BOD_5$ , COD, TSS của nước thải đầu vào và đầu ra. Trong đó,  $BOD_5$  phân tích theo phương pháp chuẩn kiểm tra nước và nước thải (Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water) SMEWW 5210 B: 2017 đơn vị mg/L; COD theo phương pháp SMEWW 5220 B-2017 và TSS (mg/L) theo phương pháp SMEWW 2540 D 2017.

Số liệu thu được sẽ được tổng hợp, phân tích phương sai một yếu tố và so sánh sự sai khác giữa giá trị trung bình bằng phép thử Duncan với độ tin cậy 95%, của phần mềm SPSS 20.

## 3. Kết Quả

### 3.1. Thông số môi trường trong nước thải của nuôi tôm công nghiệp giai đoạn 1

Các chỉ số môi trường từ nước thải trong nuôi tôm thương phẩm giai đoạn 1 của nghiên cứu được thể hiện trong Bảng 1. Chỉ số TSS trong nước tầng đáy của nước thải nuôi tôm là cao nhất  $70,6 \pm 3,5$  mg/L vẫn phù hợp với quy chuẩn cho phép của QCVN 11-MT:2015/BTNMT sửa đổi (VS, 2015) của QCVN 11-MT:2015/BTNMT

Nhiệt độ nước trong bể nước thải có sự chênh lệch giữa tầng mặt và tầng đáy và trong ngày từ 1 đến 2 độ ở mỗi thời điểm đo bởi vì thời tiết tại khu vực trại Cam Ranh - Khánh Hòa nơi bố trí thí nghiệm trong mùa nắng nóng nhiệt độ không khí trung bình trong ngày cao. Thêm vào đó, bể chứa nước thải được đặt ngoài trời, tất sục khí nước trong bể không được khuấy đảo giữa tầng mặt và tầng đáy.

Các chỉ số môi trường nhiệt độ, pH, Oxy,  $BOD_5$ ,  $NO_2$ ,  $NH_3$ , COD của nước tầng mặt, tầng đáy của bể chứa nước thải từ bể nuôi tôm công nghiệp đều thấp hơn theo TT 44/2010/TT-BNNPTNT (MARD, 2010), QCVN 11-MT:2015/BTNMT (VS, 2015) & TCVN 6986:2001 (VS, 2001) và đều nằm trong khoảng an toàn để cho sinh vật phát triển khi không bị tích tụ lâu dài với thể tích lớn. Do đó, cá rô phi có thể sống và sử dụng chất hữu cơ có sẵn trong nước thải của nuôi tôm công nghiệp ở bể làm thức ăn.

**Bảng 1.** Kết quả phân tích các chỉ tiêu nước thải đầu vào

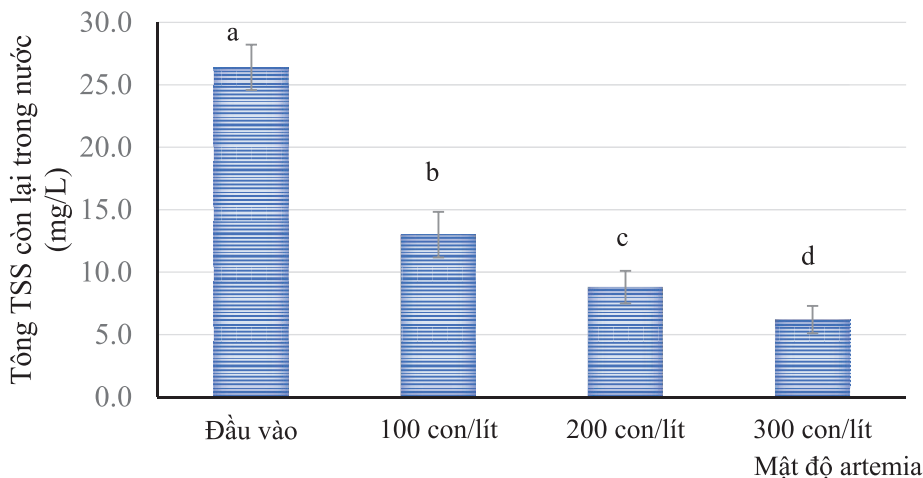
| STT | Chỉ tiêu         | Đơn vị | Nước tầng mặt của nước thải nuôi tôm giai đoạn 1 | Nước tầng đáy của nước thải nuôi tôm giai đoạn 1 | Giới hạn cho phép                 |             |
|-----|------------------|--------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------|
|     |                  |        |                                                  |                                                  | Giá trị QCVN 40:2011/ BTNMT cột B | Nguồn       |
| 1   | Nhiệt độ         | °C     | 28,0 - 30,0                                      | 27,0 - 28,0                                      | 18 - 33                           | MARD (2010) |
| 2   | pH               |        | 8,0 - 8,5                                        | 8,0 - 8,5                                        | 6 - 9                             |             |
| 3   | Oxy hòa tan      | mg/L   | 3,5                                              | 3,0                                              | > 3,0                             |             |
| 4   | BOD <sub>5</sub> | mg/L   | 7,9 ± 0,4                                        | 17,5 ± 1,0                                       | < 30                              |             |
| 5   | NO <sub>2</sub>  | mg/L   | 0,02 ± 0,04                                      | 0,14 ± 0,11                                      | ≤ 0,35                            |             |
| 6   | NH <sub>3</sub>  | mg/L   | 0,28 ± 0,23                                      | 0,17 ± 0,06                                      | ≤ 0,3                             |             |
| 7   | COD              | mg/L   | 17,2 ± 1,3                                       | 33,6 ± 0,5                                       | 100                               |             |
| 8   | TSS              | mg/L   | 26,4 ± 1,8                                       | 70,6 ± 3,5                                       | 100                               |             |

### 3.2. Ảnh hưởng của mật độ thả artemia tới khả năng xử lý chất rắn lơ lửng có trong tầng mặt của bể trữ nước thải nuôi tôm công nghiệp

#### Chỉ tiêu tổng hàm lượng chất rắn lơ lửng (TSS) sau khi bố trí thí nghiệm

Mật độ thả artemia ảnh hưởng rõ đến khả năng xử lý chất thải rắn lơ lửng có ở tầng mặt trong nước thải nuôi tôm công nghiệp của artemia (Hình 1). Hàm lượng TSS trong nước thải đưa vào thí nghiệm là  $26,4 \pm 1,8$  mg/L. Sau 24 giờ thả artemia thì hàm lượng TSS trong nước

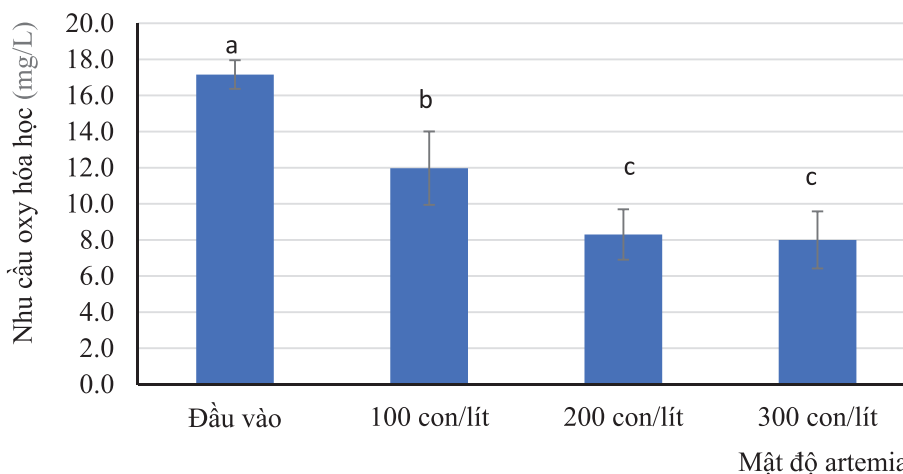
thải ở tất cả các nghiệm thức đều có xu hướng giảm khi tăng mật độ thả artemia. Trong đó, hiệu suất làm giảm TSS trong nước thải cao nhất ( $76,5 \pm 4,1\%$ ) ở nghiệm thức thả mật độ 300 con/L, tương ứng với tổng TSS còn lại trong nước là thấp nhất ( $6,2 \pm 1,1$  mg/L). Trái lại, hiệu suất làm giảm TSS trong nước thấp nhất ( $53,0 \pm 8,9\%$ ) ở nghiệm thức thả với mật độ 100 con/L, tương ứng với tổng TSS còn lại trong nước cao nhất là ( $12,4 \pm 2,1$  mg/L), sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) với các nghiệm thức còn lại.

**Hình 1.** Biến động tổng chất rắn lơ lửng (TSS) ở các mật độ thả artemia khác nhau.

### Chỉ tiêu nhu cầu oxy hóa hóa học (COD) sau khi bố trí thí nghiệm

Kết quả nghiên cứu cho thấy, mật độ thả artemia ảnh hưởng rõ ràng tới khả năng làm giảm nhu cầu COD trong môi trường nước thải của nuôi tôm công nghiệp. Nhu cầu oxy hóa học COD trong nước thải đầu vào là  $17,2 \pm 0,8$  mg/L. Sau 24 giờ thả artemia, nhu cầu oxy hóa học trong nước ở tất cả các nghiệm thức đều giảm.

Trong đó, tỷ lệ giảm COD trong nước thải cao nhất ( $53,4 \pm 9,3\%$ ), tương ứng với nhu cầu COD trong nước còn lại thấp nhất ( $8,0 \pm 1,6$  mg/L) ở nghiệm thức thả mật độ 300 con/L, sai khác không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ) với nghiệm thức thả 200 con/L. Ngược lại, tỷ lệ giảm COD thấp nhất  $31,1 \pm 9,3\%$  (COD còn lại trong nước cao nhất ( $12,0 \pm 2,0$  mg/L) ở nghiệm thức thả 100 con/L, sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) các nghiệm thức còn lại (Hình 2).

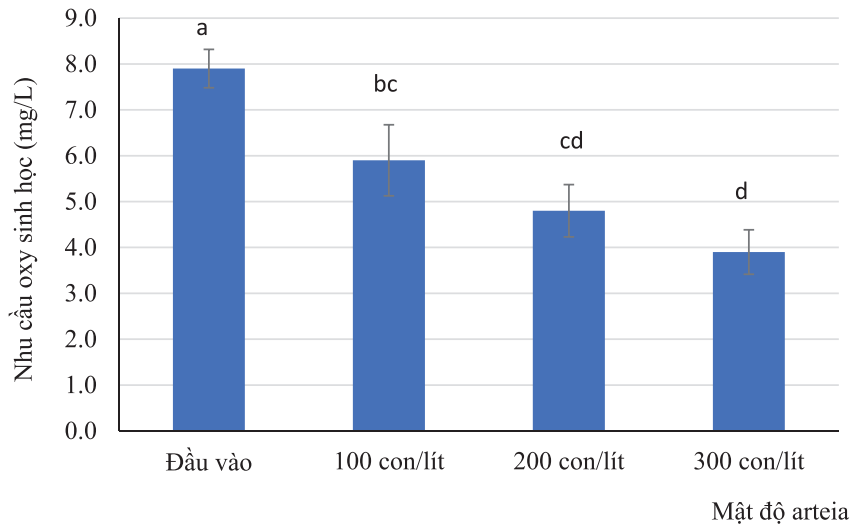


Hình 2. Biến động nhu cầu oxy hóa học sau 24 giờ thả artemia ở các mật độ thả khác nhau.

### Chỉ tiêu nhu cầu oxy hóa sinh học ( $BOD_5$ ) sau khi bố trí thí nghiệm

Sau 24 giờ thí nghiệm, nhu cầu oxy hóa sinh học ở tất cả các nghiệm thức thả artemia đều giảm. Trong đó, tỷ lệ  $BOD_5$  giảm nhiều nhất ( $50,6 \pm 3,9\%$ ), tương ứng nhu cầu  $BOD_5$  còn lại

trong nước thải đầu ra là  $3,9 \pm 0,5$  mg/L ở nghiệm thức thả 300 con/L. Trái lại, tỷ lệ  $BOD_5$  giảm thấp nhất ( $27,5 \pm 6,4\%$ ), tương ứng nhu cầu  $BOD_5$  còn lại trong nước thải đầu ra cao nhất là  $5,9 \pm 0,8$  mg/L ở nghiệm thức thả với mật độ 100 con/L, sai khác có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức thả 300 con/L ( $P < 0,05$ ) (Hình 3).



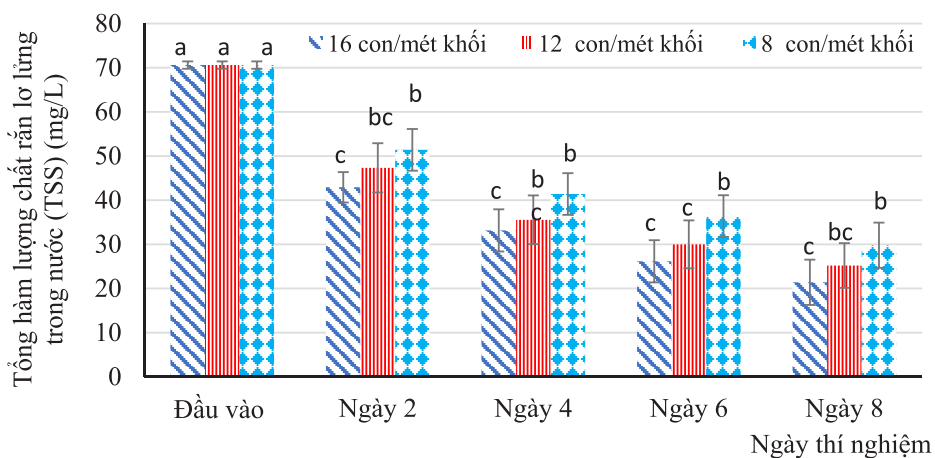
**Hình 3.** Biến động nhu cầu oxy sinh học ở các mật độ artemia.

### 3.3. Ảnh hưởng của mật độ cá rô phi tới khả năng xử lý hữu cơ có trong tầng đáy của bể trữ nước thải nuôi tôm công nghiệp giai đoạn 1

#### Chỉ tiêu tổng chất rắn lơ lửng (TSS) sau khi bố trí thí nghiệm

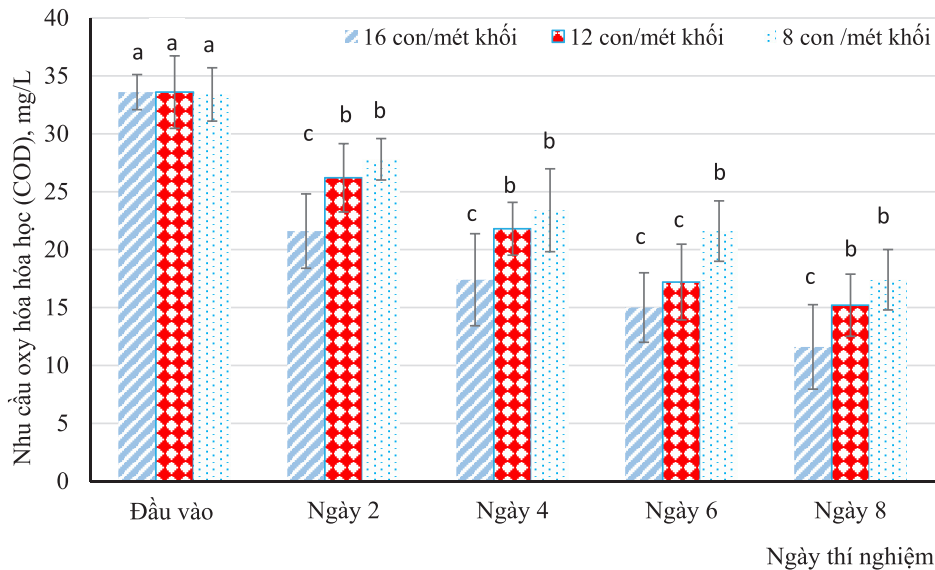
Mật độ cá rô phi thí nghiệm ảnh hưởng rõ ràng tới khả năng xử lý chất hữu cơ có trong tầng đáy của bể nước thải nuôi tôm công nghiệp giai đoạn 1. Hàm lượng TSS trong nước thải tầng đáy của bể nước thải nuôi tôm công nghiệp trước khi đưa vào thí nghiệm là  $70,6 \pm 0,8$  mg/L. Sau thời gian bố trí thí nghiệm 2, 4, 6 ngày và kết thúc thí

nghiệm hàm lượng TSS ở tất cả các nghiệm thức đều giảm. Theo kết quả nghiên cứu, hàm lượng TSS ở các ngày thu và phân tích mẫu thì TSS trong nghiệm thức thả với mật độ cao nhất 16 con/m<sup>3</sup> luôn còn thấp nhất. Kết thúc thí nghiệm, tổng hàm lượng chất hữu cơ còn lại thấp nhất ( $21,4 \pm 5,1$  mg/L) ở nghiệm thức thả 16 con/m<sup>3</sup>, tiếp đến là ( $25,2 \pm 5,3$  mg/L) ở nghiệm thức thả 12 con/m<sup>3</sup>, sai khác không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ). Trái lại, ở nghiệm thức thả 8 con/m<sup>3</sup> thì tổng TSS còn lại cao nhất ( $29,8 \pm 5,5$  mg/L), sai khác có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại ( $P < 0,05$ ) (Hình 4).



**Hình 4.** Biến động của TSS khi thả cá rô phi ở tầng đáy của bể trữ nước thải nuôi tôm công nghiệp.



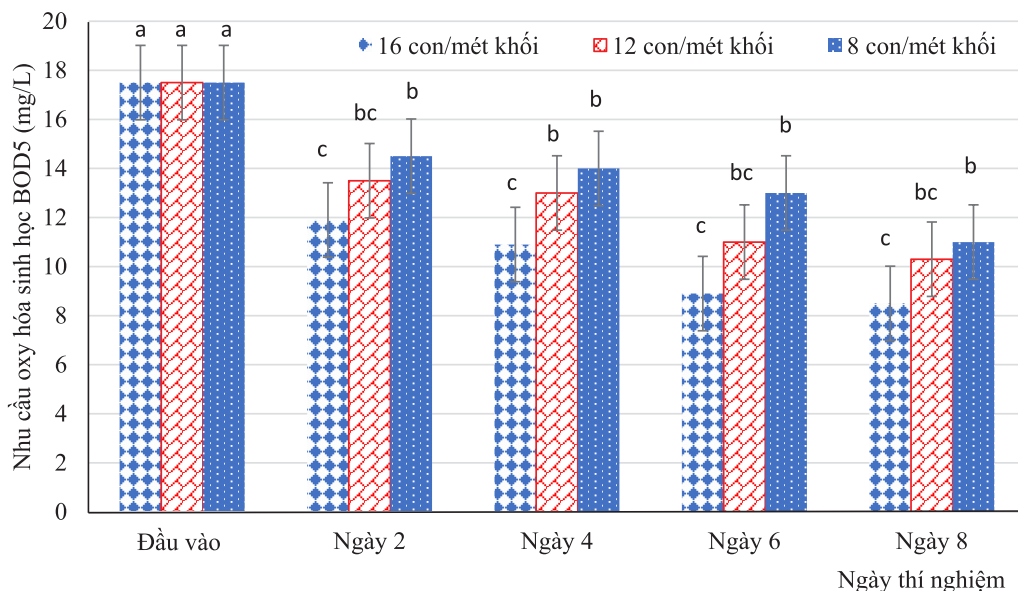


**Hình 5.** Biến động của COD khi thả cá rô phi ở tầng đáy của bể trữ nước thải nuôi tôm công nghiệp.

#### Chỉ tiêu nhu cầu oxy hóa sinh học ( $BOD_5$ )

Kết quả phân tích nhu cầu oxy hóa sinh học của các nghiệm thức thả cá rô phi ở tầng đáy của nước thải được thể hiện ở Hình 6. Mật độ bố trí thí nghiệm ảnh hưởng tới khả năng làm giảm nhu cầu oxy hóa sinh học trong nước. Trong đó, nhu cầu oxy hóa sinh học của các ngày (2, 4, 6 và 8) thí nghiệm đều còn lại thấp nhất ở nghiệm

thức thả cá với mật độ cao nhất (16 con/m<sup>3</sup>), ngược lại cao nhất ở nghiệm thức bố trí với mật độ thấp (8 con/m<sup>3</sup>). Kết thúc 8 ngày thí nghiệm, nhu cầu oxy hóa sinh học thấp nhất  $8,5 \pm 1,5$  mg/L (giảm 51,5% so với nguồn nước đầu vào) ở nghiệm thức thả 16 con/m<sup>3</sup>, cao nhất  $11,0 \pm 1,5$  mg/L ở nghiệm thức thả 8 con/m<sup>3</sup> (giảm được 37,0% so với nguồn nước ban đầu), sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) giữa hai nghiệm thức.



**Hình 6.** Biến động của  $BOD_5$  khi thả cá rô phi ở tầng đáy của bể trữ nước thải nuôi tôm công nghiệp.

#### 4. Thảo Luận

Các chỉ số môi trường trong nước thải tăng mặt và tăng đáy của thí nghiệm đều thấp hơn những chỉ số môi trường từ nước thải nuôi tôm thẻ chân trắng trong nghiên cứu trước đó của tác giả Vo & ctv. (2013) và Nguyen & Hoang (2018). Bởi vì, nước thải trong từ nuôi tôm thương phẩm giai đoạn 1 của nuôi tôm hai giai đoạn được thay ra hàng ngày. Trong khi đó, nước thải từ nuôi tôm thẻ chân trắng thương phẩm trong nghiên cứu của Vo & ctv. (2013) và Nguyen & Hoang (2018) lấy từ cống xả đáy, thời điểm xả đáy theo chu kỳ, vào cuối vụ nuôi và thời điểm xả vệ sinh hồ nuôi. Kết quả phân tích các yếu tố môi trường của nước thải trước khi bố trí thí nghiệm cho thấy, tổng chất rắn lơ lửng (TSS) trong nước thải tăng đáy của nuôi tôm công nghiệp ( $70,6 \pm 3,5$  mg/L) thấp hơn so với quy chuẩn nước thải của Việt Nam QCVN 11-MT: 2015/BTNMT (VS, 2015) và TCVN 6986:2001 (VS, 2001) về chất lượng nước - tiêu chuẩn nước thải công nghiệp thải vào vùng nước biển ven bờ dùng cho mục đích bảo vệ thủy sinh với lưu lượng dưới  $500 \text{ m}^3/\text{ngày}$ . Tuy nhiên, việc thải trực tiếp một thể tích lớn nước thải nuôi tôm công nghiệp giai đoạn 1 ra môi trường trong cùng một thời gian và kéo dài nhiều đợt thì dẫn tới quá trình tích lũy hàm lượng TSS cao tại vùng tiếp nhận nước thải. TSS tăng cao sẽ vượt quá sức tải của môi trường. Theo TCVN 6968:2001 (VS, 2001), chất lượng nước - tiêu chuẩn nước thải công nghiệp thải vào vùng nước biển ven bờ dùng cho mục đích bảo vệ thủy sinh vật thì khi lưu lượng nước thải càng tăng cao yêu cầu hàm lượng TSS, nhu cầu BOD, COD trong nước phải giảm thấp: với lưu lượng thải  $< 50 \text{ m}^3/\text{ngày}$  thì TSS, BOD, COD lần lượt là 100 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, trong khi đó lưu lượng nước thải từ  $50 - 500 \text{ m}^3/\text{ngày}$  thì hàm lượng TSS, nhu cầu BOD và COD trong nước thải phải giảm xuống còn 80 mg/L, 80 mg/L và 20 mg/L tương ứng. Đặc biệt khi lưu lượng nước

thải lớn hơn  $500 \text{ m}^3/\text{ngày}$ , thì hàm lượng TSS, nhu cầu BOD và COD trong nước thải cho phép chỉ còn 50 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, tương ứng. Thêm vào đó, việc thải trực tiếp nước thải nuôi tôm công nghiệp trong bể ra ngoài môi trường gây lãng phí nguồn chất hữu cơ có sẵn trong nước thải trong khi đó nguồn chất dinh dưỡng này có thể trở thành thức ăn để nuôi sinh khối sinh vật bậc 1, động vật nổi ăn lọc hoặc động vật ăn mùn bã hữu cơ tăng đáy.

Cả hai đối tượng lựa chọn thí nghiệm là artemia và cá rô phi đều có khả năng làm giảm TSS trong nước thải nuôi tôm công nghiệp. Trong đó, artemia lọc chất rắn lơ lửng trong nước thải nuôi tôm công nghiệp giai đoạn 1 là tốt hơn và thời gian làm giảm TSS trong nước ngắn hơn so với các loài sinh vật khác như cá đối, ốc đinh và mô hình kết hợp rong sụn với sò trong các nghiên cứu trước. Theo tác giả Vo & ctv. (2013), cá đối và ốc đinh có khả năng làm giảm TSS trong nước thải nuôi tôm công nghiệp nhanh nhất trong vòng 5 ngày đầu thí nghiệm. Theo tác giả Nguyen (2014) và Nguyen & ctv. (2016) thì hiệu suất xử lý TSS của cá đối sau 5 ngày đạt 46,34%, 10 ngày đạt  $> 54\%$ . Cũng theo Nguyen (2014), hiệu suất xử lý TSS của rong sụn và sò 10 ngày đạt  $> 70,11\%$ . Những nghiên cứu trước cho thấy, artemia có kích thước nhỏ, ăn lọc liên tục chúng có thể làm giảm hàm lượng TSS trong nước nhanh phù hợp để xử lý các hạt chất rắn lơ lửng có kích thước nhỏ. Theo Truong & Nguyen (2022), artemia có thể làm giảm hàm lượng TSS trong nước thải của sản xuất tôm giống và nước thải nuôi tôm công nghiệp khi đã được lọc qua lưới có kích thước mắt lưới  $\leq 50 \mu\text{m}$ . Theo Vo & ctv, (2013), cá rô phi có khả năng làm giảm lượng TSS rất nhanh trong 5 ngày đầu thí nghiệm. Mật độ thả nuôi 5 con/ $\text{m}^3$  (500 g/con) có khả năng xử lý chất hữu cơ tốt nhất tiếp đến là mật độ thả 4 con/ $\text{m}^3$  (500 g/con), sai khác giữa hai nghiệm thức không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ), nhưng

có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) với nghiệm thức thả với mật độ 3 con/m<sup>3</sup> (500 g/con).

Mỗi một loài sinh vật có khả năng làm giảm nhu cầu oxy hóa học trong môi trường nước thải của nuôi tôm công nghiệp là khác nhau. Hiệu suất xử lý COD trong nước thải của artemia (ăn lọc tầng mặt) khi thả mật độ 200 và 300 con/L cao hơn so với thí nghiệm kết hợp thực vật với động vật ăn lọc tầng đáy. Theo Nguyen (2014), thả nuôi kết hợp rong sụn và sò trong nước thải thì nhu cầu oxy hóa hóa học COD trong nước chỉ giảm được > 38,9% khi thời gian lưu nước là 10 ngày. Theo Vo & ctv. (2013), khả năng làm giảm nhu cầu oxy hóa hóa học của cá rô phi thấp hơn so với cá đối. Sau 8 ngày thí nghiệm tỷ lệ giảm nhu cầu oxy hóa hóa học cao nhất 80,7% (ở nghiệm thức thả 50 con/m<sup>3</sup>), 79,9% (ở nghiệm thức thả 40 con/m<sup>3</sup>) và thấp nhất cũng đạt 75,4% ở nghiệm thức thả 30 con/m<sup>3</sup>.

Các loài sinh vật đã được lựa chọn nghiên cứu cá rô phi, cá đối, ốc đỉnh hoặc nuôi kết hợp (cá đối, rong sụn và sò) đều có khả năng làm giảm nhu cầu BOD<sub>5</sub> trong nước thải ở các mức khác nhau. Hiệu suất làm giảm nhu cầu oxy sinh học trong nước của các loài động vật được nghiên cứu trước đây cá rô phi, cá đối và ốc đỉnh đều cao hơn của artemia trong nghiên cứu này nhưng thời gian lưu nước thải dài hơn. Theo Vo & ctv. (2013), khi bố trí thí nghiệm lưu nước thải trong bể xử lý 8 ngày, nhu cầu BOD<sub>5</sub> trong nước thải giảm được 71,4% ở nghiệm thức nuôi cá đối với mật độ 50 con/m<sup>3</sup> (khối lượng 500 g/con), 80,7% ở nghiệm thức nuôi cá rô phi với mật độ 5 con/m<sup>3</sup> (khối lượng 500g/con). Kết quả nghiên cứu của Nguyen (2014), thời gian lưu nước thải 10 ngày, cá đối có khả năng làm giảm BOD<sub>5</sub> cao nhất (> 83%), tiếp đến rong sụn và sò là > 40,9%. Kết quả nghiên cứu này có sự sai khác so với các nghiên cứu trước là do đối tượng được chọn nghiên cứu và đặc biệt là thời gian thực hiện xử lý nước thải. Trong nghiên cứu này, nguồn nước

thải chỉ được lưu lại để đánh giá khả năng lọc của artemia trong vòng 1 ngày.

## 5. Kết Luận

Thả với mật độ 300 con artemia/L trong nguồn nước tầng mặt của bể trữ nước thải nuôi tôm công nghiệp giai đoạn 1 là phù hợp vì với mật độ này hiệu suất xử lý TSS, BOD<sub>5</sub>, COD là tốt nhất đạt  $76,5 \pm 4,1\%$ ,  $50,6 \pm 3,9\%$ ,  $53,4 \pm 9,3\%$  tương ứng, so với hàm lượng TSS, nhu cầu BOD<sub>5</sub>, COD của nguồn nước đưa vào thí nghiệm.

Thả nuôi cá rô phi với mật độ 16 con/m<sup>3</sup> trong nguồn nước tầng đáy của bể trữ nước thải nuôi tôm công nghiệp giai đoạn 1 là thích hợp vì sau 8 ngày nuôi cá thì hàm lượng TSS, nhu cầu BOD<sub>5</sub> và COD trong nước đầu ra còn lại thấp nhất  $21,4 \pm 5,1$  mg/L,  $8,5 \pm 1,5$  mg/L,  $11,6 \pm 3,6$  mg/L, tương ứng.

Kết thúc thí nghiệm, các chỉ tiêu TSS, BOD<sub>5</sub>, COD của nước thải đầu ra ở các hai thí nghiệm sử dụng artemia và cá rô phi để xử lý chất thải rắn có trong nước thải nuôi tôm công nghiệp giai đoạn 1 đều đạt tiêu chuẩn nước xả thải ra môi trường theo thông tư 44/2010/TT-BNNPTNT; QCVN 11-MT:2015/BTNMT (VS, 2015) và TCVN 6968:2001 (VS, 2001) chất lượng nước - tiêu chuẩn nước thải công nghiệp thải vào vùng nước biển ven bờ dùng cho mục đích bảo vệ thủy sinh khi xả thải với thể tích lớn từ 500 đến dưới 5.000 m<sup>3</sup>/ngày.

## Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và chưa được công bố trong bất kỳ nghiên cứu nào khác.

## Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu được tài trợ kinh phí từ nhiệm vụ KH&CN của đề tài cấp Bộ Giáo dục & Đào tạo mã số đề tài: B2022-TSN-09.

## Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Boyd, C. E., Davis, R. P., & McNevin, A. A. (2021). Comparison of resource use for farmed shrimp in Ecuador, India, Indonesia, Thailand, and Vietnam. *Aquaculture Fish and Fisheries* 1(1), 3-15. <https://doi.org/10.1002/aff2.23>.
- Boyd, C. E., & Tucker, C. S. (2012). *Pond aquaculture water quality management*. New York, USA: Springer Science and Business Media.
- Chen, Z., Ge, X. H., Chang, Q. Z., Song, F. X., Zhao, Z. F., & Li, J. (2018). Nitrogen budget in recirculating aquaculture and water exchange systems for culturing *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Ocean University of China* 17, 905-912. <https://doi.org/10.1007/s11802-018-3584-9>.
- Iber, B. T., & Kasan, N. A. (2021). Recent advances in Shrimp aquaculture wastewater management. *Heliyon* 7(11). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08283>.
- MARD (Ministry of Agriculture and Rural Development). (2010). Circular No. 44/2010/TT-BNNPTNT dated on July 22, 2010. Requirements for shrimp pond wastewater quality after treatment. Retrieved February 20, 2024, from <https://chinhphu.vn/default.aspx?pageid=27160&docid=96697>.
- Nguyen, G. T. H., & Hoang, Q. T. (2018) White-leg shrimp wastewater treatment by combining biological ponds system with fishes, oysters and seaweeds. *Hue University Journal of Science: Techniques and Technology* 127(2A), 95-107. <https://doi.org/10.26459/hueuni-jtt.v127i2A.4978>.
- Nguyen, H. V., Nguyen, V. T. H., Nguyen, A. T. N., Pham, N. T. T., Huynh, T. T., & Tran, L. H. (2007). *Artemia - Research and applications in aquaculture*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publisher.
- Nguyen, L. Q. (2014). *Integrated wastewater treatment: The management of pollutant discharge from intensive shrimp culture at tam giang lagoon, Thua Thien Hue province, Vietnam* (Unpublished doctoral dissertation). University of South Australia, Adelaide, Australia.
- Nguyen, L. Q., Bolan, N., & Kumar, M. (2016). Screening three finish species for their Potential in removing organic matter from the effluent of white leg shrimps (*Litopenaeus vannamei*) farming. *Tropicultura* 34 (Special), 86-97.
- Truong, H. T. B., & Nguyen, H. D. (2022). Effects of artemia density on the ability to treat organic matter in wastewater from shrimp seed production and shrimp farming. *Nha Trang University Journal of Fisheries Science and Technology* 2, 31-39.
- Vo, N. D., Le, A. T. T., & Nguyen, L. Q. (2013). Study on possibility of using tilapia, mullet and Cerithidea obtusa to treat organic matter in the effluent from intensive white leg shrimp farming. *National Youth Fisheries Science Conference* (504-512). Ho Chi Minh City, Vietnam: Nong Lam University.
- VS (Vietnam Standard). (2015). Standard No. QCVN 11-MT:2015/BTNMT dated on December 31, 2015. National technical regulation on the effluent of aquatic Products Processing industry. Retrieved February 20, 2024, from <https://scem.gov.vn/vi/download/tieu-chuan/QCVN-11-MT-2015-BTNMT-Quy-chuan-quoc-gia-ve-nuoc-thai-che-bien-thuy-san.html>.
- VS (Vietnam Standard). (2001). Standard No. TCVN 6986:2001 dated on June 25, 2002. Water quality - Standards for industrial effluents discharged into coastal waters using for protection of aquatic life. Retrieved February 20, 2024, from <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+6986%3A2001>.

**Evaluation of fermentative activities of yeasts isolated from guava fruit (*Psidium guajava* L.)****Nhu Q. Lam, Dat Q. Le, Thien D. Nguyen, Minh N. Le, Phong V. Nguyen, & Thanh T. L. Bien\***

Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

**ARTICLE INFO****Research Paper**

Received: December 11, 2023

Revised: April 02, 2024

Accepted: April 15, 2024

**Keywords**

Evaluation

Fermentation

Guava

Isolation

Yeast

**\*Corresponding author**

Bien Thi Lan Thanh

Email:

bienthilanthanh@hcmuaf.edu.vn

**ABSTRACT**

The study was conducted to isolate and screen yeast strains having good fermentative activities for wine production from guava (*Psidium guajava* L.). Yeasts were isolated from 22 samples of ripe guava fruits (including 4 varieties: Cattley, Taiwan, Ruby Supreme and Queen), which were collected from 6 provinces in the Mekong Delta. The yeast isolates were examined for biological characteristics, including colonial morphology and cell shape, after 48 h of culture, and investigated for fermentative characteristics including production of H<sub>2</sub>S gas, temperature and ethanol tolerance, ability to flocculate, production of extracellular enzymes, and fermentation of carbohydrate sources. The results showed that 33 yeast strains were isolated based on colony and cell morphologies. There were 9 isolates from the Taiwan variety, 13 isolates from the Queen variety, 7 isolates from the Cattley variety, and 4 isolates from Ruby supreme. Ten out of 33 isolates did not produce H<sub>2</sub>S gas and had good flocculent ability in the fermentative solution after 7 days. Among them, the five yeast isolates (named NHCB1, NHCL4, NHCB4, DLCL1, and NHCB2) had good temperature tolerance at 39°C - 43°C, and high ethanol tolerance at 6% - 8% within 24 h. Three isolates (NHCL4, NHCB2, and NHCB4) with good ability to ferment glucose and fructose were selected for sequencing. The internal transcribed spacer sequences of all three strains were identical to those of *Hanseniaspora opuntiae* (> 99% identity). Briefly, this yeast strain can tolerate ethanol, ferment, and produce an appealing smell, bringing the potential for the production of wine or other fermented products.

**Cited as:** Lam, N. Q., Le, D. Q., Nguyen, T. D., Le, M. N., Nguyen, P. V., & Bien, T. T. L. (2024). Evaluation of fermentative activities of yeasts isolated from guava fruit (*Psidium guajava* L.). *The Journal of Agriculture and Development* 23(5), 45-60.



## Đánh giá hoạt tính lên men của các mẫu nấm men phân lập từ quả ổi (*Psidium guajava* L.)

Lâm Quỳnh Như, Lê Quốc Đạt, Nguyễn Đông Thiên, Lê Nhật Minh, Nguyễn Vũ Phong & Biện Thị Lan Thanh\*

Khoa Khoa Học Sinh Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 11/12/2023

Ngày chỉnh sửa: 02/04/2024

Ngày chấp nhận: 15/04/2024

#### Từ khóa

Khảo sát

Lên men

Nấm men

Phân lập

Quả ổi

#### \*Tác giả liên hệ

Biện Thị Lan Thanh

Email:

bienthilanthanh@hcmuaf.edu.vn

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm phân lập và tuyển chọn các mẫu nấm men có các hoạt tính lên men tốt để phục vụ cho nghiên cứu rượu vang ổi (*Psidium guajava* L.). Nấm men được phân lập từ 22 mẫu ổi chín (gồm 4 giống: Sẻ, Đài Loan, Trân châu ruột đỏ và Nữ hoàng) được thu thập tại 6 tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. Các mẫu nấm men phân lập được khảo sát đặc điểm sinh học bao gồm đặc điểm khuẩn lạc và tế bào sau 48 giờ nuôi cấy; và khảo sát đặc điểm lên men gồm: khả năng sinh khí  $H_2S$ , khả năng kết lắng, khả năng chịu nhiệt và chịu ethanol, khả năng sinh enzyme ngoại bào và khả năng lên men các nguồn đường khác nhau. Kết quả đã phân lập được tổng số 33 mẫu nấm men dựa theo những đặc điểm về khuẩn lạc và tế bào. Trong đó, 9 mẫu từ giống ổi Đài Loan, 13 mẫu từ giống ổi Nữ hoàng, 7 mẫu từ giống ổi Sẻ và 4 mẫu từ giống ổi Trân châu ruột đỏ. Sau quá trình khảo sát các đặc điểm lên men đã tuyển chọn được 10/33 mẫu không sinh khí  $H_2S$  và có khả năng kết lắng tốt trong dịch lên men sau 7 ngày. Trong đó, năm mẫu nấm men kí hiệu NHCB1, NHCL4, NHCB4, DLCL1 và NHCB2 có khả năng chịu nhiệt tốt ở  $39^\circ C - 43^\circ C$  và chịu ethanol với nồng độ cao 6% - 8% trong 24 giờ. Qua khảo sát khả năng lên men các nguồn đường, ba mẫu NHCL4, NHCB2 và NHCB4 có khả năng lên men với đường glucose và fructose được tuyển chọn để giải trình tự định danh. Kết quả giải trình tự cho thấy cả 3 mẫu đều tương đồng cao (> 99%) với *Hanseniaspora opuntiae*. Đây là loài nấm men có khả năng chịu ethanol, lên men và tạo mùi hương tốt mang đến tiềm năng cho việc sản xuất rượu vang hoặc các sản phẩm lên men khác.

### 1. Đặt Vấn Đề

Rượu vang là một loại thức uống có độ cồn nhẹ, giá trị dinh dưỡng cao, hương vị thơm ngon đặc trưng và có lợi cho sức khỏe khi được sử dụng một cách điều độ (German & ctv., 2000). Trong quá trình sản xuất rượu vang, việc đổi mới nguồn

nguyên liệu cùng với cải tiến nguồn men giống nhằm nâng cao chất lượng sản phẩm giữ vai trò vô cùng quan trọng. Nguồn nấm men đóng vai trò then chốt trong quá trình sản xuất rượu vang, tạo ra một môi trường lên men ổn định và hiệu suất cao. Mỗi chủng nấm men sở hữu những đặc tính riêng biệt, ảnh hưởng đến hương vị, cấu trúc



và độ cồn của rượu vang. Sử dụng nguồn nấm men tự nhiên được phân lập từ nguyên liệu chính của quá trình sản xuất rượu vang là một trong những phương pháp hiệu quả đảm bảo sự đồng nhất trong quá trình lên men, giữ nguyên được bản chất tự nhiên của nguyên liệu và giúp tạo ra sản phẩm có độ cồn cao, chất lượng ổn định và mùi vị đặc trưng (Pham & ctv., 2019). Chính vì vậy, những nghiên cứu tuyển chọn nguồn nấm men tự nhiên mang các đặc tính lên men vượt trội hứa hẹn trở thành một xu hướng phát triển được quan tâm trong hiện tại và tương lai.

Việt Nam là một nước có đa dạng về các loại trái cây, song nguyên liệu dùng để sản xuất rượu vang hầu như chỉ xoay quanh các loại trái cây như: nho, dâu, sơ ri. Trong khi đó, ổi (*Psidium guajava* L.) là một trong những loại trái cây nhiệt đới phổ biến, đang được trồng rộng rãi ở nhiều nơi, nhưng quả chủ yếu dùng để ăn tươi. Thành phần dinh dưỡng có trong quả ổi chín như một môi trường lý tưởng cho quần thể nấm men tự nhiên phát triển vì pH thấp, hàm lượng đường cao, giàu các loại acid hữu cơ, protein, pectin, các loại vitamin và khoáng chất (Kamath & ctv., 2008; Qin & ctv., 2017). Đây là những thành phần đặc trưng vốn có để sử dụng cho sản xuất rượu vang. Nhiều nghiên cứu đã tập trung vào việc phân lập, tuyển chọn và ứng dụng chủng nấm men phù hợp cho từng loại trái cây, nhằm tạo ra những sản phẩm rượu vang đặc trưng như rượu vang khóm (Nguyen & ctv., 2013), rượu vang thanh long (Ho, 2011), rượu vang dưa hấu (Ngo & ctv., 2011). Tuy nhiên, lĩnh vực sản xuất rượu vang từ ổi còn khá hạn chế về mặt nghiên cứu, đặc biệt là việc xác định chủng nấm men thích hợp cho quá trình lên men. Vì vậy, có thể thấy rằng quả ổi vừa là một nguồn nguyên liệu lên men rượu vang triển vọng, vừa là một nguồn cung cấp men giống tiềm năng cho sản xuất. Trên hết, lên men rượu vang từ quả ổi còn là một phương pháp giúp tận dụng hiệu quả nguồn nguyên liệu dồi dào sẵn có. Từ đó, góp phần giải quyết các vấn đề khó khăn về thị trường tiêu thụ, hạn chế trong bảo quản và

chế biến quả ổi sau thu hoạch cũng như đa dạng hóa các sản phẩm thương mại từ quả ổi trên thị trường nhằm nâng cao giá trị kinh tế cho nông sản Việt. Tất cả những vấn đề cấp thiết trên, đề tài được thực hiện nhằm tuyển chọn các mẫu nấm men có hoạt tính lên men tốt được phân lập từ quả ổi hướng đến ứng dụng trong lên men rượu vang ổi.

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

### 2.1. Thu mẫu ổi chín và phân lập nấm men

Mẫu quả ổi chín được thu hái trực tiếp, ngẫu nhiên tại vườn ở các địa phương thuộc 6 tỉnh, bao gồm: Bến Tre, Đồng Tháp, Long An, Trà Vinh, Tiền Giang và Cần Thơ. Các giống ổi thu thập bao gồm: Sẻ, Tròn châu ruột đỏ, Đài Loan và Nữ hoàng. Quả ổi được lựa chọn phải chín, có màu vàng xanh, trơn bóng, mùi thơm đặc trưng, độ mềm tương đương nhau và được hái ngẫu nhiên trên các cây khác nhau trong một vườn. Mẫu sau khi thu thập được cho vào túi zip vô trùng, dán nhãn kí hiệu và bảo quản lạnh (< 10°C), vận chuyển về phòng thí nghiệm và phân tích trong vòng 24 giờ.

Cho 10 g mẫu ổi được cắt nhỏ thành từng lát có cả phần vỏ và thịt quả vào 90 mL môi trường YPD (yeast extract, peptone, dextrose) lỏng bổ sung Chloramphenicol (100 mg/L) đã được khử trùng (121°C trong 15 phút). Pha loãng 1 mL dịch ổi đã tăng sinh với 9 mL dung dịch đệm PBS thành dãy nồng độ  $10^{-1}$  đến  $10^{-5}$ . Cấy trải 100  $\mu$ L dịch pha loãng trên môi trường YPD agar có bổ sung Chloramphenicol (100 mg/L) (Pereira & ctv., 2014). Sau 48 giờ ủ ở nhiệt độ phòng, các khuẩn lạc đặc trưng của nấm men có hình thái khác nhau được chọn lọc và làm thuần đến khi thu được khuẩn lạc nấm men thuần nhất. Nhuộm và quan sát đặc điểm hình thái, hình dạng tế bào các mẫu nấm men dưới kính hiển vi ở vật kính 100X. Các mẫu nấm men phân lập được bảo quản trong glycerol 20% và trữ ở -20°C cho các thí nghiệm tiếp theo.

## 2.2. Khảo sát hoạt tính lên men của các mẫu nấm men phân lập

### 2.2.1. Khảo sát khả năng sinh khí hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S)

Khuẩn lạc đơn của các mẫu nấm men phân lập được nuôi cấy trên môi trường Luria Agar (LA) ở 30°C trong khoảng 7 ngày. Xác định khả năng sinh H<sub>2</sub>S bằng cách quan sát màu sắc khuẩn lạc bề mặt môi trường LA (Ono & ctv., 1991; Guimarães & ctv., 2006). Loại bỏ các mẫu nấm men sinh H<sub>2</sub>S.

### 2.2.2. Khảo sát khả năng kết lắng

Các mẫu nấm men tuyển chọn được tăng sinh trong 5 mL môi trường YPD lỏng ở 30°C, lắc 120 vòng/phút trong 24 giờ. Hút 500 µL dịch tăng sinh và đưa vào ống nghiệm chứa 10 mL môi trường Sabouraud lỏng (18° Brix), ủ tĩnh ở nhiệt độ 30°C trong 7 ngày. Đo chiều cao của đoạn dịch trong sau thời gian ủ rồi so sánh với tổng chiều cao của khối môi trường lên men trong ống nghiệm. Nếu tỉ lệ giữa chiều cao của đoạn dịch trong so với chiều cao của khối môi trường lên men dưới 25% (không có khả năng kết lắng), 25% - 50% (kết lắng yếu), 50% - 75% (kết lắng trung bình) và trên 75% (kết lắng tốt) (Guimarães & ctv., 2006; Nguyen & ctv., 2012).

### 2.2.3. Khảo sát khả năng chịu nhiệt

Hút 500 µL dịch tăng sinh các mẫu nấm men tuyển chọn và cấy vào ống nghiệm chứa 10 mL môi trường YPD lỏng và ủ với dãy nhiệt độ lần lượt từ 30°C, 35°C, 37°C, 39°C, 41°C, 43°C và 45°C trong 24 giờ. Xác định sự tăng trưởng của nấm men bằng cách đo mật độ quang (OD) của dịch tăng sinh ở bước sóng 600 nm tại hai thời điểm trước khảo sát (0 giờ) và sau khảo sát (24 giờ). Song song đó, cấy ria các chủng nấm men phân lập lên môi trường YPD agar và ủ ở các nhiệt độ khác nhau trong 24 giờ. Quan sát sự tạo thành khuẩn lạc của các chủng nấm men khác nhau trên đĩa thạch để tuyển chọn các chủng

nấm men có khả năng phát triển mạnh trên môi trường ở nhiệt độ cao (Doan, 2020).

### 2.2.4. Khảo sát khả năng chịu ethanol

Hút 500 µL dịch tăng sinh các mẫu nấm men vào từng ống nghiệm chứa 10 mL môi trường YPD lỏng có bổ sung ethanol tinh khiết thành các nồng độ 0, 4, 6, 8 và 10% (v/v). Ủ ở nhiệt độ 30°C, lắc 120 vòng/phút trong 24 giờ. Sự tăng trưởng của nấm men được xác định bằng cách đo mật độ quang (OD) của dịch tăng sinh ở bước sóng 600 nm tại hai thời điểm trước khảo sát (0 giờ) và sau khảo sát (24 giờ) (Lee & ctv., 2011; Doan, 2020).

### 2.2.5. Khảo sát khả năng lên men các loại đường khác nhau

Các mẫu nấm men tuyển chọn được tăng sinh trong môi trường YPD, tốc độ lắc 200 vòng/phút ở 30°C trong 24 giờ đến khi mật số tế bào nấm men đạt 10<sup>8</sup> tế bào/mL. Cho 9 mL các dung dịch đường là glucose, saccharose, fructose, maltose (2% w/v) vào từng ống nghiệm có ống Durham (đã hấp khử trùng ở 121°C trong 15 phút), tiếp tục cho vào 1 mL dịch tăng sinh nấm men, lắc đều và ủ ở 30°C trong 24 giờ. Đánh giá khả năng lên men bằng cách đo cột khí CO<sub>2</sub> trong ống Durham, bắt đầu sau 2 giờ cho đến khi CO<sub>2</sub> đầy ống Durham (chiều cao tối đa là 25 mm), mỗi thời điểm đo cách nhau 2 giờ (Yabaya & ctv., 2016; Pham & ctv., 2019; Nguyen & ctv., 2021).

### 2.2.6. Khả năng sinh enzyme ngoại bào

#### a. Khảo sát khả năng sinh pectinase

Nấm men được nuôi cấy trên môi trường khoáng: MnSO<sub>4</sub> (0,05 g/L), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,2 g/L), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,0 g/L), CaCl<sub>2</sub> (0,05 g/L), MgSO<sub>4</sub> (0,8 g/L), yeast extract (1,0 g/L), citric pectin (2,0 g/L) và agar (15 g/L). Khả năng sinh enzyme Pectinase được thể hiện bằng vòng phân giải xung quanh các khuẩn lạc sau khi được nhuộm bằng dung dịch (Haile & Kang, 2019).

### b. Khảo sát khả năng sinh protease

Khả năng sinh protease ngoại bào được xác định bằng cách cấy các khuẩn lạc nấm men lên đĩa YPD chứa 2% casein. Các đĩa được ủ trong 5 ngày ở 30°C. Nấm men thể hiện hoạt tính được xác định bằng một vùng trong suốt xung quanh khuẩn lạc do hoạt động của Protease (Strauss & ctv., 2001).

### c. Khảo sát hoạt tính cellulase

Khả năng sinh enzyme cellulase được xác định bằng cấy nấm men lên các đĩa YPD chứa 0,4% carboxymethylcellulose (CMC, Sigma). Các đĩa được ủ trong 5 ngày ở 30°C. Các khuẩn lạc được rửa sạch khỏi đĩa bằng nước cất trước khi nhuộm đĩa bằng dung dịch Congo Red và khử màu bằng NaCl 1M (Strauss & ctv., 2001).

### d. Khảo sát hoạt tính amylase

Khả năng sinh enzyme amylase được xác định bằng cấy nấm men lên các đĩa YPD với 2% tinh bột. Nấm men được cấy điểm vào bề mặt của thạch bằng que cấy vô trùng và các đĩa được ủ ở 25°C trong 2 - 3 ngày. Tiếp theo ủ, các đĩa được nhuộm với dung dịch lugol. Các vùng trong suốt được hình thành xung quanh các khuẩn lạc nấm men thủy phân tinh bột trong khi phần còn lại của đĩa có màu xanh đậm do iốt tạo phức màu với tinh bột (Charoenchai & ctv., 1997).

### 2.3. Định danh các mẫu nấm men được tuyển chọn

Các mẫu nấm men có hoạt tính lên men tốt tuyển chọn được định danh bằng phương pháp giải trình tự vùng Internal Transcribed Spacer (ITS) với cặp mỗi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATA TGC-3') (Martin & Rygielwicz, 2005) và sau đó sử dụng chương trình Nucleotide BLAST để so sánh mức độ tương đồng của trình tự các mẫu nấm men trên ngân hàng gen NCBI.

### 2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các khảo sát thực hiện trong quá trình nghiên cứu sử dụng chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* phân lập từ nguồn nước trái cây lên men làm mẫu đối chứng (ĐC). Mỗi thí nghiệm đều được bố trí với 3 lần lặp lại và kết quả của thí nghiệm được trình bày dưới dạng trung bình của 3 lần lặp lại  $\pm$  SD. Kết quả thí nghiệm được thống kê bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2010 và xử lý bằng phần mềm Minitab 16 với sự khác biệt của các giá trị trung bình được so sánh bằng cách phân tích ANOVA đơn yếu tố với độ tin cậy trên 99%.

## 3. Kết Quả và Thảo Luận

### 3.1. Thu mẫu và phân lập nấm men từ quả ổi chín ở khu vực đồng bằng sông Cửu Long

Từ 22 mẫu quả ổi chín thuộc 4 giống ổi khác nhau thu thập tại 6 tỉnh khu vực đồng bằng sông Cửu Long (Bến Tre, Cần Thơ, Đồng Tháp, Long An, Tiền Giang và Trà Vinh) đã phân lập được 33 khuẩn lạc mang những đặc điểm đặc trưng của nấm men được thống kê tại Bảng 1. Trong đó, trên giống ổi Nữ hoàng phân lập được số lượng nấm men nhiều nhất là 13 mẫu và thấp nhất là giống ổi Trân châu ruột đỏ với 4 mẫu.

**Bảng 1.** Các mẫu nấm men phân lập từ bốn giống ổi khác nhau

| Giống ổi          | Ký hiệu mẫu                       | Nguồn phân lập        | Số mẫu phân lập |
|-------------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------|
| Đài Loan          | DLCL1, DLCL2                      | Chợ Lách, Bến Tre     | 2               |
|                   | DLCT1, DLCT2, DLCT3               | Châu Thành, Đồng Tháp | 3               |
|                   | DLTT1, DLTT2, DLTT3, DLTT4        | Thủ Thừa, Long An     | 4               |
| Nữ hoàng          | NHCB1, NHCB2, NHCB3, NHCB4, NHCB5 | Chợ Lách, Bến Tre     | 5               |
|                   | NHCL1, NHCL2, NHCL3, NHCL4, NHCL5 | Châu Thành, Đồng Tháp | 5               |
|                   | NHCT1, NHCT2, NHCT3               | Thủ Thừa, Long An     | 3               |
| Sẻ                | SCG1, SCG2, SCG3, SCG4            | Cần Giuộc, Long An    | 4               |
|                   | STC1, STC2, STC3                  | Tiểu Cần, Trà Vinh    | 3               |
| Trần châu ruột đỏ | TCTL1, TCTL2, TCTL3, TCTL4        | Thới Lai, Cần Thơ     | 4               |
| Tổng              |                                   |                       | 33              |

Trung bình mỗi mẫu ổi chín chỉ phân lập được từ 1 đến 2 khuẩn lạc nấm men có đặc điểm kiểu hình khác nhau. Abranches & ctv. (2000) đã phân lập 257 khuẩn lạc nấm men thuộc 133 loài khác nhau từ 50 mẫu ổi chín rụng tại Brazil và vùng rừng ven Đại Tây Dương. Nhiều nghiên cứu cũng đã phân lập được các chủng nấm men khác nhau từ những loại trái cây nhiệt đới khác. Pham & ctv. (2019) đã phân lập 29 chủng nấm men từ 12 mẫu thanh long ruột đỏ.

Bề mặt vỏ các loại trái cây chín là môi trường lý tưởng để nấm men sinh trưởng. Theo Vadkertiová & ctv. (2012), mật độ nấm men trên quả chín cao hơn 2,5 lần so với hoa hay các bộ phận khác của cây. Việt Nam có nhiều loại trái cây nhiệt đới, cận nhiệt hay ôn đới có lợi thế lớn trong việc phân lập và nghiên cứu về nấm men. Từ đó, các đặc tính vượt trội của nấm men sẽ được khám phá và khai thác hiệu quả cho quá trình lên men công nghiệp thực phẩm, sản xuất các chế phẩm y sinh và một số lĩnh vực khác.

### 3.2. Đặc điểm sinh học của nấm men phân lập

Ba mươi ba mẫu nấm men phân lập được cấy rìa trên môi trường YPD agar, ủ ở nhiệt độ phòng

sau 48 giờ để mô tả các đặc điểm về khuẩn lạc và tế bào. Kết quả cho thấy, đặc điểm chung của đa số các mẫu nấm men phân lập đều có khuẩn lạc với màu trắng đục hoặc trắng trong, hình dạng khuẩn lạc tròn, bề mặt khô sần hoặc trơn láng, rìa khuẩn lạc nguyên hoặc răng cưa và phát triển nhô cao lên trên bề mặt môi trường. Kích thước của các khuẩn lạc nấm men phân lập dao động khoảng từ 1,2 mm đến 3,8 mm. Tế bào của các mẫu nấm men phân lập có ba loại hình dạng chính gồm hình ovan, hình elip và hình cầu. Đối với các tế bào ovan có khả năng nấm men thuộc các chi như *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Rhodotorula*, *Candida* hay *Brettanomyces*. Nấm men *Pichia*, *Hanseniaspora* hay *Saccharomyces* thường nhận diện với tế bào hình elip. Trong trường hợp các tế bào hình cầu có khả năng nấm men thuộc chi *Hansenula*, *Torulopsis* hay *Saccharomyces* (Luong, 2009). Việc định danh sơ bộ nấm men dựa vào đặc điểm sinh học tế bào như trên chỉ mang tính chất định tính, cần thực hiện kết hợp đồng thời mô tả hình thái khuẩn lạc, khảo sát sinh hóa cùng với giải trình tự để ghi nhận kết quả chính xác hơn.

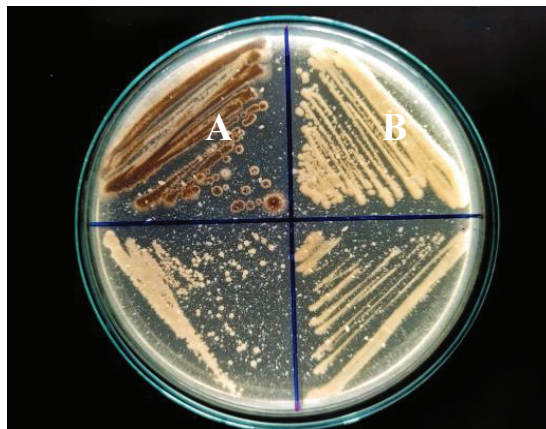


### 3.3. Khảo sát hoạt tính lên men của các mẫu nấm men phân lập

#### 3.3.1. Khả năng sinh khí hydrogen sulfide ( $H_2S$ )

Khả năng sinh khí hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) của 33 mẫu nấm men phân lập được khảo sát trên môi trường LA. Kết quả được ghi nhận bằng cách quan sát màu sắc của khuẩn lạc nấm men phát triển trên bề mặt môi trường thạch: khuẩn lạc sinh khí  $H_2S$  có màu nâu nhạt đến đậm, khuẩn lạc không sinh khí  $H_2S$  thì không đổi màu

(Hình 1). Kết quả khảo sát có 10 mẫu nấm men (DLCL1, DLCL2, DLCT1, NHCB1, NHCB2, NHCB4, NHCL4, NHCT2, TCTL2 và TCTL4) không sinh khí  $H_2S$  với khuẩn lạc màu trắng và không có sự thay đổi về màu sắc trong suốt thời gian nuôi cấy, các mẫu này được chọn để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo. Tỷ lệ nấm men sinh  $H_2S$  trong khảo sát khoảng 69,70% (23/33) thấp so với nghiên cứu tại Ethiopia theo Tsegaye & ctv. (2018) có tỷ lệ 80% (8/10).

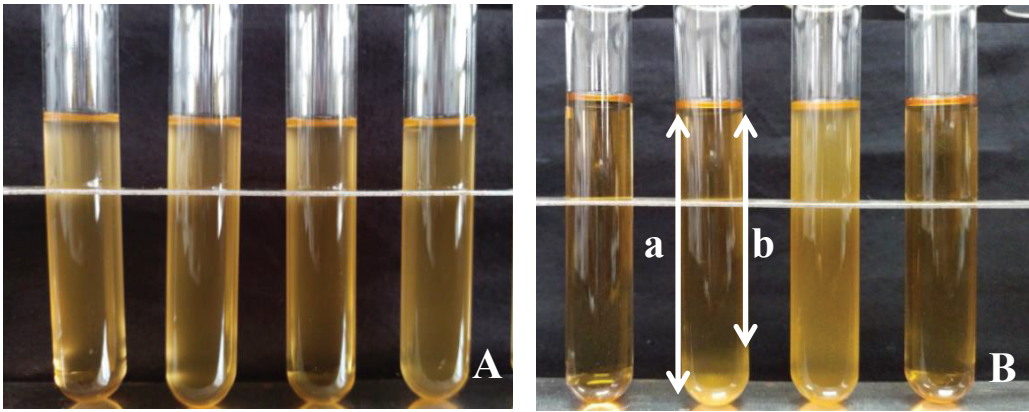


**Hình 1.** Khuẩn lạc nấm men phát triển trên môi trường Luria Agar sau 7 ngày.  
A: Khuẩn lạc dương tính với  $H_2S$ ; B: Khuẩn lạc âm tính với  $H_2S$ .

#### 3.3.2. Khả năng kết lắng

Với 10 mẫu nấm men không sinh khí  $H_2S$  được tuyển chọn khảo sát về khả năng kết lắng. Kết quả ghi nhận tại Hình 2 và Bảng 2 cho thấy, sau 7 ngày lên men thì 9 mẫu (DLCL1, DLCL2, DLCT1, NHCB1, NHCB2, NHCB4, NHCL4, NHCT2 và TCTL2) tạo ra dịch lên men trong và mức độ vẩn đục rất thấp với chiều cao đoạn dịch trong dao động từ 6,07 cm đến 7,17 cm (chiếm tỷ lệ 76% - 90% so với chiều cao khối môi trường lên men là 8 cm). Trong đó, mẫu có khả năng kết lắng tốt nhất với chiều cao đoạn dịch trong đạt 7,17 cm (chiếm tỷ lệ 90%). Ngược lại, mẫu TCTL4 lại cho ra dịch lên men vẩn đục với chiều cao đoạn dịch trong rất thấp là 0,66 cm (chiếm tỷ lệ 8% so với chiều cao đoạn dịch lên

men). Thông qua kết quả của thí nghiệm trên, số lượng nấm men tuyển chọn có khả năng kết lắng tốt đạt tỷ lệ tương đối cao là 90% (9/10 mẫu khảo sát). Theo báo cáo của Guimarães & ctv. (2006), trên 15 mẫu nấm men *Saccharomyces* phân lập từ các nhà máy rượu tỷ lệ nấm men kết lắng đạt 6,67%. Trong khi đó, kết quả khảo sát của Nguyen & ctv. (2012) trên 30 mẫu nấm men từ bánh men rượu thì tỷ lệ này đạt giá trị tuyệt đối là 100% (30/30). Các mẫu men kết lắng tốt không chỉ giảm lượng cặn trong sản phẩm cuối cùng mà còn cải thiện tính ổn định và đồng nhất của rượu vang. Chín mẫu nấm men trên cần được tiếp tục thực hiện các khảo sát sinh hóa cũng như khảo sát về đặc điểm lên men để có thể sử dụng làm nguồn giống cho các quá trình lên men bia và rượu vang một cách hiệu quả nhất.

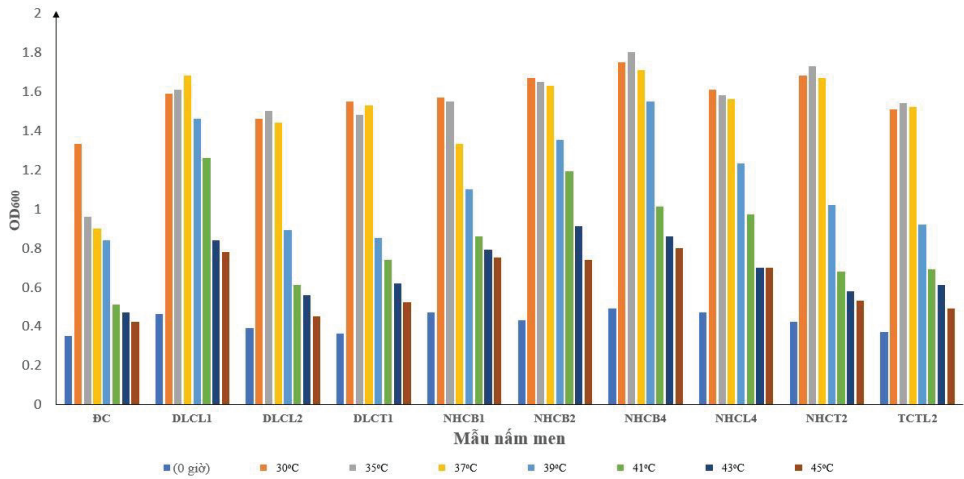


**Hình 2.** Môi trường Sabouraud trước (A) và sau lên men (B). a: Chiều cao khối môi trường lên men (8 cm); b: Chiều cao đoạn dịch trong.

**Bảng 2.** Khả năng kết lắng của các mẫu nấm men tuyển chọn

| Mẫu nấm men                                                                   | Đối chứng | DLCL1 | DLCL2 | DLCT1 | NHCB1 | NHCB2 | NHCB4 | NHCL4 | NHCT2 | TCTL2 | TCTL4 |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Tỉ lệ giữa chiều cao đoạn dịch trong và chiều cao khối môi trường lên men (%) | 19        | 87    | 83    | 83    | 76    | 85    | 87    | 84    | 90    | 86    | 8     |
| Khả năng kết lắng                                                             | Không     | Tốt   | Tốt   | Tốt   | Tốt   | Tốt   | Tốt   | Tốt   | Tốt   | Tốt   | Không |

3.3.3. Khả năng chịu nhiệt



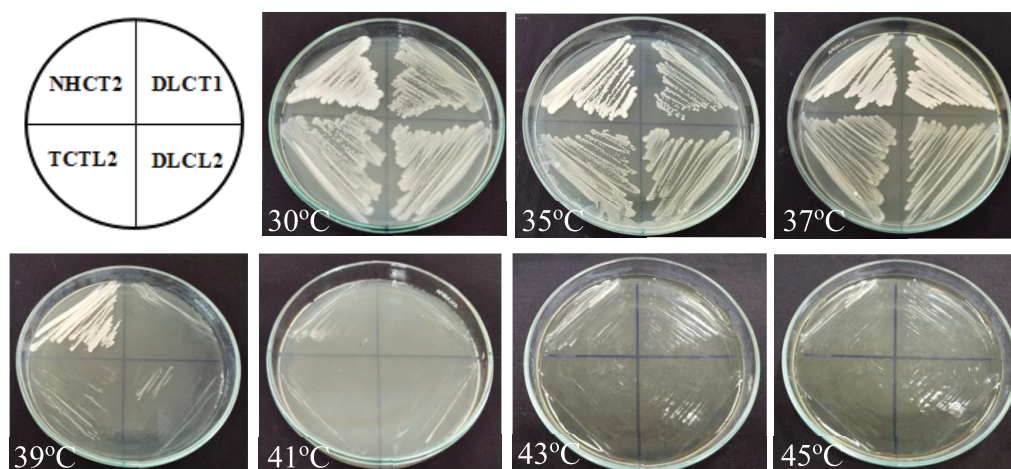
**Hình 3.** Khả năng chịu nhiệt của các mẫu nấm men tuyển chọn.



**Bảng 3.** Khả năng phát triển của khuẩn lạc nấm men ở các nhiệt độ khác nhau

| Mẫu nấm men | Nhiệt độ |      |      |      |      |      |      |
|-------------|----------|------|------|------|------|------|------|
|             | 30°C     | 35°C | 37°C | 39°C | 41°C | 43°C | 45°C |
| Đối chứng   | +        | +    | +    | -    | -    | -    | -    |
| DLCL1       | +        | +    | +    | +    | +    | +    | -    |
| DLCL2       | +        | +    | +    | +    | -    | -    | -    |
| DLCT1       | +        | +    | +    | +    | -    | -    | -    |
| NHCB1       | +        | +    | +    | +    | +    | +    | -    |
| NHCB2       | +        | +    | +    | +    | +    | +    | -    |
| NHCB4       | +        | +    | +    | +    | +    | +    | -    |
| NHCL4       | +        | +    | +    | +    | +    | +    | -    |
| NHCT2       | +        | +    | +    | +    | -    | -    | -    |
| TCTL2       | +        | +    | +    | +    | -    | -    | -    |
| Tổng cộng   | 10       | 10   | 10   | 9    | 5    | 5    | 0    |

+: Phát triển; -: Không phát triển.

**Hình 4.** Sự phát triển của các mẫu nấm men ở các nhiệt độ khác nhau.

Kết quả ở Hình 3, Hình 4 và Bảng 3 cho thấy, các mẫu nấm men tuyển chọn đều có khuẩn lạc phát triển tốt ở dãy nhiệt độ từ 30°C - 39°C. Tuy nhiên, ở nhiệt độ 41°C - 45°C các khuẩn lạc nấm men có xu hướng phát triển yếu dần đi. Ở nhiệt độ 41°C và 43°C có 5 mẫu (DLCL1, NHCB2, NHCB4, NHCL4 và NHCB1) phát triển trên môi trường nhưng số lượng khuẩn lạc quan sát được là rất thấp. Ở nhiệt độ 45°C, cả 9 mẫu đều không thể phát triển sau 24 giờ nuôi cấy.

Trong quá trình lên men các loại rượu vang, một trong những yếu tố quan trọng nhất chính là nguồn nấm men. Đối với nấm men, nhiệt độ có ảnh hưởng quan trọng đến quá trình chuyển hóa đường thành ethanol (Doan & ctv., 2018). Lên men ethanol ở nhiệt độ cao là chìa khóa yêu cầu sản xuất ethanol hiệu quả ở vùng nhiệt đới có nhiệt độ trung bình ban ngày thường cao quanh năm. Ưu điểm của quá trình lên men nhanh ở nhiệt độ cao không chỉ là giảm nguy cơ tạp

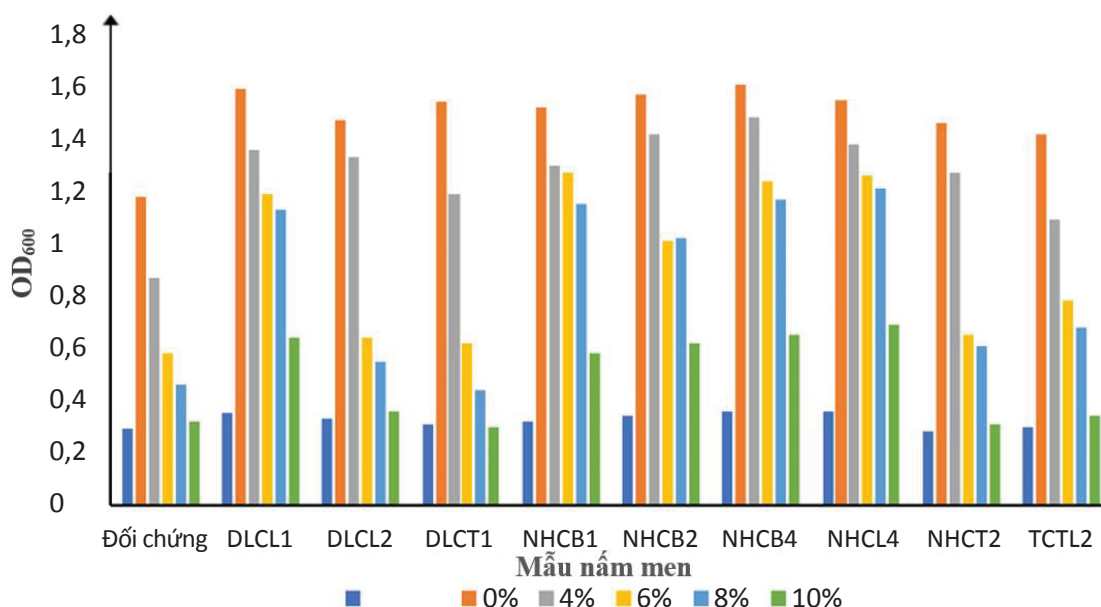
nhằm mà còn giảm chi phí làm mát (Limtong & ctv., 2007). Vì vậy, việc lựa chọn nấm men chịu nhiệt mang lại nhiều lợi ích đáng kể như tận dụng được nhiệt độ cao để lên men và giảm chi phí đầu tư cho thiết bị làm mát, từ đó tạo ra nhiều lợi ích kinh tế trong sản xuất (Yuangsard & ctv., 2013).

Thông qua kết quả ghi nhận từ khảo sát khả năng chịu nhiệt của các mẫu nấm men tuyển chọn trên cả hai môi trường YPD agar và YPD lỏng đều tương đồng với nhau. Qua khảo sát thấy năm mẫu nấm men gồm DLCL1, NHCB2, NHCB4, NHCL4 và NHCB1 có khả năng chịu nhiệt tốt nhất lên đến 43°C. Đồng thời, tuyển

chọn toàn bộ 9 mẫu nấm men có khả năng chịu nhiệt từ 37°C trở lên để thực hiện các khảo sát tiếp theo.

### 3.3.4. Khả năng chịu ethanol

Khả năng chịu ethanol của các mẫu nấm men tuyển chọn được khảo sát trong môi trường YPD lỏng có bổ sung ethanol tinh khiết với các nồng độ ethanol lần lượt là 0%, 4%, 6%, 8% và 10% ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ. Tốc độ sinh trưởng của nấm men được ghi nhận bằng cách đo mật độ quang của dịch tăng sinh ở bước sóng 600 nm (Hình 5).



**Hình 5.** Khả năng chịu ethanol của các mẫu nấm men tuyển chọn.

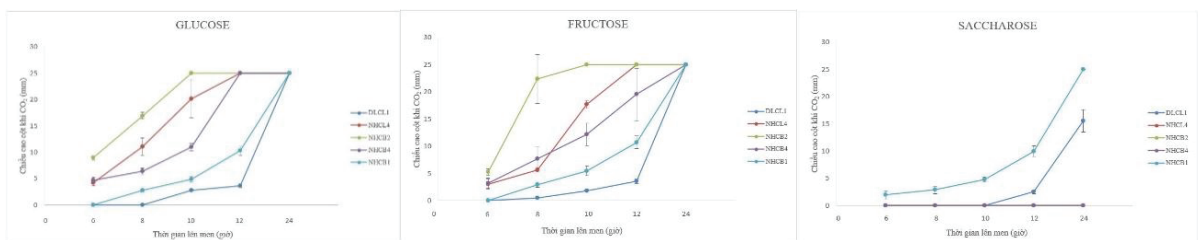
Khả năng chịu ethanol của các mẫu nấm men được xem là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng phát triển và sinh ethanol. Mặc dù ethanol là sản phẩm chính của quá trình lên men rượu từ đường, nhưng ở một nồng độ nhất định thì ethanol sẽ ức chế quá trình lên men. Trong quá trình lên men, mật số tế bào thay đổi đáng kể là do nấm men nhạy cảm với ethanol, một số mẫu không thể sống sót trong điều kiện ethanol cao (Doan & ctv.,

2018). Trong 9 mẫu nấm men được tuyển chọn đều tăng trưởng tốt trong môi trường có nồng độ ethanol 0% - 4% sau 24 giờ nuôi cấy, trong đó có 5 mẫu nấm men (NHCB1, NHCL4, NHCB4, DLCL1 và NHCB2) có khả năng phát triển trong môi trường có nồng độ ethanol 6% - 8%. Ở nồng độ ethanol cao nhất trong khảo sát là 10% thì hầu hết các mẫu nấm men đều giảm tốc độ tăng trưởng và sinh trưởng yếu.

### 3.3.5. Khả năng lên men các loại đường khác nhau

Đường là nguồn dinh dưỡng quan trọng, ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt động và quá trình lên men của nấm men. Khả năng lên men các loại đường là một trong những chỉ tiêu quan trọng được sử dụng để phân loại nấm men. Các mẫu nấm men tuyển chọn được khảo sát khả năng lên men các loại đường gồm glucose, fructose, saccharose, maltose, lactose và mannitol ở nồng độ 2% (w/v) trong môi trường carbohydrate broth. Kết quả chưa ghi nhận sự lên men của các mẫu nấm men khảo sát đối với mannitol,

maltose và lactose sau 24 giờ. Đối với đường glucose, fructose và saccharose, sự lên men được ghi nhận sau 6 giờ (Hình 6). Các mẫu nấm men NHCL4, NHCB4 và NHCB2 có khả năng lên men nhanh và mạnh hơn các 2 mẫu còn lại. Đối với đường glucose, sau 12 giờ lên men chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> đều đạt được chiều cao đối đa (25 mm). Tuy nhiên, mẫu NHCB1, DLCL1 có khả năng lên men đường saccharose nhưng lên men đường glucose và fructose thấp hơn so với 3 mẫu còn lại.



**Hình 6.** Khả năng lên men đường của các mẫu nấm men tuyển chọn.

Theo Doan & ctv. (2018), các mẫu nấm men *Saccharomyces* spp. phân lập từ trái giác ở Kiên Giang có thời gian lên men nhanh nhất với chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> đạt 25 mm chỉ sau 6 giờ lên men và có khả năng lên men rượu vang tốt ở 37°C. Như vậy, kết quả khảo sát đã tuyển chọn được 3 mẫu nấm men NHCL4, NHCB4, NHCB2 cho kết quả lên men tốt với nguồn đường glucose và fructose. Các nguồn đường còn lại cho kết quả không lên men đối với tất cả các mẫu nấm men. Điều này bởi vì nấm men dễ dàng sử dụng các loại đường monosaccharide như glucose, fructose. Muốn sử dụng được đường disaccharide như saccharose, maltose, lactose hay oligosaccharide như manitol thì nấm men phải sử dụng enzyme invertase để thủy phân thành monosaccharide, sau đó mới vận chuyển được vào tế bào (Doan & ctv., 2018).

### 3.3.6. Khả năng sinh các enzyme ngoại bào

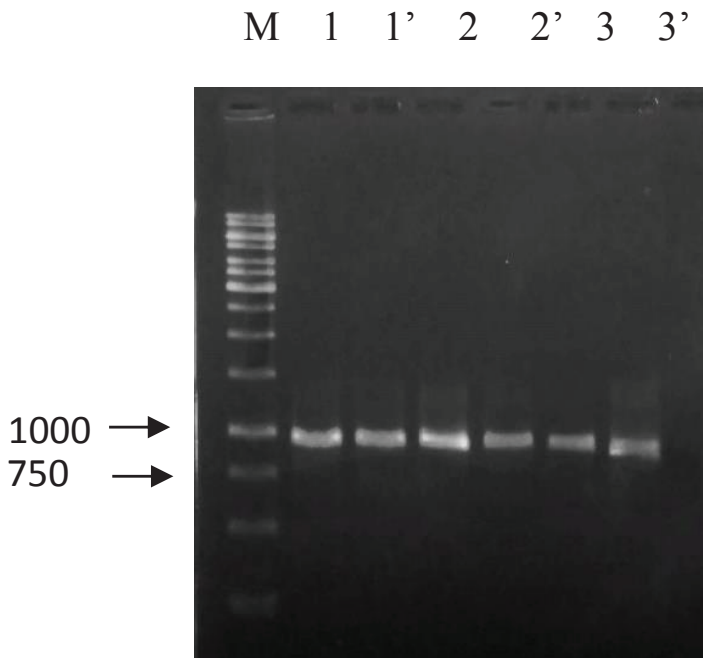
Các mẫu nấm men có hoạt tính enzyme có thể là một tác nhân quan trọng để cải thiện quá trình chế biến đồ uống và tiềm năng nguồn sản xuất enzyme thương mại. Tuy nhiên, kết quả khảo sát khả năng sinh pectinase, protease, cellulase và amylase của 3 mẫu nấm men tuyển chọn (NHCL4, NHCB4, NHCB2) đều cho kết quả âm tính.

Những nghiên cứu trước đó chỉ cho thấy có rất ít chủng nấm men có khả năng sinh các enzyme ngoại bào. Theo nghiên cứu của Strauss & ctv. (2001) đã phân lập được 245 chủng nấm men nhưng chỉ có 9 chủng sinh enzyme pectinase, 11 chủng sinh enzyme cellulase, 8 chủng sinh enzyme protease. Silva & ctv. (2022)

đã báo cáo rằng trong tổng số 144 chủng phân lập được sàng lọc, 109 chủng nấm men (76%) tạo ra ít nhất một trong số các hydrolase được thử nghiệm, với hầu hết các hoạt tính đối với protease 59 mẫu (41%), cellulase 58 mẫu (40%), amylase 23 mẫu (16%) và pectinase 20 mẫu (14%) và Yang & ctv (2013) cũng đã phân lập được 257 chủng nấm men những cũng chỉ có 14 chủng sinh enzyme protease.

3.4. Định danh các mẫu nấm men tuyển chọn

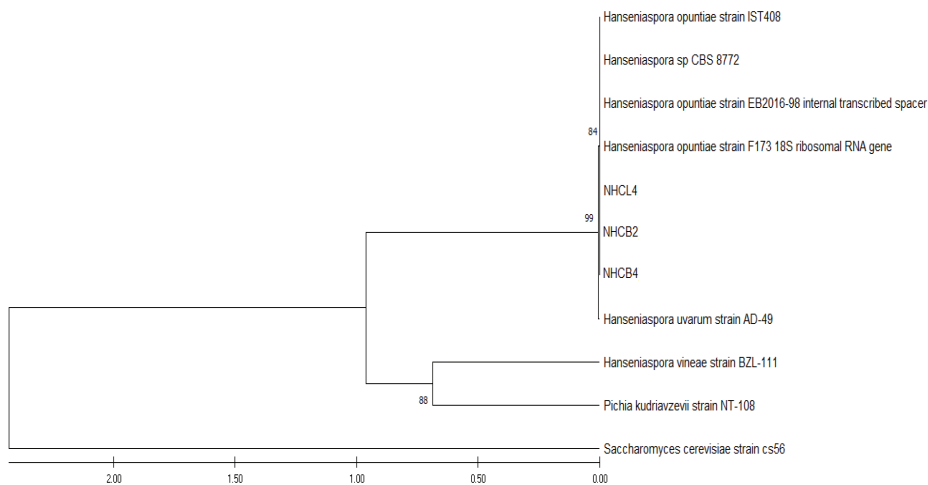
Ba mẫu nấm men tuyển chọn (NHCL4, NHCB4, NHCB2) được ly trích DNA tổng số và khuếch đại vùng ITS bằng PCR. Kết quả điện di sản phẩm PCR (750 - 1000 bp) với cặp mồi ITS1 và ITS4 của 3 mẫu nấm men tuyển chọn cho thấy các sản phẩm khuếch đại rõ ràng và không có sản phẩm phụ (Hình 7). Sau khi giải trình tự vùng ITS của 3 mẫu nấm men được so sánh trên ngân hàng gene, các mức độ tương đồng được thể hiện ở Bảng 4 và cây phát sinh loài ở Hình 8.



**Hình 7.** Kết quả khuếch đại vùng internal transcribed spacer của 3 mẫu nấm men tuyển chọn. M: thang DNA chuẩn 1000 bp; 1,1': NHCL4; 2,2': NHCB2; 3,3': NHCB4.

**Bảng 4.** Kết quả so sánh trình tự vùng internal transcribed spacer của 3 mẫu nấm men trên ngân hàng gen

| Mẫu nấm men | Mô tả                                          | Số hiệu truy cập | Độ bao phủ (%) | Độ tương đồng (%) |
|-------------|------------------------------------------------|------------------|----------------|-------------------|
| NHCL4       | <i>Hanseniaspora opuntiae</i> strain F173 18S  | KY497945.1       | 99             | 99,69             |
| NHCB2       | <i>Hanseniaspora opuntiae</i> strain EB2016-98 | MN378465.1       | 100            | 99,70             |
| NHCB4       | <i>Hanseniaspora opuntiae</i> strain EB2016-98 | MN378465.1       | 100            | 99,85             |



**Hình 8.** Cây phát sinh loài của các mẫu nấm men tuyển chọn và các chủng non-*Saccharomyces* đại diện dựa trên phân tích trình tự của vùng internal transcribed spacer bằng phương pháp UPGMA (Unweighted Pair Group Method using arithmetic Averages) Tree. Các giá trị Bootstrap được ước tính dựa trên 1000 lần lặp lại và được hiển thị trên các nhánh (> 50%). Loài ngoài nhóm là *Saccharomyces cerevisiae*.

Kết quả định danh đã xác định mẫu nấm men NHCL4, NHCB2, NHCB4 có độ tương đồng cao (trên 99%) với loài *Hanseniaspora opuntiae*. Các mẫu nấm men phân lập có sự phân tách rõ ràng với các giá trị bootstrap đáng tin cậy (84 - 99%). Để có thêm thông tin liên quan đến việc xác định các chủng, vùng ITS được bảo tồn của tập hợp các chủng được chọn ngẫu nhiên đại diện cho nhóm non-*Saccharomyces* trong hệ vi sinh vật của các vùng rượu vang (Seixas & ctv., 2019; Zhao & ctv., 2021). Thanh tỷ lệ là khoảng cách di truyền thể hiện mức độ tương đồng của các mẫu nấm men phân lập so với các chủng tham chiếu trên ngân hàng NCBI (Hình 5). *Hanseniaspora* spp. thường được tìm thấy nhiều ở vỏ quả chín, đóng vai trò quan trọng trong giai đoạn đầu của quá trình lên men ethanol (Martin & ctv., 2018) và sản sinh ra các enzyme và hợp chất tạo mùi thơm tạo nên sự đa dạng về màu sắc và hương vị của rượu. Sự hiện diện của *H. opuntiae* giúp tạo ra rượu vang có hàm lượng monoterpene cao hơn, bao gồm cả limonene, tạo giá trị cảm quan cho rượu vang cũng như các loại đồ uống lên men khác. Ngoài

ra, các loài thuộc chi *Hanseniaspora* đã được chứng minh có thể kết hợp với *S. cerevisiae* tăng khả năng trong việc định hình mùi thơm của rượu vang (Moreira & ctv., 2008; Lleixà & ctv., 2016; Bourbon & ctv., 2021).

#### 4. Kết Luận

Từ 22 mẫu quả ổi chín thuộc 4 giống ổi thu thập tại 6 tỉnh khu vực đồng bằng sông Cửu Long đã phân lập được 33 khuẩn lạc mang những đặc điểm đặc trưng của nấm men. Qua kết quả khảo sát đặc điểm lên men đã chọn được 3 mẫu (NHCL4, NHCB2 và NHCB4) có khả năng kết lắng (84 - 87%), chịu nhiệt (30 - 43°C), chịu ethanol (6% - 8%) và có khả năng lên men đường glucose và fructose. Kết quả định danh cho thấy cả 3 mẫu nấm men tuyển chọn đều tương đồng cao (> 99%) với *Hanseniaspora opuntiae*. Đây là loài nấm men có khả năng chịu ethanol, lên men ethanol và tạo mùi hương tốt mang đến tiềm năng cho việc sản xuất rượu vang hoặc các sản phẩm lên men khác từ trái cây địa phương, góp phần tạo nguồn giống mới



và đa dạng hóa nông sản Việt.

### Lời Cam Đoan

Các tác giả cam đoan không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả

### Lời Cảm Ơn

Công trình này là kết quả nghiên cứu của đề tài khoa học và công nghệ cấp cơ sở mã số CS-SV23-KHSH-04 được cấp kinh phí bởi Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.

### Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Abranches, J., Vital, M. J., Starmer, W. T., Hagler, L. C. M., & Hagler, A. N. (2000). The yeast community and mycocin producers of guava fruit in Rio de Janeiro, Brazil. *Mycologia* 92(1), 16-22. <https://doi.org/10.2307/3761445>.
- Bourbon, M. N., Palma, M., Rocha, M. P., Ferreira, A., Bronze, M. R., Elias, H., & Correia, I. S. (2021). Use of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora opuntiae* to enhance the aromatic profile of beer in mixed-culture fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology* 95, 103678. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103678>.
- Charoenchai, C., Fleet, G. H., Henschke, P. A., & Todd, B. E. N. T. (1997). Screening of non-*Saccharomyces* wine yeasts for the presence of extracellular hydrolytic enzymes. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 3(1), 2-8. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1997.tb00109.x>.
- Doan, T. K. T. (2020). *Isolation, selection of thermotolerant yeasts and evaluation of fermentation capacity from three-leaf cayratia (Cayratia trifolia L.) in the Mekong Delta* (Unpublished doctoral dissertation). Can Tho University, Can Tho, Vietnam.
- Doan, T. K. T., Bui, L. H. Đ., Vien, Y. T. H., Ha, T. T., Huynh, P. X., & Ngo, D. T. P. (2018). Selection of thermotolerant yeasts and application in wine production from three-leaf cayratia (*Cayratia trifolia* L.) in Hau Giang. *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development* 54(4), 64-71. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2018.071>.
- German, J. B., & Walzem, R. L. (2000). The health benefits of wine. *Annual Review of Nutrition* 20(1), 561-593.
- Guimarães, T. M., Moriel, D. G., Machado, I. O., Picheth, C. M. T. F., & Bonfim, T. M. B. (2006). Isolation and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains of winery interest. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 42(1), 119-126. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000100013>.
- Haile, M., & Kang, W. H. (2019). Isolation, identification, and characterization of pectinolytic yeasts for starter culture in coffee fermentation. *Microorganisms* 7(10), 401-416. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100401>.
- Ho, T. T. (2011). *Isolation and selection of natural yeast for application in dragon fruit wine production*. (Unpublished master's thesis). Can Tho University, Can Tho, Vietnam.
- Kamath, J. V., Rahul, N., Ashok Kumar, C. K., & Mohana Lakshmi, S. (2008). *Psidium guajava* L: A review. *International Journal of Green Pharmacy* 2(1), 9-12.
- Lee, J. Y., Choi, R. Y., Lee, Y. S., Park, T. J., Shim, H. J., Park, H. K., & Kim, W. J. (2011). Screening wild yeast strains for alcohol fermentation from various fruits. *Mycobiology* 39(1), 33-39. <https://doi.org/10.4489%2FMYCO.2011.39.1.033>.
- Lleixà, J., Martín, V., Portillo, M. D. C., Carrau, F., Beltran, G., & Mas, A. (2016). Comparison of fermentation and wines produced by inoculation of *Hanseniaspora vineae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Frontiers in Microbiology* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00338>.
- Limtong, S., Sringiew, C., & Yongmanitchai, W. (2007). Production of fuel ethanol at high temperature from sugar cane juice by a newly isolated *Kluyveromyces marxianus*. *Bioresource Technology* 98(17), 3367-3374. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.05.011>.



- org/10.1016/j.biortech.2006.10.044.
- Luong, P. D. (2009). *Industrial yeast*. Ha Noi, Vietnam: Science and Technics Publishing House.
- Martin, K. J., & Rygiewicz, P. T. (2005). Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. *BMC Microbiology* 5(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-5-28>.
- Martin, V., Jose Valera, M., Medina, K., Boido, E., & Carrau, F. (2018). Oenological impact of the *Hanseniaspora/Kloeckera* yeast genus on wines - A review. *Fermentation* 4(3). <http://dx.doi.org/10.3390/fermentation4030076>.
- Moreira, N., Mendes, F., Pinho, P. G. D., Hogg, T., & Vasconcelos, I. (2008). Heavy sulphur compounds, higher alcohols and esters production profile of *Hanseniaspora uvarum* and *Hanseniaspora guilliermondii* grown as pure and mixed cultures in grape must. *International Journal of Food Microbiology* 124(3), 231-238. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.025>.
- Ngo, D. T. P., Ly, H. H. L., & Huynh, P. X. (2011). Isolation, selection of yeasts and determination of factors affecting watermelon wine fermentation. *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development* 18B, 137-145.
- Nguyen, T. H., Nguyen, D. T. K., Bang, L. H., & Nguyen, T. Q. (2012). Characterization of yeast isolated from rice wine starter cakes in Mekong Delta. *Journal of Science and Development* 10(2), 340-349.
- Nguyen, T. N., Huynh, K.V., Le, T. T., Luu, C. M., & Huynh, P. X. (2021). Isolation and selection of yeasts for soursop (*Annona muricata* L.) wine production. *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development* 57(4), 131-138. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.121>.
- Nguyen, T. V., Nguyen, T. M., Tran, Q. T., & Nguyen, T. M. T. (2013). Isolation, selection and identification of yeast strains for pineapple wine fermentation. *Series B of CTU Journal of Innovation and Sustainable Development* 25, 27-35.
- Ono, B. I., Ishi, N., Fujino, S., & Aoyama, I. (1991). Role of hydrosulfide ions (HS<sup>-</sup>) in methylmercury resistance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology* 57(11), 3183-3186. <https://doi.org/10.1128/aem.57.11.3183-3186.1991>.
- Pereira, G. V. D. M., Soccol, V. T., Pandey, A., Medeiros, A. B. P., Lara, J. M. R. A., Gollo, A. L., & Soccol, C. R. (2014). Isolation, selection and evaluation of yeasts for use in fermentation of coffee beans by the wet process. *International Journal of Food Microbiology* 188, 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.07.008>.
- Pham, T. T. T., Nguyen, T. N. A., Le, D. T., Nguyen, T. N., Bui, L. H. Đ., & Huynh, P. X. (2019). Isolation and selection of yeast for wine fermentation from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Series B of Vietnam Journal of Science and Technology* 61(8), 54-59.
- Qin, J. X., Yu, Q., Yan, H., Khan, A., Feng, Y. M., Li, P. P., Hao, J. X., An, K. L., & Liu, Y. H. (2017). Meroterpenoids with antitumor activities from guava (*Psidium guajava*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 65(24), 4993-4999. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01762>.
- Seixas, I., Barbosa, C., Faia, A. M., Güldener, U., Tenreiro, R., Ferreira, A. M., & Mira, N. P. (2019). Genome sequence of the non-conventional wine yeast *Hanseniaspora guilliermondii* UTAD222 unveils relevant traits of this species and of the *Hanseniaspora* genus in the context of wine fermentation. *DNA Research* 26(1), 67-83. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsy039>.
- Silva, M. K. D., Silva, A. V. D., Fernandez, P. M., Montone, R. C., Alves, R. P., Queiroz, A. C. D., Oliveira, V. M. D., Santos, V. P. D., Putzke, J., Rosa L. H., & Duarte, A. W. F. (2022). Extracellular hydrolytic enzymes produced by yeasts from Antarctic lichens. *Annals of The Brazilian Academy of Sciences* 94(suppl.1). <https://doi.org/10.1590/0001-376520220210540>.
- Strauss, M. L. A., Jolly, N. P., Lambrechts, M. G., & Rensburg, P. V. (2001). Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes

- by non-*Saccharomyces* wine yeasts. *Journal of Applied Microbiology* 91(1), 182-190. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01379.x>.
- Tsegaye, Z., Tefera, G., Gizaw, B., & Abatenh, E. (2018). Characterization of yeast species isolated from local fruits used for bakery industrial application. *Journal of Applied Microbiological Research* 1(1), 21-26.
- Vadkertiová, R., Molnárová, J., Vránová, D., & Sláviková, E. (2012). Yeasts and yeast-like organisms associated with fruits and blossoms of different fruit trees. *Canadian Journal of Microbiology* 58(12), 1344-1352. <http://dx.doi.org/10.1139/cjm-2012-0468>.
- Yabaya, A., Bobai, M., & Adebayo, L. R. (2016). Production of wine from fermentation of *Vitis vinifera* (grape) juice using *Saccharomyces cerevisiae* strain isolated from palm wine. *International Journal of Information Research and Review* 3(10), 2834-2840.
- Yang, X. Q., Zhang, H., Li, L. X., Wang, Z., Xu, Y., Ren, W. S., Chen, Y. X., Xu, Y. Y., Hao, X. H., & Wang L. H. (2013). Extracellular enzyme production and phylogenetic distribution of yeasts in wastewater treatment systems. *Bioresource Technology* 129, 264-273. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.101>.
- Yuangsaard, N., Yongmanitchai, W., Yamada, M., & Limtong, S. (2013). Selection and characterization of a newly isolated thermotolerant *Pichia kudriavzevii* strain for ethanol production at high temperature from cassava starch hydrolysate. *Antonie Van Leeuwenhoek* 103(3), 577-588. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9842-8>.
- Zhao, Y., Sun, Y. Q., Zhu, S. S., Du, F., Mao, Z. R., Liu, J. L., Tian, B. & Zhu, F. Y. (2021). Biodiversity of non-*Saccharomyces* yeasts associated with spontaneous fermentation of Cabernet Sauvignon wines from Shangri-La wine region, China. *Scientific Reports* 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83216-x>.

## Processing of oolong tea from passion fruit buds of *Passiflora edulis*

Mai T. N. Tran\*, & Huyen T. M. Nguyen

Institute of Applied Sciences, HUTECH University, Ho Chi Minh City, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: November 22, 2023

Revised: May 02, 2024

Accepted: May 06, 2024

#### Keywords

Oolong tea

*Passiflora edulis*

Passion fruit buds

#### \*Corresponding author

Tran Thi Ngoc Mai

Email:

ttn.mai79@hutech.edu.vn

### ABSTRACT

The research aimed to create oolong tea products from passion fruit buds, diversifying this product line and improving the usage value of this bioactive material. The tea fermentation process was conducted at a temperature of  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  for 4 h, while the semi-drying and final-drying were performed at  $50 \pm 2^\circ\text{C}$  for 4 h and  $90 \pm 2^\circ\text{C}$  for 4 h, respectively. Tea product had a moisture content of 5.45%, a reducing sugar content of 1.21 mg/g, and a total polyphenol content of 22.38 mg/g. Tea was brewed at a tea to water ratio of 2.5% for 3 min at  $95^\circ\text{C}$ . In sensory evaluations of the brewed tea, color scored 4.93, clarity scored 3.91, smell scored 4.81, and taste scored 4.89. Thus, the product was graded as “good” according to TCVN 12713:2019.

**Cited as:** Tran, M. T. N., & Nguyen, H. T. M. (2024). Processing of oolong tea from passion fruit buds of *Passiflora edulis*. *The Journal of Agriculture and Development* 23(5), 61-71.

## Nghiên cứu quy trình sản xuất trà oolong từ ngọn chanh dây *Passiflora edulis*

Trần Thị Ngọc Mai\* & Nguyễn Thị Mai Huyền

Viện Khoa Học Ứng Dụng, Trường Đại Học Công Nghệ TP.HCM (HUTECH), TP. Hồ Chí Minh

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 22/11/2023

Ngày chỉnh sửa: 02/05/2024

Ngày chấp nhận: 06/05/2024

#### Từ khóa

Ngọn chanh dây

*Passiflora edulis*

Trà oolong

#### \*Tác giả liên hệ

Trần Thị Ngọc Mai

Email:

ttn.mai79@hutech.edu.vn

### TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm tạo sản phẩm trà oolong từ ngọn chanh dây, làm đa dạng hóa dòng sản phẩm này đồng thời giúp nâng cao giá trị sử dụng của nguồn nguyên liệu có hoạt tính sinh học. Quá trình lên men trà được tiến hành ở nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  trong 4 giờ, sấy dẻo và sấy thành phẩm được tiến hành ở nhiệt độ và thời gian tương ứng là  $50 \pm 2^\circ\text{C}$  trong 4 giờ và  $90 \pm 2^\circ\text{C}$  trong 4 giờ. Sản phẩm trà có hàm ẩm 5,45%; hàm lượng đường khử 1,21 mg/g; hàm lượng polyphenol tổng 22,38 mg/g. Trà được pha theo tỷ lệ trà:nước là 2,5% thời gian pha trà 3 phút ở nhiệt độ khoảng  $95^\circ\text{C}$ . Điểm đánh giá cảm quan về màu nước là 4,93; độ trong là 3,91; mùi 4,81 và vị 4,89, và do vậy sản phẩm đạt loại khá theo TCVN 12713:2019.

### 1. Đặt Vấn Đề

Trà, thường được sản xuất từ lá của cây *Camellia sinensis*, là loại đồ uống được tiêu thụ rộng rãi thứ hai trên thế giới nhờ mang lại những trải nghiệm thú vị và nhiều đặc tính tăng cường sức khỏe. Các đặc tính cảm quan của trà có liên quan đến sự kết hợp của nhiều hợp chất khác nhau, bao gồm catechin tạo vị đắng, polyphenol tạo vị chát, acid amin tạo vị tươi và chất dễ bay hơi tạo hương thơm, góp phần tạo nên mùi vị và hương thơm độc đáo đặc trưng của trà (Chai & ctv., 2020). Ngày nay, trà có thể được phân thành nhiều loại khác nhau như xanh, vàng, trắng, oolong, đen và Phổ Nhĩ (Pu-erh) dựa trên các quy trình sản xuất khác nhau. Sự khác biệt đáng kể của các loại trà xuất phát từ điều kiện phát

triển của cây, quy trình thu hoạch và chế biến lá. Oolong là loại trà được lên men một phần, do đó, mức độ oxy hóa khác nhau làm cho oolong có thể mang lại nhiều lợi ích sức khỏe (Rujanapun & ctv., 2022). Trong tất cả các loại, oolong là loại trà mà các nghiên cứu cho thấy nó có thể làm giảm béo phì và kiểm soát bệnh tiểu đường hiệu quả, do đó có chứa hợp chất caffeine có thể tăng cường quá trình phân giải lipid thông qua tác động lên các giọt lipid nhưng không tác động lên các hormone nhạy cảm với lipase, và hàm lượng polyphenol polyme hóa cao từ chiết xuất trà oolong ức chế lipase tuyến tụy (Ng & ctv., 2018).

Chanh dây (*Passiflora edulis*) là một loại cây lâu năm thuộc họ Passifloraceae, có nguồn gốc từ Brazil. Cây thích ứng với các vùng có khí hậu

mát mẻ, nhiệt độ trung bình 18 - 20°C, độ cao trung bình từ 800 - 1.000 m so với mực nước biển, có khả năng ra hoa và đậu quả quanh năm với năng suất rất cao. Chanh dây thuộc loại cây dây leo, sống lâu năm, có chiều dài khoảng 3 - 15 m; lá mọc xen, cuống lá dài 2 - 5 cm, phiến lá có 3 thùy, mép lá có răng cưa nhỏ, đầu tròn (Schotsmans & ctv., 2011).

Theo y học cổ truyền thì công dụng làm thuốc của chi *Passiflora* bắt nguồn từ người Mỹ bản địa, và công dụng phổ biến nhất của nó là điều trị chứng mất ngủ và lo âu cũng như bệnh động kinh. Hầu hết các dữ liệu hiện có đều cho thấy flavonoid là thành phần hoạt tính kháng oxy hóa cao. Ngoài ra, chiết xuất *Passiflora* cho thấy hiệu quả giải lo âu, tác dụng an thần, và hợp chất GABA được phát hiện là thành phần nổi bật của chiết xuất *Passiflora* (Elsas & ctv., 2010). Theo một số nghiên cứu khác thì chiết xuất từ lá của chanh dây *Passiflora edulis* có hoạt tính chống viêm, chống oxy hóa và chứa chủ yếu các flavonoid như apigenin, luteolin, quercetin và kaempferol, và các flavonoid C-glycosyl vitexin, isovitexin, orientin và isoorientin. Các flavonoid khác nhau này đã được chứng minh là

có lợi trong điều trị các biến chứng của bệnh tiểu đường (Salles & ctv., 2021).

Kết hợp ý tưởng từ quá trình lên men một phần trong quy trình sản xuất trà oolong cùng với các nghiên cứu về thành phần hóa học trong chiết xuất từ lá chanh dây có nhiều hợp chất tương tự trong lá trà *Camellia sinensis*, do đó “nghiên cứu sản xuất trà oolong từ ngọn chanh dây *Passiflora edulis*” được thực hiện sẽ góp phần làm đa dạng dòng trà oolong truyền thống đồng thời làm nên giá trị sử dụng ngọn chanh dây thải bỏ sau thu hoạch.

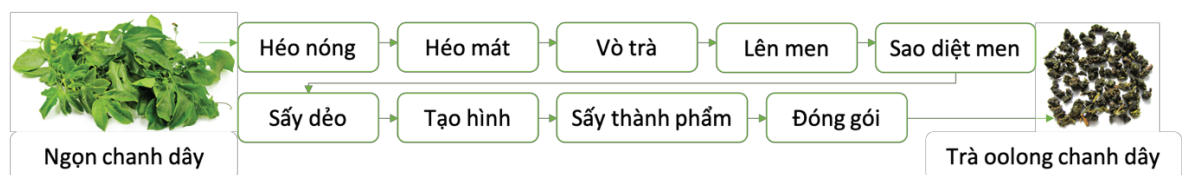
## 2. Vật Liệu và Phương Pháp

### 2.1. Vật liệu

Ngọn chanh dây (*Passiflora edulis*) được thu mua tại xã Ia Pếch, huyện Ia Grai, tỉnh Gia Lai, sử dụng phần ngọn/chồi xanh non của cây, thường là ba lá trên cùng của cành, tươi, có độ ẩm  $\geq 80\%$ , không bị dập nát, sâu bệnh.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Quy trình nghiên cứu sản xuất trà oolong



Hình 1. Quy trình nghiên cứu sản xuất trà oolong (Chen & ctv., 2012).

Ngọn chanh dây sau thu hoạch (mục 2.1) được rải mỏng lên sàng dưới ánh nắng mặt trời, cho đến khi ngọn chanh dây không còn căng bóng, bóp trong tay không còn giòn gãy nhiều, và hàm ẩm đạt 75 - 77% kết thúc quá trình héo nóng (Hình 1). Sau đó, đưa vào phơi trong phòng có quạt, đảo trộn nhẹ, cho đến khi ngọn chanh dây đạt độ ẩm 60 - 65% thì bắt đầu công đoạn vò trà. Cho ngọn chanh dây vào bao, đặt trên bàn có nhiều gờ nghiêng để vò, thời gian

vò 20 - 30 phút. Ngọn chanh dây sau khi vò sẽ được tiến hành khảo sát nhiệt độ và thời gian lên men (Bảng 1). Sau lên men trà được sao ở nhiệt độ 150 - 200°C, đạt hàm ẩm 60 - 63%. Trà sau khi sao sẽ được tiến hành khảo sát nhiệt độ và thời gian sấy dẻo (Bảng 2). Tiếp theo tạo hình và cuối cùng khảo sát nhiệt độ và thời gian sấy thành phẩm (Bảng 3). Các thí nghiệm được tiến hành theo 2 yếu tố nhiệt độ và thời gian, được bố trí và mã hóa theo các Bảng 1, 2 & 3.

**Bảng 1.** Sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men

| Thời gian (giờ) | Nhiệt độ (°C) |        |        |        |
|-----------------|---------------|--------|--------|--------|
|                 | 15 ± 2        | 20 ± 2 | 25 ± 2 | 30 ± 2 |
| 2               | F-T1H1        | F-T2H1 | F-T3H1 | F-T4H1 |
| 3               | F-T1H2        | F-T2H2 | F-T3H2 | F-T4H2 |
| 4               | F-T1H3        | F-T2H3 | F-T3H3 | F-T4H3 |
| 5               | F-T1H4        | F-T2H4 | F-T3H4 | F-T4H4 |
| 6               | F-T1H5        | F-T2H5 | F-T3H5 | F-T4H5 |

**Bảng 2.** Sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy dẻo

| Thời gian (giờ) | Nhiệt độ (°C) |        |        |        |
|-----------------|---------------|--------|--------|--------|
|                 | 45 ± 2        | 50 ± 2 | 55 ± 2 | 60 ± 2 |
| 2               | D-T1H1        | D-T2H1 | D-T3H1 | D-T4H1 |
| 3               | D-T1H2        | D-T2H2 | D-T3H2 | D-T4H2 |
| 4               | D-T1H3        | D-T2H3 | D-T3H3 | D-T4H3 |
| 5               | D-T1H4        | D-T2H4 | D-T3H4 | D-T4H4 |
| 6               | F-T1H5        | F-T2H5 | F-T3H5 | F-T4H5 |

**Bảng 3.** Sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy thành phẩm

| Thời gian (giờ) | Nhiệt độ (°C) |        |        |         |
|-----------------|---------------|--------|--------|---------|
|                 | 70 ± 2        | 80 ± 2 | 90 ± 2 | 100 ± 2 |
| 2               | P-T1H1        | P-T2H1 | P-T3H1 | P-T4H1  |
| 3               | P-T1H2        | P-T2H2 | P-T3H2 | P-T4H2  |
| 4               | P-T1H3        | P-T2H3 | P-T3H3 | P-T4H3  |
| 5               | P-T1H4        | P-T2H4 | P-T3H4 | P-T4H4  |
| 6               | P-T1H5        | P-T2H5 | P-T3H5 | P-T4H5  |

Thành phẩm được tiếp tục khảo sát chế độ trích ly, bao gồm: tỷ lệ trà:nước (g/mL) (1,0%, 1,5%; 2,0%; 2,5% & 3,0%) và thời gian trích ly (1, 2, 3, 4 & 5 phút). Các thí nghiệm được tiến hành theo kiểu 1 yếu tố với 3 lần lặp lại. Nhiệt độ trích ly được cố định ở 95°C. Sản phẩm nước trà sau trích ly được đánh giá cảm quan về màu, mùi, vị bằng phép thử cho điểm thị hiệu.

### 2.2.2. Các phương pháp nghiên cứu

Hàm ẩm (W, %) được xác định bằng phương pháp khối lượng (TCVN 10788:2015).

Hàm lượng đường khử (RS, mg/g) được xác định bằng phương pháp DNS (Tasun & ctv., 1970): Phản ứng tạo màu giữa đường khử với thuốc thử acid dinitrosalicylic (DNS), cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỉ lệ thuận với nồng độ đường khử có trong mẫu. So màu ở bước sóng 540 nm. Dựa theo đồ thị đường chuẩn glucose tinh khiết với DNS sẽ tính được hàm lượng đường khử của mẫu nghiên cứu:

$$RS \text{ (mg/g)} = \frac{C.V.F}{m}$$



Trong đó: C- nồng độ đường khử trong mẫu tính theo glucose (mg/mL), V- thể tích định mức dung dịch thí nghiệm (ml), F- hệ số pha loãng mẫu, m- khối lượng mẫu (g)

Hàm lượng polyphenol tổng (TPC, mg/g) được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu theo TCVN 9745-1:2013. Hàm lượng polyphenol tổng có trong 1 g mẫu được tính theo công thức sau:

$$\text{TPC (mg/g)} = \frac{C_M \cdot v}{m}$$

Với: CM - hàm lượng polyphenol tổng có trong mẫu được tính dựa trên đường chuẩn acid gallic (mg/g), v - thể tích định mức sau khi xử lý mẫu (mL), m - khối lượng mẫu (g).

Đánh giá cảm quan về mức độ ưa thích giữa các mẫu nghiên cứu bằng phép thử cho điểm thị hiếu, thang điểm 0 - 5 chỉ mức độ ưa thích tăng dần, số lượng người thử là 30 (theo TCVN 11183:2015).

Đánh giá cảm quan sản phẩm trà bằng phương pháp cho điểm theo TCVN 12713:2019 (VS, 2019).

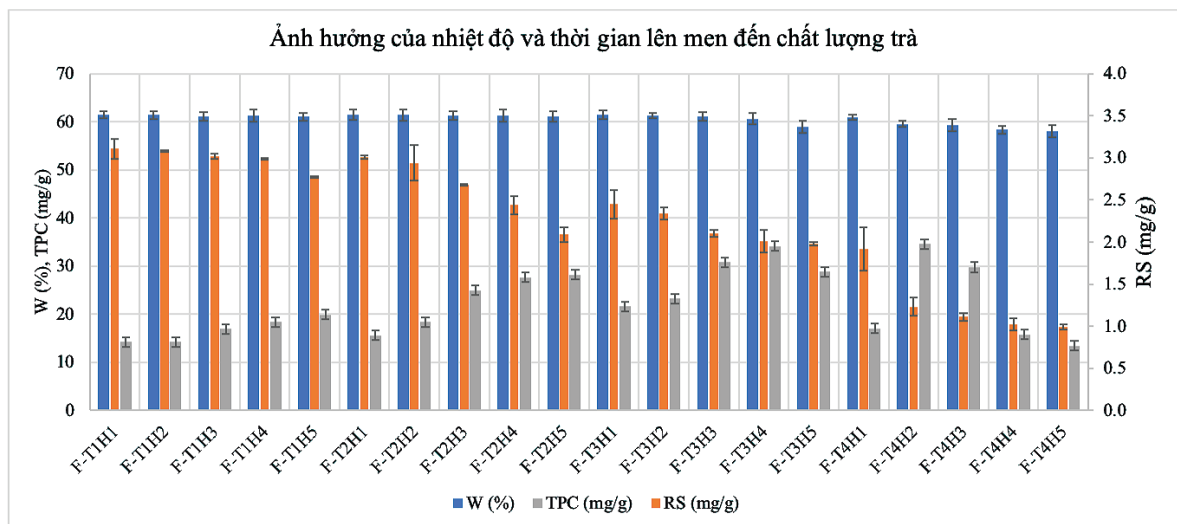
### 2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Statgraphics Centurion XV. Tất cả số liệu được biểu diễn dưới dạng Trung bình  $\pm$  SD, các chênh lệch khác biệt thể hiện bằng a, b, c, d ở mức ý nghĩa  $P < 0,05$ .

## 3. Kết Quả và Thảo Luận

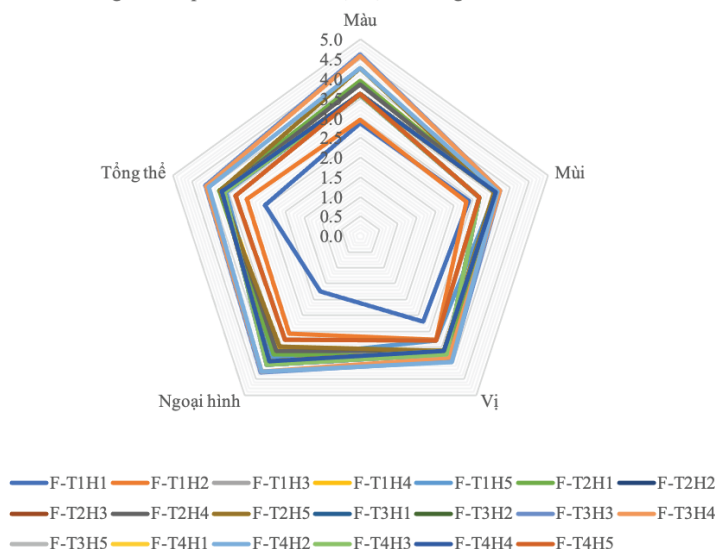
### 3.1. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men

Lên men là giai đoạn thúc đẩy quá trình oxy hóa diễn ra dưới tác dụng của các enzyme để tạo nên hương, vị đặc trưng cho trà oolong. Nhiệt độ và thời gian là hai yếu tố ảnh hưởng mật thiết đến quá trình lên men cũng như chất lượng trà thể hiện qua Hình 2.



**Hình 2.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến hàm ẩm (W), đường khử (RS) và polyphenol tổng (TPC).

Đánh giá cảm quan trà ở các nhiệt độ và thời gian lên men khác nhau

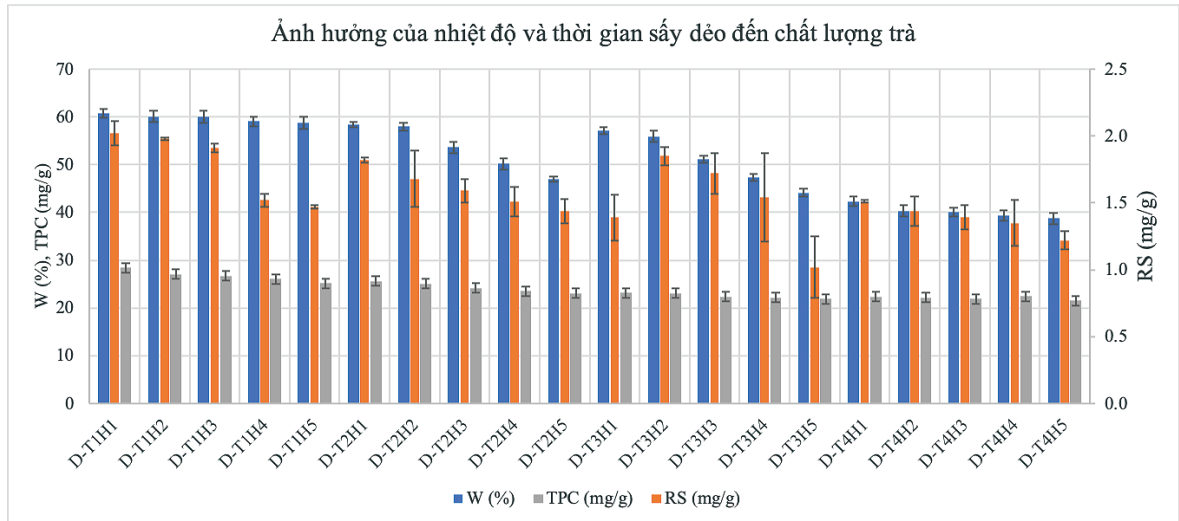
**Hình 3.** Đánh giá cảm quan các mẫu trà ở nhiệt độ và thời gian lên men khác nhau.

Từ Hình 2 cho thấy nhiệt độ và thời gian lên men càng tăng thì W và RS có xu hướng giảm, dao động tương ứng trong khoảng 58 - 62% và 1 - 3 mg/g; TPC thay đổi không ổn định dao động trong khoảng 13 - 30 mg/g. Theo sự thay đổi của thời gian và nhiệt độ lên men, RS có xu hướng giảm chủ yếu do xảy ra phản ứng Maillard giữa nhóm carbonyl của đường khử với nhóm amin của amino acid có trong nguyên liệu, hình thành các sản phẩm có màu nâu sẫm, góp một phần vào việc tạo nên màu sắc đặc trưng cho trà oolong. Bên cạnh đó, theo Xu & Chang (2007), khi xử lý nhiệt các hợp chất phenolic sẽ bị phá vỡ làm tăng các phenolic acid tự do. Do đó, trong giai đoạn đầu của quá trình lên men thì TPC tăng dần ở các nhiệt độ lên men được khảo sát. Tuy nhiên, sau đó TPC có xu hướng giảm nhanh ở nhiệt độ cao điều này có thể là do quá trình thủy phân, phản ứng oxy hóa khử các hợp chất phenol dưới tác động của nhiệt độ cao. Trong đó, TPC của mẫu F-T4H2 là cao nhất sau đó là mẫu F-T3H4 và F-T3H3 tương ứng 34,61 mg/g; 34,15 mg/g và 30,84 mg/g. Quá trình lên men là giai đoạn xảy ra các quá trình oxy hóa các hợp chất polyphenol dưới tác dụng của các enzyme peroxidase và polyphenoloxidase tạo ra các hợp

chất tạo nên mùi vị và màu sắc đặc trưng cho trà oolong. Theo Khôtrôlava (1985), nhiệt độ lên men càng cao thì quá trình lên men xảy ra nhanh, nhiệt độ lên men càng thấp các biến đổi hóa học xảy ra càng chậm. Dưới 15°C quá trình lên men hoàn toàn bị ngừng lại, sự lên men chỉ bắt đầu ở 15 - 20°C, ở nhiệt độ 30°C một số các sản phẩm hòa tan của quá trình lên men làm cho nước pha trà có màu đậm lên và nhiệt độ này cũng làm cho hương thơm của trà kém đi. Tác giả cho rằng nhiệt độ tối ưu đối với quá trình lên men là 25 - 26°C. Theo Hình 3 kết quả đánh giá cảm quan về màu, mùi, vị, cấu trúc và tổng thể của các mẫu trà ở các chế độ lên men khác nhau cho thấy mẫu F-T3H3 cho giá trị cảm quan tốt nhất, vì vậy chế độ nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  và thời gian 4 giờ được chọn cho công đoạn lên men trà.

### 3.2. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy dẻo

Nghen trà sau khi sao diệt men được tiến hành sấy dẻo, để cân bằng ẩm nhằm hỗ trợ cho công đoạn tạo hình cho ngọn chanh dây. Dưới tác dụng của khối trà chuyển động và tự ma sát vào nhau các tế bào trên búp trà tiếp tục phá vỡ, dịch bào sẽ ngấm ra ngoài và bám trên bề mặt của lá.

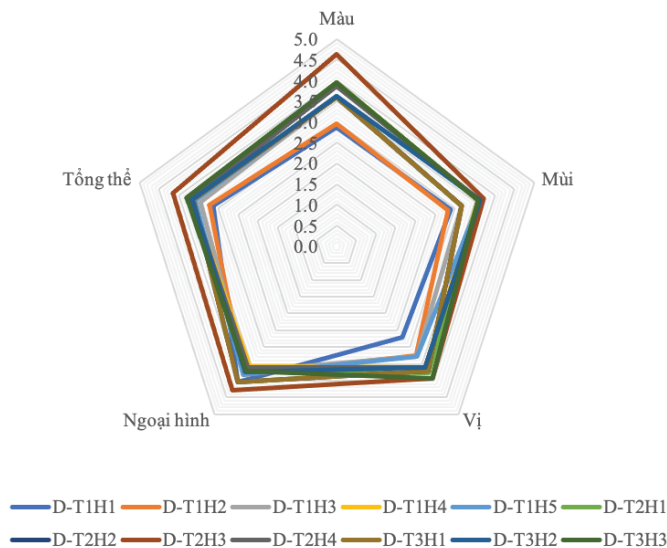


**Hình 4.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy dẻo đến hàm ẩm (W), đường khử (RS) và 2 polyphenol tổng (TPC).

Hình 4 cho thấy ở các chế độ nhiệt độ và thời gian khác nhau có sự thay đổi theo chiều hướng giảm dần về W, RS, và TPC của trà. Chỉ số W giảm từ 60,87% xuống còn 38,76%; ở công đoạn này W ảnh hưởng mật thiết đến chất lượng tạo hình thành phẩm, khi W nhỏ hơn 50% ngọn trà giòn cứng dễ bị vỡ vụn gây khó khăn cho

quá trình tạo hình, ở W lớn trong khoảng 50 - 60% quá trình này thuận lợi hơn và chất lượng thành phẩm tốt hơn. Ngoài ra, ở khoảng W này thì TPC giảm nhiều nhất là 23,57% so với đối chứng, ở W nhỏ hơn 50% thì TPC giảm trung bình là 27,38%. Hàm lượng RS dao động trong khoảng 1,22 - 2,02 mg/g.

Đánh giá cảm quan trà ở các nhiệt độ và thời gian sấy dẻo khác nhau



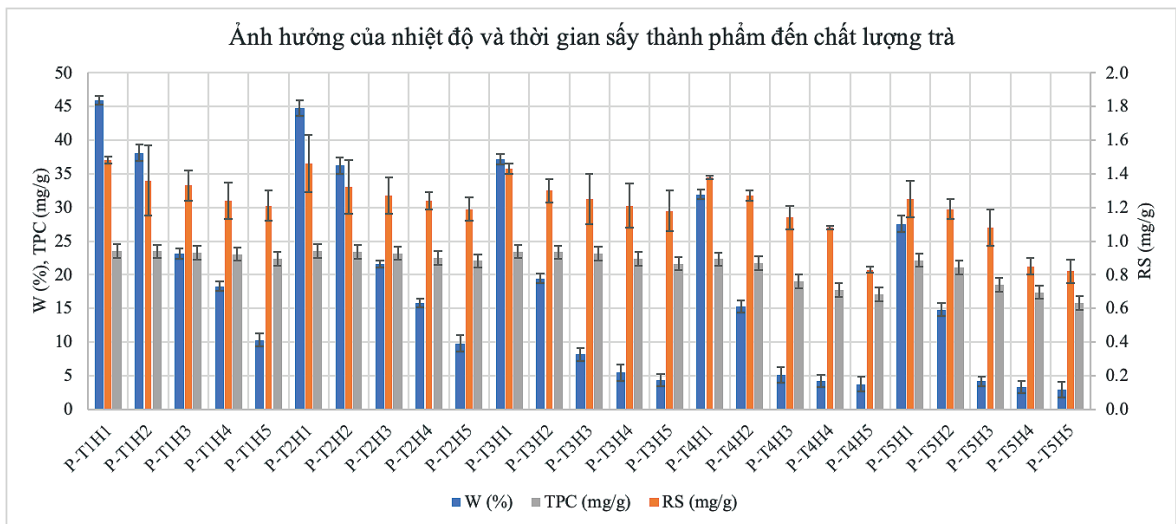
**Hình 5.** Đánh giá cảm quan các mẫu trà ở nhiệt độ và thời gian sấy dẻo khác nhau.

Hình 5 cho thấy nhiệt độ và thời gian sấy dẻo ảnh hưởng rõ rệt đến chất lượng cảm quan của sản phẩm, đặc biệt trong công đoạn tạo hình thành phẩm. Kết quả đánh giá cảm quan trên dành cho các mẫu có hàm ẩm trong khoảng 50 - 60%, vì các mẫu có hàm ẩm nhỏ hơn 50% khi tạo hình phần ngọn chanh dây và lá bị nát vụn, tạo hình xong chỉ còn những gọng thân. Các mẫu có hàm ẩm trong khoảng 50 - 60%, đạt cấu trúc thành phẩm của trà oolong, tuy nhiên có một điểm chung ở mẫu có độ ẩm còn cao 55 - 60%, khi định hình vo lại được thành viên trà, nhưng do hàm ẩm bên trong cao, nên khi sấy thành phẩm viên trà có xu hướng bị bung ra, phá vỡ

cấu trúc. Do đó, chế độ của mẫu D-T2H3, nhiệt độ  $50 \pm 2^\circ\text{C}$  ở thời gian 4 giờ được chọn cho hiệu quả tạo hình trà thành phẩm đạt yêu cầu và tốt nhất.

### 3.3. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy thành phẩm

Trong giai đoạn tạo hình, dưới tác dụng của khối trà chuyển động và tự ma sát vào nhau các tế bào trên búp trà tiếp tục bị phá vỡ, dịch bào sẽ ngấm ra ngoài và bám trên bề mặt của lá. Sấy thành phẩm giúp làm các chất này được cố định trên búp trà làm tăng hương vị của trà, ngoài ra còn làm giảm độ ẩm của trà để bảo quản.

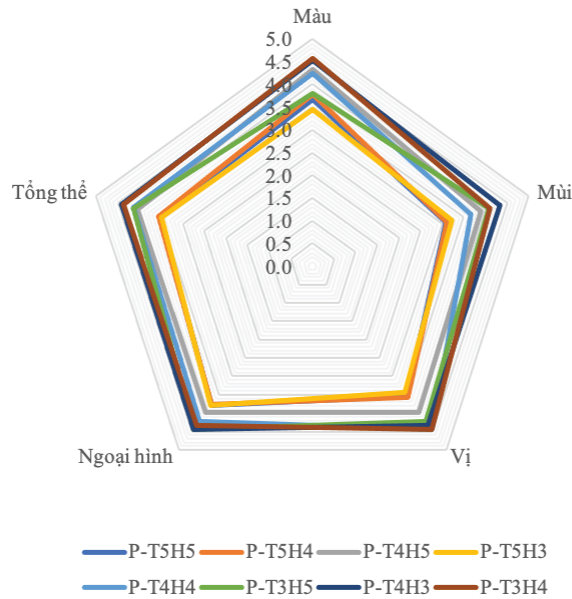


**Hình 6.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy thành phẩm đến hàm ẩm (W), đường khử (RS) và polyphenol tổng (TPC).

Sấy thành phẩm là công đoạn cuối cùng của quy trình, trà được sấy đến hàm ẩm bảo quản, ở Hình 6 sự biến động W khá rộng ở các chế độ sấy khác nhau, do đó chỉ những mẫu có W nhỏ hơn 7% được chọn để đánh giá cảm quan. Đối với giá trị RS của trà hàm lượng này làm nên hậu vị của trà, ở chế độ sấy đạt W trên thì RS mất đi

khá lớn tỷ lệ giảm trung bình so với đối chứng là 35,61% đồng thời màu của trà vàng sậm hơn và ở mẫu P-T3H4 có tỷ lệ giảm ít nhất (23,90%) so với đối chứng giá trị RS là 1,21 mg/g. Ngoài ra, tỷ lệ giảm trung bình của TPC so với đối chứng là 22,52% trong đó tỷ lệ giảm ít nhất (7,25%) vẫn là mẫu P-T3H4, hàm lượng TPC là 22,38 mg/g.

Đánh giá cảm quan trà ở các nhiệt độ và thời gian sấy thành phẩm khác nhau



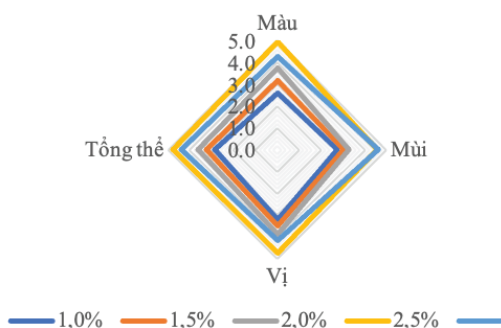
**Hình 7.** Đánh giá cảm quan các mẫu trà ở nhiệt độ và thời gian sấy thành phẩm khác nhau.

Kết quả đánh giá cảm quan Hình 7 cho thấy mẫu P-T4H3 và P-T3H4 có điểm cảm quan về màu, mùi, vị, cấu trúc và tổng thể không khác biệt nhiều tương ứng 4,57 & 4,53; 4,11 & 4,34; 4,45 & 4,33; 4,34 & 4,44; 4,37 & 4,41. Kết quả này cho thấy mẫu P-T3H4 được ưa thích hơn, điều này cũng phù hợp với các chỉ tiêu RS và TPC phân tích trên.

### 3.4. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ trà:nước và thời gian trích ly đến chất lượng cảm quan của nước trà

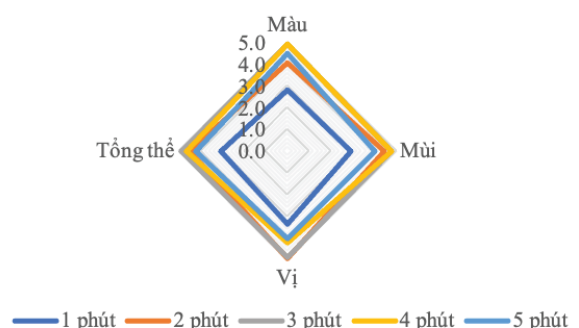
Khảo sát tỷ lệ trà:nước và thời gian trích ly nhằm đưa ra khuyến nghị về công thức pha trà trước khi sử dụng.

Đánh giá cảm quan trà ở các tỷ lệ trích ly trà:nước khác nhau



**Hình 8.** Đánh giá cảm quan trà ở các tỷ lệ trích ly trà: nước khác nhau.

Đánh giá cảm quan trà ở các thời gian trích ly khác nhau



**Hình 9.** Đánh giá cảm quan trà ở các thời gian trích ly khác nhau.

Theo Hình 8, ở tỷ lệ trà:nước 1,0% có màu, mùi, vị đều không đặc trưng cho sản phẩm oolong; ở tỷ lệ 1,5% và 2,0% thì điểm cảm quan ở mức trung bình trên thang 1 - 5; ở tỷ lệ 2,5% nước trà có màu vàng xanh, trong sáng, sánh, hấp dẫn, không cặn, mùi thơm hơi mạnh, bền hương, tương đối hài hòa, hấp dẫn, vị không chát, dịu hài hòa, hấp dẫn, tươi mát, rõ hậu ngọt đặc trưng. Tính chất cảm quan về màu nước, mùi, vị này cũng đạt được ở mẫu trà trích ly trong 3 phút (Hình 9). Còn ở tỷ lệ trích ly 3,0% và thời gian trích ly dài hơn thì màu nước trà sậm dần về nâu, mùi gắt và vị chát nhiều. Từ kết quả phân tích trên công thức pha chế được đề xuất là tỷ lệ trà:nước 2,5% thời gian pha trà 3 phút trước khi uống.

#### 4. Kết Luận

Nghiên cứu quy trình sản xuất trà oolong từ ngọn chanh dây được tiến hành theo các bước như sau: Ngọn chanh dây sau thu hoạch được trải qua giai đoạn héo nóng đến khi hàm ẩm đạt 75 - 77%, sau đó chuyển sang giai đoạn héo mát đạt độ ẩm 60 - 65%, thì tiến hành vò trà, công đoạn lên men được tiến hành ở nhiệt độ lên men  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  và thời gian 4 giờ, sau lên men trà được sao ở nhiệt độ  $150 - 200^\circ\text{C}$ , đạt hàm ẩm 60 - 63%, sấy dẻo và sấy thành phẩm được tiến hành ở nhiệt độ và thời gian tương ứng là  $50 \pm 2^\circ\text{C}$  trong 4 giờ và  $90 \pm 2^\circ\text{C}$  trong 4 giờ. Công thức pha trà được khuyến nghị khi sử dụng: Tỷ lệ trà:nước là 2,5% thời gian pha trà 3 phút ở nhiệt độ khoảng  $95^\circ\text{C}$ .

#### Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Chai, Z., Tian, L., Yu, H., Zhang, L., Zeng, Q., Wu, H., Yan, Z., Li, D., Hutabarat, R. P., & Huang, W. (2020). Comparison on chemical compositions and antioxidant capacities of the green, oolong, and red tea from blueberry leaves. *Food Science and Nutrition* 8(3), 1688-1699. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1455>.
- Chen, C. Y., Lee, R. J., Lee, V. S. Y., Dou, J., Preedy, V. R., Tzen, J. T. C., & Lee, M. R. (2012). Gallic acid in old Oolong tea. In Preedy, V. R. (Ed.). *Tea in health and disease prevention* (447-456). New York, USA: Elsevier.
- Elsas, S. M., Rossi, D. J., Raber, J., White, G., Seeley, C. A., Gregory, W. L., Mohr, C., Pfankuch, T., & Soumyanath, A. (2010). *Passiflora incarnata* L. (Passion flower) extracts elicit GABA currents in hippocampal neurons in vitro, and show anxiogenic and anticonvulsant effects in vivo, varying with extraction method. *Phytomedicine* 17(12), 940-949. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.03.002>.
- Khôtrôlava, I. A. (1985). *Tea processing techniques*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Ng, K. W., Cao, Z. J., Chen, H. B., Zhao, Z. Z., Zhu, L., & Yi, T. (2018). Oolong tea: A critical review of processing methods, chemical composition, health effects, and risk. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 58(17), 2957-2980. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1347556>.
- Rujanapun, N., Jaidee, W., Duangyod, T., Phuneerub, P., Paojumroom, N., Maneerat, T., Pringpuangkeo, C., Ramli, S., & Charoensup, R. (2022). Special Thai Oolong tea: Chemical profile and *in vitro* antidiabetic activities. *Frontiers in Pharmacology* 13, 797032. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.797032>.
- Salles, B. C. C., Leme, K. C., Silva, M. A. D., Rocha, C. Q. D., Tangerina, M. M. P., Vilegas, W., Figueiredo, S. A., Duarte, S. M. D. S., Rodrigues, M. R., & Paula, F. B. D. A. (2021). Protective effect of flavonoids from *passiflora edulis* sims on diabetic complications in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 73(10), 1361-1368. <https://doi.org/10.1093/jpp/rgab046>.
- Schotsmans, W. C., & Fischer, G. (2011). Passion fruit (*Passiflora edulis* Sim.). In Yahia, E. M. (Ed.). *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits* (125-142). Cambridge, UK: Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857092618.125>.
- Tasun, K., Ghose, P., & Ghen, K. (1970). Sugar



- determination of DNS method. *Biotechnology and Bioengineering* 12, 921.
- VS (Vietnam Standard). (2019). Standard No. TCVN 12713:2019 dated on December 31, 2019. Oolong tea - Basic requirements. Retrieved February 20, 2024, from <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+12713%3A2019>.
- Xu, B. J., & Chang, K. C. S. (2007). A Comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science* 72(2), 159-166. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00260.x>.
- Xu, B. J., & Chang, K. C. S. (2007). A Comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science* 72(2), 159-166. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00260.x>.

## Optimization of enzymatic-assisted extraction of polyphenol from cashew nut testa by using cellulase and pectinase

Huan T. Phan\*, Tuyen T. M. Dao, & Phuong T. Nguyen

Faculty of Chemical Engineering and Food Technology, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: May 12, 2024

Revised: June 03, 2024

Accepted: June 07, 2024

#### Keywords

Antioxidant activity

Cashew nut testa

Enzymatic-assisted extraction

Polyphenols

Response surface methodology

#### \*Corresponding author

Phan Tai Huan

Email:

pthuan@hcmuaf.edu.vn

### ABSTRACT

A significant amount of cashew nut testa is removed during the processing of cashew kernels, resulting in many negative environmental impacts. The objective of this study was to valorize the cashew nut testa by enzymatic-assisted extraction of polyphenol using a mixture of cellulase and pectinase. A central composite design was employed to analyze the effects of extraction temperature from 41.6°C to 58.4°C, extraction pH from pH 3.2 to pH 4.8, and enzyme concentration from 0.03% to 0.37% (v/w) on extraction efficiency. A second-order response surface model was constructed to elucidate the effects of these independent variables on the response values of total phenolic content (TPC) and free radical scavenging activities [2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) assays]. Regression analysis results showed that 91%, 88%, and 92% variations of the response variables of TPC, DPPH and ABTS scavenging activities can be explained by the models, respectively. Under optimal conditions, the predicted value for TPC was 164.26 (mg GAE/g DW), and the free radical scavenging activities according to DPPH and ABTS assays were 936.52 ( $\mu\text{mol TE/g DW}$ ) and 1591.47 ( $\mu\text{mol TE/g DW}$ ), respectively. The experimental results were consistent with the predicted values, demonstrating the suitability of the quadratic model and the success of the response surface method for optimizing the polyphenol extraction from cashew nut testa by using the enzyme mixture.

**Cited as:** Phan, H. T., Dao, T. T. M., & Nguyen, P. T. (2025). Optimization of enzymatic-assisted extraction of polyphenol from cashew nut testa by using cellulase and pectinase. *The Journal of Agriculture and Development* 23(5), 72-85.

Tối ưu hóa quá trình trích ly polyphenol từ vỏ lụa hạt điều với sự hỗ trợ của hỗn hợp enzyme cellulase và pectinase

Phan Tàì Huân\*, Đạo Thì Mộng Tuyền & Nguyễn Thì Phươg

Khoa Công Nghệ Hóa Học và Thực Phẩm, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 12/05/2024

Ngày chỉnh sửa: 03/06/2024

Ngày chấp nhận: 07/06/2024

Từ khóa

Hoạt tính kháng oxy hoá

Phương pháp bề mặt đáp ứng

Polyphenol

Trích ly hỗ trợ enzyme

Vỏ lụa hạt điều

\*Tác giả liên hệ

Phan Tàì Huân

Email: pthuan@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Một lượng lớn vỏ lụa hạt điều bị loại bỏ trong quá trình chế biến nhân hạt điều, gây nhiều tác động tiêu cực đến môi trường. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm nâng cao giá trị gia tăng cho vỏ lụa hạt điều bằng phương pháp chiết xuất dung dịch giàu polyphenol với sự hỗ trợ của hỗn hợp enzyme cellulase và pectinase. Phương pháp quy hoạch thực nghiệm kiểu thí nghiệm phối hợp có tâm được sử dụng để bố trí nghiên cứu nhiệt độ trích ly từ 41,6°C đến 58,4°C; pH trích ly từ pH 3,2 đến pH 4,8; nồng độ enzyme từ 0,03% đến 0,37% (v/w). Mô hình bề mặt đáp ứng bậc 2 được xây dựng để phân tích tác động của các yếu tố thí nghiệm đối với hàm lượng phenolic tổng (TPC), hoạt tính khử gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) và ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid). Kết quả phân tích hồi quy cho thấy 91%, 88% và 92% sự biến thiên dữ liệu tương ứng hàm mục tiêu TPC, khả năng khử gốc tự do DPPH và ABTS có thể được giải thích bởi các mô hình. Ở điều kiện tối ưu, giá trị dự đoán của TPC là 164,26 (mg GAE/g vật chất khô), năng khử gốc tự do DPPH và ABTS lần lượt là 936,52 (μmol TE/g vật chất khô) và 1591,47 (μmol TE/g vật chất khô). Kết quả thực nghiệm tương đồng với các giá trị dự đoán, cho thấy tính phù hợp của mô hình cũng như sự thành công của phương pháp bề mặt đáp ứng trong việc tối ưu hóa điều kiện trích ly polyphenol từ vỏ lụa hạt điều với hỗn hợp enzyme.

1. Đặt Vấn Đề

Hàng năm, Việt Nam sản xuất một lượng lớn hạt điều (*Anacardium occidentale* L.) dành cho tiêu thụ trong nước và xuất khẩu. Vỏ lụa hạt điều là lớp vỏ mỏng màu đỏ nâu, bao phủ bên ngoài nhân hạt, chiếm 1 - 3% tổng trọng lượng hạt điều (Sharma & ctv., 2020), và thường được loại bỏ trong quá trình chế biến. Hiện tại, vỏ lụa hạt điều được sử dụng chủ yếu làm thức ăn cho gia súc, phân bón sinh học, chất đốt hoặc thải bỏ ra môi trường (Hoang & ctv., 2022). Nghiên cứu trước

đây cho thấy vỏ lụa hạt điều chứa nhiều hợp chất phenolic có hoạt tính sinh học cao, bao gồm catechin, epicatechin, và epigallocatechin, nên có thể được ứng dụng trong chế biến thực phẩm hoặc thực phẩm chức năng (Phan & ctv., 2024). Vì vậy, việc nghiên cứu tận dụng phụ phẩm vỏ lụa hạt điều, một nguồn nguyên liệu phong phú và chi phí thấp, để chiết xuất dịch trích giàu các hợp chất polyphenol là một hướng đi đầy tiềm năng. Tuy nhiên, các phương pháp trích ly truyền thống thông dụng như chiết xuất Soxhlet

và ngâm chiết thường gặp phải nhược điểm về thời gian trích ly kéo dài cùng với nguy cơ gây ô nhiễm môi trường do rò rỉ hơi dung môi.

Về mặt sinh học, thành tế bào vỏ lụa hạt điều được cấu tạo bởi nhiều polysaccharide như cellulose, hemicellulose và pectin (Kaur & ctv., 2023; Anoopkumar & ctv., 2024), tạo ra một cấu trúc ngăn cản sự giải phóng các chất nội bào. Các hợp chất phenolic được bảo vệ bởi các chuỗi polysaccharide này thông qua các liên kết kỵ nước và liên kết hydro. Sử dụng hỗn hợp enzyme thủy phân carbohydrate như cellulase và pectinase trong quá trình trích ly đã được chứng minh là hiệu quả trong việc phá vỡ cấu trúc của thành tế bào, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình giải phóng các phân tử sinh học nội bào và tăng cường hiệu suất chiết xuất polyphenol (Gardossi & ctv., 2010). Ưu điểm của trích ly có sử dụng enzyme là tăng tốc độ chiết xuất và giảm lượng năng lượng tiêu thụ so với các phương pháp trích ly truyền thống không sử dụng enzyme (Puri & ctv., 2012).

Trong nhiều nghiên cứu, phương pháp bề mặt đáp ứng được sử dụng để làm giảm số lượng thí nghiệm cần thiết, nhưng đồng thời vẫn đảm bảo kết quả có ý nghĩa thống kê (Živković & ctv., 2018). Nhằm nâng cao giá trị gia tăng, giá trị sử dụng cho vỏ lụa hạt điều, nghiên cứu này được tiến hành nhằm tạo điều kiện tiền đề sản xuất các chế phẩm dịch trích giàu hợp chất phenolic có khả năng chống oxy hóa cao. Mục tiêu của nghiên cứu là tối ưu hóa quá trình trích ly polyphenol từ vỏ lụa hạt điều sử dụng hỗn hợp enzyme cellulase và pectinase bằng phương pháp bề mặt đáp ứng.

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

**Hóa chất:** 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) mua từ Alfa (Anh). 2,2-azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) và gallic acid cung cấp bởi Biobasic (Canada).

6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) đến từ Sigma-Aldrich (Hoa kỳ). Folin-Ciocalteu do Merck (Đức) cung cấp. Pectinex Ultra SP-L (pectinase  $\geq 3.800$  PGU/mL) và Celluclast 1,5 L (cellulases, 700 EGU/mL) đến từ Novozymes (Đan Mạch). Nước cất được tinh lọc từ hệ thống siêu lọc Milli-Q của Millipore (Hoa kỳ). Tất cả các hóa chất khác đều đạt chuẩn phân tích.

**Nguyên liệu:** Vỏ lụa hạt điều thô được cung cấp bởi công ty TNHH Kimmy Farm tại Thành phố Hồ Chí Minh. Vỏ lụa hạt điều sau đó được xử lý loại bỏ các tạp chất, bao gồm vỏ cứng, phần nhân hạt điều còn sót, cành khô, bụi đất cát,... Nguyên liệu vỏ lụa sau xử lý được nghiền bằng máy xay khô, rồi rây qua rây có kích thước lỗ 0,5 mm. Sau đó, bột vỏ lụa được đóng gói chân không trong các túi PE, và bảo quản lạnh ở nhiệt độ  $-4^{\circ}\text{C}$  để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

**Cách tiến hành:** Một lượng  $1,00 \pm 0,01$  g bột vỏ lụa hạt điều được cho vào bình erlen chứa nước cất làm dung môi trích ly. Dung dịch đệm sodium acetate được sử dụng để điều chỉnh độ pH. Trước khi thực hiện các thí nghiệm chính, một loạt các thí nghiệm sơ bộ đã được thực hiện giúp xác định điều kiện thí nghiệm và phạm vi tối ưu của các tham số cần nghiên cứu. Enzyme Celluclast 1,5 L và Pectinex Ultra SP-L được sử dụng ở tỷ lệ 1:1 (v/v). Quá trình trích ly enzyme diễn ra trong 60 phút và được thực hiện trong bể ổn định nhiệt (Memmert, Đức). Sau quá trình trích ly, hỗn hợp được đun nóng ở  $90^{\circ}\text{C}$  trong 5 phút để bất hoạt enzyme. Mẫu được ly tâm ở  $25^{\circ}\text{C}$  trong 10 phút ở tốc độ 5000 vòng/phút bằng máy ly tâm Universal 320R (Hettich, Đức), và phần dịch ly tâm phía trên được thu nhận để tiến hành các bước phân tích tiếp theo. Hiệu quả trích ly polyphenol được xác định dựa trên hàm lượng phenolic tổng và khả năng chống oxy hóa dựa trên khả năng khử gốc tự do DPPH và ABTS của dịch trích.

### **Phương pháp xác định hàm lượng phenolic tổng**

Hàm lượng phenolic tổng (TPC) được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu như đã được mô tả bởi Phan & ctv. (2022) với một số điều chỉnh nhỏ. Cụ thể, một thể tích 0,1 mL chiết xuất từ vỏ lụa hạt điều được cho phản ứng với 1,8 mL dung dịch Folin-Ciocalteu 10%. Dung dịch được lắc đều rồi ủ trong 5 phút. Sau đó, thêm vào 1,2 mL dung dịch natri cacbonat 15% và 6,9 mL nước cất. Sau 1 giờ ủ ở nhiệt độ phòng trong điều kiện bóng tối, độ hấp thụ được đo ở bước sóng 735 nm sử dụng máy quang phổ UV-VIS Jenway 7305 (Bibby Scientific, Anh quốc). Dung dịch gallic acid ở các nồng độ khác nhau được sử dụng để dựng đường chuẩn, và nước cất được sử dụng làm mẫu đối chứng. Thí nghiệm được thực hiện ba lần và kết quả được biểu thị dưới dạng miligram đương lượng gallic acid (GAE) trên một gram mẫu tính trên vật chất khô (mg GAE/g VCK).

### **Phương pháp xác định khả năng khử gốc tự do DPPH**

Khả năng khử gốc tự do DPPH của chiết xuất vỏ lụa hạt điều được thực hiện theo phương pháp của Phan & ctv. (2022). Một thể tích 0,1 mL chiết xuất vỏ lụa hạt điều được trộn lẫn với 0,9 mL ethanol và 4,0 mL dung dịch DPPH 0,1 mM. Sau khi lắc nhẹ, hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút trong bóng tối. Màu sắc hình thành được xác định bằng cách đo độ hấp thụ tại 517 nm sử dụng máy quang phổ UV-Vis Jenway 7305. Một mẫu đối chứng bằng nước cất được sử dụng, và đường chuẩn được xây dựng với các

nồng độ Trolox khác nhau. Kết quả được biểu thị dưới dạng micromole đương lượng Trolox (TE) trên mỗi gram mẫu theo vật chất khô ( $\mu\text{mol TE/g VCK}$ ).

### **Phương pháp xác định khả năng khử gốc tự do ABTS**

Khả năng khử gốc tự do ABTS của chiết xuất vỏ lụa hạt điều được thực hiện theo phương pháp mô tả bởi Nguyen & Phan (2023) với một số hiệu chỉnh. Cụ thể, một lượng 0,1 mL chiết xuất vỏ lụa hạt điều được trộn với 3,0 mL dung dịch ABTS và 0,9 mL ethanol. Hỗn hợp được lắc nhẹ và ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút ở điều kiện bóng tối. Xác định độ hấp thụ quang của dung dịch mẫu tại bước sóng 734 nm sử dụng máy quang phổ Jenway 7305. Các nồng độ Trolox khác nhau được sử dụng để dựng đường chuẩn, và nước cất được sử dụng làm mẫu đối chứng. Thí nghiệm được lặp lại ba lần và kết quả được biểu thị theo hoạt tính khử gốc tự do ABTS tính bằng micromole đương lượng Trolox (TE) trên mỗi gram mẫu theo vật chất khô ( $\mu\text{mol TE/g VCK}$ ).

### **Tối ưu quá trình trích ly:**

Phương pháp quy hoạch thực nghiệm kiểu thí nghiệm phối hợp có tâm (central composite design - CCD) được sử dụng để bố trí thí nghiệm tối ưu hóa quá trình trích ly. Số liệu được xử lý bằng phần mềm JMP 10. Mối quan hệ giữa các yếu tố khảo sát và hàm mục tiêu được thể hiện dưới dạng bề mặt đáp ứng. Các yếu tố trong thí nghiệm này là nhiệt độ trích ly ( $X_1$ ), pH trích ly ( $X_2$ ), nồng độ enzyme ( $X_3$ ) theo 5 mức được thể hiện cụ thể trong Bảng 1.

**Bảng 1.** Các mức của yếu tố trong thí nghiệm tối ưu hóa

| Biến thực      | Biến mã hóa    | Đơn vị  | Mức và mã hóa mức của biến |           |          |           |               |
|----------------|----------------|---------|----------------------------|-----------|----------|-----------|---------------|
|                |                |         | a<br>(-1.682)              | -<br>(-1) | 0<br>(0) | +<br>(+1) | A<br>(+1.682) |
| Nhiệt độ       | X <sub>1</sub> | °C      | 41,6                       | 45        | 50       | 55        | 58,4          |
| pH             | X <sub>2</sub> |         | 3,2                        | 3,5       | 4,0      | 4,5       | 4,8           |
| Nồng độ enzyme | X <sub>3</sub> | % (v/w) | 0,03                       | 0,1       | 0,2      | 0,3       | 0,37          |

Phương trình hồi quy được xây dựng để xác định ảnh hưởng của 3 yếu tố X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> đến hàm mục tiêu (chỉ tiêu theo dõi) là một đa thức bậc hai có dạng như Phương trình 1.

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 \quad (1)$$

Chỉ tiêu theo dõi là hàm lượng phenolic tổng Y<sub>1</sub> (mg GAE/g VCK), hoạt tính khử gốc tự do DPPH Y<sub>2</sub> (μmol TE/g VCK), hoạt tính khử gốc tự do ABTS Y<sub>3</sub> (μmol TE/g VCK).

### 3. Kết Quả và Thảo Luận

#### 3.1. Đánh giá kết quả mô hình

Phương pháp bề mặt đáp ứng sử dụng các kỹ thuật toán học và thống kê để tối ưu hóa các thông số thực nghiệm trong khi giảm thiểu số đơn vị thí nghiệm cần thiết nhưng vẫn đạt hiệu quả cao. Bảng 2 thể hiện kết quả đánh giá 17 nghiệm thức theo mô hình bề mặt đáp ứng đối với các chỉ tiêu theo dõi là hàm lượng phenolic tổng TPC, khả năng khử gốc tự do DPPH và ABTS của dịch trích.

Trong số các nghiệm thức, hàm lượng phenolic tổng của dịch trích giao động từ 139,56 (mg GAE/g VCK) đến 165,48 (mg GAE/g VCK). Trong khi dịch trích có hoạt tính khử gốc tự do DPPH giao động trong từ 688,85 (μmol TE/g VCK) đến 947,93 (μmol TE/g VCK); và đối với ABTS thì giao động trong khoảng 1004,42 (μmol TE/g VCK) và 1604,9 (μmol TE/g VCK). Sự tương thích của kết quả thí nghiệm đối với mô hình bậc 2 (theo Phương trình 1) được đánh giá bằng phân tích phương sai (ANOVA) sử dụng phép thử kiểm định Fisher (F-test), và được thể hiện trong Bảng 3. Bên cạnh đó, Hình 1 được sử dụng để thể hiện sự tương quan giữa các giá trị dự đoán (Predicted) và kết quả thực nghiệm (Actual) của các chỉ tiêu theo dõi trong 17 nghiệm thức của thiết kế thí nghiệm bề mặt đáp ứng đã thực hiện.



**Bảng 2.** Kết quả thực nghiệm theo mô hình bề mặt đáp ứng

| STT | Mã hoá | Giá trị thực của yếu tố |           |          | Y <sub>1</sub> , TPC<br>(mg GAE/g<br>VCK) | Y <sub>2</sub> , DPPH<br>( $\mu$ mol TE/g<br>VCK) | Y <sub>3</sub> , ABTS<br>( $\mu$ mol TE/g<br>VCK) |
|-----|--------|-------------------------|-----------|----------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|     |        | Nhiệt<br>độ             | -<br>(-1) | 0<br>(0) |                                           |                                                   |                                                   |
| 1   | 00a    | 50,0                    | 4,0       | 0,03     | 139,56                                    | 688,85                                            | 1004,42                                           |
| 2   | a00    | 41,6                    | 4,0       | 0,20     | 154,55                                    | 793,93                                            | 1345,91                                           |
| 3   | 0a0    | 50,0                    | 3,2       | 0,20     | 155,39                                    | 791,58                                            | 1308,86                                           |
| 4   | --+    | 45,0                    | 3,5       | 0,30     | 156,15                                    | 792,18                                            | 1423,86                                           |
| 5   | 000    | 50,0                    | 4,0       | 0,20     | 165,48                                    | 925,52                                            | 1597,24                                           |
| 6   | 00A    | 50,0                    | 4,0       | 0,37     | 146,1                                     | 688,93                                            | 1302,2                                            |
| 7   | +++    | 55,0                    | 4,5       | 0,30     | 155,7                                     | 843,71                                            | 1398,31                                           |
| 8   | 000    | 50,0                    | 4,0       | 0,20     | 164,54                                    | 926,25                                            | 1604,9                                            |
| 9   | -++    | 45,0                    | 4,5       | 0,30     | 163,25                                    | 895,67                                            | 1312,2                                            |
| 10  | ++-    | 55,0                    | 4,5       | 0,10     | 148,71                                    | 749,26                                            | 1242,1                                            |
| 11  | ---    | 45,0                    | 3,5       | 0,10     | 149,4                                     | 755,45                                            | 1366,34                                           |
| 12  | A00    | 58,4                    | 4,0       | 0,20     | 150,52                                    | 719,41                                            | 1333,88                                           |
| 13  | 0A0    | 50,0                    | 4,8       | 0,20     | 152,22                                    | 779,69                                            | 1394,99                                           |
| 14  | -+-    | 45,0                    | 4,5       | 0,10     | 146,62                                    | 726,63                                            | 1324,29                                           |
| 15  | +--    | 55,0                    | 3,5       | 0,10     | 148,64                                    | 712,74                                            | 1202,19                                           |
| 16  | 000    | 50,0                    | 4,0       | 0,20     | 161,24                                    | 947,93                                            | 1562,23                                           |
| 17  | +--+   | 55,0                    | 3,5       | 0,30     | 149,47                                    | 716,08                                            | 1314,7                                            |

\*TPC: total phenolic content; DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; ABTS: 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid.

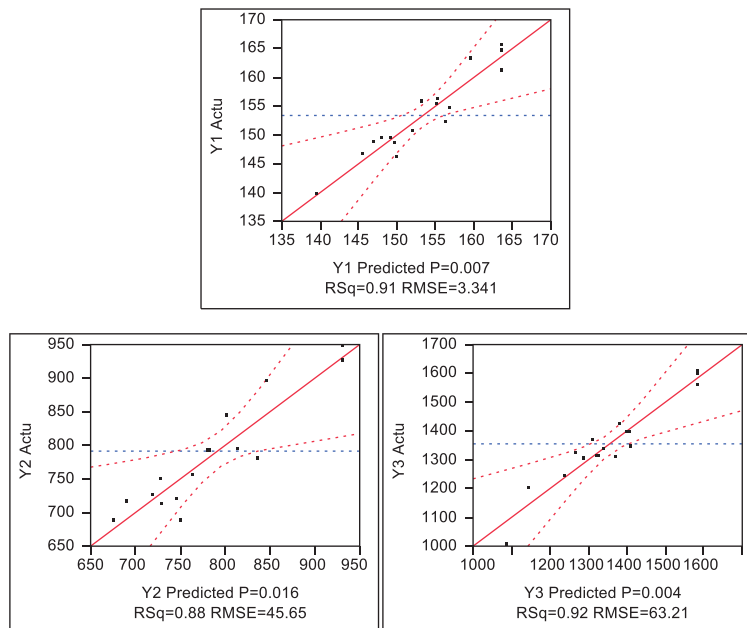
**Bảng 3.** Kết quả phân tích ANOVA đối với phương trình bậc 2 tối ưu các thông số trích ly

| Nguồn       | TPC ( $R^2 = 0,9050$ ) |        |       |      |        | DPPH ( $R^2 = 0,8782$ ) |           |         |       |        | DPPH ( $R^2 = 0,8782$ ) |           |         |       |        |
|-------------|------------------------|--------|-------|------|--------|-------------------------|-----------|---------|-------|--------|-------------------------|-----------|---------|-------|--------|
|             | DF                     | SS     | MS    | F    | P      | DF                      | SS        | MS      | F     | P      | DF                      | SS        | MS      | F     | P      |
| Model       | 9                      | 745,07 | 82,79 | 7,41 | 0,0075 | 9                       | 105160,48 | 11684,5 | 5,61  | 0,0166 | 9                       | 313296,08 | 34810,7 | 8,72  | 0,0047 |
| Lack of fit | 5                      | 68,25  | 13,65 | 2,75 | 0,2876 | 5                       | 14265,34  | 2853,07 | 17,60 | 0,0546 | 5                       | 26935,97  | 5387,19 | 10,41 | 0,0900 |
| Pure error  | 2                      | 9,92   | 4,96  |      |        | 2                       | 324,25    | 162,13  |       |        | 2                       | 1035,04   | 517,52  |       |        |

\*TPC: total phenolic content; DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; ABTS: 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid; DF: Bậc tự do; SS: Tổng bình phương; MS: Trung bình bình phương; F: Giá trị thống kê F.

Kết quả phân tích ANOVA cho thấy phương trình hồi quy bậc hai phù hợp dữ liệu thực nghiệm với hệ số tương quan  $R^2$  cao. Theo Wang & ctv. (2019), một mô hình được cho là phù hợp với các giá trị thực nghiệm khi giá trị của hệ số xác định tương quan  $R^2$  ít nhất phải đạt 0,75. Trong nghiên cứu này với  $R^2$  lần lượt là 0,91; 0,88 và 0,92 cho thấy có 91%; 88% và 92% sự biến thiên dữ liệu tương ứng hàm mục tiêu TPC, và khả năng khử gốc tự do DPPH và ABTS được giải thích bởi các mô hình (Myers &

Montgomery, 2002). Hơn nữa, kết quả phân tích ANOVA cho thấy rằng các phương trình hồi quy có ý nghĩa thống kê cao với  $P < 0,01$ , đồng thời sự không phù hợp (Lack of fit) đều không thể hiện có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ) trong cả ba mô hình. Điều này khẳng định rằng các mô hình hồi quy bậc hai được lựa chọn có đủ độ chính xác để dự đoán tác động của các yếu tố thí nghiệm, bao gồm nhiệt độ, pH và nồng độ enzyme, đối với hàm lượng phenolic tổng cũng như khả năng khử gốc tự do DPPH và ABTS của dịch trích.



**Hình 1.** Biểu đồ tương quan giá trị thực nghiệm (Actual) và dự đoán (Predicted) đối với chỉ tiêu theo hàm lượng phenolic tổng - TPC ( $Y_1$ ), khả năng khử gốc DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ( $Y_2$ ), khả năng khử gốc ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ( $Y_3$ ).

### 3.2. Phân tích bề mặt đáp ứng với hàm lượng phenolic tổng

Bảng 4 thể hiện tác động cụ thể của các tham số chiết xuất như nhiệt độ ( $X_1$ ), pH ( $X_2$ ) và nồng độ enzyme ( $X_3$ ) đến quá trình trích ly polyphenol từ vỏ lụa hạt điều thể hiện qua chỉ tiêu theo dõi

là hàm lượng phenolic tổng TPC ( $Y_1$ ), hoạt tính khử gốc tự do DPPH ( $Y_2$ ) và ABTS ( $Y_3$ ). Tính quan trọng của mỗi hệ số trong Phương trình 1 đối với từng chỉ tiêu theo dõi được xác định bằng giá trị p. Giá trị p càng nhỏ, thì hệ số tương ứng càng quan trọng.

**Bảng 4.** Các hệ số hồi quy của phương trình bậc hai và các giá trị p tương ứng với các chỉ tiêu theo dõi

| Thông số  | TPC ( $Y_1$ ) |           | DPPH ( $Y_2$ ) |           | ABTS ( $Y_3$ ) |           |
|-----------|---------------|-----------|----------------|-----------|----------------|-----------|
|           | Hệ số hồi quy | P         | Hệ số hồi quy  | P         | Hệ số hồi quy  | P         |
| Hằng số   | 163,536       | < 0,0001* | 930,544        | < 0,0001* | 1584,264       | < 0,0001* |
| Bậc 1     |               |           |                |           |                |           |
| $X_1$     | -1,441        | 0,1551    | -20,024        | 0,1491    | -21,207        | 0,2550    |
| $X_2$     | 0,387         | 0,6813    | 16,0230        | 0,2357    | 8,396          | 0,6386    |
| $X_3$     | 3,090         | 0,0112*   | 22,238         | 0,1149    | 59,674         | 0,0101*   |
| Tương tác |               |           |                |           |                |           |
| $X_1.X_2$ | 0,248         | 0,8400    | 11,185         | 0,5107    | 34,654         | 0,1649    |
| $X_1.X_3$ | -1,945        | 0,1437    | -13,498        | 0,4306    | 27,911         | 0,2519    |
| $X_2.X_3$ | 2,005         | 0,1335    | 27,928         | 0,1272    | -3,239         | 0,8889    |
| Bậc hai   |               |           |                |           |                |           |
| $X_1^2$   | -3,218        | 0,0144*   | -53,161        | 0,0058*   | -74,469        | 0,0055*   |
| $X_2^2$   | -2,769        | 0,0272*   | -42,920        | 0,0160*   | -70,216        | 0,0074*   |
| $X_3^2$   | -6,649        | 0,0003*   | -77,124        | 0,0008*   | -140,437       | 0,0001*   |

Ghi chú: \* thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ); TPC: total phenolic content; DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; ABTS: 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid.

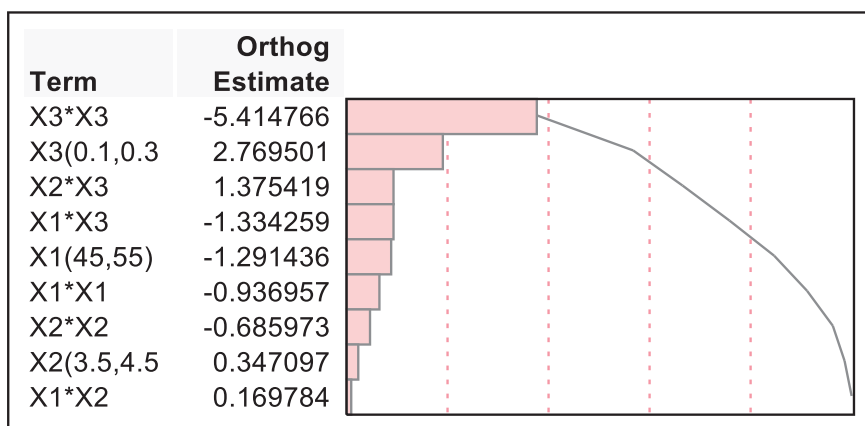
Kết quả cho thấy trong ba giá trị bậc một chỉ có yếu tố nồng độ enzyme ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm mục tiêu  $Y_1$  ( $P < 0,05$ ). Các cặp tương tác ảnh hưởng không có ý nghĩa đến hàm mục tiêu  $Y_1$ . Các giá trị bậc hai của nhiệt độ, pH và nồng độ enzyme đều ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm mục tiêu.

$$Y_1 = 163,536 + 3,090X_3 - 3,218X_1^2 - 2,769X_2^2 - 6,649X_3^2 \quad (2)$$

Kết quả phân tích Pareto (Hình 2) cũng đã khẳng định nồng độ enzyme ( $X_3$ ) là yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến hàm lượng phenolic tổng của dịch trích, tiếp đến là nhiệt độ trích ly và sau cùng là pH có ít ảnh hưởng nhất.

Phương trình hồi quy theo mã (coded) ba yếu tố ( $X_1, X_2, X_3$ ) của hàm mục tiêu theo hàm lượng phenolic tổng ( $Y_1$ ) đối với mô hình tối ưu đã chọn có dạng như Phương trình 2.

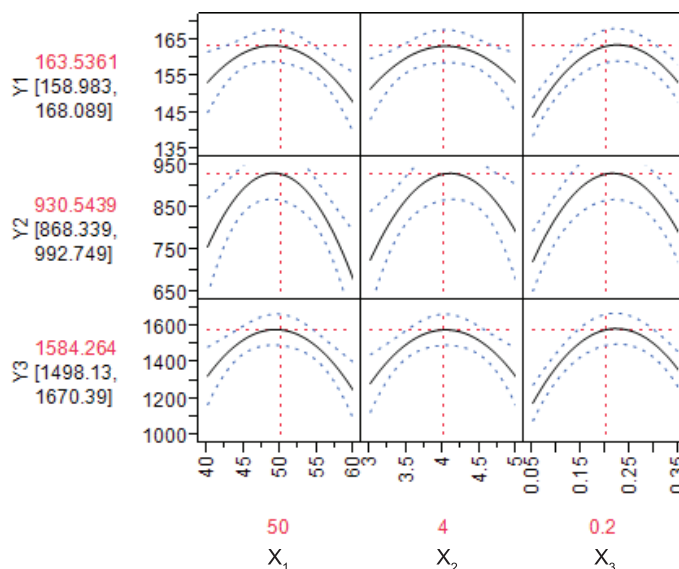
Chiều hướng tác động của các yếu tố khảo sát đến hàm lượng phenolic tổng được thể hiện ở Hình 3. Các yếu tố khảo sát đều ảnh hưởng đến hàm lượng phenolic tổng theo đường cong. Như được thể hiện trong phương trình hồi quy Phương trình 2, cả ba yếu tố khảo sát đều ảnh hưởng ở hàm bậc hai.



**Hình 2.** Mức độ ảnh hưởng của 3 yếu tố khảo sát độ trích ly ( $X_1$ ), pH trích ly ( $X_2$ ) và nồng độ enzyme ( $X_3$ ) đến chỉ tiêu hàm lượng phenolic tổng.

Ở Hình 3 cho thấy khi nhiệt độ tăng lên gần khoảng 50°C, hàm lượng phenolic tổng của dịch trích cũng tăng theo và đạt mức cao nhất. Sự biến đổi của hàm lượng phenolic tổng theo nhiệt độ có thể được giải thích là do độ hòa tan của các hợp chất phenolic chiết xuất tăng theo nhiệt độ (Cacace & Mazza, 2022). Ngoài ra, nhiệt độ tăng giúp giảm độ nhớt của dung môi làm tăng quá trình truyền khối nên tăng hiệu quả trích ly polyphenol (Dai & Mumper, 2010). Tuy nhiên

khi nhiệt độ tiếp tục tăng cao thì hàm lượng phenolic tổng trích ly bị giảm. Tốc độ trích ly chỉ tăng đến một giới hạn nhiệt độ nhất định trong khoảng nhiệt độ tối ưu. Khi nhiệt độ tăng cao quá mức sẽ làm giảm khả năng xúc tác của enzyme và thậm chí gây bất hoạt enzyme. Ngoài ra khi tăng nhiệt độ trích ly, các hợp chất phenolic trong nguyên liệu có khả năng bị phân hủy do các phản ứng thủy phân, oxy hóa nội tại và polymer hóa (Fernández de Simón & ctv., 1990).



**Hình 3.** . Chiều hướng tác động của yếu tố khảo sát nhiệt độ trích ly ( $X_1$ ), pH trích ly ( $X_2$ ) và nồng độ enzyme ( $X_3$ ) đến chỉ tiêu theo dõi hàm lượng phenolic tổng ( $Y_1$ ), hoạt tính khử gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ( $Y_2$ ) và ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ( $Y_3$ ).

Theo Munde & ctv. (2017), mỗi loại enzyme sẽ có một khoảng pH tối ưu nhất định. Nếu pH trích ly nằm ngoài khoảng tối ưu sẽ có thể làm cho enzyme bị biến tính, dẫn đến enzyme ít tương tác với cơ chất, từ đó làm giảm hiệu suất trích ly. Các enzyme Pectinex Ultra SP-L and Celluclast 1,5 L có khoảng pH hoạt động tối ưu khá tương đồng nhau (Lim & ctv., 2024). Hình 3 cho thấy, nếu pH trích ly tăng đến pH 4 thì hàm lượng polyphenol trong dịch trích đạt cao nhất, và sau mức này sẽ giảm dần khi pH tiếp tục tăng. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Tran & ctv. (2021) trong việc kết hợp enzyme cellulase và pectinase để tăng khả năng trích ly các hợp chất polyphenol từ vỏ và thịt quả cà phê.

Ngoài ra kết quả còn cho thấy hàm lượng phenolic tổng tăng khi tăng dần nồng độ hỗn hợp enzyme đến mức khoảng 0,2%. Tuy nhiên khi tiếp tục tăng nồng độ enzyme hàm lượng phenolic tổng sẽ giảm. Kết quả này có xu hướng

tương đồng với nghiên cứu trích ly phenolic từ bã nho của Drevelegka & Goula (2020), nguyên nhân có thể là do sự giống nhau giữa bản chất của nguyên liệu và enzyme. Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy rằng vận tốc phản ứng tăng lên khi nồng độ enzyme tăng nhưng khi nồng độ enzyme bão hòa với nồng độ cơ chất, vận tốc phản ứng không thay đổi hoặc không tăng thêm khi tiếp tục tăng nồng độ enzyme (Nguyen & ctv., 2011).

### 3.3. Phân tích bề mặt đáp ứng với hoạt tính chống oxy hóa

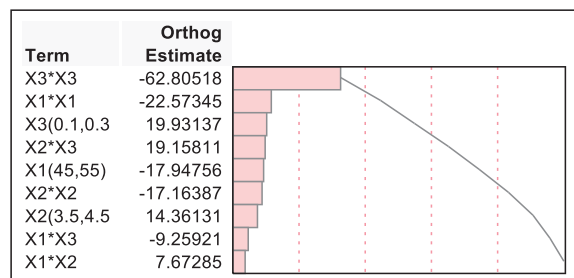
Ảnh hưởng của các yếu tố thí nghiệm đến hoạt tính chống oxy hóa thông qua đánh giá hoạt tính khử gốc tự do được thể hiện trong Bảng 4 và Hình 4. Từ mức ý nghĩa của các hệ số hồi quy, Phương trình 3 và 4 được thiết lập thể hiện mức độ ảnh hưởng và sự tương tác của các yếu tố khảo sát ( $X_1$ ,  $X_2$  và  $X_3$ ) đến hoạt tính khử gốc tự do DPPH ( $Y_2$ ) và ABTS ( $Y_3$ ).

$$Y_2 = 930,544 - 53,161X_1^2 - 42,92X_2^2 - 77,124X_3^2 \quad (3)$$

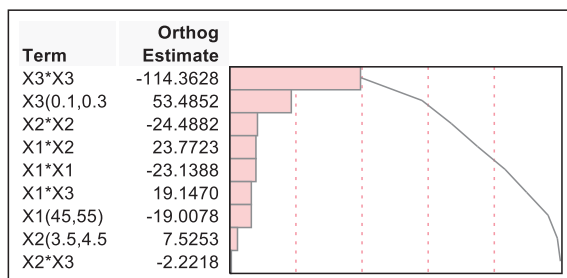
$$Y_3 = 1584,264 + 59,674X_3 - 74,469X_1^2 - 70,216X_2^2 - 140,437X_3^2 \quad (4)$$

Đối với yếu tố bậc 1 khả năng khử gốc tự do ABTS chịu ảnh hưởng bởi yếu tố nồng độ enzyme ( $P < 0,05$ ) với sự tương tác dương, nghĩa là khi gia tăng nồng độ enzyme sẽ tăng hoạt tính chống oxy hóa tăng. Sự tương tác giữa yếu tố không có tác động có ý nghĩa đến khả năng chống oxy

hóa. Bậc hai của cả ba yếu tố đều có ảnh hưởng ý nghĩa đến hàm mục tiêu ( $P < 0,05$ ). Các yếu tố ở bậc hai này tương quan với hoạt tính chống oxy hóa theo chiều ngược, tức khi có sự tăng của các yếu tố này thì hoạt tính khử gốc tự do DPPH và ABTS sẽ giảm và ngược lại.



(A)



(B)

**Hình 4.** Mức độ ảnh hưởng của 3 yếu tố khảo sát độ trích ly ( $X_1$ ), pH trích ly ( $X_2$ ) và nồng độ enzyme ( $X_3$ ) đến chỉ tiêu hoạt tính khử gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (A) và ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (B).

Chiều hướng tác động của các yếu tố khảo sát đến hoạt tính khử gốc tự do DPPH và ABTS được thể hiện trong Hình 3. Các ảnh hưởng này đều thể hiện theo đường cong, tương thích với phương trình hồi quy bậc hai. Khi nhiệt độ tăng lên 50°C thì khả năng khử gốc tự do DPPH và ABTS của dịch trích cũng tăng và đạt mức cao nhất. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ trích ly tăng vượt quá 50°C thì hoạt tính chống oxy hóa bắt đầu xu hướng giảm. Điều này được lý giải là do hoạt tính chống oxy hóa phụ thuộc vào độ tăng giảm hàm lượng hợp chất phenolic theo nhiệt độ. Bên cạnh đó hoạt tính của các hợp chất phenolic rất nhạy cảm với nhiệt độ cao (Nguyen & Phan, 2023).

Với xu hướng tương tự, khi pH tăng thì hoạt tính khử gốc tự do DPPH và ABTS cũng tăng và đạt giá trị lớn nhất tại pH 4. Sau mức pH này hoạt tính chống oxy hóa giảm dần. Kết quả cũng cho thấy hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH và ABTS tăng lên mức cao nhất ở vùng nồng độ enzyme 0,2%. Theo Munde & ctv. (2017) khi tăng nồng độ enzyme đến mức độ nhất định thì

sẽ bão hòa với nồng độ cơ chất trong môi trường, từ đó lượng sản phẩm tạo thành sẽ không thay đổi hoặc giảm xuống do ảnh hưởng của tác nhân oxy hóa trong môi trường trích ly. Phan & ctv. (2018) đã báo cáo rằng chất phenolic là yếu tố chính góp phần tạo nên khả năng chống oxy hóa của nguyên liệu thực vật.

### 3.4. Tối ưu hóa quá trình trích ly

Trên cơ sở mô hình bậc 2 đã xây dựng được, kết quả tối ưu hóa theo hàm lượng phenolic tổng đạt được tại các điều kiện tối ưu nhiệt độ 48,5°C, pH 4,1 và nồng độ enzyme 0,23% (v/w) là 164,26 (mg GAE/g VCK). Trong khi đó hoạt tính khử gốc tự do DPPH của dịch trích polyphenol theo mô hình tối ưu là 936,52 ( $\mu\text{mol TE/g VCK}$ ) đạt được tại các điều kiện nhiệt độ 49,1°C, pH 4,1 và nồng độ enzyme 0,22% (v/w). Và tại các điều kiện tối ưu nhiệt độ 49,5°C, pH trích ly 4,0 và nồng độ enzyme 0,22% (v/w) thì hoạt tính khử gốc tự do ABTS của dịch trích ước tính đạt được cao nhất là 1591,47 ( $\mu\text{mol TE/g VCK}$ ).



**Bảng 5.** Các thông số tối ưu của quá trình trích ly polyphenol từ vỏ lụa hạt điều theo mô hình tối ưu và thực nghiệm

|                     | Yếu tố khảo sát |     |                      | Chỉ tiêu theo dõi  |                      |                      |
|---------------------|-----------------|-----|----------------------|--------------------|----------------------|----------------------|
|                     | Nhiệt độ (°C)   | pH  | Nồng độ enzyme (v/w) | TPC (mg GAE/g VCK) | DPPH (μmol TE/g VCK) | ABTS (μmol TE/g VCK) |
| Giá trị dự đoán     | 48,5            | 4,1 | 0,23                 | 164,26             | 936,52               | 1591,47              |
|                     | 49,1            | 4,1 | 0,22                 |                    |                      |                      |
|                     | 49,5            | 4,0 | 0,22                 |                    |                      |                      |
| Giá trị thực nghiệm | 49,0            | 4,0 | 0,22                 | 165,03 ± 1,17      | 898,63 ± 25,56       | 1597,24 ± 22,5       |
| Sai số tương đối    |                 |     |                      | 0,47 %             | 4,05 %               | 0,36 %               |

\*TPC: total phenolic content; DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; ABTS: 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid

Từ kết quả dự đoán của mô hình, thực hiện kiểm chứng thực tế với các thông số trích ly được tinh chọn phù hợp. Kết quả thể hiện như trong Bảng 5. Có thể kết luận rằng hàm lượng phenolic tổng TPC, hoạt tính khử gốc tự do DPPH và hoạt tính khử gốc tự do ABTS thu được từ thực nghiệm khác biệt không có ý nghĩa với kết quả lý thuyết tính toán từ mô hình (chênh lệch không quá 5%). Điều đó cho thấy mô hình bề mặt đáp ứng được xây dựng có tính chính xác cao và có thể sử dụng để mô phỏng kết quả của quá trình trích ly vỏ lụa hạt điều.

#### Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn giữa các tác giả

#### Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Bộ Giáo Dục & Đào Tạo trong khuôn khổ đề tài mã số B2022 – NLS - 02

#### 4. Kết Luận

Phương pháp quy hoạch thực nghiệm bề mặt đáp ứng đã được sử dụng thành công để tối ưu hóa quá trình trích ly polyphenol từ vỏ lụa hạt điều có sự hỗ trợ của hỗn hợp hai loại enzyme là cellulase và pectinase. Điều kiện trích ly tối ưu được xác định tại nhiệt độ 49°C, pH 4, nồng độ enzyme 0,2% (v/w). Ở điều kiện tối ưu hóa, các giá trị thực nghiệm tương thích với các giá trị được dự đoán từ mô hình bậc hai. Dịch trích vỏ lụa hạt điều đạt được hàm lượng phenolic tổng ở mức 165,03 (mg GAE/g VCK), hoạt tính khử gốc tự do DPPH là 898,63 (μmol TE/g VCK) và hoạt tính khử gốc tự do ABTS là 1597,24 (μmol TE/g VCK). Kết quả nghiên cứu của đề tài là cơ sở để phát triển các chế phẩm giàu polyphenol nhằm nâng cao giá trị gia tăng cho các nguyên liệu phụ phẩm từ thực vật.

## Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Anoopkumar, A. N., Gopinath, C., Annadurai, S., Abdullah, S., Tarafdar, A., Hazeena, S. H., Rajasekharan, R., Kuriakose, L. L., Aneesh, E. M., de Souza Vandenberghe, L. P., de Carvalho, J. C., Soccol, C. R., Binod, P., Madhavan, A., & Sindhu, R. (2024). Biotechnological valorisation of cashew apple: Prospects and challenges in synthesising wide spectrum of products with market value. *Bioresource Technology Reports* 25. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101742>.
- Cacace, J. E., & Mazza, G. (2002). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering* 59(4), 379-389. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00497-1](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00497-1).
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15(10), 7313-7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>.
- Drevellegka, I., & Goula, A. M. (2020). Recovery of grape pomace phenolic compounds through optimized extraction and adsorption processes. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification* 149. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.107845>.
- Fernández de Simón B., Pérez-Ilzarbe J., Hernández T., Gómez-Cordovés C., & Estrella I. (1990). HPLC study of the efficiency of extraction of phenolic compounds. *Chromatographia* 30 (1-2), 35-37. <https://doi.org/10.1007/BF02270445>.
- Gardossi, L., Poulsen, P. B., Ballesteros, A., Hult, K., Švedas, V. K., Vasić-Rački, Đ., Carrea, G., Magnusson, A., Schmid, A., Wohlgemuth, R., & Halling, P. J. (2010). Guidelines for reporting of biocatalytic reactions. *Trends in Biotechnology* 28(4), 171-180. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.01.001>.
- Hoang, T. V., Nguyen, H. X., Nguyen, D. H., La, T. T., & Pham, H. V. (2023). Effect of hydrolyzation conditions on extraction capacity of catechin of cashew nut testa with the support of enzyme Viscozyme L and Pectinex Ultra-L products. *Journal of Science Technology and Food – Ho Chi Minh City University of Food Industry* 23 (1), 40-48. [https://doi.org/10.62985/j.huit\\_ojs.vol23.no1.31](https://doi.org/10.62985/j.huit_ojs.vol23.no1.31).
- Kaur, R., Tarun Kumar, V., Krishna, B. B., & Bhaskar, T. (2023). Characterization of slow pyrolysis products from three different cashew wastes. *Bioresource Technology* 376, 128859. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128859>.
- Lim, J., Kim, H., Kim, G. H. J., Kim, T., Kang, C. G., Kim, S. W., & Kim, D. (2024). Enzymatic upcycling of wild-simulated ginseng leaves for enhancing biological activities and compound K. *Applied Microbiology and Biotechnology* 108(1), 207. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13028-2>.
- Munde, P. J., Muley, A. B., Ladole, M. R., Pawar, A. V., Talib, M. I., & Parate, V. R. (2017). Optimization of pectinase-assisted and tri-solvent-mediated extraction and recovery of lycopene from waste tomato peels. *3 Biotech* 7(3). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0825-3>.
- Myers, R. H., & Montgomery, D. C. (2002). *Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments* (1<sup>st</sup> ed.). New Jersey, USA: Wiley Interscience.
- Nguyen, P. N. M., Che, H. V., Ly, B. N., & Chau, A. T. D. (2011). Effect of pectinase enzyme treatment to juice yield and fermentation conditions to the quality of mango wine (*Mangifera indica*). *CTU Journal of Science* 20a, 127-136.
- Nguyen, T. T., & Phan, H. T. (2023). Microwave assisted extraction of custard apple (*Annona squamosa* L.) peel. *Carpathian Journal of Food Science and Technology* 15(1), 220-231. <https://doi.org/10.34302/crpjfst/2023.15.1.16>.
- Phan, H. T., Dao, U. H., & Nguyen, T. C. T. (2024). Ethanol-modified supercritical CO<sub>2</sub> extraction of cashew (*Anacardium occidentale*) nut testa. *Journal of Food and Nutrition Research* 63(1), 52-59.
- Phan, H. T., Tran, C. T. H., Nguyen, T. H., & Nguyen, T. T. (2022). Extraction of custard apple (*Annona*

- squamosal* L.) peel with supercritical CO<sub>2</sub> and ethanol as co-solvent. *Journal of Food Processing and Preservation* 46(11).
- Phan, K. T. L., Chittrakorn, S., Rutnakornpituk, B., Phan, H. T., & Ruttarattanamongkol, K. (2018). Processing effects on anthocyanins, phenolic acids, antioxidant activity, and physical characteristics of Vietnamese purple-fleshed sweet potato flours. *Journal of Food Processing and Preservation* 42(9). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13722>.
- Puri M., Sharma D., & Barrow C. J. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology* 30(1), 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.06.014>.
- Sharma, P., Gaur, V. K., Sirohi, R., Larroche, C., Kim, S. H., & Pandey, A. (2020). Valorization of cashew nut processing residues for industrial applications. *Industrial Crops and Products* 152. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112550>.
- Tran, T. T. T., Tran, K. M., Ton, N. N. M., & Le, M. V. V. (2021). Combined cellulolytic and pectinolytic enzymes to increase the polyphenol extractability of coffee husks. *VNUHCM Journal of Engineering and Technology* 4(2), 968-976. <https://doi.org/https://doi.org/10.32508/stdjet.v4i2.832>.
- Wang, F. W., Han, S., Zha, J. X., Cheng, R. J., Song, Y. J., & Jiao, Z. (2019). Response surface optimization of supercritical carbon dioxide extraction of tea polyphenols from green tea scraps. *Journal of AOAC International* 102(2), 451-456. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0163>.
- Živković J., Šavikin, K., Janković, T., Čujić, N., & Menković, N. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from pomegranate peel using response surface methodology. *Separation and Purification Technology* 194, 40-47. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.11.032>.