

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**



**KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP  
NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM**

**KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA VITAMIN C LÊN  
SỰ ỨC CHẾ ENZYME POLYPHENOLOXYDASE  
VÀ SỰ THAY ĐỔI CHẤT LƯỢNG TÔM THẺ  
CHÂN TRẮNG TRONG BẢO QUẢN LẠNH**

**GVHD: PHAN THỊ ANH ĐÀO  
SVTH: PHẠM THỊ ÁNH HỒNG  
MSSV: 13116043**



**Tp. Hồ Chí Minh, tháng 08/2017**

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**  
**KHOA CÔNG NGHỆ HÓA HỌC VÀ THỰC PHẨM**  
**BỘ MÔN CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM**



**HCMUTE**

**KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP**

MÃ SỐ: 2017-13116043

**KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA VITAMIN C**  
**LÊN SỰ ỨC CHẾ ENZYME**  
**POLYPHENOLOXYDASE VÀ SỰ THAY ĐỔI**  
**CHẤT LƯỢNG TÔM THẺ CHÂN TRẮNG**  
**TRONG BẢO QUẢN LẠNH**

**GVHD: TS. PHAN THỊ ANH ĐÀO**

**SVTH: PHẠM THỊ ÁNH HỒNG**

**MSSV: 13116043**

**THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH – THÁNG 08/2017**

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

KHOA CÔNG NGHỆ HÓA HỌC VÀ THỰC PHẨM

BỘ MÔN CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

## NHIỆM VỤ KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

**Họ và tên sinh viên:** Phạm Thị Ánh Hồng

**MSSV:** 13116043

**Ngành:** Công nghệ Thực phẩm

- Tên khóa luận:** Khảo sát ảnh hưởng của vitamin C lên sự ức chế enzyme polyphenoloxydase và sự thay đổi chất lượng tôm thẻ chân trắng trong bảo quản lạnh.
- Mã số khóa luận:** 2017-13116043
- Nhiệm vụ của khóa luận:**
  - Tổng quan cơ sở lý thuyết về tôm thẻ chân trắng, các biến đổi trong quá trình bảo quản tôm thẻ chân trắng, phương pháp bảo quản phổ biến hiện nay; tổng quan về vitamin C, hoạt tính sinh học của vitamin C.
  - Điều chế enzyme polyphenoloxydase (PPO) từ phần đầu của tôm thẻ chân trắng, xác định hoạt tính PPO, xác định khối lượng phân tử của PPO bằng sắc kí lọc gel.
  - Khảo sát khả năng ức chế enzyme PPO của vitamin C.
  - Xác định hoạt tính khử của vitamin C.
  - Khảo sát khả năng bảo quản của vitamin C ở các nồng độ khác nhau bằng phương pháp thử hoạt tính kháng oxy hóa TBARS. Từ đó chọn nồng độ cho kết quả tốt nhất.
  - Khảo sát ảnh hưởng của vitamin C (với nồng độ đã được lựa chọn) tới chất lượng tôm và so sánh với mẫu bảo quản với nước và sodium metabisulfite (SMS) bằng các phương pháp: thử hoạt tính kháng oxy hóa TBARS, đo pH, cảm quan điểm biến đen của tôm bảo quản ở 2°C trong 7 ngày.

- Đánh giá số ngày bảo quản tối đa đối với mẫu sử dụng vitamin C. Xác định số lượng vi khuẩn hiếu khí, vi khuẩn lactic và hàm lượng protein sau 5 ngày bảo quản ở 2°C.

**4. Ngày giao nhiệm vụ khóa luận:** 06/02/2017

**5. Ngày hoàn thành khóa luận:** 31/07/2017

**6. Họ tên người hướng dẫn:** TS. Phan Thị Anh Đào

**Phân hướng dẫn:** Toàn bộ khóa luận

**Nội dung và yêu cầu của khóa luận tốt nghiệp đã được thông qua bởi**

**Trưởng Bộ môn Công nghệ Thực phẩm**

TP. HCM, ngày 31 tháng 07 năm 2017

**Trưởng Bộ môn**

(Ký và ghi rõ họ tên)

**Người hướng dẫn**

(Ký và ghi rõ họ tên)

# LỜI CẢM ƠN

Trong thời gian hoàn thành khóa luận, em đã nhận được rất nhiều sự giúp đỡ, đóng góp ý kiến và chỉ bảo tận tình của các thầy cô.

Em xin gửi lời cảm ơn chân thành đến thầy Hiệu trưởng trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Tp.HCM đã giúp đỡ sinh viên chúng em trong những năm học vừa qua, cũng như quan tâm đến tâm tư nguyện vọng và tạo mọi điều kiện cho chúng em trong suốt quá trình làm khóa luận tốt nghiệp.

Em xin chân thành cảm ơn các thầy cô giáo trong trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Tp.HCM nói chung, các thầy cô trong Bộ môn Công nghệ Hóa học và Thực phẩm nói riêng đã dạy dỗ cho em kiến thức về đại cương cũng như các môn chuyên ngành, giúp em có được cơ sở lý thuyết vững vàng và tạo mọi điều kiện thuận lợi về trang thiết bị, dụng cụ thí nghiệm để em hoàn thành được khóa luận tốt nghiệp này.

Em xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến TS. Phan Thị Anh Đào, giảng viên Bộ môn Công nghệ Hóa học, Khoa Công nghệ Hóa Học và Thực phẩm – trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Tp.HCM. Cô đã theo sát hướng dẫn, chỉ bảo em rất tận tình trong suốt quá trình làm khóa luận, giúp em vượt qua những trở ngại khó khăn mà em gặp phải.

Em cũng xin cảm ơn cô Nguyễn Thị Mỹ Lệ, cô Hồ Thị Thu Trang, cô Lê Thị Bạch Huệ và thầy cô ở Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng. Thầy cô đã giúp đỡ, hỗ trợ em rất nhiều trong việc sử dụng các thiết bị, máy móc và dụng cụ trong quá trình em làm khóa luận.

Cuối cùng, em xin chân thành cảm ơn gia đình, bạn bè đã luôn tạo mọi điều kiện, quan tâm, giúp đỡ, động viên em trong suốt quá trình học tập và hoàn thành khóa luận tốt nghiệp.

Trong quá trình làm em còn nhiều thiếu sót, kính mong thầy cô góp ý để em hoàn thiện bài luận cũng như kiến thức của bản thân. Em xin chân thành cảm ơn.

# LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan toàn bộ nội dung được trình bày trong khóa luận tốt nghiệp là của riêng tôi. Tôi xin cam đoan các nội dung được tham khảo trong khóa luận tốt nghiệp đã được trích dẫn chính xác và đầy đủ theo quy định.

Ngày 31 tháng 07 năm 2017

Ký tên

# MỤC LỤC

<b>NHIỆM VỤ KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP</b> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>LỜI CẢM ƠN</b> .....	iii
<b>LỜI CAM ĐOAN</b> .....	iv
<b>MỤC LỤC</b> .....	v
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	1
1.1. Tổng quan về tôm thẻ chân trắng.....	1
1.1.1. Đặc điểm sinh học.....	1
1.1.2. Thành phần hóa học .....	2
1.1.3. Giá trị kinh tế .....	3
1.1.4. Các biến đổi trong quá trình bảo quản lạnh tôm thẻ chân trắng .....	4
1.2. Tổng quan về enzyme polyphenoloxydase (PPO).....	8
1.2.1. Khái niệm.....	8
1.2.2. Nguồn thu nhận.....	8
1.2.3. Phân loại và cấu tạo .....	9
1.2.4. Cơ chế hoạt động .....	9
1.2.5. Chức năng sinh học.....	10
1.2.6. Đặc điểm của PPO trong tôm thẻ chân trắng.....	11
1.3. Các phương pháp bảo quản tôm .....	11
1.3.1. Ướp lạnh .....	12
1.3.2. Lạnh đông .....	12
1.3.3. Sử dụng chất bảo quản.....	13
1.4. Tổng quan về vitamin C.....	14
1.4.1. Nguồn gốc.....	14
1.4.2. Cấu tạo .....	15
1.4.3. Cơ chế hoạt động .....	15
1.4.4. Vai trò .....	15
1.5. Định hướng nghiên cứu .....	16

1.5.1.	Tình hình nghiên cứu ứng dụng phụ gia bảo quản tôm đông lạnh .....	17
1.5.2.	Định hướng nghiên cứu sử dụng vitamin C trong bảo quản tôm đông lạnh .....	17
<b>CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP .....</b>		<b>18</b>
2.1.	Nguyên liệu: Tôm thẻ chân trắng .....	18
2.2.	Hóa chất, dụng cụ và thiết bị .....	18
2.2.1.	Hóa chất .....	18
2.2.2.	Dụng cụ .....	18
2.2.3.	Thiết bị .....	19
2.3.	Nội dung nghiên cứu .....	20
2.3.1.	Sơ đồ nghiên cứu .....	20
2.3.2.	Thuyết minh sơ đồ .....	21
2.4.	Phương pháp nghiên cứu .....	21
2.4.1.	Trích ly enzyme PPO từ phần đầu ngực của tôm thẻ chân trắng và thử hoạt tính ức chế PPO của vitamin C .....	21
2.4.2.	Khảo sát nồng độ vitamin C tối ưu sử dụng trong bảo quản tôm .....	28
2.1.2.	Ứng dụng nồng độ vitamin C tối ưu trong bảo quản tôm .....	33
2.1.3.	Xác định các chỉ tiêu vi sinh .....	33
2.1.4.	Xác định các chỉ tiêu hóa lý .....	33
2.2.	Phương pháp xử lý số liệu .....	34
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>		<b>35</b>
3.1.	Kết quả trích ly enzyme PPO .....	35
3.1.1.	Kết quả xác định khối lượng phân tử PPO .....	35
3.1.2.	Kết quả xác định hoạt độ PPO .....	36
3.1.3.	Kết quả xác định hoạt tính khử của vitamin C .....	36
3.1.4.	Kết quả xác định khả năng ức chế enzyme PPO của vitamin C .....	37
3.2.	Kết quả tối ưu nồng độ vitamin C ứng dụng trong bảo quản tôm .....	37
3.2.1.	Kết quả xác định pH .....	37
3.2.2.	Kết quả xác định khả năng ức chế quá trình peroxide hóa lipid bằng phương pháp TBARS .....	39



3.2.3. Kết quả đánh giá cảm quan điểm biến đen .....	41
3.3. Kết quả so sánh mẫu vitamin C tối ưu với mẫu đối chứng và mẫu phụ gia SMS ...	43
3.3.1. Kết quả xác định sự thay đổi pH.....	43
3.3.2. Kết quả xác định giá trị TBARS .....	44
3.3.3. Kết quả đánh giá cảm quan biến đen .....	46
3.3.4. Kết quả xác định các chỉ tiêu vi sinh .....	47
3.3.5. Kết quả xác định các chỉ tiêu hóa lý .....	48
<b>CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>49</b>
4.1. Kết luận.....	49
4.2. Định hướng nghiên cứu .....	49
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>51</b>
<b>PHỤ LỤC.....</b>	<b>54</b>

# DANH MỤC HÌNH VÀ SƠ ĐỒ

Hình 1.1. Tôm thẻ chân trắng. ....	2
Hình 1.2. Cơ chế của hiện tượng biến đen ở tôm. ....	7
Hình 1.3. Cấu trúc phân tử của tyrosinase .....	9
Hình 1.4. Cơ chế xúc tác của PPO.....	10
Hình 1.5. Công thức cấu tạo của vitamin C.....	15
Hình 1.6. Quá trình oxy hóa của vitamin C.....	15
Hình 2.1. Phản ứng tạo phức giữa malonyldialdehyde và thiobarbituric acid.....	29
Hình 2.2. Đường chuẩn MDA .....	32
Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu của khóa luận.....	20
Sơ đồ 2.2. Quy trình trích ly enzyme PPO .....	22
Sơ đồ 2.3. Quy trình xác định hoạt tính enzyme PPO .....	23
Sơ đồ 2.4. Quy trình xác định hoạt tính khử vitamin C.....	26
Sơ đồ 2.5. Quy trình xác định khả năng ức chế PPO của vitamin C .....	27
Sơ đồ 2.6. Quy trình thử TBARS .....	29
Sơ đồ 2.7. Quy trình xây dựng đường chuẩn MDA.....	30

# DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 1.1. Thành phần hóa học của tôm thẻ chân trắng .....	3
Bảng 2.1. Kết quả đo độ hấp thu của dung dịch chuẩn MDA tại các nồng độ khác nhau...	31
Bảng 2.2. Thang điểm đánh giá cảm quan biến đen của mẫu tôm .....	32
Bảng 3.1. Kết quả sắc ký lọc gel PPO .....	35
Bảng 3.2. Kết quả xác định hoạt độ enzyme PPO .....	36
Bảng 3.3. Kết quả xác định hoạt tính khử của vitamin C .....	36
Bảng 3.4. Kết quả xác định khả năng ức chế enzyme PPO của vitamin C.....	37
Bảng 3.5. Kết quả đo pH của các mẫu tôm được xử lý bằng các nồng độ vitamin C khác nhau trong 7 ngày bảo quản.....	37
Bảng 3.6. Kết quả giá trị TBARS của các mẫu tôm xử lý bằng vitamin C ở các nồng độ khác nhau trong 6 ngày bảo quản.....	39
Bảng 3.7. Hình ảnh cảm quan các mẫu tôm xử lý bằng vitamin C ở các nồng độ khác nhau trong 7 ngày bảo quản.....	41
Bảng 3.8. Điểm đánh giá cảm quan biến đen các mẫu tôm xử lý bằng vitamin C ở các nồng độ khác nhau trong 7 ngày bảo quản .....	42
Bảng 3.9. Kết quả giá trị pH của các mẫu tôm trong 7 ngày bảo quản .....	43
Bảng 3.10. Kết quả giá trị TBARS của các mẫu tôm trong 7 ngày bảo quản .....	44
Bảng 3.11. Hình ảnh cảm quan biến đen ở các mẫu tôm trong 7 ngày bảo quản.....	46
Bảng 3.12. Điểm đánh giá cảm quan biến đen ở các mẫu tôm trong 7 ngày bảo quản .....	47
Bảng 3.13. Kết quả đếm vi sinh vật.....	47
Bảng 3.14. Kết quả xác định các chỉ tiêu hóa lý.....	48

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

- |           |   |
|-----------|---|
| 1. ATP    | Adenosintriphosphate                      |
| 2. IMP    | Inosinmonophosphate                       |
| 3. L-DOPA | L- $\beta$ -(3,4 dihydroxyphenyl) alanine |
| 4. MDA    | Malondialdehyde                           |
| 5. PPO    | Enzyme polyphenoloxydase                  |
| 6. SMS    | Sodium metabisulfite                      |
| 7. TBA    | Thiobarbituric acid                       |
| 8. TBARS  | Thiobarbituric acid reactive substance    |
| 9. TCA    | Trichloroacetic acid                      |
| 10. VitC  | Vitamin C                                 |

# TÓM TẮT KHÓA LUẬN

## **ĐỀ TÀI: KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA VITAMIN C LÊN SỰ ỨC CHẾ ENZYME POLYPHENOLOXYDASE VÀ SỰ THAY ĐỔI CHẤT LƯỢNG TÔM THẺ CHÂN TRẮNG TRONG BẢO QUẢN LẠNH**

Trong những năm qua giá trị kim ngạch xuất khẩu thủy sản của Việt Nam tăng mạnh, trong đó tôm và các sản phẩm từ tôm chiếm tỷ trọng lớn trong cơ cấu các mặt hàng thủy sản xuất khẩu. Vì vậy mà các vấn đề liên quan đến cách thức nuôi trồng, khai thác, chế biến, tiêu thụ và xuất khẩu tôm đang được quan tâm.

Hiện tượng biến đen và quá trình oxy hóa chất béo ở tôm thường xuất hiện trong quá trình bảo quản lạnh, là một vấn đề nghiêm trọng làm giảm giá trị cảm quan, dinh dưỡng và giá trị kinh tế của tôm sau thu hoạch. Nhằm hạn chế hiện tượng này, các nhà khoa học thực phẩm đã có nhiều nghiên cứu để tìm ra phụ gia kháng oxy hóa nhằm tăng thời gian bảo quản tôm. Trong khóa luận này, vitamin C được lựa chọn nghiên cứu vì có khả năng kháng oxy hóa, mức độ phổ biến khá rộng rãi nên giá thành rẻ và đặc biệt là an toàn với người sử dụng và môi trường.

### **Kết quả nghiên cứu:**

Qua khảo sát về khả năng ức chế enzyme PPO trích ly từ phần đầu ngực tôm thẻ chân trắng, cho thấy vitamin C có khả năng ức chế tương đối hoạt tính của PPO.

Qua khảo sát về khả năng bảo quản tôm thẻ chân trắng của vitamin C với các nồng độ khác nhau, bằng các phương pháp: xác định pH thịt tôm, thử hoạt tính kháng oxy hóa TBARS và đánh giá cảm quan điểm biến đen, chúng tôi đã chọn ra nồng độ vitamin C tối ưu là 0,05%.

Từ nồng độ vitamin C đã tối ưu, tiếp tục ứng dụng vào bảo quản tôm thẻ chân trắng, so sánh với mẫu đối chứng (mẫu tôm không qua xử lý) và mẫu SMS (mẫu xử lý bằng phụ gia sodium metabisulfite). Kết quả thu được, mẫu vitamin C tối ưu có tác dụng bảo quản tốt hơn mẫu đối chứng và thấp hơn so với mẫu SMS, cụ thể là mẫu vitamin C có giá trị TBARS cực đại vào ngày bảo quản thứ 5 (6,025 mgMDA/kg thịt tôm), mẫu đối chứng đạt cực đại vào ngày thứ 4 (6,225 mgMDA/kg thịt tôm), còn mẫu SMS đạt cực đại vào ngày thứ 6 (6,298 mgMDA/kg thịt tôm). Cảm quan điểm biến đen vào ngày cuối bảo quản của mẫu vitamin C (4,3đ) tốt hơn mẫu nước (4,7đ), tuy nhiên lại không tốt bằng mẫu SMS (3,7đ). Kết quả xác

định pH thịt tôm qua các ngày bảo quản và xác định tổng số vi sinh vật gây hại của mẫu vitamin C tốt hơn mẫu đối chứng và mẫu SMS, điều này cho thấy vitamin C có khả năng hạn chế sự phát triển của vi sinh vật gây hại có trong tôm thẻ chân trắng khi bảo quản lạnh ở 2°C, trong vòng 7 ngày.

**Điểm mới của khóa luận:**

- Điều chế enzyme PPO từ phần đầu ngực của tôm thẻ chân trắng, xác định hoạt độ PPO, xác định khối lượng phân tử PPO.
- Thử hoạt tính ức chế PPO của vitamin C
- Tìm ra và ứng dụng nồng độ vitamin C tối ưu vào bảo quản tôm thẻ chân trắng trong 7 ngày ở 2°C.

# CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

## 1.1. Tổng quan về tôm thẻ chân trắng

### 1.1.1. Đặc điểm sinh học

#### 1.1.1.1. Tên gọi

- Tên khoa học: *Litopenaeus vannamei* hay *Penaeus vannamei* (Boone, 2011)
- Tên tiếng Anh: White Shrimp
- Tên tiếng Việt: Tôm thẻ chân trắng, tôm bạc Thái Bình Dương, tôm bạc Tây châu Mỹ.

#### 1.1.1.2. Phân loại khoa học

- Ngành: Arthropoda
- Lớp: Malacostraca
- Bộ: Decapoda
- Họ: Penaeidae
- Chi: *Litopenaeus*
- Loài: *Litopenaeus vannamei* (Boone, 2011)

#### 1.1.1.3. Nguồn gốc và phân bố

Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*, tên gọi trước đây *Penaeus vannamei*) là một dạng của tôm pandan của vùng đông Thái Bình Dương thường được đánh bắt hoặc nuôi làm thực phẩm. (Boone, 2011)

Tôm thẻ chân trắng là một loài tôm biển, phân bố tự nhiên ở vùng ven biển thuộc vùng Tây bán cầu và phân bố tự nhiên ở các nước khác như phía bắc Peru đến Sonora, Mexico và rất nhiều ở vùng biển của Ecuador, châu Mỹ La Tinh, Hawaii... Hiện nay được nuôi ở rất nhiều nước trên thế giới như: Đài Loan, Trung Quốc, Việt Nam... (Boone, 2011). Ở Việt Nam, tôm thẻ chân trắng tập trung chủ yếu ở các tỉnh Nam Trung Bộ đặc biệt là Ninh Thuận, Bình Thuận, Khánh Hòa, Phú Yên và các tỉnh Đồng bằng Sông Cửu Long.

Tôm thẻ chân trắng là một trong những loài tôm được nuôi rộng rãi nhất trên thế giới. Điều này là do chúng dễ nuôi và thời gian sinh trưởng nhanh, thời gian thu hoạch từ 120 ngày. Chất lượng tôm thẻ chân trắng nuôi thường rất cao, vì có sự kiểm soát chặt chẽ và không qua bảo quản như loại đánh bắt từ biển. (Boone, 2011)

#### 1.1.1.4. Đặc điểm hình thái



Hình 1.1. Tôm thẻ chân trắng. Nguồn: (Internet)

Tôm thẻ chân trắng có màu trắng đục (hình 1.1) nên còn có tên là tôm Bạc, bình thường có màu xanh lam, chân bò có màu trắng ngà nên gọi là tôm chân trắng.

Chùy là phần kéo dài tiếp với bụng. Dưới chùy có 2 – 4 răng cưa, đôi khi có tới 5 – 6 răng cưa ở phía bụng. Những răng cưa đó kéo dài, đôi khi tới đốt thứ hai. (Boone, 2011)

Vỏ đầu ngực có những gai gân và gai râu rất rõ, không có gai mắt và gai đuôi (gai telson), không có rãnh sau mắt, đường gờ sau chùy khá dài đôi khi từ mép sau vỏ đầu ngực. Gờ bên chùy ngắn, chỉ kéo dài tới gai thượng vị. Có sáu đốt bụng, ở đốt mang trứng, rãnh bụng rất hẹp hoặc không có. Gai đuôi không phân nhánh. Râu không có gai phụ và chiều dài râu ngắn hơn nhiều so với vỏ giáp. Xúc biện của hàm dưới thứ nhất thon dài và thường có 3 – 4 hàng, phần cuối cùng của xúc biện có hình roi. Gai gốc (basial) và gai ischial nằm ở đốt thứ nhất chân ngực. (Bone, 2011)

#### 1.1.1.5. Môi trường sống

Ở vùng biển tự nhiên, tôm thẻ chân trắng sống nơi đáy bùn, độ sâu khoảng 72 m, có thể sống ở độ mặn trong phạm vi 5 – 50‰, thích hợp ở độ mặn nước biển 28 – 34‰, pH = 7,7 – 8,3; nhiệt độ thích hợp 25 – 32°C. (Boone, 2011)

### 1.1.2. Thành phần hóa học

Tôm là loại thực phẩm được ưa chuộng trên thế giới, vì tôm có giá trị dinh dưỡng cao, thơm ngon hơn so với cá và một số động vật trên cạn. Thành phần hóa học của thịt tôm gồm: protein, lipid, glucid, chất khoáng, vitamin, enzyme và hormone. Thành phần có hàm lượng cao là nước, protein, lipid và chất khoáng, hàm lượng glucide trong tôm rất ít và tồn tại dưới dạng glycogen. Ngoài ra trong tôm còn chứa một lượng carbohydrate khoảng 1 – 2%. (Nguyễn Trọng Căn, Đỗ Minh Phụng, 1990)



Bảng 1.1. Thành phần hóa học của tôm thẻ chân trắng

Nguồn: (Vũ Trọng Căn, Đỗ Minh Phụng, 1990)

Thành phần	Đặc điểm
Nước	Chiếm 70 – 80% trọng lượng tôm. Giúp thân tôm mềm, bóng mượt. Là môi trường hoạt động của vi sinh vật. Đóng vai trò quan trọng trong chế biến và bảo quản.
Protein	Thành phần chủ yếu trong cơ thịt, chiếm 70 – 80% trọng lượng khô. Thành phần cấu tạo là các acid amin không thay thế (tryptophan, lysine, threonine, isoleucine, leucine, phenylalanine, methionine, valine).
Lipid và glucid	Trong thịt tôm chứa rất ít mỡ, chiếm 0,3 – 1,4% trọng lượng tôm. Hàm lượng glucid cũng rất ít.
Sắc tố	Chủ yếu là astaxanthin. Trong vỏ tôm astaxanthin kết hợp với protein có màu xanh tím.
Vitamin	Trong thịt tôm có chứa một hàm lượng vitamin, đặc biệt là vitamin nhóm B. Nhóm vitamin này tan trong nước nên trong quá trình bảo quản và chế biến rất dễ bị thất thoát.
Chất khoáng	Trong thịt tôm gồm có các chất khoáng như: Fe, Ca, K, P...

### 1.1.3. Giá trị kinh tế

Tôm thẻ chân trắng là loài có giá trị kinh tế cao, tốc độ tăng trưởng nhanh, sức đề kháng tốt, năng suất lớn, rất phù hợp với các loại hình nuôi thâm canh và bán thâm canh tại Việt Nam. Tuy vậy muốn có được năng suất tôm thẻ chân trắng cao, người nuôi cần phải áp dụng đúng đắn các kỹ thuật để tránh trường hợp tôm thẻ chân trắng chậm lớn.

Năm 2013, lần đầu tiên trong lịch sử xuất khẩu thủy sản Việt Nam, tôm thẻ chân trắng đã vượt qua tôm sú cả về sản lượng lẫn giá trị (diện tích thả nuôi ở 30 tỉnh thành cả nước trên 66.000 hecta, sản lượng đạt gần 300.000 tấn), trở thành mặt hàng chủ lực trong cơ

cầu xuất khẩu thủy sản Việt Nam. Kim ngạch xuất khẩu tôm đạt khoảng 3 tỷ USD thì tôm thẻ chân trắng chiếm gần 60%. (Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu thủy sản Việt Nam (VASEP))

#### **1.1.4. Các biến đổi trong quá trình bảo quản lạnh tôm thẻ chân trắng**

Tôm nguyên liệu sau khi chết dưới tác dụng của các enzyme nội tại và hoạt động của các vi sinh vật trong cơ thịt tôm, xảy ra hàng loạt những biến đổi phức tạp đặc biệt là những biến đổi sâu sắc về mặt hóa học, đó là quá trình tự phân giải, phân hủy tự nhiên làm cho nguyên liệu bị biến chất hoàn toàn không sử dụng được nữa. Sự biến đổi của cơ thịt tôm nguyên liệu sau khi chết gồm các quá trình cơ bản sau: sự tiết chất nhớt ra ngoài cơ thể, sự phân giải glycogen (glycolysis), sự tê cứng của cơ thịt (rigor mortis), sự mềm hóa, tác dụng tự phân giải (autolysis), sự thối rữa (putrefaction). Những biến đổi này không tuân theo một thứ tự nhất định, mà chúng thường gói lên nhau. Các quá trình biến đổi đó hoặc là song song hoặc là cuối quá trình này đã bắt đầu quá trình khác nối tiếp nhau. (Nguyễn Trọng Căn, Đỗ Minh Phụng, 1990)

##### *1.1.4.1. Quá trình biến đổi hóa sinh*

###### *➤ Sự phân hủy Adenosin triphosphate (ATP)*

Dưới tác dụng của các enzyme nội tại ATP trong mô cơ thịt tôm bị phân hủy rất nhanh. Hàm lượng của Inosinmonophosphate (IMP) trong cơ thịt sinh ra trong quá trình phân hủy ATP giảm làm mất dần mùi thơm đặc trưng của tôm tươi. Tốc độ của quá trình phân hủy ATP phụ thuộc nhiều vào giống loài tôm, vị trí cơ thịt trên cơ thể tôm, quá trình đánh bắt, xử lý và bảo quản tôm. (Nguyễn Trọng Căn, Đỗ Minh Phụng, 1990)

###### *➤ Sự phân giải glycogen*

Tôm sau khi chết glycogen trong cơ thể dần bị phân giải. Quá trình phân giải glycogen là một quá trình kị khí phức tạp xảy ra bằng con đường Embden – Meyerhof – Parnas dưới tác dụng của các enzyme nội tại. Glycogen phân giải sản sinh ra acid lactic làm cho pH cơ thịt thay đổi. Sự acid hóa môi trường này có tác dụng hạn chế phần nào sự phát triển của vi sinh vật gây thối rữa. Những biến đổi của các chất đường và các đường chứa phospho trong mô cơ làm mất dần vị ngọt và hương vị đặc trưng của thịt tôm tươi. (Sikorski, 1990)

#### 1.1.4.2. Quá trình biến đổi hóa học

##### ➤ *Biến đổi pH của cơ thịt*

Acid lactic được tạo thành trong điều kiện phân giải yếm khí glycogen là nhân tố cơ bản làm giảm trị số pH cơ thịt tôm sau chết. Ngoài ra, sự biến đổi của trị số pH cơ thịt tôm cũng phụ thuộc vào quá trình giải phóng ra các phospho vô cơ và amoniac, từ sự phân hủy của ATP dưới tác dụng của các enzyme nội tại, và phụ thuộc vào trị số pH ban đầu của mô cơ. Trị số pH ban đầu của cơ thịt tôm phụ thuộc vào đặc tính giống loài, mùa vụ đánh bắt, điều kiện dinh dưỡng và mức độ trưởng thành của tôm. (Smolina, 1971)

Trong các giai đoạn sau của quá trình biến đổi, sự phân hủy của các hợp chất chứa nito dưới tác dụng của enzyme nội tại và các vi sinh vật dẫn đến sự gia tăng trị số pH trong thịt tôm. Tốc độ biến đổi của trị số pH nhìn chung phụ thuộc rất lớn vào nhiệt độ (Reilly, 1985).

##### ➤ *Sự oxy hóa lipid*

Oxy hóa lipid chủ yếu là phản ứng hình thành các hợp chất như hydroperoxide (HPO) và các gốc peroxide. Các sản phẩm sơ cấp thường trải qua các phản ứng, để tạo thành hợp chất ổn định hơn như acid hydroxy hoặc epoxit. Các hợp chất như acid hydroxy có thể tạo ra vị đắng. Lipid oxy hóa có thể phản ứng với các amin, acid amin và protein để tạo thành sản phẩm đại phân tử màu nâu. Màu nâu được hình thành là do sự ảnh hưởng chủ yếu bởi mức độ acid béo không bão hòa, hoạt độ nước, áp suất oxy, và sự hiện diện của các hợp chất phenolic. (Frankel, 1998)

Quá trình peroxide hóa cũng có thể được xúc tiến bởi oxygen đơn bội. Lipid hydroperoxide bị phân hủy thành rất nhiều sản phẩm aldehyde. Trong đó, hợp chất malondialdehyde (MDA) là sản phẩm aldehyde phổ biến nhất và được xem là dấu hiệu của quá trình peroxide hóa lipid. (Frankel, 1998)

##### ➤ *Sự biến đổi của protein*

Sự biến đổi protein ảnh hưởng rất lớn đến giá trị của tôm. Dưới sự tác dụng của các yếu tố vật lý, hóa học, sinh học, trong đó quá trình thủy phân và phân giải protein diễn ra nhanh và dễ dàng. Protein của tôm sau khi bị phân hủy sinh ra  $\text{NH}_3$ .  $\text{NH}_3$  là một chỉ tiêu quan trọng đánh giá mức độ phân hủy protein, mức độ tươi, mức độ hư hỏng của tôm khi bảo quản. Sau khi chết, tùy điều kiện nhiệt độ, vi sinh vật, sự nguyên vẹn cấu trúc của tôm, mà những biến đổi sau khi chết xảy ra với những tốc độ khác nhau,  $\text{NH}_3$  trong thịt tôm tích

tụ tăng lên, có khi rất cao, làm nguyên liệu biến màu và có mùi khó chịu. (Menabrito et al., 1988)

#### *1.1.4.3. Quá trình biến đổi vi sinh*

Nguyên liệu sau khi chết thì các quá trình tổng hợp trong cơ thể sẽ ngừng lại, enzyme trong các tổ chức cơ thịt sẽ tiến hành quá trình tự phân giải, đồng thời lúc đó vi sinh vật sẽ phân hủy những sản phẩm của quá trình tự phân giải thành những sản phẩm bậc thấp, làm cho nguyên liệu biến chất hư hỏng.

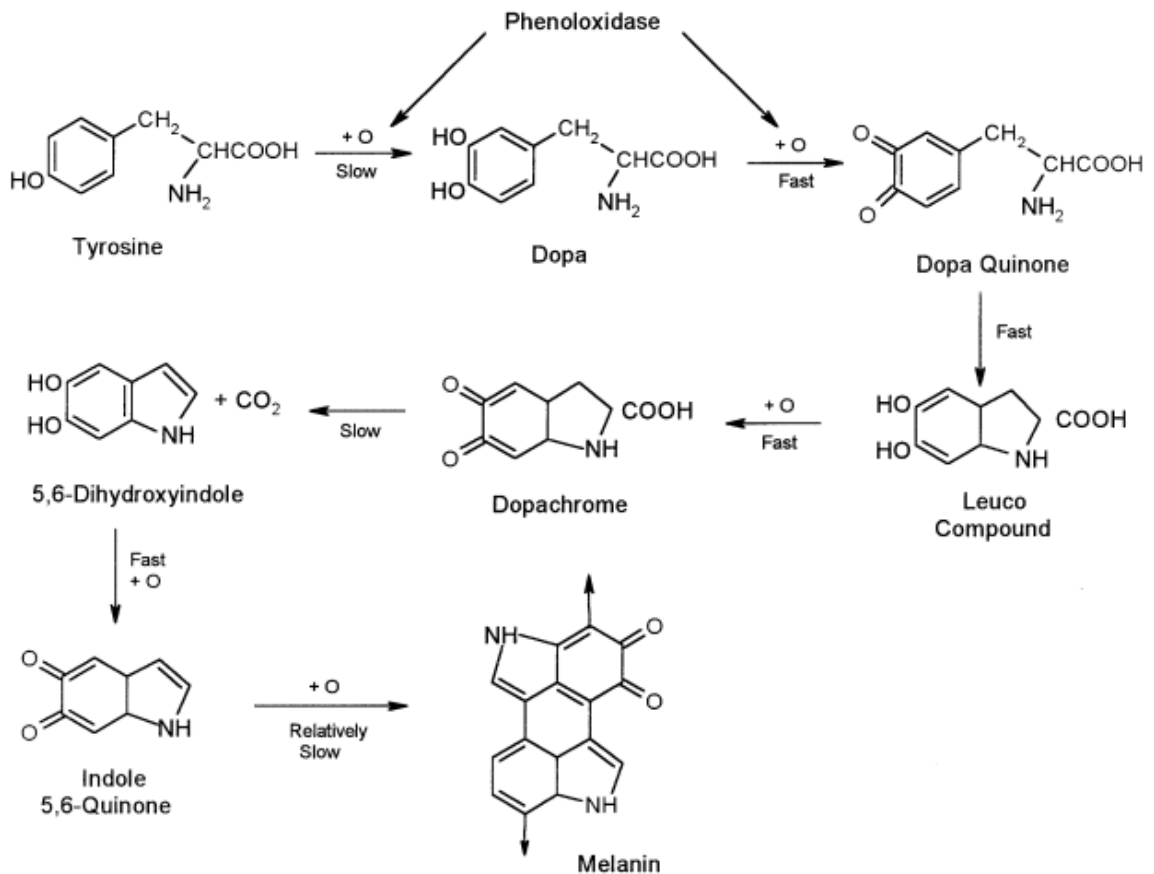
Các quá trình trao đổi chất của vi sinh vật làm phân hủy hoàn toàn các protide thành amine, sulfide, alcohol, aldehyde, xeton và các axit hữu cơ gây mùi khó chịu và không được chấp nhận. (Gram, 2002)

#### *1.1.4.4. Sự hình thành melanosis và hiện tượng biến đen*

Melanosis (sắc tố đen) xuất hiện trong động vật giáp xác bảo quản lạnh và lạnh đông chỉ trong một vài giờ sau khi đánh bắt (Montero et al., 2004). Melanosis hay sự hình thành điểm đen ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm và sự chấp nhận của người tiêu dùng. Melanosis được phát hiện đầu tiên ở đầu và sau đó lan xuống đến các bộ phận khác trong quá trình bảo quản lạnh (Zamorano et al., 2009). Điểm đen trên tôm bắt đầu hình thành trên đầu sau đó lan ra phía dưới thân tôm, hình thành những đường màu đen bên dưới vỏ ngoài phần đuôi (Gokoglu, 2008).

##### *➤ Cơ chế của hiện tượng biến đen*

Hiện tượng biến đen xuất hiện khi có mặt của oxy, tyrosinase và hợp chất polyphenol. Tyrosinase xúc tác 2 phản ứng cơ bản: (1) hydroxyl hóa ở vị trí *o*-hydroxyl của các hợp chất phenolic và (2) quá trình oxy hóa của diphenol để tạo thành *o*-benzoquinone (Garcia et al., 2005). Cơ chế của quá trình chuyển hóa tyrosine thành melanin nhờ xúc tác enzyme tyrosinase được miêu tả theo hình 1.2.



Hình 1.2. Cơ chế của hiện tượng biến đen ở tôm. Nguồn: (Nord, 1953)

Melanosis được kích hoạt bởi một cơ chế sinh hóa, oxy hóa phenol thành quinone bởi PPO. Sau đó là phản ứng trùng hợp phi enzyme và tự oxy hóa của quinone, làm tăng sắc tố của cao phân tử tạo màu sắc rất tối hoặc màu đen (Benjakul et al., 2005). PPO thường được tìm thấy trong đầu ngực của tôm sú và tôm thẻ chân trắng. PPO vẫn còn hoạt tính khi bảo quản lạnh, lạnh đông và các sản phẩm được rã đông. Melanosis lây lan rất nhanh và do đó ảnh hưởng đến thời gian bảo quản của động vật giáp xác (Montero et al., 2001).

Mặc dù sự xuất hiện của melanosis trong các sản phẩm thủy sản không có nghĩa là không thích hợp cho người tiêu dùng, tuy nhiên điểm biến đen trên vỏ của động vật giáp xác làm giảm giá trị cảm quan của sản phẩm.

➤ Các yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành melanosis ở động vật giáp xác

Có nhiều yếu tố khác nhau ảnh hưởng đến các melanosis ở động vật giáp xác như loài, phương pháp đánh bắt, ion kim loại, protease và một số hóa chất.

- Loài: Hiện tượng biến đen có liên quan đến hoạt tính của PPO, hoạt tính PPO thay đổi tùy theo loài. PPO từ tôm hồng có hoạt tính cao hơn tôm thẻ chân trắng, sự lây lan của melanosis trong tôm hồng nhanh hơn so với tôm thẻ chân trắng (Simpson, 1987).
- Phương pháp đánh bắt và mùa vụ: Đánh bắt, xử lý sau khi đánh bắt và các tác động khác dường như kích hoạt một cơ chế tự vệ ở động vật giáp xác, liên quan đến hoạt tính của PPO, kết quả cuối cùng là làm tăng điểm đen (Kim, 2000). Tôm có thể hình thành điểm đen nếu chúng bị thương trong khi còn sống (Ogawa, 1987).
- Ion kim loại: Một số ion kim loại như  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  và  $\text{Mg}^{2+}$  có tác động đáng kể đến hoạt tính của PPO. Simpson et al. (1987) báo cáo rằng hoạt tính PPO từ tôm thẻ chân trắng tăng lên khi bổ sung  $\text{Cu}^{2+}$ .
- Protease và một số hóa chất: Trong động vật giáp xác, PPO có trong các lớp biểu bì như một zymogen hoặc thể proPPO và có thể được kích hoạt bằng protease, acid béo, acetone... (Ferrer, 1989). Trypsin không ảnh hưởng đến hoạt tính PPO của tôm trắng (Simpson, 1987). Garcia et al. (2008) nhận thấy Hemocyanin (Hc) từ tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) được chuyển đổi thành HcPPO bằng cách xử lý với Sodium dodecyl sulfate (SDS).

## **1.2. Tổng quan về enzyme polyphenoloxidase (PPO)**

### **1.2.1. Khái niệm**

Enzyme polyphenoloxidase (PPO) hay tyrosinase (EC 1.14.18.1) là một enzyme oxy hóa khử. PPO tồn tại trong mô ở động vật giáp xác (Garcia et al., 2007), xúc tác phản ứng hydroxyl hóa monophenol tạo thành *o*-diphenol và sau đó tiếp tục oxy hóa *o*-diphenol thành *o*-quinone bởi oxy phân tử (Likhitwitayawuid, 2008; Garcia et al., 2007; Decker và Tucek, 2000).

### **1.2.2. Nguồn thu nhận**

PPO được tìm thấy trong phần lớn các mô của thực vật như táo, nho, lê, khoai tây, trà, hạt cacao, cà phê...; trong vi sinh vật bao gồm vi khuẩn và nấm; trong động vật như côn trùng, động vật chân khớp, động vật có vú và người.

Vị trí của PPO trong tế bào thực vật phụ thuộc vào loài, độ tuổi và độ chín của trái cây và rau củ. Trong thực vật PPO là enzyme nằm trong thể hạt, tuy nhiên khi trái cây, rau

củ bị tổn thương PPO ở dạng tự do trong tế bào chất. Nhiều nghiên cứu cho biết gen mã hóa cho PPO có mức độ biểu hiện cao trong các cơ quan khi còn non và không biểu hiện trong mô trưởng thành. PPO có thể tìm thấy trong nhiều dạng thể hạt khác nhau như hạt bột (khoai tây), thể hạt trong biểu bì, thể hạt trong rễ, lục lạp của lá. (Fabienne, 2000)

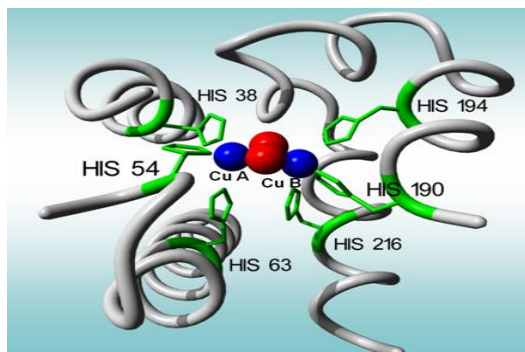
Ở động vật PPO được tìm thấy trong ti thể của tế bào biểu bì tạo sắc tố, trong tôm hùm PPO được tách chiết từ lớp da nằm giữa cơ và bộ xương ngoài. (Véronique, 1997)

### 1.2.3. Phân loại và cấu tạo

PPO có 3 dạng chính tùy thuộc vào cơ chất đặc hiệu và cơ chế phản ứng của enzyme bao gồm tyrosinase, catechol oxidase và laccase. (Melda, 2009)

PPO được thu nhận từ phần đầu ngực tôm thẻ chân trắng ở dạng tyrosinase.

Tyrosinase có cấu trúc đặc trưng (hình 1.3) gồm 3 domain: một domain đầu N, một domain trung tâm xúc tác chứa một cặp ion đồng (CuA và CuB) và một domain đầu C nối với domain xúc tác bởi vùng liên kết phi cấu trúc. Mỗi ion đồng ở trung tâm xúc tác gắn với ba gốc histidine (His) là nơi tương tác của PPO với cả phân tử oxy và cơ chất phenolic. (Greta, 2011)

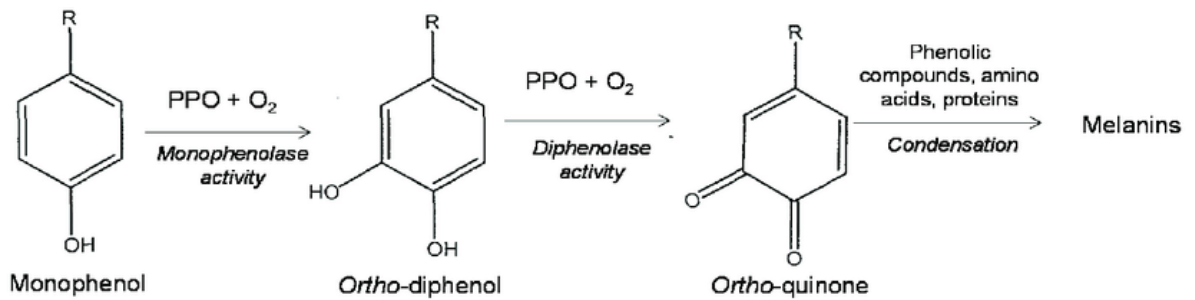


Hình 1.3. Cấu trúc phân tử của tyrosinase. Nguồn: (Greta, 2011)

### 1.2.4. Cơ chế hoạt động

PPO xúc tác 2 phản ứng khác nhau (hình 1.4): hydroxyl hóa monophenol thành *o*-diphenol và sau đó oxy hóa *o*-diphenol thành *o*-quinone tương ứng và đồng thời khử phân tử oxy thành nước, hình thành sắc tố melanin có màu nâu sẫm. (Melda, 2009)

Quinone là một hợp chất có hoạt động hóa học cao và có thể tự trùng hợp tạo thành melanin. Quinone cũng có thể phản ứng với các acid amine và protein trong rau quả, làm tăng sự hình thành melanin. (Khan et al., 2006; Martynez & Whitaker, 1995)



Hình 1.4. Cơ chế xúc tác của PPO. Nguồn: (Melda, 2009)

### 1.2.5. Chức năng sinh học

PPO phân bố rộng rãi trong tự nhiên được tìm thấy trong hầu hết các loài sinh vật gồm động vật, thực vật, nấm và vi khuẩn. PPO thể hiện nhiều chức năng quan trọng trong cơ thể sinh vật. (Claudia et al., 2011)

Ở động vật, tyrosinase có vai trò trong tạo sắc tố của da, tóc, mắt bởi sự tổng hợp melanin. Ở người, PPO hoạt động quá nhiều hay quá ít là nguyên nhân của các bệnh quan trọng như bệnh bạch tạng, bệnh đốm lang trắng hay khối u ác tính. Ở côn trùng, sự hóa cứng của biểu bì là quá trình quan trọng trong mỗi giai đoạn phát triển, để làm cứng và ổn định bộ xương ngoài. Một lượng lớn protein và chitin tham gia vào thành phần cấu tạo của lớp biểu bì, và sự tương tác hóa học của chúng với các hợp chất quinone tạo tính bền và đàn hồi cho bộ xương khi trưởng thành. Hoạt động laccase xúc tác cho sự oxy hóa các hợp chất catechol với các protein màng, đóng vai trò quan trọng trong hình thành bộ xương ngoài. (Melda, 2009)

Ở thực vật, hoạt động của tyrosinase có vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất, bao gồm hệ thống chữa lành vết thương. Khi thực vật bị tổn thương, enzyme oxy hóa hợp chất phenolic hình thành cấu trúc polymer, bảo vệ thực vật chống lại côn trùng và vi sinh vật, là nguyên nhân tạo màu nâu của trái cây và rau củ làm giảm chất lượng của thực phẩm. Ngoài tyrosinase, laccase có vai trò quan trọng ở thực vật, chúng tham gia vào quá trình hóa gỗ của vách tế bào thực vật, nhờ liên kết các monomer phenolic làm tăng độ cứng của thân và các bộ phận khác của thực vật. (Melda, 2009)

Ở nấm, PPO mà đặc biệt là laccase có vai trò quan trọng trong sự phân giải lignin, hình thành bào tử và sắc tố nấm, phân giải chất độc,... (Melda, 2009)



Ở vi khuẩn, PPO có vai trò quan trọng trong hình thành melanin. Melanin, một sắc tố polyphenolic, có tác dụng bảo vệ bào tử và tế bào vi khuẩn chống lại sự oxy hóa, các gốc tự do và tia UV. (Melda, 2009)

### **1.2.6. Đặc điểm của PPO trong tôm thẻ chân trắng**

#### *1.2.6.1. Khối lượng phân tử*

PPO từ các loài tôm khác nhau thì có cấu trúc và trọng lượng phân tử khác nhau (Chen, 1997). Ngoài ra, trọng lượng phân tử của PPO thay đổi theo giai đoạn lột xác (Ferrer, 1989). Trọng lượng phân tử PPO ở tôm thẻ chân trắng là 20 – 25 kDa (Chen, 1997).

#### *1.2.6.2. pH tối ưu và tính ổn định*

pH của PPO được phân lập từ các loài động vật giáp xác thì khác nhau và thay đổi theo loài. Trong trường hợp của tôm thẻ chân trắng, PPO có hoạt tính trong phạm vi pH 6,5 – 9,0. Sự thay đổi về pH có thể gây ra những thiệt hại đáng kể đến hoạt tính của enzyme. Hoạt tính PPO giảm đi rõ rệt trong cả hai vùng pH acid hoặc kiềm (Whitaker, 1995). PPO trong tôm thẻ chân trắng không ổn định khi pH dưới 5,0 (Simpson et al., 1987).

#### *1.2.6.3. Nhiệt độ tối ưu và tính ổn định*

Nhiệt độ tối ưu của PPO thay đổi tùy thuộc vào loài và nhiệt độ môi trường sống. PPO ở tôm thẻ chân trắng có hoạt tính tối đa ở 40 – 45°C. Simpson et al., 1987 đã báo cáo rằng sự ổn định nhiệt của PPO từ tôm thẻ chân trắng, sẽ giảm đáng kể khi chiết suất enzyme bị làm nóng lên nhiệt độ 50°C. PPO vẫn còn hoạt tính khi bảo quản lạnh, lạnh đông và các sản phẩm sau khi rã đông.

### **1.3. Các phương pháp bảo quản tôm**

Sự hóa nâu do tác động của PPO làm ảnh hưởng lớn đến chất lượng thực phẩm, làm giảm giá trị kinh tế của nhiều loại thực phẩm, đặc biệt là trái cây tươi như táo, lê, chuối, nho, táo tây và rau củ như rau diếp, nấm rơm, khoai tây,..., và hải sản như tôm, cua. Sự hóa nâu làm giảm giá trị cảm quan do đó làm giảm giá trị thương mại và sự chấp nhận của người tiêu dùng (do sự thay đổi màu sắc, mùi vị, độ mềm và giá trị dinh dưỡng) đối với trái cây và rau củ bị hóa nâu. (Fabienne, 2000)

Ức chế PPO gây hiện tượng hóa nâu trong phần lớn các sản phẩm thực phẩm tươi là mục tiêu của nhiều ngành công nghiệp thực phẩm. Có nhiều phương pháp để ức chế enzyme

hóa nâu, như: bảo quản ở nhiệt độ lạnh, chiếu xạ, sử dụng carbon dioxide siêu tới hạn, sử dụng các phụ gia chống oxy hóa,... tuy nhiên việc lựa chọn phương pháp phù hợp tùy thuộc vào nguồn gốc của PPO, rút ngắn quy trình sản xuất, phụ thuộc vào giá thành của phương pháp và sự chấp nhận của người tiêu dùng đối với phương pháp lựa chọn. (Véronique, 1997)

Dưới đây là một số phương pháp thường được ứng dụng trong bảo quản tôm, nhằm hạn chế tác hại của PPO.

### **1.3.1. Ướp lạnh**

Ướp lạnh thường được sử dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm để giữ hải sản tươi sau khi thu hoạch. Ướp lạnh được sử dụng để làm giảm nhiệt độ của sản phẩm thủy sản đến tới một số điểm (-2 đến -4°C cho lạnh sâu) hoặc cao hơn (0 – 5°C) điểm đông của nước.

Các phương pháp được sử dụng để làm lạnh bao gồm ướp đá, sử dụng nước biển lạnh, nước đá bùn, không khí lạnh, đá khô, và gel đệm đá. Ướp nước đá là cách phổ biến nhất và hữu ích để làm lạnh cá, tôm sau khi đánh bắt và bị ảnh hưởng bởi tiếp xúc trực tiếp giữa đá tan chảy và cá, tôm. Điều này đòi hỏi phải đủ đá và sự sắp xếp hợp lý đá vào các sản phẩm cho phép làm lạnh nhanh. Việc sử dụng nước biển lạnh hoặc nước đá bùn liên quan đến nước biển và đá. Lượng đá được sử dụng phụ thuộc vào nhiệt độ ban đầu của nước và cá tôm, kích thước của container và chất lượng cách nhiệt, và thời gian vận chuyển. Không khí lạnh đã được sử dụng trong một số tàu thuyền thương mại lớn, trong đó không khí lạnh được tuần hoàn bởi một thiết bị bay hơi và một cánh quạt nằm ở cuối của phòng lạnh.

Ướp lạnh cá tôm bằng nước đá khô bị ảnh hưởng bởi sự bay hơi của nước đá, nhưng đá khô không nên sử dụng khi tiếp xúc trực tiếp với các sản phẩm để tránh bị bỏng lạnh. Phương pháp này thường được sử dụng để vận chuyển hàng không. Tuy nhiên, những phương pháp làm lạnh này không làm ngừng được sự hư hỏng nhưng cũng làm chậm xuống đáng kể; do đó, chỉ được sử dụng để làm chậm sự hư hỏng của cá, tôm khi mới đánh bắt nhưng không được sử dụng để bảo quản sản phẩm trong thời gian dài. (Chu Thị Thơm, 2006)

### **1.3.2. Lạnh đông**

Hải sản lạnh đông trở nên cần thiết khi các phương pháp bảo quản khác của cá, tôm như ướp lạnh không phù hợp cho việc bảo quản lâu dài. Dưới điều kiện thích hợp, có thể giữ cho các sản phẩm đông lạnh trong vài tháng mà không thay đổi đáng kể chất lượng.

Lạnh đông là một phương pháp làm ngưng lại, một phần hoặc hoàn toàn, các hoạt động có hại của vi sinh vật và enzyme. Vi sinh vật ngừng hoạt động vào khoảng nhiệt độ từ  $-10^{\circ}\text{C}$  và thấp hơn. Các hoạt động của enzyme thường được kiểm soát khi nhiệt độ giảm xuống dưới điểm đóng băng đến khoảng  $-1^{\circ}\text{C}$ . Nước trong thịt bắt đầu đóng băng ở nhiệt độ từ  $-1^{\circ}\text{C}$  đến  $-3^{\circ}\text{C}$ , và hầu hết nước được chuyển thành đá trong quá trình lạnh đông. Tại  $-5^{\circ}\text{C}$ , khoảng 75% lượng nước trong cơ bắp cá, tôm được đông lạnh.

Trong ngành công nghiệp đánh bắt cá tôm, có 3 phương pháp cơ bản có sẵn để đông lạnh thủy sản, cụ thể là, lạnh đông không khí, lạnh đông tiếp xúc hay tắm và lạnh đông phun hay ngâm. Lạnh đông không khí liên quan đến dòng chảy liên tục của không khí lạnh trên sản phẩm. Lạnh đông đạt được đồng đều nếu như nhiệt độ và tốc độ của không khí trên các sản phẩm là không đổi. Hệ thống làm lạnh loại này rất linh hoạt, và do đó rất hữu ích trong sản xuất sản phẩm lạnh đông nhanh như động vật giáp xác, phi lê cá, và các sản phẩm giá trị cao. Ngược lại, lạnh đông tiếp xúc hoặc tắm cho phép các sản phẩm tiếp xúc trực tiếp với tắm kim loại rộng, bên trong đó có một chất lỏng lạnh được chảy qua. Thường được sử dụng cho các sản phẩm đông lạnh chẳng hạn như cá nguyên con, phi lê cá, tôm, và các sản phẩm thủy hải sản khác. Trong phương pháp lạnh đông phun hay ngâm, các sản phẩm được tiếp xúc trực tiếp với chất làm lạnh, ví dụ như nitơ lỏng. Phương pháp này thường được sử dụng để sản xuất các sản phẩm có giá trị rất cao. (Chu Thị Thom, 2006)

Sự lựa chọn hệ thống làm lạnh sẽ phụ thuộc vào chi phí, chức năng, và tính khả thi bởi vì các phương pháp bảo quản này có thể tốn kém.

### **1.3.3. Sử dụng chất bảo quản**

Các vấn đề khác nhau đang gặp phải với các sản phẩm hải sản ngay cả khi chúng được bảo quản lạnh. Cá ngừ đông lạnh trở nên sẫm màu trong thời gian bảo quản lạnh vì quá trình oxy hóa của hemoglobin trong máu và myoglobin trong thịt. Trong động vật giáp xác, sự biến nâu hoặc đen của tôm đông lạnh cũng được quan sát thấy. Những vấn đề này đã thúc đẩy ngành công nghiệp thực phẩm tìm kiếm những cách thức để kiểm soát sự suy giảm chất lượng trong các sản phẩm thủy sản, và sử dụng các chất bảo quản là một trong những câu trả lời ngay lập tức.

Việc bổ sung chất chống oxy hóa vào sản phẩm là phương pháp nghiên cứu rộng rãi nhất cho việc kiểm soát sự đổi màu và oxy hóa lipid trong thịt cá và các sản phẩm thịt khác. Chất chống oxy hóa có nhiều phương thức hoạt động trong đó bao gồm xúc tác cô lập các

ion kim loại, giảm nồng độ oxy, dập tắt gốc oxy tự do và superoxide ion âm, phân hủy sản phẩm oxy hóa sơ cấp thành các hợp chất không bay hơi, ngăn chặn sự khơi mào bằng cách nhặt các gốc được tạo ra ban đầu và phá vỡ chuỗi. Cơ chế phá vỡ chuỗi đã được nghiên cứu trong nhiều chất chống oxy hóa (Roginsky et al., 2005). Trong cơ chế này, các chất chống oxy hóa cho một nguyên tử hydro vào gốc peroxy lipid và hình thành một gốc chống oxy hóa, chất chống oxy hóa loại bỏ các gốc tự do, hay kết hợp với gốc peroxy lipid khác, hoặc một gốc chống oxy hóa, sẽ chấm dứt các phản ứng oxy hóa.

Một số loại chất chống oxy hóa có thể được sử dụng cho các sản phẩm thực phẩm. Tuy nhiên, việc lựa chọn chất chống oxy hóa cho các loại thực phẩm là một mối quan tâm lớn trong ngành công nghiệp vì các quy định nghiêm ngặt. Nói chung, các chất chống oxy hóa có liên quan đến phụ gia thực phẩm phải có hiệu quả ở liều lượng thấp, không ảnh hưởng đến vị giác, và không độc hại. Do đó, chất chống oxy hóa tự nhiên nói chung rất thích hợp dùng trong ứng dụng thực phẩm.

#### **1.4. Tổng quan về vitamin C**

Vitamin C hay acid ascorbic là một chất dinh dưỡng thiết yếu cho các loài sinh vật bậc cao, và cho một số nhỏ các loài sinh vật bậc thấp khác. Vitamin C cần thiết trong một loạt các phản ứng trao đổi chất ở động vật và cả thực vật. Vitamin C là một chất chống oxy hóa giúp hạn chế ảnh hưởng xấu của các gốc tự do lên các tế bào của cơ thể. (Nishikimi et al., 1996)

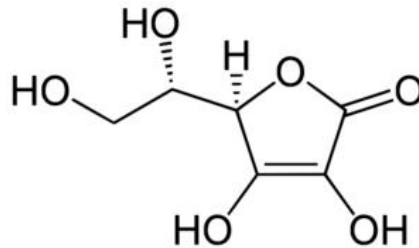
##### **1.4.1. Nguồn gốc**

Vitamin C có nhiều trong các loại rau quả tươi như cam, chanh, quýt,... Hàm lượng vitamin C trong rau quả phân phối không đều, có nhiều ở lớp vỏ hơn ở ruột, ở lá nhiều hơn ở cuống và thân rau, và có hàm lượng cao trong rau xanh, đặc biệt là bông cải xanh, tiêu, khoai tây, cải brussel, rau cải, cà chua,...

Trong thiên nhiên, vitamin C có trong hầu hết các loại rau quả tươi. Thông thường, các loại rau quả trồng ở nơi đầy đủ ánh sáng có hàm lượng vitamin C cao hơn. Nếu tính số mg vitamin C có trong 100g rau quả ăn được (mg%) thì hàm lượng lớn nhất có trong rau ngót (185 mg%), sau đó là cần tây (150 mg%), rau mùi (140 mg%), kinh giới (110 mg%), rau đay (77 mg%),... Trong các loại quả thì nhiều nhất là thanh trà (177 mg%), sau đó là bưởi (95 mg%), thị (81 mg%), ổi (62 mg%), nhãn (58 mg%), đu đủ chín (54 mg%),... (Nguyễn Công Khẩn, Hà Thị Anh Đào, 2007)

### 1.4.2. Cấu tạo

- Tên theo IUPAC: 2-oxo-L-threo-hexono-1,4-lactone-2,3-enediol
- Tên thông thường: acid ascorbic, vitamin C
- Công thức phân tử:  $C_6H_8O_6$
- Công thức cấu tạo:

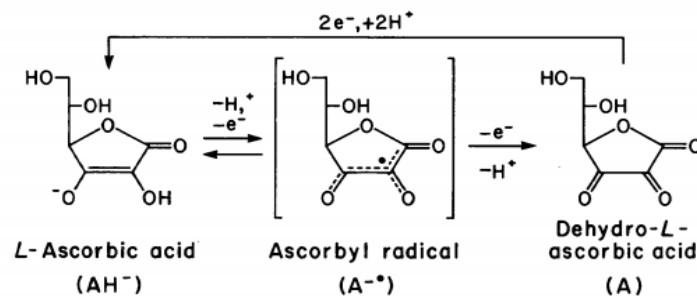


Hình 1.5. Công thức cấu tạo của vitamin C. Nguồn: (Internet)

- Khối lượng phân tử: 176,13 g/mol
- Có dạng: bột màu trắng đến vàng nhạt (khan)
- Nhiệt độ nóng chảy: 193°C (phân hủy)
- Khả năng hòa tan trong nước: cao

### 1.4.3. Cơ chế hoạt động

Vitamin C khi tiếp xúc với oxy không khí, sẽ cho đi hai electron ở nối đôi thứ hai và thứ ba trong mạch sáu carbon, tạo thành gốc tự do ascorbyl, gốc tự do này lại tiếp tục bị mất đi hai electron nữa, tạo thành acid dehydro-L-ascorbic (Bielski, 1975). Các phản ứng này được thể hiện ở hình 1.6.



Hình 1.6. Quá trình oxy hóa của vitamin C. Nguồn: (Bielski, 1975)

### 1.4.4. Vai trò

Vitamin C được xem là một chất chống oxy hóa vì khả năng cho hai electron ở nối đôi giữa carbon thứ hai và carbon thứ ba trong mạch carbon phân tử, giúp ngăn chặn các hợp

chất khác khỏi quá trình oxy hóa. Tuy nhiên với bản chất của phản ứng này, vitamin C bị oxy hóa và tạo thành các gốc tự do là acid semidehydroascorbic hay ascorbyl. So sánh với các gốc tự do khác thì ascorbyl có chu kỳ bán rã chỉ 105 giây và trở về mặt hóa học. Vì vậy mà vitamin C là một chất chống oxy hóa được ưa thích sử dụng. (Bielski, 1975)

Phương pháp phổ biến nhất trong ức chế enzyme hóa nâu trong công nghiệp và thí nghiệm là sử dụng tác nhân khử như acid ascorbic, hợp chất thiol, sulfite và amino acid. Phức hợp khử ngăn chặn sự hóa nâu bởi sự khử *o*-quinon nội sinh thành *o*-diphenol ban đầu hoặc bất hoạt không thuận nghịch PPO. Tuy nhiên hiệu quả của tác nhân khử giảm đáng kể nếu sử dụng chúng sau khi phản ứng enzyme đã bắt đầu. (Fabienne, 2000)

Acid ascorbic và dẫn xuất của nó được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm để ức chế enzyme hóa nâu. Trong hệ thống thực phẩm, chúng hoạt động như các gốc tự do và khử *o*-quinone thành diphenol. Trong hệ thống sinh học, acid ascorbic ức chế sự hóa nâu trong dịch chiết quả lê, trong táo acid ascorbic di-phosphat và tri-phosphat ức chế mạnh enzyme hóa nâu trên mặt cắt của táo. (Véronique, 1997)

### **1.5. Định hướng nghiên cứu**

Ở Việt Nam và trên thế giới, có nhiều giải pháp bảo quản tôm sau thu hoạch song vẫn còn nhiều vấn đề tồn tại như giá thành bảo quản cao, vận chuyển phức tạp, độc hại khi dùng các chất kháng oxy hóa tổng hợp. Bên cạnh đó, các phương pháp bảo quản lạnh thì đơn giản hơn, rẻ tiền hơn, song lại không mang lại chất lượng tốt, thời gian bảo quản ngắn do quá trình oxy hóa vẫn xảy ra chậm trong điều kiện lạnh đông làm giảm chất lượng tôm.

Sodium metabisulfite là phụ gia đang được sử dụng phổ biến nhất hiện nay trong việc hạn chế quá trình biến đen của tôm, tuy nhiên phụ gia này có nhiều tác hại ảnh hưởng đến sức khỏe người sử dụng. Sodium metabisulfite được liệt vào danh sách những hợp chất nguy hiểm bởi ACGIH, DOT, NIOSH và IARC. Tiếp xúc trực tiếp với sodium metabisulfite có thể gây kích ứng da và mắt, nếu hít phải có thể gây dị ứng cổ, họng và phổi gây ra ho, khó thở hoặc thở gấp. Việc phơi nhiễm trong thời gian dài với sodium metabisulfite có thể dẫn đến bệnh hen suyễn.

Do đó các nghiên cứu theo định hướng bảo quản bằng các chất chống oxy hóa có nguồn gốc tự nhiên, lành tính đối với người và môi trường, sẽ giải quyết được vấn đề biến đen và oxy hóa chất béo ở tôm mà không gây ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng.

### **1.5.1. Tình hình nghiên cứu ứng dụng phụ gia bảo quản tôm đông lạnh**

Tôm là nguồn nguyên liệu thực phẩm đem lại giá trị kinh tế cao, vì vậy mà vấn đề bảo quản tôm đang thu hút nhiều sự quan tâm. Năm 2011, Mr. Nilesh Prakash Nirmal đã có công trình nghiên cứu về một số hợp chất chống oxy hóa từ thiên ứng dụng trong bảo quản tôm thẻ chân trắng như: catechin, acid ferulic, chất chiết từ trà xanh, chiết xuất từ hạt và lá của cây keo dậu... Gần đây, Zeng và Chen (2005) đã có nghiên cứu về khả năng ức chế tyrosinase của vitamin C và cho kết quả khả quan. Các nghiên cứu đã cho thấy kết quả khả quan về việc ứng dụng chất chống oxy hóa có nguồn gốc tự nhiên vào việc bảo quản tôm đông lạnh. Thay thế cho các phụ gia độc hại đang được sử dụng, như sodium metabisulfite,...

### **1.5.2. Định hướng nghiên cứu sử dụng vitamin C trong bảo quản tôm đông lạnh**

Vitamin C là một hợp chất vừa mang lại nhiều lợi ích về sức khỏe vừa đóng vai trò như một chất chống oxy hóa, và đặc biệt là khá lành tính đối với người sử dụng. Ngoài ra vitamin C còn là một hợp chất phổ biến, có giá thành rẻ. Từ những lợi ích mang lại đó mà trong bài luận văn này đã nghiên cứu về ứng dụng của vitamin C trong bảo quản tôm thẻ chân trắng lạnh đông.

Điểm mới trong nghiên cứu này là khảo sát được hoạt tính khử của Vitamin C, khả năng ức chế enzyme PPO trong tôm thẻ chân trắng của vitamin C. Từ cơ sở đó ứng dụng trong bảo quản tôm thẻ chân trắng lạnh đông.

## CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Nguyên liệu: Tôm thẻ chân trắng

Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) được mua ở chợ Việt Thắng (Thủ Đức, Tp. HCM), kích cỡ 50 - 60 con/kg. Tôm khi mua vẫn còn sống và được bảo quản trong bể oxy để vận chuyển về phòng thí nghiệm.

### 2.2. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị

#### 2.2.1. Hóa chất

- Ammonium sulfate (Xilong Chemical, Trung Quốc)
- Disodium hydrophosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) (Xilong Chemical, Trung Quốc)
- Ferric chloride (Xilong Chemical, Trung Quốc)
- Kali nitrate ( $\text{KNO}_3$ ) (Merck, Đức)
- L- $\beta$ -(3,4 dihydroxylphenyl) alanine (L-DOPA) (Sigma-Aldrich, USA)
- Malondialdehyde (MDA) (Eagle Biosciences, USA)
- Monosodium orthophosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Xilong Chemical, Trung Quốc)
- Polyoxyethylene (23) lauryl ether (Brij-35) (Sigma-Aldrich, USA)
- Sodium metabisulfite (SMS) (Xilong Chemical, Trung Quốc)
- Thiobarbituric acid (TBA) (Sigma-Aldrich, USA)
- Trichloroacetic acid (TCA) (Merck, Đức)
- Vitamin C (Xilong Chemical, Trung Quốc)

#### 2.2.2. Dụng cụ

- Bình định mức (Duran, Đức)
- Bình tam giác (Duran, Đức)
- Bóp cao su (Kartell, Ý)
- Cốc thủy tinh (Duran, Đức)
- Cối chà sỏi (Boeco, Đức)
- Cuvette thủy tinh (Chrom Tech, USA)
- Đũa thủy tinh (Việt Nam)
- Giá ống nghiệm (Việt Nam)
- Giấy lọc (Whatman, Anh)



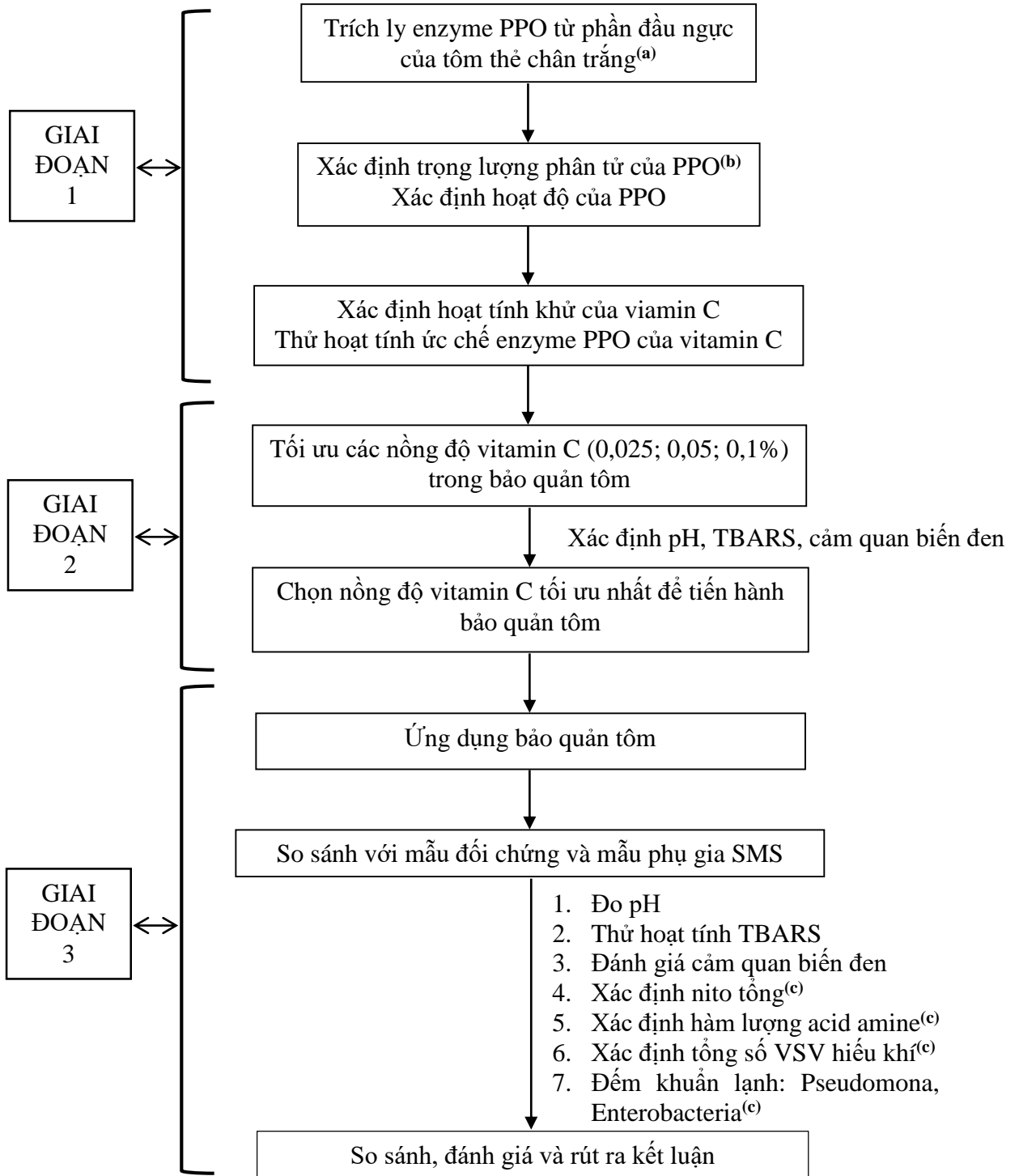
- Màng thẩm tách (Cell Dialysis Membrane, Fseqchem, Việt Nam)
- Micropipette (Winlab, Đức)
- Ống đong (Duran, Đức)
- Ống nghiệm (Duran, Đức)
- Phễu lọc (Duran, Đức)
- Pipette (Duran, Đức)

### **2.2.3. Thiết bị**

- Bể điều nhiệt (Mettler, Đức)
- Cân phân tích 4 số (Precisa, Thụy Sĩ)
- Máy đo độ hấp thụ quang UV-Vis (Hitachi, Nhật Bản)
- Máy đo pH (Seven easy pH, Trung Quốc)
- Máy đồng hóa (Ika, Đức)
- Máy HPLC 1100 (Agilent, USA)
- Máy ly tâm (Hettich, Đức)
- Máy ly tâm lạnh (Hermle, Đức)
- Máy xay (Philips HR2106, Trung Quốc)
- Tủ lạnh (Hitachi, Nhật Bản)
- Tủ sấy (Mettler, Đức)

## 2.3. Nội dung nghiên cứu

### 2.3.1. Sơ đồ nghiên cứu



Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu của khóa luận

### **✚ Nơi tiến hành thí nghiệm:**

- Thí nghiệm (a): Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng Tp. HCM (quận 12, Tp. HCM)
- Thí nghiệm (b): Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Tp. HCM (quận 5, Tp.HCM)
- Thí nghiệm (c): Viện Pasteur Tp. HCM (quận 3, Tp. HCM)
- Các thí nghiệm còn lại được thực hiện tại các phòng Thí nghiệm Hóa hữu cơ, phòng Thí nghiệm Hóa sinh, xưởng Công nghệ Thực phẩm – trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Tp. HCM (quận Thủ Đức, Tp.HCM)

### **2.3.2. Thuyết minh sơ đồ**

#### **✚ Giai đoạn 1:** Trích ly enzyme PPO và thử hoạt tính ức chế enzyme PPO của vitamin C.

Enzyme PPO được trích ly từ đầu của tôm thẻ chân trắng, sau đó xác định khối lượng phân tử bằng kỹ thuật sắc ký lọc gel. Tiếp theo, xác định hoạt độ của enzyme PPO khi cho phản ứng với chất nền L-DOPA.

Xác định hoạt tính khử của vitamin C và thử hoạt tính ức chế enzyme PPO của vitamin C.

#### **✚ Giai đoạn 2:** Tối ưu hóa nồng độ Vitamin C để ứng dụng bảo quản tôm.

Các mẫu tôm được xử lý bằng dung dịch vitamin C với các nồng độ khác nhau: 0,025; 0,05; 0,1% và đo pH, giá trị TBARS và cảm quan biến đen trong 7 ngày bảo quản ở 2°C.

Từ đó, chọn ra nồng độ vitamin C tối ưu để ứng dụng bảo quản tôm.

#### **✚ Giai đoạn 3:** Ứng dụng nồng độ vitamin C tối ưu để bảo quản tôm

Sau khi tìm được nồng độ vitamin C tối ưu, ứng dụng vào bảo quản tôm trong 7 ngày ở 2°C, so sánh với mẫu đối chứng và mẫu phụ gia SMS.

Các phương pháp sử dụng để so sánh, đánh giá bao gồm: đo pH, thử hoạt tính TBARS, xác định nito tổng, xác định hàm lượng nito acid amine, xác định tổng số VSV hiếu khí và đếm khuẩn lỵ: Pseudomona, Enterobacteria.

## **2.4. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.4.1. Trích ly enzyme PPO từ phần đầu ngực của tôm thẻ chân trắng và thử hoạt tính ức chế PPO của vitamin C**

#### 2.4.1.1. Chuẩn bị mẫu tôm

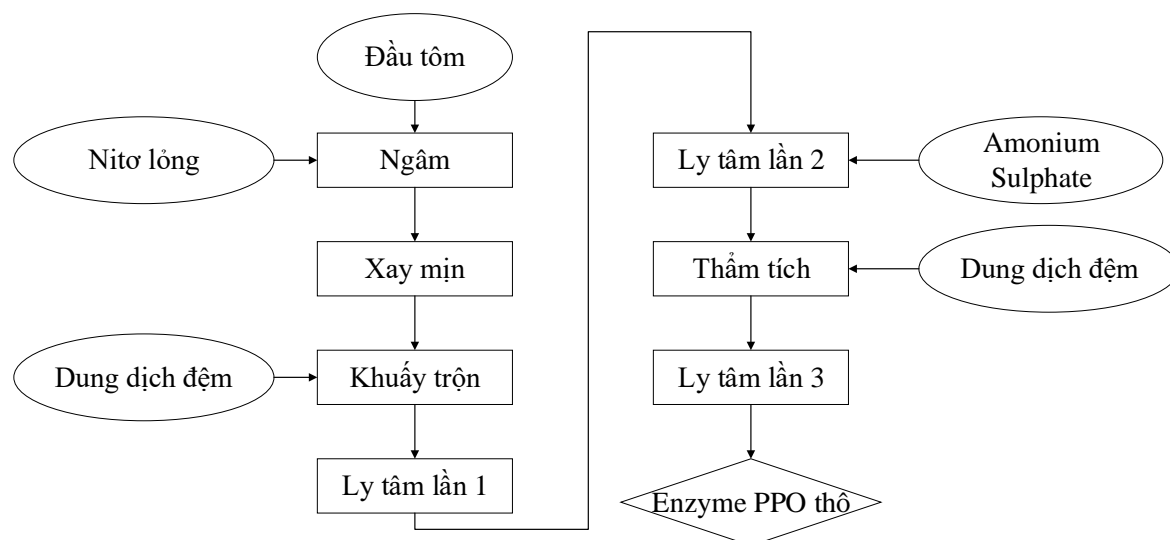
Tôm thẻ chân trắng loại 55-60 con/kg. Tôm phải tươi sống, được mua tại một cửa hàng nhất định và không có chứa chất bảo quản.

Tôm được bảo quản trong nước đá với tỉ lệ tôm/nước đá là 1/2 (w/w) và được vận chuyển về phòng thí nghiệm. Sau đó, tôm được rửa bằng nước lạnh và bảo quản trong nước đá cho đến khi được sử dụng (thời gian bảo quản không quá 5 giờ).

#### 2.4.1.2. Trích ly enzyme PPO

Việc phân tách PPO từ phần đầu ngực của tôm được thực hiện theo phương pháp của Nirmal và Benjakul (2009a) và Simpson, Marshall và Otwell (1987) với một số thay đổi.

#### ✚ Sơ đồ quy trình:



Sơ đồ 2.2. Quy trình trích ly enzyme PPO

#### ✚ Thuyết minh quy trình:

- Ngâm: Tôm tách lấy phần đầu và bỏ vỏ, ngâm trong nitor lỏng, mục đích làm lạnh đông cực nhanh đầu tôm xuống nhiệt độ  $-196^{\circ}\text{C}$ . Nhằm hỗ trợ cho quá trình xay mịn.
- Xay mịn: Đầu tôm sẽ được xay mịn bằng cối xay khô để thu được dạng bột mịn. Bột này được bảo quản ở  $-20^{\circ}\text{C}$  để sử dụng.
- Khuấy trộn: Cân 50g lượng bột thu được phối trộn với 150ml dung dịch đệm photphate 0,05M; pH 7,2 chứa 1,0M NaCl và 0,2% Brij-35. Hỗn hợp được khuấy trộn liên tục ở  $4^{\circ}\text{C}$  trong 30 phút.

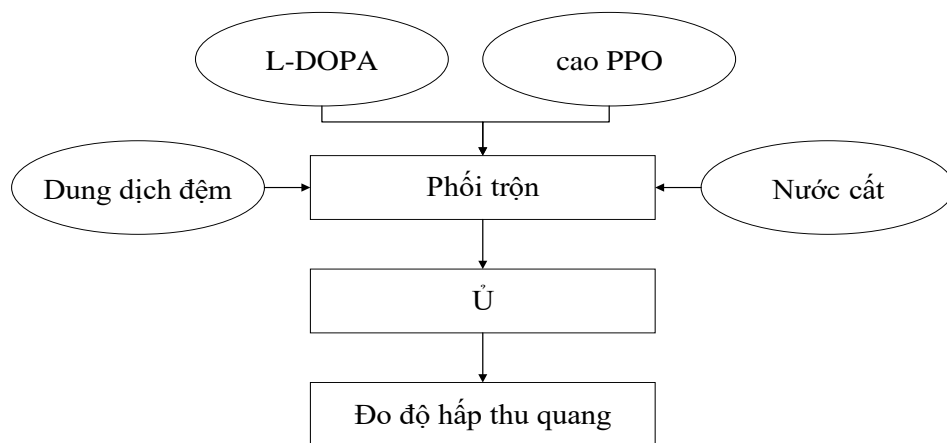
- Ly tâm lần 1: Hỗn hợp được ly tâm ở 8000 xg ở 4°C trong 30 phút bằng máy ly tâm lạnh. Nhằm mục đích thu phần nổi trong hỗn hợp sau ly tâm.
- Ly tâm lần 2: Thêm một lượng amonium sulphate vào hỗn hợp đến bão hòa 40% và tiến hành ly tâm với tốc độ 12500 xg ở 4°C trong 30 phút. Nhằm mục đích thu phần lắng của hỗn hợp sau ly tâm.
- Thẩm tích: Hòa tan hỗn hợp sau ly tâm với lượng tối thiểu dung dịch đệm phosphate 0,05M; pH 7,2 chứa 1,0M NaCl và 0,2% Brij-35. Thực hiện thẩm tích bằng lượng dung dịch đệm gấp 15 lần lượng thể tích ban đầu với 3 lần thay đổi dung dịch đệm ở 4°C trong 24 giờ.
- Ly tâm lần 3: Sau quá trình thẩm tích ta tiến hành ly tâm với tốc độ 3000 xg ở 4°C trong 30 phút. Thu phần nổi trong hỗn hợp sau ly tâm, đây chính là cao trích PPO thô.

Lượng PPO thô sau quá trình trích ly được bảo quản ở 2°C và sử dụng không quá 2 tuần.

#### 2.4.1.3. Xác định hoạt độ enzyme PPO

Hoạt động PPO được khảo sát bằng cách sử dụng L-DOPA làm chất nền theo phương pháp Simpson et al. (1987) với một sửa đổi nhỏ.

#### ✚ Sơ đồ quy trình:



Sơ đồ 2.3. Quy trình xác định hoạt tính enzyme PPO

#### ✚ Thuyết minh quy trình:

- Phối trộn: 100 µL cao trích PPO thô, 600 µL 15 mM L-DOPA trong nước cất, 400 µL 0,05 M đệm phosphate, pH 6.0 và 100 µL nước cất.

- Ủ: Hoạt tính PPO được xác định trong 3 phút ở 45°C bằng cách theo dõi sự hình thành dopachrome.
- Đo độ hấp thụ quang: Đo độ hấp thụ ở bước sóng 475 nm bằng máy quang phổ hồng ngoại khả kiến.

Mẫu blank được chuẩn bị bằng cách chuẩn bị như mẫu thử nhưng thay enzyme và cơ chất bằng nước cất.

Hoạt độ của PPO được tính theo công thức:

$$A = \frac{\Delta A_{475}}{K \times m \times T} \quad (2.1)$$

Trong đó:

- A – Hoạt độ của enzyme PPO (units/mg enzyme).
- $\Delta A_{475}$  – Độ hấp thụ của mẫu có chứa enzyme PPO
- K – 0,001 – Hệ số thay đổi độ hấp thụ mỗi phút ở 475nm cho mỗi đơn vị PPO trong hỗn hợp phản ứng 2,4mL.
- m – Khối lượng enzyme trong hỗn hợp phản ứng (mg)
- T – Thời gian phản ứng (phút)

#### 2.4.1.4. Xác định khối lượng phân tử PPO

Enzyme PPO sau khi được tách chiết từ đầu của tôm thẻ chân trắng, được đem đi xác định khối lượng phân tử bằng kỹ thuật sắc ký lọc gel, tại Trường Đại học Khoa học tự nhiên Tp.HCM.

#### Nguyên tắc của kỹ thuật sắc ký lọc gel:

Trong sắc ký gel, pha tĩnh là mạng polymer có lỗ rỗng và các lỗ rỗng này được phủ đầy dung môi dùng làm pha động. Một hỗn hợp gồm nhiều hợp chất có trọng lượng phân tử khác nhau, có thể tách riêng được hay không là tùy vào kích thước lỗ rỗng. Các phân tử có kích thước lớn hơn lỗ rỗng, không thể chui lọt vào bên trong lỗ rỗng, nhanh chóng theo dòng chảy của pha động đi ra khỏi cột. Các phân tử có trọng lượng phân tử nhỏ hơn kích thước lỗ rỗng, sẽ toàn phần hay bán phần lọt vào lỗ rỗng, tuy rằng cuối cùng rồi cũng theo dòng chảy đi ra khỏi cột nhưng sẽ chậm trễ hơn. Dòng chảy pha động khiến các phân tử lớn không thể chui vào lỗ rỗng của mạng gel, nhanh chóng đi xuyên qua cột, ra khỏi cột, trong khi phân tử nhỏ ra khỏi cột lâu hơn vì còn chui vào và đi ra khỏi lỗ rỗng của gel. Như vậy, các thành

phần khác nhau của hỗn hợp mẫu khi đi ngang qua cột sắc ký gel, sẽ ra khỏi cột lần lượt theo trình tự trọng lượng phân tử lớn đi ra khỏi cột trước, phân tử nhỏ đi ra khỏi cột sau.

Sắc ký lọc gel thường được dùng để: loại muối, các phân tử có kích thước nhỏ; tinh sạch phân tử sinh chất ở trong mẫu nhỏ; xác định trọng lượng phân tử,...

#### ✚ Các đại lượng cơ bản:

- Phân tử lượng trung bình số  $M_n$

Định nghĩa: Phân tử lượng trung bình số được định nghĩa là tổng khối lượng của các phân tử trong một mẫu polymer chia cho tổng số mol các phân tử có trong mẫu.

$$M_n = \frac{W}{\sum N_i} = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i} \quad (2.2)$$

- Với kích thước các phân tử khác nhau phân bố từ  $i = 1 \rightarrow \infty$
- $N_i$  là số mol (hay số phân tử) có phân tử lượng  $M_i$
- $W = \sum M_i N_i$ : tổng khối lượng của polymer
- $\sum N_i$ : tổng số mol của polymer

- Phân tử lượng trung bình khối  $M_w$

Phân tử lượng trung bình khối được xác định theo công thức:

$$M_w = \sum P_i M_i \quad (2.3)$$

Với  $P_i$  là phần khối lượng của các phân tử có trong phân tử lượng  $M_i$

$$P_i = W_i / \sum W_i = W_i / W \quad (2.4)$$

$$W = \sum W_i = \sum N_i M_i \quad (2.5)$$

$$W_i = N_i M_i \quad (2.6)$$

- Phân tử lượng trung bình nhớt  $M_v$

Polymer có phân tử lượng càng lớn, độ nhớt của nó càng lớn.

- Chỉ số đa phân tán

Chỉ số đa phân tán  $D$ : đặc trưng cho độ phân tán của mẫu polymer

$D = 1$  đồng nhất về độ trùng hợp trong toàn mẫu polymer (điều kiện lý tưởng)

$D > 1$  mẫu polymer có độ đa phân tán,  $D$  càng lớn mẫu càng phân tán

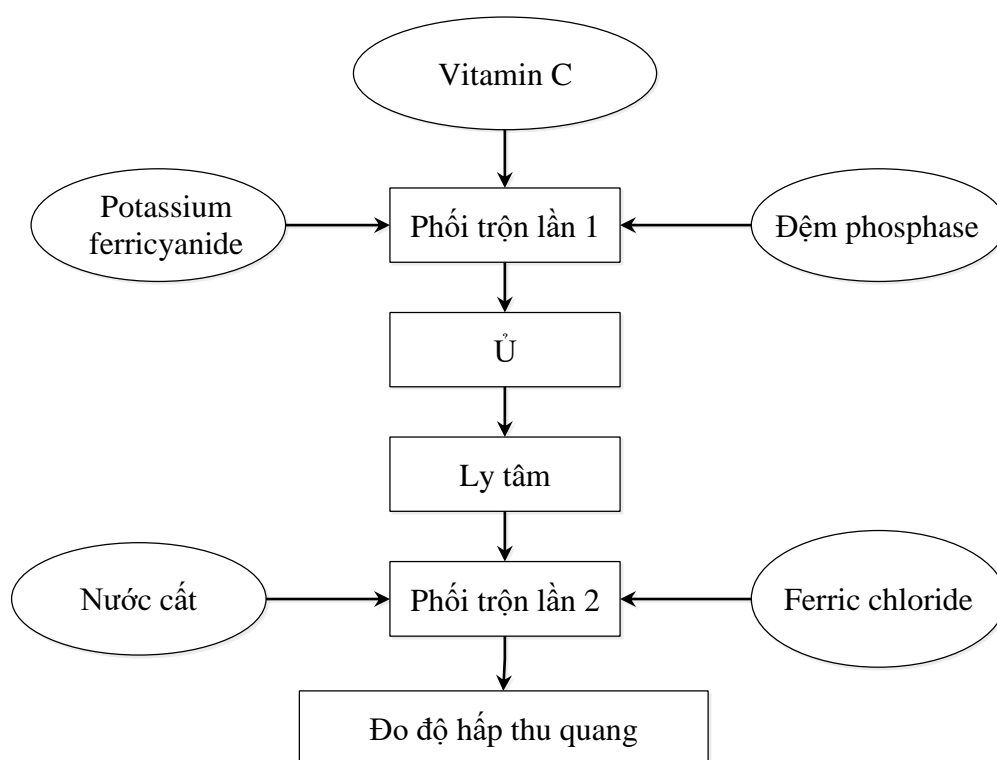
✚ **Các thông số được sử dụng trong thí nghiệm xác định trọng lượng phân tử PPO:**

- Pha động: Pha  $\text{KNO}_3$  nồng độ 0,5 M, định mức tới vạch mức 1,0 L bằng nước khử ion, lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ . Sau đó, đánh siêu âm đuổi bọt khí trong 45 phút.
- Pha tĩnh: Cột Ultrahydrogel 500 (300 mm x 7,8 mm ID).
- Nhiệt độ lò cột: 40°C.
- Nhiệt độ đầu dò: 35°C
- Tốc độ dòng pha động: 1,0 mL/phút
- Thể tích mẫu tiêm: 20,0  $\mu\text{L}$

2.4.1.5. *Xác định hoạt tính khử của vitamin C*

Hoạt tính khử của vitamin C được xác định theo phương pháp của Negi et al. (2005).

✚ **Sơ đồ quy trình:**



Sơ đồ 2.4. Quy trình xác định hoạt tính khử vitamin C

✚ **Thuyết minh quy trình**

- Phối trộn lần 1: Vitamin C (0,1; 0,5; 1,0 mg) được phối trộn với 1,00 mL dung dịch potassium ferricyanide 1% và 1,00 mL dung dịch đệm phosphate 2,0 M, pH 6,6.
- Ủ: Hỗn hợp trên được đem đi ủ ở 50°C trong 20 phút bằng bể điều nhiệt.



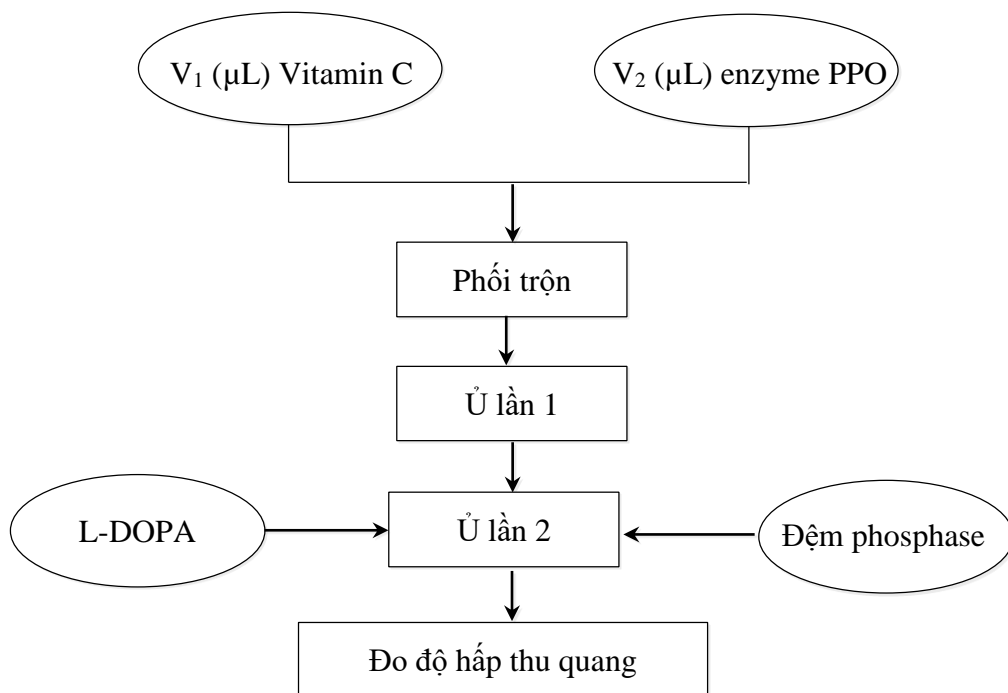
- Ly tâm: Sau khi ủ hỗn hợp được bổ sung thêm 1,00 mL dung dịch TCA 10% và đem ly tâm ở 2000 xg trong 10 phút.
- Phối trộn lần 2: Phần nổi của hỗn hợp sau ly tâm (1,00 mL) được phối trộn với 1,00 mL nước cất và 0,20 mL ferric chloric 0,1%.
- Đo độ hấp thụ quang: Hỗn hợp sau khi phối trộn lần 2 được đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm.

Sự gia tăng độ hấp thụ cho thấy sự gia tăng về đặc tính khử của vitamin C.

#### 2.4.1.6. Xác định khả năng ức chế enzyme PPO của vitamin C

Hoạt tính ức chế PPO của vitamin C được xác định bằng việc sử dụng L-DOPA theo phương pháp của Nirmal and Benjakul (2009b), với một số sửa đổi.

#### ✚ Sơ đồ quy trình:



Sơ đồ 2.5. Quy trình xác định khả năng ức chế PPO của vitamin C

#### ✚ Thuyết minh quy trình:

- Phối trộn: Dung dịch vitamin C ở nồng độ 1000µg/mL được phối trộn với 100µL cao trích PPO thô để thu được dung dịch mới có nồng độ cuối cùng lần lượt là 0,01; 0,05 và 0,1% (w/v).
- Ủ lần 1: Hỗn hợp phản ứng được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng.

- Ủ lần 2: Hỗn hợp sau khi ủ được bổ sung thêm 400 $\mu$ L dung dịch đệm phosphate (0,05M ; pH 6,0). Để bắt đầu phản ứng, thêm 600 $\mu$ L dung dịch L-DOPA 15mM và ủ thêm 3 phút.
- Đo độ hấp thụ quang: đo độ hấp thụ ở bước sóng 475 nm bằng máy quang phổ hồng ngoại khả kiến.
- Mẫu đối chứng (control) được thực hiện tương tự nhưng sử dụng nước cất thay cho cao trích.

$$\text{Phần trăm ức chế (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (2.7)$$

Trong đó:

A – Độ hấp thụ quang của mẫu đối chứng

B – Độ hấp thụ quang của mẫu phản ứng

#### **2.4.2. Khảo sát nồng độ Vitamin C tối ưu sử dụng trong bảo quản tôm**

##### *2.4.2.1. Xử lý mẫu tôm*

Vitamin C được pha ở các nồng độ (0,025; 0,05; 0,1%) sau đó được sử dụng làm dung dịch ngâm tôm với tỷ lệ tôm/dung dịch ngâm là 1/2 (w/v).

Tôm còn sống được làm chết bằng nước đá, rửa sạch sau đó ngâm vào dung dịch vitamin C có các nồng độ như trên. Vớt ra để ráo trong 2 phút. Sau đó được bảo quản ở 2°C trong vòng 7 ngày.

Tối ưu hóa nồng độ vitamin C bằng các phương pháp: xác định giá trị pH, thử hoạt tính kháng oxy hóa TBARS, đánh giá cảm quan biến đen được thực hiện mỗi ngày trong thời gian bảo quản.

##### *2.4.2.2. Xác định sự thay đổi pH*

Phương pháp xác định pH thịt tôm được thực hiện theo phương pháp của Lopez-Caballero et al. (2005).

Thịt tôm 2g được giã mịn, phối trộn với 20,0 mL nước cất, hỗn hợp được đem đi đồng hóa trong vòng 1 phút. Tiếp theo, hỗn hợp được để ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Sau đó hỗn hợp được đem đi xác định pH bằng máy đo pH.

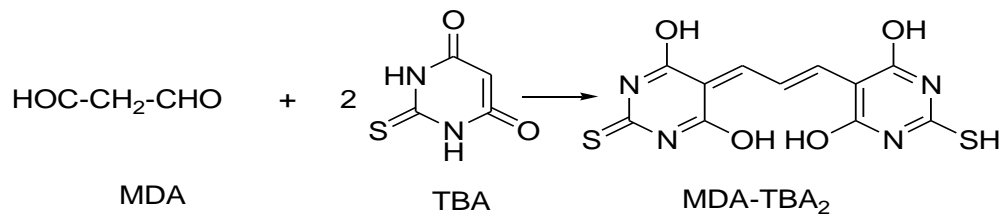
### 2.4.2.3. Phương pháp thử hoạt tính kháng oxy hóa (phương pháp TBARS)

#### ✚ Nguyên tắc:

MDA khi cho phản ứng với TBA, một phân tử MDA phản ứng với hai phân tử TBA tạo phức màu hồng hấp thụ cực đại ở bước sóng 532 nm (hình 2.1). Phản ứng được thực hiện ở môi trường pH 2 – 3, nhiệt độ 90 – 100°C trong thời gian từ 10 đến 15 phút, tạo ra phức có màu, hấp thụ UV tại bước sóng cực đại là 532 nm, được phát hiện bởi máy đo quang phổ hấp thụ phân tử.

Các chất kháng oxy hóa sẽ làm giảm sự hình thành MDA, nên dựa vào sự giảm cường độ hấp thụ của phức sẽ tính được khả năng kháng oxy hóa của chất cần nghiên cứu.

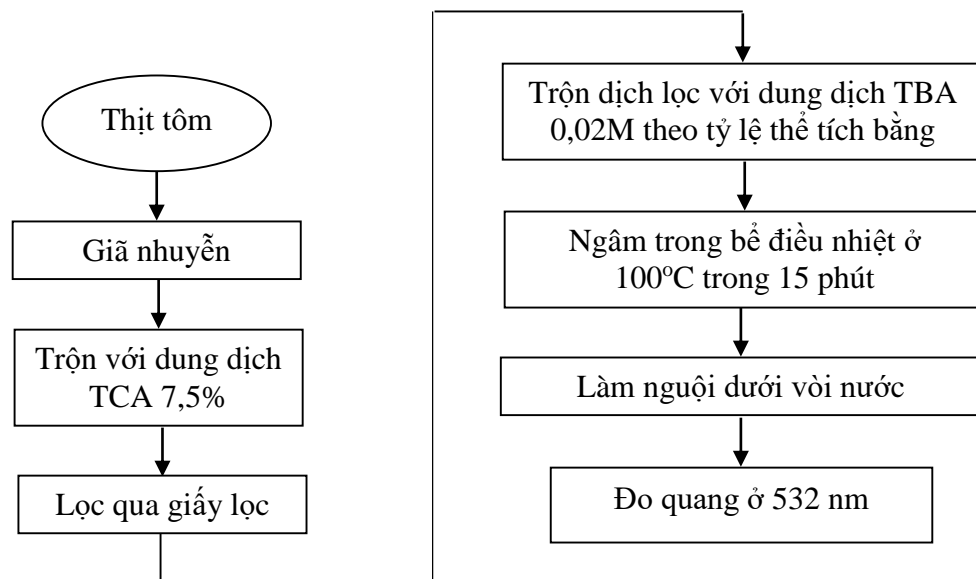
Phản ứng tạo phức giữa MDA và TBA được biểu diễn như hình 2.1.



Hình 2.1. Phản ứng tạo phức giữa malonyldialdehyde và thiobarbituric acid

#### ✚ Sơ đồ quy trình:

Quy trình đánh giá quá trình ức chế quá trình peroxide hóa lipid theo phương pháp TBARS được thực hiện như sơ đồ bên dưới:



Sơ đồ 2.6. Quy trình thử TBARS

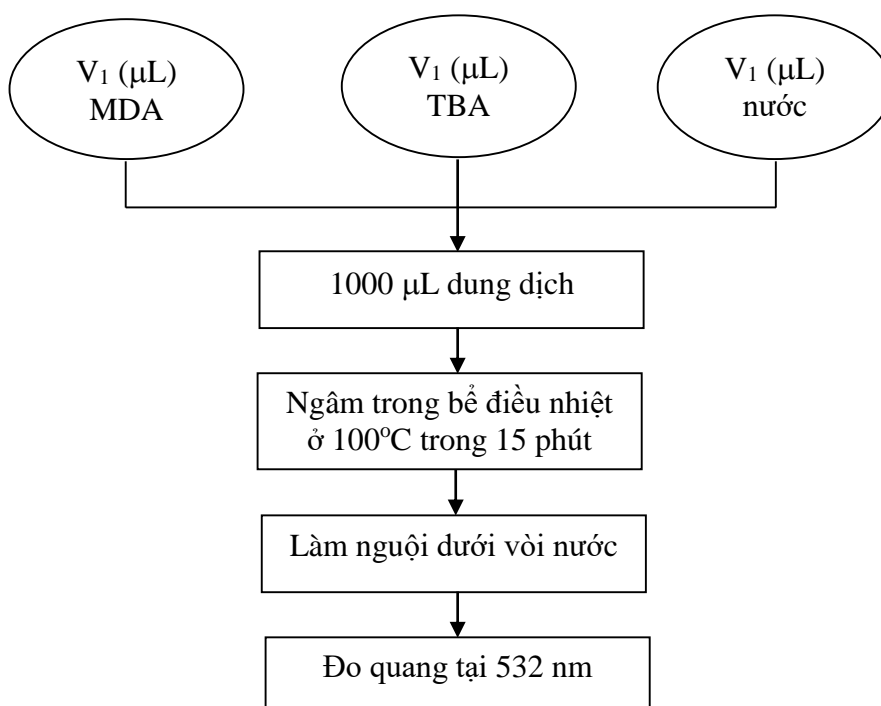
### ✦ Thuyết minh quy trình:

Tôm bỏ vỏ, đem đi giã nhuyễn bằng cối chày sứ, sau đó đem trộn với 10,0 mL dung dịch TCA 7,5%, đem hỗn hợp lọc qua giấy lọc khoảng 15 phút, lấy dịch lọc trộn với dung dịch TBA 0,02M theo tỉ lệ thể tích bằng nhau, sau đó đem ngâm trong bể điều nhiệt ở 100°C trong 15 phút rồi đem đi đo quang tại bước sóng 532 nm.

#### ➤ Xây dựng đường chuẩn MDA

- Dung dịch chuẩn MDA được đo ở các nồng độ khảo sát là 10,0; 5,0; 2,5; 1,0; 0,5; 0,25; 0,1  $\mu\text{g/ml}$ .
- Pha TBA 0,02M: cân 0,28g TBA định mức trong 100 mL nước cất.
- Quét bước sóng 532nm.

Quy trình xác định độ hấp thụ quang được thực hiện như sơ đồ:



Sơ đồ 2.7. Quy trình xây dựng đường chuẩn MDA

#### ➤ Thuyết minh quy trình

Pha MDA theo các nồng độ là 10,0; 5,0; 2,5; 1,0; 0,5; 0,25; 0,1  $\mu\text{g/mL}$  với các dung dịch TBA và nước sao cho tổng thể tích đạt 10,0 mL dung dịch, sau đó đem ngâm trong

bể biều nhiệt ở 100°C trong 15 phút cho phản ứng với nhau, rồi đem đo độ hấp thu quang tại bước sóng 532 nm.

➤ *Xử lý kết quả*

Giá trị TBARS được xác định bằng lượng mg MDA/kg thịt tôm:

$$T = a.V/m \text{ (mg MDA/kg thịt tôm)} \quad (2.8)$$

Trong đó: a là nồng độ tương đương tính được từ đường chuẩn ( $\mu\text{g/mL}$ )

V: thể tích dung dịch (mL)

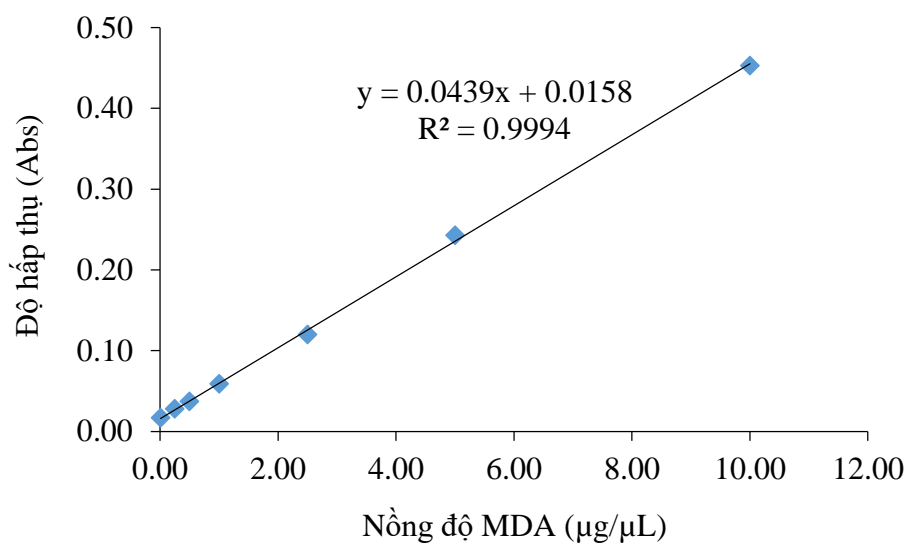
m: khối lượng thịt tôm (g)

Kết quả đo độ hấp thu của dung dịch chuẩn MDA tại các nồng độ khác nhau ở bước sóng 532 nm được trình bày trong bảng 2.1.

*Bảng 2.1. Kết quả đo độ hấp thu của dung dịch chuẩn MDA tại các nồng độ khác nhau*

<b>Nồng độ (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Độ hấp thu quang</b>
0,01	0,017 $\pm$ 0,001
0,25	0,028 $\pm$ 0,002
0,5	0,037 $\pm$ 0,002
1	0,059 $\pm$ 0,002
2,5	0,120 $\pm$ 0,552
5	0,243 $\pm$ 0,003
10	0,453 $\pm$ 0,03

Từ kết quả đo độ hấp thu của từng nồng độ MDA xây dựng được đường chuẩn như trong hình 2.2.



Hình 2.2. Đường chuẩn MDA

#### 2.1.1.1.Đánh giá cảm quan biến đen

Sự biến đen của tôm thẻ chân trắng được đánh giá trực tiếp bằng cảm quan theo Montero et al. (2001).

Mục đích của việc đánh giá cảm quan này nhằm khảo sát sự thay đổi chất lượng của tôm (đánh giá mức độ biến đen của tôm) được bảo quản lạnh trong thời gian từ 0 – 7 ngày.

Người thử sẽ đánh giá mức độ biến đen của tôm theo các mức thang điểm từ một đến năm, như bảng 2.2

Bảng 2.2. Thang điểm đánh giá cảm quan biến đen của mẫu tôm

Điểm	Mức độ	Mô tả
1	Cực nhẹ	Không có điểm biến đen nào, hoặc rất ít, dưới 10% diện tích bề mặt tôm bị ảnh hưởng.
2	Nhẹ	Điểm biến đen chiếm khoảng 20% diện tích bề mặt tôm
3	Trung bình	Điểm biến đen chiếm khoảng 20% - 40% diện tích bề mặt tôm
4	Nặng	Điểm biến đen chiếm khoảng 40 – 60% diện tích bề mặt tôm
5	Cực nặng	Điểm biến đen chiếm khoảng 60% - 100% diện tích bề mặt tôm

Đối tượng cảm quan là sinh viên trường ĐH Sư Phạm Kỹ Thuật Tp.HCM, gồm 11 người thử đã được huấn luyện về khả năng nhận biết điểm biến đen.

## **2.1.2. Ứng dụng nồng độ Vitamin C tối ưu trong bảo quản tôm**

### *2.1.2.1. Xử lý mẫu tôm*

- Mẫu vitamin C (VitC): Vitamin C được pha ở nồng độ tối ưu, sau đó được sử dụng làm dung dịch ngâm tôm với tỷ lệ tôm/dung dịch ngâm là 1/2 (w/v). Ngâm trong 15 phút, vớt ra để ráo trong 2 phút.
- Mẫu phụ gia Sodium metabisulfite (SMS): được pha ở nồng độ 1,25%, sử dụng làm dung dịch ngâm tôm với tỷ lệ tôm/dung dịch ngâm là 1/2 (w/v). Ngâm trong 1 phút, vớt ra để ráo trong 2 phút.
- Mẫu đối chứng: Mẫu tôm không qua xử lý.

Các mẫu đều được bảo quản ở 2°C trong 7 ngày, và tiến hành các thí nghiệm sau để so sánh và đánh giá khả năng bảo quản của mỗi mẫu: Xác định sự thay đổi pH, thử hoạt tính TBARS, đánh giá cảm quan biến đen, xác định các chỉ tiêu vi sinh, xác định các chỉ tiêu hóa lý.

## **2.1.3. Xác định các chỉ tiêu vi sinh**

Xác định tổng vi sinh vật hiếu khí bằng phương pháp định lượng vi sinh vật bằng cách đếm khuẩn lạc ở 30°C bằng kỹ thuật đổ đĩa theo TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013).

Xác định vi khuẩn *Enterobacteriaceae* bằng phương pháp phát hiện và định lượng *Enterobacteriaceae* bằng kỹ thuật đếm khuẩn lạc theo TCVN 5518-2:2007 (ISO 21528-2:2004).

Xác định vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* bằng định lượng trực khuẩn mũ xanh (*Pseudomonas aeruginosa*) trong thực phẩm bằng theo kỹ thuật đếm khuẩn lạc theo Số: 3347/2001/QĐ-BYT.

## **2.1.4. Xác định các chỉ tiêu hóa lý**

Xác định đạm toàn phần và protein bằng phương pháp xác định hàm lượng nitơ tổng số và protein thô theo TCVN 3705:1990.

Giá trị nitơ acid amin được xác định bằng phương pháp xác định hàm lượng nitơ acid amin theo TCVN 3708:1990.

## **2.2. Phương pháp xử lý số liệu**

Tất cả các số liệu được xử lý trên phần mềm Minitab (Minitab Inc., State College, Pennsylvania) và được báo cáo là giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn của 3 lần thí nghiệm lặp lại song song. Ý nghĩa thống kê của các kết quả được đánh giá bằng cách sử dụng phương pháp phân tích phương sai ANOVA và chuẩn kiểm định Tukey HSD với mức ý nghĩa  $p \leq 0,05$ .



## CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả trích ly enzyme PPO

Từ 800 g tôm tươi, thu nhận được 164g phần đầu ngực đã bỏ vỏ. Qua quá trình trích ly thu được 1,1 g enzyme PPO thô.



Hình 3.1. Cao trích PPO thô

#### 3.1.1. Kết quả xác định khối lượng phân tử PPO

Bảng 3.1. Kết quả sắc ký lọc gel PPO

Đại lượng	Ký hiệu	Đơn vị	Kết quả
Phân tử lượng trung bình số	$\overline{M}_n$	g/mol	$3,5063 \times 10^3$
Phân tử lượng trung bình khối	$\overline{M}_w$	g/mol	$3,6933 \times 10^3$
Phân tử lượng trung bình nhớt	$\overline{M}_v$	g/mol	$3,6933 \times 10^3$
Chỉ số phân tán	D		$1,0533 \times 10^0$
Phân tử lượng trung bình số của các phân tử chiếm 10%	10%	g/mol	$2,8300 \times 10^3$
Phân tử lượng trung bình số của các phân tử chiếm 30%	30%	g/mol	$3,1746 \times 10^3$
Phân tử lượng trung bình số của các phân tử chiếm 50%	50%	g/mol	$3,4426 \times 10^3$
Phân tử lượng trung bình số của các phân tử chiếm 70%	70%	g/mol	$3,7754 \times 10^3$
Phân tử lượng trung bình số của các phân tử chiếm 90%	90%	g/mol	$5,1094 \times 10^3$

Từ kết quả sắc ký lọc gel PPO (Bảng 3.1), cho thấy phân tử khối trung bình của PPO là 5,1 kDa (chiếm 90% các phân tử có trong mẫu). Kết quả thu được khá thấp so với kết quả của các nghiên cứu trước đây, PPO trích ly từ đầu tôm thẻ chân trắng là 20 – 25 kDa (Chen, 1977). Sự khác biệt này có thể là do sự khác nhau về điều kiện sinh sống, độ tuổi của tôm, phương pháp xác định. Ngoài ra, cũng có thể do PPO được tách chiết còn lẫn nhiều tạp chất, chưa loại bỏ hết được qua phương pháp thực nghiệm.

### 3.1.2. Kết quả xác định hoạt độ PPO

Bảng 3.2. Kết quả xác định hoạt độ enzyme PPO

Thời gian (s)	Độ hấp thu (A)
0	1,4676
120	1,4681

Hoạt độ PPO được xác định tương đối theo công thức (2.1), như sau:

$$A = \frac{(1,4681 - 1,4676)}{0,001 \times 0,2 \times 2} = 1,25 \text{ (units/mg enzyme)}$$

Từ bảng 3.2 và tính toán theo công thức (2.1), kết quả hoạt độ enzyme PPO đo được với chất nền L-DOPA là 1,25 units/mg enzyme. Trong khi đó, theo nghiên cứu của Yong et al. thì hoạt tính của PPO được chiết xuất từ khoai tây là 21,2 units/mg enzyme. Kết quả cho thấy sự khác biệt khá lớn, nguyên nhân có thể là enzyme sau quá trình trích ly còn lẫn nhiều tạp chất. Ngoài ra, cũng có thể do sự khác nhau về nguồn nguyên liệu, phương pháp trích ly và điều kiện trích ly khác nhau. Một nghiên cứu khác, cho thấy giá trị hoạt độ enzyme PPO còn phụ thuộc vào chất nền tham gia phản ứng (Yong et al., 1999).

### 3.1.3. Kết quả xác định hoạt tính khử của Vitamin C

Bảng 3.3. Kết quả xác định hoạt tính khử của vitamin C, (mean  $\pm$  SD, n = 3)

Nồng độ (mg/mL)	0,1	0,5	1,0
Kết quả (Abs)	3,530 $\pm$ 0,002	4,065 $\pm$ 0,003	4,219 $\pm$ 0,002

Kết quả khảo sát hoạt tính khử của vitamin C được thể hiện trong bảng 3.3. Khả năng khử của vitamin C là độ tăng độ hấp thu khi tăng nồng độ chất khử. Kết quả thu được cho thấy hoạt tính khử của vitamin C tăng theo nồng độ.

### 3.1.4. Kết quả xác định khả năng ức chế enzyme PPO của vitamin C

Bảng 3.4. Kết quả xác định khả năng ức chế enzyme PPO của vitamin C

Nồng độ ( $\mu\text{mol/mL}$ )	10	25	50	100
Kết quả (%)	$5,31 \pm 0,01$	$8,06 \pm 0,01$	$13,19 \pm 0,01$	$21,43 \pm 0,01$

Từ kết quả khảo sát khả năng ức chế PPO của vitamin C, phần trăm ức chế PPO theo các nồng độ vitamin C tăng dần được thể hiện ở bảng 3.4. Kết quả thu được cho thấy vitamin C có khả năng ức chế PPO và phần trăm ức chế tăng theo nồng độ vitamin C tăng.

Anderson và Sowers (1968) đã báo cáo rằng vitamin C ức chế được PPO bằng cách làm giảm quinone hình thành ở cuối phản ứng hóa nâu do PPO xúc tác. Quinone có khả năng tự trùng hợp để tạo thành melanin, gây ra hiện tượng biến đen.

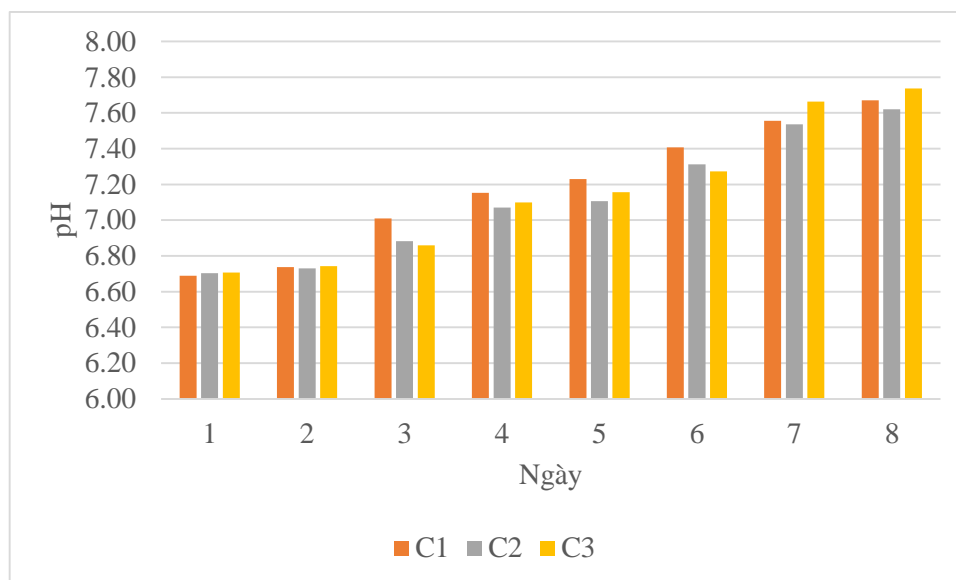
Từ các kết quả trên có thể kết luận rằng vitamin C có hiệu quả trong ức chế PPO đặc biệt ở nồng độ cao. Điều này cũng góp phần làm chậm sự hình thành sắc tố melanin ở tôm thẻ chân trắng.

## 3.2. Kết quả tối ưu nồng độ vitamin C ứng dụng trong bảo quản tôm

### 3.2.1. Kết quả xác định pH

Bảng 3.5. Kết quả đo pH của các mẫu tôm được xử lý bằng các nồng độ vitamin C khác nhau trong 7 ngày bảo quản

Ngày	Nồng độ (%)		
	0,025	0,05	0,1
0	$6,69 \pm 0,01^b$	$6,70 \pm 0,01^a$	$6,71 \pm 0,01^a$
1	$6,74 \pm 0,01^a$	$6,73 \pm 0,01^a$	$6,74 \pm 0,01^a$
2	$7,01 \pm 0,01^a$	$6,88 \pm 0,01^b$	$6,86 \pm 0,01^b$
3	$7,15 \pm 0,02$	$7,07 \pm 0,01$	$7,10 \pm 0,01$
4	$7,23 \pm 0,01$	$7,11 \pm 0,02$	$7,16 \pm 0,02$
5	$7,41 \pm 0,02$	$7,31 \pm 0,02$	$7,27 \pm 0,02$
6	$7,56 \pm 0,01^b$	$7,54 \pm 0,02^b$	$7,66 \pm 0,02^a$
7	$7,67 \pm 0,02$	$7,62 \pm 0,01$	$7,74 \pm 0,01$



Hình 3.2. Đồ thị sự thay đổi pH của các mẫu tôm được xử lý bằng các nồng độ vitamin C khác nhau trong 7 ngày bảo quản

Trong đó: C1 – Nồng độ vitamin C (0,025%)

C2 – Nồng độ vitamin C (0,05%)

C3 – Nồng độ vitamin C (0,1%)

Đồ thị hình 3.2 cho thấy giá trị pH của mỗi mẫu tôm được xử lý ở 3 nồng độ vitamin C khác nhau, đều tăng theo thời gian bảo quản.

Trong hai ngày đầu, pH giữa các mẫu không có sự khác biệt (bảng 3.4), sang ngày bảo quản thứ ba, pH của mẫu C1 (pH=7,01) cao hơn 2 mẫu còn lại (C2: pH=6,68; C3: pH=6,66).

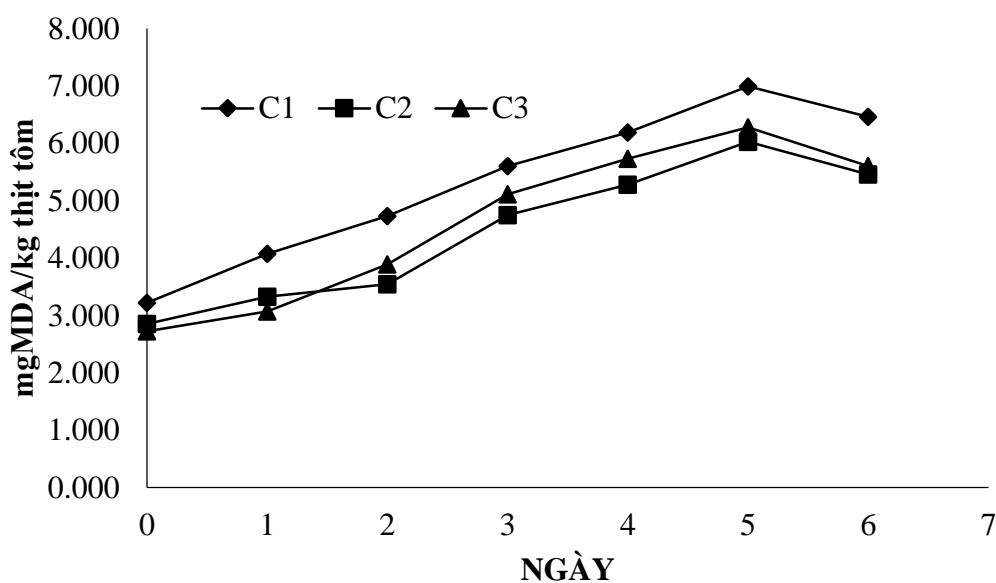
Trong các ngày bảo quản tiếp theo, giá trị pH của mỗi mẫu có sự khác biệt đáng kể, trong đó mẫu C2 có giá trị thấp hơn 2 mẫu còn lại (trừ ngày 6, pH của mẫu C1 và C2 bằng nhau và cao hơn mẫu C3). Điều này chỉ ra rằng các quá trình phân hủy, hoạt động của vi sinh vật lên mẫu C1 và mẫu C3 mạnh mẽ hơn so với C2 nên dẫn đến sự tích tụ  $\text{NH}_3$  làm cho pH trong thịt tôm có xu hướng tăng lên rõ rệt.

Qua các nhận xét trên ta rút ra được kết luận, nồng độ C2 (vitamin C ở nồng độ 0,05%) cho kết quả pH tối ưu khi ứng dụng trong bảo quản tôm.

### 3.2.2. Kết quả xác định khả năng ức chế quá trình peroxide hóa lipid bằng phương pháp TBARS

Bảng 3.6. Kết quả giá trị TBARS của các mẫu tôm xử lý bằng vitamin C ở các nồng độ khác nhau trong 6 ngày bảo quản

Ngày	Nồng độ (%)		
	0,025	0,05	0,1
0	3,218 ± 0,084 <sup>a</sup>	2,854 ± 0,055 <sup>b</sup>	2,726 ± 0,032 <sup>b</sup>
1	4,075 ± 0,114	3,328 ± 0,084	3,072 ± 0,055
2	4,731 ± 0,084	3,546 ± 0,032	3,892 ± 0,055
3	5,625 ± 0,084	4,749 ± 0,084	5,113 ± 0,084
4	6,189 ± 0,109	5,277 ± 0,084	5,733 ± 0,084
5	6,990 ± 0,084	6,025 ± 0,055	6,280 ± 0,138
6	6,462 ± 0,145 <sup>a</sup>	5,460 ± 0,138 <sup>b</sup>	5,605 ± 0,063 <sup>b</sup>



Hình 3.3. Sự thay đổi TBARS của các mẫu tôm xử lý bằng vitamin C ở các nồng độ khác nhau trong 6 ngày bảo quản

Trong đó: C1 – Nồng độ vitamin C (0,025%)

C2 – Nồng độ vitamin C (0,05%)

C3 – Nồng độ vitamin C (0,1%)













Từ đồ thị hình 3.2 và kết quả xử lý ANOVA có thể thấy được các mẫu tôm được bảo quản bằng dịch ngâm vitamin C ở các nồng độ C1, C2, C3 có giá trị TBARS qua tất cả các ngày bảo quản (trừ ngày 0 và ngày 6), có sự khác nhau đáng kể (bảng 3.6).

Ở ngày 0, quá trình oxy hóa lipid xảy ra sau khi tôm chết chưa được ngăn chặn đáng kể bằng dịch ngâm vitamin C, nên sự tạo thành MDA gần như nhau. Qua các ngày bảo quản tiếp theo, ở các nồng độ vitamin C khác nhau bắt đầu ức chế sự oxy hóa lipid khác nhau, từ đó làm ra sự khác biệt của giá trị TBARS của các mẫu qua các ngày bảo quản.

Từ đồ thị 3.2 thấy được ở mẫu tôm được xử lý ở nồng độ C2 có giá trị TBARS thấp hơn so với mẫu tôm được ngâm ở dung dịch vitamin C có nồng độ C1 và C3. Giá trị TBARS chính là lượng MDA tạo thành khi lipid bị oxy hóa nên giá trị TBARS càng thấp thì mẫu bảo quản càng ít bị peroxide hóa, từ đó giữ được chất lượng ổn định trong quá trình bảo quản. Như vậy dịch ngâm vitamin C ở nồng độ C2 (0,05%) cho kết quả TBARS tối ưu nên lựa chọn nồng độ này ứng dụng cho bảo quản tôm.

### 3.2.3. Kết quả đánh giá cảm quan điểm biến đen

Bảng 3.7. Hình ảnh cảm quan các mẫu tôm xử lý bằng vitamin C ở các nồng độ khác nhau trong 7 ngày bảo quản

Ngày	Nồng độ (%)		
	0,025	0,05	0,1
0			
3			
5			
7			

Bảng 3.8. Điểm đánh giá cảm quan biến đen các mẫu tôm xử lý bằng vitamin C ở các nồng độ khác nhau trong 7 ngày bảo quản

Ngày	Nồng độ (%)		
	0,025	0,05	0,1
3	2,7 ± 0,5 <sup>b</sup>	2,2 ± 0,6 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,6 <sup>a</sup>
5	4,3 ± 0,5 <sup>a</sup>	3,9 ± 0,7 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,6 <sup>a</sup>
7	4,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,5 <sup>ab</sup>	4,5 ± 0,5 <sup>a</sup>

Đánh giá cảm quan biến đen ở các mẫu tôm được xử lý bằng vitamin C ở các nồng độ khác nhau được thực hiện vào ngày thứ 3, 5, 7 của quá trình bảo quản. Kết quả đã xử lý ANOVA được thể hiện ở bảng 3.8. Kết quả thu được cho thấy thời gian bảo quản càng tăng thì hiện tượng biến đen càng tăng thể hiện ở điểm cảm quan càng tăng.

Ở ngày 0, các mẫu đều chưa bị biến đen (bảng 3.7). Tới ngày bảo quản thứ ba, điểm cảm quan của mẫu C2 (2,7) và C3 (2,2) không có sự khác biệt khi xử lý bằng ANOVA ( $p > 0,05$ ) và thấp hơn mẫu C1. Đến ngày thứ 7, điểm cảm quan ở mẫu C2 thấp hơn hai mẫu còn lại. Như vậy nồng độ C2 (0,05%) hạn chế được hiện tượng biến đen ở tôm thẻ chân trắng nhiều hơn hai nồng độ còn lại.

❖ **Kết luận nồng độ Vitamin C tối ưu:**

Từ các kết quả của quá trình khảo sát 3 nồng độ vitamin C ứng dụng trong bảo quản tôm trong thời gian 7 ngày ở 2°C, thông qua các phương pháp đo pH, xác định TBARS và đánh giá cảm quan biến đen, cho thấy mẫu tôm được xử lý bằng nồng độ vitamin C 0,05% cho kết quả tối ưu hơn 2 mẫu xử lý vitamin C ở nồng độ 0,025 và 0,1%. Như vậy lựa chọn mẫu vitamin C có nồng độ 0,05% tiếp tục ứng dụng bảo quản tôm và so sánh với mẫu đối chứng và mẫu SMS.

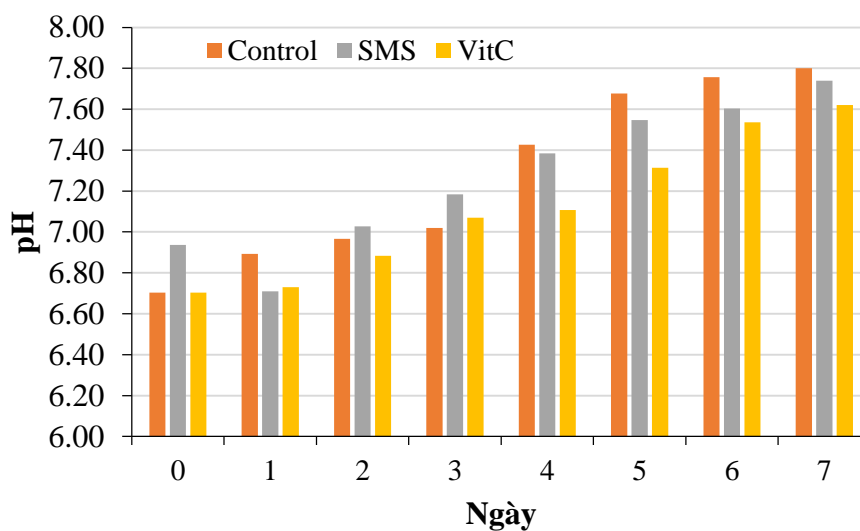


### 3.3. Kết quả so sánh mẫu Vitamin C tối ưu với mẫu đối chứng và mẫu phụ gia SMS

#### 3.3.1. Kết quả xác định sự thay đổi pH

Bảng 3.9. Kết quả giá trị pH của các mẫu tôm trong 7 ngày bảo quản

Ngày	Mẫu		
	Control	SMS	Vitamin C
0	6,70 ± 0,06 <sup>a</sup>	6,94 ± 0,01 <sup>b</sup>	6,70 ± 0,01 <sup>a</sup>
1	6,89 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,71 ± 0,01 <sup>a</sup>	6,73 ± 0,01 <sup>a</sup>
2	6,97 ± 0,01	7,03 ± 0,02	6,88 ± 0,01
3	7,02 ± 0,01	7,18 ± 0,01	7,07 ± 0,01
4	7,43 ± 0,02	7,38 ± 0,02	7,11 ± 0,02
5	7,68 ± 0,02	7,55 ± 0,02	7,31 ± 0,02
6	7,76 ± 0,01	7,60 ± 0,01	7,54 ± 0,02
7	7,80 ± 0,01	7,74 ± 0,01	7,62 ± 0,01



Hình 3.4. Sự thay đổi giá trị pH của các mẫu tôm trong 7 ngày bảo quản

Trong đó: Control – Mẫu đối chứng

SMS – Mẫu xử lý bằng sodium metabisulfite

VitC – Mẫu xử lý bằng vitamin C

Từ kết quả đo ở bảng 3.9 và đồ thị hình 3.3, cho thấy pH trong thịt tôm tăng dần theo thời gian bảo quản.

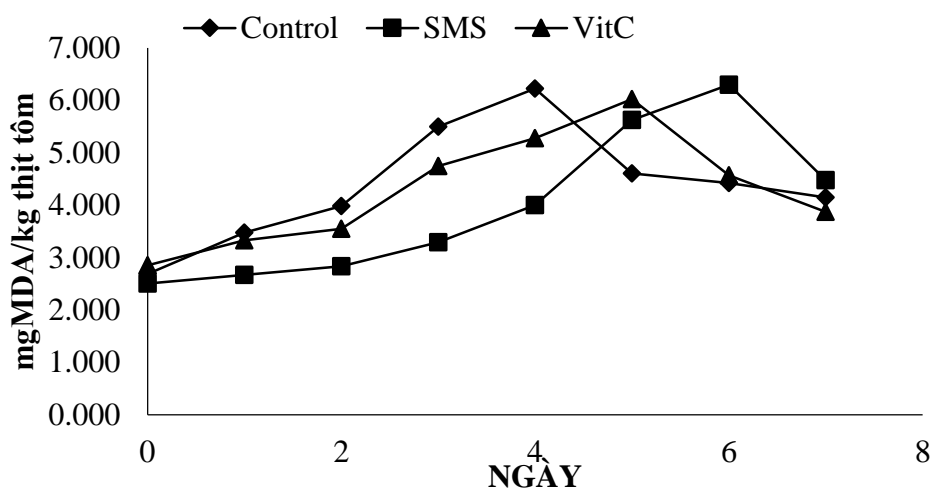
Nhìn chung khi thời gian bảo quản tăng, pH của tôm tăng. Giá trị pH của các mẫu ở ngày bảo quản thứ 7 là mẫu đối chứng (7,80), mẫu SMS (7,74), mẫu vitamin C (7,52). Điều này cho thấy rằng giá trị pH của mẫu tôm xử lý bằng vitamin C cho kết quả pH tốt hơn so với hai mẫu còn lại.

Sự gia tăng pH liên quan đến sự tích tụ các hợp chất cơ bản, chủ yếu là do hoạt động của các vi khuẩn (Lopez et al., 2007). Sự gia tăng pH của mẫu tôm được xử lý bằng vitamin C thấp hơn hai mẫu còn lại, như vậy mẫu tôm được xử lý bằng vitamin C có hạn chế được hoạt động của vi khuẩn, từ đó làm tăng chất lượng tôm bảo quản.

### 3.3.2. Kết quả xác định giá trị TBARS

*Bảng 3.10. Kết quả giá trị TBARS của các mẫu tôm trong 7 ngày bảo quản*

Ngày	Mẫu		
	Control	SMS	Vitamin C
<b>0</b>	2,690 ± 0,023 <sup>a</sup>	2,508 ± 0,035 <sup>b</sup>	2,854 ± 0,023 <sup>a</sup>
<b>1</b>	3,473 ± 0,035 <sup>a</sup>	2,672 ± 0,013 <sup>b</sup>	3,328 ± 0,035 <sup>a</sup>
<b>2</b>	3,984 ± 0,013	2,836 ± 0,035	3,546 ± 0,013
<b>3</b>	5,496 ± 0,035	3,291 ± 0,023	4,749 ± 0,035
<b>4</b>	6,225 ± 0,035	4,002 ± 0,023	5,227 ± 0,035
<b>5</b>	4,603 ± 0,023	5,624 ± 0,035	6,025 ± 0,023
<b>6</b>	4,421 ± 0,047 <sup>a</sup>	6,298 ± 0,046 <sup>b</sup>	4,567 ± 0,057 <sup>a</sup>
<b>7</b>	4,148 ± 0,070 <sup>a</sup>	4,476 ± 0,035 <sup>b</sup>	3,874 ± 0,035 <sup>a</sup>



Hình 3.5. Sự thay đổi giá trị TBARS của các mẫu tôm trong 7 ngày bảo quản

Trong đó: Control – Mẫu đối chứng

SMS – Mẫu xử lý bằng sodium metabisulfite

VitC – Mẫu xử lý bằng vitamin C

Kết quả thể hiện ở bảng 3.10 và qua xử lý ANOVA cho thấy giá trị TBARS giữa các mẫu có sự khác nhau qua các ngày bảo quản (trừ ngày 0 và ngày 1, mẫu đối chứng và mẫu vitamin C giống nhau, tương tự ở ngày 6 và ngày 7). Từ biểu đồ hình 3.5 cho thấy giá trị TBARS qua các ngày của mẫu SMS thấp nhất, tiếp theo là mẫu vitamin C cuối cùng là mẫu đối chứng.













Giá trị TBARS đạt cực đại ở mẫu đối chứng vào ngày 4 (6,225 mgMDA/kg thịt tôm), mẫu xử lý bằng vitamin C là ngày 5 (6,025 mgMDA/kg thịt tôm), và mẫu xử lý bằng SMS là ngày 6 (6,298 mgMDA/kg thịt tôm).

Giá trị TBARS tăng theo thời gian bảo quản, đạt tới cực đại và sau đó giảm dần, là do quá trình oxy hóa chất béo diễn ra mạnh mẽ trong giai đoạn đầu, các sản phẩm của quá trình oxy hóa chất béo như hydroperoxide được hình thành và nhanh chóng bị oxy hóa thành các sản phẩm bậc hai như aldehyde (Benjakul, 2005). Như vậy mẫu nào kéo dài được thời gian giá trị TBARS đạt cực đại, thì có khả năng bảo quản cao hơn.

Như vậy, mẫu được xử lý vitamin C chống lại được quá trình oxy hóa lipid trong tôm, kéo dài được thời gian bảo quản hơn một ngày so với mẫu đối chứng. Tuy nhiên khả năng ức chế quá trình oxy hóa lipid của mẫu được xử lý bằng vitamin C kém hơn mẫu được xử lý bằng SMS.

### 3.3.3. Kết quả đánh giá cảm quan biến đen

Bảng 3.11. Hình ảnh cảm quan biến đen ở các mẫu tôm trong 7 ngày bảo quản

Ngày	Mẫu		
	Control	SMS	Vitamin C
0			
3			
5			
7			

Bảng 3.12. Điểm đánh giá cảm quan biến đen ở các mẫu tôm trong 7 ngày bảo quản

Ngày	Mẫu		
	Control	SMS	Vitamin C
3	2,9 ± 0,7 <sup>b</sup>	2,2 ± 0,6 <sup>a</sup>	2,3 ± 0,6 <sup>a</sup>
5	4,4 ± 0,5 <sup>b</sup>	2,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	2,8 ± 0,7 <sup>a</sup>
7	4,8 ± 0,5	3,7 ± 0,5	4,3 ± 0,5

Thí nghiệm cảm quan biến đen ở tôm được thực hiện vào ngày thứ 3, 5 và 7 của quá trình bảo quản được thể hiện ở bảng 3.6. Hiện tượng biến đen ở tôm tăng theo thời gian bảo quản. Vào ngày 3 và ngày 5, hai mẫu vitamin C và SMS có điểm cảm quan biến đen bằng nhau và thấp hơn điểm của mẫu đối chứng. Tuy nhiên sang ngày 7, mẫu SMS có điểm cảm quan thấp nhất (3,7), tiếp đến là mẫu vitamin C (4,3), cuối cùng là mẫu đối chứng (4,8).

Như vậy, có thể kết luận vitamin C có khả năng hạn chế hiện tượng biến đen của tôm thông qua sự ức chế enzyme PPO. Tuy nhiên hiệu quả của mẫu vitamin C thấp hơn mẫu SMS.

### 3.3.4. Kết quả xác định các chỉ tiêu vi sinh

Bảng 3.13. Kết quả đếm vi sinh vật

Tiêu chí	Mẫu		
	Control	SMS	Vitamin C
Tổng số vi khuẩn hiếu khí (Cfu/g)	1100000	470000	25000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Cfu/g)	< 10	7800	< 10
Enterobacteriaceae (Cfu/g)	< 30	1400	210

\* Chú thích: <0,3; <1; <10: không phát hiện.

Kết quả xác định chỉ tiêu vi sinh của mẫu tôm đối chứng, mẫu SMS, mẫu vitamin C tối ưu tại ngày thứ 5 trong thời gian bảo quản ở 2°C, được thể hiện ở bảng 3.13.

Kết quả cho thấy tổng số vi sinh vật hiếu khí của mẫu vitamin C (25000 Cfu/g) thấp hơn 44 lần so với mẫu đối chứng (1100000 Cfu/g), và thấp hơn xấp xỉ 18 lần so với mẫu SMS. Điều này cho thấy mẫu tôm được xử lý bằng vitamin C có khả năng hạn chế sự phát triển của vi sinh vật hiếu khí tốt hơn mẫu đối chứng và mẫu SMS. Theo TCVN 5289:2006 yêu cầu vệ sinh về thủy sản đông lạnh, tổng số vi khuẩn hiếu khí không được vượt quá 10<sup>6</sup>

CFU/g. Như vậy, có thể thấy rằng mẫu vitamin C và mẫu SMS đạt tiêu chuẩn còn đối chứng thì không.

*Pseudomonas aeruginosa* và *Enterobacteriaceae* là hai loại vi sinh vật gây bệnh trong các sản phẩm thủy sản bảo quản lạnh. Kết quả xác định số lượng của hai chủng vi sinh vật này ở mẫu vitamin C thấp hơn ở mẫu SMS.

Từ đó có thể kết luận mẫu vitamin C có khả năng ức chế vi sinh vật gây hại gồm vi khuẩn hiếu khí, *Pseudomonas aeruginosa* và *Enterobacteriaceae* tốt hơn mẫu phụ gia.

### 3.3.5. Kết quả xác định các chỉ tiêu hóa lý

Bảng 3.14. Kết quả xác định các chỉ tiêu hóa lý

Tiêu chí	Mẫu		
	Control	SMS	Vitamin C
Đạm toàn phần (g/100g)	3,26	3,22	3,27
Protein (g/100)	20,4	20,1	20,4
Nitro acid amine (g/100g)	0,37	0,42	0,49

Từ bảng 3.14 cho thấy các chỉ tiêu hóa lý ở các mẫu không có sự khác biệt đáng kể. Cụ thể, ở chỉ tiêu đạm toàn phần của mẫu đối chứng, mẫu SMS, mẫu vitamin C lần lượt là 3,26g/100g; 3,22g/100g và 3,27g/100g. Chỉ tiêu protein tương ứng của mẫu đối chứng, mẫu SMS, mẫu vitamin C lần lượt là 20,4g/100g; 20,1g/100g và 20,4g/100g.

Kết quả đo chỉ tiêu nito acid amin của các mẫu cho thấy hàm lượng nito acid amin của mẫu vitamin C (0,49g/100g) cao hơn mẫu đối chứng (0,37g/100g) và mẫu SMS (0,42g/100g). Điều này cho thấy mẫu vitamin C cho kết quả bảo quản tối ưu hơn hai mẫu còn lại.

# CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

## 4.1. Kết luận

Qua quá trình nghiên cứu khóa luận tốt nghiệp về đề tài “ Khảo sát ảnh hưởng của vitamin C lên sự ức chế enzyme polyphenoloxydase và sự thay đổi chất lượng tôm thẻ chân trắng trong bảo quản lạnh”. Chúng tôi thu được một số kết quả sau:

- Hoạt độ của enzyme PPO được chiết xuất từ đầu của tôm thẻ chân trắng là 1,25 unit/mg.
- Khối lượng phân tử của enzyme PPO được chiết xuất từ đầu của tôm thẻ chân trắng là 5,1 kDa.
- Vitamin C có khả năng ức chế được enzyme PPO và phần trăm ức chế tăng theo nồng độ vitamin C.
- Nồng độ vitamin C tối ưu để ứng dụng trong bảo quản tôm là 0,05%.
- Khi so sánh khả năng bảo quản tôm của nồng độ vitamin C với mẫu đối chứng và mẫu SMS thu được kết quả sau:
  - Mẫu vitamin C giữ được pH thịt tôm trong quá trình bảo quản ở giá trị thấp hơn so với mẫu đối chứng và mẫu SMS.
  - Mẫu vitamin C cho giá trị TBARS cao hơn mẫu đối chứng nhưng lại thấp hơn mẫu SMS.
  - Mẫu vitamin C hạn chế được hiện tượng biến đen của tôm trong quá trình bảo quản lạnh, nhưng không tốt bằng mẫu SMS.
  - Mẫu vitamin C hạn chế được sự phát triển của các loại vi sinh vật gây hại trong tôm bảo quản lạnh tốt hơn mẫu SMS.

Như vậy, có thể kết luận vitamin C là một hợp chất chống oxy hóa có khả năng ức chế được enzyme PPO, có khả năng kéo dài thời gian bảo quản hơn so với mẫu tôm không xử lý. Tuy khả năng bảo quản của mẫu Vitamin C không cao hơn mẫu SMS, nhưng vitamin C là một chất chống oxy hóa tự nhiên nên không gây hại đến sức khỏe người tiêu dùng như SMS là một phụ gia bị hạn chế sử dụng.

## 4.2. Định hướng nghiên cứu

Vitamin C là chất chống oxy hóa tự nhiên không gây hại đến sức khỏe người tiêu dùng, nên định hướng nghiên cứu ứng dụng vitamin C trong bảo quản tôm khá có triển vọng.

Kết quả nghiên cứu trên không cho thấy được sự tối ưu của mẫu vitamin C so với mẫu SMS, nên các nghiên cứu sau có thể thay đổi nồng độ vitamin C hay kết hợp vitamin C với các chất chống oxy hóa lành tính khác, để có thể cho kết quả bảo quản tôm thẻ chân trắng tốt hơn.



# TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Benjakul. S. V. 2005. *Properties of phenoloxidase isolated from the cephalothorax of kuruma prawn (Penaeus japonicus)*. J. Food Biochem. 29: 470-485.
- Bielski. B. H. et al. 1975. *Some properties of the ascorbate free radical*. Annals of the New York Academy of Sciences. 258: 231-237.
- Boone. 2011. *Litopenaeus vannamei*. Food and Agriculture Organization.
- Chen. J. S. 1997. *Comparison of two treatment methods on the purification of shrimp polyphenol oxidase*. J. Sci. Food Agric. 75: 12-18.
- Chu Thị Thơm. 2006. *Phương pháp bảo quản và chế biến thủy sản*. Hà Nội: Nhà xuất lao động.
- Claudia et al. 2011. *Streptomyces tyrosinase: production and practical applications*. Innovative Romanian Food Biotechnology. Vol 8. 1-7.
- Erickson. M. C. 2007. *Sensory differentiation of shrimp using trained descriptive analysis panel*. LWT-Food Sci. Technol. 40: 1774-1783.
- Fabienne. C. 2000. *Inhibition of enzymatic browning in food products using bio-ingredients*. A thesis submitted to the graduate studies and research in partial fulfillment of the requirement of the degree of Master of Science. McGill University Montreal. Québec.
- Ferrer. O. K. 1989. *Phenoloxidase from the cuticle of Florida spiny lobster (Panulirus argus): mode of activation and characterization*. J. Food Sci. 54: 63-67.
- Frankel. N. E. 1998. *Lipid Oxidation*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited.
- Garcia. 2005. *Enzymatic method with polyphenol oxidase for the determination of cysteine and N-acetylcysteine*. J. Agric. Food Chem. 53: 6183-6189.
- Gokoglu. N. A. 2008. *Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (Parapenaeus longirostris)*. Journal Food Science Technology, 43: 1004-1008.
- Gram. L. A. 2002. *Fish spoilage bacteria-problems and solutions*. Curr. Opinion Biotech. 13: 262-266.
- Greta. F. 2011. *Discovery of oxidative enzymes for food engineering: Tyrosinase and sulfhydryl oxidase*. Faculty of Biological and Environmental Sciences – Division of Genetics. University of Helsinki. Finland.
- Khan. K. M. et al. 2006. *Tetraketones: A new class of tyrosinase inhibitors*. Bioorganic and Medicinal Chemistry. 14: 344–351.

- Kim. J. M. 2000. *Polyphenoloxidase. In Seafood enzyme utilization and influence on post harvest seafood quality.* New York.. 271 -315.
- Lopez et al., 2007. *Quality of thawed deepwater pink shrimp (Parapenaeus longirostris) treated with melanosis-inhibiting formulations during chilled storage.* Int. J. Food Sci. Technol. 42: 1029±1038.
- Martinez. M. V et al. 1995. *The biochemistry and control of enzymatic browning.* Trends in Food Science and Technology. 6: 195–200.
- Melda. Z. G. 2009. *Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from thermophilic bacillus sp.* A thesis submitted to the graduate of engineering and sciences of Izmir Institute of Technology in Partial Fulfillment of requirements for degree of master of science in biotechnology.
- Menabrito et al. 1987. *Shelf-life extension of fresh fish.* Journal of Food Quality.
- Montero. P. 2001. *The effect of inhibitors and high pressure treatment to prevent melanosis and microbial growth on chilled prawns (Penaeus japonicus).* Journal Food Science Technology. 66: 1201-1206.
- Montero. P. 2004. *Effectiveness of onboard application of 4-hexylresocinol in inhibiting melanosis in shrimp.* Journal Food Science Technology. 69: 643-647.
- Nguyễn Công Khanh, Hà Thị Anh Đào. 2007. *Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam.* Bộ y tế, viện dinh dưỡng. Nhà xuất bản Y học.
- Nguyễn Trọng Cẩn, Đỗ Minh Phụng. 1990. *Công nghệ chế biến thực phẩm thủy sản. Tập 1: Nguyên liệu chế biến thủy sản.* Hà Nội: Nhà xuất bản nông nghiệp. 52-53.
- Nirmal. N. P. and Benjakul. S. 2009a. *Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) during iced storage.* Food Chem. 116: 323-331.
- Nirmal. N. P. and Benjakul. S. 2009b. *Melanosis and quality changes of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) treated with catechin during iced storage.* J. Agric. Food Chem. 57: 3578-3586.
- Nishikimi. M. et al. 1996. *Biochemistry and molecular biology of ascorbic acid biosynthesis.* Subcell Biochem. 25:17–39.
- Nord. 1953. *Advances in enzymology and related subjects of biochemistry.* New York: Interscience publishers ltd.

- Ogawa. M. 1987. *Black spot occurrence in lobster and shrimp*. Infofish Marketing Digest. 1: 43.
- Reilly. A. 1985. *Spoilage of tropical fish and product development*. Food and Agriculture of the United Nations. Rome.
- Roginsky. V. 2005. *Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food*. Food Chemistry. 92: 235–254
- Sebastian J. P. et al. 2013. *Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention*. Journal of the American College of Nutrition.
- Sikorski. Z. E. 1990. *Seafood: Resources, nutritional composition and preservation*. Florida: CRC Press Inc. 59.
- Simpson. B. K. 1987. *Phenoloxidase from shrimp (Penaeus setiferus): Purification and some properties*. J. Agric. Food Chem. 35: 918-921.
- Smolina. L.V. 1971. *The influence of freezing and preserving at temperature below -18°C on the microflora of the Striped Tuna of the Common Lobster. Technical aspects of fish quality control*. FAO fisheries report. 70-78.
- Véronique. J. B. 1997. *Polyphenol oxidase from cassava (Manihot Esculenta C.) Root : Extraction, Purification and Characterization*. A Thesis submitted to the Faculty of Graduate Studies and Research in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy, Department of Food Science and Agricultural Chemistry University McGill (Macdonald Campus) Montreal. Canada.
- Whitaker. J. 1995. *Polyphenol oxidase In Food Enzymes, Structure and Mechanism*. Chapman & Hall. New York. 271-303.
- Whitaker. J. 1995. *Polyphenol oxidase. In Food Enzymes, Structure and Mechanism*. Chapman & Hall. New York. 271-303.
- Yong K. Cho và Hye K. Ahn. 1999. *Purification and characterization of polyphenol oxidase from potato: Purification and properties*. Journal of Food Biochemistry. 23: 577-592.
- Yong. L. X. 2014. *Optimization of Alkaline Extraction and Bioactivities of Polysaccharides from Rhizome of Polygonatum odoratum*. BioMed Research International. 3-6.
- Zamorano. J. P. et al. 2009. *Characterisation and tissue distribution of polyphenol oxidase of deepwater pink shrimp (Parapenaeus longirostris)*. Food Chemistry. 112: 104-111.
- Zeng. Q. Z. et al, 2005. *Quality changes of shrimp (Pandalus borealis) stored under different cooling conditions*. J. Food Sci. 70: 459-466.

# PHỤ LỤC

## Phụ lục 1.1: Phiếu hướng dẫn và phiếu đánh giá cảm quan điểm biến đen của tôm

### PHIẾU HƯỚNG DẪN

Bạn sẽ lần lượt nhận 3 mẫu tôm đã được mã hóa ngẫu nhiên. Bạn hãy quan sát bằng mắt điểm biến đen của tôm và cho biết mức độ biến đen của từng mẫu lên thang điểm 5 trong phiếu đánh giá bằng cách đánh dấu chéo vào ô điểm mà bạn cho là thích hợp. Ngay cả khi không chắc chắn bạn cũng phải đưa ra sự lựa chọn của mình.

Thang 5 điểm:

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5

Trong đó:

- 1: không có điểm đen nào
- 2: nhẹ (chiếm khoảng 20% diện tích bề mặt tôm bị ảnh hưởng)
- 3: trung bình (chiếm từ 20-40% diện tích bề mặt tôm bị ảnh hưởng)
- 4: đáng kể (chiếm từ 40-60% diện tích bề mặt tôm bị ảnh hưởng)
- 5: rất nặng (chiếm từ 60-100% diện tích bề mặt tôm bị ảnh hưởng)

### PHIẾU ĐÁNH GIÁ

Mã số người thử:...

Ngày:.../.../2017

Mã số mẫu: ...	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	1	2	3	4	5
Mã số mẫu: ...	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	1	2	3	4	5
Mã số mẫu: ...	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	1	2	3	4	5

**Phụ lục 1.2. Kết quả đo hoạt độ enzyme PPO**

STT	Thời gian (s)	Độ hấp thu (A)
1	0	1.4676
2	10	1.4676
3	20	1.4677
4	30	1.4676
5	40	1.4676
6	50	1.4677
7	60	1.4677
8	70	1.4678
9	80	1.4679
10	90	1.4680
11	100	1.4680
12	110	1.4681
13	120	1.4681
14	130	1.4681
15	140	1.4680
16	150	1.4680
17	160	1.4677
18	170	1.4677
19	180	1.4677

**Phụ lục 1.3. Kết quả đo hoạt tính khử của vitamin C**

Nồng độ (mg/mL)	0,1	0,5	1
Độ hấp thu (Abs)	3.528	4.062	4.221
	3.530	4.068	4.217
	3.531	4.066	4.218

**Phụ lục 1.4. Kết quả đo phần trăm ức chế PPO của vitamin C**

Mẫu	Control	10 ( $\mu\text{mol/mL}$ )	25 ( $\mu\text{mol/mL}$ )	50 ( $\mu\text{mol/mL}$ )	100 ( $\mu\text{mol/mL}$ )
Độ hấp thu (Abs)	0.170	0.172	0.165	0.152	0.133
	0.185	0.179	0.161	0.163	0.147
	0.191	0.166	0.176	0.159	0.149

**Phụ lục 1.5. Kết quả đo pH các mẫu tôm được xử lý bằng các nồng độ vitamin C khác nhau**

Nồng độ (%)	Ngày							
	0	1	2	3	4	5	6	7
0,025	6.69	6.74	7.01	7.14	7.22	7.39	7.55	7.67
	6.68	6.74	7	7.15	7.23	7.41	7.56	7.65
	6.7	6.73	7.02	7.17	7.24	7.42	7.56	7.69
0,05	6.71	6.74	6.88	7.08	7.11	7.31	7.52	7.61
	6.69	6.72	6.89	7.06	7.09	7.33	7.55	7.62
	6.71	6.73	6.88	7.07	7.12	7.30	7.54	7.63
0,1	6.71	6.74	6.85	7.11	7.16	7.29	7.66	7.75
	6.71	6.74	6.86	7.09	7.16	7.27	7.65	7.74
	6.70	6.75	6.87	7.10	7.15	7.26	7.68	7.72

**Phụ lục 1.6. Kết quả đo TBARS các mẫu tôm được xử lý bằng các nồng độ vitamin C khác nhau**

Nồng độ (%)	Ngày 0	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	ngày 6
0,025	0.075	0.091	0.102	0.118	0.129	0.142	0.131
	0.073	0.088	0.104	0.117	0.127	0.144	0.135
	0.076	0.092	0.101	0.120	0.131	0.145	0.136
0,05	0.069	0.075	0.080	0.104	0.114	0.127	0.118
	0.067	0.077	0.081	0.101	0.112	0.125	0.113
	0.068	0.078	0.081	0.103	0.111	0.126	0.116
0,1	0.066	0.072	0.088	0.109	0.121	0.128	0.117
	0.066	0.071	0.086	0.108	0.119	0.131	0.119
	0.065	0.073	0.087	0.111	0.122	0.133	0.119

**Phụ lục 1.7. Kết quả cảm quan các mẫu tôm được xử lý bằng các nồng độ vitamin C khác nhau**

STT	Ngày 3			Ngày 5			Ngày 7		
	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
1	3	2	2	4	3	4	5	4	4
2	2	2	2	4	4	3	5	5	4
3	2	3	1	4	4	4	5	4	5
4	3	1	3	4	3	3	5	4	4
5	3	2	2	5	4	4	5	4	5
6	3	2	2	5	5	5	5	4	5
7	2	2	2	4	4	4	4	5	5
8	3	3	3	5	3	4	4	4	4
9	3	3	1	4	5	3	5	4	4
10	3	2	2	4	4	4	5	4	5
11	3	2	2	4	4	4	5	4	4

Trong đó: C1 – Nồng độ vitamin C (0,025%)

C2 – Nồng độ vitamin C (0,05%)

C2 – Nồng độ vitamin C (0,1%)

**Phụ lục 1.8. Kết quả đo pH giữa các mẫu tôm so sánh**

Mẫu	Ngày								
	0	1	2	3	4	5	6	7	
Control	6.77	6.89	6.96	7.02	7.44	7.68	7.75	7.81	
	6.66	6.88	6.97	7.01	7.43	7.69	7.77	7.79	
	6.68	6.91	6.97	7.03	7.41	7.66	7.75	7.80	
SMS	6.93	6.72	7.01	7.18	7.38	7.53	7.60	7.74	
	6.95	6.70	7.04	7.19	7.40	7.55	7.61	7.73	
	6.93	6.71	7.03	7.18	7.37	7.56	7.60	7.75	
VitC	6.71	6.74	6.88	7.08	7.11	7.31	7.52	7.61	
	6.69	6.72	6.89	7.06	7.09	7.33	7.55	7.62	
	6.71	6.73	6.88	7.07	7.12	7.30	7.54	7.63	

**Phụ lục 1.9. Kết quả đo TBARS giữa các mẫu tôm so sánh**

Mẫu	Ngày							
	0	1	2	3	4	5	6	7
Control	2.690	3.455	4.002	5.478	6.243	4.549	4.330	4.002
	2.744	3.564	3.947	5.423	6.298	4.603	4.385	4.111
	2.635	3.400	4.002	5.587	6.134	4.658	4.549	4.330
SMS	2.416	2.690	2.908	3.236	3.947	5.697	6.189	4.549
	2.526	2.690	2.744	3.346	4.002	5.642	6.298	4.494
	2.580	2.635	2.854	3.291	4.056	5.533	6.407	4.385
VitC	2.908	3.236	3.510	4.822	5.369	6.079	4.549	3.783
	2.799	3.346	3.564	4.658	5.259	5.970	4.439	3.892
	2.854	3.400	3.564	4.767	5.205	6.025	4.713	3.947

**Phụ lục 1.10. Kết quả đo giá trị cảm quan của các mẫu tôm so sánh**

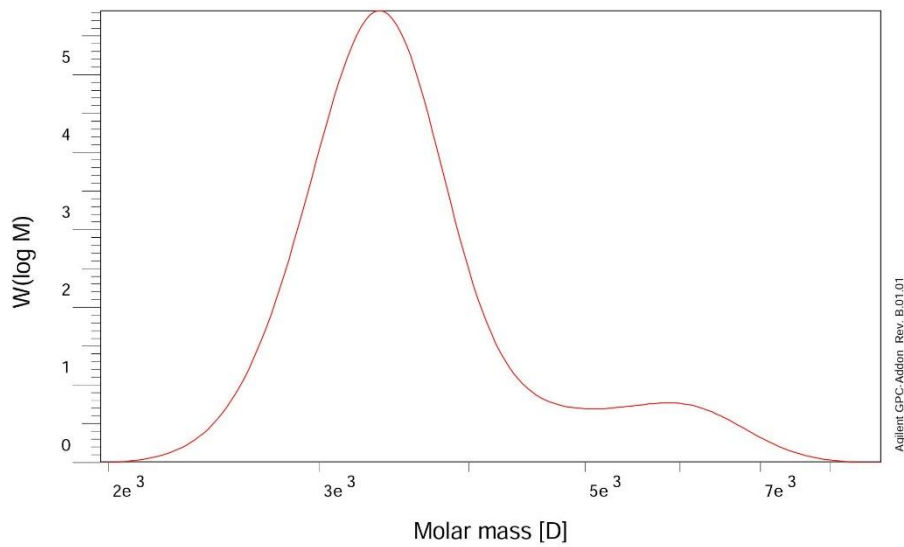
STT	Ngày 3			Ngày 5			Ngày 7		
	Cont	SMS	VitC	Cont	SMS	VitC	Cont	SMS	VitC
1	3	2	2	4	3	4	5	4	4
2	2	2	2	4	4	3	5	5	4
3	2	3	1	4	4	4	5	4	5
4	3	1	3	4	3	3	5	4	4
5	3	2	2	5	4	4	5	4	5
6	3	2	2	5	5	5	5	4	5
7	2	2	2	4	4	4	4	5	5
8	3	3	3	5	3	4	4	4	4
9	3	3	1	4	5	3	5	4	4
10	3	2	2	4	4	4	5	4	5
11	3	2	2	4	4	4	5	4	4



## Phụ lục 2.1. Kết quả xác định khối lượng phân tử PPO bằng kỹ thuật sắc ký lọc gel



**Sample :** PPO  
**Injection Date :** 09-May-17, 13:23:04  
**Calibration File :** C:\Chem32\GPC\calib\COLUMN500ULTRAHYDROGEL.CAL  
**Calibration Date :** Sunday 03/19/06 15:40:30  
**Baseline from :** 10.269 min  
**Integration from:** 10.269 min  
**MHK - A (Cal.):** 1.000000E+0  
**Eluent :**  
**Concentration :** 1.000 g/l  
**Detector 1 :** RID A, Refractive Index Signal  
**Operator :** Anh Mai  
**Baseline to :** 11.520 min  
**Integration to :** 11.520 min  
**MHK - K (Cal.):** 0.000000E+0 ml/g  
**Flowrate :** 1.000 ml/min  
**Inject volume :** 20.000 ul  
**Delay volume :** 0.000 ml  
**Acquisition interval :** 0.430 sec



**rid1A**

<b>Mn :</b>	3.5063e3	g/mol
<b>Mw :</b>	3.6933e3	g/mol
<b>Mz :</b>	3.9420e3	g/mol
<b>Mv :</b>	3.6933e3	g/mol
<b>D :</b>	1.0533e0	
<b>[n] :</b>	0.000000	ml/g
<b>Vp :</b>	1.1073e1	ml
<b>Mp :</b>	3.3632e3	g/mol
<b>A :</b>	2.4375e3	ml <sup>2</sup> /V
<b>10% :</b>	2.8300e3	g/mol
<b>30% :</b>	3.1746e3	g/mol
<b>50% :</b>	3.4426e3	g/mol
<b>70% :</b>	3.7754e3	g/mol
<b>90% :</b>	5.1094e3	g/mol

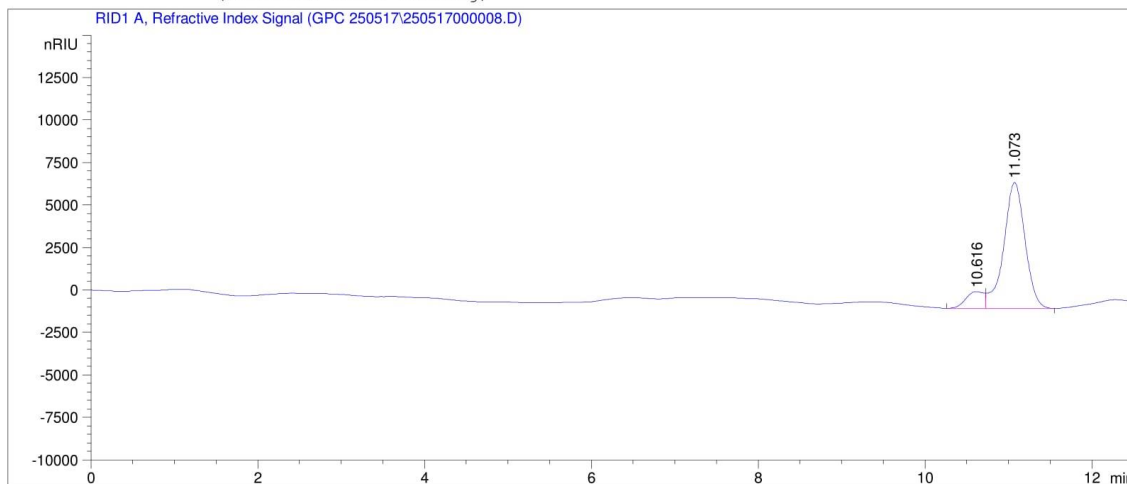
**Data File :** C:\CHEM32\1\DATA\GPC 250517\250517000008.D  
**Print Date :** Tuesday 05/09/17 13:11:18

**Sign :**



File Name : \CHEM32\1\DATA\GPC 250517\250517000008.D  
 Sample Name : PPO

=====  
 Acq. Operator : Anh Mai  
 Acq. Instrument : Instrument 1 Location : -  
 Injection Date : 5/9/2017 1:23:04 PM  
 Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\WAT-GPC 120417.M  
 Last changed : 5/9/2017 1:22:19 PM by Anh Mai  
 (modified after loading)  
 Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\WAT-GPC 120417.M  
 Last changed : 5/9/2017 1:08:15 PM by Anh Mai  
 (modified after loading)



=====  
 Area Percent Report  
 =====

Sorted By : Signal  
 Calib. Data Modified : 5/9/2017 1:21:37 PM  
 Multiplier: : 1.0000  
 Dilution: : 1.0000  
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [nRIU*s]	Area %	Name
1	10.616	BV	0.2310	1.47186e4	10.0562	?
2	11.073	VB	0.2723	1.31646e5	89.9438	?

Totals : 1.46364e5



File Name: \CHEM32\1\DATA\GPC 250517\250517000008.D  
Sample Name: PPO



Signal 2: VWD1 A, Wavelength=250 nm not found

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	Area *s	Area %	Name
1	16.795		0.0000	0.00000	0.0000		





Totals : 0.00000

2 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)  
Warning : Calibrated compound(s) not found

=====  
\*\*\* End of Report \*\*\*

**Phụ lục 2.2. Kết quả kiểm nghiệm các chỉ tiêu vi sinh ở ngày bảo quản thứ 5**  
**Mẫu đối chứng ngày bảo quản thứ 5**

 BỘ Y TẾ VIỆN PASTEUR TP. HCM	 <b>VIỆN PASTEUR THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH</b> <b>PHÒNG KIỂM NGHIỆM HÓA LÝ - VI SINH</b> 167 Đường Pasteur, Quận 3 - Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam Điện thoại : (84.8) 38.297.308 - 38.230.352 - Fax : (84.8) 38.201.882	 BUREAU OF ACCREDITATION VIET NAM VILAS 209			
<b>PHIẾU KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM</b>					
Mã số: <b>130717-6816</b>					
Tên khách hàng	: <b>VÕ KIỂU THY NGA</b>				
Địa chỉ	: <b>BIÊN HÒA, ĐỒNG NAI</b>				
Tên mẫu	: <b>MẪU TÔM-CONTROL 5</b>				
Ngày nhận mẫu	: <b>13/07/2017</b>				
Thời gian thử nghiệm	: <b>13/07/2017 đến 17/07/2017</b>				
Tình trạng mẫu	: <b>MẪU TRONG 1 TÚI NYLON-KHÁCH HÀNG TỰ MANG ĐẾN</b>				
<b>TT</b>	<b>YÊU CẦU THỬ NGHIỆM</b>	<b>KẾT QUẢ</b>	<b>ĐƠN VỊ</b>	<b>PP THỬ NGHIỆM</b>	<b>GIỚI HẠN</b>
1	<i>Tổng số vi khuẩn hiếu khí*</i>	1.100.000	Cfu/g	ISO 4833-1: 2013	-
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<10	Cfu/g	Số 3347/QĐ/BYT	-
3	<i>Enterobacteriaceae</i>	30	Cfu/g	TCVN 6847:2001	-
<p><b>GHI CHÚ:</b> &lt;0,3, &lt;1, &lt;10: Không phát hiện</p> <p><b>KẾT LUẬN:</b></p> <p style="text-align: right;">TP. Hồ Chí Minh ngày 19 tháng 7 năm 2017  <b>Phòng Kiểm Nghiệm Hóa Lý - Vi Sinh</b></p> <div style="text-align: right; margin-top: 10px;">   <i>ThS. Nguyễn Thị Nguyệt</i> </div>					
<p>1. Dấu (*) là chỉ tiêu được VILAS công nhận.          2. Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến.          3. Không được trích sao một phần phiếu kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Viện Pasteur TP. HCM.          4. Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của nơi gửi mẫu.          5. Mẫu vi sinh và mẫu nước Hoá lý không lưu mẫu trừ khi có yêu cầu pháp lý đặc biệt; Mẫu thực phẩm Hoá lý lưu mẫu 3 ngày sau khi trả kết quả thử nghiệm.</p>					
HLVS/BM_TT/03/04	Lần ban hành : 03/00	Trang : 1/1			

Mẫu SMS ngày bảo quản thứ 5



**Institut Pasteur**  
**VIỆN PASTEUR THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**  
**PHÒNG KIỂM NGHIỆM HÓA LÝ - VI SINH**

167 đường Pasteur, Quận 3 - Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam  
Điện thoại : (84.8) 38.297.308 - 38.230.352 - Fax : (84.8) 38.201.882



**PHIẾU KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM**

Mã số: 120717-6678

Tên khách hàng : **ĐỖ THỊ BÍCH DUYÊN**  
Địa chỉ : **484 LÊ VĂN VIỆT, Q9, TP HCM**  
Tên mẫu : **TÔM-PHỤ GIA**  
Ngày nhận mẫu : **12/07/2017**  
Thời gian thử nghiệm : **12/07/2017 đến 17/07/2017**  
Tình trạng mẫu : **MẪU TRONG 1 HỘP NHỰA-KHÁCH HÀNG TỰ MANG ĐẾN**

TT	YÊU CẦU THỬ NGHIỆM	KẾT QUẢ	ĐƠN VỊ	PP THỬ NGHIỆM	GIỚI HẠN
1	Tổng số vi khuẩn hiếu khí*	470.000	Cfu/g	ISO 4833-1: 2013	-
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7.800	Cfu/g	Số 3347/QD/BYT	-
3	<i>Enterobacteriaceae</i>	1.400	Cfu/g	TCVN 6847:2001	-

KẾT LUẬN:

TP. Hồ Chí Minh ngày 25 tháng 7 năm 2017  
Phòng Kiểm Nghiệm Hóa Lý - Vi Sinh



ThS. Nguyễn Thị Nguyệt

VILAS 209

- Dấu (\*) là chi tiêu được VILAS công nhận.
- Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến.
- Không được trích sao một phần phiếu kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Viện Pasteur TP. HCM.
- Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của nơi gửi mẫu.
- Mẫu vi sinh và mẫu nước Hoá lý không lưu mẫu trừ khi có yêu cầu pháp lý đặc biệt; Mẫu thực phẩm Hóa lý lưu mẫu 3 ngày sau khi trả kết quả thử nghiệm.

## Mẫu vitamin C ngày bảo quản thứ 5



BỘ Y TẾ  
VIỆN PASTEUR TP. HCM

# Institut Pasteur

## VIỆN PASTEUR THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

### PHÒNG KIỂM NGHIỆM HÓA LÝ - VI SINH

167 đường Pasteur, Quận 3 - Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam  
Điện thoại : (84.8) 38.297.308 - 38.230.352 - Fax : (84.8) 38.201.882



VILAS 209

### PHIẾU KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM

Mã số: 050717-6016

Tên khách hàng : NGUYỄN THỊ MINH THÙY  
Địa chỉ : 5/14 LÊ VĂN CHÍ, P LINH TRUNG, Q THỦ ĐỨC, TP HCM  
Tên mẫu : TÔM THÈ CHÂN TRẮNG-VITAMIN C  
Ngày nhận mẫu : 05/07/2017  
Thời gian thử nghiệm : 05/07/2017 đến 09/07/2017  
Tình trạng mẫu : MẪU TRONG 1 TÚI ZIP-KHÁCH HÀNG TỰ MANG ĐẾN

TT	YÊU CẦU THỬ NGHIỆM	KẾT QUẢ	ĐƠN VỊ	PP THỬ NGHIỆM	GIỚI HẠN
1	Tổng số vi khuẩn hiếu khí*	25.000	Cfu/g	ISO 4833-1: 2013	10 <sup>6</sup>
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<10	Cfu/g	Số 3347/QĐ/BYT	-
3	<i>Enterobacteriaceae</i>	210	Cfu/g	TCVN 6847:2001	-

GHI CHÚ: <0,3, <1, <10: Không phát hiện

KẾT LUẬN:

TP. Hồ Chí Minh ngày 10 tháng 7 năm 2017

Phòng Kiểm Nghiệm Hóa Lý - Vi Sinh

BỘ Y TẾ  
VIỆN PASTEUR  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH  
PHÒNG KIỂM NGHIỆM  
HÓA LÝ - VI SINH

ThS. Nguyễn Thị Nguyệt

1. Dấu (\*) là chỉ tiêu được VILAS công nhận.
2. Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến.
3. Không được trích sao một phần phiếu kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Viện Pasteur TP. HCM.
4. Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của nơi gửi mẫu.

## Phụ lục 2.3. Kết quả kiểm nghiệm các chỉ tiêu hóa lý ở ngày bảo quản thứ 5

### Mẫu đối chứng ngày bảo quản thứ 5

 BỘ Y TẾ VIỆN PASTEUR TP. HCM	<b>Institut Pasteur</b> <b>VIỆN PASTEUR THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH</b> <b>PHÒNG KIỂM NGHIỆM HÓA LÝ - VI SINH</b> 167 đường Pasteur, Quận 3 - Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam Điện thoại : (84.8) 38.297.308 - 38.230.352 - Fax : (84.8) 38.201.882	 BUREAU OF ACCREDITATION VIET NAM VILAS 209			
<b>PHIẾU KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM</b>					
Mã số: <b>130717-6815</b>					
Tên khách hàng	: <b>VÕ KIỂU THY NGA</b>				
Địa chỉ	: <b>BIÊN HÒA, ĐỒNG NAI</b>				
Tên mẫu	: <b>MẪU TÔM-CONTROL 5</b>				
Ngày nhận mẫu	: <b>13/07/2017</b>				
Thời gian thử nghiệm	: <b>14/07/2017 đến 22/07/2017</b>				
Tình trạng mẫu	: <b>MẪU TRONG 1 TÚI NYLON-KHÁCH HÀNG TỰ MANG ĐẾN</b>				
TT	YÊU CẦU THỬ NGHIỆM	KẾT QUẢ	ĐƠN VỊ	PP THỬ NGHIỆM	GIỚI HẠN
1	<i>Đạm toàn phần (*)</i>	3.26	g/100g	TCVN 3705:1990	
2	<i>Protein (*)</i>	20.4	g/100g	TCVN 3705:1990	
3	<i>Nitơ axit amin</i>	0.37	g/100g	TCVN 3708:1990	
<b>KẾT LUẬN:</b>					
TP. Hồ Chí Minh ngày 22 tháng 7 năm 2017 Phòng Kiểm Nghiệm Hóa Lý - Vi Sinh					
 <i>N. Phạm Vũ Loan, P.</i>					
VILAS 209					
<hr/>					
1. Dấu (*) là chỉ tiêu được VILAS công nhận. 2. Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến. 3. Không được trích sao một phần phiếu kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Viện Pasteur TP. HCM. 4. Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của nơi gửi mẫu. 5. Mẫu vi sinh và mẫu nước Hoá lý không lưu mẫu trừ khi có yêu cầu pháp lý đặc biệt; Mẫu thực phẩm Hóa lý lưu mẫu 3 ngày sau khi trả kết quả thử nghiệm.					
HLVS/BM_TT/03/04			Lần ban hành : 03/00		Trang : 1/1

Mẫu SMS ngày bảo quản thứ 5



**Institut Pasteur**  
**VIỆN PASTEUR THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**  
**PHÒNG KIỂM NGHIỆM HÓA LÝ - VI SINH**

167 đường Pasteur, Quận 3 - Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam  
Điện thoại : (84.8) 38.297.308 - 38.230.352 - Fax : (84.8) 38.201.882



**PHIẾU KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM**

Mã số: 120717-6677

Tên khách hàng : ĐỖ THỊ BÍCH DUYÊN  
Địa chỉ : 484 LÊ VĂN VIỆT, Q9, TP HCM  
Tên mẫu : TÔM-PHỤ GIA  
Ngày nhận mẫu : 12/07/2017  
Thời gian thử nghiệm : 13/07/2017 đến 22/07/2017  
Tình trạng mẫu : MẪU TRONG 1 HỘP NHỰA-KHÁCH HÀNG TỰ MANG ĐẾN

TT	YÊU CẦU THỬ NGHIỆM	KẾT QUẢ	ĐƠN VỊ	PP THỬ NGHIỆM	GIỚI HẠN
1	Protein (*)	20.1	g/100g	TCVN 3705:1990	
2	Nitơ axit amin	0.42	g/100g	TCVN 3708:1990	
3	Đạm tổng (*)	3.22	g/100g	TCVN 3705:1990	

**KẾT LUẬN:**

TP. Hồ Chí Minh ngày 22 tháng 7 năm 2017

Phòng Kiểm Nghiệm Hóa Lý - Vi Sinh



*N. Phạm Vũ Thọ*

1. Dấu (\*) là chỉ tiêu được VILAS công nhận.
2. Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến.
3. Không được trích sao một phần phiếu kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Viện Pasteur TP. HCM.
4. Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của nơi gửi mẫu.
5. Mẫu vi sinh và mẫu nước Hoá lý không lưu mẫu trừ khi có yêu cầu pháp lý đặc biệt; Mẫu thực phẩm Hóa lý lưu mẫu 3 ngày sau khi trả kết quả thử nghiệm.





## Mẫu vitamin C ngày bảo quản thứ 5



# Institut Pasteur

## VIỆN PASTEUR THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

### PHÒNG KIỂM NGHIỆM HÓA LÝ - VI SINH

167 đường Pasteur, Quận 3 - Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam  
Điện thoại : (84.8) 38.297.308 - 38.230.352 - Fax : (84.8) 38.201.882



### PHIẾU KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM

Mã số: 050717-6015

Tên khách hàng : NGUYỄN THỊ MINH THÙY  
Địa chỉ : 5/14 LÊ VĂN CHÍ, P LINH TRUNG, Q THỦ ĐỨC, TP HCM  
Tên mẫu : TÔM THẺ CHÂN TRẮNG-VITAMIN C  
Ngày nhận mẫu : 05/07/2017  
Thời gian thử nghiệm : 06/07/2017 đến 11/07/2017  
Tình trạng mẫu : MẪU TRONG 1 TÚI ZIP-KHÁCH HÀNG TỰ MANG ĐẾN

TT	YÊU CẦU THỬ NGHIỆM	KẾT QUẢ	ĐƠN VỊ	PP THỬ NGHIỆM	GIỚI HẠN
1	Đạm toàn phần (*)	3.27	g/100g	TCVN 3705:1990	
2	Protein (*)	20.4	g/100g	TCVN 3705:1990	
3	Nitơ axit amin	0.49	g/100g	TCVN 3708:1990	

KẾT LUẬN:

TP. Hồ Chí Minh ngày 11 tháng 7 năm 2017

Phòng Kiểm Nghiệm Hóa Lý - Vi Sinh

BỘ Y TẾ  
VIỆN PASTEUR  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH  
PHÒNG KIỂM NGHIỆM  
HÓA LÝ - VI SINH

*N. Phạm Vũ Cao Sơn*

1. Dấu (\*) là chỉ tiêu được VILAS công nhận.
2. Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến.
3. Không được trích sao một phần phiếu kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Viện Pasteur TP. HCM.
4. Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của nơi gửi mẫu.

