

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HCM
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

PHẠM ĐÌNH CHƯƠNG

**KHẢO SÁT MỘT VÀI ĐẶC ĐIỂM HÓA SINH VÀ
PHÂN TÍCH CHẤT LƯỢNG MÙI THƠM CỦA
MỘT SỐ GIỐNG LÚA THƠM Ở ĐBSCL BẰNG
PHƯƠNG PHÁP SPME – GC**

**Luận văn kỹ sư
Chuyên ngành: Công Nghệ Sinh Học**

**Thành Phố Hồ Chí Minh
Tháng 09/2006**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HCM
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

**KHẢO SÁT MỘT VÀI ĐẶC ĐIỂM HÓA SINH VÀ
PHÂN TÍCH CHẤT LƯỢNG MÙI THƠM CỦA
MỘT SỐ GIỐNG LÚA THƠM Ở ĐBSCL BẰNG
PHƯƠNG PHÁP SPME – GC**

**Luận văn kỹ sư
Chuyên ngành: Công Nghệ Sinh Học**

**Giáo viên hướng dẫn
TS. PHAN PHƯỚC HIỀN (NLU)
TS. FRÉDÉRIC GAY (CIRAD)
TS. CHRISTIAN METRES (CIRAD)**

**Sinh viên thực hiện
PHẠM ĐÌNH CHƯƠNG
KHÓA: 2002 - 2006**

**Thành Phố Hồ Chí Minh
Tháng 09/2006**

**MINISTRY OF EDUCATION AND TRAINING
NONG LAM UNIVERSITY, HCMC
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY**

**STUDYING THE BIOCHEMICAL
CHARACTERISTICS AND ANALYZING AROMATIC
QUALITY OF SOME AROMATIC RICE VARIETIES
IN MEKONG DELTA UTILIZING THE SPME – GC
METHOD**

**Graduation Thesis
Major: Biotechnology**

**Research adviser
PHAN PHƯỚC HIỀN (NLU), Ph.D
FRÉDÉRIC GAY (CIRAD), Ph.D
CHRISTIAN METRES (CIRAD), Ph.D**

**Researcher
PHẠM ĐÌNH CHƯƠNG
Term: 2002 - 2006**

HCMC, 06/2006

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**



KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

**KHẢO SÁT MỘT VÀI ĐẶC ĐIỂM HÓA SINH VÀ PHÂN
TÍCH CHẤT LƯỢNG MÙI THƠM CỦA MỘT SỐ GIỐNG
LÚA THƠM Ở ĐBSCL BẰNG PHƯƠNG PHÁP SPME - GC**

Ngành: CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Niên khóa : 2002 – 2006

Sinh viên thực hiện : PHẠM ĐÌNH CHƯƠNG

**Thành phố Hồ Chí Minh
Tháng 9/2006**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

**KHẢO SÁT MỘT VÀI ĐẶC ĐIỂM HÓA SINH VÀ PHÂN
TÍCH CHẤT LƯỢNG MÙI THƠM CỦA MỘT SỐ GIỐNG
LÚA THƠM Ở ĐBSCL BẰNG PHƯƠNG PHÁP SPME - GC**

Giáo viên hướng dẫn:

TS. PHAN PHƯỚC HIỀN (NLU)

TS. FRÉDÉRIC GAY (CIRAD)

TS. CHRISTIAN MESTRES (CIRAD)

Sinh viên thực hiện:

PHẠM ĐÌNH CHƯƠNG

**Thành phố Hồ Chí Minh
Tháng 9/2006**

LỜI CẢM ƠN

❖ Em xin tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến Ban Giám Hiệu trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Ban chủ nhiệm Bộ Môn Công Nghệ Sinh Học, cùng tất cả các quý thầy cô đã tận tâm dạy dỗ, truyền đạt những tri thức khoa học và kinh nghiệm quý báu cho em trong suốt quá trình rèn luyện học tập tại trường.

❖ Đặc biệt em xin chân thành cảm ơn đến thầy TS. Phan Phước Hiền (NLU), thầy TS. Frédéric Gay và thầy TS. Christian Mestres (CIRAD) đã tạo điều kiện tốt nhất, tận tình hướng dẫn và giúp đỡ em trong suốt thời gian thực tập tốt nghiệp và bước đầu nghiên cứu khoa học.

❖ Em xin cảm ơn thầy TS. Bùi Minh Trí và các anh chị tại phòng Hóa Lý và Hóa Sinh – Trung tâm Phân tích Thí nghiệm Hóa Sinh trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh cùng với gia đình và các bạn bè thân yêu của lớp Công Nghệ Sinh Học khóa 28 đã hết lòng quan tâm hỗ trợ, động viên tạo điều kiện thuận lợi cho em thực hiện tốt khóa luận này.

Một lần nữa em xin chân thành cảm ơn tất cả.

Tp. Hồ Chí Minh, tháng 8 năm 2006

Sinh viên

Phạm Đình Chương.

TÓM TẮT KHÓA LUẬN

PHẠM ĐÌNH CHUÔNG, Đại Học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh. Tháng 9/2006. “KHẢO SÁT MỘT VÀI ĐẶC ĐIỂM HÓA SINH VÀ PHÂN TÍCH CHẤT LƯỢNG MÙI THƠM CỦA MỘT SỐ GIỐNG LÚA THƠM Ở ĐBSCL BẰNG PHƯƠNG PHÁP SPME – GC”.

Giáo viên hướng dẫn:

TS. Phan Phước Hiền

TS. Frédéric Gay

TS. Christian Mestres

Mục đích: phân tích mùi thơm trong các loại lúa thơm, đề xuất các giống lúa thơm chất lượng cao đồng thời khảo sát một vài đặc điểm hóa sinh của các loại lúa thơm.

Đề tài được tiến hành trong 4 tháng, từ tháng 4 đến tháng 8 năm 2006.

Phương pháp thí nghiệm:

- ✓ Phân tích hàm lượng protein theo phương pháp Kjeldahl của 17 mẫu gạo với 2 lần lặp lại.
- ✓ Phân tích độ bền thể gel theo phương pháp của Khush và CS. (1979) của 15 mẫu gạo với 2 lần lặp lại.
- ✓ Phân tích mùi thơm trong gạo thơm bằng phương pháp SPME – GC của 53 mẫu gạo thơm với 2 lần lặp lại.

Các kết quả thu được:

- ✓ Hàm lượng protein của các mẫu gạo khảo sát biến thiên từ 5,509% đến 8,478%. Trong đó cao nhất là gạo Taroari Basmati (8,478%) và thấp nhất là gạo Thái Lan (5,509%). Các loại gạo thơm ở Việt Nam như Tám Xoan, ST8, dòng 313 (Jasmine 85), dòng 122 (VD20), dòng 231 (OM3536), NTĐPIII có hàm lượng protein khá cao.
- ✓ Độ bền thể gel của các mẫu gạo khảo sát biến thiên từ 65 mm đến 96 mm. Trong đó, gạo Khao Dawk Mali 105 (Tiền Giang) có độ bền thể gel cao nhất (96 mm) và thấp nhất là gạo STWS05 – 231 (65 mm).
- ✓ Thời gian lưu trung bình của chuẩn collidine được xác định bằng phương pháp SPME – GC là 13,815 phút và của hợp chất thơm 2AP là 10,163 phút.
- ✓ Gạo Giano 96/6 (Ý) có nồng độ 2AP cao nhất (3865,50 µg/kg) và Viet Nam (Pháp) có nồng độ 2AP thấp nhất (70,53 µg/kg). Trong các loại gạo thơm được trồng ở Việt Nam, dòng 122 (VD20) có nồng độ 2AP cao nhất (1047,41 µg/kg) và dòng 112 (Jasmine 85) có nồng độ 2AP thấp nhất (135,37 µg/kg).

MỤC LỤC

CHƯƠNG	TRANG
Trang tựa	
Lời cảm ơn.....	iii
Tóm tắt khóa luận	iv
Mục lục	v
Danh sách các chữ viết tắt	viii
Danh sách các bảng	ix
Danh sách các hình	x
Danh sách các sơ đồ	xi
Danh sách các biểu đồ	xii
1. MỞ ĐẦU.....	1
1.1. Đặt vấn đề.....	1
1.2. Mục đích và yêu cầu.....	2
1.2.1. Mục đích	2
1.2.2. Yêu cầu	2
2. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
2.1. Giới thiệu về cây lúa.....	3
2.1.1. Phân loại.....	3
2.1.2. Nguồn gốc và phân bố	4
2.1.3. Đặc điểm hạt lúa	4
2.2. Giới thiệu về các giống lúa thơm	5
2.2.1. Lúa thơm trên thế giới	5
2.2.2. Một số giống lúa thơm Việt Nam	8
2.3. Một số nghiên cứu và khái niệm cơ bản về phẩm chất lúa gạo	10
2.4. Một số kết quả nghiên cứu về hóa sinh chất thơm của lúa gạo.....	11
2.4.1. Các hợp chất bay hơi trong gạo thơm.....	11
2.4.2. Hợp chất thơm 2-acetyl-1-pyrroline (2AP)	12
2.5. Giới thiệu về sắc ký khí (Gas chromatography).....	14
2.5.1. Lịch sử phát triển sắc ký	14

2.5.2.	Nguyên tắc của sắc ký khí	14
2.5.3.	Thiết bị sắc ký khí.....	15
2.5.3.1.	Bộ phận bơm mẫu (injector)	15
2.5.3.2.	Cột tách (column).....	16
2.5.3.3.	Detector	16
2.5.4.	Sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS).....	17
2.6.	Phương pháp vi chiết pha rắn (SPME – Solid Phase Micro Extraction)	17
2.6.1.	Dụng cụ sử dụng cho kỹ thuật SPME.....	18
2.6.2.	Các bước thực hiện trong kỹ thuật SPME	18
2.6.3.	Ứng dụng SPME trong phân tích 2AP.....	19
3.	VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
3.1.	Thời gian và địa điểm tiến hành	21
3.2.	Vật liệu, hóa chất và thiết bị.....	21
3.3.	Nội dung nghiên cứu	22
3.4.	Phương pháp nghiên cứu.....	23
3.4.1.	Phân tích một vài đặc điểm hóa sinh của gạo thơm.....	23
3.4.1.1.	Hàm lượng protein theo phương pháp Kjeldahl.....	23
3.4.1.2.	Độ bền thể gel theo phương pháp của Khush và CS. (1979).....	25
3.4.2.	Chiết suất hợp chất bay hơi trong gạo thơm bằng phương pháp SPME.....	26
3.4.3.	Xác định các hợp chất bay hơi quan trọng có trong gạo thơm	27
3.4.3.1.	Trên sắc ký khí (GC).....	27
3.4.3.2.	Trên sắc ký khối phổ (GC/MS).....	27
3.4.3.3.	Xác định hệ số phản hồi (Response factor – RF).....	27
3.4.3.4.	Định lượng 2-acetyl-1-pyrroline	28
3.1.1.	Phương pháp xử lý thống kê	28
4.	KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	29
4.1.	Thiết lập phương pháp SPME – GC.....	29
4.1.1.	Xác định chuẩn 2,4,6-trimethylpyridine (collidine)	29
4.1.2.	Xác định các hợp chất bay hơi chính có trong gạo thơm	31
4.1.3.	Xác định hệ số phản hồi (Response factor – RF) của 2AP.....	36
4.1.3.1.	Theo nồng độ chuẩn collidine	36
4.1.3.2.	Theo nồng độ 2AP trong gạo thơm Gianò	37

4.2. Phân tích một vài đặc điểm hóa sinh của gạo thơm	38
4.2.1. Phân tích hàm lượng protein.....	38
4.2.2. Phân tích độ bền thể gel.....	39
4.1. So sánh nồng độ 2AP trong các mẫu gạo thơm khảo sát	40
4.3.1. So sánh nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo thơm STWS05.....	40
4.3.2. So sánh nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo thơm Tám Xoan	42
4.3.3. So sánh nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo thơm ST.....	43
4.3.4. So sánh nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo thơm NTĐP.....	43
4.3.5. So sánh nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo thơm nước ngoài	44
5. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	45
5.1. Kết luận	45
5.1.1. Một vài đặc điểm hóa sinh của một số loại gạo thơm	45
5.1.2. Phân tích hàm lượng hợp chất thơm 2AP	45
5.2. Đề nghị	45
6. TÀI LIỆU THAM KHẢO	47
PHỤ LỤC	50

DANH SÁCH CÁC CHỮ VIẾT TẮT

TGST	Thời gian sinh trưởng
ST	Sóc Trăng
TX	Tám Xoan
NT	Nàng Thơm
GC	Gas chromatography – Sắc ký khí
MS	Mass spectrum – Khối phổ
WCOT	Wall coated open tubular – Cột mao quản phim mỏng
PLOT	Porous layer open tubular – Cột mao quản lớp mỏng
FID	Flame ionization detector – Detector ion hóa ngọn lửa
RF	Response factor – Hệ số phản hồi
PDMS	Polydimethylsiloxane
DVB	Divinylbenzene
DI	Direct immersion – Nhúng trực tiếp
HS	Headspace – Khoảng không gian
SPME	Solid phase micro extraction – Vi chiết xuất trên pha rắn
SDE	Simultaneous steam Distillation and solvent Extraction – Chiết xuất và chưng cất hơi đồng thời

DANH SÁCH CÁC BẢNG

	TRANG
Bảng 2.1. Phân loại chiều dài thể gel	11
Bảng 3.1. Bảng thống kê các mẫu lúa và gạo thu thập được	21
Bảng 4.1. Thời gian lưu, diện tích và chiều cao của chuẩn collidine (nồng độ 0,001 mg/ml).	29
Bảng 4.2. Thời gian lưu, diện tích, chiều cao trung bình qua 3 lần chạy ở mỗi nồng độ	30
Bảng 4.3. Thời gian lưu và diện tích của 3 hợp chất hexanal, 2AP, nonanal có trong dòng gạo thơm 267/05 (Phan Phước Hiền, 2005).	33
Bảng 4.4. Thời gian lưu (phút) của hexanal, 2AP, nonanal có trong mẫu gạo Thái Lan và Basmati chạy trên GC và GC – MS.....	36
Bảng 4.5. Hệ số phản hồi của chất chuẩn collidine khi bơm với thể tích 1,2 µl	36
Bảng 4.6. Hàm lượng protein trung bình của 2 lần lặp lại	38
Bảng 4.7. Kết quả phân tích thống kê hàm lượng protein trong gạo	38
Bảng 4.8. Chiều dài thể gel trung bình của 2 lần lặp lại	39
Bảng 4.9. Nồng độ 2AP trung bình của 3 loại gạo thơm	40
Bảng 4.10. Nồng độ 2AP của từng dòng gạo Jasmine 85, VD20, OM3536.....	41
Bảng 4.11. Nồng độ 2AP của từng dòng gạo Tám Xoan.....	42
Bảng 4.12. Nồng độ 2AP của từng dòng gạo ST	43
Bảng 4.13. Nồng độ 2AP của từng dòng gạo NTĐP	43
Bảng 4.14. Nồng độ 2AP của từng loại gạo thơm nước ngoài.....	44

DANH SÁCH CÁC HÌNH

TRANG

Hình 2.1. <i>Oryza sativa</i> L.	4
Hình 2.2. Cấu trúc hạt lúa (www.riceweb.org/Plant.htm).....	5
Hình 2.3. Công thức hóa học của các hợp chất thơm trong gạo (IRRI, 1982).....	13
Hình 2.4. Sơ đồ thiết bị sắc ký khí detector ion hóa ngọn lửa FID	15
Hình 2.6. Dụng cụ thực hiện kỹ thuật vi chiết pha rắn (Gyorgy Vas, 2004).	18
Hình 2.7. Các kỹ thuật chiết SPME.....	19
Hình 3.1. Hệ thống máy phân tích đạm.....	24
Hình 3.2. Hệ thống máy nhiệt từ	26
Hình 3.3. Máy sắc ký khí.....	27
Hình 3.4. Máy sắc ký khí ghép khối.....	27
Hình 4.1. Sắc ký đồ GC phân tích thành phần hóa học của chuẩn collidine (nồng độ 0,001 mg/ml)	29
Hình 4.2. Sắc ký đồ GC – MS (toàn bộ) phân tích các hợp chất bay hơi có trong mẫu gạo Thái Lan	32
Hình 4.3. Kết quả mẫu gạo Thái Lan trong thư viện máy GC – MS nhằm xác định hexanal.....	32
Hình 4.4. Kết quả mẫu gạo Thái Lan trong thư viện máy GC – MS nhằm xác định nonanal.....	33
Hình 4.5. Các mảnh ion phân tử tại phút 9,255 của mẫu gạo thơm Thái Lan	34
Hình 4.6. Các mảnh ion phân tử tại phút 9,255 của mẫu gạo thơm Basmati.....	34
Hình 4.7. Sắc ký đồ GC phân tích các hợp chất bay hơi có trong mẫu gạo Thái Lan ..	35
Hình 4.8. Sắc ký GC phân tích các hợp chất bay hơi có trong mẫu gạo Basmati.....	35
Hình 4.9. Sắc ký đồ GC phân tích các hợp chất bay hơi có trong gạo thơm Gianò.....	37
Hình 4.10. Kết quả phân tích độ bền thể gel	40

DANH SÁCH CÁC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 3.1. Phân tích hàm lượng protein theo phương pháp Kjeldahl	24
Sơ đồ 3.2. Phân tích độ bền thể gel theo phương pháp của Khush và CS. (1979).....	25
Sơ đồ 3.3. Phương pháp SPME	26

DANH SÁCH CÁC BIỂU ĐỒ

TRANG

Biểu đồ 4.1 Mối tương quan giữa chiều cao và nồng độ của chuẩn collidine	30
Biểu đồ 4.2 Mối tương quan giữa diện tích và nồng độ của chuẩn collidine.....	31

PHẦN 1

LỜI MỞ ĐẦU

1.1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa là cây lương thực chính cho nhiều người và đồng thời lúa gạo cũng tham gia vào các hoạt động kinh tế quan trọng nhất trên thế giới. Châu Á là nơi sản xuất 90% tổng sản lượng và cũng là nơi tiêu thụ lúa gạo nhiều nhất. Khoảng 85% sản lượng gạo, 72% lúa mì và 19% ngô được con người tiêu thụ trực tiếp (IRRI, 2002). Lúa gạo cung cấp 21% năng lượng và 15% protein cho loài người (Eggum, 1989).

Từ 1989 trở lại đây, Việt Nam trở thành một trong những nước xuất khẩu gạo hàng đầu trên thế giới. Năm 2001 các nước xuất khẩu gạo chính (tính theo triệu tấn) bao gồm: Thái Lan (6,4), Việt Nam (4,0), Trung Quốc (3,0), Mỹ (2,8) (USDA, 2001). 14 năm qua, cây lúa đặc biệt là ở ĐBSCL đã đóng góp cho đất nước gần 8 tỷ USD trị giá xuất khẩu và đã góp phần to lớn cho công cuộc đổi mới ở Việt Nam. Tuy sản xuất với số lượng nhiều nhưng chất lượng và giá gạo xuất khẩu của Việt Nam thường thấp hơn so với một số nước như Thái Lan, Mỹ, Úc, đặc biệt có sự chênh lệch lớn ở loại gạo đặc sản và gạo cao cấp. Năm 2002, Thái Lan xuất khẩu 7,245 triệu tấn gạo trong đó gạo thơm (KDML) chiếm 20,27% và tấm thơm chiếm 10%, như vậy lượng gạo thơm và tấm thơm chiếm trên 30% tổng lượng gạo và giá trị xuất khẩu gạo của Thái Lan (Hiệp hội Lương thực Việt Nam, 2003).

Trong số các chủng loại chính, gạo thơm được sự chú ý của nhiều người tiêu dùng, đặc biệt ở các nước vùng vịnh Pecos và một số nước Đông Nam Á. Tại đây, loại gạo này có giá cao hơn 2 – 3 lần so với loại gạo thường. Các giống lúa thơm Basmati 370 của Ấn Độ, Khao Dawk Mali 105 của Thái Lan, Jasmine 85 của Mỹ là những giống lúa gạo quen thuộc trên thị trường thế giới. Việt Nam có các giống lúa Tám Thơm, Dự Thơm ở Bắc bộ, Nàng Hương, Nàng Thơm Chợ Đào ở Nam bộ đã được sản xuất từ lâu đời và được nhiều người ưa chuộng. Các loại gạo thơm đặc sản ngày càng được nhiều người tiêu thụ hơn và đã được một số công ty lương thực Long An, An Giang, Tiền Giang, Hải Dương kinh doanh đạt lợi nhuận cao so với loại gạo thường.

Hiện nay, hầu hết các giống đã bị lẫn tạp nhiều, chất lượng cơm gạo, đặc biệt là độ thơm dẻo và năng suất bị giảm. Thương hiệu gạo đặc sản của nước ta trên thị trường quốc tế chưa có, đây cũng là trở ngại lớn trên con đường nâng cao sức cạnh tranh của lúa gạo Việt Nam.

Các kết quả nghiên cứu về mô tả bản chất của các hợp chất thơm cũng như so sánh chất lượng mùi thơm của các giống lúa thơm ở Việt Nam hiện nay hầu như không có. Vì vậy, việc nghiên cứu bản chất các hợp chất thơm, so sánh chất lượng mùi thơm của một số giống lúa thơm sẽ hữu ích cho các nhà tạo giống trong việc phát triển các giống lúa thơm mới cũng như thiết lập nên những nguồn đặc trưng cho các giống lúa thơm chứng minh được chất lượng cao là công việc rất có ý nghĩa thiết thực.

Với những lý do đã kể trên, được sự phân công của bộ môn Công Nghệ Sinh Học, dưới sự hướng dẫn của TS. Phan Phước Hiền (NLU), TS. Frédéric Gay và TS. Christian Mestres (CIRAD), chúng tôi thực hiện đề tài “Khảo sát một vài đặc điểm hóa sinh và phân tích chất lượng mùi thơm của một số giống lúa thơm ở ĐBSCL bằng phương pháp SPME – GC”.

1.2. MỤC ĐÍCH VÀ YÊU CẦU

1.2.1. Mục đích

Xây dựng phương pháp tối ưu để phân tích mùi thơm trong các loại lúa thơm, đề xuất các giống lúa thơm chất lượng cao đồng thời khảo sát một vài đặc điểm hóa sinh của các loại lúa thơm như: Nàng Thơm Chợ Đào, Khao Dawk Mali 105, Jasmine 85, Tám Xoan, các dòng ST, OM3536, VD20 thu thập từ vụ mùa khô (2005 – 2006) tiến hành bởi CIRAD (Pháp), Sở nông nghiệp và phát triển nông thôn Sóc Trăng.

1.2.2. Yêu cầu

- Khảo sát một vài tính chất hóa sinh (phân tích protein, độ bền thể gel) của một số loại gạo thơm.
- Thực hiện quy trình phân tích các hợp chất bay hơi có trong một số loại gạo thơm bằng kỹ thuật SPME – GC.

PHẦN 2

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

2.1. GIỚI THIỆU VỀ CÂY LÚA

2.1.1. Phân loại

Lúa thuộc: Ngành Thực vật có hoa:	Angiospermae
Lớp một lá mầm:	Monocotyledones
Bộ Hòa thảo có hoa :	Poales (Graminales)
Họ Hòa thảo:	Poaceae (Gramineae)
Họ phụ Hòa thảo ưa nước:	Pryzoideae
Chi Lúa:	<i>Oryza</i>
Loài Lúa trồng:	<i>Oryza sativa</i>
Loài phụ:	
▪ Subsp: <i>Japonica</i> :	Loài phụ Nhật Bản
▪ Subsp: <i>Indica</i> :	Loài phụ Ấn Độ

Lúa *O.sativa* có $2n = 24$ nhiễm sắc thể, thường được phân biệt làm 3 nhóm:

– Lúa *Indica*: thường trồng ở khí hậu nhiệt đới và cận nhiệt đới, có thân cao, dễ đổ ngã, nhiều chồi, lá ít xanh, cong và kháng được nhiều sâu bệnh nhiệt đới. Hạt gạo dài hoặc trung bình, có nhiều tinh bột. Năng suất kém hơn lúa *Japonica*.

– Lúa *Japonica*: thường được trồng ở những vùng ôn đới hoặc những nơi có độ cao trên 1000 m (trên mặt biển), có thân ngắn, chống đổ ngã, lá xanh đậm, thẳng đứng, ít chồi, hạt gạo thường tròn, ngắn hoặc trung bình, dẻo khi nấu vì ít chất tinh bột. Lúa *Japonica* có năng suất cao.

– Lúa *Javanica* (bulu) hay lúa *Japonica* nhiệt đới được trồng ở Indonexia, có đặc tính ở giữa hai loại lúa *Japonica* và *Indica*. Hình thức gần giống như lúa *Japonica*, có lá rộng với nhiều lông và ít chồi. Thân cứng, chắc và ít cảm quang. Hạt lúa thường có đuôi (Trần Văn Đạt, 2002).

Tuy nhiên, gần đây, với nghiên cứu bằng isozyme loci, người ta có thể phân biệt *O.sativa* làm 6 nhóm rõ ràng hơn: Nhóm I (*Indica*), II, III, IV, V và VI (*Japonica*). Nhưng các nhóm II và III gần giống với nhóm I (*Indica*) và nhóm IV và V gần giống

nhóm VI (Japonica) (Glaszmann, 1987). Đa số các giống lúa thơm như Basmati 370, Khao Dawk Mali 105 và lúa rẫy (hay lúa nương) thiên về nhóm VI.

2.1.2. Nguồn gốc và phân bố

Cây lúa được canh tác từ vĩ tuyến 40⁰ phía nam bán cầu đến vĩ tuyến 53⁰ của bắc bán cầu, và được trồng từ mặt đất thấp hơn mặt nước biển cho đến độ cao 2000 m trên mặt biển. Trên thế giới có 20 loài lúa hoang và 2 loài canh tác. Cây lúa hiện được canh tác đại trà để cung cấp lương thực cho con người trên thế giới là *Oryza sativa* L. ở châu Á, có năng suất cao và được ưa chuộng. Loài lúa *Oryza glaberrima* Steud. được canh tác ít hơn ở Tây châu Phi, có năng suất và chỉ số thu hoạch thấp hơn *O. sativa*.

Theo Trần Văn Đạt (2002), cuộc nghiên cứu trên đất gạch bằng trấu trong các thành phố danh tiếng đồ nát ở Ấn Độ và trong vùng sông Cửu Long như Myanma, Thái Lan, Lào, Campuchia và Việt Nam phát hiện rằng cây lúa trồng ở Đông Dương do phát triển theo 2 ngã: từ Lào theo sông Cửu Long đi xuống phương nam có đặc tính cây lúa Japonica nhiệt đới, một ngã khác từ Ấn Độ qua vịnh Bengal đến bờ biển Đông Dương, với đặc tính của cây lúa Indica.

Vì vậy, Việt Nam với khí hậu nhiệt đới nằm trong vùng đa dạng sinh thái của thảo mộc gồm cả cây lúa Indica và Japonica nhiệt đới.

2.1.3. Đặc điểm hạt lúa

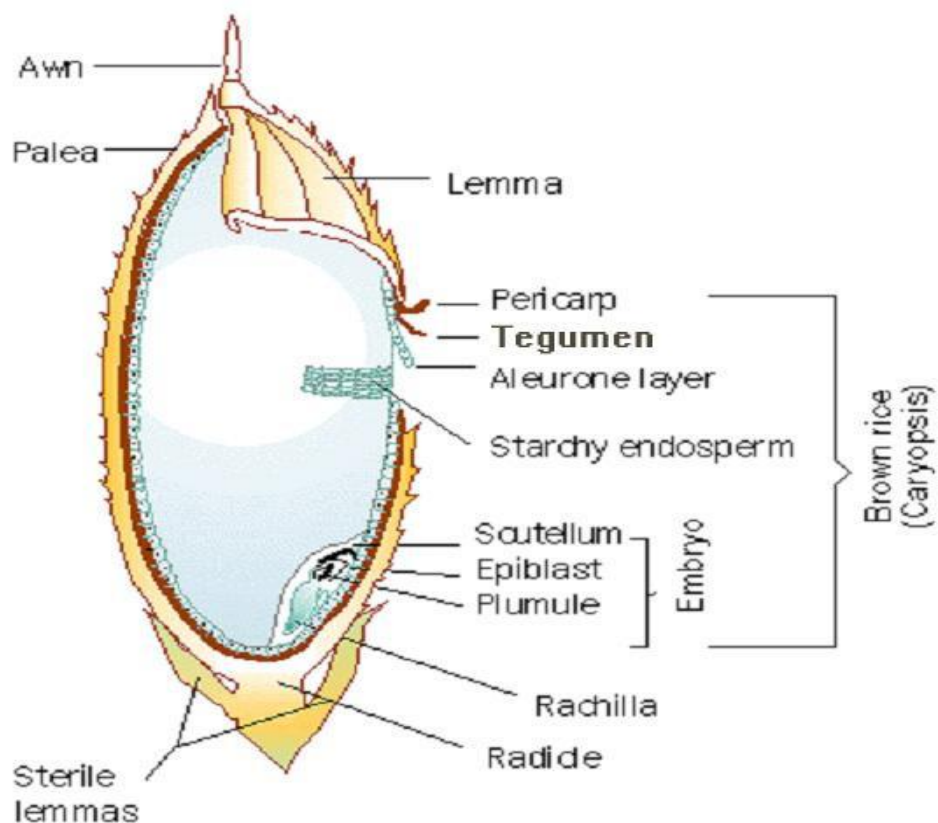
Cơ cấu hạt lúa là quả dĩnh nhỏ gồm có:

- Vỏ trấu gồm trấu trên và trấu dưới.
- Cám gồm biểu bì, quả bì và chủng bì (nucellus). Màu sắc hạt gạo do lớp chủng bì.
- Phôi nhũ gồm có lớp aleuron và phôi nhũ tích tụ tinh bột.
- Mầm cây gồm có phôi (mầm) lá, phôi rễ và trụ phôi giữa ở phần dưới của hạt.



Hình 2.1 *Oryza sativa* L.

Hạt lúa là noãn sào thụ tinh đã chín, có hai mày trấu nhỏ trên và dưới, hai vỏ trấu trên và dưới, cuống trấu ở phần dưới của hạt và đuôi ở chót hạt (ngắn hoặc dài). Một hạt lúa có trọng lượng từ 12 – 44 mg ở 0% ẩm độ.



Hình 2.2 Cấu trúc hạt lúa (www.riceweb.org/Plant.htm)

Theo IRRI (2002), hạt gạo được phân loại theo chiều dài của hạt gạo như sau: rất dài: > 7,50 mm, dài: 6,61 – 7,50 mm, trung bình: 5,51 – 6,60 mm, và ngắn: < 5,50 mm. Sự xếp hạng gạo theo tỉ lệ bề dài – đối với – bề rộng như sau: hạt dài: $\geq 3,1$, hạt trung bình: 2,1 – 3,0, và hạt ngắn: $\leq 2,0$.

2.2. GIỚI THIỆU VỀ CÁC GIỐNG LÚA THƠM

2.2.1. Lúa thơm trên thế giới

❖ Lúa thơm ở Ấn Độ và Pakistan: giống lúa Basmati 370

Giống lúa thơm Basmati 370 đã có thương hiệu trên thị trường quốc tế từ lâu, giống này được sản xuất ở phía bắc và tây bắc tiểu lục địa Ấn Độ, chủ yếu ở các bang Punjab, Haryana, tây Utar Pradesh và một phần Himachal Pradesh, Jammu và Kashmir, Delhi và Rajasthan. Hiện nay Ấn Độ sản xuất khoảng 0,6 – 0,7 triệu tấn gạo

Basmati trên diện tích khoảng 0,7 – 0,8 triệu ha với năng suất bình quân 0,85 tấn/ha (Kumar và CS., 1996).

Ở Pakistan, tổng diện tích trồng lúa là 2,1 triệu ha, trong đó 1,1 triệu ha ở Punjab (thuộc Pakistan), nơi lúa Basmati chiếm 80% diện tích. Tổng sản lượng lúa khoảng 3 triệu tấn, trong đó 70% để sử dụng trong nước, 30% để xuất khẩu, năm 1995 Pakistan xuất khẩu 452.300 tấn gạo Basmati.

Gạo Basmati có những đặc tính thơm đậm, hạt dài trên 6,5 mm, hạt cơm nở theo chiều dài, độ nở thường gấp đôi chiều dài hạt gạo, cơm mềm xốp (Juliano, 1972). Basmati có thân cao, yếu và dễ đổ, phản ứng với ánh sáng ngày ngắn và rất dễ nhiễm với tất cả các loại sâu bệnh. Hạt gạo Basmati dài có vết bạc bụng, do đó dễ gãy khi xay xát, dẫn đến tỷ lệ gạo nguyên thấp. Tiềm năng năng suất của Basmati chỉ đạt 1,5 – 2,0 tấn/ha, bình quân toàn vùng đạt khoảng dưới 1 tấn/ha. Mùi thơm của Basmati có ở mọi giai đoạn phát triển và có ở tất cả các cơ quan trên mặt đất của cây lúa. Mặc dù Ấn Độ có nhiều giống lúa thơm, nhưng về chất lượng vẫn thua kém so với giống Basmati 370, trong quá trình sản xuất lâu đời đã có nhiều dòng Basmati được chọn lọc, hoặc lai tạo từ nguồn Basmati 370.

❖ **Lúa thơm Thái Lan: giống lúa Khao Dawk Mali (KĐML)**

KĐML được chọn lọc tại trại thí nghiệm lúa Kok Samrong thuộc tỉnh Lop Buri. Năm 1955 dòng thuần tốt nhất KDM 4 – 2 – 105 được xác định và lấy tên Khao Dawk Mali 105 (Đỗ Khắc Thịnh, 2003).

KĐML 105 là giống phản ứng ánh sáng ngày ngắn, tại Thái Lan giống gieo cấy trong tháng 6 – 7, trổ bông từ 20 – 25 tháng 10, chín vào cuối tháng 11. Chiều cao 140 – 150 cm, đẻ nhánh 8 – 10 nhánh/khóm, thân mềm yếu, lá hẹp có màu xanh nhạt. Hạt có màu vàng rom, dạng hạt thon dài, mỏ hạt hơi cong. Hạt trong, có kích thước phôi nhỏ. Chiều dài hạt gạo lứt trung bình là 7,5 mm. Hàm lượng amylose hơi thấp, cơm hơi dính và có mùi thơm vừa.

KĐML 105 là giống có khả năng thích nghi rộng với các điều kiện môi trường khác nhau. Giống thích nghi nhất ở địa hình cao, tương đối kháng hạn, kháng trung bình với mặn, phèn và kháng trung bình với tuyến trùng rễ. Tuy vậy giống nhiễm nhiều loại sâu bệnh như cháy lá, cháy bìa lá, đốm vằn, rầy nâu, rầy xanh, sâu đục thân và muỗi lá hành. Năng suất bình quân đạt 1,7 tấn/ha, nhưng tiềm năng năng suất khá cao, có thể đạt 4,5 – 5,0 tấn/ha (Đỗ Khắc Thịnh, 2003).

❖ Giống lúa thơm ở Mỹ

– Giống Dellrose có hạt dài, thấp cây, ngắn ngày có phẩm chất gạo tốt, tỷ lệ xay xát cao, khả năng cho vụ tái sinh năng suất khá cao. Dellrose có mùi thơm đậm và có kích thước hạt dài trên 7 mm. Giống bị nhiễm bệnh cháy lá, đốm vằn, sọc trong, nhưng kháng đổ ngã tốt.

– Giống Jasmine 85 tên gốc là IR841 – 85. Đặc điểm nổi bật của giống là gạo thơm, cơm mềm, ngắn ngày thân thấp. Giống kháng cháy lá và bệnh khô vằn, nhiễm nhẹ sâu đục thân. Tại Mỹ, giống đạt năng suất cao nhưng lại có tỷ lệ gạo nguyên thấp. Jasmine 85 có đặc tính miên trạng lâu, do đó rất dễ bị lẫn tạp nếu trồng giống khác trên cùng một ruộng.

❖ Một số giống lúa thơm khác trên thế giới

Trung tâm Quỹ Gen Lúa Quốc tế tại IRRI tồn trữ hơn 180 giống lúa thơm trên thế giới từ các nước Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc, Lào, Campuchia, Việt Nam, Philippine, Indonesia, Thái Lan, Bangladesh, Afganistan, Nepal, Ấn Độ, Srilanca, Iran, Haiti, Mỹ...

Theo Viện Hàn Lâm Khoa học Nông nghiệp Trung Quốc (1986), trong hàng nghìn giống lúa của Trung Quốc có 3 giống lúa thơm nổi tiếng nhất: Xiang – Mi từ tỉnh Hoa Nam (tây nam TQ), Xiang – Geng Mi ở vùng SuZhou, tỉnh Jang An (miền Trung TQ), giống Shansi xang Dao từ thành phố Hang Zhong, tỉnh Shan Shi (tây bắc TQ). Trong bộ sưu tập giống của IRRI, các giống lúa với từ “Xiang“ nghĩa là “thơm“ đã được thu thập ở các tỉnh Zhezang, Thượng Hải (vùng ven biển TQ), Nam Kinh (trung tâm miền Đông). Có nhiều giống lúa thơm từ Đài Loan cũng được thu thập và tồn trữ tại IRRI.

Indonesia có giống lúa thơm Pandan Wangi chỉ phát triển tốt và có chất lượng cao ở xã Warung Kondang, huyện Ciangjur, tỉnh Jawn Barat thuộc đảo Java (Nguyễn Xuân Hiển, 1986). Azucena là giống lúa thơm nổi tiếng của Philippine, đây là giống thuộc loại hình Japonica, được trồng nhiều trên các vùng lúa cận của Philippine. Hai giống lúa thơm khác của Philippine cũng được phổ biến ở nước này là Malagkit Sungsong và Milarosa.

2.2.2. Một số giống lúa thơm Việt Nam

❖ Lúa thơm đặc sản Bắc bộ

– Nhóm lúa Tám

Nhóm này gồm nhiều giống lúa mùa chính vụ, nhưng có một số giống lúa muộn như Tám Xoan, Tám Đen, Tám Đỏ. Trong những năm 60 trở về trước, lúa Tám chiếm diện tích khá lớn, nhất là các tỉnh Trung du và đồng bằng Bắc bộ. Lúa Tám thường được trồng trên chân ruộng có nhiều màu, nhưng cũng có những giống thích hợp trên ruộng xấu hơn. Năm 1964, lúa Tám chiếm 22% diện tích canh tác lúa ở Bắc bộ (Bùi Huy Đáp, 1999). Bằng phương pháp phân tích isozyme, phân tích khoảng cách di truyền, các giống Tám thơm Việt Nam lần đầu tiên được xác định thuộc nhóm Japonica (Đỗ Khắc Thịnh, 2003).

Các giống lúa Tám phần lớn là những giống hạt nhỏ dài, chiều dài của hạt lúa thay đổi từ 7,6 mm đến 8,5 mm và chiều rộng của hạt từ 1,7 mm đến 2,7 mm. Tỷ lệ chiều dài/rộng là 3. Đặc biệt, Tám Xoan có hạt rất dài, có tỷ lệ dài/rộng đến 4,5. Lúa Tám thường có hạt màu vàng sẫm, nhưng cũng có giống màu vàng rom.

Trong các giống lúa Tám, quý nhất là giống Tám Xoan và Tám Thơm. Các loại lúa Tám thường có hạt màu vàng tươi, thời gian sinh trưởng trên dưới 150 ngày, đây là giống mùa chính vụ. Tám Xoan là giống mùa muộn có TGST 155 – 165 ngày, hạt có màu vàng sẫm và dài. Tám Thơm và Tám Xoan có phẩm chất cao nhất trong các giống lúa mùa của đồng bằng Bắc bộ: hạt nhỏ, gạo trong, đều hạt, cơm mềm dẻo, có mùi thơm đậm. Hai giống này khó trồng, vì chúng đòi hỏi ruộng tốt, hạt dai khó rụng, diện tích gieo trồng 2 giống này trước đây tương đối hạn hẹp (Bùi Huy Đáp, 1999).

– Nhóm lúa Dự

Lúa Dự thường là những giống chính vụ hoặc hơi sớm, thời gian sinh trưởng 130 – 138 ngày. Giống thường được cấy ở chân ruộng có nhiều màu, lúa Dự khác hẳn lúa Tám ở màu sắc tai lá, bẹ lá và mỏ hạt.

Lúa Dự có hạt dài 7,9 – 8,5 mm, chiều rộng của hạt từ 2,4 – 2,8 mm. Tỷ lệ giữa chiều dài và chiều rộng là 3. Màu sắc của hạt cũng thay đổi từ vàng rom đến vàng sẫm. Gạo Dự cũng là loại gạo quý, được nhiều người ưa chuộng. Nhưng so với Tám Thơm thì hạt gạo Dự thô hơn, kém trong, hạt có nhiều nhựa, khó nấu hơn và cơm ít thơm hơn.

❖ Lúa thơm đặc sản Nam bộ

Theo Nguyễn Xuân Hiên (1986), căn cứ vào đặc tính thực vật học giống lúa thơm mùa ở ĐBSCL có thể chia thành 2 nhóm: nhóm Nàng Thơm và nhóm Tàu Hương.

– Nhóm Nàng Thơm (nhóm giống gốc địa phương)

Bao gồm các giống lúa Nàng Thơm và hầu hết các giống Nàng Hương chiếm diện tích khá lớn ở những vùng trồng lúa thơm. Nhóm giống này có mùi thơm nhẹ đến thơm đậm, hạt dài màu vàng rom nhạt hay vàng rom sẫm. Nhóm giống Nàng Thơm được nhiều người ưa thích, giống được trồng nhiều ở Long An, TP. Hồ Chí Minh, Tiền Giang và miền Đông Nam bộ.

– Nhóm Tàu Hương (nguồn gốc nhập nội hoặc tạp giao giữa giống nhập nội và giống địa phương)

Nhóm giống này bao gồm giống Tàu Hương và một số giống có tên gọi là “Nàng Hương“ chiếm khoảng 20% lúa thơm ở ĐBSCL. Đặc điểm chính là hạt hơi bầu có sọc ở vỏ hạt, mùi thơm nhẹ đến đậm. Nơi sản xuất giống này nhiều là Bến Tre (Nguyễn Xuân Hiên, 1986).

❖ Nhóm giống ngắn ngày

Trong vài năm gần đây một số giống lúa thơm ngắn ngày được nhập nội từ một số nước như Jasmine 85 (Mỹ), VD20 (Đài Loan), VNN97 – 6 (Trung Quốc), MTL250 (IRRI), ST3 (chọn từ VD20). Nói chung các giống này có năng suất cao hơn giống địa phương và có thể gieo cấy nhiều vụ trong năm, các giống mới này làm phong phú thêm nguồn gen cây lúa ở ĐBSCL, góp phần đáp ứng nhu cầu của sản xuất và cho xuất khẩu.

Nói chung, các giống lúa thơm miền Bắc có ưu điểm mùi thơm đậm hơn, hạt trong, tuy vậy có kích thước hạt nhỏ; trong khi các giống lúa thơm miền Nam có hạt dài và lớn hơn nhưng hạt bị đục giữa, nhiều nơi người ta gọi là “hạt lựu“, đặc điểm này được ưa chuộng tại thị trường nội địa, nhưng chưa được đánh giá đúng mức ở thị trường quốc tế. Hầu như tất cả các giống đặc sản địa phương đều bị lẫn tạp (lẫn cơ giới và lẫn sinh học) với tỷ lệ khá cao, thông thường là 4 – 12%, đặc biệt có giống lẫn trên 20%. Hệ số biến động (CV) các đặc điểm nông học khá lớn, ví dụ đối với giống Nàng Hương có CV của tỷ lệ lép = 57,8%, năng suất có CV = 22,9% (Đỗ Khắc Thịnh và cộng sự, 1995).

2.3. Một số nghiên cứu và khái niệm cơ bản về phẩm chất lúa gạo

Theo Juliano (1985) chất lượng gạo ăn được đánh giá theo 4 nhóm chỉ tiêu sau:

- Hình thức bên ngoài của hạt gạo: dạng hạt, màu sắc, độ trong, độ bóng.
- Chất lượng xay xát: tỷ lệ gạo trắng, gạo nguyên, tỷ lệ tấm.
- Chất lượng cơm: hàm lượng amylose, nhiệt độ hóa hồ, độ bền thể gel, độ nở cơm.
- Chất lượng dinh dưỡng: hàm lượng protein, hàm lượng lipid, đường.

❖ Hàm lượng protein

Có sự biến động lớn về thành phần protein giữa các giống lúa. Hàm lượng protein của tổng số 17.587 giống trong bộ sưu tập của viện lúa IRRI với hàm lượng từ 4,3% đến 18,2%, bình quân là 9,5%. Hàm lượng protein trung bình của gạo lứt nhóm lúa Japonica cao hơn Indica với trị số tương đương là 11,1% và 9,8%.

Gomez và De Datta (1975) cho biết với 964 thí nghiệm đối với giống IR8, trồng trên nhiều điều kiện khác nhau ở Philippine, trong năm 1968 và 1972, hàm lượng protein của gạo lứt thay đổi từ 4,8% đến 12,1% với hệ số biến động CV = 13,0%. Giống lúa trong thí nghiệm khác là BPI có hàm lượng protein gạo lứt thay đổi 9 – 15% khi trồng trong cùng một tháng và một năm. Như vậy có sự tác động rất lớn của môi trường đến sự hình thành và tích lũy protein của lúa gạo.

Hàm lượng protein của gạo có xu hướng thấp khi bức xạ ánh sáng mạnh xảy ra ở giai đoạn phát triển của hạt. Vì vậy trong điều kiện nhiệt đới, hàm lượng protein trong hạt thường thấp hơn trong mùa khô và cao hơn trong mùa mưa (Gomez và De Datta, 1975). Nhiệt độ trong thời gian chín cũng ảnh hưởng đến hàm lượng protein trong hạt, nhưng thay đổi tùy theo nhóm giống. Nhóm Japonica tăng hàm lượng protein khi nhiệt độ trung bình tăng, nhưng nhóm Indica lại không có sự thay đổi.

Kỹ thuật canh tác cũng có những ảnh hưởng lớn đến hàm lượng protein của gạo. Hàm lượng protein cao khi trồng thưa hơn và có đầy đủ đạm cho cây lúa. Khi cung cấp thêm đạm, thường làm tăng hàm lượng protein trong hạt và tăng hàm lượng protein cao nhất khi bón đạm ở giai đoạn trổ bông (Đỗ Khắc Thịnh, 2003).

Nhiều tác giả cho rằng có sự tương quan nghịch giữa hàm lượng protein và năng suất hạt (Ericksson, 1968). Đối với hầu hết các giống lúa nếu năng suất hạt tăng cao thì hàm lượng protein có xu thế giảm.

❖ Độ bền thể gel

Tinh bột chiếm tỷ lệ trên 80% hạt gạo và được hình thành do hai đại phân tử amylose (mạch thẳng) và amylosepectin (mạch phân nhánh). Hàm lượng amylose được xem là thành phần quan trọng nhất khi đánh giá phẩm chất cơm, do nó quyết định độ mềm cơm (Juliano và CS., 1972). Hàm lượng amylose càng thấp thì cơm càng mềm, dẻo. Hầu hết các giống lúa Japonica đều có hàm lượng amylose thấp.

Hàm lượng amylose thường giảm khi nhiệt độ trung bình tăng nhưng mức độ phản ứng tùy thuộc giống thuộc loại Japonica hay Indica và phụ thuộc vào mức độ di truyền của giống (Resurreccion và CS., 1977). Sự biến động của hàm lượng amylose giữa các cây ít hơn 2% nhưng sự khác nhau giữa các bông trong một cây lại cao 3 – 7 % (Đỗ Khắc Thịnh, 2003).

Việc đánh giá độ bền thể gel của gạo giúp xác định chính xác hơn hàm lượng amylose. Độ bền thể gel dạng cứng chứng tỏ hàm lượng amylose cao và độ bền thể gel dạng mềm chứng tỏ hàm lượng amylose từ thấp đến trung bình (Rani, 2005).

Bảng 2.1 Phân loại chiều dài thể gel

Phân loại	Chiều dài (mm)
Cứng	27 – 35
Khá cứng	36 – 40
Trung bình	41 – 60
Mềm	61 – 100

Nguồn: IRRI, 2002.

2.4. Một số kết quả nghiên cứu về hóa sinh chất thơm của lúa gạo

2.4.1. Các hợp chất bay hơi trong gạo thơm

Nghiên cứu đầu tiên về gạo thơm đã được thực hiện bởi Yajima và các cộng sự (1979). Họ đã xác định được 114 thành phần có trong gạo thơm, trong đó có 21 acid, 14 ester của các acid béo, 15 alcohol, 18 aldehyde, 17 ketone, 18 hydrocarbon và một vài hợp chất vòng khác như pyridine và furan. Khi so sánh gạo thông thường với gạo thơm, Yajima đã rút ra nhận định trong gạo thông thường hàm lượng 4-vinylphenol, 1-hexanol và 1-hexanal cao hơn trong gạo thơm, nhưng lại có hàm lượng indole ít hơn trong gạo thơm.

Bullard và Holguin (1977) đã nghiên cứu hạt gạo và đun ở 50°C trong 4 giờ, sau đó những thành phần bay hơi được thu thập. Họ đã xác định được 70 chất và dò được 30 chất khác.

Tsuzuki và CS. (1981) và Buttery và CS. (1983b) đã phân tích những thành phần bay hơi có trong cơm nấu từ gạo thơm. Kết quả là họ đã nhận biết được hơn 114 chất.

Buttery và CS. (1988) đã xác định được những thành phần chính trong mùi thơm của gạo thơm hạt dài California là 2-acetyl-1-pyrroline, (E,E)-2,4-decandienal, nonanal, hexanal, (E)-2-nonenal, octanal, decanal, 4-vinylguaiacol và 4-vinylphenol.

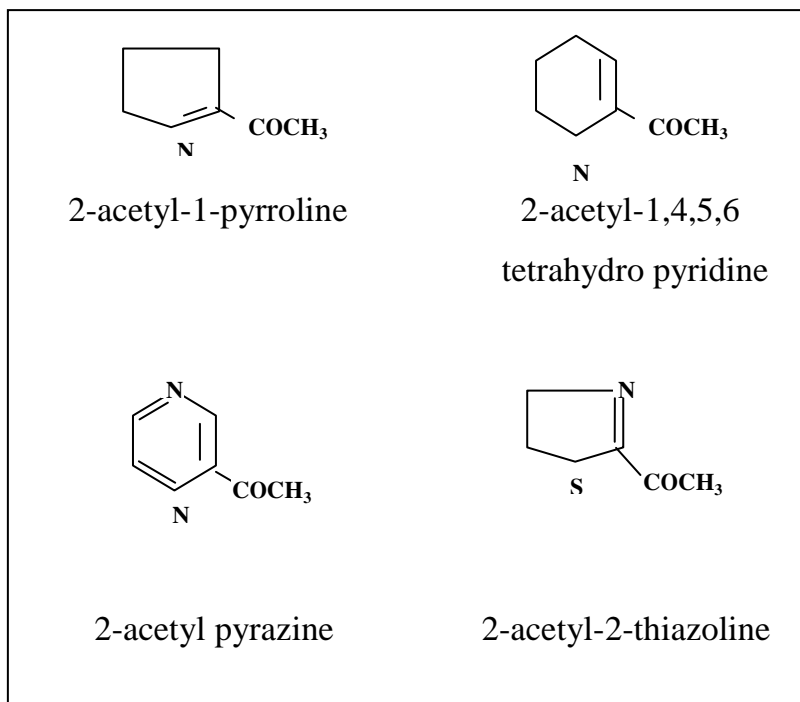
Widjaja và CS. (1996) đã tiến hành so sánh những chất bay hơi có trong gạo thông thường và gạo thơm. Họ đã xác định được 70 chất và mô tả mùi thơm hầu hết những chất đó. Những chất bay hơi chính trong gạo thơm là các alkanal, alk-2-enal, alka(E)-2,4-dienal, 2-pentylfuran, 2-acetyl-1-pyrroline và 2-phenylethanol. Những giống gạo thông thường chứa nhiều n-hexanal, (E)-2-heptanal, nonanal, (E)-2-octenal, 2-pentylfuran, 4-vinylguaiacol và 4-vinylphenol hơn so với gạo thơm.

2.4.2. Hợp chất thơm 2-acetyl-1-pyrroline (2AP)

Buttery và CS. (1983a) đã nghiên cứu 7 giống lúa thơm. Trong số các thành phần xác định bằng phương pháp sắc ký khí, hợp chất 2AP đã tìm thấy và có mùi tương tự như mùi thơm của cơm. Ngưỡng mùi thơm của chất này trong nước là 0,1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ và mùi thơm tích lũy tương tự như loại ngô nổ (pop – corn).

Hussain và CS. (1987) thực hiện so sánh mùi thơm giữa lúa thơm (Basmati) và lúa không thơm. Xác định hợp chất thơm trên cơ sở tính vùng đỉnh của sắc ký, nơi thể hiện có nhiều pentadecan-2-one, hexanol và 2-pentylfuran ở lúa Basmati. Chất 2AP không tìm thấy. Tuy vậy hầu hết các nghiên cứu thực hiện sau 1983 (Buttery và CS., 1983b; Paule và Power, 1989; Lin và CS., 1990; Tanchotkul và Hseih, 1991) đều chỉ rõ vai trò quan trọng của hợp chất này, trong gạo chà hàm lượng của nó thay đổi từ 0,006 ppm đến 0,09 ppm.

Trong thí nghiệm phân tích của Trung tâm Nghiên cứu vùng của Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ và IRRI (1982) cũng cho kết quả về hàm lượng chất 2AP của 8 giống lúa thơm và 2 giống lúa không thơm. Hàm lượng chất thơm 2AP của Khao Dawk Mali 105 và Basmati 370 là 0,07 và 0,06 ppm theo thứ tự, giống đối chứng Calrose là 0,006 ppm.



Hình 2.3 Công thức hoá học của các hợp chất thơm trong gạo (IRRI, 1982).

Thành phần hóa sinh liên quan đến sự hình thành mùi vị, nhưng sự hình thành mùi vị của cây phụ thuộc vào nhiều yếu tố: di truyền, môi trường, dinh dưỡng và điều kiện cất giữ (Đỗ Khắc Thịnh, 2003). Vì vậy phân biệt mùi giữa lúa thơm và không thơm không chỉ dựa hoàn toàn vào thành phần hoá sinh (axit béo, amino axit, đường hoặc chất màu trong mỗi giống). Mũi của người có thể phát hiện được nồng độ của chất thơm 2AP ở nồng độ 0,007 ppm. Do đó, đánh giá bằng cảm quan, trong điều kiện nhất định và với những người có khứu giác bình thường, kết quả có thể tin cậy được.

Lorieux, Petrov và CS. (1996) đã phân tích mẫu gạo của 2 giống lúa Azucena (thơm) và giống IR 64 (không thơm), phân tích định lượng của 15 hợp chất chính liên quan đến 2 giống trên. Không tìm thấy chất 2AP ở IR64 trong khi đó giống lúa thơm Azucena có hàm lượng cao. Trong số 89 hợp chất phân tích, xử lý thống kê cho thấy các chất sau có sự khác biệt giữa giống lúa thơm và không thơm: pentanol, 2AP, benzaldehyde, octanol, pentadecan-2-one, 6,10,14-imethylpentadecan-2-one và hexanol.

Hiện nay có hai quan điểm về thành phần chất thơm của lúa gạo. Quan điểm thứ nhất cho rằng chất thơm được tạo ra từ các hợp chất aldehyde (-CHO) và keton (C=O) và từ các hợp chất với lưu huỳnh (Ayano và Tsuzuki, 1976). Quan điểm thứ 2 cho rằng chất thơm lúa gạo do vòng pyrrol kiểm soát tính thơm của chất 2AP (Buttery và CS., 1983a).

2.5. GIỚI THIỆU VỀ SẮC KÝ KHÍ (GAS CHROMATOGRAPHY)

2.5.1. Lịch sử phát triển sắc ký

Năm 1903, nhà bác học Nga Tsvet đã dùng cột nhôm oxit tách thành công các pigmen của lá cây xanh thành các vùng màu riêng biệt. Ông đã giải thích hiện tượng bằng ái lực hấp phụ khác nhau của sắc tố và đặt tên phương pháp này là phương pháp sắc ký (nghĩa là ghi màu) vì đã tách được những chất có màu.

Năm 1931, sau khi Vinterstin và Lederer dùng phương pháp của Tsvet tách carotin thô thành α - và β -carotin và nhận thấy giá trị của phương pháp về phương diện điều chế, phương pháp sắc ký mới bắt đầu được chú ý đúng mức và phát triển nhanh chóng.

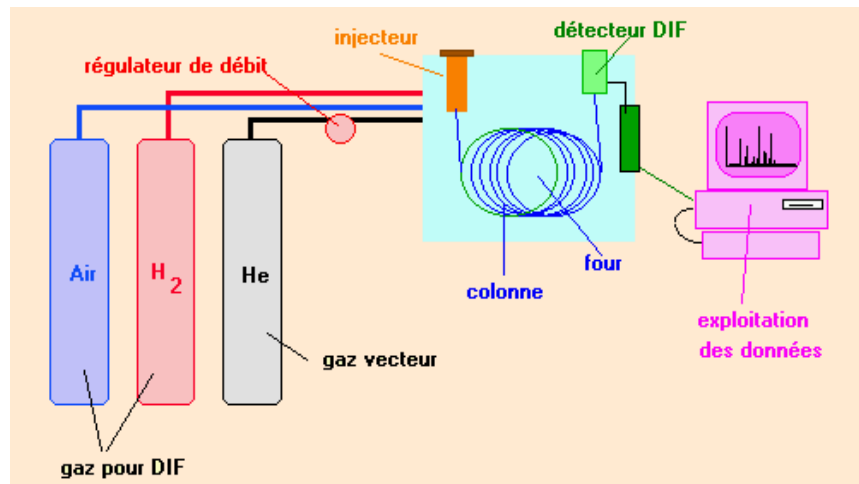
Năm 1952, Martin công bố công trình đầu tiên về sắc ký khí dựa trên sự phân bố của chất giữa pha tĩnh là chất lỏng và pha động là chất khí. Chỉ trong vòng vài ba chục năm, sắc ký khí đã đạt được nhiều thành tựu tuyệt vời và hiện nay là một trong những phương pháp hiệu nghiệm nhất về phân tích hỗn hợp các chất, đặc biệt các chất hữu cơ.

2.5.2. Nguyên tắc của sắc ký khí

Nguyên tắc của sắc ký khí là mỗi cấu phần trong gạo thơm sẽ bị hấp phụ trên pha tĩnh của cột phân tích khác nhau nên có thời gian lưu khác nhau. Trên cơ sở khác nhau về thời gian lưu này mà người ta có thể định tính và định lượng cấu tử cần nghiên cứu.

Hai bộ phận quan trọng nhất của thiết bị sắc ký khí là hệ thống cột tách và detector. Nhờ có khí mang, mẫu từ buồng bay hơi được dẫn vào cột tách nằm trong buồng điều nhiệt. Quá trình sắc ký xảy ra ở đây, sau khi các cấu tử rời bỏ cột tách tại các thời điểm khác nhau các cấu tử lần lượt đi vào detector, tại đó chúng được chuyển thành tín hiệu điện, tín hiệu này được khuếch đại và xử lý trên hệ thống máy tính thành các peak khác nhau về cả chiều cao và diện tích.

Trên sắc ký đồ thu được ta có các tín hiệu ứng với các cấu tử được tách gọi là peak. Thời gian lưu của peak là đại lượng đặc trưng cho chất cần tách (định tính) còn diện tích peak là thước đo định lượng cho từng chất trong hỗn hợp nghiên cứu (Phạm Hùng Việt, 2005).



Hình 2.4 Sơ đồ thiết bị sắc ký khí detector ion hóa ngọn lửa FID (Phan Phước Hiền, 2005).

2.5.3. Thiết bị sắc ký khí

2.5.3.1. Bộ phận bơm mẫu (injector)

Mẫu có thể được đưa vào cột theo các hình thức:

- Gián tiếp và chia dòng.
- Gián tiếp và không chia dòng.
- Trực tiếp.

❖ Bơm mẫu có chia dòng (split)

Phương pháp bơm mẫu theo cách chia dòng cho đến nay vẫn được sử dụng nhiều nhất. Mẫu được bơm vào máy theo thể thức thông thường như đối với sắc ký khí cột nhồi, nhưng sau đó bị chia nhánh sao cho chỉ có một phần nhỏ của lượng mẫu ban đầu đi vào cột mao quản. Tỷ lệ chia dòng thông dụng nhất nằm trong khoảng từ 1:50 cho tới 1:500.

Nhược điểm duy nhất của bộ phận bơm mẫu kiểu này là sự “phân biệt đối xử” đối với các cấu tử có độ bay hơi khác nhau của mẫu rất khác nhau. Nó làm cho thành phần của phân mẫu đi vào cột tách khác so với thành phần của mẫu ban đầu.

❖ Bơm mẫu không chia dòng (splitless)

Trong kỹ thuật này, khoảng 2 μ l dung dịch mẫu pha loãng được bơm vào buồng bay hơi mẫu. Nhiệt độ của buồng bay hơi mẫu được đặt rất thấp (tương đương nhiệt độ phòng). Sau một thời gian nhất định thì mở bộ chia dòng (splitter). Và sau khi peak dung môi xuất hiện, mới bắt đầu mở chương trình nhiệt độ. Kỹ thuật bơm mẫu này

làm cho peak dung môi nhỏ đi rất nhiều so với bình thường và do vậy các peak ra ngay sau peak dung môi sẽ không bị xen phủ mất.

Điều cần lưu tâm duy nhất trong kỹ thuật này là thời gian lưu lại của mẫu trong buồng bay hơi mẫu khá lớn, có thể dẫn đến khả năng hấp phụ.

2.5.3.2. Cột tách (column)

Hiện nay ở Việt Nam, cột nhồi thông thường vẫn là loại cột sắc ký phổ biến nhất. Trong khi đó, đa số các phòng thí nghiệm, kể cả trong kỹ nghệ, ở nhiều nước khoa học tiên tiến, hầu như đã bỏ hẳn cột nhồi mà chỉ còn sử dụng cột mao quản.

Cột nhồi thông thường: loại cột này thường có đường kính trong từ 3 – 6 mm. Đối với mục đích điều chế thì sử dụng các cột tách có đường kính trong lớn hơn, thường tới 12 mm, được nhồi đầy bằng một loại chất mang có phủ trên bề mặt một lớp mỏng pha lỏng tương ứng có khối lượng từ 0,1% – 25% khối lượng so với chất mang.

Cột mao quản: là loại cột tách với đường kính nhỏ hơn 1 mm và thành trong của cột được tẩm pha tĩnh. Nhờ cấu trúc đặc biệt này của cột mao quản, khí mang sẽ đưa mẫu đi qua cột tách rất dài (do vậy năng suất tách rất cao) mà không gặp trở kháng gì lớn (về độ chênh lệch áp suất), các cấu tử sẽ tương tác với pha tĩnh bám trên thành cột và được pha tĩnh “lưu giữ” lại với mức độ khác nhau.

Có hai loại cột mao quản chủ yếu:

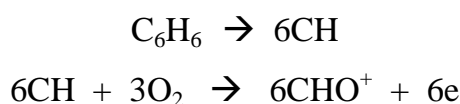
- Cột mao quản phim mỏng (WCOT – wall coated open tubular column) thường có đường kính trong khoảng 0,2 đến 0,5 mm. Thành trong của loại cột này được tẩm trực tiếp (mà không cần thông qua một lớp chất hấp phụ xốp) bởi một lớp phim pha tĩnh mỏng.

- Cột mao quản lớp mỏng (PLOT – porous layer open tubular column) còn có thêm một lớp mỏng chất hấp phụ (đóng vai trò như chất mang) giữa thành trong của cột tách và lớp phim của pha tĩnh.

2.5.3.3. Detector

Detector có nhiệm vụ chuyển hóa một đại lượng không điện (trong trường hợp này là nồng độ của các chất được tách khỏi cột sắc ký) thành đại lượng điện. Ngày nay, đã có gần 30 loại detector khác nhau. Trong đó, 3 loại detector phổ biến nhất là: detector dẫn nhiệt (TCD), detector ion hóa ngọn lửa (FID) và detector cộng kết điện tử (ECD).

Detector FID là một trong những detector có độ nhạy cao. Nguyên tắc làm việc của nó dựa trên sự biến đổi độ dẫn điện của ngọn lửa hydro đặt trong một điện trường khi có chất hữu cơ cần tách chuyển qua. Nhờ nhiệt độ cao của ngọn lửa hydro, các chất hữu cơ từ cột tách đi vào detector bị bẻ gãy mạch, bị ion hóa nhờ có oxy của không khí để tạo thành các ion trái dấu tương ứng. Cơ chế tạo thành ion trong trường hợp benzen như sau:



Các ion tạo thành được chuyển về các bản điện cực trái dấu nằm ở hai phía của ngọn lửa (thể hiệu giữa hai bản điện cực này khoảng 250 – 300 V). Dòng ion đó được giảm áp trên một điện trở có trị số rất cao ($10^8 - 10^{12} \Omega$) và độ giảm hiệu điện thế này được khuếch đại và ghi lại trên máy tự ghi.

2.5.4. Sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS)

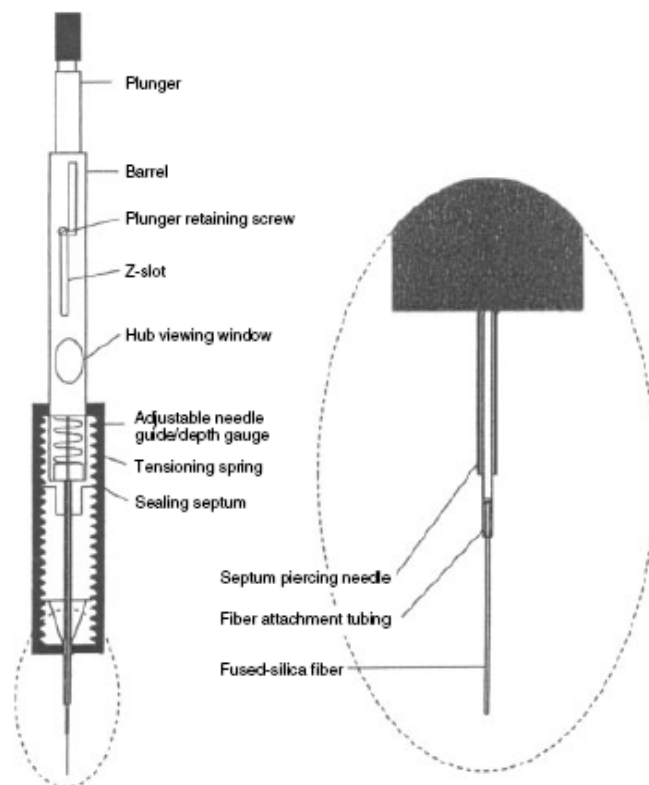
Sắc ký khối phổ là một loại sắc ký đặc biệt, vì sau khi ra khỏi cột sắc ký, các cấu phần được lần lượt cho vào buồng MS để thực hiện việc ghi phổ của từng cấu phần. Nhờ một phần mềm, các phổ MS này được so sánh với các phổ MS chuẩn chứa trong thư viện của máy tính. Do đó để tăng độ chính xác cho sự dò tìm và so sánh, thư viện phổ khối lượng cần phải có nhiều phổ chuẩn. Độ tương hợp giữa phổ MS của các cấu phần và phổ mẫu có tính tương đối tùy thuộc phần mềm phụ trách việc so sánh, thường thì độ tương hợp càng lớn thì xác suất định danh càng cao. Kinh nghiệm về thành phần hóa học và kiến thức về phổ khối lượng quyết định rất lớn độ chính xác của kết quả định danh. Đầu dò phổ khối lượng có độ nhạy cao, khoảng $10^{-6} - 10^{-9}$ g, do đó có thể xác định được những cấu phần có hàm lượng thấp mà các phương pháp khác không thể thực hiện được. Sắc ký khối phổ có khả năng định danh cao, khả năng dò tìm nhanh, lượng mẫu sử dụng ít (Phạm Hùng Việt, 2005).

2.6. Phương pháp vi chiết pha rắn (SPME – Solid Phase Micro Extraction)

Phương pháp vi chiết xuất trên pha rắn (SPME) được phát minh bởi Pawliszyn và cộng sự năm 1989, dựa trên cơ chế hấp phụ của các chất hữu cơ cần phân tích từ pha nước hoặc pha khí lên sợi silica được phủ các chất hấp phụ thích hợp như polydimethylsiloxane (PDMS), PDMS/DVB (divinylbenzene), polyacrylate,... Các hợp chất bám trên sợi silica sẽ được giải hấp trực tiếp vào buồng hóa hơi của thiết bị sắc ký khí.

2.6.1. Dụng cụ sử dụng cho kỹ thuật SPME

Sợi chiết dùng trong kỹ thuật vi chiết pha rắn là một đoạn sợi silica biến tính ngắn và mỏng (dài khoảng 1 cm, đường kính ngoài cỡ 0,11 mm), được bao phủ bên ngoài bởi một lớp polyme. Sợi chiết này khá ổn định ở nhiệt độ cao và có cấu tạo hóa học tương tự như phía bên trong của cột mao quản silica biến tính sử dụng trong phương pháp sắc ký khí. Sợi chiết được gắn với một cần kim loại, tất cả được đặt trong 1 ống kim loại bảo vệ. Để thuận tiện khi sử dụng, toàn bộ hệ sợi chiết và các bộ phận phụ trợ được bố trí theo kiểu ống xyranh.



Hình 2.6 Dụng cụ thực hiện kỹ thuật vi chiết pha rắn (Gyorgy Vas, 2004).

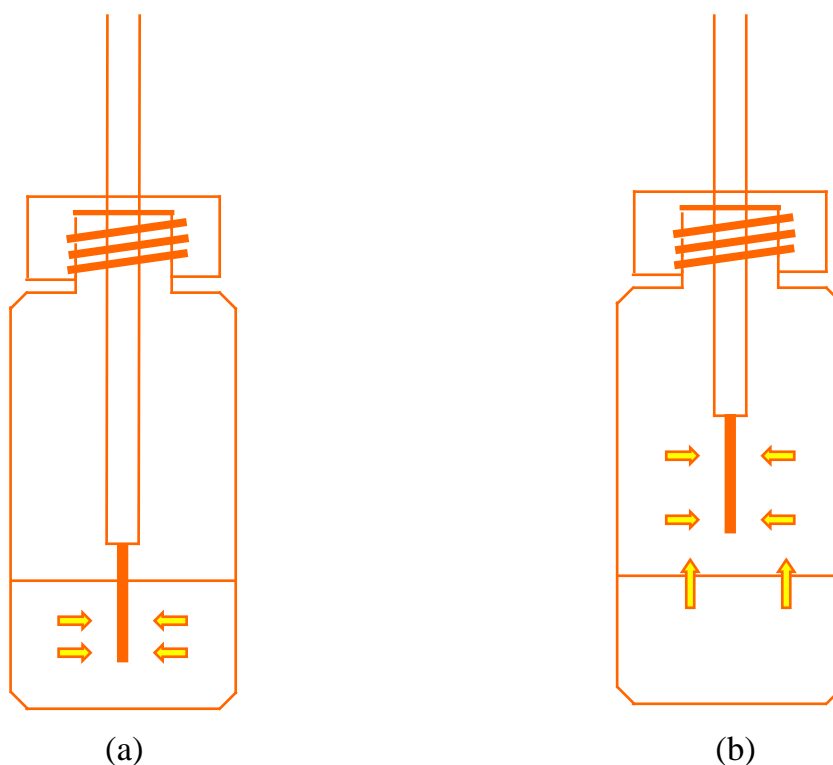
2.6.2. Các bước thực hiện trong kỹ thuật SPME

Kỹ thuật chiết SPME gồm 2 bước:

- Phân bố chất phân tích giữa mẫu và pha tĩnh của sợi chiết.
- Chất phân tích đã làm giàu được giải hấp từ pha tĩnh của sợi chiết và chuyển vào thiết bị phân tích.

Để thực hiện quá trình chiết, mẫu nước chứa chất hữu cơ hoặc mẫu rắn chứa chất hữu cơ dễ bay hơi cần phân tích được đặt trong lọ, đóng kín bằng nút có septum. Khi lấy mẫu, ống kim loại bảo vệ chứa sợi chiết SPME đâm xuyên qua septum, sau đó

pittong sẽ đẩy sợi chiết lộ ra khỏi ống kim loại bảo vệ. Sợi chiết được nhúng vào mẫu lỏng (DI – direct immersion) hay nằm trong khoảng không gian hơi phía trên pha mẫu (HS – headspace). Chất phân tích được chiết từ mẫu vào pha tĩnh của sợi chiết. Sau một thời gian hấp phụ đã định, sợi chiết được kéo vào trong lòng ống bảo vệ, rồi rút ra khỏi lọ đựng mẫu. Sau đó ống bảo vệ chứa sợi chiết được đưa vào bộ phận bơm mẫu của sắc ký khí, pittong lại đẩy sợi chiết ra khỏi ống bảo vệ. Lúc này, sợi chiết tiếp xúc với môi trường nhiệt độ cao trong bộ phận bơm mẫu của GC, các chất phân tích đã làm giàu được giải hấp nhiệt và chuyển vào cột sắc ký khí.



Hình 2.7 Các kỹ thuật chiết SPME

(a) Nhúng trực tiếp (DI – SPME)

(b) Khoảng không gian (HS – SPME)

2.6.3. Ứng dụng SPME trong phân tích 2AP

Theo Casey C. Grimm và cộng sự (2000), lượng 2AP thu được sẽ tăng gấp đôi khi tăng nhiệt độ từ 60⁰C lên 85⁰C. Ngược lại, hàm lượng chất chuẩn 2,4,6-trimethylpyridine sẽ giảm khi nhiệt độ tăng. Không có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng 2AP khi chiết xuất mẫu ở 80⁰C và 85⁰C; do đó, 80⁰C được xem là điểm nhiệt độ thích hợp cho quá trình chiết xuất.

Theo Casey C. Grimm và cộng sự (2000), khoảng thời gian từ 10 – 15 phút đủ để thu nhận hầu hết các chất bay hơi, trong khi những thành phần ít bay hơi hơn như

acid hữu cơ hay ester phải tồn hàng giờ mới có thể thu nhận được. Sau khi so sánh lượng 2AP thu được sau khoảng thời gian hấp phụ là 10, 15, 20 phút, họ đã rút ra nhận định thời gian chiết xuất mẫu phù hợp nhất là 15 phút .

Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc thêm nước vào mẫu gạo sẽ giúp tăng hàm lượng 2AP thu nhận được, đồng thời giảm được yêu cầu phải nghiền mẫu, góp phần đơn giản hóa quá trình chuẩn bị mẫu. Lượng nước cất tối ưu sử dụng cho quá trình chiết xuất là 200 μ l.

Để xác định lượng 2AP hấp thu, diện tích peak được chuyển thành khối lượng bằng cách dựng đường chuẩn dựa trên chuẩn 2AP pha loãng trong CHCl_3 . Hàm lượng 2AP trung bình thu được trong mẫu gạo Jasmine khoảng 2,2 ng trong 0,75 g gạo, tương đương với 2,9 ppb. Phương pháp SPME phù hợp cho việc so sánh mối tương quan về nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo khác nhau. Nhìn chung, trong tất cả các trường hợp, phương pháp SPME có thể phân biệt giữa gạo thơm và gạo thông thường. Cấu tử 2AP chỉ chiếm 1 lượng nhỏ trong tổng số các chất bay hơi, nhưng lượng này đủ để chiếm ưu thế trong thành phần chất thơm có trong cơm gạo.

PHẦN 3

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM TIẾN HÀNH

- ✓ Thời gian: từ 4/2006 – 8/2006.
- ✓ Địa điểm lấy mẫu:
 - Điểm nghiên cứu lúa gạo của Sở nông nghiệp và phát triển nông thôn Sóc Trăng.
 - Các điểm nghiên cứu lúa gạo của CIRAD ở Việt Nam (Long An, Nam Định), Ấn Độ, Ý và các siêu thị ở Pháp.
- ✓ Địa điểm tiến hành thí nghiệm: Trung tâm Phân tích Thí nghiệm Hóa Sinh trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.

3.2. VẬT LIỆU, HÓA CHẤT VÀ THIẾT BỊ

- ✓ Vật liệu: các loại lúa thơm trồng phổ biến ở Việt Nam (ĐBSCL, Nam Định), Ấn Độ, Ý và các loại gạo thơm bán ở các siêu thị của Pháp.

Bảng 3.1 Bảng thống kê các mẫu lúa và gạo thu thập được

Chủng loại mẫu	Nơi lấy mẫu	Số lượng
Jasmine 85	Sóc Trăng	8
VD20	Sóc Trăng	9
OM3536	Sóc Trăng	9
Nàng Thơm Chợ Đào	Long An	4
Tám Xoan	Nam Định	9
Khao Dawk Mali 105	Tiền Giang	1
Các dòng ST	Sóc Trăng	8
Taroari Basmati	Ấn Độ	1
Giano 96/6	Ý	1
Basmati	Pháp	1
Viet Nam	Pháp	1
Jasmine	Pháp	1

✓ Hóa chất sử dụng: Methanol (Merck – Đức), Ethanol (Merck – Đức), Acetone (Merck – Đức), 2,4,6-Trimethylpyridine (Sigma – Mỹ và Aldrich – Đức), K_2SO_4 , $CuSO_4$, H_2SO_4 , Parafin, H_3BO_3 , NaOH, KOH, Thymol blue (Trung Quốc).

✓ Dụng cụ và thiết bị:

- Cân điện tử BP 210S – Sartorius AG Gottingen (Đức).
- Bồn siêu âm Power sonic 510 – Hwashin Technology Co. (Hàn Quốc).
- Máy sắc ký khí HP 6890 N (G1540N) – Agilent Technologies (Mỹ).
- Máy sắc ký khối phổ HP 6890 N (G1530N) – Agilent Technologies (Mỹ).
- Kim SPME (SupelcoTM SPME fiber holder) – Bellefonte, PA (Mỹ).
- Micropipette (Nichipet – Japan).
- Tủ mát (Darling - Việt Nam).
- Tủ lạnh (Hitachi – Japan).
- Tủ sấy (Mettler – Đức).
- Cá từ, lọ (Agilent – Mỹ), nắp lọ (Interchim – France), kèm bấm nắp (Supelco – Mỹ).
- Máy bóc vỏ trấu, khoa Cơ Khí Công Nghệ trường Đại học Nông Lâm.
- Máy nhiệt từ (Ikamag – Đức).
- Máy phân tích đạm (Gerhardt – Đức).
- Máy vortex (Đức).

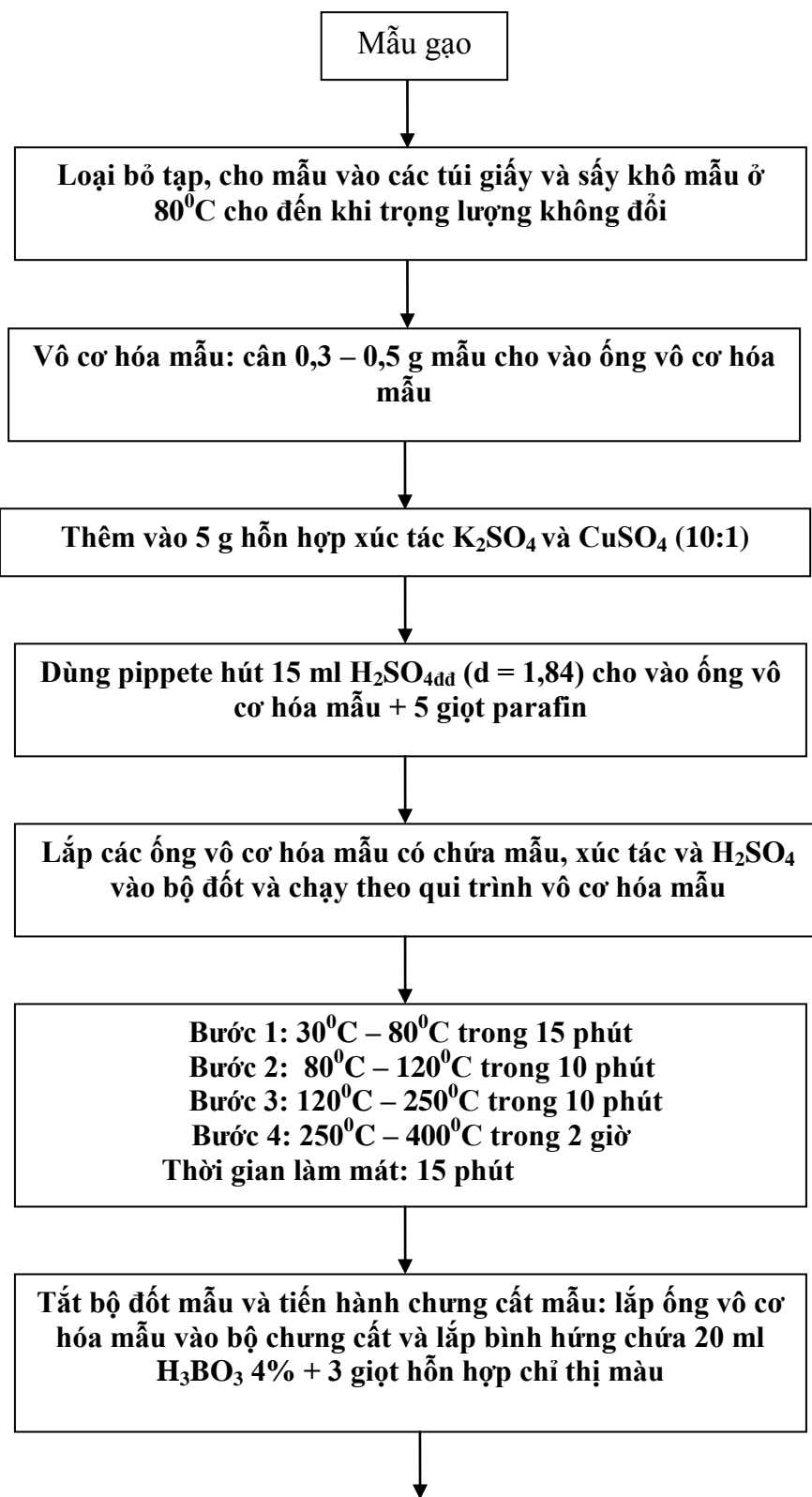
3.3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

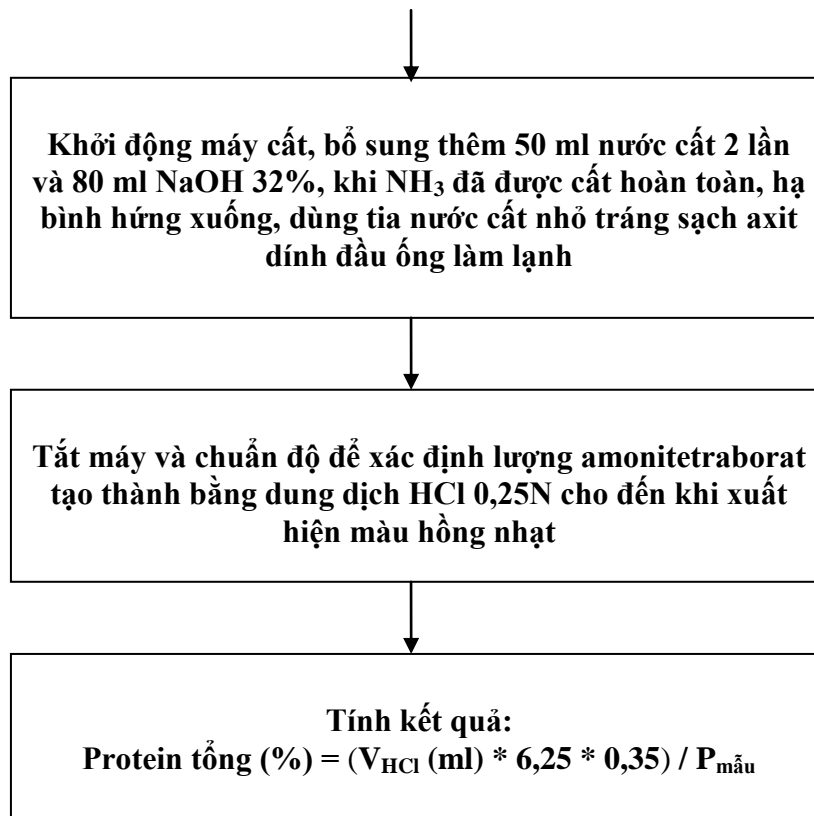
- Phân tích hàm lượng protein thô (theo phương pháp Kjeldahl) và độ bền thể gel (theo phương pháp của Khush và CS., 1979) có trong gạo thơm.
- Chiết xuất các hợp chất bay hơi có trong gạo thơm bằng phương pháp SPME.
- Định tính và định lượng các hợp chất bay hơi quan trọng trong gạo thơm kết hợp GC và GC – MS.

3.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.4.1. Phân tích một vài đặc điểm hóa sinh của gạo thơm

3.4.1.1. Hàm lượng protein theo phương pháp Kjeldahl



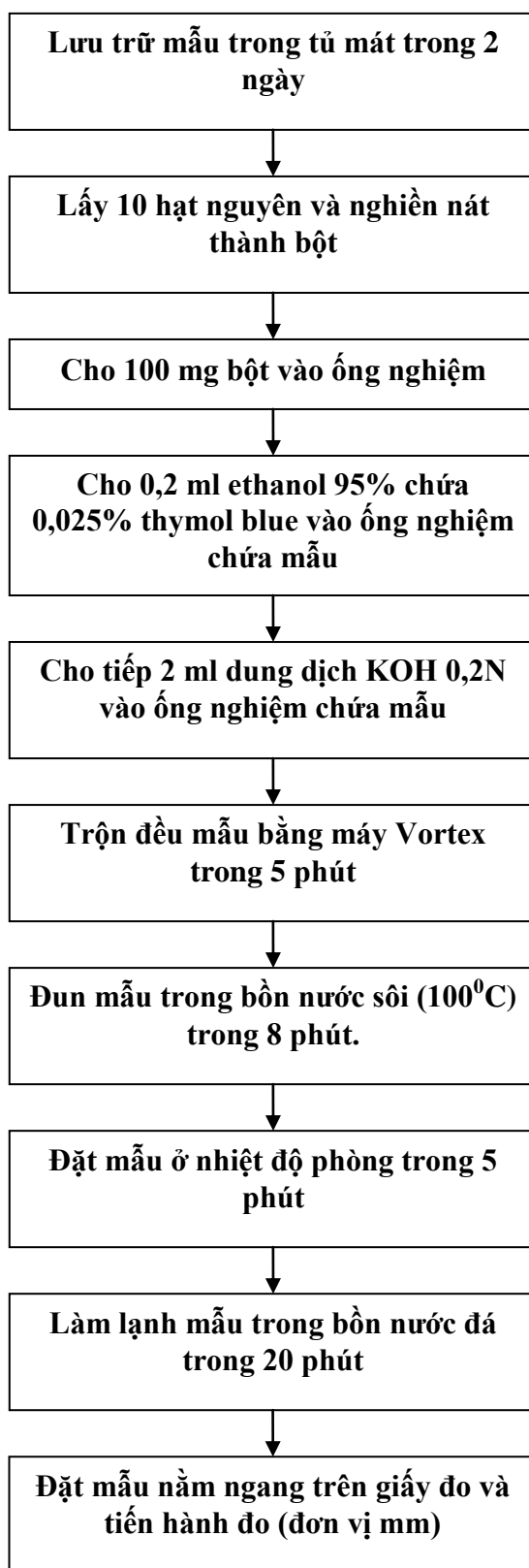


Sơ đồ 3.1 Phân tích hàm lượng protein theo phương pháp Kjeldahl.



Hình 3.1 Hệ thống máy phân tích đạm.

3.4.1.2. Độ bền thể gel theo phương pháp của Khush và CS. (1979)



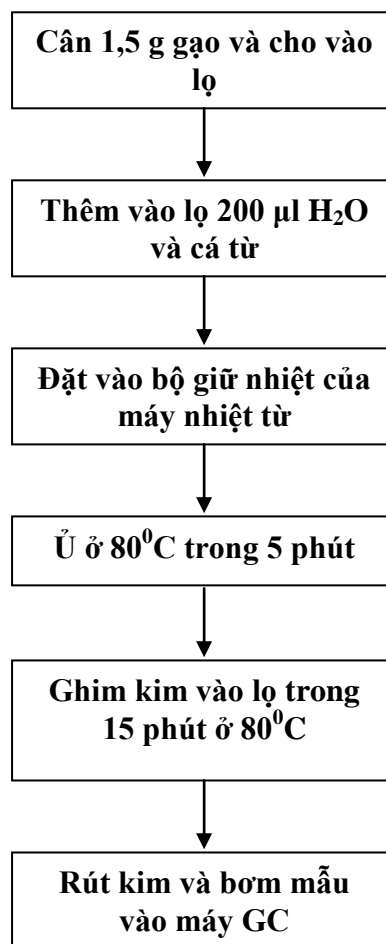
Sơ đồ 3.2 Phân tích độ bền thể gel theo phương pháp của Khush và CS. (1979).

3.4.2. Chiết xuất hợp chất bay hơi trong gạo thơm bằng phương pháp SPME

Cân $1,5 \pm 0,1$ g gạo (hoặc lúa đã bóc vỏ trấu) cho vào lọ 10 ml, thêm 200 μ l nước khử ion và cá từ vào lọ, đậy nắp. Cho vào bộ giữ nhiệt của máy nhiệt từ đã được thiết lập ở nhiệt độ 80°C , 250 vòng/phút trong 5 phút. Đây là giai đoạn ủ để các chất bay hơi trong gạo và phần không khí có trong lọ đạt được pha cân bằng trước khi tiến hành chiết xuất. Sau 5 phút, ghim kim SPME vào lọ bi và để fiber tiếp xúc với môi trường trong lọ. Đây chính là giai đoạn chiết xuất các chất bay hơi có trong gạo. Giai đoạn hấp phụ này kéo dài trong 15 phút ở 80°C . Trong giai đoạn này các chất bay hơi trong gạo sẽ được hấp phụ vào fiber. Sau khi kết thúc giai đoạn chiết xuất, bơm kim SPME vào máy GC để bắt đầu giai đoạn phân tích các cấu tử bay hơi có trong gạo.



Hình 3.2 Hệ thống máy nhiệt từ.



Sơ đồ 3.3 Phương pháp SPME.

3.4.3. Xác định các hợp chất bay hơi quan trọng có trong gạo thơm

Các hợp chất bay hơi có trong gạo thơm được xác định thành phần trên GC/MS. Chương trình nhiệt và các thông số thực nghiệm được điều chỉnh trên GC, các thông số này được tối ưu hóa và áp dụng trên GC/MS.

Sau đây là các điều kiện thực nghiệm trên GC và GC/MS.

3.4.3.1. Trên sắc ký khí (GC)

- Nhiệt độ lò: 40⁰C
- Đầu dò FID: 250⁰C
- Dòng H₂: 30 ml/phút
- N₂: 30 ml/phút
- Không khí: 300 ml/phút
- Bơm mẫu không chia dòng (splitless).



Hình 3.3 Máy sắc ký khí

- Cột Model No: Agilent 19091J – 113 HP – 5 5% Phenyl Methyl Siloxane 30 m × 320 μm × 0, 50 μm.
- Chương trình nhiệt: nhiệt độ đầu 40⁰C, tăng 3⁰C/phút cho đến khi đạt 115⁰C, tăng 30⁰C/1 phút cho đến khi đạt 220⁰C, giữ ở 220⁰C trong 5 phút. Thời gian tổng cộng: 38 phút 30 giây.

3.4.3.2. Trên sắc ký khối phổ (GC/MS)

- Nhiệt độ lò: 40⁰C
- Đầu dò MS: 250⁰C
- Cột Agilent 19091J-413 HP-5 0, 25 mm x 30 m x 0, 25 μm.
- Bơm mẫu không chia dòng (splitless).
- Chương trình nhiệt: nhiệt độ đầu 40⁰C, tăng 3⁰C/phút cho đến khi đạt 115⁰C, tăng 30⁰C/1 phút cho đến khi đạt 220⁰C, giữ ở 220⁰C trong 5 phút. Thời gian tổng cộng: 38 phút 30 giây.



Hình 3.4 Máy sắc ký khối phổ ghép khối

3.4.3.3. Xác định hệ số phản hồi (Response factor – RF)

Hợp chất 2AP tồn tại ở nồng độ rất thấp, không bền và khó tổng hợp nên không được sản xuất và bán trên thị trường. Nếu muốn sử dụng hợp chất 2AP để xác định

đường chuẩn thì phải tự tổng hợp. Do điều kiện phòng thí nghiệm chưa đủ để tổng hợp tại chỗ hợp chất 2AP nên chúng tôi đã sử dụng collidine như một hỗn hợp ngoại chuẩn thay thế.

Tiến trình pha chuẩn collidine trong xác định RF gồm các bước sau:

- Pha dung dịch chính: hút 25 mg collidine cho vào bình định mức 50 ml, sau đó thêm methanol cho đủ 50 ml.
- Pha dung dịch pha loãng: hút 1 ml từ dung dịch chính đã pha cho vào bình định mức 50 ml, sau đó thêm methanol vào cho đủ 50 ml (nồng độ 0,01 mg/ml).

Lưu ý cách pha dung dịch pha loãng trong xác định chuẩn collidine khác với cách pha trong xác định RF (chỉ hút 100 µl từ dung dịch chính, sau đó thêm nước khử ion vào cho đủ 50 ml bình định mức – nồng độ 0,001 mg/ml).

Xác định hệ số phản hồi theo công thức: (Ringuet J., 2005)

$$\text{Hệ số phản hồi theo collidine (pA/}\mu\text{g)} = \frac{\text{Diện tích peak}}{[\text{dd collidine}] * \text{thể tích bơm}}$$

Để gia tăng sự chính xác của hệ số phản hồi, tiến hành xác định hệ số phản hồi theo 2AP trong mẫu gạo thơm chuẩn Giano: (Ringuet J., 2005)

$$\text{Hệ số phản hồi theo [2AP]} = \frac{\text{Diện tích peak 2AP}}{\text{Khối lượng gạo} * [\text{2AP}]}$$

3.4.3.4. Định lượng 2-acetyl-1-pyrroline

Xác định hàm lượng 2AP thu được khi chiết xuất bằng phương pháp SPME (Ringuet J., 2005; Phan Phước Hiền, 2005).

$$[\text{2AP}]_{\text{SPME}} (\mu\text{g/kg}) = \frac{\text{Diện tích peak} * 1000}{\text{Khối lượng gạo (g)} * \text{hệ số phản hồi}}$$

Xác định nồng độ 2AP trong gạo

$$[\text{2AP}] \text{ trong gạo } (\mu\text{g/kg}) = [\text{2AP}]_{\text{SPME}} * 0,003 \text{ (Bergman và CS., 2000).}$$

3.4.4. Phương pháp xử lý thống kê

Các số liệu được xử lý thống kê bằng Excel.

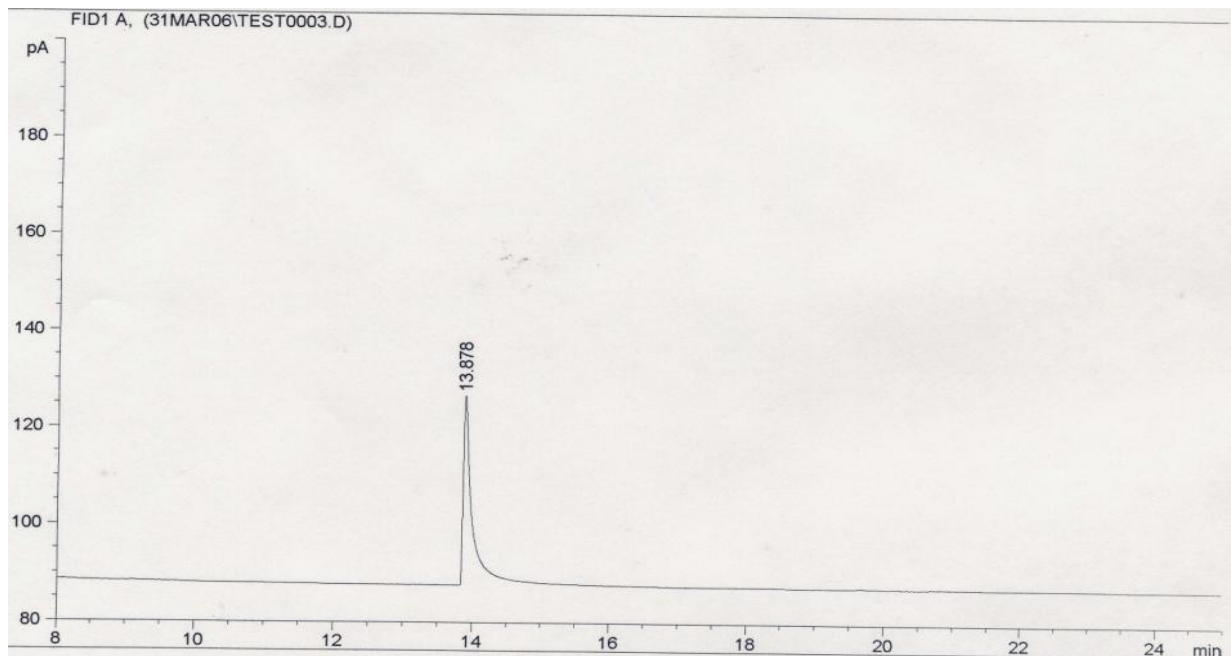
PHẦN 4

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Thiết lập phương pháp SPME – GC

4.1.1. Xác định chuẩn 2,4,6-trimethylpyridine (collidine)

Pha và chạy mẫu collidine (nồng độ 0,001 mg/ml) theo phương pháp SPME – GC. Tiến hành chạy mẫu 3 lần, kết quả đạt được (xem Bảng 4.1):



Hình 4.1 Sắc ký đồ GC phân tích thành phần hóa học của chuẩn collidine (nồng độ 0,001 mg/ml).

Bảng 4.1 Thời gian lưu, diện tích và chiều cao của chuẩn collidine (nồng độ 0,001 mg/ml)

Lần chạy	Thời gian lưu (phút)	Diện tích (pA*s)	Chiều cao (pA)
1	13,811	357,6	36
2	13,803	321,890	27,772
3	13,878	316,361	38,893

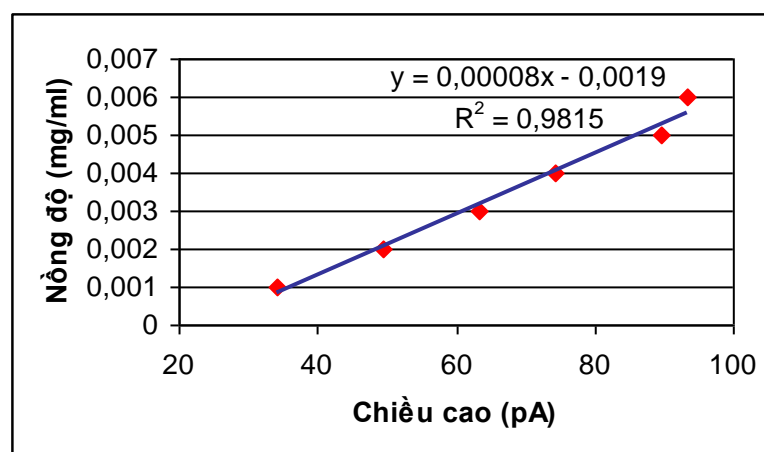
Trung bình	13,830	331,950	34,222
------------	--------	---------	--------

❖ Nhận xét: Dựa vào số liệu Bảng 4.1, thời gian lưu trung bình của chuẩn collidine là 13,830 phút. Tuy nhiên, có sự khác nhau giữa thời gian lưu của chuẩn collidine này (13,830 phút) so với thời gian lưu của chuẩn collidine (cùng nồng độ 0,001 mg/ml) tại Pháp (21,280 phút) (Phan Phước Hiền, 2005).

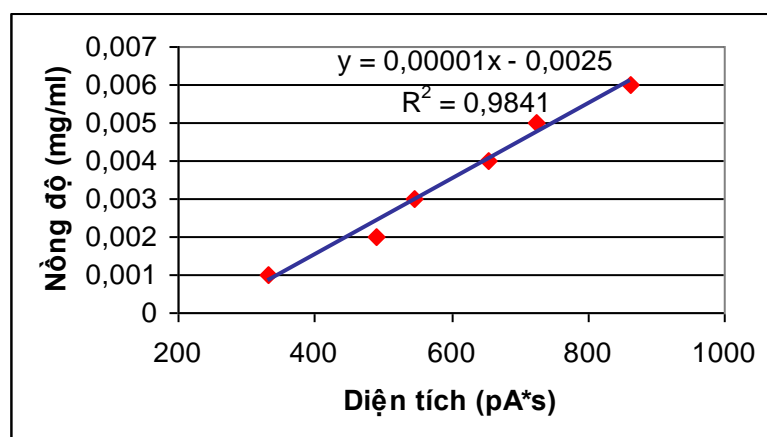
Nhằm gia tăng độ tin cậy về sự xuất hiện của peak chuẩn collidine tại phút 13,830, chúng tôi tăng nồng độ chuẩn collidine lần lượt là 0,002 mg/ml; 0,003 mg/ml; 0,004 mg/ml; 0,005 mg/ml; 0,006 mg/ml. Tiến hành chạy 3 lần ở mỗi nồng độ.

Bảng 4.2 Thời gian lưu, diện tích, chiều cao trung bình qua 3 lần chạy ở mỗi nồng độ

Nồng độ (mg/ml)	Thời gian lưu (phút)	Diện tích (pA*s)	Chiều cao (pA)
0,002	13,832	490,467	49,514
0,003	13,824	545,521	63,412
0,004	13,811	654,932	74,165
0,005	13,796	724,596	89,665
0,006	13,798	862,111	93,311



Biểu đồ 4.1 Mối tương quan giữa chiều cao và nồng độ của chuẩn collidine.



Biểu đồ 4.2 Mối tương quan giữa diện tích và nồng độ của chuẩn collidine.

❖ Nhận xét: Số liệu Bảng 4.2, Biểu đồ 4.1 và 4.2 cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa diện tích, chiều cao với nồng độ của chuẩn collidine. Do đó, chúng tôi xác định thời gian lưu trung bình của chuẩn collidine là 13,815 phút.

Thời gian lưu của cùng một hợp chất ở cùng nồng độ khác nhau có thể do các nguyên nhân sau:

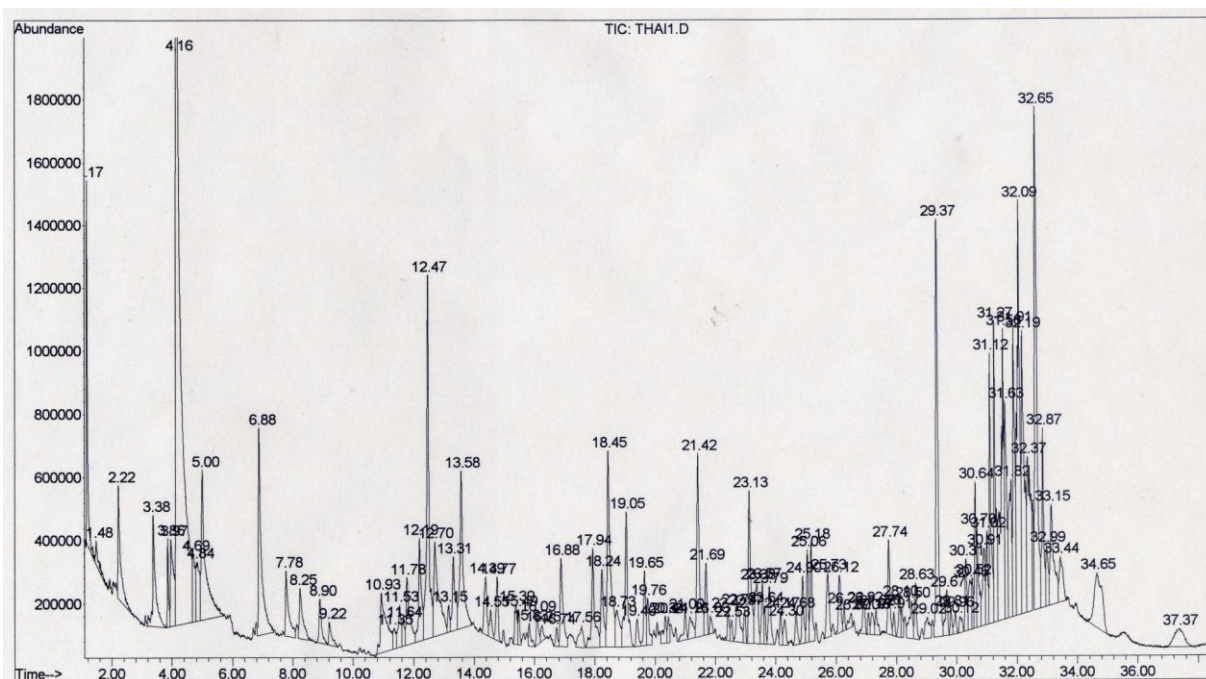
- Độ tinh sạch của cột.
- Chiều dài của cột.
- Độ tinh sạch của khí (N_2 , H_2 , không khí).
- Các thông số của chương trình nhiệt trên máy GC.

Dựa vào những nguyên nhân trên, chúng tôi có thể giải thích phần nào sự khác nhau về thời gian lưu của chuẩn collidine:

- Chiều dài của cột máy GC của Pháp là 60 m; trong khi của Việt Nam là 30 m.
- Độ tinh sạch về khí ở Pháp là 99,9999% (Frédéric Gay, *personal communication*); trong khi ở Việt Nam là 99 %.
- Về độ tinh sạch của cột cũng như của các dụng cụ, thiết bị dùng trong SPME – GC chúng tôi tiến hành kiểm tra sự nhiễm (Phụ lục A).

4.1.2. Xác định các hợp chất bay hơi chính có trong gạo thơm

Với sự khác biệt về thời gian lưu giữa mẫu chạy ở Pháp và ở Việt Nam do các nguyên nhân đã giải thích mục 4.1.1, chúng tôi tiến hành chạy 2 mẫu gạo đặc trưng là Thái Lan và Basmati trên máy GC – MS bằng phương pháp SPME nhằm xác định thời gian lưu 3 hợp chất bay hơi (hexanal, 2AP, nonanal) để so sánh với thời gian lưu của 3 hợp chất này (xem Bảng 4.3).



Hình 4.2 Sắc ký đồ GC – MS (toàn bộ) phân tích các hợp chất bay hơi có trong mẫu gạo Thái Lan.

Dựa vào kết quả Hình 4.2, tiến hành xác định thời gian lưu 3 hợp chất trên bằng thư viện có trong máy GC – MS.

4.16	13.89	C:\Database\NIST98.L	Hexanal	110562	000066-25-1
			Hexanal	10785	000066-25-1
			Hexanal	110561	000066-25-1
4.70	0.57	C:\Database\NIST98.L	Hexanal	10785	000066-25-1
			Hexanal	110562	000066-25-1
			Hexanal	110561	000066-25-1
4.84	0.75	C:\Database\NIST98.L	Hexanal	10785	000066-25-1
			Hexanal	110561	000066-25-1
			Hexanal	110563	000066-25-1

Hình 4.3 Kết quả mẫu gạo Thái Lan trong thư viện máy GC – MS nhằm xác định hexanal.

18.24	0.71	C:\Database\NIST98.L	Undecane	112281	001120-21-4
			Undecane	112280	001120-21-4
			Undecane	112395	001120-21-4
18.45	2.19	C:\Database\NIST98.L	Nonanal	112143	000124-19-6
			Nonanal	112144	000124-19-6
			Nonanal	108709	000124-19-6
18.74	0.54	C:\Database\NIST98.L	Benzene, 1,2,3,5-tetramethyl-	120821	000527-53-7
			Benzene, 1,2,3,4-tetramethyl-	120809	000488-23-3
			Benzene, 1,2,3,5-tetramethyl-	120820	000527-53-7

Hình 4.4 Kết quả mẫu gạo Thái Lan trong thư viện máy GC – MS nhằm xác định nonanal.

❖ Nhận xét: Dựa vào các kết quả Hình 4.3 và Hình 4.4, thời gian lưu của hexanal là 4,16 phút (độ tương hợp 91); thời gian lưu của nonanal là 18,45 (độ tương hợp 86). Tuy nhiên, không xác định được 2AP vì 2AP đã bị phân thành một số mảnh ion phân tử (trình bày trang 34).

Bảng 4.3 Thời gian lưu và diện tích của 3 hợp chất hexanal, 2AP, nonanal có trong dòng gạo thơm 267/05 (Phan Phước Hiền, 2005).

STT	Hợp chất	Thời gian lưu (phút)	Diện tích (mV*phút)
1	Hexanal	10,43	1,5113e+000
2	2AP	16,98	9,9615e-002
3	Nonanal	27,50	3,5474e-001

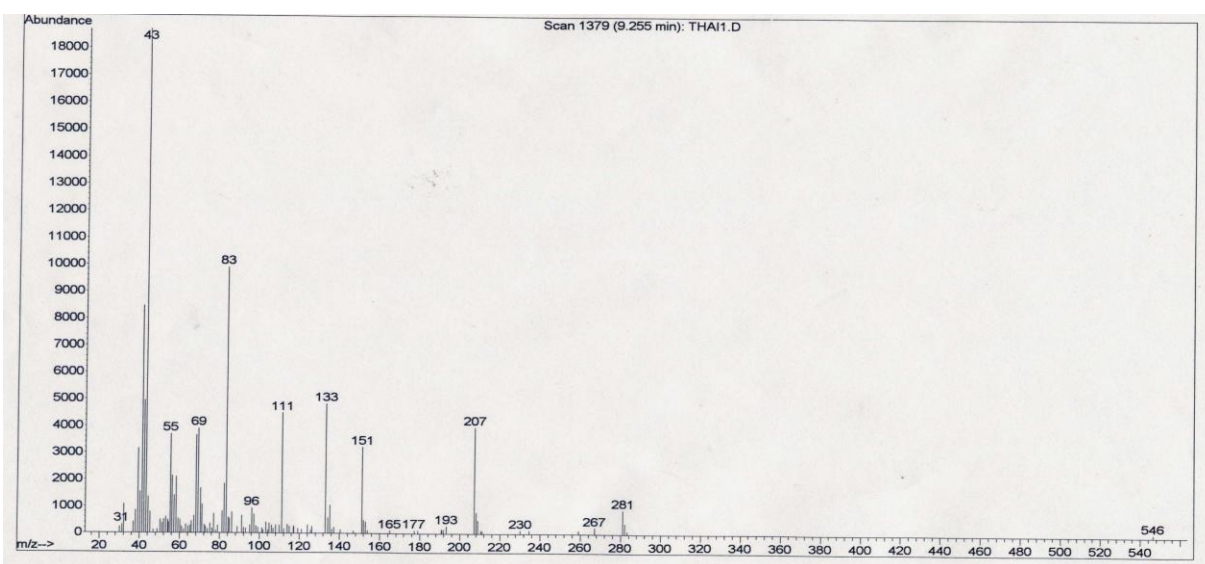
❖ Nhận xét: Dựa vào số liệu Bảng 4.3, có sự khác nhau rõ rệt giữa thời gian lưu của hexanal và nonanal trong mẫu gạo phân tích tại Pháp và Việt Nam (hexanal: 10,43 phút so với 4,16 phút; nonanal: 27,50 phút so với 18,45 phút). Như vậy, độ sai lệch về thời gian lưu giữa một chất phân tích tại Pháp và tại Việt Nam từ 6 – 10 phút (nguyên nhân đã được giải thích ở mục 4.1.1).

Dựa vào nguyên tắc hoạt động của máy GC – MS, một hợp chất sẽ được chuyển thành trạng thái hơi sau đó chuyển thành những mảnh ion phân tử. Do đó, chúng tôi tiến hành kiểm tra những mảnh ion phân tử này từ phút thứ 7 đến phút thứ 11 (do thời gian lưu của 2AP là 16,98 – xem Bảng 4.3) nhằm xác định các mảnh ion phân tử của 2AP.

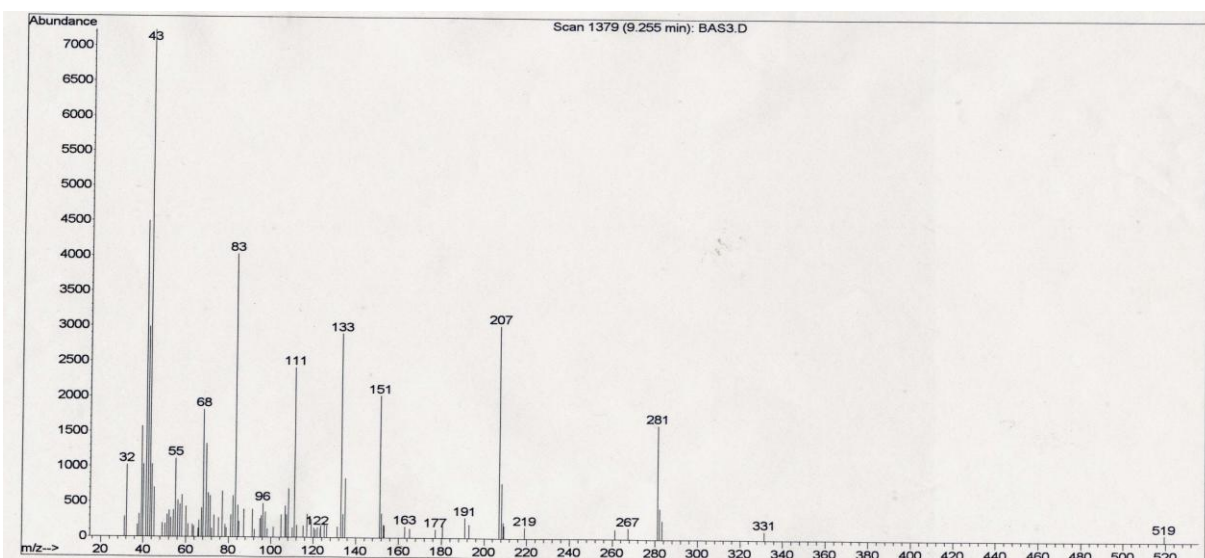
Theo Bergman và CS. (2000), hợp chất 2AP có mảnh ion phân tử tại m/z 111 và với sự mất đi HCN sẽ tạo ra mảnh ion tại m/z 83.

Theo Yoshihashi và CS. (2001), mảnh ion phân tử tại m/z 111 là hợp chất 2AP.

Theo Buttery và CS. (1982), hợp chất 2AP tồn tại với sự hiện diện của mảnh ion phân tử tại m/z 111 và các mảnh ion phân tử khác tại m/z 43, 55, 67, 69.



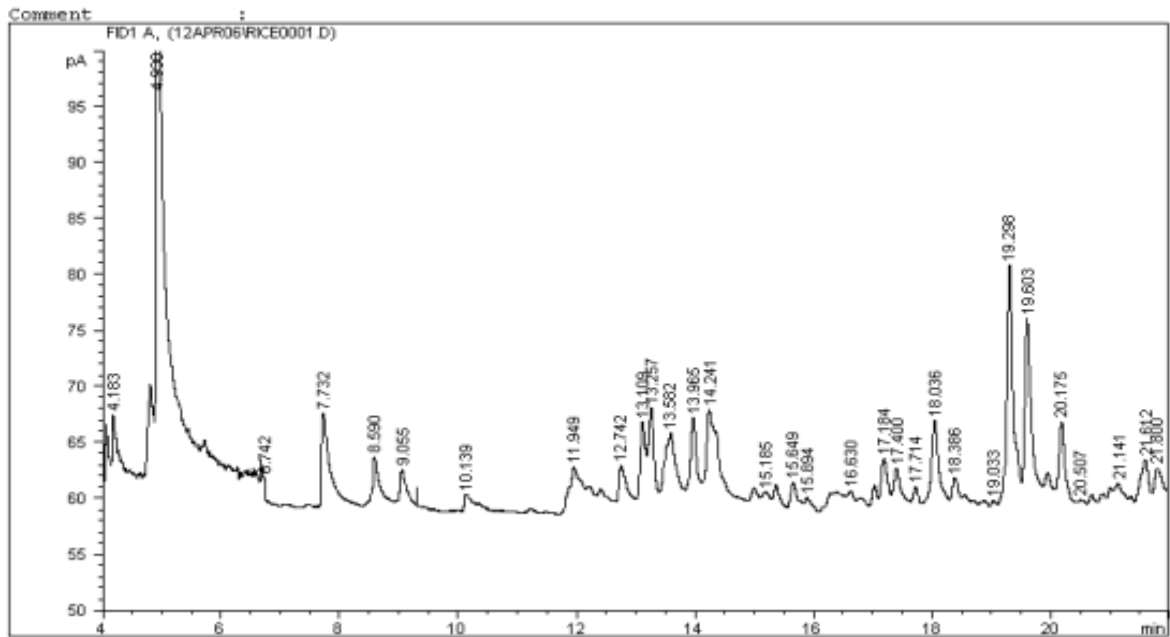
Hình 4.5 Các mảnh ion phân tử tại phút 9,255 của mẫu gạo thơm Thái Lan.



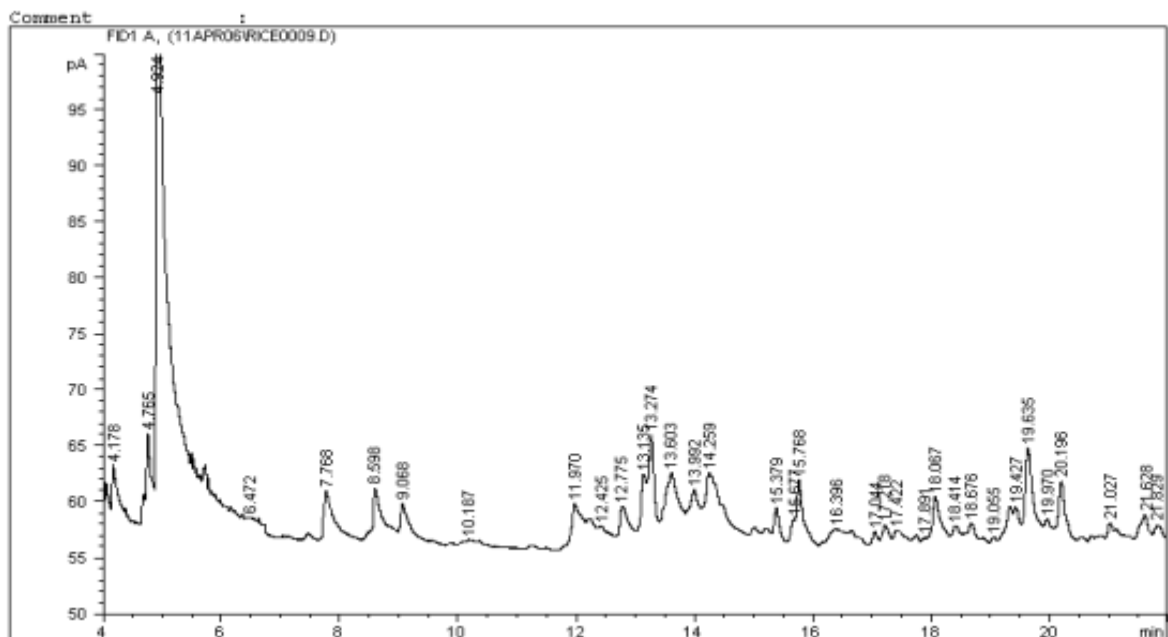
Hình 4.6 Các mảnh ion phân tử tại phút 9,255 của mẫu gạo thơm Basmati.

❖ Nhận xét: Dựa vào các kết quả Hình 4.5 và Hình 4.6, sự xuất hiện của các mảnh ion phân tử tại m/z 43, 55, 83, 111 chứng tỏ thời gian lưu của 2AP là 9,22.

Với các kết quả ghi nhận được dựa vào GC – MS, chúng tôi tiến hành chạy 2 mẫu gạo Thái Lan và Basmati trên máy GC đầu dò FID bằng phương pháp SPME – GC nhằm xác định thời gian lưu của hexanal, 2AP và nonanal.



Hình 4.7 Sắc ký đồ GC phân tích các hợp chất bay hơi có trong mẫu gạo Thái Lan.



Hình 4.8 Sắc ký GC phân tích các hợp chất bay hơi có trong mẫu gạo Basmati.

Theo kết quả nghiên cứu của C. J. Bergman (2000), Casey C. Grimm và CS. (2000), hợp chất thơm 2AP sẽ xuất hiện trước peak của chuẩn collidine từ 2 – 3 phút. Theo kết quả xác định ở phần 4.1.1, peak của chuẩn collidine xuất hiện ở thời gian lưu 13,815 phút.

Như vậy, có thể nhận định peak của hợp chất thơm 2AP sẽ xuất hiện trong khoảng thời gian từ 10 đến 11 phút. So sánh kết quả sắc ký đồ của các hợp chất trên máy GC và GC/MS, chúng tôi xác định được thời gian lưu trung bình của hợp chất 2AP trên máy GC là 10,163 phút (xem Bảng 4.4).

Bảng 4.4 Thời gian lưu (phút) của hexanal, 2AP, nonanal có trong mẫu gạo Thái Lan và Basmati chạy trên GC và GC – MS.

Hợp chất \ Mẫu gạo	Thái Lan		Basmati	
	GC	GC – MS	GC	GC – MS
Hexanal	4,930	4,16	4,924	4,16
2AP	10,139	9,22	10,187	9,24
Nonanal	19,603	18,45	19,635	18,44

4.1.3. Xác định hệ số phản hồi (Response factor – RP) của 2AP

4.1.3.1. Theo nồng độ chuẩn collidine

Bảng 4.5 Hệ số phản hồi của chất chuẩn collidine khi bơm với thể tích 1,2 µl

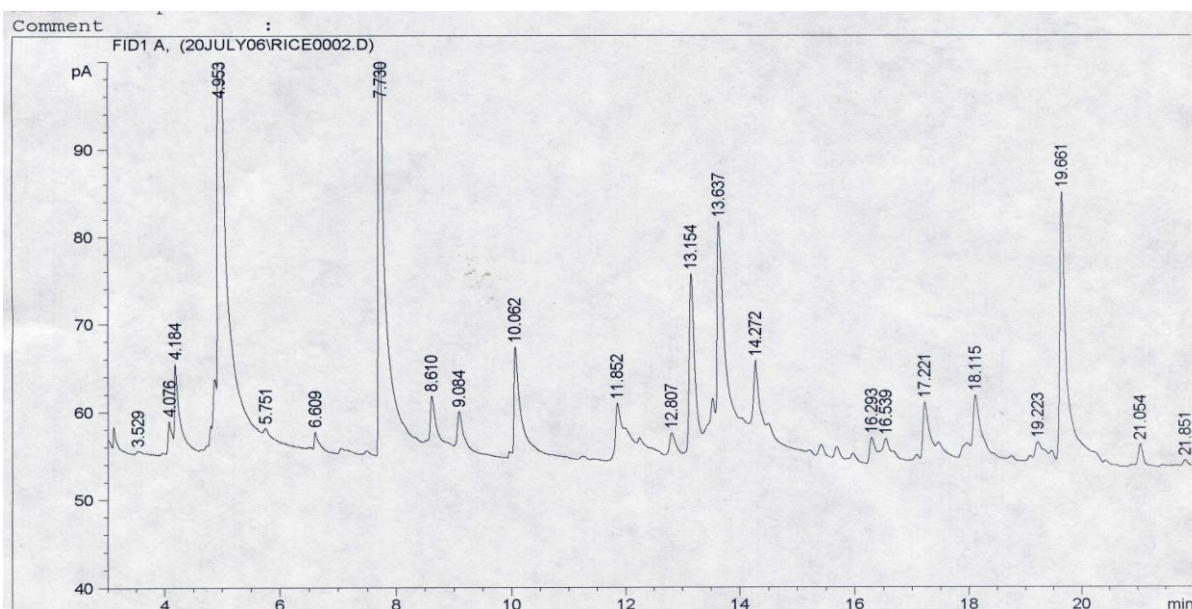
Dung dịch collidine (nồng độ 0,01 mg/ml)	Diện tích peak (pA*s)	Hệ số phản hồi (pA/µg)
1	40.47	3268
2	42.69	3447
3	60.39	4765
4	74.01	5840
5	86.27	6808
6	89.95	7099
7	118.30	9336
Trung bình		6000

❖ Nhận xét: Dựa vào số liệu Bảng 4.5, hệ số phản hồi trung bình của hợp chất 2AP theo nồng độ chuẩn collidine là 6000 pA/μg. Trong quá trình xác định hệ số phản hồi theo chuẩn collidine, đôi khi có hiện tượng xuất hiện peak đôi. Do đó để gia tăng độ tin cậy của hệ số phản hồi của hợp chất 2AP, chúng tôi tiến hành xác định hệ số phản hồi theo nồng độ 2AP trong gạo thơm Gianò.

4.1.3.2. Theo nồng độ 2AP trong gạo thơm Gianò

Gạo thơm Gianò được chọn như là một mẫu tham khảo nhằm xác định hệ số phản hồi của 2AP vì theo kết quả nghiên cứu của Ringuet J. (2005) tại CIRAD, nồng độ 2AP trong gạo thơm Gianò là 10 μg/kg.

Tiến hành phân tích hàm lượng 2AP chiết xuất từ 1,5 g gạo Gianò theo phương pháp SPME – GC.



Hình 4.9 Sắc ký đồ GC phân tích các hợp chất bay hơi có trong gạo thơm Gianò.

❖ Nhận xét: Dựa vào sắc ký đồ GC (Hình 4.9), hợp chất 2AP xuất hiện tại peak có thời gian lưu là 10,062 và có diện tích khoảng 80 pA*s. Do đó, hệ số phản hồi theo nồng độ 2AP của gạo thơm Gianò là 5300 pA/μg.

Từ 2 hệ số phản hồi thu được, chúng tôi xác định hệ số phản hồi trung bình của hợp chất 2AP là 5650 pA/μg.

4.2. Phân tích một vài đặc điểm hóa sinh của gạo thơm

4.2.1. Phân tích hàm lượng protein

Tiến hành phân tích 17 loại gạo khác nhau với 2 lần lặp lại, kết quả hàm lượng protein trung bình của 2 lần lặp lại (xem Bảng 4.6)

Bảng 4.6 Hàm lượng protein trung bình của 2 lần lặp lại

Loại gạo	Hàm lượng protein (%)
Thái Lan	5,509
Taroari Basmati	8,478
Basmati	8,161
Giano 96/6	7,068
STWS05 – 213	5,958
STWS05 – 313	7,234
STWS05 – 311	6,929
STWS05 – 132	5,549
STWS05 – 231	7,089
STWS05 – 133	6,482
STWS05 – 123	6,983
STWS05 – 122	7,163
TX06 – T1	7,354
TX06 – T8	7,676
ST8	7,386
NTĐPIII	6,620
Khao Dawk Mali 105 TG	7,320

Bảng 4.7 Kết quả phân tích thống kê hàm lượng protein trong gạo

Loại gạo	Hàm lượng protein trung bình (%)	CV (%)
Gạo trong nước	6,903	8,782
Gạo nước ngoài	7,304	18,352

❖ Nhận xét: Kết quả Bảng 4.7 cho thấy không có sự khác biệt theo phương diện thống kê ($p > 0,05$) về hàm lượng protein giữa các loại gạo trong nước và gạo nước ngoài. Trong các loại gạo khảo sát, gạo Thái Lan được bán trong các siêu thị ở Pháp có hàm lượng protein thấp nhất (5,509%); gạo Taroari Basmati có hàm lượng protein cao nhất (8,478%); các loại gạo nổi tiếng ở Việt Nam như Tám Xoan, ST8 và một số dòng gạo Jasmine 85 (313), VD20 (122), OM3536 (231) có hàm lượng protein cao hơn loại gạo thơm nổi tiếng của Ý là Giano 96/6; NTĐPIII có hàm lượng protein (6,620%) cao hơn so với kết quả nghiên cứu các dòng lúa NTCD triển vọng của TS. Đỗ Khắc Thịnh (6,290%).

4.2.2. Phân tích độ bền thể gel

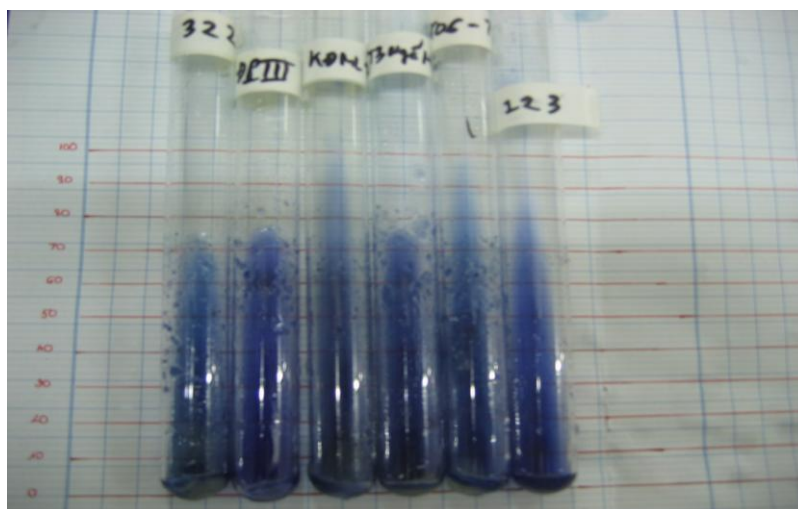
Tiến hành phân tích 15 loại gạo khác nhau với 2 lần lặp lại, kết quả trung bình của 2 lần lặp lại (xem Bảng 4.8)

Bảng 4.8 Chiều dài thể gel trung bình của 2 lần lặp lại

Loại gạo	Chiều dài thể gel (mm)
Thái Lan	70
Taroari Basmati	71
NTĐPIII	75
Khao Dawk Mali 105 TG	96
ST8	82
ST3 Ngã năm	77
TX06 – T1	85
TX06 – T8	95
STWS05 – 231	65
STWS05 – 133	69
STWS05 – 132	70
STWS05 – 313	68
STWS05 – 311	72
STWS05 – 123	85
STWS05 – 122	72

❖ Nhận xét: Dựa vào số liệu Bảng 4.8, tất cả các loại gạo trên đều thuộc loại có độ bền thể gel mềm (soft) do nằm trong khoảng 61 – 100 mm. Như vậy, cả 15 loại gạo

thơm trên đều có tính chất mềm, dễ nhai – đó là một trong những đặc tính được ưa thích. Bên cạnh đó, độ bền thể gel mềm chứng tỏ hàm lượng amylose của 15 loại gạo trên ở mức trung bình đến thấp (Rani, 2005).



Hình 4.10 Kết quả phân tích độ bền thể gel.

4.3. So sánh nồng độ 2AP trong các mẫu gạo thơm khảo sát

Mục đích của việc so sánh nồng độ 2AP trong các mẫu gạo thơm khảo sát nhằm tìm ra được những dòng gạo thơm chất lượng cao hơn hẳn so với các dòng cùng loại trên cơ sở nồng độ 2AP.

4.3.1. So sánh nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo thơm STWS05

Tiến hành so sánh 3 loại gạo: Jasmine 85, VD20 và OM3536 (tổng cộng 26 mẫu). Kết quả cho thấy loại gạo VD20 có nồng độ 2AP trung bình cao nhất, trong khi loại gạo OM3536 có nồng độ 2AP thấp nhất (Bảng 4.9).

Bảng 4.9 Nồng độ 2AP trung bình của 3 loại gạo thơm

Loại gạo	[2AP] (theo Bergman và CS., 2000) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Jasmine 85	546,28
VD20	616,40
OM3536	434,67

Tiến hành so sánh từng dòng gạo trong mỗi loại gạo thơm nhằm xác định ra dòng gạo thơm có nồng độ 2AP trung bình qua 2 lần chạy cao nhất và thấp nhất (xem Bảng 4.10).

Bảng 4.10 Nồng độ 2AP của từng dòng gạo Jasmine 85, VD20, OM3536

Loại gạo	Dòng gạo	[2AP] (theo Bergman và CS., 2000) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Jasmine 85	111	614,88
	112	135,37
	113	327,28
	211	494,30
	213	825,15
	311	586,40
	312	350,33
	313	1036,54
	VD20	121
122		1047,41
123		645,82
221		591,41
222		496,38
223		764,30
321		611,09
322		513,27
323		340,42
OM3536	131	283,59
	132	637,62
	133	406,06
	231	836,18
	232	252,85
	233	480,39
	331	431,03
	332	354,90
	333	229,39

- ❖ Nhận xét: Dựa vào số liệu Bảng 4.10, chúng tôi có những nhận xét sau:
 - Ở loại gạo Jasmine 85, dòng gạo 313 có [2AP] cao nhất (1036,54 $\mu\text{g}/\text{kg}$) và dòng gạo 112 có [2AP] thấp nhất (135,37 $\mu\text{g}/\text{kg}$).
 - Ở loại gạo VD20, dòng gạo 122 có [2AP] cao nhất (1047,41 $\mu\text{g}/\text{kg}$) và dòng gạo 323 có [2AP] thấp nhất (340,42 $\mu\text{g}/\text{kg}$).
 - Ở loại gạo OM3536, dòng gạo 231 có [2AP] cao nhất (836,18 $\mu\text{g}/\text{kg}$) và dòng gạo 333 có [2AP] thấp nhất (229,39 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

4.3.2. So sánh nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo thơm Tám Xoan

Bảng 4.11 Nồng độ 2AP của từng dòng gạo Tám Xoan

Loại gạo	Dòng gạo	[2AP] (theo Bergman và CS., 2000) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
	TX06 – T3	589,20
	TX06 – T5	637,30
	TX06 – T8	1026,89
	TX06 – T7	723,61
Tám Xoan	TX06 – T1	937,03
	TX06 – T9	721,41
	TX06 – T6	617,70
	TX06 – T2	675,29
	TX06 – T4	640,91

- ❖ Nhận xét: Dựa vào số liệu Bảng 4.11, dòng gạo TX06 – T8 có [2AP] cao nhất (1026,89 $\mu\text{g}/\text{kg}$); dòng gạo TX06 – T3 có [2AP] thấp nhất (589,20 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

4.3.3. So sánh nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo thơm ST

Bảng 4.12 Nồng độ 2AP của từng dòng gạo ST

Loại gạo	Dòng gạo	[2AP] (theo Bergman và CS., 2000) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
ST	ST8	407,21
	ST3 Ngã Năm	378,98
	ST10	432,51
	ST7	449,43
	ST5	358,67
	ST6	302,19
	ST3 Chợ Cũ	547,47
	ST9	697,27

❖ Nhận xét: Dựa vào số liệu Bảng 4.12, dòng gạo ST9 có [2AP] cao nhất (697,27 $\mu\text{g}/\text{kg}$); dòng gạo ST6 có [2AP] thấp nhất (302,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

4.3.4. So sánh nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo thơm NTĐP

Bảng 4.13 Nồng độ 2AP của từng dòng gạo NTĐP

Loại gạo	Dòng gạo	[2AP] (theo Bergman và CS., 2000) ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
NTĐP	II	413,05
	III	216,25
	IV	279,12
	I	689,46

❖ Nhận xét: Dựa vào số liệu Bảng 4.13, dòng gạo NTĐPI có [2AP] cao nhất (689,46 µg/kg); dòng gạo NTĐPIII có [2AP] thấp nhất (216,25 µg/kg).

4.3.5. So sánh nồng độ 2AP giữa các mẫu gạo thơm nước ngoài

Bảng 4.14 Nồng độ 2AP của từng loại gạo thơm nước ngoài

Loại gạo	[2AP] (theo Bergman và CS., 2000) (µg/kg)
Taroari Basmati	1873,41
Thái Lan	515,10
Basmati	489,55
Viet Nam	70,53
Giano 96/6	3865,50

❖ Nhận xét: Dựa vào số liệu Bảng 4.14, gạo Giano 96/6 có [2AP] cao nhất (3865,50 µg/kg); gạo Viet Nam có [2AP] thấp nhất (70,53 µg/kg).

Như vậy, trong tất cả các loại gạo thơm khảo sát, Giano 96/6 có nồng độ 2AP cao nhất (3865,50 µg/kg) và Viet Nam có nồng độ 2AP thấp nhất (70,53 µg/kg). Trong các loại gạo thơm được trồng ở Việt Nam, dòng 122 (VD20) có nồng độ 2AP cao nhất (1047,41 µg/kg) và dòng 112 (Jasmine 85) có nồng độ 2AP thấp nhất (135,37 µg/kg).

PHẦN 5

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

5.1. Kết luận

5.1.1. Một vài đặc điểm hóa sinh của một số loại gạo thơm

– Hàm lượng protein của các mẫu gạo khảo sát biến thiên từ 5,509% đến 8,478%. Trong đó cao nhất là gạo Taroari Basmati (8,478%) và thấp nhất là gạo Thái Lan (5,509%). Không có sự khác biệt theo phương diện thống kê về hàm lượng protein giữa các loại gạo trong nước và gạo nước ngoài. Các loại gạo thơm ở Việt Nam như Tám Xoan, ST8, dòng 313 (Jasmine 85), dòng 122 (VD20), dòng 231 (OM3536), NTĐPIII có hàm lượng protein khá cao.

– Độ bền thể gel của các mẫu gạo khảo sát biến thiên từ 65 mm đến 96 mm. Như vậy, chúng nằm trong khoảng 61 – 100 mm, thuộc loại gạo có độ bền thể gel mềm (soft). Trong đó, gạo Khao Dawk Mali 105 (Tiền Giang) có độ bền thể gel cao nhất (96 mm) và thấp nhất là gạo STWS05 – 231 (65 mm).

5.1.2. Phân tích hàm lượng hợp chất thơm 2AP

– Thời gian lưu trung bình của chuẩn collidine được xác định bằng phương pháp SPME – GC là 13,815 phút.

– Thời gian lưu trung bình của hợp chất thơm 2AP trong các loại gạo thơm được xác định bằng phương pháp SPME – GC là 10,163 phút.

– So sánh nồng độ hợp chất thơm 2AP có trong 53 mẫu gạo thơm khảo sát được lấy ở Việt Nam, Pháp, Ý, Ấn Độ nhằm phân loại các loại gạo thơm có chất lượng khác nhau, đề xuất các loại gạo thơm có nồng độ 2AP cao để nhân giống và phát triển. Kết quả gạo Giano 96/6 (Ý) có nồng độ 2AP cao nhất (3865,50 µg/kg) và Viet Nam (Pháp) có nồng độ 2AP thấp nhất (70,53 µg/kg). Trong các loại gạo thơm được trồng ở Việt Nam, dòng 122 (VD20) có nồng độ 2AP cao nhất (1047,41 µg/kg) và dòng 112 (Jasmine 85) có nồng độ 2AP thấp nhất (135,37 µg/kg).

5.2. Đề nghị

– Thử nghiệm qui trình phân tích đối với các bộ phận khác của cây lúa (lá lúa, thân lúa) nhằm xác định nguồn gốc sinh tổng hợp hợp chất thơm 2AP trong cây lúa.

- Thử nghiệm phân tích nồng độ 2AP có trong lá dứa (*Pandanus amaryllifolius*) nhằm so sánh với nồng độ 2AP có trong gạo thơm.
- Tiến hành bảo quản mẫu ở các điều kiện khác nhau nhằm đánh giá tầm quan trọng của việc bảo quản mẫu trong phân tích gạo thơm.
- Thử nghiệm việc tổng hợp chuẩn 2AP nhằm đánh giá khách quan và chính xác hơn trong việc phân tích gạo thơm.
- Tiếp tục xây dựng và thực hiện phương pháp SDE (Simultaneous steam Distillation and solvent Extraction) để so sánh với phương pháp SPME.
- Tiếp tục khảo sát các đặc điểm hóa sinh quan trọng khác như: hàm lượng amylose, nhiệt độ hóa hồ để có được đánh giá tốt hơn về các loại gạo thơm.
- Qua so sánh các mẫu gạo thơm, chúng tôi đề xuất các loại gạo thơm như: Giano, Taroari Basmati, Jasmine 85 (dòng 313, dòng 311), VD20 (dòng 122), OM3536 (dòng 231, dòng 133), Tám Xoan (dòng T8, T1) do có nồng độ 2AP vượt trên 800 µg/kg và hàm lượng protein cao.

PHẦN 6

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TIẾNG VIỆT

1. Bùi Huy Đáp, 1999. *Một số vấn đề về cây lúa*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, trang 20 – 56.
2. Trần Văn Đạt, 2002. *Tiến trình phát triển sản xuất lúa gạo tại Việt Nam từ thời nguyên thủy đến hiện đại*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp Thành Phố Hồ Chí Minh. 300 trang.
3. Nguyễn Xuân Hiền, 1986. *Điều tra thu thập giống và nghiên cứu quy trình sản xuất lúa thơm*. Tài liệu báo cáo khoa học, Viện Khoa học kỹ thuật NN miền Nam, 1987.
4. Hiệp hội Lương thực Việt Nam, 2003. *Báo cáo Hội nghị tổng kết hoạt động năm 2002 và phương hướng năm 2003*. Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.
5. Đỗ Khắc Thịnh, Nguyễn Thị Cúc, Trương Thị Hoài Nam và CTV., 1995. Kết quả chọn lọc dòng thuần giống lúa Nàng Hương. Tạp chí *NN-CNTP.*, 9/1995.
6. Đỗ Khắc Thịnh, 2003. *Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố canh tác và yếu tố môi trường đối với năng suất và phẩm chất lúa thơm ở đồng bằng sông Cửu Long*. Luận án Tiến Sĩ Nông Nghiệp, Đại học Nông Lâm, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam.

TIẾNG NƯỚC NGOÀI

7. Ayano K., E. Tsuzuki et al., 1976. Components of aroma, in chapter 3 Inher. Physio. Ch. 437 – 440. Science of the rice plant Vol.3. *Genetics, Food and Agri. Policy Res. Center*, 1997. Tokyo, Japan.
8. Bergman C.J., Delgado J.T., Bryant R., Grimm C., Cadwallader K.R. and Webb B.D., 2000. Rapid gas chromatographic technique for quantifying 2-acetyl-1-pyrroline and hexanal in rice (*Oryza sativa*, L.). *Cereal Chem.* 77(4):454 – 458.
9. Buttery R.G. and Ling L.C., 1982. 2-acetyl-1-pyrroline: An important aroma component of cooked rice. *Chem. Ind. (London)*. 958 – 959.
10. Buttery R.G., Ling L.C., Juliano B.O. and Turnbaugh J.G., 1983a. Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline. *J. Agri. Food Chem.*, 31: 823 – 826.

11. Buttery R.G., Juliano B.O. and Ling L.C., 1983b. Identification of rice aroma compound 2-acetyl-1-pyrroline in Pandan leaves. *Chem. Ind. (London)*. 23: 478 – 479.
12. Casey C. Grimm, Christine Bergman, Janis T. Delgado and Rolfe Bryant, 2000. Screening for 2-acetyl-1-pyrroline in the headspace of rice using SPME/GC – MS. *J. Agric. Food Chem.* 49: 245 – 249.
13. Eggum B.O., 1989. The nutrient value of rice in comparison with other cereals. In: *Chemical aspects of grain quality*. Manila, Philippine, IRRI. p. 83 – 90.
14. Erickson J.R., 1968. Annual report, *Rice Genet. Invest.*, Rice Expt. sta. Biggs, California, USA.
15. Glazman J.C., 1987. Isozymes and classification of Asian rice varieties. *Theor. Appl. Genet.* 74: 21 – 30.
16. Gomez K.A. and De Datta S.K., 1975. Influence of environment on protein content of rice. *Agron. J.* 67: 565 – 568.
17. Gyorgy Vas and Károly Vékey, 2004. Solid – phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *J. Mass Spectrom.* 39: 233 – 254.
18. IRRI, 2002. *IRRI rice almanac*, Third edition, Manila, Philippine, IRRI. p:253.
19. Juliano B.O., 1972. Physiochemical properties of starch and protein in relation to grain quality and nutrient value of rice. In: *Rice Breeding*. Manila, Philippine, IRRI. p. 389 – 404.
20. Juliano B.O., Onate L.U. and del Mundo A.M., 1972. Note: amylose and protein content of milled rice as eating quality factors. *Philipp. Agric.* 56. p. 44 – 47.
21. Juliano B.O., 1985. Rice: chemistry and technology, 2nd edition. Am. Associ. *Cereal chemists*, St. Pant, MN. p. 774.
22. Kumar S.N., Shobha Rani and K. Krishnaiah, 1996. Problems and prospects of fine grain aromatic rice in India. In: *INGER – IRRI*. Reports of the INGER monitoring visit on fine grain aromatic rice in India, Iran, Pakistan and Thailand, 1996.
23. Lin C.F., Hsieh R.C.Y., Hoff B.J., 1990. Identification and quantification of the “popcorn” – like aroma in Louisiana aromatic Della rice (*Oryza sativa* L.). *J. Food Sci.* 35: 1466 – 1467.
24. Lorieux M., Petrov M., Huang N., Guiderdou E. and Ghesquiere A., 1996. Aroma in rice: genetic analysis of a quantitative trait. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1145 – 1151.

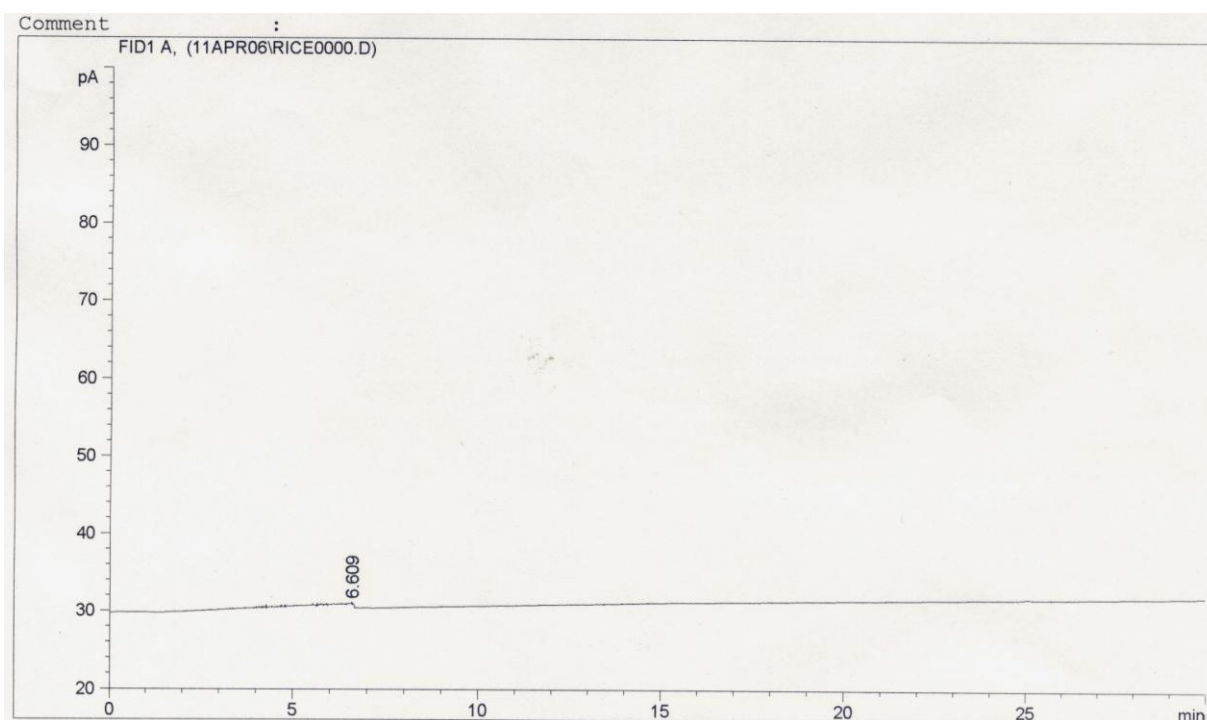
25. Phan Phuoc Hien, 2005. *Methodes d'analyse des arômes du riz*. Post Doc. Thesis, CIRAD, Montpellier, France.
26. Paule C.M. and Powers J.J., 1989. Sensory and chemical examination aromatic and non – aromatic rices. *J. Food Sci.* 54: 343 – 346.
27. Resurreccion A.P, Hara T., Juliano B.O. and Yoshida, 1977. Effects of temperature during ripening on grain quality of rice. *Soil Sci. Plant Nutri.* 23: 109 – 112.
28. Ringuet J., 2005. *Optimisation d'une méthode de dosage de l'arôme du riz par SPME (Solid Phase Micro Extraction)*. MSc. Thesis, Montpellier University, France.
29. Rani N.S., 2000. *The rice situation in Iran*. International Rice Commission Newsletter, FAO.
30. Tanchotkul U. and Heish T.C.Y., 1991. An improved method for quantification of 2-acetyl-1-pyrroline a popcorn – like aroma in aromatic rice by high resolution gas chromatography / mass spectrometry / selected ion monitoring. *J. Agri. Food Chem.* 39:944 – 947.
31. United States Department of Agriculture (USDA), 2001. *Grain: World Markets and Trade*, Jan. 2002.
32. Yoshihashi T., 2001. Quantitative analysis on 2-acetyl-1-pyrroline of an aromatic rice by stable isotope dilution method and model studies on its formation during cooking, Vol. 67, Nr.2, *J. Food Science.* p. 629 – 622.

PHỤ LỤC

Phụ lục A. KIỂM SOÁT SỰ NHIỄM

A.1. Kiểm tra cột

Tiến hành kiểm tra cột bằng cách chạy máy GC không mẫu, không kim SPME theo chương trình nhiệt đã thiết lập.

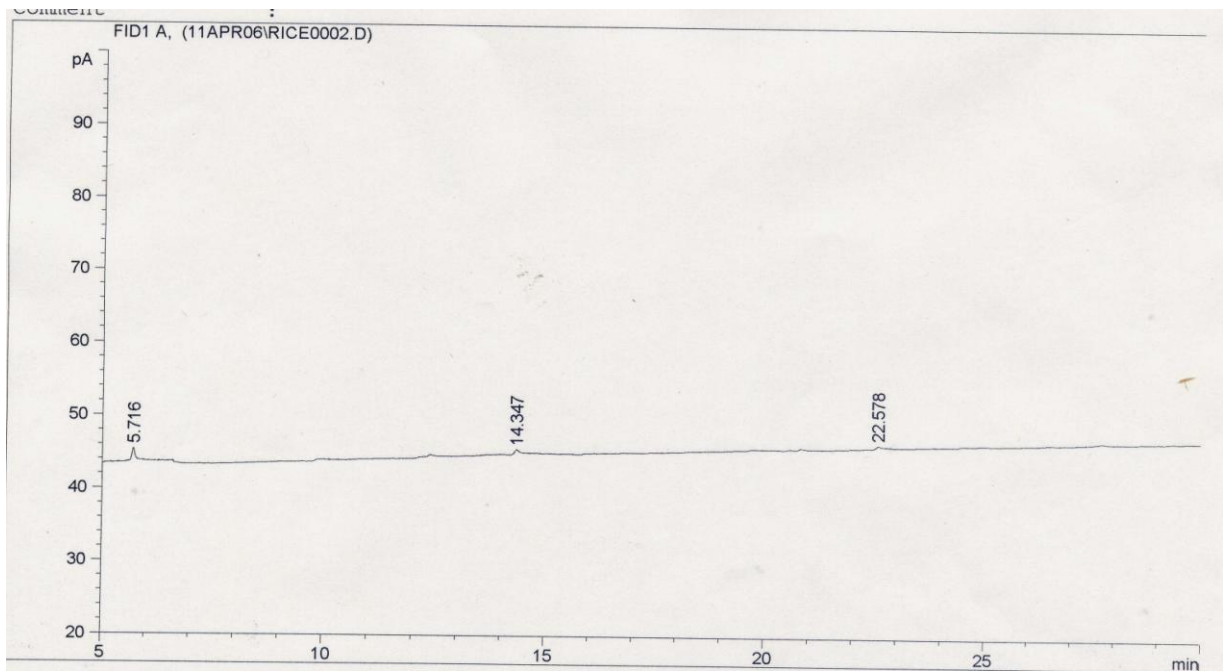


Hình A.1 Sắc ký đồ GC kiểm tra sự nhiễm chỉ có cột

❖ Nhận xét: Sắc ký đồ GC (Hình A.1) cho thấy không có sự nhiễm trên cột. Cột hoàn toàn sạch, đảm bảo sự chính xác trong phân tích mẫu.

A.2. Kiểm tra kim SPME

Tiến hành kiểm tra kim SPME (chủ yếu là fiber) bằng cách bơm kim không mẫu và chạy theo chương trình nhiệt đã thiết lập.

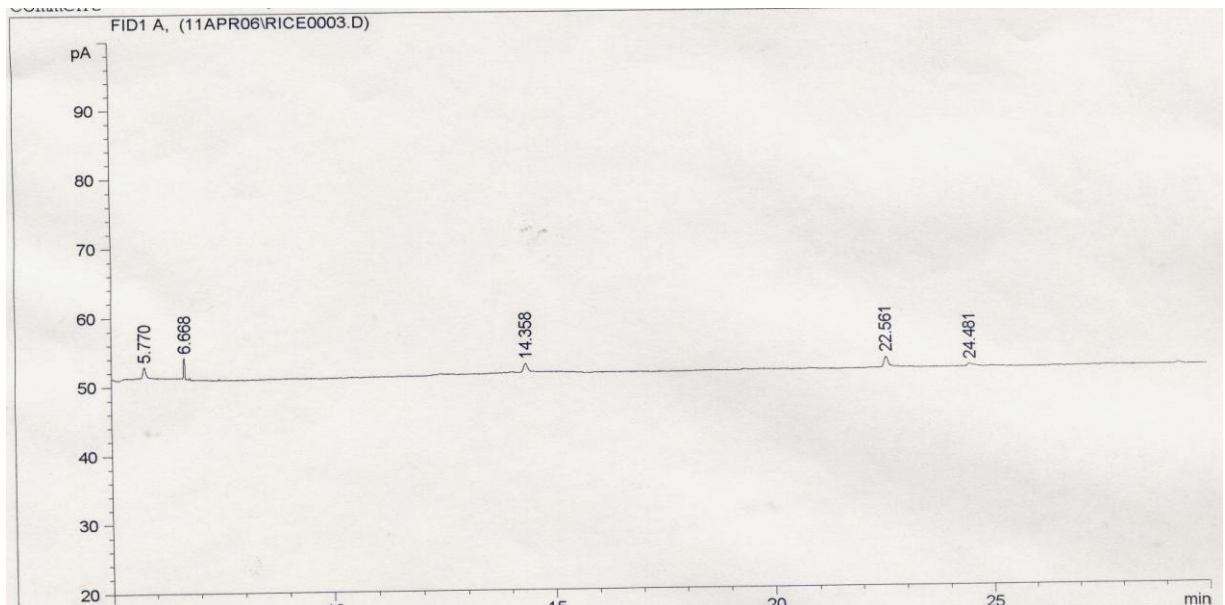


Hình A.2 Sắc ký đồ GC kiểm tra sự nhiễm chỉ có kim SPME

❖ Nhận xét: Sắc ký đồ GC (Hình A.2) cho thấy không có sự nhiễm trên kim SPME (chủ yếu là fiber). Kim sạch, bảo đảm sự chính xác trong phân tích mẫu.

A.3. Kiểm tra kim SPME + lọ sạch + septum

Tiến hành kiểm tra kết hợp kim SPME, lọ sạch (chưa sử dụng) và septum mới. Áp dụng phương pháp SPME – GC chạy theo chương trình nhiệt đã thiết lập.



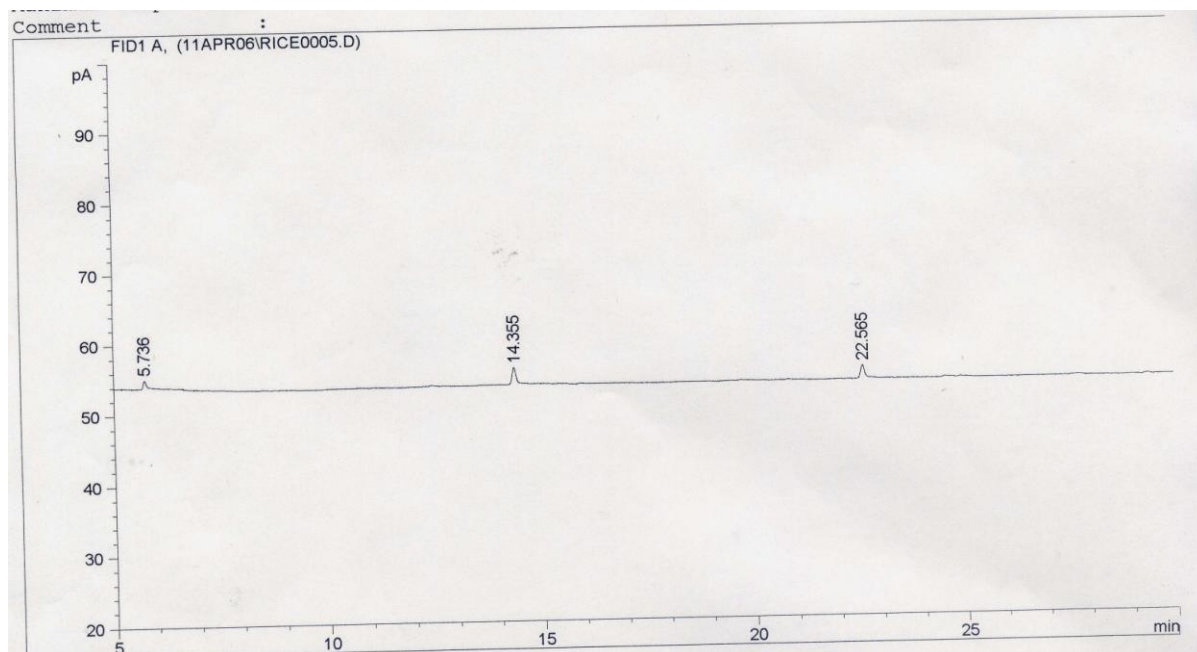
Hình A.3 Sắc ký đồ GC kiểm tra sự nhiễm kết hợp kim SPME + lọ sạch + septum

❖ Nhận xét: Sắc ký đồ GC (Hình A.3) cho thấy kim và lọ sạch, các peak nhiễu xuất hiện không đáng kể, bảo đảm sự chính xác trong phân tích mẫu.

A.4. Kiểm tra kim SPME + lọ đã sử dụng

Lọ sau khi sử dụng được làm sạch theo quy trình sau: rửa với ethanol trong 5 phút, rửa tiếp với acetone trong 5 phút, cuối cùng làm khô trong tủ sấy ở 150⁰C trong 2 giờ.

Tiến hành kiểm tra kết hợp kim SPME và lọ đã được làm sạch ở trên bằng cách áp dụng phương pháp SPME chạy theo chương trình nhiệt đã thiết lập.

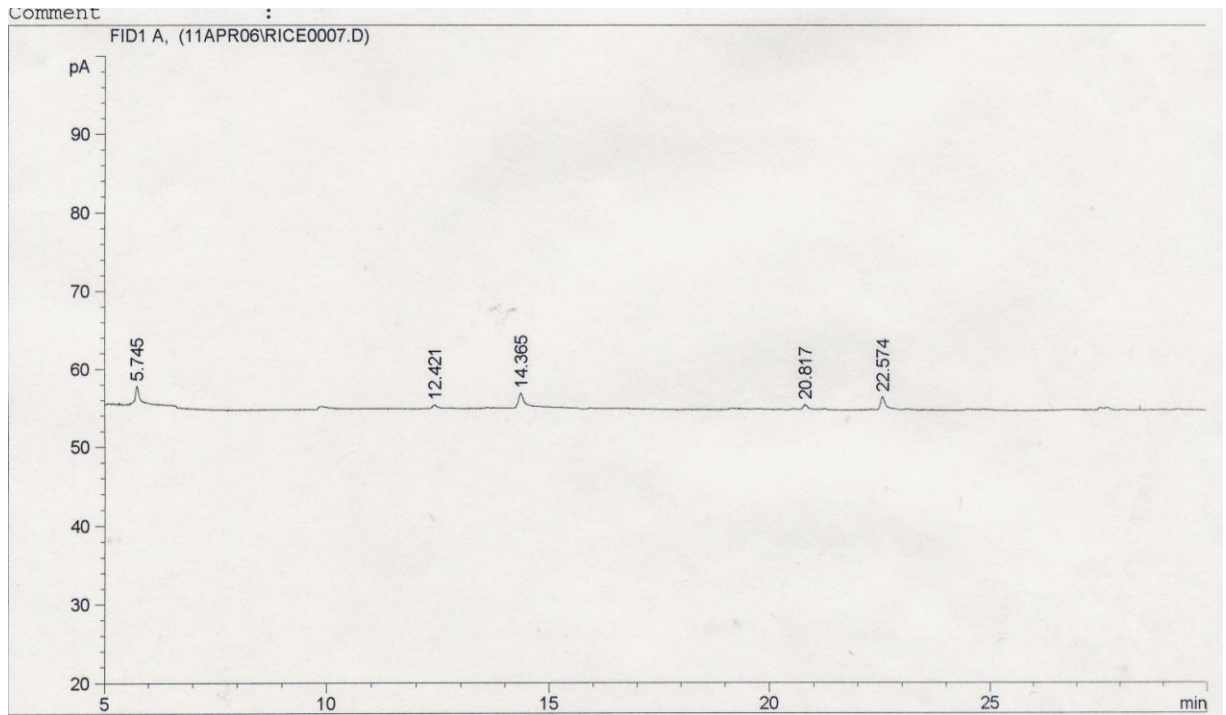


Hình A.4 Sắc ký đồ GC kiểm tra sự nhiễm kết hợp kim SPME + lọ đã sử dụng

❖ Nhận xét: Sắc ký đồ GC (Hình A.4) cho thấy kim và lọ sạch, các peak nhiễu xuất hiện không đáng kể, bảo đảm sự chính xác trong phân tích mẫu.

A.5. Kiểm tra lọ sạch + nước khử ion

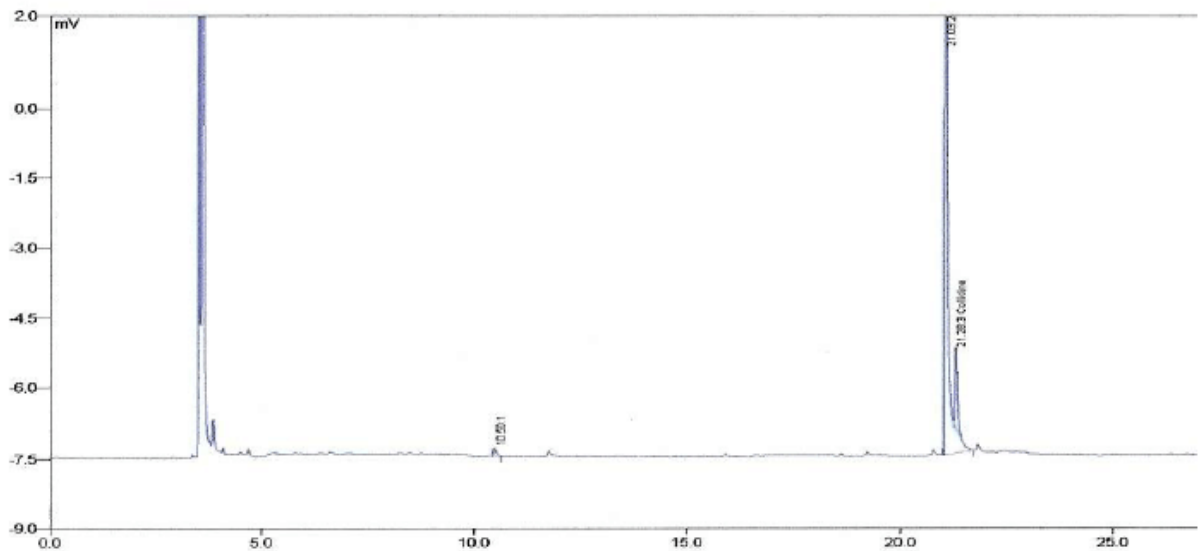
Nước được lấy từ máy cất nước hai lần sau đó tiếp tục cho vào máy tạo nước khử ion. Bơm 200 μ l nước khử ion vào lọ sạch, áp dụng phương pháp SPME – GC chạy theo chương trình nhiệt đã thiết lập.



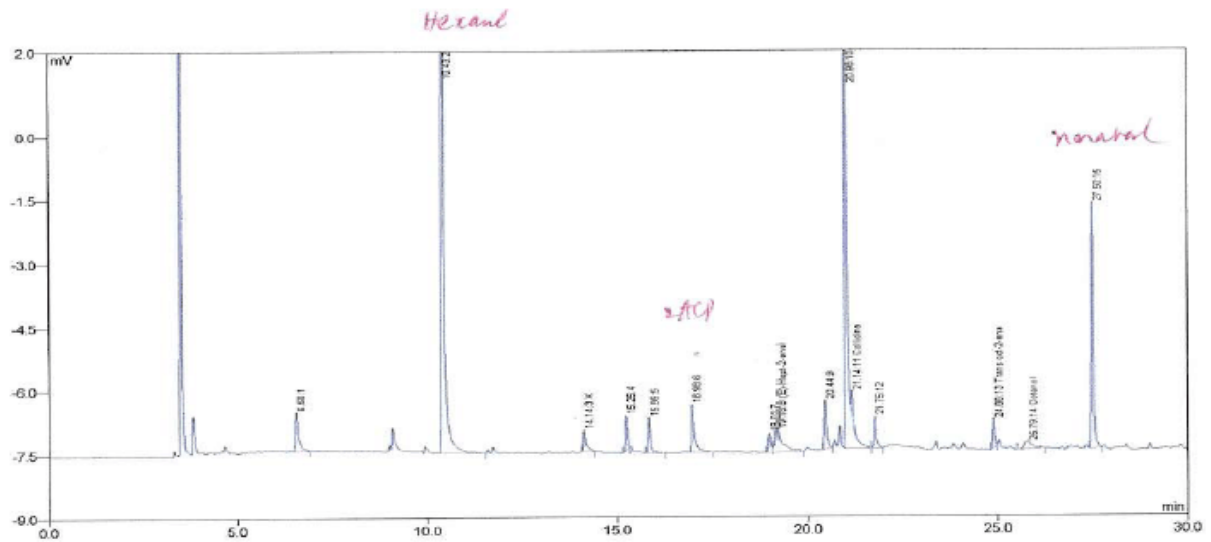
Hình A.5 Sắc ký đồ GC kiểm tra sự nhiễm kết hợp lọ sạch + nước khử ion

❖ Nhận xét: Sắc ký đồ GC (Hình A.5) cho thấy lọ và nước khử ion sạch, các peak nhiễu xuất hiện không đáng kể, bảo đảm sự chính xác trong phân tích mẫu.

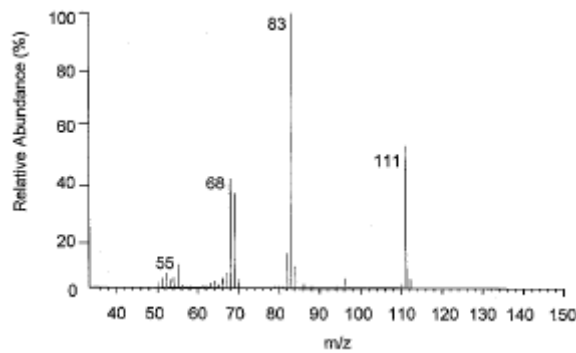
Phụ lục B. XÁC ĐỊNH COLLIDINE VÀ 2AP



Hình B.1 Sắc ký đồ GC phân tích thành phần hóa học của chuẩn collidine thực hiện tại CIRAD (Pháp) (Phan Phước Hiền, 2005).

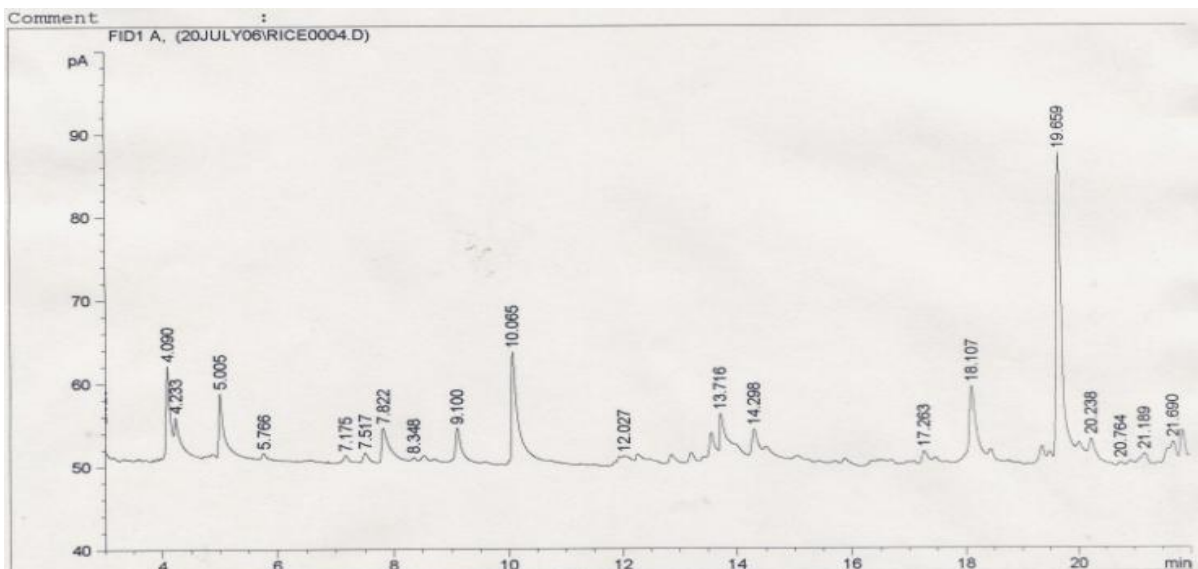


Hình B.2 Sắc ký đồ GC phân tích thành phần hóa học của mẫu gạo 267/05 thực hiện tại CIRAD (Pháp) (Phan Phước Hiền, 2005).

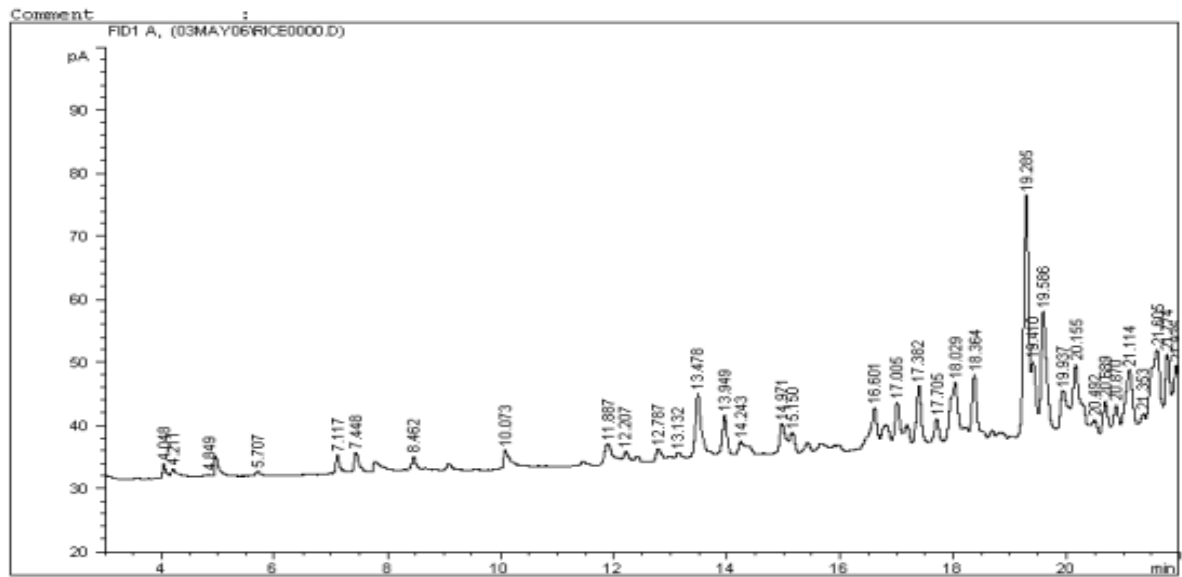


Hình B.3 Các mảnh ion phân tử xác định dự hiện diện của 2AP (Bergman và CS., 2000)

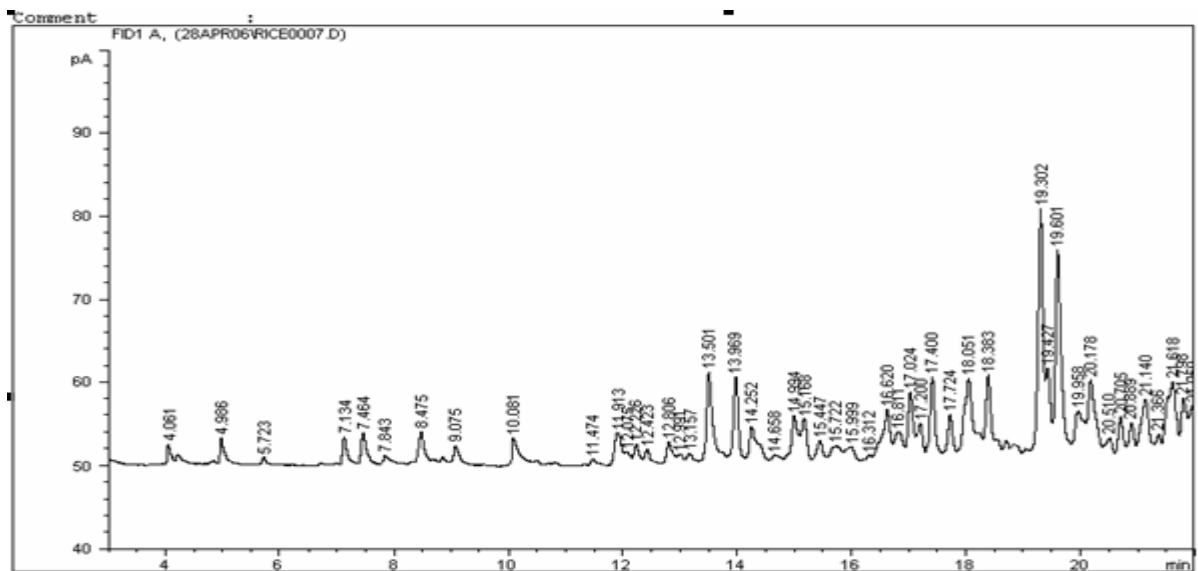
Phụ lục C. SẮC KÝ ĐỒ GC CỦA MỘT SỐ MẪU GẠO THƠM



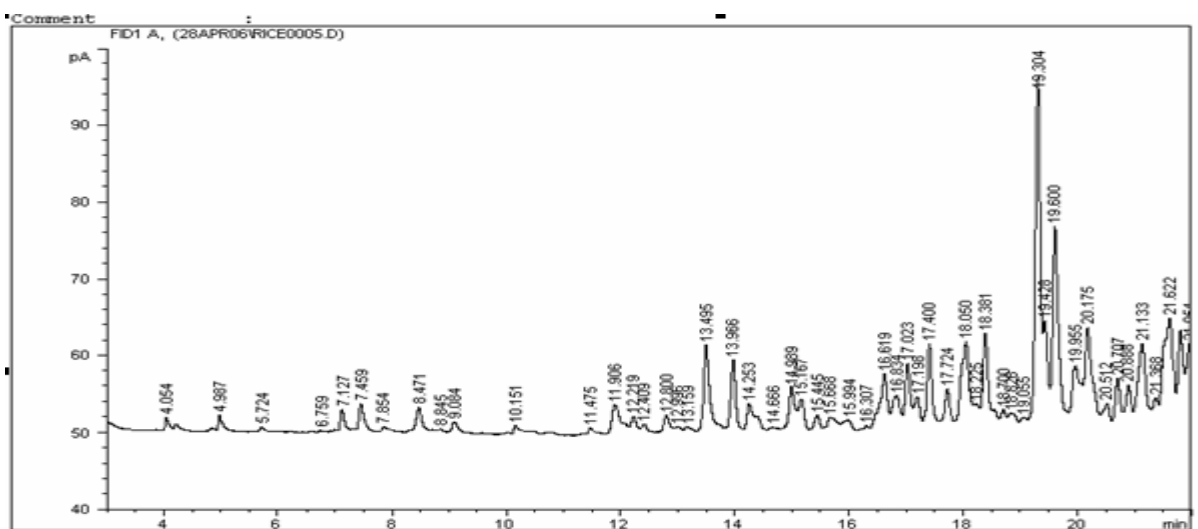
Hình C.1 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm Tarori Basmati.



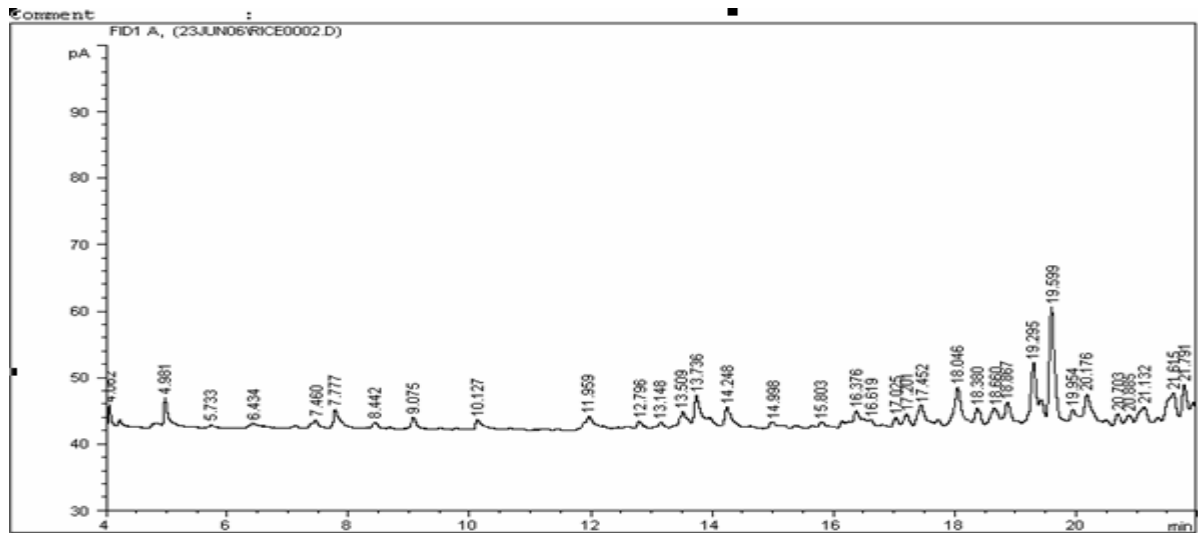
Hình C.2 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm TX06 – T3.



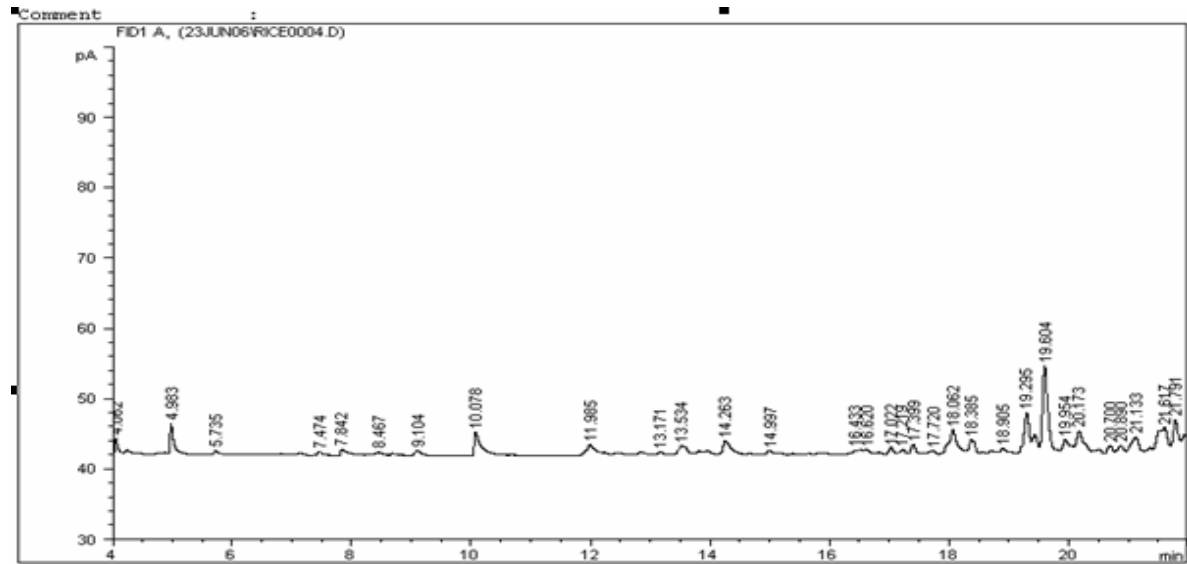
Hình C.3 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm NTĐPI.



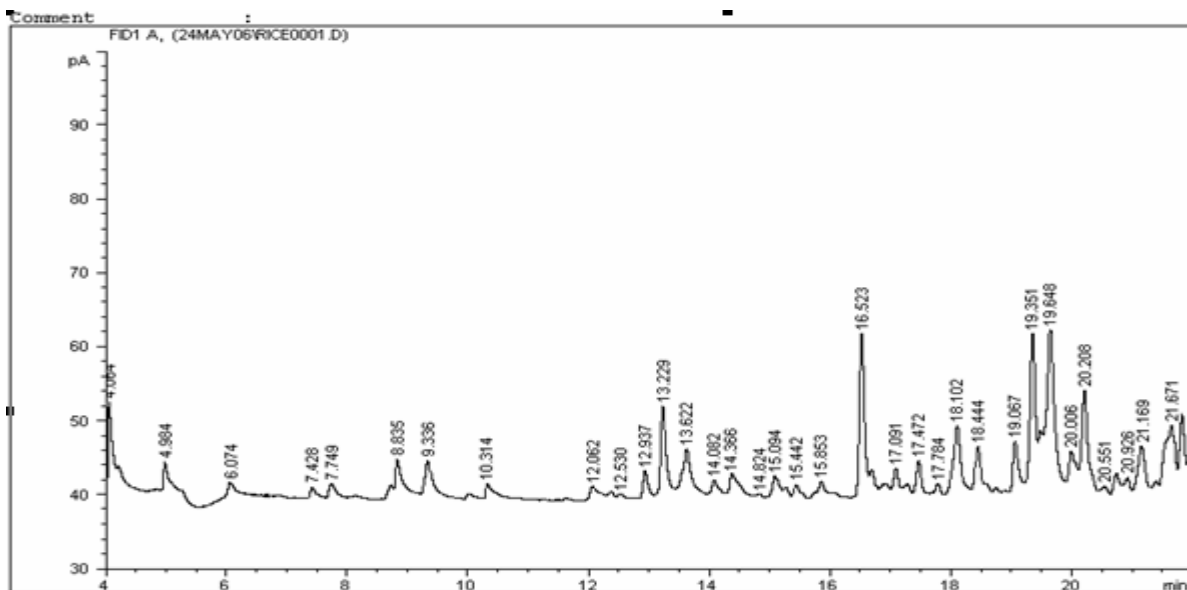
Hình C.4 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm NTĐPIII.



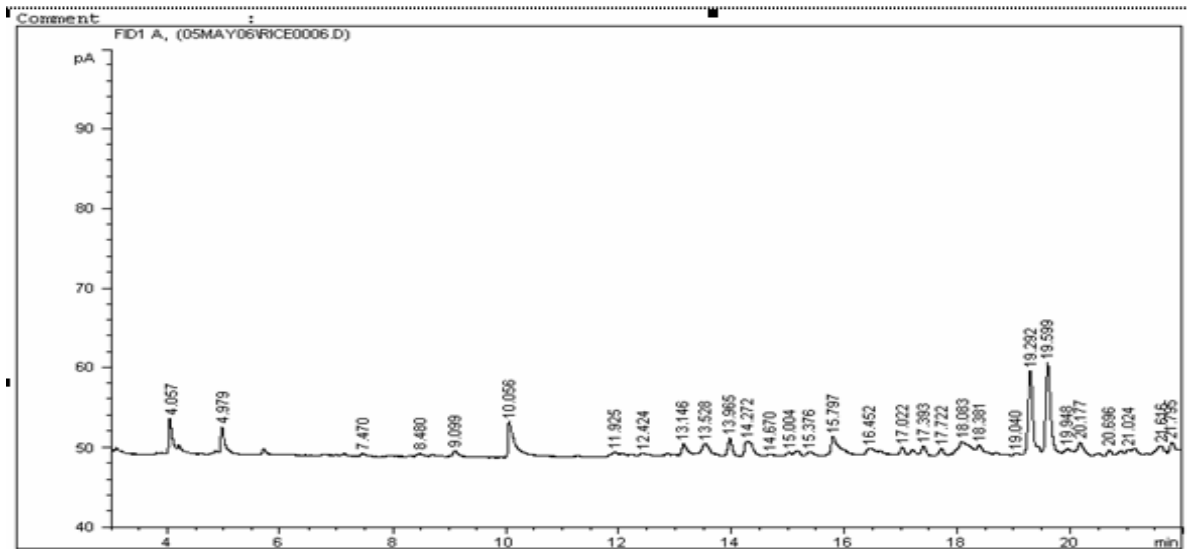
Hình C.5 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm ST6.



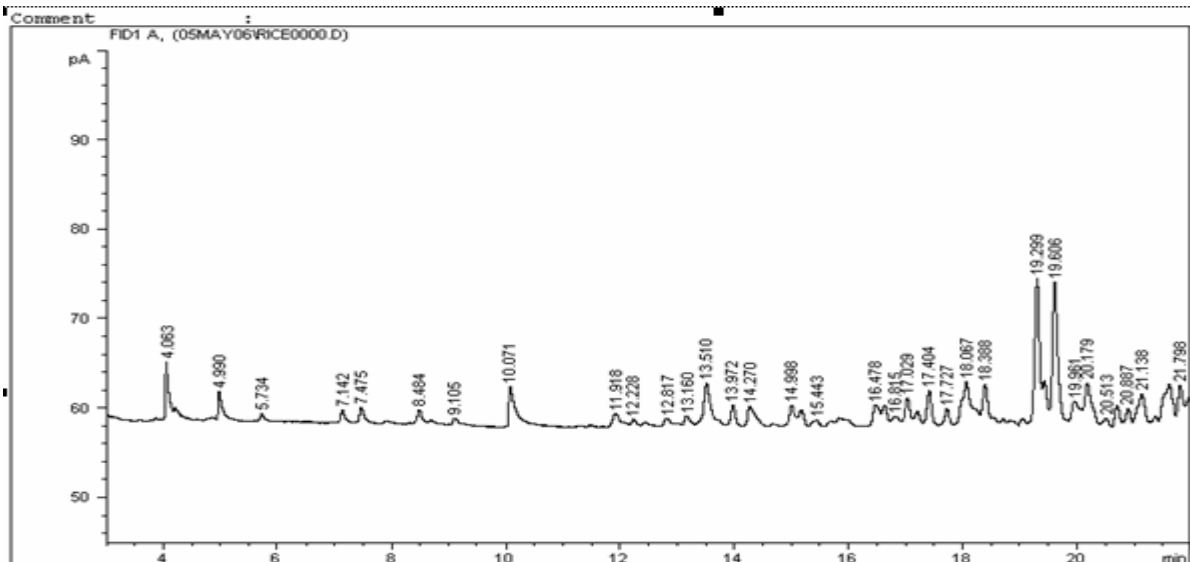
Hình C.6 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm ST9.



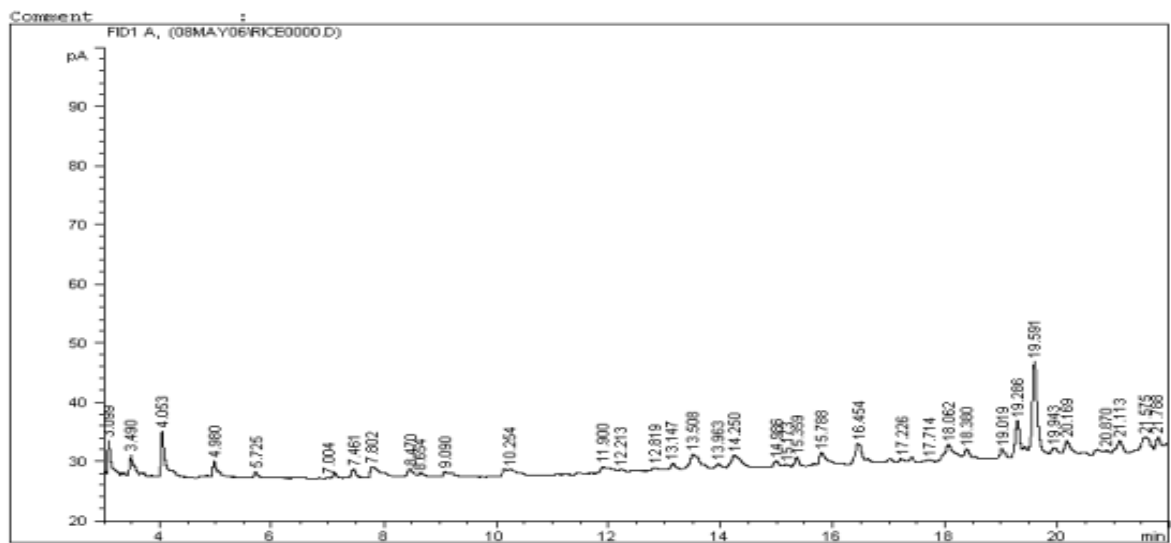
Hình C.7 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm STWS05 – 112.



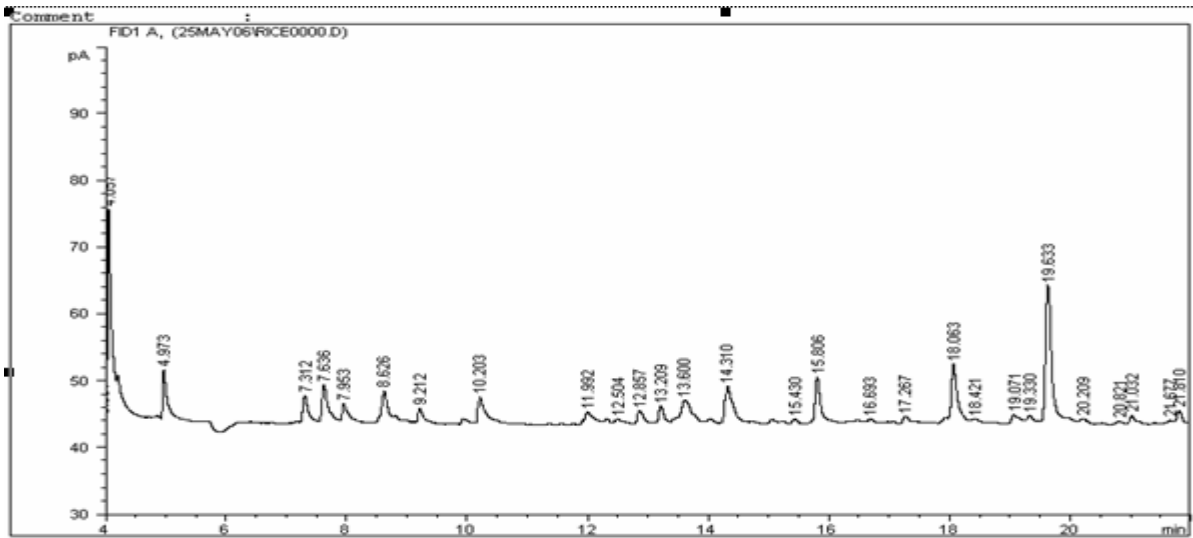
Hình C.8 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm STWS05 – 313.



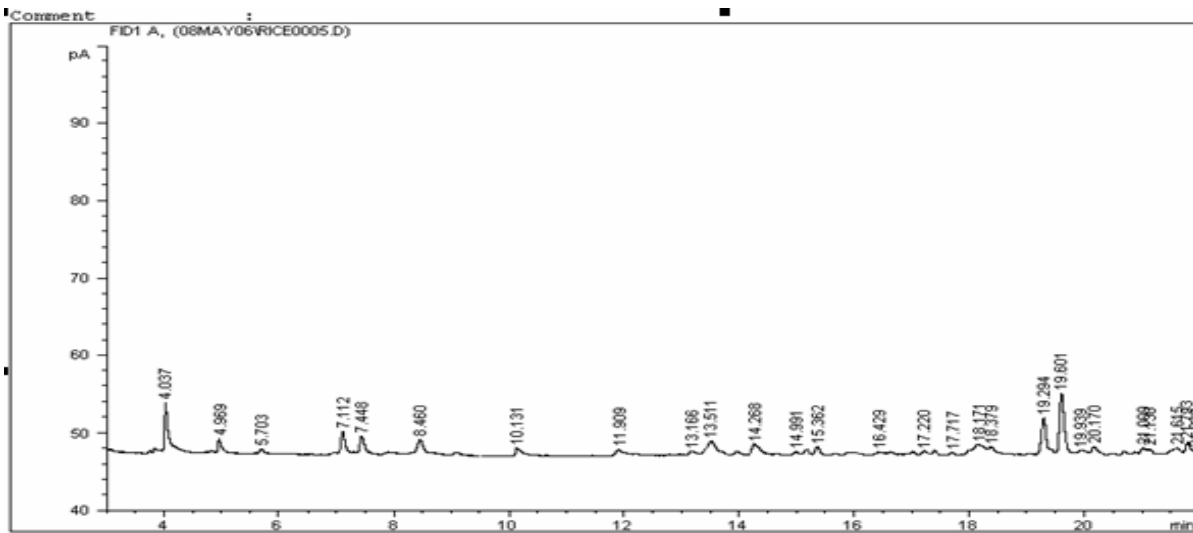
Hình C.9 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm STWS05 – 122.



Hình C.10 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm STWS05 – 323.



Hình C.11 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm STWS05 – 231.



Hình C.12 Sắc ký đồ GC phân tích mẫu gạo thơm STWS05 – 333.