

XÁC ĐỊNH LOÀI CÁ TRONG SẢN PHẨM THỦY SẢN CHẾ BIẾN BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC PHÂN TỬ

Trần Thị Thúy Hà¹, Nguyễn Thị Hương¹, Nguyễn Thị Hương Dịu², Nguyễn Phúc Hưng², ✉

¹Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản 1

²Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: hungnp@hnue.edu.vn

Ngày nhận bài: 06.02.2017

Ngày nhận đăng: 30.11.2017

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục đích xác định chính xác tên loài thủy sản được sử dụng trong các sản phẩm chế biến bằng phương pháp sinh học phân tử. Trình tự các nucleotide của đoạn gen ty thể mã hóa cytochrome c oxidase subunit I (COI) của 20 mẫu thuộc 10 sản phẩm chế biến từ cá thu tại các siêu thị ở Hà Nội được phân tích. Trình tự nucleotide của đoạn gen COI được so sánh với các dữ liệu công bố trên Ngân hàng gen từ National Center for Biotechnology Information (NCBI) và The Barcode of Life Data System (BOLD) nhằm xác định độ tương đồng. Kết quả cho thấy, trong các sản phẩm chế biến được nghiên cứu, chỉ có 40% sản phẩm có tên khoa học của loài trùng khớp với tên được ghi trên bao bì. Trong khi đó, có tới 60% sản phẩm được xác định là nhầm lẫn trong việc ghi nhãn mác. Các sản phẩm ghi sai nhãn mác chủ yếu xảy ra với chi Cá tra *Pangasius*, cụ thể là nhầm lẫn tên khoa học của cá Tra (*Pangasius hypophthalmus*) thành cá Basa (*Pangasius bocourti*). Mặc dù không có sự gian lận thương mại đối với các sản phẩm này nhưng việc ghi đúng tên khoa học của loài cá được sử dụng trong các sản phẩm chế biến được khuyến cáo nhằm bảo vệ quyền lợi của người tiêu dùng. Nghiên cứu này cũng cho thấy việc tách chiết DNA bằng bộ kit Dneasy mericon Food của Hãng Qiagen (Đức) và phản ứng PCR sử dụng cặp mồi MAB và cặp mồi Fish là phù hợp để định danh loài sử dụng trong các sản phẩm chế biến từ cá.

Từ khóa: Gen COI, sai nhãn mác, sản phẩm chế biến, xác định loài

MỞ ĐẦU

Cùng với sự phát triển xã hội, việc đa dạng hóa các sản phẩm chế biến trở thành thiết yếu đối với nhu cầu của con người. Trong đó, sản phẩm thủy sản chế biến đã tăng liên tục trong sản xuất và thương mại trong suốt những năm qua. Đối với các sản phẩm thủy sản chưa qua chế biến, nhiều loài cá có thể được xác định dựa vào hình thái. Tuy nhiên, người tiêu dùng không thể xác định chính xác các sản phẩm đã qua chế biến từ các loài thủy sản do không còn giữ được các đặc tính hình thái như mô da, kích thước, hình dạng cơ thể, số vây. Do đó, việc dán nhãn sai đối với các sản phẩm chế biến thủy sản đã trở thành một vấn đề quan trọng đối với các nhà nhập khẩu cũng như người tiêu dùng. Tác hại của việc dán nhãn sai các loài thủy sản gây gian lận kinh tế và rủi ro về sức khỏe. Một hình thức gian lận kinh tế phổ biến là thay thế tên loài (Hellberg, Morrissey,

2011), đặc biệt là loài có giá thành thấp được thay thế bằng tên loài có giá thành cao.

Gần đây, cùng với sự phát triển và hiểu biết về sinh học phân tử, nhiều chỉ thị phân tử đã được nghiên cứu và ứng dụng như một công cụ hỗ trợ đắc lực cho công tác định danh các loài cá (Ward *et al.*, 2009) và hỗ trợ đắc lực cho việc phát hiện và ngăn chặn gian lận kinh tế. Tuy nhiên, định danh trên cơ sở phân tích DNA thường gặp một số khó khăn do bộ gen có kích thước lớn, một gen có thể có nhiều bản sao trên nhiều locus, mỗi locus có nhiều allele khác nhau. Mặt khác, cá chịu ảnh hưởng trực tiếp bởi môi trường, nên có thể mang nhiều biến dị di truyền làm cho việc phân tích kết quả gặp nhiều khó khăn. Các chỉ thị phân tử dùng trong định danh và nghiên cứu di truyền thường là những trình tự có tính bảo tồn cao trong cùng một loài và biến dị khác biệt giữa các loài. Vì thế, các gen mã hóa ribosomal RNA (rRNA) là một ứng viên tốt dùng để định danh các loài sinh vật. Ngoài

các chỉ thị phân tử thường dùng như microsatellite và restriction fragment length polymorphism (RFLP), DNA mã vạch là một trong những phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất và hiệu quả trong việc truy xuất nguồn gốc thực phẩm. Mã vạch DNA (DNA barcoding) được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu đa dạng di truyền, tìm hiểu mối quan hệ phát sinh loài và kiểm chứng phân loại các loài có đặc điểm hình thái học dễ gây nhầm lẫn (Hebert *et al.*, 2003). Phương pháp này được dựa trên sự đa dạng về trình tự của một vùng DNA ngắn (mã vạch DNA) trong bộ gen cho phép xác định các loài cho độ chính xác cao. Một số mã vạch DNA từ gen mã hóa cho cytochrome oxidase c subunit I (COI), 16S rDNA và cytochrome b (Cytb) đã được sử dụng để định danh các loài cá trong các sản phẩm chế biến (Nicole *et al.*, 2012).

COI (gen mã hóa tổng hợp enzyme oxidase của gen ty thể, chứa khoảng 650 cặp base) được biết đến như vùng có tính bảo tồn cao giữa các loài, nhưng

đồng thời cho thấy sự biến đổi đủ để cho phép phân biệt các loài thường được sử dụng làm mã vạch di truyền trong việc định danh loài. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng gen COI với phương pháp sinh học phân tử phù hợp để xác định tên loài thủy sản được sử dụng trong một số sản phẩm chế biến trên thị trường Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Mười sản phẩm chế biến từ cá được thu thập tại các siêu thị ở Hà Nội, bao gồm: Big C Long Biên, Aeon Mall Long Biên. Các mẫu này được thu thập từ tháng 10/2015 đến tháng 12/2015. Bao bì của các sản phẩm này có ghi nguồn nguyên liệu từ cá Tra, cá Basa, cá Mập, cá Hồi. Tất cả các sản phẩm sau khi được thu thập được bảo quản trong tủ -20°C và được kí hiệu như bảng 1. Đối với mỗi sản phẩm, 02 mẫu được dùng để tách chiết DNA.

Bảng 1. Thông tin chính trên bao bì của 10 sản phẩm chế biến từ cá.

STT	Kí hiệu	Tên sản phẩm	Loại cá	Tên khoa học	Tên khoa học trên bao bì	Nguồn gốc
1	CCV1, CCV2	Chả cá Basa viên	Basa	<i>Pangasius bocourti</i>	Không có	Việt Nam
2	TL1, TL2	Chả cá Basa viên thì là	Basa	<i>Pangasius bocourti</i>	<i>Pangasius</i>	Việt Nam
3	CQ1, CQ2	Chả quế cá Basa	Basa	<i>Pangasius hypophthalmus</i>	<i>Pangasius hypophthalmus</i>	Việt Nam
4	KC1, KC2	Khô cá Tra	Tra	<i>Pangasius hypophthalmus</i>	Không có	Việt Nam
5	CC1, CC2	Chạo cá Basa	Basa	<i>Pangasius bocourti</i>	Không có	Việt Nam
6	LB1, LB2	Cá lăn bột	Không có	<i>Pangasius hypophthalmus</i>	<i>Pangasius hypophthalmus</i>	Việt Nam
7	VB1, VB2	Cá viên Basa	Basa	<i>Pangasius bocourti</i>	Không có	Việt Nam
8	FB1, FB2	Fishburger Basa	Basa	<i>Pangasius bocourti</i>	Không có	Việt Nam
9	CH1, CH2	Nem nướng cá Hồi	Hồi	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Không có	Việt Nam
10	CM1, CM2	Cá Mập	Mập	<i>Prionace glauca</i>	Không có	Việt Nam

Phương pháp

Tách chiết DNA tổng số từ các sản phẩm chế biến

DNA tổng số của các sản phẩm được tách chiết sử dụng bộ kit Dneasy mericon Food Kit của Hãng

Qiagen (Đức). Số lượng và chất lượng của các mẫu DNA sau khi tách chiết được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8% và đo trên máy Nanodrop 2000C (Thermo Scientific, Mỹ).

Khuếch đại trình tự COI bằng PCR

Phản ứng PCR để nhân đoạn gen vùng COI được thực hiện trên máy PCR Mastercycler Pro S (Eppendorf, Đức). Trong nghiên cứu này, các cặp mồi MAB và Fish được thiết kế phù hợp cho việc

khuyếch đại vùng COI của các mẫu, dựa trên kết quả nghiên cứu của Ward *et al.*, (2009), Badhul Haq *et al.*, (2012). Thông tin của các mồi được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Thông tin của cặp mồi MAB và Fish.

Mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Nhiệt độ gắn mồi	Kích thước sản phẩm PCR dự kiến (bp)
MAB	F:TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC R:TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA	50°C	680
Fish	F:CGACTAATCATAAAGATATCGGCAC R:TTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA	56°C	680

Phản ứng khuếch đại được thực hiện với tổng thể tích 25 µL bao gồm: 3 µL DNA khuôn (100 ng/µL), 100 mM Tris HCl (pH 8,3), 500 mM KCl (pH 8,3), 2,5 µL MgCl (25 mM), 1,0 µL dNTPs (5 mM), 0,5 µL mồi ngược và mồi xuôi (10 pm/µL mỗi mồi) và 1 u/µL Taq Polymerase. Chu kỳ nhiệt như sau: 94°C trong 2 min; 35 chu kỳ với 94°C trong 50 s, 50 - 56°C trong 50 s, 72°C trong 1 min, 72°C trong 10 min và giữ ở 4°C. Do đặc tính từng loại sản phẩm, cặp mồi MAB được sử dụng để khuếch đại trình tự đoạn gen COI ở các mẫu CM1, CM2, CH1, CH2 và cặp mồi Fish được sử dụng cho các mẫu còn lại.

Giải trình tự vùng COI của gen ty thể

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2% để kiểm tra kết quả. Trước khi tiến hành giải trình tự, tất cả sản phẩm PCR được tinh sạch bởi kit ExpinTM PCR SV của Hãng GeneAll (Hàn Quốc) để đảm bảo chất lượng cho giải trình tự ở bước kế tiếp. Các sản phẩm PCR đạt chất lượng sẽ được gửi đi giải trình tự tại First BASE Laboratories, Malaysia. Trong quá trình này, sản phẩm tinh sạch được gắn nhãn bằng Bigdye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, trong tổng số hỗn hợp phản ứng 10 µL có chứa: 4,94 µL nước tinh khiết, 1,94 µL đệm BigDye 5 × (400 mM Tris-HCl pH 9,0 và 10 mM MgCl₂), 0,12 µL BigDye Terminator và 1 µL sản phẩm ExoSAP. Sau đó, quá trình giải trình tự hai chiều trên máy Applied Biosystems được thực hiện. Phần mềm phân tích Genomelab System được sử dụng để tạo các file trình tự và đọc chiều dài liên kề.

Phân tích và sắp xếp trình tự

Các trình tự gen được kiểm tra chất lượng bằng chương trình Finch TV 14.0 (<http://www.geospiza.com>). Tiếp theo, chương trình CLUSTALW trong BioEdit được sử dụng nhằm so sánh và căn chỉnh trình tự.

Xác định tên loài

Việc định danh mẫu dựa trên phương pháp trình tự tương đồng đã tiến hành trên cơ sở dữ liệu của Ngân hàng gen. Trình tự DNA được so sánh và phân tích độ tương đồng với các trình tự trên Ngân hàng gen bằng phần mềm BLAST. Các trình tự được chú giải dựa trên kết quả BLAST (độ tương đồng với với các trình tự protein/nucleotide đã biết). Trình tự đã giải mã sẽ được xác định chính xác là COI hay không dựa trên kết quả sau khi BLAST. Các trình tự tương đồng với các trình tự trên Ngân hàng gen được xác định cùng với các thông số chính như: Coverage (độ bao phủ theo chiều dài của trình tự so sánh), E-value (độ tin cậy), và Identity (độ tương đồng so với trình tự so sánh). Bên cạnh đó, chúng tôi cũng sử dụng cơ sở dữ liệu trên NCBI và BOLD để xác minh tính chính xác cho việc xác định loài.

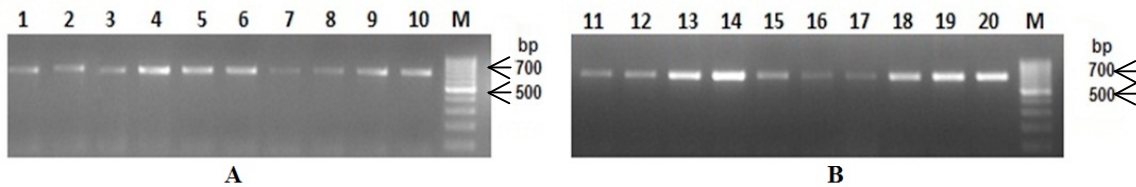
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Khuếch đại gen COI

Các sản phẩm cá chế biến trên thị trường thông thường là các sản phẩm đã trải qua nhiều bước xử lý trong quá trình chế biến và bảo quản. Bên cạnh đó, các sản phẩm này có chứa các thành phần phụ gia và chất bảo quản. Những yếu tố này có thể ảnh hưởng xấu đến chất lượng và số lượng DNA tổng số từ các mẫu chế biến so với các sản phẩm tươi sống khác. Trong nghiên cứu này, kết quả tách chiết DNA tổng số của 20 mẫu từ 10 sản phẩm chế biến từ cá cho thấy, các băng trên bản gel ở các mẫu có mức độ rõ nét khác nhau. Điều đó liên quan tới số lượng và chất lượng DNA tách được từ các mẫu. Tuy nhiên, DNA tổng số tách chiết từ các mẫu trong nghiên cứu bằng bộ kit Dneasy mericon Food Kit của Hãng Qiagen có đủ điều kiện để thực hiện phản ứng PCR trong bước tiếp theo.

Kết quả khuếch đại gen COI (Hình 1) cho thấy, sản phẩm PCR là các băng rõ nét, không xuất hiện sản phẩm phụ, kích thước đoạn gen được khuếch đại nằm trong khoảng phù hợp với nghiên cứu của Ward *et al.*, (2005), Badhul Haq

et al., (2012). Như vậy, chiều dài của đoạn gen COI của một số loài cá trong chi Cá tra được khuếch đại là phù hợp với kích thước mong đợi và đáp ứng chất lượng cho các bước phân tích tiếp theo.



Hình 1. Sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi Fish (A) và MAB (B). 1-10: Sản phẩm PCR khuếch đại từ các mẫu CCV1, CCV2, TL1, TL2, CQ1, CQ2, KC1, KC2, CC1, CC2 tương ứng; 11- 20: Sản phẩm PCR khuếch đại từ các mẫu LB1, LB2, VB1, VB2, FB1, FB2, CH1, CH2, CM1, CM2 tương ứng; M: Thang chuẩn DNA 100 bp.

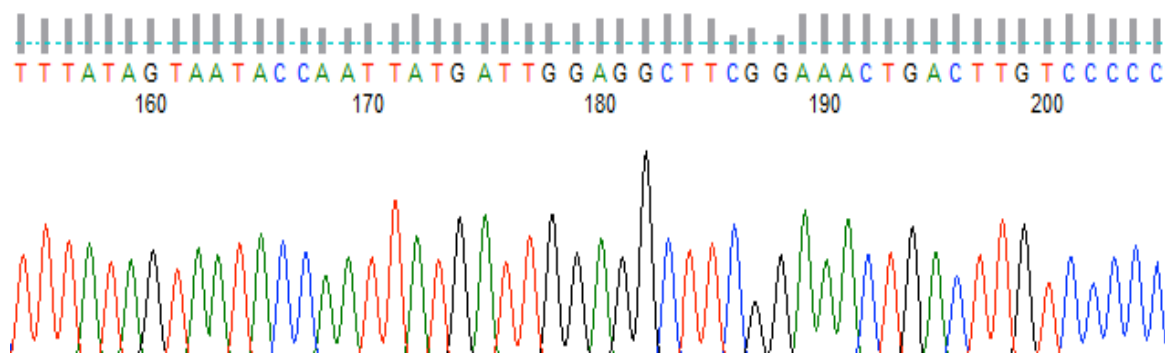
Giải trình tự gen COI

Kết quả giải trình tự dưới dạng tín hiệu đỉnh cho thấy trình tự các nucleotide có độ tin cậy cao và tín hiệu gây nhiễu thấp (Hình 2).

Kết quả phân tích trình tự của 20 mẫu nghiên cứu thuộc 10 loại sản phẩm chế biến với trình tự gen COI đã được công bố trên Ngân hàng gen từ NCBI và BOLD được thể hiện ở bảng 3. Kết quả cho thấy, sự tương đồng tương đối cao của các trình tự nucleotide trong nghiên cứu này với các nghiên cứu khác đã được công bố và đăng ký trên cơ sở dữ liệu.

Với cách tìm kiếm sự tương đồng trình tự gen COI, trình tự DNA của các mẫu nghiên cứu được so

sánh với các trình tự được công bố trên NCBI và BOLD. Để so sánh các dữ liệu về trình tự trên NCBI, chương trình BLAST được sử dụng và đây là một thuật toán để so sánh vùng tương đồng giữa các trình tự. Ngược lại, cơ sở dữ liệu BOLD sử dụng để xác định loài nhanh chóng bằng cách sắp xếp trình tự truy vấn với tất cả các trình tự tham khảo có trong cơ sở dữ liệu này. Sử dụng cả hai cơ sở dữ liệu NCBI và BOLD sẽ cho phép xác định chính xác thông tin về các mẫu nghiên cứu. BLAST cung cấp một loạt các trình tự có độ tương đồng lớn nhất với trình tự cần được xác định được ước tính bởi giá trị phần trăm “identity”. Ngược lại, BOLD xác định các loài bằng mức độ sai khác các nucleotide, với loài tương đồng có giá trị sai khác ít hơn 1% (Ratnasingham và Hebert, 2007).



Hình 2. Kết quả giải trình tự gen COI dưới dạng tín hiệu đỉnh.

Bảng 3. Kết quả so sánh trình tự gen COI và xác định loài.

Kí hiệu	Tên sản phẩm	NCBI			BOLD			Tên loài theo kết quả phân tích gen
		Loài tương đồng	Độ tương đồng (%)	Ghi chú	Loài tương đồng	Độ tương đồng (%)	Ghi chú	
CCV1	Chả cá viên Basa viên	<i>P. hypophthalmus</i>	99	×	<i>P. hypophthalmus</i>	100	×	Cá Tra
CCV2	Chả cá viên Basa viên	<i>P. hypophthalmus</i>	99	×	<i>P. hypophthalmus</i>	100	×	Cá Tra
TL1	Chả cá Basa viên thì là	<i>P. hypophthalmus</i>	97	×	No	No		Cá Tra
TL2	Chả cá Basa viên thì là	<i>P. hypophthalmus</i>	99	×	<i>P. hypophthalmus</i>	100	×	Cá Tra
CQ1	Chả quế Basa	<i>P. hypophthalmus</i>	95	×	No	No		Cá Tra
CQ2	Chả quế Basa	<i>P. hypophthalmus</i>	99	×	<i>P. hypophthalmus</i>	100	×	Cá Tra
KC1	Khô cá Tra	<i>P. hypophthalmus</i>	95	✓	No	No		Cá Tra
KC2	Khô cá Tra	<i>P. hypophthalmus</i>	99	✓	<i>P. hypophthalmus</i>	100	✓	Cá Tra
CC1	Chạo cá Basa	<i>P. hypophthalmus</i>	99	×	No	No		Cá Tra
CC2	Chạo cá Basa	<i>P. hypophthalmus</i>	99	×	No	No		Cá Tra
LB1	Cá lăn bột	<i>P. hypophthalmus</i>	100	✓	<i>P. hypophthalmus</i>	100	✓	Cá Tra
LB2	Cá lăn bột	<i>P. hypophthalmus</i>	100	✓	<i>P. hypophthalmus</i>	100	✓	Cá Tra
VB1	Cá viên Basa	<i>P. hypophthalmus</i>	99	×	<i>P. hypophthalmus</i>	100	×	Cá Tra
VB2	Cá viên Basa	<i>P. hypophthalmus</i>	97	×	No	No		Cá Tra
FB1	Fishburger Basa	<i>P. hypophthalmus</i>	100	×	<i>P. hypophthalmus</i>	100	×	Cá Tra
FB2	Fishburger Basa	<i>P. hypophthalmus</i>	100	×	<i>P. hypophthalmus</i>	100	×	Cá Tra
CH1	Nem nướng cá Hồi	<i>O. mykiss</i>	99	✓	<i>O. mykiss</i>	100	✓	Cá Hồi
CH2	Nem nướng cá Hồi	<i>O. mykiss</i>	99	✓	<i>O. mykiss</i>	100	✓	Cá Hồi
CM1	Cá Mập	<i>P. glauca</i>	99	✓	<i>P. glauca</i>	100	✓	Cá Mập
CM2	Cá Mập	<i>P. glauca</i>	99	✓	<i>P. glauca</i>	100	✓	Cá Mập

Ghi chú: ✓: Kết quả phân tích và tên trên bao bì trùng nhau; ×: Kết quả phân tích và tên trên bao bì sai khác nhau; No: Kết quả không được tìm thấy trên BOLD.

Kết quả cho thấy, 14 mẫu thuộc 9 sản phẩm chế biến khác nhau gồm chả cá viên Basa (CCV1, CCV2), chả cá Basa viên thì là (TL2), chả quế Basa (CQ2), khô cá Tra (KC2), cá lăn bột (LB1, LB2), cá viên Basa (VB1), fishburger Basa (FB1, FB2), nem nướng cá Hồi (CH1, CH2), cá Mập (CM1, CM2) có

kết quả so sánh trên NCBI và BOLD thể hiện độ tương đồng cao (99-100%). Điều đó làm tăng độ chính xác của việc xác định tên khoa học của loài cá sử dụng chế biến các sản phẩm này. Bên cạnh đó, cả hai mẫu (CC1, CC2) thuộc sản phẩm chạo cá Basa đều không tìm thấy kết quả trên BOLD, tuy nhiên

kết quả trên NCBI độ tương đồng tương đối cao (99%) nên tính chính xác của kết quả phân tích đối mẫu này có thể chấp nhận được. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tìm thấy 7 mẫu (KC2, LB1, LB2, CH1, CH2, CM1, CM2) thuộc 4 sản phẩm chế biến cho kết quả trùng khớp giữa tên được niêm yết trên nhãn mác bao bì và kết quả phân tích với độ tương đồng cao khi đối chiếu với các trình tự gen đăng ký trên Ngân hàng gen (99% - 100%) và trên BOLD (100%). Trong khi đó, có tới 12 mẫu gồm CCV1, CCV2, TL1, TL2, CQ1, CQ2, CC1, CC2, VB1, VB2, FB1, FB2 thuộc 6 sản phẩm chế biến thể hiện sự sai khác giữa tên loài được ghi trên bao bì sản phẩm và kết quả định loại sau khi phân tích.

Như vậy, tỷ lệ 4/10 sản phẩm nghiên cứu chiếm 40% là ghi đúng nhãn mác, còn lại 6/10 sản phẩm chiếm 60% là ghi sai nhãn mác. Kết quả về ghi sai nhãn mác này chiếm tỷ lệ rất lớn xảy ra trong cùng chi Cá tra *Pangasius*. Hầu hết tên trên bao bì được niêm yết là cá Basa (*P. bocourti*) nhưng kết quả phân tích đều là cá Tra có tên khoa học là *P. hypophthalmus*. Đây là hai loài cá khác nhau nhưng do thói quen nên thường được gọi là cá Basa. Thực tế, giá cá Tra rẻ hơn cá Basa nên có thể có gian lận thương mại đối với các sản phẩm chế biến trong nghiên cứu này. Tuy nhiên, cũng có thể do thói quen gọi cá Tra và cá Basa cùng một tên là cá Basa nên dẫn đến sự sai sót này. Điều này ảnh hưởng đến quyền lợi của người tiêu dùng vì đa số người tiêu dùng không chú ý đến tên khoa học của sản phẩm mà chỉ quan tâm đến tiếng Việt. Việc ghi đúng tên khoa học của cá Tra và cá Basa cần phải làm bởi vì đây là hai loài khác nhau với các giá trị dinh dưỡng và giá trị kinh tế khác nhau. Nghiên cứu của Carvalho *et al.*, (2010) đã chỉ ra rằng toàn bộ các sản phẩm cá phi lê được bán tại thị trường Brazil với tên phổ biến là surubim (*Pseudoplatystoma* spp.) cũng được nhận diện bằng chỉ thị phân tử. Kết quả nghiên cứu công bố hơn 80% các sản phẩm cá phi lê chế biến trên thị trường được phân tích bị dán nhãn sai so với các sản phẩm cá nguyên con. Đây được xem là báo cáo đầu tiên về tỷ lệ gian lận cao các sản phẩm của cá phi lê trên thị trường và việc thành lập một danh sách chính thức tên gọi chung của các loài cá nước ngọt và hải sản là rất cần thiết với Brazil (Carvalho *et al.*, 2010). Các mã vạch DNA đã được sử dụng để xác định cá Ngừ (Terol *et al.*, 2002), cá Tuyết (Espineira *et al.*, 2008), cá Cơm (Jérôme *et al.*, 2008) và cá Mập (Barbuto *et al.*, 2010). Nhằm kiểm định và gắn lại nhãn cho các sản phẩm thủy sản có nguồn gốc từ cá da trơn, Filonzi *et al.*, (2010) đã sử dụng DNA mã vạch, trong đó có từ trình tự trực tiếp

của COI để định danh loài. Kết quả cho thấy trong tổng số 69 mẫu, có 22 mẫu (32%) gắn nhãn sai, 18 mẫu (26%) là nhầm lẫn giữa các loài gần gũi, còn lại 42% số sản phẩm là do gian lận thương mại. Nhìn chung, các nghiên cứu nhằm xác định chính xác tên loài trong các sản phẩm thủy sản chế biến đã được tiến hành ở nhiều nước với nhiều loại sản phẩm khác nhau. Việc sử dụng DNA mã vạch, đặc biệt là trình tự của gen COI như trong nghiên cứu này đã đem lại những kết luận chính xác về loài được sử dụng làm nguyên liệu cho dù sản phẩm đó đã qua nhiều khâu chế biến, góp phần phòng chống gian lận thương mại và bảo vệ quyền lợi của người tiêu dùng.

KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu phân tích và so sánh trình tự gen COI của 20 mẫu nghiên cứu thuộc 10 sản phẩm chế biến với cơ sở dữ liệu NCBI và BOLD cho thấy 40% sản phẩm ghi đúng nhãn mác và 60% sản phẩm ghi sai nhãn mác. Các sản phẩm ghi sai nhãn mác có nguồn gốc từ cá Tra với tên khoa học *P. hypophthalmus*, tuy nhiên trên bao bì đóng gói của sản phẩm được ghi thành cá Basa *P. bocourti*. Việc ghi đúng tên khoa học của các loài cá sử dụng trong các sản phẩm chế biến là cần thiết và được khuyến cáo đến các công ty sản xuất nhằm bảo vệ quyền lợi của người tiêu dùng.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài cấp nhà nước “Nghiên cứu phát triển và ứng dụng mã vạch di truyền (DNA barcoding) trên cá Tra (*Pangasianodon hypophthalmus*)” thuộc chương trình Công nghệ sinh học nông nghiệp, thủy sản - Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Badhul Haq MA, Mohammed Azarudeen D, Vignesh R, Ajith Kumar TT, Srinivasan M (2012) Identification and intra species delineation of ornamental silver pompano *Trachinotus blochii* (Lacépède, 1801) with ADN barcodes. *Int Res J Biochem Bioinform* 3: 26-36.
- Barbuto M, Galimberti A, Ferri E, Labra M, Malandra R, Galli P (2010) DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: The Italian case of “alombo” (*Mustelus spp.*). *Food Res Int* 43: 376-381.
- Carvalho DC, Neto DA, Brasil BS, Oliveira DA (2010) DNA barcoding unveils a high rate of mislabeling in a commercial freshwater catfish from Brazil. *Mitochondrial*

DNA 22 (S1): 97-105.

Espineira M, Nerea GN, Vieites JM, Santaclara F (2008) Development of a method for the genetic identification of flatfish species on the basis of mitochondrial DNA sequences. *J Agric Food Chem* 56: 8954-8961.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, Waar JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci* 270: 313-321.

Hellberg RS and Morrissey MT (2011) Advances in DNA-based techniques for the detection of seafood species substitution on the commercial market. *J Lab Autom* 16: 308-321.

Filonzi L, Chiesa S, Marina V, Francesco NM (2010) Molecular barcoding reveals mislabelling of commercial fish products in Italy. *Food Res Int* 43: 1383-1388.

Jérôme M, Martinsohn JT, Ortega D, Carreau P, Verrez-Bagnis V, Mouchel O (2008) Toward fish and seafood traceability: Anchovy species determination in fish products by molecular markers and support through a public domain

database. *J Agric Food Chem* 56: 3460-3469.

Nicole S, Negrisolo E, Eccher G, Mantovani R, Patarnello T, Erickson DL, Kress WJ, Barcaccia G (2012) DNA Barcoding as a reliable method for the authentication of commercial seafood products. *Food Technol Biotechnol* 50: 387-398.

Ratnasingham S and Hebert PDN (2007) BOLD: The Barcode of Life Data system. *Mol Ecol Notes* 7: 355-364.

Terol J, Mascarell R, Fernandez-Pedrosa V, Perez-Alonso M (2002) Statistical validation of the identification of tuna species: Bootstrap analysis of mitochondrial DNA sequences. *J Agric Food Chem* 50: 963-969.

Ward, R D, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PD (2005) DNA barcoding Australia's fish species. *Phil Trans R Soc B* 360: 1847-1857.

Ward RD, Hanner R, Hebert PDN (2009) The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. *J Fish Biol* 74: 329-356.

IDENTIFICATION OF FISH SPECIES IN SOME PROCESSING PRODUCTS USING MOLECULAR MARKERS

Tran Thi Thuy Ha¹, Nguyen Thi Huong¹, Nguyen Thi Huong Diu², Nguyen Phuc Hung²

¹Research Institute for Aquaculture No.1

²Ha Noi National University of Education

SUMMARY

This study was carried out to identify accurately fish species in the processed fish products by using molecular markers. The nucleotide sequences of the Cytochrome c Oxidase Subunit I gene (COI) of 20 samples from 10 different processed fish products collected in some supermarkets in Hanoi (Big C Long Bien and Aeon Mall Long Bien) were analyzed. The sequences of COI gen were compared to the published data from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and The Barcode of Life Data System (BOLD) in order to determine the similarity. Results showed that there were only forty percents of the total samples with the scientific names matched the names on the packed products. The matched names of fish species between scientific names and packed products at the supermarkets were Salmon *Oncorhynchus mykiss*, Blue shark *Prionace glauca* and Tra *Pangasius hypophthalmus*. Meanwhile, sixty percents of the total samples were identified as mislabeled products. Most of these mislabeled products were found in the products of family *Pangasius*, from species *Pangasius hypophthalmus* into species *Pangasius bocourti*. Although no commercial frauds were found in this study since the price of fish species *Pangasius hypophthalmus* was cheaper than that of fish species *Pangasius bocourti*, the correct scientific names of fish species should be labelled for the processed products in order to protect the consumers. The present study also showed that the DNA extraction using a kit Dneasy mericon Food of Qiagen (Germany) and the PCR reaction using Fish and MAB primers were suitable for species identification of processed fish products.

Keywords: COI gene, mislabeling, processed products, species identification