ISSN 1859-4581

Tạp chí

NÔNG NGHIỆP & PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

Science and Technology Journal of Agriculture & Rural Development

MINISTRY OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT, VIETNAM

CHẤT LƯỢNG VÀ AN TOÀN THỰC PHẨM VÌ SỨC KHOẺ CỘNG ĐỒNG - TẬP I

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

Tháng 6

2023

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Editorial Committee

1. CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG:

PHÙNG ĐỨC TIẾN

Bộ Nông nghiệp và PTNT

2. PHÓ CHỦ TỊCH KIÊM TỔNG THƯ KÝ HỘI ĐỒNG:

NGUYỄN THỊ THANH THỦY

Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường - Tạp chí Nông nghiệp và PTNT

3. CÁC ỦY VIÊN:

NGUYỄN HỮU NINH
Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường

TRẦN ĐÌNH LUÂN
Cục Thủy sản

VÕ ĐẠI HẢI
Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

TRẦN ĐÌNH HÒA
Viện Khoa học Thủy lợi Việt Nam

PHẠM VĂN TOẢN
Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

PHẠM ANH TUẤN
Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

TRẦN CÔNG THẮNG
Viện Chính sách và Chiến lược phát triển nông nghiệp nông thôn

PHẠM DOÃN LÂN
Viện Chăn nuôi

TRỊNH MINH THỤ
Trường Đại học Thủy lợi

PHẠM VĂN ĐIỂN
Trường Đại học Lâm nghiệp

PHẠM VĂN CƯỜNG
Học viện Nông nghiệp Việt Nam

LÊ ANH TUẤN
Đại học Bách Khoa Hà Nội

TRẦN ĐĂNG HÒA
Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

NGUYỄN THANH PHƯƠNG
Trường Đại học Cần Thơ

BÙI HUY HIỀN
Hội Khoa học Đất Việt Nam

NGÔ XUÂN BÌNH
Ban Chủ nhiệm Chương trình công nghệ sinh học, Bộ Khoa học và Công nghệ

LÊ MẠNH HÙNG
Hội Khoa học và Kỹ thuật Thủy lợi thành phố Hồ Chí Minh

NGUYỄN VĂN CẢM
Hội Thú y Việt Nam

BÙI CHÍ BỬU
Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

TRẦN VĂN CHỨ
Trường Đại học Lâm nghiệp

PHẠM QUANG THU
Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

NGUYỄN DUY HOAN
Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên

NGUYỄN VĂN THANH
Học viện Nông nghiệp Việt Nam

LÊ ĐỨC NGOAN
Hiệp hội thức ăn chăn nuôi Việt Nam

ĐỖ KIM CHUNG
Học viện Nông nghiệp Việt Nam

TẠP CHÍ

NÔNG NGHIỆP & PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

ISSN 1859 - 4581

NĂM THỨ HAI MƯƠI BA

SỐ ĐẶC BIỆT
CHẤT LƯỢNG VÀ AN TOÀN THỰC PHẨM VÌ SỨC KHOẺ CỘNG ĐỒNG
Tập I - Tháng 6/2023

TỔNG BIÊN TẬP
TS. NGUYỄN THỊ THANH THỦY
ĐT: 024.37711070

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
TS. DƯƠNG THANH HẢI
ĐT: 024.38345457

TOÀ SOẠN - TRỊ SỰ
Số 10 Nguyễn Công Hoan
Quận Ba Đình - Hà Nội
ĐT: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchinongnghiep.vn

VĂN PHÒNG ĐẠI DIỆN TẠP CHÍ TẠI PHÍA NAM
135 Pasteur
Quận 3 - TP. Hồ Chí Minh
ĐT/Fax: 028.38274089

Giấy phép số:
114/GP - BTTTT
Bộ Thông tin và Truyền thông
cấp ngày 6 tháng 4 năm 2023

Chế bản tại Tạp chí Nông nghiệp và PTNT. In tại Công ty CP Khoa học và Công nghệ Hoàng Quốc Việt

Phát hành qua mạng lưới Bưu điện Việt Nam; mã ấn phẩm C138; Hotline 1800.585855

MỤC LỤC

- VÕ TẤN HẬU, HUỲNH QUỐC VIỆT, NGUYỄN THỊ THÀ. Ảnh hưởng các yếu tố công nghệ đến hiệu suất trích ly, polyphenol, flavonoid và hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của dịch trích trái vả (*Ficus auriculata*) sử dụng thiết kế nhân tố hai mức — 7-15
- TRẦN THỊ PHƯƠNG ANH, LÊ MỸ KIM VƯƠNG, TRẦN TUẤN HÙNG, PHẠM NGỌC HUỲNH KHA. Nghiên cứu bao gói tinh dầu bạc hà (*Mentha arvensis*) bằng *Beta - cyclodextrin* — 16-23
- ĐOÀN THỊ KIỀU TIÊN, LÊ THỊ HUYỀN TRÂN, HUỲNH THỊ NGỌC MI, HUỲNH XUÂN PHONG, NGUYỄN NGỌC THẠNH. Nghiên cứu quy trình chế biến mứt đông từ trái mãng cầu xiêm (*Annona muricata* L.) và chanh dây (*Passiflora edulis*) — 24-32
- TRẦN MINH PHÚC, NGUYỄN THỊ MAI XUÂN, NGUYỄN HOÀNG MINH YẾN, DƯƠNG THỊ PHƯƠNG LIÊN, HÀ THANH TOÀN. Nghiên cứu ảnh hưởng của dạng và tỷ lệ khoai lang tím bổ sung đến hàm lượng các chất chống oxy hoá của đậu hũ — 33-39
- LÊ MỸ KIM VƯƠNG, HOÀNG THỊ HUỆ AN, TRẦN THỊ PHƯƠNG ANH, TRẦN NGỌC LỆ, NGUYỄN THỊ MINH NGUYỆT, TRẦN VĂN HIẾU, NGUYỄN MINH ĐĂNG. Ảnh hưởng của các điều kiện phản ứng đến hiệu suất xà phòng hoá cao chiết lutein ester thu nhận từ hoa cúc vạn thọ (*Tagetes erecta* L.) — 40-49
- NGÔ ÁI QUỲNH, NGUYỄN THIÊN ÂN, LÊ NGỌC LIỄU. Đặc tính của màng bao ăn được làm từ chất nhầy hạt é (*Ocimum basilicum* L. var. Pilosum (Willd.) Benth) với các chất hoá dẻo khác nhau — 50-57
- NGUYỄN HOÀNG KHOA NGUYÊN, LÊ NGỌC LIỄU. Nghiên cứu ảnh hưởng của vi sóng và sóng siêu âm đến hàm lượng protein trích ly từ đậu đen xanh lòng và đậu đen thường (*Vigna cylindrica* (L). Skeels) — 58-66
- NGUYỄN TÂN THÀNH, LÊ THỊ MỸ CHÂU, NGUYỄN THỊ HUYỀN, HOÀNG THỊ THANH XUÂN, TRẦN ĐÌNH THẮNG. Nghiên cứu điều kiện chiết xuất siêu âm saponin triterpenoit tổng và polysaccharide từ rễ cây Cát sâm (*Millettia speciosa*) — 67-73
- LÊ XUÂN HẢO, NGUYỄN THỊ HỒNG HÀ, VŨ THU DIỄM, NGUYỄN TRỌNG UYÊN. Nghiên cứu công nghệ sản xuất bột giun từ dịch giun thuỷ phân — 74-81
- TRẦN VĂN VƯƠNG, THÁI VĂN ĐỨC. Nghiên cứu một số chủng vi khuẩn tác động tới chất lượng cảm quan cá ngừ sọc dưa bảo quản bằng oligochitin kết hợp với nước đá — 82-88
- NGUYỄN TẤN HÙNG, TRƯƠNG THỊ TÚ TRÂN, TRẦN THỊ NGỌC THƯ, PHAN THỊ NGỌC HẠNH. Ảnh hưởng của tác nhân tạo bọt glyxerol monostearate và điều kiện sấy đến chất lượng bột sơ ri (*Malpighia glabra* L.) — 89-97
- NGUYỄN THỊ TÂM THƯ, LÊ ANH TOÀN, NGUYỄN HOÀNG ANH, NGUYỄN HÀ TRUNG, PHẠM KIÊN CƯỜNG. Nghiên cứu quy trình sản xuất bò hầm sốt tiêu đen đóng túi retort — 98-103
- NGUYỄN NGỌC VƯƠNG, HUỲNH THỊ DIỄM THUÝ, NGÔ THỊ MINH PHƯƠNG. Nghiên cứu ứng dụng công nghệ cố định tế bào trong lên men rượu từ tỏi đen — 104-113
- LÂM KHẮC KỶ, TRẦN NGUYỄN PHÚC TRÂN, NGUYỄN NGỌC QUẾ CHÂU. Khảo sát thành phần hoá học và hoạt tính kháng oxy hoá của cao chiết từ vỏ lụa hạt ca cao và vỏ lụa hạt cà phê — 114-122
- ĐOÀN NHƯ KHUÊ, VÕ THỊ THÌN, NGUYỄN MINH TRUNG, NGUYỄN NHƯ THUẦN, NGUYỄN THỊ HƯƠNG, LÊ NHẤT TÂM, PHẠM MINH TUẤN. Sự biến đổi hàm lượng betacyanin trong quá trình chế biến, bảo quản rau quả và các biện pháp kỹ thuật hạn chế phân huỷ betacyanin — 123-131

Số Tạp chí xuất bản phục vụ Hội nghị Khoa học công nghệ Thực phẩm toàn quốc 2023

TẠP CHÍ

NÔNG NGHIỆP & PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

ISSN 1859 - 4581

NĂM THỨ HAI MƯƠI BA

SỐ ĐẶC BIỆT
CHẤT LƯỢNG VÀ AN TOÀN THỰC PHẨM VÌ SỨC KHOẺ CỘNG ĐỒNG
Tập I - Tháng 6/2023

TỔNG BIÊN TẬP
TS. NGUYỄN THỊ THANH THỦY
ĐT: 024.37711070

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
TS. DƯƠNG THANH HẢI
ĐT: 024.38345457

TOÀ SOẠN - TRỊ SỰ
Số 10 Nguyễn Công Hoan
Quận Ba Đình - Hà Nội
ĐT: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchinongnghiep.vn

VĂN PHÒNG ĐẠI DIỆN TẠP CHÍ TẠI PHÍA NAM
135 Pasteur
Quận 3 - TP. Hồ Chí Minh
ĐT/Fax: 028.38274089

Giấy phép số:
114/GP - BTTTT
Bộ Thông tin và Truyền thông
cấp ngày 6 tháng 4 năm 2023

Chế bản tại Tạp chí Nông nghiệp và PTNT. In tại Công ty CP Khoa học và Công nghệ Hoàng Quốc Việt

Phát hành qua mạng lưới Bưu điện Việt Nam; mã ấn phẩm C138; Hotline 1800.585855

- HOÀNG VĂN THẢNH, NGUYỄN XUÂN HOÀN, PHẠM VĂN HÙNG. Ảnh hưởng của điều kiện trích ly đến hàm lượng polyphenol và catechin từ vỏ lụa hạt điều bằng vi sóng kết hợp với enzym Viscozyme L. 132-138
- TRẦN XUÂN HIỂN, LÊ THỊ THUÝ HẰNG. Ảnh hưởng của quá trình trích ly đến hàm lượng polyphenol tổng và khả năng kháng oxy hoá của dịch trích ly từ trái Lê - ki - ma (*Pouteria campechiana*) 139-146
- NGÔ THỊ TƯỜNG CHÂU, PHAN THỊ THẢO LY, NGUYỄN THỊ TÚ LỆ, LÊ VĂN THIỆN. Phân lập, tuyển chọn và nuôi cấy chủng vi khuẩn lactic đối kháng với chủng nấm mốc gây thối hỏng quả dâu tây 147-155
- ĐỖ THỊ THANH HUYỀN, NGUYỄN MẠNH ĐẠT, CHU THẮNG, NGUYỄN THỊ HỒNG LĨNH, NGUYỄN THỊ THU, NGUYỄN VĂN SƠN. Ảnh hưởng của phương pháp xử lý tới quá trình lưu giữ Fructooligosacaride trong củ hoàng sin cô sau thu hoạch 156-164
- BÙI THỊ HỒNG PHƯƠNG, NGUYỄN MẠNH ĐẠT, NGUYỄN THỊ HOÀI TRÂM, ĐỖ THỊ THUỶ LÊ, BÙI THỊ THUÝ HÀ. Sử dụng tinh bột khoai lang làm chất kết dính cho các sản phẩm xúc xích từ thịt 165-171
- HỒ TUẤN ANH, BÙI THỊ HƯƠNG GIANG, NGÔ THU THUỶ, VŨ VĂN HẠNH. Phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp chất kháng khuẩn từ tôm nước mặn vùng biển Nam Định 172-179
- NGUYỄN THỊ MỸ DUYÊN, VŨ THỊ THANH ĐÀO, DIỆP NHỰT THANH HẰNG, NGUYỄN NGỌC TRÂM. Đánh giá phẩm chất trái của một số giống xoài (*Mangifera indica* L.) trồng phổ biến tại tỉnh An Giang 180-189
- DƯƠNG THỊ CẨM NHUNG, NGÔ HÙNG VŨ, NGUYỄN THỊ CẨM TIÊN, NGUYỄN VĂN PHONG. Hiệu quả phun trước thu hoạch với canxi clorua và axit salixilic đến chất lượng và tổn thương lạnh của thanh long ruột đỏ (LĐ1) trong quá trình trữ ở nhiệt độ thấp 190-198
- ĐÀO VĂN HUY, MAI THỊ THUỲ LINH, LÊ VĂN THIỆN, NGÔ THỊ TƯỜNG CHÂU. Nghiên cứu sản xuất laccase từ nấm mốc và thử nghiệm ứng dụng trong phân huỷ hoá chất bảo vệ thực vật 199-206
- ĐẶNG HỒNG ÁNH, NGUYỄN THU VÂN, PHẠM THỊ THU, GIANG THẾ VIỆT, VŨ ĐỨC CHIẾN. Nghiên cứu nâng cao chất lượng bánh men lá để ứng dụng trong sản xuất rượu ngô Hà Giang 207-214
- ĐẶNG THỊ THANH QUYÊN, ĐỖ THỊ KIM LOAN. Nghiên cứu sự biến đổi một số thành phần hoá học của lá trà Thạch châu (*Pyrenaria jonquieriana* Pierre) trồng tại tỉnh Lâm Đồng theo mức sinh trưởng và thời vụ thu hoạch 215-223
- TRẦN PHƯƠNG CHI, LÊ THẾ TÂM, NGUYỄN TÂN THÀNH, HOÀNG THỊ LỆ HẰNG, NGUYỄN NGỌC TUẤN, TRẦN THANH LƯU, TRẦN ĐÌNH THẮNG. Ảnh hưởng của các phương pháp tiền xử lý đến chất lượng hành đen 224-232
- ĐỖ VIẾT PHƯƠNG, NGUYỄN HUỲNH ĐÌNH THUẤN, PHẠM THỊ QUYÊN. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự giảm khối lượng của quả dứa (*Ananas comosus* L.) theo thời gian thương mại 233-239
- NGUYỄN DUY TÂN, VÕ THỊ XUÂN TUYỀN, TRẦN NGHĨA KHANG, ĐỐNG THỊ ANH ĐÀO. Ảnh hưởng của tỷ lệ nhãn lồng/tim sen và tỷ lệ nước/nguyên liệu trích ly đến thành phần chống oxy hoá, thông số màu sắc và giá trị cảm quan của sản phẩm 240-250
- LÊ VĂN NHẤT HOÀI, LÊ PHẠM TẤN QUỐC, ĐÀM SAO MAI, LÊ TRUNG THIÊN. Nghiên cứu trích ly polyphenol có hỗ trợ siêu âm từ húng lũi (*Mentha aquatica* Linn. *var. crispa*) 251-258

TẠP CHÍ

NÔNG NGHIỆP & PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

ISSN 1859 - 4581

NĂM THỨ HAI MƯƠI BA

SỐ ĐẶC BIỆT
CHẤT LƯỢNG VÀ AN TOÀN THỰC PHẨM VÌ SỨC KHOẺ CỘNG ĐỒNG
Tập I - Tháng 6/2023

TỔNG BIÊN TẬP
TS. NGUYỄN THỊ THANH THỦY
ĐT: 024.37711070

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
TS. DƯƠNG THANH HẢI
ĐT: 024.38345457

TOÀ SOẠN - TRỊ SỰ
Số 10 Nguyễn Công Hoan
Quận Ba Đình - Hà Nội
ĐT: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchinongnghiep.vn

VĂN PHÒNG ĐẠI DIỆN TẠP CHÍ TẠI PHÍA NAM
135 Pasteur
Quận 3 - TP. Hồ Chí Minh
ĐT/Fax: 028.38274089

Giấy phép số:
114/GP - BTTTT
Bộ Thông tin và Truyền thông cấp ngày 6 tháng 4 năm 2023

Chế bản tại Tạp chí Nông nghiệp và PTNT. In tại Công ty CP Khoa học và Công nghệ Hoàng Quốc Việt

Phát hành qua mạng lưới Bưu điện Việt Nam; mã ấn phẩm C138; Hotline 1800.585855

- DƯƠNG THỊ PHƯỢNG LIÊN, TRẦN THU NGÂN, NGUYỄN THỊ THU THUỶ, VÕ THỊ DIỆU. Ảnh hưởng của độ chín và vùng trồng đến đặc tính vật lý và cảm quan của mít Thái tỉnh Hậu Giang 259-270
- PHẠM THỊ BÌNH, NGUYỄN VĂN LỢI, NGUYỄN DUY LÂM. Nghiên cứu các thông số công nghệ của quá trình khử màu dịch thuỷ phân pyrodextrin trong sản xuất maltodextrin kháng tiêu hoá từ tinh bột gạo 271-279
- NGÔ TRẦN THUÝ VY, NGUYỄN LÊ THU THUỶ, HUỲNH THỊ ÁNH SÁNG, TRẦN HỒNG ANH, DƯƠNG THỊ CẨM THOA, NGUYỄN THỊ THUỲ DƯƠNG. Ảnh hưởng của thông số trích ly và thành phần dịch trích muối ít natri từ mai mực 280-286
- NGUYỄN VĂN HUẾ. Ảnh hưởng của các điều kiện trích ly đến hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số của lá sen và củ sen trắng (*Nelumbo nucifera* Gaernt.) trồng ở Thừa Thiên Huế 287-296
- NGUYỄN CÔNG HÀ, NGUYỄN THỊ LỆ NGỌC, CHÂU MỸ PHƯƠNG. Nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình luộc và rang đến chất lượng hạt đậu phộng (*Arachis hypogaea* L.) tách vỏ 297-305
- NGUYỄN VĂN MƯỜI, TRẦN THANH TRÚC, TRẦN BẠCH LONG. Ảnh hưởng của nồng độ cao chiết lá trầu không đến chất lượng bưởi Năm roi trong quá trình bảo quản 306-314
- TRẦN LIÊN HÀ, NGUYỄN THU HÀ, NGUYỄN VĂN CÁCH. Tối ưu điều kiện lên men và thu nhận chất kìm hãm α-glucosidase từ chủng *Bacillus subtilis* TH2 và đậu tương 315-324
- PHAN THỊ THANH HÀ, NGUYỄN MINH ANH, NGUYỄN VĂN ĐỨC, LÊ PHẤN DƯƠNG, TRƯƠNG TUYẾT MAI, LÊ QUANG HOÀ. Nghiên cứu tối ưu quy trình Real-time RT-PCR phát hiện vi rút viêm gan E trong ngao dầu 325-334
- NGUYỄN MINH TRUNG, BÙI THỊ BÍCH HUYÊN, MAI QUỐC QUÂN, HUỲNH NGỌC PHƯƠNG DUNG, NGUYỄN NGỌC HÀ GIANG, LÊ THỊ THUỲ, NGUYỄN QUANG VINH. Khả năng hạ đường huyết, kháng oxy hoá, kháng khuẩn của cao chiết phân đoạn n-Butanol từ vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ (*Syzygium zeylanicum* L.) 335-343
- LÊ THỊ MINH THUỶ, TRƯƠNG THỊ MỘNG THU, TRẦN THANH TRÚC. Sản xuất sản phẩm protein thuỷ phân từ da cá hồi (*Salmo salar*) bằng enzyme alcalase 344-352
- PHẠM THỊ PHƯƠNG LIÊN, CUNG THỊ TỐ QUỲNH. Sự biến đổi chất lượng của củ cải trắng khi bảo quản bằng màng greenmap trên tàu hải quân 353-360
- VÕ MINH TRUNG, NGUYỄN THỊ HẢI YẾN, PHẠM MINH DUY, HÀ ANH TUẤN, NGUYỄN PHƯƠNG TUYỀN, NGUYỄN VĂN HẢI, NGUYỄN QUỲNH DAO, TRẦN QUANG HIẾU. Nghiên cứu điều chế hệ nano nhũ tương kép chứa betalain từ dịch chiết củ dền bằng phương pháp đồng hoá 361-370
- VŨ THỊ KIỀU OANH, TRẦN THỊ VÂN ANH, PHẠM THU HÀ, VI THỊ THANH HIỀN, LÊ THANH HÀ. Đặc tính chitinaza từ vi khuẩn *Vibrio proteolyticus* BO2 và tiềm năng ứng dụng trong thuỷ phân chitin 371-379
- NGUYỄN ĐỨC TIẾN, NGUYỄN TRỌNG DUY, NGUYỄN THỊ HUYỀN. Ảnh hưởng của một số yếu tố tới khả năng chiết xuất erinacine A từ nấm bờm sư tử (*Hericium erinaceus*) bằng phương pháp chiết có hỗ trợ sóng siêu âm 380-389
- NGUYỄN THỊ PHƯƠNG LINH, NGUYỄN THỊ THUÝ HỒNG, NHAN MINH TRÍ. Nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình nướng đến chất lượng bánh quy bổ sung khoai môn 390-398

VIETNAM JOURNAL OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT
ISSN 1859 - 4581

THE TWENTY THIRD YEAR

Editor-in-Chief
Dr. NGUYEN THI THANH THUY
Tel: 024.37711070

Deputy Editor-in-Chief
Dr. DUONG THANH HAI
Tel: 024.38345457

Head-office
No 10 Nguyenconghoan
Badinh - Hanoi - Vietnam
Tel: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchinongnghiep.vn

Representative Office
135 Pasteur
Dist 3 - Hochiminh City
Tel/Fax: 028.38274089

Printing in Hoang Quoc Viet
technology and science
joint stock company

CONTENTS

- VO TAN HAU, HUYNH QUOC VIET, NGUYEN THI THA. Effects of technological factors on extraction yield, polyphenols, flavonoids and DPPH free radical scavenging activity of *Ficus auriculata* fruit extract using two level factorial design — 7-15
- TRAN THI PHUONG ANH, LE MY KIM VUONG, TRAN TUAN HUNG, PHAM NGOC HUYNH KHA. Microencapsulation of peppermint *(Mentha arvensis)* essential oil using *Beta*-cyclodextrin — 16-23
- DOAN THI KIEU TIEN, LE THI HUYEN TRAN, HUYNH THI NGOC MI, HUYNH XUAN PHONG, NGUYEN NGOC THANH. A combination of soursop (*Annona muricata* L.) and passion juice (*Passiflora edulis*) in jam-making process — 24-32
- TRAN MINH PHUC, NGUYEN THI MAI XUAN, NGUYEN HOANG MINH YEN, DUONG THI PHUONG LIEN, HA THANH TOAN. Effects of types and purple sweet potato ratios on antioxidant activities of purple tofu — 33-39
- LE MY KIM VUONG, HOANG THI HUE AN, TRAN THI PHUONG ANH, TRAN NGOC LE, NGUYEN THI MINH NGUYET, TRAN VAN HIEU, NGUYEN MINH DANG. Effects of reactive conditions on saponification performance lutein ester extract from marigold flowers (*Tagetes erecta* L.) — 40-49
- NGO AI QUYNH, NGUYEN THIEN AN, LE NGOC LIEU. Characterization of edible films made from basil (*Ocimum basilicum* L. var. Pilosum (Willd.) Benth) seed gum with different plasticizers — 50-57
- NGUYEN HOANG KHOA NGUYEN, LE NGOC LIEU. Effects of microwave-and ultrasound-assisted extraction conditions on the protein content from green and white kernel black beans (*Vigna cylindrica* (L.). Skeels) — 58-66
- NGUYEN TAN THANH, LE THI MY CHAU, NGUYEN THI HUYEN, HOANG THI THANH XUAN, TRAN DINH THANG. Study of ultrasonic extraction the total saponin triterpenoid and polysaccharide from roots of *Millettia speciosa* — 67-73
- LE XUAN HAO, NGUYEN THI HONG HA, VU THU DIEM, NGUYEN TRONG UYEN. A study on manufacture tecnology in producing earthworm powder from earthworm hydrolysate — 74-81
- TRAN VAN VUONG, THAI VAN DUC. Research on some bacteriophage strains that affect the sensory quality of striped tuna preserved by oligochitin combined with ice — 82-88
- NGUYEN TAN HUNG, TRUONG THI TU TRAN, TRAN THI NGOC THU, PHAN THI NGOC HANH. Effect of foaming agent glycerol monostearate and drying conditions on quality of foam mat dried acerola (*Malpighia glabra* L.) powder — 89-97
- NGUYEN THI TAM THU, LE ANH TOAN, NGUYEN HOANG ANH, NGUYEN HA TRUNG, PHAM KIEN CUONG. Research on the producing of beef stew with black pepper in retort bag — 98-103
- NGUYEN NGOC VUONG, HUYNH THI DIEM THUY, NGO THI MINH PHUONG. Research on application of cell fixation technology in fermenting wine from black garlic — 104-113
- LAM KHAC KY, TRAN NGUYEN PHUC TRAN, NGUYEN NGOC QUE CHAU. Investigation of chemical composition and antioxidant activity from extracts of cocoa bean silk shells and coffee bean silk shells — 114-122
- DOAN NHU KHUE, VO THI THIN, NGUYEN MINH TRUNG, NGUYEN NHU THUAN, NGUYEN THI HUONG, LE NHAT TAM, PHAM MINH TUAN. Changes of betacyanin content in fruit and vegetables during processing and storage-technical measures to prevent betacyanin degradation — 123-131

VIETNAM JOURNAL OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT
ISSN 1859 - 4581

THE TWENTY THIRD YEAR

Editor-in-Chief
Dr. NGUYEN THI THANH THUY
Tel: 024.37711070

Deputy Editor-in-Chief
Dr. DUONG THANH HAI
Tel: 024.38345457

Head-office
No 10 Nguyenconghoan
Badinh - Hanoi - Vietnam
Tel: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchinongnghiep.vn

Representative Office
135 Pasteur
Dist 3 - Hochiminh City
Tel/Fax: 028.38274089

Printing in Hoang Quoc Viet
technology and science
joint stock company

- HOANG VAN THANH, NGUYEN XUAN HOAN, PHAM VAN HUNG. Effects of conditions of extraction polyphenol, catechin from cashew nut testa by microwaves and microwaves combination with enzyme Viscozyme L. 132-138
- TRAN XUAN HIEN, LE THI THUY HANG. Effects of extraction on total polyphenol contents and antioxidant activity of *Pouteria campechiana* fruit extract 139-146
- NGO THI TUONG CHAU, PHAN THI THAO LY, NGUYEN THI TU LE, LE VAN THIEN. Isolation, selection and culture of lactic acid bacterium antagonistic to postharvest pathogenic fungus in strawberries 147-155
- DO THI THANH HUYEN, NGUYEN MANH DAT, CHU THANG, NGUYEN THI HONG LINH, NGUYEN THI THU, NGUYEN VAN SON. Effects of treatment methods on storage of fructooligosacaride from yacon roots after harvest 156-164
- BUI THI HONG PHUONG, NGUYEN MANH DAT, NGUYEN THI HOAI TRAM, DO THI THUY LE, BUI THI THUY HA. Application of starch sweet potato as binder to sausage products from meat 165-171
- HO TUAN ANH, BUI THI HUONG GIANG, NGO THU THUY, VU VAN HANH. Isolation and selection of microbial strains capable to biosynthesize antimicrobial compounds from saltwater shrimps in Nam Dinh province 172-179
- NGUYEN THI MY DUYEN, VU THI THANH DAO, DIEP NHUT THANH HANG, NGUYEN NGOC TRAM. Survey on fruits quality of some varieties of mango (*Mangifera indica* L.) in An Giang province 180-189
- DUONG THI CAM NHUNG, NGO HUNG VU, NGUYEN THI CAM TIEN, NGUYEN VAN PHONG. Efficacy of preharvest spraying of calcium chloride and salicylic acid on quality and chilling injury of red-fleshed dragon fruit (LĐ1) during low temperature storage 190-198
- DAO VAN HUY, MAI THI THUY LINH, LE VAN THIEN, NGO THI TUONG CHAU. Production of fungal laccase and its application in biodegradation of pesticides 199-206
- DANG HONG ANH, NGUYEN THU VAN, PHAM THI THU, GIANG THE VIET, VU DUC CHIEN. Study on improving the quality of *Banh men la* to apply into Ha Giang corn spirit production 207-214
- DANG THI THANH QUYEN, DO THI KIM LOAN. Research on change of some chemical compositions of *Pyrenaria jonquieriana* Pierre grown in Lam Dong province based on growth rate and harvest 215-223
- TRAN PHUONG CHI, LE THE TAM, NGUYEN TAN THANH, HOANG THI LE HANG, NGUYEN NGOC TUAN, TRAN THANH LUU, TRAN DINH THANG. Effect of different pretreatments on black shallot quality 224-232
- DO VIET PHUONG, NGUYEN HUYNH DINH THUAN, PHAM THI QUYEN. Factors afecting the weight loss of pineapple (*Ananas comosus* L.) over commercial time 233-239
- NGUYEN DUY TAN, VO THI XUAN TUYEN, TRAN NGHIA KHANG, DONG THI ANH DAO. Effect of *Passiflora foetida/Embryo nelumbinis* ratio and water/extracted material ratio on antioxidant components, color parameters and sensory value of product 240-250
- LE VAN NHAT HOAI, LE PHAM TAN QUOC, DAM SAO MAI, LE TRUNG THIEN. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from *Mentha aquatica* Linn. *var. crispa* 251-258

VIETNAM JOURNAL OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT
ISSN 1859 - 4581

THE TWENTY THIRD YEAR

Editor-in-Chief
Dr. NGUYEN THI THANH THUY
Tel: 024.37711070

Deputy Editor-in-Chief
Dr. DUONG THANH HAI
Tel: 024.38345457

Head-office
No 10 Nguyenconghoan
Badinh - Hanoi - Vietnam
Tel: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchinongnghiep.vn

Representative Office
135 Pasteur
Dist 3 - Hochiminh City
Tel/Fax: 028.38274089

License No.114/GP - BTTTT issued by the Ministry of Information and Communication on April 6, 2023

Printing in Hoang Quoc Viet technology and science joint stock company

- DUONG THI PHUONG LIEN, TRAN THU NGAN, NGUYEN THI THU THUY, VO THI DIEU. Effect of fruit maturity and growing areas on physical and sensory characteristics of Thai jackfruit in Hau Giang province 259-270
- PHAM THI BINH, NGUYEN VAN LOI, NGUYEN DUY LAM. Study on technological parameters of enzyme hydrolyzed pyrodextrin decolorization for resistant maltodextrin production from rice starch 271-279
- NGO TRAN THUY VY, NGUYEN LE THU THUY, HUYNH THI ANH SANG, TRAN HONG ANH, DUONG THI CAM THOA, NGUYEN THI THUY DUONG. Extraction and salt content of aqueous extract from cuttlefish bone 280-286
- NGUYEN VAN HUE. Effect of extraction conditions on total phenolic and flavonoid content of white lotus leaves and roots (*Nelumbo nucifera* Gaernt.) cultivated in Thua Thien Hue 287-296
- NGUYEN CONG HA, NGUYEN THI LE NGOC, CHAU MY PHUONG. The study on effect of roasting and boiling process on quality of peanut (*Arachis hypogaea* L.) separated peanut seeds 297-305
- NGUYEN VAN MUOI, TRAN THANH TRUC, TRAN BACH LONG. Effects of betel leaf concentration to changes in quality of Nam Roi pomelo in storage 306-314
- TRAN LIEN HA, NGUYEN THU HA, NGUYEN VAN CACH. Optimization conditions and obtain of α-glucosidase production from *Bacillus subtilis* TH2 and soybean 315-324
- PHAN THI THANH HA, NGUYEN MINH ANH, NGUYEN VAN DUC, LE PHAN DUONG, TRUONG TUYET MAI, LE QUANG HOA. Optimization of Real-time RT-PCR assay for detection of hepatitis E virus in asiatic hard clam 325-334
- NGUYEN MINH TRUNG, BUI THI BICH HUYEN, MAI QUOC QUAN, HUYNH NGOC PHUONG DUNG, NGUYEN NGOC HA GIANG, LE THI THUY, NGUYEN QUANG VINH. The hypoglycemic capacity, *in vivo* antioxidant, anti-bacteria activities of n-Butanol fraction from the trunk - bark of *Syzygium zeylanicum* L. 335-343
- LE THI MINH THUY, TRUONG THI MONG THU, TRAN THANH TRUC. Production of protein hydrolysate product from salmon *(Salmo salar)* skin by enzyme alcalase 344-352
- PHAM THI PHUONG LIEN, CUNG THI TO QUYNH. Changes in some quality index of white radish wrapped by green map film during storage on the navy ship 353-360
- VO MINH TRUNG, NGUYEN THI HAI YEN, PHAM MINH DUY, HA ANH TUAN, NGUYEN PHUONG TUYEN, NGUYEN VAN HAI, NGUYEN QUYNH DAO, TRAN QUANG HIEU. Study on preparation of the W/O/W nanoemulsion containing betalain from red beetroot extract by the homogenization method 361-370
- VU THI KIEU OANH, TRAN THI VAN ANH, PHAM THU HA, VI THI THANH HIEN, LE THANH HA. Characterisation of chitinase from *Vibrio proteolyticus* BO2 and its applications in chitin hydrolysis 371-379
- NGUYEN DUC TIEN, NGUYEN TRONG DUY, NGUYEN THI HUYEN. Influence of some factors on the ability to extract erinacine a from lion's mane mushroom fruit body (*Hericium erinaceus*) by ultrasonic wave-assisted extraction method 380-389
- NGUYEN THI PHUONG LINH, NGUYEN THI THUY HONG, NHAN MINH TRI. Studying effects of baking on quality of biscuit added with taro paste 390-398

ẢNH HƯỞNG CÁC YẾU TỐ CÔNG NGHỆ ĐẾN HIỆU SUẤT TRÍCH LY POLYPHENOL, FLAVONOID VÀ HOẠT TÍNH BẮT GỐC TỰ DO DPPH CỦA DỊCH TRÍCH TRÁI VẢ (*Ficus auriculata*) SỬ DỤNG THIẾT KẾ NHÂN TỐ HAI MỨC

Võ Tấn Hậu[1,*], Huỳnh Quốc Việt[1], Nguyễn Thị Thà[1]

TÓM TẮT

Polyphenol là các hợp chất phenol tự nhiên, hiện nay nhận được nhiều sự quan tâm của các nhà nghiên cứu và người tiêu dùng do vai trò phòng chống các bệnh thoái hóa. Cây vả (*Ficus auriculata* Lour.) là loài cây đặc hữu ở Việt Nam với điểm đặc trưng có lá và quả to hơn sung cũng như trái rất ít khi chín. Sử dụng thiết kế nhân tố 2 mức để nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố độc lập gồm: Nồng độ ethanol (20 - 90%), tỷ lệ lỏng - rắn (10 - 20 ml/g), pH dung môi trích (3 - 7), nhiệt độ (30 - 700 ^{0}C) và thời gian trích ly (60 - 240 phút) đến các yêu cầu: Hiệu suất trích ly, hiệu suất thu hồi polyphenol và flavonoid cũng như khả năng bắt gốc tự do DPPH của dịch trích ly được. Trong các yếu tố nghiên cứu, nồng độ ethanol là yếu tố tác động chính (p = 0,0002) trong quá trình trích ly polyphenol từ trái vả để đạt hiệu suất thu hồi polyphenol và flavonoid cũng như khả năng bắt gốc tự do DPPH cao. Yếu tố nhiệt độ và thời gian gần như không có tác động. Từ các kết quả này, các nhân tố và vùng thực nghiệm cũng có thể được lựa chọn gồm: Nồng độ ethanol (55 - 90%), tỷ lệ lỏng - rắn (10 - 20 ml/g) và pH dung môi trích (4 - 6) để thực hiện tối ưu hóa quá trình trích ly polyphenol và flavonoid từ trái vả.

Từ khóa: *DPPH, flavonoid, polyphenol, thiết kế nhân tố, trái vả.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Polyphenol hay còn gọi là các hợp chất phenol tự nhiên là nhóm các hợp chất trao đổi thứ cấp có cấu trúc khá đa dạng hiện diện rất phổ biến trong các loài thực vật, đặc biệt là các loại rau quả và là thành phần tích hợp trong chế độ ăn của con người [1-3]. Ngày nay nhóm hợp chất này đã và đang được xem là đối tượng quan tâm của các nhà nghiên cứu và người tiêu dùng bởi một số vai trò của nhóm hợp chất này với sức khỏe con người [4-6].

Hiện nay, các chế phẩm polyphenol trích ly từ nguồn nguyên liệu thực vật đã trở nên phổ biến trong công thức phát triển các sản phẩm thực phẩm chức năng, mỹ phẩm cũng như sử dụng làm phụ gia chế biến các sản phẩm thực phẩm từ thịt và thủy sản [7-11] nhờ hoạt tính kháng oxy hóa, nâng cao hệ miễn dịch cùng những chức năng khác (phòng ngừa bệnh thoái hóa thần kinh, bệnh tim mạch. Theo nghiên cứu của Adebooye và cs (2018) [12], khối lượng polyphenol chiết xuất công nghiệp vào năm 2015 đạt 16,380 tấn và ước tính tăng đến 33,880 tấn vào năm 2024 với giá trị khoảng 1,33 tỷ USD.

Cây vả (*Ficus auriculata* Lour) hay còn gọi là sung tai voi hay sung lá rộng thuộc họ Dâu tằm (Moraceae) là loài cây đặc hữu ở Việt Nam cũng như vùng Đông Nam Á với điểm đặc trưng có lá và quả to hơn sung, phân bố nhiều ở một số nước như: Myanmar, Pakistan, Bhutan, Nepal, Thái Lan, Việt Nam và Ấn Độ [13]. Ở Việt Nam, cây vả mọc tự nhiên cũng như được trồng nhiều ở tỉnh Thừa Thiên Huế, đặc biệt là giống vả đỏ với sản lượng ước tính khoảng 100 tấn trái tươi mỗi năm với giá bán khá rẻ. Theo Puangpradab và cs (2018) [14], Shahinuzzaman và cs (2021) [15], trái vả là nguồn giàu các hợp chất polyphenol; các hợp chất polyphenol là cơ sở hoạt tính kháng oxy hóa,

[1] Phòng Chế biến và Bảo quản Nông sản Thực phẩm, Phân viện Công nghiệp Thực phẩm tại thành phố Hồ Chí Minh
[*]Email: hauvt@firi.vn

kháng khuẩn và hoạt tính bảo vệ gan [16 - 19] của dịch trích trái vả trong các nghiên cứu *in vitro*.

Quá trình trích ly là sự rút chất hoà tan có trong chất lỏng hoặc chất rắn bằng một chất hoà tan khác (gọi là dung môi) nhờ quá trình khuếch tán của các chất có nồng độ khác nhau giữa 2 pha. Đây là công đoạn quan trọng nhất trong quá trình thu hồi và tinh chế các hợp chất có hoạt tính sinh học nói chung và các polyphenol nói riêng từ nguồn nguyên liệu thực vật và quá trình này chịu sự tác động của nhiều yếu tố công nghệ (các tham số trích ly).

Do vậy, nghiên cứu tác động của các yếu tố công nghệ gồm nồng độ ethanol, tỷ lệ lỏng - rắn, pH dung môi trích, nhiệt độ và thời gian trích đến hiệu suất trích ly, hiệu suất thu hồi polyphenol tổng và flavonoid tổng cũng như khả năng bắt gốc tự do DPPH của dịch trích trái vả sử dụng thiết kế nhân tố hai mức bán phần nhằm sàng lọc các yếu tố tác động chính cũng như lựa chọn và xác định vùng thực nghiệm để thực hiện tối ưu hóa quá trình trích ly sau này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Trái vả tươi (trái già được thu hái theo kinh nghiệm của người trồng) có nguồn gốc từ huyện Phú Lộc, tỉnh Thừa Thiên Huế được mua từ Công ty TNHH Sản xuất Thương mại và Dịch vụ Lộc Mai. Mẫu sau nhận về phòng thí nghiệm được rửa sạch, gọt bỏ phần không ăn được (cuống và phần hư hỏng do va đập vật lý) rồi để ráo nước khoảng 1 giờ. Cắt trái vả thành những lát mỏng có độ dày 2 - 2,5 mm rồi ngâm trong axit xitric 1,5% trong 20 phút, sau đó chần ở nhiệt độ 85 - 90°C trong 20 phút rồi sấy ở nhiệt độ 75°C trong 5,5 giờ. Nghiền nguyên liệu sau sấy thành bột qua ray 1 - 2 mm, lưu trữ mẫu trong lọ thủy tinh tối màu có nắp. Bột trái vả thu được có độ ẩm 5,5%, hàm lượng polyphenol tổng đạt 18,5 mg GAE/g nguyên liệu khô và flavonoid tổng đạt 19,1 mg CE/g nguyên liệu khô.

Các hóa chất sử dụng: Axit xitric, $NaNO_2$, $AlCl_3$, Na_2CO_3, thuốc thử Folin Ciocalteu, axit gallic, catechin, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazy) mua từ Công ty Sigma-Aldrich và Sharlau. Dung môi dùng phân tích: Ethanol, methanol, aceton là dung môi dùng cho sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) mua từ Công ty Sharlau. Dung môi dùng nghiên cứu trích ly: Ethanol thực phẩm 96 độ cồn, Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Trích ly

Thủ tục trích ly thực hiện dựa trên cơ sở thiết kế nhân tố hai mức với 5 yếu tố gồm nồng độ ethanol (X_1; %), tỷ lệ lỏng - rắn (X_2; ml/g), pH dung môi trích (X_3), nhiệt độ (X_4; °C) và thời gian trích (X_5; phút) sử dụng 2 mức tại mỗi yếu tố (mức cao và mức thấp) như trong bảng 1.

Bảng 1. Các mức yếu tố sử dụng trong thiết kế nhân tố hai mức

Yếu tố	Ký hiệu	Mức yếu tố	
		Thấp (-)	Cao (+)
Nồng độ ethanol (%)	X_1	20	90
Tỷ lệ lỏng - rắn (ml/g)	X_2	10	20
pH	X_3	3	7
Nhiệt độ (°C)	X_4	30	70
Thời gian trích (giờ)	X_5	60	240

Cho 10 g bột trái vả khô vào bình cầu đáy tròn dung tích 500 ml. Tiếp theo cho lượng dung môi trích ly đã đều chỉnh pH vào rồi tiến hành trích ly theo phương pháp trích nóng. Các giá trị nồng độ ethanol (%), tỷ lệ lỏng rắn (ml/g), pH dung môi trích, nhiệt độ (°C) và thời gian trích ly (phút) tại mỗi điểm thí nghiệm theo như bảng 2. Sau khi mỗi thí nghiệm kết thúc, hỗn hợp trích ly sẽ được lọc để tách bã rắn và dịch qua lọc thu được sẽ tiến hành phân tích và tính các giá trị đáp ứng. Hiệu suất trích ly (Y_1), hiệu suất thu hồi polyphenol tổng (Y_2) và hiệu suất thu hồi flavonoid tổng (Y_3) được tính theo các phương trình sau:

$$Y_1 = \frac{\text{Gram chất khô sau trích ly}}{\text{Gram nguyên liệu ban đầu}} \quad (1)$$

$$Y_2 = \frac{\text{Polyphenol tổng sau trích ly}}{\text{Polyphenol tổng trong nguyên liệu}} \quad (2) \qquad Y_3 = \frac{\text{Flavonoid tổng sau trích ly}}{\text{Flavonoid tổng trong nguyên liệu}} \quad (3)$$

Bảng 2. Ma trận thực nghiệm và đáp ứng theo thiết kế nhân tố bán phần hai mức

Thí nghiệm	Yếu tố					Đáp ứng			
	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4
1	20	10	7	70	240	4,05	38,41	38,57	64,83
2	90	20	7	30	60	6,25	79,91	55,14	75,21
3	90	10	7	30	240	6,75	74,01	55,79	75,39
4	20	10	7	30	60	6,95	35,05	30,4	50,97
5	20	10	3	70	60	8,05	40,51	39,17	62,44
6	90	10	3	30	60	8,35	78,56	58,66	78,40
7	20	10	3	30	240	8,50	39,42	32,07	61,84
8	90	20	3	30	240	9,15	80,18	65,47	80,23
9[a]	55	15	5	50	150	10,10	70,32	45,00	69,41
10[a]	55	15	5	50	150	10,30	71,95	46,68	67,41
11[a]	55	15	5	50	150	10,40	70,10	46,98	66,63
12	90	20	3	70	60	10,55	86,77	72,12	85,51
13	90	10	7	70	60	10,95	80,73	58,07	81,33
14	20	20	3	30	60	11,95	49,71	41,18	60,83
15	20	20	7	70	60	12,20	54,47	40,21	68,03
16	20	20	7	30	240	12,30	47,70	41,97	65,58
17	90	20	7	70	240	13,95	82,27	69,92	98,53
18	90	10	3	70	240	14,25	81,59	57,00	93,21
19	20	20	3	70	240	14,30	59,85	42,06	68,60

Ghi chú: X_1 là nồng độ ethanol (%); X_2 là tỷ lệ lỏng rắn (v/w); X_3 là pH; X_4 là nhiệt độ (^oC); X_5 là thời gian (phút); Y_1 là hiệu suất trích (%); Y_2 là hiệu suất thu hồi polyphenol tổng (%); Y_3 là hiệu suất thu hồi flavonoid tổng (%); Y_4 là khả năng bắt gốc tự do DPPH (%); [a] Điểm trung tâm

2.2.2. Xác định hàm lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol tổng trong dịch trích trái vả được ước tính theo phương pháp đo màu với thuốc thử Folin - Ciocalteu [14] có sự điều chỉnh. Lấy 1 ml dịch trích trái vả sau ly tâm vào ống nghiệm, cho tiếp 5 ml thuốc thử Folin - Ciocalteu 0,2 M vào rồi lắc mạnh. Sau 1 phút, cho 4 ml Na_2CO_3 7,5% vào, lắc đều rồi để trong tối trong 30 phút. Đo độ hấp thụ dung dịch thu được bằng máy UV - 1800 ở bước sóng 765 nm. Hàm lượng polyphenol tổng trong dịch chiết được tính bằng mg đương lượng axit gallic (GAE)/tổng thể tích

dịch trích thu được và hiệu suất thu hồi polyphenol được tính theo phương trình (2).

2.2.3. Xác định hàm lượng flavonoid tổng

Hàm lượng flavonoid tổng trong dịch trích trái vả được ước tính theo phương pháp đo màu với tác nhân $AlCl_3$ [20] có sự điều chỉnh. Lấy 1 ml dịch trích trái vả sau ly tâm vào bình định mức 10 ml đã có sẵn 4 ml nước cất. Thêm vào 0,3 ml dung dịch natri nitrit 5%, lắc mạnh. Để yên 5 phút, thêm tiếp vào 0,3 ml $AlCl_3$ 10% vào, lắc mạnh. 1 phút sau cho thêm vào 2 ml dung dịch NaOH 1N, lắc mạnh rồi định mức bằng nước cất đến vạch, lắc đều rồi để yên trong tối ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Đo độ hấp thụ dung dịch thu được bằng máy UV - 1800 ở bước sóng 510 nm. Hàm lượng flavonoid tổng trong dịch chiết được tính bằng mg đương lượng catechin (CE)/tổng thể tích dịch trích thu được và hiệu suất thu hồi flavonoid được tính theo phương trình (3).

2.2.4. Hoạt tính bắt gốc tự do

Hoạt tính bắt gốc tự do của dịch trích trái vả được ước tính theo phương pháp đo màu với tác nhân DPPH [14, 21] có sự điều chỉnh. Lấy 1 ml dịch trích trái vả sau ly tâm vào ống nghiệm, cho tiếp 2 ml DPPH 40 ppm trong ethanol tuyệt đối vào rồi lắc mạnh. Để ống nghiệm trong tối 30 phút ở nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ dung dịch thu được bằng máy UV–1800 ở bước sóng 517 nm. Thực hiện tương tự với mẫu trắng bằng 1 ml ethanol 96%. Hoạt tính bắt gốc tự do của dịch trích trái vả được tính theo phương trình (4).

$$\% \text{ Bắt gốc tự do DPPH} = \frac{(A_t - A_m)}{A_t} \times 100 \quad (4)$$

Trong đó: A_t là độ hấp thụ của mẫu trắng và A_m là độ hấp thụ của mẫu dịch trích ở cùng bước sóng 517 nm.

2.2.5. Thiết kế thực nghiệm và phân tích thống kê

Để đánh giá tác động của 5 yếu tố công nghệ tại 2 mức của mỗi yếu tố, đã sử dụng thiết kế thực nghiệm nhân tố 2 mức bán phần gồm 16 thí nghiệm ngẫu nhiên và 3 thí nghiệm tại tâm phương án (Bảng 2) sử dụng phần mềm thiết kế thực nghiệm Design-Expert v13 (Minneapolis, USA). Tại mỗi điểm thí nghiệm thực hiện 3 lần và kết quả là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD). Phân tích phương sai một nhân tố (ANOVA) thực hiện ở mức $p \leq 0,05$ để xác định ý nghĩa thống kê của mô hình.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

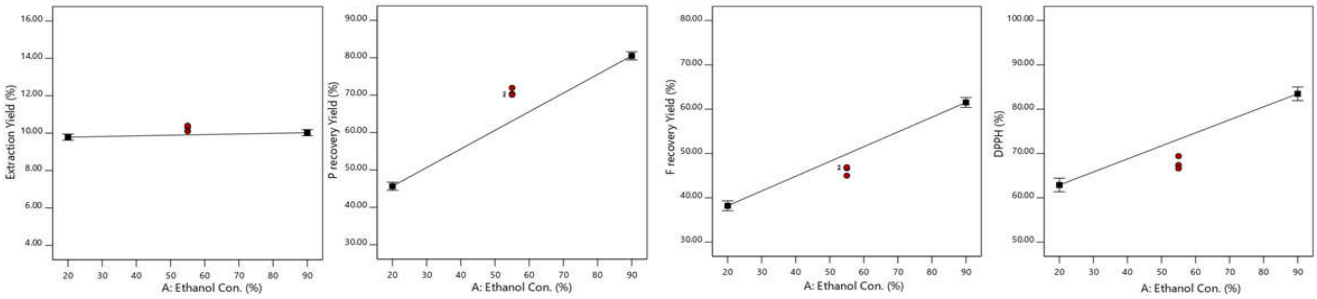
Mặc dù có một số nhược điểm như hiệu suất thu hồi chất đích thấp và sử dụng lượng dung môi lớn, nhưng hiện nay kỹ thuật chiết dung môi vẫn được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp để thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguyên liệu thực vật do thao tác đơn giản, phạm vi ứng dụng rộng và chi phí đầu tư thấp [22]. Trong kỹ thuật này, các dung môi trích ly thường được sử dụng là ethyl acetate, acetone, propanol, metanol, ethanol và nước. Tuy nhiên, ethanol kết hợp với nước hiện phổ biến trong công nghiệp vì chúng an toàn hơn và ít tác động đến môi trường so với các dung môi hữu cơ khác [23]. Nghiên cứu của Thoo và cs (2010) cho thấy, hệ dung môi nhị phân có khả năng trích ly vượt trội hơn so với một dung môi đơn nhất do thành phần cũng như cấu trúc và tính chất hóa lý của các hợp chất polyphenol từ các nguồn thực vật khác nhau [24].

Việc phân tích các số liệu thực nghiệm trong bảng 2 sử dụng chương trình Design-Expert, tác động của từng yếu tố (nồng độ ethanol, tỷ lệ lỏng rắn, pH dung môi trích, nhiệt độ và thời gian trích) cũng như tương tác giữa chúng đến các đáp ứng hiệu suất trích ly, hiệu suất thu hồi polyphenol tổng, hiệu suất thu hồi flavonoid tổng và hoạt tính bắt gốc tự do DPPH được đánh giá qua giá trị phần trăm đóng góp vào sự thay đổi giá trị đáp ứng đã chọn với mức ý nghĩa theo giá trị *p* như trong bảng 3.

3.1. Ảnh hưởng nồng độ ethanol đến các đáp ứng nghiên cứu

Nồng độ ethanol (X_1) có tác động mạnh đến đáp ứng hiệu suất thu hồi polyphenol tổng (Y_2; 88,65%), hàm lượng flavonoid tổng (Y_3; 82,66%) và khả năng bắt gốc tự do DPPH (Y_4; 70,13%) như trong hình 1 với giá trị của Y_2, Y_3 và Y_4 cùng tăng khi nồng độ ethanol tăng, nghĩa là độ phân cực của hỗn hợp dung môi trích ly giảm. Kết quả này là phù hợp khi thành phần dịch trích trái vả chủ yếu là các hợp chất polyphenol ít phân cực như

catechin [25]. Tuy nhiên X_1 không tác động có ý nghĩa đến đáp ứng hiệu suất trích ly (Y_1; p = 0,2716 > 0,05) mặc dù tương tác giữa X_1X_2 lại có đóng góp đáng kể cho đáp ứng này (23,84%). Do vậy nên chọn X_1 làm yếu tố tối ưu hóa quá trình trích ly với khoảng nồng độ khảo sát 55 - 90%.



Hình 1. Ảnh hưởng nồng độ ethanol (X_1) đến các đáp ứng Y_1, Y_2, Y_3 và Y_4

Bảng 3. Phần trăm đóng góp và giá trị *p* của các biến

Biến	Phần trăm đóng góp (%)				Giá trị *p* của đáp ứng			
	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4
X_1	0,16	88,65	82,66	70,13	0,2716	0,0002	0,0005	0,0012
X_2	22,25	6,00	8,09	3,00	0,0005	0,0031	0,0050	0,0271
X_3	5,86	0,66	0,74	0,32	0,0037	0,0271	0,0509	0,1904
X_4	14,02	1,83	3,15	14,17	0,0010	0,0100	0,0126	0,0060
X_5	2,74	0,01	0,15	5,35	0,0109	0,6295	0,1968	0,0155
X_1X_2	23,84	2,22	0,15	0,36				
X_1X_3	0,36	0,02	0,29	0,32				
X_1X_4	17,64	0,00	0,14	1,57				
X_1X_5	2,74	0,21	0,00	0,18				
X_2X_3	3,62	0,00	0,22	3,27				
X_2X_4	0,91	0,16	0,05	0,03				
X_2X_5	3,86	0,00	0,44	0,00				
X_3X_4	0,00	0,00	0,26	0,75				
X_3X_5	1,86	0,20	3,25	0,38				
X_4X_5	0,11	0,00	0,34	0,27				

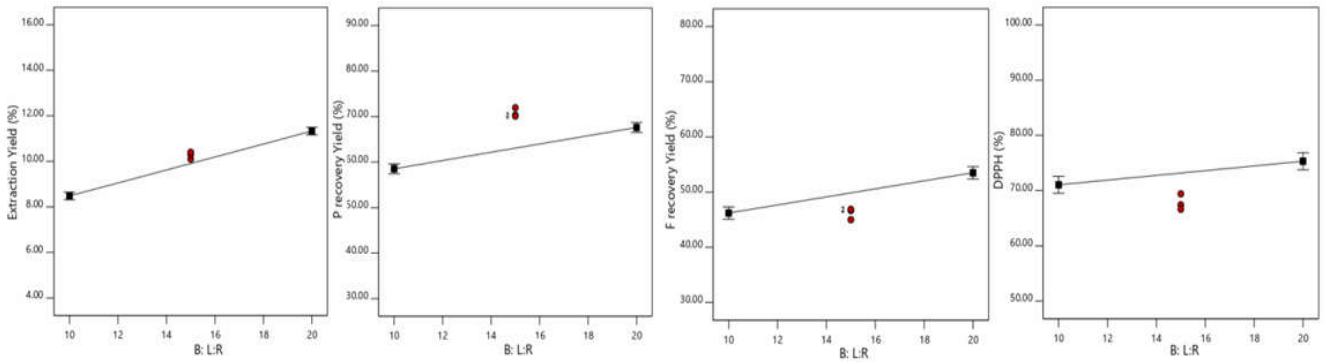
Ghi chú: X_1 là nồng độ ethanol (%); X_2 là tỷ lệ lỏng rắn (v/w); X_3 là pH; X_4 là nhiệt độ (^oC); X_5 là thời gian (phút); Y_1 là hiệu suất trích (%); Y_2 là hiệu suất thu hồi polyphenol tổng (%); Y_3 là hiệu suất thu hồi flavonoid tổng (%); Y_4 là khả năng bắt gốc tự do DPPH (%).

3.2. Ảnh hưởng tỷ lệ lỏng - rắn đến các đáp ứng nghiên cứu

Hình 2 cho thấy, tỷ lệ lỏng - rắn tác động có ý nghĩa đối với cả bốn đáp ứng nghiên cứu nhưng mạnh nhất là đối với đáp ứng hiệu suất trích ly (Y_1; 22,25%, p = 0,0005).

Kết quả này là phù hợp với các nguyên lý chung của quá trình trích ly lỏng–rắn và tương tự

như kết quả nghiên cứu của Prasad và cs (2012) [26]. Khi tăng tỷ lệ lỏng - rắn, lượng dung môi đi vào tế bào nguyên liệu nhiều hơn, tạo điều kiện thuận lợi cho việc hòa tan các hợp chất trích vào dung môi và khuếch tán dễ dàng ra khỏi tế bào.

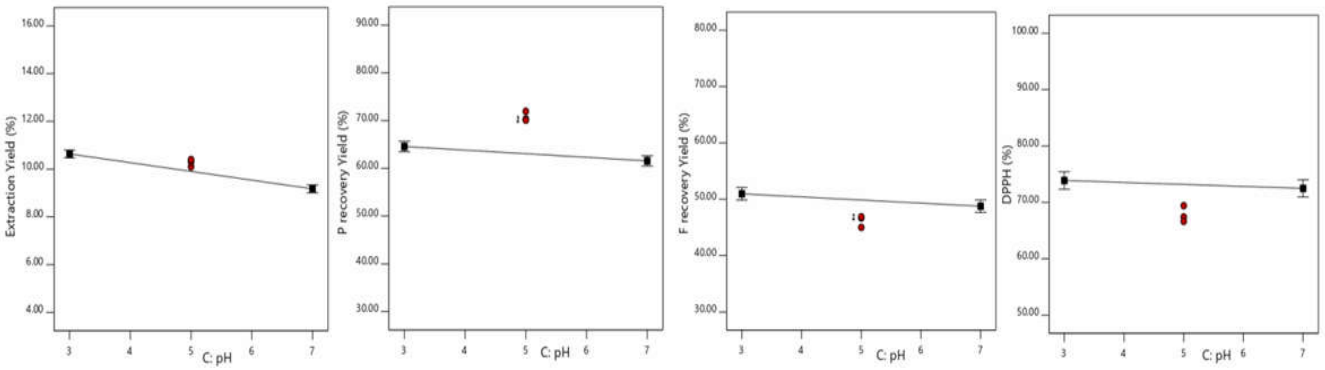


Hình 2. Ảnh hưởng tỷ lệ lỏng - rắn (X_2) đến các đáp ứng Y_1, Y_2, Y_3 và Y_4

Bảng 2 cho thấy, hiệu suất trích ly (Y_1) đạt giá trị cao nhất là 14,30% khi nồng độ ethanol 20%, tỷ lệ lỏng - rắn = 20 ml/g, pH = 3, nhiệt độ trích ly 70°C và thời gian trích ly là 240 phút. Đây là điểm có độ phân cực cao nhất trong khoảng nồng độ ethanol khảo sát. Tuy nhiên, tại điểm thí nghiệm này, hiệu suất thu hồi polyphenol (Y_2), hiệu suất thu hồi flavonoid (Y_3) và khả năng bắt gốc tự do DPPH (Y_4) chỉ đạt lần lượt 59,85%, 42,06% và 68,60%. Vì lý do này nên loại bỏ đáp ứng Y_1 và chọn tỷ lệ lỏng - rắn từ 10 đến 20 ml/g làm cơ sở tối ưu hóa.

3.3. Ảnh hưởng pH đến các đáp ứng nghiên cứu

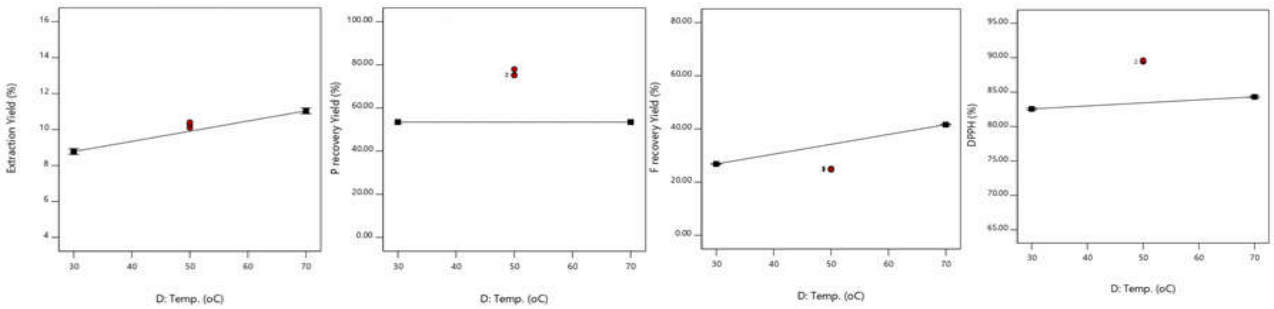
Bảng 3 và hình 3 cho thấy, pH dung môi trích chỉ tác động yếu đến hiệu suất trích ly (Y_1; 5,86%), hầu như không tác động đến hiệu suất thu hồi polyphenol (Y_2) cũng như tác động không có ý nghĩa thống kê với đáp ứng hiệu suất thu hồi flavonoid (Y_3; p = 0,0509) và khả năng bắt gốc tự do DPPH (Y_4; p = 0,1904). Tuy nhiên, kết quả thực nghiệm trong bảng 2 cho thấy, cả đáp ứng Y_2 và Y_3 đạt giá trị cao nhất ở pH = 3 khi nhiệt độ = 70°C và có khuynh hướng giảm khi tăng pH ở cùng nhiệt độ trích. Điều này cho thấy, tác dụng bảo vệ các hợp chất polyphenol trong vùng pH axit [27–28]. Nên chọn X_3 làm yếu tố tối ưu hóa quá trình trích ly với khoảng pH khảo sát 4-6.



Hình 3. Ảnh hưởng pH (X_3) đến các đáp ứng Y_1, Y_2, Y_3 và Y_4

3.4. Ảnh hưởng nhiệt độ đến các đáp ứng nghiên cứu

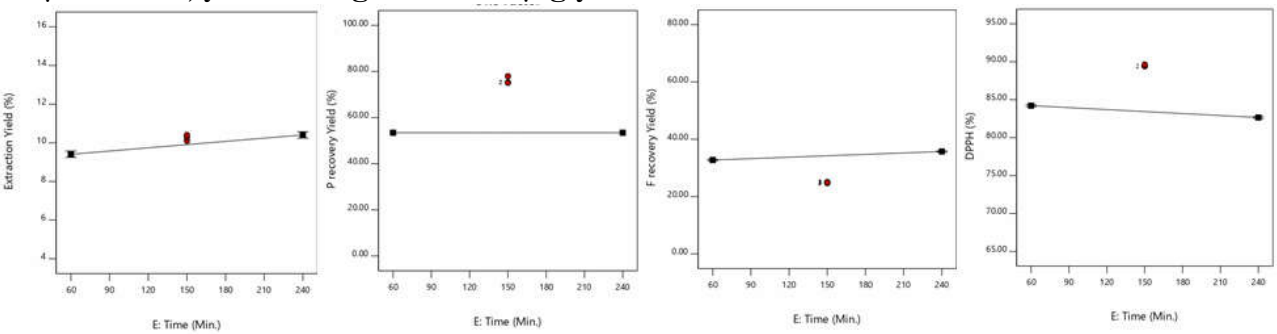
Nhiệt độ gần như không có ảnh hưởng đến đáp ứng hiệu suất thu hồi polyphenol (Y_2) nhưng có tác động yếu đến đáp ứng hiệu suất trích ly (Y_1; 14,02%), hiệu suất thu hồi flavonoid (Y_3; 3,15%) và khả năng bắt gốc tự do DPPH (Y_4; 14,17%) với khuynh hướng tăng khi nhiệt độ tăng (Hình 4). Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Jokić và cs (2009) [29]. Về lý thuyết, khi thực hiện trích ly ở nhiệt độ cao, mô thực vật sẽ trở nên mềm hơn và làm yếu tương tác màng tế bào sẽ dẫn đến tăng hiệu suất thu hồi [30]. Do vậy nên cố định nhiệt độ ở mức 70°C trong thí nghiệm nghiên cứu tối ưu quá trình trích ly.



Hình 4. Ảnh hưởng nhiệt độ (X_4) đến các đáp ứng Y_1, Y_2, Y_3 và Y_4

3.5. Ảnh hưởng thời gian trích đến các yêu cầu nghiên cứu

Hình 5 cho thấy, thời gian gần như không có tác động đến hiệu suất trích ly (Y_1; 2,74%), hiệu suất thu hồi polyphenol (Y_2; 0,01) và hiệu suất thu hồi flavonoid (Y_3; 0,15). Với yêu cầu hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, yếu tố thời gian có tác động yếu (5,35%) và tiêu cực, nghĩa là khi tăng thời gian trích ly hoạt tính bắt gốc tự do giảm. Đều này là do sự biến đổi các chất polyphenol dưới tác dụng của nhiệt độ và môi trường trích ly có nước trong thời gian dài [30]. Với kết quả này, nên cố định yếu tố thời gian là 150 phút trong thí nghiệm nghiên cứu tối ưu quá trình trích ly.



Hình 5. Ảnh hưởng thời gian (X_5) đến các yêu cầu Y_1, Y_2, Y_3 và Y_4

4. KẾT LUẬN

Thiết kế nhân tố 2 mức bán phần đã được áp dụng thành công để xác định các yếu tố ảnh hưởng quan trọng đến các yêu cầu hiệu suất trích ly, hiệu suất thu hồi polyphenol và flavonoid cũng như hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của dịch trích trái vả. Nồng độ ethanol là yếu tố đóng góp quan trọng nhất vào hiệu quả trích ly các hợp chất polyphenol sử dụng môi ethanol - nước như là hệ dung môi trích ly. Ngoài ra, đã lựa chọn 3 yếu tố với khoảng giá trị thích hợp cho quá trình tối ưu nhằm tiết kiệm thời gian và chi phí thực hiện gồm nồng độ ethanol (55 - 90%), tỷ lệ lỏng - rắn (10 - 20 ml/g) và pH dung môi trích (4 - 6).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. El Gharras H. (2009). Polyphenols: food sources, properties and applications–a review. *Int. J. Food Sci.*, 44 (12), 2512 - 2518.

2. Li A. N., Li S., Zhang Y. J., Xu X. R., Chen, Y. M. and Li, H. B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6 (12), pp. 6020 - 6047.

3. Durazzo A., Lucarini M., Souto E. B., Cicala, C., Caiazzo E. *et al.* (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytother. Res.*, 33 (9), 2221 - 2243.

4. Bertelli A., Biagi M., Corsini M., Baini G., Cappellucci G. and Miraldi E. (2021). Polyphenols: From theory to practice. *Foods*, 10 (11), 2595.

5. Tsao R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2 (12), 1231 - 1246.

6. Rasouli H., Farzaei M. H. and Khodarahmi R. (2017). Polyphenols and their benefits: A review. *Int. J. Food Prop.*, 20 (sup. 2), 1700 - 1741.

7. Kumar Y., Yadav D. N., Ahmad T. and Narsaiah K. (2015). Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 14 (6), 796 - 812.

8. Papuc C., Goran G. V., Predescu C. N., Nicorescu V. and Stefan, G. (2017). Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: classification, structures, sources, and action mechanisms. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 16 (6), 1243 - 1268.

9. Maqsood S., Benjakul S., Abushelaibi A. and Alam A. (2014). Phenolic compounds and plant phenolic extracts as natural antioxidants in prevention of lipid oxidation in seafood: A detailed review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 13 (6), 1125 - 1140.

10. Zillich O. V., Schweiggert - Weisz U., Eisner P. and Kerscher M. (2015). Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 37 (5), 455 - 464.

11. Ofosu F. K., Daliri E. B. M., Elahi F., Chelliah R., Lee B. H. and Oh D. H. (2020). New insights on the use of polyphenols as natural preservatives and their emerging safety concerns. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 525810.

12. Adebooye O. C., Alashi A. M. and Aluko R. E. (2018). A brief review on emerging trends in global polyphenol research. *J. Food Biochem.*, 42 (4), e12519.

13. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm và cộng sự (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập 2. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, 1044 - 1045.

14. Puangpradab R., Suksathan R., Saratan N. and Puangsombat P. (2018). Antioxidant properties and nutritive values of native figs consumed in northern Thailand. *Acta Horticulturae*, 1210, 281 - 287.

15. Shahinuzzaman M., Akhtar P., Amin N., Ahmed Y., Anuar F. H. *et al.* (2021). New insights of phenolic compounds from optimized fruit extract of *Ficus auriculata*. *Sci. Rep.*, 11 (1), 12503.

16. El-Fishawy A., Zayed R. and Afifi S. (2011). Phytochemical and pharmacological studies of *Ficus auriculata* Lour. *J. Nat. Prod.*, 4, 184 - 195.

17. Kavitha C. C. I. and Revikumar K. G. (2017). *Ficus auriculata* (elephant ear fig): a phytochemical and pharmacological review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6 (5), 274 - 283.

18. Tran Truong Giang, Luu Thi Nghia, Do Thi Hong Tuoi, Huynh Ngoc Trinh (2019). *In vitro* antioxidant activity and *in vivo* hepatoprotective effects of total ethanolic extract from *Ficus auriculata* fruits. *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, 24 (5), 297 – 300.

19. Saklani S. and Chandra S. (2012). *In vitro* antimicrobial activity, nutritional profile and phytochemical screening of wild edible fruit of Garhwal Himalaya (*Ficus auriculata*). *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 12 (2), 61 - 64.

20. Haida Z., Ab Ghani S., Nakasha J. J. and Hakiman M. (2022). Determination of experimental domain factors of polyphenols, phenolic acids and flavonoids of lemon (*Citrus limon*) peel using two - level factorial design. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29 (1), 574 - 582.

21. Blois M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181 (4617), 1199 - 1200.

22. Mojzer B. E., Knez Hrnčič M., Škerget M., Knez Ž. and Bren U. (2016). Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21 (7), 901.

23. Spigno G., Tramelli L. and De Faveri D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *J. Food Eng.*, 81 (1), 200 - 208.

24. Thoo Y. Y., Ho S. K., Liang J. Y., Ho C. W. and Tan C. P. (2010). Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food Chem.*, 120 (1), 290 - 295.

25. Saini R. (2012). Comparative study of three wild edible fruits of uttrakhand for antioxidant, antiproliferative activities and polyphenolic

composition. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.*, 3 (4), 158 - 167.

26. Prasad K. N., Kong K. W., Ramanan R. N., Azlan A. and Ismail A. (2012). Selection of experimental domain using two - level factorial design to determine extract yield, antioxidant capacity, phenolics, and flavonoids from *Mangifera pajang* Kosterm. *Sep. Sci. Technol.*, 47 (16), 2417 - 2423.

27. Devi P., Singh S., Sangwan S., Dalal P. and Moond M. (2020). Effect of pH on antioxidant and phytochemical activities of Mulhatti roots (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 11, 276 - 282.

28. Wiyono T., Nurhayati R., Herawati E. R. N. and Laila, U. (2020). The effect of time, pH and solvent composition on cocoa shell polyphenol extraction and its antioxidant activity: response surface method approach. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, 462, 012029.

29. Jokić, S., Bucić-Kojić, A., Planinić, M., Velić, D., Tomas, S., Bilić, M., & Bešvir, Ž. (2009). The effect of solvent and temperature on extraction yield of phenolic compounds from soybeans, antioxidant activity and colour of extracts. The effect of solvent and temperature on extraction yield of phenolic compounds from soybeans, antioxidant activity and colour of extracts., 293 - 299.

30. Che Sulaiman, I. S., Basri, M., Fard Masoumi, H. R., Chee, W. J., Ashari, S. E., & Ismail, M. (2017). Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti - radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology. *Chemistry Central Journal*, 11 (1), 1 - 11.

EFFECTS OF TECHNOLOGICAL FACTORS ON EXTRACTION YIELD, POLYPHENOLS, FLAVONOIDS AND DPPH FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF *Ficus auriculata* FRUIT EXTRACT USING TWO LEVEL FACTORIAL DESIGN

Vo Tan Hau[1, *], Huynh Quoc Viet[1], Nguyen Thi Tha[1]

[1]Food Industries Research Institute, Branch in Ho Chi Minh city

[*]Email: hauvt@firi.vn

Summary

Nowadays, polyphenolic compounds have attracted great interest due to their roles in the prevention of degenerative diseases and have used as the input material for manufacturing functional foods, nutraceutical and pharmaceutical products. *Ficus auriculata* Lour. is an endemic tree species in Vietnam with the characteristic of having larger leaves and fruits than figs as well as the fruit rarely ripening. Previous researches have revealed fruits of the species is rich source of polyphenolic compounds with antioxidant and antimicrobial activities; which they could be used as a source of potent natural ingredients and additives. In this study, two level factorial design was used to study the influence of the following dependent factors, namely ethanol concentration (20 - 90%), liquid to solid ratio (10 - 20; ml/g), pH (3 - 7), extraction temperature (30 - 70^{o}C) and time (60 - 240 min.) on extraction yield, polyphenol and flavonoid recovery yield as well as DPPH free radical scavenging activity from *Ficus auriculata* fruits. Among all the factors, ethanol concentration is the main influencing factor ($p = 0.0002$) in obtaining higher yield of polyphenols and flavonoids as well as DPPH free radical scavenging capacity. The extraction time and temperature factor have almost no impact. From these results, the factors and their experimental regions can also be selected, including: ethanol concentration (55 - 90%), liquid – solid ratio (10 - 20 ml/g) and extraction solvent pH (4 -6), to optimize the extraction process.

Keywords: *DPPH, flavonoid, factorial design, polyphenol, Ficus auriculata.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Duy Tân

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 21/3/2023

Ngày duyệt đăng: 28/3/2023

NGHIÊN CỨU BAO GÓI TINH DẦU BẠC HÀ (*Mentha arvensis*) BẰNG *BETA*-CYCLODEXTRIN

Trần Thị Phương Anh[1], *, Lê Mỹ Kim Vương[1],
Trần Tuấn Hùng[1], Phạm Ngọc Huỳnh Kha[1]

TÓM TẮT

Tinh dầu bạc hà (*Mentha arvensis* L.) được sử dụng phổ biến trong nhiều ngành công nghiệp nhờ các hoạt tính sinh học nổi trội cũng như mùi thơm đặc trưng ở nồng độ thấp. Trong nghiên cứu này, tinh dầu bạc hà được bao gói bằng phương pháp nhào, sử dụng vật liệu tường ß-cyclodextrin. Các yếu tố hóa học ảnh hưởng đến quá trình bao gói như nồng độ ethanol, hàm lượng tinh dầu, ß-cyclodextrin, nước cũng như mối tương quan giữa chúng (tỷ lệ tinh dầu: ethanol, tinh dầu: ß-cyclodextrin và ß-cyclodextrin: H_2O) đã được khảo sát thông qua đánh giá hiệu quả bao gói. Kết quả cho thấy, ở nồng độ ethanol 96% (v/v), tỷ lệ tinh dầu: ß-cyclodextrin 5:95 (w/w), tinh dầu: ethanol 28: 72 (w/w) và ß-cyclodextrin: H_2O 9: 1 (w/w), hiệu quả quá trình bao gói đạt cao nhất 65%. Sản phẩm phức bọc chứa tinh dầu bạc hà sẽ định hướng ứng dụng làm nguồn thực phẩm chức năng có hoạt tính kháng khuẩn trên các đối tượng trong nuôi thủy sản.

Từ khóa: *Beta-cyclodextrin, phức bọc, phương pháp nhào, tinh dầu bạc hà.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Menta arvensis Lamaaceae *(M. arvensis* L.*),* hay còn gọi là bạc hà Á, được trồng phổ biến ở nhiều nước trên thế giới như: Trung Quốc, Nhật Bản, Brasil, Ấn Độ, Việt Nam… do được coi là nguồn dược liệu quý, dễ trồng và rẻ tiền. Bạc hà chứa một lượng dồi dào tinh dầu với nhiều hoạt tính sinh học quý như kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng viêm, kháng ung thư, bảo vệ thần kinh, kháng nấm, diệt côn trùng [1]. Đặc biệt, do có đặc tính kháng khuẩn nổi trội cùng với hương thơm và tính tạo mát đặc trưng nên tinh dầu bạc hà (Peppermint essential oil, PEO) được sử dụng phổ biến trong thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm [2].

PEO chứa chủ yếu menthol, menthone, neomenthol và iso-menthone, là một hỗn hợp các hợp chất chuyển hóa dễ bay hơi có chức năng tạo mùi hương và bảo vệ cây chống chọi với các thay đổi khắc nghiệt của môi trường sống [3]. Thành phần hóa học của PEO phụ thuộc vào điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu cũng như bộ phận thu hái, thời gian thu hoạch. So với các vùng trồng khác trên thế giới, bạc hà Á ở Việt Nam có chất lượng tinh dầu tương đối cao, hàm lượng menthol ~ 53 - 62% so với 67 - 78% ở Ấn Độ, Mỹ [4] và 35 - 52% ở Macedonia [5]. Các ngành công nghệ dược phẩm hiện nay sử dụng rất nhiều PEO cũng như menthol tự do để sản xuất các sản phẩm về chăm sóc da, chữa trị các loại bệnh rối loạn tiêu hóa, viêm dạ dày, tá tràng, thuốc giảm đau ngoài da kháng nấm và kháng vi khuẩn [3].

Mặc dù tinh dầu được ứng dụng rộng rãi trong đời sống, song do bản chất dễ bay hơi, dễ bị oxy hóa ở điều kiện thường, tính tan trong nước kém và có mùi đặc trưng, việc sử dụng tinh dầu như thành phần hoạt tính trong các sản phẩm ứng dụng có nhiều hạn chế [6]. Công nghệ vi nang hiện đang là phương pháp tối ưu cho việc bảo vệ tính chất và hoạt tính của tinh dầu, tránh thất thoát tinh dầu trong quá trình chế biến, sử dụng và cải thiện công dụng của tinh dầu [7, 8].

Công nghệ vi nang là quá trình mà trong đó các hạt (dạng rắn) hay các giọt (dạng lỏng) của vật liệu có hoạt tính sinh học (lõi, nhân) được bao lại trong một mạng lưới tạo bởi các vật liệu sinh học (vỏ, màng bao) để tạo ra các phần tử có kích thước micromet (từ 1 - 5.000 µm) gọi là vi nang [9, 10]. Vật liệu làm lõi có thể là hương liệu, dầu, chất béo,

[1] Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang
*Email: anhttp@ntu.edu.vn

vitamin, chất tạo màu, enzyme và probiotics… Vật liệu làm vỏ có thể là tinh bột, protein, gôm và một số vật liệu khác như cyclodextrin, liposome và vi sinh vật [11]. Trong những năm gần đây, nhóm chất mang cyclodextrin (CD) được ứng dụng nhiều trong công nghệ vi nang dược phẩm và thực phẩm. CD là tên gọi chung của các oligosaccharide vòng, cấu tạo từ các đơn vị D-glucopyranose bằng các liên kết alpha-1,4 glucosidic. CD có cấu trúc hình nón cụt với các khoang rỗng kỵ nước bên trong và các nhóm hydroxyl ưa nước bên ngoài. Với cấu trúc này, các CD có khả năng tương tác và bao gói các phân tử khách kém phân cực vào trong cấu trúc rỗng tạo thành một dạng hợp chất đặc biệt gọi là phức bọc (Inclusion complex) [12]. Nhóm chất mang này có nhiều dẫn xuất khi thay đổi số lượng đơn vị glucose, quyết định kích thước của khoang và khả năng chứa các phân tử khách kỵ nước. *Beta*-cyclodextrin (ß-CD) gồm 7 glucose, được sử dụng phổ biến làm vật liệu tường với nhiều ưu điểm như kích thước khoang phù hợp, dễ sản xuất, ít độc qua đường ăn uống và dễ dàng tạo phức bọc với nhiều dung môi hữu cơ [13]. ß-CD có thể được sử dụng làm vật tường do kích thước khoang 0,6-0,8 nm, phù hợp với các hợp chất như tinh dầu (khối lượng phân tử tương đối từ 80-250) [14]. Khi ß-CD và phân tử hoạt chất khách tạo thành phức bọc, các tính chất lý hóa của phân tử khách sẽ được thay đổi, bao gồm cải thiện độ tan, tính ổn định, sinh khả dụng và tránh các phản ứng phân hủy không mong muốn [12]. Do đó, ß-CD được ứng dụng nhiều trong các ngành công nghiệp dược phẩm, nông nghiệp, thực phẩm và mỹ phẩm nhờ bảo vệ hoạt chất dưới dạng phức bọc bền [14].

Trong nghiên cứu này, tinh dầu bạc hà Á (PEO) được bảo vệ dưới dạng phức bọc, sử dụng phương pháp nhào (paste) và ß-CD làm vật liệu tường. Với phương pháp này, pha nước chứa ß-CD được trộn với pha kỵ nước chứa PEO hòa tan trong ethanol, sau đó làm lạnh, sấy và nghiền tạo thành bột [12, 13]. Các nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến phức bọc như: hàm lượng nước trong ß-CD, thành phần và nồng độ hoạt chất, thứ tự ß-CD và hoạt chất được cho vào hỗn hợp, phương pháp sấy mẫu và loại dung môi để chiết hoạt chất ra khỏi ß-CD… mà ít đề cập đến mối tương quan giữa các yếu tố hóa học ảnh hưởng đến phức bọc [13, 15, 16]. Do đó, với mục tiêu lựa chọn tỷ lệ giữa các yếu tố hóa học ảnh hưởng đến quá trình tạo phức, nồng độ ethanol, các tỷ lệ PEO/EtOH, ß-CD/H_2O, PEO/ß-CD (w/w) sẽ được khảo sát thông qua đánh giá hiệu quả bao gói (encapsulating efficiency, EE) - tỷ lệ phần trăm của PEO được giữ trong ß-CD. Sản phẩm phức bọc chứa PEO điều chế sẽ định hướng làm nguồn thực phẩm chức năng, mang lại hiệu quả kháng một số loại bệnh do vi khuẩn trên các vật nuôi ngành thủy sản, thay thế dần các nhóm thuốc kháng sinh độc hại.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Tinh dầu bạc hà (PEO) giống Nhật Bản *Menta arvensis* được trồng tại Việt Nam, mua từ Công ty Notessen, thành phố Hồ Chí Minh. Hàm lượng DL-Menthol trong tinh dầu được xác định bằng GC/MS ~ 70,625%. Cyclodextrin ở dạng ß-CD tinh khiết thực phẩm (>96%) của hãng Shandong (Trung Quốc), các dung môi ethanol, ethylacetat (Xilong, Trung Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Quy trình tổng quát bao gói tinh dầu bạc hà (PEO)

Quy trình được thực hiện dựa theo nghiên cứu của Elizei và cs (2014) [17] với một số sửa đổi phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Cân 15 g ß-CD và 6,42 g nước cất (tỷ lệ ß-CD: H_2O 70: 30, w/w) vào cốc thủy tinh, khuấy đến khi được một hỗn hợp bột nhão, đặc sệt. Mặt khác, cân 0,789 g PEO và 2,03 g ethanol (EtOH) 96% (tỷ lệ PEO: EtOH 28: 72 w/w) cho vào cốc thủy tinh, đậy nắp, lắc đều hỗn hợp. Trộn hai hỗn hợp, khuấy trong 15 phút. Hỗn hợp sau đó được sấy chân không ở 40°C trong 24 giờ. Bột khô sau sấy trong tủ sấy chân không (VO400, Memmert - Đức) được nghiền nhỏ, thu được bột mịn, tơi. Để hoàn thiện quy trình bao gói, các yếu tố hóa học tham gia vào quá trình bao gói sẽ được khảo sát: nồng độ ethanol, PEO, ß-CD, nước và mối tương quan giữa chúng. Cụ thể: (1) Nồng độ ethanol (v/v): 99,5; 96; 90; 85 và 80%; (2) Tỷ lệ ß-CD/ H_2O (w/w): 90: 10; 80: 20; 70: 30; 63:

37 và 55: 45; (3) Tỷ lệ PEO/EtOH (w/w): 60: 40; 42: 58; 28: 71; 16: 84 và 12: 88; (4) Tỷ lệ PEO/ ß-CD (w/w): 2: 98; 5: 95; 7: 93; 10: 90 và 13: 87.

Khi khảo sát một trong các yếu tố trên, các yếu tố còn lại sẽ được cố định như trong quy trình đã nêu trên.

2.2.2. Phương pháp xác định tổng lượng tinh dầu bao gói (tinh dầu tổng)

Quy trình xác định tinh dầu tổng (bề mặt và trong phức) được thực hiện theo nghiên cứu của Padukk và cs (2000) [18] với một số thay đổi nhỏ. Cân 5 g bột phức bọc vào bình cầu, thêm 250 ml nước cất. Tiến hành chưng cất lôi cuốn hơi nước với hệ Clavenger (Đức) trong 3 giờ. Đọc thể tích tinh dầu thu được (V ml) trực tiếp từ hệ thống chưng cất. Khối lượng tinh dầu tổng được tính thông qua công thức: m (g) = V (ml)* d (g/ml). Tỷ trọng tinh dầu PEO được xác định theo tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8444: 2010.

Hiệu suất bao gói (EY) tính theo công thức:

$$EY(\%) = \frac{A}{A_0} x\ 100\%$$

Trong đó: A là tổng lượng PEO thu được từ bột phức bọc (µg); A_0 là tổng lượng PEO ban đầu được sử dụng để bao gói (µg).

2.2.3. Phương pháp xác định tổng lượng tinh dầu bề mặt

Quy trình xác định tinh dầu bề mặt được thực hiện theo nghiên cứu của Bae và Lee (2008) [19] với một số thay đổi. Cân 2 g bột phức bọc cho vào bình tam giác, thêm 9,5 ml ethyl acetate, đậy nắp và lắc đều trong vòng 4 phút ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp sau đó được ly tâm 3.000 vòng/phút trong 5 phút. Thu dịch chiết, định mức tới 10,00 ml. Hàm lượng PEO bề mặt được xác định bằng phương pháp hấp thụ phân tử UV-VIS ở bước sóng 290 nm (máy quang phổ UV-VIS Libra S50, Mỹ). Đường chuẩn được xây dựng từ các nồng độ PEO tăng dần: 2.000, 3.000, 4.000, 5.000 và 6.000 µg/ml trong ethylacetat.

Hiệu quả bao gói (EE) thể hiện tỷ lệ hàm lượng PEO được lưu trữ trong phức bọc so với lượng PEO ban đầu sử dụng để bao gói, được tính theo công thức:

$$EE(\%) = \frac{A - a}{A_0} x\ 100\%$$

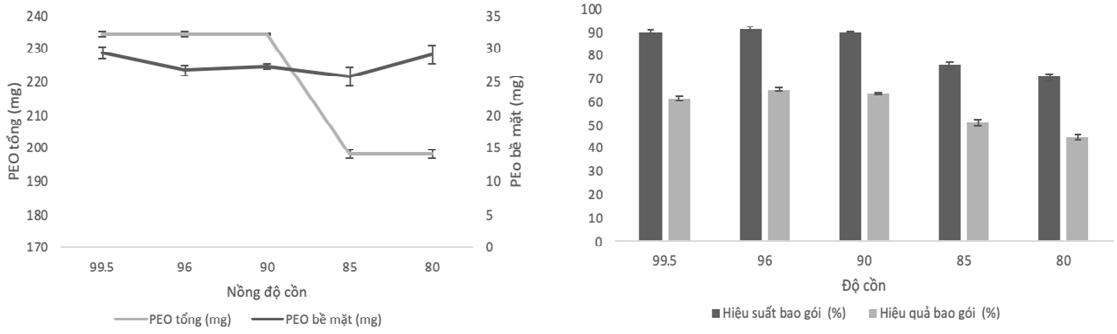
Trong đó: A là khối lượng PEO thu được từ phức bọc (µg); A_0 là tổng lượng PEO ban đầu được sử dụng để bao gói (µg); a là khối lượng PEO bề mặt (µg).

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả thí nghiệm được biểu diễn bằng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Đồ thị được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến quá trình bao gói



Hình 1. Ảnh hưởng các nồng độ ethanol đến quá trình bao gói: (trái) hàm lượng PEO tổng và PEO bề mặt; (phải) hiệu suất và hiệu quả bao gói

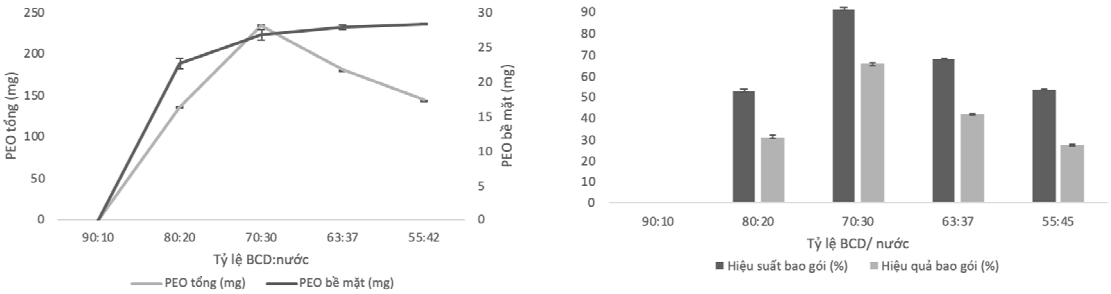
Trong phương pháp nhào, hoạt chất cần được hòa tan trong dung môi thích hợp để tăng tiếp xúc với ß-CD. Ethanol được lựa chọn do hòa tan tốt PEO và dễ bay hơi trong quá trình sấy sản phẩm nhằm ứng dụng trong thực phẩm. Hàm lượng nước trong ethanol sẽ ảnh hưởng đến quá trình tạo

phức bọc cũng như độ hòa tan của sản phẩm phức bọc trong hệ ứng dụng [13, 20]. Do đó, các thí nghiệm được thực hiện ở các nồng độ ethanol khác nhau: 99,5, 96, 90, 85 và 80%. Các tỷ lệ cố định: ß-CD/ H_2O 70: 30; PEO/EtOH 28: 72; PEO/ ß-CD 5: 95 (w/w). Kết quả được thể hiện ở hình 1.

Hình 1 biểu hiện sự phụ thuộc của PEO tổng và PEO bề mặt theo nồng độ ethanol. Cụ thể, từ 99,5 - 90% (w/w), PEO tổng không đổi, tuy nhiên giảm mạnh ở nồng độ 85% và giữ nguyên khi tiếp tục giảm đến 80%. Trong khi đó, PEO bề mặt có sự thay đổi không đáng kể khi tăng giảm lượng ethanol. Đáng lưu ý ở 96%, lượng PEO tổng đạt cao nhất và PEO bề mặt thấp; tương ứng với hiệu suất, hiệu quả bao gói lần lượt đạt ~91,34% và 65,27%. Lượng nước trong hỗn hợp tăng làm giảm sự hòa tan của tinh dầu, khiến hàm lượng tinh dầu được tạo phức với ß-CD giảm. Khi tiếp tục tăng lượng nước trong hỗn hợp (ở 80%), hiệu suất và hiệu suất bao gói tiếp tục giảm. Kết quả nghiên cứu này cho thấy, nồng độ ethanol ảnh hưởng đến quá trình bao gói phức bọc, tương tự như kết quả của Boonyarattanakalin và cs (2015) [20] trong nghiên cứu ảnh hưởng của dung môi đến quá trình tạo phức và độ tan của thuốc bao gói trong ß-CD [20]. Nghiên cứu của Bùi Quang Thuật (2010) [21] cũng khảo sát các nồng độ ethanol đối với hệ chất mang maltodextrin và gum arabic khi bao gói hương liệu. Do đó, ethanol 96% được sử dụng cho những bước khảo sát tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ ß-CD/H_2O (w/w) đến quá trình bao gói

Ở pha nước, ß-CD được hydrat hóa thành hỗn hợp bột nhão có độ đặc cao. Các tương tác giữa các nhóm hydroxyl (-OH) giữa hai phân tử sẽ giúp H_2O đi vào vào các khoang rỗng của ß-CD, tạo phức hợp (ß-CD – H_2O). Việc thêm PEO trong quá trình nhào sẽ làm giảm tương tác H_2O với phức hợp, tạo thành bột nhão có độ đặc thấp hơn. Các khoang ß-CD sau đó sẽ dễ dàng bị PEO đi vào với các liên kết không cộng hóa trị (kỵ nước, lưỡng cực, Van der Wall hay hydro) bằng cách thay thế các phân tử nước [13]. Do đó, các thí nghiệm với các tỷ lệ ß-CD/H_2O (w/w) 90: 10, 80: 20, 70: 30, 63: 37, 55: 45 được thực hiện. Các yếu tố khác được cố định: EtOH 96%, PEO/ EtOH 28: 72 w/w, PEO/ ß-CD 5: 95 w/w. Hình 2 thể hiện các kết quả thu được.



Hình 2. Ảnh hưởng các tỷ lệ ß-CD/H_2O (w/w) đến quá trình bao gói: (trái) hàm lượng PEO tổng và PEO bề mặt; (phải) hiệu suất và hiệu quả bao gói

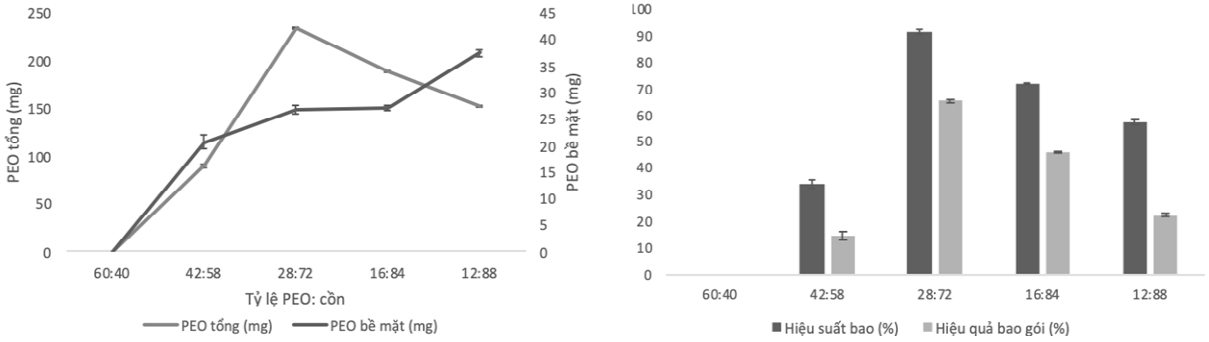
Ở tỷ lệ ß-CD/H_2O 90: 10 (w/w) không xác định được hàm lượng PEO tổng và bề mặt vì lượng nước thêm vào quá ít, không đủ làm các lỗ trống của ß-CD dãn nở để bao bọc tinh dầu. Hàm lượng PEO tổng và bề mặt tăng dần khi tăng lượng nước lên tỷ lệ 20%, 30%. Cụ thể ở tỷ lệ ß-CD/H_2O 70: 30 cho hàm lượng PEO tổng cao nhất. Khi tiếp tục tăng lượng nước sẽ làm tăng tương tác giữa nước với các nhóm -OH tự do trên phân tử ß-CD, cản trở tinh dầu chui vào trong các lỗ trống của ß-CD. Tinh dầu tự do bám vào về mặt ß-CD ngày càng tăng, bị bay hơi hoặc oxy hóa theo cồn trong quá trình thao tác, sấy, dẫn đến hàm lượng PEO tổng giảm. Hàm lượng PEO tổng tăng cực đại ở tỷ lệ 70: 30 rồi giảm xuống khi lượng nước tiếp tục tăng cho thấy, nước cản trở sự di chuyển của PEO và trong ß-CD [13]. Yan và cs (2022) [14] thực hiện bao gói tinh dầu quế bằng ß-CD với cùng phương pháp nhào, kết quả lại chỉ ra khi tăng lượng ß-CD so với lượng H_2O ở pha nước, hiệu quả bao gói tăng và đạt cao nhất ở tỷ lệ 10: 1, tuy nhiên sau đó lại giảm khi tiếp tục tăng ß-CD. Điều này chứng tỏ,

lượng H_2O cho vào tạo hỗn hợp bột nhão với ß-CD chỉ nên ở một tỷ lệ thích hợp đối với từng đối tượng nghiên cứu.

Ở tỷ lệ ß-CD/H_2O 70:30 cho các hiệu suất cao nhất 91,34% và hiệu quả cũng cao nhất 65,27%; khi ở tỷ lệ nước cao nhất (45%), quá trình bao gói đạt hiệu suất và hiệu quả thấp nhất (lần lượt 53,15% và 27,11%). Do đó, tỷ lệ ß-CD/H_2O 70:30 (w/w) được chọn cho các bước khảo sát tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ PEO/EtOH (w/w) đến quá trình bao gói

Nhằm khảo sát lượng dung môi để hòa tan tốt tinh dầu PEO, các thí nghiệm thay đổi các tỷ lệ PEO/EtOH (w/w) 60: 40, 42: 58, 28: 72, 16: 84 và 12: 88 được thực hiện. Các yếu tố khác được cố định: EtOH 96%, PEO/cồn 28: 72, PEO/ß-CD 5: 95. Hình 3 thể hiện hàm lượng kết quả thu được.



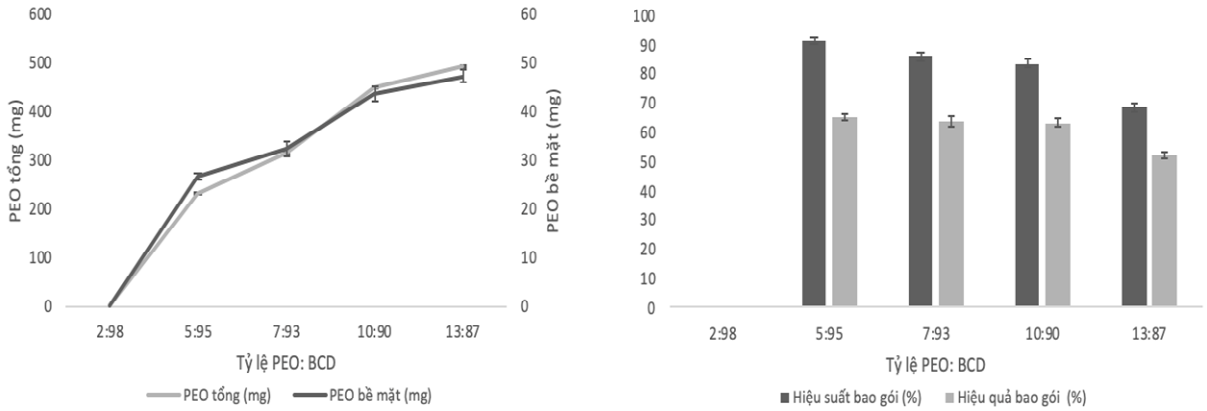
Hình 3. Ảnh hưởng các tỷ lệ PEO/EtOH (w/w) đến quá trình bao gói: (trái) hàm lượng PEO tổng và PEO bề mặt; (phải) hiệu suất và hiệu quả bao gói

Theo đồ thị hình 3, ở tỷ lệ PEO/EtOH 60: 40 không đánh giá được quá trình bao gói vì lượng dung môi thêm vào quá ít, không đủ hòa tan tinh dầu. Lượng tinh dầu tự do trong hỗn hợp bị bay hơi trong quá trình thao tác. Khi tăng lượng ethanol, phức bọc thu được chứa hàm lượng PEO cao nhất ở tỷ lệ PEO: EtOH 28: 72 (w/w) và PEO bề mặt tăng dần. Tuy nhiên, lượng ethanol thêm vào càng nhiều, PEO tổng lại giảm dần và PEO bề mặt vẫn tiếp tục tăng. Có thể giải thích là do phức bọc PEO- ß-CD được hình thành do sự cạnh tranh giữa các phân tử hoạt chất kém phân cực với phân tử H_2O đang nằm trong khoang trống của ß-CD [13]. Trong trường hợp này, hoạt chất được hòa tan bởi dung môi EtOH 96% (tức có chứa 4% nước), tăng dần lượng nước trong pha dầu sẽ ngăn cản quá trình PEO đi vào các khoang ß-CD, chỉ có thể bám tại bề mặt phức. Điều này được thể hiện ở hình 3, tiếp tục tăng lượng dung môi, hàm lượng PEO tổng giảm những PEO bề mặt lại tăng.

Hồ Thị Hoàng Yến (2019) [22] đã nghiên cứu quá trình bao gói lutein bằng ß-CD bằng cách lựa chọn dung môi hòa tan và khảo sát nồng độ hoạt chất. Kết quả cho thấy, ethanol là dung môi hòa tan tốt nhất trong ba dung môi ethanol, acetone, ethylacetat và lutein 0,01 g/ml cho hiệu quả bao gói cao nhất. Như vậy, khi so sánh với kết quả nghiên cứu phức bọc PEO- ß-CD, ở tỷ lệ PEO: EtOH 28: 72 (w/w) (hay nồng độ PEO ~0,3 g/ml) cho hiệu quả bao gói cao nhất. Sự khác biệt giữa các tỷ lệ hoạt chất/dung môi có thể là do khác nhau về bản chất hoạt chất và phương pháp tạo phức khác nhau. PEO là một hỗn hợp các hợp chất kém phân cực, do đó cần sử dụng nhiều PEO để tham gia tạo phức bọc với ß-CD. Từ đó, tỷ lệ PEO: cồn 28: 72 được chọn để khảo sát các yếu tố khác.

3.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ PEO/ß-CD (w/w) đến quá trình bao gói

Tỷ lệ lượng PEO cho vào để tạo phức với ß-CD (w/w) cũng cần được khảo sát. Nếu lượng PEO cho vào không thể đi hết vào các khoang ß-CD như mong muốn, gây tổn thất về PEO. Nếu lượng PEO quá ít cũng sẽ không tận dụng được hết khả năng chứa của ß-CD. Mặt khác, tinh dầu dễ bay hơi trong quá trình trộn, nhào và sấy mẫu. Do đó, các thí nghiệm thay đổi tỷ lệ PEO/ß-CD (w/w) được thực hiện. Các yếu tố khác được cố định: EtOH 96%, PEO: EtOH 28: 72, ß-CD: H_2O 70: 30 (w/w). Kết quả khảo sát được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng các tỷ lệ PEO/ß-CD (w/w) đến quá trình bao gói: (trái) hàm lượng PEO tổng và PEO bề mặt; (phải) hiệu suất và hiệu quả bao gói

Hàm lượng PEO tổng và bề mặt đều tăng khi tăng lượng PEO cho vào. Ở tỷ lệ PEO/ß-CD 2: 98 (w/w), hầu như không có mặt của PEO khi xác định PEO tổng và PEO bề mặt. Nguyên nhân do lượng PEO được thêm vào quá ít, bị bay hơi trong quá trình trộn mẫu và sấy mẫu. Ở tỷ lệ PEO/ß-CD 13: 87 (w/w), phức bọc thu được chứa hàm lượng PEO tổng và PEO bề mặt cao nhất. Khi tính hiệu suất và hiệu quả bao gói (Hình 4), ở tỷ lệ PEO/ß-CD 5: 95 (w/w) cho kết quả tốt nhất (91,34% và 65,27%). Khi càng tăng PEO, lượng PEO bề mặt cũng tăng, dẫn đến PEO tổng tăng theo. Điều này có thể được giải thích là do các khoang trống của ß-CD chỉ có thể chứa một lượng PEO nhất định, nên khi đó lượng PEO dư sẽ bám trên bề mặt phức, một phần sẽ bị bay hơi và phân hủy trong quá trình nhào, sấy. Trong phương pháp nhào, bột phức bọc thu được dưới dạng kết tụ, sau khi sấy cần được nghiền để thu được bột mịn đồng nhất [23]. Kết quả khảo sát cho thấy, khi lượng PEO càng tăng sẽ thu được sản phẩm bột vi nang mịn hơn. Điều này tương đồng với nghiên cứu của Elizei và cs (2014) [17]. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Dima và cs (2014) [24] khi tiến hành bao gói tinh dầu rau mùi với ß-CD, tỷ lệ hoạt chất/ß-CD 15: 85 (w/w) đạt hiệu quả bao gói cao nhất. Sự khác biệt trên có thể do thành phần và bản chất hóa học của tinh dầu rau mùi và bạc hà khác nhau và phương pháp tạo phức bọc khác nhau.

Như vậy, các yếu tố hóa học tham gia vào quá trình bao gói chứa PEO bằng phương pháp nhào: nồng độ ethanol, lượng PEO, ß-CD, H_2O và mối tương quan giữa các yếu tố này đã được đánh giá.

4. KẾT LUẬN

Ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát nồng độ ethanol, tỷ lệ β-CD/H_2O (w/w), tỷ lệ PEO/EtOH (w/w), tỷ lệ PEO/β-CD (w/w) lên khả năng bao gói của phức bọc là khác nhau. Cụ thể: (1) Ethanol 96% là nồng độ tối ưu để thu được hiệu quả bao gói cao nhất; (2) β-CD/H_2O (w/w) 70: 30 là tỷ lệ thích hợp để tạo hỗn hợp bột nhão tốt nhất: nếu lượng nước thêm vào quá ít sẽ không đủ để tạo bột nhão có độ đặc cao, nhưng nếu lượng nước quá nhiều sẽ ngăn cản sự tiếp xúc của PEO với β-CD; (3) Tỷ lệ PEO/EtOH (w/w) cũng ảnh hưởng đến khả năng bao gói của tinh dầu. Vì vậy, cần một lượng ethanol vừa đủ để hòa tan PEO và tỷ lệ PEO/EtOH thích hợp là 28: 72; (4) PEO/β-CD (w/w) 5:95 được chứng minh tối ưu nhất. β-CD có tiềm năng làm vật liệu bao gói, bảo vệ tinh dầu bạc hà khỏi các tác nhân xung quanh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Bảo Trâm, Nguyễn Thị Hiền, Trương Thị Chiên, Phan Xuân Bình Minh, Nguyễn Thị Thanh Mai, Hoàng Quốc Chính và Vũ Xuân Tạo (2021). Đánh giá thành phần hóa học và một số hoạt tính sinh học của tinh dầu cây Bạc hà (*Mentha arvensis* L.) trồng tại Việt Nam. *Bản B của Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, *63*(7).

2. A Farco, J., & Grundmann, O. (2013). Menthol-pharmacology of an important naturally medicinal "cool". *Mini reviews in medicinal chemistry*, *13*(1), 124-131.

3. Zhao, H., Ren, S., Yang, H., Tang, S., Guo, C., Liu, M., ... & Xu, H. (2022). Peppermint essential oil: Its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *154*, 113559.

4. Pandey, A. K., Rai, M. K., & Acharya, D. (2003). Chemical composition and antimycotic activity of the essential oils of corn mint (*Mentha arvensis*) and lemon grass (*Cymbopogon flexuosus*) against human pathogenic fungi. *Pharmaceutical Biology*, *41*(6), 421-425.

5. Mihajlov L., S. Kostadinovic-Velickovska, G. Naumova, P.V. Podea, H. Mirhosseini (2019). Isolation, chemical composition, antioxidant and antimicrobial potential of essential oil from *Mentha arvensis* L. organically planted from Macedonia. Rivista Italiana Sostanze Grasse. 96(3), pp.151-160.

6. Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, *12*(1), 40-53.

7. Marques, H. M. C. (2010). A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour and fragrance journal*, *25*(5), 313-326.

8. Baranauskienė, R., Bylaitė, E., Žukauskaitė, J., & Venskutonis, R. P. (2007). Flavor retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. *Journal of agricultural and food chemistry*, *55*(8), 3027-3036.

9. Neveu-Prin, S., Cabuil, V., Massart, R., Escaffre, P., & Dussaud, J. (1993). Encapsulation of [10] magnetic fluids. *Journal of magnetism and magnetic materials*, *122*(1-3), 42-45.

10. Bakan, J. A. (1975). Microcapsule drug delivery systems. *Polymers in Medicine and Surgery*, 213-235.

11. F. Gibbs, Selim Kermasha, Inteaz Alli, Catherine N. Mulligan, B. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International journal of food sciences and nutrition*, *50*(3), 213-224.

12. Cid-Samamed, A., Rakmai, J., Mejuto, J. C., Simal-Gandara, J., & Astray, G. (2022). Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food Chemistry*, 132467.

13. da Rocha Neto, A. C., da Rocha, A. B. D. O., Maraschin, M., Di Piero, R. M., & Almenar, E. (2018). Factors affecting the entrapment efficiency of *β*-cyclodextrins and their effects on the formation of inclusion complexes containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, *77*, 509-523.

14. Yan, Y., Zhao, X., Wang, C., Fang, Q., Zhong, L., & Wei, Q. (2022). Preparation, optimization, and characterization of inclusion complexes of *Cinnamomum longepaniculatum* essential oil in *β*-cyclodextrin. *Sustainability*, *14*(15), 9513.

15. Astray, G., Gonzalez-Barreiro, C., Mejuto, J. C., Rial-Otero, R., & Simal-Gandara, J. (2009). A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, *23*(7), 1631-1640.

16. Abarca, R. L., Rodriguez, F. J., Guarda, A., Galotto, M. J., & Bruna, J. E. (2016). Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing an essential oil component. *Food chemistry*, *196*, 968-975.

17. Elizei, P. S., & Krasaaekoopt, W. (2014). Microencapsulation of Litsea cubeba Essential Oil in β-Cyclodextrin Using Paste and Co-Precipitation Methods. *Agriculture and Natural Resources*, *48*(6), 893-907.

18. Padukka, I., Bhandari, B., & D'Arcy, B. (2000). Evaluation of various extraction methods of encapsulated oil from *β*-cyclodextrin-lemon oil complex powder. *Journal of food composition and analysis*, *13*(1), 59-70.

19. Bae, E. K., & Lee, S. J. (2008). Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. *Journal of microencapsulation*, *25*(8), 549-560.

20. Boonyarattanakalin, K., Viernstein, H., Wolschann, P., & Lawtrakul, L. (2015). Influence of ethanol as a co-solvent in cyclodextrin inclusion complexation: a molecular dynamics study. *Scientia pharmaceutica*, *83*(2), 387-399.

21. Bùi Quang Thuật (2010). Nghiên cứu công nghệ tạo hương liệu dạng bột từ Cyclodextrin. *Vietnam Journal of Science and Technology*, *48*(2).

22. Hồ Thị Hoàng Yến (2019). Khảo sát một số đặc tính hóa lý của phức bọc lutein - *beta* cyclodextrin điều chế bằng phương pháp đồng kết tủa, Luận văn Thạc sĩ Hóa học phân tích, Học viện Khoa học và Công nghệ.

23. Bhandari, B. R., D'Arc, B. R., & Thi Bich, L. L. (1998). Lemon oil to *β*-cyclodextrin ratio effect on the inclusion efficiency of *β*-cyclodextrin and the retention of oil volatiles in the complex. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(4), 1494-1499.

24. Dima, C., Cotarlet, M., Tiberius, B., Bahrim, G., Alexe, P., & Dima, S. (2014). Encapsulation of coriander essential oil in beta-cyclodextrin: Antioxidant and antimicrobial properties evaluation. *Romanian Biotechnological Letters*, *19*(2), 9128-9140.

MICROENCAPSULATION OF PEPPERMINT *(Mentha arvensis)* ESSENTIAL OIL USING BETA- CYCLODEXTRIN

Tran Thi Phuong Anh[1,*], Le My Kim Vuong[1], Tran Tuan Hung[1], Pham Ngoc Huynh Kha[1]

[1]Faculty of Food Technology Nha Trang University

[*]Email: anhttp@ntu.edu.vn

Summary

Mentha arvensis L. essential oil (*M. arvensis* EO) is widely used in various industries due to its high biological activities as well as the characteristic aroma at low concentrations. In this study, *M. arvensis* EO was prepared as microcapsules, using the paste method and *beta*-cyclodextrin as wall material, with the aim to improve the physicochemical properties of *M. arvensis* EO, thus allowing a wide range of its applications. Chemical factors that may affect the encapsulation efficiency, including alcohol, essential oil, ß-cyclodextrin, and water and their ratios (concentrations of the alcohol, EO/EtOH, EO/ß-cyclodextrin, ß-cyclodextrin/H_2O) were determined. At ethanol 96%, the ratio of EO: ß-cyclodextrin 5: 95 (w/w), EO: ethanol 25: 72 (w/w) and ß-cyclodextrin: water 9: 1 (w/w) gave an effective encapsulation formula for the *M. arvensis* EO, with about 65% of encapsulation efficiency. The final product will be considered as supplement bearing antimicrobial activity in aquaculture.

Keywords: *Beta-cyclodextrin, inclusion complexe, Mentha piperita L. essential oil, paste method.*

Người phản biện: TS. Huỳnh Tiến Đạt
Ngày nhận bài: 24/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 22/3/2023
Ngày duyệt đăng: 29/3/2023

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH CHẾ BIẾN MỨT ĐÔNG TỪ TRÁI MÃNG CẦU XIÊM (*Annona muricata* L.) VÀ CHANH DÂY (*Passiflora edulis*)

Đoàn Thị Kiều Tiên[1, *], Lê Thị Huyền Trân[1],
Huỳnh Thị Ngọc Mi[1], Huỳnh Xuân Phong[2], Nguyễn Ngọc Thạnh[2]

TÓM TẮT

Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* L.) và chanh dây (*Passiflora edulis*) là 2 loài cây có giá trị kinh tế cao, trái cây có vị chua ngọt, thơm, ngon và giá trị dinh dưỡng cao, được trồng phổ biến ở miền Nam, Việt Nam. Với mục đích tạo ra sản phẩm mới từ trái mãng cầu xiêm và chanh dây trong chế biến mứt đông từ đó góp phần đa dạng hóa sản phẩm, tận dụng triệt để nguồn nguyên liệu tại địa phương, tăng hiệu quả kinh tế trong nông nghiệp. Các khảo sát về tỷ lệ phối chế, các thông số như pH, °Brix, tỷ lệ pectin đã được thực hiện trong nghiên cứu này. Kết quả cho thấy, khi dùng 100 g dịch quả mãng cầu xiêm với tỷ lệ nước và chanh dây phối trộn vào là 75% và 15%, giá trị pH là 3,4 ở 32,5 °Brix, bổ sung 0,6% pectin vào quy trình sẽ tạo sản phẩm mứt đông có màu vàng sáng, đẹp, đạt giá trị cảm quan tốt nhất và đạt yêu cầu chất lượng theo TCVN 10393: 2014 về hàm lượng chất khô, pH cũng như đạt các yêu cầu về tổng số vi sinh vật hiếu khí, tổng số nấm men, nấm mốc và *Coliforms* theo QCVN 8-3: 2012/BYT.

Từ khóa: *Annona muricata L., chanh dây, mãng cầu xiêm, mứt đông, Passiflora edulis.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, đất đai phù sa màu mỡ, thuận lợi cho việc trồng và phát triển cây trái. Vào mùa thu hoạch, trái cây chín rộ trong khoảng thời gian ngắn, dẫn đến tình trạng trái cây dư thừa làm giảm giá thành, hiệu quả kinh tế giảm đáng kể. Chính vì lý do đó mà việc phát triển công nghệ sau thu hoạch và chế biến cần được quan tâm nhiều hơn. Trong đó, mứt đông từ trái cây cũng là một dạng sản phẩm chế biến được sử dụng phổ biến sử dụng nguyên liệu từ nhiều loại trái cây khác nhau. Mứt đông được làm từ thịt của một loại quả hoặc có thể được chế biến bằng cách trộn thịt hoặc nước của từ 2 loại quả trở lên [1].

Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* L.) có giá trị dinh dưỡng cao, được trồng nhiều ở các nước Nam Mỹ và Ấn Độ nhưng có tới 60% tổn thất sau thu hoạch [2]. Ở Việt Nam, mãng cầu xiêm được trồng nhiều ở các tỉnh miền Nam, do quả chín nhanh, thời gian bảo quản ngắn, trái chín dễ dập và hư hỏng nên khó vận chuyển dẫn đến giá không ổn định khi vào mùa vụ. Chanh dây (*Passiflora edulis*) được lựa chọn làm nguyên liệu phối chế trong chế biến mứt đông nhằm tạo ra sản phẩm có chất lượng hiệu quả hơn về màu sắc cũng như mùi vị. Không những thế, quả chanh dây còn có giá trị dinh dưỡng và y học cao …[3]. Nghiên cứu quy trình chế biến mứt đông từ trái mãng cầu xiêm và chanh dây nhằm mục đích đa dạng hóa sản phẩm, tận dụng triệt để nguồn nguyên liệu có sẵn tại địa phương, tạo ra sản phẩm mới cho quả mãng cầu xiêm và chanh dây.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Mãng cầu xiêm được thu mua tại vườn ở xã Vĩnh Quới (thị xã Ngã Năm, Sóc Trăng), lựa chọn quả vừa chín mềm, khoảng 1 - 3 kg/trái với gai to và đều. Chanh dây được mua tại Bách hóa Xanh Cần Thơ (quả có màu tím sậm, đồng đều, khoảng

[1] Khoa Công nghệ sinh học - Công nghệ hóa học - Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ
[2] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[*]Email: dtktien@ctuet.edu.vn

10 - 12 quả/kg). Đường sucrose là sản phẩm thương mại từ Công ty Đường Biên Hòa (Đồng Nai) và pectin từ Công ty TNHH Cemaco Việt Nam (Hà Nội).

Mãng cầu xiêm được rửa để loại bỏ tạp chất bám trên bề mặt, sau đó bóc vỏ, bỏ hạt và cùi lấy phần thịt đem xay bằng máy xay (Philips HR2118). Chanh dây sau khi thu mua được rửa sạch bề mặt bên ngoài, cắt đôi lấy phần thịt quả bên trong cho qua rây để tách riêng phần dịch quả và hạt, thu lấy dịch quả. Thịt mãng cầu xiêm xay nhuyễn và dịch nước chanh dây được sử dụng phối trộn cho các thí nghiệm trong nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Quy trình tổng quát: Mãng cầu xiêm, chanh dây→ phân loại, rửa → xử lý sơ bộ → phối chế → cô đặc đến 60 - 65°Brix → sản phẩm.

2.2.1. Khảo sát tỷ lệ nước, chanh dây bổ sung vào dịch mãng cầu xiêm

Sử dụng 100 g thịt quả mãng cầu xiêm cho mỗi thí nghiệm, nghiên cứu tỷ lệ nước bổ sung lần lượt là 50%, 75% và 100%, tỷ lệ chanh dây lần lượt là 10%, 15% và 20% so với khối lượng thịt quả mãng cầu. Mẫu được điều chỉnh về 32,5°Brix, pH 3,4 và 0,6% pectin. Cô đặc được thực hiện ở nhiệt độ 85^{0}C đến khi nồng độ chất khô hoà tan sản phẩm cuối đạt 65°Brix. Theo dõi chỉ tiêu màu sắc bằng máy đo màu sắc (Colorlite sph870). Cấu trúc sản phẩm được xác định bằng máy đo cấu trúc TMS - Pro, sử dụng đầu dò hình trụ, mứt đông được rót vào hũ với độ dày 3 cm, vị trí đo là trung tâm của hũ mứt. Cảm quan sản phẩm được đánh giá theo tiêu chuẩn TCVN 3215-79 [4].

2.2.2. Khảo sát hàm lượng đường bổ sung và giá trị pH

Sử dụng tỷ lệ nước, chanh dây được lựa chọn ở thí nghiệm trên. Bố trí khảo sát hàm lượng chất khô hòa tan ban đầu lần lượt là 30°Brix, 32,5°Brix và 35°Brix, pH là 3,2, 3,4 và 3,6. Cố định tỷ lệ pectin 0,6%, cô đặc ở nhiệt độ 85^{0}C đến khi nồng độ chất khô hoà đạt 65°Brix. Theo dõi các chỉ tiêu cấu trúc, màu sắc, °Brix, giá trị pH và cảm quan sản phẩm tương tự thí nghiệm 2.2.1.

2.2.3. Khảo sát tỷ lệ pectin bổ sung vào trong sản phẩm

Hàm lượng pectin bổ sung vào được khảo sát lần lượt là 0,4%, 0,6%, 0,8% và 1% so với khối lượng dịch quả đã phối chế để có thể thu được sản phẩm có cấu trúc phù hợp với hướng nghiên cứu. Cô đặc ở nhiệt độ 85^{0}C đến khi nồng độ chất khô hoà tan đạt 65°Brix, các tỷ lệ pectin bổ sung vào giai đoạn 5 phút cuối trước khi kết thúc quá trình cô đặc. Theo dõi các chỉ tiêu cấu trúc, cường độ màu vàng, Brix, giá trị pH và đánh giá cảm quan sản phẩm tương tự thí nghiệm 2.2.1. Ngoài ra, sản phẩm còn được đánh giá các chỉ tiêu về hoá lý và vi sinh vật.

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và hân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphics XVI.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các chỉ số ban đầu của mãng cầu xiêm và chanh dây

Bảng 1. Các chỉ số ban đầu của nguyên liệu

Chỉ tiêu	Hàm lượng*	
	Mãng cầu xiêm	Chanh dây
pH	3,62 ± 0,03	2,95± 0,13
Hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix)	15,18 ± 0,22	14,15 ± 0,52
Hàm lượng đường tổng (%)	12,04 ± 0,50	10,11 ± 0,18
Hàm lượng đường khử (%)	6,65 ± 0,13	5,13 ± 0,35
Vitamin C (mg%)	21,72 ± 0,01	28,18 ± 0,50
Hàm lượng ẩm (%)	84,30 ± 0,56	85,53 ± 0,55

Ghi chú: (*) Số liệu trung bình của 3 lần lặp lại

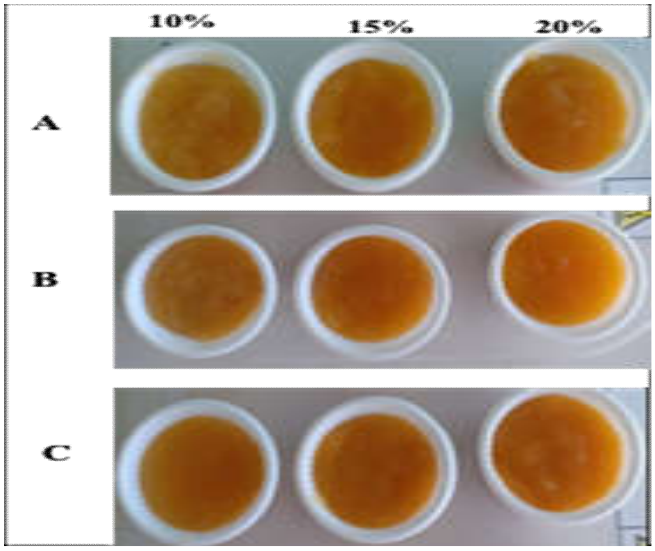
Nguyên liệu có ý nghĩa rất lớn trong quá trình chế biến mứt đông. Chất lượng mứt phần lớn do nguyên liệu quyết định, chất lượng nguyên liệu càng tốt sẽ cho ra sản phẩm có chất lượng cao. Kết quả phân tích các thành phần nguyên liệu ban đầu được trình bày ở bảng 1. Kết quả phân tích thành phần của quả mãng cầu xiêm và chanh dây cho thấy, pH của 2 nguyên liệu nằm trong khoảng từ 2,9 - 3,6, phù hợp với quá trình tạo đông của mứt do pectin tạo đông tốt trong môi trường axit có pH trong khoảng từ 2,8 - 3,5 [5]. Hàm lượng chất khô hòa tan của mãng cầu xiêm và chanh dây lần lượt là 15,18 ± 0,22°Brix và 14,15 ± 0,52°Brix, do đó hàm lượng đường cần bổ sung vào trong mứt đông không cần cao. Ngoài ra, nguyên liệu còn có hàm lượng vitamin C ở mức 21,72 ± 0,01 mg% và 28,18 ± 0,50 mg%, cần lựa chọn nhiệt độ phù hợp khi chế biến để giảm sự phân huỷ của vitamin C.

Khối lượng mãng cầu xiêm thu được sau khi loại bỏ phụ phẩm là khoảng 70% so với nguyên liệu, thể tích nước chanh dây thu được khoảng 30% so với nguyên liệu ban đầu. Hàm lượng thịt mãng cầu khá cao nên cần bổ sung thêm tỷ lệ nước phù hợp cho hỗn hợp chanh dây mãng cầu để đạt được sản phẩm tối ưu nhất. Theo đó thì khối lượng trái cây cần thiết để tạo ra 1 kg thành phẩm tối thiểu phải là 350 g và hàm lượng thịt trái để sản xuất "mứt phụ" không được ít hơn 450 g trên 1 kg thành phẩm [6].

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước và chanh dây bổ sung vào dịch quả mãng cầu xiêm

Để sản phẩm có chất lượng cảm quan tốt nhất về màu sắc, cấu trúc, mùi, vị nhưng vẫn đảm bảo giá trị dinh dưỡng thì cần sự phối trộn tốt về tỷ lệ giữa các thành phần nguyên liệu trong quá trình chế biến. Màu sắc là một trong những yếu tố quan trọng đối với sản phẩm mứt đông, màu sắc được ưa thích thường là màu sáng, không quá sẫm màu. Khi bổ sung đường càng cao, dưới tác dụng của nhiệt độ dễ làm cho sản phẩm sẫm màu.

Tỷ lệ nước và chanh dây càng tăng thì giá trị cường độ màu vàng, giá trị b* (biểu thị sự thay đổi màu từ xanh dương đến vàng) càng tăng, giá trị độ sáng L* (thay đổi theo thang từ 0 - 100, màu từ tối sang sáng) giảm cho thấy, khi bổ sung nước càng nhiều thời gian cô đặc kéo dài dẫn đến sản phẩm có màu sậm lại (Hình 1). Tỷ lệ nước bổ sung 100% cho hỗn hợp trạng thái lỏng thời gian cô đặc kéo dài 16 - 18 phút, dưới tác dụng của nhiệt độ cao kéo dài hiện tượng caramel hóa xảy ra dẫn đến sản phẩm có màu vàng sậm. Ngược lại, với tỷ lệ nước bổ sung 50% hỗn hợp trạng thái đặc sệt khi cô đặc thời gian rút ngắn khoảng 10 - 12 phút, tuy nhiên sản phẩm tạo ra có màu vàng nhạt nhận được đánh giá cảm quan thấp về mùi vị. Trong khi đó, với tỷ lệ nước và chanh dây 75% và 15% tạo hỗn hợp có trạng thái phù hợp cho quá trình cô đặc, sau cô đặc cho sản phẩm có màu vàng đặc trưng màu của chanh dây và nhận được sự yêu thích với điểm cảm quan màu sắc 4,85 điểm tương ứng với giá trị L* là 28,79 và giá trị b* là 12,53. Ngoài ra, cảm quan về mùi vị ở nghiệm thức 75% và 15% cũng đạt kết quả cao nhất so với các nghiệm thức còn lại lần lượt là 4,10 và 4,70. Cấu trúc được xác định bằng việc đo độ cứng lực N cho kết quả không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, có thể thấy rằng với tỷ lệ nước bổ sung 50%, 75%, 100% và tỷ lệ chanh dây 10%, 15%, 20% ảnh hưởng không đáng kể đến cấu trúc của sản phẩm.



Hình 1. Màu sắc của sản phẩm sau cô đặc với tỷ lệ chanh dây bổ sung lần lượt 10%, 15% và 20% theo tỷ lệ nước

(A: 50% nước được bổ sung; B: 75% nước được bổ sung; C. 100% nước được bổ sung)

Kết quả cảm quan về màu sắc, mùi, vị, trạng thái mứt đông mãng cầu xiêm và chanh dây cho thấy khi sử dụng 100 g mãng cầu xiêm với tỷ lệ phối trộn nước và chanh dây là 75% và 15% cũng

như 75% và 20% có điểm cảm quan cao nhất, không có sự khác biệt ý nghĩa ở mức 5%. Vì vậy, tỷ lệ chanh dây bổ sung là 15% được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước và chanh dây đến màu sắc, mùi vị sản phẩm

Tỷ lệ bổ sung (%)		Giá trị đo lường			Đánh giá cảm quan			
Nước	Chanh dây	b*	L*	Độ cứng (N)	Màu sắc	Cấu trúc	Mùi	Vị
50	10	$7,76^{f}$	$29,92^{a}$	$2,14^{a}$	$3,25^{e}$	$3,25^{d}$	$3,25^{b}$	$4,53^{ab}$
	15	$9,02^{e}$	$30,33^{a}$	$2,05^{a}$	$3,7^{cd}$	$3,5^{cd}$	$3,40^{b}$	$4,45^{abc}$
	20	$10,83^{d}$	$30,09^{a}$	$2,13^{a}$	$4,25^{b}$	$4,05^{b}$	$3,15^{b}$	$4,15^{c}$
75	10	$8,97^{e}$	$28,90^{a}$	$2,13^{a}$	$3,45^{de}$	$4,05^{b}$	$2,55^{c}$	$4,15^{c}$
	15	$12,53^{c}$	$28,79^{a}$	$2,12^{a}$	$4,85^{a}$	$4,7^{a}$	$4,10^{a}$	$4,70^{a}$
	20	$13,86^{b}$	$27,84^{a}$	$2,07^{a}$	$4,35^{b}$	$4,6^{a}$	$3,95^{a}$	$4,60^{a}$
100	10	$10,73^{d}$	$21,00^{b}$	$2,13^{a}$	$3,85^{c}$	$3,05^{ab}$	$2,30^{c}$	$4,45^{abc}$
	15	$14,47^{b}$	$21,63^{b}$	$2,06^{a}$	$3,85^{c}$	$3,45^{cd}$	$2,50^{c}$	$4,25^{bc}$
	20	$16,83^{a}$	$19,96^{b}$	$2,12^{a}$	$3,6^{cde}$	$3,6^{c}$	$3,35^{b}$	$4,50^{ab}$

Ghi chú: Số liệu trung bình của 3 lần lặp lại, các chữ cái giống nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt không ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5%.

3.3. Ảnh hưởng hàm lượng chất khô hòa tan và giá trị pH

Hàm lượng chất khô hòa tan là thông số quan trọng trong chế biến mứt, để kết thúc quá trình chế biến sản phẩm phải đạt được 60 - 65°Brix [7]. Hàm lượng chất khô hòa tan và giá trị pH ảnh hưởng rất lớn đến vị của sản phẩm, điểm cảm quan theo TCVN 3215-79 [4] (Bảng 3). Với hàm lượng chất khô hoà tan 30°Brix và pH 3,2 cho sản phẩm có vị khá chua (2,42 điểm) và độ chua giảm dần khi tăng pH lên 3,4 và 3,6, tuy nhiên điểm cảm quan về vị vẫn còn ở mức thấp với 3,25 và 3,30 điểm. Nghiệm thức 35°Brix cho sản phẩm có vị quá ngọt và điểm cảm quan trong khoảng 2,80 - 3,40 điểm. Hàm lượng 32,5°Brix cho điểm cảm quan về vị cao nhất ở pH 3,4 là 4,70 điểm, cảm quan về mùi là 4,11 điểm, sản phẩm cuối cùng có vị chua và ngọt tương ứng pH 3,63 và 65,67°Brix.

Bảng 3. Ảnh hưởng °Brix và pH đến sản phẩm

Ban đầu		Sau khi cô đặc		Giá trị đo lường			Đánh giá cảm quan			
°Brix	pH	°Brix	pH	b*	L*	Độ cứng (N)	Màu sắc	Cấu trúc	Mùi	Vị
30	3,2	$59,00^{d}$	$3,47^{c}$	$11,50^{c}$	$29,49^{a}$	$1,87^{c}$	$4,55^{a}$	$4,45^{a}$	$3,20^{b}$	$2,45^{e}$
	3,4	$58,33^{d}$	$3,66^{a}$	$12,30^{bc}$	$29,19^{a}$	$1,75^{b}$	$4,60^{a}$	$4,50^{a}$	$3,36^{b}$	$3,25^{c}$

	3,6	59,00^{d}	3,84^{b}	11,99^{bc}	28,65^{a}	1,49^{a}	4,60^{a}	3,45^{c}	3,38^{b}	3,30^{c}
32,5	3,2	64,33^{c}	3,46^{c}	13,15^{b}	28,20^{ab}	2,17^{d}	4,55^{a}	4,45^{a}	2,32^{c}	4,30^{b}
	3,4	65,67^{bc}	3,63^{a}	13,02^{b}	27,96^{ab}	2,18^{d}	4,55^{a}	4,65^{a}	4,11^{a}	4,70^{a}
	3,6	66,00^{b}	3,82^{b}	13,22^{b}	25,93^{bc}	1,95^{c}	4,55^{a}	3,80^{bc}	3,99^{a}	4,35^{ab}
35	3,2	67,67^{a}	3,44^{c}	16,71^{a}	25,15^{c}	2,42^{e}	4,25^{ab}	4,45^{a}	2,38^{c}	3,40^{c}
	3,4	68,00^{a}	3,66^{a}	16,61^{a}	24,37^{c}	2,46^{e}	4,15^{b}	4,55^{a}	2,52^{c}	2,80^{de}
	3,6	66,67^{ab}	3,82^{b}	17,13^{a}	23,93^{c}	2,24^{d}	4,00^{b}	4,00^{b}	3,40^{b}	3,15^{cd}

Ghi chú: (*) Số liệu trung bình của 3 lần lặp lại, các chữ cái giống nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt không ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5%.

Đường có vai trò quan trọng trong sản xuất mứt ảnh hưởng đến cấu trúc, độ ngọt và tính chất tạo gel của sản phẩm, khi kết hợp với pectin thúc đẩy quá trình tạo đông của mứt. Bên cạnh đó, đường cũng ảnh hưởng đến sự ổn định của betacyanin trong trong mứt và có tiềm năng làm tăng sự ổn định của betacyanin [8]. Hàm lượng chất khô hoà tan ban đầu của mãng cầu xiêm và chanh dây lần lượt là 15,18 và 14,15, khó đạt được °Brix trong sản phẩm sau theo chuẩn, vì vậy cần bổ sung thêm hàm lượng đường nhất định. Hàm lượng đường được bổ sung vào ở mức 30°Brix và 32,5°Brix tạo ra sản phẩm đạt tiêu chuẩn về °Brix sau khi cô đặc trong sản phẩm (59,00 - 66,00°Brix), tuy nhiên ở mức độ 32,5°Brix thì cấu trúc sản phẩm đạt độ sệt phù hợp, tương ứng với giá trị đo độ cứng lực N trong khoảng 1,95 - 2,17 N.

Giá trị b* tăng dần khi hàm lượng chất khô hoà tan tăng, ngược lại thì giá trị L* bị giảm do khi bổ sung đường succroza càng nhiều trong môi trường pH thấp và gia nhiệt đường không khử bị thủy phân thành đường khử glucoza và fructoza [7]. Lượng đường này dễ bị caramel hóa khi nồng độ càng cao. Cụ thể, giá trị L* giảm từ 29,19 xuống 23,93 thì màu của sản phẩm bị sậm lại và điểm cảm quan về màu sắc tương ứng là 4,55 giảm xuống 4,00. Trong nghiên cứu tương đồng, màu của mứt đông bình bát đậm dần khi °Brix tăng (giá trị L* giảm) trong cùng một giá trị pH. Ở pH 3,0 giá trị L* giảm từ 15,48 còn 13,77, pH 3,2 giá trị L* giảm từ 10,69 còn 4,44 và pH 3,4 giá trị L* giảm từ 8,85 xuống còn 4,60 [9].

Việc bổ sung các loại đường ở mức độ khác nhau trong quá trình chế biến mứt cũng sẽ ảnh hưởng đến việc giảm hàm lượng đạm, chất béo, tro và nước trong sản phẩm. Điều này là do đường có chứa glucose, trong đó glucose là một trong những hợp chất cấu thành của polymer carbohydrate [10] dẫn đến làm giảm protein, chất béo, tro, nước nhưng tăng mức độ carbohydrate trong sản phẩm [11]. Các kết quả ở bảng 3 cho thấy, ở 32,5°Brix và pH 3,4 được đánh giá cao về cảm quan về vị, cấu trúc và màu sắc, sản phẩm đạt Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10393: 2014 với hàm chất khô hoà tan của sản phẩm là 60 - 65°Brix và pH là 3,5 - 4,6 [12].

3.4. Ảnh hưởng tỷ lệ pectin bổ sung vào sản phẩm

Cấu trúc của sản phẩm tỷ lệ thuận với tỷ lệ pectin bổ sung vào trong mứt có sự khác biệt có ý nghĩa với mức ý nghĩa 5% (Bảng 4). Ở tỷ lệ pectin 0,4%, mứt đông có trạng thái lỏng với điểm cảm quan cấu trúc đạt 4,40 điểm với giá trị N là 1,47. Tuy nhiên, độ đông đặc tăng dần lên, ở tỷ lệ pectin 1% là giá trị đo độ cứng 2,81 N, điểm cảm quan cấu trúc là 3,25 thì pectin đóng vai trò chính trong việc tạo đông của sản phẩm. Tỷ lệ pectin bổ sung 0,6%

được đánh giá cảm quan cao về cấu trúc (4,65 điểm) tương ứng kết quả 2,05 N. Tỷ lệ pectin cho vào trong mứt phải phù hợp, nếu bổ sung pectin nhiều làm mứt đông khô cứng làm mất giá trị cảm quan.

Bảng 4. Ảnh hưởng tỷ lệ pectin đến sản phẩm

Tỷ lệ pectin (%)	Giá trị đo lường			Cảm quan			
	b*	L*	Độ cứng (N)	Màu sắc	Cấu trúc	Mùi	Vị
0,4	12,06^{a}	26,41^{b}	1,47^{a}	4,45^{a}	4,40^{a}	4,50^{a}	4,40^{a}
0,6	11,54^{a}	26,73^{b}	2,05^{b}	4,45^{a}	4,65^{a}	4,40^{a}	4,45^{a}
0,8	11,45^{a}	28,37^{ab}	2,47^{c}	4,45^{a}	3,90^{b}	4,45^{a}	4,50^{a}
1	11,77^{a}	29,50^{a}	2,81^{d}	4,30^{a}	3,25^{c}	4,30^{a}	4,35^{a}

Ghi chú: Số liệu trung bình của 3 lần lặp lại, các chữ cái giống nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt không ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5%.

Giá trị cảm quan về màu sắc và giá trị b* đều không có sự khác biệt ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% đối với các tỷ lệ khác nhau của pectin bổ sung vào. Thêm vào đó, điểm đánh giá cảm quan cũng tương đương nhau trong khoảng 4,30 - 4,45, qua đó có thể thấy, tỷ lệ pectin thêm vào không ảnh hưởng đến màu sắc và mùi vị của sản phẩm. Tuy nhiên, màu sản phẩm sáng hơn khi tăng tỷ lệ pectin từ 0,4 - 1% được thể hiện qua giá trị L* tăng từ 26,41 - 29,50. Kết quả cho thấy, tỷ lệ pectin sử dụng là 0,6% là phù hợp. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Đặng Thị Yến và Nguyễn Văn Tuấn (2017) [13].

3.5. Chất lượng sản phẩm

Mãng cầu xiêm xay nhuyễn được bổ sung 75% nước, 15% nước chanh dây, điều chỉnh về 32,5°Brix pH 3,4 và bổ sung pectin với tỷ lệ 0,6%. Sản phẩm sau khi cô đặc đạt các chỉ tiêu về vi sinh theo QCVN 8-3: 2012/BYT [14], các chỉ tiêu hoá học theo TCVN 10393: 2014 [12], ngoài ra giá trị cảm quan cũng đánh giá tốt, mang lại một sản phẩm tiềm năng cho ngành công nghệ thực phẩm.

Sản phẩm mứt đông mãng cầu xiêm, chanh dây có hàm lượng đường tổng số 69,78 ± 0,03% (Bảng 5), hàm lượng vitamin C giảm so với nguyên liệu ban đầu do vitamin C là thành phần dễ bị biến đổi dưới tác dụng của nhiệt độ nên vitamin C bị thất thoát. Tuy nhiên, với nhiệt độ cô đặc ở 85^{0}C đến khi nồng độ chất khô hoà tan đạt 65°Brix, hàm lượng vitamin C còn lại trong khoảng 5,90 ± 1,02 mg%. Sản phẩm cuối có hàm lượng chất khô hòa tan 66,00 ± 0,82°Brix và pH 3,64, cả 2 giá trị đều đạt chỉ tiêu về chất lượng sản phẩm của mứt đông theo TCVN 10393: 2014 [12]. Mứt mãng cầu được báo cáo có hàm lượng protein thô là 1,17 g/100 g, hàm lượng ẩm và năng lượng cao lần lượt là 42,77 g/100 g và 227,91 Kcal/KJ, hàm lượng chất béo thấp ở mức 0,19 g/100 g và chứa các hàm lượng khoáng chất thiết yếu cho cơ thể [15].

Kết quả đánh giá cảm quan được trình bày ở bảng 5 cho thấy, màu sắc của mứt đông đạt 96% (4,8/5,0 điểm), mùi đạt 92% (4,6/5,0 điểm), vị đạt 96% (4,8/5,0 điểm), cấu trúc đạt 94% (4,7/5,0 điểm). Dựa vào bảng xếp loại chất lượng theo tiêu chuẩn TCVN 3215-79 [4], sản phẩm có điểm chung là 19,08 (nằm trong khoảng yêu cầu 18,6 - 20,0) và vị có điểm trung bình 4,8 lớn hơn yêu cầu là 4,7 sản phẩm được xếp loại tốt.

Bảng 5. Đánh giá cảm quan mứt đông mãng cầu xiêm - chanh dây

Chỉ tiêu chất lượng	Điểm của các thành viên										Tổng điểm	Điểm trung bình	Hệ số quan trọng	Điểm có khối lượng
	A	B	C	D	E	F	G	H	K	L				
Màu sắc	5	5	4	5	4	5	5	5	5	5	48	4,8	1,2	5,76
Mùi	4	4	5	4	5	5	5	5	5	4	46	4,6	0,4	1,84
Vị	5	5	5	5	5	5	5	4	4	5	48	4,8	2,0	9,60
Cấu trúc	4	5	5	5	5	5	5	4	4	5	47	4,7	0,4	1,88
Tổng điểm chung													4,0	19,08

Sản phẩm mứt đông mãng cầu xiêm chanh dây được kiểm nghiệm các chỉ tiêu vi sinh tại Trung tâm Chất lượng Nông lâm thủy sản vùng 6 và kết quả được tổng hợp ở bảng 6. Kết quả cho thấy, tổng số bào tử, tổng số nấm men và nấm mốc, tổng số *Coliforms* đều đạt theo tiêu chuẩn QCVN 8-3: 2012/BYT [14].

Bảng 6. Đánh giá chất lượng mứt đông mãng cầu xiêm - chanh dây

Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Tiêu chuẩn	Kết quả	Nhận xét
Độ Brix	°Bx	60 - 65	66,00 ± 0,82	Đạt
pH	-	3,5 - 4,6	3,64 ± 0,03	Đạt
Hàm lượng vitamin C	mg %	-	5,90± 1,02	Tự công bố
Hàm lượng đường khử	%	-	12,97± 0,58	
Hàm lượng đường tổng số	%	-	69,78 ± 0,03	
Tổng số nấm men/nấm mốc	CFU/g	10^2	1,0 x 10^2	Đạt
Coliforms	CFU/g	10	<10	Đạt
Tổng số vi sinh vật hiếu khí	CFU/g	10^4	2,5 x 10^3	Đạt

Trái cây có chứa hàm lượng lớn các hợp chất sinh học có lợi cho sức khoẻ. Ngày nay, các sản phẩm từ hỗn hợp các loại trái cây, hay rau củ khác nhau ngày càng phát triển [16]. Do đó, có thể thấy việc phối trộn các loại trái cây khác nhau trong quy trình sản xuất thực phẩm ngoài việc tận dụng được các nguồn trái cây tự nhiên, mà còn nâng cao chất lượng sản phẩm, tăng hàm lượng các hợp chất chống oxy hoá hay các khoáng chất có ích cho cơ thể. Trong nghiên cứu này, mứt được phối trộn từ chanh dây và mãng cầu tạo ra sản phẩm đạt tiêu chuẩn có màu sắc vàng tươi bắt mắt, sản phẩm còn có chứa hàm lượng vitamin C và được đánh giá cảm quan tốt.

4. KẾT LUẬN

Kết hợp trái mãng cầu xiêm và trái chanh dây trong quy trình chế biến mứt đông góp phần đa dạng hóa các sản phẩm mứt đông từ trái cây. Sản xuất mứt đông trong nghiên cứu này với tỷ lệ phối trộn nước và chanh dây là 75% và 15% vào 100 g mãng cầu xiêm với hàm lượng chất khô hòa tan và pH ban đầu được lựa chọn là 32,5°Brix và 3,4. Sản phẩm mứt đông có màu vàng sáng, đẹp, có cấu trúc phù hợp, mùi thơm đặc trưng, vị chua ngọt hài hòa và đạt được yêu cầu chất lượng theo chuẩn về cảm quan, vi sinh cũng như hoá học. Ngoài ra, sản phẩm còn có chứa hàm lượng vitamin C là 5,90 ± 1,02 mg%. Nghiên cứu góp phần bổ sung thêm nguồn sản phẩm trong ngành công nghệ thực phẩm cũng như tạo ra hướng đi mới cho việc kết hợp các loại trái cây trong công nghệ chế biến.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Awulachew M. (2021). Fruit jam production. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, 10(4): 532-537. doi:10.19070/2326-3350-2100092.

2. Espinosa I., Ortiz R. I., Tovar B., Mata M., Momtalvo E. (2013). Physiological and physicochemical behavior of soursop fruit refrigerated with 1-methylcyclopropene. *Journal of Food Quality*, 36 (1), 10 - 20. doi: 10.1111/jfq.120110.

3. Jena S. (2013). Development of a preserved product from underutilized passion fruit and evaluation of consumer acceptance. *Journal of Food Research and Technology*, 1(1), 11 - 20.

4. Tiêu chuẩn Việt Nam 3215 - 79. Sản phẩm thực phẩm phân tích cảm quan: Phương pháp cho điểm.

5. Nguyễn Văn Tiếp, Quách Đỉnh, Nguyễn Văn Thoa (2008). *Bảo quản và chế biến rau quả*. Nxb Hà Nội.

6. Javanmard M., Endan J. (2010). A survey on rheological properties of fruit jams. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 1(1): 31-37. doi: 10.7763/IJCEA.2010.V1.6.

7. Nguyễn Văn Tiếp, Quách Đỉnh, Ngô Mĩ Văn (2000). *Kỹ thuật sản xuất đồ hộp, rau quả*. Nxb Thanh niên.

8. Pamungkas M. S., Rahayuningsih E., Kusumastuti Y. (2020). Effect of glucose, sucrose, and lactose solution on the stability of betacyanin pigment from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peels. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 572: 012014. doi: 10.1088/1755-1315/572/1/012014.

9. Trịnh Thị Tú Quyên (2019). Nghiên cứu quy trình sản xuất mứt đông từ quả bình bát. Khóa luận tốt nghiệp Đại học. Trường Đại học Trà Vinh.

10. Prentice A. (2015). Carbohydrates and Health. London: Scientific Advisory Committee on Nutrition.

11. Nissa C., Arifan F., Febrianto R., Aditya W., Dwimawanti I. H., Widyasmara R. P. (2019). Effect of sugar on nutrient composition and shelf life of red guava jams. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 406: 012027. doi: 10.1088/1755-1315/406/1/012027.

12. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10393: 2014. Mứt nhuyễn, mứt đông, mứt từ quả có múi.

13. Đặng Thị Yến, Nguyễn Văn Tuấn (2017). Nghiên cứu sử dụng đài hoa bụt giấm trong sản xuất mứt đông từ dâu tây. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 13 (1), 111 - 120.

14. Bộ Y tế (2012). Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 8-3: 2012/BYT đối với ô nhiễm vi sinh trong thực phẩm.

15. Okudu H. O., Umahi C. F. (2017). Nutrients, phys-icochemical and sensory attributes of jams produced from soursop and pawpaw pulp. *International Journal of Food and Nutrition Research*, 1: 7.

16. Awolu O. O., Okedele G. O., Ojewumi M. E., Oseyemi F. G. (2018). Functional jam production from blends of banana, pineapple and watermelon pulp. *International Journal of Food Science*, 3(1): 7-14. doi: 10.11648/j.ijfsb.20180301.12.

A COMBINATION OF SOURSOP (*Annona muricata* L.) AND PASSION JUICE (*Passiflora edulis*) IN JAM-MAKING PROCESS

Doan Thi Kieu Tien, Le Thi Huyen Tran,
Huynh Thi Ngoc Mi, Huynh Xuan Phong, Nguyen Ngoc Thanh

Summary

Soursop (*Annona muricata* L.) and passion fruit (*Passiflora edulis*) are tropical fruits with good taste and high nutrative values which popularily grown in South of Vietnam. This study aimed to to study the mixing ratio of water and passion juice, pH value, soluble solids content, and pectin to produce high quality soursop and passion jam. The results show that the water and passion juice ratio is 75% and 15% needed to add to the crushed soursop flesh. The product with pH value of 3.4 and total soluble solids content of 32.5 Brix were selected for processing soursop-passion jam to give a bright yellow color and high sensory value. Besides, the process is supplemented with pectin at the rate of 0.6% to achieve the appropriate state and structure. Soursop jam is good at sensory evaluation according to TCVN 3215-79, and the sugar content and pH of the product meet TCVN 10393: 2014. In addition, the criteria of total microorganism aerobic, total yeasts, molds, and *Coliforms* also meet QCVN 8-3: 2012/BYT.

Keywords: *Annona muricata L., jam process, passion fruit, Passiflora edulis, soursop.*

Người phản biện: TS. Trương Quang Bình
Ngày nhận bài: 02/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 28/3/2023
Ngày duyệt đăng: 4/4/2023

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA DẠNG VÀ TỶ LỆ KHOAI LANG TÍM BỔ SUNG ĐẾN HÀM LƯỢNG CÁC CHẤT CHỐNG OXY HÓA CỦA ĐẬU HŨ

Trần Minh Phúc[1,*], Nguyễn Thị Mai Xuân[1],
Nguyễn Hoàng Minh Yến[1], Dương Thị Phượng Liên[2], Hà Thanh Toàn[2]

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu là đánh giá khả năng bổ sung Khoai lang tím (KLT) vào quy trình sản xuất đậu hũ truyền thống nhằm nâng cao giá trị dinh dưỡng, hàm lượng các hoạt chất chống oxy hóa và góp phần đa dạng các sản phẩm đậu hũ trên thị trường. Đã khảo sát ảnh hưởng của dạng KLT sử dụng (bột khoai, khoai hấp và dịch khoai) và tỷ lệ KLT bổ sung (1,6, 2,4, 3,2 và 4,0 g ck) thông qua đánh giá hàm lượng các hoạt chất chống oxy hóa (hàm lượng phenolic tổng số (TPC), flavonoid tổng số (TFC), hàm lượng anthocyanin và khả năng loại gốc tự do DPPH thông qua giá trị IC_{50} của đậu hũ bổ sung KLT. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi sử dụng KLT ở dạng dung dịch với tỷ lệ bổ sung 3,2 g ck làm gia tăng đáng kể hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học, bao gồm: TPC (36,16 mg GAE/g), TFC (7,19 mg QE/g), anthocyanin (298,06 µg/g) và khả năng loại gốc tự do DPPH (26,26 µmol TE/g) thông qua giá trị IC_{50} đạt 6,74 mg/ml.

Từ khóa: *Anthocyanin, chất chống oxy hóa, đậu hũ, KLT, gốc tự do.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu hũ (khối đông đậu nành) là một trong những sản phẩm thực phẩm phổ biến nhất được chế biến từ protein đậu nành [1]. Theo Tsai và cs (1981), protein trong đậu hũ là protein cân bằng nhất cho con người. Đây là một món ăn truyền thống quan trọng đối với người châu Á do dinh dưỡng và khả năng tiêu hóa tốt [2].

Khoai lang tím (KLT) được trồng khắp cả nước từ Bắc đến Nam và phổ biến nhất là ở các tỉnh như: Vĩnh Long, Kiên Giang, Lâm Đồng, Đắk Nông, Gia Lai, Đồng Nai, Đồng Tháp và Sóc Trăng. Trong đó, huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long là vùng chuyên canh trồng KLT lớn nhất và được xem là thủ phủ của KLT ở khu vực đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) [3]. KLT có chứa sắc tố màu anthocyanin. Một chất màu tím (anthocyanin) có khả năng chống oxy hóa vì có thể phản ứng với các gốc tự do trong tế bào cơ thể để làm giảm khả năng của các gốc tự do có thể gây tổn thương trong cơ thể. KLT được chế biến một số sản phẩm như: Bánh tráng sữa, bánh phồng, rượu vang, bột dinh dưỡng,…Sự kết hợp giữa đậu hũ sản xuất theo phương pháp truyền thống và KLT nhằm đánh giá khả năng bổ sung KLT vào quy trình sản xuất, nâng cao giá trị dinh dưỡng, hàm lượng các hoạt chất chống oxy hóa cũng như góp phần đa dạng các sản phẩm đậu hũ trên thị trường.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Đậu nành giống HLĐN 910 được thu mua tại Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm nông nghiệp Hưng Lộc. KLT được thu mua tại Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Một thành viên Thanh Bình Tân.

2.2. Quy trình chế biến

Đậu nành sau khi xử lý, được ngâm với nước chảy tràn khoảng 6 giờ, tiến hành xay đậu với nước theo tỷ lệ đậu và nước là 1: 8, thu được dịch sữa đậu nành. Tiến hành gia nhiệt ở 100°C trong 15 phút sau đó phối trộn với các dạng KLT theo khảo sát. Hỗn hợp dịch phối trộn được gia nhiệt đến 90°C, đông tụ bằng nigari (0,2%) trong 15 phút. Ép

[1] Khoa Khoa học Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long
[2] Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[*]Email: phuctm@vlute.edu.vn

khuôn tách nước 15 phút (cố định lực ép) và thu được sản phẩm.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Nội dung 1: Đánh giá hàm lượng các chất có hoạt tính chống oxy hóa trong nguyên liệu

Đánh giá hàm lượng các chất chống oxy hóa trong nguyên liệu đậu nành và các dạng khoai sử dụng trong nghiên cứu (bột khoai, dịch khoai và khoai hấp).

Dạng khoai được chuẩn bị theo 3 dạng:

- Khoai hấp: Củ KLT được xử lý nhằm chọn các củ khoai đủ tiêu chuẩn chế biến (không sùng, thối,…), thái lát mỏng 1 - 2 mm, hấp chín (100°C trong 5 phút). Sau đó rây mịn (lỗ rây 0,2 mm) và thu được KLT hấp.

- Bột khoai: Củ KLT sau khi được xử lý và loại bỏ các củ khoai không đạt tiêu chuẩn chế biến, thái lát mỏng 1 - 2 mm, hấp chín (100°C trong 5 phút), sấy 60°C đến khi đạt độ ẩm thấp hơn 5%, nghiền nhỏ bằng máy xay bột (lỗ rây 0,037 mm) và thực hiện khảo sát [4].

- Dịch khoai: Củ KLT sau khi được xử lý và loại bỏ các củ khoai không đạt tiêu chuẩn chế biến, thái lát mỏng 1 - 2 mm, hấp chín (100°C trong 5 phút), xay nhuyễn bằng máy xay và bổ sung nước với tỷ lệ khoai: nước (1: 2) [5].

Chỉ tiêu theo dõi: Hàm lượng phenolic tổng số (TPC), flavonoid tổng số (TFC); hàm lượng anthocyanin và khả năng loại gốc tự do DPPH thông qua giá trị IC_{50}.

Nội dung 2: Ảnh hưởng của dạng và tỷ lệ KLT bổ sung đến hàm lượng các chất có hoạt tính chống oxy hóa của đậu hũ tím

Đậu nành sau khi xử lý loại bỏ các hạt không đủ tiêu chuẩn chế biến sẽ được ngâm với nước chảy tràn (6 giờ). Sau đó tiến hành xay đậu với nước (1: 8) thu được dịch sữa, gia nhiệt (100°C/15 phút). Tiến hành phối trộn giữa dịch sữa đậu nành và dạng khoai (khoai hấp, bột khoai và dịch khoai) theo tỷ lệ khảo sát (1,6, 2,4, 3,2 và 4,0 gck) và đông tụ (nigari 0,2%, ở 90°C/15 phút). Sau đó tách nước theo phương pháp ép khuôn (thể tích khuôn, lực ép và thời gian ép được cố định).

Chỉ tiêu theo dõi: Hàm lượng phenolic tổng số (TPC), flavonoid tổng số (TFC), hàm lượng anthocyanin và khả năng loại gốc tự do DPPH thông qua giá trị IC_{50}.

2.4. Phương pháp phân tích

2.4.1. Xác định hàm lượng anthocyanin

Hàm lượng anthocyanin được xác định theo phương pháp vi sai [6]. Độ hấp thu màu anthocyanin trong dung dịch đệm khác nhau (pH 1 và 4,5) được đo tại các bước sóng tương ứng 520 và 700 nm bằng máy hấp thu quang phổ U-2800 (Simadzu, Japan). Hàm lượng anthocyanin tổng được tính theo cyanidin-3-glucoside:

$$a = \frac{A.M.K.V}{\varepsilon.l}$$

Trong đó: A là độ hấp thụ, a là lượng anthocyanin (g), M là khối lượng phân tử của anthocyanin (g/mol), l là chiều dày cuvet (cm), K là độ pha loãng, V là thể tích dịch chiết (l).

2.4.2. Xác định hàm lượng polyphenol tổng số (TPC)

Hàm lượng polyphenol tổng số được ước tính bằng phương pháp Folin - Ciocalteu [7]. Đậu hũ đã tách béo, được trích ly bằng dung môi acetone. Sau đó hút 0,1 mL dịch chiết pha loãng với 3,5 mL nước cất trước khi thêm 0,4 mL thuốc thử Folin - Ciocalteu. Hỗn hợp được trộn đều trước khi thêm 1 mL Na_2CO_3 7,5%. Hỗn hợp phản ứng được giữ ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ trước khi đo ở bước sóng 765 nm sử dụng máy quang phổ kế. Hàm lượng polyphenol tổng của mẫu được thể hiện qua mg đương lượng axit gallic trên mỗi gram chất khô (mgGAE/g).

$$P = \frac{V * C * k}{m}$$

Trong đó: P là hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g), m là khối lượng mẫu đem định lượng (g), C là nồng độ axit gallic quy ra từ phương trình đường chuẩn (mg/ml), V là thể tích dung dịch mẫu (ml), k là hệ số pha loãng.

2.4.3. Phương pháp định lượng flavonoid tổng số (TFC)

Flavonoid tổng số được xác định bằng phương pháp đo màu với clorua nhôm [8]. Đậu hũ đã tách

béo, được trích ly bằng dung môi axeton. Sử dụng 0,5 mL dịch trích ly được pha loãng với 3 mL nước cất và 0,15 mL $NaNO_2$ 5%. Cho 0,3 mL dung dịch $AlCl_3$ 10% vào hỗn hợp. Sau đó ủ 30 phút và tiến hành đo ở bước sóng 415 nm. Các kết quả được thể hiện qua mg đương lượng quercetin (QE) trên mỗi gram chất khô mẫu phân tích (mgQE/g).

$$P = \frac{V * C}{m} \text{ x } k$$

Trong đó: P là hàm lượng flavonoid tổng số (mg QE/g), m là khối lượng mẫu đem định lượng (g), C là nồng độ quercetin quy ra từ phương trình đường chuẩn (mg/ml), V là thể tích dung dịch mẫu (ml), k là hệ số pha loãng.

2.4.4. Đánh giá khả năng loại gốc tự do DPPH

DPPH tan trong methanol có màu tím đậm. Khi tiếp xúc với các hợp chất phenol, DPPH sẽ hoạt hóa các chất này và biến chúng thành các gốc tự do. Sau đó, DPPH sẽ kết hợp với gốc H^+ được sinh ra từ các hợp chất phenol. Phản ứng này xảy ra làm cho số lượng gốc tự do DPPH giảm, đồng thời cũng làm mất màu tím của dung dịch DPPH trong methanol. Hút 800 µl dịch chiết ở các mẫu khác nhau cho vào từng ống nghiệm. Sau đó thêm 800 µl dung dịch DPPH 0,008%, lắc đều. Sau 30 phút đo ở bước sóng 517 nm. Hoạt tính DPPH được tính dựa vào µmol Trolox tương đương (TE)/g với đường chuẩn (y = ax + b) [9].

$$E = \frac{(A_{mau} - A_0) - b}{a} \text{ x } \frac{V_{dm}}{m \text{ x} 1000}$$

Trong đó: A_{mau} là độ hấp thụ của phần mẫu thử, A_o là độ hấp thụ của phần mẫu trắng, E là hoạt tính DPPH (umol TE/g).

2.4.5. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các kết quả thực nghiệm được phân tích bằng phần mềm Statgraphics Centurion (phiên bản 15.2.11.0). Mỗi thí nghiệm đã được thực hiện 3 lần. Phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) với kiểm định LSD (Least Significant Difference) được sử dụng để xác định sự khác biệt ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các trung bình. Kết quả nghiên cứu được tính trên căn bản khô.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng các chất có hoạt tính chống oxy hóa trong nguyên liệu

Phân tích thành phần hoạt chất chống oxy hóa trong nguyên liệu ban đầu sẽ giúp cho việc xác định mức độ thay đổi, đánh giá được sự biến thiên của các thành phần hoạt chất sinh học tăng hay giảm sau quá trình chế biến. Thành phần các hoạt chất chống oxy hóa của nguyên liệu đậu nành, KLT và các dạng khoai được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần các hợp chất có khả năng chống oxy hóa trong nguyên liệu đậu nành và KLT

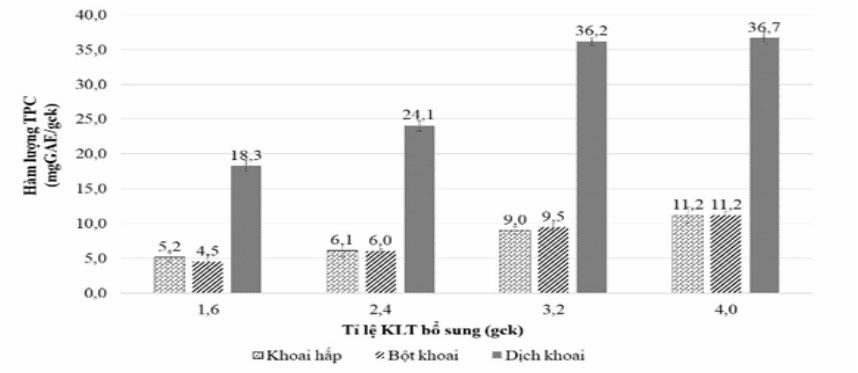
Nguyên liệu	Hàm lượng các hoạt chất chống oxy hóa				
	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg QE/g)	Anthocyanin (µg/g)	Hàm lượng DPPH (µmol TE/g)	IC_{50}
Đậu hạt	6,96	3,98	0	65,92	4,74
Đậu sau ngâm	6,73	3,04	0	65,18	4,03
Dịch sữa ban đầu	3,78	2,86	0	38,74	8,35
KLT	183,73	76,93	3417,43	105,72	3,59
Bột khoai	172,14	79,43	3174,45	107,52	3,64
Khoai hấp	164,07	73,62	3234,64	102,63	3,73
Dịch khoai	78,89	33,95	1973,87	84,52	3,76

Kết quả phân tích trên phù hợp với các nghiên cứu phân tích thành phần các hoạt chất chống oxy hóa của KLT tại các tỉnh thuộc khu vực ĐBSCL. Hàm lượng TPC (173 ± 10 mg GAE), TFC (73,8 ± 1,5 mg QE) và anthocyanin (3,37 ± 0,07 mg cyanidin-3-glucoside) [10].

Nghiên cứu của Alberto và cs (2022) cho thấy, hàm lượng TPC (11,5 - 12,3 mg GAE), TFC (76,2 - 84,4 mg QE), DPPH (17,2 - 17,9 mg TE), anthocyanin (1,4 - 1,6 mg Cy3GE) [11].

3.2. Ảnh hưởng của dạng và tỷ lệ KLT bổ sung đến hàm lượng TPC của đậu hũ tím

Ảnh hưởng của dạng và tỉ lệ KLT bổ sung đến hàm lượng TPC trong đậu hũ tím được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Ảnh hưởng của dạng và tỉ lệ KLT bổ sung đến hàm lượng TPC trong đậu hũ tím

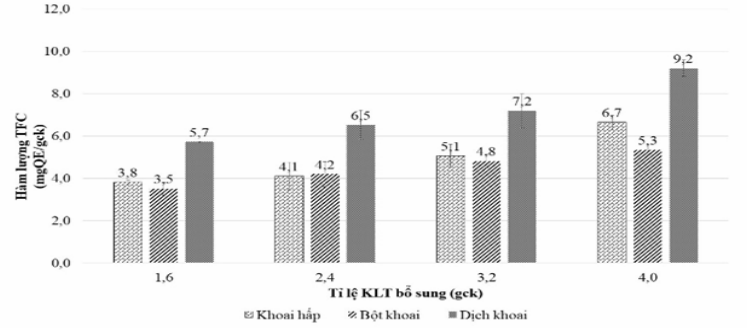
Hình 1 cho thấy, dạng và tỷ lệ KLT bổ sung có ảnh hưởng khác biệt đến hàm lượng TPC trong đậu hũ tím. Kết quả phân tích cho thấy, khi bổ sung KLT ở dạng dịch khoai thì hàm lượng TPC (28,80 mg GAE/g) cao hơn gấp 4 lần so với hai dạng còn lại là bột khoai (7,81 mg GAE/g) và khoai hấp (7,88 mg GAE/g). Tuy nhiên, giữa hai dạng bột khoai và khoai hấp thì không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê.

Bên cạnh đó, tỷ lệ KLT bổ sung cũng làm thay đổi hàm lượng TPC trong đậu hũ tím. Khi bổ sung ở tỷ lệ 1,6 (gck) thì đậu hũ có hàm lượng TPC đạt thấp nhất (9,32 mg GAE/g). Hàm lượng TPC tăng dần theo tỷ lệ bổ sung và đạt giá trị cao lần lượt ở tỷ lệ 3,2 (18,22 mg GAE/g) và 4,0 (19,70 mg GAE/g).

3.3. Ảnh hưởng của dạng và tỷ lệ KLT bổ sung đến hàm lượng TFC của đậu hũ tím

TFC là hợp chất sinh học dễ bị biến đổi trong quá trình chế biến đặc biệt là chế biến nhiệt. Hầu hết các quá trình xử lý nhiệt, hàm lượng TFC đều giảm. Nghiên cứu của Gerard và Roberts (2004) cho thấy, hàm lượng TFC cũng có thể tăng do trong quá trình xử lý nhiệt [12].

Ảnh hưởng của dạng và tỉ lệ KLT bổ sung đến hàm lượng TFC trong đậu hũ tím được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của dạng và tỉ lệ KLT bổ sung đến hàm lượng TFC trong đậu hũ tím

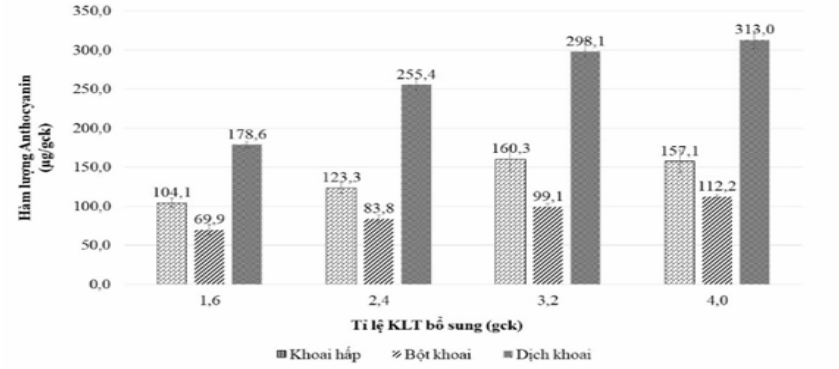
Khi bổ sung các dạng khoai khác nhau bao gồm: Khoai hấp, bột khoai và dịch khoai thì kết quả phân tích thống kê hàm lượng TFC cho thấy, có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các dạng

này. Hàm lượng TFC đạt thấp nhất khi bổ sung dạng bột khoai (4,46 mgQE/g) và cao nhất là dạng dịch khoai (7,16 mg QE/g).

Hàm lượng TFC cũng có xu hướng tăng dần theo tỷ lệ bổ sung. Đối với tỷ lệ 1,6 hàm lượng TFC thấp nhất (4,25 mg QE/g) và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các tỷ lệ còn lại lần lượt là 2,4 (4,94 mg QE/g); tỷ lệ 3,2 (5,69 mgQE/g) và tỷ lệ 4,0 đạt hàm lượng TFC cao nhất (7,06 mg QE/g).

3.4. Ảnh hưởng của dạng và tỷ lệ KLT bổ sung đến hàm lượng anthocyanin của đậu hũ tím

Anthocyanin, thành phần chính tạo màu tím cho đậu hũ. Hàm lượng anthocyanin có sự thay đổi rất khác biệt giữa các dạng và tỷ lệ KLT bổ sung thể hiện qua kết quả phân tích thống kê ở hình 3.



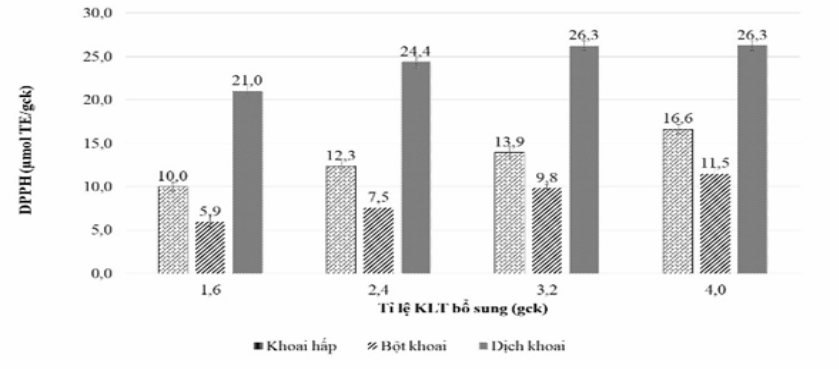
Hình 3. Ảnh hưởng của dạng và tỉ lệ KLT bổ sung đến hàm lượng anthocyanin trong đậu hũ tím

Hình 3 cho thấy, sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa dạng và tỷ lệ KLT bổ sung khác nhau. Kết quả nghiên cứu thể hiện lượng anthocyanin có sự khác biệt ý nghĩa thống kê lần lượt là: Bột khoai (91,25 µg/g) < khoai hấp (136,21 µg/g) < dịch khoai (261,28 µg/g). Điều này cho thấy, dịch khoai là dạng phù hợp nhất bổ sung vào quy trình sản xuất đậu hũ tím giúp giữ được hàm lượng anthocyanin cao hơn so với 2 dạng còn lại.

Bên cạnh đó, hàm lượng anthocyanin tăng tỷ lệ thuận với tỷ lệ KLT bổ sung từ 1,6 - 4,0. Nghĩa là khi bổ sung tỷ lệ KLT càng cao thì hàm lượng anthocyanin đạt càng lớn trong sản phẩm. Ở tỷ lệ 3,2 - 4,0 thì hàm lượng anthocyanin đạt cao nhất và không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở 2 tỷ lệ này. Ngược lại, ở tỷ lệ 2,4 thì hàm lượng anthocyanin đạt (154,18 µg/g) khác biệt ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ 1,6 (117,55 µg/g).

3.5. Ảnh hưởng của dạng và tỷ lệ KLT bổ sung đến hàm lượng DPPH của đậu hũ tím

Kết quả đánh giá khả năng bắt gốc tự do DPPH của dạng và tỷ lệ KLT được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của dạng và tỉ lệ KLT bổ sung đến khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH trong đậu hũ tím

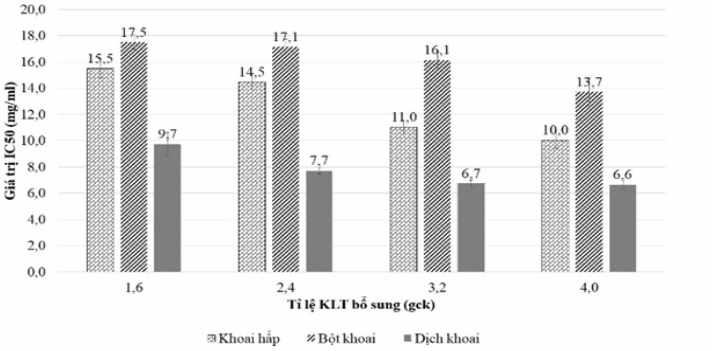
Hàm lượng DPPH có xu hướng tăng dần theo tỷ lệ bổ sung KLT. Theo đó, ở tỷ lệ bổ sung 1,6 thì hàm lượng DPPH thấp nhất và có sự khác biệt ý nghĩa thống kê so với các tỷ lệ còn lại. Khi tăng tỷ lệ bổ sung lên 2,4 thì hàm lượng DPPH cũng tăng từ (12,3 µmol TE/g) lên (14,74 µmol TE/g).

Tương tự khi tăng tỷ lệ bổ sung lên 3,2 và 4,0 thì hàm lượng DPPH tiếp tục tăng và đạt giá trị cao nhất ở tỷ lệ 4,0 là (18,13 µmol TE/g), khác biệt ý nghĩa thống kê so với các tỷ lệ thấp hơn.

Tương tự, giữ 3 dạng khoai (khoai hấp, khoai bột và dịch khoai), hàm lượng DPPH cũng có sự khác biệt ý nghĩa thống kê. Cụ thể, dạng bột khoai khả năng bắt gốc tự do thấp nhất. Hàm lượng DPPH đạt (8,69 µmol TE/g) và khác biệt ý nghĩa thống kê so với khoai hấp và dịch khoai. Ngược lại, dịch khoai có khả năng bắt gốc tự do tốt nhất và đạt giá trị (24,47 µmol TE/g) khác biệt ý nghĩa so với dạng khoai hấp (13,22 µmol TE/g). Kết quả này cho thấy, khi bổ sung dịch khoai ở tỷ lệ càng cao (theo khảo sát 1,6 - 4,0) thì khả năng bắt gốc tự do của sản phẩm đậu hũ tím càng cao.

3.6. Ảnh hưởng của dạng và tỷ lệ KLT bổ sung đến giá trị IC50 của đậu hũ tím

Ảnh hưởng của dạng và tỉ lệ KLT bổ sung đến giá trị IC50 của đậu hũ tím được thể hiện ở hình 5.



Hình 5. Ảnh hưởng của dạng và tỉ lệ KLT bổ sung đến giá trị IC_{50} của đậu hũ tím

Hình 5 cho thấy, dạng và tỷ lệ KLT bổ sung có ảnh hưởng khác biệt có ý nghĩa thống kê. Theo đó, tỷ lệ bổ sung KLT càng nhiều thì khả năng ức chế tối đa 50% của chất chống oxy hóa càng thấp. Điều này chứng minh rằng năng lực kháng oxy hóa của sản phẩm khá cao.

Bên cạnh đó, dạng KLT cũng ảnh hưởng đến khả năng ức chế một nửa của sản phẩm. Dạng bột khoai có năng lực ức chế 50% gốc tự do là thấp nhất và khác biệt ý nghĩa thống kê so với hai dạng KLT còn lại. Ngược lại, khả năng ức chế 50% gốc tự do của dạng bổ sung là dịch khoai dạng cao nhất thể hiện qua giá trị IC_{50} đạt thấp nhất và khác biệt ý nghĩa thống kê so với 2 dạng còn lại.

4. KẾT LUẬN

Dạng và tỷ lệ KLT bổ sung có sự khác biệt về hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học chứa trong đậu hũ tím. KLT bổ sung dạng khoai hấp và bột khoai không phù hợp với quy trình chế biến đậu hũ do ở dạng rắn, khó phân tán đều trong khối đậu hũ. Đồng thời khả năng đồng tạo gel giữa dịch sữa đậu nành với khoai hấp và bột khoai kém. Tuy nhiên, khi sử dụng dịch khoai ở tỷ lệ 3,2 gck thì hàm lượng các chất có khả năng chống oxy hóa cao hơn so với dạng bột khoai và khoai hấp ở cùng tỷ lệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kohyama, K., Sano, Y. & Doi, E. (1995). Rheological characteristics and gelation mechanism of tofu (soybean curd). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43 (7), 1808 - 1812 pp.

2. Tsai, S. J., Lan, C. Y., Kao, C. S. & Chen, S. C. (1981). Studies on the yield and quality characteristics of tofu. *Journal of Food Science,* 46 (6), 1734 - 1737 pp.

3. Nhan Minh Trí (2015). Các biến đổi chất lượng bánh tráng sữa KLT trong quá trình chế biến. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 39, 29 - 35 tr.

4. Nguyễn Duy Tân, Trần Phương Lan, Nguyễn Thị Hạnh Dúng, Nguyễn Minh Thủy (2019). Nghiên cứu chế biến bột dinh dưỡng có hàm lượng anthocyanin và vitamin C cao từ KLT và chuối xiêm. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*, 15 (1), 35 - 48 tr.

5. Huỳnh Văn Vũ và Nguyễn Minh Thủy (2014). Ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung và

enzyme α - amylase trong thủy phân tinh bột KLT Nhật. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (Chuyên đề nông nghiệp), 28 - 34 tr.

6. Wrolstad, R. E. & Culver, C. A. (2012). Alternatives to those artificial FD&C food colorants. *Food Science and Technology*, 3, 59 - 77 pp.

7. Jiang S., Cai, W. & Xu, B. (2013). Food quality improvement of soy milk made from short - time germinated soybeans. *Foods* 2 (2), 198 - 212 pp.

8. Haroon, K., Farid, K., Barkat, A. K., Abdul, W., Syed, U. J., Muhammad, M., Naseem, U., Naheed, H. & Arshad, F. (2012). Oxidation of glutathione (GSH) in blood plasma due to oxidative stressors: A case study of silver. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6 (21), 1502 - 1507 pp.

9. Sharma, S., Hullatti, K. K., Sachin, K. & Tiwari, K. B. (2012). Comparative antioxidant activity of Cuscuta reflexa and Cassytha filiformis. *Journal of Pharmacy Research*, 5 (1), 441 - 443 pp.

10. Le Thi Kieu Tien, Nguyen Ngoc Thanh Tien, Nguyen Le Anh Khoa, Pham Van Hung (2019). Chemical compositions, bioactive compounds, and physicochemical properties of different purple sweet potato flours. *Can Tho University Journal of Science*, 11 (2), 31 - 37 pp.

11. Alberto A. E. P., Iván P., Lyanne R., Eduardo F., Mónica A. V. O., Gustavo A. G. A., Francisco J. O. A. & AbrahamWall M. (2022). Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) Phenotypes: From Agroindustry to Health Effects, Multidisciplinary Digital Publishing Institute. *Foods,* 11 (7), 1051 - 1058 pp.

12. Gerard, K. & Roberts, J. (2004). Microwave heating of apple mash to improve juice yield and quality. *LWT-Food Science and Technology*, 37, 551 - 557 pp. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.12.006.

EFFECTS OF TYPES AND PURPLE SWEET POTATO RATIOS ON ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF PURPLE TOFU

Tran Minh Phuc[1, *], Nguyen Thi Mai Xuan[1], Nguyen Hoang Minh Yen, Duong Thi Phuong Lien[2], Ha Thanh Toan[2]

[1]Faculty of Applied Biological Sciences, Vinh Long University of Technology Education

[2]Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University

[*]Email: phuctm@vlute.edu.vn

Summary

The study was conducted to investigate the possibility of adding purple sweet potato to the manufacturing process of traditional tofu to improve the nutritional value, antioxidant activities and the diversity of traditional tofu products. Accordingly, the study investigated the effect of used purple sweet potato forms (potato powder, steamed potato and potato extract), and the ratio of purple sweet potato added (1.6, 2.4, 3.2 and 4.0 g db) through the assessment of antioxidant activities (total phenolic content (TPC), total flavonoids content (TFC), anthocyanin content and DPPH free radical scavenging ability) of tofu supplemented with purple sweet potato. The research results show that when purple sweet potato in solution with the addition rate of 3.2 db is used, the output product will have significant increase the content of antioxidant compounds such as TPC (36.16 mg GAE/g), TFC (7.19 mg QE/g), anthocyanin (298.06 µg/g), the ability to remove free radicals DPPH (26.26 µmol TE/g) and IC50 value (6.74 mg/ml).

Keywords: *Anthocyanin, antioxidant actives, purple sweet potato, tofu.*

Người phản biện: PGS.TS. Nhan Minh Trí
Ngày nhận bài: 22/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 20/3/2023
Ngày duyệt đăng: 27/3/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC ĐIỀU KIỆN PHẢN ỨNG ĐẾN HIỆU SUẤT XÀ PHÒNG HOÁ CAO CHIẾT LUTEIN ESTER THU NHẬN TỪ HOA CÚC VẠN THỌ (*Tagetes erecta* L.)

Lê Mỹ Kim Vương[1,*], Hoàng Thị Huệ An[1], Trần Thị Phương Anh[1],
Trần Ngọc Lệ[2], Nguyễn Thị Minh Nguyệt[3], Trần Văn Hiếu[3], Nguyễn Minh Đăng[3]

TÓM TẮT

Hoa cúc vạn thọ (*Tagetes erecta* L.) đã được nghiên cứu rộng rãi do chứa hàm lượng lutein dồi dào và chất lượng cao - một sắc tố carotenoid có nhiều hoạt tính sinh học quý, đặc biệt cho mắt. Lutein được thu nhận sau khi xử lý hoa với enzym; chiết trong dung môi không phân cực và cuối cùng thuỷ phân trong môi trường kiềm mạnh. Giai đoạn thuỷ phân lutein ester bởi tác nhân hoá học (KOH) được nghiên cứu nhằm hoàn thiện quy trình thu nhận lutein tinh khiết. Các điều kiện phản ứng được khảo sát sử dụng phương pháp HPLC để đánh giá hiệu suất phản ứng. Đã xác định được các điều kiện phản ứng thích hợp như: Tỷ lệ nồng độ KOH/lutein ester 0,18 w/v ở nhiệt độ 70^{0}C trong 80 phút cho hiệu suất 83,54% *trans* -lutein.

Từ Khóa: *Lutein, lutein este, HPLC pha đảo, xà phòng hóa.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lutein là một sắc tố carotenoid có màu vàng cam đẹp được sử dụng làm phẩm màu thực phẩm tự nhiên (E161b) và ứng dụng rộng rãi trong y dược, đặc biệt làm giảm nguy cơ mắc bệnh về mắt ở người cao tuổi (thoái hóa điểm vàng, đục thủy tinh thể…) [1]. Trong hoa cúc vạn thọ (*Tagetes erecta* L.) chứa hàm lượng carotenoid tổng số trong cánh hoa 1,0 - 1,6% (theo khối lượng khô), trong đó khoảng 90% là lutein este, chỉ 5% là zeaxanthin este [2], [3], [4]. Nghiên cứu của Shao (2001) [5] và Joseph và cs (2013) [6] cho thấy, lutein este rất bền, chỉ bị thuỷ phân một phần trong cơ thể. Do đó, lutein este (LE) cần phải được chuyển hoá thành lutein tự do trong các chế phẩm chứa lutein bổ sung cho con người [5], [7].

Quá trình thuỷ phân lutein este thường được thực hiện bằng 2 phương pháp: Hoá học và sinh học. Phương pháp sinh học sử dụng enzym lipase ít được áp dụng do hiệu quả kinh tế không cao khi ứng dụng trong công nghiệp [8]. Phương pháp hoá học (phương pháp xà phòng hoá) dùng tác nhân kiềm mạnh, tuy ít tốn kém nhưng thường phải tiến hành ở nhiệt độ cao, thời gian lâu nên hiệu suất thu nhận lutein tự do thấp [6], [9].

Một số quy trình xà phòng hóa lutein ester đã được Sarkar và cs (2012) [4], Khachik (2001) [10], Kumar và cs (2004) [11], Swaminathan và Madavalapil (2009) [12], Joseph và cs (2013) [13], Hoàng Thị Huệ An và cs (2014) [14] tiến hành nghiên cứu. Quy trình trong các nghiên cứu có sự khác biệt nhiều về lượng tác nhân xà phòng hoá (nồng độ LE và KOH), điều kiện phản ứng (nhiệt độ, thời gian) cũng như không đề cập đến hiệu suất quy trình. Nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt là do các nghiên cứu trên đã sử dụng một số phương pháp phân tích khác nhau (sắc ký bản mỏng, sắc ký lỏng HPLC, đo quang UV-VIS…) để đánh giá ảnh hưởng đến hiệu quả của quá trình xà phòng hoá.

Để làm sáng tỏ vấn đề trên, cần khảo sát đầy đủ và hệ thống hơn về ảnh hưởng của các yếu tố phản ứng đến hiệu suất chuyển hóa lutein ester thành lutein tự do, từ đó đưa ra quy trình thích hợp cho phép xà phòng hóa lutein ester với hiệu suất cao và sản phẩm chất lượng cao. Do đó nghiên cứu

[1] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang
[2] Trung tâm Thí nghiệm và Thực hành, Trường Đại học Nha Trang
[3] Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ lọc, hóa dầu, Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam
[*]Email: vuonglmk@ntu.edu.vn

"*Ảnh hưởng của các điều kiện phản ứng đến hiệu suất xà phòng hoá cao chiết lutein ester thu nhận từ hoa cúc vạn thọ*" là rất cần thiết.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Lutein este (LE, lutein oleoresin) thu nhận từ hoa cúc vạn thọ theo quy trình của Hoàng Thị Huệ An và cs (2014) [14]. Hoa sau khi thu hoạch được cắt lấy cánh, loại bỏ những cánh hỏng, sau đó được xử lý bằng Viscozym và đem chiết bằng dung môi hexan với tỷ lệ 2: 1 v/w ở 50^0C trong 24 giờ, chiết 1 lần. Dịch chiết được đem cô quay chân không ở nhiệt độ dưới 40^0C thu được dịch chiết lutein este.

Lutein đối chứng (tinh khiết >90%) của Công ty Biopurify (Trung Quốc), bảo quản trong tối, ở - 20°C đến khi sử dụng. Butylated hydroxytoluene (BHT) của Hãng Sigma - Aldrich. n-hexane, ethanol (EtOH), axetat ethyl (AcOEt), KOH, Na_2SO_4, NaCl (tinh khiết phân tích) (Xilong, Trung Quốc), các dung môi HPLC của Hãng Merck (Đức).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xà phòng hoá lutein este và tinh chế lutein tự do

Cân a (g) mẫu LE vào bình cầu cổ nhám 50 ml, thêm V ml dung dịch KOH trong EtOH 96°. Đun hỗn hợp ở 70°C trong 1 giờ (tránh ánh sáng). Thêm V ml nước cất vào hỗn hợp phản ứng, lắc đều. Chiết hỗn hợp với ethyl acetat (2 V ml), 3 lần. Rửa pha hữu cơ với nước cất, làm khan bằng Na_2SO_4 khan, lọc. Dịch chiết lutein tự do được định mức đến vạch 25 ml bằng ethyl axetat. Bảo quản dung dịch ở - 20°C cho đến khi phân tích.

Xác định hiệu suất xà phòng hoá lutein este:

Dịch chiết lutein tự do trong ethyl axetat được pha loãng 100 lần bằng axeton và phân tích bằng HPLC. Hiệu suất xà phòng hoá (H, %), hiệu suất thu nhận *trans*-lutein (H_{trans}, %) và *cis*-lutein (H_{cis}, %) lần lượt được tính theo các công thức:

$$H\ (\%) = S_{Lutein} * 100 / S_{Lutein\ ester}$$

$$H_{trans}\ (\%) = S_{trans} * 100 / S_{Lutein\ ester}$$

$$H_{cis}\ (\%) = S_{cis} * 100 / S_{Lutein\ ester}$$

Trong đó: S_{Lutein} là diện tích peak lutein tự do (cả *trans*-lutein và *cis*-lutein) trên sắc ký đồ của mẫu sau xà phòng hoá (so sánh với mẫu lutein đối chứng); S_{trans} và S_{cis} là diện tích peak đồng phân *trans*-lutein và *cis*-lutein trên sắc ký đồ của mẫu sau khi xà phòng hoá, được phân biệt dựa vào phổ hấp thụ UV-VIS trong vùng 300 - 350 nm; $S_{Lutein\ ester}$ là tổng diện tích tất cả các peak thu được trên sắc ký đồ của mẫu lutein este không xà phòng hoá, cũng được chiết và phân tích trong điều kiện giống hệt mẫu đem xà phòng hoá.

Điều kiện chạy HPLC:

Cột phân tích: TSKgel ODS - 100V (250 mm x 4,6 mm, 5 µm), tốc độ dòng: 1,0 mL/phút, nhiệt độ cột: 25^0C, thể tích bơm mẫu: 20 µL, đầu dò PDA, ghi sắc ký đồ ở bước sóng 450 nm.

Chế độ rửa giải gradient: 100% A (0 - 10 phút), 100% A đến 100% B (10 - 25 phút), 100% B (25 - 60 phút), 100% B đến 100% A (60 - 70 phút), 100% A (70 - 75 phút), trong đó:

A = axetonitrile: methanol: dichloromethane: nước 45: 40: 10: 5 v/v/v/v.

B = axetonitrile: methanol: dichloromethane: nước 45: 14: 40: 1 v/v/v/v.

2.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của các điều kiện phản ứng đến hiệu suất xà phòng hoá lutein este

Nồng độ lutein este:

Tiến hành xà phòng hoá LE và chiết lutein tự do như đã mô tả ở trên, trong đó nồng độ KOH được cố định 0,15 g/ml; nồng độ LE trong hỗn hợp phản ứng lần lượt là 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,8, 0,9 g/ml. Sau khi phản ứng hoàn tất, xác định hiệu suất phản ứng các mẫu khảo sát. Từ đó, chọn nồng độ LE thích hợp.

Nồng độ KOH:

Tiến hành xà phòng hoá LE và chiết lutein tự do như đã mô tả ở trên, trong đó nồng độ LE được cố định 0,3 g/ml; nồng độ KOH trong hỗn hợp phản ứng lần lượt là 0, 0,025, 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,30 g/ml. Sau khi phản ứng hoàn tất, xác định hiệu suất phản ứng các mẫu khảo sát. Từ đó, chọn nồng độ KOH và rút ra tỷ lệ KOH/este thích hợp.

Nhiệt độ phản ứng:

Tiến hành xà phòng hoá LE và chiết lutein tự do như đã mô tả ở trên, trong đó: LE 0,3 g/ml, KOH 5% w/v trong EtOH với các mẫu có nhiệt độ phản ứng thay đổi lần lượt là: 40, 50, 60, 70 và 80°C. Sau khi phản ứng hoàn tất, xác định hiệu suất phản ứng các mẫu khảo sát. Từ đó, chọn nhiệt độ thích hợp.

Thời gian phản ứng:

Tiến hành xà phòng hoá lutein este và chiết lutein tự do như đã mô tả ở trên, trong đó nồng độ lutein este được cố định 0,3 g/ml; nồng độ KOH 5% w/v trong EtOH ở 70°C với các mẫu có thời gian phản ứng thay đổi lần lượt là: 20, 40, 60, 80, 100, 120 và 180 phút. Sau khi phản ứng hoàn tất, xác định hiệu suất phản ứng các mẫu khảo sát. Từ đó, chọn thời gian thích hợp.

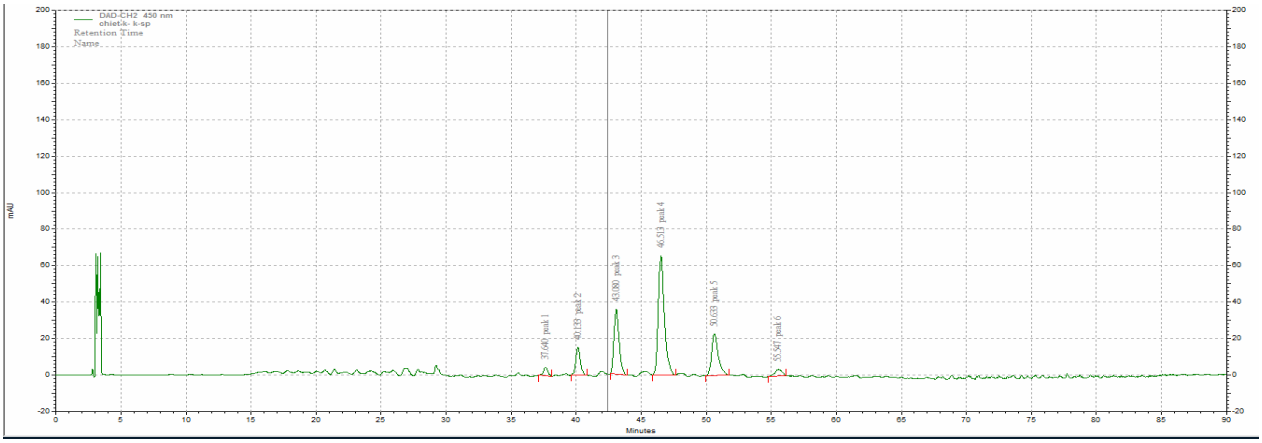
Thử nghiệm điều kiện xà phòng hoá thích hợp:

Cân 3 mẫu LE (20 g/mẫu) vào bình cầu 250 ml, thêm 25 ml dung dịch KOH (nồng độ tối ưu được xác định). Lắp sinh hàn hồi lưu, đun nóng hỗn hợp ở nhiệt độ và thời gian đã được xác định từ kết quả các thí nghiệm trên. Hỗn hợp sau phản ứng được thêm nước cất đến thể tích gấp đôi rồi chiết với ethyl axetat, rửa, làm khan với Na_2SO_4 rồi định mức đến 500 ml. Pha loãng 100 lần bằng axeton, lọc qua màng lọc PTFE 0,45 µm rồi bơm vào thiết bị HPLC. Từ đó, đánh giá hiệu suất xà phòng hoá.

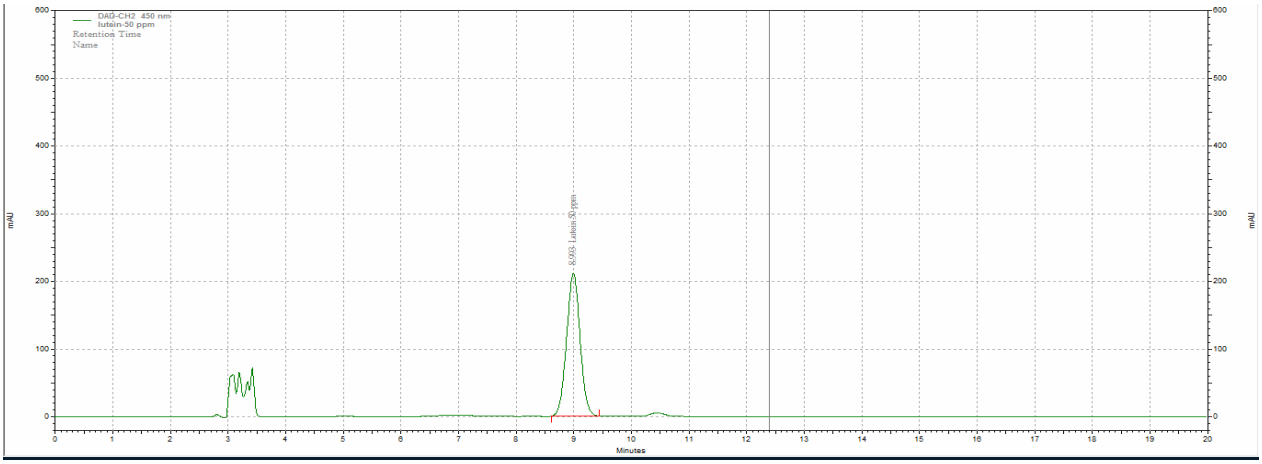
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhận biết các peak trên sắc ký đồ HPLC

Mẫu LE chiết từ hoa cúc vạn thọ trong nghiên cứu (chưa xà phòng hoá) được phân tích. Kết quả HPLC cho thấy, hỗn hợp chứa chủ yếu các dạng este khác nhau của lutein, trong đó không phát hiện lutein dạng tự do khi so sánh với phổ đồ của lutein đối chứng trong cùng một điều kiện (Hình 1 và 2).

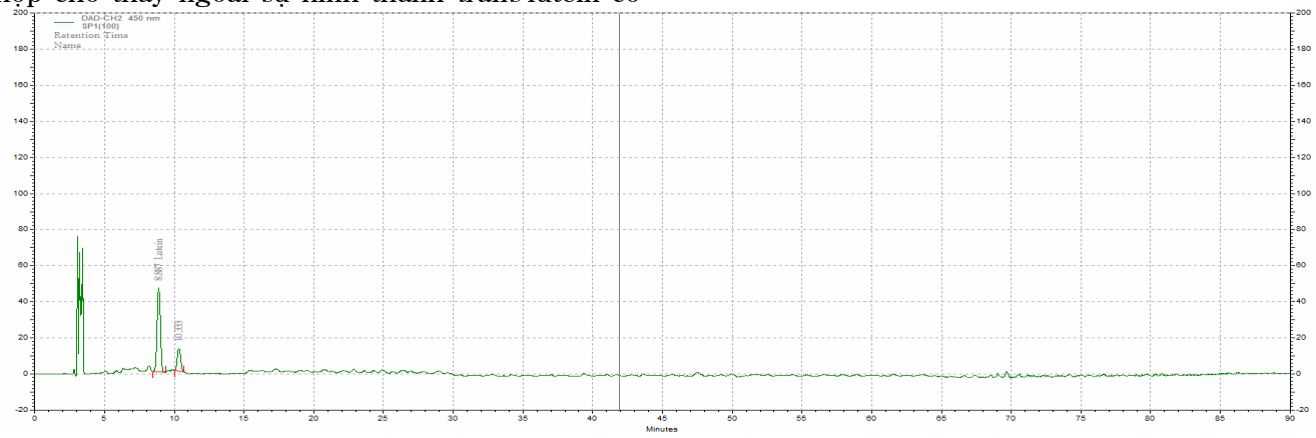


Hình 1. Sắc ký đồ HPLC của mẫu lutein este (0,2 g/ml) không xà phòng hoá

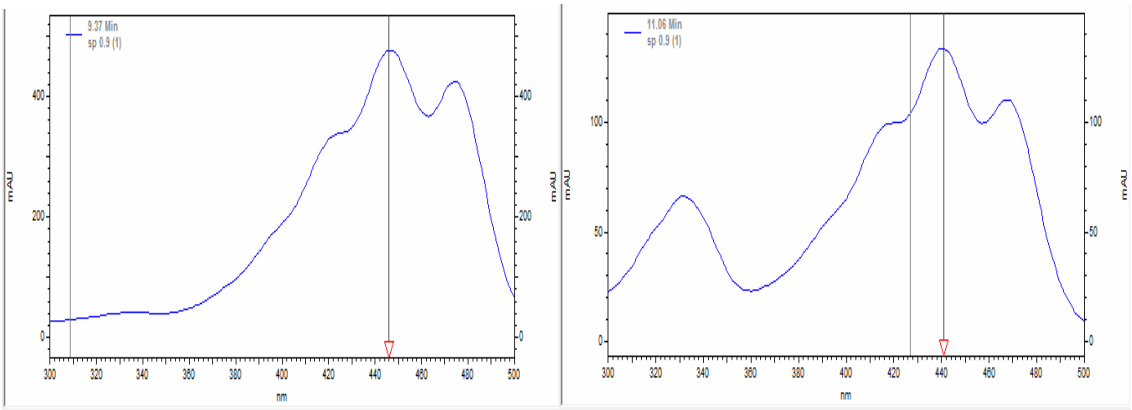


Hình 2. Sắc ký đồ mẫu lutein đối chứng *trans*-lutein có RT ~ 8,9 phút

Sau quá trình xà phòng hoá ở 70°C trong 3 giờ, sắc ký đồ HPLC và phổ hấp thụ UV-VIS của hỗn hợp cho thấy ngoài sự hình thành *trans*-lutein có thời gian lưu 8,9 phút, còn có đồng phân *cis*-lutein ở 10,3 phút (Hình 3 và 4).



Hình 3. Sắc ký đồ HPLC của mẫu lutein este (0,2 g/ml) sau xà phòng hoá



Hình 4. Phổ hấp thụ UV-VIS: (*trái*) *trans*-lutein có λ_{max} = 424, 446, 474 nm, RT 8,9 phút; (*phải*) *cis*-lutein có λ_{max} = 328, 418, 442, 468 nm, RT 10,3 phút

Hình 3 cho thấy, với cột HPLC đang sử dụng (cột C18 kích thước 250 mm x 4,6 mm; cỡ hạt 5 µm) không phát hiện được peak của zeaxanthin (đồng phân vị trí của lutein) có trong hỗn hợp phản ứng. Kết quả nghiên cứu của Hoàng Thị Huệ An (2009) cho thấy, cột này không có khả năng phân giải cặp đồng phân lutein/zeaxanthin [15]. Để phân giải cặp đồng phân này cần dùng các cột C18 có cỡ hạt nhỏ hơn (cỡ 3 µm), hoặc dùng cột có pha tĩnh tương tác với lutein và zeaxanthin chọn lọc hơn (như cột C30 hoặc cột silica) [16], [17]. Do các cột HPLC nói trên không được sử dụng phổ biến ở Việt Nam nên trong nghiên cứu này chỉ đánh giá hàm lượng zeaxanthin qua hàm lượng lutein tổng.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ LE đến hiệu suất

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ LE ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất xà phòng hoá H% (Bảng 1).

Bảng 1. Ảnh hưởng nồng độ lutein este đến H%

$C_{(LE)}$ (g/ml)	KOH*/LE (w/w)	H_{trans} (%)	H_{cis} (%)	H (%)
0,1	1,50	15,10	2,98	18,08
0,2	0,75	16,78	4,75	21,53
0,3	0,50	17,41	4,97	22,38

0,4	0,38	15,82	6,14	21,96
0,5	0,30	20,10	5,54	25,64
0,6	0,25	50,68	12,40	63,08
0,8	0,19	77,32	15,49	92,81
0,9	0,17	32,15	9,60	41,75

Ghi chú: $^{*}C_{KOH}$ = 0,15 g/ml

Ở vùng nồng độ LE thấp (0,1 - 0,5 g/ml), ứng với vùng tỷ lệ KOH/LE lớn (1,5 - 0,3 lần), hiệu suất chuyển hoá LE thành lutein tự do (dạng *trans*, *cis* hay tổng số) đều rất thấp. Nguyên nhân có thể do sự phân huỷ lutein tự do tạo thành khi có mặt lượng kiềm dư khá lớn. Khi tiếp tục tăng nồng độ LE, H % tăng lên đáng kể, đạt cực đại (H_{trans} 77,32%) khi nồng độ LE 0,8 g/ml (tương ứng với tỷ lệ KOH/LE 0,19), nhưng sau đó lại giảm mạnh. Thực nghiệm cho thấy khi nồng độ LE quá lớn (>0,8 g/ml), hỗn hợp rất đặc, do đó khó khuấy trộn ngay cả khi đun nóng đến 70°C. Do đó, việc giảm H% ở vùng nồng độ LE lớn có thể được giải thích bởi sự giảm khả năng tiếp xúc các tác chất trong hỗn hợp phản ứng. Kết quả trên cho thấy, để hiệu suất phản ứng cao nhất nên chọn nồng độ LE ở 0,8 g/ml.

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ KOH đến hiệu suất

Nồng độ dung dịch KOH ảnh hưởng mạnh đến hiệu suất phản ứng. Kết quả ở bảng 2 cho thấy, khi cố định nồng độ LE ở 0,3 g/ml, H% tăng mạnh khi tăng nồng độ KOH từ 0 - 0,05 g/ml, nhưng sau đó lại giảm dần khi nồng độ KOH tăng hơn. Điều này được giải thích bởi sự phân huỷ lutein tự do trong môi trường kiềm dư.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ KOH đến H% xà phòng hoá LE

C_{KOH} (g/ml)	KOH/LE (w/w)	H_{trans} (%)	H_{cis} (%)	H (%)
0,000	0,00	0,00	0,00	0,00
0,025	0,08	18,95	5,21	24,15
0,050	0,17	56,88	9,22	66,10
0,100	0,33	53,35	5,21	58,56
0,150	0,50	16,74	4,53	21,27
0,200	0,67	11,20	2,52	13,72
0,250	0,83	8,90	2,74	11,63
0,300	1,00	4,12	1,34	5,45

Ghi chú: $^{*}C_{LE}$ = 0,3 g/ml

Sự suy giảm H% xà phòng hoá LE trong môi trường kiềm dư được Swaminathan và Madavalapil (2009) [12] ghi nhận với nồng độ LE và KOH xác định lần lượt là 0,8 và 0,15 g/ml, tương ứng với tỷ lệ nồng độ KOH/LE khoảng 0,19 w/w, so với điều kiện của nghiên cứu này thiết lập được ở bảng 1 và 2: C_{LE} 0,8 g/ml và C_{KOH} 0,05 g/ml, tỷ lệ nồng độ KOH/LE lần lượt là 0,19 và 0,17 w/w. Mặc dù giá trị nồng độ khác xa nhau, nhưng các giá trị tỷ lệ nồng độ KOH/LE lại khá gần nhau. Với tỷ lệ thích hợp này (0,17 - 0,19), tuỳ theo nồng độ LE trong hỗn hợp mà phải dùng nồng độ KOH khác nhau.

Điều này cũng giải thích tại sao nồng độ KOH trong kết quả các nghiên cứu khác nhau thường không giống nhau.

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ xà phòng hoá đến hiệu suất

Kết quả khảo sát cho thấy, nhiệt độ cũng ảnh hưởng mạnh đến H% và chất lượng sản phẩm lutein tạo thành (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến hiệu suất xà phòng hoá

Nhiệt độ (°C)	H_{trans} (%)	H_{cis} (%)	H (%)
40	2,24	0,00	2,24
50	6,51	0,00	6,51
60	8,60	0,00	8,60
70	56,90	9,22	66,12
80	59,25	15,39	74,64

Bảng 3 cho thấy, ở 40°C, H% rất thấp (2,24%). Khi tăng nhiệt độ từ 40 - 60°C, H% tăng lên nhưng chậm (từ 2,24 – 8,60%). Nếu tiếp tục gia nhiệt từ 60 - 70°C, H% tăng rất mạnh, nhưng sau đó lại chậm dần. Thực nghiệm cho thấy, ở 40°C hỗn hợp phản ứng là một khối lỏng đặc sệt, rất khó khuấy trộn. Khi đun nóng, LE dần chảy lỏng, dễ khuấy hơn. Như vậy, sự tăng H% khi tăng nhiệt độ có thể được giải thích bởi sự gia tăng khả năng tiếp xúc các tác chất với nhau, nhờ đó tốc độ phản ứng tăng lên. Bảng 3 cũng cho thấy, ở nhiệt độ không quá 60°C, sản phẩm lutein tự do hình thành chỉ có đồng phân *trans*, không có đồng phân *cis*. Tuy nhiên, khi trên 60°C, đồng phân *cis* xuất hiện và tỷ lệ đồng phân *cis/trans* tăng dần khi nhiệt độ tăng. Do vậy, mặc dù H% ở 80°C cao hơn ở 70°C (lần lượt là 74,64% và 66,12%) nhưng lại có H_{cis} % (~ 15,39%) cao hơn đáng kể so với H% này ở 70°C (~ 9,22%). Do vậy, để H% cao đồng thời đảm bảo chất lượng của sản phẩm tương đối tốt (hàm lượng *cis*-lutein thấp), đã chọn thực hiện phản ứng xà phòng hoá ở 70°C.

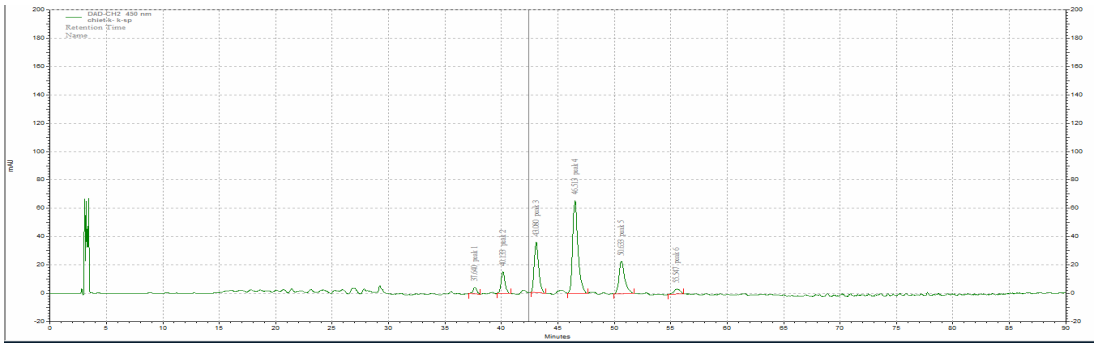
3.5. Ảnh hưởng của thời gian xà phòng hoá đến hiệu suất

Kết quả theo dõi tiến trình xà phòng hoá cho thấy, ở nhiệt độ khảo sát 70°C, trong 20 phút đầu tiên, H% chuyển hoá lutein este thành lutein tự do ở các dạng đồng phân *trans*, *cis* và tổng đều tăng mạnh (Bảng 4).

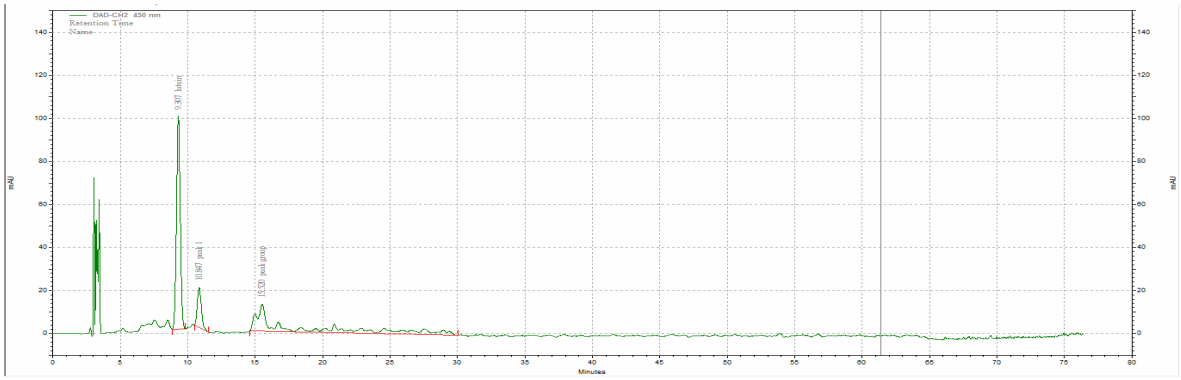
Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian đến H% xà phòng hoá lutein este

Thời gian (phút)	H_{trans} (%)	H_{cis} (%)	H (%)
20	54,98	11,10	66,07
40	57,70	10,55	68,25
60	61,54	13,20	74,74
80	67,65	14,30	81,95
100	57,93	14,08	72,01
120	55,12	15,56	70,68
180	41,70	10,60	52,29

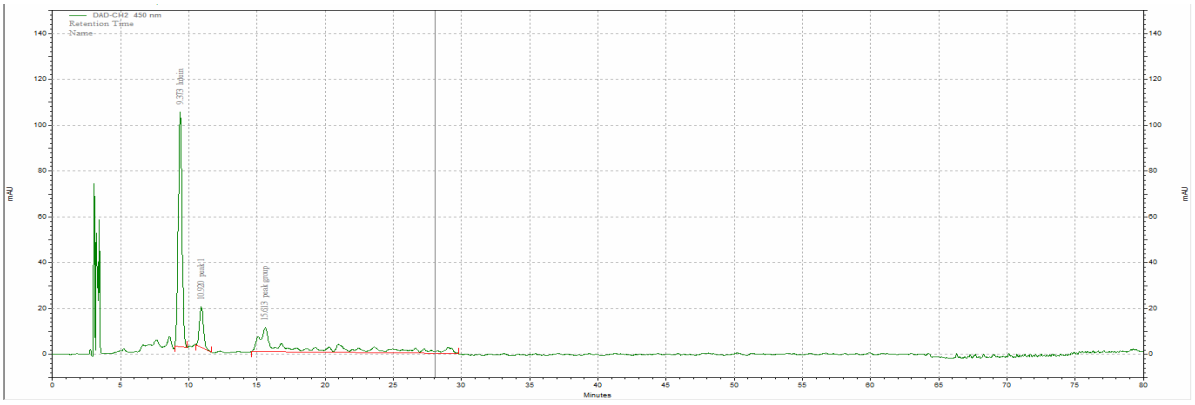
Các sắc ký đồ HPLC LE ban đầu và sau xà phòng hoá (Hình 5) cho thấy, chỉ sau 20 phút, các peak LE hầu như biến mất và xuất hiện các peak *trans*-lutein (RT ~ 9,3 phút) và *cis*-lutein (RT~10,9 phút).



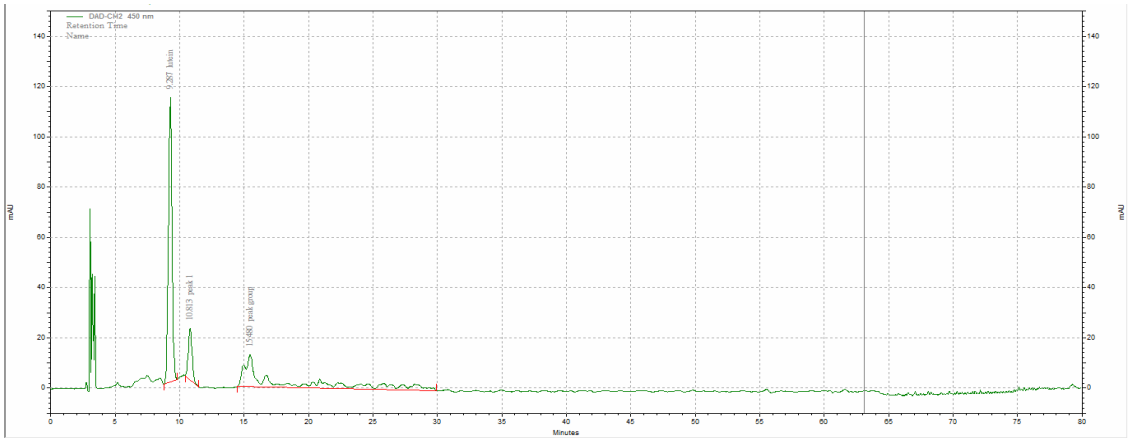
a) Mẫu chưa xà phòng hóa



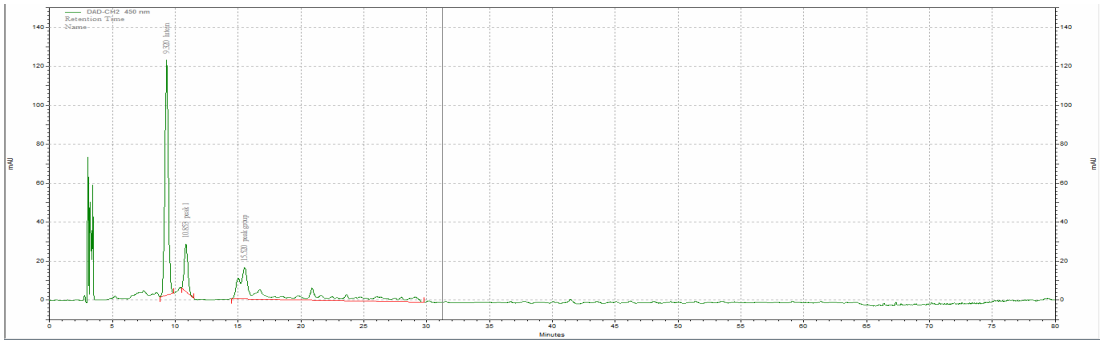
b) Mẫu xà phòng hóa 20 phút



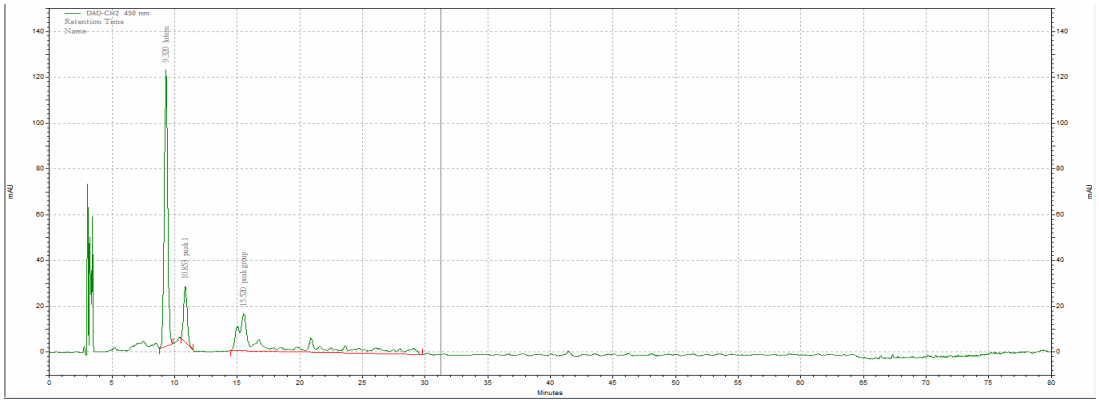
c) Mẫu xà phòng hoá 40 phút



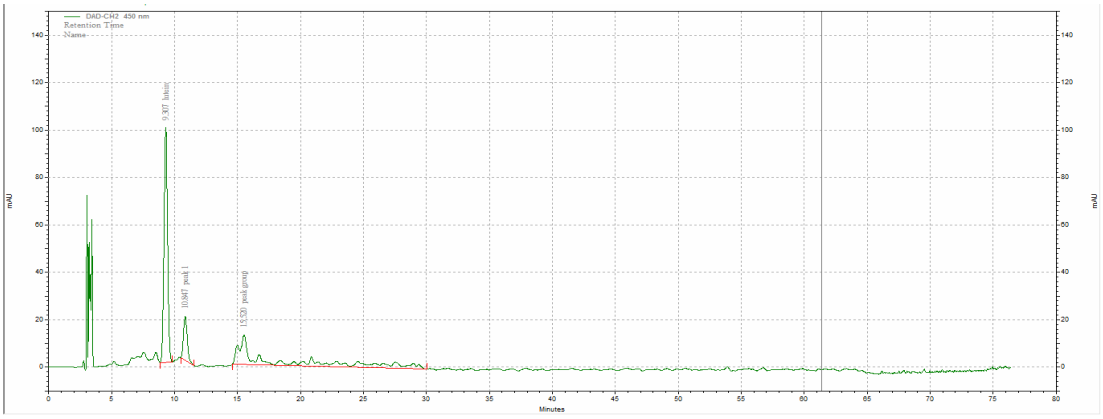
d) Mẫu xà phòng hoá 60 phút



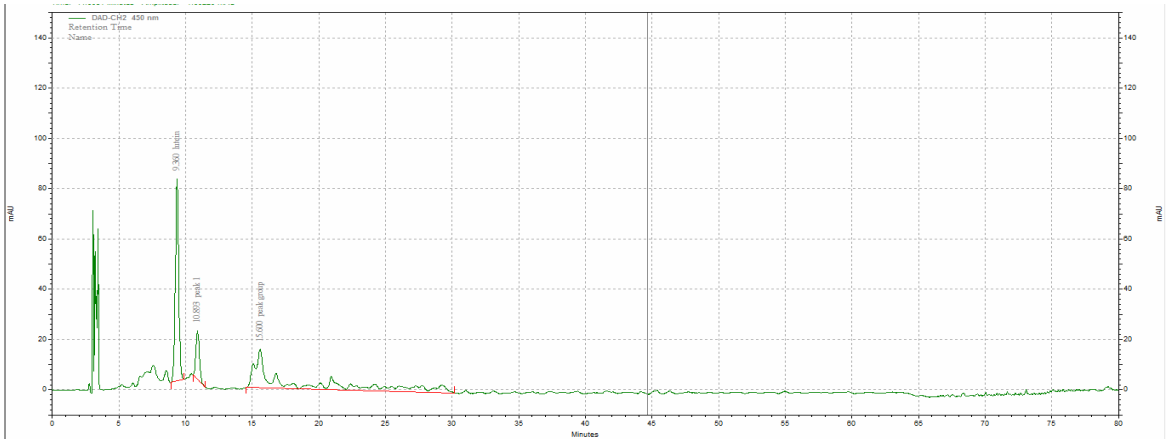
a) Mẫu xà phòng hoá 80 phút



b) Mẫu xà phòng hoá 100 phút



c) Mẫu xà phòng hoá 120 phút



d) Mẫu xà phòng hoá 180 phút

Hình 5. Sắc ký đồ HPLC của các mẫu xà phòng hoá trong các khoảng thời gian khác nhau

Tiếp tục đun nóng phản ứng từ 20 - 80 phút, H% thu nhận lutein tự do dạng *trans* và lutein tổng số tăng lên với tốc độ chậm hơn và sau đó giảm đi nếu kéo dài thời gian phản ứng. Trong khi đó, hiệu suất hình thành dạng *cis*-lutein hầu như không thay đổi khi thời gian phản ứng tăng từ 20 - 180 phút. Điều này chứng tỏ ở 70°C, dạng *cis*-lutein tương đối bền, trong khi đó dạng *trans* kém bền hơn. Sự giảm hiệu suất thu nhận *trans*-lutein sau hơn 80 phút xà phòng hóa có thể được giải thích bởi sự chuyển hóa dạng đồng phân này sang dạng đồng phân *cis* hoặc các dạng sản phẩm phân hủy khác. Kết quả nghiên cứu trên đây chỉ ra rằng thời gian thích hợp nhất để xà phòng hóa lutein este ở 70°C là 80 phút. Thời gian phản ứng này dài hơn 50 phút so với thời gian trong nghiên cứu của

Swaminathan và Madavalapil (2009) [12]. Sự khác biệt này là do trong quy trình của Swaminathan và Madavalapil (2009) [12] phản ứng xà phòng hóa được tiến hành ở nhiệt độ cao hơn (từ 70 - 80°C).

Việc tăng nhiệt độ phản ứng từ 70 - 80°C, mặc dù làm tăng H% nhưng đồng thời cũng làm tăng tỷ lệ đồng phân *cis* trong sản phẩm, do đó làm giảm hoạt tính sinh học của sản phẩm lutein thu nhận được. Do vậy, đã chọn nhiệt độ xà phòng hoá là 70°C trong thời gian 80 phút.

3.6. Nghiên cứu đánh giá tính ổn định quy trình quy mô phòng thí nghiệm

Như vậy, các yếu tố ảnh hưởng đến H% phản ứng xà phòng hoá LE từ hoa cúc vạn thọ: Nồng độ tác chất, nhiệt độ, thời gian đã được xác định. Đã tiến hành thử nghiệm quy trình xà phòng hoá, áp dụng các yếu tố trên nhằm đánh giá H% của quy trình. Kết quả thử nghiệm được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Kết quả thử nghiệm quy trình xà phòng hoá

Ký hiệu mẫu	H_{trans} (%)	H_{cis} (%)	H (%)
SP1	72,91	13,56	86,47
SP2	64,67	13,41	78,08
SP3	70,03	14,24	84,27
Trung bình	69,20	13,74	82,94
% RSD	6,05	3,22	5,25

Theo đó, ở điều kiện thử nghiệm, H% xà phòng hoá là 82,94%, trong đó: *trans*-lutein 69,20% và *cis*-lutein 13,74%. Nói cách khác, sản phẩm lutein tự do thu được chứa khoảng 83,54% *trans*-lutein.

4. KẾT LUẬN

Tinh chế lutein tinh khiết từ mẫu hoa cúc vạn thọ trải qua nhiều giai đoạn, từ xử lý cánh hoa bằng enzym, chiết soxhlet thu cao chiết lutein este, xà phòng hoá trong môi trường kiềm mạnh, dư. Mỗi giai đoạn đều ảnh hưởng rất nhiều đến hiệu suất và chất lượng thu nhận lutein tự do. Trong nghiên cứu này đã tập trung vào việc kiểm soát phản ứng xà phòng hoá lutein este bằng cách xác định các yếu tố ảnh hưởng đến phản ứng, thông qua đánh giá hiệu suất xà phòng hoá bằng phương pháp HPLC. Kết quả thực nghiệm cho thấy, phương pháp có ưu điểm không những xác định chính xác hiệu suất tổng cộng phản ứng, mà còn đánh giá được chất lượng sản phẩm do có thể phân biệt được hai dạng *cis*-lutein và *trans*-lutein trên sắc ký đồ. Nhờ vậy, đã thu được quy trình thu nhận lutein tự do với hiệu suất cao (82,94%) và độ tinh khiết cao (83,54%) dưới điều kiện thực hiện phản ứng như sau: Tỷ lệ nồng độ KOH/lutein este 0,18 w/v ở nhiệt độ 70°C trong 80 phút.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ dự án "Hoàn thiện quy trình công nghệ chiết xuất, tinh chế các hoạt chất lutein, zeaxanthin từ cây cúc vạn thọ", mã số CNHD. DASXTN. 026/17 - 18 thuộc Chương trình nghiên cứu khoa học công nghệ trọng điểm quốc gia phát triển công nghiệp hóa dược đến năm 2020. Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn Bộ Công thương đã cấp kinh phí thực hiện dự án này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rodriguez - Amaya, D. B. (2001). A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. *ILSI Press,* USA.

2. European Food Safety Authority (EFSA) (2010). Scientific Opinion on the re-evaluation of lutein (E 161b) as a food additive. *EFSA*; 8 (7), 1678, Parma, Italy.

3. Madhavi, D. L. (2002). Process for isolation of mixed carotenoid from plants. *US* Patent: 6380442 B1.

4. Sarkar, C. R., Bhagawati, B., Das, L., Goswami, B. C. (2012). An efficient condition of Saponification of Lutein ester from marigold flower. *J. Annals of Biological Research*, 3 (3), 1461 - 1466.

5. Shao, A. (2001). The role of Lutein in Human Health. *J. American Nutraceutical Association*, 4 (2), 8 - 19.

6. Joseph, S., Nadu, T., Anandane, A., Nagar, R. R. (2013)., Process for isolation and purification of carotenoids, *US Patent* 2013/00661 17 A1.

7. Madhavi, D. L. (2002). Process for isolation of mixed carotenoid from plants. *US Patent:* 6380442 B1.

8. Sujith, P. A., Hymavathi, T. V. and Yasoda Devi, P. (2012). A comparative study of the hydrolysis of supercritical fluid extracted lutein esters by improved saponification and enzyme biocatalysis. *J. International Food Research*, 19 (3), 847 - 856.

9. Britton, G., Liaanen-Jensen, S., Pfander, H. (1995). Carotenoids 1A: Isolation and Analysis. *Birkhäuser Verlag*, Basel, Switzeland.

10. Khachik, F. (2001) Process for extraction and purification of lutein, zeaxanthin and rare carotenoids from Marigold flowers and plants. *US Patent* 6,262,284 B1.

11. Kumar, S. T. K., Abdnlkadir; S. P., Sebastian, S. (2004). Process for the preparation of xanthophyll crystals. *US Patent*: 6,743,953 B2.

12. Swaminathan, S., Madavalapil, K. P. (2009). Isolation and purification of carotenoids from Marigold flowers. *US Patent*: 7,622,599 B2.

13. Joseph, S., Nadu, T., Anandane, A., Nagar, R. R. (2013)., Process for isolation and purification of carotenoids, *US Patent* 2013/00661 17 A1.

14. Hoàng Thị Huệ An và cs (2014). Xây dựng quy trình công nghệ quy mô phòng thí nghiệm thu nhận lutein từ hoa cúc vạn thọ (*Tagetes erecta* L.), ứng dụng làm chất màu thực phẩm. Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học tỉnh Khánh Hoà.

15. Hoàng Thị Huệ An (2009). Nghiên cứu định lượng astaxanthin và carotenoid đi kèm trong đối tượng thủy sản bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC*).* Luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa Phân tích. Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

16. Khachik, F. (1995). Process for isolation, purification and recrystallization of lutein from marigold oleoresin and uses thereof. *US Patent* 5382714.

17. Tee E. Siong, Lim Chin Lam (1992). Analysis of Carotenoids in Vegetables by HPLC. *J. ASEAN Food*, 7, 2.

EFFECTS OF REACTIVE CONDITIONS ON SAPONIFICATION PERFORMANCE LUTEIN ESTER EXTRACT FROM MARIGOLD FLOWERS (*Tagetes erecta* L.)

Le My Kim Vuong, Hoang Thi Hue An, Tran Thi Phuong Anh, Tran Ngoc Le

Nguyen Thi Minh Nguyet, Tran Van Hieu, Nguyen Minh Dang

Summary

Tagetes erecta L. marigold flowers represent a subject widely studied in research due to their high content and quality of lutein - a natural pigment possessing various biological activity, particularly for human eyes. Lutein is usually obtained by main steps including enzyme-based treatment, solvent extraction, and alkaline hydrolysis. In this paper, the hydrolysis of lutein ester using a chemical agent (KOH) was controlled with the aim to obtain optimized processing of lutein isolation. Reactional conditions were investigated by an HPLC - based method to identify yield of reaction. Results showed that at ratio [KOH]/[lutein ester] 0.17 - 0.19 w/v at 70°C in 80 minutes, the yield was 83.54% of *trans*-lutein.

Keywords: *Lutein, lutein ester, HPLC reversed phase, saponificat.*

Người phản biện: TS. Vũ Đức Chiến
Ngày nhận bài: 22/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 20/3/2023
Ngày duyệt đăng: 27/3/2023

ĐẶC TÍNH CỦA MÀNG BAO ĂN ĐƯỢC LÀM TỪ CHẤT NHẦY HẠT É (*Ocimum basilicum* L. var. Pilosum (Willd.) Benth) VỚI CÁC CHẤT HÓA DẺO KHÁC NHAU

Ngô Ái Quỳnh[1, 2], Nguyễn Thiên Ân[1, 2], Lê Ngọc Liễu[1, 2, *]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá tính khả thi của chất nhầy hạt é như một màng bao ăn được mới. Glycerol, sorbitol và mannitol được nghiên cứu bổ sung như là chất hóa dẻo ở các nồng độ khác nhau bao gồm 30%, 40% và 50% (w/w). Tính chất của màng được đánh giá thông qua khả năng cản hơi nước, cản oxy, phổ FTIR, hình ảnh SEM và tính chất cơ học. Mặc dù việc bổ sung chất hóa dẻo không cải thiện tính chất cơ học, nhưng có tác động tích cực đến các tính chất khác của màng. Chất hóa dẻo có khả năng làm giảm tính thấm hơi nước được chọn cho các thí nghiệm chuyên sâu hơn, bao gồm glycerol 40%, glycerol 50%, sorbitol 40% và mannitol 40%. Kết quả cho thấy, sự góp mặt của chất hóa dẻo đã nâng cao khả năng chống thấm oxy của màng so với màng bao đối chứng không có chất hóa dẻo, đặc biệt là mẫu với glycerol 40%. Xét về tính chất vật lý, việc bổ sung chất hóa dẻo làm tăng khối lượng riêng, do đó làm giảm độ dày của màng do sự tương tác mạnh giữa chất hóa dẻo và chuỗi polyme, điều này đã được kiểm chứng bằng sự dịch chuyển của các đỉnh đặc trưng trong phổ FTIR của chúng. Ảnh hiển vi quét điện tử cho thấy, các màng có bổ sung chất hóa dẻo trở nên mượt và đồng đều hơn, ít bị vón cục hơn so với màng đối chứng. Trong số tất cả các chất hóa dẻo, màng được kết hợp với glycerol thể hiện các đặc tính tốt nhất. Nghiên cứu này cho thấy, chất nhầy hạt é có tiềm năng tốt để được sử dụng làm màng ăn được cho các ứng dụng thực phẩm khác nhau khi được kết hợp với chất hóa dẻo thích hợp.

Từ khoá: *Chất hóa dẻo, chất nhầy hạt é, màng ăn được, tính chất cơ học, tính rào cản oxy, tính thấm hơi nước.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Polyme hay còn gọi là nhựa, là một trong những vật liệu sản xuất bao bì đóng gói phổ biến nhất vì chúng có các tính năng tiện lợi như mềm, nhẹ và trong suốt. Tuy nhiên, việc sử dụng các loại bao bì tổng hợp từ polyme trong thời gian dài đã dẫn đến vấn đề ô nhiễm môi trường vì các loại bao bì này không thể phân hủy hoàn toàn. Để giải quyết vấn đề này, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để phát triển các vật liệu thân thiện với môi trường dùng để thay thế vật liệu nhựa. Trong đó, các polyme tự nhiên đã nhận được nhiều sự quan tâm từ người tiêu dùng,… [1]. Màng ăn được có thể phân hủy sinh học có thể giúp duy trì chất lượng và tăng thời hạn sử dụng của các sản phẩm thực phẩm bằng cách đóng vai trò là rào cản kiểm soát sự chuyển dịch của ẩm, oxy, chất béo và hương vị [2]. Các vật liệu có thể áp dụng để tạo màng và lớp phủ ăn được có thể phân hủy sinh học thường được phân loại thành các loại polysacarit, chất béo và protein. Nhiều polysacarit khác nhau đã được sử dụng để chế tạo màng ăn được, bao gồm tinh bột [3], chất nhầy hạt cải [4], chất nhầy hạt mộc qua [5], chất nhầy hạt psyllium [6].

Cây é (*Ocimum basilicum* L.) là một loại cây thân thảo, thuộc họ Labiatae. Chất nhầy chiết xuất từ cây é là một tiềm năng vì có một số ưu điểm so với các polysacarit khác như chi phí sản xuất thấp, đặc tính ưa nước, tương thích sinh học và phân hủy sinh học cũng như các đặc tính lưu biến tốt, dẫn đến khả năng tạo màng tuyệt vời. Khazaei và cs (2014) [7] đã nghiên cứu chất nhầy chiết xuất

[1] Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế
[2] Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[*] Email: lnlieu@hcmiu.edu.vn

hạt é có thể tạo màng bao có cấu trúc ổn. Mặt khác, nhiều chất hóa dẻo khác nhau, thường là polyol, đã được sử dụng để tăng khả năng gia công và tính linh hoạt của màng ăn được. Tuy nhiên, nghiên cứu về màng ăn được có khả năng phân hủy sinh học được điều chế từ chất nhầy chiết xuất từ hạt é dưới tác dụng của glycerol, sorbitol và mannitol làm chất hóa dẻo vẫn chưa được thực hiện. Chính vì vậy, nghiên cứu đặc tính của màng bao ăn được làm từ chất nhầy hạt é với các chất hóa dẻo khác nhau là rất cần thiết.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị mẫu

2.1.1. Chuẩn bị mẫu bột từ chất nhầy hạt é

Bột hạt é được chiết xuất dựa trên phương pháp của Khazaei và cs (2014) [7] với một số sửa đổi. Hạt é được mua từ siêu thị ở thành phố Hồ Chí Minh. Hạt được làm sạch ít nhất 4 lần trong etanol để loại bỏ tạp chất và làm bay hơi trong tủ sấy ở 40°C, sau đó ngâm trong nước cất theo tỷ lệ 30: 1 (w/w) ở 35°C qua đêm. Những hạt é trương nở được khuấy bằng máy xay sinh tố với tốc độ 1.500 vòng/phút trong 10 phút để cạo lớp nhầy ra khỏi bề mặt hạt. Sau đó, chất nhầy được tách ra khỏi hỗn hợp bằng cách vắt qua khăn lọc và loại bỏ phần hạt. Phần chất nhầy sau khi lọc được tinh chế kỹ lưỡng bằng cách trộn với etanol 96% theo tỷ lệ 1: 3 (v/v) để kết tủa polysacarit. Cuối cùng, chất nhầy hạt é được sấy khô chân không, nghiền thành dạng bột và bảo quản trong túi nhựa kín bên trong bình hút ẩm để tránh tái hấp thụ ẩm.

2.1.2. Tạo màng từ bột nhầy hạt é

Để chuẩn bị dung dịch tạo màng, bột nhầy hạt é hòa tan trong nước được trộn với glycerol, mannitol, sorbitol làm chất hóa dẻo theo tỷ lệ 30%, 40% và 50% (w/w) tính theo khối lượng bột nhầy hạt é. Sau khi bổ sung chất hóa dẻo, dung dịch tiếp tục được khuấy thêm 15 phút ở 55°C. Các dung dịch tạo màng sau đó được khử khí trong tủ lạnh qua đêm để loại bỏ các bong bóng có thể trở thành lỗ kim sau khi khô. Màng phim được tạo thành bằng cách đổ hỗn hợp lên đĩa petri được đặt trong khoảng 18 giờ ở nhiệt độ phòng. Màng phim khô được bóc ra và bảo quản trong bình hút ẩm ở 25°C cho đến khi phân tích. Màng phim được bảo quản ở nhiệt độ phòng (25°C) trong các khoang chứa dung dịch bão hòa magie nitrat qua đêm trước khi làm các phương pháp phân tích.

2.2. Phương pháp phân tích

2.2.1. Đo độ dày, khối lượng riêng và độ ẩm của màng

Độ dày màng được đo bằng thước micromet kỹ thuật số. Khối lượng riêng của màng phim được tính bằng cách chia khối lượng phim cho thể tích phim [8]. Độ ẩm được xác định theo phương pháp sấy khô.

2.2.2. Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR)

Phổ FTIR của phim được ghi lại bằng cách sử dụng máy đo quang phổ có tích hợp với ATR trong dải bước sóng 4.000 - 650 cm^{-1} với độ phân giải 4 cm^{-1}.

2.2.3. Đo độ thẩm thấu hơi nước qua màng

Độ thẩm thấu hơi nước của màng được xác định theo phương pháp ASTM E96 ở 25°C [9]. Các lọ thủy tinh có chứa canxi clorua khan được niêm phong bằng màng thử nghiệm (để lại khoảng cách không khí 1 cm giữa màng và chất hút ẩm). Sau đó, các màng phim được đặt trong khoang ẩm có chứa dung dịch bão hòa natri clorua. Sự thay đổi về khối lượng của lọ được ghi lại và vẽ dưới dạng một hàm theo thời gian. Độ dốc của mỗi đường được tính bằng hồi quy tuyến tính ($R^2 > 0,99$) và tốc độ thẩm thấu hơi nước (WVTR) được tính toán thông qua độ dốc của đường thẳng (mg/d) chia cho diện tích màng thử nghiệm (m^2), theo công thức sau:

$$WVTR = \frac{\text{độ dốc}}{\text{diện tích}} = \frac{\Delta m}{\Delta t \times A} \quad (1)$$

Sau các thử nghiệm thẩm thấu, độ dày màng được đo và độ thấm hơi nước (WVP) (mg mm m^{-2} d^{-1} kPa^{-1}) được tính theo công thức sau:

$$WVP = \frac{\Delta m}{A \times \Delta t} \frac{X}{\Delta p} \quad (2)$$

Trong đó: $\Delta m/\Delta t$ là khối lượng ẩm tăng lên trong một đơn vị thời gian (mg/d), X là độ dày màng trung bình (mm), A là diện tích bề mặt màng tiếp xúc (m^2) và Δp là chênh lệch áp suất hơi nước giữa hai mặt màng (kPa).

2.2.4. Đo tốc độ thẩm thấu khí oxy qua màng

Một bình tam giác 100 mL chứa 25 mL dầu hướng dương, được che phủ bằng các loại màng khác nhau, bịt kín bằng parafin và được bảo quản ở nhiệt độ được kiểm soát (60°C) trong 10 ngày. Giá trị peroxit của các mẫu dầu hướng dương được xác định bằng phương pháp chuẩn độ natri thiosunfat. Tất cả các thử nghiệm đã được thực hiện trong 3 lần.

2.2.5. Đo tính chất cơ học của màng

Các tính chất cơ học của màng được xác định theo tiêu chuẩn ASTM D882. Phim được cắt thành các dải hình chữ nhật 50 mm x 100 mm và ổn định trước trong 48 giờ ở 25°C trong khoang ẩm chứa dung dịch bão hòa magie nitrat. Sau đó, các màng này được kẹp giữa các kẹp và lực và mức biến dạng được ghi lại trong quá trình kéo dài ở tốc độ 50 mm/phút với khoảng cách ban đầu là 50 mm giữa các kẹp. Độ giãn dài khi đứt và lực cực đại được ghi nhận. Độ bền kéo được tính bằng cách chia lực tối đa cho tiết diện của màng (độ dày x chiều rộng).

2.2.6. Hình thái màng phim

Hình thái bề mặt và mặt cắt ngang của phim được quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) (JSM-IT100 InTouchScope, Jeol Ltd., Nhật Bản). Trước khi quan sát, các màng được bẻ gãy trong nitơ lỏng, được gắn trên giá đỡ mẫu vật và được phun xạ một lớp vàng mỏng.

2.3. Xử lý số liệu

Các kết quả được phân tích bằng phương pháp ANOVA với mức tin cậy 95% để xác định mức độ khác biệt ý nghĩa bằng phần mềm Minitab 18. Các thí nghiệm lặp lại 3 lần.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Độ thẩm thấu hơi nước qua màng

Độ thẩm thấu hơi nước (WVP) là một trong những tính chất quan trọng và phổ biến nhất của màng ăn được vì chúng có mối liên hệ chặt chẽ với các phản ứng phân hủy. Độ thấm hơi nước của màng càng thấp càng tốt thể hiện giảm sự truyền hơi ẩm giữa thực phẩm và không khí xung quanh. Các giá trị độ thẩm thấu hơi nước của màng phim với các nồng độ glycerol, sorbitol và mannitol khác nhau được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Hệ số thấm hơi nước của màng phim kết hợp với chất hóa dẻo

Nghiệm thức	WVP (mg mm m^{-2} d^{-1} kPa^{-1})
Đối chứng	$4,44 \pm 0,09^{b}$
Glyxerol 30%	$3,90 \pm 0,15^{c}$
Glyxerol 40%	$4,29 \pm 0,12^{b}$
Glyxerol 50%	$3,57 \pm 0,17^{c}$
Sorbitol 30%	$5,46 \pm 0,2^{a}$
Sorbitol 40%	$2,73 \pm 0,10^{d}$
Sorbitol 50%	$4,89 \pm 0,15^{b}$
Manitol 30%	$4,44 \pm 0,16^{b}$
Manitol 40%	$2,86 \pm 0,19^{d}$
Manitol 50%	$3,59 \pm 0,08^{c}$

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

Bảng 1 cho thấy, giá trị mẫu đối chứng không có chất hóa dẻo là 4,44 mg mm m-2 d-1 kPa-1. Sự có mặt của chất hóa dẻo làm giảm hoặc tăng độ thẩm thấu hơi nước của màng tùy thuộc vào hàm lượng của nó. Glycerol 50%, sorbitol 40% và mannitol 40% thể hiện hiệu quả cao do giá trị thấm hơi nước thấp hơn. Hơn nữa, ở nồng độ chất hóa dẻo bằng nhau (40%), màng dẻo hóa glycerol dễ thấm hơi nước hơn so với màng dẻo hóa bằng sorbitol và mannitol, trong khi không có sự khác biệt đáng kể giữa màng dẻo hóa sorbitol và mannitol. Tuy nhiên, hàm lượng chất hóa dẻo cao hơn (50%) gây ra sự gia tăng WVP của màng ưa nước do sự sắp xếp lại mạng lưới polysacarit và do đó làm tăng thể tích tự do và chuyển động phân đoạn [10], cho phép các phân tử nước khuếch tán dễ dàng hơn và cho WVP cao hơn. Do đó, độ thẩm thấu hơi nước qua màng thể hiện xu hướng sau đây sorbitol 40% < mannitol 40% < glycerol 50% < glycerol 40% và các điều kiện này được chọn để thử nghiệm thêm trong các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Tính cản oxy thẩm thấu qua màng

Bảng 2. Giá trị PV cho các mẫu màng khác nhau

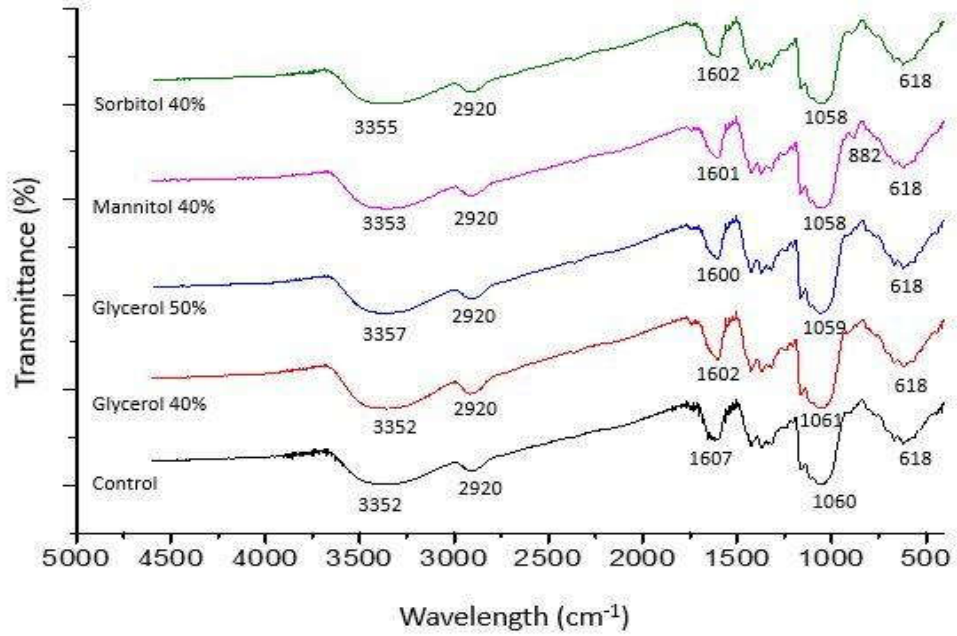
Loại phim	Giá trị peroxide (meq/kg)
Đối chứng	12,47 ± 0,31^{e}
Glyxerol 40%	32,33 ± 1,94^{a}
Glyxerol 50%	25,20 ± 1,78^{b}
Sorbitol 40%	17,00 ± 0,60^{c}
Manitol 40%	14,83 ± 0,80^{d}
Đối chứng âm	12,03 ± 0,12^{e}
Đối chứng dương	33,20 ± 1,35^{a}

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

Tính cản thấm oxy là một đặc tính rào cản quan trọng khác vì quá trình oxy hóa chất béo và các thành phần thực phẩm là một trong những nguyên nhân chính gây hư hỏng thực phẩm [1]. Bảng 2 cho thấy, màng đối chứng âm và đối chứng dương, tương ứng với việc không sử dụng và có sử dụng nắp nhôm, có giá trị peroxide value (PV) lần lượt là 12,03 và 33,20 meq/kg. Mẫu đối chứng dương nhốt oxy bên trong gây sự oxi hóa cao, trong khí mẫu đối chứng âm cho phép oxi thoát ra ngoài nên có giá trị oxi hóa thấp. Giá trị PV của dầu được che phủ bởi các màng dao động từ 12,47 - 32,33 meq/kg, nằm trong khoảng giá trị của 2 mẫu đối chứng cho thấy, tất cả các màng đều có khả năng ngăn cản nhất định đến sự xuyên thấm của oxy. Giá trị PV càng cao cho thấy mức độ nhốt oxy càng cao hay khả năng kháng thấm oxy càng tốt và theo xu hướng glycerol 40% > glycerol 50% > sorbitol 40% > mannitol 40%.

3.3. Phổ FTIR của màng

Phổ FTIR của các màng phim từ chất nhầy hạt é kết hợp với các chất hóa khác nhau được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Phổ FTIR của màng phim được kết hợp với chất hóa dẻo

Quang phổ hồng ngoại (phổ FTIR) giúp nhận diện các nhóm chức năng có trong màng phim. Dao động cực đại quan sát được ở 750 - 1.250 cm^{-1} được xem là phổ đặc trưng của nhóm carbohydrate [11]. Các dải ở 1.158,04 và 1.058 cm^{-1} là do các dao động kéo dài C-O-C của các liên kết glycosid. Các cực đại hấp thụ ở 1.420 và 1.600 cm^{-1} lần lượt là do các dao động kéo dài C=N và C=C. Liên kết hydro thường được xác định bởi các dao động kéo dài -OH tại các vùng hấp thụ rộng trong khoảng từ 3.700 - 3.000 cm^{-1}. Các dải hấp thụ rộng giữa 3.000 và 2.800 cm^{-1} được cho là do -CH_2- và

>CH– rung động kéo dài và uốn cong [12]. Các màng phim kết hợp với chất hóa dẻo thể hiện sự tương đồng không có đỉnh mới. Tuy nhiên, vị trí của các đỉnh cực đại hơi dịch chuyển về phía bước sóng cao hơn hoặc thấp hơn (đối với quá trình kéo dài OH và C=C) cho thấy, mức độ tương tác khác nhau giữa polyme chất nhầy hạt é và chất hóa dẻo.

3.4. Tính chất vật lý của phim

Bảng 3 trình bày ảnh hưởng của chất hóa dẻo đến tính chất vật lý của màng phim bao gồm độ dày, khối lượng riêng và độ ẩm. Độ dày của màng phim trong nghiên cứu này cao hơn nhiều so với nghiên cứu của Khazaei và cs (2014) [7] trong khoảng 5,8 - 7,4 µm. Các kết quả có thể được giải thích bằng sự khác biệt trong công thức dung dịch tạo màng và trong quy trình tạo màng, đặc biệt là trong các bước tinh chế (kết tủa bằng cồn) và chuẩn bị bột. Độ dày cao nhất 10,75 µm thu được ở mẫu đối chứng có khối lượng riêng nhỏ nhất là 0,861 g/mL. Việc bổ sung chất hóa dẻo làm tăng khối lượng riêng và do đó làm giảm độ dày. Sự gia tăng khối lượng riêng là do khối lượng riêng của chất hóa dẻo cao, dẫn đến thứ tự khối lượng riêng của màng tuân theo thứ tự mật độ riêng của chất hóa dẻo glycerol (1,26 g/cm^3) < sorbitol (1,49 g/cm^3) < mannitol (1,514 g/cm^3). Ngoài ra, sự tương tác mạnh mẽ giữa chất hóa dẻo và chuỗi polysacarit cũng làm chặt ma trận polyme và góp phần tạo ra khối lượng riêng cao hơn. Mặt khác, việc kết hợp các chất hóa dẻo vào màng cũng làm thay đổi độ ẩm của chúng (Bảng 3), trong đó các giá trị cao hơn được quan sát thấy đối với màng có sử dụng chất hoá dẻo. Vì các màng được để bay hơi tự nhiên nên độ ẩm của chúng phụ thuộc vào tính ưa nước hoặc khả năng liên kết nước của các chất trong màng. Theo Ghasemlou và cs (2011) [13], chất hóa dẻo có thể đóng vai trò là chất giữ nước, giúp màng phim trở nên ưa nước hơn với sự gia tăng hàm lượng chất hóa dẻo. Hiện tượng tương tự cũng được quan sát thấy trong các nghiên cứu trước đây [7], [14].

Bảng 3. Độ dày, khối lượng riêng và độ ẩm của màng phim kết hợp với chất hóa dẻo

Loại phim	Độ dày (µm)	Khối lượng riêng (g/cm^3)	Độ ẩm (%)
Đối chứng	10,75 ± 0,17^a	0,861 ± 0,014^d	10,17 ± 0,16^b
Glyxerol 40%	7,95 ± 0,22^b	1,145 ± 0,032^c	11,75 ± 0,20^a
Glyxerol 50%	8,02 ± 0,31^b	1,227 ± 0,047^c	12,11 ± 0,05^a
Sorbitol 40%	8,47 ± 0,06^b	1,636 ± 0,012^b	10,49 ± 0,01^b
Manitol 40%	8,20 ± 0,15^b	1,919 ± 0,035^a	12,32 ± 1,08^a

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

3.5. Tính chất cơ học của màng

Ảnh hưởng của việc kết hợp chất hóa dẻo đến tính chất cơ học của màng phim được trình bày trong bảng 4.

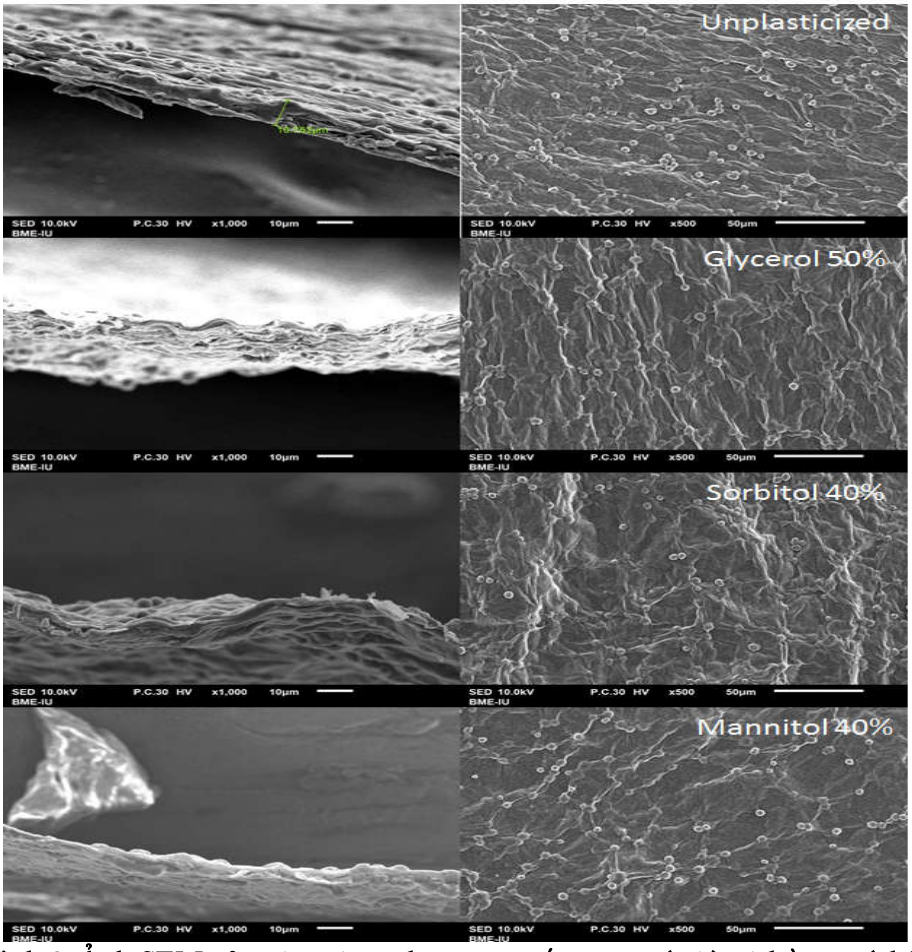
Bảng 4. Độ bền kéo của màng phim kết hợp với chất hóa dẻo

Loại phim	Độ bền kéo (MPa)	Độ giãn dài khi đứt (%)
Đối chứng	6,63	2,24
Glyxerol 40%	6,27	1,95
Glyxerol 50%	6,31	2,00
Sorbitol 40%	4,08	1,86
Manitol 40%	2,06	3,04

Bảng 4 cho thấy, sự hiện diện của chất hóa dẻo trong màng gây ra sự khác biệt đáng kể về độ bền kéo và độ giãn dài khi đứt. Việc bổ sung chất hóa dẻo không cải thiện tính chất cơ học của màng. Tuy nhiên, quá trình xử lý thực tế cho thấy màng phim không hóa dẻo cần phải bóc cẩn thận khỏi bề mặt vật đúc do tính giòn và nếp nhăn của nó trong khi màng kết hợp với chất hóa dẻo dễ xử lý hơn [15].

3.6. Hình thái màng phim

Kính hiển vi điện tử quét (SEM) có thể giúp hiểu rõ hơn về mối quan hệ của sự truyền hơi nước, các tính chất cơ học và quang học với các đặc điểm cấu trúc của màng [4].



Hình 2. Ảnh SEM của các màng phim; mặt cắt ngang (trái) và bề mặt (phải)

Hình 2 hiển thị ảnh SEM của mặt cắt ngang (trái) và bề mặt (phải) đối với màng đối chứng và màng có bổ sung chất hóa dẻo. Các màng phim không hóa dẻo có bề mặt gồ ghề với nhiều vết do tập hợp polyme tạo ra. Việc bổ sung chất làm dẻo làm cho bề mặt mịn hơn, đồng đều hơn và ít đốm hơn [7]. Các hình ảnh cắt ngang tiết lộ rằng các màng phim có cấu trúc nhiều lớp.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã chứng minh khả năng tạo màng polysaccharid được chiết xuất từ chất nhầy hạt é khi kết hợp với các chất làm dẻo khác nhau. Chất nhầy hạt é dường như là một nguyên liệu thực phẩm hấp dẫn để tạo màng và lớp phủ ăn được, đặc biệt là sau khi được tinh chế bằng ethanol. Phim trong suốt với các đặc tính vật lý và rào cản tốt hơn. Các chất hóa dẻo, đặc biệt là glycerol, đóng vai trò quan trọng trong việc tạo màng dẻo đồng nhất và ảnh hưởng đến các tính chất cơ lý của màng. Nhìn chung, các đặc tính tốt nhất của màng phim được quan sát thấy khi glycerol được sử dụng làm chất hóa dẻo. Mặc dù việc bổ sung chất hóa dẻo không làm tăng tính chất cơ học, nhưng các tính chất này có thể được cải thiện bằng cách điều chỉnh độ ẩm thích hợp

cho màng để chúng linh hoạt hoặc bền hơn và thậm chí dễ xử lý hơn. Do khả năng thấm hơi nước thấp và khả năng ngăn ngừa oxy tốt, đây là hai đặc điểm quan trọng nhất của bao bì thực phẩm, màng phim từ chất nhầy hạt é có thể là một giải pháp thay thế tiềm năng cho bao bì tổng hợp khi được kết hợp với chất hóa dẻo phù hợp, chủ yếu để bảo quản thực phẩm có độ ẩm thấp hoặc độ ẩm trung gian. Cần có những nghiên cứu tiếp theo để đánh giá hiệu quả của những màng này trên các sản phẩm thực phẩm cụ thể.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.99-2019.346.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Janjarasskul, T., & Krochta, J. M. (2010). Edible packaging materials. *Annual review of food science and technology*, *1*, 415 - 448.

2. Gontard, N., Duchez, C., CUQ, J. L., & Guilbert, S. (1994). Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *International journal of food science & technology*, 29 (1), 39 - 50.

3. Osés, J., Niza, S., Ziani, K., & Maté, J. I. (2009). Potato starch edible films to control oxidative rancidity of polyunsaturated lipids: effects of film composition, thickness and water activity. *International journal of food science & technology*, 44 (7), 1360-1366.

4. Jouki, M., Khazaei, N., Ghasemlou, M., & HadiNezhad, M. (2013). Effect of glycerol concentration on edible film production from cress seed carbohydrate gum. *Carbohydrate polymers*, 96 (1), 39 - 46.

5. Jouki, M., Mortazavi, S. A., Yazdi, F. T., & Koocheki, A. (2014). Characterization of antioxidant–antibacterial quince seed mucilage films containing thyme essential oil. *Carbohydrate polymers*, 99, 537 - 546.

6. Ahmadi, R., Kalbasi-Ashtari, A., Oromiehie, A., Yarmand, M. S., & Jahandideh, F. (2012). Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata* Forsk). *Journal of Food Engineering*, 109 (4), 745 - 751.

7. Khazaei, N., Esmaiili, M., Djomeh, Z. E., Ghasemlou, M., & Jouki, M. (2014). Characterization of new biodegradable edible film made from basil seed (*Ocimum basilicum* L.) gum. *Carbohydrate polymers*, 102, 199 - 206.

8. Larotonda, F. D. S., Matsui, K. N., Sobral, P. J. D. A., & Laurindo, J. B. (2005). Hygroscopicity and water vapor permeability of Kraft paper impregnated with starch acetate. *Journal of Food Engineering*, 71 (4), 394 - 402.

9. ASTM, E. (96). Standard test methods for water vapor transmission of materials. *ASTM International: West, Conshohocken, PA*, *96*.

10. Sothornvit, R., & Krochta, J. M. (2001). Plasticizer effect on mechanical properties of β-lactoglobulin films. *Journal of food engineering*, 50 (3), 149 - 155.

11. Wang, H. X., Yi, Y., Sun, J., Lamikanra, O., & Min, T. (2018). Fingerprint profiling of polysaccharides from different parts of lotus root varieties. *RSC advances*, 8 (30), 16574 - 16584.

12. Kang, J., Cui, S. W., Chen, J., Phillips, G. O., Wu, Y., & Wang, Q. (2011). New studies on gum ghatti (*Anogeissus latifolia*) part I. Fractionation, chemical and physical characterization of the gum. *Food hydrocolloids*, 25 (8), 1984 - 1990.

13. Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Oromiehie, A., & Yarmand, M. S. (2011). Development and characterisation of a new biodegradable edible film made from kefiran, an exopolysaccharide obtained from kefir grains. *Food Chemistry*, 127 (4), 1496 - 1502.

14. Zhang, Y., & Han, J. H. (2006). Plasticization of pea starch films with monosaccharides and polyols. *Journal of Food Science*, 71 (6), E253 - E261.

15. Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., & Oromiehie, A. (2011). Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran. *Carbohydrate polymers*, 84 (1), 477 - 483.

CHARACTERIZATION OF EDIBLE FILMS MADE FROM BASIL (*Ocimum basilicum* L. var. Pilosum (Willd.) Benth) SEED GUM WITH DIFFERENT PLASTICIZERS

Ngo Ai Quynh[1, 2], Nguyen Thien An[1, 2], Le Ngoc Lieu[1, 2, *]

[1]*School of Biotechnology, International University*

[2]*Vietnam National University at Ho Chi Minh city, Vietnam*

[*]*Email: lnlieu@hcmiu.edu.vn*

Summary

This study was conducted to examine the feasibility of basil seed gum as a new edible film. The influence of addition of glycerol, sorbitol and mannitol as plasticizers at different concentrations including 30%, 40%, and 50% (w/w) were investigated. The characterization of the films was conducted by physical properties, water vapor permeability, oxygen barrier, FTIR spectra, SEM images and mechanical properties. Although the addition of plasticizers did not improve the mechanical properties, there were significant effects on other film's properties. The adequate content of plasticizers decreased water vapor permeability and were chosen for further testing, including glycerol 40%, glycerol 50%, sorbitol 40%, and mannitol 40%. The results showed that the contribution of plasticizers enhanced the ability against oxygen permeability of the films compared to the control film without plasticizers, especially for the glycerol-plasticized film with its content of 40%. In terms of physical properties, the addition of plasticizers increased the density and hence lowered the thickness of the films due to the strong interaction between the plasticizers and polymer chains, which was proven by the shifts of characteristic peaks in their FTIR spectra. The electron scanning micrograph showed that the plasticized films became smoother and more uniform with less polymer aggregates than the control film. Among all the plasticizers, the film incorprated with glycerol exhibited the best properties. This study revealed that basil seed gum had a good potential to be used as edible films for various food applications when incorporated with suitable plasticizers.

Keywords: *Basil seed gum, edible film, oxygen barrier, plasticizer, water vapor permeability.*

Người phản biện: TS. Lê Hà Hải
Ngày nhận bài: 20/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 17/3/2023
Ngày duyệt đăng: 24/3/2023

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA VI SÓNG VÀ SÓNG SIÊU ÂM ĐẾN HÀM LƯỢNG PROTEIN TRÍCH LY TỪ ĐẬU ĐEN XANH LÒNG VÀ ĐẬU ĐEN THƯỜNG (*Vigna cylindrica* (L). Skeels)

Nguyễn Hoàng Khoa Nguyên[1, 2*], Lê Ngọc Liễu[1, 2]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này tiến hành khảo sát sự hỗ trợ của sóng siêu âm và vi sóng đến khả năng trích ly protein từ đậu đen xanh lòng và đậu đen thường. Khi có sự hỗ trợ của vi sóng, tỷ lệ trích ly protein đạt kết quả cao hơn với thời gian áp dụng ngắn hơn. Để thu được hàm lượng protein tối đa trong đậu đen xanh lòng, điều kiện trích ly cần phải đạt được là tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 25 (w/v), pH 12,5, công suất 800 W và thời gian vi sóng là 50 giây (365,6 mg/g chất khô). Các thông số trích ly này gần như tương tự với đậu đen thường, ngoại trừ tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 20 (w/v) và pH 13. Trong khi đó, khảo sát ảnh hưởng của sóng siêu âm, với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 15 (w/v), pH 13, nhiệt độ siêu âm là 50°C, thời gian siêu âm là 60 phút, hàm lượng protein thu được từ đậu đen xanh lòng đạt kết quả cao nhất (298,6 mg/g chất khô). So với đậu đen xanh lòng, protein thu được từ đậu đen thường đạt kết quả cao nhất với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 25 (w/v), pH 13, nhiệt độ 70°C và thời gian áp dụng là 120 phút. Kết quả của nghiên cứu cho thấy, việc sử dụng sóng siêu âm và vi sóng có thể mang lại nhiều tiềm năng trong việc cải thiện hàm lượng protein được trích ly từ đậu đen.

Từ khóa: *Xanh lòng, đậu đen, protein trích ly, vi sóng, siêu âm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu đen có tên khoa học là *Vigna cylindrica* (L.) Skeels thuộc họ Leguminosa [1, 2], thường được trồng ở các nước có khí hậu nhiệt đới với nhiệt độ tối ưu từ 25 - 35°C như: Ấn Độ, Parkistan, Iran và Đông Nam Á. Chúng được coi là nguồn cung cấp protein, chất xơ, một số vitamin B phức hợp và các khoáng chất thiết yếu cho con người [2]. Hơn nữa, các hợp chất phenolic trong đậu đen hoạt động như chất chống oxy hóa để ngăn ngừa sự phát triển của nhiều bệnh, giảm nguy cơ ung thư, các bệnh về tim mạch và đái tháo đường, tăng cường hệ miễn dịch và sức đề kháng của con người. Ở Việt Nam, đậu đen có hai loại chính là đậu đen thường và xanh lòng. Ngoại trừ sự khác biệt về màu sắc của nhân, đậu đen xanh lòng có kích thước nhỏ hơn, bằng một nửa so với đậu đen thường. Hạt đậu đen xanh lòng được cho là có hàm lượng chất dinh dưỡng cao và có thể ngăn ngừa nhiều bệnh…

Protein hay còn gọi là chất đạm, là một đại phân tử, có cấu trúc phức tạp, được tạo thành từ hàng trăm hoặc hàng nghìn đơn axit amin, được gắn với nhau thành chuỗi dài. Protein là thành phần thiết yếu của cơ thể sinh vật và tham gia vào mọi quá trình bên trong tế bào, như trở thành enzyme xúc tác cho các phản ứng sinh hóa và trao đổi chất, hỗ trợ chức năng vận động của con người. Nhiều nghiên cứu khoa học đã chứng minh rằng, đậu đen chứa một lượng lớn protein, cao hơn đậu nành, thịt, trứng hoặc sữa. Vì vậy, đậu đen thường được sử dụng như nguồn thực phẩm để thay thế cho protein từ thịt, tăng cường sức khỏe con người. Mặc dù protein có nhiều lợi ích, nhưng protein không phải là hợp chất sinh học chính được chiết xuất từ đậu đen, mà chỉ được coi là một

[1] Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế
[2] Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
*Email: khoanguyen2597@gmail.com

phụ phẩm, không được sử dụng, dẫn đến lãng phí nguồn protein dồi dào từ thực vật.

Có nhiều phương pháp để chiết xuất protein trong đậu như sử dụng enzyme, phương pháp màng lọc, phương pháp trao đổi ion để tách chiết. Tuy nhiên, những công nghệ tiên tiến này vẫn chưa phát triển và có giá thành khá cao. Hiện nay, việc chiết xuất protein trong đậu đen vẫn dựa trên phương pháp sử dụng kiềm và kết tủa bằng axit. Trong phương pháp này, natri hydroxit được sử dụng để hòa tan các protein và sau đó phá vỡ liên kết hydro, amide và disulfide hỗ trợ trong việc trích ly protein [3]. So với các phương pháp khác, việc chiết xuất kiềm được cho là dễ thực hiện, có chi phí thấp và thân thiện với môi trường. Tuy nhiên, ở phương pháp này, nếu sử dụng ở nồng độ cao, dung dịch kiềm có thể gây ảnh hưởng tới cấu trúc protein và gây ra các vấn đề về an toàn cho thực phẩm [4].

Ngày nay, nhiều phương pháp hiện đại đã được nghiên cứu nhằm tăng cường hiệu suất trích ly và làm giảm những hạn chế tác hại của các phương pháp truyền thống như sử dụng vi sóng, sóng siêu âm, phương pháp xung điện trường, chiếu xạ gamma và chiếu xạ cao hay sử dụng áp suất cao [5]. Trong những năm gần đây, trích ly có sự hỗ trợ của sóng siêu âm đã được sử dụng rộng rãi để trích ly các chất hoạt tính sinh học từ các sản phẩm nông nghiệp do hiệu suất cao, quy trình nhanh, tỷ lệ tiêu thụ dung môi thấp và hạn chế sự ô nhiễm môi trường. Ngoài sóng siêu âm, vi sóng cũng được coi là một phương pháp hỗ trợ hiệu quả, giúp giảm thời gian trích ly và tiết kiệm năng lượng. Mặc dù đem lại nhiều hiệu quả trong việc trích ly, việc sử dụng sóng siêu âm và vi sóng trong trích ly protein đậu đen chưa được nghiên cứu và đem lại nhiều tiềm năng cho ngành công nghệ thực phẩm. Vì vậy, mục đích chính của nghiên cứu này là tìm hiểu sự ảnh hưởng của vi sóng và sóng siêu âm lên quá trình trích ly protein từ hai loại đậu đen.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Hai loại nguyên liệu gồm đậu đen xanh lòng và đậu đen có nguồn gốc rõ ràng. Nguyên liệu phải đảm bảo chất lượng, không bị hư hỏng và nhiễm bẩn. Sau khi được đóng gói cẩn thận, sẽ được vận chuyển đến phòng thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chế biến bột đậu đen

Đậu đen sẽ được rửa sạch để loại bụi bẩn và tạp chất, sau đó, được sấy khô ở nhiệt độ 50°C đến khi đạt được độ ẩm dưới 13%. Tiếp đó, chúng được nghiền nhỏ (250 µm) và được lưu trữ trong tủ lạnh ở 4°C.

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của vi sóng lên quá trình trích ly protein từ đậu đen xanh lòng và đậu đen thường.

Dưới sự hỗ trợ của lò vi sóng R-21A1(S)V (800 W), protein trong hai loại đậu đen được trích ly theo phương pháp của Choi và cs (2006) [6]. Đầu tiên, 1 gram bột đậu đen được hòa tan với dung môi (nước cất) được điều chỉnh với các điều kiện khác nhau như tỷ lệ mẫu và dung môi (1:15 - 1:45 g/ml); công suất vi sóng (80 - 800 W), thời gian vi sóng (10 - 90 giây) và pH (11 - 13,5). Sau khi kết thúc quá trình trích ly, hỗn hợp được đem đi ly tâm với tốc độ 9.000 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C trong 15 phút. Phần dịch thu được sau quá trình trích ly sẽ được sử dụng để xác định hàm lượng protein.

Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của sóng siêu âm lên quá trình trích ly protein từ đậu đen xanh lòng và đậu đen thường.

Dưới sự hỗ trợ của bể chiết siêu âm Daihan WUC-A10H (40 kHz), protein từ hai loại đậu đen được trích ly theo phương pháp của Song và cs (2013) [7]. Đầu tiên, 1 g bột đậu đen được hòa tan với dung môi (nước cất) được điều chỉnh với các điều kiện khác nhau như tỷ lệ mẫu và dung môi (1: 15 đến 1: 45 g/ml); nhiệt độ siêu âm (30 - 80°C), thời gian siêu âm (30 - 180 phút) và pH (11 - 13,5). Sau khi kết thúc quá trình trích ly, hỗn hợp được đem đi ly tâm với tốc độ 9.000 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C trong 15 phút. Phần dịch thu được sau quá trình trích ly sẽ được sử dụng để xác định hàm lượng protein.

2.2.3. Phương pháp phân tích

Hàm lượng protein hòa tan được xác định bằng phương pháp Lowry với chất chuẩn là albumin huyết thanh bò (BSA) tại bước sóng 650 nm [8].

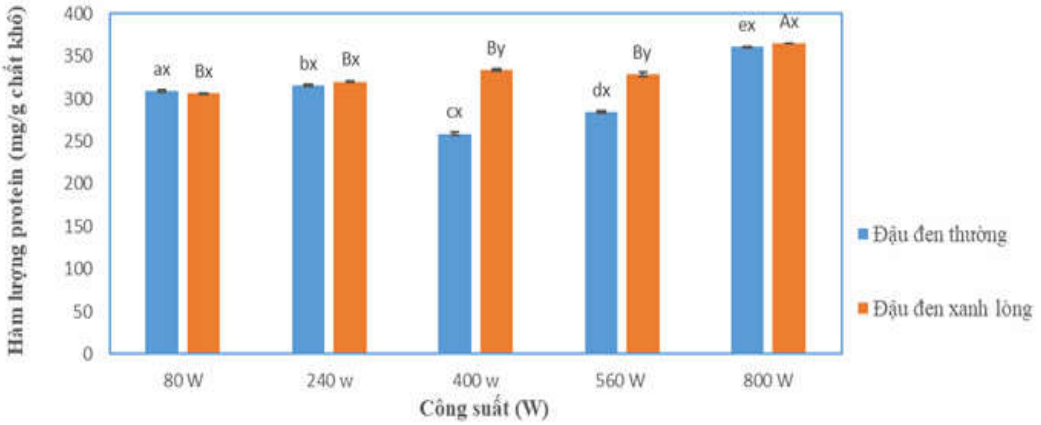
2.2.4. Phân tích số liệu

Tất cả các thí nghiệm đều được thực hiện 3 lần lặp lại. Kết quả được phân tích bằng phân tích phương sai một chiều (ANOVA) hoặc t-test, sử dụng phần mềm Minitab với mức độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly protein với sự hỗ trợ của vi sóng

3.1.1. Ảnh hưởng của công suất vi sóng lên quá trình trích ly của protein



Hình 1. Ảnh hưởng của công suất vi sóng lên quá trình trích ly protein

Ghi chú: Các giá trị AB chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-e là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

Kết quả khảo sát cho thấy, hiệu quả trích ly cao nhất ở mức công suất 800 W ở cả hai loại đậu đen. Theo đó, với đậu đen xanh lòng, khi công suất tăng từ 80 W lên 800 W, hàm lượng protein được trích ly trong dịch chiết tăng dần từ 306,1 lên 365,2 mg/g chất khô. Trong khi đó, ở đậu đen thường, hàm lượng protein trong dung dịch chiết tăng dần từ 309,2 lên 315,5 mg/g chất khô khi tăng công suất từ 80 W lên 240 W, sau đó hàm lượng protein giảm dần xuống 258,9 mg/g chất khô ở công suất 400 W. Ở mức công suất cao hơn, hàm lượng protein có xu hướng tăng dần lên 284,3 mg/g chất khô và đạt giá trị cao nhất ở công suất 800 W (361,2 mg/g chất khô).

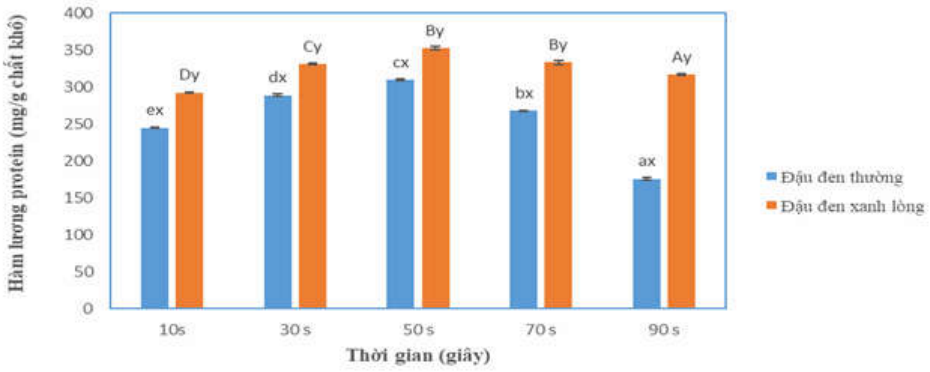
Công suất của vi sóng là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly của protein. Ở mức công suất thấp (80 và 240 W), nhiệt độ thấp sẽ làm giảm tốc độ khuếch tán phân tử khiến cho hiệu quả trích ly thấp. Còn ở các mức công suất cao hơn (> 400 W), tốc độ khuếch tán tăng, khiến hiệu quả trích ly cũng tăng theo. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu trích ly protein từ đậu phộng tách béo với sự hỗ trợ của vi sóng [9]. Ở công suất 725 W trong 8 phút, hàm lượng protein trích ly từ đậu phộng tách béo tăng 77%. Như vậy, mức công suất 800 W được coi là công suất thích hợp trong việc trích ly protein.

3.1.2. Ảnh hưởng của thời gian xử lý vi sóng lên quá trình trích ly của protein

Thời gian xử lý vi sóng tạo nên sự khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$) lên quá trình trích ly protein từ hai loại đậu đen. Với công suất cố định 800 W, thời gian xử lý vi sóng được khảo sát khảo sát ở 5 mức khác nhau (10, 30, 50, 70 và 90 giây).

Kết quả ở hình 2 tho thấy, hàm lượng protein trích ly ở cả 2 mẫu đậu đen thường và xanh lòng tăng nhanh khi thời gian thay đổi từ 10 - 50 giây và đạt hàm lượng trích ly cao nhất ở 50 giây (309,1 mg/g chất khô cho đậu đen thường và 352,5 mg/g chất khô cho đậu đen xanh lòng). Sau 50 giây hàm lượng protein trích ly ở cả 2 loại đậu đều có xu hướng giảm, khác biệt có nghĩa ($P < 0,05$). Trong

khoảng thời gian từ 50 - 90 giây, hàm lượng protein trích ly ở đậu đen thường giảm mạnh xuống 175,6 mg/g chất khô, trong khi ở đậu đen xanh lòng, hàm lượng protein trích ly có xu hướng giảm nhẹ (316,3 mg/g chất khô).

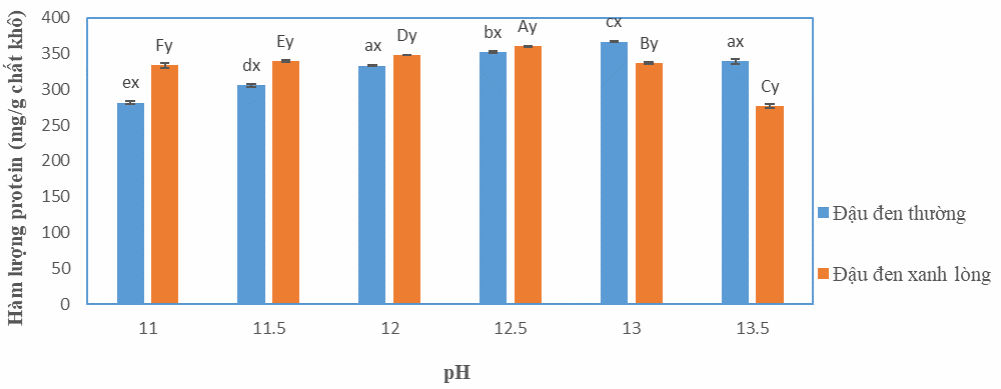


Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian xử lý vi sóng lên quá trình trích ly protein

Ghi chú: Các giá trị A-D chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-e là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

Thời gian là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly của protein. Nếu thời gian xử lý vi sóng quá ngắn, nhiệt độ của vi sóng tác động lên dung môi và nguyên liệu chưa đủ, chỉ một số màng tế bào bị tác động, khiến cho quá trình trích ly bị hạn chế. Ngược lại, khi tăng thời gian trích ly, nhiệt độ tăng làm cho màng tế bào bị tác động nhiều hơn, dẫn đến hàm lượng các chất cần trích ly có trong dịch trích cao hơn. Tuy nhiên, khi quá trình trích ly diễn ra một thời gian nhất định, sự chênh lệch nồng độ giữa nguyên liệu và dung môi bị giảm, khiến cho protein chiết ra chậm, làm giảm hiệu quả quá trình trích ly. Không những vậy, khi tăng thời gian hỗ trợ vi sóng lên quá nhiều, thời gian tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi tăng lên dẫn đến nhiệt độ của dịch trích cũng tăng làm cho cấu trúc của protein bị phá hủy, khiến protein trở nên khó trích ly ra dung môi hơn.

3.1.3. Ảnh hưởng của pH lên quá trình trích ly của protein



Hình 3. Ảnh hưởng của pH lên quá trình trích ly protein

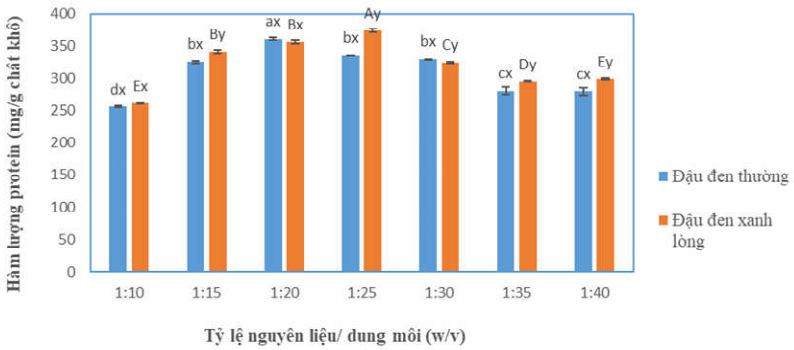
Ghi chú: Các giá trị A-F chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-e là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

Khi tiến hành điều chỉnh giá trị pH từ 11 - 12,5, hàm lượng protein trích ly từ đậu đen xanh lòng tăng dần từ 308,1 lên 360,2 mg/g chất khô, đạt hàm lượng protein trích ly tối đa ở 12,5. Trong khi đó, ở đậu đen thường, khi tăng pH từ 11 lên 13, hàm lượng protein trích ly được tăng mạnh (gấp 1,3 lần) và đạt cực đại ở pH 13 (336,7 mg/g chất khô). Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng pH lên 13,5 thì hàm lượng protein trích ly từ 2 mẫu đậu đều giảm mạnh (339,5 mg/g chất khô với đậu đen thường và

276,7 mg/g chất khô với đậu đen xanh lòng). pH được coi là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng trích ly của protein. Trong phương pháp chiết xuất bằng dung dịch kiềm, dung dịch kiềm có độ pH cao sẽ phá vỡ các liên kết hydro, amin và disulfide trong các phân tử protein, dẫn đến giảm kích thước phân tử của protein, hỗ trợ trong việc trích ly protein.

3.1.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên quá trình trích ly của protein

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly. Lượng dung môi tối thiểu phải vừa ngập qua bề mặt của lớp nguyên liệu khoảng lớn hơn 1 cm, khi đó các lớp nguyên liệu trên mới có thể tiếp xúc được với dung môi [10]. Do đó, ở nghiên cứu này, quá trình trích ly protein được khảo sát với các tỷ lệ khác nhau lần lượt là 1: 10, 1: 15, 1: 20, 1: 25, 1: 30, 1: 35 và 1: 40 (w/v) nhằm đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên quá trình trích ly.



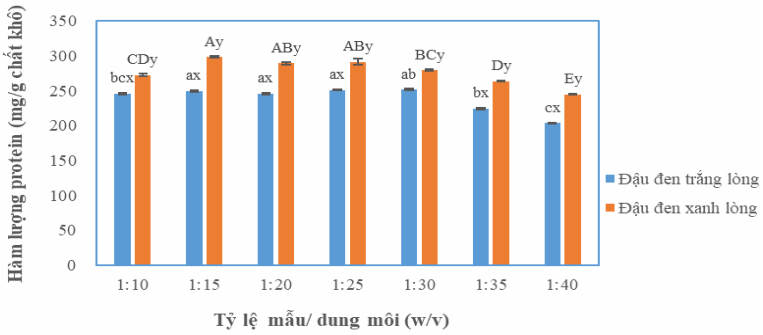
Hình 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên quá trình trích ly protein

Ghi chú: Các giá trị A-E chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-d là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

Kết quả hình 4 cho thấy, hàm lượng protein tăng dần khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và lượng protein trích ly thu được nhiều nhất ở tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:20 (w/v) với đậu đen thường (360,7 mg/g chất khô) và 1:25 (w/v) với đậu đen xanh lòng (365,6 mg/g chất khô), khi tiếp tục tăng lượng dung môi thì lượng protein thu được không tăng lên mà có xu hướng giảm dần. Nguyên nhân của sự thay đổi trên là do khi lượng dung môi quá ít (ở tỷ lệ 1: 10) không đủ để hòa tan, trích ly hết lượng protein ra khỏi tế bào. Do đó, khi tiếp tục tăng lượng dung môi thì hàm lượng protein thu được có sự tăng mạnh. Tuy nhiên, khi ngâm chiết với lượng dung môi quá nhiều, nồng đồ kiềm quá cao làm protein trong tế bào bị phá hủy, khiến cho hàm lượng protein trích ly giảm dần.

3.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly protein với sự hỗ trợ sóng siêu âm

3.2.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên quá trình trích ly với protein



Hình 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên quá trình trích ly protein

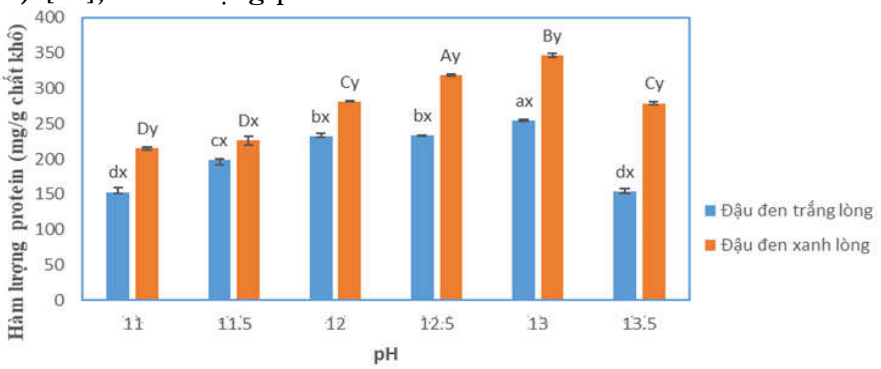
Ghi chú: Các giá trị A-E chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-b là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

Ở hình 5, hàm lượng protein trong đậu đen xanh lòng đạt giá trị cao nhất là 298,6 mg/g chất khô khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 15 (w/v). Sau khi đạt hàm lượng trích ly cao nhất, hàm lượng protein trích ly giảm nhẹ từ 289,4 mg/g chất khô xuống 244,9 mg/g khô rắn khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tăng từ 1: 20 lên 1: 40 (w/v).

Trong khi đó, ở đậu đen thường, hàm lượng protein đạt giá trị cực đại với tỷ lệ dung môi là 1: 25 (w/v) (262,7 mg/g chất khô), sau đó giảm giảm dần đều xuống 203,6 mg/g chất khô ở tỷ lệ 1: 40 (w/v). So với các nghiên cứu khác, có sự khác biệt đôi chút về tỷ lệ nguyên liệu/dung môi để đạt hàm lượng protein trích ly tối ưu. Trong nghiên cứu của Jianmei Yu và cs (2007) [11], hàm lượng protein trích ly cao nhất ở bột đậu phộng đã tách béo ở tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 20 (w/v). Trong khi đó, trong nghiên cứu của Qiaoyun và cs (2017) [12], tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 40 (w/v) là điều kiện tối ưu để thu protein trích ly từ bã trà.

3.2.2. Ảnh hưởng của pH lên quá trình trích ly với protein

Khi tăng giá trị pH từ 11 lên 13, hàm lượng protein trích ly tăng dần từ 153,2 lên 254,5 mg/g chất khô với đậu đen thường và từ 214,9 lên 346,3 mg/g chất khô với đậu đen xanh lòng. Với sự hỗ trợ của sóng siêu âm, protein trích ly từ đậu đen thường và xanh lòng đều đạt giá trị tối ưu tại pH 13.



Hình 6. Ảnh hưởng của pH lên quá trình trích ly protein

Ghi chú: Các giá trị A-D chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-d là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

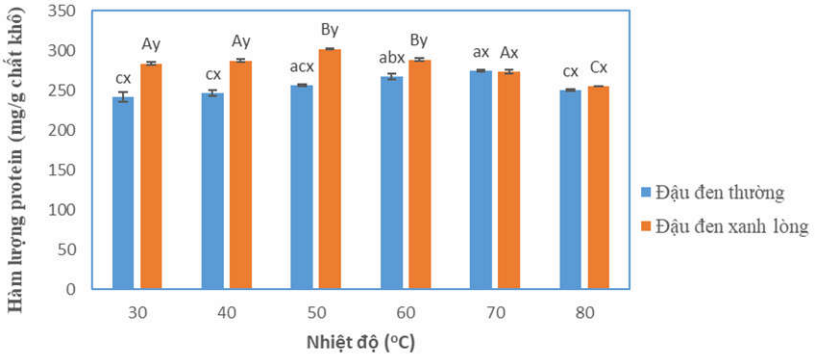
pH là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng trích ly của protein. Nhờ sự tăng dần giá trị của pH, hàm lượng protein trích ly cũng được cải thiện. Tuy nhiên, khi giá trị của pH tăng lên quá cao, nồng độ NaOH cũng tăng lên có thể làm thay đổi hàm lượng dinh dưỡng của protein, đồng thời có thể sinh ra các chất độc hại. Cystein và serine từ protein có thể được chuyển đổi thành dehydroalanine và sau đó chuyển thành lysinoalanine, khiến cho hàm lượng protein tổng giảm mạnh, đặc biệt là hàm lượng của cystein và serine [3, 13]. Ngoài ra, lượng kiềm cao có thể gây biến tính và phá hủy cấu trúc của protein, làm tăng phản ứng Maillard tạo ra các sản phẩm có màu sẫm. Vì vậy, khi tăng giá trị pH lên 13,5, hàm lượng protein trích ly của đậu đen giảm đáng kể, xuống 278,4 mg/g chất khô với đậu đen xanh lòng và 153,8 mg/g chất khô với đậu đen thường.

3.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ sóng siêu âm lên quá trình trích ly với protein

Ảnh hưởng của nhiệt độ lên quá trình trích ly protein với sự hỗ trợ của sóng siêu âm được thể hiện ở hình 7. Không có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng protein trích ly ở hai loại đậu đen khi xử lý với sóng siêu âm ở nhiệt độ 30 và 40°C (lần lượt là 242,0 và 246,8 mg/g chất khô với đậu đen thường, 283,9 và 287,5 mg/g chất khô với đậu đen xanh lòng).

Khi nhiệt độ sóng siêu âm tăng từ 40 lên 70°C, hàm lượng protein trích ly ở hai loại đậu lần lượt đạt giá trị tối ưu ở 50°C với đậu đen xanh lòng (302,2 mg/g chất khô) và 70°C với đậu đen thường (274,9 mg/g chất khô). Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ sóng siêu âm lên 80°C, hàm lượng protein trích ly từ hai loại đậu giảm đáng kể (250,2 mg/g chất

khô với đậu đen thường và 255,0 mg/g chất khô với đậu đen xanh lòng). Nhiệt độ cao làm giảm độ nhớt nên hiện tượng hình thành bong bóng dễ xảy ra, điều này khiến cho các khả năng trích ly của protein trong đậu đen được tăng lên. Tuy nhiên, ở nhiệt độ quá cao, hiện tượng vỡ bong bóng khó xảy ra do áp suất hơi tăng lên, khiến cho hiệu suất trích ly bị giảm dần. Ngoài ra, nhiệt độ cao có thể gây ra sự biến tính hoàn toàn ở các phân tử protein dẫn đến hàm lượng protein giảm rõ rệt khi ở nhiệt độ cao.

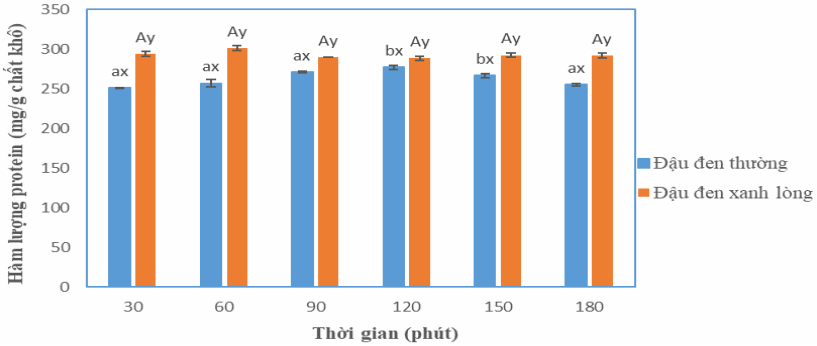


Hình 7. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên quá trình trích ly với protein với sự hỗ trợ của sóng siêu âm

Ghi chú: Các giá trị A-C chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-c là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

3.2.4. Ảnh hưởng của thời gian lên quá trình trích ly protein

Ảnh hưởng của thời gian sử dụng sóng siêu âm lên quá trình trích ly protein được thể hiện ở hình 8. Đối với đậu đen xanh lòng, không có sự thay đổi có ý nghĩa về hàm lượng protein trích ly giữa các mẫu tại các mốc thời gian từ 30 - 180 phút. Hàm lượng protein trích ly từ đậu đen xanh lòng đạt giá trị cao nhất sau 60 phút xử lý sóng siêu âm (301,1 mg/g chất khô). Tương tự đậu đen xanh lòng, ở đậu đen thường, khi tăng thời gian áp dụng sóng siêu âm từ 30 - 90 phút, hàm lượng protein trích ly chỉ tăng nhẹ khoảng 20,4 mg/g chất khô. Khi tiếp tục tăng thời gian, hàm lượng protein trích ly cũng tăng theo và đạt giá trị cao nhất sau 120 phút xử lý siêu âm (276,7 mg/g chất khô). Sau khi đạt hàm lượng cao nhất, lượng protein giữ nguyên giá trị trong thời gian còn lại. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Tu và cs (2015) [14] về việc chiết xuất protein từ hạt bí ngô với sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Có thể giải thích rằng thời gian sử dụng sóng siêu âm quá ngắn không đủ thời gian để phá vỡ thành tế bào, nên lượng chất chiết thu được cũng ít hơn. Tuy nhiên, nếu thời gian siêu âm kéo dài quá lâu, các gốc tự do hydroxyl trong dịch chiết sẽ bị tích tụ lại, gốc tự do này có thể phản ứng với các nhóm chức năng khác nhau trong phân tử protein và khiến protein đông lại [15] và giảm hiệu quả trích ly.



Hình 8. Ảnh hưởng của thời gian lên quá trình trích ly protein với sự hỗ trợ của sóng siêu âm

Ghi chú: Các giá trị A chỉ sự giống nhau giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; ab chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

3.3. So sánh hiệu quả trích ly protein giữa các phương pháp

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, hàm lượng protein trích ly với sự hỗ trợ của vi sóng cao hơn đáng kể so với sự hỗ trợ của sóng siêu âm (cao hơn khoảng 32 - 33%) và phương pháp trích ly truyền thống (cao hơn khoảng 35 - 37%). Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu trích ly protein từ đậu phộng [16] với sự hỗ trợ vi sóng và sóng siêu âm. Kết quả này có thể được giải thích là do trích ly hỗ trợ vi sóng tác động lên các phân tử phân cực (như nước), làm cho chúng quay cực nên gây ra các điểm tăng nhiệt độ cục bộ bên trong vật liệu, dẫn đến phá hủy cấu trúc tế bào, tạo ra sự dịch protein ra bên ngoài và hòa tan vào dung môi nước. Ngoài ra, khi so sánh giữa các phương pháp, hàm lượng protein thu trích ly từ đậu đen xanh lòng cao hơn khi so với đậu đen thường và cần nhiều nghiên hơn để đánh giá và ứng dụng trong thực tế.

Bảng 1. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly đến khả năng trích ly protein

Phương pháp chiết	Hàm lượng protein trích ly từ đậu đen xanh lòng (mg/g chất khô)	Hàm lượng protein trích ly từ đậu đen thường (mg/g chất khô)
Trích ly truyền thống	$267,4^{Cx} \pm 1,6$	$248,7^{cy} \pm 1,1$
Trích ly vi sóng	$365,6^{Ax} \pm 1,1$	$336,7^{ay} \pm 1,4$
Trích ly sóng siêu âm	$298,6^{Bx} \pm 0,9$	$276,7^{by} \pm 2,6$

Ghi chú: Các giá trị ABC chỉ sự giống nhau giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; abc chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen thường, còn xy chỉ sự sai khác giữa hai loại đậu đen.

4. KẾT LUẬN

Phương pháp dùng sóng siêu âm và vi sóng để hỗ trợ quá trình trích ly protein từ đậu đen là một phương pháp hiệu quả, nhanh gọn và tiêu tốn ít chi phí, nguyên liệu, nhưng vẫn cho được hiệu suất trích ly protein cao. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các yếu tố của sóng siêu âm (tỉ lệ nguyên liệu: dung môi, thời gian siêu âm, nhiệt độ siêu âm, pH) và vi sóng (pH, tỉ lệ nguyên liệu: dung môi, thời gian và công suất vi sóng) đều có ảnh hưởng tích cực đến quá trình trích ly protein, giúp nâng cao hiệu suất trích ly, giảm thiểu thời gian và dung môi hao phí. So sánh giữa hai phương pháp cho thấy xử lý vi sóng cho hiệu quả trích ly protein tốt hơn với thời gian xử lý ngắn hơn. Ngoài ra so sánh giữa hai loại đậu đen cho thấy, đậu đen xanh lòng cho hàm lượng protein thu được cao hơn. Cần có thể những nghiên cứu tiếp theo để đánh giá các tính chất của protein từ hai loại đậu đen, cũng như ứng dụng của chúng trong các sản phẩm cụ thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Reddy, N. R., Salunkhe, D. K., Sathe, S. K., and Kon, S. (1982). Biochemistry of black gram (Phaseolus mungo L.): A review. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, *16*(1), 49-114.2.

2. Salunkhe, D. K., Kadam, S. S., and Chavan, J. K. (1985). *Postharvest biotechnology of food legumes* (No. BOOK). CRC Press, Inc.

3. Fabian, C., and Ju, Y. H. (2011). A review on rice bran protein: its properties and extraction methods. *Critical reviews in food science and nutrition*, *51*(9), 816-827.

4. Hamano, Y. (2011). Occurrence, biosynthesis, biodegradation, and industrial and medical applications of a naturally occurring ε-poly-L-lysine. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, *75*(7), 1226-1233.

5. Karki, B., Lamsal, B. P., Grewell, D., Pometto, A. L., Van Leeuwen, J., Khanal, S. K., and Jung, S. (2009). Functional properties of soy protein isolates produced from ultrasonicated defatted soy flakes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 1021-1028.

6. Choi, I. L., Choi, S. J., Chun, J. K., and Moon, T. W. (2006). Extraction yield of soluble protein and microstructure of soybean affected by microwave heating. *Journal of Food Processing and Preservation*, *30*(4), 407-419.

7. Song, N. B., Song, H. Y., Jo, W. S., and Song, K. B. (2013). Physical properties of a composite film containing sunflower seed meal protein and its application in packaging smoked duck meat. *Journal of Food Engineering*, *116*(4), 789-795.

8. Hartree, E. F. (1972). Determination of protein: a modification of the Lowry method that

gives a linear photometric response. *Analytical biochemistry*, *48*(2), 422-427.

9. Ochoa-Rivas, A., Nava-Valdez, Y., Serna-Saldívar, S. O., and Chuck-Hernández, C. (2017). Microwave and ultrasound to enhance protein extraction from peanut flour under alkaline conditions: Effects in yield and functional properties of protein isolates. *Food and Bioprocess Technology*, *10*, 543-555.

10. Nguyễn Thị Ngọc Thúy, Nguyễn Thị Thu Huyền, Trương Quang Duy, Phan Huỳnh Thúy Nga, Cao Thị Cẩm Tú (2018). Ảnh hưởng của dung môi và pH đến quá trình trích ly các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa từ tía tô (*Perilla frutescens*). *Tạp chí Khoa học công nghệ và Thực phẩm*, 14 (1), 66 - 74.

11. Yu, J., Ahmedna, M., and Goktepe, I. (2007). Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Food chemistry*, *103*(1), 121-129.

12. Qiaoyun, C. U. I., Xinghong, N. I., Liang, Z. E. N. G., Zheng, T. U., Jin, L. I., Kang, S. U. N., ... and Xinghui, L. I. (2017). Optimization of protein extraction and decoloration conditions for tea residues. *Horticultural Plant Journal*, *3*(4), 172-176.

13. Shewry, P. R., and Miflin, B. J. (1985). Seed storage proteins of economically important cereals. *Advances in cereal science and technology (USA)*.

14. Tu, G. L., Bui, T. H. N., Tran, T. T. T., Ton, N. M. N., and Le, V. V. M. (2015). Comparison of enzymatic and ultrasonic extraction of albumin from defatted pumpkin (Cucurbita pepo) seed powder. *Food Technology and Biotechnology*, *53*(4), 479-487.

15. Jambrak, A. R., Lelas, V., Mason, T. J., Krešić, G., and Badanjak, M. (2009). Physical properties of ultrasound treated soy proteins. *Journal of Food Engineering*, *93*(4), 386-393.

16. Amponsah, A., and Nayak, B. (2016). Effects of microwave and ultrasound-assisted extraction on the recovery of soy proteins for soy allergen detection. *Journal of food science*, 81(11), T2876-T2885.

EFFECTS OF MICROWAVE- AND ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION CONDITIONS ON THE PROTEIN CONTENT FROM GREEN AND WHITE KERNEL BLACK BEANS (*Vigna cylindrica* (L). Skeels)

Nguyen Hoang Khoa Nguyen, Le Ngoc Lieu

Summary

In this project, microwave- and ultrasound-assisted extraction have been studied to extract protein from two types of black beans, namely green- and white-kernel black beans. In comparison to ultrasound-assisted extraction, microwave- assisted extraction leads to higher protein contents with shorter durations. For green-kernel black bean, the optimum extraction condition included the ratio material /solvent ratio of 1: 25 (w/v), pH of 12.5, power of 800 W, and microwave duration of 50 seconds (365.6 mg/g dry basis). These levels for white-kernel one were almost similar, except for the ratio material/solvent ratio of 1: 20 (w/v) and pH of 13. Furthermore, at the material/solvent ratio of 1: 15 (w/v), pH of 13, ultrasound temperature of 50°C, and ultrasound duration of 60 min, the protein extracted from green-kernel black bean reached the highest content (298.6 mg/ g dry basis), while the protein extraction yield of white-kernel one obtained the highest result at the ratio of 1: 25 (w/v), pH of 13, the temperature of 70°C and ultrasound duration of 120 min. The findings of this study demonstrate that ultrasound and microwave-assisted extraction can be considered as the potential technique for improvement in protein yield.

Keywords: *Green - kernel, black bean, white-kernel, protein extract, microwave-assisted extraction, ultrasound-assisted extraction.*

Người phản biện: PGS.TS. Chu Văn Thiện
Ngày nhận bài: 22/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 21/3/2023
Ngày duyệt đăng: 28/3/2023

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN CHIẾT XUẤT SIÊU ÂM SAPONIN TRITERPENOIT TỔNG VÀ POLYSACCHARIDE TỪ RỄ CÂY CÁT SÂM (*Millettia speciosa*)

Nguyễn Tân Thành[1,*], Lê Thị Mỹ Châu[1], Nguyễn Thị Huyền[1],
Hoàng Thị Thanh Xuân[2], Trần Đình Thắng[3]

TÓM TẮT

Rễ của cây Cát sâm (*Millettia speciosa*) được sử dụng như là một loại dược liệu dùng để hỗ trợ bồi bổ và tăng sức đề kháng cho cơ thể. Nghiên cứu này có mục đích tối ưu các điều kiện chiết xuất hàm lượng saponin triterpenoit tổng và polysaccharide từ rễ cây Cát sâm với sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM) và bố trí thí nghiệm theo thiết kế Box – Behnken đã xây dựng được mô hình tối ưu quy trình chiết xuất saponin triterpenoit tổng và polysaccharide với 3 yếu tố là: Công suất siêu âm, thời gian chiết xuất và tỷ lệ nước/nguyên liệu. Điều kiện tối ưu của quá trình chiết xuất siêu âm để thu được hàm lượng saponin triterpenoit tổng và polysaccharide cao nhất là công suất siêu âm 375 W, thời gian chiết xuất 65 phút và tỷ lệ nước/nguyên liệu 38 mL/g. Với điều kiện công nghệ này, dịch chiết thu được có hàm lượng saponin triterpenoit tổng là 1,25 ± 0,02 mg/g và hàm lượng polysaccharide là 7,86 ± 0,03 mg/g.

Từ khoá: *Bề mặt đáp ứng, chiết xuất siêu âm, Millettia speciosa, polysaccharide, saponin triterpenoit.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Cát sâm (*Millettia speciosa* Champ), thuộc họ Cánh bướm (Fabaceae), bộ Đậu (Fabales), lớp Hai lá mầm (Magnoliopsida) là cây dây leo gỗ, có rễ củ nạc. Cây mọc tự nhiên ở rừng các tỉnh vùng núi Bắc bộ và Bắc Trung bộ, sinh trưởng bình thường ở hầu hết các dạng đất và mọc tốt trên đất có độ pH trung tính hoặc hơi kiềm. Sinh trưởng mạnh trong mùa xuân hè, tái sinh tự nhiên chủ yếu bằng hạt và tái sinh chồi sau khi bị chặt. Một cây Cát sâm có thể thu hoạch được 2 - 3 kg rễ (củ). Ở Việt Nam, cây Cát sâm được coi như là một vị thuốc bổ mát, thường dùng trong những trường hợp suy nhược, ho, sốt khát nước, nhức đầu, tiểu tiện khó khăn, dùng riêng hay phối hợp nhiều vị thuốc khác dưới dạng thuốc sắc [1]. Rễ của cây Cát sâm có nhiều lợi ích cho sức khỏe con người như thúc đẩy lưu thông máu, điều trị bệnh thấp khớp, viêm khớp, tê cổ tay, đầu gối, viêm phế quản và viêm gan mạn tính [2], [3]. Nghiên cứu của Zhao và cs (2017) cho thấy, cây Cát sâm chứa hơn 50 hợp chất gồm: Alkaloid, terpenoids, flavones, phenylpropanoids, volatile oil, phytosterol, các saponin và polysaccharide [4].

Hiện nay, công nghệ chiết xuất siêu âm được sử dụng rộng rãi trong ngành dược phẩm, sử dụng dung môi hỗ trợ siêu âm để chiết xuất. Các sóng âm với tốc độ cao tạo ra sự xâm thực mạnh có thể phá hủy các tế bào của cây thuốc, để dung môi xâm nhập vào các tế bào của mẫu chiết. So với công nghệ chiết xuất truyền thống, công nghệ chiết xuất siêu âm có thể làm tăng năng suất của các thành phần được chiết xuất và rút ngắn thời gian chiết xuất, bên cạnh đó công nghệ chiết xuất siêu âm trong quá trình trích ly không cần gia nhiệt, có thể được áp dụng để chiết xuất các thành phần nhiệt độ thấp. Công nghệ chiết xuất sử dụng sóng siêu âm làm tăng đáng kể tỷ lệ thu hồi các

[1] Viện Công nghệ Hóa sinh - Môi trường, Trường Đại học Vinh
[*]Email: nguyentanthanh@vinhuni.edu.vn
[2] Lớp K62-CNTP, Viện Công nghệ Hóa sinh - Môi trường, Trường Đại học Vinh
[3] Viện Công nghệ Sinh học - Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh

hợp chất có hoạt tính sinh học so với phương pháp chiết xuất truyền thống. Thời gian chiết xuất bằng công nghệ này cũng giảm rất nhiều lần so với công nghệ chiết xuất truyền thống, nhờ đó tiết kiệm năng lượng, thời gian và giảm giá thành khi sử dụng công nghệ chiết xuất siêu âm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Rễ cây Cát sâm được thu nhận huyện Kỳ Sơn, tỉnh Nghệ An. Mẫu được sấy khô và nghiền nhỏ và sàng qua lưới sàng kích thước 2 mm để thu được mẫu có kích thước đồng nhất, mẫu được hút chân không và bảo quản ở - 20°C trước khi tiến hành các bước tiếp theo.

2.2. Phương pháp chiết xuất siêu âm

Mỗi thí nghiệm cân 10 g mẫu cho vào bình tam giác thể tích 500 mL, thêm nước với tỷ lệ cho trước theo phương pháp bố trí thí nghiệm tối ưu. Cho bình vào thiết bị siêu âm CYF - TES600N - 4S, điều chỉnh công suất sóng siêu âm theo các điều kiện thí nghiệm. Tiến hành chiết xuất theo thời gian cho trước. Kết thúc quá trình chiết xuất, dịch được lọc qua giấy lọc và mang đi phân tích.

2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm và tối ưu hóa điều kiện chiết xuất

Lựa chọn phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology) để tối ưu hóa điều kiện chiết xuất hàm lượng saponin triterpenoit tổng và polyshaccharide từ rễ cây Cát sâm có hỗ trợ bằng kỹ thuật siêu âm. Ba thông số quan trọng của quá trình chiết xuất được nghiên cứu bao gồm: Công suất siêu âm (X_1), thời gian chiết xuất (X_2) và tỷ lệ nước/nguyên liệu (X_3). Các thí nghiệm được bố trí theo phương pháp Box – Behnken gồm 17 thí nghiệm, với 12 thí nghiệm ở 2 mức (trên và dưới) và 5 thí nghiệm ở tâm. Mỗi thí nghiệm được tiến hành 3 lần và lấy kết quả trung bình. Mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của các biến độc lập đối với biến phụ thuộc có dạng hàm đa thức bậc hai và có dạng tổng quát như sau (1):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} X_i^2 + \sum\sum_{i<j} \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

Trong đó: Y là biến phụ thuộc (hàm mục tiêu); X_i, $_j$ là biến mã hóa (biến độc lập) ảnh hưởng đến hàm mục tiêu Y; β_0, β_i, β_j là các hệ số hồi quy.

2.4. Phương pháp phân tích

2.4.1. Xác định hàm lượng saponin triterpenoit tổng

Hàm lượng saponin triterpenoit tổng được xác định theo Dong và Gu (2001) [5]. Mẫu sau khi chiết xuất được lọc và pha loãng 10 lần, hút 0,2 mL mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm, thêm lần lượt là 0,2 mL vanilin - axetat (10%), 1,2 mL $HClO_4$, đun cách thủy và ủ ở 70°C trong 15 phút. Sau 15 phút, các ống nghiệm được lấy ra làm mát trong 2 phút, ethyl axetat được bổ sung sao cho tổng thể tích đủ 5 mL. Tổng hàm lượng saponin triterpenoit được phân tích dựa trên phương pháp đo độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 548 nm với chất chuẩn là escin (Máy đo quang phổ Agilent 8453).

2.4.2. Xác định hàm lượng polysaccharide

Hàm lượng polysaccharide được xác định theo Dat Tran Do và cs (2021) [6]. Sử dụng phương pháp so màu axit phenol-sunfuric để xác định hàm lượng polysaccharide với dung dịch chuẩn là D-glucose. Sáu dung dịch chuẩn D-glucose bao gồm 50, 100, 200, 300, 400 và 500 µg/mL được điều chế từ D-glucose dung dịch có nồng độ 1.000 µg/mL. Sau đó, 1 mL của từng dung dịch chuẩn được lấy và chuyển sang bình định mức (20 mL), thêm 1 mL dung dịch phenol 5% và 5 mL dung dịch axit sunfuric đậm đặc 98%. Ngoài ra, mẫu trắng được chuẩn bị với 1 mL nước cất được thêm vào 1 mL dung dịch phenol 5% và 5 mL axit sunfuric đậm đặc 98%. Mẫu phân tích được chuẩn bị bằng cách thêm 1 mL dịch chiết rễ cây Cát sâm, 1 mL dung dịch phenol 5% và 5 mL dung dịch đậm đặc 98% axit sunfuric. Sau 30 phút, đo độ hấp thụ được tiến hành ở bước sóng 488 nm. Hàm lượng polysaccharide được xác định theo độ hấp thụ của dịch chiết được tính theo chất chuẩn D-glucose.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thiết lập mô hình

Tiến hành nghiên cứu đa yếu tố các điều kiện chiết xuất với các thông số công nghệ là công suất

siêu âm 300 - 400 W, thời gian 50 - 70 phút và tỷ lệ nước/nguyên liệu là 30/1 - 50/1 mL/g.

$$x_i=(X_i-X_o)/\Delta X_i \quad (1).$$

Trong đó: xi là giá trị mã hóa của yếu tố biến thiên thứ i, X_i là giá trị thật của yếu tố thứ i, X_o là giá trị thật của X_i tại điểm trung tâm, ΔX_i là bước nhảy.

Bảng 1. Mã hóa của các biến độc lập

Các biến độc lập	Kí hiệu	Các mức mã hóa		
		-1	0	+1
Công suất siêu âm (W)	X_1	300	350	400
Thời gian chiết xuất (phút)	X_2	50	60	70
Tỷ lệ nước/nguyên liệu (mL/g)	X_3	30/1	40/1	50/1

Sử dụng phần mềm Design - Expert®, phiên bản 7.0. để đánh giá ảnh hưởng của các thông số quá trình chiết xuất hàm lượng saponin triterpenoit tổng và polyshaccharide có sự hỗ trợ của sóng siêu âm trong rễ cây Cát sâm.

Bảng 2. Kết quả thí nghiệm

Thí nghiệm	Công suất siêu âm X_1 (W)	Thời gian chiết xuất X_2 (phút)	Tỷ lệ nước/ nguyên liệu X_3 (mL/g)	Hàm lượng saponin triterpenoit tổng Y_1 (mg/g)	Hàm lượng Polysaccharide Y_2 (mg/g)
1	0	0	0	1,22	7,62
2	-1	0	-1	0,84	6,65
3	0	+1	-1	1,12	8,01
4	+1	-1	0	0,81	7,77
5	0	-1	-1	0,78	7,51
6	-1	-1	0	0,74	6,18
7	0	0	0	1,28	7,79
8	-1	0	+1	0,96	6,59
9	+1	+1	0	1,24	7,61
10	0	0	0	1,20	7,88
11	0	-1	+1	0,98	7,52
12	0	0	0	1,19	7,81
13	0	0	0	1,25	7,75
14	0	+1	+1	1,14	7,68
15	+1	0	-1	1,07	7,91
16	+1	0	+1	1,18	7,69
17	-1	+1	0	0,81	6,67

3.2. Phân tích sự có nghĩa và sự tương quan của mô hình

Kết quả ở bảng 2 và phân tích hồi quy tuyến tính của 17 thí nghiệm đã xây dựng được phương trình đa thức bậc hai của quá trình chiết xuất hàm lượng saponin triterpenoit tổng và polyshaccharide có hỗ trợ của siêu âm từ rễ cây Cát sâm như sau:

$$Y_1 = 1,23 + 0,12\ X_1 + 0,13\ X_2 + 0,056\ X_3 + 0,09\ X_1X_2 - 0,0025\ X_1X_3 - 0,045\ X_2X_3 - 0,16\ X_1^2 - 0,17\ X_2^2 - 0,055\ X_3^2 \quad (2)$$

$$Y_2 = 7,77 + 0,61\ X_1 + 0,12\ X_2 - 0,075\ X_3 - 0,16\ X_1X_2 - 0,04\ X_1X_3 - 0,085\ X_2X_3 - 0,59\ X_1^2 - 0,12\ X_2^2 + 0,031\ X_3^2 \quad (3)$$

Các giá trị F, *p* và R^2 được thể hiện ở bảng 3. Giá trị F, *p* của Y_1 là 75,79 và 0,0001; Y_2 là 69,56 và 0,0001 cả 2 giá trị đều thỏa mãn điều kiện $p < 0,05$ và 2 mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy đều là 99,99% ($p < 0,0001$). Hệ số tương quan bội (R^2) của mô hình Y_1 là 0,9898 và Y_2 là 0,9889 cho thấy, mô hình hàm mục tiêu hàm lượng saponin triterpenoit tổng Y_1 mô tả đến 98,98%, mô hình của hàm mục tiêu hàm lượng polysaccharide Y_2 mô tả đến 98,89% sự thay đổi của các hàm mục tiêu phụ thuộc vào các yếu tố ảnh hưởng. Chuẩn F của mô hình Y_1 là 0,079 (p = 0,9680) và của mô hình Y_2 là 0,63 (p = 0,6341) chỉ ra "sự không tương thích" của 2 mô hình là vô nghĩa. Điều này phù hợp với bức tranh thực nghiệm và tốt cho quá trình thiết lập mô hình mô phỏng thực nghiệm.

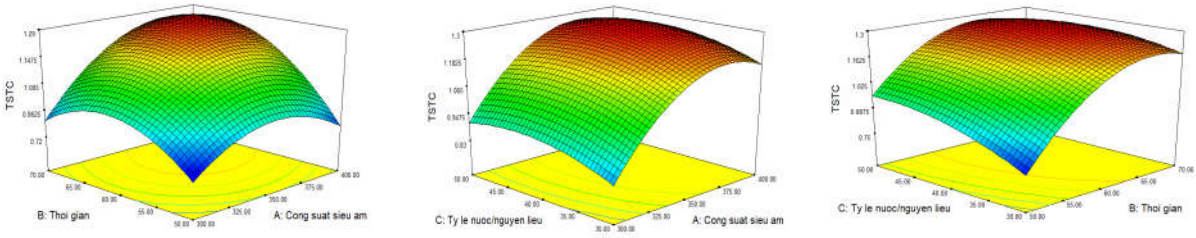
Bảng 3. Kết quả phân tích hồi quy hàm lượng saponin triterpenoit tổng và polyshaccharide

Nguồn	Hàm lượng saponin triterpenoit tổng Y_1		Hàm lượng Polyshaccharide Y_2	
	Giá trị F	Giá trị *p*	Giá trị F	Giá trị *p*
Mô hình	75,79	<0,0001^S	69,56	<0,0001^S
X_1	136,04	<0,0001^S	384,44	<0,0001^S
X_2	150,73	<0,0001^S	15,76	0,0054^S
X_3	30,52	0,0009^S	5,79	0,0471^S
X_1X_2	39,07	0,0004^S	13,59	0,0078^S
X_1X_3	0,03	0,8671^{NS}	0,82	0,3944^{NS}
X_2X_3	9,77	0,0167^S	3,72	0,0952^{NS}
X_1^2	130,39	<0,0001^S	189,31	<0,0001^S
X_2^2	142,88	<0,0001^S	7,96	<0,0257^S
X_3^2	15,50	0,0056^S	0,53	0,4907^{NS}
Không tương thích	0,079	0,9680^{NS}	0,63	0,6341^{NS}
R^2	0,9898		0,9889	
CV%	2,78		0,53	
R^2_{Adj}	0,9563		0,9775	
R^2_{Pre}	0,8326		0,9738	

Ghi chú: S (significant) - có nghĩa ($p < 0,05$); NS (non-significant) – không có nghĩa ($p > 0,05$)

3.3. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình chiết xuất

Dữ liệu thực nghiệm được phân tích bằng phương pháp bề mặt đáp ứng sử dụng phần mềm Design - Expert 7.0. Các trục X và Y của bề mặt đáp ứng 3 chiều đại diện cho 2 yếu tố, trục Z là một trong 2 chỉ số đánh giá là hàm lượng saponin triterpenoit tổng và polyshaccharide. Ba bề mặt đáp ứng được xây dựng như mô tả trong hình 1 và 2.

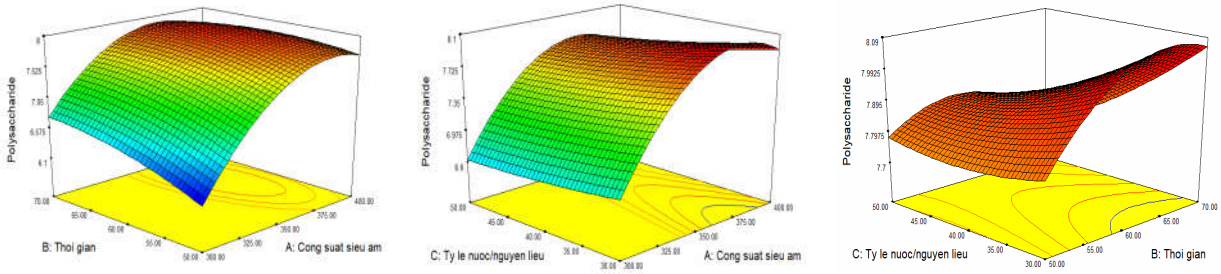


a) b) c)

Hình 1. Bề mặt đáp ứng của hàm lượng saponin triterpenoit tổng của quá trình chiết xuất dịch chiết từ rễ cây Cát sâm

Hình 1 và bảng 3 thể hiện ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình chiết xuất hàm lượng saponin triterpenoit tổng từ rễ cây Cát sâm. Hình 1a cho thấy, ảnh hưởng tương tác của công suất siêu âm và thời gian đến quá trình chiết xuất hàm lượng saponin triterpenoit tổng khi tỷ lệ nước/nguyên liệu được giữ tại tâm (40 mL/g). Sự tương tác của hai yếu tố này là có ý nghĩa đến hàm lượng saponin triterpenoit tổng thu được ($p < 0,05$). Hàm lượng saponin triterpenoit tổng tăng dần khi công suất siêu âm tăng và đạt cực đại tại công suất 360 W và hàm lượng này giảm dần khi công suất siêu âm tiếp tục tăng từ 360 - 400 W. Hàm lượng các chất chiết xuất tăng lên nhờ sự hỗ trợ của sóng siêu âm cũng tuân theo quy luật như nghiên cứu của Ji và cs (2006) [7]. Tương tự như vậy, với yếu tố thời gian thì khi thời gian tăng từ 50 - 62 phút thì hàm lượng saponin triterpenoit tổng tăng, tuy nhiên khi thời gian tiếp tục tăng thêm từ 62 - 70 phút thì hàm lượng saponin triterpenoit tổng có xu hướng giảm, hàm lượng saponin triterpenoit tổng cao nhất khi thời gian siêu âm ở khoảng 60 - 65 phút.

Hình 1b và 1c cho thấy, ảnh hưởng của các cặp yếu tố công suất siêu âm với tỷ lệ nước/nguyên liệu và thời gian với với tỷ lệ nước trên nguyên liệu. Ở tương tác giữa công suất siêu âm với tỷ lệ nước/nguyên liệu (hình 1b) thì yếu tố công suất siêu âm ảnh hưởng lớn hơn yếu tố tỷ lệ nước trên nguyên liệu. Với yếu tố tỷ lệ nước/nguyên liệu thì hàm lượng saponin triterpenoit tổng tăng khi tỷ lệ nước/nguyên liệu tăng, hàm lượng saponin triterpenoit tổng cao nhất khi tỷ lệ nước/nguyên liệu nằm trong khoảng 42 - 47 mL/g. Yếu tố công suất siêu âm cũng giống như phân tích ở hình 1a. Theo bảng 3, tương tác giữa 2 yếu tố công suất siêu âm với với tỷ lệ nước/nguyên liệu không ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất hàm lượng saponin triterpenoit tổng do giá trị $p > 0,05$ ($p = 0,8671$), còn hai cặp tương tác kia có ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất do giá trị $p < 0,05$ (lần lượt là 0,0004 và 0,0167).



a) b) c)

Hình 2. Bề mặt đáp ứng của hàm lượng polysaccharide của quá trình chiết xuất dịch chiết từ rễ cây Cát sâm

Hình 2 và bảng 3 thể hiện ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình chiết xuất hàm lượng polysaccharide từ rễ cây Cát sâm. Hình 2a và bảng 3 cho thấy, ảnh hưởng tương tác của công suất siêu âm và thời gian đến quá trình chiết xuất hàm lượng polysaccharide khi tỷ lệ nước/nguyên liệu được giữ tại tâm (40 mL/g). Sự tương tác của 2 yếu tố này có nghĩa đến hàm lượng polysaccharide thu được ($P < 0,05$). Dựa vào hình 2a dễ dàng nhận thấy tương tác của yếu tố công suất siêu âm lớn hơn so với yếu tố thời gian. Hàm lượng polysaccharide tăng dần khi công suất siêu âm tăng từ 300 - 380 W, khi công suất siêu âm tiếp tục tăng thì hàm lượng polysaccharide giảm nhẹ, hàm lượng polysaccharide cao nhất khi công suất siêu âm nằm trong khoảng từ 360 - 400 W. Khi thời gian siêu âm tăng thì hàm lượng polysaccharide tăng, kết quả này cũng tương tự nghiên cứu của Liu và cs (2014) [8]. Hình 2b và bảng 3 thể hiện ảnh hưởng tương tác của công suất siêu âm và tỷ lệ nước/nguyên liệu khi thời gian siêu âm giữ ở mức tâm (60 phút). Tỷ lệ nước/nguyên liệu ảnh hưởng ít đến sự thay đổi của hàm lượng polysaccharide, khi tỷ lệ nước/nguyên liệu tăng từ 30 - 50 mL/g thì hàm lượng polysaccharide giảm dần. Theo bảng 3 sự tương tác của hai yếu tố (công xuất siêu âm – tỷ lệ nước/nguyên liệu và thời gian – tỷ lệ nước/nguyên liệu) không ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất thu hồi hàm lượng polysaccharide do giá trị $p > 0,05$ (lần lượt là 0,3944 và 0,0952).

3.4. Tối ưu hoá quá trình chiết xuất

Quá trình chiết xuất hàm lượng saponin triterpenoit tổng và polysaccharide từ rễ cây Cát sâm được tiến hành nhằm thu được giá trị của các hàm lượng này cao nhất. Kết quả phân tích tối ưu hóa trên phần mềm Design-Expert® 7.0 cho thấy, với công suất siêu âm 373,89 W, thời gian siêu âm 64,73 phút và tỷ lệ nước/nguyên liệu 37,80 mL/g thì hàm lượng saponin triterpenoit tổng thu được dự đoán là 1,28 mg/g và hàm lượng polysaccharide thu được dự đoán 7,95 mg/g.

Để phù hợp các thông số công nghệ của thiết bị, tiến hành thực nghiệm lại mô hình tối ưu tại các thông số: Công suất siêu âm 375 W, thời gian siêu âm 65 phút và tỷ lệ nước/nguyên liệu 38 mL/g, kết quả thu được như sau: hàm lượng saponin triterpenoit tổng là 1,25 ± 0,02 mg/g và hàm lượng polysaccharide 7,86 ± 0,03 mg/g. Kết quả thực nghiệm cũng cho thấy, quy trình chiết xuất phù hợp với giá trị tối ưu của mô hình.

Bảng 4. Kết quả chiết xuất hàm lượng saponin triterpenoit tổng và polysaccharide từ rễ cây Cát sâm theo điều kiện tối ưu

Điều kiện tối ưu			Các hàm mục tiêu	Giá trị thực nghiệm* tại các thông số tối ưu
X_1	X_2	X_3		
375 W	65 phút	38 mL/g	(Hàm lượng saponin triterpenoit tổng) Y_1	1,25 ± 0,02 mg/g
			(Hàm lượng polysaccharide) Y_2	7,86 ± 0,03 mg/g

*Ghi chú: * Giá trị trung bình của 3 lần thực nghiệm (n = 3)*

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được các điều kiện tối ưu để chiết xuất saponin triterpenoit tổng và polysaccharide từ rễ cây Cát sâm (*Millettia speciosa* Champ) thu nhận huyện Kỳ Sơn, tỉnh Nghệ An như sau: Công suất siêu âm 375 W, thời gian siêu âm 65 phút và tỷ lệ nước/nguyên liệu 38 mL/g thì thu được dịch chiết xuất có hàm lượng saponin triterpenoit tổng đạt giá trị 1,25 ± 0,02 mg/g và hàm lượng polysaccharide đạt 7,86 ± 0,03 mg/g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2015). *Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học.

2. Chen D. L., Liu Y. Y., Ma G. X., Zhu N. L., Wu H. F., Wang D. L. (2015). Two new rotenoids from the roots of *Millettia speciosa*. Phytochem. Lett. 12, 196 – 199.

3. Yin T., Liang H., Wang B., Zhao Y. (2010). A new flavonol glycoside from *Millettia speciosa*. Fitoterapia 81, 274 - 275.

4. Zhao Z., Liu P., Ma S., Wang S., Li A., Liu J. (2017). Botanical characteristics, chemical and nutritional composition and pharmacological and toxicological effects of medicinal and edible plant *Millettia speciosa* Champ. Food Sci. 38, 293 - 306.

5. Dong H., Gu W. (2001). Determination of soybean saponins using colorimetry. *China Oils and Fats*, 26 (3), 57 - 61.

6. Dat Tran Do, Dang Hoang Lam, Tai Nguyen, Tran Thi Phuong Mai, Le Thao My Phan, Hoai Thanh Vuong, Duc Viet Nguyen, Ngo Thi Thuy Linh, Minh Nam Hoang, Thanh Phong Mai, Huu Hieu Nguyen (2021). Utilization of Response Surface Methodology in Optimization of Polysaccharides Extraction from Vietnamese Red *Ganoderma lucidum* by Ultrasound-Assisted Enzymatic Method and Examination of Bioactivities of the Extract. *The Scientific World Journal*. https://doi.org/10.1155/2021/7594092.

7. Ji J. B., Lu X. H., Cai M. Q., Xu Z. C. (2006). Improvement of leaching process of Geniposide with ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry.*, 13 (5), 455 - 462.

8. Liu Y., Gong G., Zhang J., Jia S., Li F., Wang Y., Wu S. (2014). Response surface optimization of ultrasound-assisted enzymatic extraction polysaccharides from *Lycium barbarum. Carbohydrate Polymers*, 110, 278 - 284.

STUDY OF ULTRASONIC EXTRACTION THE TOTAL SAPONIN TRITERPENOID AND POLYSACCHARIDE FROM ROOTS OF *Millettia speciosa*

Nguyen Tan Thanh[1,*], Le Thi My Chau[1], Nguyen Thi Huyen[1], Hoang Thi Thanh Xuan[2], Tran Dinh Thang[3]

[1]*School of Chemistry, Biology and Environment, Vinh University*

[2]*K62, Food Technology Depatermant, School of Chemistry, Biology and Environment, Vinh University*

[3]*Institute of Biotechnology and Food Technology, Industrial University of Ho Chi Minh city*

Summary

The roots of *Millettia speciosa* is used as a medicinal herb to support fortification and increase the body's resistance. This study has a purpose optimal extraction condition of total saponin triterpenoit and polysaccharide from roots of *Millettia speciosa* with. Using response surface methdology (RSM) and experimental according to Box - Benhken design has optimized extraction process total saponin triterpenoit content (TSTC) and polysaccharide content (PC) with three factors: ultrasonic power (X_1), time extraction (X_2) and ratio of water raw material (X_3). Folow this model, the optimal parameter for extraction process to obtain the highest content of total saponin triterpenoit and polysaccharide is ultrasonic power of 375 W, time of 65 mins and ratio of water raw material of 38 mL/g. The experimental values of TSTC and PC were 1.25 ± 0.02 mg/g and 7.86 ± 0.03 mg/g.

Keywords: *Extraction ultrasonic - assisted, Millettia speciosa, polysaccharide, saponin triterpenoit, response surface methodology.*

Người phản biện: PGS.TS. Đái Thị Xuân Trang
Ngày nhận bài: 22/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 21/3/2023
Ngày duyệt đăng: 28/3/2023

NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT BỘT GIUN TỪ DỊCH GIUN THỦY PHÂN

Lê Xuân Hảo[1,*], Nguyễn Thị Hồng Hà[1],
Vũ Thu Diễm[1], Nguyễn Trọng Uyên[2]

TÓM TẮT

Giun đất có hàm lượng protein rất cao, chiếm đến 68 - 70% vật chất khô, lipid 7- 8%, hydratcarbon 12 - 14% và tro 11 - 12%. Do có hàm lượng đạm cao và chứa đầy đủ các axit amin thiết yếu nên giun đất được xem là nguồn dinh dưỡng bổ sung quý giá cho gia súc, gia cầm, tôm…Ở lĩnh vực trồng trọt, dịch giun được sử dụng như thành phần chính của phân bón lá, giúp cây trồng sinh trưởng và phát triển tốt. Đạm giun đất còn được sử dụng trong các môi trường nuôi cấy vi sinh vật, các loại nấm dược liệu quý hiếm. Giun tươi có hàm lượng dinh dưỡng cao nhưng việc sử dụng giun tươi lại gây nhiều khó khăn trong quá trình bảo quản, sử dụng và thương mại hóa. Để thuận lợi cho việc bảo quản và sử dụng, mục tiêu của nghiên cứu này là tạo bột giun từ dịch giun sau thủy phân. Bằng phương pháp khảo sát ảnh hưởng của từng yếu tố sấy đến chất lượng bột giun đã tìm ra được điều kiện tối ưu như sau: Dịch thủy phân giun được phối trộn với 12% cám gạo và 3% axit fomic, trộn đều. Sau đó, tiến hành sấy hỗn dịch ở không khí lạnh khô, thiết bị sấy thùng quay có đường kính 880 mm, nhiệt độ 55°C; tốc độ đảo trộn 20 vòng/phút; tốc độ thổi khí 1 m/s; thời gian sấy 10 giờ. Sau đó sản phẩm được đóng trong bao bì Al/PE, ở điều kiện nhiệt độ thường, hạn chế ánh sáng trực tiếp. Sau 6 tháng bảo quản, bột giun có dạng mịn, màu nâu vàng, mùi đặc trưng giun; có độ ẩm 9,9%; protein tổng số 48,04%; nitơ amin 26,91%; lipid 8,41%; đường 27,45%; tro tổng 4,61%; kim loại nặng đạt theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về sản phẩm thức ăn chăn nuôi QCVN 01-183: 2016/BNNPTNT.

Từ khóa: *Dịch giun, bột giun, sấy.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Protein động vật cung cấp cho thức ăn chăn nuôi ngày càng khan hiếm và trở nên quý giá, sinh khối giun đất là một trong những nguồn protein triển vọng nhất đáp ứng được cả hai tiêu chí giàu dinh dưỡng và giá thành thấp. Do có hàm lượng đạm cao và chứa đầy đủ các axit amin thiết yếu nên giun đất được xem là nguồn dinh dưỡng bổ sung quý giá cho gia súc, gia cầm và tôm. Việc bổ sung giun đất vào khẩu phần ăn của gà sẽ giúp kích thích thèm ăn, tăng trọng nhanh, rút ngắn được thời gian nuôi. Các kết quả tương tự cũng thu được khi bổ sung vào khẩu phần ăn của các loại gia súc khác như heo, bò…. Đối với tôm, đặc biệt ở giai đoạn ấu trùng, giun đất tự phân được xem là loại thức ăn chất lượng cao, giúp tôm phát triển nhanh và tăng sức đề kháng. Ở lĩnh vực trồng trọt, dịch giun được sử dụng như thành phần chính của phân bón lá, giúp cây trồng sinh trưởng và phát triển tốt. Đạm giun đất còn được sử dụng trong các môi trường nuôi cấy vi sinh vật, các loại nấm dược liệu quý hiếm.

Mặc dù, giun tươi có hàm lượng dinh dưỡng cao nhưng việc sử dụng giun tươi lại gây nhiều khó khăn trong quá trình bảo quản, sử dụng và thương mại. Mục đích của nghiên cứu này là khắc phục những vấn đề trên; giun thịt đã được thủy phân thành dịch giun tự phân có hàm lượng đạm cao sẽ được đem đi sấy tạo bột giun sau thủy phân.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Dịch giun giàu axit amin có hàm lượng nước 52,73%, protein tổng số 15,82%, nitơ amin 8,32%, lipit 1,83%, đường 1,73%, tro tổng 1,38%, kim loại

[1] Viện Cơ điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch
[2] Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Bắc Kạn
[*]Email: lehao151060@gmail.com

nặng (As, Pb, Cd, Hg), tổng số vi sinh vật hiếu khí và vi sinh vật gây bệnh (*E. coli, Salmonella*) đều đều đạt yêu cầu theo QCVN 01-183: 2016/ BNNPTNT [1]. Dịch giun do Viện Cơ điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch cung cấp.

- Cám gạo, cám ngô, axit formic, canxi cacbonat, axit xitric, NaCl, sodium benzoate (E211)… (Việt Nam).

- Thành phần các chất dinh dưỡng chính trong cám gạo (100 g): calori 316 KJ, lipit 21 g, chất béo bão hòa 4 g, chất xơ tiêu hóa được 21 g, carbohydrat 28 g, đường 0,9 g, protein 13,3 g, vitamin E 4,9 mg, vitamin B6 4,1 mg, canxi 57 mg [Sunny-eco.vn].

- Thiết bị thí nghiệm: Máy votex (Đức); tủ lạnh 4°C (Sanyo), tủ lạnh sâu -20°C và -80°C (Sanyo ultralow, Nhật Bản); máy sấy không khí lạnh khô, kiểu thùng quay, đường kính thùng sấy 880 mm, tốc độ quay điều chỉnh vô cấp 5-50 vòng/phút, hộp petri, ống nghiệm, pipet, que trang, bình tam giác, ống đong, giấy bán thấm, giấy lọc, cân...

2.2. Phương pháp xử lý nguyên liệu

Dịch giun sau thủy phân được bổ sung axit fomic, cám gạo với các tỷ lệ khác nhau nhằm hạn chế sự mất mát hàm lượng protein hòa tan khi sấy.

Đối chứng: Dịch giun sau thủy phân;

TN1: Dịch giun sau thủy phân + 3% axit formic + 10% cám gạo;

TN2: Dịch giun sau thủy phân + 3% axit formic + 12% cám gạo;

TN3: Dịch giun sau thủy phân 3% axit formic + 14% cám gạo.

2.3. Xác định thông số công nghệ để tạo chế phẩm bột giun

Các thí nghiệm sấy được tiến hành với lượng sản phẩm thu được từ 500 kg giun tươi. Quá trình này được thực hiện trên máy sấy, có điều chỉnh nhiệt độ sấy, tốc độ thổi khí, hẹn giờ tự động.

Xác định nhiệt độ sấy:

Vật liệu được sấy với nhiệt độ của tác nhân sấy biến thiên 45°C, 50°C, 55°C và 60°C. Cố định các thông số khác của quá trình sấy như tốc độ thổi khí 1 m/s, thời gian sấy 10 giờ, tốc độ đảo trộn 25 vòng/phút. Sau đó, thu sản phẩm bột giun đem đi nghiền thành bột; xác định độ ẩm và hàm lượng protein tổng số trong sản phẩm.

Xác định tốc độ đảo trộn:

Các thông số sấy được giữ cố định ở nhiệt độ 55°C, tốc độ thổi khí 1 m/s, tốc độ đảo trộn 15, 20 và 25 vòng/phút. Sau 10 giờ sấy thu hồi và xác định độ ẩm và hàm lượng protein tổng số trong sản phẩm.

Xác định thời gian sấy bột giun:

Các thông số sấy được giữ cố định ở nhiệt độ 55°C, tốc độ đảo trộn 20 vòng/phút, tốc độ thổi khí 1 m/s. Thời gian sấy khảo sát ở 8,5, 9,0, 9,5, 10,0 và 10,5 giờ. Sau đó, thu hồi và xác định độ ẩm và hàm lượng protein tổng số trong sản phẩm.

2.4. Nghiên cứu lựa chọn bao bì

Bột giun được bảo quản bằng các loại màng sau:

- Màng 1 lớp: PE (Polyethylene), PVDC (polyvinylidende cloride), Al-Foil (lá nhôm mỏng), MDPE (Medium Density Polyethylene) và HDPE (High Density Polyethylene);

- Màng 2 lớp: Ny/PE, BOPP/PE, Al/PE (Loại màng ghép được tạo ra bởi 2 lớp vật liệu bao bì, mục tiêu tăng cản khí, giữ ẩm, giữ mùi…);

- Màng 3 lớp: BOPP/Al/PE và PET/Al/PE (Loại màng ghép được tạo ra bởi 3 lớp vật liệu bao bì);

- Màng 4 lớp: POPP/PE/Al/PE (Loại màng ghép được tạo ra bởi 4 lớp vật liệu bao bì);

- Màng 5 lớp: PET/PE/Al/PE/LLDPE (Loại màng ghép được tạo ra bởi 4 lớp vật liệu bao bì).

Tất cả các mẫu được bảo quản ở điều kiện thường. Lựa chọn loại màng bảo quản dựa vào kết quả đánh giá độ ẩm và hàm lượng protein tổng số của sản phẩm sau 01 tháng bảo quản.

2.5. Xác định chế độ bảo quản

Chế phẩm bột giun được đóng túi trong màng Al/PE, được nghiên cứu bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 4 - 10°C và nhiệt độ phòng. Đánh giá chỉ tiêu độ ẩm và hàm lượng protein tổng số của sản phẩm sau 3 và 6 tháng bảo quản.

Sau khi đã chọn được điều kiện bảo quản, chế phẩm tiếp tục được theo dõi sau 6, 12 tháng bảo quản, rồi đánh giá chỉ tiêu hóa lý và ATTP.

2.6. Hiệu suất thu hồi protein

Hiệu suất thu hồi protein (%) = N/No x 100.

Trong đó: N là hàm lượng nitơ tổng số trong bột giun sau khi sấy (%); No là hàm lượng nitơ tổng số trong dịch giun trước khi sấy (%).

2.7. Phương pháp phân tích

Phân tích hóa lý: Hàm lượng protein tổng số (TCVN 4328: 2007), hàm lượng lipit (TCVN 4331: 2001), hàm lượng nước - độ ẩm (TCVN 4326:2001), tro tổng số (TCVN 4327: 2007), hàm lượng các axit amin (TCVN 3707: 1990).

Phân tích kim loại nặng: hàm lượng As (TCVN 11046: 2015), hàm lượng Pb (TCVN 8129: 2009), hàm lượng Cd (TCVN 8126: 2009), hàm lượng Hg (AOAC 971-21).

Phân tích vi sinh: *E. coli* (TCVN 7924-2: 2008), *Salmonella* (TCVN 10780-1: 2017), tổng vi khuẩn hiếu khí (TCVN 4884-1: 2015).

2.8. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý số liệu bằng phần mềm Excel và SPSS.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu phương án xử lý nguyên liệu

Sau quá trình thủy phân, để đảm bảo vận chuyển và bảo quản sản phẩm của giun được tốt nhất, đáp ứng được nhiều nhu cầu sử dụng sản phẩm từ giun, cần tiến hành chế biến thành bột giun. Dịch giun sau thủy phân có đặc tính chứa đầy đủ các loại axit amin, vitamin, chất khoáng và vi lượng cần thiết cho gia súc, gia cầm và thủy sản. Đặc biệt, giun còn có các loại kích thích tố sinh trưởng tự nhiên... những chất này vốn nhạy cảm với nhiệt không dễ dàng giữ được chất lượng và hàm lượng nếu không bổ sung chất trợ sấy. Tuy nhiên, khi bổ sung chất trợ sấy có thể sẽ ảnh hưởng đến yêu cầu chỉ tiêu chất lượng của chế phẩm sản phẩm bột giun cần đạt như độ ẩm ≤ 10%, protein tổng số ≥ 45%, nitơ amin ≥ 25%, lipit ≥ 7%, đường ≥ 10%, tro tổng ≤ 16%, kim loại nặng (As, Pb, Cd, Hg), tổng số vi sinh vật hiếu khí và vi sinh vật gây bệnh (*E. coli, Salmonella*) đều đạt yêu cầu theo quy định.

Ở thực nghiệm này, để xử lý vật liệu sấy được tiến hành theo phương pháp của Istiqomah I. và cs (2009) [3] có cải tiến kết hợp với một số đặc tính mà dịch giun thủy phân có hàm lượng protein tổng số 15,82%, nitơ amin 8,32%, lipit 1,83% và hàm lượng đường 1,73%, công thức thí nghiệm được thiết lập như sau: TN1: Dịch giun + 3% axit formic + 10% cám gạo, TN2: Dịch giun + 3% axit formic + 12% cám gạo, TN3: Dịch giun + 3% axit formic + 14% cám gạo. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của phương án xử lý nguyên liệu

Công thức đánh giá	Hàm lượng protein tổng số (%)	Hiệu suất thu hồi protein (%)	Độ ẩm (%)
TN1	49 ± 0,78	92,2	11,1
TN2	48 ± 0,75	93,4	9,7
TN3	46 ± 0,84	93,1	9,5

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, để xử lý nguyên liệu với 3 phương án khác nhau đều cho sản phẩm có độ ẩm và hiệu suất thu hồi protein tương đối ổn định. Tuy nhiên, để sản phẩm bột giun đáp ứng được yêu cầu của chế phẩm đề ra đã lựa chọn công thức 2 với thành phần phối trộn như sau: Dịch giun sau thủy phân + 3% axit formic + 12% cám gạo cho các nghiên cứu tiếp theo. Hàm lượng protein trong dạng bột có giảm nhưng không nhiều so với dịch giun thủy phân trước sấy, điều này có thể nhờ sự bổ sung axit formic trong vật liệu khi sấy, tạo môi trường pH thấp, nên có chức năng bảo vệ các axit amin, vitamin… mẫn cảm với nhiệt độ [3].

3.2. Ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ tạo sản phẩm bột giun

3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Trong thí nghiệm này, nhiệt độ sấy sản phẩm được khảo sát là 45°C, 50°C, 55°C và 60°C. Sau 10 giờ thu hồi sản phẩm. Kết quả ở bảng 2 cho thấy, nhiệt độ sấy quá thấp hay quá cao đều có những tác động bất lợi cho quá trình sấy bột giun. Nhiệt độ không khí sấy là 45°C và 50°C thì độ ẩm các hạt vật liệu sấy vẫn còn khá cao, không đạt yêu cầu, sản phẩm bám nhiều vào thiết bị sấy nên làm giảm hiệu suất thu hồi sản phẩm. Nhiệt độ không khí sấy cao trên 60°C thì mặc dù đạt độ ẩm khá tốt nhưng làm cho một ít vật liệu sấy bị cháy, bám lên thành thiết bị, sản phẩm sau sấy giảm mùi thơm và màu của khối hạt không đồng đều vì lớp cuối cùng của vật liệu sấy bị cháy, đồng thời cũng làm giảm hiệu suất thu hồi sản phẩm sau sấy. Nhiệt độ không khí sấy 55°C là thích hợp nhất, khi đó hiệu suất thu hồi protein là 93,5%; độ ẩm sản phẩm là 9,72% và hàm lượng protein là 48%. Bột giun có màu nâu vàng. Kết quả này cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy, đối với sấy tạo bột giun, nhiệt độ sấy tốt nhất khoảng 55°C [2]. Do vậy, nhiệt độ sấy 55°C là một thông số được lựa chọn.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chất lượng sản phẩm

Nhiệt độ sấy (°C)	Hàm lượng protein tổng số (%)	Hiệu suất thu hồi protein (%)	Độ ẩm (%)
45	48,1 ± 0,75	84,2	15,0
50	47,9 ± 0,79	89,3	11,07
55	48,0 ± 0,81	93,5	9,72
60	47,8 ± 0,80	89,7	9,57

3.2.2. Ảnh hưởng của tốc độ đảo trộn

Tốc độ đảo trộn vật liệu sấy là một trong những yếu tố quan trọng của quá trình sấy sản phẩm. Tốc độ đảo trộn mạnh thì ở giữa khối ủ sẽ thiếu sự tiếp xúc với không khí, sẽ làm khô cục bộ ở bề mặt ngoài của khối sấy, còn nếu tốc độ đảo trộn kém thì sẽ làm cháy vật liệu sấy, do đó sẽ ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm sấy. Thí nghiệm được tiến hành với các tốc độ đảo trộn vật liệu sấy khác nhau từ 15 – 25 vòng/phút.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tốc độ đảo trộn đến chất lượng sản phẩm

Tốc độ đảo trộn vật liệu sấy (vòng/phút)	Hàm lượng protein tổng số (%)	Hiệu suất thu hồi protein (%)	Độ ẩm (%)
15	48,1 ± 0,80	91,6	11,2
20	48,1 ± 0,80	95,6	9,60
25	47,8 ± 0,80	93,5	9,55

Kết quả cho thấy, tốc độ đảo trộn 20 vòng/phút thì quá trình sấy bột giun tốt nhất. Tốc độ đảo trộn 15 vòng/phút thì quá trình sấy kém, xảy ra khô cục bộ, độ ẩm của sản phẩm sau sấy cao, không đạt yêu cầu đối với chỉ tiêu sản phẩm sấy. Khi tốc độ đảo trộn khối ủ là 25 vòng/phút, độ ẩm khối ủ đạt yêu cầu, nhưng xảy ra hiện tượng cháy bề mặt sản phẩm sấy, làm ảnh hưởng đến hiệu suất sản phẩm sau sấy. Điều này có thể do thất thoát độ ẩm nhanh dẫn đến hiện tượng cháy bề mặt sản phẩm. Vì vậy, tốc độ đảo trộn khối sấy là 20 vòng/phút được lựa chọn cho quá trình sấy bột giun.

3.2.3. Ảnh hưởng thời gian sấy

Trong quá trình sấy bột giun có thể dễ dàng nhận ra rằng, nhiệt độ và thời gian sấy có mối quan hệ qua lại với nhau, nhiệt độ càng thấp thì

thời gian sấy sẽ càng lâu và ngược lại. Nhằm tiết kiệm được năng lượng dùng cho quá trình sấy, thực nghiệm tiến hành khảo sát ở các thời gian sấy khác nhau: 8,5, 9,0, 9,5, 10,0 và 10,5 giờ. Kết quả về hiệu suất thu hồi protein, độ ẩm và hàm lượng protein của bột giun được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian sấy đến chất lượng sản phẩm

Thời gian sấy (giờ)	Hàm lượng protein tổng số (%)	Hiệu suất thu hồi protein (%)	Độ ẩm (%)
8,5	48,0 ± 0,81	82,8	16,31
9,0	47,9 ± 0,80	89,1	12,30
9,5	48,0 ± 0,77	92,7	11,67
10,0	48,0 ± 0,80	95,8	9,71
10,5	47,8 ± 0,78	95,2	9,30

Thời gian sấy có ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng sản phẩm sau sấy. Nếu kết thúc sấy sớm thì độ ẩm sản phẩm chưa đạt tối đa, nếu kết thúc muộn thì sẽ ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm cũng như làm tăng chi phí sản xuất. Kết quả ở bảng 4 cho thấy, độ ẩm của sản phẩm giảm dần theo thời gian sấy và đạt tối ưu sau 10 giờ, khi đó bột giun có hiệu suất thu hồi protein là 95,8%, độ ẩm sản phẩm là 9,71%. Như vậy, thời gian sấy bột giun tối ưu là 10 giờ.

Từ những kết quả này, đã đưa ra thông số của phương pháp sấy trên thiết bị sấy thùng quay có đường kính 880 mm là: Nhiệt độ 55°C, tốc độ thổi khí 1 m/s, tốc độ đảo trộn 20 vòng/phút. Sau 10 giờ thu được sản phẩm bột giun đem đi nghiền thành bột, rồi đóng trong bao bì.

3.3. Xác định điều kiện bảo quản chế phẩm bột giun

3.3.1. Nghiên cứu lựa chọn bao bì thích hợp cho chế phẩm

Trong quá trình sản xuất và phân phối hàng hóa, bao bì có chức năng bảo vệ sản phẩm trong môi trường kín, ngăn cản độ ẩm không khí, tránh ánh sáng, tránh tác động của các lực bên ngoài, giữ cho tính chất của sản phẩm được ổn định trong một thời gian nhất định. Vì chế phẩm bột giun có đặc tính hòa tan được trong nước, dễ bị hút ẩm nên việc lựa chọn loại bao bì thích hợp để bảo quản chế phẩm là rất cần thiết. Sau khi khảo sát đặc tính của một số loại bao bì 1 lớp và nhiều lớp (màng kép), trong nghiên cứu này đã lựa chọn một số loại bao bì để bảo quản chế phẩm. Kết quả về độ ẩm và hàm lượng protein của sản phẩm sau 6 tháng bảo quản trong các loại màng khác nhau được trình bày ở bảng 5.

Kết quả cho thấy, sản phẩm bột giun trước bảo quản có độ ẩm là 9,7% và có hàm lượng protein tương ứng là 48%. Sau 6 tháng bảo quản, hàm lượng protein của chế phẩm bột giun được bảo quản bằng các loại màng khác nhau hầu như không đổi, còn độ ẩm có sự khác nhau. Trong các loại màng 1 lớp thì màng Al-Foil có khả năng bảo vệ sản phẩm tốt nhất, sau 6 tháng bảo quản, độ ẩm của chế phẩm thay đổi không nhiều. Nhưng so với màng kép thì loại màng này tránh ẩm tốt hơn so với màng 1 lớp. Độ ẩm của sản phẩm bảo quản trong các loại màng này hầu như không thay đổi so với khi mới đóng gói. Ở loại màng ghép thì màng có lá nhôm tránh ẩm tốt nhất, điều đó đã chứng minh vai trò của lớp lá nhôm mỏng trong vật liệu tạo màng, có được kết quả này là do ngoài các tính chất về độ bền hóa học, bền nhiệt độ, bền cơ học, màng nhôm còn có một số tính chất mà các vật liệu khác không có được, đó là tính chống khí, độ ẩm và ánh sáng rất tốt. Xét về mặt kinh tế, các loại màng ghép càng nhiều lớp giá càng đắt. Do vậy, để phù hợp cho việc đóng gói sản phẩm được an toàn, đồng thời có hiệu quả kinh tế, màng Al/PE được lựa chọn cho bảo quản sản phẩm bột giun.

Bảng 5. Sự thay đổi độ ẩm và hàm lượng protein của bột giun sau 6 tháng bảo quản bằng các loại màng

TT	Loại bao bì	Độ ẩm (%)	Hàm lượng protein (%)
Sản phẩm trước bảo quản		9,7	48,0
A	Màng 1 lớp		
1	Polyethylene	11,51	47,9
2	PVDC (Polyvinylidende Cloride)	10,9	48,0
3	Al-Foil (lá nhôm mỏng)	10,1	47,9
4	MDPE	10,8	48,0
5	HDPE	10,52	47,7
B	Màng 2 lớp		
1	Ny/PE	10,02	48,0
2	BOPP/PE	7,21	48,1
3	Al/PE	9,9	48,04
C	Màng 3 lớp		
1	BOPP/Al/PE	9,7	48,0
2	PET/Al/PE	9,9	48,1
D	Màng 4 lớp		
1	POPP/PE/Al/PE	9,9	48,0
E	Màng 5 lớp		
1	PET/PE/Al/PE/LLDPE	9,8	48,0

3.3.2. Xác định điều kiện bảo quản

Bột giun bảo quản trong màng AL/PE sẽ được tiếp tục nghiên cứu bảo quản ở các điều kiện nhiệt độ 4°C - 10°C và nhiệt độ phòng. Kết quả sau 3 tháng và 6 tháng bảo quản ở cả 02 chế độ thì độ ẩm và hàm lượng protein của sản phẩm hầu như không có sự biến đổi so với ban đầu. Vì vậy điều kiện bảo quản ở nhiệt độ môi trường (25°C - 30°C) được chọn cho bảo quản sản phẩm bột giun.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản đến chất lượng sản phẩm

Nhiệt độ bảo quản	Trước khi bảo quản		Sau 3 tháng		Sau 6 tháng	
	Độ ẩm (%)	Hàm lượng protein (%)	Độ ẩm (%)	Hàm lượng protein (%)	Độ ẩm (%)	Hàm lượng protein (%)
4°C - 10°C	9,7	48,0	9,7	48,0	9,74	48,0
Nhiệt độ môi trường (25°C - 30°C)	9,7	48,0	9,7	48,0	9,9	48,04

Chế phẩm bột giun sau 6 tháng bảo quản ở nhiệt độ phòng, nơi khô ráo, thoáng mát, không có ánh sáng trực tiếp được đưa đi đánh giá chất lượng. Kết quả được trình bày ở bảng 7.

Bảng 7. Các chỉ tiêu hóa lý và vi sinh của chế phẩm bột giun trước và sau khi bảo quản 6 tháng

TT	Tính chất của sản phẩm	Đơn vị	Trước khi bảo quản	Sau bảo quản (6 tháng)
A	Chỉ tiêu hóa, lý			
1	Độ ẩm	%	9,7	9,9
2	Protein tổng số	%	48	48,04
3	Nitơ amin	%	26,93	26,91
4	Lipit	%	8,50	8,41
5	Đường	%	28,02	27,45
6	Tro tổng	%	4,6	4,61
B	Chỉ tiêu vi sinh			
1	*E. coli*	CFU/g	KPH	KPH
2	*Salmonella*	CFU/25 g	KPH	KPH
3	Tổng số VSVHK	CFU/g	$8,0x10^5$	$7,8 x10^5$
C	Nhận xét cảm quan			
1	Màu sắc		Màu nâu vàng	Màu nâu vàng
2	Mùi		Mùi đặc trưng giun	Mùi đặc trưng giun
3	Trạng thái		Bột mịn	Bột mịn

**Ghi chú: KPH: không phát hiện nghĩa là dưới ngưỡng phát hiện của phương pháp; VSVHK: Vi sinh vật hiếu khí*

Số liệu ở bảng 7 cho thấy, sau thời gian bảo quản 6 tháng ở điều kiện thích hợp, chất lượng chế phẩm bột giun gần như không thay đổi so với ban đầu về toàn bộ các chỉ tiêu như hóa lý, vi sinh. Điều kiện thích hợp để bảo quản chế phẩm bột giun là đóng túi trong bao bì Al/PE, bảo quản ở nơi khô ráo, thoáng, tránh ánh sáng trực tiếp với nhiệt độ từ 5 - 35°C. Ở điều kiện này, chế phẩm ổn định ít nhất được 6 tháng với độ ẩm và các chỉ tiêu hóa lý của chế phẩm không thay đổi.



Dịch giun thủy phân



Bột giun

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được một số điều kiện thích hợp để sấy dịch giun. Cụ thể như sau:

Phương pháp xử lý nguyên liệu: Dịch thủy phân giun được phối trộn với cám gạo theo tỷ lệ: Dịch giun + 12% cám gạo và 3% axit fomic, trộn đều.

Chế độ sấy: Tiến hành sấy hỗn dịch ở không khí lạnh khô với nhiệt độ 55°C, tốc độ đảo trộn 20 vòng/phút, đường kính thiết bị sấy thùng quay 880 mm, tốc độ thổi khí 1 m/s, thời gian sấy 10 giờ.

Bảo quản chế phẩm bằng bao bì Al/PE, ở điều kiện nhiệt độ thường, hạn chế ánh sáng trực tiếp. Sau 6 tháng bảo quản, bột giun có dạng mịn, màu

nâu vàng, mùi đặc trưng giun, độ ẩm 9,9%, protein tổng số 48,04%, nitơ amin 26,91%, lipit 8,41%, đường 27,45%, tro tổng 4,61%, kim loại nặng: As là 1,36 mg/kg, Pb là 0,16 mg/kg, Cd là 0,09 mg/kg, Hg: KPH, tổng số vi sinh vật hiếu khí và vi sinh vật gây bệnh (*E. coli, Salmonella*) đều đạt theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về sản phẩm thức ăn chăn nuôi QCVN 01-183: 2016/BNNPTNT.

LỜI CẢM ƠN

Xin cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí của Sở Khoa học và Công nghệ thành phố Hà Nội cho đề tài "Nghiên cứu phát triển công nghệ và chế tạo thiết bị phục vụ cho nuôi và sản xuất một số chế phẩm từ giun làm nguyên liệu cho thức ăn chăn nuôi".

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về sản phẩm thức ăn chăn nuôi QCVN 01-183: 2016/BNNPTNT.

2. Deepika B., Leela V., Ezhil S. (2018). Nutritional analysis of Earthworm meal. *International Journal of Chemical studies* 6 (6); pp 1536 -1539.

3. Istiqomah I., *et al.* (2009). Amino acid profile of Earthworm and Earthworm meal for animail feedstuff. *Division of feed and animal nutrition*.

A STUDY ON MANUFACTURE TECNOLOGY IN PRODUCING EARTHWORM POWDER FROM EARTHWORM HYDROLYSATE

Le Xuan Hao, Nguyen Thi Hong Ha, Vu Thu Diem, Nguyen Trong Uyen

Summary

Earthworms contain great level of protein with about 68 -70% of dried weight. In addition, earthworms also have 7-8% of lipid, 12-14% of hydratcarbon and 11-12% of ash. With extreme level of protein and having most of essential amino acids, earthworm is considered as valuable supplement nutrient for livestocks, poultries and shirmps…In agronomy, hydrolyzied earthwrom is also used as the main component of fertilizers which is crucial for crop growth and development. Moreover, protein from earthworms is also utilized in growth medium of microbacteria and especially precious medicinal mushrooms. However, despite having excessive level of nutrition, there are still difficulties in storage, consumption and commercialization of freshworm product. Therefore, to provide good solutions for these problems, in this report, we optimized the method on producing earthworm powder from earthworm hydrolysate. By testing consequences of different factors in drying process, we found the optimal condition for drying is as follows: the earthworm hydrolysate was added with 12% of rice bran and 3% of fomic acid, the mixture was then mixed well. Next, the mixture was dried in dried-cold air at 55^{o}C for 10 h with rotating 20 rpm/min and air flow speed 1 m/s. The final product was then packed in AL/PE bags, stored at room temperature and avoided from direct sunlight. After 6 months of storage, earthworm powder showed: Smooth and fine structure with yellow color and typical smell, 9.9% moitrure, 48.04% total protein, 26.91% amino nitrogen, 8.41% lipid content, 27.45% sugar and 4.61% total ash; the content of heavy metal meets national technical standards for products used in livestock breeding of the Ministry of Agriculture and Rural Development, No. QCVN 01-183: 2016/BNNPTNT.

Keywords: *Worm juice, earthworm powder, drying.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Hoài Trâm
Ngày nhận bài: 24/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 23/3/2023
Ngày duyệt đăng: 30/3/2023

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN TÁC ĐỘNG TỚI CHẤT LƯỢNG CẢM QUAN CÁ NGỪ SỌC DƯA BẢO QUẢN BẰNG OLIGOCHITIN KẾT HỢP VỚI NƯỚC ĐÁ

Trần Văn Vương[1, *], Thái Văn Đức[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã tiến hành đánh giá sự phát triển một số chủng vi khuẩn gây thối điển hình trên mẫu cá ngừ sọc dưa (1500 ± 40 g/con) đánh bắt tại vùng biển Khánh Hòa, Việt Nam: TPC, *Shewanella putrefaciens* và *Pseudomonas* spp. tới chất lượng cảm quan trong quá trình bảo quản bằng oligochitin (13 kDa) nồng độ 1,0% kết hợp với nước đá (2±1^{0}C) trong thời gian 22 ngày. Cụ thể: TPC bắt đầu vượt giới hạn cho phép sau 16 ngày, tương ứng 9,6x10^5 cfu/g; *Pseudomonas* spp. trong 21 ngày và *Shewanella putrefaciens* trong 18 ngày bắt đầu vượt ngưỡng gây ươn hỏng, tương ứng 1,4x10^8 cfu/g và 1,7x10^9 cfu/g. Đồng thời với sự phát triển của các chủng này thì chất lượng cảm quan cũng giảm nhanh và tới ngày thứ 22 là hư hỏng. So với mẫu đối chứng chỉ sử dụng nước đá để bảo quản thì chất lượng cảm quan được duy trì dài hơn 1,92 lần; TPC, *Pseudomonas* spp. và *Shewanella putrefaciens* thấp hơn, tương ứng 1,71, 1,75 và 1,69 lần.

Từ khóa: *Oligochitin, cá ngừ sọc dưa, chất lượng cảm quan, vi khuẩn gây thối cá ngừ sọc dưa.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá ngừ sọc dưa (*Sarda orientalis*) thuộc họ thu ngừ, loại có hàm lượng axít amin histidine tự do cao [1]. Khi cá chết, hệ vi sinh vật bên ngoài da sẽ xâm nhập vào cơ thịt, cùng hệ vi sinh vật tồn tại bên trong sẽ sinh trưởng phát triển kết hợp với hệ enzyme nội tại hoạt động sẽ phân giải cơ thịt cá. Đây là nguyên nhân chính gây ra sự ươn hỏng, ảnh hưởng tới chất lượng cảm quan của cá. Khu hệ vi sinh vật xuất hiện và phát triển, thường là khu hệ vi khuẩn đặc trưng (vi khuẩn tổng số), trong đó chủ yếu là hệ vi khuẩn *Shewanella putrefaciens và Pseudomonas* spp. làm cho cá ngừ sọc dưa bị ươn hỏng, sinh ra các sản phẩm chuyển hóa có mùi vị khó chịu [2].

Shewanella putrefaciens là hệ vi khuẩn đặc trưng điển hình gây ươn hỏng, khi bảo quản lạnh hiếu khí nhiều loài cá từ các vùng nước khác nhau và sinh ra trimetylamin (TMA), hydrosulfua (H_2S) và các sulfua bay hơi khác. Những chất này tồn tại làm cá có mùi và vị khó chịu. Sự ươn hỏng hoặc thối rữa tăng nhanh khi số lượng tế bào vượt ngưỡng 10^8 cfu/g [3].

Pseudomonas spp. cũng là hệ vi khuẩn đặc trưng điển hình, được tìm thấy trên một số loài cá nước ngọt và các loài cá từ vùng nhiệt đới trong quá trình bảo quản hiếu khí bằng nước đá. *Pseudomonas* spp. sinh ra một vài sulfit dễ bay hơi như metyl mercaptan (CH_3SH), dimetylsulfit [$(CH_3)_2S$], xeton, este và aldehyt nhưng không sinh ra H_2S. Sự ươn hỏng hoặc thối rữa tăng nhanh khi số lượng tế bào vượt ngưỡng 10^7 cfu/g [3].

Theo số liệu của Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu thuỷ sản Việt Nam (VASEP), sản lượng thủy sản của Việt Nam ước đạt 9,06 triệu tấn (2022) [4]. Trong đó sản lượng khai thác ước đạt 3,86 triệu tấn với sản lượng cá ngừ chiếm khoảng 20%, cá ngừ sọc dưa là loài có sản lượng lớn thuộc họ cá ngừ được khai thác [5]. Cá ngừ sọc dưa phân bố rộng khắp biển Việt Nam, tuy nhiên chúng tập trung ở một số vùng biển, trong đó có vùng biển Khánh Hòa. Ở Việt Nam nói chung và Khánh Hòa nói riêng, cá ngừ sọc dưa được đánh bắt bằng lưới vây và lưới rê trên các tàu cá có công suất trên 200 CV, cá sau đánh bắt được bảo quản bằng nước đá trong

[1] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang
[*]Email: vuongtv@ntu.edu.vn

các hầm bảo quản của tàu. Do chỉ bảo quản bằng nước đá nên thời gian bảo quản ngắn, chất lượng cá sau bảo quản không cao dẫn tới giá trị của cá ngừ sọc dưa nguyên liệu sau đánh bắt thấp [6].

Oligochitin là một polyme hữu cơ, được tạo ra từ quá trình phân cắt phân tử chitin và không độc hại, oligochitin có khối lượng phân tử từ 1-3 kDa có khả năng kháng khuẩn, kháng nấm và ức chế quá trình oxy hóa mạnh [7], [8]. Do vậy, hướng nghiên cứu sử dụng oligochitin có phân tử lượng từ 1-3 kDa kết hợp với nước đá trong bảo quản cá ngừ sọc dưa sau đánh bắt tại Khánh Hòa giúp kéo dài thời gian bảo quản và nâng cao chất lượng là rất cần thiết [9].

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

2.1.1. Vật liệu nghiên cứu

Cá ngừ sọc dưa (*Sarda orientalis*): Loại tươi, thu mua từ tàu cá, được đánh bắt tại vùng biển Khánh Hòa, chiều dài 45 ± 5 cm, khối lượng 1.500 ± 40 g/con. Cá được bảo quản trong nước đá lạnh trong quá trình vận chuyển về phòng thí nghiệm.

Oligochitin: Khối lượng phân tử 1-3 kDa, màu nâu, độ ẩm 9,0%, được sản xuất tại Trung tâm Công nghệ bức xạ, Viện Nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt bằng phương pháp chiếu xạ chitin (nguồn gốc vỏ tôm thẻ).

Đá lạnh: Sản xuất tại phòng thí nghiệm. Nước làm đá đảm bảo chất lượng theo: QCVN 01-1: 2018/BYT.

2.1.2. Hóa chất sử dụng

NaOH, H_2SO_4, HCl, môi trường PCA, IA và *Pseudomonas*, loại tinh khiết (PA) sử dụng trong phân tích được sản xuất bởi hãng Merck - Đức.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Cách tiến hành thí nghiệm

Sơ đồ bố trí thí nghiệm được trình bày ở hình 1.

Giải thích sơ đồ thí nghiệm:

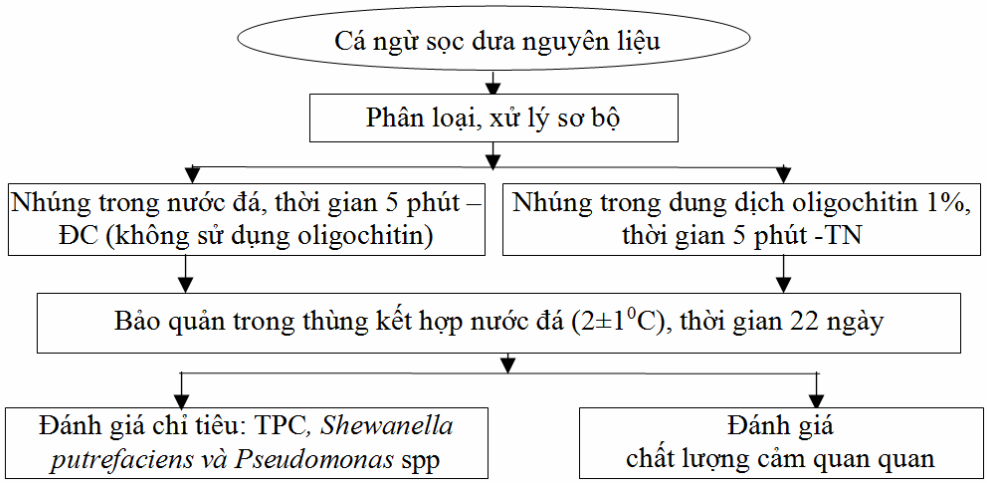
- Cá ngừ sọc dưa: Loại tươi, chiều dài 45±5 cm, khối lượng 1.500 ± 40 g/con thu mua tại tàu cá trên địa bàn tỉnh Khánh Hòa.

- Phân loại, xử lý sơ bộ: Cá ngừ sọc dưa sau khi thu mua được rửa để loại tạp chất, phân loại chất lượng và để ráo.

- Bảo quản: Lô cá thí nghiệm được chia làm 2 phần, 1 phần đem nhúng trong dung dịch oligochitin 1,0% đã được chuẩn bị trước (mẫu thí nghiệm: TN), phần còn lại nhúng trong nước đá (mẫu đối chứng: ĐC) trong 5 phút. Sau đó mẫu được lấy ra, cho vào 2 thùng khác nhau có chứa nước đá ở nhiệt độ 2 ± 1^0C, tiến hành bảo quản (trong thời gian bảo quản, nhiệt độ được kiểm tra định kỳ, đá xay được bổ sung để ổn định nhiệt độ).

- Lấy mẫu: Hàng ngày mẫu được lấy lúc 8 giờ sáng để đánh giá chất lượng cảm quan và phân tích: Tổng vi khuẩn hiếu khí (TPC), *Shewanella putrefaciens và Pseudomonas* spp. Lấy mẫu tới 22 ngày.

2.2.2. Phương pháp sử dụng trong phân tích



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm bảo quản cá ngừ sọc dưa sử dụng oligochitin 1% kết hợp nước đá

Lấy mẫu, bảo quản mẫu theo TCVN 6507: 2005, TCVN 6404: 2008, TCVN 5287: 2008.

Đánh giá chất lượng cảm quan bằng phương pháp cho điểm, theo No.103/76 OJ No.L20 EEC (28-01-1976).

Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí (TPC) theo ISO 6887-1 (9/1999) có hiệu chỉnh.

Xác định *Shewanella putrefaciens* theo phương pháp của Gram L. (1992) có hiệu chỉnh [9].

Xác định *Pseudomonas* spp. theo phương pháp của Gram L. (1992) có hiệu chỉnh [9].

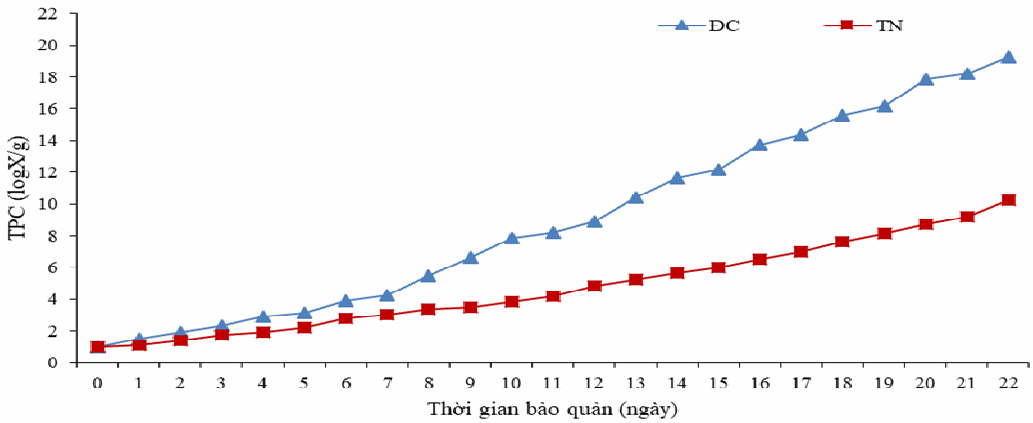
2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được trình bày là giá trị trung bình của 3 lần thí nghiệm. Tính giá trị trung bình và vẽ đồ thị sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2007. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) của các giá trị trung bình được phân tích bằng phần mềm thống kê R.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự biến đổi tổng số vi sinh vật hiếu khí (TPC)

TPC được xác định theo tiêu chuẩn ISO 6887-19/1999. Kết quả được trình bày ở hình 2.



Hình 2. Đồ thị biểu diễn sự biến đổi của TPC trên cá ngừ sọc dưa nguyên liệu theo thời gian

Kết quả ở hình 2 cho thấy, TPC trên cả mẫu TN và ĐC đều có xu hướng tăng theo thời gian. Ở mẫu TN, TPC tăng chậm trong 7 ngày đầu, tương ứng 9,8 x 10^2 cfu/g. Sau đó tăng nhanh, tới ngày thứ 16 tương ứng 9,6 x 10^5 cfu/g và bắt đầu vượt ngưỡng cho phép vào ngày thứ 17, tương ứng 5,6 x 10^6 cfu/g. Còn ở mẫu ĐC, TPC tăng chậm trong 5 ngày đầu, tương ứng 1,5 x 10^3 cfu/g. Sau đó tăng nhanh, tới ngày thứ 9 TPC đã vượt ngưỡng cho phép, tương ứng 4,2 x 10^6 cfu/g.

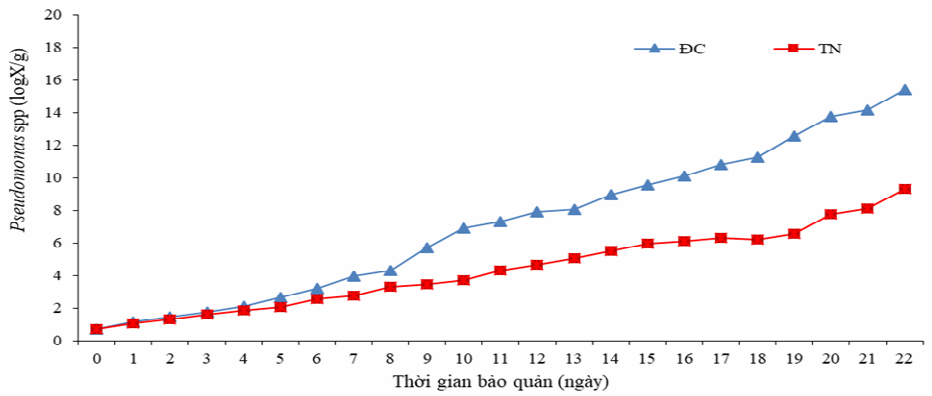
Khi cá chết, hệ thống miễn dịch nội tại bị suy giảm, lúc này vi sinh vật được tự do phát triển. Sự ươn hỏng ở cá diễn ra với tốc độ khác nhau, theo đó sự phát triển của TPC cũng diễn ra theo ba giai đoạn. Giai đoạn thứ nhất, trong 5 ngày đầu, giai đoạn làm quen với môi trường, TPC phát triển chậm; giai đoạn thứ hai từ ngày thứ 5 tới ngày thứ 16, giai đoạn TPC phát triển nhanh; giai đoạn thứ ba, từ ngày thứ 16 tới hết thời gian bảo quản, giai đoạn TPC phát triển rất nhanh [10].

Ở mẫu TN, mẫu cá được nhúng trong dung dịch oligochitin 1,0% kết hợp với nước đá nên đã kìm hãm sự phát triển của khu hệ vi sinh vật, trong đó có TPC. Giai đoạn đầu, một số chủng loại vi sinh vật có khả năng thích nghi ở nhiệt độ thấp nên chúng thường không hoạt động, hoặc hoạt động rất kém. Nhiệt độ bảo quản thấp cũng là ức chế hệ enzyme nội tại phân giải protein thành axít amin tạo nguồn dinh dưỡng cho vi sinh vật, điều này góp phần làm cho TPC phát triển chậm [11]. Tuy nhiên, sự có mặt của oligochitin cũng như môi trường lạnh cũng chỉ ức chế một phần hoạt động của TPC chứ không ức chế hoặc tiêu diệt được hoàn toàn, nên đến giai đoạn nhất định TPC sẽ thích nghi và phát triển làm tăng mạnh lượng tế bào. Ở Việt Nam, quy định số 46/2007/BYT: Giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm, giới hạn TPC cho phép có mặt trong nguyên liệu và thủy sản tươi sống không quá 10^6 cfu/g.

Kết quả đánh giá TPC trên cá ngừ sọc dưa nguyên liệu bảo quản bằng oligochitin 1,0% kết hợp với nước đá có sự cải thiện hơn so với một số nghiên cứu trên đối tượng cá tuyết và cá basa với thời gian bảo quản là 9 ngày [11], [12], [13]. Cụ thể trong nghiên cứu này, trong thời gian 16 ngày TPC vẫn nằm trong giới hạn. Điều này cho thấy, mẫu cá ngừ sọc dưa nguyên liệu có sử dụng oligochitin trong bảo quản làm TPC phát triểm chậm hơn, giúp kéo dài thời gian bảo quản gấp 1,71 lần so với các nghiên cứu không sử dụng oligochitin.

3.2. Sự biến đổi của *Pseudomonas* spp

Kết quả nghiên cứu *Pseudomonas* spp được trình bày ở hình 3.



Hình 3. Đồ thị biểu diễn sự biến đổi *Pseudomonas* spp. trên cá ngừ sọc dưa nguyên liệu theo thời gian

Kết quả ở hình 3 cho ta thấy, Pseudomonas spp. trên cả mẫu TN và ĐC đều có xu hướng tăng, nhưng không tăng đều theo thời gian. Ở mẫu TN, *Pseudomonas* spp. tăng chậm trong 7 ngày đầu, tương ứng 5,9x102 cfu/g; tăng nhanh từ ngày 7 tới ngày 12, tương ứng 4,8x104 cfu/g; từ ngày thứ 12 tới ngày thứ 22 tăng rất nhanh, tương ứng 1,4x108 cfu/g. Còn ở mẫu ĐC, *Pseudomonas* spp. tăng chậm hơn trong 8 ngày đầu, tương ứng 2,5x104 cfu/g; tăng rất nhanh từ ngày thứ 8 tới hết thời gian bảo quản, ở ngày thứ 15 lượng *Pseudomonas* spp. đã vượt mẫu TN ở ngày thứ 22.

Trong quá trình bảo quản, hệ thống miễn dịch nội tại của cá sẽ bị suy giảm theo thời gian. Lúc này khu hệ vi sinh vật được tự do phát triển, trong đó có hệ vi khuẩn *Pseudomonas* spp. Cùng với sự ươn hỏng xảy ra trên cơ thịt cá trong thời gian bảo quản là sự phát triển hệ vi khuẩn *Pseudomonas* spp. Cụ thể, giai đoạn thứ nhất trong 7 ngày đầu, giai đoạn làm quen với môi trường nên *Pseudomonas* spp. phát triển chậm; giai đoạn thứ hai từ ngày thứ 7 tới ngày thứ 12, giai đoạn *Pseudomonas* spp. phát triển nhanh; giai đoạn thứ ba, từ ngày thứ 12 tới hết thời gian bảo quản, giai đoạn *Pseudomonas* spp. phát triển rất nhanh.

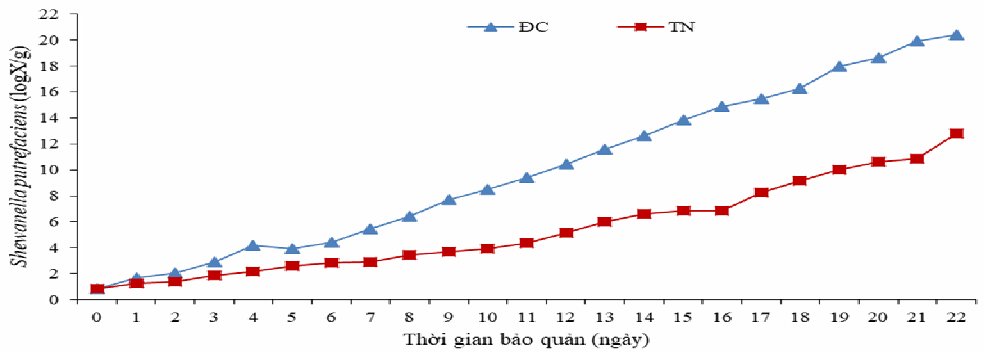
Pseudomonas spp. thuộc hệ vi khuẩn ưa lạnh, gây hư hỏng đặc trưng trên nguyên liệu thủy sản bảo quản lạnh. Ở mẫu TN, do mẫu cá được nhúng trong dung dịch oligochitin 1,0% kết hợp với nước đá nên đã kìm hãm sự phát triển của vi sinh vật, trong đó có hệ vi khuẩn *Pseudomonas* spp. Là họ vi khuẩn ưa lạnh, *Pseudomonas* spp. có thời gian làm quen với môi trường ngắn hơn so với các chủng khác và khi nhiệt độ bảo quản càng gần nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển thì tốc độ phát triển càng nhanh. Tuy nhiên, sự có mặt của oligochitin cũng như môi trường lạnh cũng chỉ ức chế một phần hoạt động của *Pseudomonas* spp. chứ không ức chế hoặc tiêu diệt được hoàn toàn, nên đến giai đoạn nhất định *Pseudomonas* spp. sẽ thích nghi và phát triển làm tăng mạnh lượng tế bào. Khi *Pseudomonas* spp. có mặt đạt đến 10^7-10^8 cfu/g sẽ gây ra sự ươn hỏng.

Kết quả đánh giá *Pseudomonas* spp. trên cá ngừ sọc dưa nguyên liệu bảo quản bằng oligochitin 1,0% kết hợp với nước đá có sự cải thiện hơn so với một số nghiên cứu trên đối tượng cá tuyết và cá basa với thời gian bảo quản là 13 ngày [11], [12], [13]. Cụ thể, trong nghiên cứu này sau 21 ngày lượng *Pseudomonas* spp. mới vượt ngưỡng. Điều này cho thấy, mẫu cá ngừ sọc dưa nguyên liệu có

sử dụng oligochitin trong bảo quản làm *Pseudomonas* spp. phát triểm chậm hơn, giúp kéo dài thời gian bảo quản gấp 1,75 lần so với các nghiên cứu không sử dụng oligochitin.

3.3. Sự biến đổi của *Shewanella putrefaciens*

Kết quả nghiên cứu *Shewanella putrefaciens* được trình bày ở hình 4.



Hình 4. Đồ thị biểu diễn sự biến đổi *Shewanella putrefaciens* trên cá ngừ sọc dưa nguyên liệu theo thời gian

Kết quả ở hình 4 cho thấy, *Shewanella putrefaciens* trên cả mẫu TN và ĐC đều tăng, xu hướng tăng chậm ở những ngày đầu và tăng nhanh ở những ngày sau. Ở mẫu TN, *Shewanella putrefaciens* tăng chậm trong 12 ngày đầu, tương ứng 1,9 x 10^5 cfu/g; từ ngày thứ 12 tới ngày thứ 18 tăng nhanh, tương ứng 1,7 x 10^9 cfu/g; tăng rất nhanh từ ngày 18 tới hết thời gian bảo quản, tương ứng 6,9 x 10^{12} cfu/g. Còn ở mẫu ĐC, *Shewanella putrefaciens* tăng chậm trong 7 ngày đầu, tương ứng 3,9 x 10^5 cfu/g; tăng nhanh từ ngày thứ 7 tới hết thời gian bảo quản, ở ngày thứ 15 lượng *Shewanella putrefaciens* đã vượt mẫu thí nghiệm ở ngày thứ 22.

Shewanella putrefaciens thuộc hệ vi khuẩn ưa lạnh, cũng là nhóm gây hư hỏng đặc trưng trên nguyên liệu thủy sản và có khả năng sinh H_2S trong quá trình sinh trưởng và phát triển. Ở mẫu TN, do mẫu cá đã sử dụng oligochitin 1,0% kết hợp với nước đá nên đã kìm hãm sự phát triển của vi sinh vật, trong đó có hệ vi khuẩn *Shewanella putrefaciens*. Do cũng là hệ vi khuẩn ưa lạnh, nên *Shewanella putrefaciens* cũng có thời gian làm quen ngắn hơn so với các chủng khác và khi nhiệt độ bảo quản càng gần tới nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển thì tốc độ phát triển càng nhanh. Tuy nhiên, sự có mặt của oligochitin cũng như môi trường lạnh cũng chỉ ức chế một phần hoạt động của *Shewanella putrefaciens* chứ không ức chế hoặc tiêu diệt hoàn toàn, nên đến giai đoạn nhất định *Shewanella putrefaciens* sẽ thích nghi và phát triển làm tăng nhanh lượng tế bào. Khi *Shewanella putrefaciens* có mặt đạt đến $10^8$$10^9$ cfu/g sẽ gây ra sự ươn hỏng.

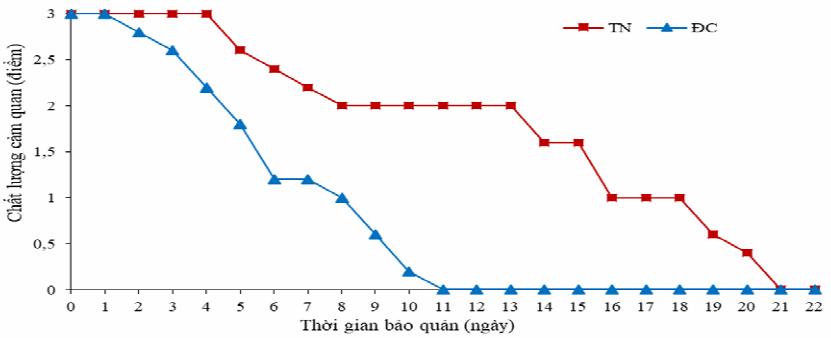
Kết quả đánh giá *Shewanella putrefaciens* trên cá ngừ sọc dưa nguyên liệu bảo quản bằng oligochitin 1,0% kết hợp với nước đá có sự cải thiện hơn so với một số nghiên cứu trên đối tượng cá tuyết và cá basa với thời gian bảo quản là 11 ngày [11], [12], [13]. Cụ thể, trong nghiên cứu này sau 18 ngày lượng *Shewanella putrefaciens* mới vượt ngưỡng. Điều này cho thấy, mẫu cá ngừ sọc dưa nguyên liệu có sử dụng oligochitin trong bảo quản làm *Shewanella putrefaciens* phát triểm chậm hơn, giúp kéo dài thời gian bảo quản gấp 1,69 lần so với các nghiên cứu không sử dụng oligochitin.

3.4. Sự biến đổi của chất lượng cảm quan

Chất lượng cảm quan được đánh giá bằng phương pháp cho điểm theo No.103/76 OJ No. L20 EEC (thang 3 điểm). Hội đồng cảm quan gồm 5 thành viên, có hiểu biết và được huấn luyện trước khi đánh giá. Hội đồng tổ chức đánh giá tại phòng thí nghiệm cảm quan. Kết quả đánh giá, được trình bày ở hình 5.

Kết quả ở hình 5 cho thấy, chất lượng cảm quan ở cả mẫu TN và ĐC đều có xu hướng giảm theo thời gian. Thời gian đầu chất lượng cảm quan giảm chậm, thời gian sau chất lượng cảm quan giảm nhanh hơn. Tuy nhiên mẫu TN chất lượng cảm quan giảm chậm hơn mẫu ĐC. Cụ thể, mẫu TN trong 4 ngày đầu có chất lượng tốt, ngày thứ 14

vẫn có chất lượng khá, qua ngày thứ 19 có chất lượng kém và tới ngày thứ 22 thì hư hỏng. Còn ở mẫu ĐC, chất lượng tốt chỉ duy trì được trong ngày đầu tiên, chất lượng khá hết ngày thứ 4, chất lượng kém từ ngày thứ 9 và hư hỏng vào ngày thứ 10.



Hình 5. Đồ thị biểu diễn chất lượng cảm quan cá ngừ sọc dưa nguyên liệu bảo quản theo thời gian

Kết quả đánh giá trên là do mẫu TN được nhúng trong dung dịch oligochitin 1,0% nên các enzyme họ trypsin, oxy hóa khử cũng như hệ vi sinh vật đã bị ức chế làm cho quá trình phân giải, phân hủy cơ thịt cá diễn ra chậm hơn so với mẫu ĐC, dẫn tới chất lượng cảm quan mẫu TN giảm chậm hơn mẫu ĐC. Ngoài ra, do cả mẫu TN và ĐC cùng được bảo quản trong nước đá ở nhiệt thấp (2 ± 1^0C) cũng có tác dụng ức chế một phần hoạt động hệ enzyme và sự phát triển của vi sinh vật.

Trong quá trình bảo quản, một số vi sinh vật có khả năng thích nghi với nhiệt độ thấp, trong giai đoạn đầu chúng hầu như không hoạt động hoặc hoạt động rất kém. Mặt khác, ở chế độ bảo quản lạnh, hệ enzyme nội tại bị ức chế làm cho quá trình phân hủy các axít amin trong thịt cá thành NH_3, axít hữu cơ và các amin độc diễn ra chậm. Mẫu TN dù được nhúng trong dung dịch oligochtin 1,0% kết hợp với nhiệt độ thấp trong quá trình bảo quản cũng chỉ có hiệu quả ức chế một phần hoạt động của vi sinh vật cũng như quá trình oxy hóa nội tại. Do đó, sau khoảng thời gian bảo quản nhất định vi sinh vật đã thích nghi với môi trường và phát triển làm tăng quá trình phân giải, phân hủy cơ thịt cá làm cho chất lượng cảm quan giảm dần. Ở mẫu TN, chất lượng cảm quan duy trì được 21 ngày, trong khi mẫu ĐC chỉ duy trì được 10 ngày.

Kết quả đánh giá chất lượng cảm quan cá ngừ sọc dưa nguyên liệu bảo quản bằng oligochitin 1,0% kết hợp với nước đá có sự cải thiện hơn về chất lượng cảm quan so với một số nghiên cứu trên đối tượng cá tuyết với chất lượng cảm quan duy trì trong thời gian 10 ngày [11], [12], [13]. Cụ thể, trong nghiên cứu này chất lượng cảm quan đã duy trì được trong thời gian 21 ngày. Điều này cho thấy, mẫu cá ngừ sọc dưa nguyên liệu có sử dụng oligochitin trong bảo quản làm chất lượng cảm quan giảm chậm hơn, giúp kéo dài thời gian bảo quản gấp 1,92 lần so với các nghiên cứu không sử dụng oligochitin.

4. KẾT LUẬN

Đã đánh giá được sự biến đổi chất lượng cảm quan và một số chủng vi khuẩn: TPC, *Pseudomonas* spp. và *Shewanella putrefaciens* khuẩn gây thối điển hình trên mẫu cá ngừ sọc dưa nguyên liệu đánh bắt tại vùng biển Khánh Hòa, Việt Nam được bảo quản bằng oligochitin (1 - 3 kDa) nồng độ 1,0% kết hợp với nước đá (2 ± 1^0C) trong thời gian 22 ngày. Cụ thể, chất lượng cảm quan được duy trì trong 21 ngày, TPC vẫn đạt giới hạn cho phép trong 16 ngày, còn *Pseudomonas* spp. trong 21 ngày, *Shewanella putrefaciens* trong 18 ngày bắt đầu vượt ngưỡng gây ươn hỏng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Văn Ninh, Ngô Đăng Nghĩa (2004). *Cá tươi - chất lượng và các biến đổi về chất lượng.* Nxb Nông nghiệp (sách dịch).

2. Huss, H. H. (1988). *Fresh fish. Quality and Quality Changes.* FAO Fisheries Series No.29.

3. Haaland, H. and L. R. Njaa (1988). Ammonia (NH_3) and total volatile nitrogen (TVB) in preserved an unpreserved stored whole fish. *J. Sci. Food Agric.* 44, 335-342.

4. https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/tin-t%E1%BB%A9c/-tin-v%E1%BA%AFn/doc-tin/018432/2023-01-09/

5. Nguyễn Hữu Khánh, Hồ Thị Bích Ngân (2011). Thực trạng bảo quản về quản lý chất lượng sản phẩm thủy sản sau thu hoạch trên tàu khai thác xa bờ ở một số tỉnh miền Trung Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 9(5), tr. 772-779.

6. Đinh Mạnh Sơn (2005). *Nghiên cứu trữ lượng và khả năng khai thác nguồn lợi cá nổi và hiện trạng cơ cấu nghề nghiệp khu vực biển xa bờ miền Trung và Đông Nam bộ*. Đề tài cấp Bộ (B02.05/03-05).

7. Vũ Ngọc Bội (2016). *Nghiên cứu công nghệ sản xuất và ứng dụng chế phẩm oligosaccharid (oligochitin và oligochitosan) để bảo quản sau thu hoạch nguyên liệu thủy sản đánh bắt xa bờ*. Đề tài KC.07.02/11-15.

8. Ngo, D., Lee, S., Kim, M., Kim, S. (2009). Production of chitin oligosaccharides with different molecular weights and their antioxidant effect in RAW 264.7 cells. *J. Funct. Foods*, *1*, 188-198.

9. Trần Văn Vương, Nguyễn Anh Tuấn, Vũ Ngọc Bội (2018). Depolymer chitin thu nhận phân đoạn oligochitin bằng axít clohydric, chiếu xạ gamma và chitinase. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Thủy sản,* 03, Trường Đại học Nha Trang, tr.75-81.

10. Dalgaard et al. (1994). Quantitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *Int. J. Food Microbiol. 3, 319-323.*

11. Huss, H. H., Ababouch, L., Gram, L. (2003). *Assessment and Management of Seafood Safety and Quality.* FAO Fisheries Technical Paper 444, Rome, 230 pp.

12. Trần Thị Thu Lệ (2015). *Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ thấp đến sự biến đổi của một số vi sinh vật gây hỏng đặc trưng và gây bệnh hiện diện trên tôm sú (Penaeus monodon) nguyên liệu trong quá trình bảo quản.* Luận văn tốt nghiệp ngành Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang.

13. Huỳnh Thị Án Vân (2015). *Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ thấp đến sự biến đổi của vi sinh vật gây hỏng đặc trưng (Pseudomonas* spp) *và vi sinh vật gây bệnh (Coliform, E. coli) hiện diện trên fillet cá tra (Pangasius hypophthalmus) bảo quản lạnh*. Luận văn tốt nghiệp ngành Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang.

RESEARCH ON SOME BACTERIOPHAGE STRAINS THAT AFFECT THE SENSORY QUALITY OF STRIPED TUNA PRESERVED BY OLIGOCHITIN COMBINED WITH ICE

Tran Van Vuong, Thai Van Duc

Summary

The study evaluated the development of some typical bacterial strains causing rot on striped tuna (1500 ± 40 gr/fish) caught in the waters of Khanh Hoa, Vietnam: TPC, *Shewanella putrefaciens* and *Pseudomonas* spp. to sensory quality during storage with oligochitin (1 - 3 kDa) at a concentration of 1.0% combined with ice (2 ± 1^0C) for 22 days, specifically: TPC started to exceed allowable limit after 16 days, equivalent to 9.6 x 105 cfu/g; *Pseudomonas* spp. in 21 days and *Shewanella putrefaciens* in 18 days started to exceed the spoilage threshold, respectively 1.4×10^8 cfu/g and 1.7×10^9 cfu/g. Simultaneously with the development of these strains, the sensory quality also decreased rapidly and on the 22st day it was spoiled; compared with the control sample, using only ice for preservation: Sensory quality was maintained 1.92 times longer; TPC, *Pseudomonas* spp. and Shewanella putrefaciens were lower respectively: 1.71, 1.75 and 1.69 times.

Keywords: *Oligochitin, striped tuna, sensory evaluation, bacterial content of striped tuna.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Thị Minh Thủy
Ngày nhận bài: 2/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 28/3/2023
Ngày duyệt đăng: 4/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA TÁC NHÂN TẠO BỌT GLYXEROL MONOSTEARATE VÀ ĐIỀU KIỆN SẤY ĐẾN CHẤT LƯỢNG BỘT SƠ RI (*Malpighia glabra* L.)

Nguyễn Tấn Hùng[1,*], Trương Thị Tú Trân[2],
Trần Thị Ngọc Thư[1], Phan Thị Ngọc Hạnh[1]

TÓM TẮT

Sơ ri là loại quả có chứa hàm lượng vitamin C cao. Tuy nhiên, quả sơ ri hiện chủ yếu tiêu thụ ở dạng tươi và thời gian tồn trữ ngắn. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích chế biến và đánh giá chất lượng của bột sơ ri hòa tan bằng phương pháp sấy bọt. Nghiên cứu được thực hiện trên cơ sở khảo sát: (i) ảnh hưởng của tỷ lệ phụ gia tạo bọt: 2 - 10% glyxerol monostearate-GMS (w/v) + 2% carboxy methylxenluloza và (ii) điều kiện sấy: Nhiệt độ 50 - 70°C và độ dày bọt 3 - 7 mm đến chất lượng sản phẩm. Kết quả cho thấy, độ tạo bọt và độ bền bọt tăng khi tăng tỷ lệ GMS. Hỗn hợp gồm dịch sơ ri và 8% GMS + 2% CMC là thích hợp nhất cho độ nở bọt là 101% và ổn định bọt sau 3 giờ là 98%. Bột thu được tại các mức nhiệt độ sấy và độ dày khác nhau đều có độ ẩm và hoạt độ nước thấp. Màu sắc bột (L*, a*, b* và độ khác màu ΔE) thay đổi chủ yếu theo nhiệt độ sấy. Nhiệt độ tăng làm giảm độ ẩm, a_w, độ hòa tan, khi tăng độ dày làm tăng độ ẩm và a_w. Ngoài ra, bột thu được khi sấy ở 60°C và 70°C có hàm lượng vitamin C, polyphenol và carotenoid cao hơn so với bột được sấy ở 50°C. Các điều kiện sấy ở 70°C (nhiệt độ sấy cao hơn) và 3 mm (độ dày thấp hơn) dẫn đến thời gian sấy ngắn hơn, giúp tạo được bột sơ ri có độ ổn định cao (độ ẩm và a_w thấp), gia tăng tính tiện dụng và khả năng bảo quản.

Từ khóa: *Carotenoid, glyxerol monostearate, vitamin C, sấy bọt, sơ ri.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sơ ri (*Malpighia glabra* L.) thuộc họ Malpighiaceae, có thể trồng ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Trên thế giới, sơ ri trồng nhiều ở các vùng Bắc Mỹ, Trung Mỹ và Nam Mỹ. Quả sơ ri là thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao và là nguồn cung cấp vitamin C với đặc tính chống oxy hóa mạnh [1]. Tại Tiền Giang, cây sơ ri chỉ thích hợp phát triển tại vùng đất Gò Công và nhiều nhất là Gò Công Đông do đặc điểm sinh thái tự nhiên phù hợp. Mặc dù tiềm năng phát triển cây sơ ri huyện Gò Công Đông là rất lớn, nhưng đầu ra sản phẩm còn gặp nhiều khó khăn với giá không ổn định. Bên cạnh đó, với trái sơ ri đã chín đỏ thì giá thành thu mua sẽ giảm so với trái có màu vàng cam, điều này gây ra những khó khăn nhất định cho người trồng. Mặt khác, do tính chất thời vụ cao và dễ hư hỏng do sơ ri chín có vỏ mỏng, khó vận chuyển, thời hạn sử dụng ngắn dẫn đến mức độ lãng phí cao trong mùa cao điểm. Trong khi đó việc nghiên cứu đa dạng hóa sản phẩm đối với nguyên liệu này còn ít.

Bên cạnh hình thức sử dụng ở dạng tươi, việc tận dụng được nguồn nguyên liệu trên để chế biến thành các sản phẩm giá trị gia tăng là vấn đề cần được quan tâm. Do đó, việc phát triển các sản phẩm ổn định từ trái tươi là phương thức quan trọng để giảm tổn thất sau thu hoạch. Đối với sản phẩm sấy dạng bột từ rau quả, sấy phun và sấy đông khô là các phương pháp được sử dụng rộng rãi để tạo ra sản phẩm bột chất lượng cao từ dịch quả. Hiện nay, kỹ thuật sấy bọt (foam mat drying) có thể được sử dụng cho các sản phẩm thực phẩm nhạy cảm với nhiệt, dính, nhớt và có hàm lượng đường cao, khó làm khô. Kỹ thuật sấy bọt đã được áp dụng thành công cho nhiều loại thực phẩm như:

[1] Khoa Nông nghiệp và CNTP, Trường Đại học Tiền Giang
[2] Khoa Khoa học Thực phẩm và Sức khỏe, Trường Đại học Kiên Giang
*Email: nguyentanhung@tgu.edu.vn

khế, nước táo, xoài, chuối, quýt, nho đen, tôm [2]. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định các thông số chính trong quy trình chế biến bột sơ ri hòa tan bằng phương pháp sấy bọt nhằm giải quyết vấn đề về nguồn nguyên liệu dư thừa sau thu hoạch, đồng thời tạo ra một dòng sản phẩm dạng bột không dinh dưỡng và tiện dụng trong việc vận chuyển, phân phối và bảo quản, góp phần đa dạng hóa các sản phẩm của địa phương.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Sơ ri (giống chua): Mua tại Hợp tác xã (HTX) sơ ri Bình Ân (Bình Nhì - Gò Công Đông), trái chín, không dập, không thối hỏng.

Carboxymethyl xenluloza (CMC), glyxerol monostearate (GMC): Công ty Cổ phần Hóa chất miền Nam (Cần Thơ), xuất xứ Trung Quốc.

2.2. Quy trình tham chiếu

Sơ ri chín → Xử lý rửa sạch → Trữ đông -18°C → Tan giá → Chà (1 sơ ri : 1,5 nước) → Nghiền nhỏ → Tạo bọt với GMS và CMC → Rót khay → Sấy → Làm nguội, nghiền → Bao gói PA chân không.

2.3. Chuẩn bị mẫu và bố trí thí nghiệm

2.3.1. Chuẩn bị mẫu

Sơ ri được rửa sạch, làm ráo, bao bì trong túi PE và trữ đông ở nhiệt độ -18°C không quá 1 tháng. Trái được tan giá ở nhiệt độ phòng, tiến hành chà với nước sau đó nghiền nhỏ (bằng máy xay Panasonic MJ M- 176P) và thu dịch ép. Dịch sơ ri được thanh trùng bằng microwave trong 30 giây.

Chuẩn bị hỗn dịch CMC 1% và GMS 20%: Hòa 1 g CMC trong 100 ml nước ấm 85°C và 20 g GMS trong 100 ml nước 100°C, tiến hành trộn bằng máy đánh trứng (Philips HR3705/20) trong 1 phút, ở tốc độ tối đa cho đến khi tạo thành huyền phù mịn trước khi sử dụng.

2.3.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của tỷ lệ GMS đến khả năng tạo bọt và độ bền bọt

Hỗn hợp: 250 mL dịch sơ ri và GMS (2-8% w/v) + 2% CMC1 (w/v) được tạo bọt bằng máy đánh trứng (Philips HR3705/20) trong 10 phút ở tốc độ tối đa (mức 5). Xác định độ tạo bọt và độ bền bọt (sau 3 giờ).

Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của điều kiện sấy (nhiệt độ và độ dày bọt) đến chất lượng sản phẩm.

Tạo bọt dịch sơ ri với kết quả từ thí nghiệm 1. Bọt được rót khay (thép không gỉ, rộng 26 x cao 2 cm) với các độ dày bọt 3 - 7 mm và được sấy ở 50 - 70°C. Xác định các thông số chất lượng như độ ẩm, hoạt độ nước, chỉ số màu (L*, a*, b*), hàm lượng vitamin C, carotenoid, polyphenol tổng và flavonoid.

2.4. Chỉ tiêu và phương pháp phân tích

- Chỉ tiêu hóa lý của bột: Hàm lượng vitamin C (mg/100 g): Chuẩn độ với 2,6-DIP (theo TCVN 11672: 2016). Hàm lượng carotenoid (µg/g): Trích bột bằng dung môi ethanol 70%. Dịch trích được đo độ hấp thụ ánh sáng (OD) lần lượt ở các bước sóng 480 nm, 645 nm và 663 nm, với ethanol 70% làm mẫu trắng bằng máy đo quang phổ (Varian Cary® 50 UV-Vis). Hàm lượng polyphenol tổng (TPC, mg GAE/g): Xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteau đo độ hấp thụ ở bước sóng 765 nm bằng máy đo quang phổ (Varian Cary® 50 UV-Vis), với phương trình đường chuẩn axit gallic: y = 0,0712x - 0,0182. Hàm lượng flavonoid tổng (TFC, mg GE/g): Xác định theo phương pháp nhôm clorua sử dụng quercetin làm chất chuẩn. Dung dịch ethanol 70% được sử dụng làm dung môi, tương tự như việc xác định carotenoid. Phương trình đường chuẩn quercetin: y = 0,0083x + 0,0574. Màu sắc (L*, a*, b*): Sử dụng máy đo màu Minolta CXR400 (Nhật Bản) [3]: Máy đo màu này dựa trên không gian màu L*a*b* của CIE (Commission Internationale de L'Eclairage). Hiệu chuẩn được thực hiện trên ô màu trắng trước khi phân tích mẫu (L* = 91,0, a* = +0,3165, b* = +0,3326). Độ hòa tan (giây) [3]: 50 mg mẫu bột và cho vào ống nghiệm nhỏ, sau đó thêm 1 mL nước cất, tiến hành trộn bằng cách sử dụng Vortex ở tốc độ trung bình (1.500 vòng/phút). Thời gian để hoàn nguyên hoàn toàn bột được ghi lại bằng đồng hồ bấm giờ điện tử. Độ ẩm (%) của các mẫu bột được xác định theo tiêu chuẩn AOAC (1998) [4] bằng cách sấy khô các mẫu trong tủ sấy (UF55

MEMMERT) ở 70°C cho đến khi đạt khối lượng không đổi. Hoạt độ nước được xác định bằng máy đo hoạt độ nước (Novasina MS1-a_w, Thụy Sĩ).

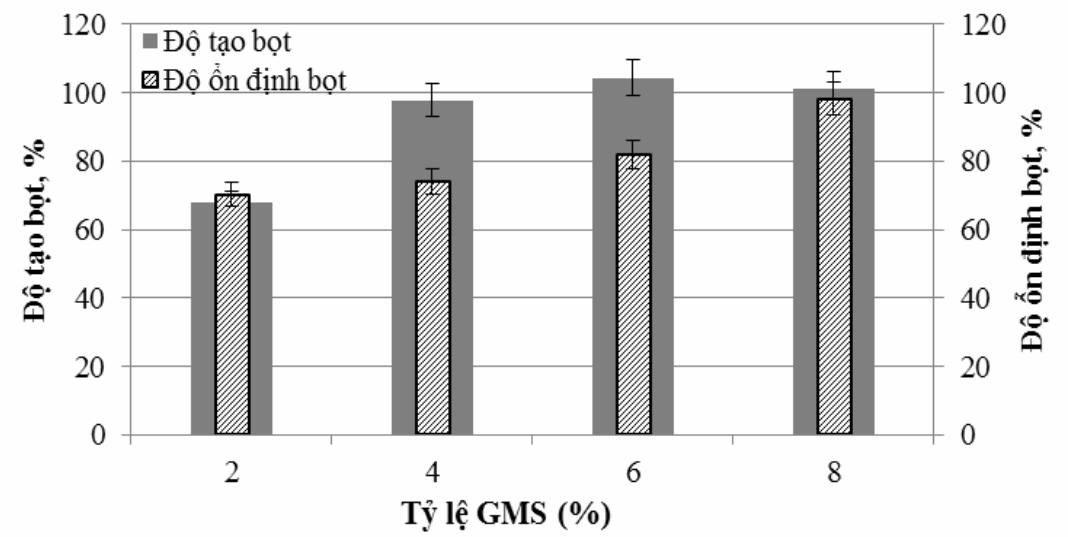
- Thông số bọt: Độ nở của bọt – FE% (Foam expansion) [5]: Là tỷ lệ phần trăm tăng thể tích của hỗn hợp sau khi tạo bọt với lượng chất tạo bọt cần thiết. Độ ổn định của bọt - FS% (Foam stability) [6]: Được đo bằng tỷ lệ thể tích bọt ngay sau khi trộn và sau 3 giờ bảo quản ở nhiệt độ phòng.

2.5. Phương pháp thu thập số liệu và thống kê

Số liệu từ các thí nghiệm (3 lần lặp lại) được tính toán thống kê bằng chương trình Statgraphics Centurion 15.1, phân tích ANOVA với phép thử Duncan để so sánh trung bình các nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng tỉ lệ GMS đến độ tạo bọt và bền bọt



Hình 1. Sự thay đổi độ tạo bọt và ổn định bọt theo tỷ lệ GMS bổ sung

Giá trị độ tạo bọt được sử dụng để đánh giá tính chất đánh khuấy tạo bọt do sự gia tăng thể tích và được đo dưới dạng phần trăm [5], [7]. Trong khi đó, độ ổn định bọt là độ giảm thể tích của bọt do quá trình thoát nước theo thời gian. Bọt cần phải giữ được cấu trúc trong quá trình làm khô vì sự tan của hệ bọt có thể ảnh hưởng lớn đến quá trình làm khô [5]. Đối với dịch sơ ri không bổ sung chất tạo bọt và chất ổn định bọt, sau khi tiến hành đánh khuấy không tạo được hệ bọt đồng nhất, chỉ hình thành những bọt bóng nhỏ và nhanh chóng vỡ. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của GMS và CMC đến khả năng tạo bọt và ổn định của dịch sơ ri (Hình 1).

Hình 1 cho thấy, tỷ lệ GMS có ảnh hưởng đến khả năng tạo bọt và độ ổn định bọt của dịch sơ ri. Khi tăng tỷ lệ GMS thì độ nở của bọt sẽ tăng lên và khác nhau có ý nghĩa ($p<0,05$). Điều này là do khi tăng lượng GMS đã làm giảm sức căng bề mặt, tăng khả năng giữ không khí và tăng độ nở của bọt [8]. Kết quả độ nở của bọt tăng khi tăng lượng chất tạo bọt, tương tự với nghiên cứu của S. Vani và cs (2019) [9], N. Affandi và cs (2017) [10]. Độ nở bọt thấp nhất được ghi nhận ở tỷ lệ 2% GMS, khi tăng tỷ lệ GMS trên 4% thì độ nở bọt thể hiện cao và khác nhau không có ý nghĩa. Bên cạnh độ nở bọt, độ bền bọt là yếu tố ảnh hưởng lớn đến quá trình sấy bọt. Hình 1 cho thấy, giá trị độ bền bọt cao nhất được ghi nhận là 98,34% đối với nghiệm thức 8% GMS. Theo Khamjae và Rojanakorn (2018) [5], polysaccharide (thường là CMC) được sử dụng với khả năng có thể tăng cường sự ổn định của các protein bọt bằng cách làm đặc hoặc tạo hiệu ứng tạo bọt. Mặt khác, khả năng giữ ổn định hệ bọt thể hiện cao khi gia tăng tỷ lệ GMS. Những phát hiện tương tự đã được nghiên cứu bởi Khamjae và Rojanakorn (2018) [5]. Việc sử dụng đồng thời chất tạo bọt và chất ổn định bọt tạo thành lớp bề mặt dày đặc xung quanh bọt (bong bóng) làm giảm sức căng bề mặt và tính không ổn định của bọt [9]. Như vậy, với tỷ lệ chất tạo bọt 8% GMS và 2% CMC giúp khả năng tạo bọt tốt và làm tăng độ bền của bọt là thông số phù hợp để tiến hành các nghiên cứu về sau.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy và độ dày bọt đến các đặc tính chất lượng của sản phẩm

3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy và độ dày bọt đến độ ẩm, hoạt độ nước và độ hòa tan

Trong quá trình sấy, nhiệt độ và độ dày bọt có ảnh hưởng đến thành phần dinh dưỡng của nguyên liệu. Các bọt nhỏ trong hệ bọt tiếp xúc với diện tích bề mặt lớn hơn để bay hơi ẩm [9]. Hoạt độ nước có ảnh hưởng đến thời gian bảo quản, cấu trúc của sản phẩm, sự phát triển của vi sinh vật và sự biến đổi vitamin C trong thực phẩm [11, 12]. Sự thay đổi độ ẩm, hoạt độ nước và độ hòa tan theo nhiệt độ và độ dày màng bọt được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Sự thay đổi độ ẩm, hoạt độ nước và độ hòa tan theo nhiệt độ sấy và độ dày bọt

Nhiệt độ - Độ dày	Hoạt độ nước (a_w)	Độ ẩm (%)	Độ hòa tan (giây)	Thời gian sấy (phút)
50°C – 3 mm	0,30±0,02^{b}	5,12±^{i}	18,14±0,25^{e}	422±2,90^{f}
50°C – 5 mm	0,34±0,01^{c}	3,15±^{c}	20,47±0,50^{f}	460±2,88^{g}
50°C – 7 mm	0,42±0,01^{f}	3,78±^{f}	22,15±0,50^{j}	508±3,46^{h}
60°C – 3 mm	0,29±0,02^{b}	3,53±^{h}	16,47±0,16^{c}	366±1,73^{b}
60°C – 5 mm	0,36±0,01^{d}	3,47±^{e}	17,22±0,10^{d}	372±2,88^{c}
60°C – 7 mm	0,39±0,01^{e}	3,17±^{d}	17,57±0,11^{d}	392±4,04^{e}
70°C – 3 mm	0,26±0,01^{a}	4,32±^{j}	15,20±0,07^{a}	344±2,88^{a}
70°C – 5 mm	0,34±0,01^{c}	3,12±^{b}	15,72±0,06^{b}	373±1,73^{c}
70°C – 7 mm	0,42±0,02^{f}	2,98±^{a}	16,56±0,14^{c}	383±1,73^{d}

Ghi chú: Trong cùng 1 cột, các chữ các a, b, c,… sau giá trị trung bình thể hiện sự khác nhau ở mức ý nghĩa 5%.

Bảng 1 cho thấy, nhiệt độ sấy và độ dày màng bọt có ảnh hưởng đến độ ẩm và hoạt độ nước. Độ ẩm bột sơ ri dao động trong khoảng 2,98 - 5,12% và hoạt độ nước (a_w) từ 0,26 - 0,42. Kết quả ghi nhận độ ẩm của bột hầu hết đều đạt yêu cầu cho nhóm sản phẩm bột thuộc nhóm sấy phun (không lớn hơn 5%). Khi tăng nhiệt độ sấy và giảm độ dày màng bọt thì độ ẩm và hoạt độ nước được ghi nhận có chiều hướng giảm. Điều này là do nhiệt độ cao hơn, tốc độ truyền nhiệt đến mẫu sẽ tăng lên, quá trình thoát ẩm sẽ dễ dàng hơn, làm nước bốc hơi nhanh hơn. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của M. R. Salahi và cs (2017) [2]. Về cơ bản, thực phẩm có a_w nhỏ hơn 0,6 là ổn định về mặt vi sinh [2]. Trong bảng 1, a_w của tất cả các mẫu bột dao động từ 0,26 - 0,42 do đó có thể được xem là ổn định về mặt vi sinh trong quá trình bảo quản. Hơn nữa, giá trị a_w thấp (0,1 - 0,4) góp phần vào độ ổn định của sắc tố và màu sắc, vì các phản ứng tự oxy hóa là rất ít do sự bất hoạt của các lipoxygenaza [2]. Tương tự, các nghiên cứu khi sấy khô nước ép từ củ sâm đất bằng phương pháp bọt ở 50°C, 60°C, 70°C cho kết quả a_w từ 0,1 - 0,22 [11] và sấy bọt tôm khô ở 45 - 90°C

có a_w từ 0,13-0,25 [13]. Bên cạnh đó, ở cùng một nhiệt độ sấy, khi tăng độ dày màng bọt thì hoạt độ nước cũng tăng và ngược lại. Với độ dày tăng lên, tốc độ làm khô giảm dẫn đến thời gian sấy kéo dài dẫn đến cấu trúc xốp yếu, giữ lại nhiều nước hơn trong màng bọt khô.

Bên cạnh đó, thời gian hòa tan bị ảnh hưởng bởi các điều kiện sấy (độ dày và nhiệt độ), dao động từ 15 - 22 giây và thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa giữa các điều kiện sấy. Đặc tính hòa tan tức thời của bột được thể hiện bằng thời gian hòa tan có liên quan trực tiếp đến cấu trúc vi mô. Thử nghiệm hòa tan đo tốc độ hoàn nguyên của bột vào nước được biểu thị bằng thời gian bột hoàn nguyên trong nước, thông số này có liên quan đến độ ẩm của bột được tạo ra [3]. Khi tăng nhiệt độ sấy thì độ hòa tan được rút ngắn. Kết quả trong nghiên cứu này tương đồng với mô tả của M. R. Salahi và cs (2017) [2], theo đó với nhiệt độ sấy tăng, tốc độ hoàn nguyên của bột vào nước tăng lên.

3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy và độ dày bọt hàm lượng vitamin C, polyphenol, flavonoid

Vitamin C và polyphenol là hợp chất dinh dưỡng nhạy cảm với nhiệt, vì quá trình chế biến thực phẩm thường sử dụng nhiệt nên việc xác định hàm lượng vitamin C và polyphenol trong thành phẩm là điều rất quan trọng để đánh giá chất lượng sản phẩm [14, 15]. Sự thay đổi hàm lượng vitamin C, polyphenol và flavonoid theo nhiệt độ sấy và độ dày màng bọt được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Sự thay đổi hàm lượng vitamin C, polyphenol (TPC) và flavonoid theo nhiệt độ sấy và độ dày bọt

Nhiệt độ - Độ dày	Vitamin C (mg/100 g)	TPC (mgGAE/g)	Flavonoid (mgQE/g)
50°C – 3 mm	102,66±6,72^{a}	2,34±0,10^{c}	5,94±0,01^{f}
50°C – 5 mm	102,66±9,16^{a}	0,15±0,00^{a}	4,92±0,01^{d}
50°C – 7 mm	90,93±6,72^{a}	0,10±00^{a}	3,87±0,01^{a}
60°C – 3 mm	133,46±6,72^{bc}	9,55±0,19^{f}	6,53±0,04^{j}
60°C – 5 mm	133,46±2,54^{bc}	4,23±0,04^{d}	4,96±0,04^{d}
60°C – 7 mm	123,20±8,80^{b}	1,77±0,14^{b}	4,24±0,01^{b}
70°C – 3 mm	151,06±9,15^{d}	11,67±0,05^{j}	7,37±0,01^{h}
70°C – 5 mm	139,33±6,72^{cd}	5,86±0,10^{e}	5,22±0,02^{e}
70°C – 7 mm	129,06±11,07^{bc}	1,81±0,04^{b}	4,53±0,02^{c}

Ghi chú: Trong cùng 1 cột, các chữ các a, b, c,… sau giá trị trung bình thể hiện sự khác nhau ở mức ý nghĩa 5%

Bảng 2 cho thấy, hàm lượng vitamin C dao động trong khoảng 90,93- 151,06 mg/100 g và thể hiện khác nhau có ý nghĩa ($p<0,05$) bởi các điều kiện sấy. Về xu hướng chung, trong cùng một nhiệt độ sấy, khi tăng độ dày màng bọt thì vitamin C sẽ giảm. Ngoài ra, việc sấy ở nhiệt độ thấp sẽ kéo dài thời gian sấy từ đó làm hao hụt vitamin C rất nhiều. Ở nhiệt độ sấy thấp (50- 60°C), hàm lượng vitamin C cao nhất ở độ dày 3 mm là 102,66 mg/100 g và 133,46 mg/100 g và thấp nhất ở độ

dày 7 mm là 90,93 mg/100 g và 123,2 mg/100 g. Sự giảm hàm lượng vitamin C là do bản chất dễ bị phá hủy bởi nhiệt và sự tiếp xúc lâu với không khí làm quá trình oxy hóa diễn ra nhanh hơn, làm hao hụt chất dinh dưỡng sản phẩm [16].

Hàm lượng polyphenol và flavonoid của bột sơ ri thay đổi theo nhiệt độ và độ dày màng bọt sấy ($p<0,05$). Hàm lượng polyphenol cao nhất khi sấy ở nhiệt độ và độ dày là 70°C - 3 mm (11,67 mg GAE/g) và thấp nhất ở nhiệt độ 50°C - 7 mm (0,10 mg GAE/g). Khi nhiệt độ sấy tăng thì hàm lượng polyphenol được ghi nhận cao hơn trong cùng một độ dày bọt. Khi nhiệt độ sấy tăng sẽ làm giảm thời gian sấy sản phẩm và hàm lượng polyphenol ít bị phân hủy hơn [17]. Ngoài ra, hàm lượng polyphenol cũng được ghi nhận có chiều hướng giảm khi tăng độ dày màng bọt. Điều này có thể do sự thay đổi cấu trúc của polyphenol hoặc do liên kết của polyphenol với protein. Tương tự như polyphenol, khi tăng nhiệt độ sấy thì hàm lượng flavonoid cũng tăng. Hàm lượng flavonoid cao nhất khi sấy ở nhiệt độ 70℃-3 mm (7,37 mg QE/g) và thấp nhất khi sấy ở nhiệt độ 50°C - 7 mm (3,87 mg QE/g). Khi ở cùng một nhiệt độ sấy là 70°C nhưng độ dày màng bọt tăng lên từ 3 mm đến 5 mm và 7 mm thì hàm lượng flavonoid giảm lần lượt là 7,37 đến 5,22 và 4,53 mg QE/g.

3.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy và độ dày bọt đến màu sắc sản phẩm và hàm lượng carotenoid

Sự thay đổi các chỉ số màu sắc và hàm lượng carotenoid theo nhiệt độ sấy và độ dày màng bọt được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Sự thay đổi màu sắc và carotenoid theo nhiệt độ sấy và độ dày màng bọt

Nhiệt độ và độ dày	L*	a*	b*	ΔE	Carotenoid (μg/g)
50°C – 3 mm	$67,65\pm0,47^{f}$	$7,80\pm0,40^{a}$	$24,71\pm0,73^{c}$	$35,06\pm0,49^{b}$	$8,87\pm0,00^{c}$
50°C – 5 mm	$66,92\pm0,32^{ef}$	$7,60\pm0,26^{a}$	$22,51\pm0,97^{b}$	$33,68\pm0,94^{a}$	$7,55\pm0,00^{b}$
50°C – 7 mm	$65,13\pm0,43^{d}$	$8,86\pm0,07^{b}$	$26,20\pm0,30^{d}$	$37,87\pm0,47^{d}$	$7,44\pm0,00^{a}$
60°C – 3 mm	$69,26\pm0,17^{j}$	$7,92\pm0,11^{a}$	$24,41\pm0,37^{c}$	$33,98\pm0,39^{a}$	$14,75\pm0,01^{h}$
60°C – 5 mm	$65,95\pm0,30^{de}$	$8,96\pm0,16^{bc}$	$24,77\pm0,78^{c}$	$36,29\pm0,76^{c}$	$14,01\pm0,03^{j}$
60°C – 7 mm	$65,46\pm0,14^{d}$	$8,80\pm0,26^{b}$	$23,85\pm0,2^{bc}$	$35,82\pm0,16^{bc}$	$13,62\pm0,02^{e}$
70°C – 3 mm	$63,53\pm0,87^{c}$	$9,42\pm0,30^{d}$	$26,45\pm0,85^{d}$	$39,13\pm0,20^{ef}$	$15,92\pm0,01^{i}$
70°C – 5 mm	$60,50\pm0,88^{b}$	$10,03\pm0,31^{e}$	$24,72\pm0,47^{c}$	$39,84\pm0,35^{f}$	$13,87\pm0,05^{f}$
70°C – 7 mm	$58,26\pm1,74^{a}$	$9,36\pm0,15^{cd}$	$21,07\pm1,54^{a}$	$38,81\pm0,51^{e}$	$13,41\pm0,06^{d}$

Ghi chú: trong cùng 1 cột, các chữ các a, b, c,… sau giá trị trung bình thể hiện sự khác nhau ở mức ý nghĩa 5%

Bảng 3 cho thấy, hàm lượng carotenoid bị giảm khi tăng nhiệt độ sấy từ 50 - 70°C thể hiện ở tất cả các độ dày khảo sát. Hàm lượng carotenoid của bột sơ ri nằm trong khoảng 7,44 µg/g - 15,92 µg/g và đạt cao nhất ở điều kiện sấy 70°C – 3 mm. Khi tăng độ dày màng bọt thì thời gian sấy dài nên hàm lượng carotenoid giảm. Hàm lượng carotenoid giảm do sự nhạy cảm bởi nhiệt và sự oxy hóa do cấu trúc hóa học không bão hòa của chúng và do sự hình thành sắc tố nâu trong quá trình sấy. Các kết quả tương tự cũng được ghi nhận đối với bột xoài sấy bọt [18] và cà chua bi [19].

Đối với các thông số về màu sắc (L*, a*, b*) bị thay đổi bởi điều kiện sấy. Trong cùng một nhiệt độ sấy thì giá trị L* sẽ giảm khi tăng độ dày bọt. Điều này có thể khi tăng độ dày màng bọt dẫn đến thời gian sấy lâu hơn, các phản ứng màu sẽ diễn ra mạnh kéo theo sự giảm độ sáng. Đối với thông số a* dương biểu thị màu đỏ và b* biểu thị độ vàng của mẫu. Khi tăng nhiệt độ sấy thì giá trị a*, b* đều tăng. Giá trị a* của mẫu dao động 7,60 - 10,03 và b* từ 26,45 - 21,07. Có thể giải thích rằng, khi thời gian sấy tăng lên quá trình oxy hóa sắc tố carotenoid diễn ra và xảy ra phản ứng Maillard làm hóa nâu sản phẩm. Khi màu nâu tăng lên thì giá trị L* sẽ giảm và giá trị a* sẽ tăng. Tương tự, nghiên cứu của M. Azizpour và cs (2016) [13] đã chỉ ra rằng, khi tăng nhiệt độ sấy và thời gian sấy thì giá trị L* sẽ giảm và a*, b* sẽ tăng. Giá trị ΔE có sự khác biệt với mức ý nghĩa ($p<0,05$). Sự khác biệt về màu sắc là sự thay đổi màu sắc của mẫu đã xử lí đối với mẫu chuẩn cho biết ảnh hưởng của quá trình sấy lên màu sắc. Khi nhiệt độ và độ dày màng bọt tăng lên thì giá trị ΔE cũng tăng lên. Do quá trình sấy khô nhanh hơn ở 70°C đã làm giảm sự phân hủy của các thành phần và phản ứng tạo oxy hóa tạo ra màu sáng cho sản phẩm. Ngoài ra, ở nhiệt độ sấy cao hơn quá trình oxy hóa các sắc tố (carotenoid) có thể được tăng lên. Trong quá trình làm khô bằng không khí nóng, do có nhiều oxy và độ ẩm hơn, phản ứng Maillard có thể được tạo điều kiện thuận lợi.

Như vậy, nhiệt độ sấy và thời gian sấy là những thông số quan trọng đối với sự thay đổi chất lượng của bột sơ ri. Nhiệt độ sấy cao (trên 60°C) và độ dày bọt thấp (3 mm) sẽ rút ngắn thời gian sấy và duy trì tốt hơn các thông số chất lượng như hàm lượng vitamin C, polyphenol, flavonoid và carotenoid. Trong đó, bột sản phẩm được sấy ở nhiệt độ 70°C, độ dày bọt 3 mm có chỉ số chất lượng được ghi nhận là tốt nhất. Điều kiện sấy được đề xuất trong nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của A. M. Azizpour và cs (2006) [13] đối với bột tôm, M. R. Salahi và cs (2017) [2] khi sấy bọt bột dưa lưới và của A. S. Brar và cs (2020) [17] đối với bột quả lê sấy bọt.

4. KẾT LUẬN

Ảnh hưởng của chất tạo bọt đến đặc tính tạo bọt và ổn định bọt dịch sơ ri sử dụng 8% glyxerol monostearate (GMS) là thích hợp nhất. Bọt sau đó được sấy khô ở nhiệt độ 70°C đến độ ẩm không đổi với độ dày bọt 3 mm được cho là phù hợp nhất để làm khô dịch sơ ri.

Kỹ thuật sấy bọt có thể được sử dụng như một giải pháp thay thế tốt cho các phương pháp sấy khô hiện đang được sử dụng để sản xuất bột thực phẩm.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Tiền Giang đã hỗ trợ kinh phí và trang thiết bị cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. G. É. G. Moreira, M. G. Maia Costa, A. C. R. de Souza, E. S. de Brito, M. de F. D. de Medeiros, and H. M. C. d. Azeredo (2009). Physical properties of spray dried acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. *LWT - Food Sci. Technol.*, 42(2): 641–645, doi: 10.1016/j.lwt.2008.07.008.

2. M. R. Salahi, M. Mohebbi and M. Taghizadeh, Development of cantaloupe (*Cucumis melo*) pulp powder using foam-mat drying method: Effects of drying conditions on microstructural of mat and physicochemical properties of powder (2017). *Dry. Technol.* 35(15): 1897–1908, doi: 10.1080/07373937.2017.1291518.

3. S. Y. Quek, N. K. Chok, and P. Swedlund (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* 46(5): 386–392, doi: 10.1016/j.cep.2006.06.020.

4. AOAC (1990). Official methods of analysis, 16th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington.

5. T. Khamjae and T. Rojanakorn (2018). Foam-mat drying of passion fruit, *Int. Food Res. J.*, 25, (1): 204–212.

6. L. L. Macedo, J. L. G. Corrêa, C. da S. Araújo, W. C. Vimercati, and L. A. S. Pio (2021). Process optimization and ethanol use for obtaining white and red dragon fruit powder by foam mat drying, *J. Food Sci.* 86(2): 426–433, doi: 10.1111/1750-3841.15585.

7. S. Mounir (2017). Foam Mat Drying FMD, October 2017: 169–191. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/320566592.

8. K. O. Falade, K. I. Adeyanju and P. I. Uzo-Peters (2003). Foam-mat drying of cowpea (Vigna unguiculata) using glyceryl monostearate and egg albumin as foaming agents, *Eur. Food Res. Technol.*, 217(6): 486 - 491, doi: 10.1007/s00217-003-0775-3.

9. S. Vani, A. K. Verma, P. Sharma, A. Gupta and M. Kaushal (2019). Effect of foaming agent on quality and yield of foam mat dried papaya powder. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 8(12): 2821–2835, doi: 10.20546/ijcmas.2019.812.330.

10. N. Affandi, W. Zzaman, T. A. Yang, and A. M. Easa (2017). Production of nigella sativa beverage powder under foam mat drying using egg albumen as a foaming agent. *Beverages*, 3(1), doi: 10.3390/beverages3010009.

11. T. S. Franco, C. A. Perussello, L. N. Ellendersen and M. L. Masson (2016). Effects of foam mat drying on physicochemical and microstructural properties of yacon juice powder. *LWT - Food Sci. Technol.*, 66:503-513, doi: 10.1016/j.lwt.2015.11.009.

12. O. S. Qadri, A. K. Srivastava, and B. Yousuf (2020). Trends in foam mat drying of foods: Special emphasis on hybrid foam mat drying technology. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 60(10): 1667-1676, doi: 10.1080/10408398.2019.1588221.

13. M. Azizpour, M. Mohebbi, and M. H. H. Khodaparast (2016). Effects of foam-mat drying temperature on physico-chemical and microstructural properties of shrimp powder. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 34: 122–126, doi: 10.1016/j.ifset.2016.01.002.

14. V. Patil, A. K. Chauhan, and S. P. Singh (2014). Influence of spray drying technology on the physical and nutritional properties of guava powder. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3(9): 1224–1237.

15. V. S. Sonone (2017). Effect of spray drying process parameters on different properties of acid lime juice powder. *Int. J. Agric. Sci. Res.* 7(5): 299–312, doi: 10.24247/ijasroct201737.

16. A. Stešková, M. Morochovičová and E. Lešková (2006). Vitamin C degradation during storage of fortified foods. *J. Food Nutr. Res.* 45(2): 55–61.

17. A. S. Brar, P. Kaur, G. Kaur, J. Subramanian, D. Kumar and A. Singh (2020). Optimization of process parameters for foam-mat drying of peaches. *Int. J. Fruit Sci.* 20(3): 1495–1518, doi: 10.1080/15538362.2020.1812017.

18. P. Rajkumar, R. Kailappan, R. Viswanathan, G. S. V. Raghavan and C. Ratti (2007). Foam mat drying of Alphonso mango pulp. *Dry. Technol.* 25(2): 357–365, doi: 10.1080/07373930601120126.

19. M. A. Hossain, S. Mitra, M. Belal and W. Zzaman (2021). Effect of foaming agent concentration and drying temperature on biochemical properties of foam mat dried tomato powder. *Food Res.* 5(1): 291–297, doi: 10.26656/fr.2017.5(1).372.

EFFECT OF FOAMING AGENT GLYCEROL MONOSTEARATE AND DRYING CONDITIONS ON QUALITY OF FOAM MAT DRIED ACEROLA (*Malpighia glabra* L.) POWDER

Nguyen Tan Hung[1,*], Truong Thi Tu Tran[2], Tran Thi Ngoc Thu[1], Phan Thi Ngoc Hanh[1]

[1]*Faculty of Agriculture and Food Technology, Tien Giang University*

[2]*Faculty of Food Science and Health, Kien Giang University*

[*]*Email: nguyentanhung@tgu.edu.vn*

Summary

Acerola fruits possess high vitamine C content. However, acerola is currently mainly consumed fresh and has a short shelf life. This study was conducted for the purpose of producing and evaluating the quality of acerola powder by foam mat drying method. The study was carried out on the basis of surveying (i) the effect of foaming additive ratio (2-10% glycerol monosterate-GMS and 2% carboxy methylcelluose - CMC and (ii) drying conditions: temperature (50-70^{o}C) and foam thickness (3-7 mm) to product qualities. The results showed that the foam expansion and foam stability increased when the ratio of GMS increased. The mixture of acerola juice and 8% GMS + 2% CMC is the most suitable for foam expansion of 101% and foam stability after 3 hours is 98%. Powders obtained at different drying temperatures and thicknesses have low moisture content and water activity. Powder color (L*, a*, b* and color difference ΔE) changes mainly with drying temperature. Powders color (L*, a*, b* and color difference ΔE) changed mainly with drying temperature. The temperature increase reduced moisture content and aw, disolution time, and thickness rise increased moisture content and a_w. In addition, results showed that the powder produced at 60-70˚C have higher carotenoid, polyphenol and vitamine C content than those of produced at 50˚C. The drying conditions at 70˚C (higher drying temperature) and 3 mm (lower thickness) led to a shorter drying time and produce a powdered acelora pulp with high stability (low moisture content, a_w) which increases usability and storage capacity.

Keywords: *Acelora, carotenoid, foam mat drying, glycerolmonostearate, vitamine C.*

Người phản biện: PGS.TS. Phan Thị Thanh Quế
Ngày nhận bài: 2/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 27/3/2023
Ngày duyệt đăng: 3/4/2023

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH SẢN XUẤT BÒ HẦM SỐT TIÊU ĐEN ĐÓNG TÚI RETORT

Nguyễn Thị Tâm Thư[1,*], Lê Anh Toàn[2],
Nguyễn Hoàng Anh[2], Nguyễn Hà Trung[1], Phạm Kiên Cường[1]

TÓM TẮT

Ngày nay, các sản phẩm ăn liền ngày càng đa dạng để đáp ứng nhu cầu tiện lợi của người dân. Đặc biệt, trong điều kiện không thể hoặc hạn chế thời gian nấu ăn như đi biển, bị cô lập bởi bão, lũ thì các sản phẩm chế biến sẵn càng phát huy tác dụng. Trên thị trường hiện nay đã có một số món ăn cung cấp dinh dưỡng chế biến sẵn như cháo ăn liền, thịt đóng hộp (bao gồm thịt bò, thịt lợn), cá đóng hộp. Nhằm mang đến sự đa dạng các món ăn chế biến sẵn phù hợp với nhu cầu của nhiều người và cải tiến công nghệ chế biến sẵn, món ăn bò hầm sốt tiêu đen đóng túi retort được nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu đã xây dựng được công thức nấu món thịt bò sốt tiêu đen là sử dụng nguyên liệu là thịt nạm bò với tỷ lệ 47%, 15% sốt tiêu đen, 0,5% bơ và tiêu, cà chua 20%, hành tây 15%, gia vị khác 2,5%. Ở điều kiện tiệt trùng là 121°C trong 20 phút, bò sốt tiêu đen đóng túi retort có thể bảo quản đến 2 tháng trong điều kiện vi khí hậu vẫn giữ được giá trị dinh dưỡng là 116 Kcal, tỷ lệ glucid, protein, lipid tương ứng là 7,81, 15,2 và 2,17%. Không ghi nhận sự có mặt của bất kỳ vi sinh vật nào trong sản phẩm sau 2 tháng bảo quản ở điều kiện vi khí hậu.

Từ khóa: *Bò hầm, bảo quản, chế biến sẵn, retort, vi khí hậu.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khẩu phần ăn chế biến sẵn (Meal Ready to Eat - MRE) thường được sử dụng cho các đối tượng không có hoặc hạn chế điều kiện nấu ăn như người đi biển hay đi rừng dài ngày, người bị cô lập do mưa bão, lũ lụt. Thịt bò chứa nhiều chất dinh dưỡng với năng lượng cao, nhiều sắt và các vitamin. Các món làm từ thịt bò được khá nhiều người yêu thích. Thịt bò có thể chế biến nhiều món ăn khác nhau, dễ nấu, có thể ăn kèm với cơm, bánh mỳ, bún như các mòn thịt bò sốt vang, thịt bò hầm, thịt bò nấu cà ri…

Thịt bò có giá trị dinh dưỡng cao với tỷ lệ protein 18 - 21%, lipid 3,8-10,5%, nước 70-74% và các chất khoáng. Trên thị trường đã có một số sản phẩm ăn liền chế biến từ thịt bò như bò hầm, bò xay, bò bít tết, bò sốt vang, nhưng ở dạng đóng hộp thiếc với khối lượng nhỏ (< 170 g). Hiện nay, công nghệ retort là công nghệ nhằm chế biến các thực phẩm chế biến sẵn nhờ túi retort đang phát triển. Theo Kumar và cs (2017) [1], việc làm nóng túi retort cần ít nhiệt hơn so với đồ hộp nên cũng tiết kiệm năng lượng.

Ở Nhật Bản, công nghệ retort đã được chấp nhận rộng rãi và có rất nhiều sản phẩm được thương mại hóa như cơm, súp. Theo Patricia (2012) [2], sử dụng công nghệ retort trong chế biến thực phẩm ăn sẵn có thể kéo dài thời hạn bảo quản thực phẩm do giảm giá trị Q10 đối với 13 loại thực phẩm khác nhau. Thời hạn dự đoán của sản phẩm có thể từ 3 đến 5 năm ở điều kiện thường, trong đó các sản phẩm từ thịt bảo quản được lâu nhất, sau đó là các sản phẩm từ trái cây và món tráng miệng, tinh bột, rau, súp.

Công nghệ retort có thể bảo quản thực phẩm chế biến sẵn với các thời gian khác nhau tùy vào sản phẩm được bảo quản [2]. Ở Việt Nam, công nghệ đóng túi retort đang phát triển và được nhiều công ty áp dụng để sản xuất, bảo quản thực phẩm với nhiều sản phẩm như cháo ăn liền (Công ty Sài Gòn Food), thịt kho trứng... Để đánh giá hiệu quả của việc bảo quản bằng công nghệ retort đồng thời đa dạng các món ăn chế biến sẵn từ thịt bò nhằm

[1] Viện Công nghệ mới, Viện Khoa học và Công nghệ Quân sự
[2] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[*] Email: thu.n3t.cnm@gmail.com

sử dụng cho các đối tượng khác nhau, món ăn bò hầm sốt tiêu đen đóng túi retort được nghiên cứu.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Thịt bò Aone, các nguyên liệu dùng cho nấu ăn gồm bột canh, rau củ, gia vị bò sốt tiêu đen, đường, muối, mắm, hành, tỏi… được mua tại siêu thị Winmart. Các nguyên liệu đều đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm.

Túi retort 4 lớp Polyester, Aluminum, Nylon, Polyrpopylene được cung cấp bởi Công ty Bảo Xuân (Thành phố Hồ Chí Minh).

Các hóa chất dùng để phân tích vi sinh vật ($MgSO_4$, K_2HPO_4, KNO_3…; nguồn C như glucose, lactose, saccarose; nguồn N như cao nấm men, peptone) có nguồn gốc từ Việt Nam, Trung Quốc. Các hóa chất phân tích protein, lipid, glucid (H_2SO_4, H_3BO_3, dung dịch Fehling 1, Fehling 2, $(CH_3COO)_2Pb$… có nguồn gốc từ Sigma). Các hóa chất được cung cấp bởi Phòng Công nghệ Hóa sinh, Viện Công nghệ mới.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp chế tạo món ăn

Cắt thịt bò thành miếng 2 x 2 cm, ướp các gia vị theo các công thức (khác nhau về tỷ lệ nguyên liệu, gia vị) rồi nấu sơ [3]). Sau đó chia vào các túi với kích thước chứa khoảng 200 g. Cho vào tiệt trùng ở chế độ 121°C trong 20 và 30 phút, sau đó lấy ra đánh giá cảm quan, số lượng vi sinh vật (VSV) trong mẫu và hàm lượng protein, glucid, lipid trong mẫu sản phẩm.

2.2.2. Phương pháp cảm quan

Đánh giá cảm quan thông qua các tiêu chí màu sắc, mùi vị, trạng thái. Tình trạng chất lượng của mỗi chỉ tiêu được đánh giá bằng điểm. Giá trị điểm tăng theo mức tăng của chất lượng [4]. Các tính chất được chấm điểm trên thang cường độ 9 điểm. Kết quả được thể hiện bằng đồ thị hoa gió.

2.2.3. Phân tích vi sinh vật

Các mẫu thực phẩm được phân tích các chỉ tiêu vi sinh như vi khuẩn tổng số, tổng tế bào nấm men, nấm mốc [5], số lượng *E. coli* và *Coliform* (theo phương pháp MPN) (SMEWW 9221.2017) [6].

2.2.4. Phân tích các chỉ tiêu hóa sinh

Các chỉ tiêu về dinh dưỡng như glucid, protein, lipid được phân tích đánh giá theo các phương pháp định lượng đường khử bằng axit dinitro-salicylic (DNS) [7], Kjeldahl [8] và chiết Randall [9] tương ứng.

Các chỉ tiêu hóa lý như pH, hoạt độ nước được xác định bằng máy đo pH và máy đo hoạt độ nước của Viện Công nghệ mới. Quá trình thực hiện theo TCVN 4835: 2002 [10] và hướng dẫn sử dụng máy của nhà sản xuất.

2.2.5. Đánh giá thời hạn bảo quản sản phẩm

Thời hạn bảo quản của sản phẩm được đánh giá bằng phương pháp lão hóa cấp tốc ở chế độ 40°C, độ ẩm 50%. Phương pháp này sử dụng nhiệt độ cao hơn so với nhiệt độ bảo quản thông thường của sản phẩm nhằm mục đích rút ngắn thời gian phá hủy của sản phẩm, tức tăng vận tốc phản ứng phá hủy để xác định hạn sử dụng tại nhiệt độ cao này một cách nhanh chóng. Tham khảo dựa trên phương pháp đánh giá độ ổn định của thuốc của ASEAN (2005) [11]. Các chỉ tiêu đánh giá là số lượng vi sinh vật và hàm lượng các chất dinh dưỡng (protein, lipid, glucid).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Lựa chọn các công thức nấu và chế độ tiệt trùng

Tham khảo công thức nấu thịt bò sốt tiêu đen, các nguyên liệu được lựa chọn là thịt bò nạm và thịt bò thăn. Sau khi nấu và đánh giá bằng cảm quan thì nguyên liệu thịt bò nạm được lựa chọn vì nó mềm hơn. Tỷ lệ các thành phần nguyên liệu sau khi lựa chọn với một số công thức khác nhau (thí nghiệm không được trình bày) thì chọn được công thức nấu gồm thịt nạm bò 47%, 15% sốt tiêu đen, 0,5% bơ và tiêu, cà chua 20%, hành tây 15%, gia vị khác 2,5%. Sau khi ướp và xào sơ, chia thịt bò vào các túi với khối lượng 200 - 240 g/túi.

Hàn miệng túi và đưa vào khử trùng ở các chế độ khác nhau 121°C trong 20 phút và 30 phút, sau đó làm lạnh nhanh và kiểm tra mối hàn, độ kín của túi. Đánh giá cảm quan sản phẩm và chấm theo thang điểm 9, kết quả được trình bày ở dạng đồ thị hoa gió (Hình 1). Kết quả ở hình 1 cho thấy, điểm

đánh giá cảm quan trên 2 điều kiện tiệt trùng của từng món đều cho kết quả tương đương nhau (không có sự khác biệt ở độ tin cậy 95%). Sau tiệt trùng các sản phẩm đều giữ được các đặc điểm về màu sắc, trạng thái, mùi và vị. Để đánh giá xem chế độ tiệt trùng có đạt hiệu quả về tiêu diệt vi sinh vật hay không, tiến hành phân tích các chỉ tiêu vi sinh vật (VSV) trong mẫu sản phẩm.



Hình 1. Đồ thị đánh giá cảm quan của thực phẩm ở các chế độ tiệt trùng khác nhau

3.2. Các chỉ tiêu hóa lý của sản phẩm

Độ pH, độ ẩm và hoạt độ nước của sản phẩm được xác định với các mẫu trước khi tiệt trùng, tiệt trùng ở 121°C trong 20 phút và tiệt trùng ở 121°C trong 30 phút. Các kết quả được thực hiện 3 lần lấy giá trị trung bình. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. pH, độ ẩm và hoạt độ nước của mẫu nghiên cứu

Tên mẫu	Độ ẩm	pH	Hoạt độ nước
Trước tiệt trùng	73,18 ± 0,06	5,78 ± 0,01	0,921 ± 0,01
Tiệt trùng 121°C trong 20 phút	64,98 ± 0,42	5,62 ± 0,02	0,930 ± 0,01
Tiệt trùng 121°C trong 20 phút	63,09 ± 0,26	5,61 ± 0,01	0,932 ± 0,02

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, độ ẩm của mẫu sau tiệt trùng giảm đáng kể so với trước khử trùng (từ 73,18% xuống còn 63,09 và 64,98%) nhưng giữa 2 chế độ khử trùng lại khác nhau không đáng kể. Kết quả này có thể do trong quá trình tiệt trùng, bột năng và một số nguyên liệu được ngấm thêm nước và gia vị nên độ ẩm của mẫu giảm đi. Độ pH của mẫu trước và sau tiệt trùng có giảm nhẹ (từ 5,78 xuống 5,62) và hoạt độ nước lại tăng nhẹ (từ 9,2 lên 9,3). Sự thay đổi này là không đáng kể giữa trước và sau tiệt trùng, đồng thời ở các chế độ tiệt trùng khác nhau không có sự khác biệt có tính thống kê về các chỉ tiêu này. Theo Maskur (2018) [12], có mối quan hệ giữa nhiệt độ và thời gian tiệt trùng với độ ẩm của sản phẩm; nhiệt độ và thời gian tiệt trùng càng cao thì độ ẩm của sản phẩm càng giảm. Theo Anthony (2000) [13], giá trị pH và hoạt độ nước đo được trong nghiên cứu này có tác dụng ức chế sự sinh trưởng của hầu hết các VSV.

3.3. Xác định số lượng VSV và hàm lượng chất dinh dưỡng của sản phẩm

Dựa theo TCVN 7048: 2020 [14] về thịt hộp và do giới hạn về thời gian nghiên cứu, sản phẩm ở 2 chế độ tiệt trùng được theo dõi trên 5 nhóm VSV, bao gồm: *E. coli*, *Coliform*, tổng số vi khuẩn hiếu khí (TSVKHK), nấm men và nấm mốc. Kết quả cho thấy cả 2 chế độ tiệt trùng đều không phát hiện sự có mặt của nhóm VSV nào sau khi tiệt

trùng (Bảng 2). Điều đó chứng tỏ cả 2 chế độ tiệt trùng đều đạt yêu cầu. Để tiết kiệm chi phí và thời gian, chế độ tiệt trùng 121°C trong 20 phút được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. Kết quả phân tích VSV ở các chế độ tiệt trùng

Chế độ tiệt trùng	VSV tổng số (CFU/g)	Nấm men (CFU/g)	Nấm mốc (CFU/g)	*E. coli* (MPN/g)	*Coliform* (MPN/g)
121°C trong 20 phút	0	0	0	0	0
115°C trong 30 phút	0	0	0	0	0

Ngoài ra, sản phẩm còn được đánh giá về giá trị dinh dưỡng và so sánh với hàm lượng các chất theo lý thuyết. Kết quả về các chỉ tiêu dinh dưỡng của sản phẩm được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng dinh dưỡng của sản phẩm sau tiệt trùng và so sánh với lý thuyết

TT	Chỉ tiêu	Theo lý thuyết	Thực tế (sau tiệt trùng)
1	Năng lượng (Kcal/100 g)	118,4 ± 0,23	111,6 ± 2,24 đạt 94,26%
2	Protein (g/100 g)	15,8 ± 0,40	15,2 ± 0,26 đạt 96,2%
3	Lipid (g/100 g)	2,54 ± 0,18	2,17 ± 0,25 đạt 85,43%
4	Glucid (g/100 g)	8,08 ± 0,58	7,81 ± 0,19 đạt 96,66%
5	Hàm lượng NaCl (%)	5 ± 0,3	

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, hàm lượng dinh dưỡng cho 100 g sản phẩm là 111,6 Kcal. Mức năng lượng và thành phần các chất phân tích trong mẫu đều đạt 85-96% so với tính toán lý thuyết. Túi có khối lượng 200 g tương đương 223,2 Kcal. Đây là mức năng lượng vừa phải cho người hoạt động bình thường với mức năng lượng cần thiết cho 1 ngày khoảng 1.800 - 2.000 Kcal và thành phần được chia ra theo các bữa theo tỷ lệ là 2: 4: 4. Do đó, 1 bữa trưa hoặc tối sẽ cần năng lượng khoảng 600-800 Kcal. Vì vậy, nếu ăn khoảng 2 bát cơm (tương đương 200 g có mức năng lượng là 260 - 250 kcal). Mức năng lượng như vậy là tương đối phù hợp cho 1 bữa ăn của người bình thường (lượng năng lượng trong ngày còn được bổ sung bởi các bữa phụ hoặc các loại hoa quả khác). Tuy nhiên, thời hạn bảo quản của sản phẩm này như thế nào cần được đánh giá tiếp bằng phương pháp lão hóa cấp và đánh giá thông qua sự thay đổi các chỉ tiêu VSV và hàm lượng các chất dinh dưỡng.

3.4. Thời hạn bảo quản sản phẩm

Bảng 4. Hàm lượng dinh dưỡng của sản phẩm trong điều kiện bảo quản ở tủ vi khí hậu

TT	Chỉ tiêu	Sau 1 tháng	Sau 2 tháng	Sau 3 tháng
1	Năng lượng (Kcal/100 g)	111,35 ± 2,61	110,71 ± 1,27	108,22 ± 1,33
2	Protein (g/100 g)	15,25 ± 0,43	15,18 ± 0,22	15,03 ± 1,42
3	Lipid (g/100 g)	2,11 ± 0,18	2,17 ± 0,12	1,98 ± 0,15
4	Glucid (g/100 g)	7,83 ± 0,25	7,81 ± 0,19	7,53 ± 0,21

Phương pháp đánh giá thời hạn bảo quản bằng lão hóa cấp tốc (ở điều kiện nhiệt độ 40°C và độ ẩm 50%). Đây là phương pháp được áp dụng để nghiên cứu độ ổn định của thuốc theo hướng dẫn của ASEAN (2005) [11]. Các thông số được sử dụng để đánh giá là sự thay đổi số lượng VSV, hàm lượng các chất dinh dưỡng trong mẫu. Kết quả thu được cho thấy sau 3 tháng bảo quản ở điều kiện vi khí hậu, vẫn không thấy sự có mặt của cả 5 nhóm VSV (*E. coli*, *Coliform*, tổng tế bào nấm men, tổng tế bào nấm mốc và vi sinh vật tổng số). Các chất dinh dưỡng có sự thay đổi nhỏ được trình bày ở bảng 4.

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, sau 3 tháng bảo quản ở điều kiện vi khí hậu, hàm lượng các chất dinh dưỡng có sự giảm nhẹ nhưng không đáng kể ở cả 3 chỉ tiêu là protein, lipid, glucid. Hàm lượng các chất vẫn đạt trên 90% so với hàm lượng ban đầu. Điều này cho thấy, sản phẩm bò sốt tiêu đen trong túi retort có thể bảo quản ít nhất 3 tháng ở điều kiện

vi khí hậu, tương đương 9-12 tháng ở điều kiện thường [11]. Kết quả cho thấy sản phẩm vẫn còn hạn sử dụng tiếp và cần được nghiên cứu thêm.

3.5. Đề xuất quy trình sản xuất

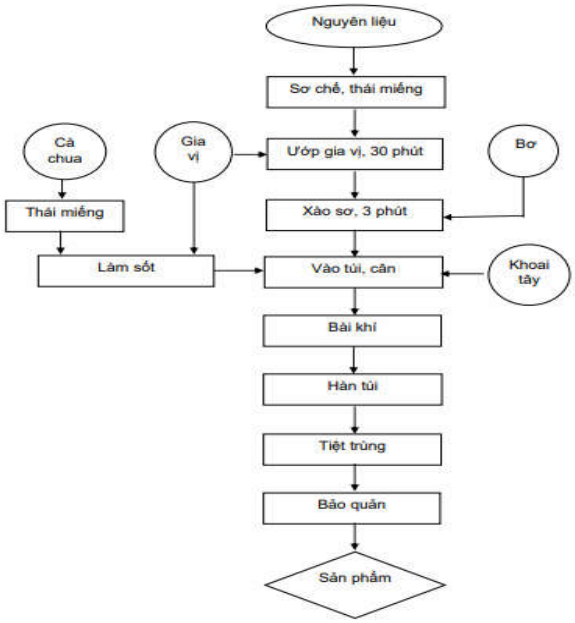
Quy trình sản xuất món bò hầm sốt tiêu đen quy mô 3 kg thịt/mẻ dựa trên kết quả nghiên cứu được tổng hợp như sau:

Nguyên liệu thịt bò sau khi mua về được rửa sạch, thái miếng và sơ chế, ướp gia vị bò sốt tiêu đen trong 30 phút rồi xào sơ trong 3 phút cùng bơ để thịt săn lại và ngấm gia vị.

Cà chua được thái miếng và nấu thành sốt cùng gia vị mắm, muối, sau đó trộn vào thịt bò đã xào sơ cùng khoai tây và chia vào các túi retort, mỗi túi 200 - 240 g.

Tiến hành bài khí và hàn túi, sau đó đem tiệt trùng ở 121°C trong 20 phút. Lấy sản phẩm ra làm lạnh nhanh ở nhiệt độ 20°C, kiểm tra độ kín của các túi. Các túi được làm khô và bảo quản ở nhiệt độ thường đến khi sử dụng. Dự kiến sản phẩm có thể bảo quản đến 18 tháng.

Lấy mẫu lưu kho và đánh giá thời hạn sử dụng thông qua phương pháp lão hóa cấp tốc để có thời hạn sử dụng sản phẩm chính xác cho mỗi mẻ.



Hình 2. Quy trình bò hầm sốt tiêu đen sử dụng công nghệ retort

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Đã nghiên cứu được công thức của món ăn bò hầm sốt tiêu đen và chế độ tiệt trùng của món ăn là 121°C trong 20 phút, bảo quản trong túi retort. Mẫu bò hầm sốt tiêu đen sau khi tiệt trùng có độ ẩm 68,93%, hoạt độ nước 0,93, pH 5,62. Các chất dinh dưỡng trong món ăn này là protein 15,2%, lipid 2,17%, glucid 7,81% và năng lượng là 111,6 Kcal/100 g sản phẩm. Trong 3 tháng bảo quản ở tủ vi khí hậu (40°C, độ ẩm 50%) cho thấy, giá trị dinh dưỡng của sản phẩm giảm không đáng kể và chưa thấy sự có mặt của nhóm VSV nào trong số 5 nhóm nấm mốc, nấm men, VSV tổng số, *E. coli* và coliform.

Đã đưa ra được quy trình sản xuất món bò hầm sốt tiêu đen chế biến sẵn bằng công nghệ retort.

4.2. Kiến nghị

Tiếp tục theo dõi thời hạn bản quản của mẫu bò hầm sốt tiêu đen đóng gói retort.

LỜI CẢM ƠN

Bài báo được hoàn thành với sự hỗ trợ về kinh phí của đề tài độc lập cấp Nhà nước mã số ĐTĐL.CN-74/21-C

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kumar R., Harish S., Subramanian V., Kumar S. S., Nadanasabapathi S. (2017). Development and quality evaluation of retort

processed RTE functional gluten free foxtail millet halwa. *Croat. J. Food Sci. Technol,* vol. 9, no. 2, pp. 114-121.

2. Patricia M. Catauro and Michele H. Perchonok (2012). Assessment of the Long-Term Stability of Retort Pouch Foods to Support Extended Duration Spaceflight. *Journal of Food Science,* vol. 71, no. 1, pp. 529-539.

3. Nguyễn Trúc Chi (2014). *Các món ăn chế biến từ bò*. Nxb Tổng hợp TP. Hồ Chí Minh.

4. Hà Duyên Tư (2010). *Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm.* Nxb Khoa học và Kỹ thuật.

5. TCVN 4884: 2001. Vi sinh vật học - Hướng dẫn chung về định lượng vi sinh vật - Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30°C.

6. SMEWW 9221.2017. Multiple - tube fermentation technique for members of the *Coliform* group.

7. TCVN 4594: 88 (2008). Đồ hộp - Phương pháp xác định đường tổng số, đường khử và tinh bột.

8. TCVN 8125: 2009. Ngũ cốc và đậu đỗ - Xác định hàm lượng nitơ và tính hàm lượng protein thô - Phương pháp Kjeldahl.

9. TCVN 6555: 2011 ISO 11085: 2008. Ngũ cốc, sản phẩm từ ngũ cốc và thức ăn chăn nuôi - Xác định hàm lượng chất béo thô và hàm lượng chất béo tổng số bằng phương pháp chiết Randall.

10. TCVN 4835: 2002. Thịt và sản phẩm thịt - Đo độ pH - Phương pháp chuẩn.

11. ASEAN (2005). Guideline on stabitity study of drug product. Revision 9th ACCSQ-PPWG Meeting Philippines.

12. Maskur M (2018). Pengaruh Waktu dan Suhu Sterilisasi Terhadap Kandungan Proksimat Ikan Bandeng (Chanos chanos) Kaleng. *Politeknik Kelautan dan Perikanan Bone,* vol. VII, no.1.

13. Anthony JF (2000). Water Activity's Role in Food Safety and Quality. Presented at Second NSF International Conference on Food Safety, Savannah, GA.

14. TCVN 7048: 2020 Thịt hộp.

RESEARCH ON THE PRODUCING OF BEEF STEW WITH BLACK PEPPER IN RETORT BAG

Nguyen Thi Tam Thu, Le Anh Toan,
Nguyen Hoang Anh, Nguyen Ha Trung, Pham Kien Cuong

Summary

Today, instant products are increasingly diversified to meet people's convenience needs. In particular, in conditions where cooking is impossible or limited, such as going to the beach or isolated by storms and floods, ready-made products are more effective. On the market today, there are a number of foods that provide ready-to-eat nutrition such as instant porridge, canned meat (including beef and pork), canned fish. In order to bring a variety of ready-to-eat dishes to suit the needs of many people and improve the processing technology, the beef stew with black pepper sauce in retort bags was researched. Research results have developed a recipe for beef with black pepper sauce using ingredients that are beef encrusted meat at the ratio of 47%, black pepper sauce 15%, butter and pepper 0.5%, tomato 20%, onion 15%, other seasoning 2.5%. At the sterilization condition of 121°C for 20 minutes, the beef with black pepper sauce in retort bags can be stored for up to 2 months in the microclimate condition and still retain the nutritional value of 116 Kcal, the ratio of glucid, protein, lipid is similar. corresponding to 7.81, 15.2 and 2.17%. There aren't any microorganisms present in the product after 2 months of storage under microclimate conditions (45°C, 75% humidity).

Keywords: *Stewed beef, preserved, prepared, retort, microclimate.*

Người phản biện: PGS.TS. Lý Ngọc Trâm
Ngày nhận bài: 27/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 24/3/2023
Ngày duyệt đăng: 31/3/2023

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ CỐ ĐỊNH TẾ BÀO TRONG LÊN MEN RƯỢU TỪ TỎI ĐEN

Nguyễn Ngọc Vương[1, *], Huỳnh Thị Diễm Thúy[1, *], Ngô Thị Minh Phương[1, *]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã khảo sát các yếu tố thích hợp để tạo sản phẩm rượu lên men từ tỏi đen và các yếu tố để cố định các tế bào nấm men cho quá trình lên men. Nghiên cứu được tiến hành song song với 2 phương pháp lên men rượu từ tỏi đen, đó là lên men bằng nấm men tự do và lên men bằng phương pháp cố định tế bào để có thể so sánh các ưu, nhược điểm của từng phương pháp. Kết quả từ 2 phương pháp lên men cho thấy nấm men được cố định có tính ưu việt hơn so với nấm men tự do, có hoạt lực lên men tốt hơn, hàm lượng rượu tạo ra cao hơn. Kết quả cũng cho thấy, tỷ lệ nấm men phù hợp với cả 2 quá trình lên men là 0,6%, hàm lượng bột tỏi đen 7,5%, nồng độ chất khô 18^0Bx, nồng độ Na-alginate 3%, thể tích chất mang 20 ml, dung dịch tạo gel $CaCl_2$ 1,5% là tối ưu. Hàm lượng flavonoid, phenolic axit thu được sau quá trình lên men lần lượt là 9,7 mg/ml, 5,7 mg/ml thấp hơn không đáng kể so với tỏi đen nguyên liệu. Sản phẩm rượu tỏi đen tạo ra có mùi đặc trưng của tỏi đen và đồ uống có cồn, nồng độ cồn không quá cao và có tiềm năng trong sản xuất quy mô công nghiệp trên thị trường trong thời gian đến.

Từ khóa: *Lên men cố định, lên men tự do, natri alginate, rượu tỏi đen, tỏi đen.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay ngành công nghệ lên men đã và đang phát triển với nhiều phương pháp lên men mới, đặc biệt là công nghệ cố định tế bào. Phương pháp cố định tế bào nấm men trên chất mang giúp tăng hiệu suất thu hồi nấm men và giảm chi phí tinh sạch sản phẩm [1-3]. Ở Việt Nam tỏi được trồng trên khắp cả nước sản lượng năm 2021 đạt 48.000 tấn/năm [4], tỏi được xem như là phương thuốc truyền thống nhưng mùi vị khó chịu. Vậy nên, tỏi đen đang dần thay thế cho tỏi trắng bởi hàm lượng chất dinh dưỡng cao, đặc biệt các chất chống oxy hóa [5]. Trên thị trường, các sản phẩm về tỏi đen không được phong phú, các loại nước lên men hay rượu lên men từ tỏi đen dường như chưa xuất hiện, do đó đây là một sản phẩm mới cho ngành công nghiệp thực phẩm hiện nay.

Xuất phát từ những lí do trên, việc nghiên cứu ứng dụng công nghệ cố định tế bào trong lên men rượu tỏi đen là một hướng nghiên cứu có ý nghĩa thiết thực, vừa đa dạng hóa sản phẩm từ tỏi đen, vừa tạo ra một sản phẩm lên men có lợi cho sức khỏe, ngoài ra, còn góp phần thúc đẩy ngành công nghệ sau thu hoạch nói chung và công nghệ thực phẩm nói riêng của nước ta ngày càng phát triển.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tỏi tía Hà Nội được lựa chọn và thu mua tại thành phố Đà Nẵng sau đó vận chuyển về phòng thí nghiệm. Tiến hành cắt bỏ rễ cuống, bóc sơ lớp vỏ bên ngoài, ngâm cùng bia với tỷ lệ 1 kg/1 lon. Trong thời gian 30 phút, mỗi 5 phút đảo 1 lần, sau 30 phút vớt tỏi ra và để ráo. Sau cùng bọc giấy bạc và ủ tỏi ở nhiệt độ từ 70 – 75^0C trong 12 ngày, thu được tỏi đen.

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được hoạt hóa từ ống giống lấy từ Phòng thí nghiệm Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật, Đại học Đà Nẵng.

Hóa chất thực phẩm: Na-alginate, $CaCl_2$, Na_2CO_3, $NaNO_2$, $AlCl_3$, NaOH (Xilong-Trung Quốc), methanol (Fisher Chemical-Mỹ), axit gallic (Merck-Đức), thuốc thử Folin-Ciocaltue (Merck-Đức).

[1] Khoa Công nghệ hóa học, Môi trường, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật, Đại học Đà Nẵng
[*]Email: ngocvuonga3@gmail.com; diemthuy26092000@gmail.com; ntmphuong@ute.udn.vn

2.2. Bố trí thí nghiệm

2.2.1. Nhân giống nấm men

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được tăng sinh và nhân giống bằng dung dịch nước mía trong 48 giờ. Sau đó tiến hành ly tâm, bỏ lớp nước phía trên, thu được nấm men ở dạng paste, tiến hành bảo quản ở tủ đông.

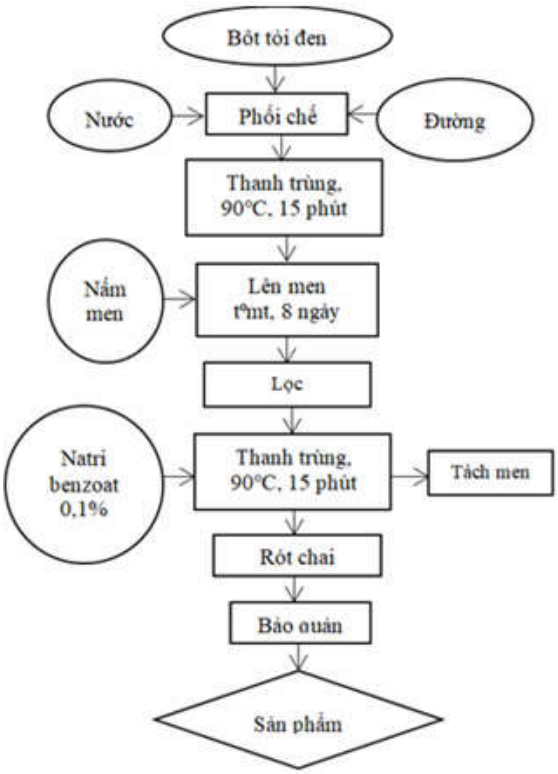
2.2.2. Khảo sát yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu tỏi đen khi sử dụng tế bào nấm men tự do

Khảo sát nấm men *Saccharomyces cerevisiae* ở nồng độ 0,4%, 0,6%, 0,8%. Với thông số cố định là 5% bột tỏi đen trong 100 ml dịch lên men và nồng độ chất khô ban đầu là 20^{0}Bx đến quá trình lên men rượu.

Khảo sát hàm lượng tỏi bổ sung trong 100 ml dịch lên men 5%, 7,5%, 10% với thông số cố định sử dụng 0,6% nấm men và nồng độ chất khô 20^{0}Bx đến quá trình lên men rượu.

Khảo sát nồng độ chất khô ban đầu của sản phẩm 16^{0}Bx, 18^{0}Bx, 20^{0}Bx bằng cách hiệu chỉnh bằng đường saccharose với thông số cố định sử dụng 0,6% nấm men, 7,5% bột tỏi đen đến quá trình lên men rượu.

Các thí nghiệm trải qua quá trình lên men theo sơ đồ hình 1.



Hình 1. Quy trình lên men rượu tỏi đen

2.2.3. Khảo sát yếu tố các chất cố định nấm men Saccharomyces cerevisiae

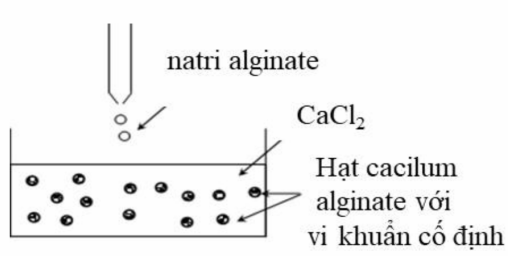
Khảo sát nồng độ phần trăm thể tích chất mang natri alginate để cố định tế bào nấm men ở 5%, 10%, 20% trong 100 ml dịch lên men với nồng độ nấm men được cố định trong chất mang là 0,6%, 5% tỏi đen và 20^{0}Bx.

Khảo sát lượng nấm men có nồng độ 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% được cố định trong chất mang. Thông số cố định: nồng độ phần trăm thể tích chất mang natri alginate 20% với 5% bột tỏi đen, 20^{0}Bx trong 100 ml dịch lên men.

Khảo sát số lần tái sử dụng hạt nấm men trong lên men rượu tỏi đen.

Nấm men được cố định trong hạt natri alginate với nồng độ natri alginate 3% trong dung dịch canxi clorua 1,5% [6-7].

Tạo hạt cố định nấm men *Saccharomyces cerevisiae* [6]. Thực hiện theo sơ đồ hình 2.



Hình 1. Sơ đồ cách tạo hạt nấm men cố định

2.2.4. Các chỉ tiêu phân tích

Xác định nồng độ chất khô bằng brix kế cầm tay; độ pH đo bằng máy đo pH để bàn Mettler Toledp; nồng độ cồn được đo bằng phương pháp chưng cất và xác định bằng cồn kế; xác định hàm lượng đường khử bằng phương pháp Luff Schoorl [8]; hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp tạo màu với $AlCl_3$ trong môi trường kiềm được mô tả bởi Marinova và cs (2005) [9], Mythili và Chamundeeswari (2014) [10]; xác định hàm lượng phenolics được thực hiện theo phương pháp Folin - Ciocalteu được mô tả bởi Feduraev và cs (2019) [11].

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích trên phần mềm Microsoft Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhân giống nấm men

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* sau khi nhân giống thu được có mật độ tế bào khoảng 10^9 tế bào/ml, bảo quản ở tủ đông.

3.1.1. Xác định thành phần hóa học trong tỏi đen

Thành phần của tỏi đen được lên men sau 12 ngày, ở 75^0C được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần của tỏi đen

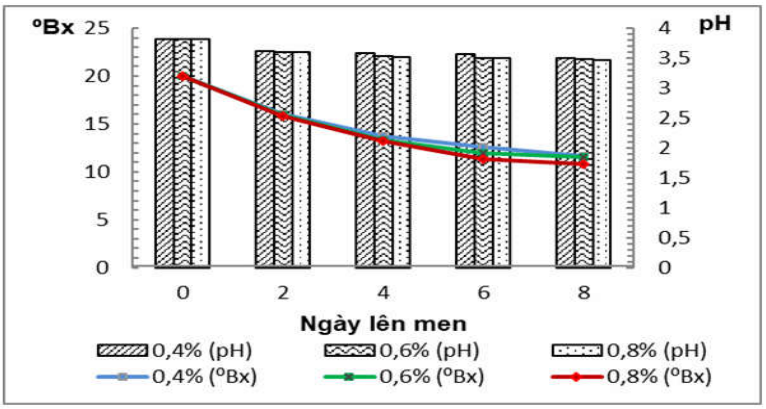
Thành phần	Hàm lượng
Đường khử (mg/g)	77,8 ± 0,53
Flavanoid (mg QE/g)	9,98 ± 0,07
Phenolics (mg GAE/g)	6,3 ± 0,05

Hàm lượng đường khử xác định được là 77,8 mg/g. Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Novitaria Sembiring và Yoppi Iskandar (2019) [12], sau 10 ngày lên men hàm lượng đường khử xác định là 63,92 mg. Theo Xinyan Zhang, Ningyang Li và cs (2015) [13], hàm lượng đường khử có xu hướng tăng từ ngày 10 đến ngày 16 ở, do pH giảm xuống, môi trường axit ở nhiệt độ cao là môi trường thuận lợi cho việc thủy phân đường saccharose thành các đường đơn fructose và glucose.

Hàm lượng flavanoid xác định được là 9,98 mg/g. Tương đồng so với nghiên cứu của Mia Azizah là 10,31 mg/g [14]. Kết quả này cao hơn nghiên cứu của II Sook Choi và cs (2014) là 8,34 mg/g trong 14 ngày lên men và 15,37 mg/g trong 21 ngày lên men [15].

Hàm lượng phenolics xác định được là 6,3 mg/g, thấp hơn so với nghiên cứu của Trần Gia Bửu và cs (2018) là 11 mg/g ở tỏi lên men sau 15 ngày [16]. Khi xử lý nhiệt các hợp chất phenolic sẽ bị phá vỡ và hàm lượng của nó thay đổi phụ thuộc vào nhiệt độ và thời gian xử lý.

3.1.2. Khảo sát yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu từ tỏi đen bằng nấm men Saccharomyces cerevisiae tự do

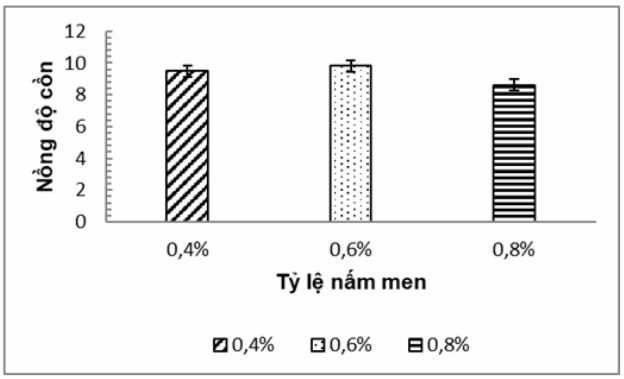


Hình 3. Đồ thị ảnh hưởng tỷ lệ nấm men đến sự thay đổi pH, °Bx trong thời gian lên men

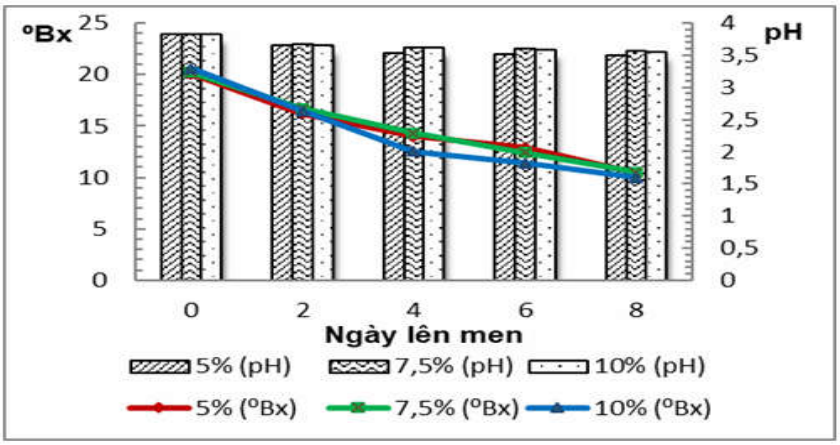
Ảnh hưởng tỷ lệ nấm men đến quá trình lên men: Ảnh hưởng tỷ lệ nấm men Saccharomyces cerevisiae ở nồng độ 0,4%, 0,6%, 0,8% (với thông số cố định là 5% bột tỏi đen trong 100 ml dịch lên men và nồng độ chất khô ban đầu là 200°Bx) đến quá trình lên men rượu được thể hiện ở hình 3, 4.

Hình 3 cho thấy, pH, nồng độ chất khô đều giảm dần sau 8 ngày lên men. Tỷ lệ nấm men càng nhiều thì tốc độ lên men nhanh làm giảm °Bx, pH. Độ pH giảm dần trong quá trình lên men do trong quá trình sinh trưởng của nấm men, đường được phân giải thành axit pyruvic, axit lactic, axit, ester, andehit,... cũng góp phần làm giảm độ pH của sản phẩm.

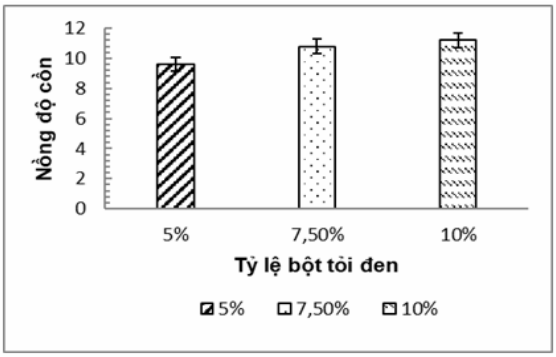
Hình 4 cho thấy, ở tỷ lệ nấm men 0,8% nguồn dinh dưỡng được sử dụng chủ yếu vào việc tăng sinh khối, khi quá trình lên men bắt đầu thì không còn cơ chất để tạo cồn, độ cồn chỉ được 8,6 độ. Tỷ lệ nấm men thích hợp nhất là 0,6% ở tỉ lệ này tốc độ lên men vừa phải, lượng cồn tạo ra nhiều 9,8 độ, giữ được mùi vị đặc trưng của tỏi đen. Vì thế tỷ lệ nấm men tối ưu nhất là 0,6% ở tỉ lệ này tốc độ lên men vừa phải, lượng cồn tạo ra nhiều, giữ được mùi vị đặc trưng của tỏi đen.



Hình 4. Đồ thị ảnh hưởng tỷ lệ nấm men đến độ cồn



Hình 5. Đồ thị ảnh hưởng tỷ lệ tỏi đen đến sự thay đổi pH, °Bx sản phẩm trong thời gian lên men



Hình 6. Đồ thị ảnh hưởng tỷ lệ bột tỏi đen đến độ cồn

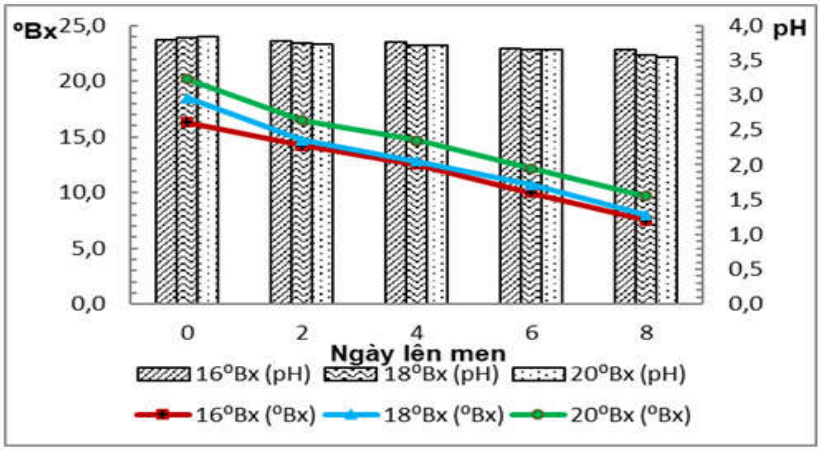
Ảnh hưởng tỷ lệ bột tỏi đen đến quá trình lên men: Ảnh hưởng tỷ lệ bột tỏi đen 5%, 7,5%, 10% (thông số cố định sử dụng 0,6% nấm men và nồng độ chất khô 200°Bx) đến quá trình lên men rượu được thể hiện ở hình 5, 6.

Hình 5 cho thấy, pH, nồng độ chất khô đều giảm dần sau 8 ngày lên men, giảm mạnh nhất ở 2 ngày đầu tiên. Ở 5% bột tỏi đen pH giảm nhanh trong 4 ngày đầu tiên, 4 ngày sau sự giảm không rõ rệt.

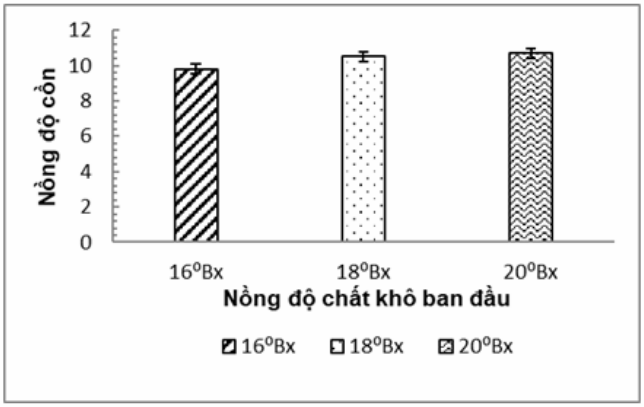
Hình 6 cho thấy, mẫu 5% cho ra độ cồn thấp nhất 9,6 độ. Ở 10% hàm lượng tỏi đen cao dẫn đến quá trình lên men nhanh, tạo ra độ cồn cao nhất 11,2 độ, sản phẩm phụ nhiều khiến sản phẩm có vị đắng, nồng. Hàm lượng 7,5% cho ra sản phẩm có mùi hương dễ chịu, không có vị đắng, có mùi đặc trưng của tỏi đen, độ rượu ở mức chấp nhận được.

Vì thế chọn tỷ lệ tỏi đen là 7,5%, tạo ra sản phẩm có hương vị hài hòa, không đắng, mùi vị đặc trưng của rượu tỏi và lợi ích kinh tế.

Ảnh hưởng nồng độ chất khô đến quá trình lên men: Ảnh hưởng nồng độ chất khô 16°Bx; 18°Bx; 20°Bx (thông số cố định sử dụng 0,6% nấm men, 7,5% bột tỏi đen) đến quá trình lên men rượu được thể hiện ở hình 7, 8.



Hình 7. Đồ thị ảnh hưởng nồng độ chất khô đến sự thay đổi pH, °Bx trong thời gian lên men



Hình 8. Đồ thị ảnh hưởng nồng độ chất khô ban đầu đến độ cồn

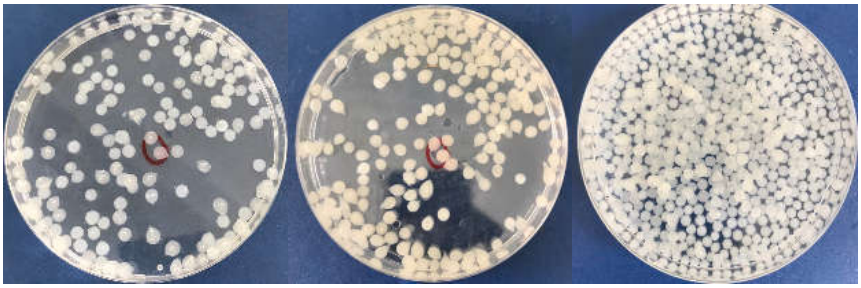
Hình 7 và 8, khi so sánh tốc độ lên men giữa $16^0Bx_{bđ}$ với $18^0Bx_{bđ}$ và $20^0Bx_{bđ}$ có thể thấy: Nồng độ chất khô càng cao, tế bào nấm men dễ dàng tiếp xúc và trao đổi chất dinh dưỡng dẫn đến tốc độ lên men nhanh, nhưng khi so sánh tốc độ lên men giữa $18^0Bx_{bđ}$ với $20^0Bx_{bđ}$ có thể thấy, nồng độ chất khô quá cao dẫn đến áp lực thẩm thấu từ dịch lên men ức chế quá trình trao đổi chất qua màng tế bào, khiến tốc độ lên men không tăng mà có xu hướng giảm ở những ngày cuối của quá trình lên men nên nồng độ cồn tạo ra ở 2 trường hợp xấp xỉ nhau.

Từ kết quả các khảo sát trên tiến hành chọn tỷ lệ nấm men tối ưu là 0,6%, tỷ lệ tỏi đen 7,5% và nồng độ chất khô dịch lên men 18^0Bx.

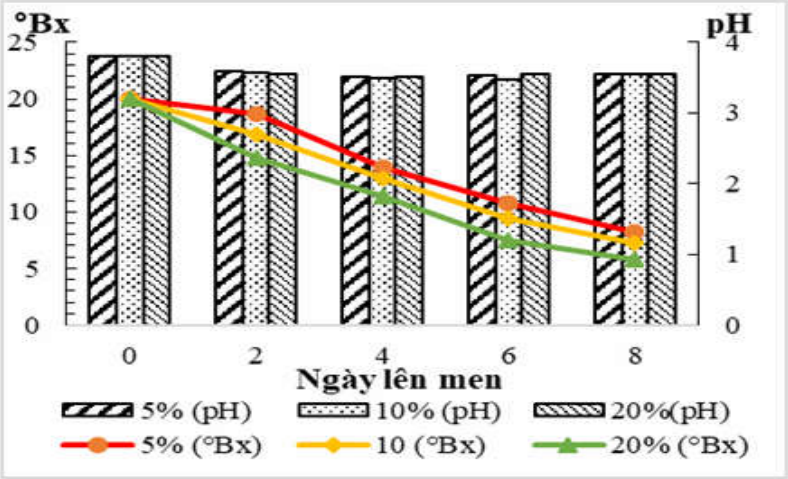
3.2. Khảo sát yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu từ tỏi đen theo phương pháp cố định nấm men Saccharomyces cerevisiae

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ phần trăm thể tích chất cố định tế bào trong dịch lên men đến sản phẩm

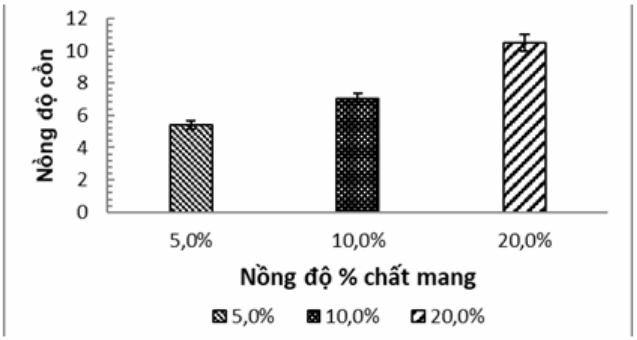
Ảnh hưởng nồng độ phần trăm thể tích chất mang natri alginate để cố định tế bào nấm men ở 5%, 10%, 20% trong 100 ml dịch lên men với nồng độ nấm men được cố định trong chất mang là 0,6%, 5% tỏi đen và 20^0Bx được thể hiện ở hình 9, 10, 11.



Hình 9. Số lượng hạt nấm men ở các trường hợp có nồng độ phần trăm 5%, 10%, 20%



Hình 10. Đồ thị ảnh hưởng của nồng độ % chất mang đến sự thay đổi pH, °Bx trong thời gian lên men

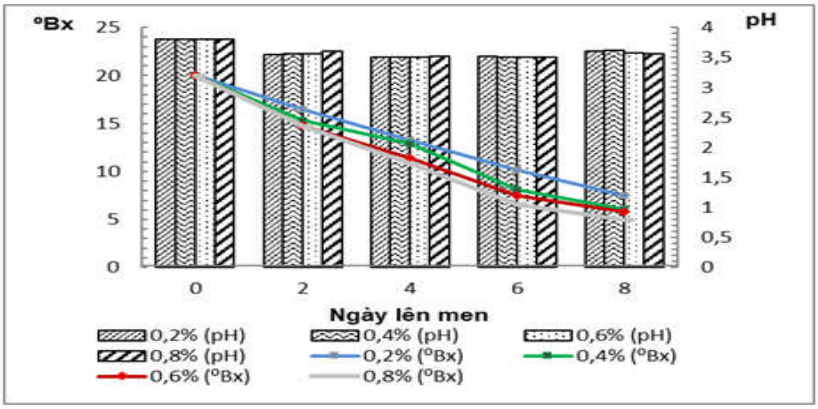


Hình 11. Đồ thị ảnh hưởng của nồng độ % chất mang đến nồng độ cồn

Kết quả ở hình 10 và 11 cho thấy, trong quá trình lên men cố định tế bào, dịch lên men có nồng độ phần trăm chất mang là 20% tạo ra nồng độ rượu cao nhất 10,5 độ, với 5% tạo ra nồng độ rượu thấp nhất 5,4 độ. Vì nồng độ phần trăm chất mang càng nhiều hạt nấm men sẽ càng nhiều, diện tích tiếp xúc giữa tế bào nấm men với dịch lên men sẽ cao hơn, nấm men dễ dàng trao đổi chất với môi trường lên men nên quá trình lên men sẽ diễn ra nhanh hơn và nồng độ cồn tạo ra cao hơn. Vì thế ta chọn nồng độ phần trăm chất mang là 20% cho quá trình lên men cố định tế bào vì tạo ra độ rượu cao nhất và quá trình lên men diễn ra nhanh.

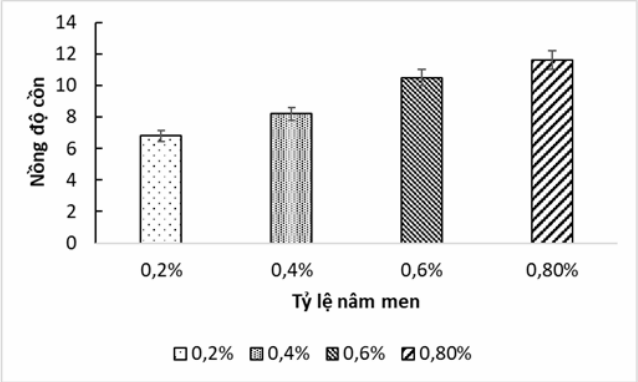
3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ nấm men bổ sung để tạo hạt nấm men cố định đối với sản phẩm

Ảnh hưởng nồng độ nấm men bổ sung vào dung dịch natri alginate với nồng độ 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% để tạo hạt nấm men cố định. Thông số: nồng độ phần trăm chất mang trong dịch lên men là 20% với 5% bột tỏi đen, 20^{0}Bx. Quá trình lên men rượu được thể hiện ở hình 12, 13.



Hình 12. Đồ thị ảnh hưởng của nồng độ nấm men đến sự thay đổi pH, °Bx trong thời gian lên men

Hình 12 cho thấy, hàm lượng chất khô giảm mạnh nhất ở trường hợp nồng độ nấm men là 0,8% và giảm ít nhất ở nồng độ nấm men là 0,2%. Độ pH ở các trường hợp đều có sự giảm nhẹ ở ngày ngày cuối của quá trình lên men. Kết quả ở hình 13 cho thấy, trong quá trình lên men cố định tế bào, nồng độ rượu tạo ra nhiều nhất ở nồng độ nấm men là 0,8% với 11,6 độ và thấp nhất ở 0,2% với 6,8 độ.

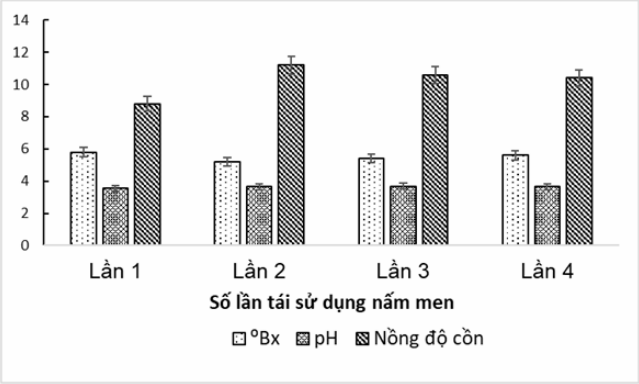


Hình 13. Đồ thị ảnh hưởng của nồng độ nấm men đến nồng độ cồn

Ở nồng độ nấm men cố định 0,8%, quá trình lên men diễn ra nhanh, mạnh (hàm lượng chất khô còn lại là 5^0Bx, thấp nhất trong tất cả các khảo sát) dẫn đến sự hình thành của rượu bậc cao làm cho sản phẩm có mùi hăng nồng, mất đi hương vị đặc trưng của sản phẩm. Vì thế sử dụng nồng độ nấm men 0,6% vì quá trình lên men ổn định, vừa phải và tạo ra sản phẩm vẫn giữ được hương vị đặc trưng.

3.2.3. Khảo sát số lần tái sử dụng hạt nấm men trong quá trình lên men

Hạt nấm men được tái sử dụng 4 lần trong dịch lên men với nồng độ nấm men 0,6%, nồng độ phần trăm chất mang trong dịch lên men là 20%, 20^0Bx được thể hiện ở hình 14.



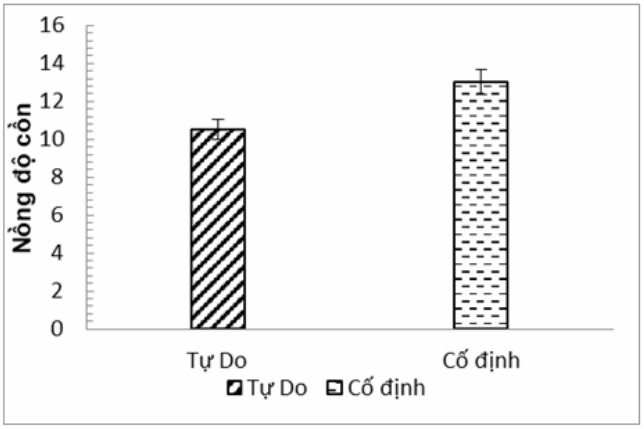
Hình 14. Sự thay đổi độ pH, ^{0}Bx, nồng độ cồn qua các lần tái sử dụng nấm men

Hình 14 cho thấy, nồng độ cồn thấp nhất và hàm lượng chất khô cao nhất ở lần sử dụng hạt nấm men đầu tiên. Vì trong lần đầu lên men, các tế bào nấm men sẽ mất thời gian trải qua pha thích nghi và làm quen với môi trường của dịch lên men, sau đó quá trình lên men mới thật sự diễn ra nên nồng độ cồn ít hơn so với các trường hợp sau. Mặt khác, khi hạt nấm men được tái sử dụng ở các lần thứ 2, 3, 4, nấm men đã quen với môi trường của dịch lên men vì thế quá trình lên men diễn ra nhanh hơn nên ở các trường hợp này có nồng độ cồn cao và hàm lượng chất khô thấp.

Vì vậy hạt nấm men cần phải hoạt hóa và làm quen với môi trường của dịch lên men trước khi cho lên men. Ngoài ra, qua 4 lần tái sử dụng mà nấm men vẫn đảm bảo khả năng lên men tốt, chất lượng lên men không giảm sút. Đây là hướng tiềm năng để tái sử dụng nấm men. Hơn nữa sử dụng nấm men cố định tế bào giúp thu hồi nấm men dễ dàng, làm tăng độ trong sản phẩm rượu

3.3. So sánh sự thay đổi rượu len men bằng nấm men tự do và nấm men cố định tế bào

So sánh sự thay đổi của sản phẩm ở 2 trường hợp: Sử dụng nấm men tự do có nồng độ 0,6%; nồng độ tỏi đen 7,5%; nồng độ chất khô 18^0Bx. Với sử dụng hạt nấm men cố định với thông số: nồng độ nấm men bổ sung vào natri alginate để tạo hạt nấm men là 0,6%; nồng độ phần trăm chất mang trong dịch lên men là 20%; nồng độ tỏi đen 7,5%; nồng độ chất khô 18^0Bx được thể hiện ở hình 15.



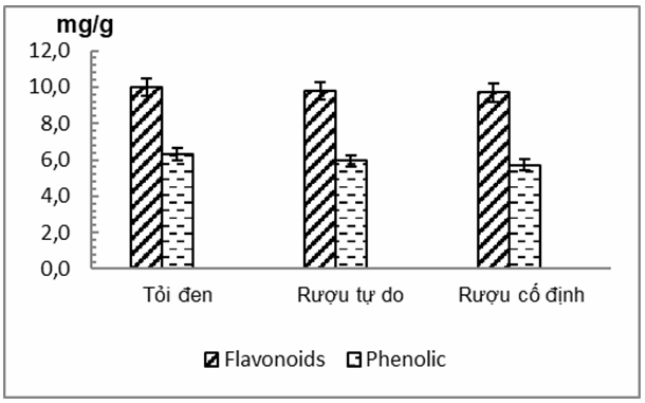
Hình 15. Sự thay đổi nồng độ cồn giữa nấm men tự do và nấm men cố định

Hình 15 cho thấy, hàm lượng rượu của mẫu nấm men cố định cao hơn so với mẫu nấm men tự do. Độ cồn mẫu nấm men tự do dừng ở mức 10,5 độ, mẫu nấm men cố định lên đến 13 độ. Vì trong quá trình lên men, nấm men tự do bị lắng đọng xuống đáy dẫn đến diện tích tiếp xúc của tế bào nấm men và dịch lên men thấp, quá trình lên men diễn ra chậm. Ngược lại, đối với lên men bằng phương pháp cố định tế bào, các hạt nấm men có

xu hướng phân tán trong dịch lên men, diện tích tiếp xúc của tế bào nấm men và dịch lên men tăng, dẫn đến quá trình lên men diễn ra nhanh và thuận lợi hơn lên men bằng nấm men tự do.

3.4. Xác định hàm lượng các chất trong rượu tỏi đen lên men

Nhìn chung sau khi lên men hàm lượng các chất quan trọng trong tỏi đen giảm đi rất ít, vẫn giữ được các hợp chất quan trọng như flavonoid, phenolics. Vì trong quá trình lên men, nấm men chủ yếu sử dụng đường để lên men rượu, nên hàm lượng các chất khác bị tiêu tốn rất thấp. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Hye Jung Choi và cs (2016) [17] hàm lượng phenolics, flavonoid thấp hơn không đáng so với tỏi đen nguyên liệu.



Hình 16. Sự thay đổi hàm lượng các chất

3.5. Tổng kết

Các chỉ tiêu cảm quan và giá trị sản phẩm khi lên men sử dụng nấm men tự do và nấm men cố định tế bào, được thể hiện qua bảng 1 và 2.

Bảng 2. Các chỉ tiêu sản phẩm rượu tỏi đen

Thông số	Giá trị	
	Tự do	Cố định
Nồng độ chất khô (^{0}Bx)	8,5	7,4
pH	3,57	3,51
Hàm lượng rượu etylic (độ)	10,5	13
Flavanoid (mg QE/g)	9,791	9,693
Phenolics (mgGAE/g)	5,939	5,716

Bảng 3. Chỉ tiêu cảm quan rượu tỏi đen

Chỉ tiêu	Lên men tự do	Lên men cố định
Màu sắc	Màu nâu đen	
Mùi	Thơm đặc trưng của tỏi đen và sản phẩm rượu, không có mùi vị lạ	
Vị	Đặc trưng của tỏi đen, vị chua ngọt dịu, không có mùi vị lạ.	
Trạng thái	Lỏng	
Độ trong	Có cặn lơ lửng	Trong suốt

Kết quả nghiên cứu cho thấy: Do quá trình lên men tự do, sau khi lên men cần lọc gạn bỏ nấm men trước khi thanh trùng không hết hoàn toàn nên còn cặn lơ lửng trong sản phẩm.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nấm men cố định có tính ưu việt hơn nấm men tự do, nấm men được cố định trong alginate có hoạt lực lên men tốt

hơn, hàm lượng chất khô giảm và hàm lượng rượu etylic cao hơn so với khi lên men sử dụng nấm men tự do, các thông số khi lên men rượu tỏi đen như sau: Tỷ lệ tỏi đen 7,5% và nồng độ chất khô dịch lên men 18^0Bx, nồng độ nấm men bổ sung vào natri alginate để tạo hạt nấm men là 0,6%; nồng độ phần trăm chất mang là 20%. Sản phẩm rượu lên men từ tỏi đen vẫn giữ được hương vị đặc trưng của tỏi đen, hàm lượng các chất chống oxy hóa của sản phẩm giảm so với ban đầu nhưng không đáng kể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bayrock D. and Michael Ingledew W. (2001). Application of multistage continuous fermentation for production of fuel alcohol by very - high - gravity fermentation technology - *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* - No 27 - p. 87 - 93.

2. Mai Ngoc Dung, Dong Thi Thanh Thu (2008). Use ofimmobilized yeast cell in alcohol fermatation from molasses - *Science and Technology Development* - Vol. 11 No. 09 - p. 90 - 99.

3. E. Palmqvist, M. Galbe, B. Hahn Hagerdal (1998). Evalution of cell recycling in continuous fermentation of enzymatic hydrolysates of spruce Sacchromyces cerevisiaeiaeand on-line monitoring of glucose and ethanol - *Appl. Microbiol Biotechno* - No. l50 - p. 545 - 551.

4. Cổng Thông tin Điện tử Ủy ban Dân tộc (2021). Thông tin thị trường giá cả, số 16/2021 - truy cập 05/4/2022.

5. Wang Kun Chin and Tanvir Ahmed (2021). Black Garlic and Its Bioactive Compounds on Human Health Diseases: A Review.

6. Ngô Thị Minh Phương, Nguyễn Thanh Hội (2014). Nghiên cứu cố định vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* trên natri alginate và ứng dụng lên men tạo nước cà chua bổ sung probiotic. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Đà Nẵng*, số 6 (79), trang 39 - 43.

7. Nguyễn Thị Hương, Đặng Hồng Ánh, Nguyễn Thu Vân, Giang Thế Việt, Nguyễn Xuân Bách (2012). Nghiên cứu cố định tế bào nấm men ứng dụng trong lên men cồn từ rỉ đường. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 50 - số 6 - trang 621- 631.

8. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10327: 2014 (2014). Thức ăn chăn nuôi - Xác định hàm lượng đường bằng phương pháp Luff - Schoorl, *https://bom.so/XdmnLg* - truy cập 10/4/2022.

9. Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* - Vol. 40 No. 3 - p. 255 - 260.

10. K Mythili and Chamundeeswari (2014). Determination of Total Phenol, Alkaloid, Flavonoid and Tannin in Different Extracts of Calanthe Triplicata.

11. Feduraev, P., Chupakhina, G., Maslennikov, P., Tacenko, N. and Skrypnik, L. (2019). Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at different growth stages. *Antioxidants* - Vol. 8 No. 7 - p. 237 - 251.

12. Novitaria Sembiring and Yoppi Iskandar (2019). A Review of Component and Pharmacology Activities of Black Garlic. *Univ. Padjajaran, Sumedang, Indones.*

13. Xinyan Zhang, Ningyang Li, Xiaoming Lu, Pengli Liu, and Xuguang Qiao (2015). Effects of temperature on the qualityof black garlic. *J. Sci. Food Agric.*

14. Gladys Ayu Paramita Kusumah Wardhani, Mia Azizah, Lisnawati Tri Hastuti (2019). Value of Total Flavonoids in Black Garlic (*Allium sativum* L.) *Based on The Solvent Fraction and Antioxidant Activity.*

15. Il Sook Choi, Han Sam Cha and Y. S. Lee (2014). Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. *MDPI.*

16. Trần Gia Bửu, Đàm Sao Mai, Trần Lê Thục Đoan, Đỗ Hoàng Nguyên (2018). Tác động của các thông số trong quá trình trích ly bằng cellulase lên

hàm lượng polyphenol tổng số và khả năng chống oxy hóa của dịch chiết tỏi đen Lý Sơn. *Viện Công nghệ sinh học - Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh*.

17. Hye Jung Choi, Sung Min Ha, Gyeong Yeon Shin, Beung Ho Ryu, Woo Hong Joo (2016). Fermentation of Black Garlic Wine and its Characteristics. *Journal of Life Science*, vol. 26, no. 7, 796 - 804.

RESEARCH ON APPLICATION OF CELL FIXATION TECHNOLOGY IN FERMENTING WINE FROM BLACK GARLIC

Nguyen Ngoc Vuong[1, *], Huynh Thi Diem Thuy[1, *], Ngo Thi Minh Phuong[1, *]

[1]Faculty of Chemical Technology and Environment, University of Technology and Education – The University of Da Nang

** Email: ngocvuonga3@gmail.com; diemthuy26092000@gmail.com; ntmphuong@ute.udn.vn*

Summary

This study investigated the appropriate factors to create fermented wine products from black garlic and elements to immobilize yeast cells for fermentation. The study was conducted in parallel with two methods of alcoholic fermentation from black garlic. It is fermentation by free yeast and fermentation by cell fixation method to be able to compare the advantages and disadvantages of each method. Based on the results from the two fermentation methods, fixed yeast is superior to free yeast, has better fermentation activity, high alcohol content. The results also showed that the percentage of yeast suitable for both fermentation processes was 0.6%, the content of black garlic powder 7.5%, the concentration of dry substance 18^0Bx, the concentration of Na-alginate 3%, the volume of carrying 20 ml, the $CaCl_2$ gel solution 1.5% is optimal. The content of flavonoids and phenolic acids obtained after fermentation is 7.9 mg/ml, 4.58 mg/ml, respectively, which is negligible lower than that of raw black garlic. The resulting black garlic wine product has a characteristic smell of black garlic and alcoholic beverages, the alcohol content is not too high and the potential of black garlic wine products can produce industrial scale in the market in the near future.

Keywords: *Fixed fermentation, free fermentation, sodium alginate, black garlic wine, black garlic.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Minh Khanh
Ngày nhận bài: 24/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 22/3/2023
Ngày duyệt đăng: 29/3/2023

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT TỪ VỎ LỤA HẠT CACAO VÀ VỎ LỤA HẠT CÀ PHÊ

Lâm Khắc Kỷ[1,*], Trần Nguyễn Phúc Trân[1,*], Nguyễn Ngọc Quế Châu[1,*]

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu là xác định thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa thông qua việc chiết xuất các hợp chất sinh học bằng dung môi (ethanol, ethyl axetat, polysaccharide). Khảo sát thành phần hóa học của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê bằng phương pháp GC-MS và sàng lọc khả năng kháng oxy hóa bằng các phương pháp thực nghiệm *in vitro* như hoạt tính khử sắt III (năng lực khử), hoạt tính bắt gốc tự do (DPPH và ABTS). Phân tích thành phần hoá học bằng phương pháp GC-MS cho thấy, có 9/22 hợp chất trong vỏ lụa cacao và 13/14 hợp chất trong vỏ lụa cà phê có khả năng kháng oxy hóa. Bên cạnh đó, khả năng hoạt động kháng oxy hóa của các hợp chất có trong chiết xuất từ vỏ lụa cacao ở cả 4 thực nghiệm bao gồm: Tổng lượng phenolic (28,87 mg GAE/g), năng lực khử (reducing capacity) (IC50: 546 µg/ml), DPPH (IC50= 459 µg/ml) và ABTS (854 µg/ml) đều cao hơn so với vỏ lụa hạt cà phê với kết quả lần lượt là 23,63 mg GAE/g, 1.521 µg/ml, 603 µg/ml, 970 µg/ml). Như vậy, khả năng kháng oxy hóa của vỏ lụa hạt cacao tốt hơn vỏ lụa hạt cà phê; cao EtOH và cao polysaccharide cho kết quả kháng oxy hóa tốt nhất. Kết quả nghiên cứu có thể cung cấp dữ liệu cho các nghiên cứu tiếp theo cũng như ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm và nguyên liệu cho ngành dược.

Từ khóa: *Kháng oxy hóa, thành phần hóa học, vỏ lụa hạt cà phê, vỏ lụa hạt cacao.*

1. ĐẶT VẤT ĐỀ

Vỏ lụa hạt cacao là một thành phần của quả từ cây cacao có tên khoa học là *Theobroma cacao.* Là lớp vỏ bọc bên ngoài bao phủ hạt cacao, được tạo ra trong quá trình rang hạt cacao và là một trong những sản phẩm phụ thải ra trong quá trình sản xuất, chiếm 10-17% tổng khối lượng hạt [1]. Một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy, một lượng đáng kể theobromine có độc đối với một số động vật có vú nhưng không phải con người [2], hơn nữa độc tính của nó đối với động vật thủy sản cũng đã được báo cáo [3].

Vỏ lụa hạt cà phê là thành phần của hạt từ cây cà phê có tên khoa học là *Coffee* spp. Trong quá trình sản xuất cà phê, một lượng lớn phụ phẩm được thải ra như vỏ, vỏ lụa, hạt bị lỗi,… Trong đó, vỏ lụa cà phê (là một lớp màng mỏng bao phủ trực tiếp hạt cà phê) là một phụ phẩm chính và hiện được sử dụng làm phân bón đất. Tuy nhiên, một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy, vỏ lụa hạt cà phê là một nguồn chứa các hợp chất sinh học tốt có thể được chiết xuất và sử dụng [4].

Chất chống oxy hóa đóng góp một vai trò quan trọng giúp bảo vệ cơ thể khỏi các tác nhân oxy hóa có hại. Chất chống oxy hóa chịu trách nhiệm phá vỡ dây chuyền của chuỗi phản ứng oxy hóa trong cơ thể bằng việc kết hợp một electron tự do của chúng với các gốc tự do hoặc loại bỏ các ROS/RNS bằng việc ức chế khởi động của chuỗi phản ứng oxy hóa.

Ở Việt Nam, hiện nay chưa có nhiều nghiên cứu được công bố về vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê. Do đó, nghiên cứu này nhằm xác định thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê qua việc thu nhận các cao chiết bằng cách sử dụng phương pháp chiết cao ngấm kiệt, phương pháp chiết lỏng-lỏng và phương pháp chiết nước với dung môi có

[1] Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh
*Email: lamkhacky@iuh.edu.vn, 19531621.tran@student.iuh.edu.vn, 1433821.chau@student.iuh.edu.vn

tính phân cực tăng dần là ethanol 96%, ethyl axetat và nước để đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa qua từng phân đoạn cao. Qua đó, có thể tạo cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn về đặc tính sinh học của chúng và phát triển các sản phẩm chức năng hỗ trợ sức khỏe con người, đồng thời giải quyết các vấn đề kinh tế và môi trường.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Vỏ lụa hạt cacao được cung cấp bởi Công ty TNHH Anh Em Cacao. Vỏ lụa hạt cà phê được cung cấp bởi trang trại cà phê Sơn Pacamara. Hóa chất sử dụng trong thử nghiệm bao gồm: Cồn 96%, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azino-bis (3-ethylben- zothiazoline-6sulfonic axit) muối diammonium (ABTS), tricloacetic axit 10%, dung dịch đệm photphat, FeCl3 0,1%, thuốc thử Phenol của Folin Ciocalteau, axit ascobic, 2,21 - bipyridyl, clorua ferric, methanol 80%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết cao bằng phương pháp chiết ngấm kiệt

Mẫu được loại bỏ tạp chất, sấy ở 50°C đến khối lượng lượng không đổi, xay nhuyễn. Tiếp đến, tiến hành ngâm chiết với ethanol 96% (EtOH) bằng phương pháp ngấm kiệt với tỉ lệ nguyên liệu với dung môi là 1: 5, mô hình chiết sẽ được ngâm trong vòng 48 giờ, sau đó xả thu nhận dung dịch chiết với tốc độ xả van là 30 giây/giọt. Dung dịch chiết sẽ được cô quay đuổi cồn với nhiệt độ 50°C và thu nhận cao chiết EtOH.

2.2.2. Chiết cao bằng phương pháp chiết lỏng-lỏng

Kỹ thuật chiết được thực hiện ở nhiệt độ phòng, sử dụng bình lắng để chứa dung dịch trong quá trình chiết. Hòa tan cao EtOH vào pha nước và khuấy trộn đều sau đó bổ sung dung môi ethyl axetat (EtOAc), các hợp chất được tách ra khỏi pha nước dựa theo độ phân cực khác nhau. Việc chiết thực hiên đến khi các chất hòa tan hết vào dung môi, cô quay đuổi dung môi và thu nhận cao chiết (EtOAc).

2.2.3. Chiết cao bằng phương pháp chiết nước

Bã nguyên liệu sau khi chiết ngấm kiệt được sấy khô để loại bỏ cồn và chiết nóng đun cách thủy khoảng 1 giờ, lọc, cô quay giảm thể tích dịch chiết nước còn 1/5 thể tích ban đầu, sau đó tủa cồn 96° với tỉ lệ 1: 4 (v/v). Sau 24 giờ, thu tủa, đuổi cồn, đem đông khô, thu được cao polysaccharide.

2.2.4. Xác định thành phần hóa học của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Sử dụng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS). Việc xác định các hợp chất có trong cao chiết được phát hiện dựa trên sự trùng khớp về thời gian lưu Rt và số khối MS so với chất chuẩn. Mẫu phân tích được gửi tại Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thí nghiệm thành phố Hồ Chí Minh.

2.2.5. Xác định tổng hàm lượng polyphenol

Phenolic trong các mẫu được xác định bằng phương pháp so màu dựa trên quy trình được mô tả bởi Fu và cs (2011) [4]. Thuốc thử Folin Ciocalteu (FC) (2 ml) được thêm vào 2 ml dịch chiết đã pha loãng. Sau 3 phút, thêm vào 750 µl dung dịch natri cacbonat khan (7,5% khối lượng), hỗn hợp này được định mức lên 10 ml bằng nước cất. Sau 2 giờ, độ hấp thụ được ghi lại tại bước sóng 765 nm. Đường chuẩn được xây dựng với acid gallic làm chất chuẩn ở nồng độ từ 0 – 100 µg/ml. Hàm lượng polyphenol tổng được tính dựa trên phương trình đường chuẩn y= ax+b của chất chuẩn axit gallic:

$C = c.V/m$

Trong đó: C là hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g chiết xuất); c là giá trị x từ đường chuẩn với axit gallic (µg/ml); V là thể tích dịch chiết (ml); m là khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

2.2.6. Phương pháp khảo sát khả năng kháng oxy hóa in vitro

- Phương pháp đánh giá khả năng kết hợp với ion sắt III (xác định năng lực khử) [5].

Hút 1 ml mẫu thử với nồng độ 0-5.000 µg/ml, bổ sung 2,5 ml dung dịch đệm photphat 0,2 M (pH=6,6), cho tiếp 2,5 ml $K_3Fe(CN)_6$ 1%, lắc đều, ủ ở nhiệt độ 50°C trong 20 phút. Sau đó, mỗi ống nghiệm được bổ sung thêm 2,5 ml dung dịch tricloaxetic axit 10%, lắc đều. Lấy 2,5 ml dung dịch trên cho thêm 2,5 ml nước cất, tiếp tục thêm 0,5 ml dung dịch $FeCI_3$ 0,1%. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm. Vitamin C nồng độ 0-100 µg/ml được dùng làm chất chuẩn.

- Phương pháp khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng thử nghiệm DPPH [6].

Hút 0,5 ml dịch mẫu với nồng độ 0-1.000 µg/ml, bổ sung 0,75 ml dung dịch DPPH, vortex và ủ trong tối 30 phút ở nhiệt độ 30°C. Mẫu trắng được thực hiện bằng cách cho 1 ml dung dịch mẫu vào 1,5 ml methanol 80%. Đo mật độ quang ở bước sóng 517 nm. Vitamin C nồng độ 0-10 µg/ml được dùng làm chất chuẩn. Khả năng bắt gốc tự do của DPPH được tính theo phần trăm khử gốc tự do theo công thức:

$$I\% = [Acontrol - \frac{A\,sample - A\,blank}{Acontrol}] \times 100$$

Trong đó: I% là tỷ lệ bắt gốc DPPH (%); A control là độ hấp thụ của mẫu đối chứng; A sample là độ hấp thụ của mẫu thí nghiệm sau 30 phút; A blank là độ hấp thụ của mẫu trắng.

- Phương pháp khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng thử nghiệm ABTS [7].

Hút 100 µl dung dịch mẫu có nồng độ từ 0-2.000 µg/ml, bổ sung 3 ml dung dịch ABTS, vortex hỗn hợp phản ứng và ủ trong tối 30 phút. Mẫu trắng được thực hiện bằng cách cho 1 ml dung dịch mẫu vào 1,5 ml đệm PBS, vortex hỗn hợp. Đo mật độ quang ở bước sóng 734 nm. Vitamin C nồng độ từ 0-100 µg/ml được sử dụng làm chất chuẩn. Khả năng bắt gốc tự do ABTS được tính theo phần trăm bắt gốc:

$$I\% = [Acontrol - \frac{A\,sample - A\,blank}{Acontrol}] \times 100$$

Trong đó: I%: tỷ lệ bắt gốc ABTS (%); A control là độ hấp thụ của mẫu đối chứng; A sample là độ hấp thụ của mẫu thí nghiệm sau 30 phút; A blank là độ hấp thụ của mẫu trắng.

2.2.7. Phương pháp tính giá trị IC50

Với những mẫu có hoạt tính biến thiên tuyến tính với nồng độ, vẽ đường thẳng y=ax+b qua tất cả các điểm giá trị OD đo được (với y là % ức chế, x là nồng độ). Với những mẫu có hoạt tính không biến thiên tuyến tính với nồng độ, chọn 2 nồng độ ức chế trên và dưới 50% và tiến hành vẽ đường chuẩn y=ax+b thu được phương trình y=ax+b với hệ số a,b đã biết. Thay y=50% vào phương trình sẽ thu được giá trị x. Đó là nồng độ ức chế 50% hoạt tính.

2.2.8. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân tích thành phần hóa học của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Bảng 1. Kết quả thành phần hóa học của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

STT	Mẫu cacao	(%)	Mẫu cà phê	(%)
1	Axeton, isopropylidene-	0,68	-	-
2	2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-	11,79	-	-
3	Triethylene glycol monomethyl ether axetat	0,06	-	-
4	Benzeneacetic axit	0,90	-	-
5	Desulphosinigrin	0,03	-	-
6	1,4-diazabicyclo[4.3.0]noman-2,5-dione, 3-methyl	0,10	-	-
7	Myristic axit	0,25	-	-
8	Pentadecanoic axit	0,17	-	-
9	Cyclo(L-proly-L-valine)	0,15	-	-
10	Caffeine	4,52	Caffeine	13,74

11	Palmitic axit, methyl este	3,56	-	-
12	Hexadecanoic axit	28,07	n- Hexadecanoic acid	3,79
13	Palmitic axit, ethyl este	1,06	-	-
14	9,11-Octadecadienoic axit, methyl este, (E,E)-	0,92	-	-
15	Methyl 11-otadecanoate	4,17	-	-
16	Methyl stearate	2,03	-	-
17	Oleic axit	27,37	-	-
18	Stearic axit	12,10	-	-
19	Eicosanoic axit	0,54	-	-
20	Heptacosane	0,34	Heptacosane	8,01
21	9-Octadecenamide, (Z)-	0,43	-	-
22	Erucylamide	0,75	-	-
23	-	-	n-Heptadecane	1,02
24	-	-	Octadecane	1,68
25	-	-	Nonadecane	3,67
26	-	-	Eicosane	6,00
27	-	-	Heneicosane	9,49
28	-	-	Docosane	11,70
29	-	-	Tetracosane	12,92
30	-	-	Pentacosane	9,87
31	-	-	Hexacosane	8,62
32	-	-	Octacosane	5,54

Thành phần hóa học được xác định trong cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê bằng phương pháp GC-MS. Bảng 1 cho thấy, có 22 hợp chất có trong vỏ lụa cacao, trong đó có 9 hợp chất có khả năng kháng oxy hóa chiếm tỉ lệ tương đối trong thành phần gồm: 4-hydroxy-4-methyl- (11,79%), caffeine (4,52), palmitic axit, methyl este (3,56%), hexadecanoic axit (28,07%), ethyl este (1,06%), methyl 11-otadecanoate (4,17%), methyl stearate (2,03%), oleic axit (27,37%), stearic axit (12,10%) [8, 9]. Theo kết quả ở bảng 1, có 14 hợp chất được tìm thấy trong vỏ lụa hạt cà phê, trong đó có 13 chất có khả năng kháng oxy hóa gồm: caffeine (13,74%), n-Hexadecanoic axit (3,79%), n-Heptadecane (1,02%), octadecane (1,68%), nonadecane (3,67%), eicosane (6,00%), heneicosane (9,49%), docosane (11,7%), tetracosane (12,92%), pentacosane (9,87%),

hexacosane (8,62%), heptacosane (8,01%), β-Sitosterol axetat (3,96%). Một số nghiên cứu cho thấy, caffeine là một hợp chất có khả năng kháng oxy hóa tốt [10] ngoài ra, còn có thể phòng ngừa điều trị một số bệnh lý [11].

3.2. Kết quả tổng hàm lượng polyphenol của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Polyphenol là các hợp chất chuyển hóa thứ cấp xuất hiện trong nhiều nguồn thực vật. Nhóm hợp chất này cung cấp nhiều đặc tính sinh học như khả năng kháng oxy hóa, trung hòa các gốc tự do gây hại. Vỏ lụa hạt là một sản phẩm phụ từ ngành công nghiệp cacao, gần đây đã được đề xuất như một thành phần chức năng sinh học và có chi phí thấp, chủ yếu là do hàm lượng polyphenol của nó [12].

Kết quả xác định tổng hàm lượng polyphenol của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê với axit gallic là chất chuẩn có tuyến tính cao (R^2= 0,998). Dựa trên đường chuẩn axit gallic tiến hành định lượng polyphenol tổng số cho kết quả trong bảng 2.

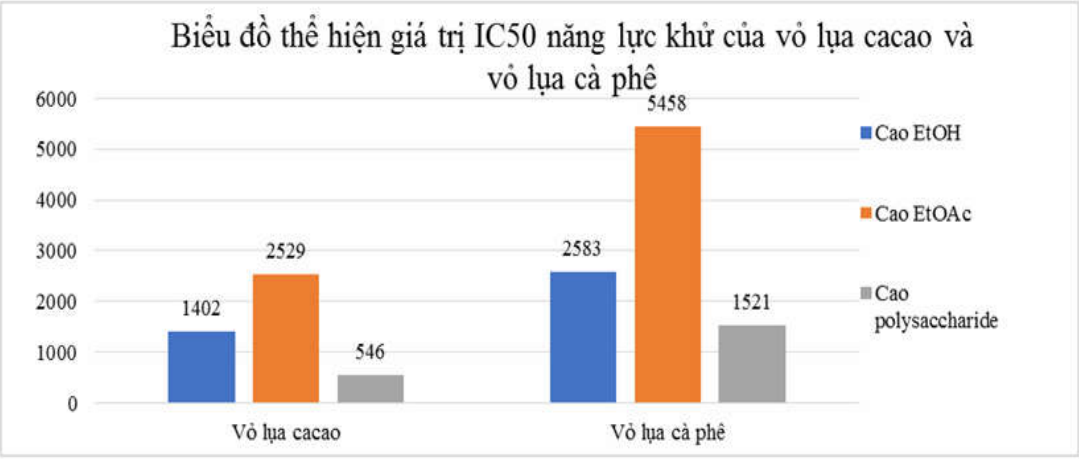
Bảng 2. Kết quả tổng hàm lượng polyphenol của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Giá trị	Vỏ lụa hạt cacao	Vỏ lụa hạt cà phê
	y=0,0091x+0,014, R^2= 0,998	
Nồng độ mẫu thử (µg/ml)	1.000	1.000
Độ hấp thụ quang	0,317	0,26
Hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g chiết xuất)	28,87	23,63

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, vỏ lụa hạt cacao có hàm lượng polyphenol tổng số là 28,87 mg GAE/g chiết xuất cao hơn 1,22 lần so với hàm lượng polyphenol tổng số của vỏ lụa hạt cà phê là 23,63 mg GAE/g chiết xuất. Bằng kỹ thuật RP-HPLC-PDA, Rojo-Poveda O và cs (2021) [12] xác định 25 hợp chất polyphenol trong vỏ lụa cacao và xác định rằng các chất chống oxy hóa thu được tương quan cao với hàm lượng polyphenol tổng số. Hơn nữa, các polyphenol phổ biến như là axit phenolic và oligo hoặc polyme flavanol (proanthocyanidin) thường liên kết một cách tự nhiên với các polysaccharide thành tế bào thực vật nên dẫn đến khả năng kháng oxy hóa ở cao polysaccharide cũng tốt hơn [13]. Kết quả này cho thấy, cần phải lưu ý hơn khả năng bắt gốc tự do ở các thử nghiệm tiếp theo.

3.3. Kết quả khảo sát khả năng kháng oxy hóa *in vitro* của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

3.3.1. Kết quả đánh giá khả năng kết hợp với ion sắt III (năng lực khử)



Hình 1. IC50 năng lực khử của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

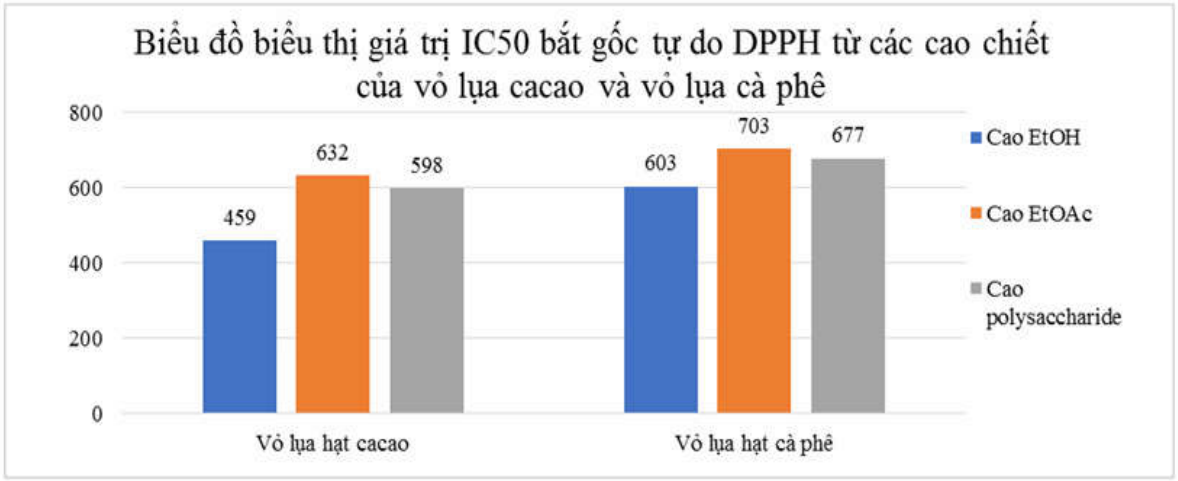
Năng lực khử là một trong những đặt tính quan trọng thể hiện khả năng kháng oxy hóa của mẫu phân tích, xác định được sự hiện diện của các hợp chất có khả năng khử, khả năng nhường nguyên tử hydrogen tạo nên các cấu trúc ổn định hơn, kết thúc phản ứng chuỗi điện tử tự do. Kết quả đánh giá năng lực khử của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê được thể hiện ở hình 1.

Năng lực khử của các cao chiết có giá trị IC50 càng thấp thì khả năng khử của các hợp chất trong cao chiết càng cao. Khả năng khử tối đa quan sát được trong cao chiết có thể tương quan trực tiếp với sức mạnh kháng oxy hóa tối đa của chúng [14]. Cao polysaccharide thể hiện giá trị IC50 thấp nhất ở cả vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê (lần lượt là 546 µg/ml và 1.521 µg/ml), chứng tỏ các hợp chất có khả năng khử có trong cả hai mẫu vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê tập trung nhiều ở cao polysaccharide. Cao EtOH ở cả 2 mẫu vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê thể hiện khả năng khử thấp hơn cao polysaccharide (với IC50 lần lượt là 1.402 µg/ml, 2.583 µg/ml). Tuy nhiên, khả năng khử của cao EtOH cao hơn cao EtOAc (với IC50 lần lượt là 2.529 µg/ml và 5.458 µg/ml) của cả 2 mẫu nguyên liệu vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê. Kết quả này phù hợp với hàm lượng polyphenol thu được ở vỏ lụa cacao (mục 3.2) nhiều hơn dẫn đến năng lực khử cũng tốt hơn. Kan (2012) cũng đã chứng minh những chiết xuất giàu các hoạt chất sinh học như nucleoside, polysaccharide, protein… có khả năng chống oxy hóa mạnh mẽ, bảo tồn và bảo vệ chức năng tế bào [15].

Hình 1 thể hiện hoạt tính của vỏ lụa hạt cacao tốt hơn vỏ lụa hạt cà phê, có thể nhận định rằng khả năng kháng oxy hóa của vỏ lụa hạt cacao tốt hơn vỏ lụa hạt cà phê ở thử nghiệm trên.

3.3.2. Kết quả đánh giá khả năng bắt gốc tự do DPPH

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê được đánh giá qua khả năng bắt giữ hoặc trung hòa gốc tự do DPPH được thể hiện qua giá trị nồng độ của mẫu mà tại đó có thể ức chế 50% gốc tự do. Giá trị IC50 càng thấp thì mẫu sẽ có khả năng kháng oxy hóa càng cao và ngược lại. Kết quả đánh giá khả năng bắt gốc tự do DPPH của các cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê được thể hiện ở hình 2.



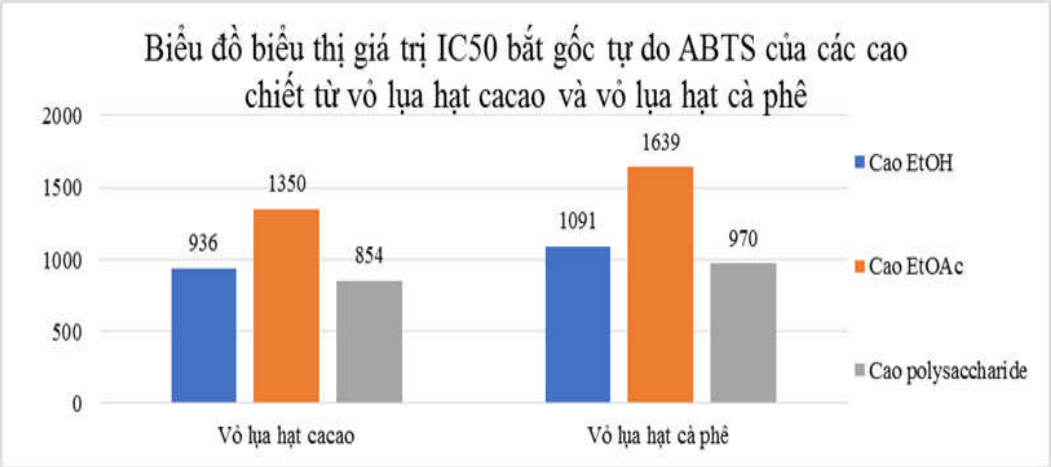
Hình 2. Giá trị IC50 bắt gốc tự do DPPH của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Kết quả khảo sát cho thấy, tất cả cao chiết đều có khả năng bắt gốc tự do DPPH. Vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê cho thấy, cao EtOH cho kết quả bắt gốc tự do cao nhất (IC50 lần lượt là 459 µg/ml và 603 µg/ml), thấp nhất là cao EtOAc (IC50 632 µg/ml và 703 µg/ml). Có thể thấy rằng, ở cả 2 mẫu nguyên liệu các hợp chất có khả năng bắt gốc tự do DPPH tập trung nhiều ở cao chiết EtOH. Giá trị IC50 của cả 3 cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao đều thể hiện giá trị thấp hơn vỏ lụa cà phê qua hình 2, chứng tỏ vỏ lụa hạt cacao có khả năng kháng oxy hóa cao hơn vỏ lụa hạt cà phê ở thử nghiệm này.

Botella-Martínez C và cs (2021) [16] khi đánh giá khả năng kháng oxy hóa của vỏ lụa hạt cacao cũng thu nhận được kết quả 2,35-5,53 mg Trolox/g đối với thử nghiệm DPPH.

3.3.3. Kết quả đánh giá khả năng bắt gốc tự do ABTS

Tương tự DPPH, hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê được đánh giá qua khả năng bắt giữ hoặc trung hòa gốc tự do ABTS được thể hiện qua giá trị nồng độ của mẫu mà tại đó có thể ức chế 50% gốc tự do. Giá trị IC50 càng thấp thì mẫu sẽ có khả năng kháng oxy hóa càng cao và ngược lại. Kết quả đánh giá khả năng bắt gốc tự do ABTS của cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê được thể hiện qua hình 3.



Hình 3. Giá trị IC50 bắt gốc tự do ABTS của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Khả năng bắt gốc ABTS của cả vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê đều có giá trị IC50 thấp nhất ở cao polysaccharide (lần lượt là 854 µg/ml và 970 µg/ml) cho thấy, đa số các hợp chất có khả năng bắt gốc tự do ABTS tập trung ở cao này. Ngược lại, cao EtOAc của cả 2 mẫu nguyên liệu vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê thể hiện khả năng kháng oxy hóa thấp nhất (IC50 lần lượt là 1.350 µg/ml, 1.639 µg/ml). Kết quả này có thể do các hợp chất polyphenol trong chiết xuất polysaccharide là một trong những hợp chất có khả năng khử tốt, đồng thời cũng thể hiện do cao polysaccharide tan trong nước nên phát huy được hoạt tính tối đa trong dung môi của dung dịch đệm ở thử nghiệm này là nước, phù hợp với chú ý ở mục 3.2.

Nghiên cứu của Botella-Martínez C. và cs (2021) [16] cho thấy, vỏ lụa hạt cacao có khả năng kháng oxy hóa với thử nghiệm ABTS là 3,39-11,55 mg Trolox/g. Aroufai và cs (2002) [5] cũng cho rằng, vỏ lụa hạt cà phê có khả năng kháng oxy hóa trong thử nghiệm bắt gốc tự do của ABTS với kết quả là 71,25-112,94 µmol TE/g.

4. KẾT LUẬN

Trong vỏ lụa hạt cacao xác định được 9/22 và vỏ lụa hạt cà phê 13/14 hợp chất có khả năng kháng oxy hóa.

Hàm lượng polyphenol tổng số có trong cao chiết của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê lần lượt là 28,87 mg GAE/g và 23,63 mg GAE/g chiết xuất.

Qua 3 thử nghiệm năng lực khử, khả năng bắt gốc tự do DPPH và ABTS đều cho thấy, vỏ lụa hạt cacao có khả năng kháng oxy hóa cao hơn vỏ lụa hạt cà phê. Cao EtOH và cao polysaccharide của cả 2 mẫu đều thể hiện hoạt tính tốt.

Có thể sử dụng cao EtOH và cao polysaccharide cho các thử nghiệm hoạt tính khác trên nguồn nguyên liệu vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê. Ngoài ra, vỏ lụa hạt cacao với hoạt tính kháng oxy hóa tốt có thể tận dụng để kết hợp cùng với hạt cacao và các nguồn nguyên liệu khác ứng dụng vào thực phẩm, bên cạnh đó các hợp chất có hoạt tính sinh học có thể được chiết xuất và ứng dụng vào thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hashimoto, J. C., Lima, J., Celeghini, R. M. D. S., Nogueira, A. B., Efraim, P., Poppi, R. J., & Pallone, J. a. L. (2018). Quality Control of Commercial Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.) by Near-infrared Spectroscopy. Food Analytical Methods, 11(5), 1510–1517.

2. Adamafio, N. A. (2013). Theobromine Toxicity and Remediation of Cocoa By-products: An Overview. *Journal of Biological Sciences*, 13, 570-576.

3. F. E. Olaifa, R. A. Hamzat and O. O. Oyetoyan (2008). Acute Toxicity of Ethanol Extracts of Cocoa Bean Shell on Sarotherodon galilaeus Juveniles. *Journal of Fisheries International*, 3: 56-60.

4. Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xia, E. Q. and Li, H. B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. Food Chemistry, 129(2): 345-350.

5. Aroufai, İ. A., Sabuncu, M., Altiner, D. D., & Şahan, Y. (2022). Antioxidant properties and bioaccessibility of coffee beans and their coffee silverskin grown in different countries. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(3), 1873–1888.

6. Nguyễn Thị Hằng, Nguyễn Thị Thanh Tâm, Mai Hữu Phương (2016). Khả năng bắt gốc tự do DDPH và năng lực khử của nam sâm bò ở Cần Giờ, thành phố Hồ Chí Minh. *Tạp chí Khoa học Đại học Sư phạm thành phố Hồ Chí Minh*, số 12 (90), 112-122.

7. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Lwt - Food Science and Technology, 28, 25-30.

8. Nicholas J. Miller and Catherine A. Rice-Evan (1997). Factors Influencing the Antioxidant Activity Determined by the ABTS·+Radical Cation Assay.

9. Nguyễn Thị Huỳnh Như, Ngô Đại Hùng, Phạm Ngọc Hoài, Võ Thanh Sang (2020). Khảo sát một số thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết hạt đu đủ. Tạp chí Khoa học Đại học Thủ Dầu Một. Số 2(45).

10. Vieira, A. J. S. C., Gaspar, E. M., & Santos, P. A. (2020). Mechanisms of potential antioxidant activity of caffeine. Radiation Physics and Chemistry, 174, 108968.

11. Montagnana, M., Favaloro, E. J., & Lippi, G. (2012). Coffee Intake and Cardiovascular Disease: Virtue Does Not Take Center Stage. Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 38(02), 164–177.

12. Rojo-Poveda O, Zeppa G, Ferrocino I, Stévigny C, Barbosa-Pereira L (2021). Chemometric Classification of Cocoa Bean Shells Based on Their Polyphenolic Profile Determined by RP-HPLC-PDA Analysis and Spectrophotometric Assays. Antioxidants. 10 (10): 1533

13. Renard, C. M., & Watrelot, A. A. (2017). Interactions between polyphenols and polysaccharides: Mechanisms and consequences in food processing and digestion. Trends in Food Science and Technology, 60, 43–51.

14. Mamta, Mehrotra, S., Amitabh, Kirar, V., Vats, P., Nandi, S. P., Negi, P. S., & Misra, K. (2015). Phytochemical and antimicrobial activities of Himalayan Cordyceps sinensis (Berk.) Sacc. Indian journal of experimental biology, 53(1), 36 – 43.

15. Kan, W. C., Wang, H. Y., Chien, C. C., Li, S. L., Chen, Y. C., Chang, L. H., Cheng, C. H., Tsai, W. C., Hwang, J. C., Su, S. B., Huang, L. H., & Chuu, J. J. (2012). Effects of Extract from Solid-State Fermented Cordyceps sinensis on Type 2 Diabetes Mellitus. Evidence - based complementary and alternative medicine: eCAM, 2012, 743107.

16. Botella-Martínez C, Lucas-Gonzalez R, Ballester-Costa C, Pérez-Álvarez JÁ, Fernández-López J, Delgado-Ospina J, Chaves-López C, Viuda-Martos M (2021). Ghanaian Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Bean Shells Coproducts: Effect of Particle Size on Chemical Composition, Bioactive Compound Content and Antioxidant Activity. Agronomy. 11(2):401.

INVESTIGATION OF CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM EXTRACTS OF COCOA BEAN SILK SHELLS AND COFFEE BEAN SILK SHELLS

Lam Khac Ky, Tran Nguyen Phuc Tran, Nguyen Ngoc Que Chau

Summary

Objective of research is to investigate the chemical composition and antioxidant activity through the extraction of solvent-minced biological compounds (ethanol, ethyl acetate, polysaccharide). Surveying the chemical composition of cocoa bean silk shells and coffee bean silk shells by GC-MS method and screening the antioxidant activity by the *in vitro* assays such as iron reduction activity III (reducing capacity), activity capture free radicals (DPPH and ABTS) from cocoa bean silk shells and coffee bean silk shells. The results of chemical composition analysis by GC-MS method showed that the 9/22 compounds in cocoa silk shells and 13/14 compounds in coffee silk shells have antioxidant activities. In addition, the antioxidant activities of cocoa bean silk shell compounds are higher in total phenolic contents (28.87 mg GAE/g), reducing capacity assay (IC50: 546 µg/ml), DPPH assay (IC50= 459 µg/ml) and ABTS assay (854 µg/ml) than the activity of coffee bean silk shell with the following values (23.63 mg GAE/g, 1521 µg/ml, 603 µg/ml, 970 µg/ml). The *in vitro* antioxidant activity of cocoa bean silk shell is better than coffee bean silk shell while EtOH extract and polysaccharide extract give the best results. The results of the research can serve as a basis for further studies as well as applications in the food industry or pharmaceutical materials.

Keywords: *Oxidation resistance, chemical composition, coffee bean silk shell, cocoa bean silk shell.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Toản
Ngày nhận bài: 01/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 28/3/2023
Ngày duyệt đăng: 4/4/2023

SỰ BIẾN ĐỔI HÀM LƯỢNG BETACYANIN TRONG QUÁ TRÌNH CHẾ BIẾN, BẢO QUẢN RAU QUẢ VÀ CÁC BIỆN PHÁP KỸ THUẬT HẠN CHẾ PHÂN HỦY BETACYANIN

Đoàn Như Khuê[1, *], Võ Thị Thìn[1], Nguyễn Minh Trung[1], Nguyễn Như Thuần[1], Nguyễn Thị Hương[1], Lê Nhất Tâm[1], Phạm Minh Tuấn[1]

TÓM TẮT

Betacyanin là một chất chống oxy hóa có hàm lượng cao trong một số loại rau quả. Betacyanin cũng là một chất màu tự nhiên, được sử dụng rộng rãi trong chế biến sản phẩm thực phẩm. Bài báo này tổng quan sự biến đổi của hàm lượng betacyanin trong quá trình chế biến và bảo quản rau quả. Ảnh hưởng của các yếu tố như chế độ gia nhiệt, pH, chất chống oxy hoá, phương pháp chế biến, ánh sáng, nhiệt độ và thời gian chế biến và bảo quản quản rau quả đến sự biến đổi của betacyanin được tổng hợp, từ đó xác định thông số xử lý phù hợp và đề xuất giải pháp nhằm hạn chế sự phân huỷ betacyanin. Nhiệt độ nhỏ hơn 80^{o}C, thời gian giữ nhiệt dưới 30 phút, bổ sung axit ascobic trong quá trình chế biến từ 0,25 - 0,3% (w/v) hạn chế sự phân hủy betacyanin. Các phương pháp chế biến tiên tiến như xử lý vi sóng, xử lý trong điều kiện chân không…giữ lại hàm lượng betacyanin cao hơn so với gia nhiệt truyền thống. pH có ảnh hưởng đến sự phân huỷ betacyanin trong quá trình chế biến, tuy nhiên pH tối ưu để hạn chế sự phân hủy betacyanin vẫn còn khác nhau ở nhiều nghiên cứu, cần được khảo sát thêm. Bảo quản ở điều kiện không có ánh sáng hoặc chứa trong bao bì tối màu sẽ giữ được hàm lượng betacyanin tốt nhất. Nhiệt độ dưới 25^{o}C phù hợp để bảo quản các sản phẩm chứa betacyanin. Bổ sung chất chống oxy hóa sau quá trình chế biến cũng góp phần làm ổn định chất màu betacyanin.

Từ khóa: *Betacyanin, sự biến đổi, bảo quản, chế biến, rau quả.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Betacyanin là sắc tố thực vật tự nhiên có chứa nitơ, nguồn gốc indoline và dihydropyridine có thể hòa tan trong nước, có màu đỏ tím và xuất hiện ở hầu hết các họ thuộc bộ caryophyllales. Betacyanin và betaxanthin tạo thành một nhóm sắc tố betalains là một trong những sắc tố thực vật phổ biến nhất được tìm thấy trong tự nhiên cùng với anthocyanins, carotenoid và chlorophyll. Theo Strack và cs (2003) [1], hợp chất betacyanin được tìm thấy trong rễ, quả và hoa của một số loại thực vật. Một số nguồn betacyanin có thể ăn được là củ dền đỏ *(Beta vulgaris* L), hạt hoặc lá dền *(Amaranthus sp.),* rau mồng tơi, quả xương rồng, quả thuộc chi *Opuntia* và *HyloCereus*... [2]. Bổ sung betacyanin vào chế độ ăn uống đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì sức khỏe và hoạt động của con người. Hoạt tính sinh học của betacyanin mang lại các lợi ích cho con người như chống oxy hóa, kháng khuẩn và khả năng chống ung thư [3]. Trong ngành công nghiệp thực phẩm, betacyanin được sử dụng làm chất phụ gia tạo màu tự nhiên. Các hợp chất betacyanin từ củ cải đỏ và rau dền được sử dụng để tạo màu các sản phẩm từ sữa (sữa chua và kem), nước sốt salad, kẹo mút, kẹo cao su trái cây, bánh, xúc xích, nước sốt, nước ngọt và bột để pha đồ uống.

Tuy nhiên, quá trình chế biến và bảo quản làm biến đổi hoặc phân huỷ chất màu betacyanin. Sự ổn định của hợp chất màu betacyanin bị ảnh hưởng rất lớn bởi nhiệt độ, pH, ánh sáng, chất chống oxy hoá… [4]. Từ thực tế trên, nghiên cứu về điều kiện

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh
[*]Email: doannhukhue@iuh.edu.vn

chế biến, bảo quản betacyanin và chỉ ra điều kiện xử lý phù hợp nhất giúp ổn định betacyanin là rất cần thiết. Bên cạnh đó, đề xuất các kỹ thuật xử lý tiên tiến nhằm hạn chế sự biến đổi các hợp chất nhạy nhiệt, các hợp chất dễ bị oxy hóa để áp dụng chế biến các sản phẩm chứa betacyanin.

2. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN SỰ BIẾN ĐỔI HÀM LƯỢNG BETACYANIN TRONG QUÁ TRÌNH CHẾ BIẾN VÀ BẢO QUẢN RAU QUẢ

2.1. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự biến đổi hàm lượng betacyanin trong quá trình chế biến rau quả

2.1.1. Ảnh hưởng của chế độ gia nhiệt

Sự ổn định của betacyanin bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố trong đó chế độ gia nhiệt là yếu tố có thể ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng betacyanin. Trong nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của chế độ thanh trùng đến hàm lượng betacyanin trong nước ép quả thanh long ruột đỏ, Thanh và cs (2017) [5] gia nhiệt nước ép ở 80, 85 và 90°C và giữ nhiệt trong thời gian 5, 10 và 15 phút, đã cho thấy, tỷ lệ betacyanin còn lại khoảng 98, 95, 90%, tương ứng với 3 mốc thời gian trên ở nhiệt độ 80°C. Hàm lượng này cao hơn so với các mẫu thanh trùng ở nhiệt độ 85°C, 90°C. Nhiệt độ xử lý ở 90°C, hàm lượng betacyanin còn lại thấp nhất. Điều này chỉ ra khi nhiệt độ và thời gian gia nhiệt càng tăng thì hàm lượng betacyanin càng giảm. Xu hướng này cũng xảy ra ở nghiên cứu của Trinh và cs (2018) [6]. Nghiên cứu của Wong và Siow (2015) [7] cũng cho thấy, xu hướng tương tự, tuy nhiên thời gian giữ nhiệt dưới 30 phút không có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng betacyanin trong nước ép quả thanh long khi xử lý ở nhiệt độ nhỏ hơn 80°C. Tương tự, nghiên cứu của Vũ Thu Trang và cs (2020) [8] cho thấy không có sự khác biệt về hàm lượng betacyanin trong dịch quả khi nhiệt độ gia nhiệt từ 65 - 80°C trong 30 phút, nhưng hợp chất betacyanin bắt đầu giảm mạnh với mức nhiệt 85 - 95°C. Tỷ lệ betacyanin còn lại sau khi gia nhiệt 85°C với thời gian 5 phút là 73,65% và 95°C với thời gian 30 phút chỉ còn 50,15%. Nghiên cứu khác đối với nền mẫu củ dền và rau dền cũng cho thấy, sự biến đổi betacyanin tương tự như đối với ở thanh long ruột đỏ. Nghiên cứu của Khandaker và cs (2009) [9] ở mẫu rau dền (*Amaranthus tricolor*) cho thấy, tỷ lệ phân hủy betacyanin rất thấp với nhiệt độ xử lý là 40°C, khi nhiệt độ vượt quá 95°C betacyanin gần như bị phân hủy hoàn toàn sau 20 phút. Ở nghiên cứu của Liu và cs (2020) [10], hàm lượng betacyanin trong sản phẩm củ dền sấy khô cao nhất là 284,50 mg betanin/g chất khô nếu sấy ở 50°C. Khi tăng nhiệt độ lên 80°C, hàm lượng betacyanin còn lại là 136,59 mg betanin/g chất khô, giảm khoảng 50% so với ở 50°C và thấp nhất đối với củ dền lát sấy ở 100°C với 76,63 mg betanin/g chất khô.

Dựa vào các nghiên cứu trên có thể thấy sự ảnh hưởng của chế độ gia nhiệt đến sự phân huỷ betacyanin tuân theo quy luật nhiệt độ càng cao, thời gian gia nhiệt càng dài, betacyanin bị phân hủy càng nhiều. Đồng thời ở các nền mẫu như thanh long ruột đỏ, củ dền, rau dền thì nhiệt độ và thời gian gia nhiệt gây ra sự phân huỷ betacyanin cũng khác nhau, có thể do nền mẫu khác nhau, thành phần khác nhau nên sự tương tác, phân hủy cũng khác nhau. Tuy nhiên, có một quy luật chung, đó là nhiệt độ xử lý dưới 80°C với thời gian xử lý ít hơn 30 phút có thể là điều kiện phù hợp để hạn chế sự phân huỷ betacyanin trong quá trình chế biến.

2.1.2. Ảnh hưởng của pH

Ảnh hưởng của pH đến sự phân huỷ betacyanin trong quá trình gia nhiệt đã được báo cáo ở rất nhiều nghiên cứu. Tang và cs (2010) nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến độ ổn định của chất màu betacyanin từ nước ép quả thanh long ruột đỏ ở các giá trị pH từ 2 -10, với nhiệt độ từ 25 - 75°C trong 12 giờ, cho thấy sắc tố betacyanin ổn định nhất ở khoảng pH từ 5 - 6, tỷ lệ betacyanin được giữ lại lớn hơn 80% [11]. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Gengatharan và cs (2017) [12] với hàm lượng betacyanin ở pH 5 và pH 6 cao nhất lần lượt là 119,8 mg/l và 120,3 mg/l và không có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng betacyanin ở pH 5, pH 6 so với mẫu chuẩn. Hàm lượng betacyanin thấp nhất được quan sát thấy ở pH 3 - 4 với kết quả lần lượt là 111,5 và 114,1 mg/l. Điều này chỉ ra rằng, pH 3 - 4 có thể không thích hợp để ổn định betacyanin trong quả thanh long ruột đỏ, ngược lại pH 5 - 6 có thể thích hợp để ổn định

hợp chất màu betacyanin trong quả thanh long ruột đỏ. Wong và Siow (2015) [7] điều chỉnh các mẫu nước ép thanh long ruột đỏ về pH 3, 4, 5, 6 và 7, sau đó được xử lý nhiệt ở 65°C trong 30 phút cho thấy hàm lượng betacyanin cao hơn đáng kể ở pH 5. Ngoài thanh long ruột đỏ, sắc tố betacyanin ở một số loại rau củ quả khác cũng ổn định ở pH ở 5 - 6. Castellar và cs (2003) [13] khảo sát độ ổn định của betacyanin trong quả xương rồng ở pH 3, 4, 5, 6 và 7 tại nhiệt độ 50 và 90°C. Ở cả hai nhiệt độ 50 và 90°C, độ ổn định của betacyanin cao nhất được quan sát thấy ở pH 5. Nghiên cứu của Pátkai và Barta (1996) [14] cũng cho kết quả tương tự với ảnh hưởng của pH 3,3; 4,65; 6,2 đến sự phân huỷ chất màu betacyanin ở củ dền tại nhiệt độ xử lý 60, 70, 80°C trong 5, 10, 15 và 20 phút. Kết quả cho thấy betacyanin ổn định ở pH 6,2, khi giảm xuống pH 4,65 và 3,3 thì có sự phân hủy đáng kể, đặc biệt là ở pH 3,3 sự phân hủy nhanh nhất [15].

Tuy nhiên, nghiên cứu của Trinh và cs (2018) [6] về ảnh hưởng của pH đến sự ổn định betacyanin trong nước ép thanh long ruột đỏ khi khảo sát ở pH 3, 4, 5, 6 và 7 và xử lý ở nhiệt độ 65°C trong 10 phút lại cho kết quả khác. Theo đó, betacyanin được giữ lại cao nhất ở pH 4,0 với tỷ lệ betacyanin thu được là 87% so với hàm lượng betacyanin ban đầu. Tương tự, kết quả nghiên cứu của Vũ Thu Trang và cs (2020) [8] với dịch quả thanh long ruột đỏ được ly tâm sau đó điều chỉnh về 15 °Bx, khảo sát tại các giá trị pH 3, 4, 5, 6, 7, 8 và gia nhiệt ở 80°C, giữ nhiệt trong 5, 10, 15, 20, 25 và 30 phút cũng kết luận betacyanin đặc biệt ổn định ở pH 4 với hàm lượng betacyanin được giữ lại cao nhất khoảng 80%. Huang và Elbe (1987) [15] khảo sát pH dịch củ dền từ 3, 4, 5, 6 và 7 ở nhiệt độ 65, 75 và 90°C và chỉ ra betacyanin ổn định trong dung dịch củ dền được xử lý ở 90°C trong điều kiện không có oxy ở pH 4 đến 5.

Như vậy, có sự khác biệt về độ pH tối ưu nhằm ổn định betacyanin, sự khác biệt này có thể do các nguyên nhân như nền mẫu được sử dụng khác nhau, cách xử lý mẫu khác nhau, nhiệt độ và thời gian thí nghiệm có sự khác nhau. Ngoài ra, do sự xuất hiện của oxy, độ brix của dung dịch trong mẫu xử lý cũng ảnh hưởng đến kết quả. Như vậy, cần có thêm nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng của pH đến chất màu betacyanin để làm rõ ảnh hưởng của yếu tố này đến sự ổn định betacyanin trong rau quả.

2.1.3. Ảnh hưởng của axit ascobic khi bổ sung vào dịch chiết trong quá trình chế biến rau quả

Axit ascobic là chất chống oxy hóa tự nhiên, bảo vệ màu bằng cơ chế chống các tác nhân oxy hóa. Axit ascobic tăng cường sự ổn định của betacyanin bằng cách liên kết với oxy có trong rau quả (một yếu tố làm tăng tốc độ phân hủy betacyanin) từ môi trường xung quanh [16]. Ảnh hưởng của axit ascobic đến sự phân hủy betacyanin đã được Vũ Thu Trang và cs (2020) [8] thực hiện trên nước ép thanh long ruột đỏ bổ sung axit ascobic theo nồng độ 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0% (w/v), sau đó gia nhiệt ở 80°C, giữ nhiệt trong 10, 20, 30 phút. Kết quả cho thấy, việc bổ sung axit ascobic từ 0,2 - 1,0% sẽ giúp ổn định betacyanin trong nước ép thanh long ruột đỏ [8]. Tuy nhiên, ở một số nghiên cứu khác đánh giá khả năng ổn định betacyanin khi bổ sung axit ascobic vào nước ép thanh long sau đó gia nhiệt nhưng kết quả có khác biệt. Ví dụ, nghiên cứu của Woo và cs (2011) bổ sung axit ascobic theo tỷ lệ 0,25 - 1,5% (w/w) và cho thấy mẫu bổ sung 0,25% axit ascobic có hàm lượng betacyanin ổn định cao nhất và giảm đáng kể khi bổ sung ở mức 0,5 – 1,5%, vì tỷ lệ axit ascobic bổ sung cao, giải phóng điện tử có thể thúc đẩy quá trình oxy hóa, làm tăng tốc độ phân hủy betacyanin [4]. Trinh và cs (2018) [6] bổ sung axit ascobic từ 0,1 - 0,5% (w/w), kết quả cho thấy bổ sung axit ascobic 0,3% cho tỷ lệ betacyanin được giữ lại cao nhất là 85%. Nghiên cứu của Khan và Giridhar (2014) [17] với mẫu nước ép quả cây rì việt (*Rivina humilis* L. berry) cũng đề cập với nồng độ axit ascobic 0,25% đem lại hiệu quả ổn định tốt đối với betacyanin, tuy nhiên khi được thêm 40 µg/ml Se^{4+} độ ổn định của betacyanin cải thiện hơn rất nhiều so với các nồng độ khác.

Từ những kết quả nghiên cứu trên có thể nhận định rằng bổ sung axit ascobic trước khi chế biến rau quả có ảnh hưởng đến sự ổn định chất màu betacyanin, tỷ lệ bổ sung để đạt được hiệu quả cao nhất vẫn còn khác nhau giữa các nghiên cứu, tỉ lệ axit ascobic từ 0,25 - 0,3% là tỉ lệ được báo cáo là phù hợp để ổn định chất màu betacyanin ở

hầu hết các nghiên cứu đã đề cập. Ngoài ra, sự kết hợp giữa axit ascobic với các tác nhân chống oxy hóa khác như Se^{4+} cho thấy có sự tăng đáng kể hiệu quả ổn định chất màu betacyanin, điều này có thể đề xuất các hướng nghiên cứu tiếp theo nên kết hợp axit ascobic với các tác nhân chống oxy hoá khác giúp nâng cao hiệu quả bảo vệ đối với chất màu betacyanin nói riêng và các chất dễ bị oxy hoá khác nói chung.

2.1.4. Ảnh hưởng của phương pháp chế biến rau quả đến sự biến đổi hàm lượng betacyanin

Các loại rau, củ quả thường được chế biến trước khi sử dụng. Tuy nhiên, quá trình này làm biến đổi chất màu betacyanin và do đó làm ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm.

Độ ổn định của betacyanin trong củ dền (*Beta vulgaris* L.*)* ở các điều kiện chế biến khác nhau như xử lý vi sóng, đun sôi, rang hoặc xử lý phi nhiệt như hút chân không được đánh giá bởi Ravichandran và cs (2013) [18]. Kết quả chỉ ra tốc độ phân hủy betacyanin tăng do nhiệt độ tăng khi đun sôi và rang. Lượng betacyanin giảm tương ứng 6, 22 và 51%, khi đun sôi và giảm 19, 23 và 35% khi sấy từ 60, 120, 180 giây. Tuy nhiên, với xử lý vi sóng ở 450, 900 và 1.800 W trong 10, 20 và 30 giây, hàm lượng betacyanin bị phân hủy rất thấp, cao nhất khoảng 6%. Xử lý phi nhiệt như hút chân không ngăn không cho các betacyanin phân hủy. Hàm lượng betacyanin trong củ cải đỏ sấy khô chân không tăng gần 20% so với mẫu không hút chân không. Điều này có thể do việc loại bỏ oxy (tác nhân gây oxy hóa) giúp làm giảm sự phân huỷ betacyanin.

Zhu và cs (2021) [19] nghiên cứu phương pháp sóng âm-nhiệt (Thermosonication-TS) để đánh giá sự ổn định của hợp chất betacyanin trong nước ép thanh long ruột đỏ. Phương pháp này tiết kiệm năng lượng bằng cách kết hợp sóng siêu âm với nhiệt vừa phải, có tác động gia tăng sự bất hoạt vi sinh vật và các enzym nội sinh trong thực phẩm nhưng không gia tăng sự phân hủy chất màu betacyanin. Nghiên cứu của Székely và cs (2016) [20] khảo sát sự biến đổi betacyanin trong củ dền *(Beta vulgaris* L.) được thái lát 2 mm sấy khô trong chân không ở 40, 50 và 60°C và sấy ở áp suất khí quyển với nhiệt độ 60, 70 và 80°C, thời gian của cả 2 phương pháp là 150 phút. Sau khi bảo quản ở 18°C trong 2 tuần, mẫu xử lý bằng phương pháp sấy chân không ở nhiệt độ 60°C hàm lượng betacyanin được giữ lại cao nhất là 23,07 mg/100 g, ở 50°C hàm lượng betacyanin là 19,97 mg/100 g, nhưng cùng phương pháp này ở 40°C hàm lượng betacyanin còn lại rất thấp, khoảng 8 mg/100 g. Đối với phương pháp sấy khô ở áp suất khí quyển, hàm lượng betacyanin còn lại ở mức ổn định và không có sự chênh lệch lớn ở mức nhiệt độ 60, 70, 80°C, lần lượt là 20,89 mg/100 g, 21,08 mg/100 g, 20,82 mg/100 g [20]. Ngoài ra, Yan Liu và cs (2021) [21] cho rằng, việc kết hợp các phương pháp sấy chân không ở 60°C sau đó là sấy vi sóng công suất thấp (LMD) 650 W, thời gian sấy 308 phút có hàm lượng betacyanin cao nhất (4,09 mg/g), cao hơn so với các phương pháp sấy riêng lẻ. Sự khác biệt giữa các chế độ sấy ảnh hưởng đến tốc độ thoát ẩm và độ ẩm cuối của quá trình sấy, do đó ảnh hưởng đến sự phân hủy betacyanin.

Các nghiên cứu đã đề cập ở trên chỉ ra rằng, phương pháp chế biến có ảnh hưởng đến hàm lượng betacyanin. Các phương pháp chế biến tiên tiến như sấy chân không, xử lý vi sóng ở công suất thấp, hút chân không… có thời gian chế biến ngắn hơn, loại bỏ được yếu tố oxi hóa và nhiệt độ xử lý thấp hơn giúp giữ lại hàm lượng betacyanin cao so với các phương pháp chế biến truyền thống. Đây là cơ sở để tiếp tục mở rộng nghiên cứu và ứng dụng các kỹ thuật chế biến tiên tiến nhằm bảo vệ chất lượng và chất màu của thực phẩm chế biến.

2.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng betacyanin trong quá trình bảo quản rau quả

2.2.1. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng

Nghiên cứu của Thanh và cs (2017) [5] xác định ảnh hưởng của ánh sáng đối với chất màu betacyanin trong nước ép thanh long ruột đỏ thanh trùng khi chứa trong chai thủy tinh trong suốt và trong chai thủy tinh nâu tồn trữ trong 3 tuần. Kết quả cho thấy, bảo quản trong điều kiện không ngăn ánh sáng, mẫu chứa trong bao bì thủy tinh màu nâu duy trì sắc tố betacyanin tốt hơn

mẫu chứa trong bao bì thủy tinh trong. Nếu có ngăn sáng thì hàm lượng betacyanin trong mẫu chứa trong chai thủy tinh nâu hay trong suốt thay đổi không đáng kể. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Razak và cs (2017) [22], theo đó, hàm lượng betacyanin khi bảo quản trong điều kiện có ánh sáng, một lượng rất lớn betacyanin bị phân huỷ, khoảng 93,82% sau 24 giờ. Tương tự, Trinh và cs (2018) [6] bảo quản nước ép thanh long ruột đỏ chứa trong lọ thuỷ tinh và lọ nhựa, tại nhiệt độ 30 ± 2°C trong 5 tuần, mẫu nước ép thanh long ruột đỏ không tiếp xúc với ánh sáng có hàm lượng betacyanin duy trì tốt hơn. Vi (2017) [23] khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng đến độ bền màu của dịch chiết betacyanin từ quả xương rồng Nopal *(Opuntia species),* được lưu trữ trong 10 ngày, kết quả cho thấy, ở điều kiện có ánh sáng, màu sắc dịch chiết biến đổi nhanh hơn so với không có ánh sáng. Sau 10 ngày bảo quản có ánh sáng, hàm lượng betacyanin giảm 57% so với ban đầu. Đối với mẫu không có ánh sáng, hàm lượng betacyanin giảm 48,8%. Khandaker và cs (2009) [9] thực hiện thí nghiệm với mẫu dịch chiết rau dền đặt dưới đèn trắng (ánh sáng) với cường độ ánh sáng 1.000 µmol/m^2s và trong điều kiện không có ánh sáng ở nhiệt độ phòng (25 ± 1^{0}C) trong 10 giờ bảo quản, kết quả cho thấy, ở điều kiện có ánh sáng, betacyanin giảm dần và thay đổi màu từ đỏ đến nâu nhạt, nhưng trong điều kiện không có ánh sáng sẽ ổn định và màu sắc không thay đổi. Kết quả về độ ổn định của chất màu betacyanin trong trái mồng tơi cũng được xác định [24]. Các mẫu được chứa bên trong lọ thủy tinh có nắp đậy kín, được xử lý ở nhiệt độ 0 - 70^{0}C, trong 1 giờ và tồn trữ trong 5 ngày, kết quả cho thấy, ở điều kiện có ánh sáng, betacyanin ổn định khi bảo quản ở nhiệt độ 0, 10 và 20^{0}C, trong khi đó, với điều kiện không có ánh sáng, betacyanin ổn định khi bảo quản ở 0, 10, 20 và 30^{0}C. Các nghiên cứu được đề cập đều cho thấy, ánh sáng là yếu tố gây ra sự phân huỷ betacyanin trong quá trình bảo quản. Việc bảo quản các sản phẩm có chứa betacyanin nên ở điều kiện không có ánh sáng hoặc chứa trong các bao bì tối màu sẽ giữ lại được hàm lượng betacyanin tốt nhất.

2.2.2. Ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ bảo quản rau quả

Trong hầu hết các nghiên cứu, nhiệt độ luôn có mối tương quan với thời gian khi nghiên cứu sự ổn định của betacyanin. Mối tương quan này cũng được thể hiện ở nghiên cứu của Woo và cs (2011) [4] về ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản đến sự ổn định của betalain ở nước ép thanh long ruột đỏ. Các mẫu được gia nhiệt ở nhiệt độ 25, 50 và 85^{0}C, được bảo quản ở 4^{0}C, 25^{0}C trong 3 tuần lưu trữ. Kết quả cho thấy, các mẫu được bảo quản ở 25°C mất khoảng 90% sắc tố betacyanin. Ngược lại, mẫu bảo quản ở nhiệt độ 4^{0}C không có sự thay đổi màu sắc đáng kể cho đến tuần lưu trữ thứ ba. Nghiên cứu kết luận rằng, bảo quản ở nhiệt độ thấp đã ổn định màu sắc của hầu hết các mẫu thử nghiệm. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Lin và cs (2022) [25], với tỷ lệ betacyanin được giữ lại sau 3 tuần bảo quản đạt 75,54; 67,57 và 20,28% ở 4, 25 và 37^{0}C tương ứng. Ngoài ra, ở nghiên cứu của Yong và cs (2018) [26], hàm lượng betacyanin của quả thanh long ruột đỏ sau 5 ngày bảo quản ở 4^{0}C tăng từ 0,38 g/kg lên 0,46 g/kg. Ở ngày 6, hàm lượng betacyanin tăng lên 0,63 ± 0,04 g/kg (tăng 57,2%), nhưng giảm nhẹ vào ngày 7. Sự gia tăng hàm lượng betacyanin của thanh long ruột đỏ có thể là do quá trình thủy phân xảy ra và gây ra sự hình thành acid betalamic liên kết với axit 5,6-dihydroxyindoline-2-cacboxylic (xyclo - DOPA) hình thành betacyanin. Như vậy, ngoài việc giúp giữ lại hàm lượng betacyanin cao, nhiệt độ bảo quản thấp cũng có thể gia tăng hàm lượng betacyanin khi bảo quản nguyên trái thanh long. Ngoài nghiên cứu trên quả thanh long ruột đỏ thì ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản ở một số loại rau củ khác cũng được nghiên cứu. Popa và cs (2015) [27] bảo quản dịch chiết củ dền và chỉ ra tốc độ phân hủy của sắc tố củ dền tăng lên khi nhiệt độ tăng từ 22^{0}C lên 75^{0}C. Pandey và cs (2018) [28] bảo quản củ dền sấy khô trong 150 ngày, ở 10^{0}C, hàm lượng betacyanin giảm 17,57%, ở 25^{0}C hàm lượng betacyanin giảm 32,29%, ở 40^{0}C không thích hợp cho mục đích bảo quản củ dền vì tỷ lệ hao hụt tối đa lên đến 58%. Nghiên cứu của Tobolková và cs (2020) [29], Kayın và cs (2019) [30] cũng cho kết quả tương tự với các nghiên cứu khi bảo quản nước ép củ dền. Vi (2017) [23] nghiên cứu mẫu dịch chiết betacyanin ở quả xương rồng Nopal cho thấy, màu dịch chiết biến

đổi nhanh chóng khi bảo quản ở nhiệt độ 30^0C, trong khi ở nhiệt độ 4^0C màu biến đổi chậm hơn. Sau 10 ngày bảo quản ở nhiệt độ 30^0C, hàm lượng betacyanin trong dịch chiết giảm 48,8%. Trong khi ở điều kiện bảo quản 4^0C thì hàm lượng betacyanin giảm khoảng 11,1%.

Sau khi nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản quản rau quả có thể thấy xu hướng bảo quản rau quả ở nhiệt độ càng cao và thời gian càng dài dẫn đến hàm lượng betacyanin bị phân huỷ càng nhiều. Dựa vào các nghiên cứu trên có thể nhận định rằng, nhiệt độ dưới 25°C có thể là phù hợp để bảo quản các sản phẩm có chứa betacyanin, nhiệt độ khoảng 4°C có thể gia tăng thời gian bảo quản betacyanin và giữ lại hàm lượng betacyanin cao.

2.2.3. Ảnh hưởng của chất chống oxy hóa và chất mang bổ sung vào sản phẩm sau khi chế biến rau quả

Ngoài bổ sung chất chống oxy hóa trong quá trình chế biến rau quả, việc bổ sung chất chống oxy hóa trong quá trình bảo quản quản rau quả đã được báo cáo là góp phần làm ổn định chất màu betacyanin. Nghiên cứu của Tang và cs (2010) [11] cho thấy, bổ sung axit ascobic với nồng độ 0,25% vào dịch chiết quả thanh long ruột đỏ, bảo quản ở 5 và 25^0C giữ lại hàm lượng betacyanin cao sau 28 ngày bảo quản, tương ứng 91,6% ở 5^0C và 70,9% ở 25^0C. Nghiên cứu của Khan và Giridhar (2014) [17] cũng cho thấy, bổ sung 0,25% axit ascobic sau khi chế biến, hàm lượng betacyanin trong nước ép quả rì việt giữ lại 98% sau 90 ngày ở 4C. Linh và cs (2020) [31] bổ sung axit ascobic với tỷ lệ 0,5% (w/v) có tỷ lệ betacyanin được giữ lại cao nhất, khoảng 98% sau 4 tuần. Tương tự, Leong và cs (2018) [32] xác định bổ sung axit ascobic 0,5% (w/v) vào nước ép thanh long trong quá trình bảo quản giữ lại hàm lượng betacyanin tương đối cao, cao hơn so với các nồng độ bổ sung 0,1% và 1%. Các nghiên cứu trên cho thấy, bổ sung axit ascobic với nồng độ 0,25 - 0,5% giúp hạn chế sự phân hủy betacyanin trong quá trình bảo quản. Ngoài ra, khi bổ sung guar gum vào chiết xuất vỏ quả và thịt quả cũng được báo cáo là góp phần ổn định betacyanin. Trong nghiên cứu của Leong và cs (2018) [32], chiết xuất vỏ quả và thịt quả được bổ sung guar gum với các nồng độ 0,1; 0,5 và 1,0% (w/v) khi bảo quản không có ánh sáng ở 4^0C cho thấy khả năng lưu giữ betacyanin cao hơn (tỷ lệ betacyanin giữ lại khoảng 47 - 66%) so với mẫu đối chứng ở cùng điều kiện nhưng không được bổ sung guar gum (tỷ lệ betacyanin giữ lại khoảng 42 - 52%) và nồng độ guar gum 0,5% giữ lại hàm lượng betacyanin cao hơn so với các nồng độ khác và so với mẫu đối chứng.

3. CÁC BIỆN PHÁP KỸ THUẬT HẠN CHẾ SỰ PHÂN HỦY BETACYANIN TRONG QUÁ TRÌNH CHẾ BIẾN VÀ BẢO QUẢN RAU QUẢ

Từ kết quả của các nghiên cứu trên, có thể thấy rằng:

Trong quá trình chế biến rau quả, việc kết hợp thông số nhiệt độ dưới 80°C, thời gian dưới 30 phút, nồng độ axit ascobic bổ sung trước khi chế biến với tỷ lệ 0,25 - 0,3% (w/w, w/v), có thể kết hợp với các tác nhân chống oxy hoá khác được cho là giải pháp đơn giản và tối ưu để hạn chế sự phân huỷ của betacyanin. Bên cạnh đó, áp dụng các kỹ thuật tiên tiến như gia nhiệt chân không, sóng nhiệt âm với điều kiện xử lý nhiệt "ôn hòa" hơn, hoặc áp dụng gia nhiệt vi sóng để có tốc độ gia nhiệt nhanh và đồng đều hơn giúp ổn định betacyanin.

Trong quá trình bảo quản rau quả, việc kết hợp giữa nhiệt độ bảo quản dưới 25°C với điều kiện không có ánh sáng (bằng cách bảo quản sản phẩm trong bao bì tối màu như thuỷ tinh nâu, bao bì được ngăn sáng) và bổ sung các chất chống oxy hoá sau khi chế biến như axit ascorbic có thể là giải pháp đơn giản và tối ưu nhằm hạn chế sự phân huỷ của betacyanin trong quá trình bảo quản và giúp kéo dài thời gian bảo quản sản phẩm.

Ngoài ra, ngày càng có nhiều các công trình nghiên cứu về các phương pháp chế biến tiên tiến khác không sử dụng nhiệt có thể thay thế cho các phương pháp chế biến truyền thống và có thể hạn chế sự phân huỷ của các hợp chất có hoạt tính sinh học nhạy nhiệt như kỹ thuật xử lý áp suất thuỷ tĩnh cao (High hydrostatic pressure-HHP). Hiệu quả của HHP đã được nghiên cứu trong thực phẩm có nguồn gốc thực vật. Nghiên cứu về ảnh hưởng của HHP đến chất lượng của betacyanin ở nước ép thơm - thanh long đã được thực hiện bởi

Sandate-Flores và cs (2017) [33], với áp suất 400, 500, 600 MPa trong 2, 5, 10 phút và nhiệt độ tối đa trong quá trình thực hiện là 31°C, kết quả cho thấy tỷ lệ betacyanin được giữ lại trong nước ép thơm-thanh long khi xử lý HHP từ 92 - 100%, không có sự khác biệt thống kê so với mẫu tươi ($p > 0,05$). Điều này cho thấy betacyanin hầu như không bị ảnh hưởng khi được xử lý bằng HHP. Nghiên cứu về sự thay đổi chất lượng của nước ép củ dền sau khi chế biến áp suất thủy tĩnh cao của Sokolowska và cs (2017) [34], được xử lý với áp suất 300, 400 và 500 MPa ở 20°C trong 10 phút đã làm giảm tổng số vi sinh vật gây hư hỏng xuống 3,8; 4,1 và 4,5 log CFU/ml tương ứng nhưng chỉ giảm hàm lượng betacyanin khoảng 11,3 - 12,2%, việc giảm đáng kể số lượng vi sinh vật gây hư hỏng với sự phân hủy nhẹ của chất màu cho thấy tiềm năng áp dụng áp suất cao để bảo quản nước ép củ dền. Nghiên cứu của Ubeira-Iglesias và cs (2019) [35] cũng cho rằng, không có thay đổi đáng kể nào về hàm lượng betacyanin ở nước ép củ dền ngay sau khi xử lý HHP ở 600 MPa, 3 phút ở nhiệt độ phòng khi tỷ lệ betacyanin được giữ lại sau khi xử lý đạt 96,5%.

4. KẾT LUẬN

Hợp chất betacyanin dễ bị phân hủy trong quá trình chế biến và bảo quản rau quả. Tổng hợp kết quả của các nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ nhỏ hơn 80°C, thời gian giữ nhiệt dưới 30 phút, bổ sung axit ascobic 0,25 - 0,3% (w/w, w/v) là điều kiện chế biến tối ưu giúp hạn chế sự phân hủy chất màu betacyanin. Các phương pháp chế biến có tốc độ gia nhiệt nhanh, đều và chế độ gia nhiệt thấp như xử lý vi sóng, sấy chân không, sóng nhiệt âm hoặc loại bỏ yếu tố gây oxi hóa như hút chân không giúp giữ lại hàm lượng betacyanin cao. Ngoài ra, pH có ảnh hưởng đến sự phân huỷ betacyanin trong quá trình chế biến rau quả, tuy nhiên pH tối ưu để hạn chế sự phân hủy betacyanin vẫn còn khác nhau ở nhiều nghiên cứu, cần được nghiên cứu thêm. Ánh sáng là yếu tố quan trọng gây ra sự phân huỷ betacyanin trong quá trình bảo quản rau quả, việc bảo quản ở điều kiện không có ánh sáng hoặc chứa trong các bao bì tối màu sẽ giữ lại được hàm lượng betacyanin tốt nhất. Nhiệt độ dưới 25°C phù hợp để bảo quản các sản phẩm chứa betacyanin và giữ lại hàm lượng betacyanin cao. Bổ sung chất chống oxy hóa như axit ascobic trong bảo quản cũng góp phần làm ổn định chất màu betacyanin. Ngoài ra, cũng đề xuất các phương pháp gia nhiệt tiên tiến khác như: gia nhiệt vi sóng, xử lý chân không, xử lý áp suất thủy tĩnh cao… có tiềm năng ổn định betacyanin, nhằm nâng cao chất lượng sản phẩm đồng thời tiết kiệm được thời gian và chi phí sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Strack D., Vogt T., Schliemann W. (2003). Recent advances in betalain research. Phytochem, 62(3): 247-269.

2. Cai Y., Sun M., Wu H., Huang R., Corke H. (1998). Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse Amaranthus species. Chemistry F, 46(6): 2063-2070.

3. Sadowska-Bartosz I., Bartosz G. (2021). Biological properties and applications of betalains. Molucules, 26(9): 2520.

4. Woo K., Ngou F., Ngo L., Soong W., Tang P. (2011). Stability of betalain pigment from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Am. J. Food Technol*, 6(2): 140-148.

5. Thanh Q. P. T., Le Duy N., Thu T. N. T., Anh N. T. T. (2017). Effect of processing and storage condition on the stability of betacyanin in juice of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus). Sci.J. Can Tho Uni.*, 51: 16-23.

6. Trinh N. T. N., Nguyen H. T. A., Phung T. P. M., Nguyen T. M. T., Nguyen T. P. T., Phan T. H. (2018). Factors affecting betacyanin stability in juice of LD5 Red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *J. Agric. Develop*, 17(6): 72-76.

7. Wong Y. M., Siow L. (2015). Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models. *J. Food Sci. Technol*, 52(5): 3086-3092.

8. Vu Thu Trang, Nguyen Thi Thao Nguyen, Nguyen Van Hung, Nguyen Tien Cuong, Hoang Quoc Tuan, Nguyen Thi Thao *et al.* (2020). Effect of Fermentation Factors on Red Dragon Juice from Lap Thach, Vinh Phuc province. JST: Eng. Tech for Sustainable Develop, 140: 071-076.

9. Khandaker L., Ali M. B., Oba S. (2009). Influence of cultivar and growth stage on pigments and processing factors on betacyanins in red amaranth (*Amaranthus tricolor* L.). Food Sci. Tech Int. 15(3): 259-265.

10. Liu Y., Duan Z., Sabadash S. editors (2020). Effect of hot air drying temperatures on drying characteristics and physicochemical properties of beetroot (*Beta vulgaris*) slices. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing.

11. Tang C., M. H. N. M. N. (2010). Stability of betacyanin pigments from red purple pitaya fruit (*Hylocereus polyrhizus*): Influence of pH, temperature, metal ions and ascorbic acid. *Indonesian Journal of Chemistry,* 7(3): 327-331.

12. Gengatharan A., Dykes G. A., Choo W. S. J. L. (2017). The effect of pH treatment and refrigerated storage on natural colourant preparations (betacyanins) from red pitahaya and their potential application in yoghurt. LWT-Food Sci. Tech. 80: 437-445.

13. Castellar R., Obón J. M., Alacid M., Fernández-López J. A. J. JoA. (2003). Color properties and stability of betacyanins from Opuntia fruits. Chemistry F, 51(9): 2772-2776.

14. Pátkai G., Barta J. (1996). Decomposition of betacyanins and betaxanthins by heat and pH changes. Mol. Nutr. Food Res, 40(5):267-270.

15. Huang A., ELBE J. (1987). Effect of pH on the degradation and regeneration of betanine. IFT-Food Sci., 52(6): 1689-1693.

16. Attoe E. L., Von Elbe J. H. (1982). Degradation kinetics of betanin in solutions as influenced by oxygen. Chemistry F, 30(4): 708-712.

17. Khan M. I., Giridhar P. (2014). Enhanced chemical stability, chromatic properties and regeneration of betalains in *Rivina humilis* L. berry juice. LWT- Food Sci. Tech, 58(2): 649-657.

18. Ravichandran K., Saw N. M. M. T., Mohdaly A. A., Gabr A. M., Kastell A., Riedel H., *et al.* (2013). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. Food. Res. Int. 50(2): 670-675.

19. Zhu W., Ai Y., Fang F., Liao H. (2021). Application of thermosonication in red pitaya juice processing: Impacts on native microbiota and quality properties during storage. Foods, 10(5): 1041.

20.Székely D., Illés B., Stéger-Máté M., Monspart-Sényi J. J. A. U. S., Alimentaria (2016). Effect of drying methods for inner parameters of red beetroot (*Beta vulgaris* L.), Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria, 9: 60-68.

21. Liu Y., Sabadash S., Duan Z. editors (2021). Effect of microwave-assisted drying methods on the physicochemical properties of beetroots. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science; IOP Publishing.

22. Razak U. N. A. A., Taha R., Musa S. A. NiC., Mohamed N. J. P. (2017). Detection of betacyanins pigment stability from *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose fruit pulp and peel for possible use as natural coating. Pigment & Resin Tech. 46(4): 303-308.

23. Vi V. T. (2017). The effect of light, temperature, ph on stability of betacyanin pigments extracted from pricky pear cactus fruit. HCM Uni. of Food Industry.

24. Reshmi S., Aravindhan K., Devi P. (2012). The effect of light, temperature, pH on stability of betacyanin pigments in basella alba fruit. *Asian J. Pharm. Clin.* Res, 5(4): 107-110.

25. Lin X., Li B., Wen J., Wu J., Tang D., Yu Y. (2022). Storage Stability and In Vitro Bioaccessibility of Liposomal Betacyanins from Red Pitaya (*Hylocereus polyrhizus).* Molecules, 27(4): 1193.

26. Yong Y. Y., Dykes G., Lee S. M., Choo W. S. (2018). Effect of refrigerated storage on betacyanin composition, antibacterial activity of red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) and cytotoxicity evaluation of betacyanin rich extract on normal human cell lines, 91: 491-497.

27. Popa A., Moldovan B., David L. (2015). Betanin from Red Beet (*Beta vulgaris* L.) Extraction conditions and evaluation of the thermal stability. Rev. Chim. 66: 413-416.

28. Pandey G., Pandey V., Pandey P. R., Thomas G. J. (2018). Effect of extraction solvent temperature on betalain content, phenolic content, antioxidant activity and stability of beetroot (*Beta Vulgaris* L.) power under different storage conditions. Plant Archives, 18(2): 1623-1627.

29. Tobolková B., Polovka M., Daško Ľ., Belajová E., Durec J. (2020). Evaluation of qualitative changes of apple-beetroot juice during long-term storage at different temperatures. *J. Food Meas. Charact*,14(6): 3381-3388.

30. Kayın N., Atalay D., Türken Akçay T., Erge H. S. (2019). Color stability and change in bioactive compounds of red beet juice concentrate stored at different temperatures. Sci. Technol. 56(11): 5097-5106.

31. Linh D. T. M., Mai N. T. Q., Thuy P. T. P. (2020). Optimization of microwave-assisted extraction of betacyaninfrom red dragon fruit peels. Hue Uni. *J. Science natural Science*, 129(1A): 11-20.

32. Leong H. Y., Ooi C. W., Law C. L., Julkifle A. L., Pan G. T., Show P. L. (2018). Investigation of betacyanins stability from peel and flesh of red-purple pitaya with food additives supplementation and pH treatments. LWT, 98: 546-558.

33. Sandate-Flores L., Rostro-Alanis MdJ, Mancera-Andrade E. I., Esquivel-Hernandez D. A., Brambila-Paz C., Parra-Saldívar R., *et al.* (2017). Using high hydrostatic pressures to retain the antioxidant compounds and to reduce the enzymatic activity of a pitaya–pineapple (Stenocereus sp.–Fragaria ananassa) beverage. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 54(3): 611-619.

34. Sokołowska B., Woźniak Ł., Skąpska S., Porębska I., Nasiłowska J., Rzoska S. (2017). Evaluation of quality changes of beetroot juice after high hydrostatic pressure processing. High Pressure Res, 37(2): 214-222.

35. Ubeira-Iglesias M., Wilches-Pérez D., Cavia M. M., Alonso-Torre S., Carrillo C. (2019). High hydrostatic pressure processing of beetroot juice: Effects on nutritional, sensory and microbiological quality. High Pressure Res, 39(4): 691-706.

CHANGES OF BETACYANIN CONTENT IN FRUIT AND VEGETABLES DURING PROCESSING AND STORAGE - TECHNICAL MEASURES TO PREVENT BETACYANIN DEGRADATION

Doan Nhu Khue, Vo Thi Thin, Nguyen Minh Trung,
Nguyen Nhu Thuan, Nguyen Thi Huong, Le Nhat Tam, Pham Minh Tuan

Summary

Betacyanin is an antioxidant compound found in high concentrations in some fruits and vegetables in Vietnam. Betacyanin is also a natural colorant, widely used in food products. This review presented the changes in betacyanin content during processing and storage. The influence of factors such as temperature, pH, antioxidants, processing methods, light, and storage conditions on the degradation of betacyanin was synthesized, thereby determining the appropriate treatment parameters and proposing measures to limit the degradation of betacyanin. Processing temperature below 80°C and keeping time under 30 minutes, adding 0.25-0.3% ascorbic acid (w/v) limited the degradation of betacyanin. Advanced methods such as microwave heating, processed under vacuum conditions... retained higher betacyanin content than conventional heating. In addition, pH has an influence on betacyanin content during processing, however, the optimal pH to limit betacyanin degradation was still different in many publications and more research is needed. Storing in a dark place or in a dark container reduced the degradation of betacyanin. Temperature below 25°C was suitable for storing products containing betacyanin. The addition of antioxidants after processing also contributed to the stabilization of betacyanin pigment.

Keywords. *Betacyanin, change, processing, storage, fruits and vegetables.*

Người phản biện: TS. Phan Thế Đồng
Ngày nhận bài: 28/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 24/3/2023
Ngày duyệt đăng: 31/3/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY ĐẾN HÀM LƯỢNG POLYPHENOL VÀ CATECHIN TỪ VỎ LỤA HẠT ĐIỀU BẰNG VI SÓNG KẾT HỢP VỚI ENZYM VISCOZYME L.

Hoàng Văn Thảnh[1], Nguyễn Xuân Hoàn[1], Phạm Văn Hùng[2,*]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xác định ảnh hưởng của điều kiện trích ly đến khả năng thu hồi các hoạt chất polyphenol và catechin từ vỏ lụa hạt điều bằng vi sóng kết hợp với enzym Viscozyme L. Các yếu tố khảo sát trong nghiên cứu gồm: công suất và thời gian vi sóng. Hàm lượng polyphenol và catechin dùng để đánh giá hiệu quả của ba quá trình trích ly gồm: trích ly hoàn toàn bằng xử lý vi sóng, trích ly bằng xử lý enzym trước vi sóng sau và trích ly bằng xử lý vi sóng trước enzym sau. Kết quả cho thấy, khi trích ly bằng vi sóng hàm lượng polyphenol và catechin đạt giá trị cao nhất lần lượt là 256,7 ± 1,4 mg GAE/g chất khô và 39,9 ± 1,3 mg CE/g chất khô tại công suất 400 W và thời gian 60 giây. Khi trích ly bằng enzym trước, sau đó tiếp tục trích ly bằng vi sóng cho hàm lượng polyphenol và catechin đạt giá trị cao nhất lần lượt là 291,2 ± 1,9 mg GAE/g chất khô và 53,9 ± 1,2 mg CE/g chất khô với công suất 400 W và thời gian 60 giây. Ở điều kiện còn lại, khi trích ly bằng vi sóng kết hợp với enzym Viscozyme L, hàm lượng polyphenol và catechin đạt giá trị cao nhất lần lượt là 289,3 ± 3,8 mg GAE/g chất khô và 41,5 ± 3,6 mg CE/g chất khô tại công suất 400 W và thời gian 30 giây. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi trích ly bằng vi sóng kết hợp với enzym cho hiệu quả trong trích ly hoạt chất polyphenol và catechin từ vỏ lụa hạt điều.

Từ khóa: *Catechin, enzyme, polyphenol, vi sóng, Viscozyme L.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vỏ lụa hạt điều đã được nghiên cứu và công bố cho thấy trong thành phần chứa nhiều các hợp chất sinh học như polyphenol, catechin, flavonoid, EGCG,… Vỏ lụa hạt điều chiếm từ 1 - 3% khối lượng của hạt và là một nguồn giàu chất tanin dạng cao phân tử bao gồm các chất polyphenol [1]. Hàm lượng các chất tanin, polyphenol, catechin trong vỏ lụa hạt điều được tìm thấy cao hơn trà xanh và socola đen [2]. Đây là những hợp chất có khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, chống viêm và chống dị ứng [3]. Việc tiêu thụ polyphenol có nguồn gốc từ thực vật được quan tâm đặc biệt do khả năng chống oxy hóa cao và đặc tính chống viêm, cũng như khả năng tăng tổng hợp oxit nitric (NO), cải thiện sức khỏe tim mạch, huyết áp [4, 5, 6, 7].

Polyphenol đã được nghiên cứu với kích thước nano bổ sung vào trong thực phẩm nhằm tăng khả năng hấp thu và chuyển hóa [8]. Trong khi đó, các loại catechin đặc biệt là EGCG đã được nghiên cứu trên đối tượng là trà xanh cho thấy, đây là nguồn chống oxy hóa dồi dào và mạnh mẽ trong việc điều trị ung thư đường tiêu hóa, đặc biệt ung thư thực quản,…[9]. Do đó, ngày càng có nhiều sự quan tâm đến các chất chống oxy hóa tự nhiên có nguồn gốc thực vật giúp cải thiện sức khỏe con người và phòng chống bệnh tật [10].

Đã có những nghiên cứu để thu nhận polyphenol từ vỏ lụa hạt điều bằng vi sóng cho hiệu quả khá cao [11], nhưng còn rất ít. Các nghiên cứu phần lớn sử dụng dung môi hữu cơ để trích ly các hoạt chất này. Tuy nhiên, phương pháp sử dụng dung môi hữu cơ có nhược điểm là không

[1] Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh
[2] Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[*]Email: pvhung@hcmiu.edu.vn

thân thiện với môi trường. Ngày nay, công nghệ đang hướng tới sử dụng các phương pháp xanh, sạch, thân thiện với môi trường, như sử dụng enzym, vi sóng, siêu âm,… để trích ly các hoạt chất sinh học từ thực vật. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là xác định điều kiện trích ly polyphenol và catechin từ vỏ lụa hạt điều bằng vi sóng, vi sóng kết hợp với enzym và ngược lại.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

2.1.1. Nguyên liệu

Vỏ lụa hạt điều được sử dụng trong nghiên cứu này có nguồn gốc từ huyện Phú Riềng, tỉnh Bình Phước. Mẫu thu nhận từ cơ sở sản xuất hạt điều vận chuyển về phòng thí nghiệm, tiến hành sơ chế để loại bỏ tạp chất. Mẫu được nghiền nhỏ với kích thước từ 0,5 - 1 mm với tốc độ 3.000 vòng/phút trong thời gian 1 phút bằng thiết bị nghiền khô (Cosuai, Trung Quốc). Mẫu sau khi nghiền được rây qua rây có kích thước từ 0,5 - 1 mm. Các mẫu được chia nhỏ, đựng trong túi PA và được hút chân không. Mẫu được bảo quản trong tủ đông -20^{o}C.

2.1.2. Hóa chất

Enzym Viscozyme L của hãng Novozymes, Folin-Ciocalteu (Merch-Đức), chuẩn catechin (Sigma-Mỹ), vanillin (Sigma-Mỹ), chuẩn axit gallic (Sigma-Mỹ), chuẩn Rutin (Đức).

2.2. Phương pháp trích ly bằng vi sóng kết hợp enzym

Trong nghiên cứu này, phương pháp trích ly bằng vi sóng (Sharp R-G222VN) kết hợp enzym được sử dụng để trích ly hàm lượng catechin, polyphenol với dung môi là nước. Chuẩn bị mỗi mẫu với khối lượng 1 g vỏ lụa hạt điều (đã được xử lý như mục 2.1) trộn với 20 ml nước cất (tỷ lệ nguyên liệu/dung môi: 1/20 (w/v) theo kết quả nghiên cứu trước đó). Hỗn hợp được tiến hành trích ly với ba phương pháp khác nhau, gồm:

Trích ly bằng vi sóng: Vỏ lụa hạt điều được trích ly với nước theo tỷ lệ 1 : 20 (w/v), tiến hành khảo sát ảnh hưởng của công suất vi sóng (80, 240, 400, 560, 800 W) và thời gian vi sóng (30, 60, 90, 120 giây) đến hàm lượng polyphenol tổng và catechin.

Trích ly bằng enzym kết hợp vi sóng: Vỏ lụa hạt điều được trích ly lần thứ nhất với enzym Viscozyme L với các thông số tỷ lệ nguyên liệu/nước: 1 : 20 (w/v), nồng độ enzym 2% (v/w), thời gian 60 phút, pH = 4 (dựa trên kết quả khảo sát sơ bộ). Sau khi trích ly lần thứ nhất, mẫu tiếp tục trích ly lần thứ 2 bằng vi sóng với các thông số khảo sát là công suất vi sóng (80, 240, 400, 560, 800 W) và thời gian vi sóng (30, 60, 90, 120 giây) đến hàm lượng polyphenol tổng và catechin.

Trích ly bằng vi sóng kết hợp enzym: Vỏ lụa hạt điều được trích ly lần thứ nhất với vi sóng, khảo sát các thông số: công suất vi sóng (80, 240, 400, 560, 800 W) và thời gian vi sóng (30, 60, 90, 120 giây). Sau khi trích ly lần thứ nhất, mẫu tiếp tục trích ly lần thứ 2 bằng enzym Viscozyme L với các thông số tỷ lệ nguyên liệu/nước: 1 : 20 (w/v), nồng độ enzym 2% (v/w), thời gian 60 phút. Hàm mục tiêu là polyphenol và catechin.

Các mẫu sau khi trích ly được đem ly tâm (Hermle, Z216, Đức) ở tốc độ 5.500 vòng/phút ở nhiệt độ 4^{o}C trong khoảng thời gian 15 phút. Mẫu sau đó tiến hành lọc loại bỏ cặn trước khi đem đi phân tích.

2.3. Phương pháp xác định hàm lượng catechin tổng

Hàm lượng catechin được xác định theo phương pháp của Sun và cs (1999) [12] với một vài hiệu chỉnh nhỏ cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Lấy 1 ml dịch chiết từ vỏ lụa hạt điều (pha loãng đến nồng độ phù hợp) trộn với 2,5 ml hỗn hợp vanilin (1%) và H_2SO_4 (9 N). Hỗn hợp được trộn đều và ủ ở 30^{o}C trong bóng tối trong thời gian 15 phút. Sau đó, đo độ hấp thu quang học ở bước sóng 500 nm. Chất chuẩn catechin được sử dụng để xây dựng đường chuẩn với các nồng độ khác nhau (0-100 μg/mL). Từ phương trình đường chuẩn tính toán hàm lượng catechin thu được.

2.4. Phương pháp xác định hàm lượng phenolic tổng

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu như công bố bởi

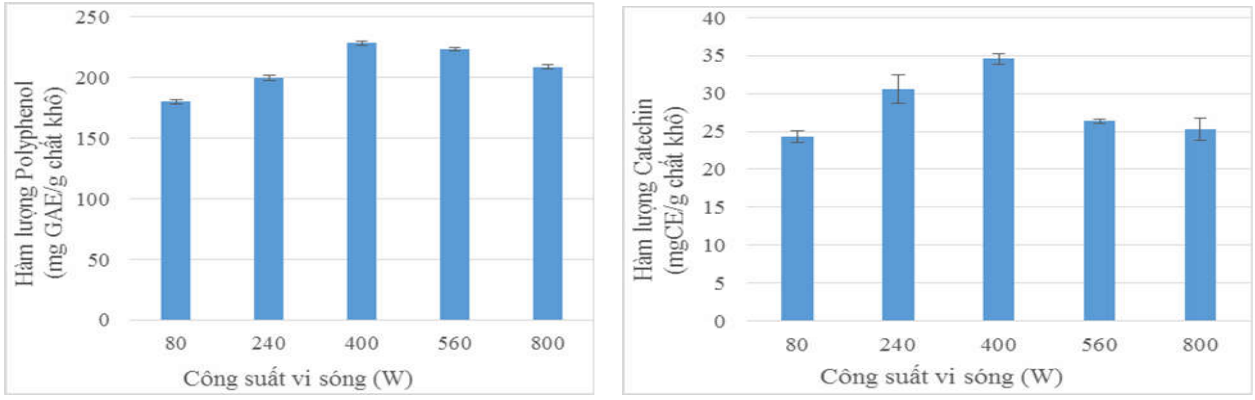
Fu và cs (2011) [13]. Dịch chiết vỏ lụa hạt điều (0,5 ml) ở nồng độ pha loãng phù hợp được phối trộn với 2,5 ml dung dịch Folin-Ciocalteu (đã pha loãng 10 lần) và được đồng nhất bằng máy Vortex. Sau khi để dung dịch phản ứng trong 4 phút, tiếp tục thêm 2 ml dung dịch Na_2CO_3 7,5% và lắc đều. Để dung dịch ở nhiệt độ phòng trong bóng tối trong thời gian 2 giờ, sau đó dung dịch được đo độ hấp thu quang học ở bước sóng 760 nm bằng máy quang phổ (PhotoLab 7600 UV-Vis, WTW, Germany). Gallic axit được dùng làm chất chuẩn. Mẫu trắng cũng tiến hành tương tự chỉ thay 0,5 ml mẫu bằng nước cất.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của điều kiện trích ly bằng vi sóng

3.1.1. Ảnh hưởng của công suất vi sóng đến hàm lượng catechin và polyphenol

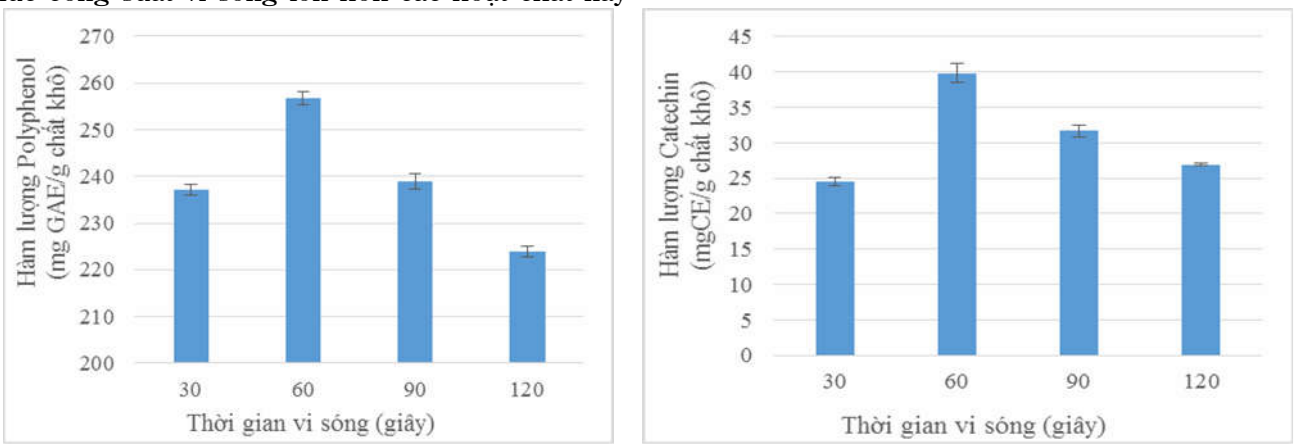
Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi tăng mức công suất vi sóng từ 80 W lên 400 W với thời gian cố định là 30 giây, hàm lượng polyphenol tổng và catechin tăng dần. Cụ thể, mức công suất 400 W hàm lượng polyphenol tổng và catechin cao nhất lần lượt là 228,6 ± 1,8 mg GAE/g chất khô và 34,5 ± 0,7 mg CE/g chất khô. Tiếp tục tăng mức công suất vi sóng từ 560 W lên 800 W cho thấy hàm lượng polyphenol tổng và catechin đều có xu hướng giảm dần.



Hình 1. Ảnh hưởng của công suất vi sóng đến hàm lượng polyphenol và catechin

Kết quả này có thể được giải thích như sau: Khi tăng dần mức công suất vi sóng, các phân tử nước chuyển động liên tục làm phá vỡ thành tế bào giúp giải phóng các chất có trong nội bào ra bên ngoài. Vì vậy, ở mức công suất thấp hơn khả năng khuếch tán và lôi kéo các hoạt chất polyphenol và catechin thấp hơn. Bên cạnh đó, mức công suất vi sóng lớn hơn các hoạt chất này lại có xu hướng giảm, điều này một phần là do ở mức công suất lớn khả năng khuếch tán tăng nhưng sự gia tăng về nhiệt độ đã làm phân hủy và giảm hàm lượng polyphenol tổng và catechin trích ly được.

3.1.2. Ảnh hưởng của thời gian vi sóng đến hàm lượng catechin và polyphenol



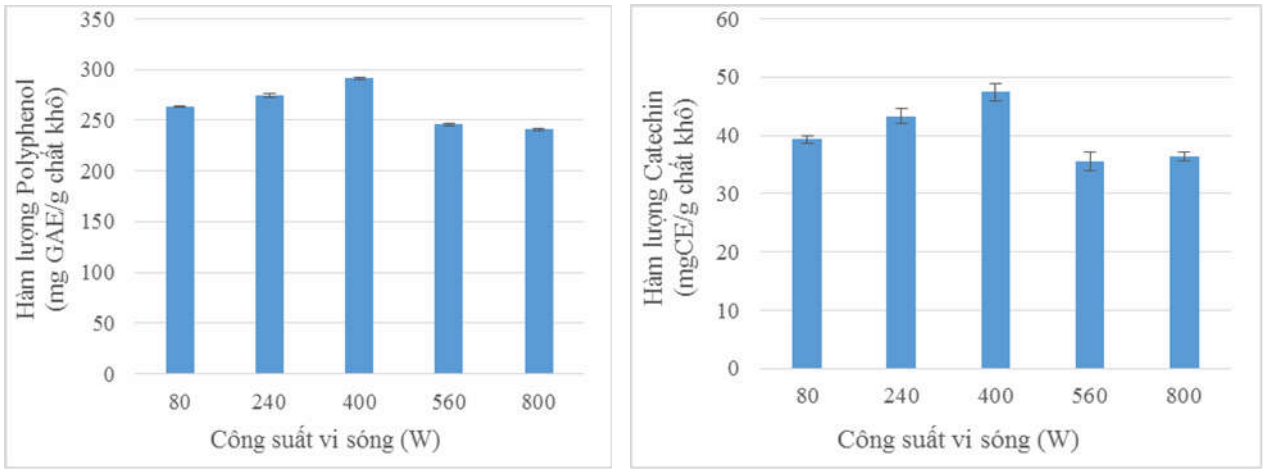
Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian vi sóng đến hàm lượng polyphenol và catechin

Hình 2 cho thấy, khi cố định công suất vi sóng 400 W và tăng thời gian từ 30 - 60 giây, hàm lượng catechin và polyphenol trích ly được đều tăng dần. Ở thời gian 60 giây cho thấy, hàm lượng catechin và polyphenol đạt giá trị cao nhất, lần lượt là 39,9 ± 1,3 mg CE/g chất khô và 256,7±1,4 mg GAE/g chất khô. Tiếp tục kéo dài thời gian vi sóng từ 90 - 120 giây, hàm lượng catechin và polyphenol có xu hướng giảm dần. Dưới tác động của công suất vi sóng kết hợp với thời gian kéo dài ít nhiều đã tác động lên các hoạt chất trích ly được từ trong nguyên liệu. Do vậy, catechin và polyphenol có xu hướng giảm dần ở các mốc thời gian dài hơn. Thời gian 60 giây là mức được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của điều kiện trích ly bằng enzym Viscozyme L kết hợp với vi sóng

3.2.1. Ảnh hưởng của công suất vi sóng đến hàm lượng catechin và polyphenol

Thí nghiệm này được bố trí với mục đích kiểm tra sự tác động của điều kiện kết hợp giữa enzym và vi sóng đến hàm lượng catechin và polyphenol trích ly được. Hình 3 cho thấy, khi cố định thời gian vi sóng 60 giây và nâng mức công suất vi sóng từ 80 W lên 400 W, hàm lượng catechin, polyphenol có xu hướng tăng dần và cho hàm lượng cao nhất ở 400 W. Hàm lượng catechin cao nhất 47,4 ± 1,6 mg CE/g chất khô, hàm lượng polyphenol cao nhất là 291,2 ± 1,1 mg GAE/g chất khô. So với điều kiện trích ly bằng vi sóng, ở điều kiện kết hợp này cho thấy, hàm lượng polyphenol và catechin cho hàm lượng cao hơn. Dưới tác động của enzym làm phân cắt các liên kết trong nguyên liệu, sự quay cực liên tục của các phân tử nước do vi sóng tạo ra làm phá vỡ thành tế bào nên giải phóng các hoạt chất được nhiều hơn. Thí nghiệm này cho thấy, khi tăng dần các mức công suất vi sóng, hàm lượng polyphenol và catechin đều giảm dần. Sự gia tăng về công suất vi sóng làm gia đăng nhiệt độ trích ly. Do vậy, các mức công suất cao hơn hàm lượng polyphenol và catechin đều giảm xuống.

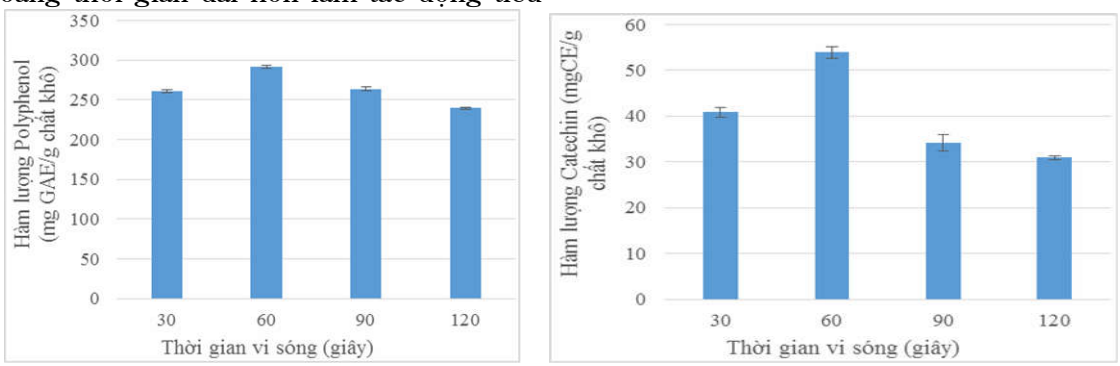


Hình 3. Ảnh hưởng của công suất vi sóng đến hàm lượng polyphenol và catechin khi trích ly bằng enzym có hỗ trợ vi sóng

3.2.2. Ảnh hưởng của thời gian vi sóng đến hàm lượng catechin và polyphenol

Hình 4 cho thấy, khi tăng thời gian vi sóng từ 30 - 60 giây, hàm lượng polyphenol (260,8 ± 1,3 đến 291,2 ± 1,9 mg GAE/g chất khô) và catechin (40,8 ± 1,1 đến 53,9 ± 1,2 mg CE/g chất khô) trích ly được đều có xu hướng tăng. Trong điều kiện vi sóng, các phân tử nước quay cực liên tục làm gia tăng nhiệt độ trong thành nội bào. Theo Hahn và cs (2012) [14], thành tế bào bị phá vỡ làm giải phóng các hoạt chất có trong nguyên liệu. Khi thành tế bào bị phá vỡ, enzym dễ dàng phân cắt để chiết tách các chất có trong nguyên liệu. Ở một khoảng thời gian nhất định, enzym có khoảng hoạt động tối thích. Hình 4 cho thấy, trong điều kiện kết hợp enzym với vi sóng, các hoạt chất trích ly được tốt nhất ở 60 giây, thời gian này khả năng giải phóng của polyphenol và catechin cho giá trị cao nhất, lần lượt là 291,24±1,88 mg GAE/g chất khô và 53,92±1,25 mg CE/g chất khô. Tiếp tục tăng

thời gian vi sóng lên 90 - 120 giây, hàm lượng polyphenol và catechin đều giảm. Điều này có thể do ở khoảng thời gian dài hơn làm tác động tiêu cực đến sự phân hủy hoặc làm giảm khả năng chiết tách.

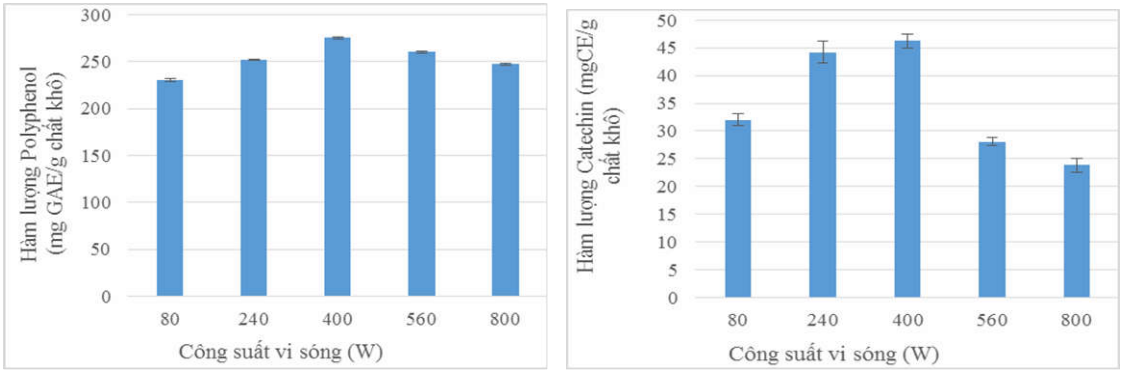


Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian vi sóng đến hàm lượng polyphenol và catechin khi trích ly bằng enzym có hỗ trợ vi sóng

3.3. Ảnh hưởng của điều kiện trích ly bằng vi sóng kết hợp với enzym Viscozyme L

3.3.1. Ảnh hưởng của công suất vi sóng đến hàm lượng catechin và polyphenol

Hình 5 cho thấy, khi tiến hành trích ly trong điều kiện sử dụng vi sóng kết hợp với enzym Viscozyme L, hàm lượng polyphenol và catechin đều có xu hướng tăng khi tăng công suất từ 80 W lên 400 W tại thời gian 60 giây. Cụ thể, hàm lượng lượng polyphenol tăng 230,33±1,69 mg GAE/g chất khô lên 275,50±1,11 mg GAE/g chất khô; hàm lượng catechin tăng 32,05±1,05 mg CE/g chất khô lên 46,22±1,18 mg CE/g chất khô. Hai giá trị này có giá trị cao nhất ở công suất 400 W dưới sự hỗ trợ của enzym Viscozyme L. Tiếp tục tăng các mức công suất trích ly cao hơn cùng với sự hỗ trợ của enzym Viscozyme L, hàm lượng polyphenol và catechin đều có xu hướng giảm dần. Sự gia tăng về công suất làm gia tăng nhiệt độ ảnh hưởng đến khả năng hoạt động của enzym. Do vậy, khi tăng mức công suất vi sóng lên cao, hiệu quả của quá trình trích ly bị giảm xuống nên hàm lượng polyphenol và catechin đều giảm ở các mức công suất lớn hơn 400 W.

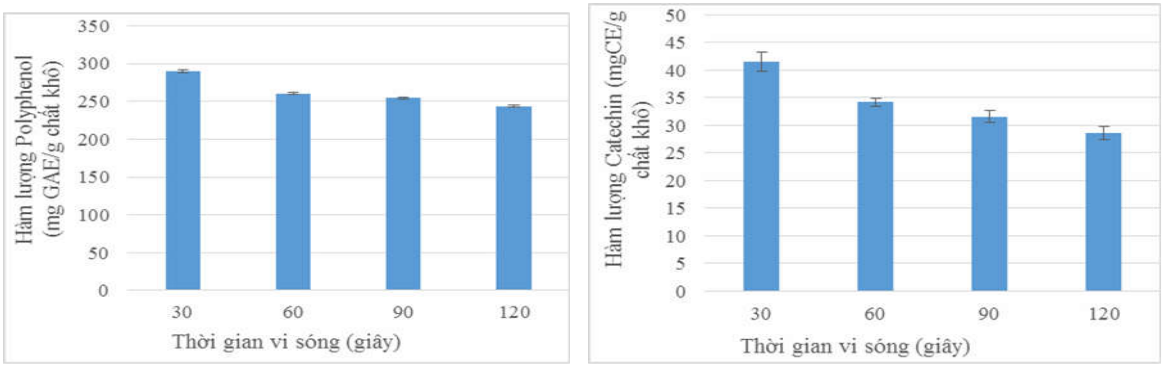


Hình 5. Ảnh hưởng của công suất vi sóng đến hàm lượng polyphenol và catechin khi trích ly bằng vi sóng có hỗ trợ enzym

3.3.2. Ảnh hưởng của thời gian vi sóng đến hàm lượng catechin và polyphenol

Hình 6 cho thấy, khi cố định yếu tố công suất 400 W và tăng thời gian trích ly thì hiệu quả của quá trình trích ly giảm dần. Hàm lượng polyphenol và catechin cao nhất tại thời gian 30 giây với hàm lượng lần lượt là 289,306±1,81 mg GAE/g chất khô và 41,538±2,65 mg CE/g chất khô. Các mức thời gian trích ly dài hơn, hàm lượng polyphenol và catechin đều giảm xuống. Điều này cho thấy, khi trích ly ở công suất vi sóng 400 W và thời gian 30 giây khả năng giải phóng các hợp chất cần trích ly hiệu quả hơn. Tiếp tục kéo dài thời gian enzym bị bất hoạt, polyphenol, catechin cũng bị tác động bởi yếu tố nhiệt độ và thời gian.

Từ kết quả này có thể nhận thấy, khi trích ly bằng vi sóng kết hợp với enzym Viscozyme L cho hàm lượng polyphenol tổng và catechin cao hơn so với khi trích ly bằng vi sóng nhưng thấp hơn khi trích ly bằng enzym kết hợp với vi sóng. Theo Hemwimon và cs (2007) [15], dưới tác động của năng lượng vi sóng làm phá vỡ các mô và thành tế bào dẫn đến diện tích tiếp xúc lớn hơn giữa pha rắn và pha lỏng, tạo điều kiện cho dung môi tiếp cận tốt hơn với các thành phần có trong nguyên liệu, nhờ vậy enzym hoạt động hiệu quả hơn. Mặc dù vậy, khi sử dụng vi sóng để tiến hành trích ly trước, enzym sau, hàm lượng polyphenol và catechin cho hiệu quả trích ly thấp hơn so với trích ly bằng enzym trước, vi sóng sau. Điều này có thể do khi sử dụng bằng vi sóng trước, sự gia tăng về công suất vi sóng làm gia tăng về nhiệt độ, ít nhiều đã ảnh hưởng đến các hoạt chất kém bền nhiệt như polyphenol và catechin. Vì vậy hiệu quả trích ly của điều kiện kết hợp này thấp hơn.



Hình 6. Ảnh hưởng của thời gian vi sóng đến hàm lượng polyphenol và catechin khi trích ly bằng vi sóng có hỗ trợ enzym

4. KẾT LUẬN

Ở các điều kiện trích ly khác nhau thì hàm lượng polyphenol và catechin thu được cũng khác nhau. Khi trích ly ở điều kiện đơn lẻ, chỉ sử dụng vi sóng thì hàm lượng polyphenol và catechin đều thấp hơn so với khi kết hợp vi sóng với enzym hoặc ngược lại. Kết quả này cũng chỉ ra rằng, khi trích ly bằng enzym có hỗ trợ vi sóng cho hàm lượng polyphenol và catechin cao hơn so với trích ly bằng vi sóng có hỗ trợ enzym, hoặc trích ly hoàn toàn bằng vi sóng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc Gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số: 10/2020/TN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cortés-Rojas D. F., Souza C. R. F., and Oliveira W. P. (2015). Optimization of spray drying conditions for production of *Bidens pilosa L.* dried extract. *Chem. Eng. Res. Des.* 93: 366-376.

2. Mathew A. G. and Parpia H. A. B. (1970). Polyphenols of cashew kernel testa. *J. Food Sci.* 35(2): 140-143.

3. Ivanova D., Gerova D., Chervenkov T. and Yankova T. (2005). Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 96: 145-150.

4. Re R., Nicoletta P., Anna P., Ananth P., Min Y. and Catherine R.-E. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26(9-10): 1231-1237.

5. Chalopin M., Tesse A., Martínez M.C., Rognan D., Arnal J.F. and Andriantsitohaina R. (2010). Estrogen receptor alpha as a key target of red wine polyphenols action on the endothelium. *PLoS One.* 5(1): e8554. doi: 10.1371/journal.pone.0008554.

6. Tangney C.C. and Rasmussen H.E. (2013). Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease. *Curr. Atheroscler. Rep.* 15(5): 324. doi: 10.1007/s11883-013-0324-x.

7. Grassi, D., Desideri, G., Necozione, S., Di Giosia, P., Barnabei, R., Allegaert, L., ... & Ferri, C. (2015). Cocoa consumption dose-dependently improves flow-mediated dilation and arterial

stiffness decreasing blood pressure in healthy individuals. *J. Hypertens.* 33(2): 294-303.

8. Kohane D.S. (2007). Microparticles and Nanoparticles for Drug Delivery. *Biotechnol. Bioeng.* 96(2): 203-209.

9. Du G-J., Zhang Z., Wen X-D., Yu C. Calway T., Yuan C.-S. and Wang C.-Z. (2012). Epigallocatechin Gallate (EGCG) is the most effective cancer chemopreventive polyphenol in green tea. Nutrients. 4(11): 1679-1691.

10. Noguchi N. and Niki E. (2000). Phenolic antioxidants: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. *Free Radic. Biol. Med.* 28(10): 1538-1546.

11. Mạc Xuân Hòa, Nguyễn Thị Thảo Minh, Nguyễn Thị Minh Châu, Nguyễn Thị Phương Trang, Lê Thị Mén, Lê Nguyễn Trà My, Trần Thị Thanh Ngọc (2018). Tối ưu hóa quá trình trích ly có hỗ trợ vi sóng polypnenol từ vỏ lụa hạt điều. *Tạp chí Khoa học, Công nghệ và Thực phẩm* 16(1): 106-116.

12. Sun B., Ricardo-da-Silva J.M. and Spranger I. (1999). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46(10): 4267-4274.

13. Fu L., Xu B.-T., Xu X.-R., Gan R.-Y., Zhang Y., Xia E.-Q. and Li H.-B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food chem.* 129(2): 345-350.

14. Hahn T., Lang S., Ulber R. and Muffler K. (2012). Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae. *Process Biochem.* 47(12): 1691-1698.

15. Hemwimon S., Pavasant P. and Shotipruk A. (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Sep. Purif. Technol.* 54(1): 44-50.

EFFECTS OF CONDITIONS OF EXTRACTION POLYPHENOL, CATECHIN FROM CASHEW NUT TESTA BY MICROWAVES AND MICROWAVES COMBINATION WITH ENZYME VISCOZYME L

Hoang Van Thanh, Nguyen Xuan Hoan, Pham Van Hung

Summary

This study aimed to determine the effect of extraction conditions for polyphenols and catechin contents from cashew nut testa by microwave treatment with the assistance of enzyme Viscozyme L. The factors investigated in the study included microwave power and microwave time affecting the content of polyphenols and catechins extracted from cashew nut testa. The objective function of polyphenols and catechins was used to evaluate the efficiency of three extraction processes including complete extraction by microwave; extraction by the enzyme before microwave then and extracted by microwave first, and enzyme after. The results showed that when extracted by microwave, the polyphenol and catechin content reached the highest values of 256.7 ± 1.4 mg GAE/g dried sample and 39.9 ± 1.3 mg CE/g dried sample at a power of 400 W and a time of 60 seconds. When extracting by enzyme first, then continuing to extract by microwave, the polyphenol and catechin content reached the highest value of 291.2 ± 1.9 mg GAE/g dried sample and 53.9 ± 1.2 mg CE/g dried sample at 400 W power and time of 60 seconds. In the remaining conditions, when extracted by microwave with the support of enzyme Viscozyme L, the polyphenol and catechin content reached the highest value of 289.3 ± 3.8 mg GAE/g dried sample and 41.5 ± 3.6 mg CE/g dried sample respectively at 400 W power and a time of 30 seconds. From the results of this study, it was shown that enzyme-assisted microwave extraction was effective in extracting polyphenols and catechins from cashew nut testa.

Keywords: *Catechins, enzyme, microwaves, polyphenols, Viscozyme L.*

Người phản biện: PGS.TS. Tôn Nữ Minh Nguyệt
Ngày nhận bài: 01/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 27/3/2023
Ngày duyệt đăng: 3/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH TRÍCH LY ĐẾN HÀM LƯỢNG POLYPHENOL TỔNG VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA CỦA DỊCH TRÍCH LY TỪ TRÁI LÊ-KI-MA (*Pouteria campechiana*)

Trần Xuân Hiển[1,*], Lê Thị Thúy Hằng[1]

TÓM TẮT

Các dược tính quý của trái lê-ki-ma (Pouteria campechiana) trên thế giới hiện nay vẫn chưa được nghiên cứu nhiều. Mục tiêu nghiên cứu là đánh giá ảnh hưởng của quá trình trích ly đến hàm lượng polyphenol tổng và hoạt tính kháng oxy hóa của thịt trái lê-ki-ma. Nghiên cứu tập trung khảo sát các yếu tố, gồm: Nồng độ ethanol sử dụng, tỷ lệ paste lê-ki-ma trong ethanol, nhiệt độ và thời gian trích ly. Hiệu quả quá trình trích ly được thể hiện qua hàm lượng polyphenol tổng (TPC), cũng như hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng loại gốc tự do DPPH là chỉ tiêu đánh giá. Kết quả thực nghiệm cho thấy, ở nồng độ ethanol 70% (v/v), tỷ lệ paste lê-ki-ma và dung môi ethanol thích hợp là 1/7 (w/v), nhiệt độ trích ly 50^{o}C và thời gian 45 phút, dịch trích ly đạt hàm lượng polyphenol tổng (TPC) 9,271±0,06 mg GAE/g, khả năng loại gốc tự do (DPPH) là 83,778±2,19% và có giá trị IC50 đạt 7,324 mg/mL. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp dẫn liệu khoa học quý giá về trái lê-ki-ma, đặc biệt cho ngành công nghệ thực phẩm.

Từ khóa: *Khả năng loại gốc tự do DPPH, polyphenol, trái lê-ki-ma, trích ly.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trái lê-ki-ma (*Pouteria campechiana*) là một loại thực phẩm quý đã được sử dụng làm thực phẩm dinh dưỡng cũng như trong chữa trị một số bệnh trong dân gian. Lê-ki-ma thường được ăn tươi, sử dụng dưới dạng bột đông lạnh, hay bổ sung trong các sản phẩm kem, kẹo, mứt [1, 2].

Lê-ki-ma được trồng nhiều ở các nước Peru, Ecuador, Chile, Mexico và là một phần quan trọng trong chế độ dinh dưỡng của người Tây Ban Nha [1, 3]. Thịt trái có màu vàng cam, hương thơm đặc trưng và vị ngọt tự nhiên. Thịt trái có chứa nhiều thành phần dinh dưỡng, đặc biệt là những thành phần chống oxy hóa cần thiết cho hoạt động của cơ thể nên trái lê-ki-ma giúp tăng tỷ lệ hồng cầu trong máu, kích thích hoạt động của hệ thần kinh, chống trầm cảm, giảm cholesterol và triglyceride trong máu, ngăn ngừa các bệnh tim mạch và béo phì, hạn chế các cơn nhồi máu cơ tim, tăng hiệu quả của hệ miễn nhiễm và tăng cường năng lượng [2]. Tuy nhiên, hoạt tính sinh học của trái lê-ki-ma chưa được công bố một cách đầy đủ, đặc biệt là hoạt tính chống oxy hóa của nó.

Tại Việt Nam, việc khảo sát polyphenol và hoạt chất kháng oxy hóa trên trái lê-ki-ma chưa có nhiều nghiên cứu. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của quá trình trích ly đến hàm lượng polyphenol tổng và hoạt tính chống oxy hóa của paste lê-ki-ma. Kết quả nghiên cứu sẽ cung cấp dữ liệu khoa học về điều kiện trích ly trái lê-ki-ma để thu được hàm lượng polyphenol tổng và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất. Polyphenol là nhóm chất kháng oxy hóa có khả năng ngăn chặn các chuỗi phản ứng dây chuyền bằng cách phản ứng trực tiếp với gốc tự do và tạo thành một gốc tự do mới bền hơn, hoặc cũng có thể tạo phức với các ion kim loại chuyển tiếp vốn là xúc tác cho quá trình tạo gốc tự do [4]. Các hợp chất polyphenol được biết như chất chống oxy hóa và như vậy chúng có thể "nhặt"các gốc tự do được tạo thành trong cơ thể do ảnh hưởng của các tác nhân có hại từ môi trường sống, là nguyên nhân gây ra các quá

[1] Khoa Nông nghiệp và Tài nguyên thiên nhiên, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[*]Email: txhien@agu.edu.vn

trình oxy hóa phân tử sinh học, phá hủy ADN dẫn đến làm hỏng các tế bào và gây ra những thay đổi cấu trúc mô [5].

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Trái lê-ki-ma được thu hoạch vào tháng 9 - 10, thu nhận trực tiếp vào buổi sáng (7 - 9 giờ) tại vườn ở xã Mỹ Khánh, huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ. Độ tuổi trái lê-ki-ma khi thu hoạch trong khoảng 120 - 125 ngày sau khi đậu trái (đã được theo dõi đánh dấu). Khối lượng quả dao động khoảng 200 - 250 g (thu hoạch 20 trái/cây). Trái lê-ki-ma sau khi thu hoạch được bao gói bằng giấy xốp, đặt trong thùng carton vận chuyển về phòng thí nghiệm trong ngày và tồn trữ ở điều kiện nhiệt độ phòng (30 - 32^{0}C) đến ngày thứ 10. Tiếp theo, trái được rửa sạch và cho vào thiết bị chà (Pulper Finisher), tách hạt, thu thịt nghiền (paste). Paste lê-ki-ma sau đó được trữ trong tủ đông -18^{0}C cho các thí nghiệm thực hiện.

Ethanol 99,7% (Việt Nam) và các hóa chất phân tích khác như axit gallic chuẩn (Sigma), thuốc thử Folin-Ciocalteu (Merck), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Merck) được cung cấp từ Công ty Hóa chất miền Nam, chi nhánh Cần Thơ.

2.2. Chuẩn bị dịch trích ly lê-ki-ma

Paste lê-ki-ma sau khi rã đông được nghiền mịn qua rây (kích thước lỗ 420 μm). Lượng mẫu sử dụng cho mỗi chỉ tiêu phân tích là 10 g. Các mẫu được trích ly ở bể ổn nhiệt. Trong quá trình trích ly tiến hành lắc đều trên máy vortex (cứ 10 phút lắc đều 1 lần). Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly như nồng độ ethanol (40 - 90%), tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol (1/5 - 1/10 w/v), nhiệt độ (35 - 60^{0}C) và thời gian thủy phân (35 - 60 phút) được lần lượt khảo sát. Dịch sau khi trích ly đem lọc qua rây (kích thước lỗ 200 μm) và thu được dịch lọc, phần dịch thu được sử dụng để xác định hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) và hoạt tính kháng oxy hóa DPPH (giá trị IC50).

2.3. Hàm lượng phenolic tổng và hoạt tính kháng oxy hóa

- Hàm lượng polyphenol tổng (TPC) được xác định bởi phương pháp Folin-Ciocalteu [6] bằng cách xây dựng đường chuẩn với axit gallic (GA). Giá trị TPC được biểu diễn theo miligam đương lượng axit gallic trên g chất khô (mg GAE/g).

- Hoạt tính kháng oxy hóa được đánh giá dựa trên khả năng loại gốc tự do thông qua phản ứng mất màu tím của dung dịch 2,2–diphenyl–1–picrylhydrazyl (DPPH) trong methanol trên cơ sở phương pháp dựng đường chuẩn [7], biểu diễn mối tương quan giữa % hoạt tính loại gốc tự do của DPPH và nồng độ mẫu khác nhau. Dựa vào phương trình đường chuẩn, mối tương quan giữa phần trăm loại trừ gốc tự do của DPPH với các nồng độ khác nhau để xác định giá trị IC50.

Nghiên cứu ảnh hưởng của các điều kiện trích ly được thực hiện trên nguyên tắc khi nghiên cứu ảnh hưởng của yếu tố nào thì yếu tố đó thay đổi, các yếu tố còn lại giữ nguyên. Thí nghiệm sau kế thừa kết quả của thí nghiệm trước. Tất cả thí nghiệm đều được thực hiện lặp lại ba lần. Kết quả thực nghiệm được phân tích bằng phần mềm Statgraphics Centurion 15.2.11.0. Phân tích phương sai ANOVA với kiểm định LSD được sử dụng để xác định sự khác biệt ý nghĩa ($p<0,05$) giữa các yếu tố và phần mềm Sigma Plot 10.0.54 được sử dụng để vẽ đồ thị.

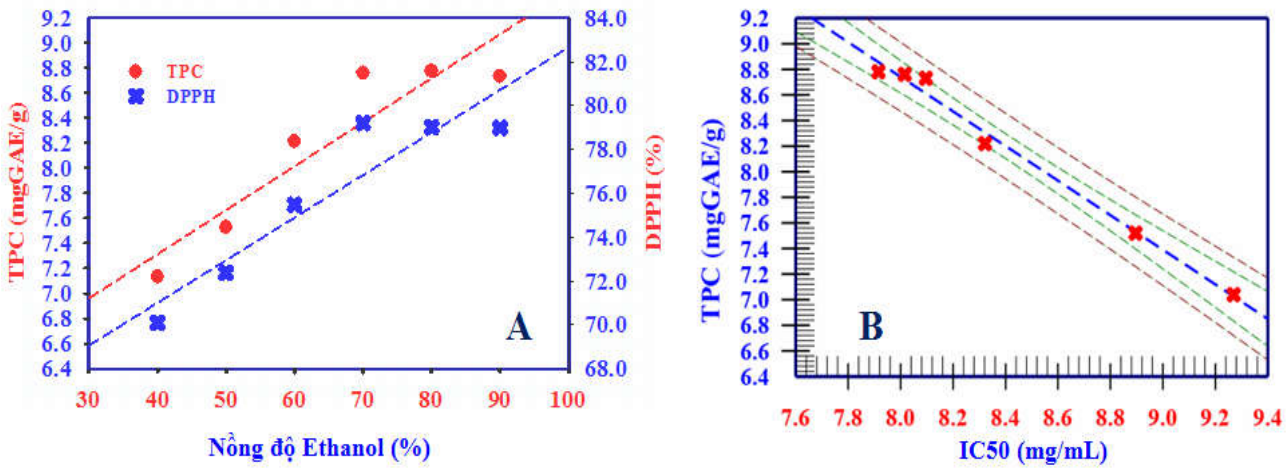
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi ethanol

Hàm lượng polyphenol tổng là một chỉ tiêu quan trọng nhằm đánh giá khả năng kháng oxy hóa của một nguyên liệu và dung môi là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu quả trích ly polyphenol. Việc sử dụng ethanol làm tăng hiệu quả trích ly đã được áp dụng trong nhiều nghiên cứu để trích ly các hợp chất phenolic từ thực vật và trái cây. Do đó ảnh hưởng của nồng độ ethanol lên hoạt tính sinh học của dịch trích ly được khảo sát với nồng độ thay đổi từ 40 - 90% (v/v). Các yếu tố khác của quá trình trích ly được cố định ở nhiệt độ 35^{o}C, thời gian 35 phút với tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol 1/5. Kết quả được thể hiện ở hình 1.

Nồng độ ethanol có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng trích ly polyphenol từ trái lê-ki-ma, đồng thời chúng cũng ảnh hưởng đến khả năng loại bỏ gốc tự do của trái lê-ki-ma. Kết quả ở hình 1A cho

thấy, khi thay đổi nồng độ ethanol thì giá trị TPC cũng thay đổi theo. Khi tăng nồng độ ethanol, giá trị TPC của dịch trái có xu hướng tăng dần. Giá trị TPC đạt cao nhất (8,777±0,051 mg GAE/g) khi 80% (v/v) ethanol được sử dụng và không có sự khác biệt thống kê ($p< 0,05$) giữa nồng độ này với nồng độ 70% (8,760 mg GAE/g) và nồng độ 90% (8,735 mg GAE/g). Khi nồng độ ethanol bão hòa thì vận tốc phản ứng sẽ không thay đổi. Vì vậy, khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol thì hàm lượng polyphenol tổng của dịch quả vẫn không thay đổi và kết quả này tương tự trích ly hàm lượng polyphenol tổng bằng dung môi ethanol từ dầu oilu [8].

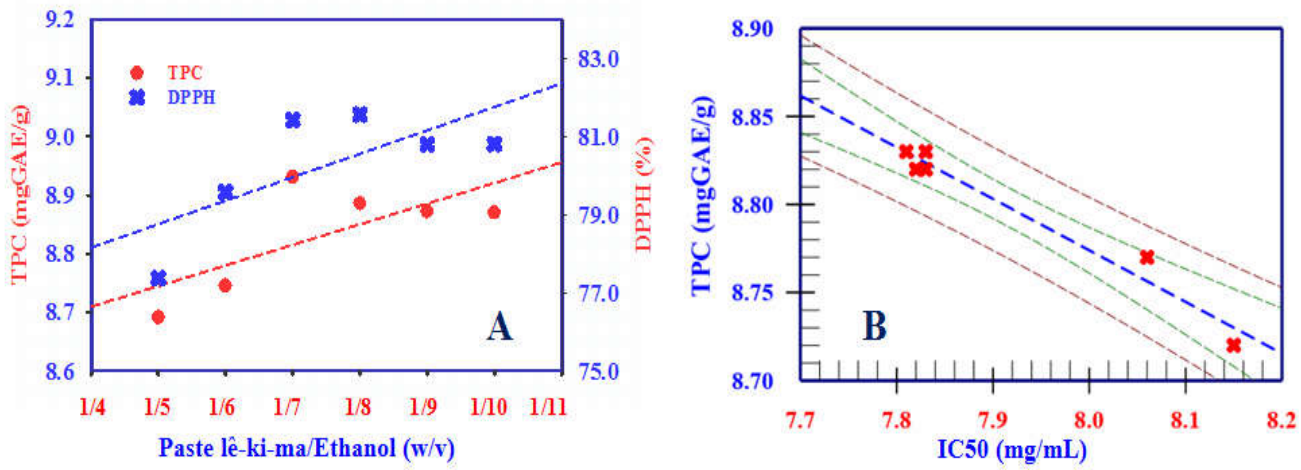


Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến TPC (A) và mối tương quan giữa TPC-IC50 (B)

Ngoài giá trị TPC ra, phương pháp loại gốc tự do bằng DPPH được lựa chọn để đồng đánh giá khả năng kháng oxy hóa của dịch thủy phân, vì DPPH là phương pháp khá đơn giản, cho kết quả nhanh, có tính ổn định và là phương pháp phổ biến mang tính chất sàng lọc tác dụng kháng oxy hóa các chất kháng oxy hóa [9]. Kết quả ở hình 1A cũng cho thấy, khi trích ly bằng ethanol với các nồng độ khác nhau thì khả năng kháng oxy hóa cũng thay đổi theo. Khi nồng độ ethanol tăng từ 40% - 60% (v/v) thì khả năng loại gốc tự do của dịch trích ly cũng tăng từ 70,11±2,15% lên 75,48±1,05%. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol 70 - 90% (v/v) thì không có sự khác biệt ý nghĩa về khả năng kháng oxy hóa của dịch trích ly giữa các nồng độ này. Đặc biệt, giá trị IC50 cho biết nồng độ mà tại đó dung môi ethanol có khả năng loại trừ 50% gốc tự do của DPPH. Vì vậy, IC50 thường được dùng để so sánh khả năng loại gốc tự do của các chất kháng oxy hóa; giá trị IC50 càng nhỏ, khả năng loại gốc tự do của paste lê-ki-ma trích ly càng mạnh. Kết quả phân tích hàm lượng polyphenol tổng và DPPH ở các nghiệm thức có mối tương quan nghịch giữa hàm lượng polyphenol tổng và khả năng loại gốc tự do thông qua giá trị IC50 với $R^2 = 0,985$ (Hình 1B). Khi hàm lượng polyphenol tổng ở các nồng độ ethanol khảo sát càng cao, hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh thì khả năng loại gốc tự do của DPPH càng cao, nghĩa là IC50 càng nhỏ [10] giá trị IC50 giảm từ 9,269 mg/mL xuống 8,015 mg/mL tương ứng, khi thay đổi nồng độ ethanol từ 40 - 70% (v/v). Dựa vào các kết quả phân tích trên, nồng độ tốt nhất cho quá trình trích ly paste lê-ki-ma bằng ethanol là 70% (v/v).

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ paste lê-ki-ma và dung môi ethanol

Tương tự như nồng độ ethanol, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là yếu tố không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế và quá trình tinh sạch về sau. Vì vậy, trong nghiên cứu này ảnh hưởng của tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol lên hàm lượng polyphenol tổng và hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích ly cũng được khảo sát ở các tỷ lệ khác nhau, từ 1/5 - 1/10 (w/v). Các yếu tố khác được cố định như nhiệt độ trích ly 35°C và thời gian trích ly 35 phút (nồng độ ethanol 70%). Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol đến hàm lượng polyphenol tổng và DPPH được thể hiện ở hình 2.



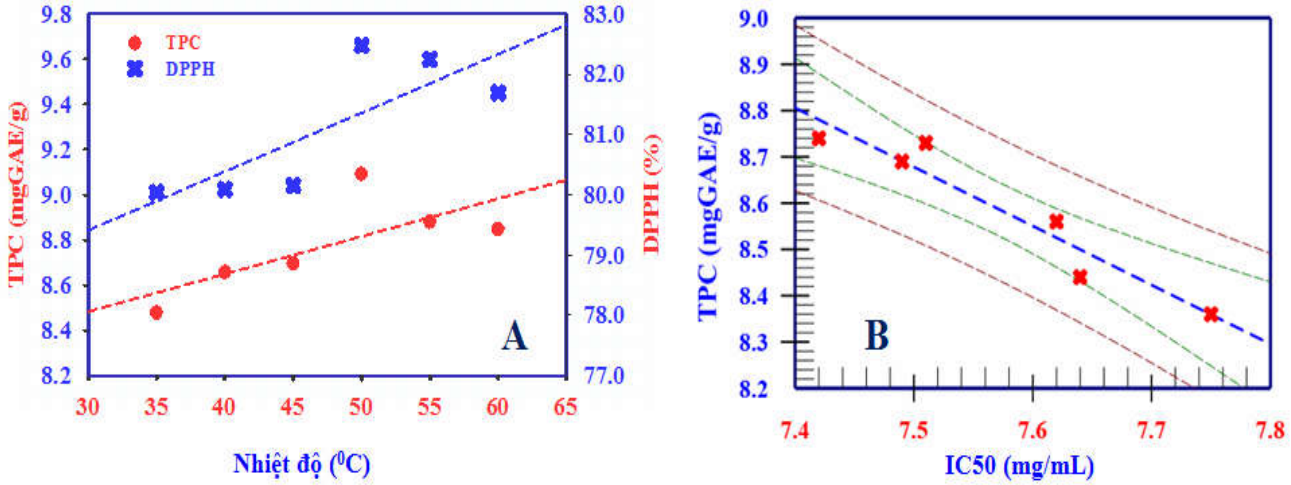
Hình 2. Ảnh hưởng tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol (A) đến TPC (A) và mối tương quan giữa TPC-IC50 (B)

Hình 2A cho thấy, tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol đều ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng polyphenol tổng, giá trị TPC tăng khi tăng tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol, ở tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol 1/7 (w/v) cho giá trị TPC cao hơn đáng kể so với tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol 1/5 và 1/6 ($p<0,05$) là 8,931±0,036 mg GAE/g và có sự khác biệt về mặt thống kê khi tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol sử dụng tiếp tục tăng (giá trị TPC có khuynh hướng giảm). Quá trình hòa tan các hoạt chất sinh học vào dung môi ethanol là một quá trình vật lý, khi lượng ethanol tăng tạo cơ hội cho các chất có hoạt tính sinh học tiếp xúc với ethanol, dẫn đến khả năng thẩm thấu cao hơn. Khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lớn, nghĩa là có sự khác biệt giữa dung môi và chất tan trở nên lớn, vì vậy nhiều hoạt chất sinh học có thể hòa tan nếu lượng dung môi được sử dụng nhiều hơn. Theo Tan và cs (2011) [11], tỷ lệ dung môi cao tạo điều kiện thuận lợi trong việc trích ly hợp chất polyphenol, điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả thu được: Khi thay đổi tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol thì khả năng kháng oxy hóa dịch quả cũng thay đổi, tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol tăng từ 1/5 - 1/6 (w/v) thì khả năng bắt gốc tự do dịch trích ly cũng tăng theo, từ 77,37±2,23% lên 79,57±2,46% và cũng không có sự khác biệt khi phân tích ANOVA ở tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol từ 1/7 - 1/10 (w/v). Kết quả này phù hợp với nguyên tắc truyền khối mà động lực cho khối lượng chuyển khối được coi là gradient nồng độ giữa chất rắn và dung môi. Tỷ lệ dung môi cao có thể thúc đẩy gradient nồng độ càng tăng, dẫn đến tăng tốc độ khuếch tán, cho phép quá trình trích ly chất rắn bằng dung môi được tốt hơn [12]. Ngoài ra, cơ hội của các thành phần có hoạt tính sinh học tiếp xúc với dung môi trích ly được mở rộng khi gia tăng lượng dung môi, dẫn đến tăng hiệu suất trích ly [13]. Tuy nhiên, sản lượng các thành phần có hoạt tính sinh học sẽ không tiếp tục tăng khi đã đạt được sự cân bằng [14]. Mặt khác, hình 2B cũng cho thấy, giữa hàm lượng polyphenol tổng và giá trị IC50 cũng có mối tương quan nghịch, giá trị IC50 giảm từ 8,149 mg/mL xuống 7,755 mg/mL, với giá trị R^2 của phương trình hồi quy khá cao (0,997). Kết quả khảo sát mối tương quan này tương tự như các nghiên cứu trên dịch trích ly một vài loài thực vật khác đã được công bố [15]. Từ kết quả trên có thể khẳng định, tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol từ 1/7 đến 1/10 là khoảng thích hợp cho quá trình trích ly, do đó tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol là 1/7 (w/v) được xem là phù hợp về cả tính kỹ thuật lẫn kinh tế và được chọn cho bước nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly

Bên cạnh việc lựa chọn nồng độ ethanol phù hợp thì điều kiện trích ly cũng là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình giải phóng các thành phần mang hoạt tính sinh học. Vì vậy, cùng với nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi thì nhiệt độ trích ly cũng được xem là yếu tố có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất trích ly và hoạt tính sinh học của dịch trích ly [16]. Khi nhiệt độ tăng làm tăng tốc độ khuếch tán và do đó tăng hàm lượng polyphenol tổng trích ly được từ nguyên liệu. Tuy nhiên, nếu nhiệt độ tăng lên quá

cao sẽ dẫn đến sự phá hủy các hợp chất polyphenol đã được chiết vào dung môi hay vẫn còn ở trong nguyên liệu [17], vì vậy ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến giá trị TPC và khả năng kháng oxy hóa của paste lê-ki-ma được khảo sát với nhiệt độ thay đổi từ 35 - 60°C trong 35 phút, nồng độ ethanol 70% (v/v), tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol 1/7 (w/v).



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến TPC (A) và mối tương quan giữa TPC-IC50 (B)

Kết quả xử lý thống kê cho thấy, nhiệt độ trích ly ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng polyphenol tổng và khả năng kháng oxy hóa của paste lê-ki-ma ($p<0,05$). Kết quả ở hình 3A cho thấy, khi tăng nhiệt độ trích ly từ 35°C lên 60°C, giá trị TPC và DPPH tăng lên đáng kể ($p<0,05$), từ 8,477±0,06 - 8,847±0,06 (mg GAE/g) và 80,04±2,97 - 81,69±2,77 (%) và đạt đỉnh cao nhất ở 50°C với giá trị TPC là 9,091±0,07 mg GAE/g, DPPH là 82,47±1,96%. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu trích ly ở nhiệt độ 40 - 50°C thì hàm lượng polyphenol tổng tăng do tốc độ đối lưu của dòng lưu chất tăng làm tốc độ khuếch tán các phân tử vào dung môi tăng [18]. Ngoài ra, điều này cũng có thể được lý giải là khi tăng nhiệt độ, khả năng phân cắt của các phân tử peptide ra môi trường trích ly tốt hơn và thu nhận được nhiều các chất hoạt tính chống oxy hóa hơn (polyphenol nhiều hơn), do vậy hoạt tính chống oxy hóa cũng tăng lên [19]. Ngoài ra, nhiệt độ trích ly tác động đến khả năng hòa tan, tốc độ truyền khối và sự ổn định của các hợp chất polyphenol. Mặt khác, khi nhiệt độ tăng cao, làm tăng tốc độ hòa tan, tốc độ truyền khối cũng như giảm độ nhớt và sức căng bề mặt của dung môi, góp phần làm cho tỷ lệ khai thác các hợp chất polyphenol cao hơn [20]. Ở một giới hạn nhất định, nhiệt độ cao làm tăng hiệu quả trích ly do tăng cường mức độ khuếch tán và độ hòa tan của chất phân tích trong dung môi, giảm độ nhớt, tăng cường sự chuyển khối và xâm nhập của dung môi vào ma trận vật liệu [18].

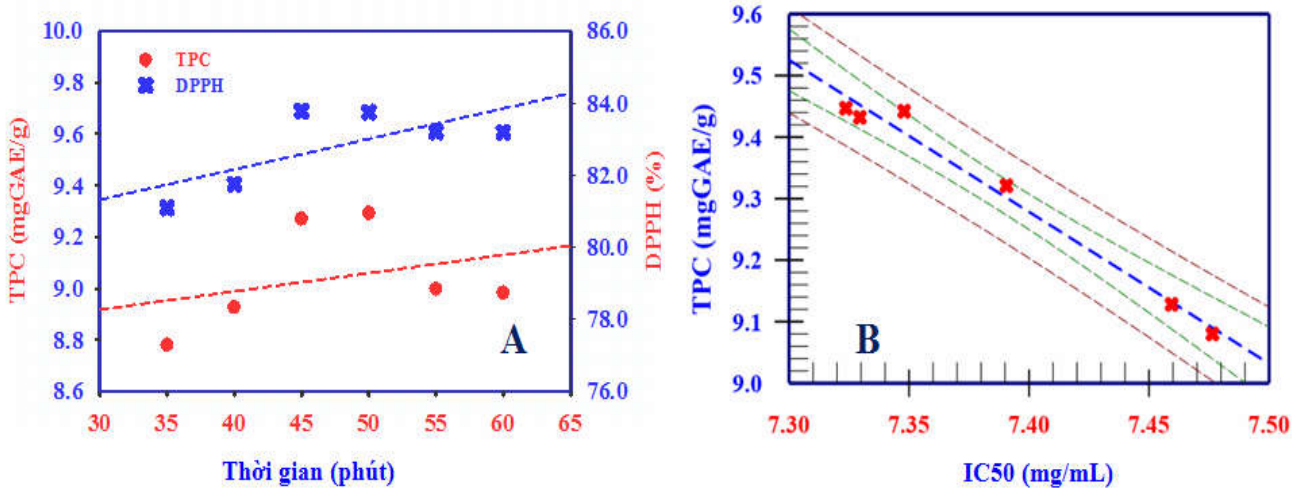
Sự đóng góp của các hợp chất polyphenol đến khả năng kháng oxy hóa của các loại thực phẩm được xác định từ mối tương quan giữa TPC và khả năng chống oxy hóa [11]. Trong nghiên cứu này, mối tương quan giữa hoạt tính kháng oxy hóa (thể hiện qua giá trị IC50) với giá trị TPC được thể hiện ở hình 3B. Theo kết quả nghiên cứu, giá trị R^2 của phương trình hồi quy khá cao (0,975), đã cho phép khẳng định các hợp chất polyphenol đóng góp chính vào khả năng chống oxy hóa cho paste lê-ki-ma. Từ những kết quả đạt được, chọn nhiệt độ trích ly 50°C cho những thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly

Việc lựa chọn thời gian trích ly thích hợp là bước cuối cùng trong chuỗi thí nghiệm và cũng là một nhân tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình trích ly. Ngoài ra, thời gian trích ly cũng là yếu tố làm ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly và ảnh hưởng đến chất lượng dịch trích ly [16]. Nếu thời gian trích ly ngắn, lượng các hoạt chất sinh học không trích ly hoàn toàn, nhưng nếu thời gian quá dài, các hoạt chất sẽ bị oxy hóa, chất lượng và số lượng các hoạt chất sẽ giảm. Quá trình trích ly được thực

hiện ở một số thông số cố định: nồng độ ethanol 70% (v/v), tỷ lệ paste lê-ki-ma/ethanol 1/7 (w/v), nhiệt độ trích ly 50°C với thời gian trích ly thay đổi từ 35 - 60 phút.

Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở hình 4A cho thấy, thời gian trích ly ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng polyphenol tổng và khả năng kháng oxy hóa ($p<0,05$). Giá trị TPC và DPPH tăng lên nhanh chóng theo thời gian trích ly và sau đó đạt đến sự ổn định với sự gia tăng thời gian trích ly và đạt đến đỉnh điểm tương ứng với thời gian 45 phút (9,271±0,06 mg GAE/g và 83,78±2,19%). Thời gian trích ly dài thì mức độ trích suất tốt dẫn đến hoạt tính sinh học của dịch trích ly tăng. Tuy nhiên, khi thời gian trích kéo dài thì hoạt tính sinh học của trích ly có xu hướng giảm (83,19% ở 60 phút) và không có khác biệt thống kê so với thời gian 45 phút. Nguyên nhân có thể là do sự suy thoái của các hợp chất phenolic do sự hiện diện của oxy trong môi trường trích ly. Kết quả này có thể được giải thích bằng định luật Fick (2003) [18] về sự khuếch tán khi dự đoán trạng thái cân bằng cuối cùng giữa nồng độ chất tan trong ma trận chất rắn trong dung môi có thể đạt được sau một thời gian nhất định [11]. Ngoài ra, trong nghiên cứu này, mối tương quan giữa giá trị IC50 với giá trị TPC được thể hiện ở hình 4B, theo kết quả thống kê cho phương trình hồi quy có R^2= 0,96 khi giá trị IC50 giảm từ 7,587 mg/mL xuống 7,324 mg/mL. Điều này khẳng định các hợp chất polyphenol đóng vai trò chính vào khả năng kháng oxy hóa của paste lê-ki-ma. Từ những kết quả đạt được, chọn thời gian trích ly 45 phút là thích hợp nhất.



Hình 4. Ảnh hưởng thời gian trích ly đến TPC (A) và mối tương quan giữa TPC-IC50 (B)

4. KẾT LUẬN

Quá trình trích ly trái lê-ki-ma dưới tác dụng của dung môi ethanol là phương pháp hiệu quả giúp tăng hàm lượng polyphenol tổng và tăng khả năng kháng oxy hóa. Điều kiện tốt nhất cho quá trình trích ly là xử lý ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 45 phút với nồng độ dung môi ethanol 70% (v/v) và tỷ lệ paste lê-ki-ma/dung môi ethanol 1/7 (w/v). Với điều kiện này, giá trị TPC và hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích ly đạt cao nhất là 9,271±0,06 mg GAE/g và 83,778±2,19% và có mối tương quan chặt chẽ với hàm lượng polyphenol tổng (giá trị IC50 7,324 mg/mL). Kết quả của nghiên cứu góp phần cung cấp những dẫn liệu khoa học quý giá về trái lê-ki-ma, có ý nghĩa quan trọng trong việc sử dụng có hiệu quả trái lê-ki-ma.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yahia *E.* M. and Guttierrez-Orozco F. (2011). Lucuma (*Pouteria lucuma*). Autonomous University of Queretaro, Mexico.

2. Apostolidis E., Genovese M. I., Lajolo F. M., Pinto Mda S., Ranilla L. G., and Shetty K. (2009). Evaluation of antihyperglycemia and antihpertension potential of native Peruvian fruits using in vitro models. *Journal of Medicinal Food*, 12: 278-91.

3. Duarte, Odilo, Paull and Robert (2015). Exotic Fruits and Nuts of the New World. CABI, 117-123.

4. Petti, S. and Scully, C. (2009). Polyphenols, oral health and disease: a review. *Journal of Dentistry,* 37: 413-423.

5. Bolanho Beatriz Cervejeira, Adelaide Del Pino Beléia (2011). Bioactive compounds and antioxidant potential of soy products. Alim. Nutr., Araraquara, 22(4): 539-546.

6. Susu Jiang, Weixi Cai and Baojun Xu (2013). Food Quality Improvement of Soy Milk Made from Short-Time Germinated Soybeans. Foods 2, 198-212.

7. Anshu Singh, Arindam Kuila, Geetanjali Yadav and Rintu Banerjee (2011). Process Optimization for the Extraction of Polyphenols from Okara. Food Technol. Biotechnol, 49(3) 322-328.

8. Galanakis, C. M., Goulas, V., Tsakona, S., Manganaris, G. A., and Gekas, V. (2013). A knowledge base for recovery of natural phenols with diffierent slovents. *International Journal of Food Properties*, 16(2): 382-396.

9. Bhandari, S. R., and Lee, J. G. (2016). Ripeningdependent changes in antioxidants, color attributes and antioxidant activity of seven tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars. *Journal of analytical methods in chemistry*, 1-13.

10. Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., and Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry, 85: 231-237.

11. Tan, P. W., Tan, C. P. and Ho, C. W. (2011). Antioxidant properties: Effects of solid-to-solvent ratio on antioxidant compounds and capacities of Pegaga (*Centella asiatica*). *International Food Research Journal*, 18:557-562.

12. Wenjuan, Q., Zhongli, P. and Haile, M. (2010). Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegrante marc. *Journal of Food Engineering*, 99: 16-23.

13. Zhang, S. Q., Bi, H. M. and Luu, C. J. (2007). Extraction of bio-active components from *Rhodiola sachalinensis* under ultra high hydrostatic pressure. Separation and Purification Technology, 57: 277-282.

14. Wong, B., Tan, C. P. and Ho, C. (2013). Effect of solid-to-solvent ratio on phenolic content and antioxidant capacities of "Dukung Anak" (*Phyllanthus niruri*). *International Food Research Journal*, 20: 325-330.

15. Yu, J., Ahmedna, M., and Goktepe, I. (2005). Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. Food Chemistry, 90: 199-206.

16. Perva-Uzunalic, A., S'kerget, M., Knez, Z., Weinreich, B., Otto, F., Gruner, S. (2006). Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. Food Chemistry, 96: 597-605.

17. Chan, S. W., Lee, C. Y., Yap, C. F., Wan Aida, W. M. and Ho, C. M. (2009). Optimisation of extraction conditions for phenolic compound from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. Food Research International, 16: 203-213.

18. Robards (2003). Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetable. J. Chromatogr A. 1000:657-691.

19. Wang, M., Li, J., Rangarajan, M., Shao, Y., LaVoie, E. J., Huang, T. C. and Ho, C. T. (1998). Antioxidative phenolic compounds from asge (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4869-4873.

20. Spigno, G., Tramelli, L. and De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200-208.

EFFECTS OF EXTRACTION ON TOTAL POLYPHENOL CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Pouteria campechiana* FRUIT EXTRACT

Tran Xuan Hien[1, *], Le Thi Thuy Hang[1]

[1]Faculty of Agriculture and Natural Resources, An Giang University (VNU-HCM city)

Summary

The valuable medicinal properties of *Pouteria campechiana* fruit have not been fully studied in the world. This study aimed to evaluate the effect of extraction process on total phenolic content (TPC) and antioxidant activity of *Pouteria campechiana* fruit. Important factors such as ethanol concentration, fruit paste to ethanol ratio (w/v), extraction time and temperature were investigated. The efficiency of extraction process was evaluated by total phenolic content as well as antioxidant activity of fruit paste. The results showed that at ethanol concentration of 70% (v/v), 1: 7 (w/v) fruit paste to ethanol ratio, 50°C and 45 minute extraction yielded highest TPC (9.271±0.06 mg GAE/g), antioxidant activity DPPH (83.778±2.19%) and IC50 = 7.324 mg/mL. Experimental results provide valuable scientific data on *Pouteria campechiana*, especially for the food industry.

Keywords: *DPPH radical scavenging, extraction, phenolics, pouteria campechiana.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Trúc Loan
Ngày nhận bài: 20/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 20/3/2023
Ngày duyệt đăng: 27/3/2023

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VÀ NUÔI CẤY CHỦNG VI KHUẨN LACTIC ĐỐI KHÁNG VỚI CHỦNG NẤM MỐC GÂY THỐI HỎNG QUẢ DÂU TÂY

Ngô Thị Tường Châu[1,*], Phan Thị Thảo Ly[2], Nguyễn Thị Tú Lệ[1], Lê Văn Thiện[1]

TÓM TẮT

Kết hợp lợi khuẩn vào lớp phủ ăn được nhằm bảo quản quả tươi là một phương pháp mới nhất của ngành công nghiệp thực phẩm. Mục tiêu của nghiên cứu này là tuyển chọn và xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp cho quá trình tạo sinh khối của vi khuẩn lactic (LAB) có khả năng đối kháng với nấm mốc gây thối hỏng quả dâu tây. Nấm mốc được phân lập trên PDA bổ sung 1% Chloramphenicol, 25°C, 5 - 7 ngày. LAB được phân lập trên thạch MRS, 37°C, 2 - 3 ngày. LAB đối kháng cao với nấm mốc được tuyển chọn bằng phương pháp đĩa thạch 2 lớp. LAB được nuôi cấy trong MRS dịch thể ở pH 4,0 - 8,0, 20 - 40°C, 1 - 5 ngày. Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến hoạt tính kháng nấm của dịch nổi vô bào (CFS) được khảo sát ở pH 4,5 - 6,5, 60 - 100°C, 2 giờ. Kết quả phân lập được chủng Nd4 gây thối hỏng quả dâu tây với mật độ nhiễm cao ($1,2 \times 10^3$ CFU/g) và tuyển chọn được chủng Ld3 có khả năng đối kháng cao (đường kính vòng ức chế đạt 35 mm). Điều kiện nuôi cấy thích hợp cho quá trình tạo sinh khối của chủng Ld3 là pH 6, 30°C, 2 ngày. Hoạt tính kháng nấm giảm đáng kể (còn lại 51%) khi pH của CFS được điều chỉnh đến 6,5, tuy nhiên hoạt tính này không giảm sau xử lý nhiệt.

Từ khoá: *Dâu tây, hoạt tính kháng nấm, lợi khuẩn, nấm mốc gây thối hỏng quả, vi khuẩn lactic.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dâu tây là một loại quả có các thuộc tính đặc biệt về hình thức, màu sắc và giá trị dinh dưỡng [1]. Dâu tây chứa một nguồn dinh dưỡng phong phú chủ yếu là các protein, khoáng chất, chất xơ, vitamin, anthocyanin, flavonoid và hợp chất phenolic [2, 3]. Tuy nhiên, dâu tây có cấu trúc rất dễ dập nát do tác động cơ học, có cường độ hô hấp cao và tuổi thọ sau thu hoạch tương đối ngắn. Thời hạn sử dụng của sản phẩm tươi được giới hạn từ 1 đến 2 ngày ở nhiệt độ phòng [4]. Nguyên nhân chủ yếu gây thối hỏng quả là do sự lây nhiễm nấm [5].

Gần đây, kết hợp lợi khuẩn vào lớp phủ ăn được nhằm cải thiện chất lượng, chức năng và thời hạn sử dụng quả tươi là một phương pháp mới nhất của ngành công nghiệp thực phẩm [6]. Lợi khuẩn trong lớp phủ ăn được không chỉ nâng cao tính ổn định của quả tươi mà còn là tác nhân kiểm soát sinh học chống lại các mầm bệnh thực vật khác nhau trong quá trình bảo quản sau thu hoạch [7]. Trong đó, vi khuẩn lactic (LAB) là nhóm nổi bật nhất với các lợi ích về sức khoẻ con người và thường được phân lập từ sữa, rau và quả tươi [8]. Trên thực tế, việc kết hợp *Lactobacillus plantarum* vào lớp phủ ăn được từ carboxymethyl cellulose đã làm giảm sự phát triển của nấm mốc và nấm men trên bề mặt của quả dâu tây. Đồng thời cải thiện một số đặc tính lý, hoá của quả dâu được phủ so với đối chứng bằng cách giảm hao hụt khối lượng, thối hỏng và làm chậm tốc độ mất vitamin C và các hợp chất phenolic trong suốt thời gian bảo quản [9].

Để tạo nguồn LAB cho sản xuất lớp phủ ăn được ứng dụng trên quả dâu tây sau thu hoạch, nghiên cứu này đã tiến hành phân lập và tuyển chọn chủng LAB có khả năng đối kháng với chủng nấm mốc gây thối hỏng quả dâu tây. Đồng thời, xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp cho quá trình tạo sinh khối và ảnh hưởng của pH và nhiệt

[1] Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
[*] Email: ngotuongchau@hus.edu.vn
[2] Khoa Y Dược, Đại học Đà Nẵng

độ đến hoạt tính kháng nấm của dịch nổi vô bào (CFS) từ chủng LAB.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hoá chất và thiết bị

- Các quả dâu tây tươi giống Tochiotome (Hana) xuất xứ từ Nhật Bản được thu thập tại các vườn trồng tại huyện Mộc Châu- Sơn La, Sa Pa-Lào Cai và Đà Lạt- Lâm Đồng. Lựa chọn các quả có cùng kích cỡ, hình dạng bình thường, không bị nhiễm vi sinh vật hoặc tổn thương vật lý và chín đỏ đều (TCVN 9017: 2011), sau đó xếp vào các hộp nhựa, đặt trong thùng carton và nhanh chóng vận chuyển về phòng thí nghiệm Nghiên cứu Môi trường và Thực phẩm của Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

- Hoá chất: Môi trường PDA (HiMedia- Ấn Độ), Chloramphenicol, môi trường thạch MRS, môi trường MRS dịch thể (Merck, Đức), dung dịch sodium hypochlorite 1%, Tween 85, dung dịch nước muối pepton 0,1%, bộ thuốc nhuộm Gram, dung dịch H_2O_2 3% và dung dịch Tetramethyl–p–phenylenediamine dihydrochloride 1% (Merck, Đức).

- Thiết bị: Tủ an toàn sinh học (Biovanguard 4/ AZBIL TELSTAR- Tây Ban Nha), tủ ấm ổn nhiệt (Memmert- Đức), máy lắc ổn nhiệt (Innova 44R/ Eppendorf- Đức), máy ly tâm (5810 R, Eppendorf, Hamburg, Đức), bể siêu âm (Nahita, Model 626/6, Alea Equipment) và bể ổn nhiệt (BS-06/Jeiotech- Hàn Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập nấm mốc gây thối hỏng quả dâu tây

Lấy ngẫu nhiên 25 quả dâu tây từ mỗi địa điểm thu mẫu, đặt trong các hộp nhựa, giữ ở nhiệt độ thường (30 - 32°C). Khi triệu chứng bệnh xuất hiện rõ ràng, mỗi nhóm chọn ra 5 quả mới nhiễm bệnh để định lượng nấm mốc có trong 1 g mẫu (TCVN 82751: 2010) và tiến hành phân lập. Trước tiên, các quả bị thối hỏng được khử trùng bề mặt bằng dung dịch sodium hypochlorite 1% trong 1 phút và rửa lại bằng nước cất 3 lần. Sau đó, những phần bị thối hỏng được đặt trên các đĩa môi trường PDA có bổ sung 1% Chloramphenicol và ủ ở 25°C, trong 5-7 ngày. Chọn các khuẩn lạc nấm mốc có hình thái đặc trưng và cấy chuyền sang các đĩa môi trường PDA bằng phương pháp cấy điểm để thu các chủng nấm thuần khiết và đơn khuẩn lạc.

2.2.2. Thử nghiệm khả năng gây bệnh của nấm

Thử nghiệm lặp lại 3 lần độc lập trên quả dâu tây khỏe với các chủng nấm được phân lập. Đầu tiên, khử trùng bề mặt quả bằng cách rửa với dung dịch sodium hypochlorite 0,1% trong 1 phút, rửa lại với nước máy và để khô không khí ở nhiệt độ thường. Sau đó, tạo một vết thương (đường kính 3 mm, sâu 3 mm) trên bề mặt quả bằng một kim giải phẫu vô trùng [10]. Để đánh giá khả năng gây bệnh của nấm, nấm được nuôi cấy 7 - 15 ngày trước đó ở 25°C trên môi trường PDA. Bào tử được cạo ra khỏi môi trường thạch bằng cách sử dụng một vòng đầu que cấy vô trùng và chuyển vào nước cất vô trùng chứa 0,01% Tween 85. Huyền phù bào tử được phân tán khoảng 5 phút trong một bể siêu âm và nồng độ cuối cùng được điều chỉnh đến 10^4 bào tử/ml bằng một buồng đếm tế bào. Cấy 10 µl dịch huyền phù bào tử vào vết thương của các quả dâu tây và các quả được cấy với 10 µl nước vô trùng vào vết thương được sử dụng làm đối chứng. Các quả sau khi cấy được giữ trong các hộp nhựa đậy kín để duy trì độ ẩm cao và ủ ở 25°C trong 5 ngày. Kiểm tra vết bệnh và phân lập nấm từ các vết bệnh trên quả dâu tây. Xác nhận các đặc điểm hình thái tương tự như các chủng phân lập ban đầu. Các chủng nấm đạt tiêu chuẩn theo định đề Koch được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo [10, 11].

2.2.3. Phân lập LAB từ quả dâu tây

Chọn các quả dâu tây tươi không bị dập nát hoặc nhiễm bệnh và bổ làm bốn bằng dao vô trùng. Cân 10 g mẫu và cho vào một túi dập mẫu, thêm 90 ml dung dịch nước muối pepton vô trùng và đặt túi vào trong máy dập mẫu để đồng nhất mẫu trong khoảng 2 phút. Dịch huyền phù được pha loãng theo dãy thập phân và cấy trên đĩa môi trường MRS bằng phương pháp hộp đổ. Các đĩa được nuôi cấy ở 37°C, trong 2 - 3 ngày. Quan sát hình thái khuẩn lạc và tế bào, nhuộm Gram, kiểm

tra hoạt tính catalase dựa vào khả năng tạo bọt hay không tạo bọt khi nhỏ dung dịch H_2O_2 3% lên khuẩn lạc [12]. Hoạt tính oxidase dựa vào khả năng làm thay đổi màu Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride 1% của các chủng vi khuẩn [13]. Vi khuẩn có dạng trực khuẩn hoặc cầu khuẩn, Gram dương, catalase và oxidase âm tính được giả định là LAB. Các chủng LAB được cấy chuyền sang môi trường MRS bằng phương pháp cấy ria để thu được các chủng thuần khiết. Lưu giữ các chủng LAB trên môi trường thạch nghiêng MRS ở 4°C.

2.2.4. Tuyển chọn vi khuẩn lactic đối kháng với nấm mốc gây thối hỏng quả dâu tây

Các chủng LAB đối kháng với nấm được tuyển chọn bằng phương pháp đĩa thạch 2 lớp [14]. Trước thử nghiệm, các chủng LAB được nuôi cấy 24 giờ trong môi trường MRS dịch thể (Merck, Đức) ở 37°C và nấm mốc được nuôi cấy trên môi trường PDA ở 25°C trong 72 giờ. Dịch huyền phù bào tử nấm được chuẩn bị bằng cách phân tán bào tử trong 10 ml dung dịch NaCl 0,9% chứa 0,2% Tween 80. Trước tiên, nhỏ 20 ml dịch vi khuẩn (OD_{600} = 0,5) vào chính giữa bề mặt của đĩa chứa một lớp môi trường thạch MRS và ủ ở 30°C trong 2-3 ngày. Sau đó, đổ thêm một lớp môi trường PDA chứa khoảng 10^4 bào tử nấm/ml lên trên bề mặt của đĩa và ủ ở 25°C trong 3 - 5 ngày. Kiểm tra sự hình thành các vòng ức chế sự phát triển của nấm xung quanh khuẩn lạc vi khuẩn. Khả năng đối kháng được đánh giá thông qua đường kính của vòng ức chế.

2.2.5. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến quá trình tạo sinh khối của LAB

Hoạt hóa các chủng LAB bằng cách cấy chuyền vào môi trường MRS dịch thể và nuôi cấy ở 37°C trong 24 giờ. Cấy dịch nuôi cấy LAB vào các bình tam giác chứa 100 ml môi trường MRS dịch thể ở pH 4,0 - 8,0 và nuôi cấy ở nhiệt độ 20 - 40°C trong 1 - 5 ngày. Đo mật độ OD tại bước sóng 600 nm.

2.2.6. Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến hoạt tính kháng nấm của CFS

Thu hồi CFS của LAB bằng cách loại bỏ các tế bào sau khi ly tâm dịch nuôi cấy ở 4°C, tốc độ 5.000 vòng/phút, trong 15 phút và lọc qua màng lọc có kích thước lỗ 0,45 µm. Để kiểm tra ảnh hưởng của pH đến hoạt tính kháng nấm, pH của CFS đã được điều chỉnh thành 4,5 - 6,5 bằng dung dịch NaOH 1 M. Để kiểm tra ảnh hưởng của nhiệt độ pH đến hoạt tính kháng nấm, CFS đã được đặt trong các bể ổn nhiệt tại 60°C, 80°C hoặc 100°C trong 2 giờ. Xác định hoạt tính kháng nấm bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Theo đó, các đĩa thạch PDA chứa 10^4 bào tử nấm/ml đã được chuẩn bị và các giếng (đường kính 5 mm) được tạo ra trên đĩa thạch. Nhỏ 100 µl CFS vào giếng và ủ ở 25°C trong 2 ngày. Kiểm tra sự hình thành các vòng ức chế nấm xung quanh giếng. Hoạt tính kháng nấm của CFS được đánh giá thông qua kích thước đường kính vòng ức chế (mm). Hoạt tính tại pH và nhiệt độ tối ưu được xác định là 100%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập nấm mốc gây thối hỏng quả dâu tây

Bảng 1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của nấm mốc phân lập từ dâu tây bị thối hỏng

Nhóm mẫu	Ký hiệu chủng	Màu sắc (mặt trước/sau)
Mộc Châu-Sơn La	Nd1	Khi non sợi khuẩn ty màu trắng, tản nấm đều, tạo bông trên bề mặt, khi già sợi khuẩn ty chuyển thành màu xanh xám, mặt sau tản nấm màu xanh không đều, rìa ngoài màu trắng, tâm đen, mọc rất nhanh ở 30°C.
	Nd2	Mặt trước tản nấm màu trắng, mặt sau rìa ngoài màu trắng, vòng giữa có màu vàng, tâm nấm màu xanh, nấm mọc chậm, bé.

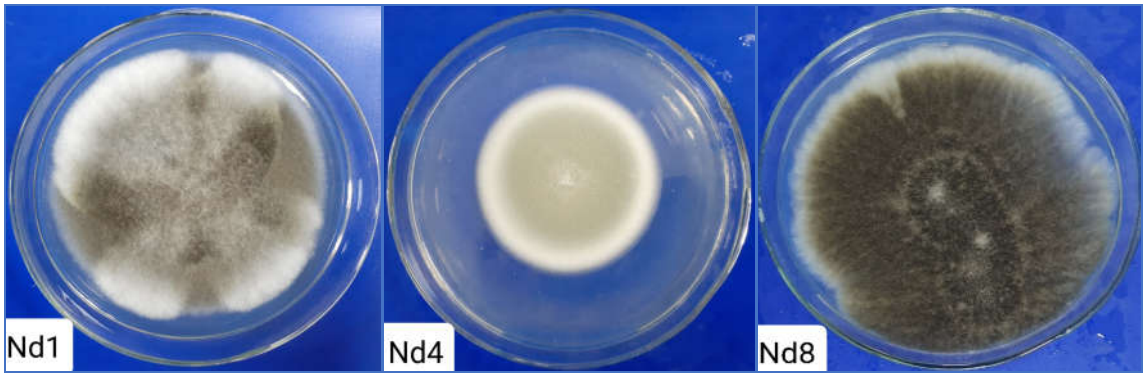
	Nd3	Vòng ngoài tản nấm màu trắng, tản nấm màu xanh, sợi khuẩn ty không mọc bông xốp, mặt sau tản nấm có màu trắng ngà.
	Nd4	Khi non sợi khuẩn ty màu xanh, rìa ngoài màu trắng, không tạo bông xốp trên bề mặt, khi già sợi khuẩn ty hóa xám.
	Nd5	Tản nấm màu nâu xám, rìa ngoài tản nấm màu xanh, sợi khuẩn ty không mọc bông xốp, mặt sau tản nấm màu xanh đen.
Sa Pa-Lào Cai	Nd6	Tản nấm màu trắng, rìa ngoài tản nấm màu xanh, sợi khuẩn ty tạo bông trắng xốp, mặt sau tản nấm màu xanh đen tạo thành vòng.
	Nd7	Khi non tản nấm có màu trắng, sợi khuẩn ty tạo bông trắng xốp trên bề mặt, rìa ngoài tạo vòng hơi xanh, tâm nấm có vòng màu hồng trong có những sợi xám, mặt sau tản nấm màu xanh đen, khi già có nhiều sợi màu hồng, mặt sau màu xanh đen, tâm màu trắng.
	Nd8	Tản nấm màu xanh, rìa ngoài tản nấm trắng, không tạo bông xốp trên bề mặt, mặt sau tản nấm màu trắng.
	Nd9	Tản nấm mọc đều, màu xanh, rìa ngoài tản nấm sợi màu trắng.
	Nd10	Tản nấm màu xanh, mọc không đều, tạo những cục nổi hẳn lên bề mặt, mặt sau tản nấm màu xanh đen, mọc rất chậm.
Đà Lạt-Lâm Đồng	Nd11	Tản nấm mọc đều, tạo vòng ngoài màu trắng, tâm nấm màu cam, mặt sau tản nám màu cam, tạo từng vòng.
	Nd12	Tản nấm màu xanh, mọc thưa, mọc nhanh.
	Nd13	Tản nấm màu trắng sữa, không tạo bông xốp trên bề mặt.
	Nd14	Tản nấm mọc đều, màu xanh, rìa ngoài vòng trắng, không tạo bông xốp trên bề mặt.

Tất cả các quả dâu tây bị thối hỏng (n = 15) của 3 nhóm mẫu thu từ Mộc Châu, Sa Pa và Đà Lạt đã được sử dụng để phân lập nấm. Bước đầu thu được 14 khuẩn lạc khác nhau về hình thái trên các đĩa môi trường PDA có bổ sung 1% Chloramphenicol (Bảng 1). Các chủng phân lập được phân nhóm theo các đặc điểm hình thái như màu sắc của sợi nấm, kết cấu và rìa của khuẩn lạc. Điều này cho thấy, dâu tây bị thối hỏng chứa nhiều loại nấm khác nhau. Theo Lorenzini và cs (2018), hệ nấm bao gồm cả loại nấm gây bệnh sau thu hoạch và không gây bệnh [15]. Do đó, cần kiểm tra khả năng gây bệnh của các chủng phân lập được để loại trừ các chủng không gây bệnh.

3.2. Sàng lọc các chủng nấm có khả năng gây bệnh từ các chủng nấm được phân lập

Để xác định xem tất cả các chủng nấm phân lập từ dâu tây thối hỏng có khả năng gây bệnh cho quả dâu tây khỏe hay không, thử nghiệm gây bệnh

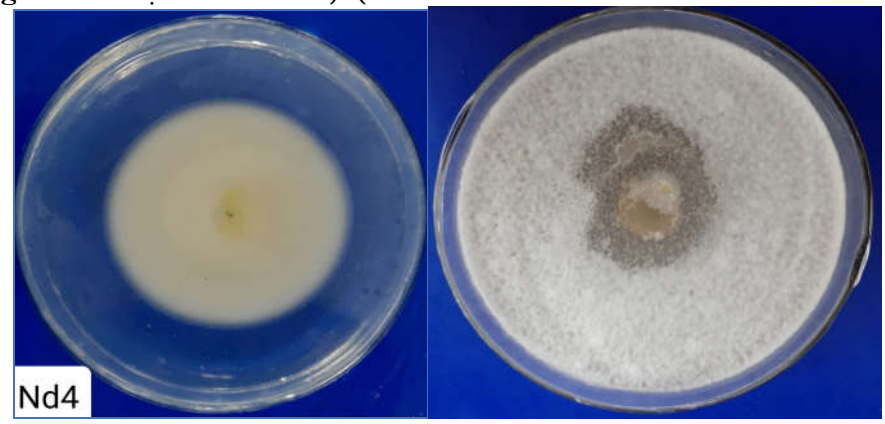
đã được thực hiện trên 14 chủng phân lập. Từ thử nghiệm gây bệnh ban đầu, chỉ có 03 chủng (Nd1, Nd4, Nd8) tạo ra các triệu chứng bệnh có thể được phát hiện sau gây nhiễm 6 ngày. Khả năng gây bệnh của các chủng này đã được xác nhận thêm theo các định đề của Koch bằng cách phân lập lại các loại nấm gây bệnh và xác nhận các đặc điểm hình thái với chủng ban đầu (Hình 1). Các định đề của Koch là cơ sở thiết lập khả năng gây bệnh của một vi sinh vật trong một quá trình bệnh được cộng đồng khoa học ủng hộ mạnh mẽ [16]. Kết quả đã phân lập và xác định được chủng nấm mốc Nd4 gây thối hỏng quả dâu tây với mật độ nhiễm cao ($1,2 \times 10^3$ CFU/g). Tiến hành định danh sơ bộ chủng nấm mốc Nd4 bằng phương pháp so sánh hình thái (morpho-taxonomy) được mô tả ở bảng 1 với hệ thống phân loại lưỡng phân được tổng kết trong "Bảng phân loại các loài nấm mốc thường gặp" [17], bước đầu cho thấy chủng Nd4 thuộc chi *Penicillium.*



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc của các chủng nấm mốc gây bệnh được phân lập

3.3. Phân lập và tuyển chọn LAB từ quả dâu tây

Từ các mẫu dâu tây tươi không bị dập nát hoặc nhiễm bệnh (n = 15) đã bước đầu phân lập được 7 khuẩn lạc khác nhau về hình thái trên các đĩa môi trường MRS (ký hiệu từ Ld1 đến Ld7). Với kết quả là trực khuẩn Gram dương, catalase và oxidase âm tính, tất cả các chủng vi khuẩn này được giả định là LAB. Tiếp tục đánh giá hoạt tính đối kháng với nấm của các chủng LAB theo phương pháp đĩa thạch 2 lớp. Kết quả cho thấy, chủng Ld3 có khả năng đối kháng với chủng nấm Nd4 là cao nhất (đường kính vòng ức chế đạt đến 35 mm) (Hình 2). Chủng Ld3 có khuẩn lạc màu trắng sữa, dạng tròn và kích thước nhỏ (đường kính 3,5 mm), hoàn toàn tương tự với chủng tham khảo thuộc chi *Lactobacillus* spp. khi phát triển trên môi trường MRS. Tiến hành khuếch đại vùng gen 16S rRNA với cặp mồi 27F/1492R và giải trình tự bằng phương pháp Sanger và BLAST đối chiếu trên NCBI. Kết quả cho thấy, trình tự gen 16S rRNA của chủng Ld3 tương đồng 99,93% so với trình tự vùng gen tương ứng của của chủng *Lactobacillus paracasei* 4613. Vì vậy, chủng Ld3 được định tên là *Lactobacillus paracasei* Ld3.



Hình 2. Hoạt tính đối kháng với chủng Nd4 gây thối hỏng quả của chủng vi khuẩn Ld3

3.4. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến quá trình tạo sinh khối của chủng Ld3

3.4.1. pH ban đầu của môi trường

Tiến hành nuôi cấy chủng Ld3 trong môi trường MRS dịch thể với pH 4,0-8,0, ở nhiệt độ 30°C, trong 2 ngày (mục 2.2.5), kết quả cho thấy sinh khối đạt cao nhất ở pH ban đầu của môi trường nuôi cấy là 6,0 (Bảng 2). Tương tự, Zhao và cs (2022) báo cáo chủng *L. plantarum* ZZUA493 đối kháng với nấm có khả năng sinh trưởng và phát triển trong môi trường MRS dịch thể với pH 3-10, tối ưu ở pH 5,5 và 6,0 [18].

Bảng 2. Ảnh hưởng của pH môi trường đến quá trình tạo sinh khối của chủng Ld3

pH	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0
OD_{600}	$2,251^{e}$ ± 0,009	$2,319^{d}$ ± 0,026	$2,616^{a}$ ± 0,042	$2,451^{b}$ ± 0,025	$2,373^{c}$ ± 0,010
Sinh khối (g/l)	$0,615^{e}$ ± 0,003	$0,636^{d}$ ± 0,007	$0,725^{a}$ ± 0,012	$0,675^{b}$ ± 0,007	$0,652^{c}$ ± 0,003

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một hàng chỉ sự sai khác trung bình mẫu có ý nghĩa thống kê với p < 0,05 (Ducan's test). M ± SE: Trung bình mẫu ± sai số chuẩn.

3.4.2. Nhiệt độ nuôi cấy

Tiến hành nuôi cấy chủng Ld3 trong môi trường MRS dịch thể (pH tối ưu), ở nhiệt độ 20-40°C trong 2 ngày (mục 2.2.5), kết quả cho thấy sinh khối đạt cao nhất tại 30°C (Bảng 3). Trong khi đó, chủng *L. plantarum* ZZUA493 đối kháng với nấm, khi nuôi cấy trong môi trường MRS dịch thể, có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt trong khoảng nhiệt độ 10 - 40°C [18].

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến quá trình tạo sinh khối của chủng Ld3

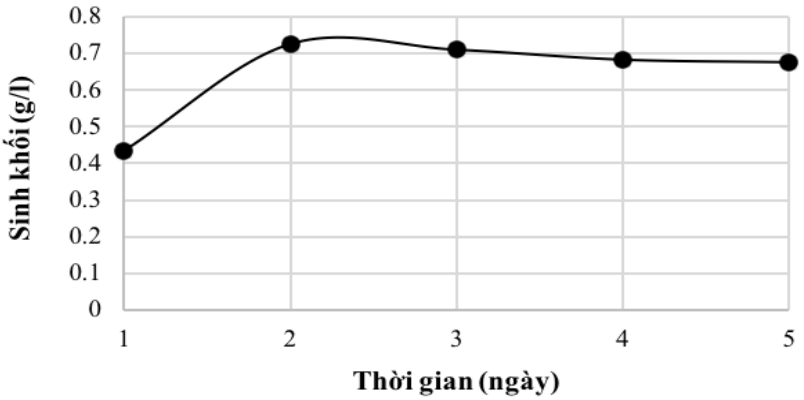
Nhiệt độ (°C)	20	25	30	35	40
OD_{600}	$2,527^{d}$ ± 0,005	$2,616^{c}$ ± 0,012	$2,832^{a}$ ± 0,035	$2,720^{b}$ ± 0,006	$2,352^{e}$ ± 0,021
Sinh khối (g/l)	$0,698^{d}$ ± 0,001	$0,725^{c}$ ± 0,003	$0,789^{a}$ ± 0,009	$0,756^{b}$ ± 0,002	$0,646^{e}$ ± 0,006

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một hàng chỉ sự sai khác trung bình mẫu có ý nghĩa thống kê với p < 0,05 (Ducan's test). M ± SE: Trung bình mẫu ± sai số chuẩn.

3.4.3. Thời gian nuôi cấy

Tiến hành nuôi cấy chủng Ld3 trong môi trường MRS dịch thể ở pH môi trường và nhiệt độ tối ưu trong 2 - 5 ngày (mục 2.2.5), kết quả cho thấy sinh khối đạt cao nhất sau 2 ngày (Hình 3). So với chủng *L. plantarum* ZZUA493 đối kháng với nấm có thời gian sinh trưởng và phát triển tối ưu là sau 12 giờ [18], chủng Ld3 có thời gian nuôi cấy tối ưu cho khả năng tạo sinh khối là dài hơn.

Ngoài ra, tại thời điểm nuôi cấy tối ưu, pH của môi trường giảm nhanh chóng. Điều này có thể là do các axit hữu cơ được vi khuẩn lactic sản xuất và tích lũy vào trong môi trường. Đồng thời, đây còn được xem là một trong số cơ chế kháng nấm gây bệnh của vi khuẩn lactic.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến quá trình tạo sinh khối của chủng Ld3

3.5. Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến hoạt tính kháng nấm của CFS

Để xác định bản chất của các hợp chất chịu trách nhiệm cho hoạt tính kháng nấm, tiến hành thu hồi CFS của chủng Ld3 sau nuôi cấy trong môi trường MRS dịch thể ở điều kiện tối ưu và khảo sát ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến hoạt tính kháng nấm của CFS theo phương pháp đã được nêu ở mục 2.2.6. Kết quả cho thấy, hoạt tính kháng nấm của CFS giảm đáng kể khi được điều chỉnh đến giá trị pH gần trung tính (pH 6,5) (Bảng 4) nhưng không giảm sau xử lý nhiệt (Bảng 5). Tương tự, Guimarães và cs (2018) đã báo cáo rằng CFS từ hai chủng *L. plantarum* UM55 và *L. buchneri* mất hoạt tính kháng nấm *Penicillium nordicum* ở pH 7,0 (mức độ phát triển của nấm tương tự với đối chứng MRS), tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa CFS sau xử lý nhiệt ở 121°C và đối chứng CFS không xử lý nhiệt [19]. Vì pH ảnh hưởng rất lớn đến hoạt tính của CFS, có thể suy đoán rằng các axit hữu cơ hiện diện trong CFS đóng một vai trò quan trọng trong tác dụng kháng nấm.

Bảng 4. Hoạt tính kháng nấm của CFS ở các giá trị pH khác nhau

pH	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5
Đường kính vòng ức chế (mm)	$35^{a} \pm 1$	$35^{a} \pm 1$	$32^{b} \pm 2$	$26^{c} \pm 1$	$18^{d} \pm 3$
Hoạt tính còn lại (%)	100	100	91	74	51

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một hàng chỉ sự sai khác trung bình mẫu có ý nghĩa thống kê với p < 0,05 (Ducan's test). M ± SE: Trung bình mẫu ± sai số chuẩn.

4. KẾT LUẬN

Từ các mẫu quả dâu tây, trên môi trường PDA có bổ sung 1% Chloramphenicol, đã phân lập được các chủng vi khuẩn lactic. Trong số các chủng phân lập được, bằng phương pháp đĩa thạch 2 lớp, đã tuyển chọn được chủng vi khuẩn lactic Ld3 có khả năng đối kháng cao với chủng nấm mốc Nd4 gây thối hỏng quả dâu tây. Đồng thời, đã xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp cho quá trình tạo sinh khối của chủng Ld3 là môi trường MRS dịch thể có pH 6,0, nhiệt độ 30°C và thời gian 2 ngày. Sinh khối thu được từ quá trình lên men chủng Ld3 sẽ là nguồn cung cấp lợi khuẩn cho quá trình sản xuất lớp phủ ăn được chứa lợi khuẩn ứng dụng trên quả dâu tây sau thu hoạch, nhằm cải thiện chất lượng, chức năng và thời hạn sử dụng quả tươi. Ngoài ra, hoạt tính kháng nấm của CFS từ chủng Ld3 giảm đáng kể ở pH 6,5 nhưng không giảm so với đối chứng sau xử lý nhiệt. Các axit hữu cơ hiện diện trong CFS có thể đóng một vai trò quan trọng trong tác dụng kháng nấm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tiến hành trong khuôn khổ đề tài QG.22.19 của ĐHQG Hà Nội.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Almenar, E., Del-Valle, V., Hernández-Muñoz, P., Lagarón, J. M., Catalá, R., Gavara, R.

(2007). Equilibrium modified atmosphere packaging of wild strawberries. *J. Sci. Food Agric*, 87, 1931–1939.

2. Dhital, R., Mora, N. B., Watson, D., Kohli, P., Choudhary, R. (2018). Efficacy of limonene nano coatings on post-harvest shelf life of strawberries. LWT: Food Sci Technol 97, 124–134.

3. Hajji, S., Younes, I., Affes, S., Boufi, S., Nasri, M. (2018). Optimization of the formulation of chitosan edible coatings supplemented with carotenoproteins and their use for extending strawberries postharvest life. Food Hydrocoll 83, 375–392.

4. Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y., González-Aguilar, G. A. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. Lebensm -Wiss u - Technol 37, 687–695.

5. Bertolini, P., Baraldi, E., Mari, M., Trufelli, B., Lazzarin, R. (2003). Effects of long term exposure to high- CO_2 during storage at 0ºC on biology and infectivity of *Botrytis cinerea* in red Chicory. *J. Phytopathology,* 151, 201-207.

6. Pavli, F., Tassou, C., Nychas, G. J. E., Chorianopoulos, N. (2018). Probiotic incorporation in edible films and coatings: Bioactive solution for functional foods. *Int. J. Mol. Sci.* 19(1), 150. doi: 10.3390/ijms19010150.

7. Guimarães, A., Abrunhosa, L., Pastrana, L. M., Cerqueira, M. A. (2018). Edible films and coatings as carriers of living microorganisms: a new strategy towards biopreservation and healthier foods. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 17, 594-614.

8. Amin, M., Jorfi, M., Khosravi, A., Samarbafzadeh, A., Sheikh, A. F. (2009). Isolation and identification of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* from plants by PCR and detection of their antibacterial activity. *J. Biol. Sci.* 9, 810–814.

9. Gol, N. B., Patel, P. R., Rao, T. R. (2013). Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. Postharvest Biol. Technol. 85, 185-195.

10. Solairaj, D., Guillaume Legrand, N.N., Yang, Q., Zhang, H. (2020). Isolation of pathogenic fungi causing postharvest decay in table grapes and in vivo biocontrol activity of selected yeasts against them. Physiol Mol Plant Pathol 110, 101478. doi: https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2020.101478.

11. Marín, A., Plotto, A., Atarés, L., Chiralt, A. (2019). Lactic acid bacteria incorporated into edible coatings to control fungal growth and maintain postharvest quality of grapes. HortScience 54 (2), 337-343.

12. Reiner, K. (2010). Catalase test protocol. American Society for Microbiology. https://asm.org/Protocols/Catalase-Test-Protocol.

13. Shields, P., Cathcart, L. (2010). Oxidase test protocol. American Society for Microbiology. https://asm.org/Protocols/Oxidase-Test-Protocol.

14. Taroub, B., Salma, L., Manel, Z., Ouzari, H. I., Hamdi Z., Moktar, H. (2019). Isolation of lactic acid bacteria from grape fruit: antifungal activities, probiotic properties, and *in vitro* detoxification of ochratoxin A. Ann. Microbiol. 69:17–27.

15. Lorenzini, M., Simonato, B., Favati, F., Bernardi, P., Sbarbati, A., Zapparoli, G. (2018). Filamentous fungi associated with natural infection of noble rot on withered grapes. Int. *J. Food Microbiol*, 272, 83–86.

16. Breitschwerdt, E. B., Linder, K. L., Day M. J., Maggi, R. G., Chomel, B. B., Kempf, V. A. J. (2013). Koch's Postulates and the pathogenesis of comparative infectious disease causation associated with *Bartonella* species. *J. Comp. Pathol.* 148(2), 115–125.

17. Nguyễn Lân Dũng, Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thanh Hiền, Phạm Văn Ty (1976). *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học*. Tập II. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

18. Zhao, S., Hao, X., Yang, F., Wang, Y., Fan, X., Wang, Y. (2022). Antifungal activity of *Lactobacillus plantarum* ZZUA493 and its application to extend the shelf life of Chinese Steamed Buns. Foods 11, 195. https://doi.org/10.3390/foods11020195

19. Guimarães, A., Venancio, A., Abrunhosa, L. (2018). Antifungal effect of organic acids from lactic acid bacteria on *Penicillium nordicum*. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess 35, 1803-1818.

ISOLATION, SELECTION AND CULTURE OF LACTIC ACID BACTERIUM ANTAGONISTIC TO POSTHARVEST PATHOGENIC FUNGUS IN STRAWBERRIES

Ngo Thi Tuong Chau, Phan Thi Thao Ly,
Nguyen Thi Tu Le, Le Van Thien

Summary

Incorporation of probiotics with edible films or coatings to improve the quality, functionality, shelf life of fresh fruits is one of the latest strategies in the food industry. The aim of this study was to isolate, select lactic acid bacteria (LAB) antagonistic to postharvest pathogenic fungi in strawberries and determine the suitable conditions for their biomass production. Fungi were isolated from decayed strawberries on PDA supplemented with 1% Chloramphenicol at 25°C for 5 - 7 d. LAB were isolated from fresh strawberries on MRS Agar at 37°C for 2 - 3 d. Isolates with antifungal activities were selected using overlay technique. LAB were cultured in MRS Broth at pH 4 - 8, 25 - 40°C for 2 - 5 d. Effects of pH and temperature on the antifungal activity of cell-free supernatant (CFS) were investigated at 4.5 - 6.5 and 60°C, 80°C and 100°C for 2 h, respectively. Results showed that the fungal strain Nd4 was isolated and identified as postharvest pathogen of strawberries with high infection density (1.2×10^3 CFU/g). Among 7 lactic acid bacterial isolates, strain Lb3 with the highest mycelial growth inhibition rate (> 30%) was selected. The suitable culture conditions for biomass production of strain Ld3 were pH 6.0, 30°C for 2 d. Antifungal activity was drastically reduced when the pH of CFS was adjusted to a relatively neutral value of pH 6.5, however no significant reduction of antifungal activity was observed after heat treatment.

Keywords: *Antifungal activity, lactic acid bacteria, postharvest pathogenic fungi, probiotics, strawberry.*

Người phản biện: TS. Huỳnh Ngọc Thanh Tâm
Ngày nhận bài: 01/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 28/3/2023
Ngày duyệt đăng: 4/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ TỚI QUÁ TRÌNH LƯU GIỮ FRUCTOOLIGOSACARIDE TRONG CỦ HOÀNG SIN CÔ SAU THU HOẠCH

Đỗ Thị Thanh Huyền[1, *], Nguyễn Mạnh Đạt[1], Chu Thắng[1],
Nguyễn Thị Hồng Lĩnh[1], Nguyễn Thị Thu[1], Nguyễn Văn Sơn[2]

TÓM TẮT

Củ hoàng sin cô (*Smallanthus sonchifolius*) có hàm lượng đường fructooligosacaride (FOS) cao. Sau khi thu hoạch, đường FOS có trong củ dễ bị thủy phân thành các đường tự do, dẫn đến thất thoát đường FOS. Do vậy, việc xử lý củ hoàng sin cô sau thu hoạch là cần thiết để làm giảm sự thủy phân đường FOS. Mục đích của nghiên cứu này xác định các điều kiện của phương pháp chần kết hợp với phụ gia và sấy khô nguyên liệu nhằm lưu giữ đường FOS trong củ hoàng sin cô sau khi thu hoạch. Củ hoàng sin cô rửa sạch được cắt lát dày khoảng 1,5 mm x 0,5 mm và chần bằng hơi nước nóng 95°C chứa 0,2% axit ascorbic và 0,5% canxi clorua trong 6 phút. Kết thúc quá trình chần, lát củ được làm lạnh nhanh đến nhiệt độ phòng và sấy khô bằng máy sấy đối lưu ở nhiệt độ 65°C. Kết quả khi sử dụng các điều kiện xử lý nguyên liệu thích hợp đã lưu giữ hàm lượng FOS đạt 85,23% và đường khử tăng 35,9% so với FOS và đường khử có trong nguyên liệu củ tươi. Việc lưu giữ hàm lượng FOS cao sau khi thu hoạch trong củ góp phần nâng cao hiệu quả chiết xuất, tinh chế FOS và sản xuất thực phẩm chức năng chứa prebiotic.

Từ khóa: *Hoàng sin cô, chần, đường khử, fructooligosacaride, sấy khô, Smallanthus sonchifolius.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoàng sin cô hay còn gọi là cây sâm khoai - Yacón (có tên khoa học *Smallanthus sonchifolius*) là cây thực vật có hoa thuộc họ cúc *Asteraceae*. Theo đông y, củ sâm hoàng sin cô có tác dụng lợi tiểu, giải nhiệt cơ thể, giảm lượng đường huyết trong máu, có thể ăn sống củ hoặc sấy khô ngâm rượu, làm trà, mứt, nước uống… [1]. Tại Việt Nam, cây hoàng sin cô được trồng nhiều tại một số huyện của tỉnh Lào Cai, Hà Giang, Yên Bái, Lâm Đồng... Tính đến năm 2021, tổng diện tích trồng hoàng sin cô là 142 ha, với sản lượng thu hoạch khoảng 3.600 tấn củ/năm [2]. Trái ngược với hầu hết các loại củ dự trữ tinh bột có thể ăn được, carbohydrate trong củ hoàng sin cô chiếm 10 - 20% chất khô, chủ yếu ở dạng oligofructans hoặc fructooligosacaride (FOS). FOS có trong củ có thể đạt tới 6,4 - 70% chất khô (0,7 - 13,2% khối lượng tươi), carbohydrate khác là fructose, glucose và sucrose [3].

Củ hoàng sin cô có hàm lượng nước cao (80,9 - 92,5%), dễ bị thối rữa và khả năng phân hủy sinh học cao [4]. Trong thời gian bảo quản củ hoàng sin cô, đặc biệt phơi củ dưới ánh nắng mặt trời, đường FOS có xu hướng thủy phân thành sucrose và đường khử (glucose và fructose), củ sẽ có vị ngọt đậm hơn so với khi mới thu hoạch. Quá trình thủy phân FOS diễn ra nhanh hơn trong những ngày đầu tiên sau khi thu hoạch, tổng hàm lượng oligofructan trong củ có thể giảm 41% sau hai tuần bảo quản ở 25°C [5].

Xử lý sơ bộ nguyên liệu sau khi thu hoạch được cho là một bước quan trọng trong chế biến, thường được tiến hành trước khi thanh trùng hoặc đông lạnh để tránh giảm chất lượng và thay đổi màu sắc củ. Cho đến nay, sử dụng hơi nước hoặc nước nóng để chần được sử dụng rộng rãi vì tính đơn giản và kinh tế. Chần cũng có thể được sử dụng để vô hiệu hóa các enzym gây ra quá trình

[1] Viện Công nghiệp thực phẩm, Bộ Công thương
[2] Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội
[*] Email: huyendt@firi.vn

khử polyme của polysaccharides. Tuy nhiên, chần trong nước nóng kéo dài sẽ làm thất thoát đáng kể lượng đường hòa tan [6]. Bên cạnh đó, phương pháp sấy khô nguyên liệu cũng là một cách để tránh sự phân hủy FOS diễn ra trong quá trình bảo quản và vận chuyển củ hoàng sin cô sau thu hoạch [7].

Việc xử lý nguyên liệu sau thu hoạch là cần thiết nhằm giảm sự thất thoát đường FOS và giảm khả năng hình thành các đường tự do. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá ảnh hưởng của các điều kiện xử lý chần kết hợp với phụ gia và sấy nhằm lưu giữ đường FOS trong củ hoàng sin cô.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Củ hoàng sin cô thu tại huyện Bát Xát, tỉnh Lào Cai, loại củ 10 tháng tuổi. Củ được làm sạch bỏ các vết thối hỏng và làm khô bề mặt, sau đó bảo quản trong tủ lạnh (8 ± 2°C) cho đến khi sử dụng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xử lý nguyên liệu

Củ hoàng sin cô được rửa sạch, gọt vỏ và cắt thành lát dày khoảng 1,5 mm x 0,5 mm. Lát củ được chần trong nước sôi hoặc chần bằng hơi nước nóng có bổ sung phụ gia. Sau khi chần, mẫu được làm lạnh nhanh bằng nước lạnh đến nhiệt độ phòng và sấy khô bằng thiết bị sấy đối lưu trong phòng thí nghiệm [8]. Mẫu khô được nghiền nhỏ, trích ly và phân tích hàm lượng đường tổng, đường khử và đường FOS.

2.2.2. Khảo sát phương pháp chần củ hoàng sin cô

Chần bằng hơi nước nóng: Sử dụng nồi có nắp đậy và giỏ lưới cách đáy nồi ít nhất 7,5 cm, đổ nước cao 2,5 - 5 cm vào nồi. Đặt lát cắt củ vào giỏ, dàn đều thành một lớp để hơi nước tiếp xúc toàn bộ củ. Khảo sát nhiệt độ trong khoảng 80 - 100°C, thời gian 4 - 10 phút. Chỉ tiêu đánh giá là hàm lượng đường còn lại trong mẫu phân tích. Chần bằng nước nóng: Chần trong nước sôi 100°C với tỷ lệ mẫu : nước là 1 : 5 (w/v). Củ được đặt trong giỏ chần và nhúng vào nước đang sôi, thời gian chần 5 phút. Chỉ tiêu đánh giá là hàm lượng đường còn lại trong mẫu phân tích.

2.2.3. Xác định ảnh hưởng của tỷ lệ phụ gia có trong nước chần

Các chất phụ gia thực phẩm (axit ascorbic và axit citric) và tỷ lệ (0,1 - 0,2%) có trong dung dịch chần và kết hợp với muối $CaCl_2$ (0,05 - 0,2%), hoặc NaCl 3% được khảo sát trong nghiên cứu này. Mẫu đối chứng là nguyên liệu được chần với nước không có chất phụ gia. Sau khi chần, tiến hành rửa lát củ nhiều lần bằng nước máy, kiểm tra nhanh bằng giấy quỳ tím trên bề mặt lát củ cho đến khi không còn axit. Xác định hàm lượng đường có trong mẫu phân tích.

2.2.4. Xác định nhiệt độ chần và thời gian chần

Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ nước chần đến sự thay đổi hàm lượng đường trong củ hoàng sin cô, thí nghiệm được tiến hành ở các nhiệt độ khác nhau từ 85 - 100°C, thời gian 5 phút. Ảnh hưởng của thời gian xử lý đến sự thay đổi hàm lượng đường trong củ hoàng sin cô: Thí nghiệm được tiến hành ở các thời gian chần khác nhau từ 4 -10 phút với nhiệt độ cố định là 95°C. Chỉ tiêu đánh giá là hàm lượng FOS còn lại trong mẫu phân tích.

2.2.5. Xác định nhiệt độ và thời gian sấy

Mẫu sau khi chần, tiến hành khảo sát nhiệt độ sấy khác nhau ở 50, 60, 65 và 70°C trong 5 giờ. Mẫu đối chứng là mẫu không chần được sấy khô ở 70°C. Chỉ tiêu đánh giá là hàm lượng đường khử, đường FOS và độ ẩm cuối cùng.

2.2.5. Phương pháp trích ly đường FOS và đường tổng, khử

Mẫu củ hoàng sin cô sau khi xử lý được xay nhỏ bằng máy xay trong 3 - 5 phút (kích thước hạt ≤ 300 µm). Cân khoảng 10 g mẫu và thêm 400 ml nước nóng 80°C. Trích ly đường ở nhiệt độ 80°C trong 15 phút trên máy khuấy có ổn nhiệt. Sau đó, dịch trích được làm nguội bằng nước lạnh đến nhiệt độ phòng và lọc dung dịch qua giấy lọc, bỏ bã. Dịch lọc được bảo quản trong tủ đông (-20°C) cho đến khi phân tích đường tổng, đường khử và đường FOS [9].

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Phương pháp xác định hàm lượng fructooligosaccharide

Hàm lượng FOS được phân tích bằng phương pháp quang phổ sử dụng KIT fructan thương mại K-FRUC Kit, hãng Megazyme - Ireland [10]. Các quy trình phân tích do nhà sản xuất đề xuất được tuân thủ nghiêm ngặt và hàm lượng đường FOS được tính toán và biểu thị bằng phần trăm (%) khối lượng. Hàm lượng FOS được tính theo công thức sau:

$$FOS\ (\%w/w) = \Delta A \times F \times 5 \times 25 \times \frac{1,1}{0,2} \times \frac{100}{W} \times \frac{1}{1000} \times \frac{162}{180} \times D \quad (1)$$

Trong đó: *ΔA* là độ hấp thụ mẫu – độ hấp thụ mẫu trắng*; F* là hệ số chuyển đổi giá trị độ hấp thụ thành µg D-fructose (=54,5 mg D-fructose)/(độ hấp thụ của 54,5 mg D-fructose); 5 là hệ số để chuyển đổi từ 0,2 ml trong phân tích thành 1,0 ml; *25* là thể tích chất chiết được sử dụng (ml); $\frac{1,1}{0,2}$ là 0,2 ml được lấy từ 1,1 ml dịch phân hủy enzyme để phân tích; *W* là khối lượng của mẫu chiết (mg); $\frac{100}{W}$ là hệ số để biểu thị fructan dưới dạng phần trăm khối lượng mẫu; $\frac{1}{1000}$ là hệ số để chuyển đổi từ g sang mg; $\frac{162}{180}$ là hệ số để chuyển đổi từ D-fructose tự do thành anhydrofructose và anhydroglucose; D là độ pha loãng thêm của dịch chiết mẫu.

2.3.2. Phương pháp xác định hàm lượng đường khử và đường tổng

Hàm lượng đường khử và đường tổng được xác định theo phương pháp Miller (1959) [11]. Lấy 5 ml dịch mẫu bổ sung 6,5% H_2SO_4 đậm đặc thuỷ phân 1 giờ ở 100°C. Mẫu thủy phân sau đó được trung hòa về pH 6,0 bằng Na_2CO_3 tinh thể. Tiếp theo, 0,5 ml dịch mẫu được thêm vào 0,5 ml dung dịch DNS (6,5 g 3,5 - dinitrosalicytic axit + 325 ml dung dịch 2M NaOH + 45 g glycerol hòa tan và định mức với nước cất thành 1.000 ml) rồi đem thủy phân ở 100°C thời gian 5 phút, kết thúc phản ứng làm nguội nhanh và đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 575 nm. Lượng đường khử sau đó được xác định thông qua đường chuẩn glucose (g glucose/100g khối lượng khô. Lượng đường tổng được tính theo công thức:

$$TS\ (\%) = RS \times 0,88 \quad (2)$$

Trong đó: TS là đường tổng; RS là lượng đường khử có trong dịch phân tích.

2.3.3. Xác định các chỉ tiêu hóa học khác

- Xác định hàm ẩm theo phương pháp sấy khô ở 105°C đến khối lượng không đổi [12].

- Phương pháp xác định hàm lượng protein theo phương pháp Bradford (1976) [13].

- Phương pháp xác định hàm lượng chất hòa tan, đo độ Brix bằng chiết quang kế (0 - 32°Brix), theo phương pháp số 932.12, AOAC (2000) [14].

- Phương pháp xác định hàm lượng chất béo tổng số trong sản phẩm tinh bột theo TCVN 9938: 2013 [15].

- Độ axit chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxit theo phương pháp số 942.15, AOAC (2000) [14].

- Độ pH được xác định bằng máy đo pH theo phương pháp số 981.12, AOAC (2000) [14]

2.3.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các kết quả nghiên cứu là giá trị trung bình ± giá trị sai số (SE). Số liệu của tất cả các thí nghiệm được xử lý bằng phân tích phương sai một chiều One way ANOVA - phần mềm SPSS phiên bản 16, tại mức ý nghĩa P<0,05. Sử dụng tương quan Tukey để để so sánh kết quả giữa các thí nghiệm.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định thành phần hóa học củ hoàng sin cô

Xác định thành phần hóa học củ hoàng sin cô tươi sau thu khi thu hoạch trình bày ở bảng 1.

Số liệu ở bảng 1 cho thấy, hàm lượng nước là thành phần chủ yếu trong củ hoàng sin cô, độ ẩm ban đầu của nguyên liệu khoảng 81,7 ± 0,64%. Đối với hàm lượng chất hòa tan, dịch chiết có giá trị 12,0 ± 0,46°Brix, kết quả này phù hợp nghiên cứu của Manrique và cs (2005) [16], theo đó dịch chiết có giá trị từ 8 - 12°Brix. Đối với độ axit trong củ hoàng sin cô tươi đạt 1,57 ± 0,56 ml/100 g, độ pH là 6,5 ± 0,12. Củ hoàng sin cô có hàm lượng

protein (1,09%) và chất béo (0,08%) thấp. Đây cũng là đặc điểm chung của tất cả các loại dịch chiết từ củ hoàng sin cô đã được báo cáo. Kết quả phân tích đường tổng đạt 77,84 ± 0,25%, đường khử đạt 12,62 ± 0,05% và FOS đạt 64,8 ± 0,26%. Theo nghiên cứu của Campos (2016) và Maria (2018), hàm lượng FOS dao động từ 6,4 - 70% chất khô, sự thay đổi của FOS có thể do giống cây trồng, thời gian thu hoạch và điều kiện bảo quản sau thu hoạch [3, 17].

Bảng 1. Thành phần hóa học củ hoàng sin cô tươi

Thành phần	Hàm lượng	Thành phần	Hàm lượng
Độ ẩm (%)	81,7 ± 0,64	Protein (%)	1,09 ± 0,03
Độ axit (ml/100 g)	1,57 ± 0,56	Đường tổng (% chất khô)	77,84 ± 0,25
pH	6,5 ± 0,12	Đường khử (% chất khô)	12,62 ± 0,05
Hàm lượng chất hòa tan (°Bx)	12,0 ± 0,46	Đường FOS (% chất khô)	64,8 ± 0,26
Hàm lượng chất béo (%)	0,08 ± 0,02		

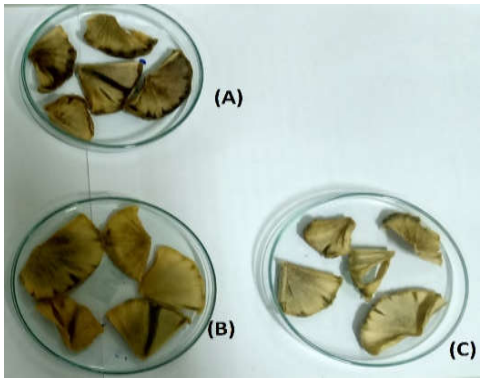
3.2. Ảnh hưởng của phương pháp chần đến hàm lượng đường có trong củ hoàng sin cô

Để lựa chọn phương pháp chần, nguyên liệu được tiến hành chần bằng hơi nước nóng và chần bằng nước sôi với nhiệt độ là 100°C trong 10 phút. Mẫu đối chứng là nguyên liệu không chần được để ở 30°C trong 60 phút. Mẫu sau quá trình chần được sấy khô ở 65°C trong 5 giờ. Kết quả phân tích hàm lượng đường được thể hiện ở bảng 2 và hình 1.

Bảng 2. Ảnh hưởng của phương pháp chần tới hàm lượng đường trong củ hoàng sin cô

Phương pháp chần	Hàm lượng đường tổng (% chất khô - ck)	Hàm lượng đường khử (% ck)	Hàm lượng đường FOS (% ck)
Chần bằng hơi nước nóng	$65,66 \pm 0,07^{a}$	$13,27 \pm 0,08^{b}$	$52,01 \pm 0,05^{b}$
Chần bằng nước sôi	$64,47 \pm 0,64^{a}$	$15,4 \pm 0,29^{c}$	$48,5 \pm 0,16^{a}$
Đối chứng	$66,04 \pm 0,35^{a}$	$12,374 \pm 0,03^{a}$	$52,99 \pm 0,11^{b}$

Ghi chú: Hàm lượng đường được biểu thị bằng giá trị trung bình ± SE (Stardard Error) trên cơ sở khối lượng khô; các chữ cái viết nhỏ khác nhau trong cùng một cột biểu thị khác biệt có ý nghĩa (p <0,05).



Hình 1. Lát cắt củ hoàng sin cô sau khi sấy khô

(A) Đối chứng; (B) Chần bằng nước sôi; (C): Chần bằng hơi nước nóng

Nghiên cứu cho thấy các giá trị thu được đối với đường tổng, đường FOS và đường khử của mẫu chần và không chần còn lại trong củ sau xử lý (Bảng 2). Hàm lượng đường tổng giữa hai phương pháp chần và mẫu đối chứng không có sự khác biệt (*P= 0,092*). Đối với hàm lượng đường khử có sự khác biệt (*P<0,01*), đặc biệt ở phương pháp chần bằng nước sôi có giá trị đường khử cao hơn so với mẫu chần bằng hơi nóng và mẫu đối chứng. Hàm lượng đường FOS còn lại khi chần bằng hơi nước nóng có giá trị cao tương đương với mẫu đối chứng không chần 52,01 ± 0,05% và 52,99 ± 0,1%, trong khi đó, mẫu chần bằng nước sôi có hàm

lượng FOS thấp là 48,5 ± 0,16% và khác biệt so với mẫu chần bằng hơi nước và mẫu đối chứng (*P<0,01*). Theo kết quả này thì có thể các lát củ đã tiếp xúc trực tiếp với nước nóng gây hòa tan thành phần đường có trong lát củ dẫn đến hiện tượng giảm nồng độ đường FOS trong mẫu chần bằng nước nóng.

Mặt khác, khi quan sát màu sắc các lát cắt của mẫu đối chứng, màu sắc thay đổi nhanh thành màu nâu sẫm (Hình 1), đây là do phản ứng enzyme có trong củ gây phản ứng nâu hóa. Theo phân tích của Heiler và cs (2013), sử dụng chần nước nóng/hơi nước sôi để xử lý lát táo nhằm ngăn chặn quá trình nâu hóa và ổn định màu sắc [18]. Như vậy, dựa trên kết quả phân tích hàm lượng đường và quan sát màu sắc lát cắt củ hoàng sin cô, lựa chọn phương pháp chần bằng hơi nước nóng để tiến hành xử lý nguyên liệu cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của phụ gia bổ sung trong dung dịch chần đến hàm lượng đường có trong củ

3.3.1. Ảnh hưởng của thành phần phụ gia

Hàm lượng đường trong các mẫu chần kết hợp phụ gia và sấy khô ở 65°C được thể hiện tại bảng 3 cho thấy, giá trị đường tổng dao động khác nhau giữa các mẫu thí nghiệm (*P=0,019*), đường tổng đạt cao nhất ở mẫu đối chứng, thí nghiệm chỉ bổ sung axit ascorbic hoặc axit citric có giá trị đường tổng đạt thấp; hàm lượng đường khử trong mẫu sau xử lý dao động trong khoảng 13,89 - 16,56%, đặc biệt mẫu xử lý axit ascorbic 0,1 và $CaCl_2$ 0,5% có giá trị đường khử thấp và tại mẫu đối chứng có giá trị cao nhất (*P=0,001*). Như vậy, mẫu xử lý bằng axit ascorbic 0,1% và $CaCl_2$ 0,5% đã ngăn chặn được sự hình thành đường khử; đối với giá trị đường FOS, dung dịch chần chỉ có axit ascorbic hoặc axit citric sẽ làm thất thoát đáng kể lượng đường FOS, có thể khi chần ở nhiệt độ cao kết hợp với axit đã xảy ra quá trình thủy phân FOS. Đáng chú ý, mẫu chần hơi nước nóng có axit ascorbic kết hợp $CaCl_2$ hoặc NaCl cho kết quả lưu giữ đường FOS đạt cao nhất, lần lượt là 49,94 ± 0,16% và 49,1 ±0,2%, có ý nghĩa khác biệt so với các mẫu thí nghiệm (*P=0,001*). Ramesh (2007) giải thích rằng, khi xử lý mô thực vật trong dung dịch chần có sử dụng muối canxi kết hợp với nhiệt độ cao sẽ tạo thành canxi pectate không hòa tan, giúp tăng độ cứng của sản phẩm và chống lại sự thủy phân của đường FOS [19]. Với kết quả trên, axit ascorbic và $CaCl_2$ được lựa chọn để bổ sung vào nước chần.

Bảng 3. Ảnh hưởng của phụ gia dung dịch chần đến đến hàm lượng đường có trong củ

Phụ gia bổ sung		Hàm lượng đường tổng (% ck)	Hàm lượng đường khử (% ck)	Hàm lượng đường FOS (% ck)
Axit ascorbic 0,1%	Không sử dụng muối	$63,3 \pm 0,24^{a}$	$14,81 \pm 047^{ab}$	$46,88 \pm 0,34^{ab}$
	0,5% $CaCl_2$	$64,25 \pm 0,64^{ab}$	$13,89 \pm 0,29^{a}$	$49,94 \pm 0,16^{c}$
	3% NaCl	$64,26 \pm 0,79^{ab}$	$14,73 \pm 1,06^{ab}$	$49,1 \pm 0,2^{b}$
Axit citric 0,1%	Không sử dụng muối	$63,49 \pm 0,54^{a}$	$14,92 \pm 0,21^{ab}$	$47,17 \pm 0,58^{ab}$
	0,5% $CaCl_2$	$65,63 \pm 0,11^{b}$	$15,86 \pm 0,12^{bc}$	$48,86 \pm 0,41^{bc}$
	3% NaCl	$64,89 \pm 0,28^{ab}$	$16,56 \pm 0,17^{bc}$	$48,01 \pm 0,13^{bc}$
Đối chứng (nước)		$65,18 \pm 0,45^{ab}$	$17,8 \pm 0,38^{c}$	$47,21 \pm 0,07^{ab}$

Ghi chú: Hàm lượng đường được biểu thị bằng giá trị trung bình ± SE (Stardard Error) trên cơ sở khối lượng khô; các chữ cái viết nhỏ khác nhau trong cùng một cột biểu thị khác biệt có ý nghĩa (p <0,05).

3.3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ phụ gia bổ sung trong dung dịch chần

Kết quả bảng 4 phân tích hàm lượng đường còn lại trong mẫu sau chần bằng hơi nước nóng có phụ gia cho thấy, đường tổng trong các thí nghiệm chần có phụ gia có khác biệt so với mẫu đối chứng (*P<0,01*). Hàm lượng đường khử trong mẫu chần có $CaCl_2$ 0,5% đạt giá trị thấp (13,52 ± 0,12% - 14,6 ± 0,43%) và có khác biệt so với các mẫu còn lại (*P<0,01*). Khả năng lưu giữ đường FOS thay đổi trong khoảng 48,2 ± 0,4% - 49,93 ± 0,26% đối với nồng độ $CaCl_2$ 0,2% và $CaCl_2$ 0,7%, trong khi tỷ lệ lưu giữ đường FOS thay đổi trong khoảng 49,06 ± 0,73% - 51,27 ± 0,48% đối với nồng độ $CaCl_2$ 0,5%. Hàm lượng FOS ở mẫu chần bằng ascorbic 0,1% + $CaCl_2$ 0,5% và ascorbic 0,05% + $CaCl_2$ 0,7% có khác biệt so với các thí nghiệm khác (*P<0,01*). Kết hợp các kết quả, đã sử dụng kết hợp axit ascorbic 0,1% với $CaCl_2$ 0,5% trong quá trình chần bằng hơi nước nóng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ axit ascorbic và $CaCl_2$ trong dung dịch chần đến hàm lượng đường

Phụ gia bổ sung		Hàm lượng đường tổng (% ck)	Hàm lượng đường khử (% ck)	Hàm lượng đường FOS (% ck)
$CaCl_2$ 0,2%	Axit ascorbic 0,2%	$63,2 \pm 0,3^{ab}$	$14,2 \pm 0,5^{ab}$	$48,9 \pm 0,3^{bc}$
	Axit ascorbic 0,15%	$63,3 \pm 0,3^{ab}$	$14,76 \pm 0,51^{ab}$	$48,46 \pm 0,52^{b}$
	Axit ascorbic 0,1%	$64,73 \pm 0,66^{b}$	$15,23 \pm 0,34^{b}$	$48,86 \pm 0,31^{bc}$
	Axit ascorbic 0,05%	$65,26 \pm 0,33^{b}$	$15,13 \pm 0,23^{ab}$	$49,93 \pm 0,26^{bc}$
$CaCl_2$ 0,5%	Axit ascorbic 0,2%	$64,86 \pm 0,35^{b}$	$14,11 \pm 0,19^{a}$	$49,06 \pm 0,73^{bc}$
	Axit ascorbic 0,15%	$65,16 \pm 0,26^{b}$	$14,03 \pm 0,14^{a}$	$49,9 \pm 0,47^{bc}$
	Axit ascorbic 0,1%	$64,25 \pm 0,24^{b}$	$13,52 \pm 0,12^{a}$	$51,27 \pm 0,48^{c}$
	Axit ascorbic 0,05%	$65,28 \pm 0,24^{b}$	$14,6 \pm 0,43^{a}$	$49,16 \pm 0,84^{bc}$
$CaCl_2$ 0,7%	Axit ascorbic 0,2%	$64,5 \pm 0,58^{b}$	$15,1 \pm 0,36^{ab}$	$48,96 \pm 0,32^{bc}$
	Axit ascorbic 0,15%	$64,5 \pm 0,66^{b}$	$15,4 \pm 0,32^{b}$	$48,83 \pm 0,56^{bc}$
	Axit ascorbic 0,1%	$64,73 \pm 0,66^{b}$	$15,2 \pm 0,23^{ab}$	$49,2 \pm 0,55^{bc}$
	Axit ascorbic 0,05%	$63,56 \pm 0,14^{ab}$	$14,96 \pm 0,38^{ab}$	$48,2 \pm 0,4^{b}$
Đối chứng (chần hơi nước)		$61,66 \pm 0,5^{a}$	$17,33 \pm 0,26^{c}$	$43,66 \pm 0,03^{a}$

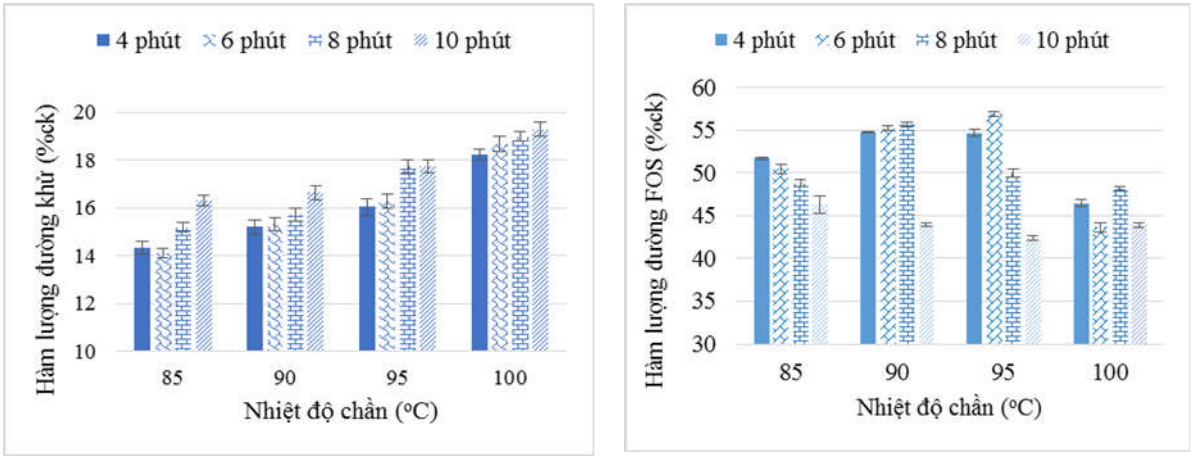
Ghi chú: Hàm lượng đường được biểu thị bằng giá trị trung bình ± SE (Stardard Error) trên cơ sở khối lượng khô; các chữ cái viết nhỏ khác nhau trong cùng một cột biểu thị khác biệt có ý nghĩa (p <0,05).

3.4. Xác định thời gian và nhiệt độ chần đến hàm lượng đường trong củ hoàng sin cô

Đánh giá ảnh hưởng nhiệt độ chần và thời gian đến hàm lượng đường, các mẫu được chần trong khoảng 4 -10 phút ở nhiệt độ 85 - 100°C. Lát cắt củ hoàng sin cô sau khi chần được sấy khô và phân tích chất lượng, kết quả được thể hiện ở hình 2.

Kết quả ở hình 2 cho thấy, nhiệt độ và thời gian chần có ảnh hưởng khá lớn đến hàm lượng đường FOS và đường khử. Hàm lượng đường khử tăng dần khác biệt khi sấy ở thời gian dài *(P<0,01)* và sấy nhiệt độ cao *(P<0,01)*. Đối với đường FOS giảm mạnh rõ rệt khi chần ở nhiệt độ 100°C *(P<0,01)* và thời gian chần 10 phút *(P<0,01),* có thể thời gian chần dài kết hợp với nhiệt độ cao gây thịt củ bị mềm, xảy ra phản ứng thủy phân làm giảm hàm lượng đường FOS.

Bên cạnh đó, khi chần ở nhiệt độ 85°C có hàm lượng FOS đạt thấp, có thể nhiệt độ của nước nóng chưa đủ cao, tăng hoạt động của enzyme có trong củ và thúc đẩy quá trình thủy phân đường FOS và đường khử. Xét thấy với mẫu chần ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 8 phút hoặc nhiệt độ 95°C trong 6 phút cho hàm lượng đường FOS đạt giá trị cao nhất, lần lượt là 55,7 ± 0,28% và 56,93 ± 0,29%. Do đó ở thí nghiệm này, để duy trì đường FOS và giảm khả năng hình thành đường khử, thời gian chần 6 phút ở nhiệt độ 95°C được chọn để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Ảnh hưởng nhiệt độ chần và thời gian tới hàm lượng đường khử và đường FOS

3.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hàm lượng đường trong củ hoàng sin cô

Lát củ hoàng sin cô sau khi chần bằng hơi nước nóng có chứa axit ascorbic 0,1% và $CaCl_2$ 0,5% được sấy khô ở nhiệt độ tương ứng là 50, 60, 65 và 70°C trong 5 giờ, so sánh với mẫu không chần sấy ở nhiệt độ 70°C. Kết quả phân tích của ảnh hưởng nhiệt độ sấy tới hàm lượng đường FOS và đường khử được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ axit ascorbic và $CaCl_2$ trong dung dịch chần đến hàm lượng đường

Xử lý	Nhiệt độ sấy (°C)	Độ ẩm (%)	Hàm lượng đường khử (% ck)	Hàm lượng đường FOS (% ck)
Chần	50	$6,65 \pm 0,07^{c}$	$16,63 \pm 0,12^{a}$	$54,23 \pm 0,4^{b}$
	60	$4,63 \pm 0,14^{b}$	$17,85 \pm 0,59^{a}$	$54,8 \pm 1,2^{b}$
	65	$3,57 \pm 0,06^{a}$	$17,16 \pm 0,49^{a}$	$55,23 \pm 0,47^{b}$
	70	$3,24 \pm 0,14^{a}$	$17,35 \pm 0,51^{a}$	$53,6 \pm 0,63^{b}$
Không chần	70	$4,63 \pm 0,26^{b}$	$28,23 \pm 0,74^{b}$	$42,5 \pm 0,55^{a}$

Ghi chú: Hàm lượng đường được biểu thị bằng giá trị trung bình ± SE (Stardard Error) trên cơ sở khối lượng khô; các chữ cái viết nhỏ khác nhau trong cùng một cột biểu thị khác biệt có ý nghĩa (p <0,05).

Độ ẩm không có sự khác nhau rõ ở điều kiện sấy 65 và 70°C, độ ẩm cao khi sấy ở 50 và 60°C, cùng nhiệt độ sấy 70°C có sự khác biệt đối với mẫu chần và không chần (*P<0,001*). Đối với mẫu chần, nhiệt độ sấy từ 50 - 70°C không có ảnh hưởng đáng kể (*P<0,001*) tới sự hình thành đường khử (16,63 ± 0,12% - 17,85 ± 0,59%) và lưu giữ đường FOS (53,2 ± 1,2% - 55,23 ± 0,47%) (*P<0,001*), so sánh với mẫu không chần có giá trị đường khử tăng (28,23 ± 0,74%) và đường FOS giảm thấp (42,5 ± 0,55%). Đặc biệt, nhiệt độ sấy ở 65°C đối với mẫu chần có hàm lượng FOS đạt cao nhất và sự hình thành đường khử thấp đạt nhất. Trong một nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình sấy khô đến hàm lượng đường, Caroline và cs (2009) cho biết hàm lượng đường khử tăng lên do quá trình thủy phân FOS xảy ra trong quá trình gia nhiệt từ 70°C [7]. Bên cạnh đó, theo Campos (2016), khi pH lát củ trong khoảng 5,8 - 6,0 có thể sấy củ hoàng sin cô ở nhiệt độ lên tới 80°C mà không xảy ra quá trình thủy phân FOS [20]. Trong nghiên cứu hiện tại, hàm lượng đường khử không tăng và đường FOS không giảm khi sấy ở nhiệt độ từ 50 - 70°C và khác biệt có ý nghĩa với mẫu đối chứng. Như vậy, lựa chọn nhiệt độ sấy ở 65°C đã giảm sự thất thoát đường FOS và ngăn chặn hình thành đường khử.

Sau khi xử lý nguyên liệu bằng phương pháp chần hơi nước nóng có chứa axit ascorbic 0,2% và $CaCl_2$ 0,5%, sấy khô ở 65°C, hàm lượng đường FOS đạt 55,23 ± 0,47%, lưu giữ hàm lượng FOS đạt 85,23% khi so sánh với đường FOS có trong nguyên liệu ban đầu (64,8 ± 0,26%). Hàm lượng

đường khử đạt 17,16 ± 0,49% tăng so với đường khử nguyên liệu ban đầu (12,62 ± 0,05%) là 35,9%.

4. KẾT LUẬN

Điều kiện chần và sấy có ảnh hưởng đến hàm lượng đường FOS có trong củ hoàng sin cô sau khi thu hoạch. Nguyên liệu rửa sạch, gọt vỏ và cắt thành các lát có đường kính 5,0 mm và dày 1,5 mm. Chần các lát củ bằng hơi nước nóng trong dung dịch chứa 0,2% axit citric và 0,5% $CaCl_2$ ở 95°C trong 6 phút có tác dụng bảo vệ chống lại sự thủy phân của FOS. Nhiệt độ sấy 65°C trong 5 giờ cho kết quả lưu giữ đường FOS đạt cao nhất là 55,23 ± 0,47% và đường khử thấp là 17,16 ± 0,49%. So với đường FOS và đường khử có trong củ tươi, hàm lượng FOS còn lại sau xử lý là 85,23%, trong khi đường khử tăng 35,9%. Do đó, xử lý nguyên liệu bằng chần hơi nước nóng kết hợp phụ gia và sấy khô là khả thi để tránh sự phân hủy FOS diễn ra trong quá trình bảo quản củ sau thu hoạch.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là một phần công việc của Dự án Hợp tác nghiên cứu mã số 2023-1 (Reference number: 5F75Ra1212) giữa Công ty Amano Enzyme Inc., Nhật Bản và Viện Công nghiệp thực phẩm, Bộ Công thương, kinh phí tài trợ nghiên cứu bởi Amano Enzyme Inc., Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Ngọc Đức, Sâm Khoai (2022). Cây trồng mới tại cao nguyên đá Đồng Văn giúp bà con nông dân giảm nghèo bền vững. Đài Phát thanh và Truyền hình Hà Giang. http://hagiangtv.vn/kinh-te/202212/sam-khoai-cay-trong-moi-tai-cao-nguyen-da-dong-van-giup-ba-con-nong-dan-giam-ngheo-ben-vung-ee81cc7/.

2. Hải Đăng (2021). 2.300 tấn Hoàng Sin Cô của nông dân Y Tý chưa có đầu ra. Báo Nông nghiệp Việt Nam. https://nongnghiep.vn/2300-tan-hoang-sin-co-cua-nong-dan-y-ty-chua-co-dau-ra-d306679.html.

3. Caetano, B. F. R., *et al.* (2026). Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a food supplement: health- promoting benefits of fructooligosaccharides. Nutrients. 8(7): p. 436-442.

4. Lachman, J., E.C. Fernandez and M. Orsak (2003). Yacon (*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson) chemical composition and use e a review. Plant, Soil and Environment. 49(6): p. 283-290.

5. Graefe, S., *et al.* (2004). Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. Field Crops Research. 86: p. 157–165.

6. Hwang, I. G., *et al.* (2010). Changes in ginsenosides and antioxidant activity of Korean ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) with heating temperature and pressure. Food Sci Biotechnol. 19: p. 941-949.

7. Caroline, F. S., d. O. R. Alessandro and P. Z. N. Caciano (2009). Hot air drying of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and its effect on sugar concentrations. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: p. 2169–2175.

8. Valeria, D. C., C. G. María and A. Margarita (2016). Evaluation of Texture Profile, Color and Determination of FOS in Yacón Products (*Smallanthus sonchifolius*). *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*. 4(7): p. 540-544.

9. Muir, J. G., *et al.* (2007). Fructan and free fructose content of common Australian vegetable and frui. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55(16): p. 6619-6627.

10. Megazyme (2020). Fructan Assay procedure for the measurement of fructooligosacarit (FOS) and Inulin, Levan and Branches fructan polysaccharidesin food, feeds and ingredients. K-FRUC 01/20.

11. Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: p. 426–428.

12. Tiêu chuẩn Quốc gia (2001). TCVN 4326: 2001: Xác định độ ẩm và hàm lượng chất bay hơi khác.

13. Bradford, M. M (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Anal Biochem. 72: p. 248–254.

14. AOAC (2000). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC: AOAC.

15. Tiêu chuẩn Quốc gia (2013). TCVN 9938: 2013: Tinh bột tự nhiên hoặc tinh bột biến tính - xác định hàm lượng chất béo tổng.

16. Manrique, I., A. Parraga and M. Hermann (2005). Yacon syrup: Principles and processing. Lima, Peru: Centro International de la Papa (CIP). www.cipotato.org.

17. Maria, d. F. G. d. S., *et al.* (2018). Evaluation of nutritional and chemical composition of yacon syrup using 1H NMR and UPLC-ESI-Q-TOF-MS. Food Chemistry. 245: p. 1239-1247.

18. Heiler, A., *et al.* (2013). Optimization of humidity and texture in apple snacks evaluating thickness and drying temperature. Agroind Sci **2**: p. 91-100.

19. Ramesh, M. N (2007). Canning and Sterilization of Foods. In: Handbook of Food Preservation edited by M. Shafiur Rahman. Second Edition. CRC Press is an imprint of the Taylor & Francis Group. Boca Raton London New York.

20. Campos, D (2016). A. Aguilar-Galvez and R. Pedreschi, Stability of fructooligosaccharides, sugars and colour of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) roots during blanching and drying. *International Journal of Food Science and Technology*, 51: p. 1177 - 1185.

EFFECTS OF TREATMENT METHODS ON STORAGE OF FRUCTOOLIGOSACARIDE FROM YACON ROOTS AFTER HARVEST

Do Thi Thanh Huyen, Nguyen Manh Dat, Chu Thang,
Nguyen Thi Hong Linh, Nguyen Thi Thu, Nguyen Van Son

Summary

Yacon root is an important source of hight fructooligosaccharides (FOS). However, FOS in yacon roots is usually hydrolyzed to reducing sugars due to the degradation of products during postharvest and storage. Therefore, yacon roots should be treated as soon as possible after harvesting to prevent the loss of FOS. The objective of this study was to evaluate the influence of the combination of blanching methods and additives, and drying temperature on the FOS content and reducing sugar content. First, the yacon tubers were washed and cut into slices with an average diameter of 0.5 x 1.0 mm thickness. Next, these slices were blanched in hot water (95°C) added 0.2% citric acid and 0.5% $CaCl_2$ for 6 min. The samples were immediately cooled in cold water and dried with heated air at 65°C in an oven with forced convection air dryer. The results showed that FOS content of dried samples were 85.23% and the reducing sugar increased by 35.9%, compared to the FOS and the reducing sugar in freshones. The preservation of high FOS content in yacon tubes after harvesting can supply good materials for the extraction and purification of FOS or proceeding of prebiotic - containing functional foods.

Keywords: *Blanching, fructooligosaccharides, drying, reducing sugars, yacon, Smallanthus sonchifolius.*

Người phản biện: TS. Lê Hồng Phượng
Ngày nhận bài: 01/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 28/3/2023
Ngày duyệt đăng: 4/4/2023

SỬ DỤNG TINH BỘT KHOAI LANG LÀM CHẤT KẾT DÍNH CHO CÁC SẢN PHẨM XÚC XÍCH TỪ THỊT

Bùi Thị Hồng Phương[1,*], Nguyễn Mạnh Đạt[1],
Nguyễn Thị Hoài Trâm[2], Đỗ Thị Thủy Lê[1], Bùi Thị Thúy Hà[1]

TÓM TẮT

Sử dụng tinh bột làm chất kết dính trong các sản phẩm thịt nghiền nhỏ, như xúc xích hoặc chả thịt đã được nghiên cứu rộng rãi trong thời gian qua. Tinh bột được coi là một chất kết dính tốt và được thêm vào để liên kết nước, nếu không lượng nước tự do sẽ bị tiết ra khỏi sản phẩm. Sử dụng tinh bột khoai lang được sử dụng làm chất kết dính thay thế cho tri-photphat đã được thực hiện. Tinh bột khoai lang (Sweet potato starch- SPS) để tạo công thức cho các sản phẩm ở ba mức độ bao gồm 2%, 4% và 6 % so với thịt và được so sánh với sản phẩm được tạo công thức có tri-photphat (3%/kg thịt) làm chất kết dính. Thực nghiệm với các yếu tố trên đã được sử dụng trong nghiên cứu này để xác định khả năng bảo quản và cảm quan của sản phẩm. Kết quả chỉ ra rằng, việc bổ sung SPS lên đến 4% không có ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng sản phẩm khi làm chín như cường độ hương vị thịt và khả năng chấp nhận của sản phẩm.

Từ khóa: *Chất kết dính, thịt, poly-photphat, xúc xích, tinh bột khoai lang (SPS).*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Một số sản phẩm từ thịt sẽ bị mất khả năng giữ nước do những thay đổi trong cơ thịt đó là việc bị mất adenosine tri-photphat. Việc khôi phục khả năng giữ nước của các sản phẩm thịt được nghiền nhỏ trước khi chế biến là bổ sung tri-photphat và khi bổ sung tri-photphat giúp cải thiện sự gắn kết các cấu tử thịt và sự liên kết các chất béo và thành phần nước lại với nhau tạo thành một khối thống nhất có trong sản phẩm. Tri-photphat khi thêm vào thịt sẽ bị phá vỡ cấu trúc actomyosin thành actin và myosin, có thể được hòa tan bằng muối để tăng khả năng giữ nước. Tuy nhiên, việc sử dụng tri-photphat trong các sản phẩm thịt nghiền thường bị lo ngại là sử dụng chất hóa học làm phụ gia kết dính mà tri-photphat có thể gây hại khi những sản phẩm đó được tiêu thụ trong một thời gian dài. Do đó, cần phải tìm một giải pháp phi thành phần hóa chất để phục vụ cho chế biến như một chất kết dính tự nhiên, an toàn một trong số các biện pháp đó là sử dụng tinh bột khoai lang để làm chất kết dính. Khoai lang trắng là một loại nông sản thu củ hiện đang được được trồng với quy mô rất lớn ở Việt Nam. Khoai lang rất giàu carbohydrate, carotenoid, polyphenol và cũng là nguồn cung cấp năng lượng hay chất chống oxi hóa rất tốt trong chế độ ăn hàng ngày. Phần lớn khoai lang ở Việt Nam được trồng để thu hoạch củ dùng tươi phục vụ cho xuất khẩu nông sản ra các nước trên thế giới hoặc dùng cho việc thu hồi tinh bột và chế biến làm thức ăn gia súc. Tinh bột khoai lang là một nhóm cacbonhydat của một polyme hợp chất glucose bao gồm hai phần chính, đó là amyloza và amylopectin. Tinh bột khoai lang có màu trắng sáng, có độ pH từ 5,5 - 6,5. Hạt tinh bột có kích thước 5-25 μm, chủ yếu là hình tròn và bầu dục, bề mặt nhẵn [1]. Hàm lượng amilopectin trong tinh bột khoai lang tương đối cao, chiếm 72 - 80%. Hàm lượng protein thấp 0,1 - 0,23%. Tinh bột khoai lang có độ nở, khả năng hồ hoá và độ hoà tan cao. Nhiệt độ hồ hoá của tinh bột khoai lang 65 - 85°C nhưng thích hợp nhất là 75°C [2]. Tinh bột khoai lang được sử dụng rộng rãi trong các loại sản phẩm giàu tinh bột, bánh nướng, đồ ăn nhanh và các sản phẩm bánh kẹo do các đặc tính của chúng, chẳng hạn như nhiệt độ hồ hóa thấp, khả năng liên

[1] Bộ môn Công nghệ lên men, Viện Công nghiệp Thực phẩm
[2] Bộ môn Công nghệ Enzyme & Protein, Viện Công nghiệp Thực phẩm
*Email: phuongbth@firi.vn

kết nước cao, độ đặc sệt cao và độ trong của bột tốt [3].

Có thể dùng tinh bột khoai lang để sản xuất snack, miến, phụ gia trong chế biến các sản phẩm từ thịt. Trong ngành công nghiệp chế biến các sản phẩm từ thịt, tinh bột được sử dụng để giữ nước và cải thiện đặc tính kết cấu của sản phẩm [4]. Chúng được thêm vào các công thức sản phẩm thịt như chất kết dính để giảm chi phí sản phẩm, tăng sản lượng, giảm thất thoát khi chế biến, cải thiện kết cấu và làm tăng khả năng liên kết nước và chất béo [5]. Nghiên cứu này nhằm mục đích nghiên cứu ảnh hưởng của tinh bột khoai lang như một chất kết dính thay cho poly-photphat trong quá trình nghiền nhỏ các sản phẩm từ thịt.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Tinh bột khoai lang được thu nhận từ giống khoai lang trắng mua từ Thái Bình, Nam Định và tinh bột này là sản phẩm nghiên cứu của đề tài *"Nghiên cứu công nghệ và dây chuyền thiết bị sản xuất tinh bột, tinh bột biến tính và đường trehaloza từ khoai lang"* có hàm lượng tinh bột > 95%, độ ẩm < 13%, độ trắng > 85, chất xơ 0,25 - 0,29%, tro 0,14-0,16% và protein 0,10 - 0,12%, amyloza 28 - 30%.

Công thức làm xúc xích: thịt lợn được cắt miếng nhỏ xay riêng nghiền nhỏ qua 3 cấp độ. Tỷ lệ 58% thịt nạc heo, 20% mỡ heo, 18% đá viên xay nhỏ; 0,1% carrageenan, 0,01% natri erythorbate, 0,3% tri–photphat, 1,0% đường, 0,9% muối. Thí nghiệm được sử dụng trong nghiên cứu này là thay thế tri photphat bằng tinh bột khoai lang với các mẫu M1, M2 và M3 tương ứng tỷ lệ sử dụng là 2%, 4% và 6% và các thành phần khác được bổ sung vào giống nhau như ở mục công thức chế biến. Sau khi xay nghiền 3 cấp độ thu được hệ nhũ thịt có nhiệt độ paste thịt nhỏ hơn 12°C và được bơm nhồi qua máy F- Line F190 với đường kính vỏ có Ø 23 (khối lượng 37 g/chiếc). Sau đó, xúc xích này được hấp ở nhiệt độ tâm nồi 72°C, thời gian 20 phút, quá trình bảo quản được giữ ở 0 - 4°C trong 6-8 tuần. Kết thúc thí nghiệm xác định chỉ tiêu cảm quan [màu sắc, kết cấu (độ mềm), mùi vị, mức độ yêu thích, khả năng chấp nhận sản phẩm và các chỉ tiêu thành phần (độ ẩm, protein thô và hàm lượng chất béo)].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp đánh giá cảm quan theo TCVN 3215-79

Các sản phẩm sau khi chế biến được bảo quản ở nhiệt độ từ 0 - 4°C trong thời gian 6-8 tuần. Trước khi tiến hành cảm quan các mẫu này được rã đông hấp nhanh ở nhiệt độ sôi trong 7 phút, cắt thành các miếng đồng nhất khoảng 2 cm/miếng được bày trên đĩa để cho hội đồng đánh giá cảm quan thẩm định chất lượng cho các chỉ tiêu [màu sắc, kết cấu (độ mềm), mùi vị, mức độ yêu thích, khả năng chấp nhận sản phẩm] với thang điểm từ 0 - 6 điểm.

2.2.2. Phương pháp phân tích chỉ tiêu các thành phần chất lượng theo AOAC 1999

Các chỉ tiêu chất lượng thành phần được phân tích bao gồm các chỉ tiêu độ ẩm, protein thô và hàm lượng chất béo.

2.2.3. Phương pháp xác định độ hao hụt khối lượng bằng phương pháp cân (sử dụng cân kỹ thuật Sartorius - Đức) theo phương pháp của Zhen Yang và cs (2014) có cải tiến [6]

Mẫu xúc xích được cắt thành lát độ dày 2 cm, sau đó được cân chính xác và cho vào từng túi, buộc kín lại. Các túi được nấu trong nồi cách thủy có nhiệt độ không đổi 90^{0}C trong 10 phút và để nguội đến nhiệt độ phòng. Mẫu được lấy ra khỏi túi, lau sạch nước tự do trên bề mặt và được cân lại. Tổn thất trong quá trình chế biến được tính theo công thức:

$$\% \text{ Hao hụt} = \frac{M1-M2}{M1} \times 100\%$$

Trong đó: M1 là khối lượng xúc xích trước khi chế biến (g); M2 là khối lượng xúc xích sau khi chế biến (g).

2.2.4. Phương pháp xác định chỉ số peroxide (PV) theo phương pháp của Hans Steinhart, (1995) [7]

Cân 10 g mẫu được trộn với axit tricloroaxetic 10%, sử dụng máy đồng hóa IKA, T25 Utral Turrax. Mẫu được ly tâm ở 2.500 vòng trong 20 phút ở 5^{0}C; lấy dịch phía trên tiếp tục lọc qua giấy lọc định lượng (640 Whatman, Đức). Lấy 2 ml dịch lọc hòa với 2 ml dung dịch axit thiobarbituric (20 mM).

Vontex mẫu để đồng nhất và sau đó phản ứng ở 97^0C trong 20 phút trong bể ổn nhiêt. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 532 nm. Nồng độ của các mẫu được tính bằng một đường chuẩn. Các giá trị TBARS được tính (mg malonaldehyde/kg mẫu).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của việc thay thế tinh bột khoai lang với tri-photphat đến khả năng tách nước

Trong quá trình nghiền thịt, các cơ protein thịt sẽ tạo thành hỗn hợp dạng nhũ tương để liên kết nước, chất béo và bất kỳ phi protein nào được bổ sung vào để ổn định hệ nhũ thịt. Một trong các chất ổn định được bổ sung làm chất kết dính là tri–photphat [8]. Xúc xích được cân trước và sau chế biến để xác định mức độ tổn thất nước (hao hụt trọng lượng). Kết quả được trình bày trong bảng 1. Qua quan sát với mẫu xúc xích có bổ sung tinh bột khoai lang (SPS) với hàm lượng 2% và 4% thì không thấy sự khác biệt nhiều về mức độ hao hụt, nhưng với mẫu M2 bổ sung 4% tinh bột cho thấy việc tách nước trong sản phẩm là thấp nhất, mặc dù có sự khác biệt không nhiều so với mẫu M1 khi bổ sung với tỷ lệ 2% tinh bột khoai lang. Nhưng với mẫu M3 khi bổ sung tinh bột với tỷ lệ 6% thì sản phẩm sau chế biến bị cứng và có liên kết cấu trúc kém. Điều này sẽ được giải thích như sau: Khi tinh bột được hồ hóa, hạt tinh bột sẽ được trương nở lên nó trở nên giống như keo dán (hồ hóa) và chính keo dán này sẽ hỗ trợ cho sự gắn kết các khối nhũ thịt để bẫy hàm lượng nước có trong khối nhũ thịt lại với nhau tạo thành một khối có liên kết bền vững. Tuy nhiên, hàm lượng tinh bột cao hơn dẫn đến hệ nhũ thịt không ổn định làm cho kết cấu bị cứng khi chế biến. Theo Gunter và Pete (2007), tăng hàm lượng tinh bột lên đến 4% sẽ cải thiện kết cấu của các sản phẩm thịt xay nghiền [9]. Điều này chỉ ra rằng SPS có thể được sử dụng như một chất kết dính ở mức không lớn hơn 4% như khuyến cáo của Gunter và Pete (2007) [9].

Bảng 1. Sự thất thoát lượng nước khi làm chín sản phẩm có bổ sung tinh bột khoai lang

Sản phẩm	Đối chứng	M1	M2	M3
Tỷ lệ (%) thất thoát khối lượng	10,82	10,33	10,07	11,04

Như vậy, với nghiên cứu này mẫu M2- tỷ lệ tinh bột khoai lang sử dụng 4% sẽ cho thấy việc thất thoát khối lượng sau chế biến là thấp nhất so với nghiên cứu của Teye (2011) [10] thì khả năng thất thoát khối lượng của mẫu khi bổ sung tin bột cũng thấp hơn so với mẫu cùng nghiên cứu.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ làm chín khi sử dụng tinh bột thay thế

Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng đến nhiệt độ làm chín đối với tinh bột khoai lang đã được sử dụng. Xúc xích được làm chín được đo ở nhiệt độ trung tâm của lò nấu là 65°C, 75°C và 85°C. Chất lượng sản phẩm dựa trên khả năng hồ hóa kết dính của tinh bột khi đun nóng trong môi trường chứa nước, do đó lượng nước liên kết tương đối lớn quá trình hồ hóa gây ra trương nở hạt tinh bột và có thể tạo gel làm chất kết dính các thành phần nguyên liệu lại với nhau mà tinh bột khoai lang đã được xác định hồ hóa tốt ở giai đoạn 65-85°C [2]. Kết quả phân tích xúc xích có bổ sung tinh bột khoai lang được chế biến ở nhiệt độ khác nhau được thể hiện ở bảng 2. Xúc xích bị hao hụt khi chế biến và thoát dịch trong các gói hút chân không sẽ bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ. Lượng dịch nước tiết ra từ xúc xích trong gói chân không tăng lên khi xúc xích đã được đông lạnh. Độ cứng của xúc xích tăng lên đáng kể khi gia tăng nhiệt độ chế biến.

Bảng 2. Ảnh hưởng nhiệt độ làm chín khi sử dụng tinh bột khoai lang làm chất kết dính

Sản phẩm	Đối chứng (72-75°C)	65°C	75°C	80°C
Tỷ lệ (%) thất thoát khối lượng	10,81	10,94	10,79	11,06

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, nhiệt độ làm chín khác nhau cũng ảnh hưởng đến chất lượng cũng như việc thất thoát nước có trong sản phẩm, nhiệt độ càng cao tỷ lệ thuận với việc mất nước càng lớn do ảnh hưởng của quá trình làm chín đến việc hồ hóa của tinh bột có trong mẫu. Sau khi hạt tinh bột được hồ hóa bằng cách gia nhiệt khi có nước, các phân tử liên kết lại trong quá trình làm mát thành các cấu trúc giống như gel ảnh hưởng đến các đặc tính chức năng và cảm quan của thực phẩm. Trong quá trình bảo quản lạnh, việc tổ chức lại các tinh bột có thể dẫn đến giải phóng nước (hoặc phản ứng tổng hợp) ảnh hưởng đến tính chất chức năng của phân tử nước [11]. Tinh bột là một nguồn tài nguyên quan trọng trong tự nhiên và đun nóng là phương pháp chế biến thường được sử dụng. Trong quá trình chế biến có sử dụng nhiệt, tinh bột sẽ bị biến đổi cấu trúc, liên kết hydro là lực tương tác quan trọng để duy trì cấu trúc tinh bột. Kết quả cho thấy, thứ nhất, gia nhiệt có thể làm bung chuỗi xoắn kép amyloza và cải thiện mức độ uốn cong của các phân tử tinh bột. Thứ hai, các phân tử tinh bột sẽ trở nên không ổn định hơn với sự gia tăng nhiệt độ, đây có thể là yếu tố chính của quá trình hồ hóa tinh bột do gia nhiệt gây ra. Thứ ba, đun nóng sẽ làm tăng liên kết hydro nội phân tử [12]. Vì vậy với nhiệt độ làm chín tâm lò là 75°C sẽ làm cho sản phẩm xúc xích có kết cấu ổn định nhất.

3.3. Đánh giá các chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm khi sử dụng tinh bột khoai lang

Khi thay đổi một trong những thành phần kết dính sẽ làm ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm xúc xích. Kết quả cho thấy, mẫu có bổ sung tinh bột khoai lang ở mức 4% và 6% không bị ảnh hưởng đến màu sắc, cấu trúc của sản phẩm khi so với mẫu đối chứng, nhưng với mẫu M3 thì mức độ chấp nhận hay hương vị của sản phẩm bị giảm đi. Trong thực tế, bất kì sản phẩm ăn liền nào thì màu sắc hay hương vị đều là các yếu tố có ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Điều này chỉ ra rằng, tinh bột khoai lang SPS đã không bị ảnh hưởng nhiều đến màu sắc, hương vị của sản phẩm khi bổ sung ở tỷ lệ thấp. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Đánh giá tính chất cảm quan của các sản phẩm

Chỉ tiêu phân tích	Mẫu kiểm chứng	M1	M2	M3
Màu sắc	4,81	4,77	4,73	4,62
Kết cấu (độ mềm)	5,80	5,85	5,80	5,75
Mùi vị	5,50	5,35	5,60	5,40
Mức độ ưa thích	5,00	5,20	5,50	5,40
Khả năng chấp nhận	5,00	5,20	5,25	5,10

Như vậy, với kết quả thực hiện đánh giá chất lượng sản phẩm với các tiêu chí từ màu sắc đến cấu trúc (độ mềm), mùi vị, mức độ yêu thích và khả năng chấp nhận của sản phẩm với mẫu M2 là được đánh giá với tỷ lệ cho điểm là cao hơn cả so với các mẫu cùng tiến hành nghiên cứu. Điều này cũng được giải thích ở nội dung trên là do khả năng liên kết các chất có trong khối nhũ thịt được bổ sung vừa đủ cho nên việc liên kết và kết dính có độ ổn định cao sau chế biến dẫn đến các tiêu chí đánh giá về cảm quan được xác định mẫu M2 là tốt nhất.

3.4. Phân tích đánh giá các chỉ tiêu chất lượng khi sử dụng tinh bột thay thế

Một trong các vấn đề được quan tâm khi sử dụng tinh bột thay thế có ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Vấn đề này được thực hiện và đánh giá một số các chỉ tiêu về độ ẩm, hàm lượng protein và hàm lượng chất béo có trong sản phẩm và được trình bày trong bảng 4. Với mẫu có bổ sung tinh bột thì có hàm lượng chất béo thấp hơn đáng kể, nhưng không ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng đạm của sản phẩm. Chất béo có trong

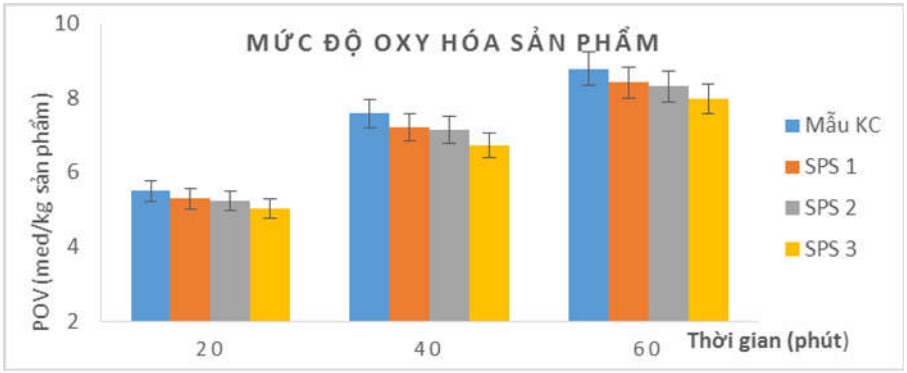
sản phẩm đóng một vai trò quan trọng trong việc tạo kết cấu, độ căng bóng và hương vị của các sản phẩm thịt xay nhỏ [13]. Hàm lượng chất béo thấp hơn trong các mẫu sản phẩm có bổ sung tinh bột khoai lang có thể đã dẫn đến giảm cường độ hương vị và hương vị của các sản phẩm này (Bảng 3). Tuy nhiên, việc hấp thụ quá nhiều chất béo trong chế độ ăn uống, đặc biệt là các axit béo bão hòa đã được báo cáo liên quan đến sự phát triển của việc tăng huyết áp, bệnh tim mạch, béo phì, ung thư đại tràng…[14]. Vì vậy, các sản phẩm M1 và M2 có hàm lượng chất béo thấp hơn so với mẫu nhưng có các đặc điểm cảm quan tương tự như các sản phẩm kiểm soát, các sản phẩm như vậy có thể giảm thiểu rủi ro sức khỏe người tiêu dùng liên quan đến tiêu thụ thịt mỡ và các sản phẩm từ thịt. Kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Đánh giá chỉ tiêu thành phần của các sản phẩm

Chỉ tiêu thành phần (%)	Mẫu kiểm chứng	M1	M2	M3
Độ ẩm	71,00	69,68	69,24	69,06
Protein thô	18,79	18,47	18,07	17,81
Chất béo	8,64	7,64	7,54	7,49

Như vậy, với kết quả phân tích xác định các chỉ tiêu chất lượng thành phần như độ ẩm, protein và chất béo cho thấy rằng độ ẩm của nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của Ossom (2020) [15] khi bổ sung tinh bột khoai lang vào sản phẩm xúc xích bò thì độ ẩm của sản phẩm là khoảng 63,60- 69,10%. Hàm lượng đạm dao động khoảng từ 17,81-18,47% và hàm lượng chất béo dao động từ 7,49-7,64% với các mẫu có bổ sung tinh bột khoai lang. Asgar (2010) báo cáo rằng, khi thêm chất độn khoai lang vào cũng làm giảm hàm lượng protein có trong sản phẩm xúc xích [16]. Việc bổ sung khoai lang cũng có ảnh hưởng một ít đến hàm lượng chất béo phù hợp với nghiên cứu của Tamakloe (2017) [17]. Như vậy, việc bổ sung tỷ lệ tinh bột cao sẽ làm giảm thành phần protein và chất béo. Do vậy, mà các mẫu có bổ sung tỷ lệ 4% và 6% đều được chấp nhận.

3.5. Đánh giá mức độ oxy hóa lipid có trong sản phẩm



Hình 1. Đánh giá mức độ oxy hóa của sản phẩm

Ghi chú: Các sai số thể hiện ở đồ thị hình cột là độ lệch chuẩn (STD) của giá trị trung bình.

Chỉ số peroxide (PV) của sản phẩm dao động trong khoảng 2,67 - 5,33 med/kg mẫu. Chỉ số peroxide của các sản phẩm này thấp hơn đáng kể so với mẫu đối chứng. Quá trình oxy hóa lipid trong thực phẩm là rất quan trọng. Giá trị peroxide của xúc xích dao động từ 5,29 - 8,40 meq/kg trong suốt thời gian bảo quản. Các giá trị thu được trong suốt thời gian bảo quản nằm dưới giới hạn tối đa cho phép là 25 mea/kg O_2 [15]. Xúc xích khi được bổ sung thêm tinh bột khoai lang có giá trị thấp hơn so với mẫu đối chứng. Điều này có thể giải thích là do sự hiện diện của tinh bột vừa với vai trò là chất kết dính vừa với vai trò là chất chống oxy hóa để ngăn chặn quá trình oxy hóa lipid. Các chất

béo có trong sản phẩm nếu để bảo quản trong thời gian dài sẽ dẫn đến sản phẩm không ổn định và phân hủy thành các hợp chất khác nhau có thể tạo mùi vị lạ; dẫn đến ôi thiu, kém hương vị khi sản phẩm để lâu [10]. Do vậy, để đánh giá mức độ oxy hóa sau 20 ngày, 40 ngày và 60 ngày. Kết quả được thể hiện ở hình 1.

Với thực nghiệm đánh giá mức độ oxy hóa trong vòng 60 ngày thấy rằng, càng kéo dài thời gian, chỉ số oxy hóa càng lớn. Do vậy mà chu kì bảo quản sản phẩm đều có giới hạn, với thực nghiệm trên thấy rằng việc bổ sung tinh bột vào mẫu cũng làm giảm khả năng oxy hóa sản phẩm xúc xích khi kéo dài thời gian. Nghiên cứu của Ossom (2020) cũng đề cập đến sử dụng tinh bột khoai lang làm chất độn với tỷ lệ 10 - 15% trong sản phẩm xúc xích từ thịt bò cũng giảm hơn rất nhiều so với mẫu không bổ sung tinh bột khoai lang và chỉ số peroxide của mẫu dao động từ 4,16 - 8,833 meq/kg trong suốt quá trình bảo quản [15]. Do vậy, mẫu M2 là mẫu được xác định là mẫu có chỉ số peroxide thấp hơn so với các mẫu được nghiên cứu.

3.6. Xác định chi phí lợi ích giá thành khi sử dụng tinh bột khoai lang thay thế

Chi phí mua poly-photphat và tinh bột khoai lang để làm cho 100 kg xúc xích được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Chi phí thành sản xuất cho 1 kg sản phẩm xúc xích

Chất kết dính	Tỷ lệ sử dụng khi bổ sung vào 1 kg nguyên liệu (g/kg)	Giá tiền (đồng/ kg)	Giá thành phẩm 1 kg xúc xích (đồng)
Tinh bột khoai lang	40	50.000	110.000
Tri-photphat	3	1.000.000	120.000

Với chi phí sử dụng để sản xuất cho 1 kg xúc xích có sử dụng tinh bột khoai lang làm chất kết dính sẽ có chi phí thấp hơn so với mẫu sử dụng tri-photphat. Do vậy, tính về hiệu quả kinh tế và độ an toàn của sản phẩm không sử dụng phụ gia hóa học.

4. KẾT LUẬN

Việc sử dụng tinh bột khoai lang với tỷ lệ 4% được bổ sung vào thay thế tri-photphat sẽ được mẫu có sản phẩm tốt hơn khi dùng phụ gia có thành phần hóa học. Thời gian làm chín 75°C trong 25 phút mức độ hao hụt thấp nhất và các chỉ số cảm quan và chất lượng đều được đánh giá tốt hơn so với mẫu bổ sung bằng triphosphate. Và chi phí giá thành sản phẩm thấp hơn khi sử dụng tri-photphat 110.000 đồng/kg sản phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Surendra Babu (2015). Chemical and structural properties of sweet potato starch treated with organic and inorganic acid. *J. Food Sci. Technol., Doi: 10.1007/s13197-014-1650-x.*

2. Mu, T., H. Sun, M. Zhang, and C. Wang (2017). Chapter 1 - Sweet Potato Starch and its Series Products. In Sweet Potato Processing Technology. *Academic Press. p. 1-4.*

3. Guo L., Hu J., Zhang J., Du X. (2016). The role of entanglement concentration on the hydrodynamic properties of potato and sweet potato starches. *Int. J. Biol. Macromol.* 2016;93: 1–8. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.08.075.

4. US patent 6869631B2 (2002). Method for infusing meat products with a starch binder solution.

5. Tatiana Pintado (2020). Towards More Sustainable Meat Products: Extenders as a Way of Reducing Meat Content. Foods, 9(8), 1044; https:/ doi.org/ 10.3390/foods.

6. Zhen Yang., Wang, W., Wang, H (2014). Effects of a highly resistant rice starch and pre - incubation temperatures on the physicochemical properties of surimi gel from grass carp (*Ctenopharyn odon idellus*). *Food Chem.* 145, 212 - 219.

7. Hans Steinhart (1995). a-Tocopherol contents and lipid oxidation in pork muscle and

adipose tissue during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 43, 1339 -1342.

8. Xuyang Li, Cao Y, Yohannes Woldemariam K, Zhong S, Yu Q, Wang J (2022). Antioxidant effect of yeast on lipid oxidation in salami sausage. Front. Microbiol, Food Microbiology, Volume 13.

9. Gunter Heinz, Peter Hautzinger (2007). Meat processing technology. *Food and agriculture organization of the united nations regional office for asia and the pacific.* ISBN: 978-974-7946-99-4.

10. Teye M. (2011). The Use of Sweet Potato (Ipomoea Batatas) Starch as Binder in Beef and Pork Frankfurter-Type Sausages. *J. Anim. Sci. Adv. 1(1): 21-27.*

11. Yang Z., Wang W., Wang H. (2014). Effects of a highly resistant rice starch and pre-incubation temperatures on the physicochemical properties of surimi gel from grass carp (*Ctenopharyn odon idellus*). *Food Chem. 145*, 212–219.

12. Huang Junrong, Pu Huayin, Wade Keipper (2022). The Effects of Temperature on Starch Molecular Conformation and Hydrogen Bonding.

13. Renata Pietrzak - Fiećko, Monika Modzelewska - Kapituła (2014). Fatty acid profile of polish meat product. Ital. *J. Food Sci.*, vol. 26.

14. Glen D. Lawrence (2013). Dietary Fats and Health: Dietary Recommendations in the Context of Scientific Evidence. American Society for Nutrition. Adv. Nutr. 4: 294 - 02; doi:10.3945/an.113.003657.

15. Ossom, R. N. (2020). Sensory and nutritional qualities of beef sausages prepared with sweet potato puree as extende. *Nigerian J. Anim. Sci.* 22 (1): 338-348.

16. Asgar, M. A. (2010). Nonmeat protein alternatives as meat extenders and meat analogs. Comprehensive *Reviews in Food Science and Food Safety,* 9: 513-529.

17. Tamakloe T. (2017). Effect of orange fleshed sweet potato (OFSP) puree as an extender on the sensory and nutritional qualities of beef sausages. BSc Dissertation, University for Development Studies. Animal Science Department.

APPLICATION OF STARCH SWEET POTATO AS BINDER TO SAUSAGE PRODUCTS FROM MEAT

Bui Thi Hong Phuong, Nguyen Manh Dat,
Nguyen Thi Hoai Tram, Do Thi Thuy Le, Bui Thi Thuy Ha

Summary

The use of starch in meat products has been extensively studied over the past decades. It is used as a binder in minced meat products, such as sausages or meatloaf. Such binders are non-meat ingredients which help bind water. Starch is considered a good bulking agent and is added to bind water, Otherwise, free water will be released from the product. Using sweet potato starch as a binder as an alternative to triphosphate was made. Sweet potato starch (SPS) for formulating products at three levels includes 2%, 4%, and 6% meat and are compared with formulated products with triphosphate (3%/kg meat) as binders. Experiments with the above factors were used in this study to determine the product's preservative and sensory properties. The results indicated the addition of SPS up to 4% did not have a significant effect on product quality during ripening such as meat flavor intensity and product acceptability.

Keywords: *Binder, meat, polyphosphate, sausages, sweet potato starch (SPS).*

Người phản biện: PGS.TS. Nhan Minh Trí
Ngày nhận bài: 22/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 20/3/2023
Ngày duyệt đăng: 27/3/2023

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CHỦNG VI SINH VẬT CÓ KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP CHẤT KHÁNG KHUẨN TỪ TÔM NƯỚC MẶN VÙNG BIỂN NAM ĐỊNH

Hồ Tuấn Anh[1, *], Bùi Thị Hương Giang[2],
Ngô Thu Thủy[2], Vũ Văn Hạnh[3]

TÓM TẮT

Nghiên cứu có mục tiêu tuyển chọn chủng vi khuẩn bản địa từ vùng biển tỉnh Nam Định với khả năng sinh tổng hợp chất kháng khuẩn ức chế một số vi khuẩn gây bệnh trên tôm và khả năng sinh tổng hợp enzym ngoại bào nhằm định hướng sản xuất chế phẩm sinh học ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản. Từ 10 mẫu tôm thu thập tại các ao nuôi tôm nước mặn và cảng biển thủy sản của huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định đã phân lập được 50 khuẩn lạc đặc trưng, thuần khiết. Bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch, quá trình tuyển chọn đã xác định được chủng N1.4 có hoạt tính kháng khuẩn cao nhất kháng *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Vibrio harveyi* CN18, *Vibrio paraheamolyticus* VTCC 910192 với đường kính vòng kháng khuẩn tương ứng là 12, 11, 12 mm. Chủng N1.4 cũng được chứng minh là có khả năng sinh tổng hợp enzym ngoại bào cao nhất gồm amylase, cellulase, protease với vòng thủy phân tương ứng là 30, 29 và 24 mm. Đánh giá một số đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa của chủng tuyển chọn kết hợp sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử để định danh đã xác định được rằng, chủng chọn lọc N1.4 có độ tương đồng cao (99,85%) so với loài *Bacillus subtilis*.

Từ khóa: *Bacillus, chất kháng khuẩn, phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch, tôm, vi sinh vật kiểm định.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, toàn tỉnh Nam Định có 75 vùng nuôi trồng thủy sản tập trung với diện tích khoảng 7.000 ha và có trên 6.000 hộ chăn nuôi ở cả khu vực nước mặn, nước lợ và nước ngọt. Phương thức nuôi chuyển từ quảng canh sang thâm canh và siêu thâm canh, áp dụng theo quy trình VietGAP, nuôi công nghệ cao. Bên cạnh các thuỷ sản nuôi trồng truyền thống, những năm qua tỉnh đặc biệt coi trọng phát triển một số loại hải sản, trong đó có tôm thẻ chân trắng [1]. Trong đầm nuôi tôm tồn tại nhiều loài vi khuẩn gây bệnh như *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harveyi, Vibrio paraheamolyticus*. Trong khoảng thời gian gần đây nghề nuôi tôm đang đối mặt với nhiều dịch bệnh. Đáng quan tâm nhất là hội chứng hoại tử gan tụy cấp tính hay còn gọi là hội chứng chết sớm (early mortality syndrome - EMS) do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* [2]. Trong ngành nuôi trồng thủy sản, việc lạm dụng thuốc kháng sinh nhằm kiểm soát các vi khuẩn gây bệnh đã gây ra hiện tượng kháng thuốc và tích tụ dư lượng thuốc kháng sinh trong tôm thành phẩm, gây nguy hại cho sức khỏe động vật và người tiêu dùng [3]. Các nước thuộc Liên minh châu Âu đã cấm hoàn toàn việc sử dụng kháng sinh trong thức ăn chăn nuôi [4]. Việc tìm kiếm các sản phẩm sinh học với tính kháng sinh và tăng cường miễn dịch có nguồn gốc tự nhiên đang trở nên rất cần thiết.

Một số chất kháng khuẩn có nguồn gốc từ một số vi khuẩn được gọi là bacteriocin - các peptide hoặc protein được tổng hợp từ riboxom của vi khuẩn, có khả năng ức chế các vi sinh vật khác. Với đặc tính có nguồn gốc tự nhiên, đa dạng về cấu trúc, chức năng và bền nhiệt, bacteriocin

[1] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp
* Email: htanh@uneti.edu.vn
[2] Viện Khoa học Sức khỏe Động vật và Môi trường (IAES)
[3] Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

trở thành một trong những vũ khí giúp chống lại vi sinh vật gây bệnh. Mặt khác, một số bacteriocin còn có khả năng ức chế đặc hiệu các vi khuẩn đa kháng thuốc kháng sinh giúp chúng trở thành một sự lựa chọn vô cùng tiềm năng để phát triển thành chất kháng sinh thế hệ mới [5]. Trên thực tế, bacteriocin được vi khuẩn sinh tổng hợp khi gặp các bất lợi về điều kiện sống hoặc khi bị cạnh tranh nguồn thức ăn và không gian sống bởi các vi sinh vật khác trong cùng ổ sinh thái [6]. Phần lớn bacteriocin được tổng hợp bởi vi khuẩn Gram dương, tập trung ở các chi *Bacillus* và vi khuẩn lactic, một số lượng bacteriocin nhỏ hơn được thu nhận từ vi khuẩn Gram âm, chủ yếu thuộc các chi *Escherichia, Pseudomonas, Klebsiella* [7]. Một số chủng vi khuẩn biển sinh chất kháng khuẩn có thể thay thế kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản, chẳng hạn các chủng sinh bacteriocin thuộc chi *Bacillus* không những ức chế được vi khuẩn Gram dương mà còn ức chế được rất nhiều vi khuẩn Gram âm là các tác nhân gây bệnh chính trên thủy sản [8].

Trong thủy sản, vi sinh vật có khả năng tạo ra các enzym ngoại bào hỗ trợ tiêu hóa có thể được được ứng dụng trong sản xuất chế phẩm sinh học chứa probiotics hoặc sản xuất các chế phẩm phân bón vi sinh và các chế phẩm khác trong xử lý ô nhiễm môi trường [9, 10]. Phân lập chủng vi khuẩn bản địa có khả năng sinh tổng hợp chất kháng khuẩn và enzym ngoại bào, an toàn sinh học (Generally regarded as safe – GRAS) có nhiều ý nghĩa ứng dụng nhằm nâng cao sản lượng và chất lượng tôm của địa phương.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Các mẫu ruột tôm từ vùng biển và ao nuôi của huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định được sử dụng để phân lập chủng vi khuẩn cho nghiên cứu.

- Các chủng vi sinh vật kiểm định được lấy từ bộ sưu tập các chủng của Phòng Các chất chức năng sinh học, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, bao gồm: *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Vibrio harveyi* CN18, *Vibrio paraheamolyticus* VTCC 910192.

2.2. Môi trường nuôi cấy vi sinh vật

- Môi trường phân lập: Môi trường Luria - Bertani (LB - agar): peptone 10 g, cao nấm men 5 g, NaCl 5 g, agar 20 g, pH 7, nước cất vừa đủ 1 lít.

- Môi trường LB - agar có bổ sung các cơ chất tinh bột (0,2%, w/v), hoặc carboxymethyl cellulose (CMC) (0,2%, w/v) hoặc casein (0,2%, w/v) được sử dụng trong nghiên cứu hoạt tính của các enzym ngoại bào tương ứng là amylase, cellulase, protease.

- Hoá chất: Kit E.Z.N.A. ® Bacterial của Hãng OMEGA, Master Mix (Invitrogen, Mỹ).

2.3. Phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng

2.3.1. Phương pháp phân lập, làm thuần chủng và tuyển chọn vi sinh vật

- Phân lập và làm thuần chủng vi khuẩn từ các mẫu tôm

Tiến hành mổ tách lấy ruột của tôm nước mặn, nghiền nhỏ mẫu và cho vào ống falcon có chứa nước muối sinh lí 0,9%. Mẫu được pha loãng theo dãy tới hạn đến 10^{-6}, hút 100 µl dịch ở 3 hệ số pha loãng 10^{-4},10^{-5}, 10^{-6} cấy trang trên môi trường LB - agar và bọc kín, ủ ở 37^0C. Sau 48 giờ tiến hành quan sát các khuẩn lạc, chọn khuẩn lạc đặc trưng của vi khuẩn và tiếp tục làm thuần bằng cách cấy ria trên môi trường LB - agar cho tới khi quan sát thấy chỉ có một dạng khuẩn lạc đồng nhất. Các khuẩn lạc riêng rẽ được nhặt ra để kiểm tra hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh kiểm định và khả năng sinh tổng hợp enzyme ngoại bào.

- Phương pháp xác định hoạt tính kháng các chủng vi khuẩn kiểm định

Khả năng ức chế các chủng vi khuẩn gây bệnh *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Vibrio harveyi* CN18, *Vibrio paraheamolyticus* VTCC 910192 của chủng vi khuẩn phân lập được thực hiện theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Chủng vi khuẩn phân lập được nuôi cấy trong môi trường cơ bản LB, nuôi lắc 200 vòng/phút, pH = 7, 37^0C, 48 giờ. Hút dịch nuôi vi khuẩn ra ống ependoft đem đi ly tâm 10.000 vòng/phút trong 5 phút để thu dịch nổi.

Các vi khuẩn gây bệnh kiểm định được nuôi trong môi trường LB lỏng 24 giờ, 37°C, lắc 200 vòng/phút, đạt mật độ khoảng 10^8 CFU/ml. Sau đó tiến hành hút 100 µl và cấy trang trên môi trường LB-agar. Để khô tự nhiên, tiến hành khoan lỗ thạch, kích thước lỗ thạch (d = 6 mm).

Nhỏ 30 μl dịch nổi vào mỗi giếng. Đặt đĩa thạch trong tủ lạnh ở 4^0C khoảng 2 giờ để dịch nổi khuếch tán đều vào trong thạch và sau đó ủ ở 37°C trong 24 giờ. Hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá bằng hiệu số D - d (mm). Trong đó: D là đường kính vòng kháng khuẩn, d là đường kính lỗ thạch (mm). Đối chứng dương (Positive control - PC) là giếng có bổ sung 30 μl 0,1 g/L Streptomycin.

- Phương pháp thử hoạt tính enzym ngoại bào (amylase, cellulase, protease)

Hoạt tính enzym ngoại bào được đánh giá bằng phương pháp đục lỗ thạch trên nền môi trường LB-agar có chứa cơ chất đặc hiệu như tinh bột, CMC và casein tương ứng với các enzym amylase, cellulase, protease. Dịch nổi (30 µl) được cho vào giếng đúc trên đĩa thạch, đặt đĩa thạch trong tủ lạnh ở 40°C khoảng 2 giờ để khuếch tán đều vào trong thạch, sau đó ủ qua đêm ở 37°C và nhuộm màu bề mặt đĩa petri, đo kích thước Δ=D-d (mm), trong đó D là đường kích vòng thủy phân cơ chất của enzyme, d là đường kính giếng đúc trên đĩa thạch (6 mm).

2.3.2. Xác định các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa

Khuẩn lạc vi khuẩn được quan sát bằng mắt thường, hình thái tế bào vi khuẩn được quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính 100X. Hình dạng rìa mép của khuẩn lạc phản ánh khả năng di động của tế bào. Đặc điểm sinh lý và sinh hóa được xác định bằng phương pháp nhuộm Gram, khả năng hình thành bào tử được xác định theo cách quan sát trên kính hiển vi sau sốc nhiệt ở 60^0C, hoạt tính catalase được xác định dựa trên khả năng phân giải H_2O_2 thành H_2O và O_2 (làm sủi bọt khuẩn lạc).

2.3.3. Định danh chủng vi sinh vật

Phương pháp tách ADN thực hiện theo hướng dẫn trong Kit E.Z.N.A. ® Bacterial của Hãng OMEGA, Master Mix (Invitrogen, Mỹ). Chủng vi khuẩn được hoạt hóa trên môi trường thạch LB, sau đó được nuôi ở 37°C trong 48 giờ, thu được các khuẩn lạc riêng rẽ. Các khuẩn lạc được lên men lỏng trong bình tam giác 250 ml có chứa 50 ml môi trường LB lỏng ở 37°C, lắc 200 vòng/phút trong 24 giờ, ly tâm thu tế bào và tiến hành tách chiết ADN theo phương pháp của Sambrook và Rusell (2001) [11]. Khuếch đại gen 16S rRNA sử dụng cặp mồi 27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', gen đích vùng V1 và 1492R 5'-GGCTACCTTGTTACGACTT-3', gen đích vùng V9 và đọc trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng vi khuẩn chọn lọc. Trình tự ADN vùng ITS được đọc trực tiếp trên thiết bị đọc trình tự tự động ABI 3100 Avant (Applied Biosystems, Mỹ). Trình tự nucleotid của các chủng nghiên cứu được so sánh với các trình tự đã công bố trên GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov). Quá trình so sánh trình tự gen và xử lý số liệu sử dụng phần mềm CLUSTAL X ver. 1.83.

2.3.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab 18.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp chất kháng khuẩn

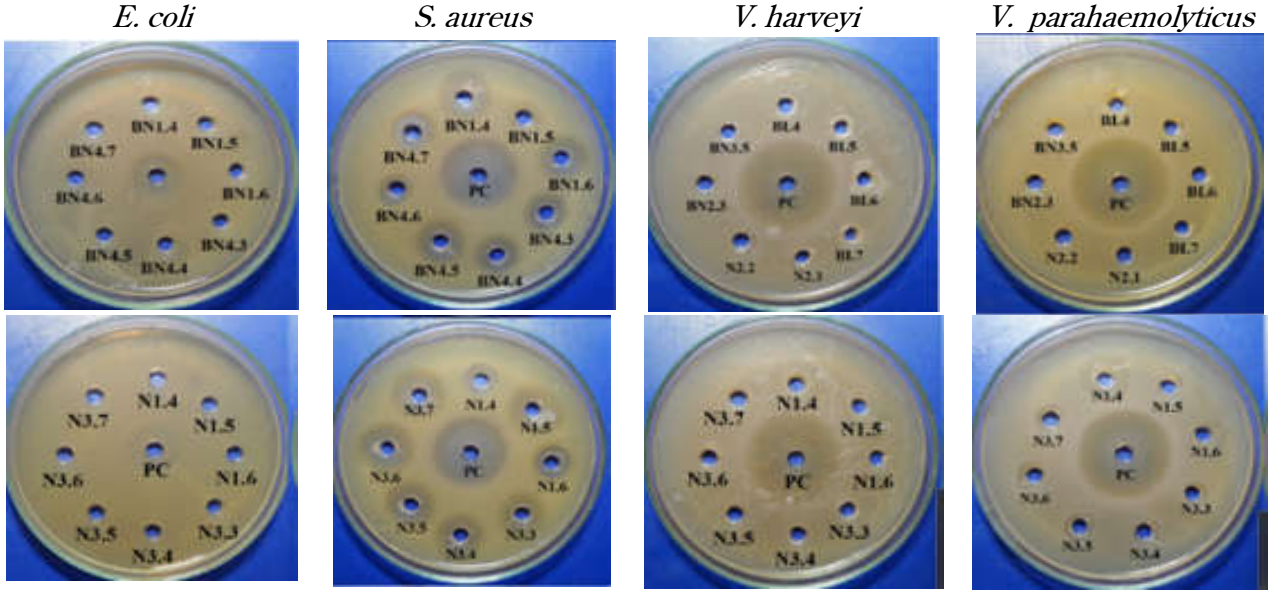
Mẫu tôm được thu thập tại khu vực cập cảng đánh bắt cá của huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định và các ao nuôi nước mặn. Từ 10 mẫu ruột tôm đã phân lập được 50 khuẩn lạc đặc trưng, thuần khiết. Khả năng kháng khuẩn của các chủng phân lập được từ ruột tôm được xác định dựa trên kích thước vòng ức chế đối với các vi sinh vật gây bệnh. Kết quả thu được cho thấy, sau 48 giờ nuôi cấy trong môi trường cơ bản LB, không có chủng phân lập nào cho khả năng kháng vi khuẩn *E. coli*. Có 31/50 chủng không có khả năng sinh tổng hợp chất kháng khuẩn, 19/50 chủng phân lập cho khả năng kháng từ 1 - 3 chủng vi khuẩn kiểm định. Không có chủng nào cho khả năng kháng cả 4 chủng vi khuẩn kiểm định. Có 7/50 chủng có khả năng ức chế *Vibrio parahaemolyticus* và 19/50 chủng có khả năng kháng *S. aureus*. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của một số chủng điển hình nhất từ các thí nghiệm đã tiến hành được trình bày trong bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Khả năng kháng vi khuẩn kiểm định của một số chủng phân lập

TT	Tên chủng	Nguồn phân lập	Khả năng kháng các vi sinh vật gây bệnh D - d (mm)			
			E. coli	*S. aureus*	*V. harveyi*	*V. parahaemolyticus*
1	ĐC		13± 0,71[a]	19± 0,71[a]	23±0,71[a]	23±0,71[a]
2	N1.4	Ao nuôi tôm nước mặn, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định	0	12±0,71[b]	11±0,71[b]	12±0,00[b]
3	N1.5	Ao nuôi tôm nước mặn, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định	0	12±0,00[b]	0	2±0,71[c]
4	N3.5	Ao nuôi tôm nước mặn, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định	0	10±0,71[c]	0	2±0,00[c]
5	N3.6	Ao nuôi tôm nước mặn, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định	0	10±0,00[c]	0	1±0,71[d]
6	BN4.5	Biển, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định	0	9±0,00[c]	2±0,71[c]	1±0,71[d]

Ghi chú: a, b, c... là các ký tự khác nhau ở cùng một cột thể hiện sự khác biệt với độ tin cậy p < 0,05

Trong số các chủng có khả năng kháng khuẩn, chủng N1.4 có khả năng kháng mạnh đối với 3 chủng vi khuẩn kiểm định (*S. aureus, V. harveyi, V. parahaemolyticus)* với kích thước vòng kháng khuẩn lớn nhất lần lượt là: 12, 11 và 12 mm trong khi mẫu đối chứng dương là giếng có bổ sung 30 μl 0,1 g/L Streptomycin có các kích thước tương ứng là 19, 23, 23 mm.



Hình 1. Khả năng kháng các chủng vi khuẩn kiểm định của một số chủng phân lập

So sánh với công bố của Nguyễn Xuân Cảnh và cs (2016) [2] về khả năng đối kháng với *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm thì xạ khuẩn *Streptomyces aureofaciens* vượt trội hơn (D - d = 15 mm) so với chủng phân lập N1.4 của nghiên cứu.

Khả năng sinh tổng hợp enzym ngoại bào amylase, cellulase, protease của một số chủng phân lập điển hình được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Khả năng sinh tổng hợp enzym ngoại bào của một số chủng phân lập

TT	Kí hiệu chủng	Nguồn phân lập	Khả năng sinh tổng hợp enzym ngoại bào Δ = D - d (mm)		
			Amylase	Cellulase	Protease
1	N1.4	Ao nuôi tôm nước mặn, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định	30±0,71^{a}	29±0,71^{a}	24±0,71^{a}
2	N1.5	Ao nuôi tôm nước mặn, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định	13±0,00^{d}	27±0,71^{ab}	5±0,00^{bc}
3	N3.5	Ao nuôi tôm nước mặn, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định	23±0,71^{b}	25±0,71^{bc}	3±0,71^{c}
4	N3.6	Ao nuôi tôm nước mặn, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định	17±0,00^{c}	25±0,00^{bc}	3±0,00^{c}
5	BN4.5	Biển, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định	23±0,71^{b}	23±0,00^{c}	6±0,71^{b}

Ghi chú: a, b, c... là các ký tự khác nhau ở cùng một cột thể hiện sự khác biệt với độ tin cậy p < 0,05

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, chủng N1.4 có khả năng sinh tổng hợp 3 loại enzym ngoại bào nổi trội hơn so với các chủng còn lại. Đường kính vòng thủy phân cơ chất tinh bột, CMC, casein của chủng N1.4 tương ứng là 30, 29 và 24 mm. Kết quả đạt được trong nghiên cứu của Huỳnh Thị Cẩm Tiên và Hồ Viết Thế (2019) [9] cho thấy, một số chủng vi sinh vật đất nổi trội hơn so với chủng tuyển chọn N1.4 về hoạt tính phân giải CMC, casein. Trong một nghiên cứu về khả năng sinh enzym ngoại bào trên một số chủng vi khuẩn lactic, Vũ Quỳnh Hương và cs (2022) [12] đã xác định được đường kính vòng phân giải ở mức 5,0 - 7,2 mm, chủng N1.4 có Δ = D - d vượt trội hơn đáng kể.

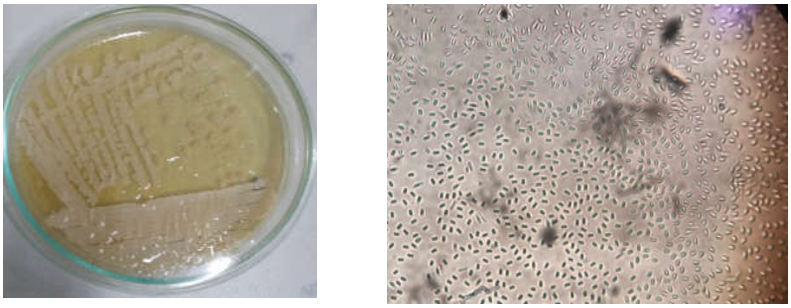
Đánh giá theo các tiêu chí về khả năng sinh tổng hợp chất kháng khuẩn và enzym ngoại bào, chủng N1.4 được tuyển chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Nghiên cứu xác định một số đặc tính sinh học của chủng N1.4

Hình thái khuẩn lạc, hình dạng và kích thước tế bào khi quan sát dưới kính hiển vi và một số đặc điểm sinh học khác của chủng N1.4 được trình bày trên hình 2 và bảng 3.

Hình dạng rìa mép khuẩn lạc có răng cưa là đặc điểm để nhận biết khả năng di động của tế bào. Kết quả quan sát được trên kính hiển vi khi nhuộm Gram cho thấy, tế bào bắt màu tím là đặc điểm của vi khuẩn Gram dương.

Khuẩn lạc Tế bào



Hình 2. Hình thái khuẩn lạc và tế bào của chủng N1.4

Bảng 3. Một số đặc điểm sinh học của chủng N1.4

Đặc điểm	Chủng vi khuẩn N1.4
Hình dạng tế bào	Tế bào hình que ngắn
Sắp xếp tế bào	Đơn lẻ
Nhuộm màu Gram	Gram dương (+)
Hình dạng khuẩn lạc	Khuẩn lạc màu trắng sữa, mép răng cưa không đều, đường kính 3-5 mm
Khả năng di động	+
Khả năng hình thành bào tử	+
Hoạt tính catalase	+

Kết quả thu nhận được trong bảng 3 cho thấy, chủng N1.4 có những đặc điểm hình thái, đặc tính sinh lý, sinh hóa của vi khuẩn thuộc chi *Bacillus*.

3.3. Định danh đến loài chủng vi sinh vật được tuyển chọn

Tiếp tục định danh đến loài chủng vi khuẩn tuyển chọn thông qua kỹ thuật tách dòng và giải trình tự 16S-rRNA, trình tự đoạn gen của chủng vi khuẩn chọn lọc N1.4 được trình bày trên hình 3.

ACGATGATCGCGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGG
GATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTCTGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAGGTGGCTTCGGCTAC
CACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGA
GAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGATTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGA
CGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTG
CCGTTCAAATAGGGCGGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG
TAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGG
CTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGA
GCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCCTTAGTGC
TGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAATCCTAGAGA
TAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTC
CCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAG
GAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGAACAAAGGGCA
GCGAAACCGCGAGGTTAAGCCAATCCCACAAATCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAG
AGTTTGTAACTACCCGAAGTC (N1.4)

Hình 3. Trình tự đoạn gen của rARN 16S của chủng vi khuẩn chọn lọc N1.4

Từ đoạn trình tự được giải mã của chủng N1.4 trên, tiến hành tìm kiếm những trình tự nucleotide của các chủng tương đồng với trình tự của chủng N1.4 trên website http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ để xây dựng cây phân loại, nhằm so sánh và tìm ra nguồn gốc của chủng chọn lọc N1.4. Cây phân loại được lập dựa vào phần mềm là Mega và FlinchTV.

Sự tương đồng về trình tự nucleotide của N1.4 và 13 trình tự nucleotide được tải về từ Genbank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) và mối quan hệ về mặt nguồn gốc phát sinh của N1.4 với 13 chủng vi khuẩn đó được thể hiện trong hình 4.

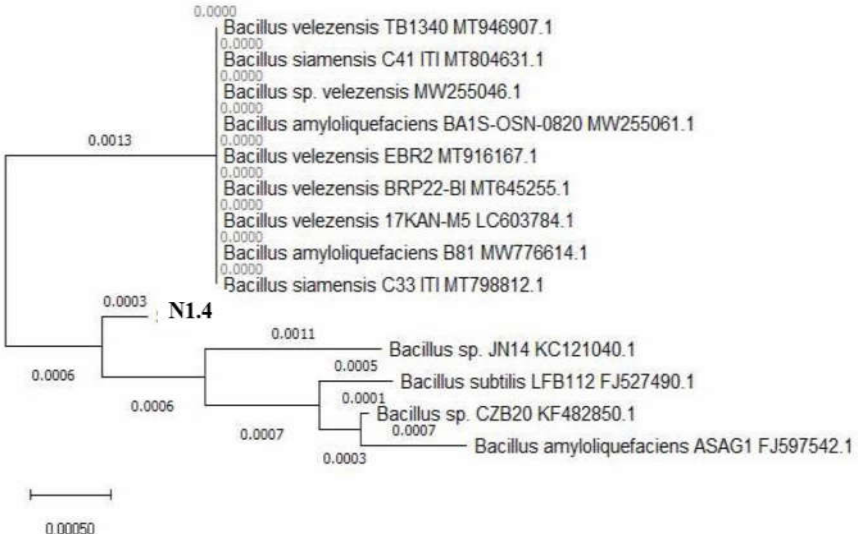
Căn cứ vào cây phân loại và bảng so sánh mức độ tương đồng về trình tự nucleotide của chủng vi sinh vật N1.4 và trình tự gen của 13 chủng vi khuẩn *Bacillus* (trên Genbank) đã được biết trình tự sau:

- Chủng N1.4 có chung nguồn gốc phát sinh với 13 chủng vi khuẩn *Bacillus* có trình tự xác định trên Genbank, do đó có thể khẳng định chủng N1.4 là một chủng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus*.

- Trong 13 chủng Bacillus này, có 2 chủng *Bacillus* sp. JN14 và Bacillus sp. CZB20 là chưa được xác định rõ thuộc loài nào, tuy nhiên căn cứ vào mức độ tương đồng về nucleotide và cây phân

loại có thể dự đoán N1.4 thuộc loài Bacillus subtilis.

- Chủng N1.4 có hệ số tương đồng cao với 13 chủng so sánh. Trên hình vẽ cây phân loại chỉ ra rằng, N1.4 có mối quan hệ gần gũi nhất về mặt di truyền với chủng *B. subtilis* LFB112 (tỷ lệ tương đồng 99,85%).



Hình 4. Cây phát sinh chủng loại của chủng vi khuẩn chọn lọc N1.4 với các trình tự gen trên GenBank có mức độ tương đồng cao nhất

Kết quả định danh đã xác định được rằng, chủng vi khuẩn N1.4 thuộc loài *Bacillus subtilis* dựa trên trình tự rDNA 16S là phù hợp với một số đặc điểm về hình thái, sinh lý và sinh hóa đã được xác định. Chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* N1.4 này có khả năng sinh tổng hợp chất kháng khuẩn ức chế mạnh các vi khuẩn kiểm định (S. aureus, V. harveyi, V. parahaemolyticus) và có khả năng sinh tổng hợp enzym ngoại bào (amylase, cellulase, protease). Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Bích Đào và cs (2015) [10] cũng cho thấy, 2 chủng phân lập của loài *Bacillus subtilis* đã được tuyển chọn dựa trên khả năng ức chế vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh chết sớm trên tôm.

4. KẾT LUẬN

Từ 50 chủng vi khuẩn đã phân lập được từ ruột tôm nước mặn tại huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định đã tuyển chọn được chủng N1.4 kháng mạnh các vi khuẩn kiểm định *S. aureus, V. harveyi, V. parahaemolyticus*, chủng cũng có khả năng sinh tổng hợp các enzym ngoại bào amylase, cellulase, protease. Kết quả phân tích một số đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa, kết hợp với phân tích một phần trình tự nucleotide vùng V1-V9 của 16S RNA ribosomal của chủng chọn lọc N1.4 cho thấy, mức độ tương đồng cao (99,85%) so với loài *Bacillus subtilis*. Với những đặc điểm đã xác định, chủng tuyển chọn *Bacillus subtilis* N1.4 có thể được sử dụng để tạo thành chế phẩm sinh học ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản hướng đến sự phát triển bền vững tại tỉnh Nam Định.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hồng Minh (2021). Phát triển vùng nuôi thủy sản tập trung. *Báo Nam Định điện tử*. https://baonamdinh.vn/channel/5085/202105/phat-trien-vung-nuoi-thuy-san-tap-trung-2544163/. Cập nhật ngày 20/5/2021.

2. Nguyễn Xuân Cảnh, Hồ Tú Cường, Nguyễn Thị Định, Phạm Thị Hiếu (2016). Nghiên cứu chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, tập 14, số 11: 1809 - 1816.

3. Pepi M. & Focardi S. (2021). Antibiotic-Resistant Bacteria in Aquaculture and Climate Change: A Challenge for Health in the Mediterranean Area. *International Journal of Environmental Research and Public Health,* 18 (11): 5723.

4. Andi, M. A., M. Hashemi and F. Ahmadi (2011). Effects of feed type with/without nanosil on cumulative performance, relative organ weight and some blood parameters on broilers. Global Veterinaria. 7 (6): 605 - 609.

5. Ninh Thị Thảo, Nông Thị Huệ, Đinh Trường Sơn, Nguyễn Xuân Cảnh (2022). Tổng quan - Bacteriocin: Phân loại, hoạt tính kháng khuẩn và ứng dụng. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 20 (10): 1427 - 1440.

6. Desriac F., Defer D., Bourgougnon N., Brillet B., Le Chevalier P. & Fleury Y. (2010). Bacteriocin as Weapons in the Marine Animal - Associated Bacteria Warfare: Inventory and Potential Applications as an Aquaculture Probiotic. Marine Drugs. 8 (4): 1153 - 1177.

7. Simons A., Alhanout K. & Duval R. E. (2020). Bacteriocins, Antimicrobial Peptides from Bacterial Origin: Overview of Their Biology and Their Impact against Multidrug-Resistant Bacteria. Microorganisms. 8 (5): 639.

8. Kim Y. K., Park I. S., Kim D. J., Nam B. H., Kim D. G., Jee Y. J. & An C. M. (2014). Identification and characterization of a bacteriocin produced by an isolated *Bacillus* sp. SW1-1 that exhibits antibacterial activity against fish pathogens. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 57: 605 - 612.

9. Huỳnh Thị Cẩm Tiên, Hồ Viết Thế (2019). Phân lập và định danh một số chủng *Bacillus* spp. có hoạt tính cao trong tầng đất mặt được thu thập từ tỉnh Bình Thuận. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 18 (2): 48 - 62.

10. Nguyễn Thị Bích Đào, Trần Quang Khánh Vân, Nguyễn Văn Khanh, Nguyễn Quang Linh (2015). Phân lập và tuyển chọn các chủng *Bacillus* ức chế vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh tôm chết sớm ở tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Khoa học (Đại học Huế)*, 100 (1),15 - 28.

11. Sambrook and Russell (2001). Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 3rd ed., Vol. 1, 2 and 3.

12. Vũ Quỳnh Hương, Vũ Thị Yến, Nguyễn Thị Thanh Thủy (2022). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn lactic để ứng dụng trong sản xuất đồ uống probiotic từ gừng. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 20 (12): 1581 - 1590.

ISOLATION AND SELECTION OF MICROBIAL STRAINS CAPABLE TO BIOSYNTHESIZE ANTIMICROBIAL COMPOUNDS FROM SALTWATER SHRIMPS IN NAM DINH PROVINCE

Ho Tuan Anh, Bui Thi Huong Giang,
Ngo Thu Thuy, Vu Van Hanh

Summary

The study aimed to select indigenous bacterial strains from the saltwater of Nam Dinh province with the ability to biosynthesize antibacterial agents against some pathogenic bacteria in shrimp and to biosynthesize extracellular enzymes in order to produce biological preparation for aquaculture application. From 10 shrimp samples received in saltwater ponds and seaports of Hai Hau district, Nam Dinh province were isolated 50 pured and characterized colonies. By the diffusion method on agar plate was determined that the strain N1.4 has the highest antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Vibrio harveyi* CN18, *Vibrio paraheamolyticus* VTCC 910192 with antibacterial diameters 12, 11, 12 mm, respectively. The strain N1.4 was also shown to have the highest ability to biosynthesize extracellular enzymes amylase, cellulase, protease with corresponding hydrolysis diameter of 30, 29 and 24 mm. Evaluation of some described morphological, physiological and biochemical characteristics of the selected strain combined with using the molecular biology techniques was determined that the selected strain N1.4 has high similarity (99.85%) compared to species *Bacillus subtilis*.

Keywords: *Antibacterial compounds, Bacillus, control microorganism, diffusion method on agar plate, shrimp.*

Người phản biện: TS. Bùi Kim Thúy
Ngày nhận bài: 01/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 28/3/2023
Ngày duyệt đăng: 4/4/2023

ĐÁNH GIÁ PHẨM CHẤT TRÁI CỦA MỘT SỐ GIỐNG XOÀI (*Mangifera indica* L.) TRỒNG PHỔ BIẾN TẠI TỈNH AN GIANG

Nguyễn Thị Mỹ Duyên[1, *], Vũ Thị Thanh Đào[1],
Diệp Nhựt Thanh Hằng[1], Nguyễn Ngọc Trâm[2]

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá phẩm chất trái của 8 giống xoài được trồng phổ biến tại tỉnh An Giang, bao gồm nhóm xoài ăn sống (Đài Loan, Thái Xanh, Keo) và nhóm xoài ăn chín (Cát Hòa Lộc, Cát Chu, Thanh Ca, Thơm Vĩnh Hòa và Úc). Kết quả thu được cho thấy, giống có ảnh hưởng lớn đến đặc tính và thành phần hóa lý của xoài sau thu hoạch. Cụ thể, khối lượng trái dao động từ 235,61 g - 1.148,82 g, trong đó lớn nhất là xoài Đài Loan và nhỏ nhất là xoài Thanh Ca. Đồng thời, xoài Đài Loan là giống có độ dày vỏ quả, độ chắc thịt quả và tỉ lệ thịt quả cao nhất (84,14%), nhưng lại có hàm lượng chất khô tổng số thấp nhất (19,03%). Xoài Thanh Ca chứa hàm lượng chất khô tổng số, chất khô hòa tan và vitamin C cao nhất, lần lượt là 25,57%, 12,06°Bx và 1,09%; trong khi các giống xoài Úc, xoài Thái Xanh vượt trội hơn về hàm lượng đường tổng (7,48-7,5%). Hàm lượng axit tổng số cao nhất thuộc về giống xoài Cát Chu (2,93%). Về cảm quan, các giống xoài Thanh Ca, Cát Hòa Lộc và Thơm Vĩnh Hòa có vị ngọt, mùi thơm nên được đánh giá cao. Bên cạnh đó, số liệu điều tra cho thấy xoài Cát Hòa Lộc đang dần chiếm ưu thế và được các nhà vườn trồng nhiều hơn.

Từ khóa: *Giống xoài, canh tác, phẩm chất trái, An Giang.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam hiện có khoảng trên 100 giống xoài khác nhau được trồng gần như khắp các vùng, miền trên cả nước. Trong đó, vùng trồng lớn nhất là đồng bằng sông Cửu Long với nhiều giống xoài quý như: Cát, Cát núm, Bưởi, Thanh ca, Tượng, Thơm... và một số giống xoài ngoại nhập như: xoài xanh Đài Loan, xoài Thái Lan, xoài Úc… Xoài chứa hàm lượng vitamin A 1.880 µg β-caroten trong 100 g và vitamin C 36 mg/100 g, cao so với nhiều loại trái cây khác. Ngoài ra, xoài còn chứa nhiều chất khác như protein, lipid, glucid, tro, canxi (Ca), sắt (Fe), photpho (P)... [1, 2].

An Giang là tỉnh có hai dạng địa hình đồng bằng và đồi núi, hơn nữa còn nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa nên rất thích hợp để trồng các loại cây ăn trái, trong đó có xoài [3]. Kế hoạch phát triển vùng sản xuất chuyên canh và xúc tiến tiêu thụ sản phẩm cây ăn trái giai đoạn 2021-2025 của tỉnh An Giang đã xác định chuyển đổi diện tích trồng lúa sản xuất kém hiệu quả sang các loại cây ăn trái phù hợp, với quy mô 10.217 ha, bao gồm: xoài 9.067 ha, chuối nuôi cấy mô 300 ha, sâu riêng 300 ha, nhãn 380 ha, cây có múi 170 ha. Hiện nay, diện tích trồng xoài tại An Giang khá lớn và đa dạng nhiều giống xoài. Theo thống kê từ Cục Trồng trọt, An Giang là tỉnh đứng đầu cả nước về sản lượng trồng xoài đạt chất lượng xuất khẩu. Hiện trạng sản xuất và tiêu thụ xoài trên địa bàn tỉnh An Giang có hiệu quả kinh tế cao, trung bình hộ sản xuất thu được lợi nhuận 12,7 triệu đồng/1.000 m^2/năm [4], nhưng việc sản xuất tồn tại nhiều khó khăn như người sản xuất còn tự phát, manh mún, nhỏ lẻ; chưa tập trung theo tiêu chuẩn xuất khẩu để nâng cao giá trị kinh tế.

Chất lượng của xoài hiện nay thường được đánh giá dựa trên các thành phần hóa học và tính

[1] Giảng viên Khoa Nông nghiệp - Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[2] Học viên cao học, Khoa Nông nghiệp - Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[*]Email: ntmduyen@agu.edu.vn

chất vật lý của trái, qua đó có thể so sánh được chất lượng của các giống xoài. Việc đánh giá chất lượng các giống xoài luôn được quan tâm, tuy nhiên các nghiên cứu trong nước phần lớn được thực hiện về chuỗi giá trị xoài [5]; lai tạo giống để cải thiện chất lượng trái [6], hoặc bảo quản xoài Cát Hòa Lộc [7]. Do đó, mục tiêu nghiên cứu này là thu thập và đánh giá năng suất của các giống xoài cũng như các yếu tố liên quan đến thành phần và chất lượng trái của các giống xoài đang trồng phổ biến tại An Giang.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tám giống xoài được trồng phổ biến tại tỉnh An Giang, bao gồm nhóm xoài ăn sống (Đài Loan, Keo, Thái Xanh) và nhóm xoài ăn chín (Cát Chu, Cát Hòa Lộc, Thanh Ca, Thơm Vĩnh Hòa và Úc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Các số liệu thu thập được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel và thống kê bằng chương trình Statgraphics Centurion XV.

2.2.1. Điều tra, thu thập và đánh giá năng suất của các giống xoài trồng tại An Giang

Địa điểm thực hiện: Chọn 5 huyện có diện tích trồng xoài lớn của tỉnh là Chợ Mới, An Phú, Tân Châu, Tịnh Biên và Tri Tôn.

Đối tượng: Các nông hộ thuộc các huyện, thị của tỉnh An Giang, các vườn xoài có thời gian canh tác từ 4 năm trở lên, vườn có diện tích từ 1.000 m^2 trở lên.

Số hộ điều tra: 100 hộ/5 huyện, mỗi hộ thu thập 1 phiếu (mỗi phiếu ghi nhận thông tin 1 - 3 giống xoài tùy vườn trồng).

Phương pháp: Điều tra trực tiếp tình hình sản xuất và năng suất của các giống xoài theo mẫu phiếu điều tra được thiết kế sẵn.

2.2.2. Đánh giá thành phần và đặc tính lý hóa trái của các giống xoài được trồng trên địa bàn tỉnh An Giang

Trái chín sinh lý với độ tuổi tương đương của 8 giống xoài trồng tại An Giang được thu thập. Các vườn sau khi điều tra sẽ được ghi nhận bằng cách chụp và đánh dấu tọa độ cho từng vườn trên từng giống xoài, từ đó xác định ngày thu hoạch mẫu để thu hái. Mỗi giống xoài có thời gian thu hoạch khác nhau, cụ thể: Nhóm ăn chín (Cát Hòa Lộc, Cát Chu, Thanh Ca, Thơm, Úc) có thời gian thu hoạch trong khoảng 110 - 120 ngày sau khi đậu trái; trong khi nhóm xoài ăn sống (Đài Loan, Keo, Thái Xanh) có thời gian thu hoạch sớm hơn, từ 15 - 20 ngày. Xoài sau khi thu hoạch, vận chuyển về phòng thí nghiệm được phân tích, đánh giá các chỉ tiêu của trái.

Địa điểm thực hiện: Khu thí nghiệm trung tâm, Trường Đại học An Giang.

Các phân tích thực hiện độc lập trên từng trái xoài được chọn ngẫu nhiên của mỗi giống. Các chỉ tiêu vật lý được đo đạc 5 lần và các chỉ tiêu hóa học được tiến hành 3 lần lặp lại.

Khối lượng trái và hạt (g) được xác định bằng phương pháp cân khối lượng, sử dụng cân điện tử 4 số lẻ của Precisa – Thụy Sĩ (Model LS220A), sai số trong khoảng 0,01 g. Chiều dài/rộng trái/hạt (cm) và độ dày vỏ quả (mm) được đo bằng thước micrometer Mitutoyo – Nhật Bản (Model CD-12"AX). Độ cứng trái (g lực) được xác định bằng máy đo cấu trúc Brookfield – Mỹ (Model CT3). Giá trị màu sắc L*, a*, b* được xác định bằng máy đo màu Konica Minolta – Nhật Bản (Model CR-400). Tổng số chất khô hòa tan (^oBx) được xác định bằng brix kế Atago – Nhật Bản (Model N-2E). Tỷ lệ thịt quả (%) được xác định theo phương pháp tách, cân riêng thịt quả và tính tỷ lệ so với nguyên trái.

Các chỉ tiêu hóa học được phân tích theo Phạm Văn Sổ và Bùi Thị Nhu Thuận (1991) [8]. Chất khô tổng số (%) được xác định theo phương pháp sấy đến khối lượng không đổi. Hàm lượng tro tổng (%) được xác định theo phương pháp nung thành tro trắng ở 550 - 600^oC. Hàm lượng axit tổng số (%) được xác định theo phương pháp chuẩn độ bằng NaOH 0,1 N với chỉ thị phenolphtalein, sử dụng hệ số của axit xitric là 0,0064. Hàm lượng đường tổng (%) được xác định theo phương pháp Bertrand. Hàm lượng vitamin C (mg/100 g) được xác định theo phương pháp chuẩn độ bằng iod 0,01 N với chỉ thị hồ tinh bột.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả điều tra, thu thập và đánh giá năng suất của 8 giống xoài trồng tại An Giang

Theo Cục Thống kê tỉnh An Giang, năm 2018 diện tích xoài trong toàn tỉnh An Giang gần 9.700 ha. Tuy nhiên, đến cuối năm 2020, diện tích xoài là 11.896 ha. Tổng diện tích cho trái đến nay khoảng 9.200 ha [9].

Kết quả điều tra của nhóm nghiên cứu tại các vườn xoài đang cho trái vào năm 2022 trên địa bàn 5 huyện trồng xoài nhiều nhất của tỉnh An Giang được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Kết quả đánh giá về hiện trạng của 8 giống xoài

TT	Nhóm	Giống	Diện tích trung bình (m^2)	Năng suất (tấn/1.000 m^2)	Lợi nhuận (triệu đồng/1.000 m^2)
1	Xoài ăn chín	Cát Hòa Lộc	10.151,5	1,62	12,98
2		Cát Chu	4.173,9	2,13	2,15
3		Thơm	2.470,0	1,94	11,30
4		Thanh Ca	12.375,0	4,00	13,82
5		Úc	4.333,3	2,33	6,33
6	Xoài ăn sống	Đài Loan	6.130,4	2,19	3,67
7		Thái Xanh	1.840,0	1,10	9,60
8		Keo	10.216,2	2,46	2,25

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, diện tích trồng xoài trung bình nhiều nhất là xoài Thanh Ca, tiếp đến là xoài Keo và cát Hòa Lộc. Trong đó, xoài Thanh Ca cho năng suất cao nhất nên lợi nhuận cũng cao (13,82 triệu đồng/1.000 m^2). Bên cạnh đó, giá xoài cát Hòa Lộc cao hơn rất nhiều so với các giống xoài khác nên tuy năng suất không cao nhưng lợi nhuận từ xoài cát Hòa Lộc cao đến 12,98 triệu đồng/1.000 m^2. Trong khi đó, xoài Keo có diện tích trồng lớn, năng suất tương đối cao nhưng giá trái xoài thấp nên lợi nhuận thấp, chỉ đạt 2,25 triệu đồng/1.000 m^2. Đó là lý do xoài cát Hòa Lộc ngày càng được nhà vườn ưa thích trồng và diện tích ngày càng gia tăng.

3.2. Kết quả đánh giá phẩm chất trái của 8 giống xoài trồng tại An Giang

3.2.1. Đặc tính vật lý của 8 giống xoài trồng tại An Giang

Chỉ tiêu khối lượng trái được xem như một thành phần quan trọng quyết định đến năng suất của giống. Giống xoài Đài Loan có khối lượng trái lớn nhất và thấp nhất là giống xoài Thanh Ca.

Kích thước trái thể hiện qua chỉ tiêu chiều dài và chiều rộng cũng bị ảnh hưởng nhiều bởi yếu tố giống. Xoài Đài Loan là giống có chiều dài và chiều rộng trái lớn nhất so với các giống khác (ngoại trừ chiều rộng thấp hơn xoài Úc). Chiều dài trái thấp nhất bao gồm nhóm xoài Thanh Ca, xoài Cát Chu và xoài Thơm, trong khi đó chiều rộng trái nhỏ nhất là xoài Thanh Ca. Sự khác biệt về kích thước trái giữa các giống xoài có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

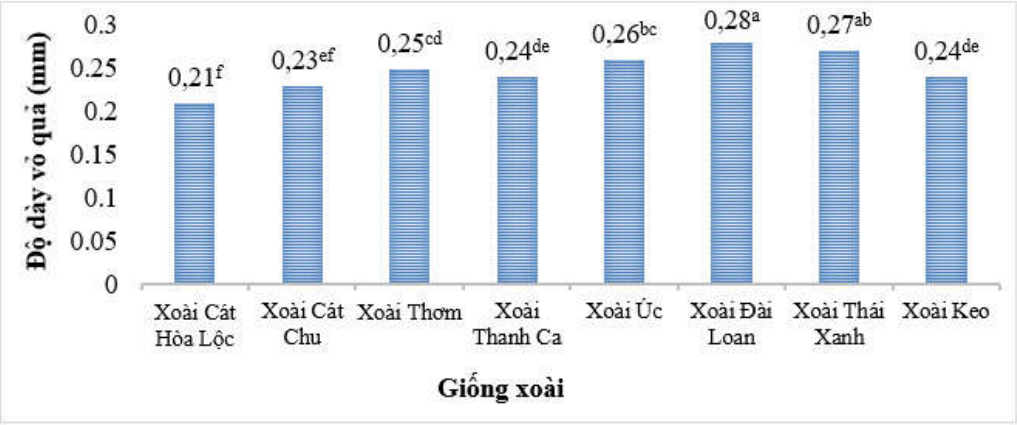
Bảng 2. Kết quả đánh giá về kích thước trái của 8 giống xoài

TT	Nhóm	Giống	Khối lượng trái (g)	Dài trái (cm)	Rộng trái (cm)
1	Xoài ăn	Cát Hòa Lộc	$556,12 \pm 23,89^{c}$	$13,39 \pm 0,89^{c}$	$8,93 \pm 0,27^{c}$
2		Cát Chu	$345,99 \pm 23,17^{e}$	$11,83 \pm 0,58^{d}$	$7,41 \pm 0,31^{e}$

3	chín	Thơm	312,19 ± 21,79^{e}	12,02 ± 0,37^{d}	7,19 ± 0,30^{ef}
4		Thanh Ca	235,61 ± 10,27^{f}	12,08 ± 0,43^{d}	6,87 ± 0,32^{f}
5		Úc	942,13 ± 15,30^{b}	12,46 ± 0,74^{cd}	12,01 ± 0,20^{a}
6	Xoài ăn sống	Đài Loan	1148,82 ± 17,19^{a}	20,21 ± 0,77^{a}	10,22 ± 0,28^{b}
7		Thái Xanh	472,39 ± 26,65^{d}	15,75 ± 0,70^{b}	7,64 ± 0,40^{e}
8		Keo	454,68 ± 21,55^{d}	12,92 ± 0,85^{cd}	8,24 ± 0,36^{d}
		P	*0,0000*	*0,0000*	*0,0000*

Ghi chú: Số liệu trung bình của ba lần lặp lại và ± SD (độ lệch chuẩn). Các số có cùng kí tự a, b, c… trong cùng một cột không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD.

Độ dày vỏ quả là một trong số các tiêu chí được quan tâm khi lựa chọn các giống xoài chất lượng do phù hợp cho vận chuyển xa [6]. Sự khác biệt về độ dày vỏ quả giữa các giống xoài là khá nhỏ nhưng có ý nghĩa thống kê. Cụ thể, xoài Đài Loan có lớp vỏ dày nhất, tiếp đến là giống xoài Thái Xanh, xoài Úc,… cuối cùng là xoài Cát Hòa Lộc.



Hình 1. Kết quả đánh giá độ dày vỏ quả của 8 giống xoài

Kích thước hạt giúp đánh giá hiệu suất thu hồi khi chế biến hoặc sử dụng xoài. Kết quả cho thấy, xoài Đài Loan tuy có kích thước lớn nhưng tỉ lệ khối lượng hạt chiếm khá nhỏ (7,59%), tiếp đến là xoài Úc (9,20%), xoài Keo (9,75%), xoài Cát Hòa Lộc (13%), xoài Cát Chu (14,69%), xoài Thái Xanh (17,71%), xoài Thanh Ca (19,86%) và cao nhất là xoài Thơm (20,69%). Tương tự, chiều dài trung bình hạt xoài là 10,10-18,64 cm, trong đó xoài Đài Loan có chiều dài hạt lớn nhất và thấp nhất là xoài Úc. Nhìn chung, giống xoài có chiều dài trái lớn thì chiều dài hạt cũng lớn, ngoại trừ xoài Úc. Bên cạnh đó, chiều rộng trung bình hạt dao động từ 3,86-6,43 cm, xoài Đài Loan có chiều rộng hạt lớn nhất và thấp nhất là xoài Cát Chu.

Bảng 3. Kết quả đánh giá về kích thước hạt của 8 giống xoài

TT	Nhóm	Giống	Khối lượng hạt (g)	Dài hạt (cm)	Rộng hạt (cm)
1	Xoài ăn	Cát Hòa Lộc	72,31 ± 13,03^{bc}	12,37 ± 0,81^{c}	4,93 ± 0,43^{b}
2		Cát Chu	50,82 ± 3,21^{de}	11,08 ± 0,53^{de}	3,86 ± 0,09^{d}

3	chín	Thơm	64,58 ± 4,46^{cd}	11,06 ± 0,24^{de}	4,59 ± 0,48^{bc}
4		Thanh Ca	46,80 ± 10,34^{e}	11,28± 0,05^{d}	4,23 ± 0,44^{cd}
5		Úc	86,65 ± 7,53^{ab}	10,10 ± 0,66^{e}	4,95 ± 0,20^{a}
6	Xoài ăn sống	Đài Loan	87,2 ± 7,33^{a}	18,64 ± 0,76^{a}	6,43 ± 0,27^{a}
7		Thái Xanh	83,65 ± 12,05^{ab}	14,95 ± 0,54^{b}	4,62 ± 0,28^{bc}
8		Keo	44,33 ± 4,4 ^{e}	11,65 ± 0,79^{cd}	4,28 ± 0,43^{cd}
		P	*0,0000*	*0,0000*	*0,0000*

Ghi chú: Số liệu trung bình của ba lần lặp lại và ± SD (độ lệch chuẩn). Các số có cùng kí tự a, b, c… trong cùng một cột không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD.

Tỷ lệ thịt quả cao hay thấp phụ thuộc vào đặc tính của giống và giúp đánh giá phẩm chất trái của giống. Các giống xoài nghiên cứu có tỉ lệ thịt quả trung bình từ 66,65-84,14%. Trong đó, xoài Đài Loan có tỉ lệ thịt quả lớn nhất do khối lượng trái rất lớn, tiếp đến là xoài Úc và xoài Keo, riêng xoài Thanh Ca có tỉ lệ thịt quả thu hồi thấp nhất.

Bảng 4. Kết quả đánh giá về tỉ lệ và độ chắc thịt quả của 8 giống xoài

TT	Nhóm	Giống	Tỉ lệ thịt quả (%)	Độ cứng (g lực)
1	Xoài ăn chín	Cát Hòa Lộc	77,68 ± 0,15^{c}	2663,78± 30,24^{f}
2		Cát Chu	72,8 ± 0,41^{d}	3838,17 ± 19,19^{c}
3		Thơm	69,02 ± 0,79^{e}	2852,33 ± 47,40^{e}
4		Thanh Ca	66,65 ± 0,62^{f}	1964,00 ± 34,34^{g}
5		Úc	81,21 ± 0,38^{b}	4424,89 ± 63,65^{b}
6	Xoài ăn sống	Đài Loan	84,14 ± 0,92^{a}	4911,56 ± 53,17^{a}
7		Thái Xanh	69,52 ± 0,18^{e}	3885,55 ± 53,03^{c}
8		Keo	81,18 ± 0,87^{b}	3041,78 ± 34,88^{d}
		P	*0,0000*	*0,0000*

Ghi chú: Số liệu trung bình của ba lần lặp lại và ± SD (độ lệch chuẩn). Các số có cùng kí tự a, b, c… trong cùng một cột không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD.

Độ cứng thịt quả là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng cũng như mức độ chín của xoài tạo thuận lợi cho quá trình tồn trữ. Kết quả đo cấu trúc cho thấy, xoài Đài Loan có độ chắc thịt quả cao nhất, kế tiếp là xoài Úc, đến xoài Thái Xanh và Cát Chu, thấp nhất là giống xoài Thanh Ca. Tuy nhiên, độ cứng thịt quả cũng bị ảnh hưởng bởi độ chín của xoài.

3.2.2. Thành phần hóa học của 8 giống xoài trồng tại An Giang

Sự khác biệt về thành phần hóa học của xoài theo giống có ý nghĩa thống kê, ngoại trừ hàm lượng tro tổng. Xoài Thanh Ca có hàm lượng chất khô tổng số cao nhất so với các giống còn lại và thấp nhất là xoài Đài Loan. Về hàm lượng tro tổng thể hiện cho các chất khoáng - là những thành

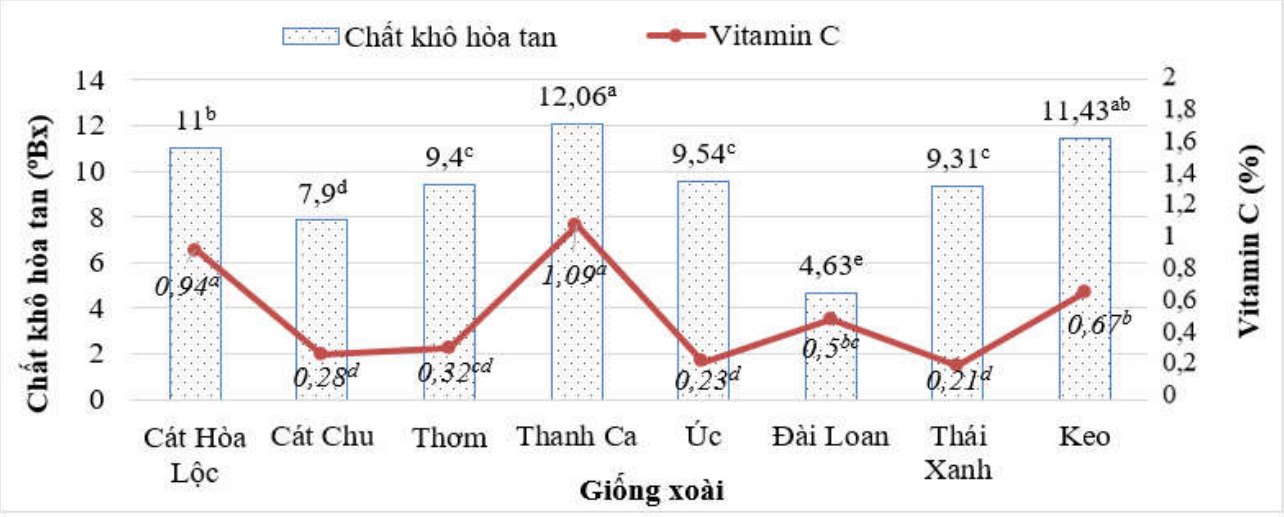
phần còn lại dưới dạng tro sau khi nung cháy các hợp chất hữu cơ.

Độ ngọt của xoài có thể được đánh giá qua hàm lượng đường tổng. Cụ thể, độ ngọt giảm dần theo thứ tự sau: xoài Úc, xoài Thái Xanh, xoài Cát Chu, xoài cát Hòa Lộc, xoài Thơm, xoài Thanh Ca, xoài Keo và cuối cùng là xoài Đài Loan. Trong khi đó, xoài Cát Chu có hàm lượng axit tổng số cao nhất so với các giống còn lại và thấp nhất là xoài Thái Xanh.

Bảng 5. Thành phần hóa học của các giống xoài

TT	Nhóm	Giống	Chất khô tổng số (%)	Tro tổng (%)	Đường tổng (%)	Axit tổng (%)
1	Xoài ăn chín	Cát Hòa Lộc	23,83±0,64^{bc}	0,44±0,03^{a}	6,48±0,27^{bc}	1,06±0,02^{ef}
2		Cát Chu	22,24±0,33^{d}	0,44±0,01^{a}	7,08±0,42^{ab}	2,93±0,23^{a}
3		Thơm	24,39±0,13^{b}	0,41±0,04^{a}	6,29±0,63^{bc}	2,51±0,11^{b}
4		Thanh Ca	25,57±0,48^{a}	0,42±0,01^{a}	6,1±0,49^{c}	1,48±0,05^{c}
5		Úc	20,60±0,80^{e}	0,45±0,04^{a}	7,50±0,20^{a}	0,84±0,18^{fg}
6	Xoài ăn sống	Đài Loan	19,03±0,17^{f}	0,45±0,04^{a}	5,28±0,49^{d}	1,20±0,06^{de}
7		Thái Xanh	23,16±0,28^{c}	0,43±0,02^{a}	7,48±0,50^{a}	0,62±0,07^{g}
8		Keo	20,08±0,46^{e}	0,45±0,03^{a}	5,72±0,58^{cd}	1,41±0,22^{cd}
		P	*0,0000*	*0,6714*	*0,0001*	*0,0000*

Ghi chú: Số liệu trung bình của ba lần lặp lại và ± SD (độ lệch chuẩn). Các số có cùng kí tự a, b, c… trong cùng một cột không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD.

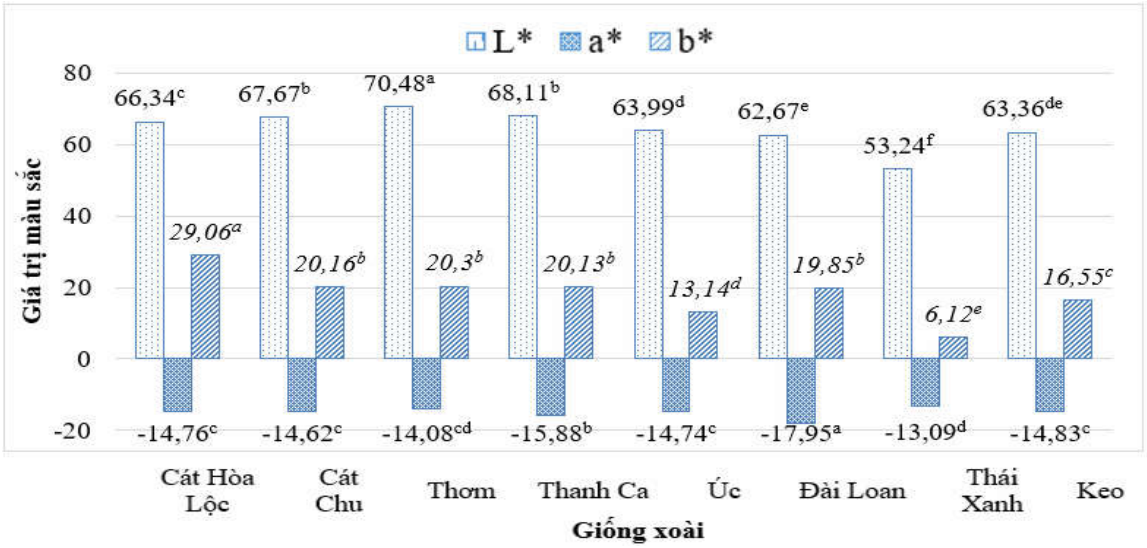


Hình 2. Hàm lượng chất khô hòa tan và vitamin C của 8 giống xoài

Vitamin C là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá giá trị dinh dưỡng xoài. Hàm lượng vitamin C dao động trong khoảng 0,21% đến 1,09%. Giống xoài Thanh Ca và xoài Cát Hòa Lộc có giá trị cao hơn các giống khác khá rõ, trong khi đó, các giống xoài Thái Xanh, xoài Úc và xoài Cát Chu nằm ở vị trí cuối. Ngoài ra, có thể nhận thấy xoài Thanh Ca, xoài Keo có giá trị tổng số chất khô hòa tan cao nhất và xoài Đài Loan có giá trị thấp nhất.

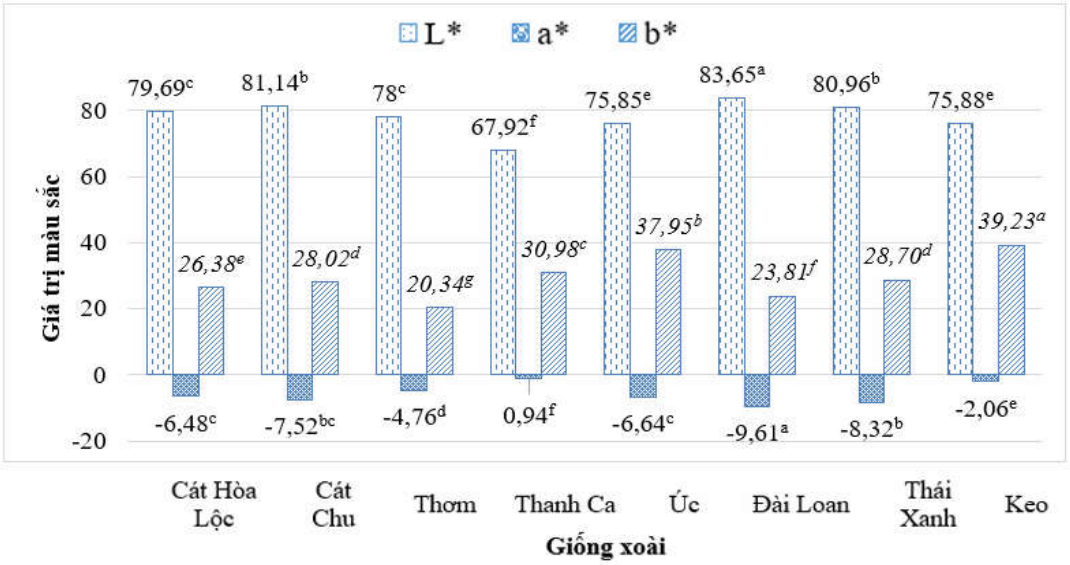
3.2.3. Giá trị màu sắc và cảm quan của 8 giống xoài trồng tại An Giang

Ngoài các đặc điểm về cấu trúc, sự quan tâm đối với loại quả tươi là do sự đa dạng và hấp dẫn về màu sắc. Các sắc tố tạo màu sắc cho quả thường hiện diện trong hầu hết các phần của tế bào như lục lạp và các sắc lạp khác. Giá trị màu sắc được thể hiện qua các chỉ số L* (độ sáng), a* (từ xanh lá cây đến đỏ), b* (từ màu xanh da trời đến màu vàng).



Hình 3. Giá trị màu sắc vỏ ngoài của các giống xoài

Kết quả phân tích giá trị màu sắc của các giống xoài cho thấy, các sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Cụ thể, xoài Thơm có giá trị độ sáng vỏ ngoài cao nhất và thấp nhất là xoài Thái Xanh. Tương tự, giá trị a* dao động từ -17,95 đến -13,09 (thấp nhất là xoài Đài Loan, cao nhất là xoài Thái Xanh) và giá trị b* dao động từ 6,12 đến 29,06 (thấp nhất là xoài Thái Xanh, cao nhất là xoài cát Hòa Lộc).



Hình 4. Giá trị màu sắc thịt quả của các giống xoài

Đối với màu sắc thịt quả, độ sáng (L) dao động từ 65,92 đến 83,65, trong đó xoài Đài Loan có độ sáng cao nhất và thấp nhất là xoài Thanh Ca. Giá trị a dao động từ -9,61 đến 0,94 (thấp nhất là xoài Đài Loan, cao nhất là xoài Thanh Ca) và giá trị b* dao động từ 20,34 đến 39,32, (thấp nhất là xoài Thơm, cao nhất là xoài Keo).

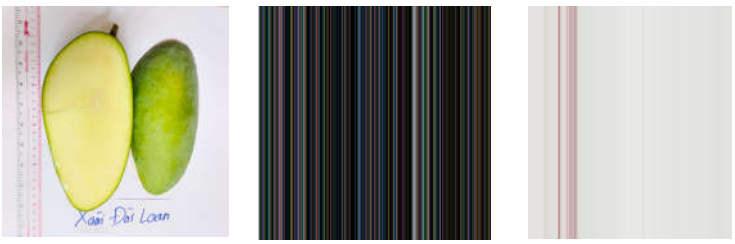
Bên cạnh các thông số lý hóa về phẩm chất trái, các chỉ tiêu về hình thái, màu sắc, mùi, vị (ngọt, chua…) của trái tươi liên quan trực tiếp đến sự hấp dẫn người tiêu dùng. Qua đánh giá cảm quan cho thấy, các giống xoài Thanh Ca, cát Hòa Lộc khi chín có vị ngọt hấp dẫn và giống xoài Cát Chu khi quả còn xanh hay chín đều có vị rất chua. Đặc biệt, đối với giống xoài Úc khi chín có mùi thơm đặc trưng, tuy nhiên vị lại ít ngọt hơn hơn các giống khác.

Bảng 6. Mô tả cảm quan các giống xoài

TT	Giống	Hình thái trái	Quả sống	Quả chín
1	Xoài cát Hòa Lộc	Dạng thuôn dài, bầu phần cuống, đuôi nhỏ	Vỏ xanh nhạt, thịt quả trắng, chua, không xơ	Vỏ vàng, thịt quả vàng, ngọt thanh, thơm nhiều, không xơ, thịt quả chắc
2	Xoài Cát Chu	Dạng hơi thon, kích thước nhỏ, đầu tròn	Vỏ vàng nhạt, thịt quả vàng nhạt, thơm, rất chua, ít xơ	Vỏ vàng đậm, thịt quả vàng, thịt mềm, thơm ngọt, vị hơi chua, ít xơ
3	Xoài Thơm	Quả hình cầu hoặc gần hình cầu	Vỏ xanh, thịt quả trắng, thơm, chua ngọt, ít xơ	Vỏ vàng, thịt quả vàng, thơm dịu, ngọt, ít xơ
4	Xoài Thanh Ca	Đầu hơi nhọn, trái dài hơi cong	Vỏ xanh, thịt quả vàng, thơm, chua, ít xơ	Vỏ vàng tươi, thịt quả vàng cam, hương thơm hấp dẫn, ngọt nhiều, nước và xơ nhiều
5	Xoài Úc	Quả có hình dáng gần như tròn	Vỏ xanh nhạt, phần đầu màu đỏ đậm, thịt quả vàng, chua, ít xơ	Vỏ màu đỏ, thịt quả vàng, thơm, ngọt vừa, ít xơ, giòn
6	Xoài Đài Loan	Quả to, dài	Vỏ xanh, thịt quả vàng, ngọt, ít xơ	Vỏ xanh, thịt quả vàng, thơm, ngọt, xơ
7	Xoài Thái Xanh	Dáng thuôn dài, hơi cong ở phía đuôi	Vỏ xanh đậm, thịt quả vàng nhạt, thơm, giòn, ngọt, ít xơ	Vỏ vàng xanh, thịt quả vàng, thơm, ngọt, ít xơ
8	Xoài Keo	Thon dần ở đầu trên, eo tròn	Vỏ xanh, thịt quả vàng, thơm nhẹ, vị chua ngọt nhẹ, ít xơ	Vỏ vàng, thịt quả vàng, thơm nhẹ, vị ngọt thanh, ít xơ



Cát Hòa Lộc | Cát Chu | Thơm Vĩnh Hòa | Thanh Ca | Xoài Úc



Xoài Đài Loan | Xoài Thái Xanh | Xoài Keo

Hình 5. Các giống xoài nghiên cứu

Như vậy, bên cạnh các yếu tố môi trường, thời tiết, điều kiện chăm sóc... thì giống xoài là một yếu tố quan trọng dẫn đến phẩm chất trái khác nhau. Các kết quả phân tích trên cũng tương đối phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Khánh Trân và cs (2021) [10] về khối lượng và kích thước trái, tuy nhiên hàm lượng chất khô tổng số thấp hơn, trong đó xoài Thanh Ca được đánh giá là giống có hàm lượng chất khô hòa tan cao nhất so với các giống xoài khác.

4. KẾT LUẬN

Xoài Thanh Ca có diện tích trồng trung bình trên vườn nhiều nhất, kế đến là xoài Keo và cát Hòa Lộc. Xoài Thanh Ca cho năng suất cao nhất, xoài cát Hòa Lộc cho lợi nhuận khá cao, dễ bán nên ngày càng được nhà vườn ưa thích trồng. Bên cạnh đó, hình thái trái, đặc tính và thành phần hóa học mang tính đặc trưng của từng giống xoài. Kích thước lớn nhất là xoài Đài Loan và nhỏ nhất là xoài Thanh Ca. Xoài Đài Loan có độ dày vỏ quả, tỉ lệ thịt quả và độ cứng cao nhất nên phù hợp bảo quản lâu và dễ vận chuyển xa. Xoài Thanh Ca có hàm lượng chất khô hòa tan và vitamin C cao nhất, tiếp đến là xoài cát Hòa Lộc. Các giống xoài Úc, xoài Thái Xanh có hàm lượng đường tổng vượt trội hơn so với các giống khác, trong khi xoài Cát Chu có hàm lượng a xit tổng số cao nhất.

Do điều kiện giới hạn về kinh phí, trang thiết bị và thời gian nên nghiên cứu này chưa thể khái quát hết các các yếu tố liên quan đến phẩm chất trái của các giống xoài, do đó trong những nghiên cứu tiếp theo cần phân tích thêm một số thành phần có giá trị trong xoài như beta-carotene, các hợp chất có hoạt tính sinh học, các hợp chất mùi…

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thế Tục, Ngô Hồng Bình (2004). *Cây xoài và kỹ thuật trồng*. Nxb Lao động - Xã hội.

2. Nguyễn Văn Luật, Nguyễn Minh Châu, Lê Thị Thu Hồng (2009). *Xoài - Giống và kỹ thuật trồng trọt*. Nxb Nông nghiệp.

3. Nguyễn Thùy Trang, Võ Hồng Tú (2019). Phân tích chuỗi giá trị ngành hàng xoài tại huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(1D): 109-119.

4. Lê Thị Thiên Hương (2020). Sản xuất và tiêu thụ xoài tại tỉnh An Giang: Thực trạng và giải pháp. *Tạp chí Công Thương*, Số 7: 86-92.

5. Trịnh Đức Trí, Võ Thị Thanh Lộc, Nguyễn Thị Kim Thoa, Trương Hồng Võ Tuấn Kiệt, Huỳnh Hữu Thọ và Nguyễn Thị Trúc Dung (2015). Nghiên cứu chuỗi giá trị xoài tỉnh Tiền Giang. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, số 40 (2015). Trang: 91-104.

6. Đào Thị Bé Bảy, Hồ Thị Ngọc Hải, Trần Thị Oanh Yến, Nguyễn Minh Châu (2013). Kết quả chọn tạo giống xoài cát Hòa Lộc có vỏ dày bằng lai tạo và xử lý chiếu xạ trên mầm ngủ. Hội thảo Quốc gia về Khoa học Cây trồng lần thứ nhất. Hà Nội, ngày 5/9/3024.

7. Nguyễn Huỳnh Đình Thuấn, Nguyễn Ngọc Tuấn, Phạm Thị Quyên, Dương Quốc Đạt và Lý Nguyễn Bình (2022). Nghiên cứu khả năng bảo quản quả xoài cát hoà lộc bằng màng chitosan độ deacetyl 90% - nano bạc. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn* - kỳ 1- tháng 7/2022:79-86.

8. Phạm Văn Sổ và Bùi Thị Nhu Thuận (1991). *Kiểm nghiệm lương thực, thực phẩm*. Nxb Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.

9. Cục Thống kê (2020). Niên giám Thống kê tỉnh An Giang 2020.

10. Nguyễn Thị Khánh Trân, Lê Hoàng Phương, Biện Anh Khoa, Nguyễn Trọng Phước, Nguyễn Văn Hữu Linh, Nguyễn Thị Lang (2021). Đánh giá chất lượng một số giống xoài (*Mangifera indica* L.) chính tại đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn* - kỳ 1+ 2 - tháng 2/2021.

SURVEY ON FRUITS QUALITY OF SOME VARIETIES OF MANGO (*Mangifera indica* L.) IN AN GIANG PROVINCE

Nguyen Thi My Duyen, Vu Thi Thanh Dao, Diep Nhut Thanh Hang, Nguyen Ngoc Tram

Summary

The study was conducted to evaluate the current status of cultivation and fruit quality of 8 popular mango varieties grown in 5 districts of An Giang province, including ripe mango group (Cat Hoa Loc, Cat Chu, Thanh Ca, Vinh Hoa, Australia) and the green mango group (Taiwan, Green Thai, Keo). The obtained results show that the variety factor has a great influence on the physical characteristics and chemical composition of mangoes after harvest. Specifically, the fruit weight ranged from 235.61 g - 1,148.82 g, of which the largest is Taiwanese mango and the smallest is Thanh Ca mango. Therefore, Taiwanese mango was also the variety with the highest peel thickness, fruit firmness and edible part ratio (84.14%), but has the lowest total dry matter content (19.03%). Thanh Ca mango contained the highest content of total dry matter, soluble dry matter and vitamin C (25.57%, 12.06°Bx and 1.09%, respectively), while Australian mango and Green Thai mango varieties excel in total sugar content (7.48-7.5%). The highest total acid content belonged to the Cat Chu mango (2.93%). In terms of sensory, varieties Thanh Ca, Cat Hoa Loc, Vinh Hoa had sweet taste and aroma, so they were highly appreciated. Besides, survey data showed that Cat Hoa Loc mango was gradually dominating and being grown by more gardeners.

Keywords: *Mango, cultivation, fruit quality, An Giang.*

Người phản biện: PGS.TS. Phan Thị Thanh Quế
Ngày nhận bài: 01/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 27/3/2023
Ngày duyệt đăng: 3/4/2023

HIỆU QUẢ PHUN TRƯỚC THU HOẠCH VỚI CANXI CLORUA VÀ AXIT SALIXILIC ĐẾN CHẤT LƯỢNG VÀ TỔN THƯƠNG LẠNH CỦA THANH LONG RUỘT ĐỎ (LĐ1) TRONG QUÁ TRÌNH TRỮ Ở NHIỆT ĐỘ THẤP

Dương Thị Cẩm Nhung[1], Ngô Hùng Vũ[1],
Nguyễn Thị Cẩm Tiên[1], Nguyễn Văn Phong[1,*]

TÓM TẮT

Tổn thương lạnh là trở ngại lớn đối với trái cây nhiệt đới nói chung và trên thanh long nói riêng trong bảo quản nhiệt độ thấp. Với mục đích nhằm giảm thiểu tổn thương lạnh và kéo dài thời bảo quản cho trái thanh long ruột đỏ (LĐ1), khảo sát đánh giá ảnh hưởng của việc phun đơn lẻ trước thu hoạch với $CaCl_2$ 1% (CA) hay salixilic axit 0,1% (SA) và phun kết hợp của canxi clorua (1%) + salixilic 1% (CA+SA) và đối chứng (phun nước) đến chất lượng và tổn thương lạnh của trái thanh long ruột đỏ (LĐ1) trong quá trình bảo quản 35 ngày ở 3°C được thực hiện. Kết quả cho thấy, việc phun với CA hay SA hầu như không ảnh hưởng đến chất lượng của thanh long ruột đỏ (LĐ1) ở thời điểm thu hoạch, ngoại trừ nghiệm thức (CA +SA) giúp cải thiện màu sắc của tai quả và tăng độ chắc thịt của quả so với đối chứng. Quá trình bảo quản ở 3°C cho thấy phun (CA+SA) trước thu hoạch có hiệu quả làm giảm tổn thương lạnh, bệnh thối một cách có ý nghĩa so với các nghiệm thức khác và đối chứng. Ngoài ra, nghiệm thức (CA+SA) cũng cho thấy, hao hụt khối lượng thấp nhất và thông số chất lượng như độ chắc thịt quả, hàm lượng tổng chất rắn hòa tan và axit tổng số được duy trì trong suốt thời gian bảo quản. Do đó, việc xử lý trước thu hoạch trên thanh long bằng phun dung dịch (CA+SA) là một giải pháp hiệu quả làm giảm tổn thương lạnh và duy trì chất lượng và kéo dài thời gian bảo quản thanh long ruột đỏ LĐ1 lên đến 35 ngày ở 3°C.

Từ khóa: *Canxi clorua, salixilic axit, thanh long, tổn thương lạnh, trước thu hoạch.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thanh long là cây ăn quả xuất khẩu có ý nghĩa chiến lược của Việt Nam. Hiện nay, thanh long ruột đỏ (LĐ1) (giống lai bởi Viện Cây ăn quả miền Nam) là một trong những giống thương mại đang được trồng phổ biến, chiếm khoảng 1/3 tổng diện tích sản xuất thanh long ở Việt Nam. Thanh long ruột đỏ (LĐ1) có màu thịt quả đỏ đậm, giàu lycopen, vị ngọt nhưng cấu trúc quả hơi mềm dễ bị thối hỏng và đây được xem là một trong các trở ngại cho việc xuất khẩu tươi. Trữ lạnh ở nhiệt độ thấp có vai trò quan trọng trong việc duy trì chất lượng và thời gian bảo quản thanh long tươi. Nhiệt độ bảo quản tối ưu đối với thanh long ruột đỏ (LĐ1) là 6°C thời gian 28 ngày [1]. Để kéo dài thời gian bảo quản nhằm đáp ứng nhu cầu xuất khẩu thị trường xa, việc hạ thấp nhiệt độ bảo quản cũng là một trong những biện pháp tiềm năng. Tuy nhiên bảo quản dưới nhiệt độ tối ưu, quả sẽ xuất hiện triệu chứng tổn thương lạnh như tai quả bị héo khô và phần thịt quả bị trong mờ [1], cùng với sự hiện diện của các đốm nâu trên bề mặt vỏ [2].

Salixilic axit được tìm thấy trong mô tế bào thực vật, salixilic axit liên quan đến phản ứng trước sự biến đổi môi trường như chống chịu lạnh [3]. Hiện nay, có rất nhiều nghiên cứu ứng dụng phun salixilic axit hay kết hợp với canxi hoặc một số chế phẩm sinh học khác ở giai đoạn cận thu hoạch với mục đích giảm tổn thương lạnh và duy trì chất lượng quả sau thu hoạch. Theo kết quả nghiên cứu của Miranda và cs (2019) [4], sử dụng dung dịch axit salixilic nồng độ 1,5 mM phun lên quả đào giai đoạn 30 ngày trước thu hoạch giúp duy trì chất

[1] Bộ môn Công nghệ Sinh học, sinh lý, sinh hóa và Công nghệ sau thu hoạch, Viện Cây ăn quả miền Nam
[*]Email: phongsofri@gmail.com

lượng và thời gian bảo quản đến 30 ngày ở nhiệt độ 1°C. Xoài Amrapali được phun dung dịch SA nồng độ 200 ppm vào thời điểm 7 ngày trước thu hoạch có hiệu quả trong việc làm chậm chín và kéo dài thời gian sử dụng thêm 3 ngày so với đối chứng khi bảo quản ở nhiệt độ 30°C [5]. Một nghiên cứu khác, sử dụng dung dịch SA nồng độ 0,5 mM phun lên quả mận vào thời điểm 1 ngày trước khi thu hoạch có tác dụng duy trì độ chắc, tăng cường các hợp chất chống oxy hóa và tăng thời gian bảo quản quả mận đến 9 ngày ở nhiệt độ 13°C [6].

Canxi là một phần của hệ thống tế bào, có chức năng quan trọng trong việc bảo vệ và tăng tính vững chắc của mô tế bào giúp tăng khả năng kháng bệnh, kéo dài thời gian bảo quản [7]. Trần Thị Bích Vân và cs (2016) [8] cho rằng, việc sử dụng $CaCl_2$ nồng độ 2,0-4,0% phun qua lá giai đoạn sau khi nở hoa 8 tuần có tác dụng làm giảm tỷ lệ nứt quả chôm chôm Rongrien 1,7 - 2,2 lần, đồng thời làm giảm tỷ lệ rò rỉ ion 1,62 - 1,73 lần so với đối chứng. Lê Văn Hòa và cs (2012) [9] cũng đã chứng minh sử dụng dung dịch $CaCl_2$ 5% phun lên mận An Phước thời điểm 10 và 20 ngày trước thu hoạch duy trì được phẩm chất trái tốt hơn nghiệm thức đối chứng, đồng thời giúp duy trì độ cứng thịt quả, độ Brix và hàm lượng vitamin C và giảm tỷ lệ nấm bệnh sau thu hoạch đến 9 ngày. Desai và cs (2017) [10] kết luận rằng, phun $CaCl_2$ nồng độ 2% lên sa pô trước thu hoạch 1 tháng cũng giúp duy trì chất lượng đến 12 ngày bảo quản ở nhiệt độ phòng. Xử lý kết hợp $CaCl_2$ và SA nhằm cải thiện hệ thống kháng bệnh của mô tế bào giúp tăng độ chắc, giảm hao hụt khối lượng và thối quả, duy trì chất lượng quả sơn trà đến 18 ngày nhiệt độ phòng [11].

Xuất phát từ các vấn đề trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của việc phun trước với $CaCl_2$ và salixilic axit đến chất lượng và khả năng giảm tổn thương lạnh của thanh long ruột đỏ (LĐ1) trong quá trình tồn trữ nhiệt độ thấp (3°C).

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vườn thanh long ruột đỏ (LĐ1) 7 năm tuổi thuộc xã Quơn Long, huyện Chợ Gạo, tỉnh Tiền Giang. Thời gian thực hiện: Từ tháng 7 đến tháng 11 năm 2022.

- Thiết bị, dụng cụ: Máy đo màu Konica Minolta -Cr 400 (Nhật Bản), máy đo cấu trúc quả GUSS-15 (Đức), dụng cụ đo độ rò rỉ màng tế bào Milwaukee (Rumani), dụng cụ đo độ Brix kỹ thuật số ATAGO (Nhật Bản), thang độ: 0 - 53%.

- Hóa chất: Hóa chất dùng xử lý trước thu hoạch salixilic axit (SA), canxi clorua ($CaCl_2$), hóa chất phân tích: NaOH, manitol và các hóa chất cần thiết khác. Các hóa chất được cung cấp bởi Công ty TNHH Garnet.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xử lý trước thu hoạch trên vườn

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 nghiệm thức, 4 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 6 trụ thanh long. Dung dịch dùng để phun lên thanh long giai đoạn trước thu hoạch gồm các nghiệm thức: Đối chứng: phun nước (ĐC); 1% (w/v) canxi clorua (CA); 0,1% (w/v) salixilic axit (SA); 1% (w/v) canxi clorua + 0,1% (w/v) salixilic axit (CA+SA). Các nghiệm thức đều được phun 2 lần (2 tuần và 1 tuần trước thu hoạch), phun đều trên quả và cành mang quả.

2.2.2. Thu hoạch và bảo quản

Thanh long thu hoạch độ chín thương mại từ vườn thí nghiệm được vận chuyển đến Phòng thí nghiệm thuộc Bộ môn Công nghệ Sinh học, sinh lý, sinh hóa và Công nghệ sau thu hoạch, Viện Cây ăn quả miền Nam. Quả được chia 2 phần, phần 1: quả tương ứng mỗi nghiệm thức xử lý dùng phân tích các chỉ tiêu chất lượng tại thời điểm thu hoạch gồm khối lượng quả, màu sắc vỏ, tai và thịt quả, độ chắc thịt quả, hàm lượng tổng chất rắn hòa tan và axit tổng số; phần 2: quả được dùng bảo quản phải chọn đồng đều về kích thước, màu sắc, không bị sâu, bệnh và tổn thương cơ học. Quả được rửa trong nước sạch và nhúng trong dung dịch chlorine nồng độ 200 ppm trong 2 phút và rửa lại bằng nước, làm khô bằng quạt. Sau đó quả được cho vào bao PE (40 x 60 cm) đục 6 lỗ (đường kính 1 cm) với 6 quả/bao. Cuối cùng, cho vào thùng carton bảo quản ở nhiệt độ 3°C. Thí nghiệm thực hiện 4 lần lặp lại mỗi lần lặp lại 1 thùng (1 thùng 6 quả). Ứng với thời điểm 21 ngày và 35 ngày bảo

quản, quả được lấy ra đánh giá tỷ lệ tổn thương lạnh, mức độ tổn thương lạnh và tỷ lệ rò rỉ màng tế bào, tỷ lệ bệnh, mức độ bệnh, hao hụt khối lượng và các thông số chất lượng như độ chắc thịt quả, hàm lượng tổng chất rắn hòa tan và axit tổng số.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Các thông số chất lượng quả tại thời điểm thu hoạch

Khối lượng quả: Cân từng quả sử dụng cân điện tử 2 số lẻ; màu sắc vỏ, tai và thịt quả (giá trị L*, a*, b*), độ chắc thịt quả (kg/cm^2), hàm lượng tổng chất rắn hòa tan (%); hàm lượng axit tổng số (%): Xác định bằng phương pháp chuẩn độ với dung dịch NaOH 0,1 N, với chất chỉ thị phenolphthalein 1% [12].

2.3.2. Đánh giá tổn thương lạnh và chất lượng quả trong quá trình bảo quản

Tỷ lệ tổn thương lạnh (%): Tỷ lệ phần trăm số quả tổn thương lạnh so với tổng số quả quan sát; mức độ tổn thương lạnh: Được đánh giá theo thang điểm (0 - 4) quan sát sự xuất hiện đốm nâu trên diện tích bề mặt quả theo nghiên cứu của Nguyen và cs (2018) [1] có sửa đổi nhỏ, với 0 (không xuất hiện tổn thương lạnh); 1 (<10% diện tích bề mặt tổn thương lạnh); 2 (11- ≤ 25%); 3 (26 < - ≤ 50%); và 4 (>51% diện tích bề mặt tổn thương lạnh). Độ rò rỉ ion của màng tế bào (EL): Được xác định bằng tỷ lệ phần trăm tính thấm màng tế bào sử dụng dung dịch manitol 0,3 M [13].

Tỷ lệ bệnh (%): Tỷ lệ phần trăm số quả bệnh so với tổng số quả quan sát. Mức độ bệnh (0 - 4 điểm): Được đánh giá dựa trên diện tích bề mặt quả bị nhiễm bệnh gây thối hỏng, với 0 (không nhiễm bệnh); 1 (<10% diện tích bị nhiễm bệnh); 2 (11- ≤ 25%); 3 (26 < - ≤ 50%); và 4 (>51% diện tích bị nhiễm bệnh) [1].

Hao hụt khối lượng (%): Được xác định bằng tỷ lệ phần trăm giữa khối lượng ban đầu và khối lượng trong bảo quản. Độ chắc thịt quả, hàm lượng tổng chất rắn hòa tan và axit tổng số cũng được phân tích trong suốt quá trình bảo quản.

2.4. Xử lý số liệu

Tất cả các số liệu được phân tích thống kê ANOVA và so sánh theo phép thử LSD ở mức ý nghĩa $p < 0,05$ bằng phần mềm SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các thông số chất lượng của quả ở thời điểm thu hoạch

3.1.1. Màu sắc vỏ, tai và thịt quả của thanh long ruột đỏ (LĐ1)

Bảng 1. Ảnh hưởng xử lý CA và SA trước thu hoạch đến màu sắc vỏ, tai và thịt quả của thanh long ruột đỏ (LĐ1) tại thời điểm thu hoạch

Nghiệm thức	Màu vỏ			Màu tai			Màu thịt		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
ĐC	47,16	11,07	21,40 b	48,40 a	-13,90 a	27,82 ab	24,18	33,70	4,76
CA	46,42	10,21	22,82 a	46,50 b	-14,02 a	26,73 b	23,20	32,11	4,66
SA	46,38	11,44	21,42 b	48,38 a	-14,52 b	28,81 a	23,32	30,97	3,31
CA+SA	46,81	10,81	22,42 ab	47,61 ab	-15,53 c	28,66 a	23,68	32,53	4,37
Mức ý nghĩa	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	ns
CV (%)	0,95	8,23	3,26	1,78	1,73	2,57	3,49	5,05	8,90

Ghi chú: Bảng 1, 2, 3, 4 và 5 các giá trị trên cùng một cột có các chữ cái đứng sau không cùng ký tự thì khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$); "": khác biệt có ý nghĩa thống kê; "ns": khác biệt không có ý nghĩa thống kê.*

Màu sắc vỏ, tai và thịt quả thanh long đánh giá thông qua giá trị L*, a*, b*, kết quả được ghi nhận ở bảng 1. Kết quả cho thấy, các giá trị L* a* b* màu vỏ dao động tương ứng 46 - 47, 10 - 11, 21 - 22 và giá trị L* a* b* màu thịt quả tương ứng 23-24, 30 - 33, 3 - 4, tuy nhiên các giá trị này không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức xử lý và đối chứng. Điều này có nghĩa rằng, các xử lý trước thu hoạch không làm ảnh hưởng màu sắc vỏ và thịt quả thanh long ruột đỏ. Tuy nhiên, có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê được tìm thấy kết quả ở màu tai ghi nhận giá trị a*. Giá trị a* cao nhất (-15,53) ở nghiệm thức CA + SA, tiếp đến là SA (-14,52) khác biệt so với nghiệm thức CA và đối chứng ($p < 0,05$). Nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng ứng dụng SA trước thu hoạch cải thiện quá trình quang hợp tăng hàm lượng chlorophyll (diệp lục tố) trên hẹ [14]. Trong nghiên cứu này, nghiệm thức CA + SA có giá trị a* tăng (biến thiên sắc xanh lá) điều này có thể do SA làm tăng quá trình tổng hợp chlorophyll diễn ra trong tai quả làm cho tai quả xanh hơn. Như vậy việc xử lý kết hợp CA + SA có hiệu quả tác động lên màu sắc xanh tai quả thanh long. Màu xanh tai quả một trong những dấu hiệu quan trọng đánh giá thời gian bảo quản quả thanh long, cần được duy trì sắc xanh trong suốt quá trình tồn trữ.

3.1.2. Khối lượng quả, độ chắc thịt quả, hàm lượng tổng chất rắn hòa tan và axit tổng số của thanh long (LĐ1)

Khối lượng quả có giá trị trung bình cao nhất 625,18 g ở nghiệm thức xử lý CA + SA, tiếp đến là nghiệm thức SA (602,87 g), tuy nhiên các giá trị này không có sự khác biệt có ý nghĩa so với CA và ĐC (Bảng 2). Điều này có nghĩa việc xử lý CA hay SA giai đoạn trước thu hoạch không ảnh hưởng đến khối lượng quả. Độ chắc thịt quả có giá trị cao nhất (0,71 kg/cm^2) được ghi nhận ở nghiệm thức CA + SA khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại và ĐC. Xử lý trước thu hoạch làm tăng độ chắc là kết quả mong đợi nhằm kéo dài thời gian bảo quản thanh long ruột đỏ. Trong thí nghiệm này CA + SA có hiệu quả làm tăng độ chắc quả thanh long sau thu hoạch. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy khi phun CA và SA giai đoạn trước thu hoạch có hiệu quả cải thiện độ chắc quả táo tàu [15].

Các thông số về chất lượng như hàm lượng TSS và TA có sự biến đổi nhỏ giữa các nghiệm thức xử lý. Hàm lượng TSS thanh long tại thời điểm thu hoạch có giá trị cao nhất (14,86) ở nghiệm thức CA + SA khác biệt có ý nghĩa so với CA, nhưng không khác biệt so với SA và ĐC. Đối với hàm lượng TA, giá trị trung bình dao động 0,14 - 0,17% và không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các nghiệm thức xử lý (Bảng 2). Thanh long là quả không có đột biến hô hấp, xử lý trước thu hoạch không ảnh hưởng đến TSS và TA, kết quả tương tự cũng được chứng minh bởi Chang (2021) [16].

Bảng 2. Ảnh hưởng xử lý CA và SA trước thu hoạch đến khối lượng quả, độ chắc thịt quả, hàm lượng tổng chất rắn hòa tan và hàm lượng axit tổng số của thanh long (LĐ1) tại thời điểm thu hoạch

Nghiệm thức	Khối lượng quả (g)	Độ chắc thịt quả (kg/cm^2)	TSS (%)	TA (%)
ĐC	596,40	0,66 b	14,76 a	0,16
CA	558,51	0,67 b	13,23 b	0,17
SA	602,87	0,60 c	14,73 a	0,15
CA+SA	625,18	0,71 a	14,86 a	0,14
Mức ý nghĩa	ns	*	*	ns
CV (%)	6,94	3,10	3,40	11,81

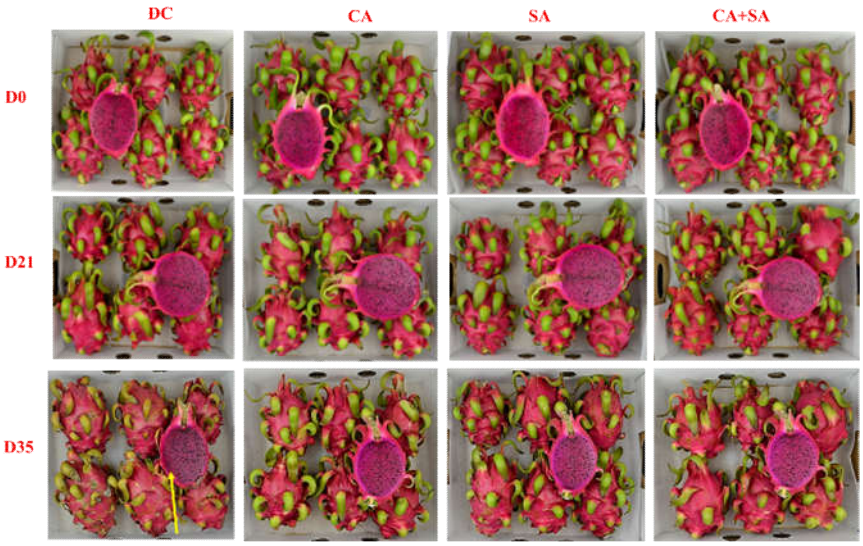
3.2. Đánh giá tổn thương lạnh và chất lượng quả trong quá trình bảo quản

3.2.1. Tỷ lệ tổn thương lạnh, chỉ số tổn thương lạnh và độ rò rỉ màng tế bào

Tổn thương lạnh là một trong những triệu chứng thường gặp đối với trái cây nhiệt đới bao gồm cả thanh long khi bảo quản nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ tối ưu. Kết quả các giá trị về tỷ lệ quả tổn thương lạnh, chỉ số tổn thương lạnh và độ rò rỉ màng tế bào trong suốt quá trình bảo quản nhiệt độ 3°C được ghi nhận ở bảng 3. Kết quả cho thấy, tất cả nghiệm thức xử lý CA hay SA phun giai đoạn trước thu hoạch có hiệu quả làm giảm tỷ lệ tổn thương lạnh, chỉ số tổn thương lạnh và độ rò rỉ màng tế bào EL, khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với ĐC ($p < 0,05$). Ở thời điểm 21 ngày, thanh long ở các nghiệm thức có xử lý phun CA, SA đơn lẻ hay kết hợp chưa xuất hiện triệu chứng tổn thương lạnh, trong khi thanh long ở nghiệm thức ĐC có 16,67% quả bị tổn thương lạnh với độ rò rỉ màng tế bào EL cao nhất 35,15% và chỉ số tổn thương lạnh 0,33 điểm. Sang đến ngày thứ 35, tất cả các nghiệm thức đều xuất hiện tổn thương lạnh, tuy nhiên nghiệm thức xử lý trước thu hoạch làm giảm tỷ lệ quả bị tổn thương lạnh và chỉ số tổn thương lạnh so với ĐC. Trong số các nghiệm thức, SA+CA có giá trị EL thấp nhất là 29,06% cùng với tỷ lệ tổn thương lạnh và chỉ số tổn thương lạnh thấp nhất tương ứng là 11,11% và 0,22 điểm. Trong khi đó nghiệm thức ĐC có tỷ lệ tổn thương lạnh lên đến 44,44% với mức độ 1,78 điểm, với hình dáng bên ngoài đánh giá không tươi, tai quả vàng, trên bề mặt quả xuất hiện vết nâu nhạt, màu thịt quả đỏ sậm với lớp trong mờ xuất hiện gần lớp vỏ (Hình 1). Kết quả này tương tự nghiên cứu trước đây trên thanh long ruột đỏ (LĐ1) khi bảo quản nhiệt độ thấp 2°C [1]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu ngày sử dụng $CaCl_2$ và salixilic axit phun vào giai đoạn trước thu hoạch có hiệu quả làm giảm tổn thương quả giai đoạn sau thu hoạch. Điều này có thể giải thích do canxi có vai trò làm tăng tính vững chắc và tính toàn vẹn cấu trúc của màng tế bào bằng cách liên kết với các nhóm cacboxyl của pectic homogalacturonan [17], [18]. Ngoài ra, SA có tác dụng bảo vệ màng tế bào chống chịu tổn thương lạnh thông qua việc làm giảm hoạt động các enzym oxy hóa lipid màng tế bào và tăng cường các hợp chất chống oxy hóa [19]. Do đó việc phun xử lý kết hợp $CaCl_2$ + SA trên thanh long giai đoạn trước thu hoạch cải thiện và tăng cường hệ thống chống chịu lạnh của vỏ cao hơn các nghiệm thức khác.

Bảng 3. Ảnh hưởng xử lý CA và SA trước thu hoạch đến tỷ lệ tổn thương lạnh, chỉ số tổn thương lạnh và độ rò rỉ màng tế bào của thanh long ruột đỏ LĐ1 bảo quản ở 3°C

Nghiệm thức	EL (%)		Tỷ lệ tổn thương lạnh (%)		Mức độ tổn thương lạnh (0-4 điểm)	
	21 ngày	35 ngày	21 ngày	35 ngày	21 ngày	35 ngày
ĐC	35,15 a	39,55 a	16,67 a	44,44 a	0,33 a	1,78 a
CA	29,39 b	32,01 b	0,00 b	22,22 b	0,00 b	0,89 ab
SA	28,81 b	31,85 b	0,00 b	16,67 b	0,00 b	0,55 c
CA+SA	28,58 b	29,06 c	0,00 b	11,11 b	0,00 b	0,22 c
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*
CV (%)	3,36	4,51	19,98	15,29	20,10	24,45



Hình 1. Ảnh hưởng xử lý CA và SA trước thu hoạch đến hình dáng bên ngoài và màu thịt quả thanh long ruột đỏ (LĐ1) sau 21 ngày (21D) và 35 ngày (35D) bảo quản ở 3°C

3.2.2. Tỷ lệ bệnh và mức độ bệnh

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, thanh long bảo quản ở 3°C tại thời điểm đánh giá 21 ngày tất cả các nghiệm thức xử lý và ĐC chưa xuất hiện bệnh. Sang đến ngày 35, tất cả các nghiệm thức đã xuất hiện bệnh với những tỷ lệ và mức độ khác nhau. Tuy nhiên, các nghiệm thức xử lý trước thu hoạch làm giảm tỷ lệ bệnh và mức độ bệnh, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ($p < 0,05$). Nghiệm thức xử lý kết hợp phun CA + SA có tỷ lệ bệnh thấp nhất 5,55% và mức độ bệnh 0,22 điểm, tiếp đến là SA với tỷ lệ bệnh và mức độ bệnh tương ứng 11,11% và 0,55 điểm. Trong khi đó nghiệm thức ĐC có tỷ lệ bệnh và mức độ bệnh tương ứng 33,33% và 2,44 điểm. Như vậy, phun CA + SA giai đoạn trước thu hoạch có hiệu quả làm giảm tỷ lệ bệnh xuống 6 lần so với đối chứng sau 35 ngày bảo quản 3°C. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy khi xử lý phun canxi kết hợp salixilic axit trước thu hoạch giúp giảm tỷ lệ bệnh trên quả chà là trong quá trình bảo quản [20].

Bảng 4. Ảnh hưởng xử lý CA và SA trước thu hoạch đến tỷ lệ bệnh và mức độ bệnh của thanh long ruột đỏ (LĐ1) bảo quản ở 3°C

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh (%)		Mức độ bệnh (0 - 4 điểm)	
	21 ngày	35 ngày	21 ngày	35 ngày
ĐC	-	33,33 a	-	2,44 a
CA	-	22,22 ab	-	1,33 b
SA	-	11,11 bc	-	0,55 bc
CA+SA	-	5,55 c	-	0,22 c
Mức ý nghĩa		*		*
CV (%)		26,15		21,39

3.2.3. Hao hụt khối lượng, độ chắc thịt quả, hàm lượng tổng chất rắn hòa tan và axit tổng số

Trong quá trình bảo quản thanh long tươi, quả vẫn tiếp tục hô hấp, mất nước dẫn đến hao hụt khối lượng và ảnh hưởng độ chắc thịt quả. Thanh long được xử lý trước thu hoạch làm giảm hao hụt khối lượng và duy trì độ chắc quả và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) trong suốt quá trình bảo quản (Bảng 5). Hao hụt khối lượng ở tất cả nghiệm thức tăng theo thời gian bảo quản, tuy nhiên nghiệm thức xử lý trước thu hoạch có hiệu quả làm giảm hao hụt khối lượng so với ĐC, trong

đó nghiệm thức xử lý CA + SA thấp hơn 3,95 lần so với ĐC sau 21 ngày bảo quản và thấp hơn 3,61 lần sau 35 ngày bảo quản ở 3°C. Độ chắc thịt quả có sự thay đổi nhẹ trong quá trình bảo quản. Các nghiệm thức xử lý SA và CA + SA duy trì độ chắc cao hơn so CA và ĐC. Sau 35 ngày bảo quản 3°C độ chắc nghiệm thức xử lý CA + SA có giá trị cao nhất là 0,89 kg/cm^2. SA được biết có tác dụng ức chế các enzym phân hủy thành tế bào làm mềm quả như pectinemethyl esteraza, polygalacturonaza và xenluloza [21], canxi có vai trò làm tăng tính vững chắc cấu trúc của màng tế bào. Do đó, thanh long xử lý kết hợp các dung dịch này làm cho màng tế bào trở nên vững chắc, giảm hoạt động của enzym làm mềm quả vì thế duy trì độ chắc cao hơn các nghiệm thức khác. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Shanbehpour và cs (2020) [15], theo đó việc sử dụng CA hay SA phun giai đoạn trước thu hoạch có hiệu quả làm giảm hao hụt khối lượng và duy trì độ chắc cho quả táo tàu lên đến 30 ngày bảo quản 5°C.

Hàm lượng TSS và TA là chỉ tiêu đánh giá chất lượng và thời gian bảo quản. Nhìn chung hàm lượng TSS tăng nhẹ và giá trị TA thay đổi không đáng kể trong suốt quá trình bảo quản ở nhiệt độ 3°C (Bảng 5). Hàm lượng TSS tại thời điểm đánh giá 21 ngày ở nghiệm thức CA có giá trị thấp nhất (12,83) khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Sang đến ngày 35, nghiệm thức CA + SA có giá trị 14,80 cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức CA nhưng không khác biệt so với các nghiệm thức còn lại. Ở thời điểm đánh giá 21 ngày giá trị TA trung bình dao động 0,20 - 0,22%, kết quả ghi nhận không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức xử lý. Sau 35 ngày bảo quản giá trị TA tăng lên, trung bình dao động 0,23 - 0,29%, trong đó nghiệm thức SA có giá trị thấp nhất (0,23%) khác biệt có ý nghĩa so với CA và ĐC nhưng không khác biệt so với CA + SA.

Sự thay đổi hàm lượng TSS và TA chủ yếu liên quan đến quá trình hô hấp. Trong quá trình bảo quản quả tiếp tục hô hấp sử dụng chất đường và axit hữu cơ để duy trì sự sống làm cho quả bị mất nước và các hàm lượng này giảm dần. Tuy nhiên xử lý SA hay CA + SA trước thu hoạch có hiệu quả làm giảm hao hụt khối lượng, duy trì độ chắc cũng như làm chậm quá trình trao đổi chất, do đó duy trì hàm lượng TSS và TA. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy trên quả xoài khi sử dụng dung dịch salixilic axit trước thu hoạch có hiệu quả duy trì hàm lượng TSS và TA trong quá trình bảo quản [5].

Bảng 5. Ảnh hưởng xử lý CA và SA trước thu hoạch đến hao hụt khối lượng, độ chắc thịt quả, hàm lượng tổng chất rắn hòa tan và hàm lượng axit tổng số của thanh long ruột đỏ LĐ1 bảo quản ở 3°C

Nghiệm thức	Hao hụt khối lượng (%)		Độ chắc thịt quả (kg/cm^2)		TSS (%)		TA (%)	
	21 ngày	35 ngày	21 ngày	35 ngày	21 ngày	35 ngày	21 ngày	35 ngày
ĐC	0,91 a	2,41 a	0,76 b	0,77 ab	14,66 a	14,73 a	0,20	0,28 ab
CA	0,44 b	1,39 b	0,77 b	0,70 b	12,83 b	13,90 b	0,22	0,29 a
SA	0,28 c	0,60 c	0,79 b	0,82 ab	14,36 a	14,60 a	0,22	0,23 c
CA+SA	0,23 c	0,59 c	0,87 a	0,89 a	14,26 a	14,80 a	0,22	0,25 cb
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	ns	*
CV (%)	19,68	15,69	19,68	15,69	3,62	1,44	18,46	7,01

4. KẾT LUẬN

Thanh long được xử lý trước thu hoạch bằng cách phun 2 lần (thời điểm 2 và 1 tuần trước thu hoạch) bằng dung dịch CA+SA có tác dụng cải thiện màu sắc tai quả, độ chắc và chất lượng quả giai đoạn sau thu hoạch. Thanh long được phun với dung dịch này có hiệu quả làm giảm tỷ lệ bệnh xuống còn 5,55% và tỷ lệ tổn thương lạnh 11,11% với mức độ tổn thương lạnh 0,22 điểm sau 35 ngày bảo quản ở 3°C. Ngoài ra, màu sắc xanh tai quả, màu thịt quả và chất lượng (độ chắc, hàm lượng

tổng chất rắn hòa tan và axit tổng số) được duy trì lên đến 35 ngày bảo quản 3°C.

Có thể áp dụng phun dung dịch kết hợp CA+SA giai đoạn trước thu hoạch nhằm làm giảm tổn thương lạnh và tỷ lệ bệnh, duy trì chất lượng và kéo dài thời gian bảo quản quả thanh long ruột đỏ LĐ1 trong quá trình tồn trữ nhiệt độ thấp.

Cần khảo sát quy mô thực nghiệm trước khi đưa vào áp dụng với quy mô thương mại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyen, N. V. P., Tung, T., Clark, C. J., & Woolf, A. B. (2018). Effect of storage temperature and low temperature conditioning on quality and chilling injury of "LĐ1" red fleshed dragon fruit. *Acta Horticulturae*, *1213* (2003), 123 - 128.

2. Jiang, Y. L., Chen, L. Y., Lee, T. C., & Chang, P. T. (2020). Improving postharvest storage of fresh red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus* sp.) fruit by pre-harvest application of CPPU. *Scientia Horticulturae*, *273*(April), 109646.

3. Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., & Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environmental and Experimental Botany*, *68*(1), 14-25.

4. Miranda, J., de Andrade, S. B., Schiavon, A. V., Lemos, P. L. P. K., Lima, C. S. M., & Malgarim, M. B. (2019). Pre-harvest application of salicylic acid influence physicochemical and quality characteristics of "Chimarrita" peaches during cold storage. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, *31*(1), 46-52.

5. Reddy Vijay Rakesh, S., Sharma, R. R., Srivastav, M., & Kaur, C. (2016). Effect of pre-harvest application of salicylic acid on postharvest behaviour of 'Amrapali' mango fruits during storage. *Indian Journal of Horticulture*, *73*(3), 405-409.

6. Supapvanich, S., Mitsang, P., & Youryon, P. (2017). Preharvest salicylic acid application maintains physicochemical quality of 'Taaptimjaan' wax apple fruit (*Syzygium samarangenese*) during short-term storage. *Scientia Horticulturae*, *215*, 178-183.

7. Goutam, M., Dhaliwal, H. S., & Mahajan, B. V. C. (2010). Effect of pre-harvest calcium sprays on post-harvest life of winter guava (*Psidium guajava* L.). *Journal of Food Science and Technology*, *47*(5), 501-506.

8. Trần Thị Bích Vân, Lê Bảo Long và Nguyễn Bảo Vệ (2016). Ảnh hưởng của canxi clorua phun qua lá đến hiện tượng nứt trái, năng suất và phẩm chất chôm chôm Rongrien (*Nephelium lappaceum* Linn). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 45b: 93-100.

9. Lê Văn Hòa, Lê Thị Diệu Xuân, Phạm Thị Phương Thảo và Nguyễn Hoàng Sơn (2012). Ảnh hưởng của $CaCl_2$, ethephon, KNO_3 và số lần xử lý trước thu hoạch đến phẩm chất trái mận An Phước (*Syzygium samarangense* (blume) Merr & Perry). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 24b: 8-17.

10. Desai, V.N., Satodiya, B. N., & Desai, A. B. (2017). Response of pre-harvest spraying treatments of chemicals and plant growth regulators on post-harvest losses and quality attributes of sapota [*Manilkara achras* (Mill.) Forsberg] Fruits cv. Kalipatti. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(9), 3518-3524.

11. Mostafa, Y. S., & Sultan, M. Z. (2018). Calcium chloride combined with antioxidants increases keeping quality and limits postharvest decay of loquat fruit. *Acta Horticulturae*, *1194*(March), 157-164.

12. AOAC (2005). Official Methods of Analysis (18th Ed,), Association of Official Analytical Chemists, Virginia, U.S.A.

13. Gonz, G. A., & Mart, M. A. (2004). Methyl jasmonate treatments reduce chilling injury and activate the defense response of guava fruits. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *313*, 694-701.

14. Wang, C., Zhang, J., Xie, J., Yu, J., Li, J., Lv, J., & Gao, Y. (2022). Effects of preharvest methyl jasmonate and salicylic acid treatments on growth, quality, volatile components, and antioxidant systems of Chinese Chives, 12 (January), 1–15.

15. Shanbehpour, F., Rastegar, S., & Ghasemi, M. (2020). Effect of preharvest application of

calcium chloride, putrescine, and salicylic acid on antioxidant system and biochemical changes of two Indian jujube genotypes. *Journal of Food Biochemistry*, *44*(11), 1–13.

16. Chang, P. T. (2021). Effect of preharvest application of CPPU and perforated packaging on the postharvest quality of red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus* sp.) fruit. *Horticulturae*, *7*(8).

17. Kaushik, L., Kumar, R., Reddy, D. K., & Kaushik, P. (2021). Effect of Pre-harvest Calcium Chloride and Salicylic Acid Spray on Morphological and Biochemical Traits of Guava (*Psidium guajava*). *BioRxiv*.

18. Chuni, S. H., Awang, Y., & Mohamed, M. T. M. (2010). Cell wall enzymes activities and quality of calcium treated fresh-cut red flesh dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *International Journal of Agriculture and Biology*, *12*(5), 713-718.

19. Aghdam, M. S., & Bodbodak, S. (2013). Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in fruits and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments. *Scientia Horticulturae*, *156*, 73–85.

20. Ahmed, Z. F. R., Kaur, N., Maqsood, S., & Schmeda-Hirschmann, G. (2022). Preharvest Applications of Chitosan, Salicylic Acid, and Calcium Chloride Have a Synergistic Effect on Quality and Storability of Date Palm Fruit (*Phoenix dactylifera* L.). *HortScience*, *57*(3), 422-430.

21. Khademi, O., Ashtari, M., & Razavi, F. (2019). Effects of salicylic acid and ultrasound treatments on chilling injury control and quality preservation in banana fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*, *249*(February), 334–339. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.018

EFFICACY OF PREHARVEST SPRAYING OF CALCIUM CHLORIDE AND SALICYLIC ACID ON QUALITY AND CHILLING INJURY OF RED-FLESHED DRAGON FRUIT (LĐ1) DURING LOW TEMPERATURE STORAGE

Duong Thi Cam Nhung, Ngo Hung Vu,
Nguyen Thi Cam Tien, Nguyen Van Phong

Summary

Chilling injury is a major problem for tropical fruits in general and dragon fruit in particular during cold storage. With the aim of minimizing chilling injury and prolonging the storage life of red-fleshed dragon fruit (LĐ1), an investigation evaluated the effects of single pre-harvest spraying with 1% $CaCl_2$ (CA) or salicylic acid 0.1% (SA) and combined spray of calcium chloride (1%) + salicylic 1% (CA+SA) and water (control) on the quality and chilling injury of red- fleshed dragon fruit (LĐ1) during storage at 3˚C for 35 days was performed. The results showed that spraying with CA or SA almost did not affect to quality of red-fleshed dragon fruit (LĐ1) at harvest time, except treatment (CA+SA) improved bract color and flesh firmness compared to the control. The storage at 3°C showed that the pre-harvest spray (CA + SA) treatment effectively reduced chilling injury, rot disease significantly compared to other treatments and control. In addition, treatment (CA+SA) also showed the lowest weight loss and quality parameters such as fruit firmness, total dissolved solids and total acidity were maintained throughout the storage period. Therefore, preharvest treatment with combination of CA+SA are an excellent alternative for controlling the chilling injury, preserving quality and extending the shelf-life of LĐ1 red-fleshed dragon fruit up to 35 days at 3°C.

Keywords: *Calcium chloride, chilling injury, dragon fruit, pre-harvest, salicylic acid.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Minh Nam
Ngày nhận bài: 01/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 31/3/2023
Ngày duyệt đăng: 7/4/2023

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT LACCASE TỪ NẤM MỐC VÀ THỬ NGHIỆM ỨNG DỤNG TRONG PHÂN HUỶ HOÁ CHẤT BẢO VỆ THỰC VẬT

Đào Văn Huy[1], Mai Thị Thuỳ Linh[2],
Lê Văn Thiện[2], Ngô Thị Tường Châu[2,*]

TÓM TẮT

Tồn dư hoá chất bảo vệ thực vật (HCBVTV) trong nông sản và môi trường đã ảnh hưởng không nhỏ đến sức khỏe con người và phá vỡ cân bằng sinh thái. Nhiều loài nấm được báo cáo là tạo ra laccase có khả năng phân hủy các hóa chất độc hại. Mục tiêu của nghiên cứu này là tối ưu hoá quá trình sản xuất laccase và thử nghiệm ứng dụng laccase trong phân huỷ HCBVTV. Laccase được sản xuất từ chủng nấm mốc *Penicillium chrysogenum* N2 trong môi trường muối khoáng tối thiểu (MSB) bổ sung bột rơm lúa hoặc bột trấu lúa với các tỉ lệ khác nhau. Ảnh hưởng của pH, nhiệt độ và ion kim loại đến hoạt tính của laccase được khảo sát. Hoạt tính laccase được xác định dựa trên sự oxy hóa ABTS. Khả năng phân huỷ HCBVTV (Cartap, Cypermethrin và Chlopyrifos) được đánh giá. Hàm lượng HCBVTV được xác định bằng phương pháp QuEChERS (EN 15662). Kết quả cho thấy, điều kiện thích hợp cho sản xuất laccase là môi trường MSB bổ sung 5% bột rơm, ở 25°C, tốc độ lắc 150 vòng/phút, 8 ngày. Điều kiện tối ưu cho hoạt tính laccase là pH 5 và 45°C. Chế phẩm laccase có thể phân huỷ Cartap, Cypermethrin và Chlopyrifos với hiệu quả cao. Vì vậy, laccase từ *P. chrysogenum* N2 có thể được xem là một tác nhân xử lý sinh học tiềm năng trong phân huỷ tồn dư HCBVTV.

Từ khoá: *Hoá chất bảo vệ thực vật, laccase, nấm mốc, P. chrysogenum N2, xử lý sinh học.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Laccase là một thành viên của enzyme glycoprotein đa phân tử thuộc họ oxidoreductase. Laccase chứa 4 nguyên tử đồng (Cu) và 2 cầu liên kết disulfide phân bố trong 3 vùng khác nhau gọi là T1, T2 và T3. Quá trình oxy hóa cơ chất xảy ra ở vùng T1 thông qua trình tự tripeptide His-Cys-His, sau đó các điện tử được chuyển đến trung tâm ba hạt nhân T2/T3 và diễn ra sự khử O_2 thành nước [1]. Laccase được tìm thấy ở thực vật bậc cao và nhiều loài vi sinh vật. Tuy nhiên, laccase ở vi khuẩn thường nằm trong nội bào và laccase từ nấm mốc được phát hiện là có khả năng khử cao hơn nhiều so với thực vật bậc cao. Một số nấm điển hình có khả năng tổng hợp laccase cao như *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* và *Aspergillus nidulans* [2]. Laccase từ nấm cũng đã được sử dụng thành công trong phân huỷ cấu trúc phức tạp của nhiều HCBVTV [3, 4] và tạo ra các sản phẩm vô hại [5].

Việt Nam là nước nông nghiệp với diện tích canh tác lớn, điều kiện khí hậu thuận lợi, chủng loại cây trồng phong phú nên nhu cầu sử dụng HCBVTV để kiểm soát dịch bệnh khá cao. Ước tính chỉ có 5% lượng HCBVTV sử dụng đến được với sinh vật đích, phần còn lại cùng với các sản phẩm biến đổi của chúng được phân tán vào môi trường [6]. Do đó, việc phát triển giải pháp sử dụng laccase một cách hiệu quả và tiết kiệm chi phí để xử lý HCBVTV là rất cần thiết. Mục tiêu của nghiên cứu này là: (i) tối ưu hoá quá trình lên men sản xuất laccase từ chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2 và (ii) thử nghiệm ứng dụng laccase trong phân huỷ một số loại HCBVT (Cartap, Cypermethrin và Chlopyrifos).

[1] Ban Tổ chức cán bộ, Đại học Quốc gia Hà Nội
[2] Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
*Email: ngotuongchau@hus.edu.vn

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hoá chất, thiết bị

- Chủng nấm mốc *Penicillium chrysogenum* N2 có khả năng phân huỷ lignin đã được phân lập từ mẫu hỗn hợp đất và mùn cưa tại Thừa Thiên Huế [7], hiện đang được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm Nghiên cứu Môi trường và Thực phẩm, Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.



Hình 1. Chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2 có khả năng phân huỷ lignin cao [7]

- Hoá chất:

+ Môi trường muối khoáng tối thiểu (minimal salt broth- MSB) có thành phần như sau (g/l): glucose 10; KH_2PO_4 0,2; $MgSO_4.7H_2O$ 0,05; $CaCl_2.2H_2O$ 0,01; ammonium tartrate 0,22; 2,2-dimethylsuccinic acid 2,9; thiamine 0,1; Tween 80 0,1% (v/v), veratryl alcohol 1,5 mM 50 và dung dịch các yếu tố vi lượng (có thành phần mg/l: $CuSO_4.5H_2O$ 80; $Na_2MoO_4.2H_2O$ 50; $MnSO_4.H_2O$ 33; $ZnSO_4.7H_2O$ 43; $FeSO_4.7H_2O$ 50) 10 ml/l. Glucose, thiamine, Tween 80, veratryl alcohol và các nguyên tố vi lượng được lọc qua màng lọc có kích thước lỗ 0,45 µm và thêm vào môi trường sau hấp khử trùng ở 121°C–15 phút [8].

+ Bột rơm lúa (kích thước hạt 2–3 mm) và bột trấu lúa (kích thước hạt 0,4–0,7 mm).

+ ABTS [2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)].

+ Dung dịch các ion kim loại: Fe^{2+}, Cu^{2+}, Ca^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+} và Ag^{+}.

+ Các loại HCBVTV có độ tinh khiết cao: Cartap [(1,3-bis(carbamoylthio)-2-(N,N-dimethylamino) propane hydrochloride, $C_7H_{16}ClN_3O_2S_2$, CAS No. 22042-59-7]; Cypermethrin [3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic axit, $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$, CAS No. 52315-07-8] và Chlorpyrifos [(O, O-diethyl-O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothiate, $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$, CAS No. 2921-89-2] (Sigma- Aldrich).

- Thiết bị: Tủ an toàn sinh học (Biovanguard 4/AZBIL TELSTAR- Tây Ban Nha); tủ ấm ổn nhiệt (Memmert - Đức); máy lắc ổn nhiệt (Innova 44R/Eppendorf - Đức); máy ly tâm (5810 R, Eppendorf, Hamburg, Germany); bể siêu âm (Nahita, Model 626/6, Alea Equipment); bể ổn nhiệt (BS-06/Jeiotech - Hàn Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị giống nấm mốc

Từ ống thạch nghiêng giữ giống, chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2 đã được cấy lên các đĩa thạch chứa môi trường PDA và nuôi cấy trong 7 ngày. Sau đó, cấy 3 nút thạch chứa nấm mốc đã phát triển (đường kính 6 mm) vào các bình tam giác 500 ml chứa 100 ml môi trường PDB, nuôi cấy lắc 150 vòng/phút, ở 30°C, trong 7 ngày. Dịch nuôi cấy sau đó được ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 10 phút, loại bỏ phần dịch nổi và thu sinh khối nấm mốc ở dạng ướt (hiệu suất thu đạt 10 g sinh khối ướt/100 ml dịch nuôi cấy).

2.2.2. Phương pháp xác định hoạt tính laccase

Chuẩn bị một hỗn hợp phản ứng (thể tích 1 ml) chứa dung dịch đệm axetic axit - natri axetat 100 mM (pH 4,5), 1 mM ABTS (nồng độ cuối cùng) và 20 µl dịch enzyme thô. Ủ hỗn hợp phản ứng trên ở 40°C trong 10 phút. Đo độ hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 420 nm (ε420 = 36 mM/cm) trên máy quang phổ tử ngoại khả kiến (UV-VIS) [9]. Một đơn vị hoạt độ laccase là lượng enzyme cần thiết để oxy hoá 1 µM ABTS trong 1 phút.

2.2.3. Lựa chọn môi trường nuôi cấy thích hợp cho sự sản xuất laccase của chủng nấm mốc

Sinh khối nấm sau khi được chuẩn bị theo phương pháp nêu ở mục 2.2.1 đã được cấy vào các bình tam giác thể tích 500 ml chứa 150 ml các loại môi trường sau: (i) MSB; (ii) MSB-1 gồm MSB (không chứa glucose) + 5% bột rơm lúa; (iii) MSB-2 gồm MSB (không chứa glucose) + 10% bột rơm lúa; (iv) MSB-3 gồm MSB (không chứa glucose) + 5% bột trấu lúa; (v) MSB-4 gồm MSB (không chứa glucose) + 10% bột trấu lúa. Nuôi cấy lắc ở 150 vòng/phút, ở 30°C trong 22 ngày. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Thu dịch nuôi cấy (dịch enzyme thô) sau mỗi 2 ngày bằng cách ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 10 phút để xác định hoạt tính laccase theo phương pháp đã nêu ở mục 2.2.2. Việc lựa chọn môi trường nuôi cấy thích hợp dựa vào số đơn vị hoạt độ của laccase được tạo thành.

2.2.4. Lựa chọn nhiệt độ nuôi cấy thích hợp cho sự sản xuất laccase của chủng nấm mốc

Nuôi cấy chủng nấm mốc trong môi trường nuôi cấy thích hợp ở các mức nhiệt độ 25°C, 30°C và 35°C. Thu dịch enzyme thô và xác định hoạt tính laccase như trên. Việc lựa chọn nhiệt độ nuôi cấy thích hợp dựa vào số đơn vị hoạt độ của laccase được tạo thành.

2.2.5. Khảo sát ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến hoạt tính của laccase

Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến hoạt tính của laccase được khảo sát trong phạm vi pH 3–8 trong đệm natri axetat 100 mM và nhiệt độ 25–50°C, sử dụng ABTS làm cơ chất (mục 2.2.2). Hoạt tính laccase tại pH và nhiệt độ tối ưu được xác định là 100%.

2.2.6. Khảo sát ảnh hưởng của ion kim loại đến hoạt tính của laccase

Ảnh hưởng của các ion kim loại (Fe^{2+}, Cu^{2+}, Ca^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+} và Co^{2+}) đến hoạt tính laccase được xác định bằng cách bổ sung 5 mM các ion kim loại vào hỗn hợp phản ứng (mục 2.2.2) tại pH và nhiệt độ tối ưu. Hoạt tính laccase khi không có mặt của của các ion kim loại (control) được xác định là 100%.

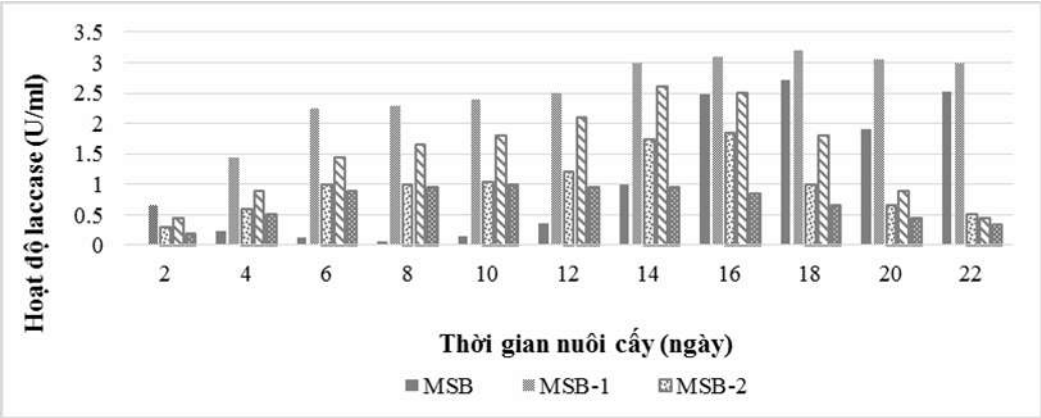
2.2.7. Thử nghiệm ứng dụng laccase trong phân huỷ HCBVTV

Chuẩn bị các ống nghiệm thể tích 10 ml chứa đệm natri axetat 100 mM (pH 5,0), bổ sung 20 mg/l mỗi loại HCBVTV (Cartap, Cypermethrin và Chlorpyrifos) và ủ trong bóng tối ở 45°C. Thu mẫu sau 8 ngày ủ. Nồng độ HCBVTV còn lại trong mẫu được xác định bằng phương pháp QuEChERS (EN 15662). Tất cả thử nghiệm và đối chứng đều được lặp lại 3 lần.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Môi trường nuôi cấy thích hợp cho sự sản xuất laccase của chủng nấm mốc

Tiến hành khảo sát khả năng sinh tổng hợp laccase của chủng *P. chrysogenum* N2 trong 5 loại môi trường khác nhau, kết quả được trình bày ở hình 2.

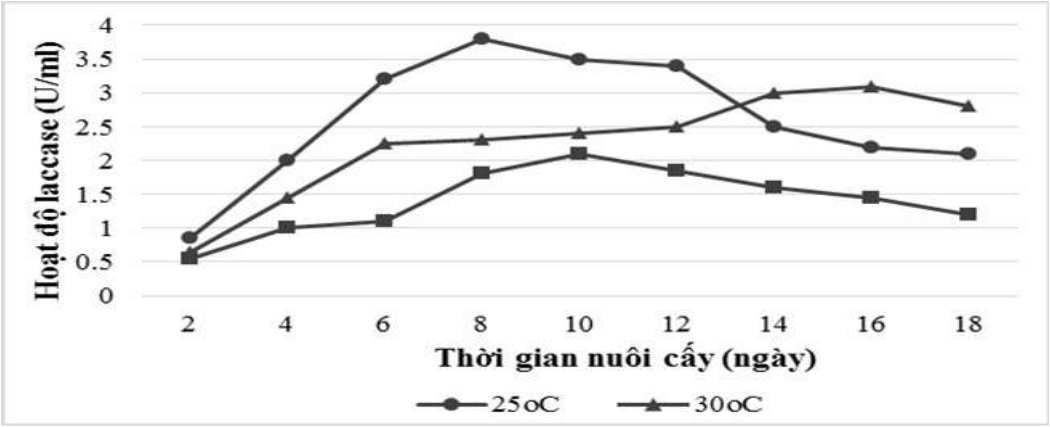


Hình 2. Khả năng sản xuất laccase ở các môi trường khác nhau

Hình 2 cho thấy khả năng sinh tổng hợp laccase của chủng nấm mốc đạt cao nhất trong môi trường MSB-1 (hoạt độ đạt 3,2 U/ml) sau 18 ngày nuôi cấy. Sau đó, hoạt động sinh tổng hợp laccase giảm dần. Điều này có thể là do các điều kiện bất lợi mà chủng nấm mốc gặp phải đã khiến cho khả năng sinh trưởng và phát triển của chúng suy giảm, dẫn đến sự sinh tổng hợp laccase cũng giảm theo. Tương tự, Xu và cs (2015) cho rằng, chủng *Trametes versicolor* BBEL0970 có khả năng tích luỹ laccase cao hơn khi thay thế glucose bằng bột rơm lúa mì trong môi trường muối khoáng tối thiểu [8]. Vì vậy, môi trường MSB-1 được lựa chọn cho nghiên cứu lựa chọn nhiệt độ thích hợp cho sản xuất laccase.

3.2. Nhiệt độ nuôi cấy thích hợp cho sự sản xuất laccase của chủng nấm mốc

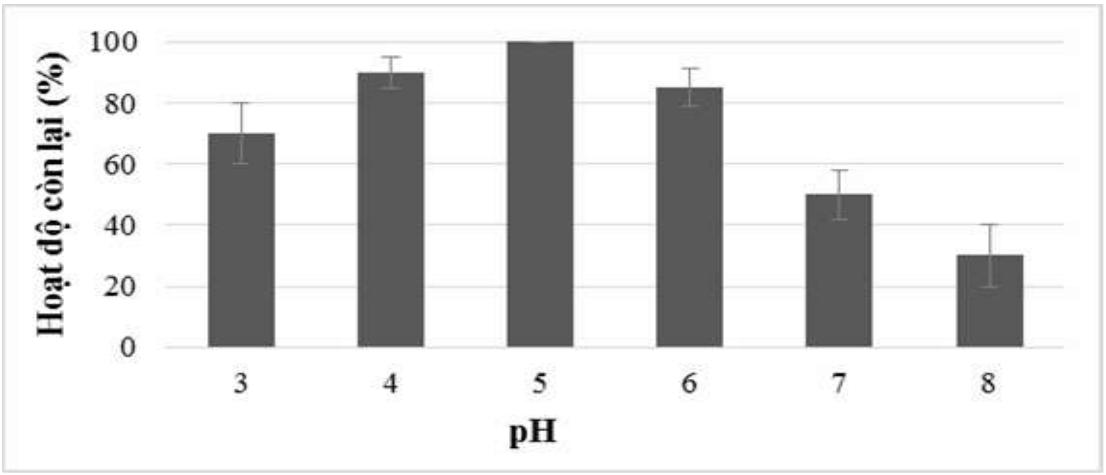
Tiến hành khảo sát khả năng sản xuất laccase của chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2 trong môi trường thích hợp ở các mức nhiệt độ 25°C, 30°C và 35°C, kết quả được trình bày ở hình 3. Qua đó cho thấy, khả năng sinh tổng hợp laccase của chủng nấm mốc đạt cao nhất trong môi trường MSB-1 ở nhiệt độ 25°C sau 8 ngày nuôi cấy (hoạt độ đạt 3,8 U/ml), tiếp đến là ở nhiệt độ 30°C sau 14 ngày nuôi cấy (hoạt độ đạt 3,1 U/ml). Vì vậy, nhiệt độ 25°C được lựa chọn cho nghiên cứu sản xuất laccase tiếp theo.



Hình 3. Khả năng sản xuất laccase ở các nhiệt độ nuôi cấy khác nhau

3.3. Ảnh hưởng của pH đến hoạt tính của laccase

Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của pH đến hoạt tính và độ bền của laccase từ chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2, kết quả được thể hiện ở hình 4.

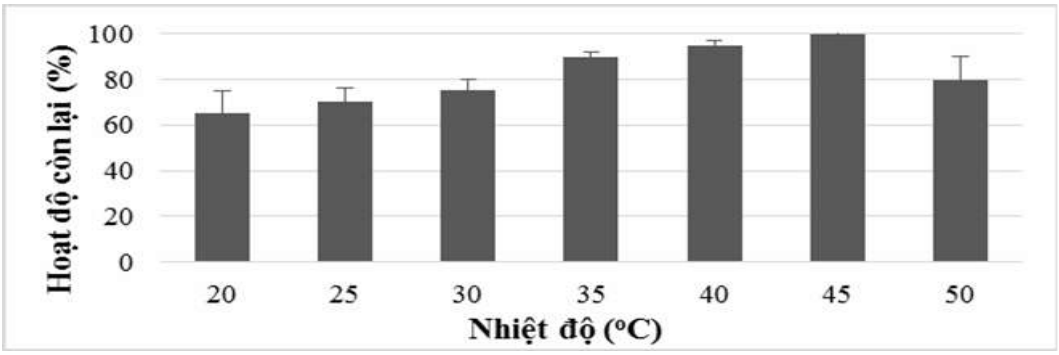


Hình 4. Ảnh hưởng của pH đến hoạt tính của laccase

Qua đó cho thấy, giá trị pH tối ưu cho hoạt tính laccase của chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2 là 5,0. Ở các mức pH > 5,0 hoạt tính của laccase giảm dần, thậm chí hoạt tính chỉ còn lại 30% ở pH 8,0. Kết quả này tương tự với các công bố trước đây khi cho rằng hầu hết pH tối ưu cho hoạt tính của laccase nấm mốc là 5,0 [10]. Ngoài ra, giá trị pH tối ưu còn phụ thuộc vào các loại cơ chất khác nhau, tuy nhiên laccase chỉ thể hiện hoạt tính cao trong một phạm vi pH axit hẹp (3,0–4,5). Ở pH > 5,0, hoạt tính laccase của chủng nấm mốc *Paraphoma* sp. GZS18 giảm nhanh chóng và chỉ còn lại 45% so với hoạt tính cực đại, thậm chí ở pH 6,0 laccase cơ bản không thể oxy hoá được các cơ chất [11].

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt tính của laccase

Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt tính của laccase từ chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2, kết quả được thể hiện ở hình 5.

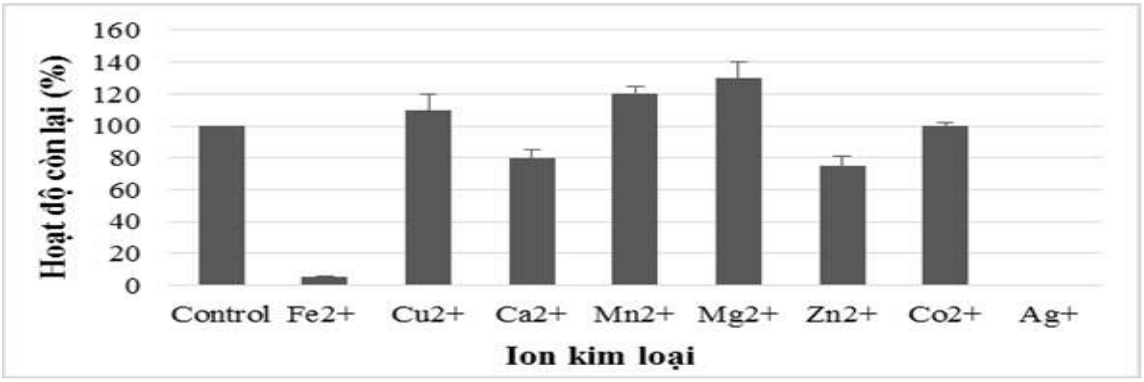


Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt tính và độ bền của laccase

Hình 5 cho thấy, phạm vi nhiệt độ thích hợp cho hoạt tính laccase của chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2 là 35–45°C với nhiệt độ tối ưu là 45°C. Tương tự, hoạt tính laccase cao nhất của chủng *Rigidoporus lignosus* đã được quan sát tại nhiệt độ 35–45°C và nhiệt độ tối ưu cho hoạt tính laccase của chủng *Coriolus hirsutus* là 45°C [12]. Đồng thời, laccase nấm mốc nói chung có nhiệt độ phản ứng tối ưu ở 45°C [13]. Tuy nhiên, theo Jin và cs (2016), chủng nấm *T. versicolor* được tuyển chọn có hoạt tính laccase cao nhất ở nhiệt độ thấp hơn (25°C) [10]. Trong nghiên cứu này, khi tăng nhiệt độ lên 50°C, hoạt tính của laccase chỉ còn lại 80%.

3.5. Ảnh hưởng của ion kim loại đến hoạt tính của laccase

Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của ion kim loại đến hoạt tính của laccase từ chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2, kết quả được thể hiện ở hình 6.



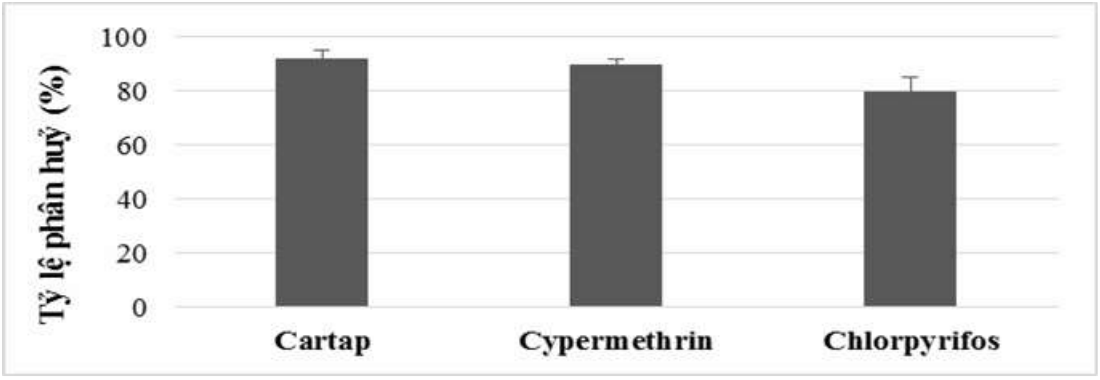
Hình 6. Ảnh hưởng của ion kim loại đến hoạt tính của laccase

Hình 6 cho thấy, ảnh hưởng của các ion kim loại đến hoạt tính của laccase đã được phát hiện. Ở nồng độ 5 mM, sự có mặt của các ion Cu^{2+}, Mn^{2+} và Mg^{2+} đã làm tăng hoạt tính của laccase, trong khi Ca^{2+}, Zn^{2+} lại làm giảm hoạt tính của laccase và Co^{2+} lại hầu như không làm thay đổi hoạt tính của laccase so với đối chứng. Đáng chú ý là sự có mặt của Fe^{2+} đã làm suy giảm đáng kể hoạt tính của laccase, thậm chí Ag^{+} đã ức chế hoàn toàn hoạt tính của laccase.

Đồng là nguyên tố quan trọng cho hoạt động của laccase. Các ion Cu^{2+} tồn tại trong dung dịch có tác dụng kích hoạt đối với hầu hết các laccase và tác dụng ức chế đối với một số laccase nhất định. Nghiên cứu đã chỉ ra rằng Cu^{2+} (thậm chí ở nồng độ thấp, chẳng hạn như 0,1 mM) cũng thể hiện tác dụng kích hoạt laccase [13]. Theo Chernykh và cs (2008), Cu^{2+} có tác dụng kích hoạt laccase ở nồng độ thấp và chúng có tác dụng ức chế laccase ở nồng độ cao [14].

3.6. Khả năng phân huỷ HCBVTV của laccase

pH và nhiệt độ đóng vai trò quan trọng trong hoạt động của laccase và sự phân hủy HCBVTV được xúc tác bởi chúng [10]. Vì vậy trong thử nghiệm này các giá trị pH (5,0) và nhiệt độ tối ưu (45°C) đã được sử dụng để đánh giá khả năng ứng dụng laccase vào phân huỷ các loại HCBVTV. Kết quả được thể hiện ở hình 7.



Hình 7. Khả năng phân huỷ HCBVTV của laccase

Hình 7 cho thấy laccase của chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2 có khả năng phân huỷ Cartap, Cypermethrin và Chlorpyrifos (20 mg/l) lần lượt theo các tỷ lệ 92%, 90% và 80%. So với laccase của chủng nấm *T. versicolor* được báo cáo bởi Jin và cs (2016), tỷ lệ phân huỷ Chlorpyrifos bởi laccase của chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2 là tương đương nhau (đạt gần 80%) [10]. Vì vậy, ngoài ứng dụng trong xử lý chất thải nông nghiệp và công nghiệp thực phẩm, phân huỷ thuốc và mỹ phẩm, loại màu thuốc nhuộm, phân huỷ chất thải công nghiệp giấy và bột giấy [15], laccase của nấm mốc thật sự có tiềm năng trong phân huỷ tồn dư HCBVTV.

4. KẾT LUẬN

Đã tối ưu hoá quá trình lên men sản xuất laccase của chủng nấm mốc *P. chrysogenum* N2 và thử nghiệm ứng dụng laccase trong phân huỷ một số loại HCBVTV. Môi trường và điều kiện lên men thích hợp cho quá trình sản xuất laccase được xác định là môi trường MSB bổ sung 5% bột rơm (MSB-1), ở nhiệt độ 25°C, tốc độ lắc 150 vòng/phút, trong 8 ngày. Điều kiện tối ưu cho hoạt tính laccase là pH 5,0 và nhiệt độ 45°C. Chế phẩm laccase có thể phân huỷ Cartap, Cypermethrin và Chlopyrifos (nồng độ 20 mg/l) với hiệu quả cao (lần lượt đạt tỷ lệ 92%, 90% và 80%). Vì vậy, laccase từ *P. chrysogenum* N2 có thể được xem là một tác nhân xử lý sinh học tiềm năng trong phân huỷ tồn dư HCBVTV.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mayolo-Deloisa, K., González-González, M., Rito-Palomares, M. (2020). Laccases in food

industry: Bioprocessing, potential industrial and biotechnological appliions. Front Bioeng Biotechnol 8, 222. doi: 10.3389/fbioe.2020.00222.

2. Ratan, K. S., Waman, B. J., Bomblay, K. M., Maind, M. S. (2020). Production of Fungal Laccase from Beer Industry Waste and Its Appliion in Biodegradation of Pesticides. Adv Ind Biotechnol 3, 012.

3. Castillo, M. D. P., Torstensson, L., Stenström, J. (2008). Biobeds for environmental protection from pesticide use - a review. *J. Agric Food Chem,* 56, 6206–6219.

4. Pizzul, L., Castillo, M. D. P., Stenström, J. (2009). Degradation of glyphosate and other pesticides by ligninolytic enzymes. Biodegradation 20, 751–759.

5. Mir-Tutusaus, J. A., Masís-Mora, M., Corcellas, C., Eljarrat, E., Barceló, D., Sarrà, M., Caminal, G., Vicent, T., Rodríguez-Rodríguez, C. E. (2014). Degradation of selected agrochemicals by the white rot-fungus *Trametes versicolor*. Sci. Total Environ 500, 235–242.

6. Torres-Duarte, C., Roman, R., Tinoco, R., Vazquez-Duhalt, R. (2009). Halogenated pesticide transformation by a laccase mediator system. Chemosphere 77, 687–692.

7. Thien, L. V., Huy, D. V., Chau, N. T. T. (2021). Development of a Novel Biomixture for Pesticide Degradation and Detoxifiion in Vietnam. *Chiang Mai J. Sci.* 48(4), 1021–1035.

8. Xu, C., Singh, D., Dorgan, K. M., Zhang, X., Chen S. (2015). Screening of ligninolytic fungi for biological pretreatment of lignocellulosic biomass. Can. J. Microbiol, 61(10), 745–752. doi: 10.1139/cjm-2015-0156.

9. More, S. S., Renuka, P. S., Pruthvi, K., Swetha, M., Malini, S., Veena, S. M. (2011). Isolation, purifiion and characterization of fungal laccase from *Pleurotus* spp. Enzyme Res 2011: 7. doi:10.4061/2011/248735.

10. Jin, X., Yu, X., Zhu, G., Zheng, Z., Feng, F., Zhang, Z. (2016). Conditions Optimizing and Appliion of Laccase-mediator System (LMS) for the Laccasecatalyzed Pesticide Degradation. Scientific Reports 6, 35787. doi: 10.1038/srep35787.

11. Du, W., Sun, C., Wang, J., Wang, B., Yao, Z., Qu, F., Xia, J., Xie, W., Sun, J., Duan, D. (2018). Isolation, identification of a laccase - producing fungal strain and enzymatic properties of the laccase. 3 Biotech 8, 137. doi: 10.1007/s13205-018-1149-7.

12. Shin, K. S., Lee, Y. J. (2000). Purifiion and characterization of a new member of the laccase family from the white-rot basidiomycete *Coriolus hirsutus*. Arch Biochem Biophys 384, 109–115.

13. Du, W., Sun, C., Liang, J., Han, Y., Yu, J., Liang, Z. (2015). Improvement of laccase production and its characterization by mutagenesis. *J. Food Biochem* 39, 101–108.

14. Chernykh, A., Myasoedova, N., Kolomytseva, M., Ferraroni, M., Briganti, F., Scozzafava, A., Golovleva, L. (2008). Laccase isoforms with unusual properties from the basidiomycete *Steccherinum ochraceum* strain 1833. *J. Appl. Microbiol* 105, 2065–2075.

15. Paraschiv, G., Ferdes, M., Ionescu, M., Moiceanu, G., Zabava, B. S., Dinca, M. N. (2011). Laccases - Versatile Enzymes Used to Reduce Environmental Pollution. Energies 15, 1835. doi: 10.3390/en15051835.

PRODUCTION OF FUNGAL LACCASE AND ITS APPLICATION IN BIODEGRADATION OF PESTICIDES

Dao Van Huy, Mai Thi Thuy Linh,
Le Van Thien, Ngo Thi Tuong Chau

Summary

Residues of pesticides in agricultural products, soils, waters and airs due to their overuse in crop production have significantly affected human health and disturbed the balance in ecosystem. Many bacteria and fungi have been reported to produce laccases capable of degrading toxic and structurally complex chemicals. This study aimed to optimize the fermentation process for laccase production and test the application of laccase in biodegradation of pesticides. Laccase production was carried out using *Penicillium chrysogenum* N2 in Minimal Salt Broth (MSB) supplemented with substrates as rice straw powder or rice husk powder at different ratios. Effects of pH, temperature and metal ions on laccase activity were investigated. Laccase activity was determined based oxidation of ABTS. Degradation of three commercial grade pesticides (Cartap, Cypermethrin and Chlopyrifos) were assessed. Concentrations of pesticides were determined by QuEChERS (EN 15662) method. The results showed that the suitable fermentation conditions for laccase production were MSB supplemented with 5% rice straw powder, at 25°C, 150 rpm, for 8 days. The optimum conditions for the highest activity of laccase were pH at 5.0 and temperature at 45°C. A high capacity of laccase capable of degrading Cartap, Cypermethrin and Chlopyrifos has been revealed. Therefore, laccase from *P. chrysogenum* N2 can be considered as a potential agent for the bioremediation of pesticide residues in environment.

Keywords: *Bioremediation, fungi, laccase, Penicillium chrysogenum N2, pesticides.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Hoài Trâm

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/3/2023

Ngày duyệt đăng: 29/3/2023

NGHIÊN CỨU NÂNG CAO CHẤT LƯỢNG BÁNH MEN LÁ ĐỂ ỨNG DỤNG TRONG SẢN XUẤT RƯỢU NGÔ HÀ GIANG

Đặng Hồng Ánh[1,*], Nguyễn Thu Vân[1], Phạm Thị Thu[1],
Giang Thế Việt[1], Vũ Đức Chiến[1]

TÓM TẮT

Rượu ngô men lá từ lâu đã gắn liền với nét văn hóa đặc sắc của đồng bào H'Mông tại Hà Giang, tuy nhiên do chất lượng cảm quan còn thấp và nguy cơ cao mất an toàn thực phẩm nên thị trường tiêu thụ vẫn còn hạn chế. Trong công nghệ sản xuất rượu ngô Hà Giang thì bánh men lá đóng vai trò quyết định đến hương vị và hiệu suất thu hồi, do vậy cần thiết phải nâng cao chất lượng bánh men lá của địa phương. Nghiên cứu này đã sử dụng 3 chủng nấm mốc có hoạt lực tạo enzyme thủy phân tinh bột cao được phân lập từ các mẫu bánh men lá thu thập tại Hà Giang được ký hiệu là ĐHG, VHG, XHG và được định tên bằng hình thái và giải trình tự rADN lần lượt là *Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Aspergillus tubingensis.* Đã xác định được thành phần môi trường nuôi làm bánh men bao gồm tỷ lệ theo khối lượng trên khối bột lần lượt là: Hỗn hợp 3 chế phẩm nấm mốc với mật độ bào tử bằng nhau 0,6% (w/w), dịch sinh khối *S. cerevisiae* HG 2,0%; cao chiết tổng các loại thực vật bản địa 0,2%; bột ngô 40%; bột gạo 60%; pH nước nhào bột là 5. Điều kiện ủ bánh men được thực hiện với độ ẩm khối bột 55%, nhiệt độ 30^0C, thời gian 30 giờ. Đã xác định được nhiệt độ sấy bánh men là 40^0C trong 24 giờ thu bánh men lá với các thông số: độ ẩm 12%, mật độ tế bào nấm mốc $3,4x10^6$ CFU/g, nấm men $5,2x10^7$ CFU/g. Đã thử nghiệm ứng dụng bánh men lá trong sản xuất rượu ngô truyền thống và so sánh với bánh men địa phương. Kết quả cho thấy, dịch giấm chín đạt 10,5% Vol. so với 7,8% Vol. của bánh men địa phương và chất lượng cảm quan rượu sau chưng cất cũng được đánh giá cao hơn về hương vị.

Từ khóa: *Bánh men lá, rượu ngô Hà Giang, nấm mốc.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bánh men lá của người H'Mông được làm từ một số loại lá cây tại địa phương trồng quanh nhà, thu hái trên núi đá cao, rừng sâu và làm hoàn toàn theo kinh nghiệm. Các loại nấm mốc thường có trong bánh men là *Aspergillus, Penicillum, Mucor, Rhizopus*, đó là các loại nấm mốc phổ biến trong không khí ở nước ta. Các loài nấm mốc này cùng với các loài giả nấm men *Endomycopsis* phát triển trong môi trường tinh bột và độ ẩm thích hợp của bánh men tạo ra nhiều enzyme amylase và glucoamylase [1]. Qua phân tích công thức sản xuất bánh men lá tại một số xã của tỉnh Hà Giang nhận thấy, trong công thức sản xuất bánh men có nhiều nhất là 16 vị lá, ít nhất 4 vị, trung bình 8-10 vị. Các vị lá thường được thái nhỏ, trộn với bột kê, dùng nước trộn với 1% quả men cũ thành hỗn hợp dẻo rồi nặn thành bánh, để khô 1 tuần rồi đem treo trên gác bếp dùng dần. Tuy nhiên, thực tế sử dụng bánh men trong sản xuất rượu ngô Hà Giang cho thấy, chỉ có khoảng 35% số hộ gia đình sử dụng bánh men lá tự làm, 45% hộ gia đình là sử dụng bánh men thuốc bắc sản xuất ở Thái Bình, còn lại khoảng 15% hộ gia đình sử dụng men Trung Quốc và khoảng 5% dùng men từ các nguồn khác [2-6].

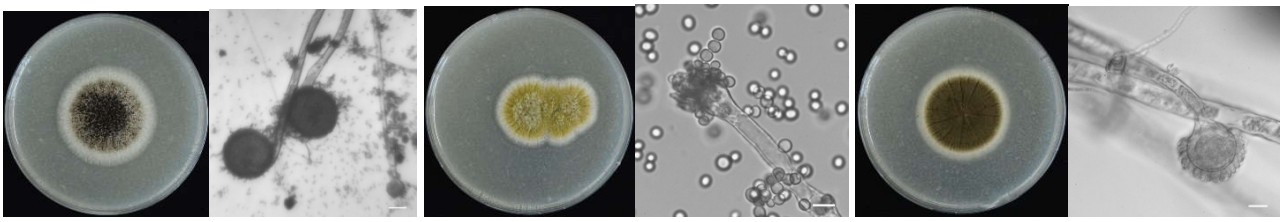
Hiện nay quá trình sản xuất bánh men lá thường sử dụng men gốc từ mẻ trước cho mẻ sau nên dẫn tới sự mất ổn định chất lượng bánh men nếu men gốc không được bảo quản tốt. Bên cạnh đó, chất lượng bánh men lá tự làm cũng không ổn định, sản xuất phụ thuộc chủ yếu vào kinh nghiệm, các phương tiện định mức, định lượng không có dẫn đến tỷ lệ nguyên liệu ở mỗi mẻ khác nhau, điều này ảnh hưởng nhiều đến chất lượng bánh men [7], [8]. Do đó nghiên cứu này được thực hiện nhằm tạo ra chế phẩm bánh men lá có khả năng tạo hoạt lực enzyme cao, tạo hương thơm đặc trưng, không sinh độc tố cho rượu để

[1] Viện Công nghiệp Thực phẩm, Bộ Công thương
[*] Email: anhdh@firi.vn

ứng dụng trong sản xuất rượu ngô men lá Hà Giang.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất



(A) (B) (C)

Ba chủng nấm mốc được phân lập từ bánh men lá Hà Giang được ký hiệu ký hiệu là ĐHG (A), VHG (B), XHG (C) và được định tên bằng hình thái và giải trình tự rADN lần lượt là *Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Aspergillus tubingensis* và một chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* HG.

Sử dụng các loại hóa chất cho môi trường hoặc phân tích của Nhật Bản, Đức, Pháp, Trung Quốc... có độ tinh khiết trên 99%. Các nguyên liệu ngô, gạo tẻ, gạo nếp… được mua trên thị trường. Dịch chiết tổng số các loại thực vật bản địa được chiết từ các loại lá cây thu thập từ Hà Giang.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nuôi chế phẩm sinh khối vi sinh vật

Các chủng được nuôi sinh khối để làm giống gốc cho quá trình ủ bánh men. Đối với 2 chủng nấm mốc *Aspergillus niger* ĐHG, *Aspergillus tubingensis* XHG nguồn các bon 100% bột ngô, $(NH_4)_2SO_4$ 3,0 g/kg, K_2HPO_4 1,0 g/kg, $MgSO_4$ 0,5 g/kg, độ ẩm 55%, nhiệt độ nuôi 30°C, thời gian 72 giờ, mật độ bào tử đạt lần lượt là $3,2x10^6$ bào tử/g và $3,0x10^6$ bào tử/g. Đối với chủng nấm mốc *Aspergillus oryzae* VHG nuôi trên môi trường nguồn các bon 100% bột gạo nếp lứt; $(NH_4)_2SO_4$ 5,0 g/kg, $MgSO_4$ 0,25 g/kg, độ ẩm 55%, nhiệt độ nuôi 30°C, thời gian 56 giờ, mật độ bào tử đạt $5,8 \times 10^6$ bào tử/g. Đối với chủng nấm men *S. cerevisiae* HG glucose: 60 g/l, $(NH_4)_2HPO_4$: 3 g/l, K_2HPO_4: 8,5 g/l, $MgSO_4$: 0,8 g/l. Điều kiện nuôi: pH 5,0, nhiệt độ 30^0C, nuôi cấy lắc 150 v/p, thời gian nuôi 20 giờ, mật độ tế bào đạt $8,5x10^7$ CFU/ml.

2.2.2. Các phương pháp phân tích

- Xác định mật độ của tế bào nấm men, số lượng bào tử nấm mốc: Sử dụng buồng đếm Thomas. Đối với nấm men thì pha loãng dịch giống theo các độ pha loãng và đếm trực tiếp trên buồng đếm. Đối với bào tử nấm mốc thì cân 1 g sinh khối nấm mốc hòa lẫn trong 10 ml nước cất vô trùng, sau đó lọc qua tấm Miracloth để giữ lại khuẩn ty, bào tử nấm mốc trong dung dịch lọc được pha loãng theo các độ pha loãng và đếm trên buồng đếm.

- Xác định mật độ tế bào nấm mốc trong bánh men: Lấy mẫu bánh men đại diện rồi sau đó nghiền mịn, trộn đều và cân 1 g và hòa trong 10 ml nước cất vô trùng. Pha loãng theo các độ pha loãng rồi cấy trải trên môi trường thạch PDA, nuôi ở 30°C trong 24 giờ và đếm số lượng khuẩn lạc có trên các đĩa.

- Xác định độ rượu: Sử dụng bộ cất cồn Dujardin Salleron: Đưa dịch lên men vào trong thiết bị và đốt đến khi nhiệt độ sôi không thay đổi thì đọc kết quả và tra bảng thực nghiệm để biết được độ cồn trong dịch lên men theo % thể tích.

- Xác định nồng độ chất hòa tan: Sử dụng chiết quang kế điện tử hiện số.

- Xác định hàm lượng axit*:* Dùng dung dịch kiềm chuẩn (NaOH 0,1 N) để trung hòa axit có trong dịch lên men, từ thể tích NaOH tiêu hao suy ra hàm lượng axit có trong dịch lên men.

- Xác định pH: Sử dụng máy đo pH Fisher Scientific AR15.

- Xác định hàm ẩm của bánh men bằng thiết bị xác định hàm ẩm Moisture Analyzer MX-50 (Nhật Bản).

- Phương pháp cảm quan: Chất lượng hương thơm của các mẫu rượu được đánh giá bằng phương pháp cảm quan mô tả. Hội đồng cảm quan gồm 7 thành viên đã được huấn luyện, cảm quan và trả lời vào phiếu đã được người thực hiện thí nghiệm xây dựng.

2.2.3. Bố trí thí nghiệm

- Phương pháp tạo chế phẩm bánh men: Hỗn hợp bột gạo và ngô tỷ lệ 50 : 50 được bổ sung nước để thu được khối bột có độ ẩm 50%. Chế phẩm sinh khối nấm mốc của 3 chủng được trộn theo tỷ lệ mật độ bào tử trong hỗn hợp được quy về bằng nhau và kết hợp cùng chế phẩm nấm men đưa vào trộn cùng khối bột theo các tỷ lệ nghiên cứu. Khối bột được nặn bánh và được ủ ở 30°C trong 36 giờ. Sau quá trình ủ bánh men được sấy ở 40°C đến độ ẩm 12% thì thu được chế phẩm bánh men.

- Phương pháp lên men rượu ngô sử dụng bánh men lá: Khối ngô nấu chín có độ ẩm khoảng 45% được bổ sung bánh men lá với tỷ lệ 10 g bánh men/kg ngô và được ủ tại 30°C trong 36 giờ. Kết thúc ủ ẩm khối ủ được bổ sung nước để thực hiện quá trình lên men lỏng ở 25°C cho đến khi nồng độ rượu đạt cao nhất thì kết thúc quá trình lên men.

- Nghiên cứu xác định tỷ lệ nấm mốc và nấm men thích hợp: Thực hiện tạo chế phẩm bánh men có bổ sung hỗn hợp của 3 chế phẩm sinh khối nấm mốc được khảo sát từ 0,2 - 0,8%, sinh khối nấm men được khảo sát theo tỷ lệ 1 - 3% so với khối bột và thực hiện theo phương pháp tạo chế phẩm bánh men. Thực hiện lên men và xác định nồng độ chất hòa tan dịch thủy phân cơm rượu sau ủ ẩm và độ rượu giấm chín khi kết thúc quá trình lên men lỏng.

- Xác định tỷ lệ cao chiết tổng số thực vật bản địa: Các tỷ lệ bổ sung 0,1; 0,15; 0,2; 0,25% cao chiết tổng số thực vật bản địa so với nguyên liệu và mẫu đối chứng không có cao chiết đã được nghiên cứu tạo bánh men theo phương pháp tạo chế phẩm bánh men. Bánh men với các tỷ lệ cao chiết khác nhau đã được sử dụng để thực hiện quá trình lên men rượu. Sau khi kết thúc quá trình lên men rượu được chưng cất và đánh giá cảm quan.

- Xác định tỷ lệ nguyên liệu gạo và ngô: Thay đổi thành phần nguyên liệu gạo và ngô như sau:

Tỷ lệ (%)	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5	CT6	CT7
Bột ngô	-	30	40	50	60	70	100
Bột gạo	100	70	60	50	40	30	-

Bánh men được chuẩn bị theo phương pháp tạo chế phẩm bánh men với các tỷ lệ nguyên liệu thay đổi khác nhau đã được sử dụng để thực hiện quá trình ủ ẩm và lên men rượu. Xác định được độ rượu của dịch giấm chín sau khi kết thúc quá trình lên men.

- Xác định hàm ẩm ban đầu của khối ủ: Khảo sát độ ẩm ban đầu từ 50%, 55%, 60%, 65%, 70%. Bánh men được cảm quan và xác định mật độ tế bào nấm mốc và nấm men khi kết thúc quá trình ủ.

- Xác định pH nước nhào bột: pH nước nhào bột được thay đổi từ 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0. Bánh men được cảm quan và xác định mật độ tế bào nấm mốc và nấm men khi kết thúc quá trình ủ.

- Xác định nhiệt độ và thời gian ủ: Ủ tại các khoảng nhiệt độ 25°C, 30°C, 35°C. Quá trình thực hiện trong khoảng thời gian 24, 30, 36 giờ. Bánh men được cảm quan và xác định mật độ tế bào nấm mốc và nấm men khi kết thúc quá trình ủ.

- Xác định nhiệt độ và thời gian sấy bánh men: Bánh men sau khi ủ được sấy khô ở các chế độ nhiệt khác nhau 40^0C, 45^0C và 50^0C đến hàm ẩm 12%. Bánh men được cảm quan và xác định mật độ tế bào nấm mốc và nấm men khi kết thúc quá trình sấy.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định thành phần môi trường nuôi bánh men

3.1.1. Xác định tỷ lệ hỗn hợp chế phẩm nấm mốc và nấm men thích hợp bổ sung vào bánh men

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp bố trí thí nghiệm xác định tỷ lệ nấm mốc và nấm men thích hợp. Kết quả thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ chế phẩm vi sinh vật tới chất lượng bánh men

CT	Tỷ lệ chế phẩm vi sinh vật (%)		Nồng độ chất hòa tan của dịch thủy phân cơm rượu (°Bx)	Độ rượu trong giấm chín (% Vol.)
	Hỗn hợp chế phẩm 3 giống mốc	*S. cerevisiae* HG		
1	0,2	1	6,1	7,2
2	0,2	2	6,4	7,4
3	0,2	3	6,7	7,7
4	0,4	1	7,2	8,2
5	0,4	2	7,4	8,4
6	0,4	3	7,5	8,4
7	0,6	1	9,8	9,6
8	0,6	2	10,6	10,1
9	0,6	3	10,1	9,8
10	0,8	1	9,2	9,6
11	0,8	2	9,5	9,6
12	0,8	3	9,4	9,4

Kết quả cho thấy, trong các mẫu thí nghiệm thì công thức số 8 với tỷ lệ chế phẩm giống mốc hỗn hợp 0,6%, chế phẩm nấm men *S. cerevisiae* HG 2% cho chất lượng bánh men tốt nhất thể hiện khi bổ sung bánh men vào ngô nấu chín, sau ủ ẩm cơm mềm, chua ngọt, mùi rất thơm; trong quá trình lên men lỏng cho thấy dịch trong, có mùi thơm mạnh. Mẫu rượu lên men từ bánh men theo công thức này có độ rượu đạt 10,1% Vol. cho thấy hoạt lực của bánh men khá cao. Do vậy, tỷ lệ chế phẩm giống mốc hỗn hợp 0,6% và chế phẩm nấm men *S. cerevisiae* HG 2% được lựa chọn để làm giống gốc cho quá trình ủ bánh men lá.

3.1.2. Xác định tỷ lệ cao chiết tổng số các loài thực vật bản địa

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp bố trí thí nghiệm xác định tỷ lệ cao chiết thực vật bản địa. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ cao chiết bổ sung vào bánh men đến quá trình lên men rượu ngô

Tỷ lệ cao chiết bổ sung (%)	Độ rượu (% Vol.)	Cảm quan rượu sau chưng cất
0	10,1	Không nhận biết hương vị lá cây
0,1	10,1	Hương vị lá cây nhẹ không nhận biết rõ
0,15	10,2	Hương vị lá cây nhẹ chưa thật đặc trưng như mẫu rượu đồng bào H'Mông
0,2	10,3	Hương vị lá cây rõ và đặc trưng giống mẫu rượu đồng bào H'Mông
0,25	10,3	Hương vị lá cây khá mạnh và đặc trưng giống mẫu rượu đồng bào H'Mông

Như vậy có thể thấy, việc bổ sung cao chiết tổng thực vật bản địa có tác dụng tốt đến hoạt lực của bánh men thông qua việc tăng nhẹ khả năng tạo rượu trong dịch lên men khi sử dụng bánh

men có bổ sung cao chiết để lên men rượu. Tỷ lệ cao chiết 0,2% cho kết quả lên men tốt nhất, đồng thời cảm quan cũng cho thấy, tỷ lệ này tạo ra hương vị tương đồng nhất với mẫu rượu của đồng bào H'Mông, do đó tỷ lệ cao chiết tổng số thực vật bản địa 0,2% được lựa chọn.

3.1.3. Xác định tỷ lệ các loại bột (gạo, ngô) trong bánh men

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ bột gạo, bột ngô đến chất lượng bánh men

Công thức	Độ rượu (% Vol.)
CT1	9,4
CT2	9,8
CT3	10,4
CT4	10,3
CT5	9,5
CT6	9,1
CT7	8,6

Bột gạo, ngô là các nguồn cung cấp nguồn các bon cho sự phát triển của nấm mốc. Nấm mốc đóng vai trò chính trong việc chuyển hóa tinh bột thành đường để nấm men chuyển hóa đường thành rượu, để chọn được công thức phối trộn phù hợp nhất, thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp bố trí thí nghiệm xác định tỷ lệ nguyên liệu gạo và ngô. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Qua số liệu ở bảng 3 có thể thấy, tỷ lệ các loại bột dùng làm môi trường nuôi cấy bánh men có ảnh hưởng khá rõ đến hoạt lực của bánh men. Việc bổ sung thêm một tỷ lệ nhất định bột ngô trong thành phần môi trường thay cho bột gạo (như cách làm bánh men thuốc bắc truyền thống) đã cung cấp thêm hàm lượng đạm cần thiết cho sinh trưởng của nấm mốc nên hoạt lực bánh men tốt hơn. Tuy nhiên, bột ngô khi xay nghiền mức độ mịn kém bột gạo nên có thể điều này sẽ hạn chế sự tiếp xúc cơ chất của nấm mốc, đồng thời việc nặn thành bánh cũng khó hơn nên bánh men bị rời rạc. Công thức CT3 với tỷ lệ bột ngô 40%, bột gạo 60% cho hoạt lực bánh men tốt nhất được lựa chọn.

3.2. Xác định điều kiện ủ bánh men

3.2.1. Xác định hàm ẩm ban đầu

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp bố trí thí nghiệm xác định hàm ẩm ban đầu của khối ủ. Kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của độ ẩm ban đầu đến mật độ tế bào vi sinh vật (CFU/g) trong bánh men

Chủng vi sinh vật	Độ ẩm ban đầu (%)				
	50	55	60	65	70
Nấm mốc	$3,6 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$
Nấm men	$5,8 \times 10^7$	$6,3 \times 10^7$	$4,1 \times 10^7$	$5,9 \times 10^6$	$4,2 \times 10^6$

Mật độ tế bào vi sinh vật sống cho thấy, độ ẩm ban đầu của khối bột khi nặn bánh men 55% là phù hợp nhất, mật độ tế bào đạt cao nhất đối với cả nấm men và nấm mốc. Ngoài ra, quan sát cảm quan bánh men khi độ ẩm 55% cũng cho kết quả tốt nhất, bánh men phồng nở đều, xốp nhẹ, bề mặt ngả vàng, có hệ sợi trắng xốp, men rất thơm. Do đó độ ẩm khối bột ban đầu dùng để nặn bánh men được lựa chọn là 55%.

3.2.2. Xác định pH nước nhào bột

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp bố trí thí nghiệm xác định pH nước nhào bột. Kết quả được thể hiện ở bảng 5.

Về mặt cảm quan, nhìn chung pH nước nhào bột không ảnh hưởng nhiều đến hình dạng, màu sắc và mùi thơm của bánh men; ở các pH khác nhau bánh men đều phồng xốp, nhẹ, bề mặt có lớp hệ sợi trắng và mùi men thơm. Trong khoảng pH khảo sát thì ảnh hưởng đến sự phát triển của các chủng vi sinh vật là không đáng kể, pH 5,0 là thích hợp nhất cho sự phát triển của nấm mốc và nấm men nên được lựa chọn.

Bảng 5. Ảnh hưởng của pH nước nhào bột đến mật độ tế bào vi sinh vật (CFU/g) trong bánh men

Chủng vi sinh vật	pH nước dùng trộn bột				
	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0
Nấm mốc	$3,5 \times 10^6$	$4,1 \times 10^6$	$4,7 \times 10^6$	$4,4 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$
Nấm men	$5,3 \times 10^7$	$6,1 \times 10^7$	$6,4 \times 10^7$	$6,2 \times 10^7$	$5,9 \times 10^7$

3.2.3. Xác định nhiệt độ và thời gian ủ

Thực hiện thí nghiệm theo phương pháp bố trí thí nghiệm xác định nhiệt độ và thời gian ủ bánh men. Kết quả được thể hiện ở bảng 6.

Nhiệt độ càng cao thì thời gian ủ để mật độ tế bào nấm men, nấm mốc đạt cực đại càng ngắn, tuy nhiên nhiệt độ cao quá cũng gây ức chế sự phát triển tối đa của chúng nên tuy thời gian ủ ngắn hơn nhưng mật độ tế bào cực đại bị giảm đi so với nhiệt độ nuôi thấp hơn. Về cảm quan, bánh men sau khi ủ thì tại các nhiệt độ bánh men đều phồng xốp, nhẹ, màu vàng, dậy mùi thơm, tuy vậy hệ sợi nấm mốc trong các điều kiện ủ có khác nhau, ở nhiệt độ 30°C hệ sợi bề mặt bánh men là nhiều nhất. Nhiệt độ ủ bánh men 30°C trong thời gian 30 giờ được lựa chọn.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ủ đến đến mật độ tế bào vi sinh vật (CFU/g) trong bánh men

Thời gian (giờ)	Nhiệt độ (°C)					
	25		30		35	
	Nấm mốc	Nấm men	Nấm mốc	Nấm men	Nấm mốc	Nấm men
24	$4,1 \times 10^5$	$4,7 \times 10^7$	$3,1 \times 10^6$	$5,2 \times 10^7$	$3,4 \times 10^6$	$5,6 \times 10^7$
30	$2,3 \times 10^6$	$6,2 \times 10^7$	$4,5 \times 10^6$	$6,6 \times 10^7$	$3,8 \times 10^6$	$5,5 \times 10^7$
36	$3,9 \times 10^6$	$6,1 \times 10^7$	$4,3 \times 10^6$	$6,5 \times 10^7$	$3,5 \times 10^6$	$4,8 \times 10^7$

3.3. Xác định điều kiện sấy bánh men

Bánh men sau khi ủ được sấy khô theo phương pháp bố trí thí nghiệm xác định nhiệt độ và thời gian sấy bánh men. Kết quả được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến mật độ tế bào vi sinh vật sống (CFU/g) trong bánh men

Chủng vi sinh vật	Trước sấy	Nhiệt độ sấy (C)					
		40		45		50	
		Sau sấy	Tỷ lệ sống (%)	Sau sấy	Tỷ lệ sống (%)	Sau sấy	Tỷ lệ sống (%)
Nấm mốc	$4,5 \times 10^6$	$3,4 \times 10^6$	75,56	$2,1 \times 10^6$	46,67	$1,3 \times 10^6$	28,89
Nấm men	$6,6 \times 10^7$	$5,2 \times 10^7$	78,79	$3,5 \times 10^7$	53,03	$1,6 \times 10^7$	24,24

Nhiệt độ sấy ảnh hưởng rõ rệt đến số lượng vi sinh vật sống còn lại trong bánh men, nhiệt độ sấy càng cao, tỷ lệ tế bào sống càng giảm. Nhiệt độ sấy 40°C cho tỷ lệ tế bào sống cao nhất trong khoảng khảo sát, tuy nhiên sấy đến 50°C vẫn đảm bảo lượng tế bào sống còn trong bánh men khá cao. Nhiệt độ sấy thấp hơn 40°C không được chọn do nhiệt sấy thấp sẽ kéo dài thời gian sấy và các chủng vi sinh vật vẫn có thể tiếp tục phát triển trong giai đoạn sấy nên ảnh hưởng đến hoạt lực

bánh men. Vì vậy, nhiệt độ sấy 40°C được lựa chọn để sấy bánh men, vì sau 24 giờ độ ẩm đạt 12%, đạt yêu cầu và quá trình sấy được dừng lại để đảm bảo tỷ lệ tế bào sống trong bánh men sau sấy là cao nhất.

3.4. So sánh chất lượng bánh men lá nghiên cứu và bánh men lá của địa phương

Bánh men sau sấy của nghiên cứu này được so sánh hoạt lực với bánh men thu thập được từ Hà Giang thông qua việc thực hiện quá trình ủ ấm và lên men rượu ngô. Kết quả được thể hiện qua bảng 8.

Bảng 8. So sánh hoạt lực lên men của bánh men nghiên cứu và bánh men Hà Giang

Loại bánh men	Độ rượu (% Vol.)	Cảm quan rượu sau chưng cất
Nghiên cứu	10,5	Hương thơm đặc trưng của men lá và ngô, vị đậm đà, hậu vị ngọt dịu, rượu êm.
Hà Giang	7,8	Hương thơm đặc trưng của men lá và ngô, vị hơi gắt, hậu vị ngọt, rượu sốc.

Bảng 8 cho thấy, bánh men nghiên cứu đã có sự thay đổi khác biệt so với bánh men thu thập tại Hà Giang về cả hiệu suất lên men và chất lượng rượu sau quá trình chưng cất, trong đó độ rượu trong giấm chín đã tăng từ 7,8% Vol. lên 10,5 % Vol. trong cùng điều kiện lên men, hương vị rượu ngô được làm từ bánh men nghiên cứu được đánh giá cao hơn so với rượu ngô làm từ bánh men địa phương. Ngoài ra, với công nghệ làm bánh men lá có sử dụng giống sinh khối vi sinh vật thay cho việc sử dụng men gốc từ mẻ trước sẽ đảm bảo chất lượng bánh men lá luôn ổn định giữa các mẻ.

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này hai yếu tố là thành phần môi trường và điều kiện ủ, sấy bánh men đã được xác định. Kết quả cho thấy thành phần môi trường ủ bánh men là hỗn hợp 3 chế phẩm sinh khối nấm mốc *Aspergillus niger* ĐHG, *Aspergillus oryzae* VHG, *Aspergillus tubingensis* XHG với mật độ bào tử bằng nhau chiếm 0,6%, nấm men *S. cerevisiae HG* 2,0%, cao chiết tổng các loại thực vật bản địa 0,2% cùng với hai nguyên liệu chính là bột ngô 40% và bột gạo 60%, nước được bổ sung để tạo khối bột nhào có pH bằng 5. Đã xác định được điều kiện ủ bánh men như sau: Độ ẩm khối bột nhào ban đầu 55%, nặn thành bánh, ủ ở nhiệt độ 30^0C trong thời gian 30 giờ. Đã xác định được nhiệt độ sấy bánh men là 40^0C trong 24 giờ đạt độ ẩm 12%, mật độ tế bào nấm mốc sau sấy đạt $3,4x10^6$ CFU/g, nấm men đạt $5,2x10^7$ CFU/g. Đã thử nghiệm ứng dụng bánh men lá trong sản xuất rượu ngô truyền thống và so sánh với bánh men địa phương thì dịch giấm chín đạt 10,5% Vol. so với 7,8% Vol. và chất lượng cảm quan rượu sau chưng cất được đánh giá cao hơn về hương vị.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài độc lập cấp Quốc gia do Bộ Khoa học và Công nghệ cấp kinh phí "Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ và thiết bị tạo bánh men lá ứng dụng trong sản xuất rượu ngô truyền thống của đồng bào H'Mông tại tỉnh Hà Giang và vùng lân cận" mã số ĐTĐL.CN.06/20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn Thúy Hường, Đặng Thị Hòa Bình, Đỗ Thị Loan, Đinh Thị Mỹ Hằng, Lê văn Thắng (1999). *Nghiên cứu sử dụng giống vi sinh vật thuần chủng để nâng cao chất lượng bánh men thuốc bắc*. Báo cáo tổng kết đề tài khoa học, Bộ Công nghiệp, Viện Công nghiệp Thực phẩm.

2. Vũ Đức Chiến, Trịnh Như Hoa, Lê Bình Hoằng, Trần Ngọc Diệp, Phạm Thị Thu (2007). *Nghiên cứu công nghệ nâng cao hiệu suất và chất lượng rượu ngô Thanh Vân, huyện Quản Bạ, tỉnh Hà Giang*. Các công trình nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học – công nghệ thực phẩm, tr. 363-370. Nhà xuất bản Lao động và Xã hội.

3. Lệnh Thế Hội, Hạng Dương Thành, Vũ Đình Lâm, Sùng Seo Pao, Đào Thị Nguyên, Vũ Đức Chiến, Trịnh Như Hoa (2005). *Nghiên cứu tính đặc thù truyền thống nhằm nâng cao chất lượng rượu ngô Thanh Vân, Quản Bạ, Hà Giang*.

Báo cáo tổng kết đề tài khoa học cấp tỉnh Hà Giang.

4. Trần Quốc Hưng (2013). *Nghiên cứu thành phần, đặc điểm sinh học, sinh thái học một số cây chủ yếu được sử dụng làm men rượu tại tỉnh Hà Giang*. Báo cáo khoa học Hội nghị khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 5, tr. 1057-1063.

5. Phạm Thành Trang, Đỗ Văn Trường (2011). *Kinh nghiệm sử dụng cây cỏ làm men lá của cộng đồng người Tày tại Hà Giang*. Báo cáo khoa học Hội nghị khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 4, tr.1319-1322.

6. Đặng Kim Vui (2012). Một số kết quả nghiên cứu tri thức bản địa trong việc sử dụng các loài cây để tạo men rượu của đồng bào dân tộc Thái tại Mai Châu, Hòa Bình. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*. Số 76(14), tr. 120-125.

7. Phan Văn Bản, Nguyễn Thị Thu Vinh, Trần Việt Di, Nguyễn Duy Lên, Đặng Tất Thành (2004). *Nghiên cứu cải tiến công nghệ để nâng cao chất lượng rượu đặc sản làng nghề.* Báo cáo tổng kết đề tài khoa học. Bộ Công nghiệp, Viện Nghiên cứu Bia rượu nước giải khát.

8. Trần Đáng, Phạm Xuân Đà (2008). *Đánh giá thực trạng và đề xuất phương pháp quản lý an toàn thực phẩm một số loại rượu dân tộc*. Báo cáo đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ - Cục An toàn Vệ sinh Thực phẩm, Bộ Y tế.

STUDY ON IMPROVING THE QUALITY OF *BANH MEN LA* TO APPLY INTO HA GIANG CORN SPIRIT PRODUCTION

Dang Hong Anh[1], Nguyen Thu Van[1], Pham Thi Thu[1], Giang The Viet[1], Vu Duc Chien[1]

[1]Food Industries Research Institute

Summary

Traditional corn spirit made from starters supplemented with leaves with aromatic essential oils (*Banh men la*) has long been associated with the unique culture of the H'Mong people in Ha Giang. However, due to its low sensory quality and high risk of food safety, the consumer market is still limited. *Banh men la* plays a decisive role in the taste and yield of Ha Giang corn spirit, so it is necessary to improve the quality of the local *Banh men la*. In this study, three previously isolated mold strains from *Banh men la* samples collected in Ha Giang with high starch hydrolytic enzyme activity were used. They were identified by morphology and rDNA sequencing as *Aspergillus niger* DHG, *Aspergillus oryzae* VHG, *Aspergillus tubingensis* XHG. The composition for making *Banh men la* include a mixture of three mold biomass with an equal spore density 0.6%, *S.cerevisiae* HG culture solution 2.0%, total extract of native plants 0.2%, 40% corn starch and 60% rice flour based on the weight of the dough. The pH of the dough water is 5. The *Banh men la* is incubated under conditions of 55% dough moisture, 30°C temperature and 30 hours incubation time. The drying temperature for the *Banh men la* is determined to be 40°C for 24 hours, resulting in *Banh men la* with 12% moisture content, $3.4x10^6$ CFU/g mold cell density and $5.2x10^7$ CFU/g yeast cell density. *Banh men la* products were applied in traditional corn spirit production and compared with local *Banh men la*. The results showed that the alcohol of fermented solution reached 10.5% Vol. compared to 7.8% Vol. of local *Banh men la,* and post-distillation sensory quality were more appreciated in terms of taste and flavour.

Keywords: *Banh men la*, *Ha Giang corn spirit, mold.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Thanh Hà

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 20/3/2023

Ngày duyệt đăng: 27/3/2023

NGHIÊN CỨU SỰ BIẾN ĐỔI MỘT SỐ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA LÁ TRÀ THẠCH CHÂU (*Pyrenaria jonquieriana* Pierre) TRỒNG TẠI TỈNH LÂM ĐỒNG THEO MỨC SINH TRƯỞNG VÀ THỜI VỤ THU HOẠCH

Đặng Thị Thanh Quyên[1,*], Đỗ Thị Kim Loan[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định sự biến đổi thành phần hoá học cơ bản (độ ẩm, chất hòa tan, chất tro, flavonoid, polyphenol, saponine) của lá trà Thạch châu (*Pyrenaria jonquieriana* Pierre) trồng tại tỉnh Lâm Đồng theo mức sinh trưởng của lá (lá già, lá bánh tẻ, lá non) và theo thời vụ thu hoạch (vụ xuân, vụ hè, vụ thu). Trà Thạch châu là một loại dược liệu nên xác định hàm lượng các chất được thực hiện theo Dược điển Việt Nam IV. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, hàm lượng các chất trong lá trà phụ thuộc nhiều vào mức độ non già và thời vụ thu hoạch. Độ ẩm của lá trà từ 73% - 76%: lá già có độ ẩm thấp nhất, lá non cao nhất, lá trà vụ xuân có độ ẩm cao nhất và vụ thu thấp nhất. Hàm lượng chất hoà tan của lá trà Thạch châu trên 30%, lá càng non hàm lượng chất tan càng cao, vụ hè cao hơn vụ xuân, vụ thu thấp nhất. Hàm lượng tro toàn phần khoảng 5%, lá càng già hàm lượng tro càng lớn, lá trà vụ hè có hàm lượng tro cao hơn vụ thu, vụ xuân thấp nhất. Hàm lượng flavonoid toàn phần của lá trà Thạch châu lớn hơn 19%, giảm dần từ lá già, lá bánh tẻ đến lá non và cũng giảm dần từ vụ hè đến vụ thu, vụ xuân thấp nhất. Hàm lượng polyphenol tổng số lớn hơn 17%, lá già cao hơn lá non, giảm dần từ vụ hè đến vụ thu, hàm lượng polyphenol tổng số vụ xuân thấp nhất. Hàm lượng saponine tổng số của trà Thạch châu từ 4% - 5,9%, giảm dần từ lá già, lá bánh tẻ đến lá non. Hàm lượng saponine cũng phụ thuộc vào thời vụ thu hái, lá trà vụ hè hàm lượng saponine lớn hơn lá trà vụ thu, vụ xuân có hàm lượng thấp nhất.

Từ khoá: *Lá trà Thạch châu, flavonoid, polyphenol, saponine.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây trà Thạch châu (*Pyrenaria jonquieriana* Pierre) họ Chè (Theaceae), chi *Pyrenaria*. Chi *Pyrenaria* tiếng Hy Lạp là "Hạt cứng" vì thế gọi là "Thạch châu" [1, 2].

Cây trà Thạch châu là loài cây mọc hoang trong vùng núi tỉnh Lâm Đồng. Năm 1877, Harmand người Pháp đã thu thập được mẫu vật loài cây này. Đến năm 1887 nhà thực vật học tên là Pierre đã đưa vào bảng phân loại thực vật và công bố với tên *Pyrenaria jonquieriana* Pierre, tên tiếng Việt là trà Thạch châu. Như vậy, trà Thạch châu có thể coi là giống trà bản địa của tỉnh Lâm Đồng [1].

Năm 2016, cây trà Thạch châu được Công ty TNHH Kim Hoa Trà đăng ký trình tự mã vạch ADN trên ngân hàng gen quốc tế, đánh dấu loại trà này mới chỉ phát hiện duy nhất ở vùng Tây Nguyên, Việt Nam [1]. Theo nghiên cứu của Trung tâm Kiểm soát và Phòng ngừa Bệnh tật Trung Quốc lá trà Thạch châu có chứa hơn 400 chất khác nhau, giàu polysacarit, polyphenol, saponine, flavonoid, sắc tố trà, protein, vitamin nhóm B, C, E, axit folic, axit béo, β-carotene ... [3, 4, 5]. Hoạt chất trong lá Thạch châu ức chế mạnh hoạt tính của pepsin nên có tác dụng hạn chế sự phát triển của virus HIV [6]. Cao trà Thạch châu có tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan [7, 8]. Với một số nghiên cứu về lá trà Thạch châu đã công bố và những kết quả nghiên cứu đơn lẻ, đến nay chưa có công trình nào

[1] Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp
[*] Email: dttquyen@uneti.edu.vn

nghiên cứu một cách có hệ thống về các yếu tố ảnh hưởng đến sự biến đổi thành phần hoá học của lá trà Thạch châu ở giai đoạn trước và cận thu hoạch. Vì vậy, *"Nghiên cứu sự biến đổi một số thành phần hoá học của lá trà Thạch châu (Pyrenaria jonquieriana Pierre) trồng tại tỉnh Lâm Đồng theo mức sinh trưởng và thời vụ thu hoạch"* góp phần bổ sung những thông tin một cách đầy đủ, có hệ thống về thành phần hóa học quan trọng của lá trà Thạch châu và bước đầu định hướng cho việc lựa chọn nguyên liệu theo thời vụ thu hoạch phù hợp với mục đích khai thác, chế biến các sản phẩm thực phẩm có lợi cho sức khoẻ con người từ lá trà Thạch châu.

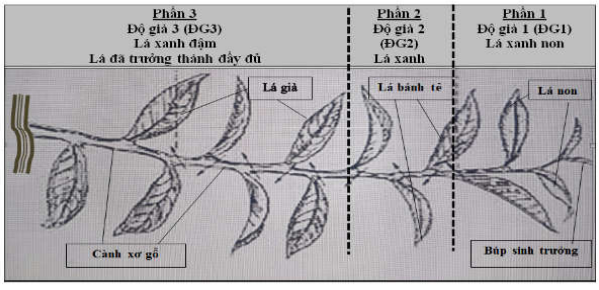
2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Giới hạn đối tượng nghiên cứu đối với lá của cây trà Thạch châu được thu hoạch tại vườn trà đã sinh trưởng trên 7 năm tuổi của Công ty TNHH Kim Hoa Trà tại xã Hang Hớt, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng. Nguyên liệu được thu hái vào 3 thời điểm, tương ứng với 3 thời vụ: Đợt 1 vào vụ hè (tháng 8 năm 2022); đợt 2 vào vụ thu (tháng 11 năm 2022); đợt 3 vào vụ xuân (tháng 2 năm 2023).

2.2. Phương pháp thu hái nguyên liệu

- Chọn những cành trà có chất lượng lá tốt và ổn định, có chiều dài từ 40 cm - 60 cm. Trên 1 cành trà, đoạn đầu chiếm 3/5 chiều dài cành là những lá trà đã sinh trưởng đầy đủ, có màu xanh đậm, đây là những lá già (độ già 3); đoạn tiếp theo chiếm 1/5 chiều dài cành, có màu xanh, đây là những lá bánh tẻ (độ già 2), 1/5 chiều cành cành còn lại là những lá non có mầu xanh nhạt và 1 búp sinh trưởng (độ già 1) (Hình 1).



Hình 1. Cành trà Thạch châu

- Lá trà được thu hái thủ công, vào thời điểm buổi sáng trên nhiều cây ở những vị trí khác nhau trong vườn. Lá trà được hái ở 3 cấp độ sinh trưởng:

+ Độ già 1 (ĐG1): Lá xanh non.

+ Độ già 2 (ĐG2): Lá xanh.

+ Độ già 3 (ĐG3): Lá xanh đậm (lá đã sinh trưởng đầy đủ).

- Sau khi hái, lá trà được chứa đựng riêng trong các sọt theo từng mức độ sinh trưởng; làm sạch, bảo quản lạnh và tiến hành phân tích một số thành phần hoá học trong vòng 24 giờ.

2.3. Phương pháp phân tích

Trà Thạch châu được coi là một loại dược liệu vì thế việc phân tích thành phần hoá học được tiến hành theo Dược điển Việt Nam IV.

2.3.1. Phương pháp phân tích cơ lý của nguyên liệu.

- Xác định khối lượng trung bình của 1 lá trà theo độ già:

Sau mỗi lần thu hái, từng khối lá trà (ĐG1, ĐG2, ĐG3) được đảo trộn đều, cân khoảng 100 g lá trà bằng cân kỹ thuật với độ chính xác 10^{-1} g. Đếm số lá trà có trong mẫu thử nghiệm và tính khối lượng trung bình của 1 lá (g/lá).

- Xác định tỷ lệ % theo mức sinh trưởng của lá trà ĐG1, ĐG2 và ĐG3 trong khối nguyên liệu:

Cân từng khối trà riêng biệt (ĐG1, ĐG2, ĐG3) bằng cân kỹ thuật với độ chính xác $\pm 10^{-1}$ g. Sau khi hái xong, cần đưa trà đi cân ngay để tránh sự mất khối lượng do nước trong lá bị bay hơi. Tỷ lệ phần trăm khối lượng X_i (%) của các phần trà theo mức sinh trưởng được tính theo công thức:

$$X_i(\%) = \frac{m_{ĐGi} \times 100}{m_{ĐG1} + m_{ĐG2} + m_{ĐG3}}$$

Trong đó: $m_{Đgi}$ là khối lượng của phần lá trà ở cấp độ thứ i (g), i=1, 2, 3; $m_{ĐG1}$, $m_{ĐG2}$, $m_{ĐG3}$ lần lượt là khối lượng của từng phần lá trà ở cấp độ sinh trưởng thứ 1, 2, 3 cân được (g).

2.3.2. Phương pháp phân tích thành phần hóa học cơ bản của trà [9]

- Xác định độ ẩm của lá trà Thạch châu tươi theo Dược điển Việt Nam IV, phụ lục 12.16.

- Xác định hàm lượng chất hòa tan trong nước nóng theo Dược điển Việt Nam IV, phụ lục 12.10.

- Xác định hàm lượng tro toàn phần theo Dược điển Việt Nam IV, phụ lục 9.8.

- Xác định hàm lượng flavonoid toàn phần: phương pháp đo quang - theo Dược điển Việt Nam IV, phụ lục 4.1.

- Xác định hàm lượng polyphenol tổng số: phương pháp đo quang - theo Dược điển Việt Nam IV, phụ lục 4.1.

- Xác định hàm lượng saponine tổng số theo Dược điển Việt Nam IV.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý thống kê và đánh giá sự khác biệt giữa các mẫu thí nghiệm theo phần mềm xử lý số liệu SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của mức sinh trưởng và thời vụ thu hái đến độ ẩm và tỷ lệ non già của lá trà Thạch châu

Phân tích độ ẩm của lá trà ở 3 mức độ già ĐG 1, ĐG 2, ĐG 3 thu hái ở các thời vụ (vụ hè, vụ thu, vụ xuân). Kết quả thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Độ ẩm của lá trà phụ thuộc vào mức sinh trưởng và thời vụ thu hái

TT	Thời vụ thu hái	Độ ẩm của lá trà (%)			Trung bình theo yếu tố thời vụ thu hái
		ĐG 3	ĐG 2	ĐG 1	
1	Vụ hè	73,23 ^{ef}	74,10 ^{cde}	75,70 ^{ab}	74,34 B
2	Vụ thu	72,37 ^{f}	73,20 ^{ef}	74,60 ^{bcd}	73,39 C
3	Vụ xuân	73,60 ^{de}	74,80 ^{bc}	76,60 ^{a}	75,00 A
Trung bình theo yếu tố mức sinh trưởng		73,07 C	74,03 B	75,63 A	

Ghi chú: Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất với thời vụ thu hái: p<0,05; mức sinh trưởng: p<0,01; tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng: p<0,01; CV = 0,60%.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, lá trà thu hái vào vụ xuân ở ĐG 1 (lá xanh non) có độ ẩm cao nhất với giá trị trung bình là 76,60%, trà thu hái vào vụ thu ở ĐG 3 (lá xanh đậm) có độ ẩm thấp nhất với giá trị trung bình là 72,37% và có sự khác biệt đáng kể so với các mẫu còn lại.

Độ ẩm của lá chịu ảnh hưởng có ý nghĩa bởi tương tác của 2 yếu tố thời vụ thu hái và mức sinh trưởng của lá (F = 0,59 với p =0,6757). Bảng so sánh giá trị xác suất p các trung bình tương tác Dunnett cho thấy, tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng ảnh hưởng độc lập lớn nhất đến độ ẩm của lá trà là tương tác vụ hè với ĐG1 và vụ xuân với ĐG 1 (p < 0,0001), tiếp theo là vụ xuân với ĐG 2 (p = 0,0035), vụ thu với ĐG 1 (p = 0,0106).

Theo mức sinh trưởng của lá trà, lá trà càng già độ ẩm càng thấp và ngược lại lá trà càng non độ ẩm càng cao. Theo thời gian thu hoạch, lá trà thu hoạch vào vụ xuân có độ ẩm cao nhất, còn vụ thu có độ ẩm thấp nhất.

Bảng 2. Tỷ lệ % khối lượng theo mức sinh trưởng khác nhau của lá trong khối nguyên liệu ở các thời vụ thu hái khác nhau

TT	Thời vụ thu hái	Tỷ lệ % khối lượng theo mức sinh trưởng của lá			Trung bình theo yếu tố thời vụ thu hái
		ĐG 3	ĐG 2	ĐG 1	
1	Vụ hè	20,40 ^{e}	65,27 ^{b}	14,30 ^{g}	33,32 A
2	Vụ thu	34,60 ^{d}	54,23 ^{c}	11,23 ^{i}	33,36 A

3	Vụ xuân	12,27 [h]	68,43 [a]	19,27 [f]	33,32 A
Trung bình theo yếu tố mức sinh trưởng		22,42 B	62,64 A	14,93 C	

Ghi chú: Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất với thời vụ thu hái: p<0,05; mức sinh trưởng: p<0,01; tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng: p<0,01; CV = 0,66%.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, lá trà thu hái vào vụ xuân ở ĐG 2 - lá xanh có tỷ lệ % khối lượng lớn nhất với giá trị trung bình là 68,43%, lá trà thu hái vào vụ thu ở ĐG1 - lá xanh non có tỷ lệ % khối lượng thấp nhất với giá trị trung bình là 11,23% và có sự khác biệt rất đáng kể so với các mẫu còn lại.

Tỷ lệ % khối lượng của lá trà thu hái chịu ảnh hưởng có ý nghĩa bởi tương tác của 2 yếu tố thời vụ thu hái và mức sinh trưởng của lá (F = 6217,37, p <0,0001). Bảng so sánh giá trị xác suất p các trung bình tương tác Dunnett cho thấy tất cả các tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng ảnh hưởng độc lập rất lớn đến tỷ lệ % khối lượng của từng loại lá chè thu hái (p < 0,0001).

Tỷ lệ lá già, bánh tẻ, non trong khối lá trà cũng thay đổi theo thời gian thu hoạch. Vào vụ hè, lá già (ĐG3) chiếm 20,4%, lá bánh tẻ (ĐG2) là 65,3%, còn lá non (ĐG1) là 14,30%. Sang vụ thu, tỷ lệ lá già tăng lên đáng kể (34,60%), lượng lá non chỉ còn 11,23%. Ở vụ xuân, lượng lá già giảm chỉ còn 12,27%, lượng lá non tăng lên đến 19,27%.

Trên cơ sở đó, định hướng xác định được thời vụ thu hoạch từng phẩm cấp lá trà theo mức sinh trưởng nhằm phù hợp với các mục đích khai thác, chế biến.

3.2. Ảnh hưởng của mức sinh trưởng và thời vụ thu hái đến sự thay đổi hàm lượng chất hoà tan trong lá trà Thạch Châu

Phân tích hàm lượng chất hòa tan trong nước nóng của lá trà Thạch châu theo phương pháp Dược điển Việt Nam IV. Kết quả phân tích được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng chất hòa tan của là trà phụ thuộc mức sinh trưởng và thời vụ thu hái

TT	Thời vụ thu hái	Hàm lượng chất hòa tan (% ck)			Trung bình theo yếu tố thời vụ thu hái
		ĐG 3	ĐG 2	ĐG 1	
1	Vụ hè	32,13 [c]	32,57 [b]	33,13 [a]	32,61 A
2	Vụ thu	30,73 [f]	31,20 [e]	31,57 [b]	31,17 C
3	Vụ xuân	31,20 [e]	31,70 [b]	32,20 [c]	31,70 B
Trung bình theo yếu tố mức sinh trưởng		31,36 C	31,82 B	32,30 A	

Ghi chú: Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất với thời vụ thu hái: p<0,05; mức sinh trưởng: p<0,01; tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng: p<0,01; CV = 0,462%.

- Kết quả cho thấy, lá trà thu hái vào vụ hè ở ĐG 1 - lá xanh non có hàm lượng chất hoà tan lớn nhất với giá trị trung bình là 33,13% ck, trà thu hái vào vụ thu ở ĐG3 - lá xanh đậm có hàm lượng chất hoà tan thấp nhất với giá trị trung bình là 30,73% ck và có sự khác biệt rất đáng kể so với các mẫu còn lại.

- Hàm lượng chất hòa tan của lá chịu ảnh hưởng có ý nghĩa bởi tương tác của 2 yếu tố thời vụ thu hái và mức sinh trưởng của lá (F = 0,48; p

=0,7503). Bảng so sánh giá trị xác suất p các trung bình tương tác Dunnett cho thấy, tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng ảnh hưởng độc lập lớn nhất đến hàm lượng chất hòa tan trong lá trà là tương tác vụ hè với ĐG1, vụ thu với lá ĐG3, vụ thu với lá ĐG2, vụ xuân với lá ĐG3 ($p < 0,0001$), tiếp theo là vụ thu với ĐG1 ($p = 0,0015$). Các tương tác có ảnh hưởng tương đương nhau và mức độ thấp ($p>0,05$) là vụ hè với lá ĐG2, vụ xuân với lá ĐG2 ($p = 0,0142$) và vụ xuân với ĐG1.

- Hàm lượng chất tan của lá trà Thạch châu ở mức khá cao từ 30,73% ck đến 33,13% ck, điều đó rất tốt khi dùng lá khô nấu nước uống. Hàm lượng chất tan càng cao thì càng tốt vì lá trà Thạch châu chứa rất nhiều hoạt chất sinh học rất có lợi cho sức khỏe.

- Hàm lượng chất tan tăng dần từ lá xanh đậm (ĐG3), lá xanh (ĐG2) đến lá xanh non (ĐG1) đối với cả 3 vụ thu hoạch. Nói cách khác, lá càng non, hàm lượng chất tan càng nhiều và ngược lại, lá càng già hàm lượng chất tan càng thấp. Điều này được giải thích bởi chất khô của lá chè được chia làm 2 phần: phần hoà tan trong nước và phần không hoà tan trong nước. Khi búp chè càng trưởng thành thì phần hoà tan trong nước càng giảm xuống và phần không hoà tan tăng lên. Phần không hoà tan chủ yếu tập trung ở tế bào lá già.

- Hàm lượng chất tan cũng phụ thuộc vào thời vụ thu hái. Cùng một mức sinh trưởng nhưng thu hoạch vào thời vụ khác nhau, hàm lượng chất hoà tan khác nhau. Lá trà ở độ già 3 có hàm lượng chất hoà tan trong lá trà thu hoạch ở vụ hè (32,13% ck) cao hơn lá trà thu hoạch ở vụ xuân (31,20% ck), vụ thu có hàm lượng chất tan thấp nhất (30,73% ck). Điều này chứng tỏ vào mùa hè, quá trình sinh tổng hợp chất trong lá trà tốt hơn so với mùa xuân và mùa thu là thấp nhất. Điều này được giải thích bởi hàm lượng chất hoà tan phụ thuộc vào điều kiện thời tiết, lượng mưa, nhiệt độ không khí thấp và số ngày nắng ít làm giảm hàm lượng chất hoà tan trong lá chè [10].

3.3. Ảnh hưởng của mức sinh trưởng và thời vụ thu hái đến sự thay đổi hàm lượng chất tro toàn phần trong lá trà Thạch châu

Hàm lượng tro toàn phần của lá trà Thạch châu được xác định theo Dược điển Việt Nam IV. Kết quả phân tích được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng chất tro toàn phần phụ thuộc mức sinh trưởng và thời vụ thu hái lá trà Thạch châu

TT	Thời vụ thu hái	Hàm lượng tro toàn phần (% ck)			Trung bình theo yếu tố thời vụ thu hái
		ĐG 3	ĐG 2	ĐG 1	
1	Vụ hè	4,50 ^{a}	4,43 ^{a}	3,70 ^{c}	4,21 A
2	Vụ thu	4,33 ^{ab}	3,77 ^{c}	3,33 ^{de}	3,81 B
3	Vụ xuân	4,10 ^{b}	3,60 ^{cd}	3,20 ^{e}	3,63 C
Trung bình theo yếu tố mức sinh trưởng		4,31 A	3,93 B	3,41 C	

Ghi chú: Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất với thời vụ thu hái: $p<0,05$; mức độ sinh trưởng: $p<0,01$; tương tác thời vụ thu hái và mức độ sinh trưởng: $p<0,0001$; CV = 3,205%.

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, lá chè thu hái vào vụ hè ở ĐG2 và ĐG3 (lá xanh và lá xanh đậm) có hàm lượng tro tổng số lớn nhất với giá trị trung bình là 4,43-4,50%, chè thu hái vào vụ xuân ở ĐG1 (lá xanh non) có hàm lượng chất tro toàn phần thấp nhất với giá trị trung bình là 3,20% và có sự khác biệt đáng kể so với các mẫu còn lại.

Tương tác của 2 yếu tố thời vụ thu hái và mức sinh trưởng của lá ($F = 3,79$; $p =0,0237$) ảnh hưởng rất có nghĩa đến hàm lượng tro toàn phần trong lá chè. Bảng so sánh giá trị xác suất p các trung bình tương tác Dunnett cho thấy tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng ảnh hưởng độc lập lớn nhất đến hàm lượng tro tổng trong lá trà là các tương

tác vụ hè với ĐG1, vụ thu với lá ĐG2, vụ thu với lá ĐG1, vụ xuân với lá ĐG1, vụ xuân với lá ĐG2 ($p < 0,0001$), tiếp theo là vụ xuân với lá ĐG3 ($p = 0,0074$). Các tương tác có ảnh hưởng ở mức độ thấp ($p>0,05$) là vụ hè với lá ĐG2 và vụ thu với lá ĐG3.

Hàm lượng tro toàn phần trong là trà Thạch châu ở mức < 5% và biến thiên phụ thuộc vào mức sinh trưởng của lá trà và giảm dần từ lá già, lá bánh tẻ đến lá non. Nói cách khác, lá càng già hàm lượng chất tro càng nhiều và ngược lại, lá càng non hàm lượng chất tro càng thấp.

Hàm lượng chất tro cũng phụ thuộc vào thời vụ thu hái. Lá trà thu hái ở vụ hè hàm lượng chất tro cao hơn so với vụ thu và vụ xuân; hàm lượng chất tro trong lá trà ở vụ xuân là thấp nhất.

3.4. Ảnh hưởng của mức sinh trưởng và thời vụ thu hái đến sự thay đổi hàm lượng flavonoid trong lá trà Thạch châu

Hàm lượng flavonoid của lá trà thạch châu được xác định theo Dược điển Việt Nam IV. Kết quả phân tích được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Hàm lượng flavonoid của lá trà Thạch châu phụ thuộc mức sinh trưởng và thời vụ thu hái của lá trà Thạch châu

TT	Thời vụ thu hái	Hàm lượng flavonoid (% ck)			Trung bình theo yếu tố thời vụ thu hái
		ĐG 3	ĐG 2	ĐG 1	
1	Vụ hè	21,26 [a]	20,53 [b]	19,67 [c]	20,49 A
2	Vụ thu	20,50 [b]	19,67 [c]	18,80 [e]	19,82 B
3	Vụ xuân	19,70 [c]	19,27 [d]	18,57 [e]	19,01 C
Trung bình theo yếu tố mức sinh trưởng		20,49 A	19,66 B	19,18 C	

Ghi chú: Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất với thời vụ thu hái: $p<0,05$; mức sinh trưởng: $p<0,01$; tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng: $p<0,0001$; CV = 0,657%.

Kết quả cho thấy, lá chè thu hái vào vụ hè ở ĐG 3 - lá xanh đậm có hàm lượng flavonoid lớn nhất với giá trị trung bình là 21,26% ck, chè thu hái vào vụ thu và vụ xuân ở ĐG 1 (lá xanh non) có hàm lượng flavonoid thấp nhất với giá trị trung bình là 18,57 - 18,80% ck và có sự khác biệt đáng kể so với các mẫu còn lại.

Tương tác của 2 yếu tố thời vụ thu hái và mức sinh trưởng của lá ($F = 4,26$ với $p =0,0155$) ảnh hưởng rất có nghĩa đến hàm lượng flavonoid trong lá chè. Bảng so sánh giá trị xác suất p các trung bình tương tác Dunnett cho thấy tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng ảnh hưởng như nhau và ảnh hướng đến hàm lượng tro tổng trong lá trà thu hoạch ở bất kỳ thời điểm vụ hè, vụ thu, vụ xuân ở bất kỳ loại lá ở ĐG1, ĐG 2 và ĐG3 ($p < 0,0001$).

Hàm lượng flavonoid của lá trà Thạch châu ở mức khá cao, từ 18,6% ck đến 21,3% ck. Điều đó rất tốt khi dùng lá khô nấu nước uống, trong đó flavonoid là hoạt chất sinh học rất có lợi cho sức khỏe.

Hàm lượng flavonoid giảm dần từ lá già, lá bánh tẻ đến lá non. Nói cách khác, lá càng già, hàm lượng flavonoid càng nhiều và ngược lại; lá càng non, hàm lượng flavonoid càng thấp. Sự chênh lệch này trung bình khoảng 1%.

Hàm lượng flavonoid cũng phụ thuộc vào thời vụ thu hái. Hàm lượng flavonoid trong lá trà vào vụ hè lớn hơn vào vụ thu; vụ xuân có hàm lượng flavonoid thấp nhất.

3.5. Ảnh hưởng của mức sinh trưởng và thời vụ thu hái đến sự thay đổi hàm lượng Polyphenol trong lá trà Thạch châu

Hàm lượng polyphenol của lá trà được xác định theo Dược điển Việt Nam IV. Kết quả phân tích được thể hiện ở bảng 6

Bảng 6. Hàm lượng polyphenol của lá trà Thạch châu phụ thuộc mức sinh trưởng và thời vụ thu hái

TT	Thời vụ thu hái	Hàm lượng polyphenol (% ck)			Trung bình theo yếu tố thời vụ thu hái
		ĐG3	ĐG2	ĐG1	
1	Vụ hè	19,00 [a]	18,4 [b]	17,83 [c]	18,41 A
2	Vụ thu	18,67 [b]	17,86 [c]	17,23 [d]	17,92 B
3	Vụ xuân	18,00 [c]	17,30 [d]	16,83 [e]	17,38 C
	Trung bình theo yếu tố mức sinh trưởng	18,56 A	17,86 B	17,30 C	

Ghi chú: Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất với thời vụ thu hái: p<0,05; mức sinh trưởng: p<0,01; tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng: p<0,0001; CV = 0,667%.

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, lá chè thu hái vào vụ hè ở ĐG 3 có hàm lượng polyphenol lớn nhất với giá trị trung bình là 19,00% ck; lá chè thu hái vào vụ xuân ở ĐG 1 có hàm lượng polyphenol thấp nhất với giá trị trung bình là 16,83% ck và có sự khác biệt đáng kể so với các mẫu còn lại.

Tương tác của 2 yếu tố thời vụ thu hái và mức sinh trưởng của lá (F = 1,43; p =0,2698) ảnh hưởng rất có nghĩa đến hàm lượng polyphenol tổng trong lá chè. Bảng so sánh giá trị xác suất p các trung bình tương tác Dunnett cho thấy, tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng ảnh hưởng độc lập lớn nhất đến hàm lượng polyphenol tổng trong lá trà là tất cả các tương tác giữa vụ hè, vụ thu, vụ xuân với các mức sinh trưởng của lá (ĐG 3, ĐG2, ĐG1) với p < 0,0001; duy nhất chỉ tương tác giữa vụ thu với lá ĐG 3 (p = 0,0208) có mức độ ảnh hưởng thấp hơn tới hàm lượng polyphenol của lá chè.

Hàm lượng polyphenol tổng số của lá trà Thạch châu ở mức khá cao, từ 16,83% - 19,00% ck. Cũng giống các kết quả công bố của trà xanh [4], hàm lượng polyphenol làm tăng giá trị của lá trà Thạch châu, bởi polyphenol là nhóm chất có hoạt tính sinh học rất có lợi cho sức khỏe con người.

Hàm lượng polyphenol giảm dần từ lá già, lá bánh tẻ đến lá non. Nói cách khác, lá càng già, hàm lượng Polyphenol càng nhiều và ngược lại, lá càng non, hàm lượng polyphenol càng thấp. Sự chênh lệch này trung bình khoảng 1,5% ck.

Hàm lượng polyphenol cũng phụ thuộc vào thời vụ thu hái. Hàm lượng polyphenol trong lá trà thu hoạch vụ hè lớn hơn lá trà thu hoạch vào vụ thu và vụ xuân lá trà Thạch châu có hàm lượng chất polyphenol thấp nhất.

3.6. Ảnh hưởng của mức sinh trưởng và thời vụ thu hái đến sự thay đổi hàm lượng saponine trong lá trà Thạch châu

Hàm lượng saponine của lá trà Thạch châu được xác định theo Dược điển Việt Nam IV. Kết quả phân tích được thể hiện ở bảng 7.

Kết quả cho thấy, lá chè thu hái vào vụ hè và vụ thu ở ĐG 3 có hàm lượng saponine tổng lớn nhất, với giá trị trung bình là 4,93 - 5,07%; lá chè thu hái vào vụ xuân ở ĐG 1 có hàm lượng saponine tổng thấp nhất, với giá trị trung bình là 3,63% và có sự khác biệt đáng kể so với các mẫu còn lại.

Bảng 7. Hàm lượng saponinee của lá trà Thạch châu phụ thuộc mức sinh trưởng và thời vụ thu hái

TT	Thời vụ thu hái	Hàm lượng saponine (% ck)			Trung bình theo yếu tố thời vụ thu hái
		Lá già	Lá bánh tẻ	Lá non	
1	Vụ hè	5,07 [a]	4,57 [b]	4,00 [d]	4,54 A
2	Vụ thu	4,93 [a]	4,3 [c]	3,93 [d]	4,39 B
3	Vụ xuân	4,70 [b]	4,07 [d]	3,63 [e]	4,13 C
Trung bình theo yếu tố mức sinh trưởng		4,90 A	4,31 B	3,86 C	

Ghi chú: Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất với thời vụ thu hái: p<0,05; mức sinh trưởng: p<0,01; tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng: p<0,0001; F=74,09; CV = 2,025%.

Tương tác của 2 yếu tố thời vụ thu hái và mức sinh trưởng của lá (F = 1,14 với p = 0,372) ảnh hưởng rất có nghĩa đến hàm lượng saponine tổng trong lá chè. So sánh giá trị xác suất p các trung bình tương tác Dunnett cho thấy tương tác thời vụ thu hái và mức sinh trưởng ảnh hưởng độc lập lớn nhất đến hàm lượng saponine tổng trong lá trà là các tương tác vụ hè với lá xanh non, vụ hè với và lá xanh, vụ thu với lá xanh non, vụ thu với lá xanh, vụ xuân với lá xanh non và vụ xuân với lá xanh (p < 0,0001); tiếp theo là vụ xuân với lá xanh đậm (p = 0,0007). Các tương tác có ảnh hưởng ở mức độ thấp (p>0,05) là vụ hè với lá xanh đậm.

Hàm lượng Saponine của lá trà Thạch châu ở mức khá cao, từ 3,63% - 5,07% ck. Saponine là chất có hoạt tính sinh học được tìm thấy nhiều trong nhân sâm và hiện nay có cả trong lá trà Thạch châu. Điều này cho thấy bột trà hoa vàng Thạch châu là sản phẩm rất tốt cho sức khỏe.

Hàm lượng saponine của lá trà Thạch châu giảm dần từ mẫu nguyên liệu chế biến là lá già, lá bánh tẻ đến lá non. Như vậy, lá càng già, hàm lượng saponine của bột trà càng cao và ngược lại lá càng non hàm lượng saponine của bột trà càng thấp, với giá trị khác biệt nhỏ nhất có nghĩa LDS = 0,12.

Hàm lượng saponine của lá trà Thạch châu cũng phụ thuộc vào thời vụ thu hái. Lá trà thu hái vào vụ hè có hàm lượng saponine cao hơn so với lá trà thu hái ở vụ thu và vụ xuân. Mẫu lá trà thu hái ở vụ xuân có hàm lượng saponine thấp nhất.

4. KẾT LUẬN

Kết quả phân tích thành phần hóa học của lá trà Thạch châu trồng tại tỉnh Lâm Đồng cho thấy, thành phần hoá học cơ bản trong lá trà Thạch châu phụ thuộc vào mức sinh trưởng của lá và thời vụ thu hái:

- Thời vụ thu hái lá trà có ảnh hưởng đến hàm lượng các hợp chất trong lá trà. Lá trà thu hái ở vụ hè có hàm lượng các hợp chất flavonoid, polyphenol, saponine cao hơn so với vụ thu và vụ xuân.

- Theo mức sinh trưởng của lá trà: lá trà già (ĐG3) có hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học như: Saponine, polyphenol, flavonoid cao hơn so với lá bánh tẻ (ĐG2) và lá non (ĐG1). Điều này có ý nghĩa rất quan trọng để giúp cho các nhà sản xuất ra quyết định trong việc thu hái nguyên liệu có chất lượng tốt hơn để sản xuất các sản phẩm từ lá trà Thạch châu. Bởi các hoạt chất này là yếu tố quyết định tính chất dược lý của các sản phẩm chế biến từ lá trà Thạch châu.

- Không nên hái lá trà bánh tẻ (ĐG2) và lá trà non (ĐG1), đặc biệt là búp sinh trưởng vì sự cần thiết phải duy trì sự phát triển của cây trà sau khi hái.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê An Na (2012). Báo cáo kết quả phân tích và kiểm nghiệm dược liệu lá trà hoa vàng. Công ty TNHH Kim Hoa trà, tr 8-9.

2. Phạm Hoàng Hộ (2000). *Cây cỏ Việt Nam*. Nhà xuất bản Trẻ thành phố Hồ Chí Minh, tr. 423-424, tập 2.

3. Le Nguyet Hai Ninh, Luong Van Dung (2016). General Information about the yellow Camellia species in Vietnam. Proceedings of Dali

International Camellia Congress, Dali, Yunnan, China, pp. 80-84.

4. Nguyet Hai Ninh Le, Van Dung Luong (2020). An updated checklist of Theaceae and a new species of Polyspora from Vietnam. p 216-227 Taiwania 65 (2)

5. Matsiu Y. *et al.* (2009). Quantitative analysis of saponines in tea –leaf extract and their antihypercholesterolemic activity. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, p 1513-1519, 73.

6. Nguyễn Văn Dũng và cs (2015). Hoạt tính ức chế pepsin và protease HIV-1 của các cao chiết và hoạt chất acid maslinic từ dược liệu. *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội*, p18-27, Tập 31 số 2.

7. Bùi Hồng Cường, Dương Thị Hảo, Phương Thiện Thương (2017). Nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa của lá Thạch châu Trung bộ (Pyrenaria jonquieriana Pierre). *Tạp chí Dược học*- tr 57, số 10, ISSN: 0866-7861.

8. Giang Trung Khoa, Bùi Quang Thuật, Ngô Xuân Mạnh, P. Duez (2017). Thành phần polyphenol và hoạt tính kháng oxi hóa của giống chè Shan (Camellia sinensis var. Shan). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, p 509-518, tập 15 số 4.

9. Dược điển Việt Nam IV. Phụ lục 12.10, 4.1, 9.8.

10. Đỗ Văn Ngọc, Trịnh Văn Loan (2008). *Các biến đổi hoá sinh trong quá trình chế biến và bảo quản chè*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, tr. 19.

RESEARCH ON CHANGE OF SOME CHEMICAL COMPOSITIONS OF *Pyrenaria jonquieriana Pierre* GROWN IN LAM DONG PROVINCE BASED ON GROWTH RATE AND HARVEST

Dang Thi Thanh Quyen, Do Thi Kim Loan

Summary

The research aimed to determine the change of basic chemical composition (moisture, solvent, ash, flavonoids, polyphenols and saponins) of *Pyrenaria jonquieriana Pierre* grown in Lam Dong province based on leaf growth (old leaves, mature leaves and young leaves) and harvest season (spring crop, summer crop and autumn crop). *Pyrenaria jonquieriana Pierre* is a medicinal herb, so its contents of substances are determined according to Vietnamese Pharmacopoeia IV. The obtained research results show that the contents of substances in the tea leaves highly depend on the leaf age and the harvest time. Its moisture content is 73% to 76%: It is the highest in the old leaves and the lowest in the young ones, and it is the highest in the spring crop and the lowest in the autumn crop. The solvent content of *Pyrenaria jonquieriana Pierre* is over 30%, the younger the leaves are, the higher the solvent content is, and such content in the summer crop is higher than the one in the spring crop, and the lowest in the autumn crop. Total ash content is about 5%, the older the leaves are, the greater the ash content is, and such content in the summer crop is higher than the one in the autumn and spring crops. Total flavonoid content of *Pyrenaria jonquieriana Pierre* is more than 19% and gradually decreases from the old leaves, mature leaves and young leaves and from the summer crop to the autumn crop and it is the lowest in the spring crop. Total polyphenol content is greater than 17%, the content of the old leaves are higher in than the one of the young leaves and gradually decreases from the summer crop to the autumn crop, and it is the lowest in the spring crop. Total saponine content of *Pyrenaria jonquieriana Pierre* ranges from 4% to 5.9% and gradually decreases from the old leaves, the mature leaves to the young leaves. Saponine content also depends on the harvest, the tea leaves in the summer crop have a higher saponine content than the ones in the autumn crop, and the lowest content is in the spring crop.

Keywords: *Leaves of Pyrenaria jonquieriana Pierre, biological activities, flavonoids, polyphenols, saponines.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Huế

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/3/2023

Ngày duyệt đăng: 29/3/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC PHƯƠNG PHÁP TIỀN XỬ LÝ ĐẾN CHẤT LƯỢNG HÀNH ĐEN

Trần Phương Chi[1,*], Lê Thế Tâm[1], Nguyễn Tân Thành[1],
Hoàng Thị Lệ Hằng[2], Nguyễn Ngọc Tuấn[3],
Trần Thanh Lưu[4], Trần Đình Thắng[3]

TÓM TẮT

Hành đen là sản phẩm được chế biến bằng cách ủ nhiệt từ củ hành tím *(Allium ascalonicum* L.) trong môi trường nhiệt độ và độ ẩm có kiểm soát. Trong nghiên cứu này, các phương pháp tiền xử lý lạnh đông, xử lý sóng siêu âm được áp dụng thử nghiệm vào quy trình sản xuất hành đen để phá vỡ cấu trúc bên trong, nhưng vẫn giữ được hình thức bên ngoài của nguyên liệu. Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của các phương pháp tiền xử lý lạnh đông (-20°C, 30 giờ) (1); xử lý sóng siêu âm (28 kHz, 2 giờ) (2) cùng với công thức đối chứng - không thực hiện bất kỳ phương pháp tiền xử lý nào (ĐC) đến cấu trúc bên trong của củ hành tím; đồng thời khảo sát sự biến đổi màu sắc, hàm lượng đường khử, axit amin tổng số, các chất có hoạt tính sinh học (polyphenol tổng số, flavonoid tổng số), hoạt tính chống oxy hóa và các đặc tính cảm quan của hành trong quá trình ủ nhiệt 27 ngày (70°C, 80% RH). Kết quả cho thấy, trong các điều kiện tiền xử lý được thực hiện, hành được xử lý lạnh đông trước khi ủ nhiệt cho hàm lượng các hợp chất sinh học và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất trong thời gian ủ ngắn hơn. Vì vậy, phương pháp tiền xử lý lạnh đông có thể được coi là các phương pháp hứa hẹn để rút ngắn thời gian sản xuất và phát triển các sản phẩm hành đen với các đặc tính cảm quan và chức năng tốt.

Từ khóa: *Hành đen, tiền xử lý, lạnh đông, sóng siêu âm, hoạt tính chống oxy hoá.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hành tím có tên khoa học là *Allium ascolanicum* L., là một trong những loài *Allium* quan trọng được sử dụng phổ biến làm gia vị thực phẩm và thuốc ở châu Á. Hành tím chứa một lượng lớn các hợp chất lưu huỳnh, flavonoid và saponin và các dẫn xuất polyphenol khác [1].

Hành tím mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe nhưng vẫn bị hạn chế bởi mùi hăng và vị cay. Hành đen, một sản phẩm chế biến mới từ hành, đã được nghiên cứu và phát triển để loại bỏ mùi khó chịu của hành tươi thông qua quá trình ủ ở nhiệt độ và độ ẩm cao. Hành đen có màu nâu sẫm, kết cấu dẻo kèm theo vị ngọt giống như trái cây. Quá trình ủ nhiệt không chỉ làm thay đổi các thuộc tính cảm quan của hành mà còn cả các thành phần hóa học của nó. Trong nghiên cứu của Moreno-ortega và cs (2019), hàm lượng một số flavonoid, axit amin và hợp chất organosulfur của hành đen (chế biến từ hành tây) đã thay đổi trong quá trình ủ nhiệt. Hành đen có một số tác dụng vượt trội so với hành tươi như: Chống oxy hóa, tăng cường miễn dịch, ngăn ngừa rối loạn chuyển hóa và nhiễm độc gan do rượu... [2]. Từ đó, sản phẩm hành đen được kỳ vọng giúp cải thiện sức khỏe, bảo vệ cơ thể khỏi các tác nhân gây bệnh.

Hiện nay, dữ liệu nghiên cứu về quy trình chế biến sản phẩm hành đen từ hành tím còn rất hạn chế và chưa có tính hệ thống. Phương pháp chế biến truyền thống đối với sản phẩm tương tự là tỏi đen đơn giản nhưng tốn nhiều thời gian và chất lượng không ổn định. Đó là quá trình lên men tự phát trong 30-60 ngày ở 60-80^{0}C và độ ẩm cao (90% RH) mà không cần xử lý trước [3]. Do đó, cần phải áp dụng kết hợp các công nghệ khác để giữ lại vẻ ngoài nguyên vẹn của sản phẩm, tăng cường các hoạt chất và rút ngắn thời gian chế biến.

Phương pháp tiền xử lý lạnh đông, xử lý sóng siêu âm đã được áp dụng trong chế biến thực

[1] Viện Công nghệ Hóa sinh Môi trường, Trường Đại học Vinh
[2] Viện Nghiên cứu Rau quả
[3] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh
[4] Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Tiền Giang
[*]Email: phuongchi53@gmail.com

phẩm nhằm biến đổi kết cấu. Những công nghệ này có thể làm mềm thực phẩm bằng cách phá vỡ cấu trúc của chúng trong khi vẫn giữ được hình thức bên ngoài của thực phẩm [4, 5, 6]. Theo Li và cs (2015), khi xử lý lạnh đông, các tinh thể băng sẽ phá hủy cấu trúc tế bào và thúc đẩy phản ứng enzym bằng cách dẫn đến sự tiếp xúc nhiều hơn của GSAC và γ-GTP, hình thành SAC nhanh chóng. Phương pháp xử lý sơ bộ lạnh đông kết hợp với quá trình ủ nhiệt ở giai đoạn đầu nhiệt độ thấp (40°C trong 4 ngày), giai đoạn sau nhiệt độ 70°C trong 18 ngày (tạo điều kiện cho phản ứng Mailard xảy ra) cho thấy, có hiệu quả trong việc thay đổi cấu trúc sinh học của tỏi, thúc đẩy hoạt tính enzym và tăng các thành phần chức năng trong tỏi đen lên 4-10 lần [7].

Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của các phương pháp tiền xử lý (lạnh đông, sóng siêu âm) tới chất lượng sản phẩm hành đen được đánh giá thông qua sự biến đổi các hợp chất sinh học và hoạt tính chống oxy hóa trong quá trình ủ nhiệt.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Củ hành tím (*Allium ascalonium* L.) được thu hoạch từ huyện Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng (trồng tháng 11/2020, thu hoạch vào tháng 2/2021) và vận chuyển về phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Vinh trong 2-3 ngày. Chọn các củ hành đồng đều về màu sắc, kích thước (đường kính 25-30 mm), rửa sạch, cắt bỏ rễ rồi phơi khô vỏ ngoài.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Hành tím (1 kg cho mỗi công thức) được lựa chọn là những củ đã hình thành 1-2 lớp vỏ khô, hình dạng, kích thước đồng đều, không bị sâu, bệnh. Mẫu hành sau khi lựa chọn, làm sạch được xử lý theo 3 công thức:

- Công thức đối chứng (CTĐC): Không xử lý.

- Công thức 1 (CT1): Xử lý lạnh đông (tủ lạnh âm sâu ULT340, Anh) ở -20°C trong 30 giờ.

- Công thức 2 (CT2): Xử lý trong bể siêu âm (Elmasonic S100H, Đức) tần số 28 kHZ trong 2 giờ.

Hành trước khi xử lý lạnh đông và sóng siêu âm, các mẫu được đóng gói chân không. Sau khi xử lý, các mẫu được lấy ra khỏi bao bì của chúng. Tất cả các mẫu (CTĐC, CT1, CT2) được bọc trong giấy bạc có đục lỗ rồi đặt trong buồng ủ nhiệt (CYF, Đài Loan) để xử lý nhiệt theo 2 giai đoạn: GĐ1 ủ ở 45°C với độ ẩm tương đối 80% (RH) trong 3 ngày, GĐ2 ủ ở 70°C với độ ẩm tương đối 80% trong 24 ngày để tạo hành đen [7].

Việc lấy mẫu để phân tích được thực hiện 3 ngày một lần. Dịch chiết hành đen được sử dụng để xác định các chỉ tiêu hoá học được chuẩn bị như sau: hành đen được nghiền nhỏ (1 - 2 mm) và trộn đồng nhất. Sau đó, 2 g hành đen nghiền được trộn với 30 mL ethanol 50%, chiết có hỗ trợ sóng siêu âm (mức công suất siêu âm 85%) ở nhiệt độ 50°C trong 1 giờ. Tiến hành lọc bằng giấy lọc để thu dịch chiết [8].

2.2.2. Phương pháp phân tích

- Cấu trúc bên trong của hành sau xử lý được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét SEM (Scanning Electron Microscopy, JCM-6000Plus, Jeol, Nhật Bản). Mỗi mẫu hành được cắt lát mỏng và cố định trên bàn mẫu bằng băng dính hai mặt dẫn điện. Quá trình phủ màng được thực hiện trong điều kiện chân không và sau đó quan sát trên SEM [9].

- Xác định sự biến đổi màu sắc hành (ΔE) qua từng giai đoạn bằng máy đo màu (Konica Minolta, Nhật Bản) [10].

- Hàm lượng đường khử được xác định theo phương pháp Miller (1959), dựa vào phản ứng tạo màu giữa đường khử với thuốc thử 3,5-Dinitrosalicylic axit (DNS), so màu ở bước sóng 540 nm. Dựa theo phương trình đường chuẩn của glucoza tinh khiết với DNS để xác định hàm lượng đường khử của mẫu [11].

- Hàm lượng axit amin tổng số được xác định theo phương pháp của McGrath (1972), nguyên tắc của phương pháp này dựa vào phản ứng giữa axit amin với ninhydrin tạo hợp chất màu xanh tím. Tiến hành so màu ở bước sóng 570 nm. Dựa theo phương trình đường chuẩn leucine để xác định hàm lượng axit amin của mẫu [12].

- Hàm lượng phenolic tổng số (TPC): TPC được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu: phản ứng với axit photphomolybdic trong thuốc thử Folin- Ciocalteau, xuất hiện phức chất có màu xanh trong môi trường kiềm. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 765 nm. TPC của dịch chiết được xác định từ phương trình đường chuẩn galic (mg GAE/g ck) [13].

- Hàm lượng flavonoid tổng số (TFC): Hàm lượng tổng flavonoid được xác định thông qua phương pháp tạo màu với $AlCl_3$ trong môi trường kiềm. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 415 nm. TFC của dịch chiết được xác định từ phương trình đường chuẩn quercetin (mg QE/g ck) [14].

- Xác định hoạt tính kháng oxy hóa bằng khả năng dập tắt gốc tự do (DPPH): Các chất có khả năng kháng oxy hóa sẽ trung hòa gốc tự do DPPH bằng cách cho hydrogen và dừng quá trình oxy hóa bằng cách chuyển các gốc tự do sang trạng thái ổn định hơn, làm giảm độ hấp thu tại bước sóng cực đại và màu của dung dịch sẽ nhạt dần, chuyển từ tím sang vàng nhạt. Độ hấp thụ của mẫu (A_1) và đối chứng (A_0) được đo ở bước sóng 517 nm. Hoạt tính kháng oxy hóa DPPH được tính toán theo phương trình:

Hoạt động bắt gốc tự do của DPPH (%) $= \frac{A_0 - A_1}{A_0} * 100\%$ [15]

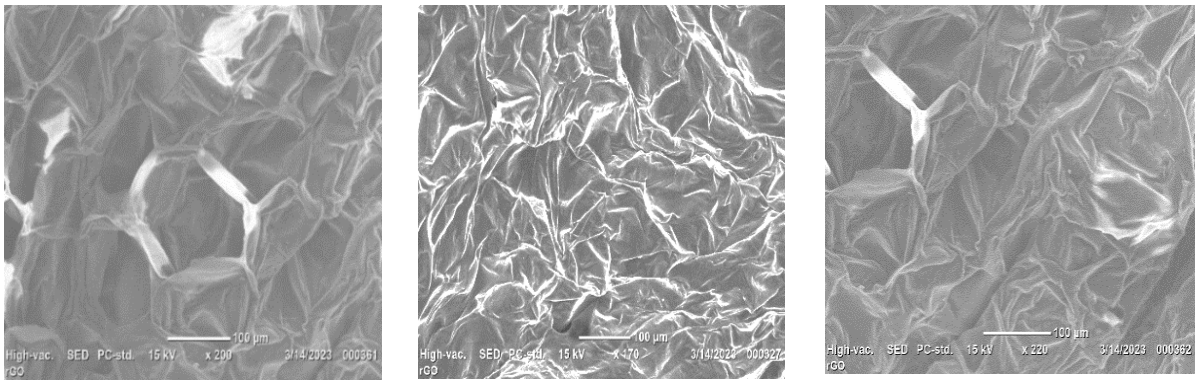
- Đánh giá cảm quan sản phẩm theo phương pháp cho điểm thị hiếu người tiêu dùng với 50 người tham gia (tỷ lệ người trả lời nam/nữ là 1/1, phân bố độ tuổi là 25 – 40 tuổi, không khuyết tật về các cơ quan cảm giác). Đánh giá mức độ chấp nhận sản phẩm hành đen ở các thời điểm ủ nhiệt khác nhau dựa trên thang điểm từ 1 - 9 (tương ứng từ mức cực kì không thích đến cực kì thích) [16].

- Phương pháp xử lí thống kê: Sử dụng phần mềm phân tích số dữ liệu, đồ thị OriginPro 2021.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

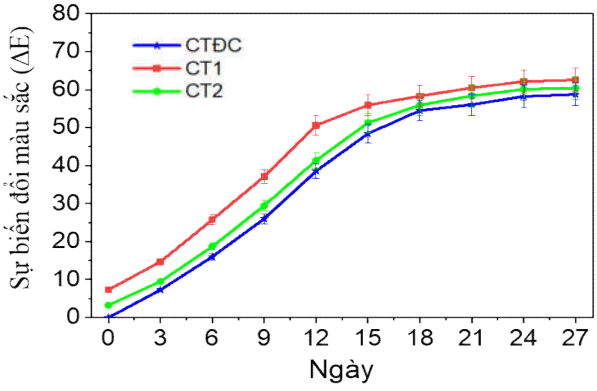
3.1. Ảnh hưởng của các phương pháp tiền xử lý đối với cấu trúc bên trong và sự biến đổi màu sắc của hành trong quá trình ủ

Kết quả của vi ảnh SEM ở các công thức khác nhau được thể hiện trong hình 1. So sánh với CTĐC, mẫu ở CT1 (tiền xử lý lạnh đông) thể hiện các tác động phá hủy rõ ràng đối với cấu trúc và thành tế bào, làm tế bào bị biến dạng, gãy. Mặt khác, cấu trúc tế bào của hành ở CT2 (tiền xử lý siêu âm) có thay đổi không đáng kể. Điều này cho thấy tiền xử lý siêu âm không làm biến dạng tế bào một cách rõ ràng so với tiền xử lý lạnh đông. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả của Chassagne và cs (2009) trên đối tượng táo cho thấy, các tế bào của táo khi trải qua quá trình lạnh đông/rã đông bị phá vỡ nghiêm trọng hơn so với ban đầu [17].

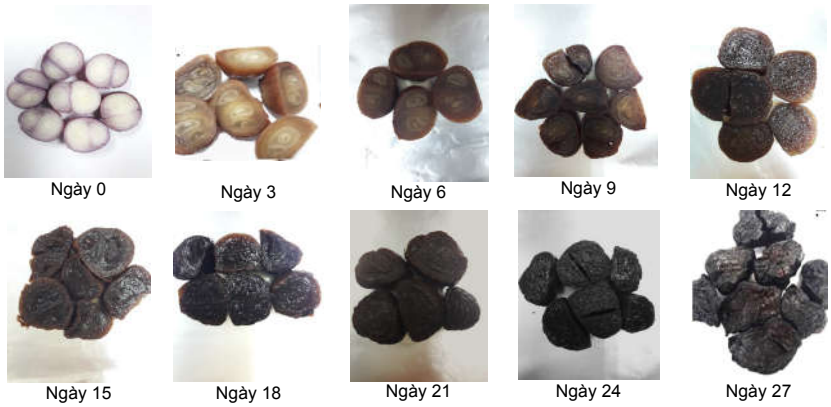


(A) (B) (C)

Hình 1. Ảnh SEM của hành ở mẫu đối chứng (A), tiền xử lý lạnh đông ở (B) và tiền xử lý sóng siêu âm (C)



Hình 2. Sự biến đổi màu sắc ΔE theo thời gian ủ nhiệt



Hình 3. Hình ảnh hành ở CT1 theo thời gian ủ nhiệt

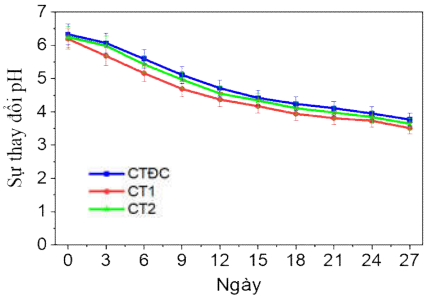
Kết quả về sự thay đổi màu sắc của hành trong quá trình ủ nhiệt được thể hiện trong hình 2 và 3. Vào ngày đầu của quá trình xử lý nhiệt, mức độ biến đổi màu sắc ΔE ở CT1 cao hơn so với CT2 và CTĐC. Tiền xử lý lạnh đông gây ra biến dạng cấu trúc và độ xốp trong hành. Khi cấu trúc tế bào bị hư hại, chất nền (polyphenol) và enzym oxy hóa (polyphenol oxidaza) sẽ được giải phóng, gây ra phản ứng hóa nâu do enzym [9].

Hình 2 cho thấy, ΔE của tất cả các công thức tăng nhanh vào ngày xử lý nhiệt thứ 3, 6, 9, 12. Từ ngày thứ 6, các mẫu hành đều chuyển sang màu nâu sẫm. Nguyên nhân là do ở nhiệt độ cao và độ ẩm cao, fructan bị thủy phân thành fructoza và glucoza, phản ứng với axit amin để tạo ra melanodin (phản ứng Mailard), làm sẫm màu hành và dẫn đến tăng ΔE [18]. Dù tất cả các mẫu hành đều chuyển dần sang màu đen nhưng sự biến đổi màu sắc ΔE khác nhau theo mức độ tổn thương cấu trúc tế bào. Trong các phương pháp tiền xử lý khác nhau, ΔE trong CT1 (tiền xử lý lạnh đông) cao nhất, tiếp theo là CT2 (tiền xử lý sóng siêu âm) và thấp nhất là CTĐC. Từ ngày thứ 15 đến ngày 27 của quá trình xử lý nhiệt, ΔE ở tất cả các công thức tăng chậm dần.

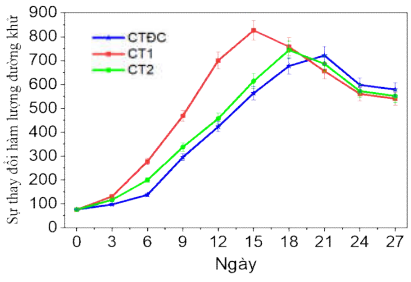
3.2. Ảnh hưởng của các phương pháp tiền xử lý đến độ pH, hàm lượng đường khử, axit amin tổng số của hành trong quá trình ủ nhiệt

Kết quả thay đổi giá trị pH, hàm lượng đường khử (mg/g ck), hàm lượng axit amin tổng số (mg/g ck) của hành trong quá trình ủ nhiệt được thể hiện trong hình 4 và cho thấy, giá trị pH ở các mẫu giảm dần theo thời gian và mức độ giảm ở các công thức là khác nhau. Cụ thể, giá trị pH của các mẫu ở CT1 (tiền xử lạnh đông) và CT2 (tiền xử lý siêu âm) giảm mạnh hơn so với CTĐC. Độ pH của hành giảm trong quá trình ủ nhiệt thể hiện sự gia tăng hàm lượng axit hữu cơ, làm cho hành có vị chua nhẹ. Theo Zhang và cs (2016), trong quá trình ủ nhiệt hành, hàm lượng axit axetic và axit

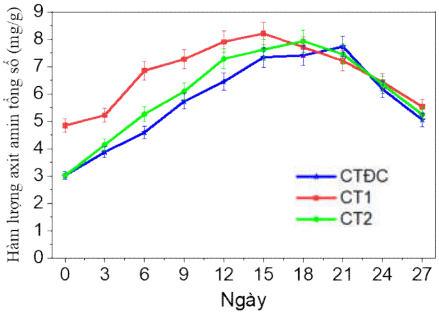
formic tăng lên đáng kể, chủ yếu là do sự phân tách của α-dicacbonyl và β-dicacbonyl của đường năm hoặc sáu các bon [19]. Mặt khác, giá trị pH của các mẫu hành được xử lý trước khi ủ (CT1, CT2) thấp hơn so với mẫu hành đối chứng cho thấy khi cấu trúc tế bào bị biến dạng sẽ dẫn đến việc giải phóng nhiều axit hữu cơ hơn và giá trị pH thấp hơn.



(A)



(B)



(C)

Hình 4. Sự thay đổi giá trị pH (A), hàm lượng đường khử (mg/g ck) (B), hàm lượng axit amin tổng số (mg/g ck) (C) trong quá trình ủ

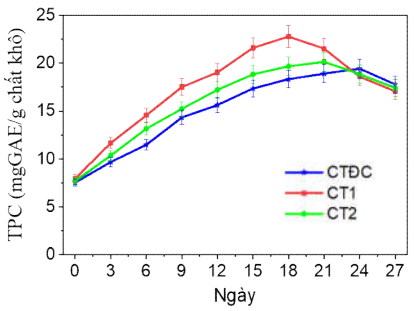
Đường khử, axit amin là cơ chất quan trọng cho phản ứng Maillard và hàm lượng của chúng ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng của hành đen. Hình 4B cho thấy, hàm lượng đường khử ở CT1 (tiền xử lý lạnh đông) đạt cao nhất sau 15 ngày, ở CT2 (tiền xử lý sóng siêu âm) đạt cao nhất sau 18 ngày và CTĐC đạt cao nhất sau 21 ngày. Ở CT1, do cấu trúc tế bào của hành trước khi ủ đã bị phá huỷ nên các phản ứng thủy phân polysacarit thành monosacarit và disacarit diễn ra mạnh mẽ hơn, dẫn đến hàm lượng đường khử cao hơn so với các công thức còn lại. Sau đó, hàm lượng đường khử ở các công thức bắt đầu giảm, thể hiện lượng đường khử tham gia phản ứng Maillard nhiều hơn so với lượng đường khử sinh ra từ các phản ứng thủy phân. Điểm uốn này được gọi là điểm cân bằng đường khử (RSBP). Điểm cân bằng đường khử xảy ra sớm thì quá trình ủ diễn nhanh hơn. Trước khi đạt RSBP, tốc độ tạo đường khử nhanh hơn tốc độ tiêu thụ và ngược lại [18].

Trong hình 4C, hàm lượng axit amin ban đầu tăng lên và sau đó giảm xuống trong tất cả các mẫu hành (hàm lượng axit amin ở CT1 giảm ở ngày 18, CT2 giảm ở ngày 21 và CT3 giảm ở ngày 24). Sự suy giảm hàm lượng axit amin tổng số ở giai đoạn sau thể hiện lượng axit amin tham gia phản ứng Maillard nhiều hơn so với lượng axit amin sinh ra. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Moreno-Rojas và cs (2019), cho thấy có sự gia tăng hàm lượng một số loại axit amin (cụ thể bao gồm phenylalanin, leuxin, isoleuxin, GABA, valin, prolin, alanin, glyxin, serin, aspartic axit và ornithin) trong giai đoạn đầu của quá trình sản xuất hành đen từ hành tây [2].

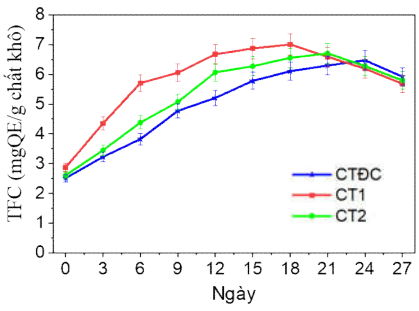
Phản ứng Maillard rất quan trọng trong quá trình chế biến hành đen và mức độ chuyển sang

màu nâu phản ánh tốc độ của phản ứng. Trong cùng một thời gian ủ, tốc độ hóa nâu của hành được xử lý lạnh đông (CT1) nhanh so với hành được xử lý sóng siêu âm (CT2) và hành đối chứng, nghĩa là sự suy giảm hàm lượng đường khử và axit amin trong hành được xử lý lạnh đông xảy ra sớm hơn.

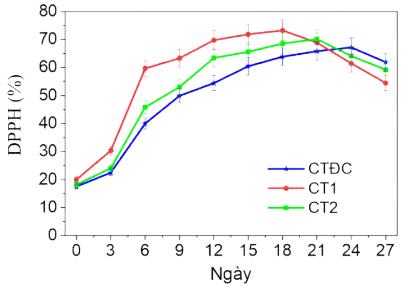
3.3. Ảnh hưởng của các phương pháp tiền xử lý đến hàm lượng phenolic tổng số, hàm lượng flavonoid tổng số và hoạt tính kháng oxy hóa của hành trong quá trình ủ nhiệt



(A)



(B)



(C)

Hình 5. Sự thay đổi hàm lượng phenolic tổng số (A), flavonoid tổng số (B) và hoạt tính chống oxi hoá (C) của hành trong quá trình ủ

Các hợp chất phenolic thể hiện đặc tính kháng khuẩn, chống khối u và chống oxy hóa, là thành phần quan trọng trong hành đen. Trong hình 5A, hàm lượng phenolic tổng số (TPC) trong hành ở CT1 đạt cao nhất vào ngày thứ 18 (24,77 ± 0,23 mg GAE/g ck), tăng khoảng 3,12 lần so với ban đầu. TPC của hành ở CT2 đạt cao nhất vào ngày thứ 21 (20,83±0,17 mg GAE/g ck), tăng khoảng 2,71 lần so với ban đầu. TPC của hành ở CTĐC đạt cao nhất vào ngày thứ 24 (19,43±0,11 mg GAE/g ck), tăng khoảng 2,58 lần so với ban đầu. Quá trình xử lý nhiệt đã cải thiện hàm lượng phenolic tổng số do sự phân cắt của các dạng liên kết (dạng là este hóa và glycosyl hóa), dẫn đến sự gia tăng các dạng tự do. Tiền xử lý lạnh đông phá hủy cấu trúc tế bào hành, giải phóng các polyphenol liên kết với thành tế bào và tăng tốc phản ứng giữa các chất khác nhau để tạo ra các dạng tự do. Sau đó, TPC ở các công thức đều giảm sau 18 ngày, nguyên nhân là do các hợp chất phenolic nhạy cảm với nhiệt, dễ bị phân hủy trong môi trường nhiệt độ cao kéo dài [10].

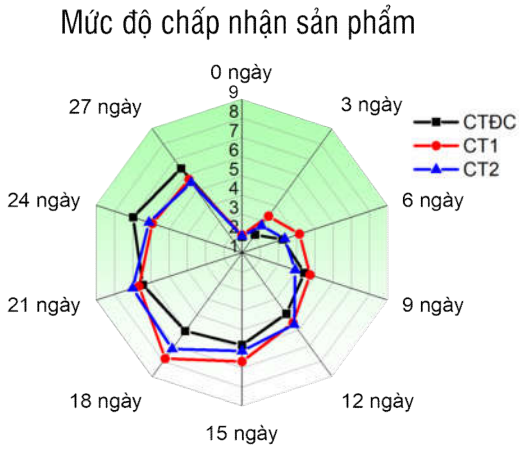
Kết quả ở hình 5B cho thấy TFC đều có xu hướng tăng lên trong 18 ngày đầu, trong đó, TFC của hành ở CT1 ở ngày thứ 18 có giá trị cao nhất so với các công thức còn lại (5,98±0,14 mg QE/g ck). Nguyên nhân của hiện tượng này là ngoài tổn thương mô do tiền xử lý gây ra, còn có nhiều flavones được giải phóng. Mặt khác, có thể là trong giai đoạn tiền xử lý, hoạt động của enzym chalcon synthaza đã được thúc đẩy, đây là enzym chủ chốt để sản sinh flavonoid trong thực vật [19]. Najman và cs (2020) lưu ý rằng biến đổi nội sinh của các tiền chất hoặc chất trung gian flavonoid có thể đã làm tăng hàm lượng flavonoid. Đó là sự chuyển đổi phenylpropane thành flavones hoặc

polyphenol oxidaza dần dần bị bất hoạt ở nhiệt độ cao. Vì vậy các polyphenol và flavones không bị oxy hóa nhưng bị tích lũy trong các mẫu, dẫn đến TFC tăng lên [10]. TFC bắt đầu giảm vào cuối quá trình ủ, lúc này một số hợp chất flavonoid nhạy cảm với nhiệt bị phân huỷ ở điều kiện nhiệt độ cao kéo dài, dẫn đến tốc độ hình thành nhỏ hơn tốc độ phân hủy.

Kết quả từ hình 5C cho thấy, hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu hành tăng lên sau quá trình ủ nhiệt (tăng khoảng 3-4 lần so với hành tươi). DPPH của mẫu hành CT1 đạt giá trị cao nhất vào ngày thứ 18, CT2 đạt cao nhất vào ngày 21, CTĐC đạt cao nhất vào ngày 24 và sau đó giảm xuống ở những ngày sau của quá trình ủ. Xu hướng biến đổi DPPH trong quá trình ủ nhiệt bằng nhiệt phù hợp với nghiên cứu của Moreno-Rojas và cs (2019) [2] trên hành tây (cùng chi với hành tím).

3.4. Ảnh hưởng của các phương pháp tiền xử lý chất lượng cảm quan của hành trong quá trình ủ nhiệt

Ảnh hưởng của các phương pháp tiền xử lý đến chất lượng cảm quan các mẫu hành tại các thời điểm khác nhau trong quá trình ủ được thể hiện trong hình 6. Kết quả cho thấy, có sự gia tăng về điểm đánh giá cảm quan theo thời gian, mặc dù mỗi phương pháp tiền xử lý có một xu hướng khác nhau.



Hình 6. Điểm đánh giá cảm quan của hành thời điểm khác nhau trong quá trình ủ

Điểm đánh giá cảm quan của mẫu hành đối chứng ở ngày thứ 21 và 27, của mẫu hành xử lý lạnh đông ở ngày 15 và 21, của mẫu hành xử lý sóng siêu âm ở ngày thứ 15 và 24 không có sự khác biệt đáng kể. Mức độ chấp nhận của mẫu hành ở CT1 tại thời điểm ngày 18 là cao nhất, ở mẫu hành CT2 tại thời điểm ngày 21, ở CTĐC tại thời điểm ngày 24 trong quá trình ủ.

Dựa vào xu hướng số liệu về thành phần dinh dưỡng và hoạt chất sinh học, kết hợp với điểm đánh giá mức độ chấp nhận sản phẩm, quyết định kết thúc quá trình ủ hành đen đối với CT1 là sau 18 ngày, CT2 sau 21 ngày và CTĐC là sau 24 ngày.

4. KẾT LUẬN

Phương pháp tiền xử lý lạnh đông, xử lý sóng siêu âm được áp dụng thử nghiệm vào quy trình sản xuất hành đen. Tiền xử lý lạnh đông có tác động rõ ràng đến cấu trúc của hành, thúc đẩy tốc độ hoá nâu, làm tăng hàm lượng đường khử, axit amin, TPC, TFC, hoạt tính kháng oxi hoá cao hơn so với tiền xử lý siêu âm và đối chứng không xử lý, đồng thời rút ngắn quá trình ủ nhiệt xuống còn 18 ngày.

Tiền xử lý siêu âm tác động đến cấu trúc tế bào không đáng kể, tuy nhiên cải thiện đáng kể đến thành phần dinh dưỡng, hoạt chất sinh học và chất lượng cảm quan của hành đen, rút ngắn quá trình ủ nhiệt xuống còn 21 ngày so với mẫu không xử lý cần 24 ngày. Vì vậy, phương pháp tiền xử lý lạnh đông có thể được coi là các phương pháp hứa hẹn để rút ngắn thời gian sản xuất và phát triển các sản phẩm hành đen với các đặc tính cảm quan và chức năng tốt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fattorusso, E., Iorizzi, M., Lanzotti, V., Taglialatela-Scafati, O. (2002). Chemical composition of shallot (*Allium ascalonicum* Hort.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 50: 5686-5690.

2. Moreno-Rojas, R., Pérez-Aparicio, J., Manuel Moreno-Rojas (2019). Changes in the Antioxidant Activity and Metabolite Profile of Three Onion Varieties during the Elaboration of 'Black Onion. *Food Chemistry,* 311: 1259-1271.

3. Koca, I., Tekguler, B., & Koca, A. F. (2016). Some physical and chemical characteristics of

Taşköprü and Chinese black garlics. *Acta Horticulturae*, *1143*, 221–226.

4. Chassagne-Berces, S., Poirier, C., Devaux, M. F., Fonseca, F., Lahaye, M., Pigorini, G. (2009). Changes in texture, cellular structure and cell wall composition in apple tissue as a result of freezing. *Food Research International*, 42(7), 788–797.

5. Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 813–835.

6. Kang, O. J. (2016). Physicochemical characteristics of black garlic after different thermal processing steps. *Preventive Nutrition and Food Science*, *21*(4), 348–354.

7. Li, N., Lu, X., Pei, H., & Qiao, X. (2015). Effect of Freezing Pretreatment on the Processing Time and Quality of Black Garlic. *Journal of Food Process Engineering*, *38*(4), 329–335.

8. Chi, T. P., Trang, B. T., Thi, N., Trinh, N., Thi, L., Tho, C., Thanh, N. T., Dinh Thang, T., Le Hang, H. T., Dang Quang, L., & Tuan, N. N. (2022). Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Antioxidant Compounds in Black Shallots *(Allium ascalonicum*) from Vietnam using Response Surface Methodology. *Malaysian Journal of Chemistry*, (24(1), 26-35.

9. Chen, Y. T., Lee, C. H., Chen, Y. A., Wu, J. T., Tsai, M. S., Cheng, K. C., & Hsieh, C. W. (2020). Preparation of S-allyl cysteine-enriched garlic by two-step processing. *LWT*, *124*.

10. Najman, K., Sadowska, A., & Hallmann, E. (2020). Influence of thermal processing on the bioactive, antioxidant, and physicochemical properties of conventional and organic agriculture black garlic (*Allium sativum* L.). *Applied Sciences (Switzerland)*, *10*(23), 1–17.

11. Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry, 31(3), 426–428.*

12. McGrath, R. (1972). Protein measurement by ninhydrin determination of amino acids released by alkaline hydrolysis. *Analytical Biochemistry,* 49(1), 95–102.

13. Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol.*, 299, 152–178

14. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3), 178–182.

15. Ho, K. Y., Tsai, C. C., Chen, C. P., Huang, J. S., & Lin, C. C. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, *15*(2).

16. Bedrníček, J., Laknerová, I., Lorenc, F., de Moraes, P. P., Jarošová, M., Samková, E., Tříska, J., Vrchotová, N., Kadlec, J., & Smetana, P. (2021). The use of a thermal process to produce black garlic: Differences in the physicochemical and sensory characteristics using seven varieties of fresh garlic. *Foods*, *10*(11).

17. Chassagne-Berces, S., Poirier, C., Devaux, M. F., Fonseca, F., Lahaye, M., Pigorini, G. (2009). Changes in texture, cellular structure and cell wall composition in apple tissue as a result of freezing. Food Research International, 42(7), 788–797.

18. Nakagawa, K., Maeda, H., Yamaya, Y., & Tonosaki, Y. (2020). Maillard reaction intermediates and related phytochemicals in black garlic determined by EPR and HPLC analyses. *Molecules*, *25*(19).

19. Zhang, X., Li, N., Lu, X., Liu, P., Qiao, X. (2016). Effects of temperature on the quality of black garlic. *J. Sci. Food Agric.*, 9, 2366–2372.

EFFECT OF DIFFERENT PRETREATMENTS ON BLACK SHALLOT QUALITY

Tran Phuong Chi[1,*], Le The Tam[1], Nguyen Tan Thanh[1],
Hoang Thi Le Hang[2], Nguyen Ngoc Tuan[3],
Trần Thanh Luu[4], Tran Dinh Thang[3]

[1]*Institute of Bio-Environmental Technology, Vinh University*

[2]*Fruit and Vegetable Research Institute*

[3]*Industrial University of Ho Chi Minh city*

[4]*Department of Agriculture and Rural Development, Tien Giang province*

[*]*Email: phuongchi53@gmail.com*

Summary

Black shallots are new products from shallots *(Allium ascalonicum*), which are processed by controlled aging at an appropriate temperature and humidity. In this study, the freezing pretreatment and the ultrasonic pretreatment were applied experimentally in the black shallots production process to break cell structure while maintaining external appearance of the raw materials. The study evaluated the effect of freezing pretreatment (-20°C, 30 h) (1); ultrasonic pretreatment (28 kHz, 2 h) (2) together with the control sample (no pretreatment) to the cell structure of the shallots; at the same time, the browning degree, reducing sugar content, total amino acids, bioactive compounds (total polyphenols, total flavonoids), antioxidant activity and sensory quality during a 27 day heat-processing (70°C, 80% RH) were investigated. The results showed that under the conditions in which the pretreatment was performed, the frozen pretreated shallots had the highest content of biological compounds and antioxidant activity in the shortest heat-processing time. Therefore, freezing pretreatment can be considered as promising methods to shorten the production time and develop black shallot products with good sensory and functional properties.

Keywords: *Black shallots, pretreatment, freezing, ultrasonic, antioxidant activity.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Hồng Phú

Ngày nhận bài: 9/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 7/4/2023

Ngày duyệt đăng: 14/4/2023

CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN SỰ GIẢM KHỐI LƯỢNG CỦA QUẢ DỨA *(Ananas comosus* L.) THEO THỜI GIAN THƯƠNG MẠI

Đỗ Viết Phương[1,*], Nguyễn Huỳnh Đình Thuấn[1], Phạm Thị Quyên[1]

TÓM TẮT

Hiện tượng giảm khối lượng của rau quả theo thời gian thương mại làm tăng rủi ro kinh doanh, một số nghiên cứu chỉ ra hình dạng bên ngoài của rau quả và môi trường xung quanh có khả năng ảnh hưởng đến sự hao hụt này. Tuy nhiên, hiện chưa được nghiên cứu có hệ thống về hình dạng của quả dứa và yếu tố môi trường xung quanh ảnh hưởng đến sự giảm khối lượng theo thời gian thương mại. Nghiên cứu được tiến hành nhằm tìm ra mối liên hệ giữa các yếu tố có nguy cơ làm giảm khối lượng. Nghiên cứu được thiết kế theo mô hình phân tích tương quan giữa các đại lượng thời gian (Time), chiều dài quả dứa (Length), đường kính quả (Diameter), nhiệt độ môi trường (Temperature), độ ẩm không khí (Moisture) với biến phụ thuộc là mức giảm khối lượng (Diminish). Kết quả cho thấy, chỉ số chiều dài quả có giá trị trung bình 13,92 ± 1,03 cm, đường kính của quả dứa là 10,03 ± 0,55 cm, nhiệt độ không khí trung bình 27 ± 0,49°C, độ ẩm không khí trung bình là 79,05 ± 4,55%. Phân tích tương quan và hồi quy đa biến có thể dự đoán được rằng, thời gian thương mại tăng 1 ngày và độ ẩm không khí giảm 1% thì khối lượng quả dứa giảm tương ứng là 15,8 g và 2,35 g.

Từ khóa: *Chiều dài, đường kính, giảm khối lượng, quả dứa, thời gian thương mại.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dứa được trồng phổ biến ở các nước nhiệt đới và cận nhiệt đới như Brazil, Indonesia, Ấn Độ và Việt Nam. Một số giống dứa được trồng phổ biến như: Cayenne, Red Spanish, Carbezona hay Hoa Lộc [1]. Việt Nam là một trong những quốc gia sản xuất dứa lớn trên thế giới, trong đó 90% diện tích tập trung ở phía Nam và Tiền Giang được gọi là "thủ phủ dứa" của Việt Nam, chiếm khoảng 40% sản lượng quả dứa của cả nước (trên 600.000 tấn/năm) [2].

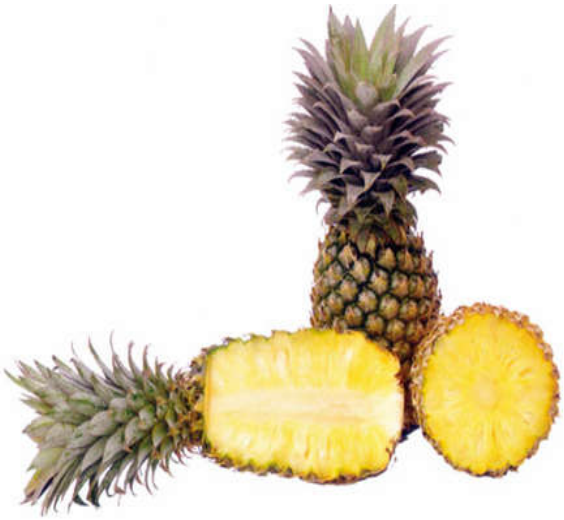
Theo Joseph-Adekunle và cs (2009), quả dứa sau khi thu hoạch và bảo quản ở nhiệt độ thường, các loại vi sinh vật gây hư hỏng bắt đầu hiện trên bề mặt quả dứa sau 3 ngày bảo quản; sau 6 ngày hiện tượng hư hỏng bắt đầu xảy ra và quả dứa hư hỏng gần như hoàn toàn vào ngày thứ 15 [3]. Trong điều kiện bảo quản 1°C với độ ẩm tương đối 88% thì thời hạn sử dụng của quả dứa kéo dài lên đến 21 ngày [4]. Nhiệt độ thấp được xem là phương pháp tối ưu cho việc bảo quản trái cây. Tuy nhiên, không phải lúc nào kho lạnh cũng sẵn sàng bởi chi phí đầu tư, duy trì sẽ tăng cao. Bên cạnh đó, trong quá trình xuất khẩu quả dứa tươi, các nhà kinh doanh gặp phải sự giảm khối lượng của quả dứa theo thời gian thương mại. Tuy nhiên, trong những năm gần đây nhiều nghiên cứu về quả dứa chưa chỉ ra được các yếu tố nào có liên quan đến việc giảm khối lượng theo thời gian thương mại. Do đó, nghiên cứu này nhằm mục tiêu tìm hiểu các yếu tố như: Chiều dài, đường kính, nhiệt độ không khí, độ ẩm không khí có liên quan đến hiện tượng giảm khối lượng theo thời gian thương mại.

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh
[*] Email: dovietphuong@iuh.edu.vn

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Địa điểm lấy mẫu: Chợ nông sản Thủ Đức, thành phố Hồ Chí Minh. Thời gian lấy mẫu dứa 7-8 giờ sáng.



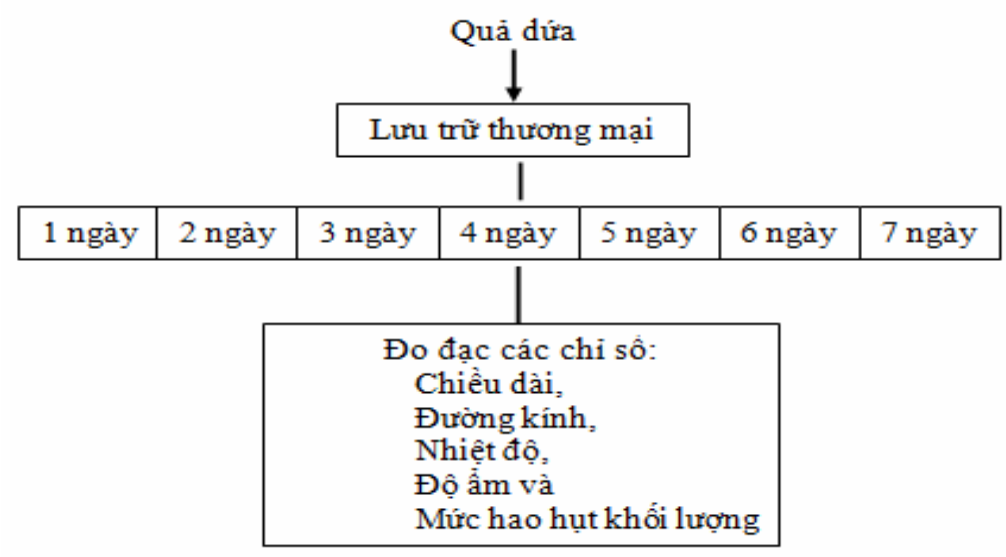
Hình 1. Nguyên liệu dứa Queen

Giống dứa chủ yếu thu thập được là giống Queen. Nguồn nguyên liệu dứa được trồng, thu hoạch và vận chuyển từ Tân Phước – Tiền Giang. Đặc điểm của giống dứa này là quả hình trụ, mắt quả nhỏ và lồi, thịt màu vàng, mùi thơm đậm.

Tiêu chuẩn lựa chọn bao gồm những quả có chiều dài 12 - 16 cm, đường kính 9 - 13 cm, khối lượng tối thiểu 900 gam trở lên. Độ tuổi thu hoạch 90 - 95 ngày sau khi nở hoa.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Có tất cả 7 công thức thí nghiệm, mỗi công thức đo đạc 27 lần, mỗi lần đo 1 quả dứa. Tổng số mẫu thí nghiệm là 189. Các chỉ số được đo lường trong nghiên cứu bao gồm: chiều dài quả dứa (length), đường kính quả dứa (diameter), nhiệt độ không khí (tempareture), độ ẩm không khí (moisture), mức hao hụt khối lượng sau thời gian 1 - 7 ngày (diminish). Sơ đồ bố trí thí nghiệm được trình bày ở hình 2.



Hình 2. Sơ đồ bố trí thí nghiệm phân tích tương quan nhiều biến

Chiều dài, đường kính quả dứa được tính theo đơn vị centimet (cm). Chiều dài là khoảng cách từ phần đầu đến phần cuối của quả. Đường kính là đại lượng đặc trưng cho độ dài vòng tròn lớn nhất của quả. Chỉ số chiều dài, đường kính được xác định bằng thước kẹp điện tử Mitutoyo 500 (Japan, dải đo 0 - 200 mm, độ chia 0,01 mm).

Nhiệt độ tính theo đơn vị Celcius (°C) và độ ẩm của không khí tính theo phần trăm (%). Nhiệt độ và độ ẩm được xác định bằng nhiệt ẩm kế tự ghi RC-4HC (Elitech, dải đo nhiệt độ -30 - 60°C, độ ẩm 0-99%, độ chính xác nhiệt độ ± 0,5°C, độ ẩm ± 1%.

Mức hao hụt khối lượng tính theo gam (g), chính là khối lượng ban đầu của quả dứa trừ cho

khối lượng sau thời gian theo dõi (ngày). Khối lượng được đo bằng cân kỹ thuật Sartorius-TE 2101 (Đức, độ lặp 10 mg, độ phân giải nội 1/16.777.216, thời gian ổn định 1 giây).

2.3. Thu thập và phân tích số liệu

Đây là nghiên cứu cắt ngang, tức là các đối tượng nghiên cứu được thu thập dữ liệu tại một thời điểm. Thời gian nghiên cứu từ tháng 6 đến tháng 12. Địa điểm thu số liệu tại thành phố Hồ Chí Minh, nằm trong tọa độ 10°10' – 10°38' Bắc và 106°22' – 106°54' Đông. Tại đây, nhiệt độ trung bình 27°C, độ ẩm không khí trung bình 75,7%.

Phương pháp thống kê mô tả: Sử dụng phần mềm R-Studio với số mẫu là 189, bao gồm 5 biến độc lập: Chiều dài, đường kính, nhiệt độ, độ ẩm không khí và 1 biến phụ thuộc: Thời gian thương mại.

Phương pháp phân tích tương quan đa chiều: Mối liên hệ giữa các biến độc lập, giữa biến độc lập với biến phụ thuộc được phân tích bằng phương pháp tương quan Pearson (sử dụng phần mềm R-Studio). Phương pháp phân tích hồi quy đa biến: Để dự đoán hoặc biết được biến độc lập nào có mối tương quan mạnh hay yếu đến biến phụ thuộc thì cần sử dụng mô hình hồi quy đơn biến, với biến thời gian thương mại là biến độc lập, còn mức hao hụt khối lượng là biến phụ thuộc. Tất cả các mô hình phân tích trong nghiên cứu được xử lý trên phần mềm R-Studio [5].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Tiến hành khảo sát 189 mẫu của 6 biến, trong đó có 5 biến độc lập là thời gian, chiều dài, đường kính, nhiệt độ, độ ẩm và 1 biến phụ thuộc là mức hao hụt. Kết quả phân tích thống kê mô tả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phân tích mô tả của các đại lượng đo

Yếu tố	Số mẫu	Trung bình	Cao nhất	Thấp nhất	Độ lệch chuẩn
Thời gian (ngày)	189	4,0	7,0	1,0	2,01
Chiều dài (cm)	189	13,92	15,9	12,5	1,03
Đường kính (cm)	189	10,03	11,2	9,4	0,55
Nhiệt độ (°C)	189	27,0	27,5	26,3	0,49
Độ ẩm (%)	189	79,05	83,5	70,0	4,55
Mức hao hụt khối lượng (g)	189	42,51	164,0	0,0	45,81

Bảng 1 cho thấy, khảo sát thời gian thương mại từ 1 - 7 ngày, kết quả đo lường của chỉ số chiều dài của quả có giá trị trung bình 13,92 ± 1,03 cm, đường kính của quả dứa 10,03 ± 0,55 cm, nhiệt độ không khí trung bình 27,0 ± 0,49°C, độ ẩm không khí trung bình 79,05 ± 4,55%.

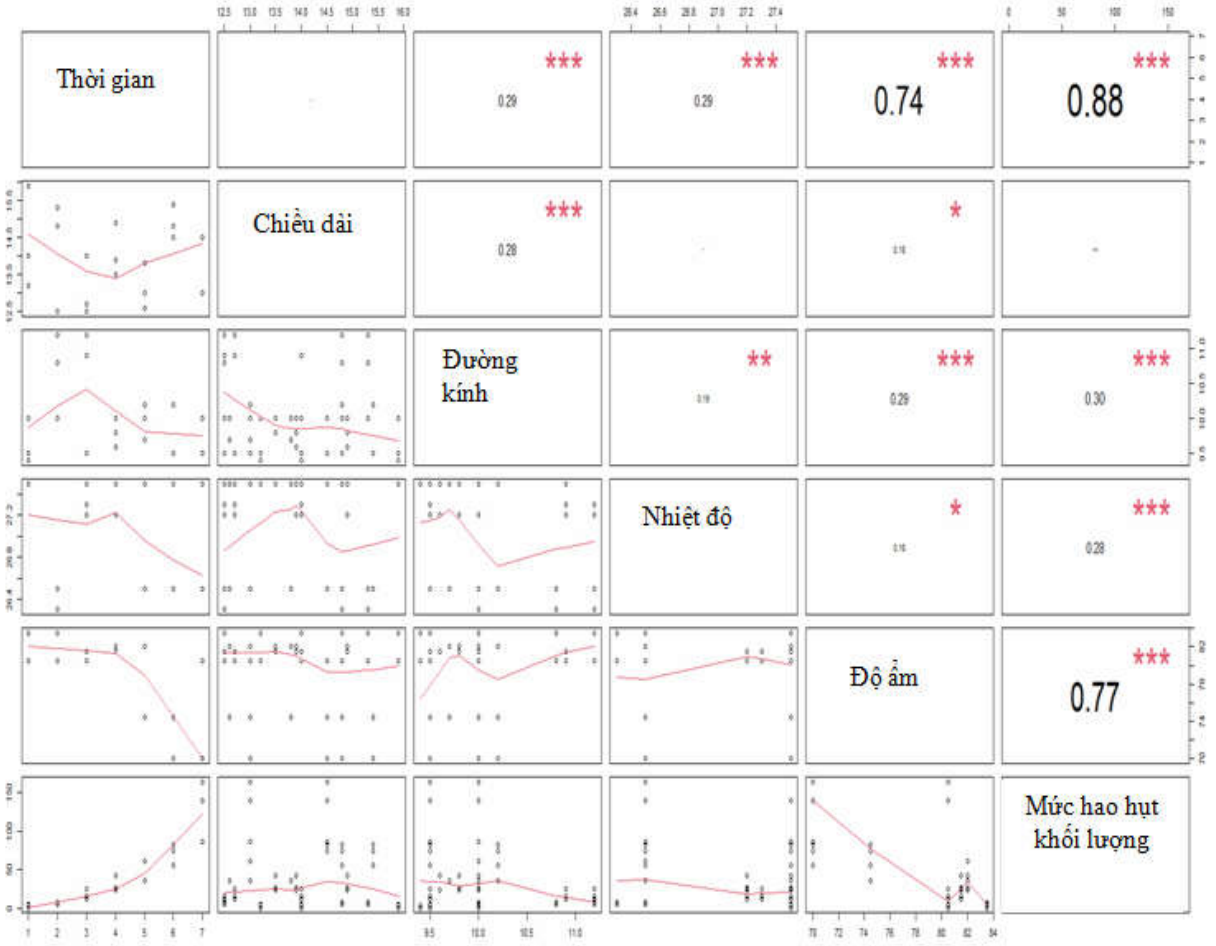
Tất cả các giá trị trung bình đo đạc được hoàn toàn phù hợp với các chỉ số (biến giá trị) được trình bày ở phần trên. Ngoài ra, các số liệu thống kê trong bảng 1 đã cung cấp những dữ liệu cơ bản về xu hướng, tính biến thiên và phạm vi của các biến trong toàn bộ dữ liệu thu thập được. Tuy nhiên để biết được các chỉ số đo lường có khác nhau theo thời gian thương mại hay không cần phải tiếp tục phân tích mối tương quan giữa các đại lượng trong bộ số liệu thu thập được.

Kết quả phân tích tương quan giữa các chỉ số thời gian, chiều dài, đường kính, nhiệt độ, độ ẩm và mức hao hụt được trình bày ở hình 3 và bảng 2.

Bảng 2. Ma trận tương quan giữa các đại lượng đo

Yếu tố	Thời gian	Chiều dài	Đường kính	Nhiệt độ	Độ ẩm	Mức hao hụt khối lượng
Thời gian (ngày)	1	-0,04	-0,29	-0,29	-0,74	0,88
Chiều dài (cm)	-0,04	1	-0,28	-0,03	-0,18	0,1
Đường kính (cm)	-0,29	-0,28	1	-0,19	0,29	-0,30
Nhiệt độ (°C)	-0,29	-0,03	-0,19	1	0,18	-0,28
Độ ẩm (%)	-0,74	-0,18	0,29	0,18	1	-0,77
Mức hao hụt khối lượng (g)	0,88	0,10	-0,30	-0,28	-0,77	1

Bảng 2 cho thấy, chỉ số chiều dài không có sự khác nhau theo thời gian thương mại và theo nhiệt độ môi trường (vì p-value > 0,05). Các đại lượng còn lại đều có sự khác nhau theo thời gian như: chỉ số đường kính (p-value < 0,01), nhiệt độ (p-value < 0,01), độ ẩm không khí (p-value < 0,01) và mức độ hao hụt khối lượng qua các ngày cũng có sự khác nhau (p-value < 0,01).



Hình 3. Biểu đồ mô tả mối tương quan đa chiều giữa chỉ số thời gian, chiều dài, đường kính, nhiệt độ, độ ẩm với mức hao hụt

Để thấy rõ mức độ tương quan giữa các biến độc lập cũng như giữa biến độc lập với biến phụ thuộc thì bảng 2 chưa thể hiện rõ điều này. Do đó, hình 3 mô tả chi tiết hơn mức độ tương quan giữa các chỉ số thời gian, chiều dài, đường kính, nhiệt độ, độ ẩm với mức hao hụt.

Hình 3 cho thấy, chiều dài, đường kính và nhiệt độ có mối tương quan yếu với thời gian. Trong khi, độ ẩm và mức hao hụt có mối tương quan mạnh đến thời gian (bởi vì giữa thời gian-mức hao hụt có r = 0,88 và độ ẩm = mức hao hụt có r = 0,77). Điều này có nghĩa là thời gian thương mại và độ ẩm môi trường là hai yếu tố ảnh hưởng mạnh nhất đến mức độ giảm khối lượng của quả dứa.

Ngoài ra, hình 3 còn cho thấy, chiều dài có mối tương quan yếu với các yếu tố còn lại. Trong khi đường kính và nhiệt độ có mối tương quan yếu với độ ẩm và mức hao hụt. Điều này có thể cho thấy, chiều dài không ảnh hưởng đến độ ẩm và mức độ giảm khối lượng quả dứa.

Như vậy, từ kết quả ở hình 3 có thể đưa đến nhận định như sau: Thời gian và độ ẩm là hai yếu tố ảnh hưởng mạnh nhất đến mức hao hụt. Tuy nhiên, thời gian lại có mối tương quan cao đến độ ẩm.

Do đó, cần phân tích hồi quy đa biến để biết giữa thời gian và độ ẩm, biến nào ảnh hưởng đến mức hao hụt lớn hơn. Kết quả phân tích hồi quy đa biến được thể hiện trong bảng 3.

Kết quả này được biểu diễn dạng phương trình: Mức hao hụt = 227,66 + 15,80*Thời gian + 3,22*Chiều dài – 1,59*Đường kính – 3,37*Nhiệt độ – 2,35*Độ ẩm (Bảng 3). Phương trình này cho cho thấy, các nhận định như sau:

Thời gian (Time) là yếu tố ảnh hưởng mạnh nhất đến biến phụ thuộc (Diminish) vì hệ số hồi quy là +15,8 đồng thời giá trị p-value là thấp nhất (6,26e-28) cho thấy mối tương quan giữa thời gian và mức hao hụt là đáng tin cậy.

Yếu tố chiều dài (Length) có ảnh hưởng nhỏ đến mức độ giảm khối lượng dứa (Diminish) với hệ số hồi quy là +3,22 nhưng giá trị p-value tương đối cao. Tuy nhiên, sự ảnh hưởng của chiều dài đến mức hao hụt vẫn có ý nghĩa thống kê.

Yếu tố độ ẩm môi trường (Moisture) có ảnh hưởng mạnh đến mức độ giảm khối lượng quả dứa (Diminish) với hệ số hồi quy -2,35 nhưng giá trị p-value rất thấp (6,31e-06) cho thấy mối quan hệ giữa độ ẩm và mức hao hụt là đáng tin cậy. Nếu so sánh mức độ tương quan giữa độ ẩm và chiều dài đến mức hao hụt thì độ ẩm có ảnh hưởng mạnh hơn đến mức hao hụt so với chiều dài vì hệ số hồi quy (coefficient) của độ ẩm là -2,35, trong khi đó hệ số hồi quy của chiều dài là 3,22. Điều này có thể giải thích bằng việc độ ẩm ảnh hưởng trực tiếp đến sự giảm khối lượng của quả dứa theo thời gian thương mại, trong khi chiều dài có thể chỉ ảnh hưởng gián tiếp thông qua các yếu tố khác.

Hai yếu tố đường kính (Diameter) và nhiệt độ môi trường (Temperature) không có ảnh hưởng đáng kể đến mức độ giảm khối lượng dứa (Diminish) vì giá trị p-value > 0,05.

Bên cạnh đó, phương trình này cho thấy, ước đoán, thời gian tăng 1 ngày thì mức độ giảm khối lượng dứa sẽ tăng 15,8 g; chiều dài tăng 1 cm thì mức độ giảm khối lượng dứa tăng 3,22 g và độ ẩm không khí giảm 1% thì mức độ giảm khối lượng dứa tăng 2,35 g.

Như vậy, yếu tố thời gian ảnh hưởng lớn hơn yếu tố độ ẩm không khí và 2 đại lượng thời gian thương mại và độ ẩm không khí ảnh hưởng đến hao hụt khối lượng 80% (R-squared = 0,80).

Một giả định về các yếu tố hình dạng của rau quả và môi trường xung quanh ảnh hưởng đến việc giảm khối lượng theo thời gian. Hình dạng của quả được xác định theo chỉ số chiều dài và đường kính; môi trường xung quanh được xác định chỉ số nhiệt độ và độ ẩm. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu này cho thấy, giả định yếu tố hình dạng có liên quan với việc giảm khối lượng rất thấp, tức mối tương quan giữa đường kính với mức hao hụt là 30% (p-value < 0,01) [6, 7]. Dữ liệu này chỉ ra rằng, chỉ số thời gian và độ ẩm có liên hệ rất lớn với mức hao hụt, mối liên hệ thời gian với mức hao hụt là 88% (p-valuve < 0,01) và độ ẩm liên hệ với mức hao hụt là 77%. Phát hiện này còn khẳng định thêm thời gian có liên quan với độ ẩm 74%.

Theo Dhar và cs (2008), sự hao hụt khối lượng của quả dứa tăng dần theo thời gian bảo quản thương mại. Cụ thể, sau 4 ngày bảo quản ở nhiệt độ thường thì hao hụt khối lượng là 5,79%, sau 8 ngày tăng lên 8,76% và sau 12 ngày là 12,74% [8]. Nghiên cứu trên đã lý giải cho sự hao hụt khối lượng quả dứa là do độ ẩm của quả dứa cũng giảm dần theo thời gian. Độ ẩm ban đầu là 87,28%, sau 4 ngày còn 84,36%, sau 8 ngày còn 77,73% và sau 12 ngày giảm còn 76,18%. Tuy nhiên, nghiên cứu này chỉ lý giải được 1 yếu tố có tác động đến sự hao hụt khối lượng mà chưa cho thấy các yếu tố khác có tác động đến hay không? cũng như chưa thấy rõ mức độ ảnh hưởng của các yếu tố đó đến sự giảm khối lượng quả dứa.

Một nghiên cứu trên quả dứa tại Ấn Độ cho thấy rằng, theo thời gian bảo quản thương mại ngoài việc khối lượng bị hao hụt thì chiều dài và đường kính cũng thay đổi theo. Sau 5 ngày bảo quản thì hao hụt khối lượng là 8,85%, chiều dài quả dứa giảm 6,32% đồng thời đường kính bị giảm 5,25%. Còn sau 10 ngày thì hao hụt 14,16%, chiều dài và đường kính giảm tương ứng là 6,86% và 6,45% [9]. Theo ghi nhận của Minh (2021), khi tiến hành nghiên cứu sự giảm khối lượng của quả dứa ở Việt Nam, trong điều kiện nhiệt độ 30^{o}C, độ ẩm tương đối 85 - 90%, kết quả ghi nhận sau 3 ngày khối lượng giảm 2,78%; sau 6 ngày giảm 4,59%; sau 9 ngày giảm 6,12% và 12 ngày giảm 8,03% [10]. Nhìn chung các kết quả nghiên cứu trước đây cũng đã chỉ ra khối lượng, chiều dài, đường kính có sự suy giảm theo thời gian thương mại. Tuy nhiên các kết quả cũng chưa phản ánh rõ mối tương quan giữa các yếu tố gây nên hao hụt khối lượng cũng như chưa cung cấp các số liệu về mức độ ảnh hưởng của các yếu tố đến độ suy giảm khối lượng quả dứa.

Trong nghiên cứu này, dữ liệu đã cho tín hiệu mối liên hệ của thời gian thương mại, độ ẩm với mức hao hụt. Trong khi đó, độ ẩm thay đổi theo thời gian, vì độ ẩm chính là hàm lượng nước phân bố trong không khí, khi độ ẩm có giá trị thấp thì nước trên bề mặt của quả dứa sẽ bay hơi, làm cho thể tích, khối lượng của quả giảm theo thời gian [11, 12]. Kết quả nghiên cứu khi kéo dài thời gian bán 1 ngày thì khối lượng giảm 15,8 g. Giả sử có lô sản phẩm 10.000 kg thì sẽ tổn thất 158 kg/ngày. Điều này khiến cho nhà nhập khẩu, bán lẻ suy nghĩ lại và quan tâm hơn các yếu tố ảnh hưởng [13]. Tuy nhiên, nhiệt độ, độ ẩm không khí biến đổi trong ngày, việc đo chính xác rất khó thực hiện, các giá trị đo tính theo mức trung bình chung của khu vực. Ngoài ra, cũng giống như các nghiên cứu khác, các mẫu thu chủ yếu tập trung ở khu vực phía Nam, trong khi quả dứa ở Việt Nam trải dài từ Bắc tới Nam, vì vậy kết quả không thể phản ánh cho các vùng địa lý khác.

4. KẾT LUẬN

Thời gian thương mại càng dài thì khối lượng quả dứa càng giảm. Những quả dứa có kích thước chiều dài lớn hơn sẽ giảm khối lượng nhiều hơn so với dứa có chiều dài ngắn hơn. Đường kính quả dứa càng lớn thì mức hao hụt khối lượng sẽ nhỏ hơn.

Trong các yếu tố khảo sát thì thời gian thương mại là yếu tố có ảnh hưởng lớn nhất đến mức hao hụt (với mức tương quan 88%), sau đó là độ ẩm không khí với mức tương quan là 77%. Kết quả này có ý nghĩa cho các nhà kinh doanh tham khảo nhằm khắc phục hiện tượng giảm khối lượng trong thời gian thương mại, góp một phần vào việc giảm rủi ro trong kinh doanh mặt hàng nông sản nói chung và quả dứa nói riêng.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin cảm ơn các đồng nghiệp và cộng sự Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh (IUH) đã hỗ trợ thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hossain M. (2016). World pineapple production: An overview. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 16(4): 11443-11456.

2. Giang C. T. k. t. T. (2020). Niên giám thống kê tỉnh Tiền Giang, Tiền Giang.

3. Joseph-Adekunle T., Okelana M. & Adekoya I. (2009). Storage of pineapple fruits under different conditions: implication on shelf

life. *Nigerian Journal of Horticultural Science*, 14(1): 76-82.

4. Chowdhury M., Miaruddin M., Rahman M. & Khan M. (2019). Effect of temperature on the quality and storage life of pineapple. *Journal of Agricultural Engineering*, 42(1): 45-50.

5. Kabacoff R. (2022). R in Action: Data Analysis and Graphics with R and Tidyverse, Simon and Schuster.

6. Zhao S., Han X., Liu B., Wang S., Guan W., Wu Z. & Theodorakis P. E. (2022). Shelf-life prediction model of fresh-cut potato at different storage temperatures. *Journal of Food Engineering*, 317: 110867.

7. Ansah F. A., Amodio M. L. & Colelli G. (2018). Quality of fresh - cut products as affected by harvest and postharvest operations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(10): 3614-3626.

8. Dhar M., Rahman S. & Sayem S. (2008). Maturity and post harvest study of pineapple with quality and shelf life under red soil. *Int. J. Sustain. Crop Prod*, 3(2): 69-75.

9. Mandal D., Hazarika T. & Nautiyal B. (2015). Effect of post-harvest treatments on quality and shelf life of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.'Giant Kew') fruits at ambient storage condition. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 6(4): 490-496.

10. Minh N. (2021). Influence of hot water treatment to quality properties of pineapple (*Ananas comosus*) fruit during storage. *Food Research*, 5(5): 186-194.

11. Ahmad M. S., Siddiqui M. W., Ahmad M. S. & Siddiqui M. W. (2015). Factors affecting postharvest quality of fresh fruits. *Postharvest quality assurance of fruits: practical approaches for developing countries*: 7-32.

12. Stasi A., Colelli G. & Garini F. (2019). Fruits and Vegetables, Elsevier. 101-126.

13. Paull R. E., Chen N. J. & Oliveira J. G. (2018). Pineapple postharvest. *Controlled and Modified Atmosphere use for Fresh and Fresh-cut Produce. New York: Elsevier*.

FACTORS AFECTING THE WEIGHT LOSS OF PINEAPPLE (*Ananas comosus* L.) OVER COMMERCIAL TIME

Do Viet Phuong, Nguyen Huynh Dinh Thuan, Phạm Thi Quyen

Summary

The phenomenon of rising volume to commercial time increases business risk loss, some research indicates the morphology of the fruit and vegetables is likely to affect this shrinkage. However, there has not been systematic studies on the morphology of a pineapple affects your weight by time. Scientists conduct research to find out the relationship between the risk factors which reduce the volume. The research was designed to analyze the correlation between the magnanimity of time, length, diameter, temperature, moisture to diminish. The results shows that length is the mean 13.92 ± 1.03 cm, diameter of result is 10.03 ± 0.55 cm, average air temperature 27 ± 0.49°C, average humidity is 79.05 ± 4.55%. Correlation and multiple regression analysis could predict that if the commercial time increases by 1 day and the air humidity decreases by 1%, the corresponding decrease in pineapple weight is 15.8 grams and 2.35 grams, respectively.

Keywords: *Commercial time, diameter, diminish, length, pineapple.*

Người phản biện: TS. Lê Đức Thông

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 21/3/2023

Ngày duyệt đăng: 28/3/202

ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ NHÃN LỒNG/TIM SEN VÀ TỶ LỆ NƯỚC/NGUYÊN LIỆU TRÍCH LY ĐẾN CÁC THÀNH PHẦN CHỐNG OXY HÓA, THÔNG SỐ MÀU SẮC VÀ GIÁ TRỊ CẢM QUAN CỦA SẢN PHẨM

Nguyễn Duy Tân[1,*], Võ Thị Xuân Tuyền[1],
Trần Nghĩa Khang[1], Đống Thị Anh Đào[2]

TÓM TẮT

Nhãn lồng (*Passiflora foetida* L.) hay còn gọi lạc tiên, là một loại thảo dược có chứa nhiều hoạt chất sinh học có khả năng hỗ trợ điều trị suy nhược thần kinh, mất ngủ, ho. Tim sen (*Embryo nelumbinis)* cũng là dược liệu quan trọng có nhiều công dụng trong điều trị huyết áp cao, tim đập nhanh, hồi hộp, mất ngủ. Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ phối chế giữa nhãn lồng và tim sen (8/1, 10/1, 12/1 và 14/1 w/w) cũng như tỷ lệ nước và nguyên liệu trích ly (60/1, 70/1, 80/1 và 90/1 v/w) đến hàm lượng các hoạt chất sinh học (tannin, flavonoid, polyphenol, alkaloid và saponin), hoạt động chống oxy hóa (DPPH, FRAP), các thông số màu sắc (L, a, b và ΔE) và giá trị cảm quan của sản phẩm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ phối chế tối ưu giữa nhãn lồng/tim sen là 12/1 w/w; tỷ lệ nguyên liệu/nước trích ly là 1/80 w/v. Ở điều kiện tối ưu này, hàm lượng các hoạt chất sinh học trong sản phẩm lần lượt là tannin 2,36 mg TAE/g, flavonoid 4,82 mg QE/g, polyphenol 8,93 mg GAE/g, alkaloid 14,74 mg CE/g, saponin 6,74 mg SE/g. Khả năng khử gốc tự do DPPH là 69,75% và khả năng khử sắt FRAP 30,18 μM $FeSO_4$/g. Các thông số màu sắc L 32,05, a -0,18, b 1,08 và ΔE 61,85. Sản phẩm có giá trị cảm quan cao về màu sắc, mùi, vị và mức độ ưa thích.

Từ khóa: *Chống oxy hóa, hoạt chất sinh học, giá trị cảm quan, nhãn lồng, tim sen.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây nhãn lồng (*Passiflora foetida* L.) hay cây lạc tiên là loài thực vật mọc tự nhiên, được phân bố rộng khắp các tỉnh thành trong cả nước. Cây nhãn lồng có vị ngọt, hơi đắng, tính mát có tác dụng thanh nhiệt, giải độc, lợi tiểu, chữa thần kinh suy nhược. Hàm lượng flavonoid toàn phần là 0,074% và alkaloid 0,033% [1]. Theo nghiên cứu của Yue và cs 2014 [2] thì lá nhãn lồng có chứa flavonoid, kể cả vitexin, isovitexin, saponarin, orientin, isoorientin, api-genin-8-C-diosgenin-diglucoside, luteolin methylamino, lutein 7-β-D-glucoside. Nghiên cứu của Subramani và cs 2014 [3] cho thấy, cây nhãn lồng có chứa các hợp chất alkaloid, phenolic, tannin, flavonoid, glycosides, steroid và resin. Trong lá nhãn lồng khô: Độ ẩm 1,88; tro 28,70%; chất xơ 9,58%; protein 25,09%; chất béo 2,39%; carbohydrate 40,58% [4]. Alkaloid được chiết từ cây nhãn lồng có tác dụng làm giảm hoạt động của chuột nhắt trắng được kích thích do dùng cafein. Chế phẩm Passerynum (lạc tiên, vông nem, lá sen, thảo quyết minh, hạt tơ hồng, lá dâu, hạt keo giậu, sâm đại hành) có tác dụng làm giảm trạng thái hưng phấn thần kinh ở chuột nhắt trắng (liều 0,2 g/20 g) đã được dùng cafein; có tác dụng gây hạ huyết áp, tăng dần số và biên độ hô hấp của thỏ thí nghiệm. Chế phẩm có độc tính thấp, có thể dùng với liều 75 g/kg mà không gây chết súc vật. Trên lâm sàng, Passerynum làm cho bệnh nhân ngủ dễ dàng, ngon giấc, không làm thay đổi huyết áp [5]. Ngày nay cây nhãn lồng được dùng để chế biến thành cồn nước làm thuốc an thần, chữa mất ngủ,

[1] Khoa Nông nghiệp và Tài nguyên thiên nhiên, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
*Email: ndtan@agu.edu.vn
[2] Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

tim hồi hộp. Nhưng thường phối hợp với nhiều vị thuốc khác như tim sen, lá dâu tằm [6].

Tim sen (*Embryo nelumbinis*) hay liên tâm là chồi mầm phơi hoặc sấy khô lấy ở hạt sen. Đồng Tháp là tỉnh có diện tích trồng sen lấy hạt lớn nhất nước với diện tích 750 ha và Việt Nam là nước có sản lượng sen lớn, hàng năm cung cấp từ vài trăm tấn đến 1.000 tấn hạt sen cho thị trường trong nước và xuất khẩu. Phần liên tâm có màu lục sẫm chứa chlorophyll nên giúp cây có thể quang hợp ngay khi vừa mới nẩy mầm. Mùa hoa vào tháng 5 - 6, mùa quả vào tháng 7 - 9 [1], [6], [7]. Tim sen chứa alkaloid 0,85 - 0,96% gồm lotusine armepavin, liensinin, izoliensinin, neferin, roemerin, anonain, pronuciferin. Tim sen có vị đắng, có tác dụng thanh tâm, điều nhiệt, trị tâm phiền, ít ngủ, khát, thổ huyết, tim hồi hợp, lo lắng, tăng huyết áp. Ngày dùng 2 - 4 g dạng thuốc sắc, thường phối hợp với các vị thuốc khác [1]. Theo Paudel và Panth (2015) [8], thành phần hóa học trong tim sen bao gồm: Nuciferine, lotusine, pronuciferine, hyperin, demethylcoclaurine, rutin.

Với những tác dụng dược lý tốt cho sức khỏe của nhãn lồng và tim sen, nhiều người dân đã tận dụng nguồn nguyên liệu này như một liều thuốc chữa bệnh, cải thiện giấc ngủ, giúp an thần. Tuy nhiên, cho đến nay chưa có nhiều nghiên cứu chế biến từ 2 nguyên liệu này thành sản phẩm có tác dụng hỗ trợ sức khỏe. Vì thế việc nghiên cứu chế biến nước giải khát nhãn lồng - tim sen là điều cần thiết nhằm tạo sản phẩm nước uống tiện lợi, chứa nhiều hoạt chất sinh học có thể hỗ trợ chứng mất ngủ ở người lớn tuổi. Bước đầu tiên của quy trình chế biến là khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ phối chế nhãn lồng/tim sen và tỷ lệ giữa nước/nguyên liệu trích ly đến hàm lượng các hoạt chất sinh học và giá trị cảm quan của dịch trích ly được thực hiện.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu và bố trí thí nghiệm

Nguyên liệu: Nhãn lồng (*Passiflora foetida* L.) được thu nhận từ hộ nông dân ở thị trấn Phú Hòa, huyện Thoại Sơn, tỉnh An Giang; được đem về phòng thí nghiệm rửa sạch, để ráo, tiến hành sấy khô ở 60°C đến hàm ẩm ≤ 10%, cắt nhỏ với kích thước 2 - 3 cm, cho vào bao bì lưu trữ, sẵn sàng cho nghiên cứu. Tim sen khô (*Nelumbo nucifera*) được mua từ Công ty sen Đồng Tháp. Đường phèn của Công ty đường Biên Hòa.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nhân tố và 3 lần lặp lại. Nhân tố tỷ lệ nhãn lồng/tim sen (8/1, 10/1, 12/1 và 14/1 g/g) và nhân tố tỷ lệ nguyên liệu/nước trích ly (1/60, 1/70, 1/80 và 1/90 g/mL). Tổng số mẫu thí nghiệm 48 mẫu. Nhãn lồng và tim sen được phối chế theo tỷ lệ như bố trí và tiến hành trích ly với tỷ lệ nguyên liệu/nước như mô tả. Các mẫu trích ly được cố định với thể tích 5 lít, nhiệt độ 80°C trong thời gian 30 phút. Dịch trích ly được lọc qua vải lọc và giấy lọc để thu dịch trích ly trong, xác định thể tích và phân tích các chỉ tiêu cần thu nhận.

2.2. Phương pháp phân tích

Các hoạt chất sinh học: Phân tích polyphenol theo phương pháp Folin-Ciocalteu được mô tả bởi Hossain và cs (2013) [9], hàm lượng polyphenol được xác định dựa vào đường chuẩn axit ($y = 0,0082x + 0,0595$ với $R^2 = 0,9996$), kết quả thể hiện là miligram đương lượng axit gallic trên gram nguyên liệu khô (mgGAE/g DM) . Phân tích tannin theo phương pháp Folin - Denis được mô tả bởi Laitonjam và cs (2013) [10], hàm lượng tannin được tính theo đường chuẩn axit tannic ($y = 0,0098x + 0,0478$ với $R^2 = 0,9996$), kết quả thể hiện là miligram đương lượng axit tannic trên gram nguyên liệu khô (mgTAE/g DM). Phân tích flavonoid theo phương pháp Aluminium Chloride Colorimetric được mô tả bởi Mandal và cs (2013) [11], hàm lượng flavonoid được tính toán dựa vào đường chuẩn quercetin ($y = 0,0054x + 0,0026$ với $R^2 = 0,9995$), kết quả thể hiện là miligram đương lượng quercetin trên gram nguyên liệu khô (mgQE/g DM). Phân tích saponin theo phương pháp mô tả bởi Adewole và cs (2013) [12], hàm lượng saponin được tính $y = ((OD*200)/0,389)/V/W$. Trong đó, OD là độ hấp thu của mẫu ở 380 nm; V là thể tích dịch trích (L),

W là khối lượng mẫu (g). Phân tích alkaloid theo phương pháp mô tả bởi Dutta (2014) [13], hàm lượng alkaloid được tính toán dựa vào đường chuẩn colchicine (y = 0,0035x + 0,7552 với R^2 = 0,9983, kết quả thể hiện là miligram đương lượng colchicine trên g nguyên liệu khô (mgCE/g DM).

Hoạt động chống oxy hóa: Xác định khả năng khử sắt theo phương pháp FRAP được mô tả bởi Adedapo và cs (2009) [14], khả năng khử sắt của mẫu được xác định dựa vào đường chuẩn $FeSO_4.7H_2O$ (y = 0,5177x + 0,0855 với R^2 = 0,9981), kết quả thể hiện là µM $FeSO_4$/g DM. Xác định khả năng khử gốc tự do DPPH theo phương pháp được mô tả bởi Aluko và cs (2014) [15], DPPH (%) = [(Abs control – Abs sample)/Abs control] x 100. Trong đó, Abs control là độ hấp thu của dung dịch DPPH pha trong ethanol, Abs sample là độ hấp thu của các mẫu dịch trích + DPPH hoặc chất chuẩn.

Đánh giá cảm quan: Màu sắc, mùi, vị của sản phẩm được đánh giá theo phương pháp mô tả cho điểm và mức độ ưa thích sản phẩm theo thang điểm Hedonic được mô tả bởi Hà Duyên Tư (2010) [16].

Đo các thông số màu sắc: Giá trị L, a và b sử dụng thiết bị đo màu Colorimeter (Konica Minolata, CR-400, Nhật). Giá trị L thể hiện màu sáng và tối (có giá trị từ 100-0); giá trị a thể hiện màu đỏ (a+) và màu xanh lá (a-); giá trị b thể hiện màu vàng (b+) và màu xanh dương (b-); giá trị ΔE thể hiện độ khác màu tổng so với đĩa mẫu blank màu trắng.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu sau khi thu thập sử dụng phần mềm Microsoft Excel để tính toán, kết hợp với phần mềm Statgraphic Centurion XV để phân tích phương sai ANOVA, kiểm tra mức độ khác biệt ý nghĩa của các nghiệm thức thông qua LSD (Least Significant Different - Khác biệt có ý nghĩa nhỏ nhất).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nhãn lồng/tim sen và tỷ lệ nguyên liệu/nước trích ly đến hàm lượng các hoạt chất sinh học và khả năng chống oxy hóa của dịch trích ly

Nguyên liệu để sản xuất ra nước giải khát cần nghiên cứu là nhãn lồng và tim sen. Hai nguyên liệu này có ảnh hưởng lớn đến chất lượng cảm quan về mùi và vị của sản phẩm. Nhãn lồng ảnh hưởng chủ yếu đến mùi và tim sen quyết định phần lớn về vị của sản phẩm, vì tim sen có vị đắng khá cao. Ngoài ra, lượng nước trích ly cũng là thành phần khá quan trọng quyết định chất lượng sản phẩm, cùng với nhãn lồng và tim sen làm tăng hay giảm các hợp chất sinh học trong quá trình trích ly. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hai nhân tố tỷ lệ nhãn lồng/tim sen và tỷ lệ nguyên liệu/nước đều có ảnh hưởng đến hàm lượng các hợp chất sinh học trong dịch trích ly với $P \leq 0,05$. Đồng thời sự tương tác giữa 2 nhân tố này cũng ảnh hưởng rõ rệt với $P \leq 0,01$.

Bảng 1 cho thấy, tỷ lệ nguyên liệu nhãn lồng/tim sen có ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng các hoạt chất sinh học trong dịch trích ly. Nhìn chung hàm lượng các chất sinh học như tannin, polyphenol, flavonoid có xu hướng tăng dần khi gia tăng tỷ lệ nhãn lồng so với tim sen và đạt giá trị cao nhất ở tỷ lệ 12/1 lần lượt là 2,64 mg TAE/g; 9,31 mg GAE/g và 4,31 mg QE/g. Nhưng hàm lượng các chất này hầu như không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% so với tỷ lệ 10/1, 14/1. Theo Đỗ Huy Bích và cs (2004) [1] thì trong nhãn lồng chứa 0,074% flavonoid và 0,033% alkaloid. Nghiên cứu của Subramani và cs (2014) cho thấy, trong nhãn lồng còn có sự hiện diện của hợp chất phenolic, tannin [3]. Mặt khác, trong tim sen chủ yếu chứa alkaloid vì vậy hàm lượng hợp chất này lại có xu hướng giảm nhiều khi gia tăng tỷ lệ nhãn lồng/tim sen từ 8/1 đến 14/1 (w/w) từ 14,58 mg CE/g xuống còn 11,52 mg CE/g, theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Nhung (2001) [17], hàm lượng alkaloid toàn phần chiếm đến 1,23% trong tim sen,

cao hơn rất nhiều so với nhãn lồng chỉ chiếm khoảng 0,033%.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nhãn lồng/tim sen và tỷ lệ nguyên liệu/nước đến hàm lượng các hợp chất sinh học trong quá trình trích ly

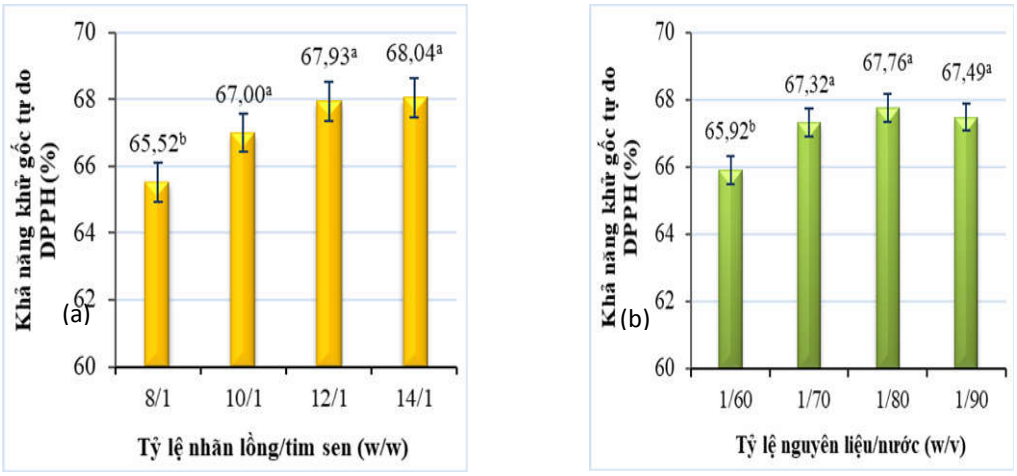
Nhân tố Nhãn lồng/tim sen (w/w)	Hàm lượng các hợp chất sinh học				
	Tannin (mg TAE/g)	Polyphenol (mg GAE/g)	Flavonoid (mg QE/g)	Alkaloid (mg CE/g)	Saponin (mg SE/g)
8/1	2,12^{b}	8,03^{c}	3,44^{c}	14,58^{a}	6,58^{a}
10/1	2,51^{a}	9,06^{a}	4,04^{b}	14,40^{b}	6,40^{ab}
12/1	2,64^{a}	9,31^{a}	4,31^{a}	14,27^{b}	6,35^{b}
14/1	2,62^{a}	9,19^{a}	4,24^{ab}	11,52^{c}	6,38^{b}
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**
Nhân tố Nguyên liệu/nước (w/v)	Hàm lượng các hợp chất sinh học				
	Tannin (mg TAE/g)	Polyphenol (mg GAE/g)	Flavonoid (mg QE/g)	Alkaloid (mg CE/g)	Saponin (mg SE/g)
1/60	2,31^{c}	8,52^{b}	3,56^{b}	12,86^{c}	5,70^{c}
1/70	2,35^{bc}	8,68^{ab}	3,99^{a}	13,16^{b}	5,91^{b}
1/80	2,62^{a}	8,96^{a}	4,19^{a}	13,38^{a}	6,13^{a}
1/90	2,60^{ab}	8,94^{a}	4,09^{a}	13,43^{a}	6,18^{a}
Mức ý nghĩa	*	**	**	**	*
Trung bình tổng	2,47±0,46	8,87±0,98	4,01±0,56	13,46±2,19	6,19±0,78
Mức ý nghĩa tương tác	**	**	**	**	**

Ghi chú: Số liệu trung bình (n=3); các trung bình nghiệm thức mang các ký tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với (*) P≤0,05 và (**) P≤0,01.

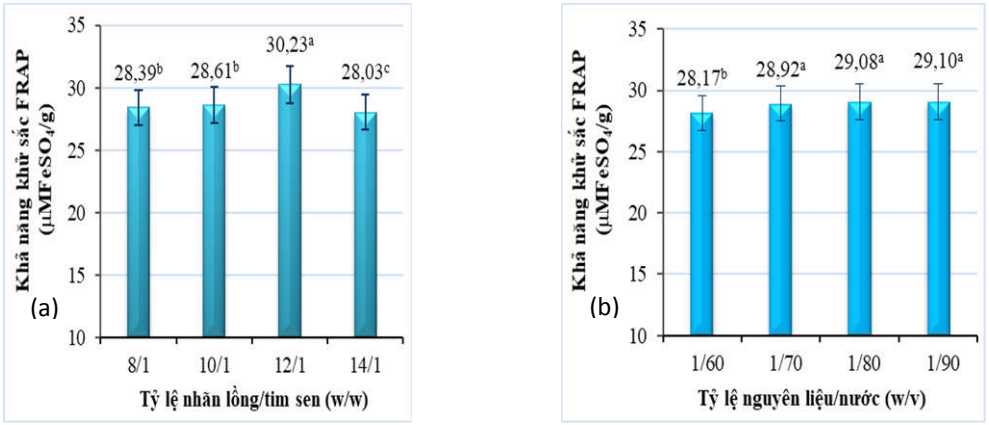
Kết quả ở bảng 1 cho thấy, có sự ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/nước (w/v) đến hàm lượng các hợp chất sinh học trong dịch trích. Khi tăng lượng nước trích ly thì hàm lượng các hợp chất sinh học có xu hướng tăng dần và đạt giá trị cao ở tỷ lệ 1/70 - 1/90 (w/v), trong đó hàm lượng các hợp chất tannin, polyphenol, flavonoid, saponin và alkaloid đạt giá trị cao nhất là 2,62 mg TAE/g; 8,96 mg GAE/g; 4,19 mg QE/g; 13,43 mg CE/g và 6,18 mg SE/g ở tỷ lệ 1/80 hoặc 1/90. Tuy nhiên, các giá trị này giữa 2 tỷ lệ chưa có sự khác biệt thống kê ($P \leq 0,05$). Vì trong quá trình trích ly, chất tan khuếch tán từ nguyên liệu vào dung môi, nồng độ chất tan trong dung môi tăng dần và chênh lệch nồng độ chất tan trong và ngoài tế bào giảm dần, tốc độ quá trình khuếch tán cũng giảm dần, đến lúc nào đó sẽ xảy ra cân bằng động giữa hai pha [18]. Bên cạnh đó, theo Lê Văn Việt Mẫn và cs (2009) [19], nếu sự chênh lệch nồng độ của cấu tử cần trích ly trong nguyên liệu và trong dung môi càng lớn thì hiệu suất trích ly càng cao, tuy nhiên nếu sự chênh lệch này quá lớn sẽ làm loãng dịch trích nên cần phải xác định được tỷ lệ phù hợp giữa lượng nguyên liệu và dung môi trích ly. Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Thúy và cs (2018) [20] cho thấy, hàm lượng hợp chất

polyphenol và flavonoid tăng dần khi tăng lượng dung môi từ 1/20-1/40 (w/v). Nghiên cứu của Nguyễn Tiến Toàn và Nguyễn Xuân Duy (2014) [21] cho thấy, hàm lượng polyphenol đạt giá trị cao trong khoảng 1/30 - 1/50 (w/v), cao nhất ở tỷ lệ 1/30 còn chiết tỷ lệ 1/40 và 1/50 không làm tăng đáng kể hàm lượng polyphenol. Hay nghiên cứu của Wahid và cs (2010) [22] cho thấy, hàm lượng phenolic tổng có giá trị cao nhất ở nhiệt độ 75°C và tỷ lệ nguyên liệu/nước trích ly là 1/120 (w/v).

Nghiên cứu đã xác định khả năng chống oxy hóa của dịch trích ly thông qua đánh giá DPPH (Hình 1). Kết quả phân tích cho thấy, mẫu ở tỷ lệ nhãn lồng/tim sen 14/1 (w/w) đạt giá trị chống oxy hóa cao nhất theo phương pháp DPPH là 68,04%, tuy nhiên chưa có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% với mẫu có tỷ lệ 10/1 và 12/1 (w/w), điều này tương thích với kết quả trích ly các hoạt chất sinh học ở bảng 1 với hợp chất polyphenol và tannin. Tỷ lệ nguyên liệu/nước 1/80 (w/v) đạt giá trị cao nhất là 67,76%, nhưng cũng chưa có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% so với mẫu có tỷ lệ 1/70 và 1/90 (w/v). Điều này là do ở tỷ lệ nước cao, thì hàm lượng các hoạt chất sinh học được trích ly tốt hơn (Bảng 1), cụ thể hợp chất polyphenol, tannin và flavonoid tăng cao và đạt hàm lượng cao nhất ở tỷ lệ 1/80 và ở tỷ lệ 1/90 có sự giảm nhẹ. Ngoài ra, nghiên cứu còn xác định khả năng khử sắt thông qua phương pháp FRAP (Hình 2).



Hình 1. Đồ thị thể hiện khả năng khử gốc tự do DPPH theo tỷ lệ nhãn lồng/tim sen (a) và tỷ lệ nguyên liệu/nước (b)



Hình 2. Đồ thị thể hiện khả năng khử sắt FRAP theo tỷ lệ nhãn lồng/tim sen (a) và tỷ lệ nguyên liệu/nước (b)

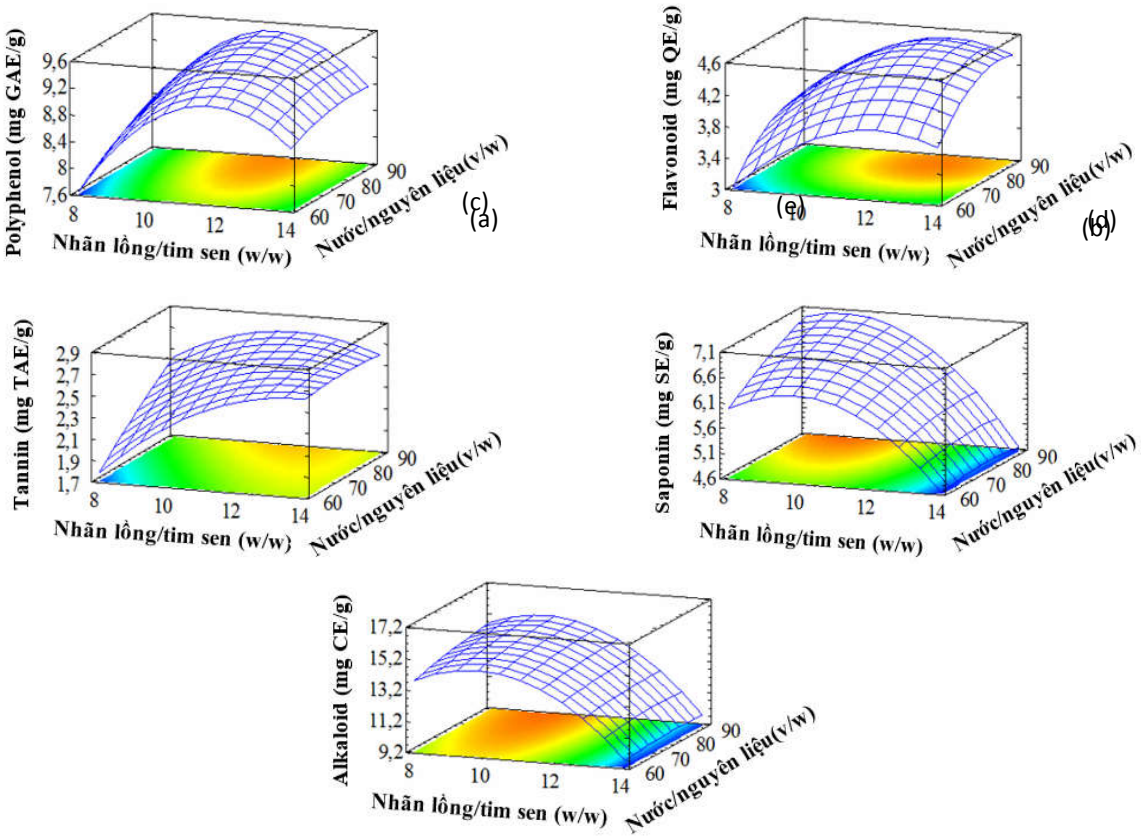
Kết quả phân tích cho thấy, ở tỷ lệ nhãn lồng/tim sen là 12/1 (w/w) đạt giá trị FRAP cao nhất là 30,23 μM $FeSO_4$/g và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các tỷ lệ còn lại. Tỷ lệ nguyên liệu/nước 1/90 (w/v) cũng đạt giá trị FRAP cao nhất với 29,10 μM $FeSO_4$/g nhưng chưa có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% so với các tỷ lệ 1/70 và 1/80 (w/v). Kết quả này tương thích với các số liệu về hàm lượng các hợp chất sinh học (Bảng 1) vì ở tỷ lệ nhãn lồng/tim sen 12/1 (w/w) và tỷ lệ nguyên liệu/nước 1/80 và 1/90 (w/v) thì hàm lượng các hợp chất sinh học được trích ly là tối ưu. Nghiên cứu của Wahid và cs (2010) [22] cũng cho thấy, hoạt động chống oxy hóa (DPPH) có sự gia tăng khi tăng lượng dung môi trích ly và có giá trị cao nhất ở tỷ lệ nguyên liệu/nước là 1/120 (w/v) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ 1/45 (w/v). Hoạt động chống oxy hóa DPPH, FRAP cũng có sự gia tăng khi tăng tỷ lệ nước/nguyên liệu trích ly từ 10/1 đến 100/1 (v/w) và đạt giá trị cao trong khoảng 70/1 đến 100/1 [23]. Kamaludin và Jaafar (2017) [24] cho thấy, có sự gia tăng đáng kể hoạt động chống oxy hóa DPPH khi tăng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu từ 5/1 đến 20/1 (v/w), nếu tăng lên 40/1 sẽ có sự giảm hoạt động chống oxy hóa. Điều này có thể được gây ra bởi sự bão hòa của dung môi xảy ra ở tỷ lệ 20/1 và do đó cân bằng cuối cùng đã đạt được [25].

Mặt khác, nghiên cứu còn xây dựng được các phương trình hồi quy để dự đoán hàm lượng các hợp chất sinh học (polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid và saponin) và khả năng chống oxy hóa (DPPH và FRAP) của dịch trích ly với dạng phương trình bậc hai $Z = aX + bY + cX^2 + dY^2 + eXY$ (Bảng 2). Các phương trình tìm được có hệ số xác định tương quan R^2 và $R^2_{adj} > 0,8$, do đó có thể sử dụng các phương trình này để dự đoán sự thay đổi về hàm lượng các hợp chất sinh học và khả năng chống oxy hóa của dịch trích ly theo tỷ lệ nhãn lồng/tim sen (w/w) và nguyên liệu/nước (w/v) đã khảo sát. Sự biến đổi này được thể hiện rõ ở hình 3 và 4.

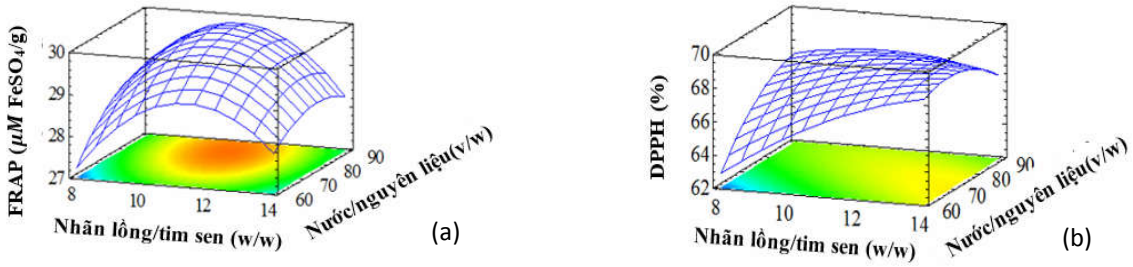
Bảng 2. Các phương trình hồi quy dự đoán sự thay đổi hàm lượng các hợp chất sinh học và hoạt động chống oxy hóa của dịch trích ly

Phương trình hồi quy	R^2	R^2_{adj}	P_{value}
Polyphenol (mgGAE/g) = -10,1468 + 2,5759*X + 0,1104*Y - 0,1037X^2 - 0,0004Y - 0,0024XY	0,9541	0,8891	0,0001
Tannin (mgTAE/g) = -6,0329 + 0,9192X + 0,0724Y - 0,0253X^2 - 0,0001Y^2 - 0,0037XY	0,9379	0,8913	0,0031
Flavonoid (mgQE/g) = -10,3757 + 1,1705X + 0,1830Y - 0,0477X^2 - 0,00101Y^2 - 0,00003XY	0,9644	0,9125	0,0000
Saponin (mgSE/g) = -9,8105 + 2,2696X + 0,1304Y - 0,0994X^2 - 0,00038Y^2 - 0,0051XY	0,9168	0,8830	0,0000
Alkaloid (mgCE/g) = -19,6523 + 5,7884X + 0,1586Y - 0,2817X^2 - 0,0005Y^2 - 0,0046XY	0,8904	0,8773	0,0000
FRAP (μM$FeSO_4$/g) = -6,2248 + 3,8111X + 0,3686Y - 0,1511X^2 - 0,0018Y^2 - 0,0061XY	0,9415	0,8869	0,0000
DPPH (%) = -0,8238 + 4,7150X + 1,0320Y - 0,0856X^2 - 0,0041Y^2 - 0,0320XY	0,9802	0,9064	0,0009

Ghi chú: X - Tỷ lệ nhãn lồng/tim sen (8/1-14/1, w/w) và Y - Tỷ lệ nước/nguyên liệu (60/1-90/1, v/w).



Hình 3. Đồ thị bề mặt đáp ứng và contour của các hợp chất polyphenol (a), flavonoid (b), tannin (c), saponin (d) và alkaloid (e) theo tỷ lệ nhãn lồng/tim sen và nước/nguyên liệu

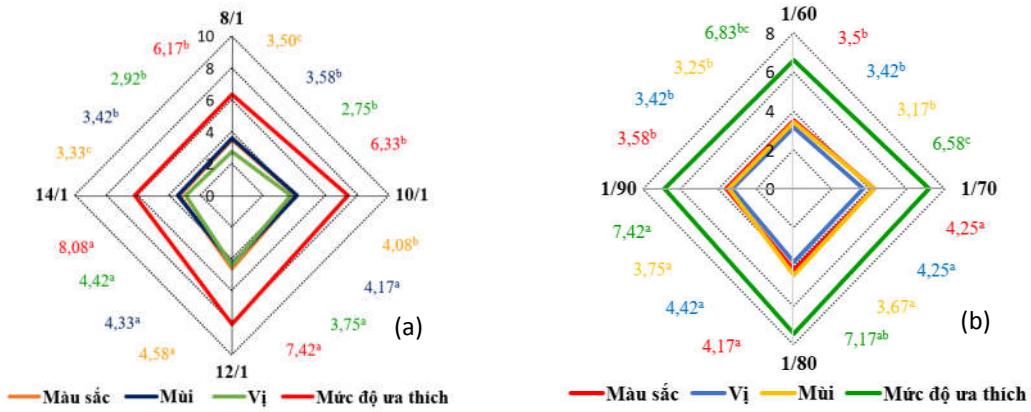


Hình 4. Đồ thị bề mặt đáp ứng và contour của khả năng khử sắt FRAP (a) và khả năng khử gốc tự do DPPH (b) của dịch trích theo tỷ lệ nhãn lồng/tim sen và nước/nguyên liệu

3.2. Ảnh hưởng đến giá trị cảm quản và các thông số màu sắc

Kết quả đánh giá cảm quan ở hình 5 cho thấy, ở tỷ lệ nhãn lồng/tim sen 12/1 cũng có điểm cảm quan cao nhất về màu sắc, mùi và vị lần lượt là 4,58, 4,33 và 4,42 điểm; có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% về màu sắc, nhưng chưa có sự khác biệt về mùi và vị so với tỷ lệ 10/1. Vì ở 2 tỷ lệ này, màu sắc của sản phẩm hài hòa có màu vàng nâu sáng đặc trưng của sản phẩm, mùi nhãn lồng đặc trưng không quá nồng hay quá nhạt, vị cũng hài hòa không quá đắng của tim sen. Ở tỷ lệ nhãn lồng/tim sen 8/1 chứa lượng nhãn lồng thấp nên màu sắc sản phẩm tương đối nhạt, chưa cảm nhận được mùi nhãn lồng và vị đắng khá cao do lượng tim sen nhiều, đồng thời với tỷ lệ 14/1 chứa nhãn lồng khá nhiều làm màu sản phẩm khá đậm gần như chuyển sang màu nâu, mùi nhãn lồng quá nồng và hầu như mất vị đắng đặc trưng của tim sen, nên cả hai tỷ lệ này đều không đạt điểm cảm quan cao. Chính vì thế, mức độ ưa thích cũng đạt

điểm cao nhất với tỷ lệ 12/1 là 8,08 điểm nhưng không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% so với tỷ lệ 10/1 là 7,42 điểm (Hình 5a).



Hình 5. Đồ thị thể hiện điểm đánh giá cảm quan dịch trích ly theo tỷ lệ nhãn lồng/tim sen (w/w) (a) và tỷ lệ nguyên liệu/nước (w/v) (b)

Tuy ở tỷ lệ nguyên liệu/nước là 1/90 thu được hàm lượng các hợp chất sinh học cao nhưng theo kết quả đánh giá cảm quan cho thấy, ở tỷ lệ 1/80 có điểm cảm quan cao nhất về mùi và vị lần lượt là 4,42 và 3,75 điểm. Ở tỷ lệ 1/70 lại có điểm cảm quan về màu sắc cao nhất 4,25 điểm; nhưng các điểm cảm quan này giữa 2 tỷ lệ 1/70 và 1/80 chưa khác biệt ở mức ý nghĩa thống kê 5%. Vì ở tỷ lệ 1/70 và 1/80, lượng nước đảm bảo phù hợp cho trích ly nguyên liệu, không làm cho màu sắc, mùi và vị của sản phẩm quá đậm như tỷ lệ 1/60 hay quá nhạt như tỷ lệ 1/90. Vì thế mức độ ưa thích chung có điểm cao ở tỷ lệ 1/70 và 1/80 lần lượt là 7,42 và 7,17 điểm (Hình 5b).

Màu sắc dịch trích ly được xác định thông qua các giá trị L, a, b và ΔE được trình bày ở bảng 3. Kết quả phân tích thống kê cho thấy, khi tăng tỷ lệ nhãn lồng/tim sen thì giá trị L của dịch trích có xu hướng giảm (từ 32,31 xuống 30,63), nhưng giá trị b có xu hướng tăng (từ 0,49 - 1,34), tức màu sắc dịch trích có màu vàng đậm hơn và giữa các tỷ lệ có sự khác biệt ý nghĩa thống kê (P≤0,01). Trong khi đó giá trị a không có sự thay đổi lớn nên các mẫu chưa có sự khác biệt ý nghĩa thống kê (P>0,05). Bên cạnh đó, độ khác màu tổng ΔE có xu hướng tăng và tỷ lệ nghịch với giá trị L. Điều này là do khi tăng tỷ lệ nhãn lồng/tim sen thì dịch trích ly thu được có màu vàng đậm hơn vì trích ly được nhiều hợp chất phenolic hơn nên khi so sánh với mẫu blank (đĩa màu trắng) thì độ khác màu tổng sẽ tăng (từ 61,36 - 63,05). Ngược lại, khi tăng tỷ lệ nước/nguyên liệu thì giá trị L có xu hướng tăng (từ 30,74 - 32,84) vì màu sắc dịch trích thu được có màu vàng nhạt hơn, giá trị a và b không có sự thay đổi nhiều nên sự khác biệt giữa các mẫu không có ý nghĩa thống kê (P>0,05), trong khi đó độ khác màu tổng ΔE có xu hướng giảm (từ 62,91 xuống 60,80). Tuy nhiên, sự tương tác của 2 nhân tố đến các thông số màu sắc chưa có sự khác biệt thống kê (P>0,05).

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nhãn lồng/tim sen và tỷ lệ nguyên liệu/nước đến các thông số màu sắc của dịch trích ly

Nhân tố Nhãn lồng/tim sen (w/w)	Các thông số màu sắc			
	L	a	b	ΔE
8/1	32,31^{ab}	-0,19^{a}	0,49^{c}	61,36^{bc}
10/1	32,86^{a}	-0,19^{a}	0,99^{b}	60,78^{c}

12/1	31,66^{b}	-0,20^{a}	1,07^{ab}	61,98^{b}
14/1	30,63^{c}	-0,20^{a}	1,34^{a}	63,05^{a}
Mức ý nghĩa	**	ns	**	**
Nhân tố	Các thông số màu sắc			
Nguyên liệu/nước (w/v)	L	a	b	ΔE
1/60	30,74^{c}	-0,22^{a}	0,89^{a}	62,91^{a}
1/70	31,85^{b}	-0,19^{a}	0,97^{a}	61,80^{ab}
1/80	32,03^{ab}	-0,17^{a}	1,01^{a}	61,61^{b}
1/90	32,84^{a}	-0,20^{a}	1,03^{a}	60,80^{c}
Mức ý nghĩa	**	ns	ns	**
Trung bình tổng	31,86±1,45	-0,20±0,13	0,97±0,46	61,78±1,44
Mức ý nghĩa tương tác	ns	ns	ns	ns

Ghi chú: Số liệu trung bình (n=3); các trung bình nghiệm thức mang ký tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với (**) P≤0,01 và (^{ns}) P>0,05.

4. KẾT LUẬN

Kết quả phân tích hàm lượng các hợp chất sinh học và khả năng chống oxy hóa của dịch trích, cùng với số liệu đánh giá cảm quan cho thấy tỷ lệ nhãn lồng/tim sen 12/1 (w/w) và tỷ lệ nguyên liệu/nước là 1/80 (w/v) là mẫu tối ưu nhất vì thu nhận được dịch trích chứa hàm lượng các hợp chất sinh học, khả năng chống oxy hóa và điểm đánh giá cảm quan về màu sắc, mùi, vị cao hơn khi so với các tỷ lệ còn lại và được chọn làm thông số cho các thí nghiệm tiếp theo. Tại điều kiện tối ưu này hàm lượng các hoạt chất sinh học trong sản phẩm lần lượt là tannin 2,36 mg TAE/g, flavonoid 4,82 mg QE/g, polyphenol 8,93 mg GAE/g, alkaloid 14,74 mg CE/g, saponin 6,74 mg SE/g. Khả năng khử gốc tự do DPPH là 69,75% và khả năng khử sắt FRAP 30,18 μM $FeSO_4$/g. Các thông số màu sắc L 32,05, a -0,18, b 1,08 và ΔE 61,85. Sản phẩm có giá trị cảm quan cao về màu sắc, mùi, vị và mức độ ưa thích.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiển, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2004). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam* (Quyển 2). Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.

2. Yue Zhang, Xiaowei Zhang, Keyu S. I., Jiahua H. U., Lei Y. U., Hongwei Chen, Hongzhu L. I., Jiang Gong & Shifeng N. I. (2014). Overview of Pharmaceutical Research on *Passiflora foetida L. Agricultural Science & Technology*, 15 (7): 1113 - 1116.

3. Subramani V., Kamaraj M., Senthil K., Ramachandran B., Jerome Jeyakumar J. & Prema D. (2014). Studies on Phytochemical Properties and Antimicrobial Activities of *Passiflora foetida* L. and *Ficus retusa* L. *Journal of Research in Plant Sciences*, 3 (1): 249 - 254.

4. Odewo S. A., Agbeja A. O., Olaifa K. A., Ojo A. P. & Ogundana S. A. (2014). Proximate and spectroscopic analysis of *Passiflora foetida* L.. *International journal of scientific & technology research*, 3 (9): 353 - 356.

5. Vũ Ngọc Lộ, Hoàng Bích Tuyền (1997). Chi curcuma: Thực vật, thành phần hóa học. *Tạp chí Dược liệu,* 2: 3 - 8.

6. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học.

7. Võ Văn Chi (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học.

8. Paudel K. R. & Panth N. (2015). Phytochemical Profile and Biological Activity of Nelumbo nucifera. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 789124, 16 pages.

9. Hossain M. A., Raqmi K. A. S., Mijizy Z. H., Weli A. M. & Riyami Q. (2013). Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical sreening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vularis*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3 (9): 705 - 710.

10. Laitonjam W. S., Yumnam R., Asem S. D. & Wangkheirakpam S. D. (2013). Evaluative and comparative study of biochemical, trace elements and antioxidant activity of *Phlogacanthus pubinervius* T. Anderson and *Phlocanthus jenkincii* C. B. Clarke leaves. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 4 (1): 67 - 72.

11. Mandal S., Patra A., Samanta A., Roy S., Mandal A., Mahapatra T. D., Pradhan S., Das K. & Nandi D. K. (2013). Analysis of phytochemical profile of *Terminalia arjuna bark* extract with antioxidative and antimicrobial properties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3 (12): 960 - 966.

12. Adewole E., Ajiboye B. O., Idris O. O., Ojo O. A., Onikan A., Ogunmodede O. T. & Adewumi D. F. (2013). Phytochemical, Antimicrobial and Gc-Ms of African Nutmeg *(Monodora Myristica)*. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 2 (5), 25 - 32.

13. Dutta (2014). Study of secondary metabolites of *Gomphostemma niveum* Hook.f. in Assam, India. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 2 (5), 24 - 28.

14. Adedapo A. A., Jimoh F. O., Afolayan A. J. & Masika P. J. (2009). Antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of *Celtis africana*. Rec. Nat. Prod. 3 (1): 23 - 31.

15. Aluko B. T., Alli S. Y. R. & Omoyeni O. A. (2014). Phytochemical analysis and antioxidant activities of ethanolic leaf extract of *Brillantaisia patula*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3 (3): 4914 - 4924.

16. Hà Duyên Tư (2010). *Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.

17. Nguyễn Thị Nhung (2001). *Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và tác dụng sinh học của cây sen ở Việt Nam*. Trường Đại học Dược, Hà Nội.

18. Nguyễn Thượng Dong (2006). *Nghiên cứu thuốc từ thảo dược*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

19. Lê Văn Việt Mẫn, Lại Quốc Đại, Nguyễn Thị Hiền, Tôn Nữ Minh Nguyệt, Trần Thị Thu Trà (2009). *Công nghệ chế biến thực phẩm*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

20. Nguyễn Thị Ngọc Thúy, Nguyễn Thị Thu Huyền, Trương Quang Duy, Phan Huỳnh Thúy Nga, Cao Thị Cẩm Tú (2018). Ảnh hưởng của dung môi và pH đến quá trình trích ly các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa từ tía tô (*Perilla frutescens*). *Tạp chí Khoa học công nghệ và Thực phẩm*, 14(1): 66-74.

21. Nguyễn Tiến Toàn, Nguyễn Xuân Duy (2014). Ảnh hưởng của điều kiện chiết tách đến hàm lượng polyphenol và hoạt tình chống oxy hóa của cây Diệp hạ châu trồng tại Phú Yên. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 12(3): 412-421.

22. Wahid S., Mahmud T. M. M., Maziah M., Yahya A. & Rahim M. A. (2010). Total phenolics content and antioxidant activity of hot water extracts from dried Ficus deltoidea leaves. *J. Trp. Agric. And Fd. Sc.*, 38 (1): 115 - 122.

23. Tchabo W., Ma Y., Kwaw E., Xiao L., Wu M. & Apaliya M. T. (2018). Impact of extraction parameters and their optimization on the nutraceuticals and antioxidant properties of aqueous extract mulberry leaf. *International Journal of Food Properties*, 21 (1): 717 - 732.

24. Kamaludin N. H. Y. & Jaafar N. S. A. (2017). Evaluation of antioxidant activity from different plant parts of Senduduk herb: extraction conditions optimization of selected plant part. *MATEC Web of Conferences* 97, 01101. Doi: 10.1051/matecconf/20179701101.

25. Silva E. M., Rogez H. & Larondelle Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 55 (3): 381 - 387.

EFFECT OF *Passiflora foetida/Embryo nelumbinis* RATIO AND WATER/EXTRACTED MATERIAL RATIO ON ANTIOXIDANT COMPONENTS, COLOR PARAMETERS AND SENSORY VALUE OF PRODUCT

Nguyen Duy Tan, Vo Thi Xuan Tuyen,

Tran Nghia Khang, Dong Thi Anh Dao

Summary

Passiflora foetida is a herb containing various bioactive substances that are capable of supporting the treatment of neurasthenia, insomnia, cough. *Embryo nelumbinis* is also an important medicinal herb with many uses in the treatment of high blood pressure, heart palpitations, nervousness, and insomnia. The study was conducted to investigate the influence of the mixing ratio between *Passiflora foetida* and *Embryo nelumbinis* (8/1, 10/1, 12/1 and 14/1 w/w) as well as the ratio of water and extracted materials (60/1, 70/1, 80/1 and 90/1 v/w) to the content of bioactive compounds (tannins, flavonoids, polyphenols, alkaloids and saponins), antioxidant activity (DPPH, FRAP), color parameters (L, a, b and ΔE) and sensory value of the product. The results showed that the optimal mixing ratio between this two materials was 12/1 w/w; the ratio of water and extracted materials was 80/1 v/w. At this optimal condition, the content of bioactive compounds in the product was tannin 2.36 mg TAE/g, flavonoid 4.82 mg QE/g, polyphenol 8.93 mg GAE/g, alkaloid 14.74 mg CE/g, saponin 6.74 mg SE/g. The free radical scavenging capacity of DPPH was 69.75% and the iron reduction capacity of FRAP was 30.18 μM $FeSO_4$/g. Color parameters value of product such as L was 32.05, a was -0.18, b was 1.08 and ΔE was 61.85. The product has a high sensory value in terms of color, flavor, taste and preference.

Keywords: *Antioxidant, bioactive substances, sensory value, Passiflora foetida, Embryo nelumbinis.*

Người phản biện: TS. Đặng Hồng Ánh

Ngày nhận bài: 01/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 27/3/2023

Ngày duyệt đăng: 3/4/2023

NGHIÊN CỨU TRÍCH LY POLYPHENOL CÓ HỖ TRỢ SIÊU ÂM TỪ HÚNG LŨI (*Mentha aquatica* Linn. *var. crispa*)

Lê Văn Nhất Hoài[1, 2, *], Lê Phạm Tấn Quốc[2],
Đàm Sao Mai[2], Lê Trung Thiên[1, *]

TÓM TẮT

Polyphenol là hợp chất được tìm thấy trong hầu hết các loại thực vật, khả năng kháng khuẩn và kháng oxy hóa của polyphenol đã được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng nhiều trong thời gian gần đây. Húng lũi (*Mentha aquatica* Linn. *var. crispa*) là một loại cây gia vị được sử dụng phổ biến ở Việt Nam. Dịch chiết của các loài thuộc nhóm *Mentha* đã được xác định có hàm lượng tổng polyphenol (TPC) cao và khả năng kháng oxy hóa mạnh. Trích ly có hỗ trợ siêu âm được dùng nhiều trong thời gian gần đây do có ưu điểm là giảm thời gian trích ly, giảm năng lượng và lượng dung môi sử dụng. Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung môi axeton sử dụng (25, 50, 75 và 100%, v/v), tỷ lệ nguyên liệu: dung môi (1: 12, 1: 20, 1: 28 và 1: 36, w/v), nhiệt độ trích ly (nhiệt độ phòng, 40, 50 và 60°C) và thời gian trích ly (20, 30, 40 và 50 phút) đến tổng hàm lượng polyphenol (TPC) thu được và hoạt tính kháng oxy hóa (AA) của dịch chiết theo khả năng trung hòa gốc tự do 1,1 – diphenyl – 2 – picrylhydrazyl (DPPH), khả năng trung hòa gốc tự do 2,2'- azinobis(3 – ethylbenzothiazoline – 6 - sulfonic acid) (ABTS), tổng năng lực khử FRAP. Kết quả cho thấy các thông số phù hợp nhất cho quá trình trích ly là: Nồng độ dung môi aceton sử dụng là 50% (v/v), tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1: 20 (w/v), nhiệt độ trích ly là 40^{0}C và thời gian siêu âm là 30 phút. Hàm lượng TPC đạt cao nhất là 130,61 mg GAE/g ck, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH, ABTS và FRAP lần lược là 181,78 µmol TE/g ck; 303,42 µmol TE/g ck và 462,23 µmol Fe2+/g ck.

Từ khóa: *DPPH, húng lũi, kháng oxy hóa, polyphenol, trích ly.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Polyphenol là hợp chất có chứa một hay nhiều vòng thơm với một hoặc nhiều nhóm hydroxyl (-OH), phân bố rộng rãi trong giới thực vật với hơn 8.000 dạng cấu trúc của phenolic khác nhau đang được biết, từ các phân tử đơn giản như axit phenolic đến các hợp chất tổng hợp bậc cao như tannin [1]. Polyphenol cũng được biết đến với tính chất chống oxy hóa, có hiệu ứng tích cực trong việc phòng chống các bệnh lý liên quan đến sự hình thành các gốc tự do, kháng viêm, chống ung thư và khả năng điều chỉnh một số chức năng quan trọng trong tế bào [2, 3].

Dịch chiết của các loài thuộc chi *Mentha* khác nhau có hàm lượng TPC cao và hoạt tính chống oxy hóa mạnh [4]. Húng lũi thuộc chi *Mentha* nên cũng có những tính chất đặc điểm tương tự. Đã có nhiều nghiên cứu trích ly tinh dầu cũng như các thành phần khác từ chi *Mentha*; tuy nhiên, nghiên cứu trích ly polyphenol có sự hỗ trợ của sóng siêu âm (UAE) từ húng lũi chưa được thực hiện. Phương pháp UAE giúp giảm thời gian chiết xuất, năng lượng và sử dụng dung môi. Năng lượng siêu âm để chiết xuất cũng giúp trộn hiệu quả hơn, truyền năng lượng nhanh hơn, giảm gradient nhiệt và nhiệt độ chiết, quá trình chiết có tính chọn lọc cao [5].

[1]Khoa Công nghệ Hóa học và Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh
[2]Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh
* Email: levannhathoai@iuh.edu.vn; le.trungthien@hcmuaf.edu.vn

Nghiên cứu này nhằm khảo sát các yếu tố ảnh hưởng của quá trình trích ly có hỗ trợ siêu âm polyphenol từ húng lũi đến tổng hàm lượng polyphenol (TPC) và hoạt tính kháng oxy hóa (AA) theo DPPH, ABTS, FRAP của dịch chiết thu được.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu và quá trình xử lý nguyên liệu

Húng lũi được sử dụng trong nghiên cứu được trồng tại tỉnh Long An. Húng lũi được sử dụng cả thân và lá được sấy khô ở 40°C cho đến khi độ ẩm nguyên liệu đạt dưới 10%. Sau đó, mẫu khô được nghiền nhỏ để có kích thước lọt qua rây 60 mesh và được bao gói chân không, bảo quản lạnh ở 0 – 4°C cho đến khi tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Hóa chất: Các chất DPPH (1,1–diphenyl–2–picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azinobis (3 – ethylbenzothiazoline – 6 - sulfonic axit), TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine), axit gallic, Folin-Ciocalteu, Trolox (6 – hydroxy - 2,5,7,8 – tetramethylchroman – 2 - carboxylic axit) được cung cấp bởi Sigma – Aldrich. Các dung môi và hóa chất khác đáp ứng các yêu cầu phân tích.

2.2. Phương pháp trích ly

Quá trình trích ly được thực hiện theo phương pháp ngâm chiết lỏng – rắn có hỗ trợ siêu âm. Mẫu húng lũi sau khi đã chuẩn bị đem trích ly với nồng độ dung môi axeton (25, 50, 75 và 100%, v/v); tỷ lệ nguyên liệu: dung môi (1: 12, 1: 20, 1: 28 và 1: 36, w/v), nhiệt độ trích ly (nhiệt độ phòng, 40, 50 và 60°C) và thời gian trích ly (20, 30, 40 và 50 phút), quá trình trích ly được thực hiện trong bể siêu âm UL Trasonic Cleaner, AS.ONE, Model AS72GTU (Trung Quốc).

2.3. Xác định hàm lượng polyphenol tổng

Xác định hàm lượng phenolic tổng dựa theo phương pháp của Singleton và Rossi (1965) với một số hiệu chỉnh nhỏ. Thuốc thử sử dụng là Folin – Ciocalteau và sử dụng axit gallic làm chất chuẩn. Mẫu trích ly được pha loãng đến độ pha loãng thích hợp. Hút 0,5 ml mẫu thêm 2,5 ml Folin - Ciocalteu (đã được định mức với nước cất theo tỉ lệ 1: 10), trộn hỗn hợp này bằng máy trộn vortex và ủ trong bóng tối 5 phút. Sau đó thêm 2,5 ml Na_2CO_3 7,5% trộn đều hỗn hợp và ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, đo độ hấp thu ở 760 nm. Hàm lượng phenolic tổng số được biểu thị bằng đương lượng axit gallic trên gam khối lượng khô (mg GAE/g ck) [6].

2.4. Xác định khả năng kháng oxy hóa theo DPPH

Khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết được xác định theo phương pháp của Enujiugha và cs (2012) với một vài hiệu chỉnh nhỏ. Hút 0,2 ml mẫu đã pha loãng đến nồng độ thích hợp, thêm 4 ml dung dịch DPPH 0,1 mM (pha trong ethanol 99,5%), lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Độ giảm hấp thu được đo ở bước sóng 517 nm. Khả năng bắt gốc tự do của dịch chiết được thể hiện tương đương với đương lượng Trolox (TE). Kết quả được biểu thị bằng µmol TE/g ck [7].

2.5. Xác định khả năng kháng oxy hóa theo ABTS

Các thí nghiệm đã được thực hiện theo Biskup và cs (2013) với một số thay đổi nhỏ. ABTS và Persulfate kali được hòa tan trong nước cất với nồng độ ABTS là 7 mM và Persulfate kali 2,45 mM. Hai dung dịch được trộn lẫn theo tỷ lệ 1: 1 và hỗn hợp để trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ trước khi sử dụng để tạo ra gốc ABTS (ABTS+). Sau 16 giờ, dung dịch ABTS đem pha loãng với nước cất với độ hấp thu là 1,00 tại bước sóng 734 nm. Hút 0,1 ml dung dịch mẫu đã pha loãng đến độ pha loãng thích hợp, thêm 2,9 ml dung dịch ABTS để trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong vòng 6 phút và tiến hành đo quang ở bước sóng 734 nm. Kết quả được biểu thị bằng µmol TE/g ck [8].

2.6. Xác định khả năng kháng oxy hóa theo FRAP

Các thí nghiệm đã được thực hiện theo Biskup và cs (2013) với một vài hiệu chỉnh nhỏ. Thuốc thử FRAP được chuẩn bị như sau: 0,3 M đệm axetat (pH = 3,6), 0,01 M TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) trong 0,04 M HCl và 0,02 M $FeCl_3.6H_2O$ được pha trộn theo tỷ lệ 10: 1: 1 (v/v/v) và để trong bóng tối. Hút 0,15 ml dịch mẫu đã pha loãng đến độ pha loãng thích hợp, hoặc chất chuẩn $FeSO_4.7H_2O$ (nồng độ 0-1,8 µmol Fe^{2+}/ml), thêm 4,45 ml dung dịch thuốc thử FRAP và 0,45 ml nước cất. Trộn hỗn hợp với nhau, ủ 37°C trong 30 phút trong bóng tối. Độ hấp thu được đo ở bước sóng 593 nm. Mẫu blank được sử dụng là hỗn hợp thuốc thử FRAP và nước cất. Kết quả tính toán là µmol Fe^{2+}/g ck [8].

2.7. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm IBM SPSS Statistics 20 để phân tích phương sai (Anova) và so sánh khác biệt có ý nghĩa với mức ý nghĩa 95% ($p \leq 0,05$) được xác định theo quy trình LSD. Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (TB ± SD). Sử dụng phần mềm Microsoft Excel để dựng đồ thị và xác định phương trình hồi quy.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến TPC và AA của dịch chiết

Thực hiện thí nghiệm trích ly với các yếu tố cố định bao gồm tỉ lệ nguyên liệu: dung môi là 1: 20 (w/v), thời gian trích ly 30 phút và trích ly ở nhiệt độ 40°C. Dung môi sử dụng là axeton với các nồng độ 25%, 50%, 75%, 100% (v/v). Sau quá trình trích ly, dịch chiết được xác định TPC và AA theo DPPH, ABTS và FRAP.

Bảng 1. Ảnh hưởng nồng độ dung môi đến TPC và AA của dịch chiết

Nồng độ acetone (v/v)	TPC (mg GAE/g ck)	DPPH (µmol TE/g ck)	ABTS (µmol TE ck)	FRAP (µmol Fe^{2+}/g ck)
25%	$99,78^a \pm 0,13$	$139,57^a \pm 0,82$	$243,15^a \pm 0,88$	$416,09^a \pm 0,42$
50%	$129,23^b \pm 0,22$	$182,78^b \pm 0,47$	$303,09^b \pm 1,52$	$461,60^b \pm 0,73$
75%	$116,00^c \pm 0,25$	$170,20^c \pm 0,95$	$281,24^c \pm 1,76$	$425,53^c \pm 0,84$
100%	$110,74^d \pm 0,33$	$153,79^d \pm 1,25$	$262,45^d \pm 2,33$	$418,51^d \pm 1,11$

Ghi chú: a, b, c, d trong mỗi cột biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 95%.

Bảng 1 cho thấy, khi nồng độ dung môi axeton tăng từ 25% lên 50% thì hàm lượng TPC thu được tăng và đạt cao nhất ở nồng độ 50% với TPC là 129,23 mg GAE/g ck đồng thời khả năng kháng oxy hóa theo DPPH, ABTS, FRAP hầu như đều tăng rất mạnh và giảm xuống khi nồng độ axeton tăng lên 75% và 100%. Điều này có thể giải thích là các nồng độ dung môi khác nhau sẽ có khả năng hòa tan các loại polyphenol khác nhau do sự khác biệt về ái lực [9]. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Goltz và cs (2018) [10] cho kết quả dung môi axeton nồng độ 50% cho hiệu quả tốt để chiết suất hợp chất phenolic từ *Achyrolcine satureioides* có hỗ trợ siêu âm. Kết quả đạt được có hàm lượng TPC cao nhất là 129,23 mg GAE/g ck, cao hơn so với kết quả trích ly của Farid và cs (2014) [11] khi trích ly hợp chất phenolic từ vỏ *Citrus sinensis* L. có hỗ trợ siêu âm với TPC là 13,57 mg GAE/g ck. Khả năng kháng oxy hóa theo DPPH (182,78 µmol TE/g ck) cũng cao hơn so với kết của Martínez - Patiño và cs (2019) [12] khi thực hiện trích ly lá cây olive có hỗ trợ siêu âm với DPPH là 42,5 mg TE/g ck (tương đương 169,80 µmol TE/g ck). Tuy nhiên, khả năng kháng oxy hóa theo ABTS (303,09 µmol TE/g ck) lại thấp hơn kết quả của Martínez-Patiño và cs (2019) [12] với ABTS là 95,9 mg TE/g

ck (tương đương 383,15 µmol TE/g ck), điều này có thể là do thành phần của nguyên liệu ban đầu khác nhau nên thành phần của các dịch trích khác nhau.

Với kết quả thu được như trên, nồng độ dung môi axeton được chọn là 50% (v/v) thích hợp để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi đến TPC và AA của dịch chiết

Quá trình trích ly được thực hiện với các yếu tố cố định như nồng độ dung môi sử dụng là 50% (v/v), thời gian trích ly 30 phút và trích ly ở nhiệt độ 40°C. Tỷ lệ nguyên liệu: dung môi lần lượt là 1: 12, 1: 20, 1: 28 và 1: 36 (w/v). Sau quá trình trích ly, dịch chiết được xác định TPC và AA theo DPPH, ABTS và FRAP.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến TPC và AA của dịch chiết

Tỷ lệ NL: DM (w/v)	TPC (mg GAE/g ck)	DPPH (µmol TE/g ck)	ABTS (µmol TE/g ck)	FRAP (µmol Fe^{2+}/g ck)
1/12	$103,67^{a} \pm 0,18$	$130,37^{a} \pm 0,47$	$258,72^{a} \pm 0,44$	$418,42^{a} \pm 0,52$
1/20	$131,60^{b} \pm 0,42$	$186,34^{b} \pm 0,82$	$302,07^{b} \pm 0,88$	$463,21^{b} \pm 1,05$
1/28	$107,57^{c} \pm 0,11$	$162,15^{c} \pm 1,03$	$258,52^{c} \pm 1,90$	$443,95^{c} \pm 0,66$
1/36	$97,02^{d} \pm 0,37$	$146,53^{d} \pm 1,18$	$277,27^{d} \pm 1,10$	$432,40^{d} \pm 0,52$

Ghi chú: a, b, c, d trong mỗi cột biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 95%.

Bảng 2 cho thấy, với tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1: 20 (w/v) thu được hàm lượng TPC cao nhất (131,60 mg GAE/g ck) và khả năng AA theo DPPH (186,34 µmol TE/g ck), ABTS (302,07 µmol TE/g ck) và FRAP (463,21 µmol Fe^{2+}/g ck) cũng cao nhất. Điều này là do tỷ lệ dung môi trên nguyên liệu cao hơn làm giảm mật độ hỗn hợp từ đó tăng tốc độ truyền sóng, giảm ảnh hưởng của sự suy giảm công suất siêu âm và tăng sự truyền năng lượng do đó tăng tốc độ truyền khối [9]. Tuy nhiên, khi tỷ lệ tăng dung môi tăng quá cao sẽ thu được nồng độ của các hợp chất phenolic trong dịch chiết thấp hơn, trong khi độ tinh khiết của dịch chiết có thể kém do sự hòa tan của các hợp chất không mong muốn [13]. Kết quả này cũng có sự khác biệt với nghiên cứu của Goltz và cs (2018) [10] khi trích ly hợp chất phenolic từ Achyrolcine satureioides với dung môi aceton 50% và có hỗ trợ UAE cho kết quả tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1: 40, điều này có thể giải thích do thành phần polyphenol trong các nguyên liệu khác nhau.

Hàm lượng TPC thu được cao nhất là 131,60 mg GAE/g ck, cao hơn so với kết quả của Poorhashemi và cs (2020) [14] khi chiết suất hợp chất phenolic từ hạt Myristica fragrans bằng dung môi etanol có hỗ trợ UAE có TPC cao nhất là 63,41 mg GAE/g ck. Khả năng kháng oxy hóa theo DPPH (186,34 µmol TE/g ck) và ABTS (302,07 µmol TE/g ck) cũng cao hơn kết quả có UAE các hợp chất phenolic từ Achyrolcine satureioides của Goltz và cs (2018) [10] với DPPH cao nhất là 13,76 mmol TE/100 g và ABTS cao nhất là 22,71 mmol TE/100 g.

Với kết quả như trên, tỷ lệ nguyên liệu: dung môi thích hợp để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo là 1: 20 (w/v).

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến TPC và AA của dịch chiết

Nghiên cứu được thực hiện với các yếu tố cố định bao gồm: Nồng độ dung môi sử dụng là 50% (v/v), thời gian siêu âm là 30 phút và tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1: 20 (w/v). Nhiệt độ trích ly lần lượt ở nhiệt độ phòng, 40, 50 và 60°C. Sau quá trình trích ly, dịch chiết được phân tích TPC và AA theo DPPH, ABTS và FRAP.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến TPC và AA của dịch chiết

Nhiệt độ (°C)	TPC (mg GAE/g ck)	DPPH (µmol TE/g ck)	ABTS (µmol TE/g ck)	FRAP (µmol Fe^{2+}/g ck)
28 - 32	$110,67^{a} \pm 0,13$	$149,14^{a} \pm 0,47$	$257,88^{a} \pm 0,88$	$425,07^{a} \pm 1,05$
40	$129,52^{b} \pm 0,13$	$181,42^{b} \pm 0,82$	$298,51^{b} \pm 1,52$	$460,79^{b} \pm 1,82$
50	$124,92^{c} \pm 0,25$	$157,89^{c} \pm 0,95$	$273,63^{c} \pm 0,88$	$445,05^{c} \pm 1,05$
60	$102,27^{d} \pm 0,22$	$130,54^{d} \pm 0,82$	$266,01^{c} \pm 1,76$	$435,97^{d} \pm 2,10$

Ghi chú: a, b, c, d trong mỗi cột biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 95%.

Kết quả cho thấy, trích ly ở nhiệt độ 40°C là tốt nhất, với TPC của dịch chiết thu được là cao nhất (129,52 mg GAE/g ck), hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH (181,42 µmol TE/g ck), ABTS (298,51µmol TE/g ck) và FRAP (460,79 µmol Fe^{2+}/g ck) cũng cao nhất (Bảng 3).

Kết quả trên có thể được giải thích là do khi tăng nhiệt độ thì khả năng chiết tăng lên do độ xốp của vật liệu tăng, độ solvat hóa và tốc độ chuyển khối cũng cao hơn [15]. Thêm vào đó, nhiệt độ tăng lên cũng làm giảm sức căng bề mặt và độ nhớt trong chất chiết xuất, tăng khả năng thâm nhập của dung môi và do đó tăng tốc độ chiết xuất polyphenol [1]. Mặc dù trích ly ở nhiệt độ cao có những ưu điểm, nhưng nhiều hợp chất phenolic dễ bị thủy phân và oxy hóa ở nhiệt độ cao, đặc biệt là khi chiết xuất trong thời gian dài, tổng hàm lượng phenolic trong dịch chiết sẽ giảm do quá trình phân hủy, oxy hóa [9].

Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Altemimi và cs (2016) [16] khi trích ly hợp chất phenolic từ bí ngô có hỗ trợ siêu âm cho kết quả nhiệt độ tối ưu là 40,99°C, tuy nhiên, kết quả nghiên cứu thu được có sự khác biệt với kết quả nghiên cứu của Wang và cs (2008) [17] khi thực hiện UAE trên cám lúa mì với dung môi ethanol 64% cho kết quả nhiệt độ 60°C là tốt nhất, điều này có thể do thành phần polyphenol trong các loại nguyên liệu khác nhau và sự mất mát polyphenol do nhiệt độ gây ra cũng khác nhau [9].

Với TPC thu được (129,52 mg GAE/g ck) cao hơn so với nghiên cứu của Borrás-Enríquez và cs (2021) [18] khi thực hiện UAE đối với Mangifera indica L. var. Manililla có TPC cao nhất (1814 mg GAE/100 g ck), Tuy nhiên, khả năng AA theo FRAP là 460,79 µmol Fe^{2+}/g ck thấp hơn kết quả của Poorhashemi và cs (2020) [14] khi UAE từ hạt Myristica fragrans cho kết quả FRAP là 99,38 mmol Fe^{2+}/g ck.

Từ các số liệu thu được, nhiệt độ 40°C là thông số tối ưu để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến TPC và AA của dịch chiết

Từ các kết quả trên, các thí nghiệm tiếp tục được tiến hành với các yếu tố cố định bao gồm: Nồng độ dung môi sử dụng là 50% (v/v), tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1: 20 (w/v), nhiệt độ trích ly là 40°C. Thời gian siêu âm lần lượt là 20, 30, 40 và 50 phút. Sau quá trình trích ly, dịch chiết được xác định TPC và AA theo DPPH, ABTS và FRAP.

Bảng 4 cho thấy, thời gian siêu âm khoảng 30 phút là phù hợp. Mặc dù TPC và AA theo DPPH, ABTS và FRAP của dịch chiết sau khi siêu âm 30 phút đều không phải giá trị cao nhất. Tuy nhiên, khi so sánh sự khác biệt có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 95%, kết quả đạt được không có thay đổi đáng kể ở thời gian siêu âm 40 và 50 phút. Ở thời gian siêu âm 30 phút, mẫu đã bị phá vỡ hầu hết cấu trúc tế bào giúp cho các hợp chất hòa tan dễ dàng và đã đạt được trạng thái cân bằng. Kết quả thu được cũng trùng khớp với nghiên cứu của Wang và cs (2008) [17] khi trích ly hợp chất phenolic từ cám lúa mì có hỗ trợ UAE, đã cho kết quả thời gian 30 phút là tối ưu và không đổi ở phút 40 và 50.

TPC thu được (130,61 mg GAE/g ck) cũng cao hơn kết quả của Pradal và cs (2016) [19] khi thực hiện trích ly polyphenol từ phụ phẩm thực phẩm có hỗ trợ UAE cho kết quả TPC cao nhất là 1532 mg GAE/100 g ck. Khả năng AA theo DPPH (181,78 µmol TE/g ck) và ABTS (303,42 µmol TE/g ck) thấp hơn kết quả nghiên cứu của Dadi và cs (2019) [20] khi trích ly lá Moringa stenopetala với DPPH là 336,5 mg TE/g ck và ABTS là 581,8 mg TE/g ck.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến TPC và AA của dịch chiết

Thời gian (phút)	TPC (mg GAE/g ck)	DPPH (µmol TE/g ck)	ABTS (µmol TE/g ck)	FRAP (µmol Fe^{2+}/g ck)
20	$113,86^{a} \pm 0,29$	$163,19^{a} \pm 0,24$	$252,11^{a} \pm 0,00$	$441,04^{a} \pm 0,91$
30	$130,61^{b} \pm 0,17$	$181,78^{b} \pm 0,41$	$303,42^{b} \pm 0,44$	$462,23^{b} \pm 1,05$
40	$131,29^{b} \pm 0,34$	$182,74^{b} \pm 0,47$	$304,69^{b} \pm 0,76$	$464,04^{b} \pm 1,39$
50	$131,49^{b} \pm 0,45$	$182,06^{b} \pm 0,24$	$304,94^{b} \pm 0,88$	$464,34^{b} \pm 0,52$

Ghi chú: a, b, c, d trong mỗi cột biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 95%.

4. KẾT LUẬN

Phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm polyphenol từ húng lũi thu được các thông số tối ưu là: Nồng độ dung môi axeton sử dụng là 50% (v/v), tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1: 20 (w/v), nhiệt độ trích ly là 40°C và thời gian siêu âm là 30 phút. TPC cao nhất là 130,61 mg GAE/g ck và AA theo DPPH, ABTS và FRAP lần lượt là 181,78 µmol TE/g ck, 303,42 µmol TE/g ck và 46,23 µmol Fe^{2+}/g ck. Hàm lượng TPC và khả năng AA của dịch chiết từ húng lũi tương đối cao, có thể ứng dụng rộng rãi trong bảo quản và chế biến thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, *15*(10), 7313–7352. https://doi.org/10.1016/10.3390/molecules15107313.

2. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, *79*(5), 727–747. https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727.

3. Rasmussen, S. E., Frederiksen, H., Struntze Krogholm, K., & Poulsen, L. (2005). Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, *49*(2), 159–174. https://doi.org/10.1002/mnfr.200400082.

4. Benabdallah, A., Rahmoune, C., Boumendjel, M., Aissi, O. & Messaoud, C. (2016). Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Six Wild Mentha Species (Lamiaceae) from Northeast of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(9), 760-766.

5. Chemat, F., Tomao, V., & Virot, M. (2008). *Ultrasound-assisted extraction in food analysis*. In S. Otles (Ed.). Handbook of Food Analysis Instruments, New York, CRC Press, 85–103.

6. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144–158.

7. Enujiugha, V. N., Talabi, J. Y., Malomo, S. A., & Olagunju, A. I. (2012). DPPH radical

scavenging capacity of phenolic extracts from African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*). *Food and Nutrition Science*, *3*(1), 7–13. https://doi.org/10.4236/fns.2012.31002.

8. Biskup, I., Golonka, I., Gamian, A., & Sroka, Z. (2013). Antioxidant activity of selected phenols estimated by ABTS and FRAP methods. *Postepy Hig Med Dosw*, *67*, 958–963.

9. Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., & Ma, H. (2020). The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*, *35*, 100547. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547.

10. Goltz, C., Ávila, S., Barbieri, J. B., Igarashi-Mafra, L., & Mafra, M. R. (2018). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Macela (*Achyrolcine satureioides*) extracts. *Industrial Crops and Products, 115*, 227–234. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.013.

11. Farid, D., Remini, H., Omar, A., & Madani, K. (2014). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Citrus sinensis* L. peels using response surface methodology. *Chemical Engineering Transactions*, *37*, 889–894. https://doi.org/10.3303/CET1437149.

12. Martínez-Patiño, J. C., Gullón, B., Romero, I., Ruiz, E., Brnčić, M., Žlabur, J. Š., & Castro, E. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of biomass from olive trees using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, *51*, 487–495. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.031.

13. Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). *Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters*. In R. R. Watson (Ed.), Polyphenols in Plants, New York, Academic Press, 243-359.

14. Poorhashemi, S., Arianfar, A., & Mohammadi, A. (2020). Ultrasound-assisted extraction and optimization process parameters of antioxidant and phenolic compounds from *Myristica fragrans*. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, *15*(1), e63423. https://doi.org/10.5812/jjnpp.63423

15. Maran, J. P., Manikandan, S., Nivetha, C. V., & Dinesh, R. (2017). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*, *10*, 1145–1157. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.007.

16. Altemimi, A., Watson, D. G., Choudhary, R., Dasari, M. R., & Lightfoot, D. A. (2016). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. *PLOS One*, *11*(2), e0148758. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148758.

17. Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, *106*(2), 804–810. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062.

18. Borrás-Enríquez, A. J., Reyes-Ventura, E., Villanueva-Rodríguez, S. J., & Moreno-Vilet, L. (2021). Effect of ultrasound-assisted extraction parameters on total polyphenols and its antioxidant activity from mango residues (*Mangifera indica* L. var. *Manililla*). *Separations*, *8*(7), 94. https://doi.org/10.3390/separations8070094.

19. Pradal, D., Vauchel, P., Decossin, S., Dhulster, P., & Dimitrov, K. (2016). Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: Extraction and energy consumption optimization. *Ultrasonics* Sonochemistry, *32*, 137–146. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.03.001.

20. Dadi, D. W., Emire, S. A., Hagos, A. D., &

Eun, J. B. (2019). Effect of ultrasound-assisted extraction of *Moringa stenopetala* leaves on bioactive compounds and their antioxidant activity. *Food Technology and Biotechnology*, *57*(1), 77–86. https://doi.org/10.17113/ftb.57.01.19.5877.

ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION OF POLYPHENOLS FROM *Mentha aquatica* Linn. *var. crispa*

Le Van Nhat Hoai, Le Pham Tan Quoc, Dam Sao Mai, Le Trung Thien

Summary

Polyphenols are compounds found in most plants, the antibacterial and antioxidant properties of polyphenols have been studied and applied a lot in recent times. Plant polyphenols have drawn increasing attention due to their potent antioxidant properties and their marked effects in the prevention of various oxidative stress associated diseases such as cancer. *Mentha aquatica* Linn. *var. crispa* is a spice plant commonly used in Vietnam. Extracts of *Mentha* spices have been determined to have high TPC and antioxidant (AA), previous studies revealed that these species possess biological activities such as antioxidant, antimicrobial, insecticidal, anti-cancer, and anti-inflammatory properties. Ultrasonic assisted extraction has been widely used in recent times due to its advantages of reducing extraction time, energy and solvent usage. This study investigated the effects of solvent concentration (25%, 50%, 75% and 100%, v/v); the ratio of raw materials to solvent (1: 12, 1: 20, 1: 28 and 1: 36, w/v), extraction temperature (room temperature, 40°C, 50°C and 60°C) and extraction time (20, 30, 40 and 50 min) to TPC and AA accoding to 1,1–diphenyl–2–picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) and FRAP. The results showed that acetone at concentration of 50% (v/v), a ratio of 1: 20 (w/v), temperature of 40°C and experiment time of 30 minutes give the highest yield of TPC and AA with values of 130.61 mg GAE/g dw for TPC, 181.78 µmol TE/g dw for DPPH, 303.42 µmol for ABTS, and 462.23 µmol Fe^{2+}/g dw for FRAP. The results showed that that extract from *M. aquatica* Linn. var. *crispa* can be used in food preservation against oxidation.

Keywords: *Antioxidant, DPPH, extraction, Mentha aquatica, polyphenols.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Ngọc Liễu

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 23/3/2023

Ngày duyệt đăng: 30/3/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐỘ CHÍN VÀ VÙNG TRỒNG ĐẾN ĐẶC TÍNH VẬT LÝ VÀ CẢM QUAN CỦA MÍT THÁI TỈNH HẬU GIANG

Dương Thị Phượng Liên[1], Trần Thu Ngân[2],
Nguyễn Thị Thu Thủy[1], Võ Thị Diệu[1,*]

TÓM TẮT

Các đặc tính vật lý như khối lượng trái, tỷ lệ khối lượng các phần của quả, chiều dày múi, màu sắc, độ cứng, biểu hiện cảm quan bên ngoài (màu sắc vỏ quả, hình dạng gai, âm thanh khi vỗ quả) và chất lượng cảm quan bên trong (màu sắc của thịt quả và xơ, kích thước múi, cấu trúc thịt quả, mùi vị thịt quả) mít Thái tại các vùng trồng ở tỉnh Hậu Giang (huyện Châu Thành, Châu Thành A, Phụng Hiệp và thành phố Ngã Bảy) được đánh giá ứng với hai độ chín (độ chín I - già: 90 - 105 ngày, độ chín II - chín: 105 - 125 ngày sau đậu trái). Khi mít chuyển từ già sang chín, khối lượng quả, tỷ lệ phần ăn được, xơ, cùi và vỏ quả không khác biệt; chiều dày múi và độ cứng có xu hướng giảm (lần lượt là 10,7 - 28,6% và 54,8 - 59,2%); tỷ lệ hạt có xu hướng tăng (6,9 - 15,9%); màu vỏ quả chuyển từ xanh phớt vàng sang từ xanh hơi vàng đến vàng; gai và bề mặt vỏ quả từ hơi phẳng sang khá dẹt, âm thanh vỗ vào quả từ hơi trong, vang sang trầm và hơi đục; xơ chuyển từ màu trắng hơi vàng sang hơi vàng đến vàng, thịt quả từ cứng đến chắc thịt và hơi mềm, màu chuyển từ hơi vàng sang hơi vàng đến vàng, mùi từ hơi thơm sang rất thơm và vị từ nhạt đến rất ngọt. Mít trong vùng Ngã Bảy và Phụng Hiệp có khuynh hướng cho tỷ lệ thịt quả cao (tương ứng với 38,18 - 39,49% và 36,12 - 39,14%), tỷ lệ hột thấp (11,1 - 11,9% và 10,8 -12,3%), mít trong vùng Phụng Hiệp có khuynh hướng cho khối lượng cũng như chiều dày múi cao (20,2 - 34,5 g và 5,6 - 7,9 mm). Mít trong vùng Ngã Bảy có khuynh hướng cho màu sắc thịt quả và xơ nhạt hơn. Mít từ các vùng trồng Hậu Giang có đặc tính vật lý và chất lượng cảm quan tốt, phù hợp để chế biến các sản phẩm thực phẩm chất lượng cao.

Từ khóa: *Chất lượng cảm quan, độ chín, mít Thái, tỷ lệ quả, vùng trồng.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mít (*Artocarpus heterophyllus* Lam) là loại cây ăn quả phổ biến được trồng rộng rãi ở Nam và Đông Nam Á như Bangladesh, Ấn Độ, Myanmar, Nepal, Thái Lan, Việt Nam, Trung Quốc, Philippines, Indonesia, Malaysia và Sri Lanka [1]. Ở Việt Nam, mít phân bố chủ yếu ở vùng Đông Nam Bộ (Bình Phước, Bình Dương) và đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) (Tiền Giang, Vĩnh Long, Long An, Hậu Giang, Bến Tre). Mít Thái siêu sớm là giống mít được ưa chuộng và trồng phổ biến nhất hiện nay do khá dễ trồng, sinh trưởng tốt trong điều kiện khí hậu nóng ẩm, năng suất cao, thu hoạch nhanh. Diện tích trồng mít Thái những năm gần đây đã tăng lên vài chục nghìn ha. Trong đó, Hậu Giang là một trong hai tỉnh ĐBSCL có nguồn mít Thái chất lượng tốt nhất và đến nay Hậu Giang có diện tích trồng mít là 7.972 ha, sản lượng đạt 79.830 tấn/năm. Giống và địa điểm trồng là hai yếu tố có tác động đáng kể đến chất lượng quả trong suốt vòng đời của cây trồng, song lại ít được quan tâm. Hậu Giang hiện có nhiều vùng trồng mít Thái siêu sớm sản lượng lớn như huyện Châu Thành, Phụng Hiệp, thành phố Ngã Bảy… Để tiến tới thương hiệu "Mít Hậu Giang" (đang đăng ký thương hiệu tập thể), việc khảo sát so sánh chất lượng mít Thái siêu sớm tại các vùng trồng mít phổ biến ở tỉnh Hậu Giang là cần thiết.

Ngoài ra, để có mít sử dụng tươi hoặc nguyên liệu mít có chất lượng cao như mong muốn, độ

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Sinh viên Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[*]Email: vtdieu@ctu.edu.vn

chín thu hoạch cũng là yếu tố rất quan trọng. Trong quá trình trưởng thành và chín, mít trải qua nhiều biến đổi về chất lượng cảm quan cũng như đặc tính lí hoá. Đánh giá những thay đổi này trong quá trình chín cho phép sử dụng mít tốt nhất không chỉ ăn tươi mà còn làm nguyên liệu chế biến các sản phẩm khác [2]. Ngoài ra, những dự đoán chính xác về thời gian thu hoạch cho phép người trồng lập kế hoạch cho việc thu hoạch và tiếp thị, cũng như tận dụng năng suất lao động. Do vậy, nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của độ chín và vùng trồng đến đặc tính vật lý và cảm quan của mít Thái siêu sớm tỉnh Hậu Giang được thực hiện.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị nguyên liệu

Mít Thái được mua và thu hoạch tại vườn thuộc huyện Châu Thành, Châu Thành A, Phụng Hiệp và thành phố Ngã Bảy của tỉnh Hậu Giang. Mít sau khi thu hoạch được sắp xếp trên xe cẩn thận và vận chuyển ngay đến Phòng thí nghiệm Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ để phục vụ cho việc nghiên cứu.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Mít thu hoạch ở hai độ chín (độ chín I - già: 90-105 ngày, độ chín II - chín: 105-125 ngày sau đậu trái). Mít được người trồng tại các địa phương đánh dấu trái ghi nhận khoảng thời gian sau khi đậu trái. Mít được xác định các chỉ tiêu cảm quan bên ngoài, cân, xẻ tách các phần để xác định các chỉ tiêu vật lý và chất lượng cảm quan bên trong. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.3. Phương pháp phân tích và đo đạc các chỉ tiêu

- Khối lượng quả, khối lượng các thành phần được cân xác định, tỷ lệ các phần được tính theo phần trăm khối lượng quả.

- Độ cứng thịt quả được xác định bằng máy đo Rheotex, đầu đo hình trụ có đường kính bề mặt tiếp xúc 1,8 mm, khoảng đường đầu đo di chuyển từ bề mặt mẫu là 4 mm.

- Màu sắc thịt quả được xác định bằng máy đo màu (máy đo như trong phương pháp đo độ cứng) thể hiện qua hệ màu CIE các giá trị L*, a*, b*. Độ khác biệt màu ΔE được tính theo công thức:

$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$. Trong đó: ΔL*, Δa* và Δb* là chênh lệch giá trị L*; a* và b* của quả giữa 2 độ chín.

- Chất lượng cảm quan bên ngoài và bên trong được đánh giá bởi 10 cảm quan viên (đánh giá lặp lại 3 lần, mỗi nghiệm thức 3 trái), đánh giá theo thang điểm mô tả cho từng thuộc tính [3] được trình bày ở bảng 1 và 2.

Bảng 1. Chất lượng cảm quan bên ngoài của mít

Màu sắc vỏ quả	Âm thanh khi vỗ vào quả	Độ phẳng của gai trên vỏ quả
Hơi xanh	Không phản ứng	Nhọn
Xanh hơi phớt vàng	Hơi trong, hơi vang	Hơi phẳng
Xanh hơi vàng	Trong và hơi vang	Khá dẹt
Vàng	Hơi trầm, hơi đục	Dẹt rộng
Nâu vàng	Trầm và hơi đục	

Bảng 2. Chất lượng cảm quan bên trong của mít

Xơ mít	Màu sắc thịt quả	Kích thước múi mít	Cấu trúc thịt quả	Mùi	Vị
Trắng đến hơi vàng	Trắng đến hơi vàng	Nhỏ	Cứng	Không thơm	Nhạt
Hơi vàng	Hơi vàng	Trung bình	Chắc thịt	Hơi thơm	Hơi ngọt
Hơi vàng đến vàng	Hơi vàng đến vàng	Hơi to	Hơi mềm	Thơm	Ngọt
Vàng	Vàng	To	Mềm	Rất thơm	Rất ngọt

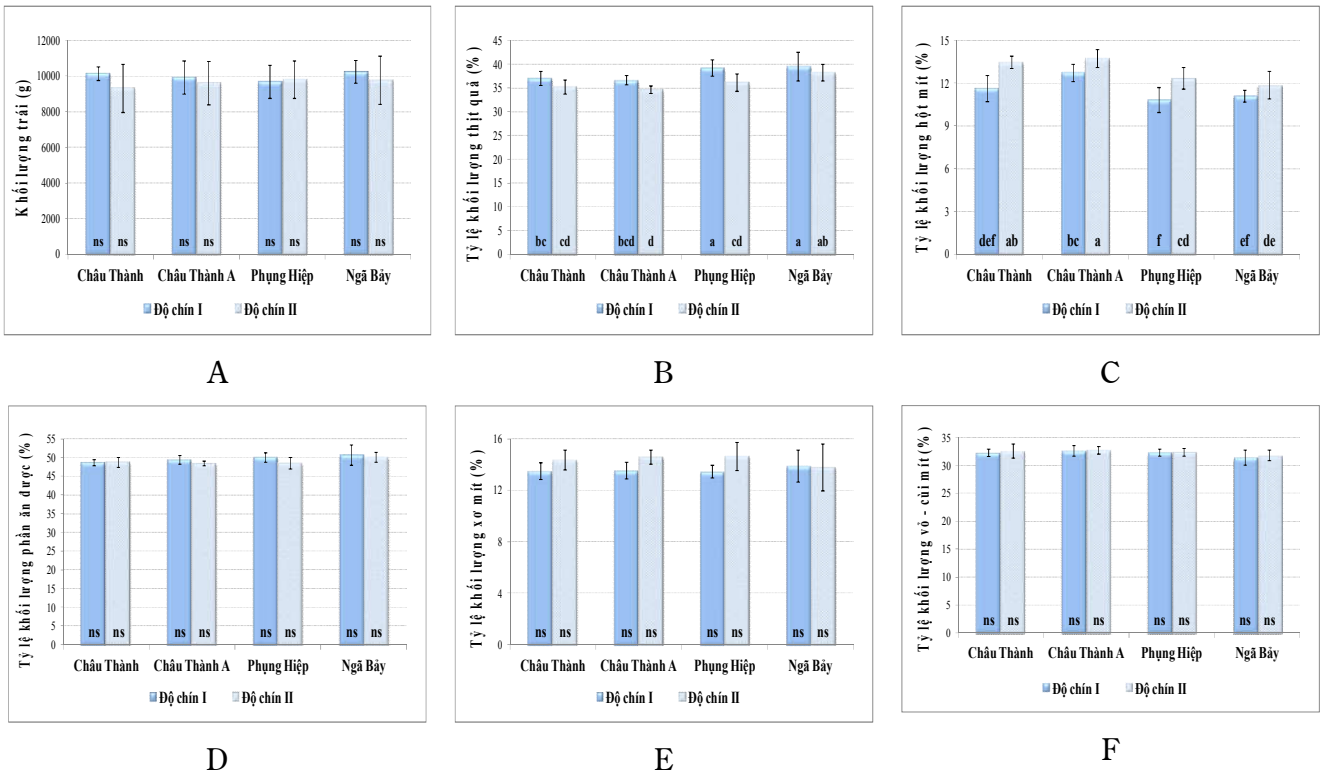
2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Số liệu thu thập được phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định LSD để kết luận về sự sai khác giữa trung bình các nghiệm thức với mức ý nghĩa 0,05. Phần mềm Stagraphics Centurion 15.1 và Microsoft Excel 2010 được sử dụng để xử lý số liệu và vẽ đồ thị.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Biến đổi khối lượng quả và tỷ lệ khối lượng các thành phần của quả

Khối lượng trung bình của quả khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo độ chín trong khoảng nghiên cứu và theo vùng trồng (Hình 1.A). Trong hai khoảng độ chín này, mít có khối lượng trong khoảng 9,3 - 10,2 kg, cao hơn so với khối lượng trong hai khoảng độ chín này của giống mít từ Bangladesh (7,9 - 8,6 kg) theo nghiên cứu của Saha và cs (2016) [3]. Tỷ lệ khối lượng thịt quả (TLTQ) của mít ở độ chín I, được trồng tại Phụng Hiệp và Ngã Bảy cao khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mít trồng tại Châu Thành và Châu Thành A. Khi mít chín, TLTQ khác biệt không có ý nghĩa ngoại trừ mít trồng tại Phụng Hiệp (Hình 1.B). Khi mít chuyển từ độ chín I sang độ chín II (mít chín), TLTQ của mít trồng tại các vùng khác biệt không có ý nghĩa thống kê (trong khoảng 34,6 - 36,1%), ngoại trừ mít trồng ở vùng Ngã Bảy có TLTQ cao hơn (38,2%). Theo Swami và cs (2016) [4], phần thịt quả trong mít chiếm 25 - 35%, Berry và Klara (1988) [5] công bố mít có khoảng 29% thịt quả. Sự khác nhau về các kết quả công bố này là do tỷ lệ thịt quả có thể do khác nhau về giống, thổ nhưỡng tại vùng trồng và điều kiện chăm sóc. Tuy nhiên, hiện nay Hậu Giang đang xây dựng thương hiệu tập thể "Mít Hậu Giang" nên yếu tố giống, điều kiện canh tác, chăm sóc đã được nhất quán, do đó sự khác nhau về TLTQ mít giữa các vùng trồng chủ yếu là do điều kiện thổ nhưỡng.



Hình 1. Khối lượng quả và tỷ lệ các phần của mít Thái tại các vùng trồng ở Hậu Giang

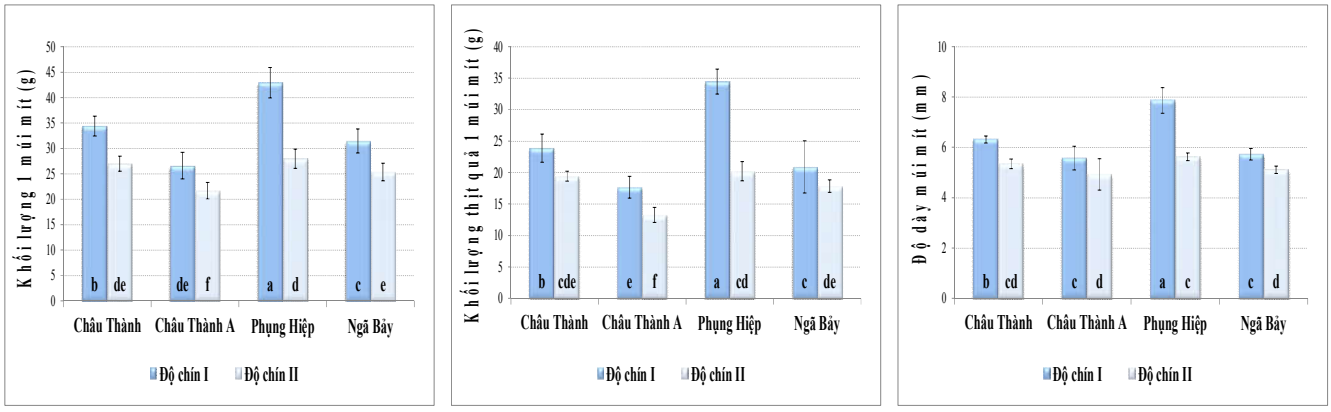
Khối lượng quả (A), tỷ lệ thịt quả (B), tỷ lệ hột (C), tỷ lệ phần ăn được (D), tỷ lệ xơ (E) và tỷ lệ vỏ và cùi (F)

Ghi chú: Thể hiện qua trung bình ± độ lệch chuẩn, các chữ cái giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, α = 0,05.

Tỷ lệ khối lượng hạt (TLH) gia tăng đáng kể khi chuyển từ già (10,8-12,7%) sang mít chín (11,9-13,7%) (Hình 1.C). Kết quả này tương tự như công bố của Chandra và Bharati (2020) [6]. Mít khi trưởng thành và chín, khối lượng mỗi hột gia tăng [3] dẫn đến TLH gia tăng. Tuy có sự thay đổi ít nhiều về TLTQ và TLH, nhưng tỷ lệ khối lượng phần ăn được (thịt quả và hột) khác biệt không có ý nghĩa khi mít chín và không bị ảnh hưởng bởi các vùng trồng (Hình 1.D). Tỷ lệ phần ăn được trung bình trong khoảng 48,3 ÷ 50,5%, kết quả này tương tự nghiên cứu của Saha và cs (2016)[3]. Song, Chandra và Bharati [6] công bố tỷ lệ phần ăn được giảm có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) khi mít chuyển từ già sang chín. Tỷ lệ khối lượng xơ mít, tỷ lệ vỏ và cùi khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi mít chín và không bị ảnh hưởng bởi vùng trồng (Hình 1.E và 1.F).

3.2 Biến đổi khối lượng 1 múi, khối lượng thịt quả 1 múi và độ dày múi mít

Khối lượng 1 múi mít và khối lượng thịt quả 1 múi mít giảm có ý nghĩa thống kê khi mít chuyển từ già sang chín (Hình 2.A và 2.B). Kết quả này tương tự như công bố của Chandra và Bharati (2020) [6], song theo Saha và cs (2016) [3], khi chín 2 chỉ tiêu này đều không giảm. Tuy nhiên, 2 chỉ tiêu 22,6 g và 15,7 g đều thấp hơn đáng kể so với kết quả trong nghiên cứu này (26,6 - 42,9 g và 21,7 - 28,0 g). Ngoài ra, vùng trồng cũng ảnh hưởng đến 2 chỉ tiêu trên. Ở cả hai độ chín, mít trồng ở Phụng Hiệp có khuynh hướng cho khối lượng 1 múi và khối lượng thịt quả 1 múi cao và mít trồng ở Châu Thành A có khuynh hướng cho 2 giá trị này thấp (khác biệt có ý nghĩa khi so với các vùng trồng còn lại) (Hình 2.A và 2.B). Hình 2.C còn thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê chiều dày thịt quả. Khi mít chín, chiều dày thịt quả mít trồng tại các vùng đều giảm có ý nghĩa thống kê. Đây cũng là nguyên nhân làm cho khối lượng 1 múi và khối lượng thịt quả 1 múi trong mít giảm khi chín. Mít già ở Phụng Hiệp có xu hướng cho chiều dày thịt quả lớn khác biệt so với mít được trồng tại các vùng còn lại. Khi chín chiều dày núi mít trồng ở Phụng Hiệp giảm và không khác biệt so với mít trồng ở Châu Thành. Khi mít chín, chiều dày múi mít trồng ở Châu Thành không khác biệt so với chiều dày múi mít được trồng ở các vùng còn lại. Kết quả này còn cho thấy, khối lượng thịt quả một múi lớn thì chiều dày thịt quả cũng lớn và ngược lại.



A B C

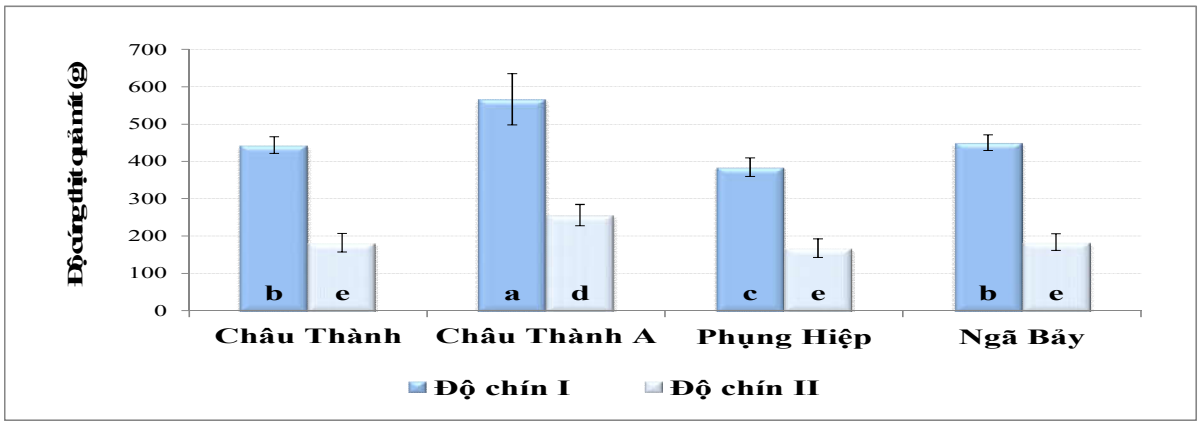
Hình 2. Khối lượng 1 múi (A), khối lượng thịt quả 1 múi (B) và độ dày múi (C)

Ghi chú: Thể hiện qua trung bình ± độ lệch chuẩn, các chữ cái giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, α = 0,05.

3.3. Biến đổi độ cứng thịt quả mít

Độ cứng thịt quả giảm rõ rệt khi chuyển từ già sang chín (Hình 3). Vùng Châu Thành A có khuynh hướng cho mít có độ cứng thịt cao khác biệt có ý nghĩa so với độ cứng của mít trồng tại các vùng còn lại kể cả khi già và chín. Biến đổi độ

cứng trong quá trình chín của mít có liên quan chặt chẽ với các thành phần như tinh bột, axit pectic, hemicelluloses và celluloses [7]. Độ cứng giảm do sự suy thoái của tế bào [8], sự thủy phân pectin từ các dạng không hoà tan thành dạng hòa tan và sự chuyển hóa từ tinh bột thành đường [9].

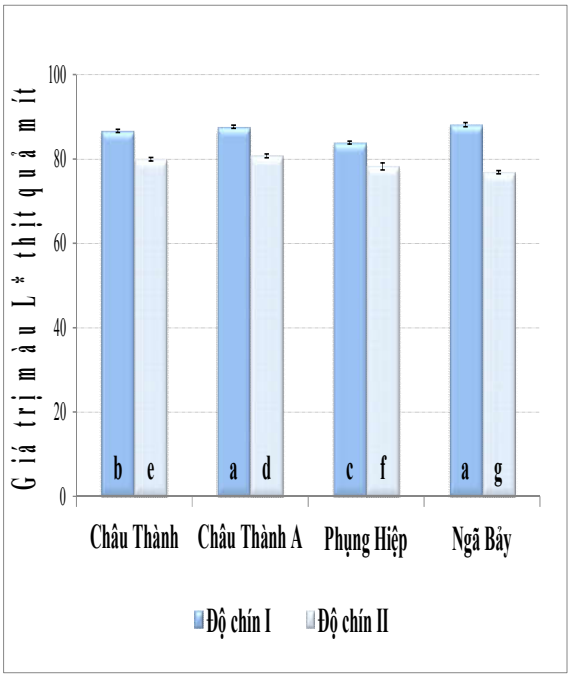


Hình 3. Biến đổi độ cứng múi theo độ chín của mít Thái tại một số vùng trồng ở Hậu Giang

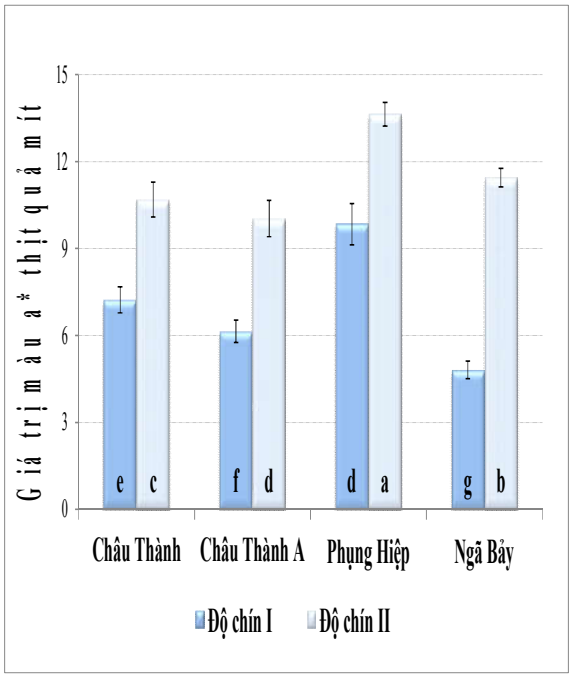
Ghi chú: Thể hiện qua trung bình ± độ lệch chuẩn, các chữ cái giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, α = 0,05.

3.4. Biến đổi màu sắc thịt quả

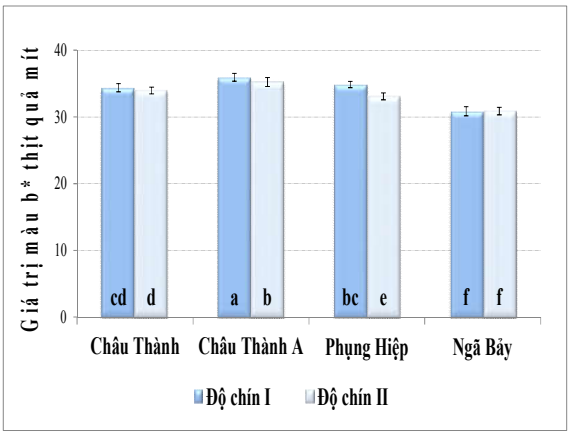
Kết quả thống kê cho thấy, có sự khác biệt có ý nghĩa tất cả các giá trị L*, a*, b* của thịt quả khi chuyển từ già sang chín. Giá trị L* của thịt quả giảm rõ rệt khi mít chín (Hình 4.A) thể hiện sự sậm màu thịt quả. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Ranasinghe và Marapana (2019) [2]. Giá trị a* tăng có ý nghĩa thống kê khi mít chuyển từ già sang chín (Hình 4.B). Giá trị b* có thể khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Châu Thành và Ngã Bảy) hoặc giảm có ý nghĩa (Châu Thành A và Phụng Hiệp). Sự biến đổi các giá trị L*, a* và b* khi mít chín thể hiện sự chuyển màu thịt quả từ vàng nhạt sáng sang màu vàng cam sậm.



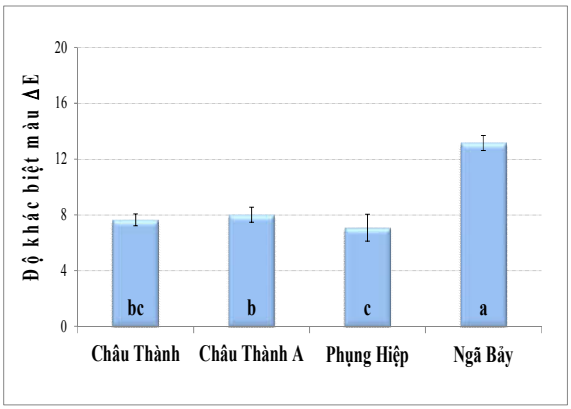
A



B



C



D

Hình 4. Biến đổi màu sắc thịt quả

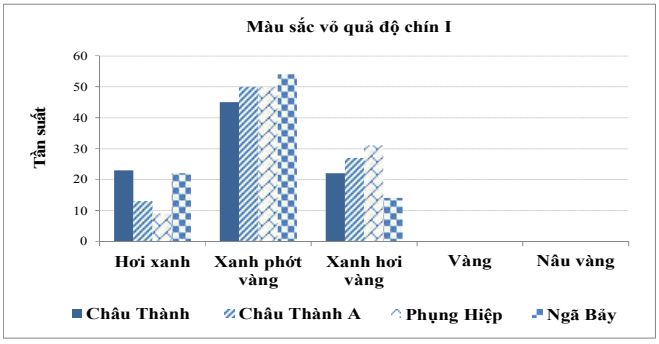
Giá trị L*(A), giá trị a*(B), giá trị b*(C), ΔE (D)

Ghi chú: Thể hiện qua trung bình ± độ lệch chuẩn, các chữ cái giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, α = 0,05.

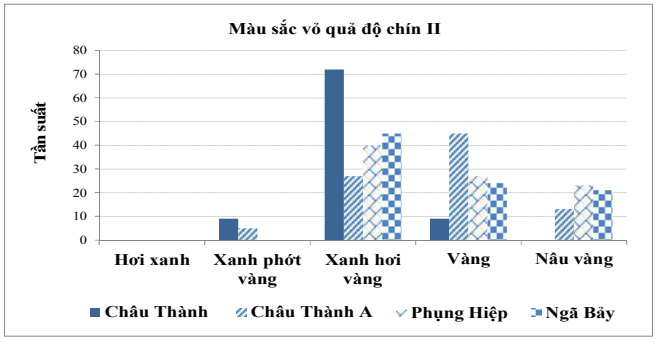
Giá trị L*, a*, b* của thịt quả mít trồng tại 4 vùng khác biệt có ý nghĩa thống kê. Vùng Ngã Bảy cho mít có thịt quả có giá trị b* thấp khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức khác, nên thể hiện màu vàng khá nhạt so với mít trồng tại các vùng còn lại. Độ khác biệt màu (ΔE) khi mít chuyển từ độ chín I sang độ chín II cũng khác biệt có ý nghĩa theo các vùng trồng (Hình 4.D). Mít trong vùng Ngã Bảy có giá trị độ khác biệt màu ΔE cao khác biệt so với của các vùng còn lại, giá trị này là 13,3 ± 0,5 trong khoảng 11 - 49, nên màu biến đổi khi chín gần như tương phản, trong khi giá trị độ khác biệt màu ΔE của mít tại 3 vùng còn lại trong khoảng 2 - 10 cũng dễ dàng nhận biết sự khác biệt màu sắc thịt quả khi chín [10]. Màu sắc trong mô quả thường liên quan đến sự phân hủy chlorophyll và tăng sự hình thành carotenoid [11]. Ong và cs (2006) [12] đã quan sát sự khác biệt đáng kể các giá trị màu trong quá trình chín của quả mít. Selvaraj và Pal (1989) [13] đã công bố có sự gia tăng gấp đôi màu sắc thịt quả do sắc tố carotenoid từ giai đoạn thu hoạch đến giai đoạn chín.

3.5. Biến đổi chất lượng cảm quan bên ngoài của quả mít

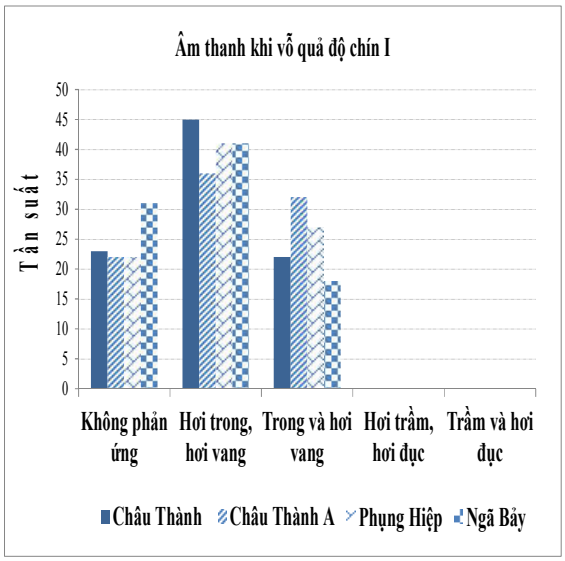
Màu sắc vỏ quả: Mít tại các vùng trồng ở độ chín I chủ yếu có màu xanh phớt vàng, khi chuyển sang độ chín II màu sắc vỏ quả dao động từ xanh hơi vàng, vàng và vàng nâu (Hình 5.A và 5.B). Vỏ quả khi còn non sẽ có màu xanh lục, lúc bắt đầu thuần thục và chín, sẽ có sự chuyển đổi của chất diệp lục, carotenoid làm cho vỏ quả chuyển sang màu xanh phớt vàng hoặc hơi vàng [14].



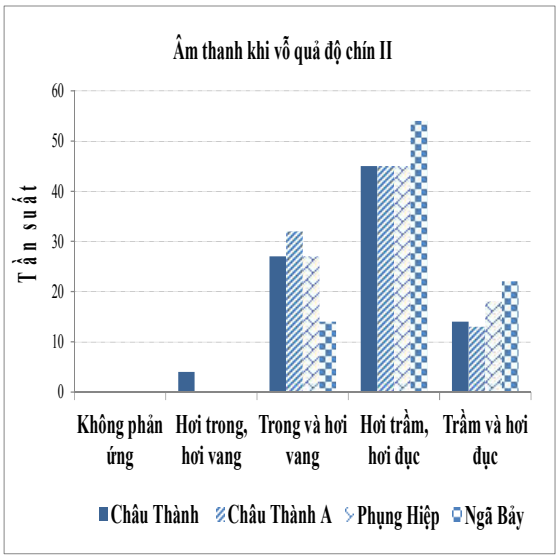
A



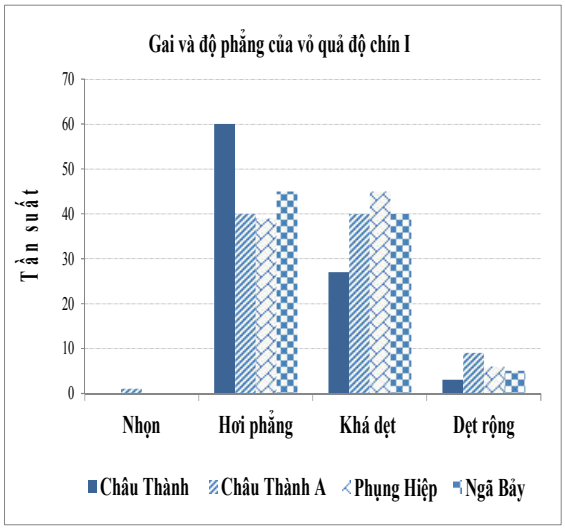
B



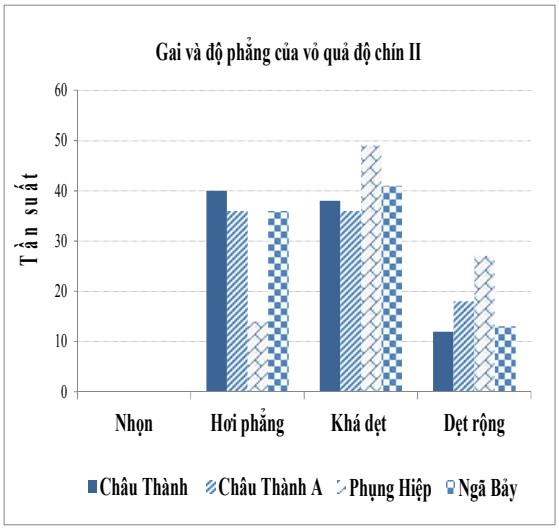
C



D



E



F

Hình 5. Biểu hiện cảm quan bên ngoài của quả mít

Màu sắc vỏ quả độ chín I (A), độ chín II (B), âm thanh khi gõ vào quả độ chín I (C), độ chín II (D), gai và độ phẳng của vỏ quả độ chín I (E), độ chín II (F)

Âm thanh khi vỗ quả: Khi vỗ vào quả độ chín I âm thanh phát ra chủ yếu từ hơi trong và vang đến trong và hơi vang. Khi chín, âm thanh phát ra khi vỗ quả chuyển sang hơi trầm hơi đục và trầm hơi đục. Sự chuyển đổi âm thanh này là do sự thay đổi các thành phần hóa lý trong quá trình chín của quả. Âm thanh phát ra khi gõ vào quả mít là một trong những chỉ số thu hoạch đáng tin cậy [15].

Gai và độ phẳng của vỏ quả: Quả ở độ chín I có gai chủ yếu hơi phẳng đến khá dẹt. Khi chín, gai quả dẹt ra và phẳng hơn, nên chủ yếu có dạng khá dẹt đến dẹt rộng (Hình 5.E và 5.F). Khi mít chín, các gai xòe rộng và ít nhọn hơn [16], [17].

Màu sắc, trạng thái bên ngoài của quả mít ở hai khoảng độ chín được thể hiện qua hình 6. Thực tế, màu sắc bên ngoài, độ nở và độ phẳng của gai trên vỏ quả thể hiện được độ chín của quả, là các chỉ số tin cậy quyết định thu hoạch quả theo độ chín mong muốn.



Độ chín I Độ chín II Độ chín I Độ chín II Độ chín I Độ chín II Độ chín I Độ chín II

Châu Thành Châu Thành A Phụng Hiệp Ngã Bảy

Hình 6. Quả mít Thái của các vùng trồng khi thu hoạch trong độ chín I và II

3.6. Biến đổi chất lượng cảm quan bên trong của quả mít

Màu sắc xơ mít: Khi thu hoạch mít trong độ chín I, màu sắc xơ mít chủ yếu từ "trắng đến hơi vàng" đến "hơi vàng". Khi mít chín, màu xơ mít chuyển chủ yếu thành "hơi vàng" và "hơi vàng đến vàng". Mít vùng Ngã Bảy có màu sắc xơ mít ở cả hai độ chín đều khá nhạt màu so với xơ mít các vùng khác, trong khi mít vùng Phụng Hiệp có màu sắc xơ mít của cả hai độ chín đều sậm màu khác biệt so với của các vùng khác (Hình 7.A và 7.B).

Màu sắc thịt quả: Thịt quả độ chín I chủ yếu có màu hơi vàng và khi chín màu thịt quả chủ yếu "hơi vàng đến vàng". Sự chuyển đổi màu sắc thịt quả mít khi chín cũng đã được thể hiện qua sự biến đổi các giá trị màu L*, a* và b* như đã trình bày. Tương tự như màu xơ mít, mít ở vùng Ngã Bảy cho màu sắc thịt quả nhạt hơn đáng kể so với màu sắc thịt quả mít từ các vùng trồng còn lại (Hình 7.C, 7.D và 8). Mít chín hàm lượng carotenoid được tổng hợp nên màu sắc của xơ mít và thịt quả cũng vàng hơn [2]. Màu sắc thịt quả mít có thể có nhiều màu khác nhau như vàng, hơi vàng, vàng đậm, vàng cam hay vàng nghệ… tùy thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có giống và điều kiện canh tác [18].

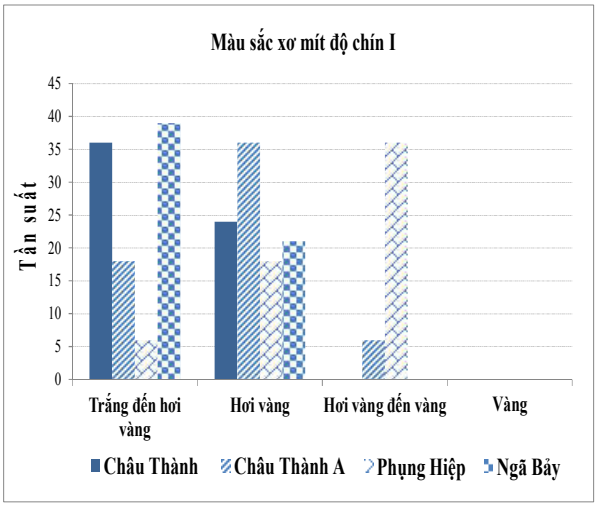
Kích thước múi mít: Khi chín, kích thước múi mít có khuynh hướng giảm (Hình 7.E, 7.F và 8), mít ở vùng Phụng Hiệp có xu hướng cho múi mít to hơn, kết quả này phù hợp với kết quả đã trình bày ở mục 3.3.

Cấu trúc thịt quả: Khi chín, mít ở 4 vùng trồng đều chuyển từ cấu trúc "cứng" sang 'chắc thịt" và "chắc thịt hơi mềm" (Hình 7.G và 7.H).

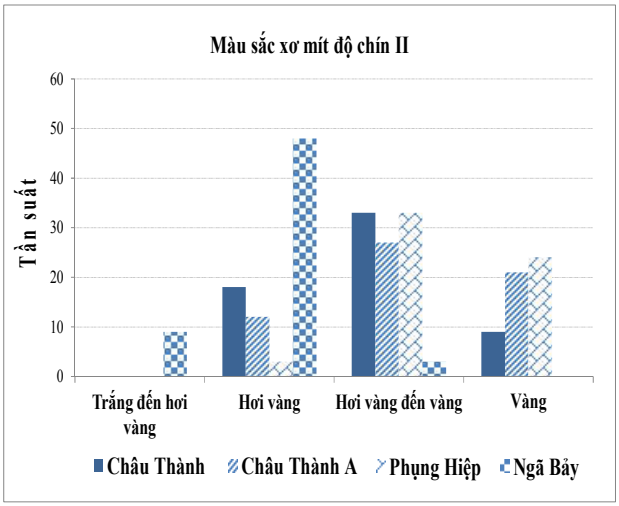
Mùi: Khi chín mùi của mít cũng phát triển lên, chuyển từ hơi thơm ở độ chín I sang rất thơm ở độ chín II (Hình 7.I và 7.K). Có 23 hợp chất tạo mùi đã được xác định trong mít và hàm lượng của các hợp chất này tăng cao trong quá trình chín [12], đây là lý do khi mít chín sẽ có mùi rất thơm.

Vị: Khi mít ở độ chín I có vị nhạt, khi chuyển sang độ chín II, mít có vị rất ngọt. Biến đổi này xảy ra tương tự trong mít được trồng ở tất cả 4 vùng (Hình 7.L và 7.M).

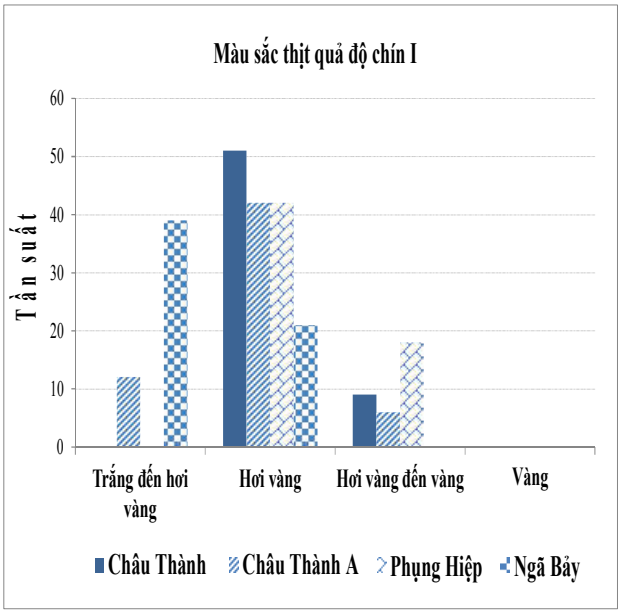
Quá trình chín của quả (tức chuyển từ độ chín già sang chín), xảy ra sự chuyển hóa tinh bột thành đường, các hợp chất mùi được tổng hợp nhiều hơn làm cho quả mềm, có mùi thơm và vị ngọt. Mít chín hoàn toàn được tiêu thụ rộng rãi nhờ cấu trúc mềm; hương thơm cùng với vị ngọt ngào [19].


Màu sắc xơ mít độ chín I
Tần suất
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
Trắng đến hơi vàng
Hơi vàng
Hơi vàng đến vàng
Vàng
Châu Thành
Châu Thành A
Phụng Hiệp
Ngã Bảy

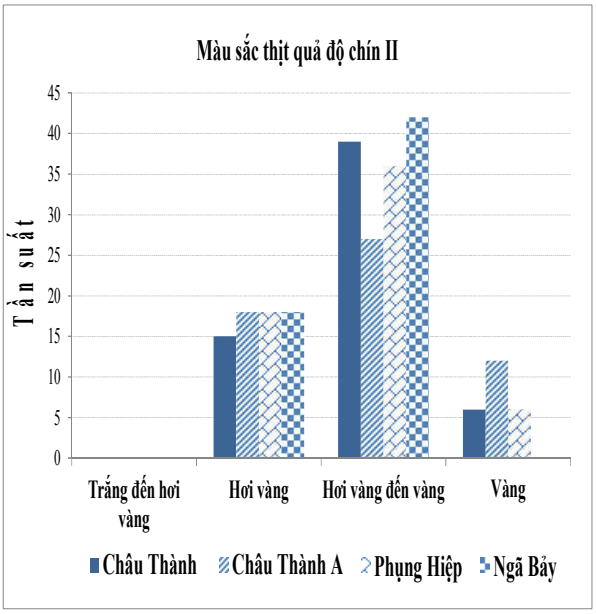
A


Màu sắc xơ mít độ chín II
Tần suất
60
50
40
30
20
10
0
Trắng đến hơi vàng
Hơi vàng
Hơi vàng đến vàng
Vàng
Châu Thành
Châu Thành A
Phụng Hiệp
Ngã Bảy

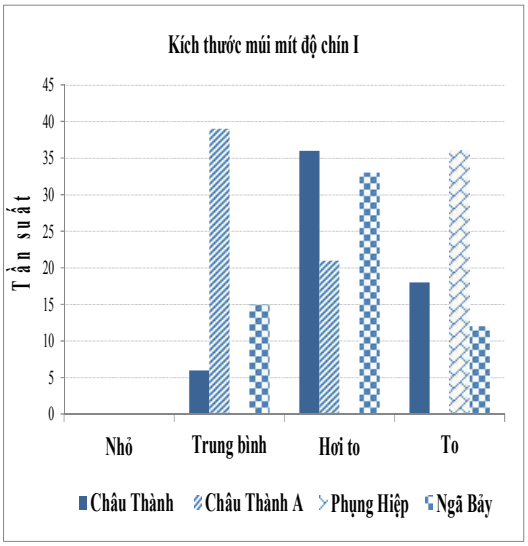
B


Màu sắc thịt quả độ chín I
Tần suất
60
50
40
30
20
10
0
Trắng đến hơi vàng
Hơi vàng
Hơi vàng đến vàng
Vàng
Châu Thành
Châu Thành A
Phụng Hiệp
Ngã Bảy

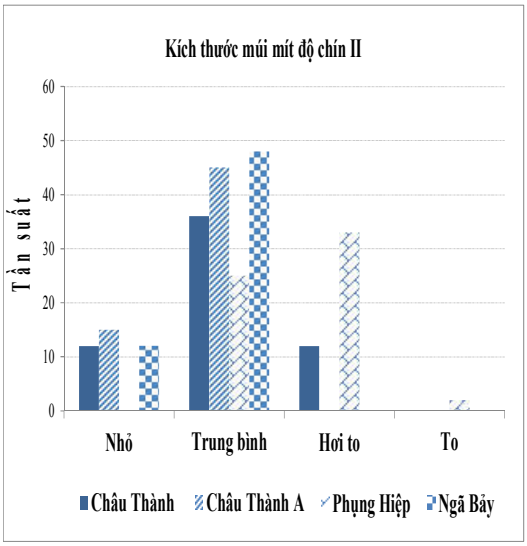
C


Màu sắc thịt quả độ chín II
Tần suất
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
Trắng đến hơi vàng
Hơi vàng
Hơi vàng đến vàng
Vàng
Châu Thành
Châu Thành A
Phụng Hiệp
Ngã Bảy

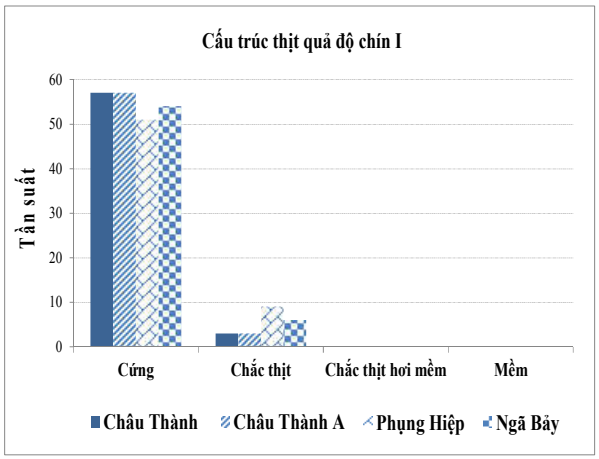
D


Kích thước múi mít độ chín I
Tần suất
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
Nhỏ
Trung bình
Hơi to
To
Châu Thành
Châu Thành A
Phụng Hiệp
Ngã Bảy

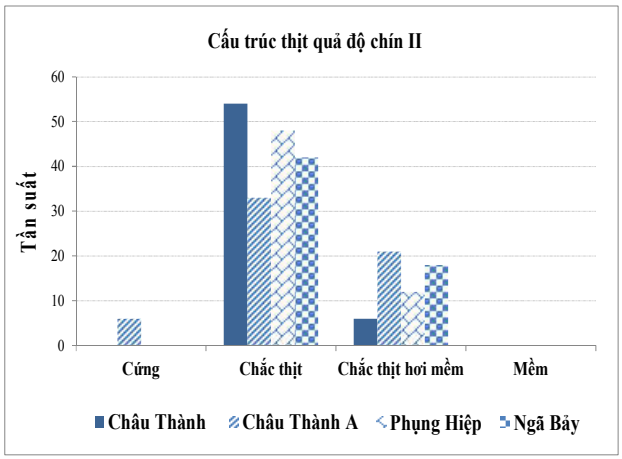
E


Kích thước múi mít độ chín II
Tần suất
60
50
40
30
20
10
0
Nhỏ
Trung bình
Hơi to
To
Châu Thành
Châu Thành A
Phụng Hiệp
Ngã Bảy

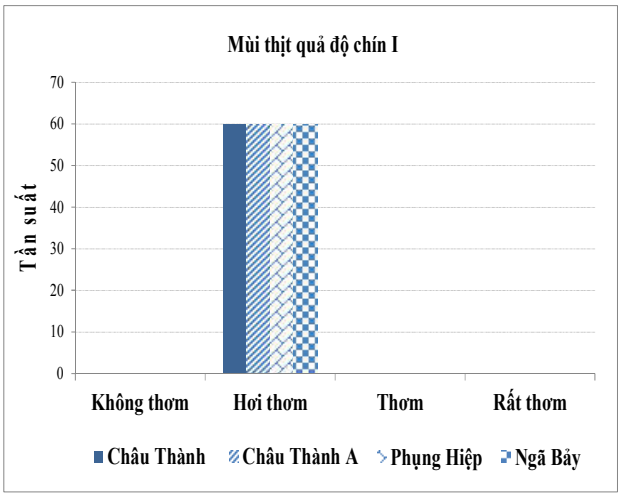
F



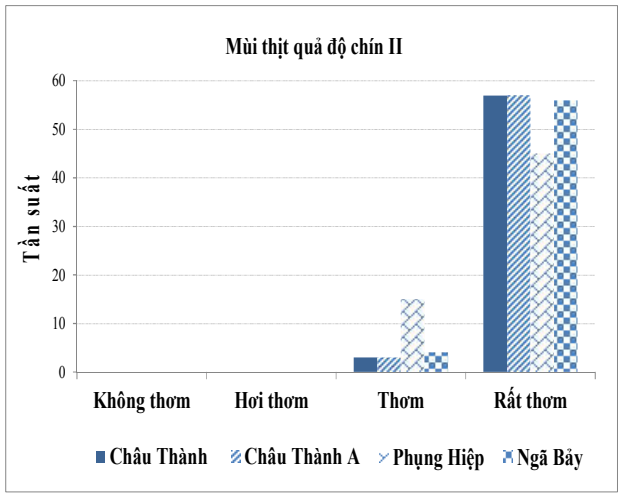
G



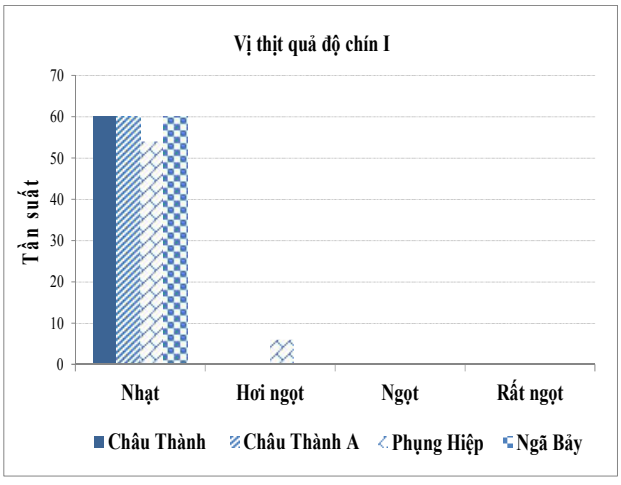
H



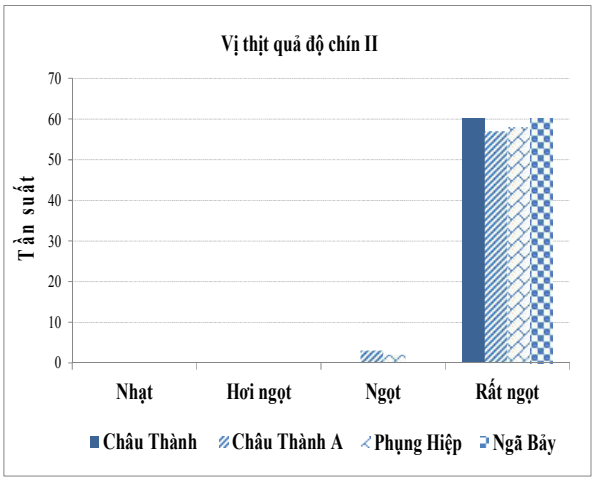
I



K



L



M

Hình 7. Biểu hiện cảm quan bên trong của quả mít

Màu sắc xơ độ chín I (A), độ chín II (B), màu sắc thịt quả độ chín I (C) độ chín II (D), kích thước múi mít độ chín I (E), độ chín II (F), cấu trúc thịt quả độ chín I (G), độ chín II (H), mùi mít độ chín I (I), độ chín II (G) vị mít độ chín I (L), độ chín II (M)



Độ chín I Độ chín II Độ chín I Độ chín II Độ chín I Độ chín II Độ chín I Độ chín II
Châu Thành Châu Thành A Phụng Hiệp Ngã Bảy

Hình 8. Màu sắc múi của quả mít ở các vùng trồng

4. KẾT LUẬN

Độ chín là một yếu tố quan trọng xác định chất lượng quả, ảnh hưởng trực tiếp đến màu sắc, kích thước, cấu trúc, hương vị của mít cũng như tính nhạy cảm với các điều kiện bảo quản. Dựa vào biểu hiện cảm quan bên ngoài để có thể dự đoán độ chín và từ đó xác định các đặc tính cảm quan bên trong của mít Thái.

Mít trồng tại 4 vùng trong phạm vi khảo sát của tỉnh Hậu Giang mặc dù có khác biệt về một vài chỉ tiêu, song có cùng chung xu hướng biến đổi khi chín. Khi chín mít trồng tại các vùng đều có các đặc tính vật lý cũng không khác biệt nhiều và đặc biệt chất lượng cảm quan đều tốt, thích hợp cho cả sử dụng tươi hoặc chế biến các sản phẩm thực phẩm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện thông qua sự tài trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu khoa học cấp tỉnh "Nghiên cứu quy trình công nghệ sản xuất đa dạng hóa các sản phẩm từ nguồn nguyên liệu mít trên địa bàn tỉnh Hậu Giang", mã số DP 2022 -14, thuộc Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Hậu Giang.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Shikha kumari, R. P. a. A. G. (2018). Processing and utilization of jackfruit seeds, pearl millet and soybean flour for value addition. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6): 569-572.

2. Ranasinghe, R. & Marapana, R. (2019). Effect of maturity stage on physicochemical properties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) flesh. W*orld Journal of Dairy & Food Sciences*, 14(1): 17-25.

3. Saha, M., Islam, M. & Molla, M. (2016). Determination of harvest maturity of jackfruit. *Bangladesh Society for Horticultural Science*, 2(1): 23-36.

4. Swami, S. B., Thakor, N., Orpe, S. & Kalse, S. (2016). Development of ripe jackfruit bulb powder and its quality evaluation. J. *Journal of Food Research and Technology*, 4(1): 22-29.

5. Berry, S. & Kalra, C. (1988). Chemistry and technology of jack fruit (*Artocarpus heterophyllus*)- A review. Indian Food Packer, 42(3): 62-76.

6. Chandra, E. & Bharati, P. (2020). Physical and nutritional properties of jackfruit at different stages of maturity. *The Pharma Innovation Journal*, 9(12): 354-357.

7. Sayyad, R. & Ghomi, M. (2017). Evaluation of fatty acid profile, color characteristics, oxidative quality and stability of common Kilka (Clupeonella cultriventris caspia) oil obtained by various extraction techniques. *Journal of Food Science and Technology*, 54(6): 1377-1383.

8. Nikolić, M. V. & Mojovic, L. (2007). Hydrolysis of apple pectin by the coordinated activity of pectic enzymes. *Food Chemistry*, 101(1): 1-9.

9. Miller, J. G. & Fry, S. C. (2001). Characteristics of xyloglucan after attack by hydroxyl radicals. Carbohydrate Research, 332(4): 389-403.

10. Karma, I. G. M. (2020). Determination and measurement of color dissimilarity. I*nternational Journal of Engineering and Emerging Technology*, 5(1): 67-71.

11. Rengsutthi, K. & Charoenrein, S. (2011). Physico-chemical properties of jackfruit seed starch (*Artocarpus heterophyllus*) and its application as a thickener and stabilizer in chilli sauce. LWT-Food Science and Technology, 44(5): 1309-1313.

12. Ong, B., Nazimah, S., Osman, A., Quek, S., Voon, Y., Hashim, D. M., Chew, P. & Kong, Y. (2006). Chemical and flavour changes in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) cultivar J3 during ripening. Postharvest Biology and Technology, 40(3): 279-286.

13. Selvaraj, Y. & Pal, D. (1989). Biochemical changes during the ripening of juckfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.). *Journal of Food Science and Technology* (Mysore), 26(6): 304-307.

14. Tiwari, A. & Vidyarthi, A. (2015). Nutritional evaluation of various edible fruit parts of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) at different maturity stages. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Review and Research*, 1: 21-26.

15. Yap, A. (1972). Cultural Directions for Philippines Agricultural Crops. Fruits. BPI, Department of Agriculture, 1: 137-141.

16. Haq, N. (2006). Fruits for the Future 10: Jackfruit *Artocarpus heterophyllus.* Crops for the Future. 192 pages.

17. Haque, M. (2010). Jackfruit: Botany, Production technology and research in Bangladesh. Jahanara Haque Publisher, 291: 143.

18. Jagadeesh, S., Reddy, B., Swamy, G., Gorbal, K., Hegde, L. & Raghavan, G. (2007). Chemical composition of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus Lam.*) selections of Western Ghats of India. Food Chemistry, 102(1): 361-365.

19. Kaur, J., Singh, Z., Shah, H. M. S., Mazhar, M. S., Hasan, M. U. & Woodward, A. (2023). Insights into phytonutrient profile and postharvest quality management of jackfruit: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition: 1-27.

EFFECT OF FRUIT MATURITY AND GROWING AREAS ON PHYSICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF THAI JACKFRUIT IN HAU GIANG PROVINCE

Duong Thi Phuong Lien, Tran Thu Ngan, Nguyen Thi Thu Thuy, Vo Thi Dieu

Summary

Physical characteristics such as fruit weight, weight ratio of fruit parts, bulbs thickness, color, firmness, fruit appearance (rind color, spine flatten, metallic sound) and internal organoleptic quality (flesh and rags colors, size of bulb, texture of bulb, odor and taste of fruit) Thai jackfruits in Hau Giang province (The district of Chau Thanh, Chau Thanh A, Phung Hiep and Nga Bay city) were evaluated corresponding to two harvest ripeness (maturity I - mature: 90-105 days, maturity II – ripe: 105-125 days after fruit set). The results showed that when jackfruit from 4 regions changed from mature to ripe, there is not significant different in the fruit weight; edible proportion, the ratio of core - skin and rags. The bulbs thickness and hardness tended to decrease (10.7-28.6% and 54.8-59.2%); the percentage of seeds and tended to increase (6.9-15.9%); the color of rind changed from slightly yellowish green to yellowish green or yellow; spines flatten was from slightly flat to pretty flat, the metallic sound was from slightly clear, resonant to bass and slightly opaque; the color of rags changed from yellowish white to "yellowish to yellow", the texture changed from hard to firm or semi-soft, the color of bulbs changed from yellowish to "yellowish to yellow", the smell from slightly fragrant to very fragrant and the taste from insipid to very sweet. Jackfruits in Nga Bay and Phung Hiep tended to have a high percentage of bulbs (38.18-39.49% and 36.12-39.14%, respectively), low percentage of seeds (11.1-11.9% and 10.8-12.3%). Jackfruits in Phung Hiep tended to have large size, weight and thickness (corresponding to 20.2-34.5 g and 5.6-7.9 mm). Jackfruits in the Nga Bay tended to have lighter bulb and rags color. Jackfruits from Hau Giang display good physical properties and organoleptic qualities that are suitable for processing high quality food products.

Keywords: *Fruit proportion, growing areas, maturity, sensory quality, Thai jackfruit.*

Người phản biện: TS. Đỗ Chí Thịnh
Ngày nhận bài: 24/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 22/3/2023
Ngày duyệt đăng: 29/3/2023

NGHIÊN CỨU CÁC THÔNG SỐ CÔNG NGHỆ CỦA QUÁ TRÌNH KHỬ MÀU DỊCH THỦY PHÂN PYRODEXTRIN TRONG SẢN XUẤT MALTODEXTRIN KHÁNG TIÊU HÓA TỪ TINH BỘT GẠO

Phạm Thị Bình[1, *], Nguyễn Văn Lợi[2], Nguyễn Duy Lâm[3]

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu nhằm xác định các thông số công nghệ phù hợp để khử màu dịch thủy phân pyrodextrin bằng than hoạt tính kết hợp nhựa hấp phụ trong quá trình sản xuất maltodextrin kháng tiêu hóa từ tinh bột gạo. Theo đó, các thông số của quá trình khử màu theo mẻ bằng than hoạt tính dạng bột, bằng cột than hoạt tính dạng hạt và bằng cột nhựa trao đổi ion đã được khảo sát. Đối với than hoạt tính dạng bột, đã xác định được điều kiện công nghệ khử màu dịch thủy phân pyrodextrin có độ màu ban đầu 27,8, đạt độ màu thấp nhất 4,5 bằng khử màu 2 lần liên tiếp với tỷ lệ than hoạt tính mỗi lần là 2%, nhiệt độ xử lý 90 - 95°C, thời gian 10 - 15 phút. Đối với cột than hoạt tính dạng hạt, điều kiện công nghệ để khử màu từ 27,8 xuống mức 8,3 là sử dụng than Norit, nhiệt độ khử màu 90°C, tốc độ dòng 2,5 BV/h với 3 cột nối tiếp nhau. Đã lựa chọn được loại nhựa trao đổi ion phù hợp là Lewatit M800 và lưu tốc dòng nạp liệu 1 - 1,5 BV/h. Khi kết hợp khử màu bằng cột than hoạt tính kết hợp với cột nhựa trao đổi ion Lewatit M800, hiệu quả khử màu đạt kết quả cao nhất. Như vậy, để khử màu dịch thủy phân pyrodextrin đạt yêu cầu công nghệ và chất lượng sản phẩm maltodextrin kháng tiêu hóa, cần thiết phải áp dụng quy trình khử màu 2 bước, trong đó bước thứ nhất sử dụng than hoạt tính dạng bột hoặc dạng hạt để giảm màu tới khoảng độ màu 8-10, bước thứ hai là khử màu bằng cột nhựa trao đổi ion đạt độ màu dịch thủy phân 2,6±0,2.

Từ khóa: *Dịch thủy phân pyrodextrin, maltodextrin kháng, khử màu, than hoạt tính, trao đổi ion.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tinh bột kháng tiêu hóa nói chung và maltodextrin kháng tiêu hóa nói riêng được coi là một chất xơ thực phẩm có lợi ích cho sức khỏe vì có những tính chất vượt trội so với những chất xơ thông thường [1]. Chất xơ này bền axit, bền nhiệt, không bị biến đổi trong chế biến thực phẩm hay do enzym tiêu hóa trong cơ thể khi tiêu thụ. Hơn nữa, chất xơ này có màu, mùi phù hợp, không làm thay đổi cấu trúc, mùi vị của thực phẩm khi phối chế và không cần phải thay đổi công thức chế biến [2-3].

Quá trình sản xuất maltodextrin kháng tiêu hóa có nhiều công đoạn tương tự như trong sản xuất maltodextrin và dextrin thông thường. Công đoạn khác biệt là sự khởi đầu bằng quá trình dextrin hóa hay xử lý nhiệt phân tinh bột để cho sản phẩm gọi là pyrodextrin. Maltodextrin kháng tiêu hóa là phân nhóm của dextrin được sản xuất từ pyrodextrin qua các công đoạn tương tự như trong sản xuất maltodextrin thông thường: thủy phân enzym, khử màu, khử khoáng, tách đường phân tử thấp và sấy phun [4, 5].

Khử màu là một công đoạn quan trọng trong sản xuất maltodextrin từ pyrodextrin vì sản phẩm của quá trình nhiệt phân và thủy phân bằng enzym có màu nâu đậm rất khó khử màu về kỹ thuật và tốn kém về kinh tế. Trong quá trình nhiệt phân ở nhiệt độ cao rất dễ xảy ra phản ứng Maillard và caramen hóa. Yêu cầu về độ trắng của bột

[1] NCS Trường Đại học Nông - Lâm Bắc Giang
[2] Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
[3] Viện Cơ điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch
*Email: binhpt@bafu.edu.vn

pyrodextrin trước khi thủy phân thường không được quá 60 - 65% và độ màu của dịch thủy phân sau khi khử màu không được quá 5 độ màu [5, 6]. Phương pháp truyền thống để khử màu là dùng than hoạt tính vì dễ thực hiện, rẻ tiền nhưng đòi hỏi nhiều thiết bị và nhân công. Quá trình khử màu bằng than hoạt tính chủ yếu theo mẻ, theo đó, sau khi khử màu, dịch đường phải được lọc để tách than. Nhược điểm lớn nhất của khử màu theo mẻ này thường để lại tồn dư nhũ tương than mịn. Tồn dư này vẫn còn sau khi lọc nhiều lần [6-8]. Mặt khác, quá trình lọc ép khung bản phối hợp khử màu bằng than hoạt tính cũng không thể khử hết được màu, nên cần đến công đoạn khử bằng phương pháp trao đổi ion. Nguyên tắc khi thiết kế cột trao đổi ion trong xử lý màu cần quan tâm xem xét các thông số cơ bản: kết quả phân tích màu của dịch đầu vào, công suất yêu cầu, chiều dài chu kỳ tinh chế khử màu, yêu cầu chất lượng màu đầu ra, kỹ thuật tái sinh, kích thước cột và lựa chọn nhựa [9-11].

Cho đến nay, các nghiên cứu về sản xuất tinh bột kháng dạng maltodextrin ở Việt Nam mới được thực hiện tại Viện Cơ điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch [12, 13]. Trong đó, công đoạn khử màu vẫn sử dụng than hoạt tính dạng bột, kể cả thực hiện ở quy mô pillot [14]. Chính vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm khảo sát đầy đủ hơn các thông số ảnh hưởng của quá trình khử màu dịch thủy phân pyrodextrin bằng than hoạt tính dạng bột, dạng hạt trên cột và bằng cột hấp phụ sử dụng nhựa trao đổi ion để có thể áp dụng cho khử màu triệt để trong quá trình sản xuất maltodextrin kháng tiêu hóa từ tinh bột gạo.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Bột pyrodextrin độ ẩm 4 - 5%, đương lượng dextrose DE 4 - 5, độ trắng 62 - 65% hàm lượng chất kháng tiêu hóa IDF 65 - 75% là sản phẩm nghiên cứu của Viện Cơ điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch [14]. Than hoạt tính dạng bột ký hiệu MD-1 than Norit dạng hạt. Ba loại nhựa trao đổi ion gốc bazơ mạnh là Amberlite FPA53 (Rohm & Haas, Mỹ), Purolite A400E (Purolite, Anh) và Lewatit M800 (Lanxess, Đức) mua tại Việt Nam. Enzim α-amylase là Termamyl SC (Novozymes A/S, Đan Mạch) có hoạt độ 2.860 IU/mL. Enzym amyloglycosidaza là AMG 300 L (Novozymes, Đan Mạch) có hoạt độ 518 U/mL. Các bộ kit gồm có kit Mega-Calc TM: Maltose/Sucrose/D-glucose (K-MASUG) để xác định 3 loại đường maltoza, sucroza và glucoza, kit KGLUC để xác định đường D-glucoza (GOPOD Format), kitK-TDFR-100A/K-TDFR-200A 04/17 để xác định hàm lượng chất xơ thực phẩm tổng số TDF. Các bộ kit này đều do Novozymes (Đan Mạch) cung cấp.

2.2. Phương pháp chuẩn bị dịch thủy phân pyrodextrin

Hòa bột pyrodextrin với nước, tỷ lệ bột 33%, nhiệt độ khoảng 70°C, khuấy 60 v/phút. Điều chỉnh pH 5,8-6,0. Bổ sung 0,4% α-amylaza bền nhiệt (tính theo chất khô) và tiến hành dịch hóa ở 95-97°C trong 60 phút. Bất hoạt enzym rồi bổ sung 0,2% amyloglucosidaza vào dịch trong điều kiện pH 4,5 và nhiệt độ 60°C trong thời gian 300 phút để tiến hành đường hóa. Sau khi đường hóa, bất hoạt enzym AMG ở nhiệt 121 °C trong 5 phút [12].

2.3. Phương pháp khử màu bằng than hoạt tính dạng bột

Lấy 100 ml dịch thủy phân pyrodextrin (32°Bx, độ màu 28 - 30) cho vào cốc 250 ml, đun nóng tới 70°C rồi thêm than hoạt tính dạng bột với tỷ lệ 0, 1, 2, 3, 4 và 5% (w/w tính theo khối lượng dextrin khô). Khuấy nhẹ liên tục và giữ nhiệt độ không thay đổi trong 30 phút. Làm nguội nhanh rồi lọc hút chân không có sử dụng chất hỗ trợ lọc (Radiolit 400, Nhật Bản). Để xác định nhiệt độ khử màu thích hợp, bố trí thí nghiệm tương tự với dịch thủy phân cùng nồng độ chất tan, tỷ lệ than bổ sung từ kết quả của thí nghiệm đầu tiên, thời gian xử lý là 30 phút. Có 5 mức nhiệt độ là 25°C (nhiệt độ phòng), 65°C, 75°C, 85°C và 95°C. Để xác định

thời gian để khử màu thích hợp, bố trí thí nghiệm tương tự với 5 công thức khác nhau về thời gian (10, 15, 20, 25 và 30 phút). Để xác định số lần khử màu thích hợp sử dụng 4 công thức thí nghiệm, ký hiệu là KM-1, KM-2, KM-3, KM-4 với KM-1 là khử 1 lần duy nhất với tỷ lệ than 4%; KM-2 là khử 2 lần với lần 1 là 3%, lần 2 là 1%; KM-3 là khử 2 lần mỗi lần 2%; KM-4 là khử 3 lần với lần 1 là 2%, lần 2 và lần 3 là 1%.

2.4. Phương pháp khử màu bằng cột than hoạt tính dạng hạt

Phương pháp chuẩn bị cột than hoạt tính và tiến hành khử màu dựa theo Woo và Moon (2000) với một số cải tiến cho phù hợp [5]. Cân 1.200 g than hoạt tính Norit dạng hạt cho vào cốc thủy tinh lớn rồi rửa 5 lần với 2.000 ml nước tinh khiết để rửa mỗi lần. Rót than vào cột cho tới khi đạt độ cao 50 cm. 3 cột bằng thép inox cao 1.000 mm, đường kính trong 45 mm, bên ngoài có lớp áo giữ nhiệt với nước nóng 90°C tuần hoàn bơm từ một thiết bị cấp nhiệt. Tiến hành rửa ngược với thể tích nước tinh khiết đạt khoảng 50 lần thể tích than trong cột (0,8 l x 50 = 40 l) và để ổn định cột 24 giờ trước khi sử dụng. Tiến hành thí nghiệm thứ nhất với 2 dịch thủy phân có độ màu khác nhau: KM-5 có độ màu 27,8 và KM-6 có độ màu 4,5. Khử màu bằng cách bơm 5.000 ml dịch vào cột với tốc độ dòng 2,5 BV/h (2,5 thể tích cột than mỗi giờ tương đương 1.600 ml/h). Thí nghiệm thứ hai sử dụng dịch có độ màu 27,8 chạy qua 3 cột có cùng điều kiện như thí nghiệm thứ nhất, lấy mẫu phân tích màu sau mỗi cột.

2.5. Phương pháp khử màu bằng cột nhựa hấp phụ

Sử dụng dịch thủy phân pyrodextrin đã được khử màu sơ cấp bằng than hoạt tính dạng bột hoặc dạng hạt có độ màu 8-10 để khử màu thứ cấp (lần 2) bằng cột nhựa trao đổi ion. Hệ cột plastic đường kính trong 20 mm và 3 loại nhựa trao đổi ion (Amberlite FPA53, Purolite A400E và Lewatit M800) được thử nghiệm (250 ml nhựa mỗi cột). Nhiệt độ dịch ban đầu 45°C. Khảo sát tốc độ chảy ở cả 3 cột là 1,0, 1,5 và 2,0 BV/h.

2.6. Phương pháp phân tích

2.6.1. Xác định độ trắng bột và độ màu dịch pyrodextrin

Đo trực tiếp độ trắng của tinh bột hay pyrodextrin bằng thiết bị đo độ trắng Kett C-300 (Kett Electric Laboratory) có khoảng đo từ 0 tới 100 với 0 biểu thị tối nhất, 100 biểu thị trắng nhất. Số hiển thị trên màn hình tương ứng với độ trắng của tinh bột với đơn vị %. Để đo màu dịch lỏng cần chuẩn bị dung dịch pyrodextrin có 10% chất khô, sau đó lọc qua giấy lọc trước rồi đo mật độ quang OD ở bước sóng 420 nm và 720 nm. Dùng cuvet thạch anh dày 1 cm. Hiệu số hai OD (giá trị tuyệt đối) nhân với 10 được coi là độ màu của dịch [12, 14].

2.6.2. Xác định hàm lượng chất rắn hòa tan (độ Brix) và độ pH của dung dịch

Sử dụng khúc xạ kế điện tử Atago PAL-1 để xác định độ Brix và máy đo pH (Model C831, Turnhout, Belgium). Trong các thí nghiệm, trị số pH của bột pyrodextrin được đo qua dung dịch chuẩn bị bằng cách lấy 25 g pyrodextrin hay tinh bột khô pha với 50 mL nước khử ion.

2.6.3. Xác định đương lượng dextroza (DE)

DE được xác định theo Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10376: 2014 về sản phẩm thủy phân từ tinh bột - Xác định khả năng khử và đương lượng dextroza - Phương pháp chuẩn độ hằng số Lane và Eynon.

2.6.4. Hàm lượng chất kháng tiêu hóa (IDF)

IDF của các mẫu tinh bột được xác định theo phương pháp AOAC 2001.03 có sửa đổi [13, 14]. Theo đó, 1 g pyrodextrin được cân chính xác trong bình định mức; 50 ml dung dịch đệm photphat 0,08 M (pH 6,0) được thêm vào, tiếp theo là 0,1 ml enzym chịu nhiệt α-amylaza (Termamyl 120L, Novo Laboratories, Inc.) và phản ứng ở 95°C trong 30 phút. Sau đó, dung dịch chuẩn bị được làm lạnh

tự nhiên đến nhiệt độ phòng. Độ pH của dung dịch được điều chỉnh về pH 7,5 bằng dung dịch NaOH 0,275 M. Sau đó, 0,5 ml dung dịch proteaza đã được thêm vào trước khi cho phép phản ứng ở 60°C trong 30 phút. Để nguội dung dịch và điều chỉnh đến pH 4,5 bằng HCl 0,325 M. Thêm 0,3 ml amyloglucosidaza và để xảy ra phản ứng ở 60°C trong 30 phút. Đun nóng dung dịch phụ gia đến 90°C trong 15 phút để kết thúc phản ứng. Hỗn hợp thu được được lọc và pha loãng thành 100 ml bằng nước cất và hàm lượng glucoza được xác định bằng pyranoza-oxidaza bằng cách sử dụng bộ K-GLUC (GOPOD Format). IDF được tính theo công thức sau: IDF (%) = 100 – hàm lượng glucoza (%) x 0,9.

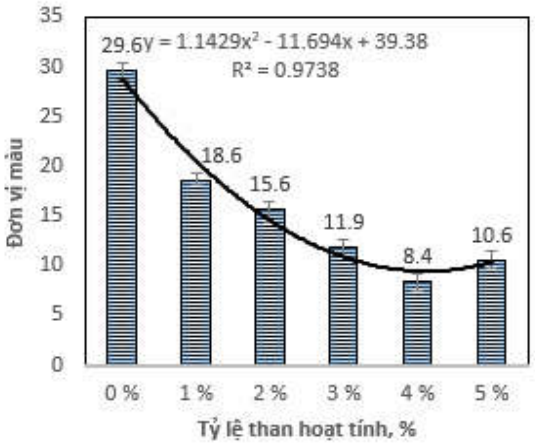
2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu nghiên cứu được xử lý theo phần mềm Microsoft Excel 2016, Minitab phiên bản 2016. Số liệu đo IDF được tính toán theo phần mềm của kit Mega-Calc™ (Đan Mạch).

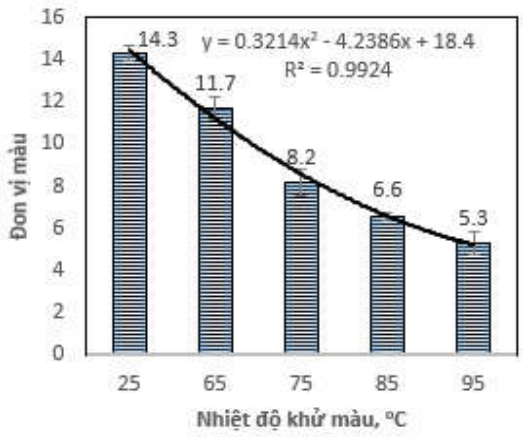
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ than hoạt tính và nhiệt độ thích hợp để khử màu dịch pyrodextrin thủy phân

Mục đích của thí nghiệm này nhằm xác định tỷ lệ than hoạt tính thích hợp và nhiệt độ thích hợp để khử màu 1 lần dịch thủy phân pyrodextrin. Kết quả đo màu dịch thủy phân phụ thuộc tỷ lệ than được thể hiện ở hình 1, kết quả đo màu phụ thuộc nhiệt độ được thể hiện ở hình 2.



Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung than hoạt tính tới hiệu quả khử màu dịch thủy phân pyrodextrin



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới hiệu quả khử màu dịch thủy phân pyrodextrin bằng than hoạt tính

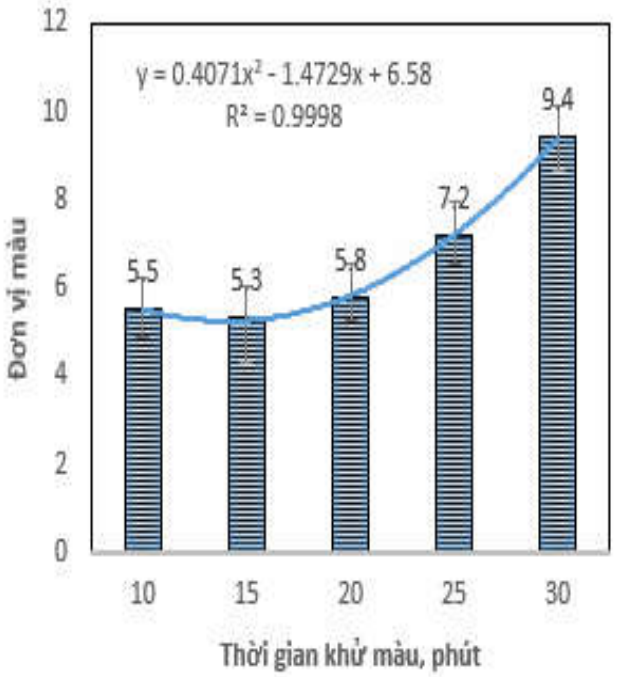
Hình 1 cho thấy, độ màu giảm dần theo chiều tăng của tỷ lệ than hoạt tính, từ giá trị 29,6 và giảm về chỉ còn 8,4 và sau đó gần như bão hòa. Độ màu thay đổi rõ rệt với các tỷ lệ than khác nhau, trong đó, độ màu dịch sáng, trong, tốt nhất ở tỷ lệ 4%. Ở cùng chế độ nhiệt và thời gian xử lý, độ màu giảm dần và thấp nhất ở tỷ lệ than 4%, sau đó lại tăng lên. Các thí nghiệm trong sáng chế U.S. Patent 2016/9353392 B2 cũng cho được những số liệu tương tự [15]. Tuy nhiên, đối với các thí nghiệm của Hamaguchi và cs (2014) lại lựa chọn tỷ lệ than hoạt tính là 3% [6]. Như vậy, đề xuất chọn tỷ lệ than hoạt tính (dạng bột) 4% để khử màu cũng được xem là hoàn toàn phù hợp.

Kết quả ở hình 2 cho thấy, nhiệt độ khử màu dịch thủy phân pyrodextrin tỉ lệ nghịch với độ màu của dịch. Ở nhiệt độ phòng, kết quả khử màu thấp (giá trị màu 14,3) nên chưa phù hợp với yêu cầu của sản phẩm cần đạt được. Khi tăng dần nhiệt độ thì màu dịch sau khử màu giảm dần và giảm cực đại ở 95°C, đạt giá trị 5,3. Kết quả này cũng tương tự kết quả nghiên cứu của Woo và Moon (2000) [5]. Như vậy, lựa chọn nhiệt độ 95°C để khử màu

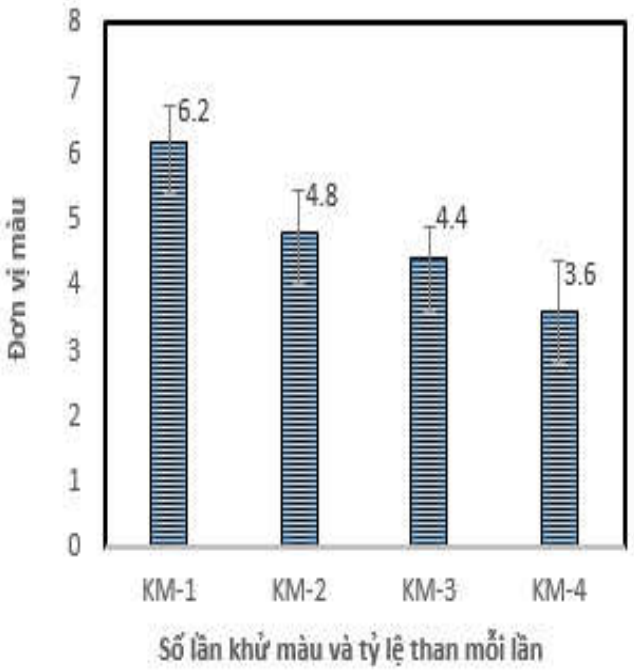
bằng than hoạt tính dạng bột theo phương pháp hòa trộn là phương án được đề xuất.

3.2. Thời gian và số lần khử màu thích hợp bằng than hoạt tính

Tỷ lệ than hoạt tính thích hợp và nhiệt độ khử màu thích hợp từ mục 3.1 được sử dụng cho thí nghiệm xác định thời gian và số lần khử màu thích hợp. Để xác định thời gian thích hợp, thí nghiệm được bố trí với thời gian khử màu khác nhau là 10, 15, 20, 25 và 30 phút. Pyrodextrin đã thủy phân. Kết quả ở hình 3 cho thấy, ở chế độ khử màu 95°C, thời gian càng kéo dài thì độ màu của dịch càng tăng. Khoảng 20 phút đầu tiên độ màu hầu như không thay đổi, trong khoảng 5,5 - 5,8. Từ 25 - 30 phút, độ màu dịch tăng lên rất đáng kể, trong khoảng 7,2 - 9,4. Hiện tượng này có thể do sự hình thành màu đã tăng lên ở nhiệt độ xử lý khử màu cao và kéo dài. Từ kết quả này đã đề xuất lựa chọn thời gian 10 - 15 phút ở 95°C để xử lý khử màu bằng than hoạt tính dạng bột theo phương pháp hòa trộn.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian khử màu tới hiệu quả khử màu dịch thủy phân pyrodextrin bằng than hoạt tính



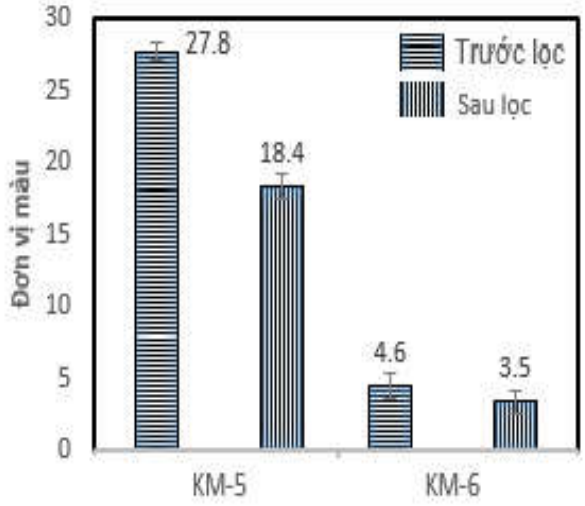
Hình 4. Ảnh hưởng của số lần khử màu (KM-1: 1 lần 4% than; KM-2: 2 lần 3% và 1%; KM-3: 2 lần 2% mỗi lần; KM-4: 3 lần với 2%, 1% và 1%)

Thí nghiệm khử màu chia ra nhiều lần với tỷ lệ than hoạt tính nhỏ nhằm khảo sát so sánh tác dụng khử màu của than hoạt tính có cùng tỷ lệ 4% nhưng chia ra 2 - 3 lần với mỗi lần có tỷ lệ khác nhau. Kết quả ở hình 4 cho thấy, xử lý 3 lần có hiệu quả cao hơn về tác dụng khử màu (cho màu sáng nhất) nhưng tính phức tạp cao hơn vì mất nhiều thời gian và năng lượng hơn so với các công thức còn lại. Trong khi đó, khử màu 2 lần liên tiếp có tỷ lệ than hoạt tính mỗi lần 2% cho độ màu sáng phù hợp, tính phức tạp giảm do giảm thời gian và năng lượng sử dụng. Do đó đề xuất lựa chọn phương án khử 2 lần liên tiếp với tỷ lệ than hoạt tính là 2% cho mỗi lần. Thêm vào đó, theo nghiên cứu của Woo và Moon (2000) về phương pháp sản xuất dextrin kháng tiêu hóa có thành phần kháng tiêu hóa cao cũng khuyến cáo sử dụng khử màu bằng than nhiều lần với các nồng độ nhỏ sẽ dễ dàng hơn [5].

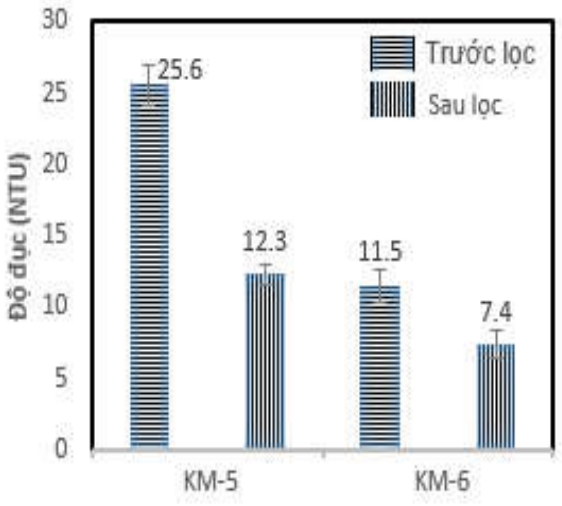
3.3. Khử màu bằng cột than hoạt tính dạng hạt

Nghiên cứu này nhằm đánh giá hiệu quả sử dụng than hoạt tính dạng hạt và sử dụng cột nhồi than hoạt tính dạng hạt thay cho than hoạt tính

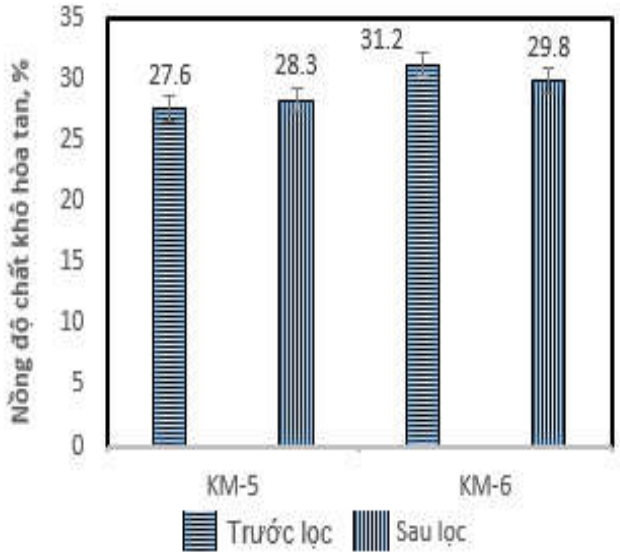
dạng bột hòa trộn vào dịch. Thực hiện 2 công thức thí nghiệm ký hiệu KM-5 và KM-6 tương ứng với dịch thủy phân ban đầu có độ màu 27,8 và 4,6. Kết quả xác định độ màu, độ đục và độ Brix được thể hiện ở hình 5, 6 và 7.



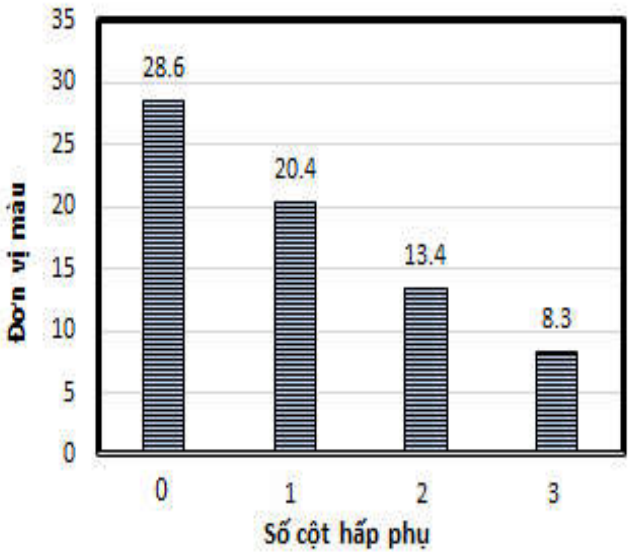
Hình 5. Sự thay đổi độ màu của dịch thủy phân trước và sau khi qua cột lọc



Hình 6. Sự thay đổi độ đục của dịch thủy phân trước và sau khi qua cột lọc



Hình 7. Sự thay đổi độ Brix của dịch thủy phân trước và sau khi qua cột lọc



Hình 8. Sự thay đổi độ màu của dịch thủy phân do khử màu bằng hệ cột than dạng hạt với số lượng cột khác nhau

Kết quả ở hình 5 cho thấy, cách khử màu bằng than hoạt tính dạng hạt có tác dụng khử màu đáng kể khi dịch thủy phân có màu đậm (độ màu 27,8) làm giảm 33,8% độ màu từ 27,8 xuống còn 18,4. Tuy nhiên, khi dịch có chỉ số màu thấp (4,6) thì tác dụng khử màu chỉ đạt 23,9%, độ màu từ 4,6 xuống 3,5. Hình 6 cho thấy, có sự giảm tương đối lớn về độ đục từ 25,6 xuống 12,5, đạt 51,2% đối với KM-5 và từ 11,5 xuống 7,4, đạt 35,7% đối với KM-6. Sự thay đổi nồng độ % chất khô hòa tan - độ Brix (Hình 7) cho thấy giá trị này ít bị giảm do hấp phụ trong các hạt than, tức là than không có tác dụng tách các thành phần theo kích thước hay khối lượng phân tử của các oligosacharide.

Như vậy, kết quả khử màu bằng than hoạt tính dạng hạt trên 1 cột, mặc dù có tác dụng rất rõ ràng nhưng với dịch pyrodextrin thủy phân có độ màu cao (phổ biến là 25-30) khó có thể áp dụng được. Cần phải khử bằng một hệ cột liên tiếp để giảm độ màu xuống mức hơn nữa thì mới áp dụng cho công đoạn khử màu cuối cùng bằng trao đổi ion. Bằng thí nghiệm với 3 cột khử liên tiếp có kết quả được thể hiện ở hình 8 đã chứng minh độ màu đã giảm xuống 8,3, có thể so sánh với kết quả khử màu bằng than hoạt tính dạng bột.

3.4. Khử màu bằng cột nhựa trao đổi ion

3.4.1. Lựa chọn loại hạt nhựa trao đổi ion khử màu

Trong thí nghiệm này, dịch pyrodextrin thủy phân đã được khử màu bằng than hoạt tính dạng bột có độ màu 8,1 được sử dụng để khử màu tiếp theo bằng phương pháp trao đổi ion. Sử dụng hệ cột plastic đường kính trong 20 mm. Ba loại nhựa trao đổi ion gồm: Amberlite FPA53, Purolite A400E, và Lewatit M800 (250 ml nhựa mỗi cột). Đặt tốc độ chảy ở cả 3 cột là 1 BV/h (250 ml/h). Đo độ màu khi kết thúc lọc với mỗi mẫu có thể tích 500 ml đúng thể tích mẫu ban đầu. Kết quả khử màu của 3 loại nhựa trao đổi ion bazơ (anion) được thể hiện ở bảng 1. Kết quả cho thấy tác dụng khử màu của hạt nhựa Amberlite FPA53 là cao nhất (độ màu 1,8), của Purolite A400E là thấp nhất (độ màu 4,3) trong 3 loại được khảo sát trong cùng điều kiện. Tuy nhiên sự khác biệt thực tế giữa 3 loại không quá lớn. Trong các thí nghiệm tiếp theo, hạt nhựa Lewatit M800 được lựa chọn vì có khả năng khử màu cao (độ màu 2,6), dễ mua tại Việt Nam, giá thành thấp hơn Amberlit FPA53 và là loại an toàn dùng trong dược phẩm, thực phẩm.

Bảng 1. Sự thay đổi độ màu của dịch thủy phân pyrodextrin sau khử bằng các hệ nhựa trao đổi ion khác nhau

Hệ nhựa khử màu	Lưu tốc dòng nạp	Độ màu	
		Trước cột	Sau cột
Amberlite FPA53	1 BV	8,1	1,8
Purolite A400E	1 BV	8,1	4,3
Lewatit M800	1 BV	8,1	2,6

Bảng 2. Sự thay đổi độ màu của dịch thủy phân pyrodextrin trong quá trình khử màu bằng trao đổi ion với tốc độ dòng và nồng độ khác nhau

Nồng độ chất rắn hòa tan	Độ màu ban đầu	Lưu tốc dòng nạp		
		1 BV	1,5 BV	2 BV
25°Bx	7,3	2,4	3,1	4,3
30°Bx	8,1	2,8	3,4	4,8

3.4.2. Lựa chọn lưu tốc dòng nạp trao đổi ion khử màu

Mục đích thí nghiệm là đánh giá tác động của lưu tốc dòng nạp ở 2 nồng độ chất tan 25 và 30 độ Brix. Bố trí thí nghiệm tương tự nêu trong mục 3.4.1 với hạt nhựa Lewatit M800 được sử dụng. Lưu tốc được chọn để đánh giá khả năng khử màu là 1 BV (250 ml/h), 1,5 BV (375 ml/h) và 2 BV (500 ml/h). Kết quả xác định độ màu ở bảng 2 cho thấy cả lưu tốc dòng nạp và nồng độ chất tan đều có ảnh hưởng tới kết quả khử màu của hệ hạt nhựa ion. Tuy nhiên ảnh hưởng của lưu tốc lớn hơn so với nồng độ chất tan. Như vậy, trong khoảng nồng độ chất tan 25-30°Bx, cần điều chỉnh lưu tốc dòng nạp dịch thủy phân pyrodextrin trong khoảng 1-1,5

BV. Không nên cho dịch chảy nhanh qua cột vì hiệu quả khử màu sẽ bị giảm.

4. KẾT LUẬN

Đã thiết lập được các thông số công nghệ phù hợp để khử màu dịch pyrodextrin bằng than hoạt tính kết hợp nhựa trao đổi ion phục vụ cho quá trình sản xuất maltodextrin kháng tiêu hóa. Đối với than hoạt tính dạng bột, đã xác định được điều kiện khử màu dịch thủy phân pyrodextrin có độ màu ban đầu 27,8 đạt độ màu thấp nhất 4,5 là: tỷ lệ than hoạt tính yêu cầu là 4% (w/w), nhiệt độ xử lý 90 - 95°C, thời gian 10 - 15 phút, tiến hành 2 lần khử màu liên tiếp mỗi lần 2%. Đối với cột than hoạt tính dạng hạt, điều kiện công nghệ để khử màu từ 27,8 xuống mức 8,3 là sử dụng than Norit, nhiệt độ khử màu 90°C, tốc độ dòng 2,5 BV/h với 3 cột nối tiếp nhau. Đã lựa chọn được loại nhựa trao đổi ion phù hợp là Lewatit M800 và lưu tốc dòng nạp liệu 1 - 1,5 BV/h. Khi kết hợp khử màu bằng cột than hoạt tính kết hợp với cột nhựa trao đổi ion Lewatit M800, hiệu quả khử màu đạt kết quả cao nhất. Sản phẩm dịch sau khử màu rất trong và sáng màu, đạt yêu cầu để sản xuất được bột maltodextrin trắng. Như vậy, để khử màu dịch thủy phân pyrodextrin đạt yêu cầu chất lượng sản phẩm cuối cùng, cần thiết phải áp dụng quy trình khử 2 bước là khử sơ cấp bằng than hoạt tính dạng bột hoặc cột than hoạt tính dạng hạt và khử thứ cấp bằng nhựa trao đổi ion.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mayrilyn Solo Thompson, Tan Hui Yan, Nazamid Saari, Shahrul Razid Sarbini (2022). A review: Resistant starch, a promising prebiotic for obesity and weight management. *Food Bioscience* 2022, 50, 101965.

2. Tuba Tekin, Emine Dincer (2023). Effect of resistant starch types as a prebiotic. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107 (2-3), 491-515.

3. Bojarczuk A., Sylwia Skąpska, Amin Mousavi Khaneghah, Krystian Marszałek (2022). Health benefits of resistant starch: A review of the literature. *Journal of Functional Foods*, 93, 105094.

4. Binder T., McClain J. (2010). Method of producing resistant starch and products formed therefrom. US Patent 7,744,944 B2.

5. Woo D. H., Moon T. W. (2000). Methods for preparing indigestible dextrin with high indigestible faction. *Korean J. Food Sci Technol*, 32(3), 610-617.

6. Hamaguchi N., Hirai H., Aizawa K., Takada M. (2014). Production of water-soluble indigestible polysaccharides using activated carbon. Regular Paper: J-STAGE Advance. Nihon Shokuhin Kako Co., Ltd. 30 Tajima, Fuji 417-8530, Japan.

7. Wang Lie, Yuyuan Yao, Zhang, Zhanhao, Lijie Sun, Wangyang Lu, Wenxing Chen, Haixiang Chen (2014). Activated carbon fibers as an excellent partner of Fenton catalyst for dyes decolorization by combination of adsorption and oxidation. *Chemical Engineering Journal*, 251, 348–354.

8. Hind Aljohani, Youssef Ahmed, Ola El-Shafey, Shaymaa El-Shafey, Rasha Fouad, Kamel Shoueir (2018). Decolorization of turbid sugar juice from sugar factory using waste powdered carbon. Applied Water Science, 8, 48.

9. Xilian Liu, Rijia Lin, Shuixia Chen, Nianfang Ma, Yunan Huang (2012). Preparation of a bagasse-based anion exchange fiber for sugar decolorization. *Journal of Applied Polymer Science*, 126(S1), 0–0.

10. Yuanhang Zhen, Tao Zhang, Bo Jiang, and Jingjing Chen (2021). Purification and characterization of resistant dextrin. Foods, 10, 185.

11. Germain N. (2015). Bleached dextrin and methods of forming same. U.S. Patent 8,999,066 B2.

12. Phạm Thị Bình, Bùi Kim Thúy, Nguyễn Duy Lâm (2020). Các thông số công nghệ của quá trình dịch hóa và đường hóa pyrodextrin để sản xuất

maltodextrin kháng tiêu hóa từ tinh bột gạo. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 23 (2020), 77-88.

13. Nguyen Duy Lam, Tran Minh Quynh, Tran Bang Diep, Pham Thi Binh, Tran Dai Lam (2021). Effect of gamma irradiation and pyrolysis on indigestible fraction, physicochemical properties, and molecular structure of rice starch. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021; 00:e15880. https://doi.org/10.1111/jfpp.1588.

14. Nguyen Duy Lam, Pham Thi Binh, Pham Cao Thang, Pham Minh Tuan (2020). The preparation of enzyme-resistant pyrodextrin from rice starch by pyrolytic reaction with acid catalysts. *VN Journal of Science and Technology*, 58(6A), 123-134.

15. Maeda, Shimada & Katta (2015). Method for producing indigestible Maltodextrin. U.S. Patent 2016 /9353392 B2.

STUDY ON TECHNOLOGICAL PARAMETERS OF ENZYME HYDROLYZED PYRODEXTRIN DECOLORIZATION FOR RESISTANT MALTODEXTRIN PRODUCTION FROM RICE STARCH

Pham Thi Binh, Nguyen Van Loi, Nguyen Duy Lam

Summary

The purpose of the study was to determine the appropriate technical parameters to decolorize hydrolyzed pyrodextrin solution by activated carbon combined with an adsorbent resin for the production of resistant maltodextrin. Accordingly, the parameters of batch decolorization with a powder of activated carbon, a column of granular activated carbon, and a column of ion exchange resin were investigated. For powdered activated carbon, the decolorization technology conditions of pyrodextrin hydrolysates with the initial coloration of 27.8 to reach the lowest color of 4.5 are: the required activated carbon ratio is 4% (w/w), treatment temperature 90 - 95°C, time 10-15 minutes, conduct 2 consecutive decolorization of 2% charcoal each time. For the granular activated carbon column, the technological condition to decolorize from 27.8 to 8.3 is to use Norit charcoal, a decolorization temperature of 90°C, a flow rate of 2.5 BV/h with 3 serially connecting columns. The suitable ion exchange resin has been selected, Lewatit M800 and the feed rate is 1 - 1.5 BV/h. When combining decolorization by activated carbon column with Lewatit M800 anion exchange resin column, the decolorization efficiency is highest. The product after decolorization is very clear and bright, meeting the requirements to produce white maltodextrin powder. Thus, in order to decolorize the hydrolyzed pyrodextrin solution to meet the technological and quality requirements of the final resistant maltodextrin product, it is necessary to apply a 2-step reduction process, in which the first step uses powdered or granular activated carbon to reduce color to 8-10 color range, the second step is decolorization by ion exchange resin column.

Keywords: *Pyrodextrin hydrolysate, decolorization, resistant maltodextrin, actived carbon, ion exchange resin.*

Người phản biện: TS. Vũ Đức Chiến

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 20/3/2023

Ngày duyệt đăng: 27/3/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA THÔNG SỐ TRÍCH LY VÀ THÀNH PHẦN DỊCH TRÍCH MUỐI ÍT NATRI TỪ MAI MỰC

Ngô Trần Thúy Vy[1], Nguyễn Lê Thu Thủy[1], Huỳnh Thị Ánh Sáng[1], Trần Hồng Anh[1], Dương Thị Cẩm Thoa[1], Nguyễn Thị Thùy Dương[1,*]

TÓM TẮT

Tiêu thụ muối cao, chủ yếu là muối natri clorua trong chế độ ăn là nguyên nhân dẫn đến nguy cơ tăng huyết áp và tăng gánh nặng bệnh tật. Do đó, việc nghiên cứu, khai thác các chất thay thế muối ăn ít natri cần được quan tâm. Nghiên cứu này tập trung khảo sát quá trình trích ly tổng hàm lượng chất rắn hòa tan (TDS) từ mai mực, đây là phụ phẩm có sản lượng lớn từ ngành công nghiệp chế biến thủy sản. Kết quả phân tích thành phần mai mực cho thấy natri chiếm 6,19 mg/g, ngoài ra còn có các chất khoáng thay thế khác tạo vị mặn gồm kali 1,12 mg/g, phốt pho 0,56 mg/g, magie 0,37 mg/g, canxi 253 mg/g và axit glutamic 3,3 mg/g để cân bằng vị. Theo kết quả thực nghiệm, trích ly bột mai mực ở tỉ lệ nguyên liệu/nước 1: 6 (m/v), nhiệt độ 80°C và thời gian 75 phút cho tổng hàm lượng chất rắn hòa tan đạt 9,56 mg/g. Dịch trích mai mực có các thành phần hòa tan gồm natri 2,448 mg/g, kali 0,756 mg/g, phốt pho 0,008 mg/g, magie 0,172 mg/g, canxi 0,475 mg/g và axit glutamic 0,177 mg/g. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp kiểm tra mức độ khác biệt (DOD) cho thấy, dịch trích có nồng độ 0,16% TDS (m/v) có độ mặn gần giống nhất với 0,16% NaCl (m/v). Hàm lượng natri trong dịch trích ít hơn 34,97% so với dung dịch NaCl ở cùng độ mặn. Kết quả nghiên cứu đặt tiền đề cho việc khai thác phụ phẩm mai mực ứng dụng làm chất thay thế muối ăn ít natri.

Từ khoá: *Độ mặn, mai mực, muối ăn, muối ít natri, trích ly.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo khuyến nghị của Tổ chức Y tế thế giới (WHO) người bình thường nên tiêu thụ dưới 5 g muối/ngày tương đương với 2 g natri/ngày [1]. Tuy nhiên, trên khắp các châu lục mức tiêu thụ muối trung bình từ 9,88 - 10,21 g muối/ngày, cao gấp đôi so với khuyến nghị, là nguyên nhân gây ra bệnh tăng huyết áp, tim mạch và đột quỵ [1, 2]. Giảm muối trong chế biến thực phẩm làm giảm vị mặn, gia tăng vị đắng, giảm vị ngọt dẫn đến giảm nhận thức về mùi vị, tác động tiêu cực đến cảm quan, thói quen và sở thích của người tiêu dùng [3, 4].

Chiến lược giảm muối cần đi kèm với chiến lược bù đắp hương vị bằng các chất khoáng thay thế (KCl, $CaCl_2$) và hợp chất vị umami [5]. Tuy nhiên, KCl, $CaCl_2$ có vị mặn nhưng kèm theo hậu vị đắng và vị kim loại [5, 6]. Một chiến lược khác để giảm muối là sử dụng thảo mộc và vỏ động vật biển. Lee (2011) [7], Zhang và cs (2014) [8] đã phát triển một chất thay thế muối ít natri từ dịch trích ly bằng nước của các loài thực vật và vỏ động vật biển.

Mai mực là phụ phẩm của ngành chế biến hải sản, có vị mặn, không độc tính, hàm lượng chất khoáng đa lượng chiếm 40,18% và chất khoáng vi lượng chiếm 0,73% [9]. Ngoài ra, các axit amin L-arginine, L-lysine, L-histidine, L-aspartic và L-glutamic là các hợp chất vị umami chiếm 58% tổng hàm lượng axit amin trong mai mực [10]. Vị mặn đặc trưng của mai mực phụ thuộc vào tỷ lệ chất rắn hòa tan của các ion hòa tan trong nước như Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} có trong thành phần hóa học của chúng.

Tại Việt Nam, các nghiên cứu về chất thay thế muối ăn khai thác từ phụ phẩm còn hạn chế. Mục

[1] Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh
* Email: duongntt@fst.edu.vn

tiêu của nghiên cứu là khảo sát ảnh hưởng các thông số trích ly tổng hàm lượng chất rắn hòa tan từ mai mực, phân tích thành phần dịch trích và đánh giá mức độ tương đồng về độ mặn của dịch trích so với muối NaCl. Kết quả của nghiên cứu là tiền đề cho việc tận dụng phụ phẩm mai mực ứng dụng làm chất thay thế muối ăn ít natri.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Mai mực nang (*Sepiida*) phơi khô có kích thước 5 - 25 cm được thu nhận vào tháng 7/2022 từ cảng cá Bình Thắng, huyện Bình Đại, tỉnh Bến Tre. Mai mực được rửa bằng nước cất để loại bỏ bụi bẩn, sấy ở nhiệt độ 60°C trong 1 giờ, nghiền thành bột, cho qua rây kích thước 0,5 mm, tiếp tục sấy ở nhiệt độ 60°C đến khi đạt độ ẩm <5%. Bột mai mực được đóng gói hút chân không với khối lượng 300 g/túi và bảo quản ở nhiệt độ phòng. Tiến hành phân tích thành phần bột mai mực gồm các chỉ tiêu hàm lượng tro tổng, natri, kali, canxi, magie, phốt pho và axit glutamic (mg/g).

2.2. Phương pháp trích ly

Cân 5 g bột mai mực vào cốc 250 ml theo các tỉ lệ nguyên liệu/nước (m/v), gia nhiệt ở các mức nhiệt độ (°C) và thời gian (phút) khảo sát trong bể ổn nhiệt (Memmert - Đức WNB14). Mẫu sau trích ly được ly tâm (HERMLE Z206A) với tốc độ 5.500 vòng/phút trong 15 phút, thu dịch để phân tích tổng hàm lượng chất rắn hòa tan (Total dissolved solids - TDS).

2.2.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/nước

Nghiên cứu này tiến hành khảo sát trích ly bột mai mực bằng dung môi nước với các tỉ lệ nguyên liệu/nước thay đổi 1: 2; 1: 4; 1: 6; 1: 8; 1: 10 (m/v) ở nhiệt độ 90°C trong 30 phút.

2.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly

Tiến hành khảo sát trích ly bột mai mực ở các mức nhiệt độ thay đổi 50, 60, 70, 80, 90°C trong 30 phút.

2.2.3. Ảnh hưởng của thời gian trích ly

Tiến hành khảo sát trích ly bột mai mực ở các mức thời gian thay đổi 30, 45, 60, 75, 90 phút, nhiệt độ trích ly từ kết quả thí nghiệm 2.2.2.

2.3. Phương pháp phân tích

- Xác định độ ẩm bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi theo ISO 5537: 2004. Tro tổng theo AOAC 941.12. Natri (Na), kali (K), magie (Mg), canxi (Ca), phốt pho (P) sử dụng phương pháp quang phổ hấp thu nguyên tử bằng kỹ thuật ngọn lửa (F-AAS) theo AOAC 2015.01. Axit glutamic được phân tích trên hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC Agilent 1200 theo tiêu chuẩn AOAC 994.12.

- Tổng hàm lượng chất rắn hòa tan (mg/g) được xác định dựa trên xây dựng đường chuẩn giữa nồng độ chất rắn hòa tan (mg/ml) của dung dịch muối NaCl là chất chuẩn và độ dẫn điện EC (mS/cm) đo bằng thiết bị đo độ dẫn điện COND 7110 [11]. Tổng hàm lượng chất rắn hòa tan (mg/g) được tính toán theo công thức:

$$\text{Tổng hàm lượng chất rắn hòa tan } (mg/g) = \frac{\text{Nồng độ chất rắn hòa tan } (mg/ml) \times \text{Thể tích dung môi nước } (ml)}{\text{Khối lượng nguyên liệu ban đầu } (g)}$$

2.4. Phương pháp đánh giá cảm quan độ mặn

Dịch trích ly được đánh giá cảm quan độ mặn bằng phương pháp kiểm tra mức độ khác biệt (Degree of Difference Method - DOD) với một số sửa đổi [8, 12]. Hội đồng đánh giá cảm quan được sàng lọc sơ bộ dựa vào khả năng cảm nhận vị mặn. Dãy dung dịch NaCl nồng độ 0,10, 0,12, 0,14, 0,16, 0,18% (m/v) được mã hóa. 20 thành viên có độ tuổi từ 18 - 23 xếp đúng thứ tự tăng dần của dãy dung dịch NaCl được chọn vào hội đồng chính thức. Hội đồng so sánh mẫu A là dung dịch tham chiếu NaCl 0,16% (m/v) với mẫu B, C, D là dịch trích bột mai mực ở các nồng độ pha loãng khác nhau tương ứng 0,16; 0,14; 0,12% (m/v) mà không tính đến các mùi vị khác (các mẫu được trình bày theo thứ tự ngẫu nhiên). Điểm cảm quan được đánh giá trên thang thứ tự bảy điểm (-3; -2; -1, 0, +1, +2, +3). Trong đó, giá trị 0 thể hiện không có sự khác biệt,

giá trị càng âm thể hiện cường độ của mẫu mặn thấp hơn đáng kể so với mẫu tham chiếu, giá trị dương càng lớn thể hiện cường độ của mẫu mặn cao hơn đáng kể so với mẫu tham chiếu.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, kết quả được thể hiện dưới dạng trung bình ± SD. Xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab (State College, Pa.). Phân tích phương sai ANOVA với kiểm định Turkey, ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy khi $p \leq 0,05$.

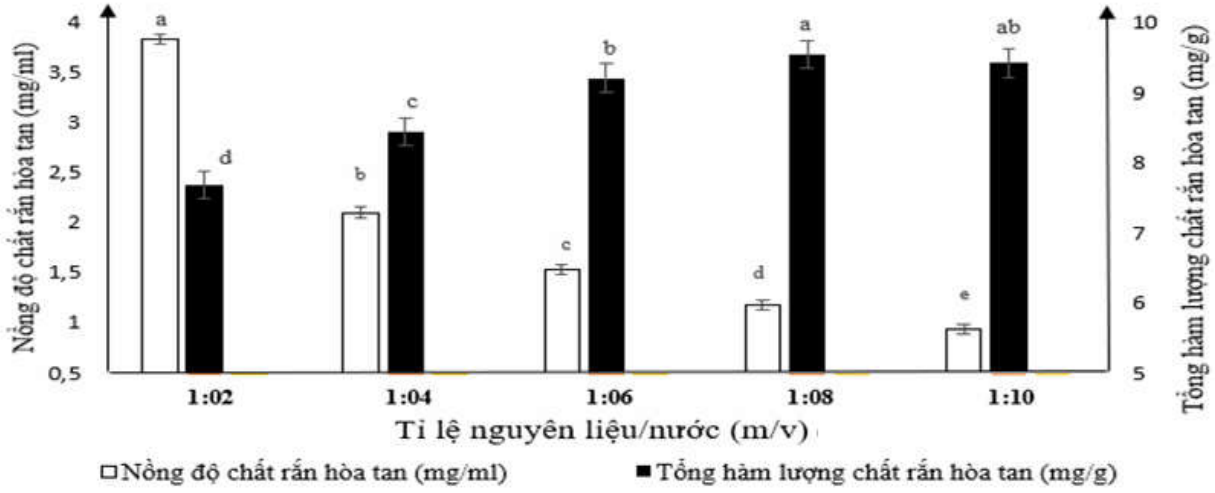
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần khoáng trong bột mai mực

Nguyên liệu bột mai mực có độ ẩm 2,78%, hàm lượng tro tổng chiếm 888 mg/g. Thành phần chủ yếu của mai mực là các khoáng chất với hàm lượng canxi 253 mg/g, natri 6,19 mg/g, kali 1,12 mg/g, phốt pho 0,56 mg/g và magie 0,37 mg/g. Sự hiện diện của các thành phần khoáng trong mai mực phù hợp để làm chất thay thế muối ăn do chất thay thế muối ăn dựa trên sự thay thế cation Na^+ bằng K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} và anion như PO_4^{3-} [5]. Kali clorua, canxi clorua, magie sunfat có vị mặn nhưng kèm theo hậu vị đắng và vị kim loại [5, 13, 14]. Tuy nhiên, ngoài các chất khoáng thay thế, trong thành phần bột mai mực còn chứa hàm lượng axit glutamic 3,30 mg/g mang lại vị umani, đóng vai trò như một chất điều vị. Điều này cho thấy mai mực có tiềm năng trở thành nguyên liệu khai thác chất thay thế muối ít natri.

3.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/nước đến tổng hàm lượng chất rắn hòa tan

Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/nước đến tổng hàm lượng chất rắn hòa tan được thể hiện ở hình 1.



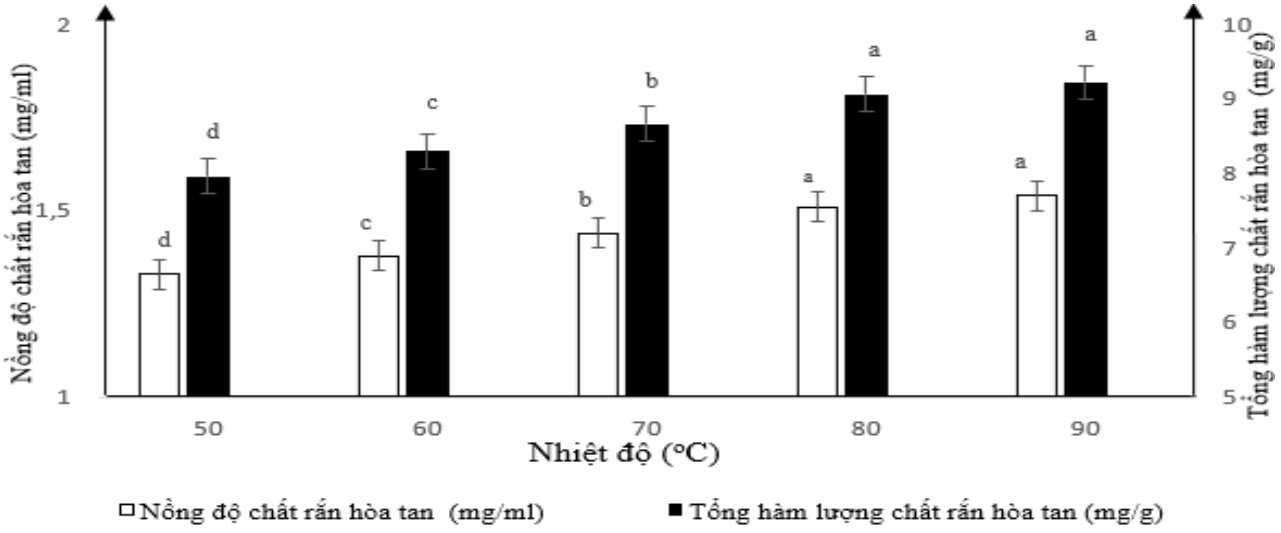
Hình 1. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/nước đến tổng hàm lượng chất rắn hòa tan

Ghi chú: Ký hiệu chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$).

Động lực của quá trình trích ly là do sự chênh lệch gradient nồng độ, nồng độ càng lớn các cấu tử trích ly tiếp xúc với dung môi càng nhiều, dẫn đến khả năng khuếch tán nhanh và triệt để hơn. Khi tăng tỉ lệ nguyên liệu/nước từ 1: 2 đến 1: 8 thì tổng hàm lượng chất rắn hòa tan có xu hướng tăng mạnh từ 7,69 - 9,55 mg/g, tăng 1,86 mg/g. Khi tiếp tục tăng tỉ lệ nguyên liệu/nước từ 1: 8 lên 1: 10 thì tổng hàm lượng chất rắn hòa tan không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Xu hướng này tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Minh Anh và cs (2022) [15]. Tuy nhiên, khi tăng tỉ lệ từ 1: 6 lên 1: 8 thì tổng hàm lượng chất rắn hòa tan chỉ tăng một lượng khá nhỏ 0,33 mg/g. Tỉ lệ 1: 6 cũng là tỉ lệ phù hợp với nghiên cứu của Lee (2011) [7]. Do đó tỉ lệ 1: 6 được chọn cho các khảo sát tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tổng hàm lượng chất rắn hòa tan

Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến tổng hàm lượng chất rắn hòa tan được thể hiện ở hình 2.



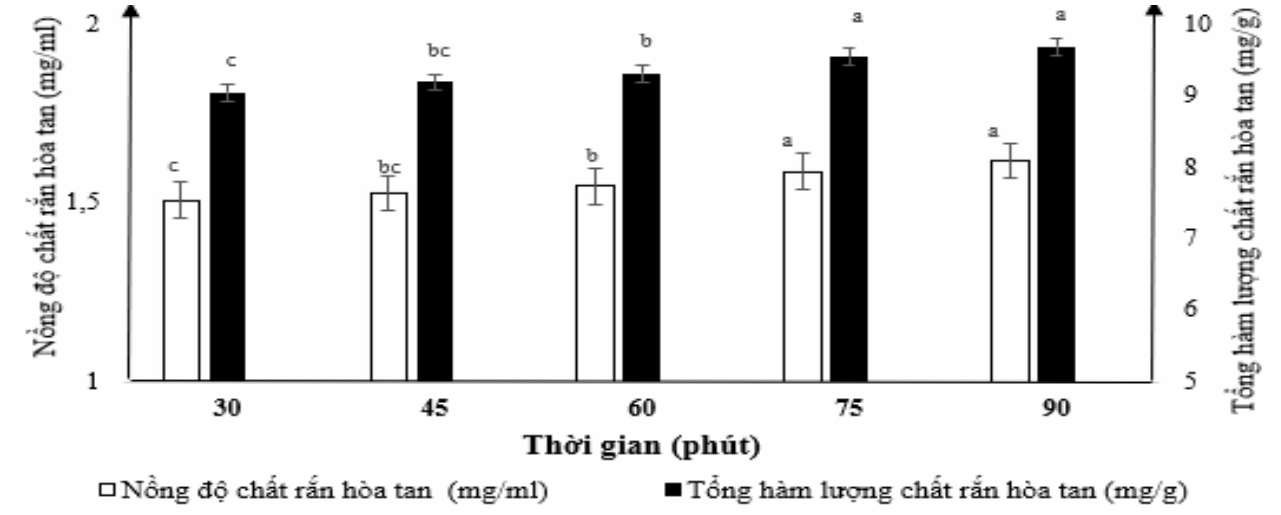
Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng chất rắn hòa tan

Ký hiệu chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$).

Nhiệt độ ảnh hưởng đến quá trình trích ly. Khi tăng nhiệt độ từ 50 - 80°C, nồng độ chất rắn hòa tan tăng từ 1,33 lên 1,51 mg/ml tương ứng với tổng hàm lượng chất rắn hòa tan tăng từ 7,96 lên 9,06 mg/g. Khi tiếp tục tăng nhiệt độ từ 80 lên 90°C thì nồng độ chất rắn hòa tan và tổng hàm lượng chất rắn hòa tan không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nhiệt độ tăng cao làm tăng tốc độ khuếch tán dòng đối lưu nguyên liệu/nước và giảm độ nhớt của nguyên liệu, làm tăng khả năng trích ly. Xu hướng này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Trần Vũ Thị Như Lành và cs (2016) [16]. Tuy nhiên, tăng nhiệt độ trích ly làm tăng chi phí năng lượng. Vì vậy, nhiệt độ 80°C được chọn cho các khảo sát tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian đến tổng hàm lượng chất rắn hòa tan

Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến tổng hàm lượng chất rắn hòa tan được thể hiện ở hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian đến tổng hàm lượng chất rắn hòa tan

Ghi chú: Ký hiệu chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$).

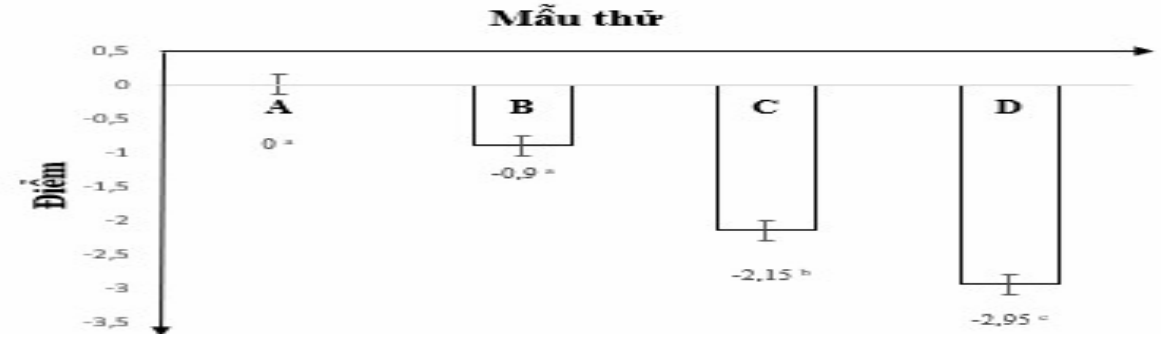
Thời gian trích ly cũng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đáng kể đến việc thu nhận tổng hàm lượng chất rắn hòa tan, tăng thời gian giúp tăng hiệu quả trích ly. Khi tăng thời gian từ 30 - 75 phút, tổng hàm lượng chất rắn hòa tan tăng từ 9,06 - 9,56 mg/g. Tiếp tục tăng thời gian trích ly từ 75 - 90 phút, xảy ra hiện tượng đạt trạng thái cân bằng giữa bên trong và bên ngoài nguyên liệu, nên kết quả không có sự khác biệt về mặt thống kê. Mặt khác, kéo dài thời gian trích ly làm tiêu hao năng lượng cho quá trình cấp nhiệt. Xu hướng này phù hợp với công bố của Trần Gia Bửu và cs (2018) [17]. Vì vậy, thời gian 75 phút được chọn để tiến hành thu nhận dịch trích.

3.5. Thành phần dịch trích ly bột mai mực

Dịch trích ly bột mai mực được phân tích gồm có các thành phần khoáng natri 2,448 mg/g (63,43%), kali 0,756 mg/g (19,59%), canxi 0,475 mg/g (12,30%), magie 0,172 mg/g (4,45%) phốt pho 0,008 mg/g (0,20%) và axit glutamic 0,177 (mg/g). Kết quả này gần tương đồng với kết quả trích ly dịch mai mực theo nghiên cứu của Zhang và cs (2014), trong đó, natri chiếm 76,27%, kali 16%, canxi 2,89%, magie 4,56%, phốt pho 0,14% [8].

3.6. Đánh giá cảm quan độ mặn

Dịch trích ly được tiến hành đánh giá cảm quan độ mặn, kết quả được trình bày ở hình 4.



Hình 4. Đánh giá mức độ tương đồng về độ mặn giữa dịch trích ly từ mai mực so với muối NaCl

Ký hiệu chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$).

So với A mẫu tham chiếu 0,16% NaCl (m/v), mẫu dịch trích càng pha loãng cảm nhận vị mặn càng giảm, ở 0,12% TDS (m/v) cho điểm thấp nhất, thể hiện mẫu D có vị nhạt nhất. Khi tăng 0,14% TDS (m/v) cảm nhận độ mặn tăng lên nhưng sự khác biệt giữa mẫu A và C có ý nghĩa thống kê. Khi tăng đến 0,16% TDS (m/v) kết quả cảm nhận độ mặn giữa mẫu A và B không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, do đó có sự tương đồng về độ mặn giữa mẫu A và B.

Theo kết quả phân tích thành phần dịch trích 0,16% TDS (m/v) có nồng độ natri là 40,80 mg/100 ml. Dung dịch 0,16% NaCl (m/v) có nồng độ natri là 62,74 mg/100 ml. Nồng độ natri trong dịch trích 0,16% TDS (m/v) ít hơn 34,97% so với mẫu tham chiếu 0,16% NaCl (m/v). Các kết quả trên phù hợp với nghiên cứu của Zhang và cs (2014), dịch trích mai mực 0,6% (m/v) có độ mặn tương đương 0,6% NaCl (m/v), hàm lượng natri trong dịch trích mai mực ít hơn 27% so với dung dịch NaCl có cùng độ mặn [8]. Kết luận, dịch trích mai mực 0,16% TDS (m/v) có độ mặn gần giống nhất với mẫu 0,16% NaCl (m/v) và hàm lượng natri ít hơn 34,97% so ở cùng nồng độ.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được các điều kiện thích hợp cho quá trình trích ly bột mai mực ở tỉ lệ nguyên liệu/nước 1: 6 (m/v), nhiệt độ 80°C và thời gian 75 phút cho tổng hàm lượng chất tan đạt 9,56 mg/g. Dịch trích có các thành phần khoáng gồm natri 2,448 mg/g, kali 0,756 mg/g, canxi 0,475 mg/g, magie 0,172 mg/g, phốt pho 0,008 mg/g và axit glutamic 0,177 mg/g. Kết quả đánh giá mức độ tương đồng độ mặn bước đầu cho thấy phụ phẩm mai mực có thể hữu ích cho việc phát triển chất thay thế muối ít natri.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. World Health Organization (2007). Reducing salt intake in populations: report of a WHO forum and technical meeting, 5 - 7 October 2006, Paris, France. WHO.

2. J. Powles *et al.* (2013). Global, regional and national sodium intakes in 1990 and 2010: a systematic analysis of 24 h urinary sodium excretion and dietary surveys worldwide. BMJ open Vol 3 (12).

3. P. Breslin and G. Beauchamp (1997). Salt enhances flavour by suppressing bitterness. Nature Vol 387 (6633), pp. 563 - 563.

4. D. G. Liem, F. Miremadi and R. S. Keast (2011). Reducing sodium in foods: the effect on flavor. *Nutrients*. Vol 3 (6), pp. 694 - 711.

5. D. Kilcast and C. Den Ridder (2007). Sensory issues in reducing salt in food products. In Reducing salt in foods: Elsevier, pp. 201 - 220.

6. H. T. Lawless, F. Rapacki, J. Horne, A. J. F. Q. Hayes, and Preference (2003). The taste of calcium and magnesium salts and anionic modifications. *Food Quality Preference*. Vol 14 (4), pp. 319 - 325.

7. G.-H. Lee (2011). A salt substitute with low sodium content from plant aqueous extracts. *Food Research International*. Vol 44 (2), pp. 537 - 543.

8. Y. Zhang, Q. Cheng, Y. Yao, X. Guo, R. Wang, and Z. Peng (2014). A preliminary study: saltiness and sodium content of aqueous extracts from plants and marine animal shells. *European Food Research and Technology*. Vol 238 (4), pp. 565 - 571.

9. K. Henggu (2021). Morphological characteristics and chemical composition of Cuttlebone (*Sepia* sp.) at Muara Angke fishing port, Jakarta Indonesia. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Vol. 718 (1), p. 012034: IOP Publishing.

10. S. Xiao, X. Zheng, Z. Wang and R. Wang (2005). A study of the organic matrix of cuttlebone: molecular weights, characterized infrared spectrum and amino acid composition. Phuket Marine Biological Center Research Bulletin. Vol 66, pp. 235 - 241.

11. S. Thirumalini and K. Joseph (2009). Correlation between electrical conductivity and total dissolved solids in natural waters. *Malaysian Journal of Science* Vol 28 (1), pp. 55 - 61.

12. S. Pecore *et al.* (2006). Degree of difference testing: A new approach incorporating control lot variability. Vol 17 (7 - 8), pp. 552 - 555.

13. M. E. Doyle and K. A. Glass (2010). Sodium reduction and its effect on food safety, food quality, and human health. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. Vol 9 (1), pp. 44 - 56.

14. J. Lim and H. T. Lawless (2005). Qualitative differences of divalent salts: multidimensional scaling and cluster analysis. *Chemical senses*. Vol 30 (9), pp. 719 - 726.

15. Nguyễn Minh Anh, Phan Nguyễn Cẩm Chướng, Nguyễn Đức Việt, Trần Đỗ Đạt, Lữ Thị Mộng Thy, Huỳnh Ngọc Oanh, Hoàng Minh Nam, Mai Thanh Phong, Nguyễn Hữu Tiến (2022). Khảo sát yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly triterpenoid từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) bằng phương pháp enzyme có hỗ trợ siêu âm. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*. Tập 22 (01), tr. 101 - 111.

16. Trần Vũ Thị Như Lành, Nguyễn Hiền Trang, Nguyễn Cao Cường, Nguyễn Đức Chung (2016). Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tách chiết tinh dầu từ hạt sa nhân. *Tạp chí Khoa học - Đại học Huế*. Tập 121 (7), tr. 69 - 76.

17. Trần Gia Bửu, Đàm Sao Mai, Trần Lê Thục Đoan, Đỗ Hoàng Nguyên (2018). Tác động của các thông số trong quá trình trích ly bằng cellulase lên hàm lượng polyphenol tổng số và khả năng chống oxy hóa của dịch chiết tỏi đen Lý Sơn. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. Tập 36 (06).

EXTRACTION AND SALT CONTENT OF AQUEOUS EXTRACT FROM CUTTLEFISH BONE

Ngo Tran Thuy Vy, Nguyen Le Thu Thuy, Huynh Thi Anh Sang,
Tran Hong Anh, Duong Thi Cam Thoa, Nguyen Thi Thuy Duong

Summary

High salt consumption, mainly sodium chloride, in the diet leads to an increased risk of cardiovascular diseases. Therefore, the study of exploiting low-sodium salt substitutes is of interest. This study focused on investigating the extraction process of total dissolved solids (TDS) from cuttlefish bone, which is a by-product with large output from the seafood processing industry. The composition of cuttlefish bone showed that sodium accounted for 6.19 mg/g. In addition, there were other substitute minerals creating salty taste including potassium 1.12 mg/g, phosphorus 0.56 mg/g, magnesium 0.37 mg/g, calcium 253 mg/g and glutamic acid 3.3 mg/g to balance the taste. According to experimental results, extracting cuttlefish bone at the ratio of cuttlefish bone /water 1: 6 (m/v), temperature 80°C for 75 minutes for total dissolved solids content of 9.56 mg/g. The analyzed cuttlefish bone extract had soluble components including sodium 2.448 mg/g, potassium 0.756 mg/g, phosphorus 0.008 mg/g, magnesium 0.172 mg/g, calcium 0.475 mg/g and glutamic acid 0.177 mg/g. Sensory evaluation results by testing the degree of difference (DOD) showed that at 0.16% TDS (m/v) the salinity was closest to 0.16% NaCl (m/v). The sodium content in the extract was 34.97% less than that of the NaCl solution with the similar salinity. The results of the study set the premise for the exploitation of cuttlefish bone by-products as a substitute for low-sodium salt.

Keywords: *Extraction cuttlefish bone, table salt, low sodium salt, extract.*

Người phản biện: PGS.TS. Huỳnh Nguyễn Duy Bảo

Ngày nhận bài: 01/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 27/3/2023

Ngày duyệt đăng: 3/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY ĐẾN HÀM LƯỢNG PHENOLIC VÀ FLAVONOID TỔNG SỐ CỦA LÁ SEN VÀ CỦ SEN TRẮNG (*Nelumbo nucifera* Gaernt.) TRỒNG Ở THỪA THIÊN HUẾ

Nguyễn Văn Huế[1, *]

TÓM TẮT

Sen trắng Huế là loại cây được trồng ở các ao hồ trong tỉnh Thừa Thiên Huế, các bộ phận từ cây sen Huế đã được chế biến thành các món ăn mang đậm hình ảnh, văn hóa ẩm thực xứ Huế, như: gỏi ngó sen, trà hoa sen Huế, hạt sen, mứt củ sen… Cây sen trắng Huế nằm trong danh mục các cây trồng chủ lực phát triển của địa phương, do vậy diện tích trồng sen Trắng Huế được tăng lên đáng kể. Việc nghiên cứu, đánh giá, khai thác tiềm năng giá trị từ cây sen trắng Huế đã và đang được quan tâm thực hiện. Nghiên cứu này khảo sát sự ảnh hưởng của điều kiện trích ly (loại dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi) kết hợp với hỗ trợ vi sóng (công suất, thời gian vi sóng) đến hàm lượng phenolic (TPC) và flavonoid (TFP) tổng từ nguyên liệu lá, củ sen trắng Huế cũng như đánh giá khả năng kháng oxy hóa của dịch trích ly thu được. Kết quả đã tìm ra những thông số công nghệ phù hợp như sau: dung môi ethanol 60%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 30, xử lý vi sóng ở công suất 480 W trong thời gian là 4 phút đối với nguyên liệu lá sen và 640 W trong 5 phút đối với củ sen. Khi đó, hàm lượng TPC/TFC là 144,24 mg GAE/g, 29,26 mg CE/g và 79,17 mg GAE/g, 17,86 mg CE/g tương ứng đối với lá và củ sen. Với phương pháp này, thời gian trích ly ngắn, dịch trích từ lá và củ sen có khả năng kháng oxy hóa, trong đó dịch trích ly lá sen có khả năng bắt gốc tự do DPPH tốt hơn (IC_{50} = 96,12 µg/ml) dịch chiết củ (IC_{50} = 305,46 µg/ml) 3,20 lần.

Từ khóa: *Sen trắng Huế, phenolic, flavonoid, DPPH, microvawe.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sen (*Nelumbo nucifera* Gaernt) là loại cây thủy sinh đa niên được con người trồng và sử dụng từ rất lâu đời, có nguồn gốc từ châu Á… [1]. Việt Nam là nước có khí hậu nhiệt đới gió mùa, cùng với đó là hệ thống ao hồ dày đặc, phân bố khắp cả nước. Đó là điều kiện rất thích hợp cho sự phát triển của các loại thực vật thủy sinh như sen, súng, bèo,.. Ngoài vẻ đẹp thuần khiết vào mùa hoa nở, các sản phẩm thực phẩm từ cây sen cũng rất được ưa chuộng. Hầu như tất cả các bộ phận trên cây sen đều có thể sử dụng để làm thực phẩm: Hạt sen, lá sen, củ sen, hoa sen,... Trong số các giống sen ở Thừa Thiên Huế thì giống sen trắng (chủ yếu là giống sen trắng trẹt dĩa), một giống sen bản địa mang thương hiệu đặc trưng với mùi vị thơm ngon, ngọt, bùi và dẻo [2].

Trong cây sen còn chứa một loạt các hợp chất thứ cấp quan trọng như: Alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, glycoside và polyphenol có hoạt tính chống oxy hóa cực mạnh có tác dụng trong việc cải thiện sức khỏe của con người [3]. Không chỉ thể hiện qua vai trò là một loại thực phẩm, củ sen từ lâu đã được dùng trong y học cổ truyền như là một vị thuốc quý. Củ sen có chứa hàm lượng cao các hợp chất nhóm phenolic. Các hợp chất phenolic là các hợp chất có một hoặc nhiều vòng thơm với một hoặc nhiều nhóm hydroxyl (-OH). Chúng được phân bố rộng rãi trong thực vật và là các sản phẩm trao đổi chất phong phú của thực vật. Hơn 8.000 cấu trúc phenolic đã được tìm thấy, từ các phân tử đơn giản như các axit phenolic đến các chất polyme như tannin. Các hợp chất phenolic thực vật có tác dụng chống lại bức xạ tia cực tím hoặc ngăn chặn các

[1] Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế
* Email: nguyenvanhue@hueuni.edu.vn

tác nhân gây bệnh, ký sinh trùng và động vật ăn thịt, cũng như làm tăng các màu sắc của thực vật. Chúng có ở khắp các bộ phận của cây và vì vậy, chúng cũng là một phần không thể thiếu trong chế độ ăn uống của con người [4], [5]. Lá sen chứa 0,77 - 0,84% alkaloid, trong đó có nuciferin, nor - nuciferine, roemerine, anonaine, pronuciferin, O – noir nuciferine, armepavin, N – nor armepavine, methyl coclaurine, nepherin, dehydro nuciferine, dehydroalanine, N - methyl iso coclaurine. Nghiên cứu của Jarukitt và cs (2018) [5] cho thấy, từ 33 kg lá, đã phân lập được 0,2 g nuciferin, 8 g roemerin và 11 g nor - nuciferin. Lá sen chứa quercerin, iso quercerin, leucocyanidin, leucodelphinidin, nelumbosid. Lá sen có nhiều flavonoid và phenolic axit, có các dẫn xuất quercetin là thành phần chiếm ưu thế, với quercetin - 3 - Glc, quercetin 3 - Glam và quercetin - 3 - Gln là thành phần chính [5]. Đã có một số nghiên cứu công bố về flavonoid và phenolic từ nguyên liệu lá sen, củ sen được trồng ở một số địa phương của Việt Nam, làm cơ sở cho những ứng dụng đối với nguyên liệu này. Tuy nhiên, giống sen trắng trẹt dĩa được trồng tại Thừa Thiên Huế chỉ mới có công bố liên quan đến flavonoid toàn phần từ hạt sen.

Việc sử dụng các chất chống oxy hóa tự nhiên trong thực phẩm, mỹ phẩm và công nghiệp trị liệu sẽ là giải pháp thay thế đầy hứa hẹn cho các chất chống oxy hóa tổng hợp với chi phí thấp, tương thích cao với chế độ ăn uống và không có tác hại đối với cơ thể người. Do đó, việc nghiên cứu tách chiết các hợp chất chống oxy hóa từ thiên nhiên là tiền đề cho việc tạo ra các sản phẩm thực phẩm tốt cho sức khỏe, đa dạng hóa các sản phẩm, mở rộng thị trường.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên vật liệu và hóa chất

Nguyên liệu:

- Lá sen trắng Huế được thu hoạch từ tháng 4 - 7, thu nhận trực tiếp vào sáng sớm (5 - 7 giờ sáng) tại Hồ Tịnh Tâm, thành Phố Huế, tỉnh Thừa Thiên Huế và ở xã Phong Bình, huyện Phong Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế. Lá sen được thu hoạch là lá trưởng thành có màu xanh (xanh đậm), kiểu lá dù, gai cuống lá ít (lá có đường kính từ 50 - 62 cm và thu hái vào tuần thứ 5 kể từ khi lá dù nhô lên khỏi mặt nước). Lá đặt trong thùng carton vận chuyển về phòng thí nghiệm trong ngày và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng (30 – 32^{0}C).

- Củ sen trắng Huế được thu hoạch vào tháng 9 - 11, thu nhận trực tiếp vào buổi sáng (6 - 8 giờ sáng) tại Hồ Tịnh Tâm, Thành phố Huế, tỉnh Thừa Thiên Huế và ở xã Phong Bình, huyện Phong Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế. Củ sen được thu hoạch từ ngày thứ 220 - 250 kể từ khi trồng, củ sen sau khi thu hoạch được rửa sạch có màu vàng nhạt, các củ liên kết với nhau dạng chuỗi, ở các đoạn liên kết có nhiều rễ con, bao gói bằng giấy, đặt trong thùng carton vận chuyển về phòng thí nghiệm trong ngày và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng (30 - 32^{0}C) trong 24 giờ.

- Củ và lá sen đồng đều, không bị sâu, không bị dập, được làm sạch, cắt nhỏ (1 đến 2 cm^2) rồi mang đi sấy ở nhiệt độ 50 – 55^{o}C trong thời gian 3 đến 5 giờ để đạt độ ẩm dưới 10%, sau đó được nghiền thành bột mịn (kích thước d = 1 mm), bột củ và lá sen tiến hành bảo quản trong túi PE (Polyethylen) đặt trong hộp nhựa kín, lưu trữ ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng và ẩm để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Hóa chất: Gallic axit, $AlCl_3$, CH_3COOK, Na_2CO_3, thuốc thử Folin - Ciocalteu, methanol (99,9%) và ethanol (99,5%) mua từ Hãng Merck (Đức). Tất cả hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều đạt hạng phân tích - Catechin chuẩn (Sigma).

Thiết bị: Tủ sấy đối lưu (KH-55A- Trung Quốc), tủ sấy chân không SVAC2 của Hãng SHELLAB, cân điện tử 2 số lẻ (N92, A&D – Hàn Quốc), máy đo quang phổ UV - Vis U2900 Hitachi, Nhật Bản.

2.2. Bố trí thí nghiệm

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của loại dung môi

Loại dung môi sử dụng gồm ethanol, methanol và nước cất. Trích ly trong điều kiện công suất vi sóng 480 W (Bosch BFL634GB1B), thời gian vi

sóng 4 phút và tỷ lệ nguyên liệu : dung môi = 1: 20 (g/ml).

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung môi

Nồng độ dung môi ethanol được khảo sát gồm các mức là 50%, 60%,70%, 80%, 90% (v/v). Trích ly trong điều kiện công suất vi sóng 480 W, thời gian 4 phút và tỷ lệ nguyên liệu:dung môi = 1: 20 (g/ml).

2.2.3. Khảo sát tỷ lệ nguyên liệu và dung môi

Tỷ lệ nguyên liệu và dung môi ở 4 mức 1: 10, 1: 20, 1: 30, 1: 40 (g/ml). Trích ly trong điều kiện công suất vi sóng 480 W, thời gian 4 phút và nồng độ dung môi từ kết quả thí nghiệm ở trên.

2.2.4. Khảo sát công suất vi sóng

Công suất vi sóng khảo sát ở các mức 320 W, 480 W, 640 W, 800 W. Trích ly trong điều kiện thời gian 4 phút và nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu: dung môi từ kết quả các thí nghiệm ở trên.

2.2.5. Khảo sát thời gian vi sóng

Thời gian vi sóng được khảo sát ở 2 phút, 3 phút, 4 phút, 5 phút, 6 phút. Trích ly trong điều kiện công suất vi sóng, nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu: dung môi từ kết quả các thí nghiệm ở trên.

2.3. Phương pháp xác định các chỉ tiêu theo dõi

2.3.1. Xác định hàm lượng phenolic tổng số

Tiến hành pha loãng dung dịch với nồng độ phù hợp (dịch thu được ở phần chiết mẫu). Sau đó, cho 0,5 ml dung dịch mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm thêm 2,5 ml dung dịch Folin-Ciocalteu 10% sau đó tiến hành đồng nhất bằng máy Vortex, để dung dịch phản ứng trong 5 phút. Tiếp tục, thêm 2,0 ml dung dịch Na_2CO_3 7,5% và lắc đều. Để dung dịch ở nhiệt độ phòng trong bóng tối 1 giờ. Tiến hành đo độ hấp thu quang học ở bước sóng 765 nm trên máy quang phổ UV-Vis. Hàm lượng phenolic tổng số được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu dựa theo mô tả của Pham và cs (2016) [6].

2.3.2. Xác định hàm lượng flavonoid tổng số

Pha loãng dung dịch Catechin chuẩn đạt nồng độ 6,26, 12,5, 25, 50, 100, 200 và 300 µg/mL bằng ethanol; dung dịch $AlCl_3$ 10% và dung dịch CH_3COOK 1 M được pha loãng với nước. Lấy 0,5 mL dung dịch Catechin chuẩn (nồng độ 6,26, 12,5, 25, 50, 100, 200 và 300 µg/mL) vào 1,5 mL ethanol và để phản ứng trong 5 phút. Thêm tiếp 0,1 mL $AlCl_3$ 10% và để phản ứng trong 6 phút. Cuối cùng, hỗn hợp được thêm vào 0,1 mL CH_3COOK 1 M và 2,8 mL nước cất, đồng nhất bằng máy Vortex rồi để ổn định ở nhiệt độ phòng trong 45 phút. Sau đó, tiến hành xác định độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ UV - Vis (U2900 Hitachi, Nhật Bản) ở bước sóng 415 nm. Kết quả OD được ghi nhận và tiến hành vẽ đường thẳng tuyến tính để sử dụng xác định hàm lượng flavonoid toàn phần trong các mẫu dịch chiết. Các mẫu dịch chiết được tiến hành tương tự với Catechin. Hàm lượng flavonoid tổng số được xác định theo mô tả của Chang và cs (2002) [7].

Hàm lượng flavonoid tổng được tính theo công thức:

$$F = c \times V/m$$

Trong đó: F là hàm lượng flavonoid toàn phần (mg Catechin/g chiết xuất; mg CE/g); C là giá trị x từ đường chuẩn với Catechin (mg/mL); V là thể tích dịch chiết (mL); M là khối lượng mẫu có trong thể tích V (g).

2.3.3. Xác định khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết bằng phương pháp DPPH

Cân 2 g mẫu cho vào bình tam giác, thêm 20 mL cồn 70°C, cho lắc đều trong 48 giờ ở máy lắc ở nhiệt độ phòng. Sau đó lọc qua giấy lọc để lấy dịch chiết. Dùng pipet lấy 250 µL DPPH cho vào các lỗ giếng. Lần lượt thêm các mẫu ở nồng độ khác nhau vào lỗ giếng với thể tích ở các nồng độ lần lượt là 0,25 µL, 2,5 µL, 25 µL, 50 µL. Ủ trong bóng tối 30 phút. Đo độ hấp thụ quang của DPPH tại

bước sóng 517 nm. Tỷ lệ giữa dịch chiết mẫu và DPPH lần lượt là: 0,001, 0,01, 0,1, 0,2 [8].

2.3.4. Xác định hiệu suất trích ly phenolic tổng số

Hiệu suất trích ly được xác định theo hàm lượng phenolic tổng số trong nguyên liệu theo công thức:

$H = X_1/X_2*100$

Trong đó: H là hiệu suất trích ly (%); X_1 là hàm lượng phenolic tổng số được trích ly (%); X_2 là hàm lượng phenolic tổng số trong nguyên liệu (%);

Hàm lượng phenolic tổng số trong nguyên liệu được xác định theo phương pháp ISO 14502-1-2005.

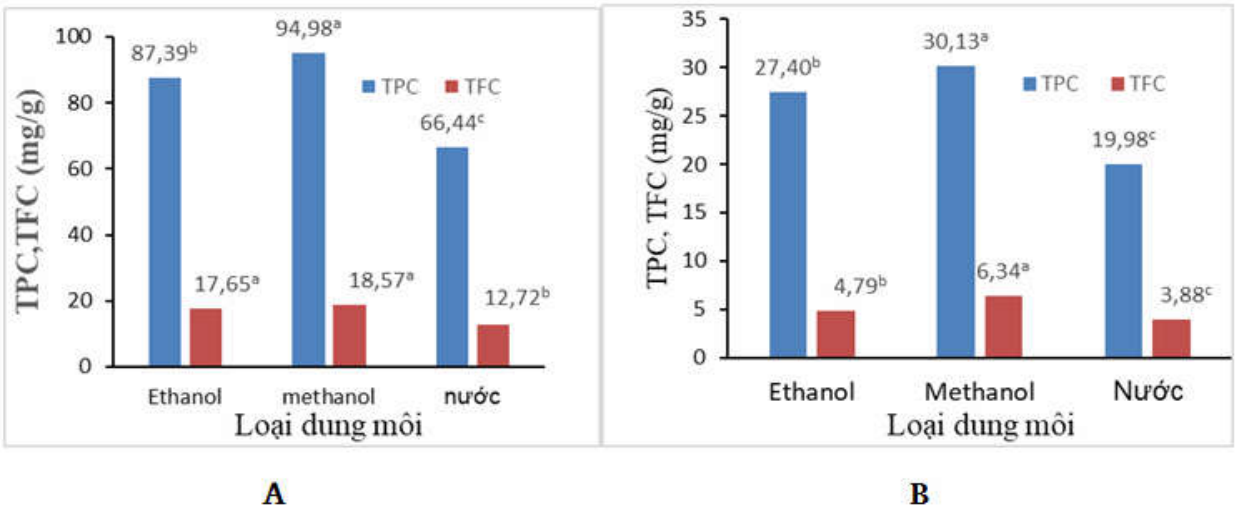
2.3.5. Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm đều được lặp lại ít nhất 3 lần. Kết quả thí nghiệm được phân tích ANOVA và kiểm định Duncan để so sánh sự sai khác trung bình giữa các nghiệm thức. Các phân tích thống kê được xử lý trên phần mềm tiêu chuẩn SPSS 20.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của loại dung môi

Mức độ hòa tan của mỗi chất trong các hệ dung môi khác nhau là khác nhau, nghiên cứu này khảo sát các loại dung môi methanol, ethanol, nước, nhằm đảm bảo việc trích ly có hiệu quả và đáp ứng yêu cầu về kinh tế cũng như là đảm bảo cho sức khỏe, an toàn sử dụng cho thực phẩm về sau. Kết quả phân tích hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số được trình bày ở hình 1.



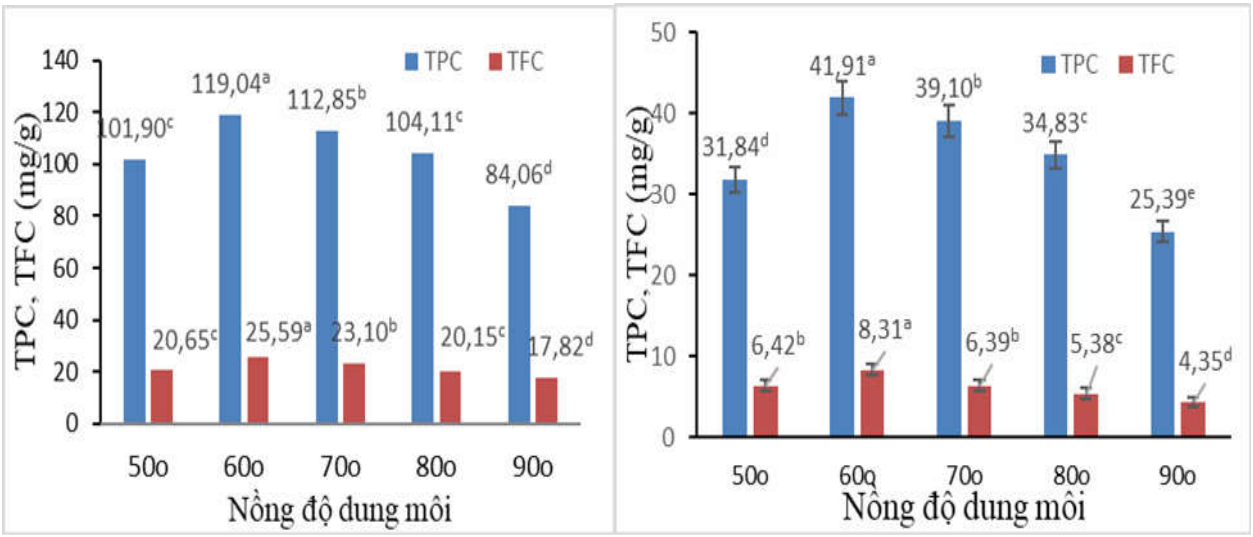
Hình 1. Hàm lượng TPC/TFC của lá (A) và củ (B) sen chiết bằng các loại dung môi khác nhau

Ghi chú: Các giá trị trung bình hàm lượng TPC, TFC được biểu thị trên biểu đồ có cùng cột màu có các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác ở mức ý nghĩa 5%.

Hàm lượng TPC và TFC thu được giảm dần theo thứ tự methanol, ethanol, nước, điều này có thể giải thích như sau: Methanol có độ phân cực lớn hơn ethanol và nước, có khả năng lôi kéo các hợp chất phân cực tương đối mạnh như phenolic và flavonoid nên hàm lượng TPC/TFC thu được khi sử dụng dung môi methanol lớn hơn ethanol và nước. Tuy dung môi methanol thu được TPC và TFC lớn hơn ethanol nhưng khi thực hiện trích ly bằng vi sóng mà nhiệt độ sôi của methanol lại thấp hơn ethanol nên quá trình trích ly vi sóng dễ xảy ra nguy hiểm, methanol có thể gây độc cho cơ thể nếu quá trình loại bỏ không triệt để. Do đó, mục tiêu là tối ưu khả năng thu nhận hợp chất có tính kháng oxy hóa cũng như chọn dung môi an toàn cho việc ứng dụng trong thực phẩm sau này, nên ethanol là dung môi được chọn để tiến hành trích ly.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hàm lượng TPC/TFC

Ở các nồng độ dung môi khác nhau sẽ ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất trích ly thu được. Nghiên cứu của Zhang và cs (2009) [9] cho thấy, hiệu suất trích ly flavonoid từ lá sen tăng lên khi nồng độ ethanol tăng trong khoảng 40 – 70%, nồng độ ethanol trên 70% thì hiệu suất trích ly flavonoid giảm đi. Kết quả nghiên cứu này tương tự như kết quả nghiên cứu của Dasha và cs (2009) [10] khi trích ly flavonoid. Một số nghiên cứu về trích ly phenolic tổng số của Dar và Sharma (2011) [11], Deep và cs (2015) [12], Beejmohun và cs (2007) [13] cho thấy, nồng độ dung môi ethanol thích hợp để trích ly phenolic tổng số là khoảng 60 - 70%. Chính vì vậy, đã tiến hành khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến quá trình trích ly sẽ được tiến hành thực hiện trong khoảng nồng độ ethanol từ 50 - 90%.



A B

Hình 2. Hàm lượng TPC, TFC của lá (A) và củ (B) sen chiết bằng ethanol ở các nồng độ khác nhau

Ghi chú: Các giá trị trung bình hàm lượng TPC, TFC được biểu thị trên biểu đồ có cùng cột màu có các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác ở mức ý nghĩa 5%.

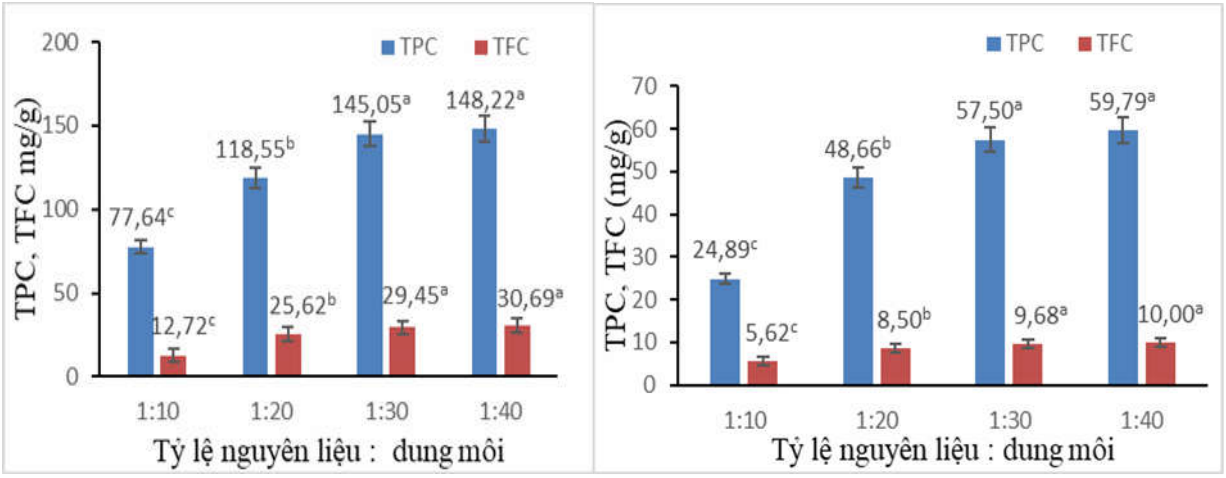
Khi trích ly bằng dung môi ethanol 60^0 thu được hàm lượng TPC (đối với lá 119,043 mg GAE/g, đối với củ 41,918 mg GAE/g) cũng như TFC (đối với lá 25,592 mg CE/g, đối với củ 8,316 mg CE/g) là cao nhất. Khi giảm nồng độ dung môi từ 90^o xuống 60^o hàm lượng TPC và TFC có xu hướng tăng dần nhưng tới nồng độ 50^o thì lại có hiện tượng giảm mạnh. Nồng độ dung môi quá cao sẽ làm cho các thành tế bào bị mất nước cục bộ dẫn tới hiện tượng các thành tế bào bị khô và co lại ngăn chặn quá trình trích ly. Mức độ phân cực của dung môi tùy thuộc vào hằng số điện môi, giá trị liên kết hydro, trong đó, nước có hằng số điện môi, giá trị liên kết hydro cao hơn ethanol. Do đó, khi trộn lẫn ethanol với nước sẽ cho các hỗn hợp ethanol - nước có mức độ phân cực khác nhau, nồng độ dung môi có độ phân cực tương đương với hợp chất được trích ly sẽ hòa tan chất đó tốt hơn. Kết quả của nghiên cứu này tương đồng với các nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Thúy và cs (2018) [14], nồng độ ethanol 60% là phù hợp khi trích ly TPC và TFC từ nguyên liệu lá tía tô. Do vậy, nồng độ ethanol 60% là thích hợp nhất để thực hiện quá trình tách chiết TPC/TFC từ lá và củ sen.

3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết đến hàm lượng TPC/TFC

Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi là yếu tố không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất trích li mà còn ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế và quá

trình tinh sạch về sau. Trong thí nghiệm ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi, ethanol được sử dụng ở nồng độ 60%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ở 4 mức 1: 10, 1: 20, 1: 30, 1: 40 (g/ml). Thời gian vi sóng 4 phút với công suất máy: 480 W.

Hình 3 cho thấy, tỷ lệ từ 1: 10 - 1: 30 (g/ml) cho hàm lượng TPC và TFC đều tăng lên một cách đáng kể. Tuy nhiên, đến tỷ lệ 1: 40 thì hàm lượng TPC/TFC chỉ tăng một lượng không đáng kể. Cụ thể đối với lá sen ở tỷ lệ 1: 20 thì hàm lượng TPC/TFC lần lượt là 118,558 mg GAE/g, 25,622 mg CE/g đến tỷ lệ 1: 30 thì có sự tăng vượt trội khi hàm lượng TPC và TFC lần lượt là 145,055 mg GAE/g, 29,454 mg CE/g và đối với củ sen cũng vậy, ở tỷ lệ 1: 20 thì TPC và TFC lần lượt là 48,660 mg GAE/g, 8,500 mg CE/g ở tỷ lệ 1: 30 là 57,505 mg GAE/g, 9,682 mg CE/g. Còn từ tỷ lệ 1: 30 lên tỷ lệ 1: 40 chỉ TPC tăng ở mức 2,13% đối với lá và 3,68% đối với củ. Khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi giảm tức lượng dung môi sử dụng cho một đơn vị thể tích nguyên liệu tăng, các hợp chất chống oxy hóa (cụ thể ở đây là phenolic và flavonoid) có trong lá sen và củ sen sẽ có điều kiện hòa tan tốt vào dung môi bởi lượng dung môi lớn sẽ làm tăng khả năng tiếp xúc của dung môi và chất tan, từ đó làm tăng chênh lệch nồng độ chất tan giữa dung môi và nguyên liệu, chất tan có trong tế bào nguyên liệu dễ khuếch tán ra dung môi chiết, làm cho hàm lượng các hợp chất chống oxy hóa có trong dịch chiết tăng lên. Khi lượng dung môi đã ngấm sâu vào trong các thành phần của nguyên liệu, lúc này nồng độ chất tan có trong dung môi và nguyên liệu gần đạt trạng thái cân bằng và hàm lượng chất chống oxy hóa trong nguyên liệu đã giảm so với ban đầu do đã khuếch tán ra môi trường dung môi, khả năng hòa tan của chúng vào môi trường chiết giảm dần đến ổn định, lúc này sự chênh lệch nồng độ chất tan trong tế bào nguyên liệu và trong dịch chiết là rất nhỏ. Nếu lượng dung môi khá lớn sẽ gây lãng phí dung môi, năng lượng và hiệu suất chiết cũng tăng không đáng kể. Theo nghiên cứu của Đặng Thanh Long và cs (2020) [15], Nguyễn Thị Ngọc Thúy và cs (2018) [14] cho thấy, tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1: 25 khi trích ly flavonoid từ hạt sen và 1: 35 khi trích ly TFC, TPC từ lá cây tía tô. Vì vậy, ở đây tỷ lệ nguyên liệu: dung môi được chọn là 1: 30 đối với cả 2 nguyên liệu để đạt được hiệu quả trích ly mà vẫn đạt được những lợi ích về kinh tế.



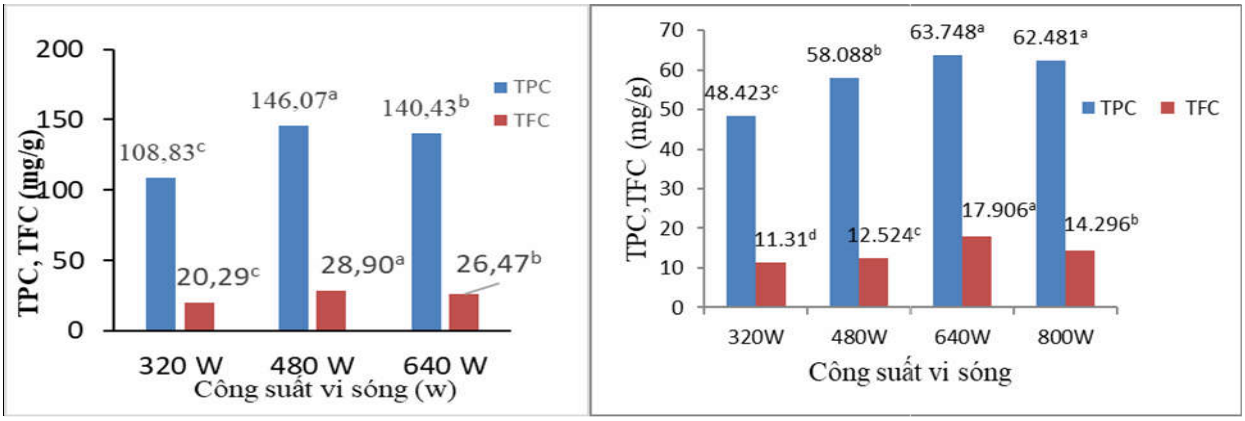
A B

Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hàm lượng TPC/TFC trong lá (A) và củ (B) sen

Ghi chú: Các giá trị trung bình hàm lượng TPC, TFC được biểu thị trên biểu đồ có cùng cột màu có các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác ở mức ý nghĩa 5%.

3.4. Ảnh hưởng của công suất vi sóng đến hàm lượng TPC

Công suất vi sóng trong quá trình trích ly ảnh hưởng đến khoảng thời gian tăng nhiệt độ của dịch chiết khi công suất vi sóng càng cao thì thời gian đun nóng càng ngắn dẫn đến ảnh hưởng đến quá trình trích ly. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trên hình 4.



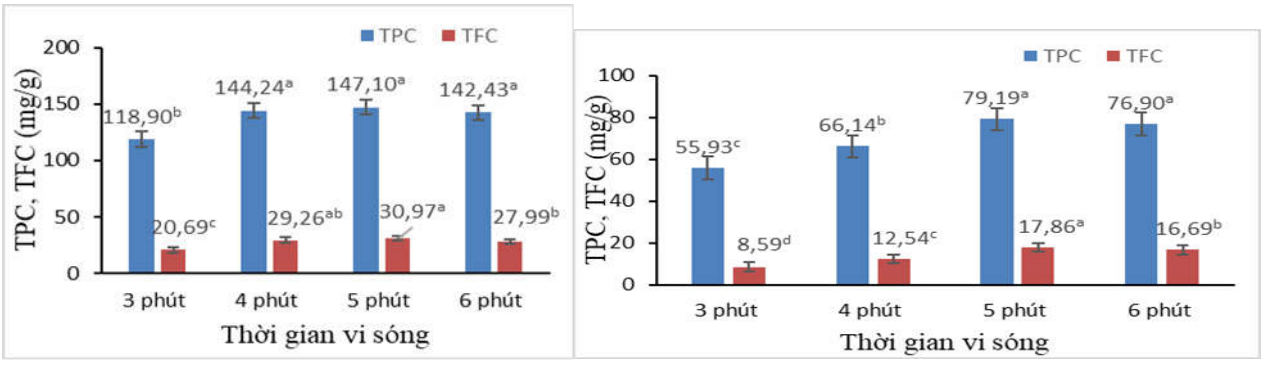
A B

Hình 4. Ảnh hưởng của công suất vi sóng đến hàm lượng TPC/TFC trong lá (A) và củ (B) sen

Ghi chú: Các giá trị trung bình hàm lượng TPC, TFC được biểu thị trên biểu đồ có cùng cột màu có các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác ở mức ý nghĩa 5%.

Khi thực hiện trích ly lá sen với công suất 480 W sẽ thu được hàm lượng TPC (146,076 mg GAE/g) cũng như TFC (28,906 mg CE/g) là cao nhất. Đối với củ sen thì mức công suất ở 640 W, 800 W là mức công suất được ghi nhận thu được hàm lượng TPC (63,748 mg GAE/g, 62,481 mg GAE/g) là cao nhất và không có sự sai khác ở mức ý nghĩa 5%. Khi công suất vi sóng tăng thì khả năng phá vỡ các liên kết trong nguyên liệu cũng tăng làm cho quá trình khuếch tán của dung môi vào trong nguyên liệu cũng tăng. Tuy nhiên, ở công suất cao thì nhiệt độ tăng mạnh (80 - 130^{0}C), điều này dẫn đến sự phân hủy các hợp chất. Oluwaseun Ruth Alara và cs (2018) [16] đã chọn được điều kiện tối ưu khi trích ly TFC từ lá ở mức vi sóng 416 W trong thời gian 7 phút. Vì vậy, đối với nguyên liệu lá sen đã chọn công suất là 480 W để thực hiện trích ly và đối với nguyên liệu củ sen đã chọn mức công suất là 640 W.

3.5. Ảnh hưởng của thời gian vi sóng đến hàm lượng TPC/TFC



A B

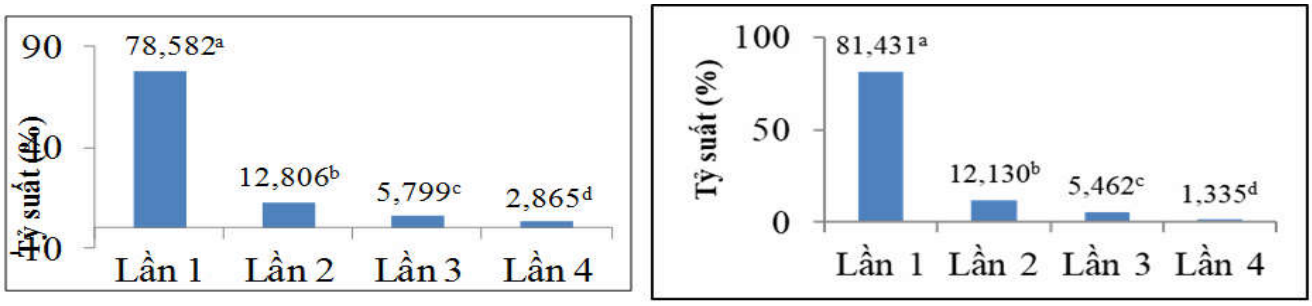
Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian vi sóng đến hàm lương TPC/TFC trong trích ly lá (A) và củ (B) sen

Ghi chú: Các giá trị trung bình hàm lượng TPC, TFC được biểu thị trên biểu đồ có cùng cột màu có các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác ở mức ý nghĩa 5%.

Khi tăng thời gian vi sóng từ 0 lên 4 phút thì hàm lượng TPC/TFC trong lá sen tăng lên. Thời gian vi sóng tăng, nhiệt độ trích ly cũng tăng lên và khả năng phá vỡ thành tế bào của nguyên liệu tăng lên, bên cạnh đó thời gian tăng giúp dung môi thẩm thấu vào trong từng tế bào của nguyên liệu qua các mao quản, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình khuếch tán các hợp chất hòa tan vào dung môi chiết nên lượng chất chiết thu được nhiều hơn. Khi kéo dài thời gian xử lý vi sóng từ 4 lên 6 phút thì hàm lượng TPC/TFC thu hồi thay đổi không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này tương tự với công bố của Deep và cs (2015) [12] khi sử dụng hỗ trợ vi sóng trong trích TPC/TFC trong lá cây bạch đàn. Đối với nguyên liệu củ sen thì thời gian xử lý vi sóng hiệu quả để thu được hàm lượng TPC/TFC ở 5 phút, điều này phù hợp khi nguyên liệu củ sen có cấu trúc chặt hơn so với lá sen.

3.6. Hiệu suất trích ly phenolic tổng số

Thí nghiệm được tiến hành với các thông số công nghệ trích ly đã khảo sát được ở trên và tiến hành trích ly nhiều lần để trích ly kiệt toàn bộ phenolic trong nguyên liệu (cho đến khi dịch chiết không còn đổi màu khi thêm vài giọt dung dịch thuốc thử $FeCl_3$ 3%/HCl 0,1 N (màu xanh rêu sẽ xuất hiện nếu có sự hiện diện của phenolic trong dịch chiết)



Hình 6. Hiệu suất của quá trình trích ly TPC từ lá (A) và củ (B) sen

Ghi chú: Các giá trị trung bình được biểu thị trên bảng có các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác ở mức ý nghĩa 5%.

Hiệu suất trích ly trong lần đầu tiên khoảng 78,582% đối với lá và 81,431% đối với củ, cao nhiều hơn so với những lần trích ly tiếp theo sau đó (đối với lá 12,806%, 5,799%, 2,865% đối với củ 12,130%, 5,462%, 1,335% trong lần thứ 2, 3, 4). Kết quả này chứng minh được rằng phương pháp trích ly có hỗ trợ vi sóng cho tỷ suất thu hồi tương đối tốt trong khoảng thời gian ngắn.

3.7. Đánh giá khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết

Hỗn hợp mẫu và DPPH sau khi phản ứng trong bóng tối 30 phút được đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 517 nm. Mỗi thí nghiệm được lặp 3 lần, lấy giá trị trung bình. Từ giá trị đo OD 517 nm tính giá trị % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH. Sau khi tính toán và xây dựng các phương trình hồi quy đều có hệ số tương quan (R^2 > 99%), từ đó sử dụng tính các giá trị IC_{50} của các mẫu. Kết quả giá trị IC_{50} của dịch chiết củ (µg/ml), lá sen và vitamin C là: 305,46, 96,12, 2,59.

Khả năng kháng oxy hóa giữa dịch chiết lá, củ sen và mẫu đối chứng vitamin C có sự khác biệt khá lớn. Trong đó, dịch chiết lá có khả năng bắt gốc tự do DPPH tốt hơn (IC_{50}= 96,12 µg/ml) dịch chiết củ (IC_{50}=305,46 µg/ml) 3,20 lần. Khả năng bắt gốc tự do DPPH của dịch chiết lá thấp hơn khả năng bắt gốc tự do DPPH của vitamin C 36,02 lần. Theo nghiên cứu của Đoàn Thị Hoài Nam và cs (2019) [17], tỏi tươi có mức độ bắt gốc tự do DPPH thấp hơn vitamin C là 42,10 lần. Nghiên cứu của Đái Thị Xuân Trang và cs (2015) [18] cho thấy, cây Hà Thủ Ô trắng có mức độ bắt gốc tự do DPPH thấp hơn vitamin C là 15,5 lần. Kết quả này cho thấy khả năng bắt gốc tự do DPPH của dịch chiết lá là khá tốt.

4. KẾT LUẬN

Khi tăng công suất, nhiệt độ và thời gian vi sóng đến ngưỡng giá trị xác định thì sẽ làm tăng hiệu suất thu hồi TPC/TFC. Tuy nhiên, nếu tăng công suất, nhiệt độ và thời gian vi sóng vượt ngưỡng thì hiệu suất thu hồi TPC/TFC sẽ không thay đổi có ý nghĩa thống kê hoặc bị giảm đi. Đã tìm ra các thông số phù hợp để trích ly TFC/TPC từ lá và củ sen với dung môi ethanol 60%, tỷ lệ nguyên liệu: dung là 1: 30, nguyên liệu lá sen được xử lý vi sóng mức 480 W trong 4 phút, nguyên liệu củ sen được xử lý vi sóng mức 640 W trong 5 phút, dịch chiết lá (IC_{50} = 96,12 µg/ml) và củ sen (IC_{50} = 305,46 µg/ml) có khả năng kháng oxy hóa. Hỗ trợ vi sóng để trích ly là một phương pháp tiềm năng có thể thực hiện nghiên cứu sâu hơn và khả năng ứng dụng vào thực tiễn sản xuất.

LỜI CẢM ƠN

Một số kết quả trong nghiên cứu này được tài trợ bởi dự án "Đa dạng hóa sản phẩm sen bản địa kết hợp với phát triển du lịch sinh thái do Bulgarian Development AID tài trợ".

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoàng Thị Nga (2016). Nghiên cứu đa dạng nguồn gen cây sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) phục vụ công tác bảo tồn và chọn tạo giống. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp. Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.

2. Lê Công Sơn (2008). Bảo tồn, lưu trữ giống sen trắng phục vụ tôn tạo cảnh quan cho hồ Thái Dịch khu vực Đại Nội Huế. Báo cáo tổng kết đề án nghiên cứu khoa học. Trung tâm Bảo tồn di tích cố đô Huế- 45-52.

3. Pulok K. M., Kakali S., Saha B. P., Das J. (1996). Diuretic Activity of Extract of the Rhizomes of Nelumbo nucifera Gaertn. (Fam. Nymphaeaceae). Phytotheraphy Research-10, 424 – 425.

4. Nguyễn Thị Quỳnh Trang, Hoàng Thị Kim Hồng, Võ Thị Mai Hương (2017). Điều tra thực trạng sản xuất cây sen. Hội thảo khoa học Sinh lý thực vật toàn quốc lần 2-121–130.

5. Jarukitt Limwachiranon, Hao Huang, Zhenghan Shi, Li Li, Zisheng Luo (2018). Lotus Flavonoids and Phenolic Acids: Health Promotion and Safe Consumption Dosages. Wiley Online Library.

6. Pham H. N. T., Nguyen V. T., Vuong Q. V., Bowyer M. C., Scarlett C. J. (2016). Bioactive compound yield and antioxidant capacity of *Helicteres hirsuta* Lour. stem as affected by various solvents and drying methods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, e12879.

7. Chang C. C., Wen H. M., Yang M. H., Cherm J. C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*-10,3,178-182.

8. Brand Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology- 28, 1, 25–30.

9. Zhang L., Shan Y., Tang K. and Putheti R. (2009). Ultrasound-assisted extraction flavonoids from Lotus (*Nelumbo nuficera Gaertn*) leaf and evaluation of its anti-fatigue activity. *International journal of Physical Sciences*-4-418 – 422.

10. Dasha S. P., Slava T. B., Vanlentina T. T. (2009). Microwave-assisted extraction of flavonoid antioxidants from leaves of Haberlea rhodopensis. *Journal of international Scientific publications*-5-1, 1313 - 2539.

11. Dar B. N. and Sharma S. (2011). Total Phenolic Content of Cereal Brans using Conventional and Microwave Assisted Extraction. *American Journal of Food Technology*-6-12, 1045 - 1053.

12. Deep J. B., Quan Van Vuong, Anita C. C., Ian A., Michael C. B., Christopher J. S. (2015). Microwave-assisted extraction of Eucalyptus robusta leaf for the optimal yield of total phenolic compounds. Industrial Crops and Products-69, 1 - 10.

13. Beejmohun V., Fliniaux O., Grand E., Lamblin F., Bensaddek L., Christen P., Kovensky J., Fliniaux M. And Mesnard F. (2007). Microwave-assisted Extraction of the Main Phenolic

Compounds in Flaxseed. Phytochemical Analysis-18-275-282.

14. Nguyễn Thị Ngọc Thúy, Nguyễn Thị Thu Huyền, Trương Quang Duy, Phan Huỳnh Thúy Nga, Cao Thị Cẩm Tú (2018). Ảnh hưởng của dung môi và pH đến quá trình trích ly các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa từ tía tô (*Perilla frutescens*). *Tạp chí Khoa học công nghệ và Thực phẩm*, 14 - 1, 66 - 74.

15. Đặng Thanh Long, Hoàng Thị Kim Hồng, Lê Lý Thùy Trâm, Nguyễn Thị Quỳnh Trang, Nguyễn Phan Thủy Tiên (2020). Ảnh hưởng một số yếu tố lên quá trình tách chiết flavonoid toàn phần từ hạt sen bằng phương pháp siêu âm bể. Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc.

16. Oluwaseun Ruth Alara, Nour Hamid Abdurahman, Olusegun, Abayomi Olalere (2018) Optimization of microwave-assisted extraction of flavonoids and antioxidants from Vernonia amygdalina leaf using response surface methodology. Food and Bioproducts Processing, 107-36-48.

17. Đoàn Thị Hoài Nam, Lê Đức Hoàng Lan, Lê Thị Thủy Tiên (2019). Nghiên cứu thành phần của tỏi sau lên men và ứng dụng để sản xuất nước mắm tỏi đen. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ nông nghiệp*, 3 - 1.

18. Đái Thị Xuân Trang, Võ Thị Tú Anh, Lâm Hồng Bảo Ngọc (2015). Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của cao methanol cây hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juventas Merr.*). *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ,* 40, 1- 6.

EFFECT OF EXTRACTION CONDITIONS ON TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOID CONTENT OF WHITE LOTUS LEAVES AND ROOTS (*Nelumbo nucifera* Gaernt.) CULTIVATED IN THUA THIEN HUE

Nguyen Van Hue

Summary

The Hue white lotus is a type of plant that grows in ponds and lakes located in the Thua Thien - Hue province. Parts from the Hue lotus plant have been processed into dishes with bold images and the culinary culture of Hue, such as: lotus root salad, Hue lotus tea, lotus seeds, lotus root jam, ect. Hue white lotus is on the list of key crops for local development, so the area planted to it has been significantly increased. The research, evaluation, and exploitation of potential value from Hue white lotus have been and are being carried out. This study investigated the influence of extraction conditions (solvent type, solvent concentration, raw material/solvent ratio) combined with microwave treatment (power, microwave time) on total phenolic content (TPC) and flavonoids content (TFP) from the leaves and roots of Hue white lotus, as well as evaluating the antioxidant activity of the extracts obtained. The results found suitable technological parameters as follows: the most effective solvent was ethanol at 60%, the raw material/solvent ratio was 1: 30; microwave treatment at 480 W for 4 minutes for lotus leaf and 640 W for 5 minutes for lotus root got the highest effects. At that time, the TPC/TFC content was 144.24 mg GAE/g, 29.26 mg CE/g and 79.17 mg GAE/g, 17.86 mg CE/g for lotus leaves and roots, respectively. With this method, the extraction time was short, the lotus leaf and root extracts had antioxidant activity and the lotus leaf extract had better DPPH free radical scavenging ability (IC50 = 96.12 µg/ml) roots extract (IC50=305.46 µg/ml) 3.20 times.

Keywords: *Hue White Lotus, phenolic, flavonoid, DPPH, microvawe.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Mạnh Dũng
Ngày nhận bài: 24/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 24/3/2023
Ngày duyệt đăng: 31/3/2023

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH LUỘC VÀ RANG ĐẾN CHẤT LƯỢNG HẠT ĐẬU PHỘNG (*Arachis hypogaea* L.) TÁCH VỎ

Nguyễn Công Hà[1, *], Nguyễn Thị Lệ Ngọc[1], Châu Mỹ Phương[1]

TÓM TẮT

Đậu phộng (*Arachis hypogaea* L.) có chứa nhiều hợp chất dinh dưỡng và có hoạt tính sinh học có lợi cho sức khỏe. Đây là loại hạt có nhiều dầu với lipid chiếm 44 - 56% trong thành phần dinh dưỡng của hạt, do đó việc sơ chế sau thu hoạch rất cần thiết. Trong nghiên cứu này, đậu phộng được tách vỏ sơ chế theo hai cách là luộc ở nhiệt độ sôi của nước trong thời gian 5 - 30 phút hoặc được rang ở nhiệt độ 180^{0}C, 210^{0}C và 240^{0}C trong thời gian 10, 20 và 30 phút để đánh giá tác động đến sự biến đổi chất lượng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, đậu phộng được luộc trong 5 phút giữ được thành phần dinh dưỡng, chức năng tốt nhất với hàm lượng genistein (5,51 mg/kg), lipid (30,51%), khả năng bẫy gốc tự do (27,25%) cao nhất và ngược lại chỉ số axit béo tự do (2,82%), peroxide (0,19 mEq/kg) thấp nhất. Nghiên cứu cũng ghi nhận genistein (4,42 mg/kg), lipid (29,03%), khả năng bẫy gốc tự do (17,11%) ghi nhận giá trị cao nhất với mẫu đậu rang ở 180^{0}C trong 10 phút, đồng thời chỉ số axit béo tự do (0,56%) và peroxyde (0,08 mEq/kg lipid) thấp nhất. Kết quả đã chỉ ra rằng, đậu luộc giúp phát huy chất lượng tốt hơn so với đậu rang. Tùy vào mục đích chế biến thành phẩm sau cùng mà sơ chế luộc hay rang sẽ được lựa chọn.

Từ khóa: *Đậu phộng, luộc đậu phộng, rang đậu phộng, sơ chế đậu phộng.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu phộng (*Arachis hypogaea* L.) vừa là cây công nghiệp ngắn ngày, cây thực phẩm và cũng là cây có dầu quan trọng có giá trị kinh tế cao. Trên thế giới, trong số các loại cây có dầu ngắn ngày, cây đậu phộng được xếp 2 sau đậu tương về diện tích và sản lượng [1], xếp thứ 13 trong các cây thực phẩm quan trọng, xếp thứ 4 về nguồn dầu thực vật và xếp thứ 3 về nguồn protein quan trọng cung cấp cho người [2]. Trong số 25 nước trồng đậu phộng ở châu Á thì Việt Nam đứng thứ năm. Theo Tom Oder (2015), nhu cầu về đậu phộng tăng mạnh đặc biệt là dầu, hạt rang với muối, bơ đậu phộng và kẹo [3]. Với tính chất giàu đạm, ít đường, giàu chất béo và chất xơ nên đậu phộng có chỉ số đường thấp (dùng để đo thời gian lượng đường vào máu sau khi ăn). Cùng với các thành phần có hoạt tính sinh học và các chất chống oxy hóa có lợi cho sức khỏe như: Genistein, resveratrol, biochanin A, axit coumaric, isoflavon, đóng vai trò làm giảm nguy cơ phát triển các bệnh mãn tính như ung thư, tiểu đường và bệnh tim mạch vành [4, 5, 6]. Đậu phộng là một nguồn cung cấp nhiều phốt pho, chất khoáng đóng vai trò quan trọng để các mô duy trì và phát triển. Bên cạnh đó magiê chất khoáng cần thiết trong chế độ ăn, có nhiều chức năng quan trọng với cơ thể giúp bảo vệ khỏi các bệnh về tim [7]. Đậu phộng tươi (đã tách vỏ nhưng chưa qua phơi sấy) có giá trị ẩm hơn 10% vì vậy để dễ dàng tồn trữ nguyên liệu cho các quá trình chế biến đậu phộng, nguyên liệu thường được phơi từ 3 - 4 nắng hoặc sấy đến độ ẩm phù hợp nhằm tồn trữ đậu phộng được trong thời gian dài [8]. Một số nghiên cứu cơ bản liên quan đến chế biến đậu phộng cho thấy, sơ chế bằng sao rang và luộc có tác động đến yếu tố cảm quan và chất lượng sản phẩm chế biến từ đậu phộng. Do đó nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình sơ chế

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[*] Email: ncha@ctu.edu.vn

luộc và rang đến chất lượng hạt đậu phộng tách vỏ đã được thực hiện nhằm đánh giá tác động và tính hiệu quả của 2 phương pháp này trong sơ chế đậu phộng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu, hóa chất

Đậu phộng tươi được thu mua trực tiếp từ ruộng đậu thuộc hợp tác xã Bảo Trâm tỉnh Trà Vinh; trái đậu được xử lý tách vỏ lấy hạt ngay sau khi thu mua (1 - 2 ngày sau khi hái), hạt đậu phộng được bảo quản ở -18°C để sử dụng cho toàn bộ thí nghiệm. Các chất chuẩn genistein và thuốc thử 2,2-dipenyl-1-picrylhydrazyl thuộc Hãng Sigma Alrich và các dung môi, hóa chất khác dùng trong phân tích được mua từ Công ty Vật tư Hóa chất Kỹ thuật Cần Thơ – Cemaco đạt độ tinh khiết cho phân tích.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của thời gian luộc đến chất lượng hạt luộc không vỏ

Đậu phộng sau khi mua từ ruộng đậu, được vận chuyển về phòng thí nghiệm để tiến hành làm sạch và tách vỏ. Hạt đậu đã tách vỏ lần lượt được luộc ở các thời gian khác nhau 5, 10 và 15 phút. Đậu luộc được vớt, để ráo và đóng gói hút chân không, bảo quản ở -18°C để tiến hành phân tích các chỉ tiêu. Hàm lượng genistein, hàm lượng lipid tổng, khả năng bẫy góc tự do, hàm lượng axit béo tự do và chỉ số peroxide được xác định.

2.2.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ rang đến chất lượng hạt rang không vỏ

Hạt đậu phộng sử dụng ở thí nghiệm 2 cũng được chuẩn bị tương tự như thí nghiệm 1. Hạt đậu phộng được rang ở nhiệt độ 180^{0}C, 210^{0}C và 240^{0}C trong thời gian 10, 20 và 30 phút bằng máy rang hạt mini, mỗi mẻ rang 500 g. Đậu phộng rang được đóng gói hút chân không, bảo quản ở -18°C để tiến hành phân tích các chỉ tiêu. Hàm lượng genistein, hàm lượng lipid tổng, khả năng bẫy góc tự do, hàm lượng axit béo tự do và chỉ số peroxide được xác định.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Xác định hàm lượng genistein

Hàm lượng genistein được xác định theo phương pháp của César và cs (2008) với một vài thay đổi [9]. Cân 5 g mẫu đậu phộng cho vào bình định mức 25 mL. 20 mL methanol được thêm vào và dung dịch này được siêu âm trong 5 phút. Thể tích được điều chỉnh đến 25 mL bằng metanol và lọc. Sau đó, 5 mL dịch lọc được chuyển vào bình định mức 10 mL, tiếp tục thêm 1 mL $AlCl_3$ 2% (w/v, pha trong methanol) và định mức đến vạch bằng methanol. Các dung dịch trắng được chuẩn bị tương tự nhưng không bổ sung $AlCl_3$. Các mẫu được để yên trong 10 phút sau khi bổ sung $AlCl_3$ và được đo độ hấp thụ ở bước sóng 382 nm. Genistein tinh khiết được sử dụng để xây dựng đường chuẩn.

2.3.2. Xác định khả năng bẫy gốc tự do

Khả năng bẫy gốc tự do được xác định theo phương pháp của Fu và cs (2002) với một số thay đổi nhỏ [10]. Mẫu được cân cho vào ống falcon và được trích ly qua đêm bằng methanol với tỷ lệ 1: 9 (w/v) ở -18^{0}C. Hỗn hợp được ly tâm bằng máy ly tâm lạnh Hermle Labotechnik Z323K ở 6.000 g trong 10 phút thu dịch trong. Hút 3 mL dịch trong cho vào ống pi tránh sáng. Tiếp tục thêm vào 1 mL dung dịch thuốc thử DPPH 0,1 mM (pha trong methanol), lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Độ hấp thu quang học được đo ở bước sóng 517 nm. Khả năng bẫy gốc tự do được xác định theo công thức: DPPH (%) = ($Abs_{mẫu\ trắng}$–$Abs_{mẫu\ thử}$)*100/$Abs_{mẫu\ trắng}$.

2.3.3. Xác định hàm lượng lipid tổng

Lipid tổng được xác định theo phương pháp Soxhlet (AOAC 945.16, 2005) [11]. Cân khoảng 5 g mẫu (m1) đã sấy ẩm đến khối lượng không đổi, gói lại bằng giấy lọc (đã sấy và cân khối lượng, a), cho gói mẫu vào ống chiết (Soxhlet). Sau đó cho dung môi (ether 60~90) vào khoảng 2/3 bình cầu

và bật hệ thống Soxhlet, thời gian chiết béo khoảng 24 giờ. Thử xem đã trích ly hết chất béo chưa bằng cách lấy đũa thủy tinh lấy 1 giọt dầu từ hệ thống Soxhlet thử trên mặt kính đồng hồ, nếu không thấy vết loang xem như quá trình trích ly đã hoàn toàn. Sau khi quá trình cất béo kết thúc, các gói mẫu được sấy ở nhiệt độ 105°C đến khối lượng không đổi và đem cân khối lượng (m2). Hàm lượng lipid tổng được tính theo công thức: % Lipid = [(m1-a)-(m2-a)]*100/(m1-a).

2.3.4. Xác định hàm lượng axit béo tự do

Hàm lượng axit béo tự do được xác định theo TCVN 6127: 2010 [12]. Cân 5 g chất béo (được chiết bằng Soxhlet) cho vào bình tam gác. Sau đó thêm 25 mL hỗn hợp ethanol: ether (1: 1), thêm vài giọt phenolphtalein 1%. Lắc đều và đem đi chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1 N đến khi dung dịch có màu hồng bền trong 30 giây thì dừng lại. Hàm lượng axit béo tự do được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm khối lượng theo axit oleic.

2.3.5. Xác định chỉ số peroxyde

Giá trị peroxide được xác định bằng phương pháp đo điểm cuối iốt (trực quan) theo TCVN 6121: 2010 với một số sửa đổi nhỏ [13]. Cân 5 g mẫu vào Erlen với 25 mL cloroform và giữ yên trong 5 phút. Sau đó, hỗn hợp được lọc và di chuyển 10 mL dịch lọc trong các erlen khác nhau đã được đậy bằng giấy bạc. Tiếp theo, 0,6 mL H_2SO_4 0,1 N và 5 mL axit axetic được thêm vào và xoáy. Tiếp tục thêm 0,5 mL KI bão hòa vào, sau đó để yên trong bóng tối trong 15 phút. Cuối cùng, thêm 30 mL nước cất và 1 mL dung dịch tinh bột 1% vào, xoáy. Chuẩn độ hỗn hợp bằng dung dịch $Na_2S_2O_3$ 0,1 N. Giá trị peroxyde đã được xác định.

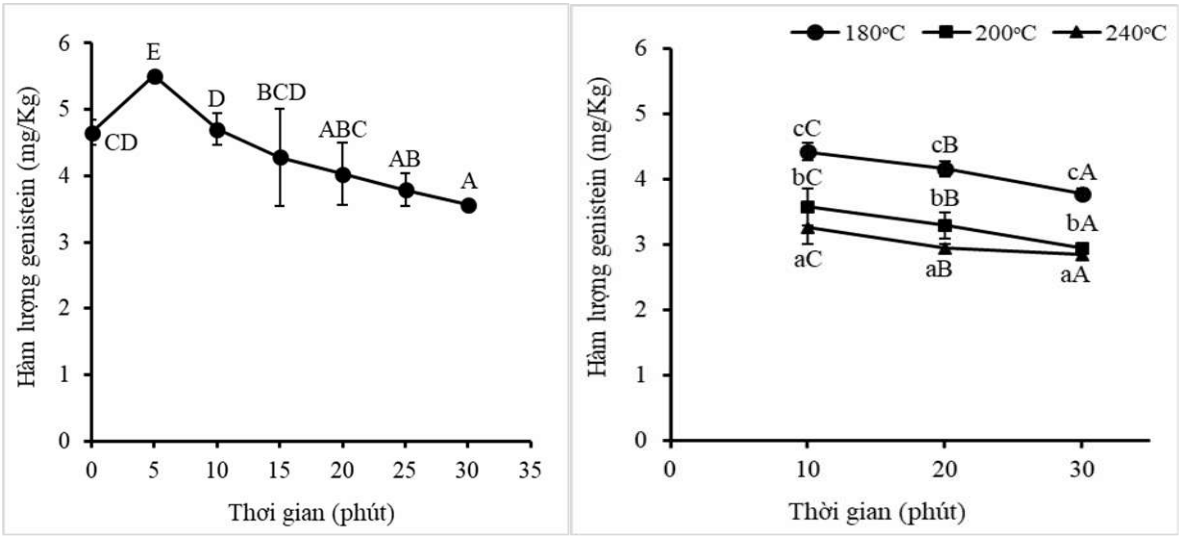
2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Số liệu ghi nhận được xử lý, vẽ đồ thị, tính độ lệch chuẩn trên phần mềm Microsoft Office và Excel 2013. Phân tích thống kê được xử lý trên phần mềm Statgraphics Centurion XVI. Kết quả thí nghiệm được phân tích phương sai ANOVA kết hợp phép thử kiểm định LSD (5%) để so sánh sự khác biệt giữa các giá trị trung bình.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của quá trình luộc và rang đến hàm lượng genistein

Thành phần của đậu phộng MD7 được dùng để chế biến sữa đậu phộng là 29,14% protein, 34,21% chất béo, 2,02% tro, 30,29% carbohydrate và hàm lượng genistein đạt 4,65 mg/kg (kết quả được tính theo chất khô).



A B

Hình 1. Ảnh hưởng của quá trình luộc và rang đến hàm lượng genistein

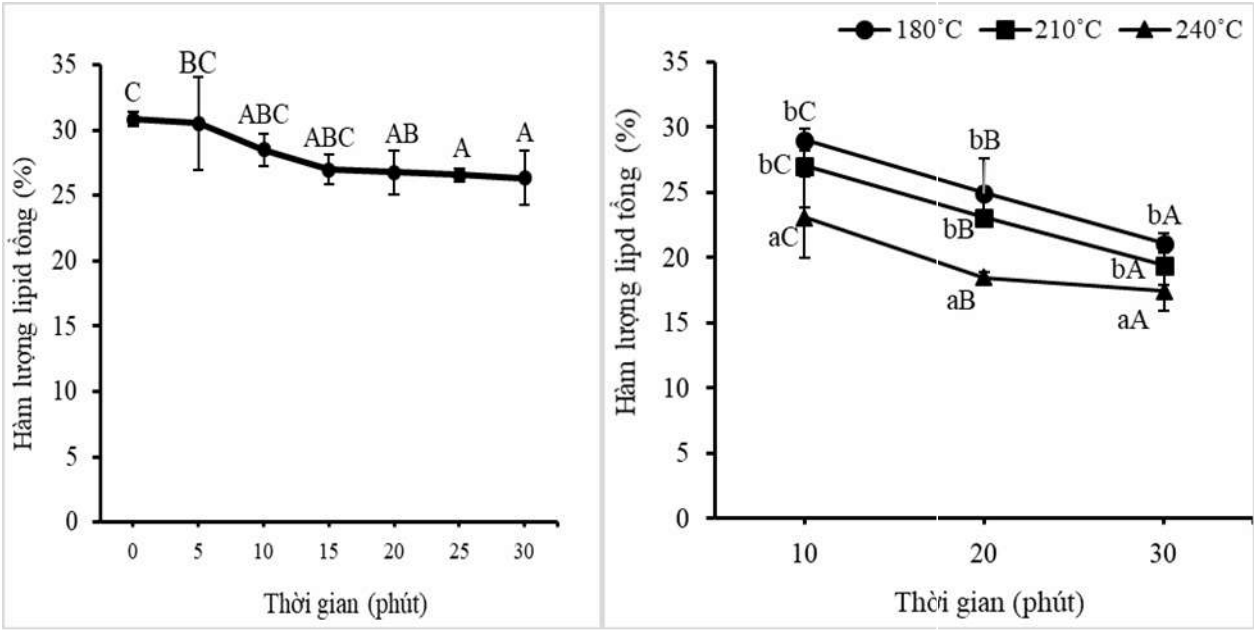
Ghi chú: A: xử lý luộc, B: xử lý rang. Các chữ cái a, b, c, d… khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05 giữa các mức nhiệt độ rang và các chữ cái A, B, C, D… khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05 giữa các mức thời gian.

Hình 1 cho thấy, hàm lượng genistein ở đậu luộc cao hơn đậu rang ở cùng nghiệm thức tốt nhất của từng phương pháp chế biến luộc và rang. Mẫu đậu luộc có hàm lượng genistein cao nhất đạt 5,51 mg/kg sau 5 phút luộc và giảm 3,57 mg/kg sau 30 phút (Hình 1A). Hàm lượng genistein cũng có xu hướng giảm theo chiều tăng của thời gian và nhiệt độ rang, đạt giá trị cao nhất 4,42 mg/kg sau 10 phút rang ở 180°C (Hình 1B). Tương tự, nghiên cứu của Chukwumah và cs (2007) cho thấy, hàm lượng biochanin A và genistein của chiết xuất đậu phộng luộc lần lượt cao hơn hai và bốn lần so với đậu phộng rang dầu và rang khô [14].

3.2. Ảnh hưởng của quá trình luộc và rang đến hàm lượng lipid tổng

Đậu phộng có nhiều chất béo. Thực tế, chúng được phân vào nhóm các hạt dầu. Một tỷ lệ lớn đậu được thu hoạch trên thế giới thường dùng để làm dầu phộng. Chất béo chiếm từ 44 – 56% và chủ yếu là chất béo không bão hòa đơn và đa, hình thành nên axit oleic và axit linoleic. Kết quả được trình bày ở hình 2A cho thấy, hàm lượng lipid của hạt luộc không vỏ xu hướng giảm nhẹ theo thời gian luộc và không khác biệt ý nghĩa giữa các nghiệm thức trong 15 phút đầu với hàm lượng dao động từ 30,81% (0 phút), 30,51% (5 phút) giảm còn 28,49% (10 phút) và 26,98% (15 phút). Hàm lượng lipid cũng giảm nhanh khi tăng thời gian và nhiệt độ rang (Hình 2B) và có khác biệt ý nghĩa ở mức p<0,05. Hàm lượng lipid cao nhất đạt 29,03% khi rang ở 180°C trong 10 phút.

Hình 2 cũng cho thấy, mẫu đậu luộc duy trì được hàm lượng lipid tốt hơn so với đậu rang. Bên cạnh mùi thơm được tạo ra nhờ các ester được tạo thành trong quá trình rang, ẩm giảm làm tăng nồng độ chất khô tăng độ giòn và cường độ vị sản phẩm, các vitamin bị phân huỷ bởi nhiệt làm giảm giá trị dinh dưỡng của sản phẩm [15]. Talcott và cs (2005) cho rằng có thể nhận thấy sự gia tăng đáng kể tốc độ phân hủy chất béo trong đậu phộng khi tiếp xúc với nhiệt độ cao [16].

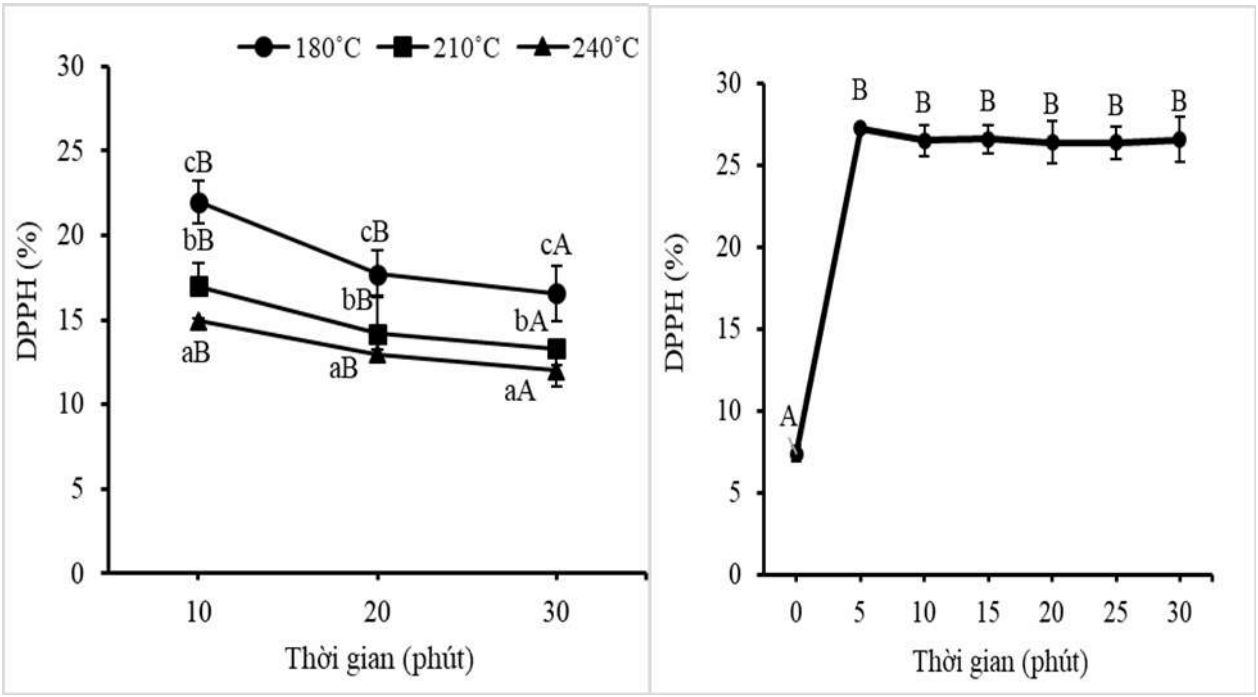


A B

Hình 2. Ảnh hưởng của quá trình luộc và rang đến hàm lượng lipid tổng

Ghi chú: A: xử lý luộc, B: xử lý rang. Các chữ cái a, b, c, d… khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05 giữa các mức nhiệt độ rang và các chữ cái A, B, C, D… khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05 giữa các mức thời gian.

3.3. Ảnh hưởng của quá trình luộc và rang đến quá trình oxy hóa chất béo



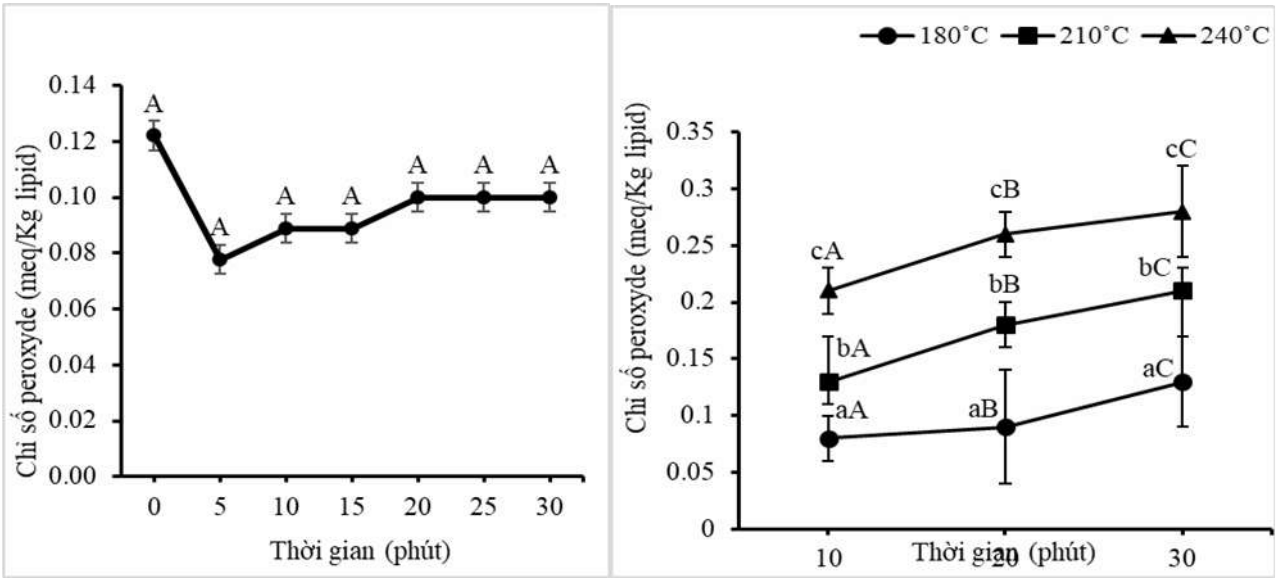
A B

Hình 3. Ảnh hưởng của quá trình luộc và rang đến khả năng bẫy gốc tự do (%DPPH)

Ghi chú: A: xử lý luộc, B: xử lý rang. Các chữ cái a, b, c, d… khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05 giữa các mức nhiệt độ rang và các chữ cái A, B, C, D… khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05 giữa các mức thời gian.

Hình 3A cho thấy, khả năng bẫy gốc tự do tăng lên đáng kể sau khi luộc, khác biệt ý nghĩa ở mức p<0,05 so với nguyên liệu và đạt cực đại khi sau thời gian luộc 5 phút (27,25%). Tuy nhiên, thời gian luộc càng dài thì % DPPH có xu hướng giảm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Jaiswal và cs (2012), khả năng bẫy gốc tự do (% DPPH) giảm 60 - 65% khi thời gian chần vượt quá 6 phút [17]. Tương tự, kết quả ở hình 3B cho thấy, % DPPH giảm theo chiều tăng của nhiệt độ và thời gian rang. Mẫu đậu rang ở 180°C trong 10 phút có khả năng bẫy gốc tự do cao nhất đạt 21,98% và khác biệt ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Khi nhiệt độ càng cao, thời gian càng dài thì khả năng bẫy gốc tự do càng giảm do sự suy giảm của các chất hóa học tự nhiên có sẵn trong nguyên liệu, sự mất mát các phân tử nước, hình thành các hợp chất mới ổn định hơn nhưng lại ít có hoạt tính sinh học hơn và do đó ảnh hưởng đến hoạt tính chống oxy hóa [18]. Kết quả thu nhận cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Ross và cs (2011), ở nhiệt độ ≥ 200°C, khả năng loại bỏ gốc tự do giảm đã được ghi nhận và thời gian gia nhiệt kéo dài cũng tác động đến khả năng này [19]. Ngược lại, Hwang và cs (2001) khi sử dụng nhiệt độ rang 180°C đã phát hiện ra sự gia tăng đáng kể các đặc tính chống oxy hóa của đậu phộng khi tăng thời gian rang [20].

Đậu phộng có hàm lượng lipid khá cao, đặt biệt là các chất béo không bão hòa. Tuy nhiên, lipid không no rất dễ bị oxy hóa dưới tác động của enzym và oxy không khí. Hàm lượng lipid bị mất đi được thể hiện qua hàm lượng peroxide sinh ra.

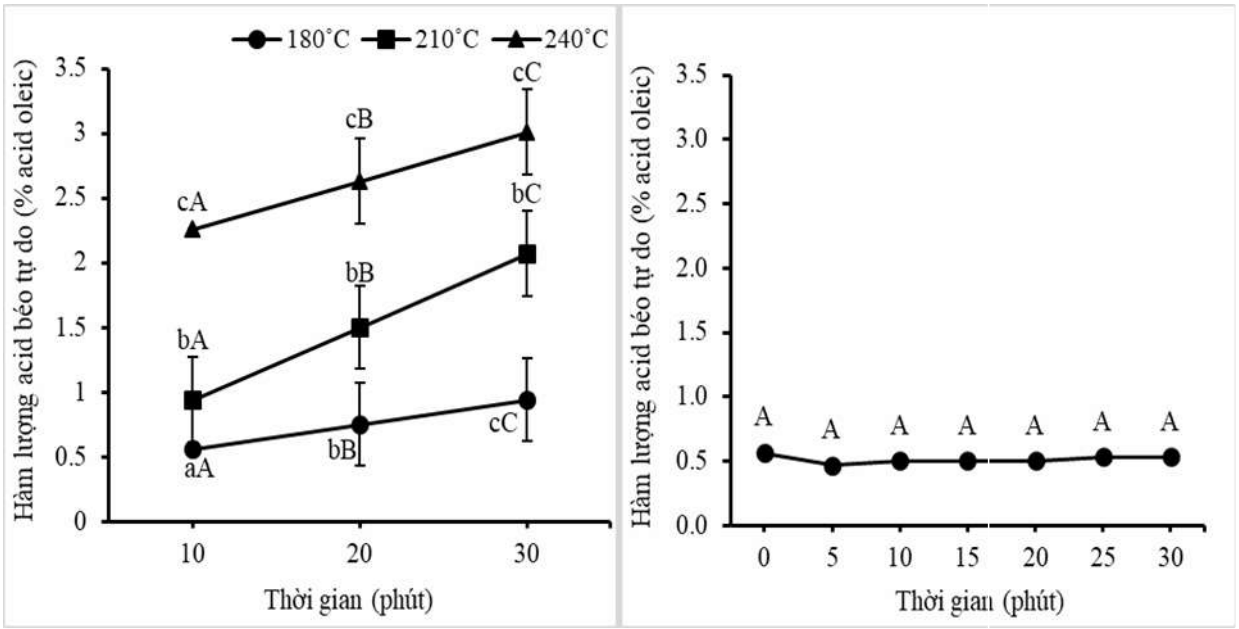


A B

Hình 4. Ảnh hưởng của quá trình luộc và rang đến chỉ số peroxide

Ghi chú: A: xử lý luộc, B: xử lý rang. Các chữ cái a, b, c, d… khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05 giữa các mức nhiệt độ rang và các chữ cái A, B, C, D… khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05 giữa các mức thời gian.

Sản phẩm của quá trình thủy phân chất béo gây ra sự giảm chất lượng là các axit béo tự do trong khi các sản phẩm của quá trình oxy hóa chất béo là các hợp chất peroxide và các sản phẩm thứ cấp



A B

Hình 5. Ảnh hưởng của quá trình luộc và rang đến chỉ số peroxyde

Ghi chú: A: xử lý luộc, B: xử lý rang. Các chữ cái a, b, c, d… khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05 giữa các mức nhiệt độ rang và các chữ cái A, B, C, D… khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p<0,05 giữa các mức thời gian.

Hình 4 cho thấy, chỉ số peroxyde ở đậu luộc (0,08 meq/kg lipid ở 5 phút, 1,00 meq/kg lipid ở 30 phút) thấp hơn so với đậu nguyên liệu (0,12 meq/kg lipid) và đậu rang (0,08 meq/kg lipid ở 180°C trong 10 phút, 0,13 meq/kg lipid ở 180°C trong 30 phút). Khi tăng nhiệt độ và thời gian rang thì chỉ số peroxyde cũng tăng lên. Nghiên cứu của Farag và cs (1992), Yoshida và cs (1990) cho thấy, sự hình thành hydroperoxide trong quá trình rang bằng cách gia nhiệt bằng lò vi sóng và lượng peroxide tăng dần theo thời gian gia nhiệt [21, 22]. Bên cạnh đó, hàm lượng axit béo tự do được thể hiện ở hình 5 cũng ghi nhận kết quả tương tự. Chukwumah và cs (2007) đã nghiên cứu những thay đổi trong thành phần hoá học của đậu phộng thô, luộc và rang, kết quả cho thấy, đun sôi có ảnh hưởng đến thành phần hoá học của đậu phộng so với đậu rang dầu hoặc rang khô [14]. Đậu phộng luộc có tổng hàm lượng flavonoid và polyphenol cao hơn trong chiết xuất dầu đậu phộng luộc so với chiết xuất đậu phộng thô và rang. Do đó, khả năng bẫy góc tự do của mẫu đậu luộc cao hơn mẫu đậu rang, đồng thời hàm lượng axit béo tự do và chỉ số peroxide cũng được ghi nhận giá trị thấp hơn.

4. KẾT LUẬN

Đậu phộng được luộc trong 5 phút giữ được thành phần dinh dưỡng, chức năng tốt nhất với hàm lượng genistein, hàm lượng lipid, khả năng bẫy gốc tự do cao nhất và ngược lại chỉ số axit béo tự do chỉ số peroxide thấp nhất; đậu rang ở 180°C trong 10 phút cũng cho kết quả tương tự.

Quá trình luộc giúp phát huy chất lượng của hạt đậu tốt hơn so với rang. Tuy nhiên, tùy vào mục đích chế biến thành phẩm sau cùng mà sơ chế luộc hay rang sẽ được lựa chọn.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài "Nghiên cứu chế biến, bảo quản một số sản phẩm đóng hộp và sữa từ hạt đậu phộng tỉnh Trà Vinh" bằng nguồn kinh phí khoa học công nghệ từ ngân sách nhà nước của tỉnh Trà Vinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gokidi, Y., Bhanu, A. N., Chandra, K., Singh, M. N., & Hemantaranjan, A. (2017). Allele mining–an approach to discover allelic variation in crops. *The Journal of Plant Science Research*, 33(*2*), 167-180.

2. ICRISAT, (2005). Crops Gallery: Groundnut. http://www.icrisat.org/text/coolstuff/crops/gcrops4.html.

3. Tom Oder (2015). How peanuts have changed the world. Atlanta Magazine.

4. Higgs, J. (2003). The beneficial role of peanuts in the diet–Part 2. *Nutrition & Food Science*, 23, 56–64. https://doi.org/10.1108/00346650310466637.

5. Messina, M., & Barnes, S. (1991). The role of soy products in reducing risk of cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 83(*8*), 541-546. https://doi.org/10.1093/jnci/83.8.541.

6. Hu, F. B., & Stampfer, M. J. (1999). Nut consumption and risk of coronary heart disease: a review of epidemiologic evidence. *Current atherosclerosis reports*, 1(*3*), 204-209. https://doi.org/10.1007/s11883-999-0033-7.

7. Wang, Q., & Wang, Q. (2018). Quality characteristics and determination methods of peanut raw materials. *Peanut processing characteristics and quality evaluation*, 69-125. DOI: 10.1007/978-981-10-6175-2_2.

8. Pattee H. E., Young C. T., & Oupadissakoon C. (1985) Peanut Quality: Effects of Cultivar, Growth, Environment, and Storage. In: Pattee H. E. (eds) *Evaluation of Quality of Fruits and Vegetables*. Springer, Dordrecht., 277-313. DOI: 10.1007/978-94-009-4217-2_10.

9. César, I. D. C., Braga, F. C., Vianna-Soares, C. D., Nunan, E. D. A., Pianetti, G. A., & Moreira-Campos, L. M. (2008). Quantitation of genistein and genistin in soy dry extracts by UV-Visible spectrophotometric method. *Química Nova*, 31(*8*), 1933-1936.

10. Fu, H. Y., Shieh, D. E. and Ho, C. T. (2002). Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *Journal of Food Lipids* 9(1):35–46. https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2002.tb00206.x

11. AOAC 945.16, 2005. AOAC (2005). Oil in Cereal Adjuncts (Petroleum Ether), Method AOAC 945.16. In: Official Methods of Analysis, 18th Edition, AOAC International Publisher Inc.. Gaithersburg

12. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 6127: 2010 (ISO 660: 2009) về Dầu mỡ động vật và thực vật - Xác định trị số axit và độ axit.

13. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 6121: 2010 (ISO 3690: 2007) Dầu mỡ động vật và thực vật - Xác định chỉ số peroxit - Phương pháp xác định điểm kết thúc chuẩn độ Iôt (quan sát bằng mắt thường).

14. Chukwumah, Y., Walker, L., Vogler, B., & Verghese, M. (2007). Changes in the phytochemical composition and profile of raw, boiled, and roasted peanuts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55 (22), 9266 - 9273. https://doi.org/10.1021/jf071877l,

15. Shi, X., Davis, J. P., Xia, Z., Sandeep, K. P., Sanders, T. H., & Dean, L. O. (2017). Characterization of peanuts after dry roasting, oil roasting, and blister frying. *LWT*, 75, 520-528. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.030.

16. Talcott, S. T., Duncan, C. E., Del Pozo-Insfran, D., & Gorbet, D. W. (2005). Polyphenolic and antioxidant changes during storage of normal, mid, and high oleic acid peanuts. *Food Chemistry*, 89 (1), 77 - 84. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.020.

17. Jaiswal, A. K., Gupta, S., & Abu-Ghannam, N. (2012). Kinetic evaluation of colour, texture, polyphenols and antioxidant capacity of Irish York cabbage after blanching treatment. *Food Chemistry*, 131(1), 63-72. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.032.

18. Rawson, A., Hossain, M. B., Patras, A., Tuohy, M., & Brunton, N. (2013). Effect of boiling and roasting on the polyacetylene and polyphenol content of fennel (*Foeniculum vulgare*) bulb. *Food Research International*, 50 (2), 513 - 518. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.009.

19. Ross, A., Bruce, S., Blondel-Lubrano, A., Oguey-Araymon, S., Beaumont, M., Bourgeois, A., Rezzi, S. (2011). A whole-grain cereal-rich diet increases plasma betaine, and tends to decrease total and LDL-cholesterol compared with a refined-grain diet in healthy subjects. *British Journal of Nutrition*, 105(10), 1492-1502. doi:10.1017/S0007114510005209.

20. Hwang, J. Y., Shue, Y. S., & Chang, H. M. (2001). Antioxidative activity of roasted and defatted peanut kernels. *Food Research International*, 34(*7*), 639-647. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00083-7.

21. Farag, R. S., Hewedi, F. M., Abu-Raiia, S. H., & El-Baroty, G. S. (1992). Comparative study on the deterioration of oils by microwave and conventional heating. *Journal of Food Protection*, 55(*9*), 722-727.

22. Yoshida, H., Hirooka, N., & Kajimoto, G. (1990). Microwave energy effects on quality of some seed oils. *Journal of food science*, 55(*5*), 1412-1416. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb03947.x

THE STUDY ON EFFECT OF ROASTING AND BOILING PROCESS ON QUALITY OF PEANUT (*Arachis hypogaea* L.) SEPARATED PEANUT SEEDS

Nguyen Cong Ha, Nguyen Thi Le Ngoc, Chau My Phuong

Summary

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) contains many nutritional and biologically active compounds beneficial to healthy. It is also an oily seed with lipids accounting for 44 - 56% of the nutritional composition of the seeds, so post-harvest processing is essential. In this study, peanuts were prepared in two ways that is boiled without shell at boiling temperature of water for 5-30 minutes or roasted with shell at 180^0C, 210^0C and 240^0C for a period of 10, 20 and 30 minutes to assess the impact on quality variation. The results of study showed that peanuts was boiled for 5 minutes kept the best nutritional and functional composition with genistein content (5.51 mg/kg), lipid content (30.51%), free radicals scavening ability (27.25%) was the highest and conversely, the free fatty acid index (2.82%) and the peroxide values (0.08 mEq/kg) had the lowest. The study also showed that genistein (4.42 mg/kg), lipid (29.03%), free radicals scavenging ability (17.11%) recorded the highest value with samples of peanuts was roasted at 180^0C in 10 minutes, at the same time, the free fatty acid index (0.56%) and the peroxide values (0.08 mEq/kg lipid) were also the lowest. The results have shown that boiled beans without skin enhance better quality than roasted beans without skin. However, in some cases, depending on the purpose of processing the final product, boiling or roasting is selected.

Keywords: *Peanut, boiled peanuts, roasted peanuts, preprocessed peanuts.*

Người phản biện: TS. Đặng Thị Thanh Quyên

Ngày nhận bài: 01/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 30/3/2023

Ngày duyệt đăng: 6/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ CAO CHIẾT LÁ TRẦU KHÔNG ĐẾN CHẤT LƯỢNG BƯỞI NĂM ROI TRONG QUÁ TRÌNH BẢO QUẢN

Nguyễn Văn Mười[1], Trần Thanh Trúc[1, 2], Trần Bạch Long[1, *]

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu đánh giá sự thay đổi chất lượng của bưởi Năm Roi sau thu hoạch khi có bổ sung cao chiết từ lá trầu không (*Piper betle*) trong chế phẩm màng. Năm nồng độ cao chiết được bổ sung bào chế phẩm, lần lượt ở mức độ 50, 200, 250, 300 và 400 µg/ml chế phẩm, sau đó bưởi Năm Roi được bao màng và đánh giá sự thay đổi chất lượng quả theo thời gian bảo quản. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ cao chiết thích hợp bổ sung vào chế phẩm tạo màng trong bảo quản bưởi Năm Roi là 400 µg GAE/ml chế phẩm, cho bưởi sau bảo quản 15 ngày ở điều kiện phòng có độ lệch màu ΔE ở mức 0,58, tỷ lệ hao hụt khối lượng là 3,02%, mật số nấm men, nấm mốc ở mức $6,4.10^1$ CFU/cm^2 bề mặt vỏ quả. Theo dõi sự thay đổi chất lượng mẫu ở thời gian dài hơn cũng cho thấy mẫu bao màng có bổ sung cao chiết cho chất lượng bưởi ổn định sau 30 ngày bảo quản.

Từ khóa: *Bưởi Năm Roi, bảo quản, cao chiết, chất lượng quả, lá trầu không.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) hiện có khoảng 307.000 ha trồng cây ăn quả, chiếm gần 40% diện tích trồng của cả nước, hàng năm cung cấp cho thị trường khoảng 4 triệu tấn quả. Bưởi là một trong 12 chủng loại cây ăn quả đã được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn quy hoạch thành vùng cây ăn quả chủ lực trồng tập trung tại ĐBSCL và Đông Nam bộ đến năm 2020 với tổng diện tích 27.900 ha [1]. Chỉ tính riêng tỉnh Vĩnh Long, theo thống kê năm 2016, toàn tỉnh hiện có 42.495,3 ha diện tích trồng cây ăn trái, trong đó diện tích trồng bưởi là 8.544 ha. Diện tích này ngày càng gia tăng do chuyển đổi cơ cấu cây trồng, xây dựng vùng nguyên liệu chuyên canh cây ăn trái đặc sản theo hướng an toàn, chất lượng gắn với liên kết tiêu thụ [2].

Sản lượng bưởi hiện nay nhìn chung rất lớn, tuy nhiên chất lượng bưởi sau thu hoạch không đồng đều do quy trình trồng, phân bón cũng nhưng hình thức vận chuyển, bảo quản. Nguyên nhân chính là do sự nhiễm nấm, rối loạn sinh lý sau thu hoạch và các điều kiện tiền xử lý trước khi bảo quản không phù hợp. Chính vì những lý do đó, việc nghiên cứu biện pháp tiền xử lý đáp ứng an toàn thực phẩm để giảm thiểu sự phát triển của vi sinh vật và ổn định chất lượng bưởi trong quá trình bảo quản rất đáng được quan tâm. Bên cạnh đó, dịch trích từ lá trầu không có thể sử dụng làm nguyên liệu công nghiệp để sản xuất thuốc, nước hoa, chất làm thơm miệng, thuốc bổ, phụ gia thực phẩm. Lá trầu không cũng đã được sử dụng trong y học cổ truyền như chất kích thích, chất khử trùng, kháng nấm và kháng khuẩn [3]. Nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy, sự có mặt của các hợp chất phenolic, flavonoid, tannin, saponin, alkaloid, steroid, terpenoid, carbohydrate, protein trong lá trầu không [4]. Nhiều nghiên cứu cũng đã cho thấy flavonoid trong lá trầu không có tác dụng chống oxy hóa và có khả năng hoạt động như chất ức chế hoạt động của xanthine oxidase [5]. Việc bổ sung cao chiết lá trầu không trong chế phẩm tạo màng giúp kéo dài thời gian bảo quản bưởi Năm Roi là hướng tiếp cận được nghiên cứu thực hiện nhằm kéo dài thời gian bảo quản bưởi tươi nguyên quả, song song đó góp phần ổn định

[1] Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
* Email: tblong@ctu.edu.vn.
[2] Khoa Sau đại học, Trường Đại học Cần Thơ

về chất lượng cũng như đảm bảo vấn đề về vệ sinh an toàn thực phẩm.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu bưởi Năm Roi được thu hái trực tiếp tại vườn theo vùng trồng phổ biến, ưu tiên chọn các vùng bưởi đã có chỉ dẫn địa lý hoặc canh tác theo VietGAP (hoặc Global GAP) tại xã Mỹ Hòa, thị xã Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long. Thời điểm thu hái vào tháng 4 đến tháng 7. Chọn bưởi ở độ chín kỹ thuật (độ chín thu hoạch) phục vụ cho ăn tươi và xuất khẩu, đáp ứng TCVN 10746: 2015 về bưởi quả tươi, bưởi loại hai có khối lượng từ 800 – 1.000 g/quả. Bưởi được chọn để nghiên cứu chỉ được thu hoạch vào buổi sáng, bưởi để nguyên cuống, bao gói trái bằng giấy và vận chuyển về phòng thí nghiệm bằng thùng giấy carton, luôn đảm bảo trong quá trình vận chuyển các dụng cụ chứa đựng luôn mới, không sử dụng các bao bì cũ…và đảm bảo quá trình thu hái và vận chuyển kết thúc trước 10 giờ sáng. Ở phòng thí nghiệm, quả bưởi được rửa 2 lần, rửa sơ bộ bằng dung dịch $NaHCO_3$ 3% và ngâm trong dung dịch chlorine 200 ppm, trong 15 phút sau đó xả lại bằng nước sạch.

Lá trầu không cũng được thu mua tại vườn tại xã Mỹ Hòa, thị xã Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long, chọn những lá già, không sâu, bệnh. Vận chuyển về phòng thí nghiệm tránh không bị dập nát.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị cao chiết lá trầu không

Cao chiết lá trầu không được chuẩn bị dựa trên phương pháp thu nhận cao của Đái Thị Xuân Trang và cs (2018) có điều chỉnh [6]. Lá trầu sau khi vận chuyển về phòng thí nghiệm được rửa sạch và đem sấy ở tủ đối lưu, nhiệt độ trung bình 50°C đến khi độ ẩm của mẫu giảm dưới 10% (mẫu có thể xay mịn). Xay mẫu bằng thiết bị phù hợp đến dạng bột (kích thước d<0,5 mm). Mẫu sau khi xay nghiền (100 g/mẫu) được tiến hành trích ly có hỗ trợ vi sóng theo tỉ lệ mẫu: cồn tuyệt đối (99,5%) là 1: 10 (w/v) ở điều kiện công suất 480 W trong 6 phút. Dịch chiết được lọc bằng giấy lọc Whatman No.1 để tách cặn. Dịch lọc (350 ml/lần) được cô quay chân không ở 60°C trong 45 - 60 phút để thu cao chiết dạng lỏng có độ ẩm xấp xỉ 25% và thu hồi ethanol.

2.2.2. Chuẩn bị chế phẩm tạo màng

Chế phẩm tạo màng được điều chế dựa trên nghiên cứu của Nguyễn Duy Lâm (2011) [7]. Lần lượt chuẩn bị nhũ tương sáp carnuaba (65 - 85 g; SMM Group & Co., Brazil) và nhũ tương sáp polyethylene (65 - 85 g; Westlake, USA) bằng cách đun chảy sáp trong axit oleic (10 -14 g) tại 105°C. Nhỏ từ từ trong dung dịch amoniac 8% (40 - 60 g) và khuấy trộn cho đến khi phân tán hoàn toàn. Tiếp tục bổ sung nước cất (300 - 360 g) có phối trộn sẵn chất chống bọt (0,04 g) vào hỗn hợp và khuấy trộn cho đến khi đạt được hệ keo đồng thể, để ổn định về nhiệt độ phòng. Đối với nhũ tương sáp polyethylene, cần lọc lại dung dịch qua vải lọc PE 1 micron.

Thực hiện phối trộn 2 loại bán thành phẩm, sáp carnauba và sáp polyethylene ở tỷ lệ 3: 5 với cao chiết lá trầu không. Sử dụng máy trộn đồng thể tại tốc độ khuấy đồng thể 2.000 - 2.500 vòng/phút trong thời gian 15 - 20 phút để giúp nhũ tương của 3 thành phần phân tán đều vào nhau tạo thành một thể thống nhất. Chế phẩm tạo thành thuộc loại vi nhũ tương (kích thước hạt từ 100 - 200 nm), có màu xanh nhạt của cao chiết, nồng độ chất khô vào khoảng 20%.

2.2.3. Phương pháp phân tích

Hao hụt khối lượng: dựa trên chênh lệch % giữa khối lượng quả, xác định bằng cân điện tử (Ohaus, model AR - 240, độ chính xác 0,01 g, Nhật).

Màu sắc: xác định theo thang đo CIE. Giá trị độ lệch màu được tính theo công thức $\Delta E=\sqrt{((L^* - L^*_0)^2 + (a^* - a^*_0)^2 + (b^* - b^*_0)^2)}$; với L^*, a^*, b^* là giá trị màu của mẫu cần so sánh và L^*_0, a^*_0, b^*_0 là giá trị màu của mẫu được so sánh (đối chứng).

Chất khô hoà tan (TSS, đơn vị °brix): sử dụng khúc xạ kế.

Axit tổng số (TA, %): Dùng dung dịch kiềm chuẩn NaOH 0,1 N để trung hòa hết axit trong thực phẩm với phenoltalein làm chỉ thị màu (AOAC Official Method 942.15.).

Hàm lượng vitamin C (mg%): chuẩn độ bằng dung dịch 2,6 - dichlorophenol indophenol (AOAC Official Method 985.33).

Tổng số bào tử nấm men, nấm mốc (CFU/g): theo TCVN 8275: 2010.

2.2.4. Thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

- Cân điện tử Vibra (model DJ-1000TW, độ chính xác 0,01 g, Nhật);

- Cân điện tử Ohaus (model AR-240, độ chính xác 0,0001 g, Nhật);

- Tủ sấy đối lưu không khí (model JB 101-1, Trung Quốc);

- Máy đo màu Colorimeter 2nh (model NH300, nguồn sang D65, Trung Quốc);

- Khúc xạ kế (Atago, 0 - 32˚brix, Nhật).

- Máy đo quang phổ đo màu (722 visible Spectrophotomete, Trung Quốc);

- Tủ đông Sanaky (model VH-5699HY, Nhật);

- Máy khuấy từ (Toshiba, Magnestir MG-10, Nhật);

- Bộ cất quay chân không (IKA RV-3V, Đức);

- Máy nghiền mẫu phân tích (IKA A11 Basic, Đức);

- Các dụng cụ thủy tinh thông thường: bình thủy tinh, phễu thủy tinh, pipet 20 ml, erlen 250, bình định mức (100 ml, 500 ml), micropipet (Isolab, 1.000 µl, 5.000 µl) của Đức.

Một số dụng cụ khác có liên quan.

2.2.5. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Thiết lập công thức phối chế dung dịch tạo màng có bổ sung cao chiết lá trầu không trong bảo quản bưởi Năm Roi. Thực hiện bảo quản bưởi Năm Roi đã bao màng bằng chế phẩm có bổ sung cao chiết lá trầu không ở nồng độ 0, 150, 200, 250, 300 và 400 µg/ml. Cố định lượng chế phẩm tạo màng ở mức 1,35 ml/quả, sử dụng bao tay để thoa đều lên bền mặt quả bưởi. Thực hiện bảo quản ở điều kiện phòng và đánh giá sự thay đổi chất lượng quả (hao hụt khối lượng, độ lệch màu, mật số nấm men, nấm mốc) trong 15 ngày để chọn được nồng độ cao chiết thích hợp cho bảo quản bưởi Năm Roi. Bưởi được bảo quản trong điều kiện phòng thí nghiệm tại nơi khô thoáng, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Thí nghiệm 2: Thực nghiệm bảo quản bưởi Năm Roi. Thực hiện trên 2 mẫu đối chứng (không bao màng) và mẫu có bao màng (ở nồng độ cao chiết được chọn lựa từ thí nghiệm 1), theo dõi sự thay đổi chất lượng (hao hụt khối lượng, độ lệch màu, sự thay đổi hàm lượng chất khô hoà tan, axit tổng và vitamin C) trong tối đa 30 ngày bảo quản. Đưa ra kết luận về khả năng bảo quản của quả bưởi Năm Roi có bao màng. Bưởi được bảo quản trong điều kiện cơ sở tại nơi khô thoáng, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời. Thí nghiệm được lặp lại 11 lần.

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion 16.2, Copyright (C) PP, USA và phần mềm Excel. Phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định LSD để kết luận về sự sai khác giữa trung bình các nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích thành phần nguyên liệu ban đầu

Bảng 1 cho thấy, phân hạng bưởi loại hai cho khối lượng trung bình 923,82 g/quả nằm trong khoảng 800 - 1.000 g/quả, tương ứng mức đường kính khoảng 13,29 ± 0,56 cm. Bưởi Năm Roi có màu xanh vàng, đặc trưng bởi độ màu a* ở mức âm -11,75 và độ màu b* dương ở mức dương 29,74.

Kết quả này phù hợp với kết quả nghgiên cứu của Trần Tuyết Mai và cs (2020) [8].

Bảng 1. Phân tích chất lượng ban đầu của quả bưởi Năm Roi

Chỉ tiêu	Giá trị (**)
Khối lượng trung bình (g)	923,82±48,79
Đường kính (cm)	13,29±0,56
Màu sắc*	
L*	53,48±1,19
a*	-11,75±0,70
b*	29,74±1,16
Hàm lượng chất khô hoà tan (°brix)	9,33±0,58
Hàm lượng axit (%)	0,48±0,01
Hàm lượng vitamin C (mg%)	8,48±0,37
Mật độ nấm men, nấm mốc (CFU/cm^2)	<10

*Ghi chú: * Số liệu đo sau khi đã phủ chế phẩm bao màng CP-01NR; ** Giá trị được biểu thị bằng trung bình ± độ lệch chuẩn của phép đo lập lại ít nhất 3 lần.*

Theo chỉ dẫn địa lý bưởi Năm Roi ở Bình Minh, Vĩnh Long, hàm lượng vitamin C trung bình 55,54 mg/100 g. Kết quả nghiên cứu thấy, hàm lượng vitamin C của bưởi Năm Roi chỉ đạt 8,48 mg%, thấp hơn so với chỉ dẫn địa lý. Hàm lượng chất khô hoà tan cũng thấp hơn so với chỉ dẫn địa lý, ở mức 9,33°brix. Sự khác biệt về vitamin C và hàm lượng chất khô hoà tan có thể do ảnh hưởng lớn bởi yếu tố môi trường, kỹ thuật canh tác của người nông dân hay thời điểm thu hoạch bưởi [9]; hoặc do nghiên cứu chọn nguồn nguyên liệu là bưởi loại hai, có khối lượng nhỏ hơn mức khuyến cáo (từ 1 - 1,4 kg). Riêng hàm lượng axit tổng 0,48% phù hợp với chỉ dẫn địa lý. Mật số nấm men, nấm mốc trên quả bưởi rất thấp, dưới 10 CFU/cm^2, điều này cho thấy, tác động tích cực của quá trình rửa 2 công đoạn bằng $NaHCO_3$ và chlorine.

3.2. Nồng độ cao chiết lá trầu không thích hợp để bổ sung vào chế phẩm tạo màng

Giá trị độ lệch màu (ΔE) nói lên sự khác biệt về màu sắc vỏ quả trong suốt quá trình bảo quản so với mẫu ban đầu. Nếu độ lệch màu càng lớn sự khác biệt về màu sắc so với ban đầu càng nhiều. Bảng 2 cho thấy, các mẫu bưởi Năm Roi có độ lệch màu tăng theo thời gian bảo quản. Khi so sánh các mẫu trong cùng một thời gian bảo quản cho thấy ở nồng độ 300 µg/ml có hiệu quả xử lý tối ưu hơn so với các nghiệm thức còn lại và không có sự khác biệt thống kê với mẫu được xử lý ở nồng độ 250 µg/ml. Cụ thể, ở nồng độ 300 µg/ml có độ lệch màu là 0,58 thấp hơn khi xử lý ở nồng độ 400 µg/ml có độ lệch màu là 0,66 và cao hơn so với mẫu đối chứng có độ lệch màu là 1,28.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ cao chiết trong nước rửa đến sự thay đổi màu sắc (độ lệch màu ΔE) của bưởi trong thời gian bảo quản

Thời gian (Ngày)	Nồng độ cao chiết (µg/ml)					
	0	150	200	250	300	400
0	0^{aA}	0^{aA}	0^{aA}	0^{aA}	0^{aA}	0^{aA}
3	$0,26±0,04^{bB}$	$0,21±0,02^{bA}$	$0,2±0,01^{bA}$	$0,18±0,02^{bA}$	$0,18±0,01^{bA}$	$0,18±0,03^{bA}$
6	$0,42±0,04^{cC}$	$0,34±0,03^{cB}$	$0,29±0,02^{cA}$	$0,25±0,04^{cA}$	$0,25±0,02^{cA}$	$0,27±0,03^{cA}$
9	$0,64±0,04^{dD}$	$0,44±0,02^{dC}$	$0,36±0,01^{dB}$	$0,32±0,02^{dAB}$	$0,31±0,02^{dA}$	$0,35±0,01^{dAB}$
12	$0,9±0,03^{eE}$	$0,53±0,01^{eD}$	$0,48±0,01^{eC}$	$0,41±0,03^{eAB}$	$0,37±0,02^{eA}$	$0,43±0,03^{eB}$
15	$1,28±0,05^{fE}$	$0,77±0,01^{fD}$	$0,72±0,01^{fC}$	$0,61±0,03^{fA}$	$0,58±0,02^{fA}$	$0,66±0,02^{fB}$

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột (chữ in thường) hoặc hàng (chữ tin hoa) biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát ở độ tin cậy 95%.

Màu sắc vỏ bưởi thay đổi là do sự mất màu xanh ở vỏ quả, là kết quả chung của quá trình thoái hóa của sắc tố chlorophyll. Trong điều kiện sau thu hoạch, chlorophyll dễ bị oxy hóa do tiếp xúc với ánh sáng và các phân tử O_2, gây phá hủy vòng pyrole trong cấu trúc phân tử chlorophyll, dẫn đến sự phá vỡ vòng porphyrin gây mất màu xanh [10]. Sự mất đi của nhóm chất màu xanh cho phép thể hiện rõ ràng hơn của các nhóm sắc tố khác, mà trong trường hợp của nhóm quả citrus là nhóm sắc tố carotenoid, thể hiện qua sắc màu vàng [11]. Do cao chiết lá trầu không có màu xanh thẫm, do đó việc phun cao chiết lên bề mặt vỏ quả sẽ làm cho vỏ xanh đậm. Mẫu phủ cao chiết sẽ làm giảm độ truyền quang, giúp hạn chế các tác nhân ánh sáng làm giảm màu sắc của mẫu, sau 15 ngày bảo quản.

Hao hụt khối lượng là điều tất yếu xảy ra trong quá trình bảo quản rau quả nói chung và bưởi nói riêng. Suy giảm khối lượng là kết quả từ 2 quá trình sinh học tự nhiên của quả, gồm quá trình tự bốc hơi nước [7] và quá trình hô hấp tự nhiên của quả, chuyển đổi chất khô thành CO_2 và H_2O [9]. Kết quả theo dõi cũng sự hao hụt khối lượng luôn tăng trong quá trình bảo quản (Bảng 3). Nồng độ cao chiết không ảnh hưởng nhiều đến tỷ lệ hao hụt khối lượng sau 9 ngày đầu bảo quản, tuy nhiên ở ngày 15 nồng độ cao chiết có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ hao hụt khối lượng. Tỷ lệ hao hụt khối lượng ở các mẫu xử lý ở ngưỡng nồng độ 300 µg/ml là thấp nhất so với các mẫu khác trong cùng một thời gian bảo quản (tỷ lệ hao hụt khoảng 3,02%), trong khi đó mẫu đối chứng có tỷ lệ hao hụt khối lượng tới 4,57% và khi tăng nồng độ lên 400 µg/ml thì tỷ lệ hao hụt khối lượng tăng lên 3,52%. Có thể giải thích là giữa các nồng độ cao chiết bổ sung khác nhau thì sẽ có độ hoàn tan khác nhau trong dung dịch, ở một nồng độ hòa tan thích hợp cao chiết lá trầu không sẽ hòa tan và tạo cho lớp màng có mức độ cản thấm khí vừa phải mà từ đó giúp hạn chế sự thay đổi khối lượng do quá trình hô hấp của quả.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ cao chiết trong nước rửa đến tỷ lệ hao hụt khối lượng (%) của bưởi trong thời gian bảo quản

Thời gian (Ngày)	Nồng độ cao chiết (µg/ml)					
	0	150	200	250	300	400
0	0^{aA}	0^{aA}	0^{aA}	0^{aA}	0^{aA}	0^{aA}
3	$1,02\pm0,31^{bA}$	$0,90\pm0,21^{bA}$	$0,94\pm0,21^{bA}$	$1,04\pm0,21^{bA}$	$0,90\pm0,14^{bA}$	$1,01\pm0,21^{bA}$
6	$1,92\pm0,44^{cB}$	$1,69\pm0,21^{cAB}$	$1,61\pm0,41^{cAB}$	$1,46\pm0,24^{cAB}$	$1,27\pm0,13^{cA}$	$1,44\pm0,21^{cA}$
9	$2,88\pm0,12^{dC}$	$2,41\pm0,22^{dB}$	$2,47\pm0,22^{dB}$	$2,38\pm0,22^{dB}$	$2,04\pm0,14^{dA}$	$2,31\pm0,22^{dAB}$
12	$3,57\pm0,21^{eC}$	$3,24\pm0,24^{eB}$	$3,10\pm0,34^{eB}$	$3,14\pm0,21^{eB}$	$2,61\pm0,22^{eA}$	$2,81\pm0,13^{eAB}$
15	$4,58\pm0,38^{fD}$	$4,12\pm0,13^{fC}$	$4,01\pm0,12^{fBC}$	$3,71\pm0,41^{fBC}$	$3,02\pm0,18^{fA}$	$3,53\pm0,21^{fB}$

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột (chữ in thường) hoặc hàng (chữ tin hoa) biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát ở độ tin cậy 95%.

Kết quả phân tích thành phần nguyên liệu ban đầu cho thấy, trên bề mặt vỏ bưởi vẫn còn tồn tại vết dư lượng của bào tử nấm men nấm mốc (vẫn phát hiện nhưng không đếm được, dưới mức 10 CFU/cm^2). Bảng 4 cho thấy, mẫu được xử lý với cao chiết ở ngày 0 thì không phát hiện nấm men, nấm mốc trên bề mặt vỏ quả. Nguyên nhân là do ngày 0 khi vừa phun cao chiết lên bề mặt vỏ quả, cao chiết có khả năng đã ức chế sự phát triển của nấm men, nấm mốc. Nghiên cứu của Arambewela và cs (2005) cho thấy, tinh dầu từ lá trầu có hoạt tính chống lại *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* và *Streptococcus pyrogens* [13]. Hoque và cs (2011) cho thấy, dịch chiết lá trầu thu được bằng cách chiết xuất bằng ethanol

có khả năng ức chế sự phát triển của mầm bệnh qua thực phẩm [14]. Theo thời gian bảo quản, mật độ nấm nem, nấm mốc tăng đều ở các mẫu kể cả mẫu xử lý với nồng độ khá cao 400 µg/ml. Sau 15 ngày bảo quản, ở mẫu đối chứng mật độ nấm men, nấm mốc lên đến $8,52x10^1$ CFU/cm^2, trong khi các mẫu xử lý với cao chiết thì mật độ nấm men, nấm mốc giảm dần khi tăng nồng độ, cụ thể là 150, 200, 250, 300 và 400 µg/ml tương ứng với mật độ nấm men, nấm mốc lần lượt là 9,12 x 10^1, 8,24 x 10^1, 7,24 x 10^1, 6,4 x 10^1 và 5,33 x 10^1 CFU/cm^2.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ cao chiết trong nước rửa đến mật độ nấm men, nấm mốc (CFU/cm^2) trên bề mặt vỏ bưởi trong thời gian bảo quản

Thời gian (Ngày)	Nồng độ cao chiết (µg/ml)					
	0	150	200	250	300	400
0	<10	KPH*	KPH	KPH	KPH	KPH
6	<10	<10	<10	<10	<10	<10
12	$8,52x10^1$	$2,24x10^1$	$1,88x10^1$	$1,64x10^1$	$1,42x10^1$	$1,09x10^1$
15	$1,98x10^2$	$9,12x10^1$	$8,24x10^1$	$7,24x10^1$	$6,4x10^1$	$5,33x10^1$

*Ghi chú: * KPH là không phát hiện.*

Nhìn chung, dựa vào sự duy trì màu sắc, tỷ lệ hao hụt khối lượng cũng như mật độ nấm men, nấm mốc cho thấy nồng độ cao chiết lá trầu không thích hợp là 300 µg/ml cho quá trình bảo quản bưởi Năm Roi.

3.3. Khả năng bảo quản của bưởi Năm Roi có bao màng bổ sung cao chiết lá trầu không

Theo dõi ở thời gian bảo quản dài hơn cho thấy sự thay đổi chất lượng của bưởi Năm Roi vẫn tiếp tục diễn ra và kéo dài đến ngày thứ 30 trong quá trình bảo quản (Bảng 5, hình 1 và 2). Tác dụng đáng chú ý nhất của việc bao màng có cao chiết thể hiện ở việc mức độ hao hụt khối lượng của quả. Số liệu thu nhận cho thấy mẫu đối chứng có hao hụt khối lượng ở ngày 30 lên đến 21,50% nhưng ở mẫu bao màng có cao chiết giảm chỉ còn 7,15%. Điều này một lần nữa khẳng định hiệu quả của chế phẩm màng có bổ sung cao chiết lá trầu không trong hạn chế sự mất nước của quả. Tương ứng với sự mất khối lượng, hàm lượng chất khô hoà tan trong quả gia tăng biểu kiến. Đến ngày thứ 30, bưởi Năm Roi có hàm lượng chất khô về mức trên 9,59%, đáp ứng theo chỉ dẫn địa lý cho quả bưởi Năm Roi tại Bình Minh, Vĩnh Long [15].

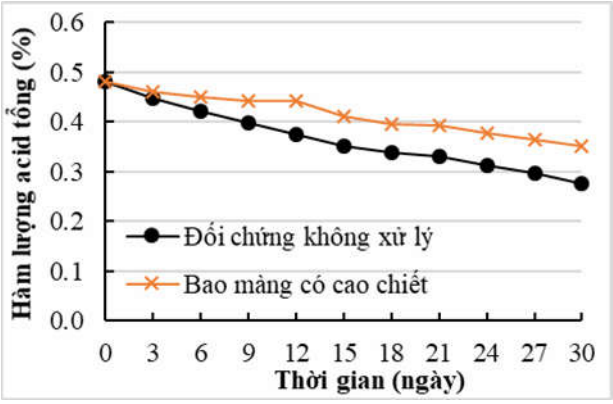
Sự suy giảm màu sắc theo giảm màu xanh làm tăng độ chênh lệch màu ΔE tiếp tục được nhận thấy theo quá trình bảo quản. Tương tự, mẫu bao màng cho độ chênh lệch màu thấp, ΔE ở mức 1,27 so với mẫu đối chứng không bao màu với ΔE ở mức 2,88.

Kết quả ở hình 1 và 2 cho thấy, hàm lượng axit tổng và vitamin C lại có xu hướng giảm trong quá trình bảo quản. Sự phân hủy các axit hữu cơ đặc trưng của quá trình chín của quả, có liên quan đến sự gia tăng hoạt tính của các enzyme như succinate dehydrogenase, citrate dehydrogenase và sự giảm hoạt tính của enzyme citrate synthase khi quả chín [16]. Trong khi đó, hàm lượng vitamin C trong quả lại có xu hướng giảm do tác động quá trình oxy hóa và quá trình hô hấp tự nhiên [12]. Mẫu có bao màng ghi nhận sự suy giảm chậm hơn của hàm lượng axit tổng (còn 0,35% sau 30 ngày bảo quản so với mẫu đối chứng còn 0,28%) cũng như của hàm lượng vitamin C trong quả (còn 5,41 mg% sau 30 ngày bảo quản so với mẫu đối chứng 3,11 mg%). Theo chỉ dẫn địa lý, bưởi Năm Roi cần đạt hàm lượng axit cao hơn 0,32%, bưởi Năm Roi có bao màng sau 30 ngày bảo quản vẫn đáp ứng tiêu chí này.

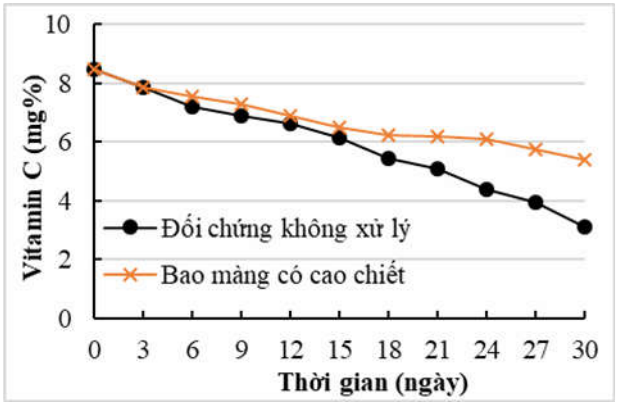
Bảng 5. Sự thay đổi khối lượng, độ chênh lệch màu, hàm lượng chất khô hoà tan của bưởi Năm Roi có bao màng bổ sung cao chiết lá trầu không trong quá trình bảo quản

Thời gian (ngày)	Hao hụt khối lượng (%)		Độ chênh màu ΔE		Hàm lượng chất khô hoà tan (°brix)	
	Đối chứng không xử lý	Bao màng có cao chiết	Đối chứng không xử lý	Bao màng có cao chiết	Đối chứng không xử lý	Bao màng có cao chiết
0	0,00±0,00^{a}	0,00±0,00^{a}	0,00±0,00^{a}	0,00±0,00^{a}	9,33±0,58^{a}	9,33±0,58^{a}
3	1,31±0,26^{b}	0,90±0,90^{b}	0,15±0,01^{a}	0,18±0,01^{ab}	9,07±0,12^{a}	9,40±0,69^{a}
6	2,46±0,42^{c}	1,27±0,14^{c}	0,41±0,04^{b}	0,25±0,02^{b}	10,20±0,20^{b}	10,50±0,70^{bcd}
9	4,94±0,38^{d}	2,04±0,13^{d}	0,59±0,10^{b}	0,31±0,02^{b}	10,27±0,12^{bc}	10,47±0,42^{bc}
12	7,53±0,26^{e}	2,61±0,14^{e}	1,06±0,13^{c}	0,37±0,02^{b}	10,27±0,23^{bc}	10,13±0,12^{b}
15	10,42±0,21^{f}	3,02±0,21^{f}	1,26±0,14^{cd}	0,58±0,02^{c}	10,33±0,12^{bc}	10,20±0,20^{b}
18	13,39±0,26^{g}	4,84±0,17^{g}	1,33±0,05^{d}	0,86±0,06^{d}	10,27±0,31^{bc}	10,33±0,42^{bc}
21	16,29±0,36^{h}	5,45±0,21^{h}	1,92±0,07^{e}	0,92±0,12^{de}	10,47±0,12^{bc}	10,40±0,40^{bc}
24	19,08±0,41^{i}	5,77±0,24^{h}	2,24±0,18^{f}	1,07±0,1^{ef}	11,20±0,20^{de}	10,53±0,46^{bcd}
27	20,38±0,75^{j}	6,66±0,23^{i}	2,52±0,20^{g}	1,18±0,21^{f}	11,27±0,23^{e}	10,40±0,20^{bc}
30	21,50±0,32^{k}	7,15±0,19^{j}	2,88±0,19^{h}	1,27±0,20^{f}	10,73±0,64^{cd}	10,53±0,23^{bcd}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát ở độ tin cậy 95%.



Hình 1. Sự thay đổi hàm lượng axit tổng (%) của bưởi Năm Roi theo thời gian bảo quản



Hình 2. Sự thay đổi hàm lượng vitamin C của bưởi Năm Roi theo thời gian bảo quản

Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc bao màng có bổ sung cao chiết lá trầu không trong ổn định chất lượng của quả bưởi Năm Roi là 30 ngày bảo quản.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã ghi nhận sự thay đổi chất lượng của quả bưởi Năm Roi trong giai đoạn sau thu hoạch. Kết quả ghi nhận cho thấy bao màng bằng chế phẩm có bổ sung cao chiết lá trầu không ở nồng độ 300 mg/ml là phù hợp để bảo quản bưởi Năm Roi. So với mẫu đối chứng, bưởi Năm Roi có bao màng cho chất lượng quả ổn định trong suốt 30 ngày bảo quản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Nông nghiệp và PTNT (2013). *Quyết định số 1648/QĐ-BNN-TT ngày 17/7/2013 về "Phê duyệt quy hoạch vùng cây ăn quả chủ lực*

trồng tập trung và định hướng rãi vụ một số cây ăn quả ở Nam bộ đến năm 2020". Truy cập từ https://sofri.org.vn/vi/thu-vien/detail/Quyet-dinh-1648-qd-bnn-tt-bo-nong-nghiep-va-phat-trien-nong-thon-71.html?download=2&id=0, ngày 15/3/2023.

2. Uỷ ban Nhân dân tỉnh Vĩnh Long. *Quyết định số 1323/QĐ - UBND ngày 27/6/2018 về việc ban hành "Đề án phát triển vùng nguyên liệu cây có múi tỉnh Vĩnh Long giai đoạn 2018-2020, tầm nhìn đến năm 2030".* Truy cập từ https://hscv.vinhlong.gov.vn/qlvb/vbdh.nsf/c3c1cc1fae0 b244a472576e90006f456/e386a3b00914f360472582b9005270d8?OpenDocument, ngày 15/3/2023.

3. Hoque, M. M., Rattila, S., Shishir, M., Bari, M. L., Inatsu, Y and Kawamoto. S. (2011). Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Betel Leaf (*Piper betel* L.) Against Some Food Borne Pathogens. *Bangladesh Journal of Microbiology*, 28(2): 58-63.

4. Dwivedi, V., & Tripathi, S. (2014). Review study on potential activity of Piper betle. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *3*(4), 93-98.

5. Pin, K. Y., Chuah, A. L., Rashih, A. A., Mazura, M. P., Fadzureena, J., Vimala, S., & Rasadah, M. A. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts of betel leaves (*Piper betle*) from solvents with different polarities. *Journal of Tropical Forest Science*, 448-455.

6. Đái Thị Xuân Trang, Trần Chí Linh, Nguyễn Thanh Nhị, Trần Thanh Mến, Phan Kim Định và Nguyễn Trọng Tuân (2018). Khảo sát hoạt tính sinh học của cao chiết lá cây vọng cách (*Premna serratifolia* (L.)). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54(9): 46-52. https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2018.159.

7. Nguyễn Duy Lâm (2011). *Nghiên cứu và ứng dụng công nghệ và thiết bị sản xuất chế phẩm bảo quản (chế phẩm tạo màng) dùng trong bảo quản một số rau quả tươi*. Báo cáo tổng kết đề tài cấp Nhà nước. Bộ Khoa học và Công nghệ.

8. Trần Tuyết Mai, Tô Nguyễn Phước Mai, Nguyễn Văn Mười, Trần Thanh Trúc (2020). Đặc điểm hình thái và tính chất hóa lý của bốn giống bưởi tại đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Công thương*, 24: 57 – 64.

9. Lee, S. K., & Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20(3): 207–220. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00133-2

10. Hoàng Kim Anh (2005). *Hoá học thực phẩm*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, 231 trang.

11. Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Režek Jambrak, A., Barba, F. J., Cravotto, G., Binello, A., ... & Shpigelman, A. (2017). Innovative "green" and novel strategies for the extraction of bioactive added value compounds from citrus wastes—A review. *Molecules*, 22(5): 680.

12. Nguyễn Minh Thủy (2013). *Giáo trình kỹ thuật sau thu hoạch nông sản*. Nxb Đại học Cần Thơ.

13. Arambewela, L. S. R., Arawwawala, L. D. A. M., & Ratnasooriya, W. D. (2005). Antidiabetic activities of aqueous and ethanolic extracts of *Piper betle* leaves in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(2): 239–245. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.06.016

14. Hoque, M. M., Rattila, S., Shishir, M. A., Bari, M. L., Inatsu, Y., & Kawamoto, S. (2011). Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Betel Leaf (*Piper betel* L.) Against Some Food Borne Pathogens. *Bangladesh Journal of Microbiology*, 28(2): 58–63. https://doi.org/10.3329/bjm.v28i2.11817.

15. Cục Sở hữu trí tuệ (2013). *Quyết định số 2064/QĐ-SHTT ngày 29/8/2013 về việc cấp giấy chứng nhận đăng ký chỉ dẫn địa lý số 00036 cho sản phẩm bưởi Năm Roi.* Truy cập từ

https://www.ipvietnam.gov.vn/hoat-ong-so-huu-cong-nghiep-tai-ia-phuong/-/asset_publisher/7xsjBfqhCDAV/content/bao-ho-chi-dan-ia-ly-binh-minh-cho-buoi-nam-r-1, ngày 15/03/2023.

16. Montero, T. M., Mollá, E. M., Esteban, R. M., & López-Andréu, F. J. (1996). Quality attributes of strawberry during ripening. *Scientia Horticulturae*, 65(4): 239-250.

EFFECTS OF BETEL LEAF CONCENTRATION TO CHANGES IN QUALITY OF NAM ROI POMELO IN STORAGE

Nguyen Van Muoi[1], Tran Thanh Truc[1,2], Tran Bach Long[1,*]

[1] *Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University*

[*] *Email: tblong@ctu.edu.vn*

[2] *School of Graduate, Can Tho University*

Summary

The study aimed to evaluate the post-harvest changes in the quality of Nam Roi pomelo when coating with betel (*Piper betel*) leaf extract-added preparation. Five extract concentrations were used in the preparation at 150, 200, 250, 300 and 400 µg GAE/mL; then Nam Roi pomelos were coated, and changes in the fruit quality were examined. The results showed that the suitable concentration of betel leaf extract was 300 µg/mL, with pomelos after 15 days of storage at room condition had ΔE value at 0.58, weight loss at 3.02%, and total yeast and mold count at $6.4.10^1$ CFU/cm^2 fruit surface. Extended storage test results also showed that the quality of Nam Roi pomelos coated with betel leaf extract-added preparation was stable after 30 days of storage.

Keywords: *Betel leaf, extract, fruit quality, Nam Roi pomelo, storage.*

Người phản biện: TS. Lê Xuân Hảo

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 24/3/2023

Ngày duyệt đăng: 31/3/2023

TỐI ƯU ĐIỀU KIỆN LÊN MEN VÀ THU NHẬN CHẤT KÌM HÃM α-GLUCOSIDASE TỪ CHỦNG *Bacillus subtilis* TH2 VÀ ĐẬU TƯƠNG

Trần Liên Hà[1], Nguyễn Thu Hà[2], Nguyễn Văn Cách[1,*]

TÓM TẮT

Năm 2010 có khoảng 220 triệu người mắc bệnh tiểu đường trên thế giới và dự báo số người mắc tiểu đường sẽ tăng xấp xỉ 300 triệu người vào năm 2025. Ngày nay, y học đã tìm ra các phương pháp và loại thuốc đặc hiệu để điều trị bệnh tiểu đường, trong đó có liệu pháp điều trị sử dụng chất kìm hãm α-glucosidase (alpha glucosidase inhibitors-AGIs) cho bệnh tiểu đường type 2. Chủng *Bacillus subtilis* TH2 được phân lập từ sản phẩm lên men truyền thống có năng lực sinh tổng hợp chất kìm hãm α-glucosidase. Để nâng cao hiệu suất tổng hợp chất kìm hãm α-glucosidase, nghiên cứu tối ưu hóa điều kiện nuôi chủng *B. subtilis* TH2 theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm đã xác định được điều kiện nuôi cho hoạt tính kìm hãm α-glucosidase cao nhất đạt 78,7% là: 48 giờ, nhiệt độ thích hợp 37°C, tỷ lệ giống 1%, nồng độ cơ chất 30 mg/mL và pH = 7,4. Đã xác định được điều kiện tách thu nhận chất kìm hãm α-glucosidase từ canh trường lên men chủng *B. subtilis* TH2: trích ly bằng etylic với tỷ lệ 80%V ở 4°C trong 1 giờ thu chế phẩm với hoạt tính kìm hãm α-glucosidase đạt 85,6%.

Từ khóa: *Bacillus subtilis TH2, chất kìm hãm α-glucosidase, thu nhận, tiểu đường, hoạch thực nghiệm, phương pháp quy.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh tiểu đường hiện được xem là bệnh nan y, do chưa có liệu pháp điều trị tận gốc, trong khi tốc độ bệnh nhân tăng lên nhanh chóng. Theo Shaw và cs (2010) [1], trên thế giới đang có khoảng 220 triệu người mắc bệnh tiểu đường và con số này dự báo đến năm 2025 sẽ tăng tới ngưỡng xấp xỉ 300 triệu người. Ngày nay, y học đang áp dụng một số phương pháp và loại thuốc đặc hiệu để điều trị bệnh tiểu đường, trong đó chất kìm hãm α-glucosidase (alpha glucosidase inhibitors-AGIs) được ứng dụng trong chỉ định điều trị bệnh tiểu đường type 2 để kìm hãm hoạt động enzyme α-glucosidase và ngăn ngừa sự hấp thụ carbonhydrate trong thức ăn vào máu [2]. Do đó, trong những năm gần đây, rất nhiều nghiên cứu thu nhận AGIs từ vi sinh vật đã được triển khai, đặc biệt từ *B. subtilis*, nhờ ưu thế về tốc độ sinh trưởng nhanh, dễ nuôi cấy và môi trường nuôi cấy đơn giản [2, 3, 4]. Việc sử dụng đậu tương và các sản phẩm từ đậu tương làm thức ăn vừa cung cấp các chất dinh dưỡng, vừa có tác dụng hỗ trợ điều trị một số bệnh như huyết áp và ung thư [5]. Bên cạnh đó, từ sản phẩm lên men truyền thống, Nguyễn Thu Hà và cs (2012) [6] đã tuyển chọn được chủng *B. subtilis* TH2 có năng lực tổng hợp chất kìm hãm α-glucosidase. Nhằm phối hợp khai thác đồng thời 2 hoạt tính trên để thu nhận chất kìm hãm α-glucosidase hoạt độ cao hơn, nghiên cứu này tập trung "*Tối ưu điều kiện lên men và thu nhận chất kìm hãm α-glucosidase từ chủng Bacillus subtilis TH2 và đậu tương*".

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Chủng vi khuẩn *B. subtilis* TH2 trong bộ sưu tập giống Phòng thí nghiệm Bộ môn Vi sinh - hoá sinh - sinh học phân tử, Đại học Bách Khoa Hà Nội.

[1] Viện Công nghệ sinh học và Công nghệ thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
[2] Phòng Y tế quận Hà Đông, thành phố Hà Nội
* Email: cach.nguyenvan@hust.edu.vn

- Hóa chất sử dụng: Enzym α-glucosidase E5003-100UN từ *Sacharomyces cerevisiae* (Sigma Chemical Co., Mỹ), axit dinitrosalicylic, pepton, cao nấm men, NaOH, Na_2HPO_4, K-Na Tartart (Merck Chemicals Co., Đức).

2.2. Môi trường

Môi trường giữ giống: Môi trường Luria-Bertani (MT1) (g/l): cao nấm men 5, peptone 10, NaCl 5, agar 15, pH 6,5.

Môi trường đậu tương (MT2): 30 g đậu tương rửa sạch, ngâm trong 8 giờ ở nhiệt độ phòng, để ráo 5 phút, xay vỡ và lọc thu 1 lít dịch. Các môi trường thanh trùng ở 0,5 atm trong 20 phút.

2.3. Xác định hoạt tính kìm hãm α-glucosidase theo phương pháp đo đường khử axit dinitrosalicylic (DNS)

Tiến hành đo đường khử theo phương pháp axit dinitrosalicylic (DNS)

$$\text{Saccharose} \xrightarrow{\alpha\text{-glucosidase}} \text{Glucose} + \text{Fructose}$$

Hoạt tính kìm hãm α-glucosidase được xác định bằng đo sự hình thành đường khử bởi α-glucosidase ở bước sóng 540 nm sau khi phản ứng với axit dinitrosalicylic [7]. Chuẩn bị dung dịch enzym α-glucosidase: Hoà tan 3,65 mg bột enzym từ vào 1 ml dung dịch đệm phốt phát pH 6,7 (100 U/1.000 µl). Dịch lên men được li tâm 3.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C; thu dịch nổi ở phía trên, rồi lọc qua màng có lỗ lọc 0,45 µm. Dịch lọc được sử dụng để xác định hoạt tính chất kìm hãm α-glucosidase. Hỗn hợp phản ứng gồm 50 µl dịch lọc, 10 µl dung dịch α-glucosidase và phản ứng được bắt đầu bằng bổ sung 150 µl cơ chất saccharose (1%) pha trong đệm phốt phát pH 6,7; ủ ở 37°C trong 30 phút. Dừng phản ứng bằng nhiệt ở 100°C trong 5 phút và bổ sung 1.000 µl DNS và đun sôi tiếp ở 100°C trong 5 phút. Đo độ hấp phụ của đường khử với DNS tại bước sóng 540 nm. Hoạt tính kìm hãm α-glucosidase được tính theo công thức:

$$I_{(\%)} = \frac{A_{ĐC} - A_M}{A_{ĐC}} \times 100$$

Trong đó: $A_{ĐC}$ là độ hấp thụ của mẫu có DNS, dung dịch saccharose và α-glucosidase; A_M là độ hấp thụ của mẫu có DNS, dung dịch saccharose, α-glucosidase và dịch đậu tương lên men.

2.4. Tối ưu theo quy hoạch thực nghiệm

Nghiên cứu của Nguyễn Thu Hà và cs (2012) [6] cho thấy, 3 yếu tố là nhiệt độ lên men (X_1), thời gian lên men (X_2), pH ban đầu của môi trường lên men (X_3) có ảnh hưởng nhiều đến quá trình sinh tổng hợp chất kìm hãm α-glucosidase của chủng *B. subtilis* TH2. Phương pháp bề mặt đáp ứng và quy hoạch Box-Benken sử dụng phần mềm Design-Expert 7.15 (State-Ease, Inc., Minneapolis, Mỹ) được sử dụng để tối ưu hóa điều kiện nuôi thu để chất kìm hãm α-glucosidase (Y, % kìm hãm α-glucosidase) cao, trong đó khoảng chạy trong quy hoạch thực nghiệm theo các tham số tương ứng thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Các biến số và khoảng chạy biến trong quy hoạch thực nghiệm

Tên biến	Ký hiệu	Mức dưới	Mức giữa	Mức trên
Nhiệt độ lên men	X_1 (°C)	30	40	50
Thời gian lên men	X_2 (giờ)	24	48	72
pH ban đầu	X_3	4	6,5	9

Biến số và các mô hình hoá được biểu diễn bằng phương trình bậc 2 sau:

$$Y= bo+b_1X_1+b_{11}X_1^2+b_2X_2+b_{22}X_2^2+b_3X_3+b_{33}X_3^2+b_{12}X_1X2+b_{13}X_1X_3+ b_{23}X_2X_3$$

Thí nghiệm kiểm chứng: Xác định hoạt tính kìm hãm α-glucosidase với các điều kiện lên men

Kiểm tra hoạt tính kìm hãm α-glucosidase của canh trường đậu tương lên men lỏng từ chủng *B.*

subtilis TH2 trước tối ưu, sau tối ưu cổ điển và sau tối ưu theo quy hoạch thực nghiệm.

Trước tối ưu: nhiệt độ 30°C, thời gian lên men 54 giờ, nồng độ cơ chất 40 mg/mL, pH 7, với tỷ lệ cấp giống 1%; tối ưu cổ điển: nhiệt độ 40°C; thời gian lên men 48 giờ; nồng độ cơ chất 30 g/L; pH 7, tỷ lệ tiếp giống 1%. Điều kiện lên men tối ưu theo quy hoạch thực nghiệm là: nhiệt độ 37°C; thời gian lên men 48 giờ; nồng độ cơ chất 30 g/L; pH 7,4; tỷ lệ tiếp giống 1%.

2.5. Thu nhận chất kìm hãm α-glucosidase ở đậu tương lên men từ *B. subtilis* TH2

Nghiên cứu ảnh hưởng tỷ lệ etylic bổ sung vào dịch đậu tương lên men đến quá trình tách chiết chất kìm hãm α-glucosidase

Theo Zhu và cs (2010) [4] sử dụng dung môi etylic 96%V, theo tỷ lệ dung môi etylic bổ sung trên trên canh trường đậu tương lên men 80%V, chiết suất ở 4°C trong 1 giờ. Kết thúc thời gian chiết, lọc thu dịch lọc qua vải màn; phần dịch lọc được ly tâm 3.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C, để thu phần dịch nổi, rồi chuyển cô quay chân không bằng máy cô quay chân không, để loại bỏ hết dung môi; để khảo sát hoạt tính kìm hãm α-glucosidase của dịch chiết thu được: canh trường lên men được bổ sung etylic 96%V với tỷ lệ etylic với canh trường lên men (v/v) tương ứng là: 50, 60, 70, 80, 90%V.

Phương pháp tinh sạch chất kìm hãm α-glucosidase.

Sử dụng phương pháp lọc màng cut off 100 Da và 1.000 Da. Dịch chiết lên men sau khi loại bỏ dung môi được cho vào màng cut off 100 Da, 1.000 Da. Thu phần dịch của cả hai phân đoạn (phân đoạn trên và phân đoạn dưới của màng), để xác định hoạt tính kìm hãm α-glucosidase.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tối ưu theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm

Nghiên cứu ảnh hưởng của 3 yếu tố (nhiệt độ lên men, thời gian lên men và pH ban đầu) làm yếu tố đầu vào của quá trình quy hoạch thực nghiệm khảo sát hoạt tính kìm hãm α-glucosidase, như trong bảng 1. Chỉ tiêu cần xác định sau quá trình này là: Hoạt tính kìm hãm α-glucosidase (Y). Theo nguyên tắc của ma trận 17 thí nghiệm được tiến hành với sự thay đổi đồng thời của 3 yếu tố quanh giá trị trung bình và kết quả thể hiện trên bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thực nghiệm bảng ma trận thực nghiệm

STT	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giờ)	pH	Hoạt tính kìm hãm α-glucosidase (Y) (%)
1	30	24	6,5	39,51
2	50	24	6,5	48,50
3	30	72	6,5	51,1
4	50	72	6,5	10,22
5	30	48	4	0
6	50	48	4	5,32
7	30	48	9	54,89
8	50	48	9	10,21
9	40	24	4	23,04
10	40	72	4	3,32
11	40	24	9	42,09
12	40	72	9	45,31

13	40	48	6,5	75,79
14	40	48	6,5	76,11
15	40	48	6,5	73,49
16	40	48	6,5	74,79
17	40	48	6,5	74,7

Số liệu được phân tích bằng chương trình Design Expert 7.0.0® của Stat- EaseInc. USA. Từ kết quả phân tích, xác định mức tối ưu của các yếu tố cho sản lượng hoạt tính kìm hãm α-glucosidase (Y) (%) cao nhất.

Bảng 3. Kết quả phân tích phương sai của mô hình

Thông số	SS	Df	MS	Chuẩn F	Mức có ý nghĩa p	Ghi chú
Model	12710,3	9	1412,25	407	<0,0001	*Có ý nghĩa*
X_1- Nhiệt độ	635,1	1	635,1	183	< 0,0001	
X_2- Thời gian	233,49	1	233,49	67,2	0,0006	
X_3-pH	1825,89	1	1825,89	526,23	< 0,0001	
$X_1 X_2$	622	1	622	179,26	0,0014	
$X_1 X_3$	625	1	625	180,12	< 0,0001	
$X_2 X_3$	131,56	1	131,56	37,916	0,5623	
X_1^2	2473,29	1	2473,29	712,81	< 0,0001	
X_2^2	756,21	1	756,21	217	0,6117	
X_3^2	4621,87	1	4621,87	1332	< 0,0001	
Residual	24,28	7	3,46			
Lack of fit	20,11	3	6,7	6,43	0,052	*Không có ý nghĩa*
Pure Error	4,1	4	1,04			
SS tổng số	12734,5	16				

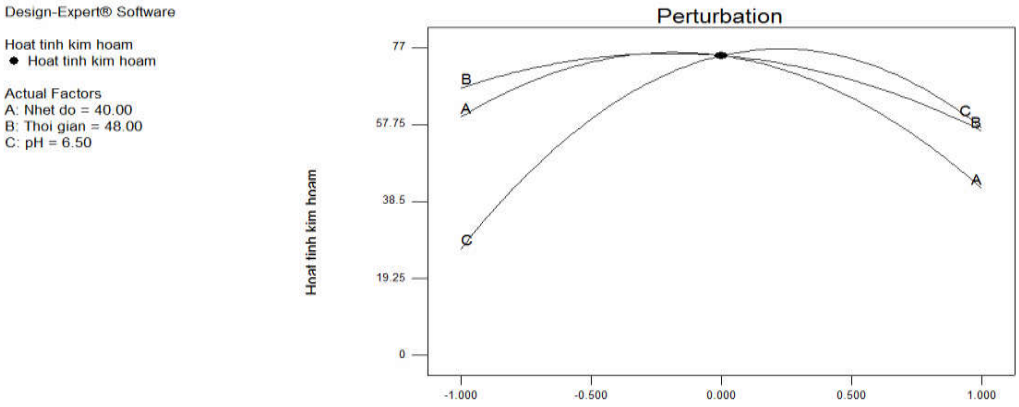
Ghi chú: SS: Tổng phương sai; df: bậc tự do; MS: giá trị trung bình sai khác; chuẩn F: Chuẩn Fisher; Residual: Phần dư; Lack of Fit: Chuẩn đánh giá độ không tương thích của mô hình với thực nghiệm.

Hoạt tính kìm hãm α-glucosidase có thể được tính toán thống kê theo phương trình sau:

$$Y= -783,163+24,24X_1-0,24X_1^2+3,46X_2- 0,02X_2^2+90,36X_3-5,3X_3^2- 0,5X_1X2+ 0,095X_1 X_3- 0,023 X_2X_3$$

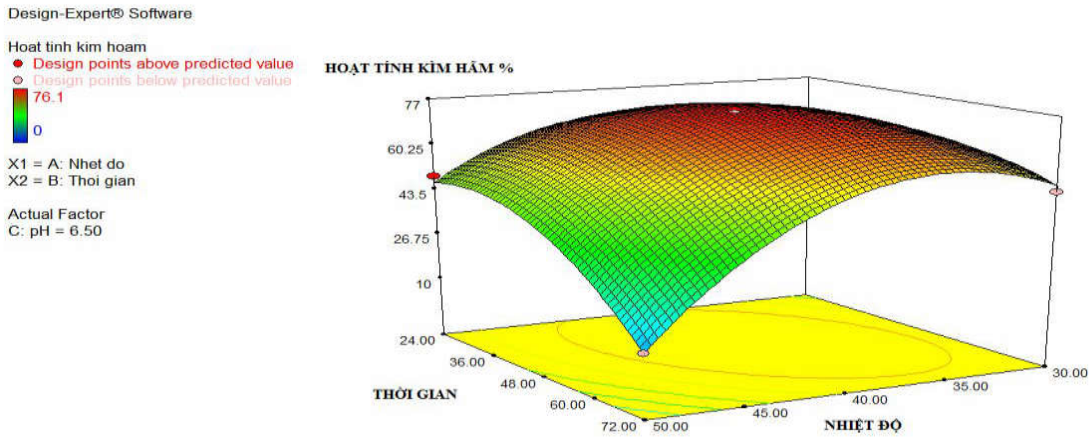
Giá trị F của mô hình là 407 với p< 0,0001 cho thấy, mô hình đã chọn có ý nghĩa. Giá trị của mức có ý nghĩa nhỏ hơn 0,05 cũng chỉ ra rằng mô hình đã chọn có ý nghĩa, trong trường hợp này cả X_1, X_2, X_3, X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_1^2, X_2^2, X_3^2 đều có ý nghĩa với cả mô hình. Cũng như giá trị của lack of fit là 6,44 (p=5,2%) cho thấy, sai số không đáng kể và mô hình đã chọn là phù hợp khi tiến hành thực nghiệm. Sau khi sàng lọc các yếu tố chính ảnh hưởng đến hoạt tính kìm hãm α-glucosidase, kế

hoạch hoá thực nghiệm theo phương pháp tối ưu cổ điển, xử lý bằng Design Expert 7.0.0® của Stat-Ease Inc. USA. Sau khi phân tích phương sai ANOVA phương trình hồi quy được dùng như là một mô hình để dự đoán hoạt tính kìm hãm α-glucosidase thu được. Hoạt tính kìm hãm α-glucosidase có thể được dự đoán bằng phương trình đã nêu trên: Trong 3 hệ số b_1, b_2, b_3 tương ứng là nhiệt độ, thời gian, pH thể hiện tác động độc lập của từng yếu tố X_1- Nhiệt độ, X_2- Thời gian, X_3- pH đến khả năng tạo chất kìm hãm α-glucosidase của chủng *B. subtilis* TH2 thì b_3 (b_3= 90,36) có giá trị tuyệt đối cao nhất, điều đó chứng tỏ pH (X_3-pH) trong khoảng giới hạn đã chọn thì pH có ảnh hưởng mạnh nhất đến khả năng tạo chất kìm hãm α-glucosidase của chủng *B. subtilis* TH2. Sự ảnh hưởng của hai yếu tố thời gian lên men và nhiệt độ không mạnh bằng pH ban đầu của môi trường. Luận giải trên được minh họa rõ ràng hơn trên hình 1.



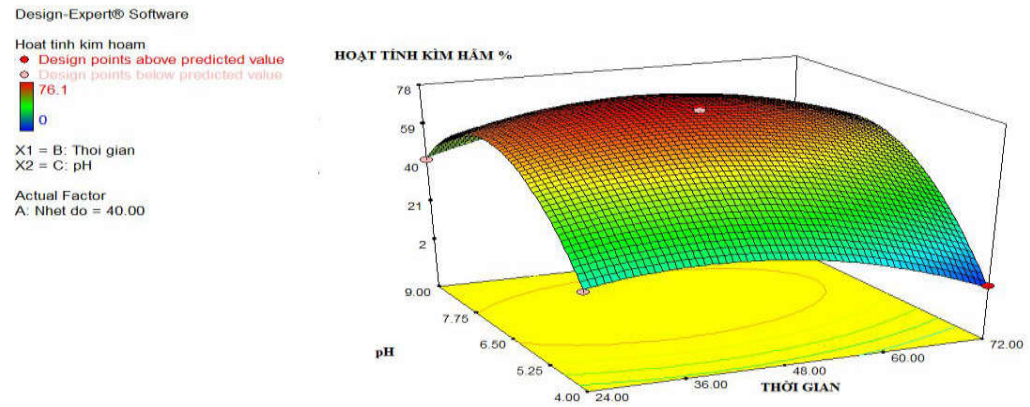
Hình 1. Mô hình dự đoán sự ảnh hưởng nhiệt độ, thời gian và pH ban đầu đến hàm mục tiêu (C- pH ban đầu; A - Nhiệt độ lên men, B - Thời gian lên men)

Hình 1 cho thấy, đường cong C có độ lệch cao nhất thể hiện pH ban đầu là yếu tố có ảnh hưởng quan trọng đến quá trình tối ưu thu nhận chất kìm hãm α-glucosidase có hoạt tính cao.



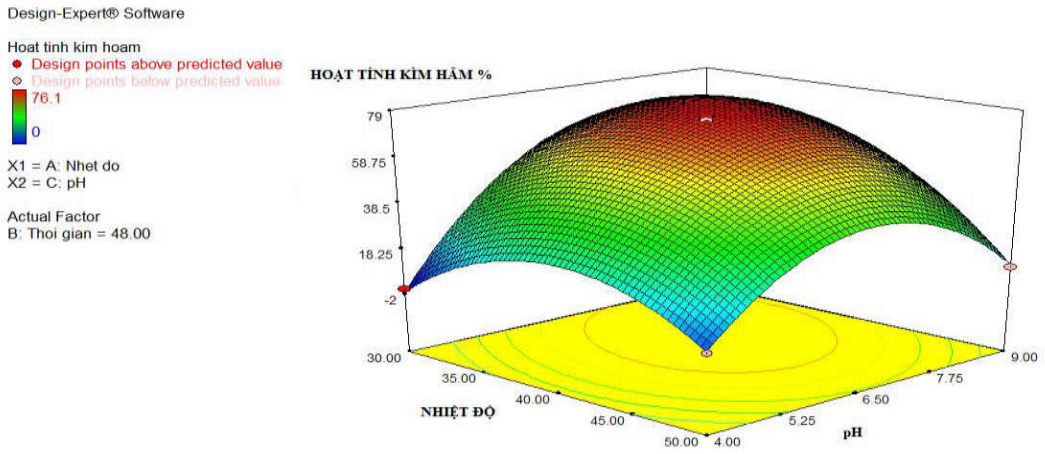
Hình 2. Biểu đồ bề mặt đáp ứng hoạt tính kìm hãm α-glucosidase (Y) theo nhiệt độ và thời gian lên men khi cố định pH ban đầu 6,5

Đồ thị bề mặt đáp ứng hoạt tính kìm hãm α-glucosidase (Y) theo thời gian và nhiệt độ lên men khi cố định pH 6,5. Kết quả ở hình 2 cho thấy, khi X_3 ở giá trị trung bình (pH ban đầu môi trường lên men là 6,5) thì hoạt tính kìm hãm α-glucosidase cao nhất (Y_{max}=75%) ứng với khoảng nhiệt độ X_1 từ 30 - 50°C và X_2 thời gian lên men kéo dài 24 - 72 giờ.



Hình 3. Biểu đồ bề mặt đáp ứng hoạt tính kìm hãm α-glucosidase (Y) theo pH ban đầu và thời gian lên men khi cố định nhiệt độ lên men 40°C

Kết quả ở hình 3 cho thấy, khi X_1 ở giá trị trung bình (nhiệt độ lên men là 40°C) thì hoạt tính kìm hãm cao nhất α-glucosidase (Y_{max}=71%) ứng với khoảng X_2 là 24 - 72 giờ và khoảng pH ban đầu kéo dài từ pH4 đến pH9. Tương tự khi phân tích đồ bề mặt đáp ứng hoạt tính kìm hãm α-glucosidase (Y) theo pH ban đầu và nhiệt độ lên men khi cố định thời gian lên men 48 giờ. Kết quả cho thấy khi X_2 ở giá trị trung bình (thời gian lên men là 48 giờ) thì hoạt tính kìm hãm cao nhất α-glucosidase (Y_{max}=68%) ứng với khoảng X_1 là 25 - 45°C và khoảng pH ban đầu kéo dài từ 4 - 9.



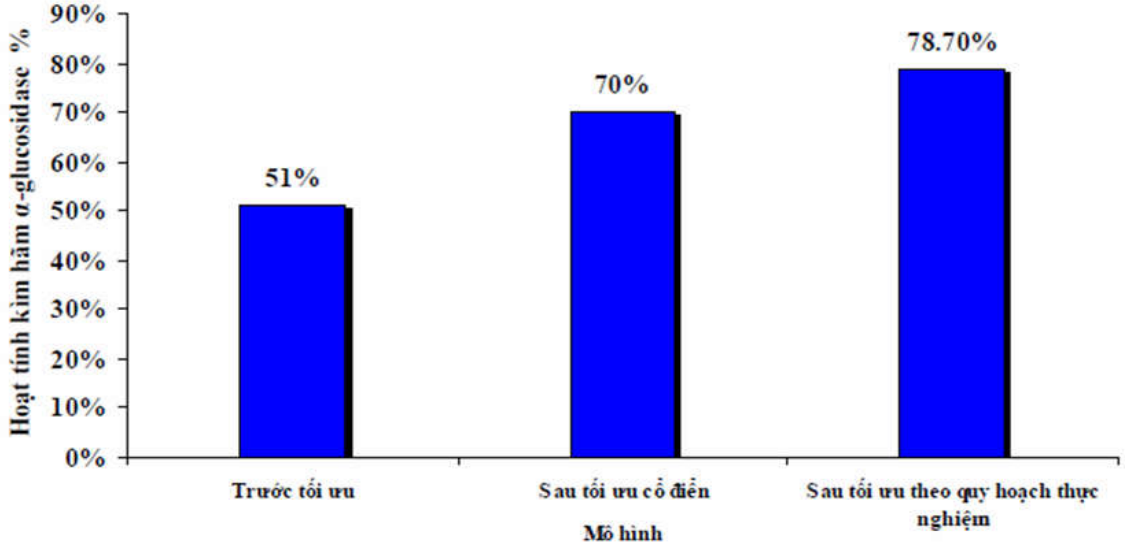
Hình 4. Biểu đồ bề mặt đáp ứng hoạt tính kìm hãm α-glucosidase (Y) theo nhiệt độ và pH ban đầu khi cố định thời gian lên men là 48 giờ

Từ các hình 1, 2, 3 và 4 có thể thấy đáp ứng bề mặt thể hiện sự tương tác của từng cặp yếu tố và từ biểu đồ này có thể xác định được giá trị tối ưu của từng yếu tố làm cho hàm đáp ứng đạt cực đại. Mô hình đã dự đoán hàm lượng kìm hãm α-glucosidase cao nhất (80%) ở các giá trị các yếu tố: thời gian lên men (48 giờ), nhiệt độ lên men (37°C); pH ban đầu (pH 7,4). Thiết kế thí nghiệm theo phương pháp tối ưu cổ điển và phương pháp đáp ứng bề mặt - phương án cấu trúc có tâm được đánh giá là những công cụ mạnh trong việc sàng lọc và tối ưu hoá giá trị các yếu tố làm cho hàm đáp ứng cực đại. Việc sử dụng phần mềm Design Expert 7.0.0® của Stat-Ease Inc. USA giảm được thời gian tiêu tốn, giảm các thí nghiệm đồng thời có thể lựa chọn một trong những giải pháp tối ưu do phần mềm đề nghị [8].

Xác định hoạt tính kìm hãm α-glucosidase với các điều kiện lên men:

Kết quả xác định hoạt tính kìm hãm α-glucosidase với các điều kiện lên men thu được thể hiện trên hình 5. Kết quả cho thấy, hoạt tính

kìm hãm α-glucosidase của cach trường lên men chủng *B. subtilis* TH2 trước tối ưu chỉ đạt 51%, trong khi hoạt tính kìm hãm α-glucosidase tăng lên nhanh chóng sau tối ưu cổ điển và tối ưu theo quy hoạch thực nghiệm, đạt 70% và 78,7% theo thứ tự. Từ đó, chế độ lên men lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo với chủng *B. subtilis* TH2 cho lên men đậu tương gồm các thông số chính sau: Thời gian 48 giờ; nhiệt độ 37°C; nồng độ cơ chất 30 g/L; pH 7,4, tỷ lệ tiếp giống 1%.



Hình 5. Hoạt tính kìm hãm α-glucosidase của dịch lên men đậu tương từ chủng *B. subtilis* TH2

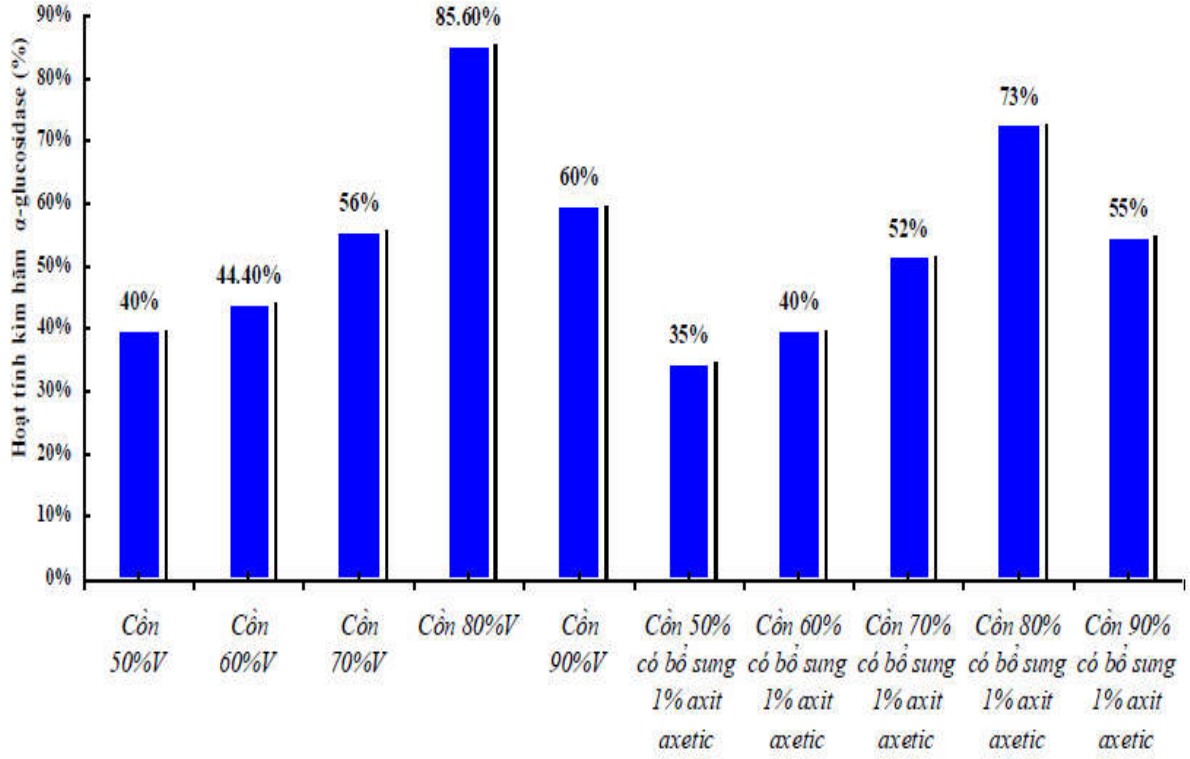
3.2. Nghiên cứu thu hồi chất kìm hãm α-glucosidase từ đậu tương lên men bằng chủng *B. subtilis* TH2

3.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của dung môi tách chiết

Để tách và tinh sạch chất kìm hãm α-glucosidase từ canh trường lên men từ *B. subtilis* B2, Zhu và cs (2010) [4], đã sử dụng phương pháp lọc màng, than hoạt tính, sắc ký ái lực và sắc ký lớp mỏng điều chế. Kết quả nghiên cứu cho thấy, canh trường lên men chủng TH2 sau 48 giờ được ly tâm và dịch nổi và cặn được bổ sung etylic 80%V; dịch lọc sau chiết của phần nổi có hoạt tính kìm hãm α-glucosidase 73%, trong khi đó dịch lọc sau chiết của phần cặn có hoạt tính kìm hãm α-glucosidase rất thấp (10%). Kết quả thu được từ nghiên cứu này cũng tương ứng với công bố của Zhu và cs (2010) [4] là chất kìm hãm α-glucosidase chủ yếu trong phần nổi của dịch lên men chủng *B. subtilis* B2 lên men trên okara (bã đậu).

1-Deoxynojimycin (DNJ) cũng là hoạt chất kìm hãm α-glucosidase được sinh tổng hợp ở một số chủng vi khuẩn *B. subtilis* [2], [9]. Để tách thu được cả DNJ trong canh trường lên men chủng *B. subtilis* TH2, nghiên cứu này đồng thời triển khai cả phương pháp kết tủa trong dung môi etylic có axit hoá, dựa vào nhóm -NH có tính bazơ của phân tử 1-Deoxynojimycin (DNJ) để chuyển nhóm polyhydroxylat alkaloid thành muối alkaloid kết tủa – là phương pháp đã được sử dụng để tách chiết DNJ từ lá dâu tằm [10]; từ đó, trong nội dung tách chiết tiếp theo, nghiên cứu đã lựa chọn đồng thời dung môi etylic và dung môi etylic đã axit hoá bằng axit axetic 1%, ở các tỉ lệ dung môi/dịch chiết là 50, 60, 70, 80 và 90%V. Kết quả xác định hoạt tính kìm hãm α-glucosidase thu được đã cho thấy, hoạt tính kìm hãm α-glucosidase trong dịch chiết thu được ở cả 5 tỉ lệ dung môi/dịch chiết trong tách chiết sử dụng dung môi etylic đã axit hoá đều thấp hơn, so với phương án chiết sử dụng dung môi etylic tương ứng và đạt tỉ lệ cao nhất ở tỉ lệ dung môi/dịch chiết là 80%V, đạt 85,6% (Hình 6). Kết quả thu được này cho thấy, trong phổ các chất AGIs từ *B. subtilis* TH2 cũng chứa một lượng nhỏ DNJ; tuy nhiên, việc điều chỉnh lượng DNJ trong

phổ các chất AGIs chưa được đề cập trong nghiên cứu này). Vì vậy, dung môi etylic 80%V đã được lựa chọn cho nghiên cứu tiếp theo.



Hình 6. Ảnh hưởng của loại và nồng độ dung môi đến hoạt tính kìm hãm α-glucosidase

3.2.2. Nghiên cứu làm sạch chất kìm hãm α-glucosidase từ đậu tương lên men bằng chủng B. subtilis TH2

Bảng 4. Hoạt tính kìm hãm α-glucosidase của dịch chiết qua từng công đoạn thu hồi, làm sạch

Phương pháp tách chiết	Hoạt tính kìm hãm α-glucosidase (%)
Dịch chiết sau khi xử lý etylic 80%V	85,6
Dịch chiết lọc ≤ 100 Da	16,8
Dịch chiết ≥ 1.000 Da	23,3
100 Da ≤ dịch chiết ≤ 1.000 Da	91

Để kết tủa polysacacarit và protein, dịch chiết trong trong etylic 80%V được đặt trong tủ lạnh 4°C trong 1 giờ. Sau đó đem ly tâm thu phần nổi, bỏ phần cặn. Dịch chiết được cô quay chân không ở 40°C và ly tâm lạnh 8.000 vòng/phút ở 4°C, tiếp theo làm sạch bằng phương pháp màng siêu lọc sử dụng màng cutoff 100 Da và 1.000 Da (molecular weight cutoffs MWCO; Spectra/Por* Biotech Cellulose Ester (CE) Dialysis Membrane Tubing Spectrum Laboratories., Inc., USA). Hoạt tính kìm hãm α-glucosidase được sử dụng bằng phương pháp đo đường khử theo DNS [7].

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, dịch chiết sau khi qua siêu lọc sử dụng màng cutoff 100 Da và 1.000 Da (molecular weight cutoffs MWCO; Spectra/Por* BiotechCellulose Ester (CE) Dialysis Membrane Tubing Spectrum Laboratories., Inc., USA), các phân đoạn 100 Da ≤ Dịch chiết ≤ 1.000 Da cho hoạt tính cao nhất 91%,

tăng lên đáng kể sau khi chiết bằng etylic 80%V. Phân đoạn dịch chiết lọc ≤ 100 Da hoạt tính kìm hãm α-glucosidase chỉ đạt 16,8%. Tuy nhiên, ở phân đoạn dịch chiết ≥ 1.000 Da cũng có hoạt tính kìm hãm nhỏ hơn 3,7 lần so với phân đoạn dịch chiết 100 - 1.000 Da. Như vậy các chất có hoạt tính kìm hãm α-glucosidase đều có khối lượng từ 100 Da trở lên. Kết quả nghiên cứu thu được này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Zhu và cs (2010) [4]. Nghiên cứu của Zhu và cs (2010) [4] cho rằng các hợp chất có hoạt tính kìm hãm α-glucosidase từ dịch chiết đậu tương lên men bằng chủng *B. subtilis* B2 có khối lượng phân tử lớn hơn 163 Da.

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được điều kiện lên men từ chủng *B. subtilis* TH2 cho hoạt tính kìm hãm α-glucosidase cao nhất đạt 78,7% là: nhiệt độ 37°C, thời gian lên men 48 giờ, tỷ lệ giống 1%, nồng độ cơ chất 30 g/L và pH 7. Điều kiện tách thu hồi chất kìm hãm α-glucosidase từ canh trường lên men chủng *B. subtilis* TH2: canh tường sau khi lên men ly tâm trích ly bằng etylic với tỷ lệ 80%V ở 4°C trong 1 giờ thu chế phẩm với hoạt tính kìm hãm α-glucosidase đạt 85,6%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Shaw J. E., R. A. Sicree, P. Z. Zimmet (2010). Global estimes of the prev-alence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and Clinical practice* 87,414.

2. Young Shik Park, Jae Yeon Lee, Kyo Yeol Hwang, and Keun Kim (2021). Production of α-Glucosidase Inhibitor and 1-Deoxynojirimycin by *Bacillus subtilis* MORI Microbiol. Biotechnol. Lett. (49(4), 566–575; http://dx.doi.org/10.48022/mbl.2111.11008.

3. Tien Cuong Nguyen, Thanh Hoang Le, Van Hien Mai, Thi Yen Hoang, Thi Trung Nguyen, Thi Mai Anh Dao, Manh Cuong Nguyen, Thi Tuyen Do (2021). Optimization and purification of α-glucosidase inhibitor from *Bacillus subtilis* YT20. *Vietnam Journal of Science and Technology,* 59 (2) 179-188 doi:10.15625/2525-2518/59/2/14928.

4. Zhu, Y. P., Yamaki, K., Yoshihashi, T., Kameyama, M. O., Li, X. T., Cheng, Y. Q., Mori, Y. and Li, L. T. (2010). Purification and Identification of 1- Deoxynoirimycin (DNJ) in Okara fermented by *Bacillus subtilis* B2 from Chinese Traditional food (Meitaoza). *Journal of Agricl-ual and Food Chemistry,* 58, 4097-4103.

5. Chen J., Cheng Y. Q., Yamaki K., Li L. T. (2007). Anti-α-glucosidase activity of Chinese traditionally fermented soybean (douche). *Food Chem.* 103, 1091-1096.

6. Nguyễn Thu Hà, Trần Liên Hà, Nguyễn Văn Cách, Đào Văn Minh (2012). Khảo sát các điều kiện lên men *Bacillus subtilis* TH2 để thu nhận chất kìm hãm α- glucosidaza. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 19, 70-74.

7. Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thuỷ, Nguyễn Thanh Hằng, Lê Lan Chi (2010). Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men. Nxb Khoa học và Kỹ thuật.

8. Castillo, E. D. (2007). Process Optimization A. Statistical Approach. *Springer Science*. New York, USA 118-122.

9. Yong-Soon Kim, Wan-Taek Ju, Hyun-Bok Kim and Gyoo-Byung Sung (2016). Optimization of culture conditions of Bacillus subtilis with α-glucosidase inhibitory. *Int. J. Indust. Entomol.* 33, 24 - 30.

10. Toshiyuki Kimura, Kiyotaka Nakagawa, Hiroyuki Kubota, Yoshihiro Kojima, Yuko Goto, Kenji Yamagishi, Shigeru Oita, Shinichi Oikawa and Teruo Miyazawa (2007). Food-grade mulberry

powder enriched with 1-deoxynojirimycin suppresses the elevation of postprandial blood glucose in humans. *J. Agric Food Chem.* 55 (14), 5869 - 74; doi: 10.1021/jf062680g. Epub 2007.

OPTIMIZATION CONDITIONS AND OBTAIN OF α-GLUCOSIDASE PRODUCTION FROM *Bacillus subtilis* TH2 AND SOYBEAN

Tran Lien Ha, Nguyen Thu Ha, Nguyen Van Cach

Summary

The number diabetic patient increases quickly from 220 million in 2010 to 350 million in 2025. Nowadays many methods are used to cure the disease including using α-glucosidase inhibitor (AGIs) for treatment type 2 diabetes. *Bacillus subtilis* TH2 was isolated from traditional fermented food and produces AGIs. Optimization of conditions for production of α-glucosidase inhibitor was carired out. The conditions for *Bacillus subtilis* TH2 from soybean producing the maximum α-glucosidase inhibitor of 78.7% are incubation time 48 h, temperature of 37°C, inoculum of 1%, soybean concentration of 30 g/L and pH of 7.4. Conditions to obtain α-glucosidase inhibitor from the *Bacillus subtilis* TH2 culture are using ethanol ratio of 80%V at 4°C during 1h and obtaining α-glucosidase inhibitor of 85.6%

Keywords: *Bacillus subtilis TH2, α-glucosidase inhibitor, receive, diabetic patient, experimental planning method.*

Người phản biện: PGS.TS. Bùi Quang Thuật

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/3/2023

Ngày duyệt đăng: 29/3/2023

NGHIÊN CỨU TỐI ƯU QUY TRÌNH REAL - TIME RT - PCR PHÁT HIỆN VI RÚT VIÊM GAN E TRONG NGAO DẦU

Phan Thị Thanh Hà[1, 2, *], Nguyễn Minh Anh[1], Nguyễn Văn Đức[1],
Lê Phấn Dương[1], Trương Tuyết Mai[2], Lê Quang Hòa[1]

TÓM TẮT

Vi rút viêm gan E (HEV) là một trong những tác nhân vi rút gây bệnh thực phẩm thường gặp trong nhuyễn thể hai mảnh vỏ (NTHMV). Mục tiêu của nghiên cứu này là tối ưu quy trình Real-time RT-PCR để phát hiện và định lượng HEV trong ngao dầu *(Meretrix meretrix)*. Để đạt được mục tiêu này, một tổ hợp mồi, mẫu dò có khả năng phát hiện hiệu quả nhất HEV đã được lựa chọn và hiệu chỉnh để đảm bảo độ bao phủ với các biến thể HEV và khả năng định lượng. Mặt khác, nồng độ Mg^{2+}, nồng độ mồi và mẫu dò trong phản ứng cũng đã được tối ưu để đảm bảo có thể chạy với chu trình nhiệt của ISO 15216-2: 2019 chuyên dùng để phân tích các vi rút gây bệnh thường gặp trong thực phẩm. Các kết quả cho thấy, với bộ mồi sau hiệu chỉnh và mẫu dò được biến đổi MGB (Minor groove binder), nồng độ Mg^{2+} là 4 mM; nồng độ mồi là 0,5 µM; nồng độ mẫu dò là 0,4 µM, giới hạn phát hiện (LOD95%) của phản ứng là 3,54 x 10^2 bản sao/mL, khoảng định lượng từ 2 x 10^3 đến 2 x 10^8 bản sao/mL. Các phân tích *in silico* cho thấy, tổ hợp mồi và mẫu dò đã thiết kế không có phản ứng chéo với các tác nhân vi rút gây bệnh thường gặp trong NTHMV. Khi được áp dụng trên 60 mẫu ngao dầu thu thập trên địa bàn Hà Nội từ tháng 3/2022 đến tháng 12/2022, quy trình cho phép phát hiện được 4 (6,7%) mẫu dương tính với HEV với mức độ nhiễm tạp từ 100 đến 1.200 bản sao/g.

Từ khóa: *Ngao dầu, vi rút viêm gan E, HEV, Real-time RT-PCR.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi rút viêm gan E (HEV) là một trong những tác nhân vi rút gây bệnh thực phẩm thường gặp trong nhuyễn thể hai mảnh vỏ (NTHMV) do kiểu sinh sống lọc nước để lấy thức ăn [1]. Theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới, hàng năm có trên 2,3 triệu người nhiễm HEV với 70.000 ca tử vong, chủ yếu liên quan đến việc tiêu thụ thực phẩm nhiễm vi rút [2]. Một nghiên cứu trên 281 mẫu huyết thanh tại các khu vực có nguy cơ ô nhiễm và 1.726 mẫu thu thập tại bệnh viện ở miền Nam, Việt Nam, tỷ lệ dương tính với kháng thể IgG anti-HEV lần lượt là 16% và 31,7% [3]. Tới nay, chưa có thống kê cụ thể về tình trạng nhiễm HEV trên cả nước. Cùng với đó, tình hình xuất khẩu NTHMV của Việt Nam cũng gặp nhiều thách thức khi phải đối mặt với tình trạng nhiễm tạp vi rút trong các lô hàng xuất khẩu. Trong năm 2021, xuất khẩu NTHMV của Việt Nam đạt 141,6 triệu USD, với ngao là sản phẩm chủ lực, chiếm 73% tương ứng gần 103 triệu USD; trong đó, ngao dầu (*Meretrix meretrix*) chiếm thị phần lớn. Tuy nhiên, một số lô hàng thủy sản xuất khẩu đã bị cảnh báo về tình trạng nhiễm tạp virus [4].

Các phương pháp phát hiện HEV trong thực phẩm nói chung và NTHMV nói riêng hiện đều dựa trên kỹ thuật Real-time RT-PCR do có độ nhạy và độ đặc hiệu cao [5]. Một nghiên cứu gần đây của Cuevas-Ferrando và cs (2020) [6] cho thấy, bộ mồi, mẫu dò phát hiện HEV do Schlosser và cs (2014) [7] thiết kế là có khả năng phát hiện RNA của HEV tốt nhất với giới hạn phát hiện LOD95% là 4,26 x 10^3 bản sao/L. Tuy nhiên, khả năng định lượng của bộ mồi và mẫu dò này không được đề

[1] Đại học Bách khoa Hà Nội
[2] Viện Dinh dưỡng Quốc gia
* Email: phanthithanhha.ninvn@gmail.com

cập trong các nghiên cứu trước đây. Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là tối ưu hóa phản ứng Real-time RT-PCR với bộ mồi và mẫu dò đã đề cập ở trên trong đó mẫu dò được biến đổi MGB (Minor groove binder) để làm tăng giá trị Tm hướng tới khả năng định lượng chính xác HEV trong mẫu phân tích.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

RNA mang trình tự vùng gen đích HEV được tiến hành phiên mã *in vitro* và tinh sạch với nồng độ gốc là 2,1 x 10^{11} bản sao/µL, được sử dụng để tối ưu hóa quy trình và xác định giới hạn phát hiện, khoảng định lượng của phương pháp. Sinh phẩm SuperScript III Platinum™ One-Step qRT-PCR Kit (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ) được sử dụng trong các phản ứng Real-time RT-PCR. Các oligonucleotide được tổng hợp bởi Công ty Macrogen (Hàn Quốc). Tổng số 60 mẫu ngao dầu được tiến hành thu thập tại các siêu thị và chợ dân sinh trên địa bàn Hà Nội trong thời gian từ tháng 3/2022 đến tháng 12/2022 với tần suất một tháng một lần, mỗi lần 6 mẫu (3 mẫu tại siêu thị và 3 mẫu tại chợ dân sinh).

2.2. Phương pháp hiệu chỉnh mồi và mẫu dò của Real-time RT-PCR phát hiện HEV

Các trình tự mồi và mẫu dò công bố trong nghiên cứu của Schlosser và cs (2014) [7] được hiệu chỉnh như sau: Đầu tiên các trình tự này được so sánh với ngân hàng dữ liệu GenBank bằng phần mềm BlastN, từ đó giúp xác định được các biến thể trình tự của HEV chưa được bao trùm. Tiếp đó, các trình tự mồi và mẫu dò gốc được suy biến tại các vị trí có xuất hiện đa hình với tiêu chí: (i) nhiệt độ nóng chảy (Tm) của mồi nằm trong khoảng 63 - 67°C để phù hợp với chu trình nhiệt của ISO 15216-2: 2019 [8] chuyên dùng để phân tích các virus gây bệnh thường gặp trong thực phẩm; (ii) mồi và mẫu dò mới không tạo cấu trúc bậc hai với Tm ≥ 50°C. Đặc biệt, mẫu dò Taqman được biến đổi với MGB nhằm tăng Tm của mẫu dò, giúp cải thiện khả năng định lượng [9].

2.3. Phương pháp tách chiết RNA virus từ ngao dầu

Quy trình tách chiết RNA từ ngao dầu được thực hiện theo ISO 15216-2: 2019 [8]. Mỗi mẫu bao gồm ít nhất 30 cá thể ngao dầu được rửa sạch, tách vỏ và mổ để lấy tuyến tiêu hóa. Sau khi băm nhỏ, 2 g mẫu được trộn với 10 µL vi rút kiểm chứng quá trình là Mengovirus và 2 mL Proteinase K nồng độ 0,1 mg/mL. Mẫu được đảo trộn bằng vortex trong 30 giây và ủ lắc ở 37°C với tốc độ 320 vòng/phút bằng máy ủ lắc trong 1 giờ. Sau đó, ống được ủ trong bể ổn nhiệt ở 60°C trong 15 phút. Sau quá trình ủ, ống được ly tâm ở 3.000 trong 5,0 ± 0,5) phút ở nhiệt độ phòng. Phần dịch nổi được hút chuyển vào một ống mới và 0,5 mL được sử dụng để tách chiết RNA sử dụng sinh phẩm NucliSens easyMAG. Trước tiên, 2 mL dung dịch đệm ly giải NucliSens được bổ sung vào ống và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp đó, thêm 50 µL dung dịch bi từ phủ silica đã đảo trộn kỹ vào ống, tiếp tục đảo trộn đều hỗn hợp và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp được ly tâm ở 1.500 x *g* trong 2 phút và loại bỏ dịch nổi. Sau đó, bi từ được rửa lần lượt bằng 400 µL dung dịch đệm rửa I, 500 µL dung dịch đệm rửa II và 500 µL dung dịch đệm rửa III trên hệ thống miniMAG. Cuối cùng, RNA được rửa giải trong 100 µL dung dịch đệm rửa giải, ủ lắc 1.400 vòng/phút, 60°C trong 5 phút. Các mẫu tách chiết RNA được bảo quản ở -80°C cho đến khi được phân tích bằng Real-time RT-PCR.

2.4. Real-time RT-PCR

Phản ứng Real-time RT-PCR được thực hiện với sinh phẩm SuperScript III Platinum™ One-Step qRT-PCR Kit (Thermo Fisher Scientific) với chu trình nhiệt theo ISO 15216-2: 2019 [8] như sau: 55°C - 30 phút, 95°C - 3 phút, 40 chu kỳ (95°C - 15 giây, 60°C - 1 phút, 65°C - 1 phút). Các phản ứng có tổng thể tích là 25 µL với thành phần: 12,5 µL 2X

Reaction Mix, 0,5 µL SuperScript™ III RT/Platinum™ Taq Mix; mồi, mẫu dò; nước không chứa RNase và 5 µL khuôn. Để đánh giá ảnh hưởng của nền mẫu, 10 mẫu RNA tách chiết từ ngao dầu đã được xác định là âm tính với HEV được trộn với nhau để thu nhận một mẫu nền đại diện. Mẫu đại diện này sau đó được được bổ sung RNA mang vùng gen đích tới các nồng độ mong muốn (được pha loãng từ mẫu RNA phiên mã *in vitro* gốc có nồng độ 2,1 x 10^{11} bản sao/µL).

Các thành phần của phản ứng Real-time RT-PCR được tối ưu đơn yếu tố một cách tuần tự bắt đầu bằng nồng độ Mg^{2+} (3, 4 và 5 mM), sau đó đến nồng độ mồi (0,2, 0,5 và 0,8 µM) và cuối cùng là nồng độ mẫu dò (0,2, 0,4 và 0,6 µM). Giá trị tối ưu xác định từ thí nghiệm trước được sử dụng cho các thí nghiệm sau. Trong thí nghiệm tối ưu nồng độ Mg^{2+}, nồng độ hỗn hợp mồi là 0,5 µM, nồng độ mẫu dò là 0,2 µM. Trong thí nghiệm tối ưu nồng độ mồi, nồng độ mẫu dò được sử dụng là 0,2 µM. Nồng độ khuôn được sử dụng cho thí nghiệm tối ưu thành phần phản ứng là 10^3 bản sao/µL khuôn. Phản ứng được thực hiện trên hệ thống Real-time PCR Eppendorf Realplex. Mẫu được coi là dương tính khi có giá trị C_T nhỏ hơn 40 [8]. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Sai khác giữa các nhóm được coi là có ý nghĩa khi giá trị $p < 0,05$. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm GraphPad Prism 9.

2.5. Xác định giới hạn phát hiện (LOD 95%) của phản ứng Real-time RT-PCR phát hiện HEV

RNA phiên mã *in vitro* của HEV (nồng độ ban đầu 2,1 x 10^{11} bản sao/µL) được pha loãng thập phân về các nồng độ cận ngưỡng là 1, 3 và 5 bản sao/phản ứng. Phản ứng Real-time RT-PCR được lặp lại mười lần trong điều kiện tối ưu. Giới hạn phát hiện của các phản ứng Real-time RT-PCR ở xác suất 95% (LOD 95%) được xác định theo Uhlig và cs (2015) [10] tại địa chỉ https://quodata.de/content/validation-qualitative-pcr-methods-single-laboratory/. Giá trị LOD 95% tính theo bản sao/mL được quy đổi theo công thức:

$$\text{LOD 95\% (bản sao/mL)} = \frac{\text{LOD 95\% (bản sao/phản ứng)} \times 1000}{5}$$

Trong đó: 1.000 là hệ số quy đổi đơn vị từ µL sang mL; 5 là thể tích khuôn (µL) sử dụng trong một phản ứng.

2.6. Xác định khoảng định lượng của phản ứng Real-time RT-PCR phát hiện HEV

Tương tự như phương pháp xác định giới hạn phát hiện, RNA phiên mã *in vitro* của HEV được pha loãng về các nồng độ 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2, 10^1, 5, 3, 1 bản sao/phản ứng. Phản ứng Real-time RT-PCR được lặp lại 3 lần ở mỗi nồng độ khuôn trong điều kiện đã được tối ưu. Khoảng định lượng của phản ứng Real-time RT-PCR phát hiện HEV được đánh giá dựa trên các thông số của đường chuẩn xây dựng từ các giá trị C_T thu được.

2.7. Phản ứng chéo của Real-time RT-PCR

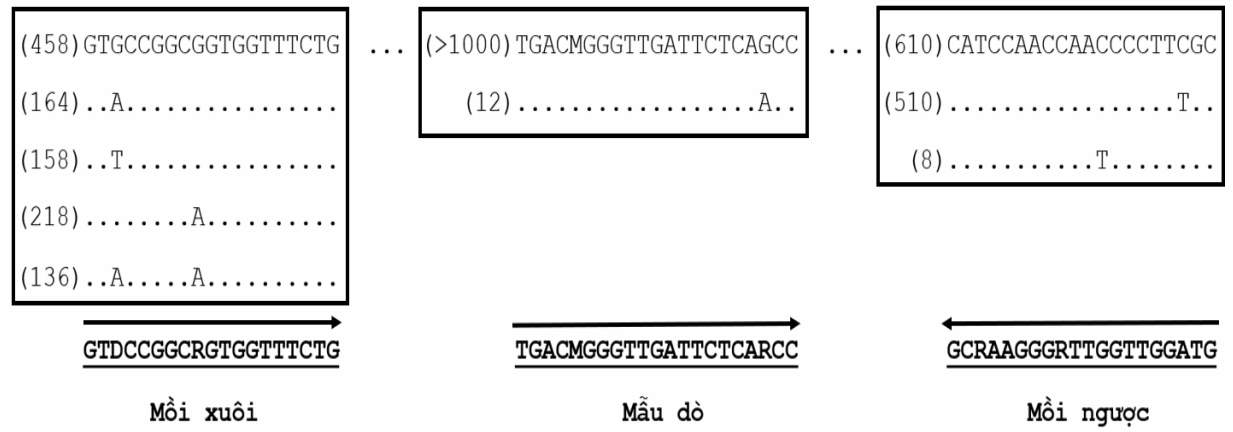
Phản ứng chéo của Real-time RT-PCR thiết lập trong nghiên cứu này với các tác nhân vi rút gây bệnh thường gặp trong nhuyễn thể hai mảnh vỏ được đánh giá *in silico* bằng cách so sánh các trình tự mồi và mẫu dò bằng công cụ BLASTN với các trình tự thể gen tham chiếu của các virus gây bệnh trong ngân hàng dữ liệu GenBank theo hướng dẫn của Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ [11]. Theo hướng dẫn này, trong trường hợp trình tự các mồi và mẫu dò có trên 80% độ tương đồng với trình tự thể gen tham chiếu, cần đánh giá phản ứng chéo bằng thực nghiệm.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu chỉnh mồi và mẫu dò của phản ứng Real - time RT - PCR phát hiện HEV

Các trình tự mồi và mẫu dò có ý nghĩa đặc biệt quan trọng, quyết định độ chính xác của xét nghiệm Real-time RT-PCR phát hiện HEV. Nhiều nghiên cứu được công bố trước đây đã tiến hành thiết kế các tổ hợp mồi, mẫu dò phát hiện HEV, trong đó điển hình là nghiên cứu của Jothikumar

và cs (2006) [12] và nghiên cứu của Schlosser và cs (2014) [7], được trích dẫn lần lượt bởi 793 nghiên cứu và 81 nghiên cứu theo thống kê của The National Center for Biotechnology Information tính tới tháng 1/2023. Gần đây, nghiên cứu của Enric Cuevas-Ferrando và cs (2020) [6] đã so sánh khả năng phát hiện HEV của hai bộ mồi, mẫu dò này và đã chỉ ra bộ mồi, mẫu dò của Schlosser và cs (2014) [7] có giới hạn phát hiện tốt hơn là 4,26 x 10^3 bản sao/mL. Vì vậy, đã tiến hành quy trình Real-time RT-PCR phát hiện HEV dựa trên bộ mồi, mẫu dò của Schlosser và cs (2014) [7]. Để kiểm tra độ bao phủ của tổ hợp mồi và mẫu dò này, công cụ BlastN đã được sử dụng để so sánh với trên 1.000 trình tự hệ gen đầy đủ của HEV.



Hình 1. Độ bao phủ của tổ hợp mồi, mẫu dò trong nghiên cứu của Schlosser và cs (2014) [7] với các hệ gen HEV công bố trên GenBank

Trình tự mồi trong nghiên cứu của Schlosser và cs (2014) là các trình tự ở trên cùng.

Số trong ngoặc đơn thể hiện số lượng trình tự ở mỗi nhóm biến thể.

Trình tự trình tự mồi và mẫu dò hiệu chỉnh được in đậm và gạch chân.

Hình 1 cho thấy, có tính đa hình cao trong vùng bắt cặp mồi và mẫu dò. Cụ thể, bên cạnh ba nhóm biến thể mang một vị trí sai khác, mồi xuôi có một biến thể mang hai vị trí sai khác, có thể ảnh hưởng nghiêm trọng đến khả năng bắt cặp của mồi xuôi và gây ra hiện tượng âm tính giả. Trong khi đó, ở trình tự mồi ngược và mẫu dò chỉ có một vị trí sai khác trên đa số các hệ gen HEV được phân tích nên vẫn có thể bắt cặp được khi sử dụng nhiệt độ bắt cặp mồi phù hợp. Tuy nhiên, hiệu quả bắt cặp của các biến thể này sẽ giảm so với khi trình tự bắt cặp hoàn toàn. Do đó, để đảm bảo độ bao phủ, các trình tự mồi và mẫu dò đã được hiệu chỉnh bằng cách suy biến tại các vị trí có tính đa hình (Hình 1).

Có thể nhận thấy, các trình tự mồi, mẫu dò sau khi hiệu chỉnh bổ sung nucleotide suy biến đã bao phủ toàn bộ các biến thể được tìm thấy trong ngân hàng dữ liệu GenBank. Giá trị nhiệt độ nóng chảy (Tm) của các trình tự mồi và mẫu dò sau hiệu chỉnh được kiểm tra bằng công cụ OligoAnalyzer™ Tool (IDT) và được trình bày ở bảng 1 (nhiệt độ nóng chảy của mẫu dò được thể hiện trong bảng 1 là khi chưa gắn gốc MGB). Có thể nhận thấy giá trị Tm của mẫu dò Taqman thông thường này là xấp xỉ giá trị Tm của mồi, dẫn tới nguy cơ mồi sẽ bắt cặp và kéo dài mạch trước khi mẫu dò bắt cặp vào trình tự đích. Điều này ảnh hưởng đáng kể tới khả năng định lượng RNA HEV của phản ứng. Với các phản ứng Real-time RT-PCR, mẫu dò cần phải có Tm cao hơn mồi khoảng 10°C [13]. Để giải quyết vấn đề này, mẫu dò đã được biến đổi MGB ở đầu 3' nhằm tăng Tm cho mẫu dò, hướng tới khả năng định lượng của xét nghiệm phát hiện HEV.

Bảng 1. Trình tự mồi, mẫu dò sử dụng trong phản ứng Real-time RT-PCR xác định HEV

Tên mồi, mẫu dò	Trình tự (5'–3')	Tm (°C)
HEV-F	GTDCCGGCRGTGGTTTCTG	66,7
HEV-R	GCRAAGGGRTTGGTTGGATG	65,3
HEV-Probe	TGACMGGGTTGATTCTCARCC	65,9

3.2. Tối ưu nồng độ ion Mg^{2+} trong phản ứng Real-time RT-PCR

Để tối ưu hóa quy trình Real-time RT-PCR phát hiện HEV, các thông số của phản ứng cần được tối ưu gồm có nồng độ Mg^{2+}, nồng độ tổ hợp mồi, mẫu dò. Ion Mg^{2+} là một trong những thành phần thiết yếu của phản ứng PCR, là cofactor của ADN polymerase. Nồng độ Mg^{2+} khuyến cáo đối với SuperScript III Platinum™ One-Step qRT-PCR Kit là nằm trong khoảng 3 mM đến 6 mM [14]. Khi nồng độ Mg^{2+} thiếu, hiệu quả tổng hợp ADN cũng như khả năng bắt cặp mồi và mẫu dò sẽ bị ảnh hưởng. Ngược lại, nồng độ Mg^{2+} quá cao có thể dẫn đến hiện tượng mồi bắt cặp không đặc hiệu, làm phát sinh các sản phẩm khuếch đại không đặc hiệu. Do đó, việc tối ưu lượng ion Mg^{2+} là rất cần thiết. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Mg^{2+} trong khoảng từ 3 - 5 mM (Bảng 2) cho thấy, giá trị C_T đã giảm gần 2 đơn vị khi tăng nồng độ Mg^{2+} từ 3 mM lên 4 mM và 5 mM ($p = 0,0001$). Giá trị C_T là thay đổi không đáng kể khi nồng độ Mg^{2+} tăng từ 4 mM lên 5 mM ($p = 0,8761$). Từ các kết quả này, 4 mM được lựa chọn là nồng độ Mg^{2+} cho các thử nghiệm tiếp theo.

Bảng 2. Kết quả tối ưu nồng độ ion Mg^{2+} trong phản ứng Real-time RT-PCR phát hiện HEV trên ngao dầu

Nồng độ ion Mg^{2+}	Trung bình $C_T \pm$ độ lệch chuẩn
3 mM	$28,58 \pm 0,18^a$
4 mM	$26,83 \pm 0,12^b$
5 mM	$26,91 \pm 0,29^b$

3.3. Tối ưu hóa nồng độ mồi trong phản ứng Real-time RT-PCR

Trong phản ứng PCR, nồng độ mồi cần đủ lớn để đảm bảo khả năng bắt cặp với vùng gen đích tạo lượng sản phẩm đủ lớn để có thể phát hiện được. Tuy nhiên, nếu nồng độ mồi quá lớn sẽ làm phát sinh primer dimer, cạnh tranh khả năng khuếch đại với sản phẩm chính, giảm khả năng định lượng của phản ứng Real-time PCR. Trong nghiên cứu này, do sử dụng các trình tự mồi có nucleotide suy biến, nên nồng độ của mồi xuôi và mồi ngược đã được khảo sát trong một khoảng giá trị rộng từ 0,2 - 0,8 µM. Kết quả thử nghiệm (Bảng 3) cho thấy hiệu quả khuếch đại được cải thiện rõ rệt khi nồng độ mồi tăng từ 0,2 µM lên 0,5 µM ($p < 0,0001$). Giá trị C_T là thay đổi không đáng kể khi nồng độ mồi tăng từ 0,5 µM lên 0,8 µM ($p = 0,544$). Do đó, nồng độ mồi 0,5 µM được lựa chọn là nồng độ mồi tối ưu cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 3. Kết quả tối ưu nồng độ mồi trong phản ứng Real-time RT-PCR phát hiện HEV trên ngao dầu

Tổ hợp mồi	Trung bình $C_T \pm$ độ lệch chuẩn
0,2 µM	$28,42 \pm 0,11^a$
0,5 µM	$26,87 \pm 0,20^b$
0,8 µM	$26,49 \pm 0,15^b$

3.4. Tối ưu hóa nồng độ mẫu dò phản ứng Real-time RT-PCR

Trong kỹ thuật Taqman Real-time PCR, việc đảm bảo nồng độ mẫu dò là hết sức cần thiết để duy trì tín hiệu đầu ra của phản ứng. Tuy nhiên, do giá thành của mẫu dò, việc tối ưu nồng độ mẫu dò là hết sức cần thiết để giảm chi phí xét nghiệm. Bảng 4 thể hiện kết quả tối ưu nồng độ mẫu dò với 3 giá trị thử

nghiệm là 0,2 µM, 0,4 µM và 0,6 µM. Kết quả cho thấy, giá trị C_T giảm hơn 1 chu kỳ khi tăng nồng độ mẫu dò từ 0,2 µM lên 0,4 µM (p = 0,0145); trong khi đó, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa giá trị C_T ở nồng độ mẫu dò 0,4 µM và 0,6 µM (p = 0,9298). Do vậy, nồng độ mẫu dò tối ưu là 0,4 µM.

Bảng 4. Kết quả tối ưu nồng độ mẫu dò trong phản ứng Real-time RT-PCR phát hiện HEV trên ngao dầu

Nồng độ mẫu dò	Trung bình C_T ± độ lệch chuẩn
0,2 µM	$26,60 \pm 0,55^a$
0,4 µM	$25,47 \pm 0,14^b$
0,6 µM	$25,37 \pm 0,14^b$

3.5. Xác định giới hạn phát hiện, khoảng định lượng của quy trình định lượng HEV bằng kỹ thuật Real-time RT-PCR

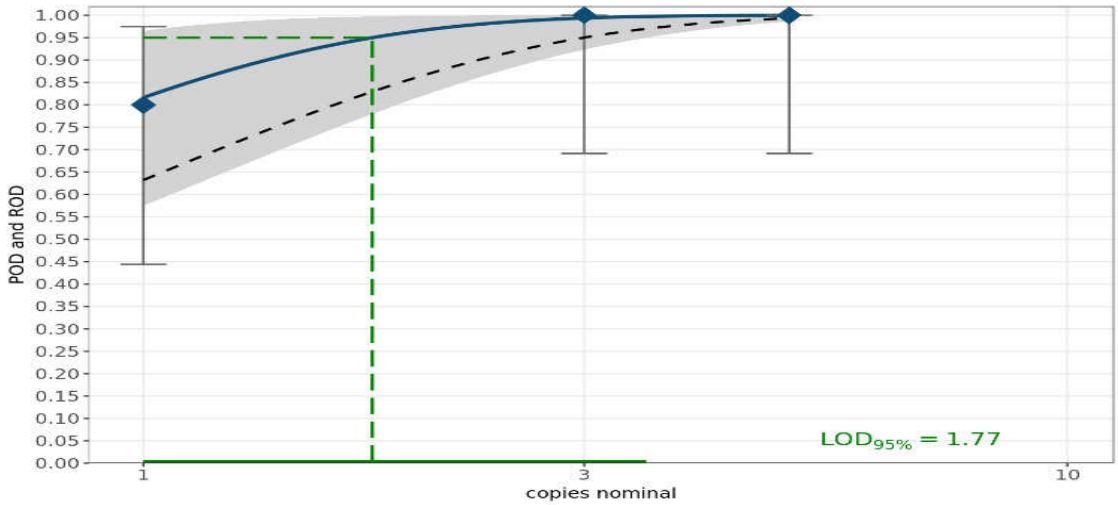
3.5.1. Xác định giới hạn phát hiện

Giới hạn phát hiện của phản ứng Real-time RT-PCR thiết lập trong nghiên cứu này được xác định bằng cách thử nghiệm RNA đích phiên mã *in vitro* ở nồng độ từ 1, 3 và 5 bản sao/phản ứng.

Bảng 5 cho thấy, khi nồng độ RNA đích lớn hơn hoặc bằng 3 bản sao/phản ứng, phản ứng Real-time RT-PCR cho kết quả dương tính trên tất cả 10 lần lặp. Ở nồng độ 1 bản sao/phản ứng, quy trình phát hiện được 8/10 mẫu dương tính. Từ các kết quả này, giới hạn phát hiện ở xác suất 95% (LOD95%) đối với HEV tính toán được là 1,77 bản sao/phản ứng (Hình 2). Với thể tích RNA được dùng trong mỗi phản ứng là 5 µL, giới hạn LOD95% sau khi quy đổi đạt 3,54 x 10^2 bản sao/mL RNA tách chiết. Kết quả này gần như tương đồng với kết quả nghiên cứu của Persson (2022) [15] và thấp hơn gần 3 lần so với nghiên cứu của Hennechart-Collette và cs (2021) [16].

Bảng 5. Giới hạn phát hiện của phản ứng Real-time RT-PCR phát hiện HEV

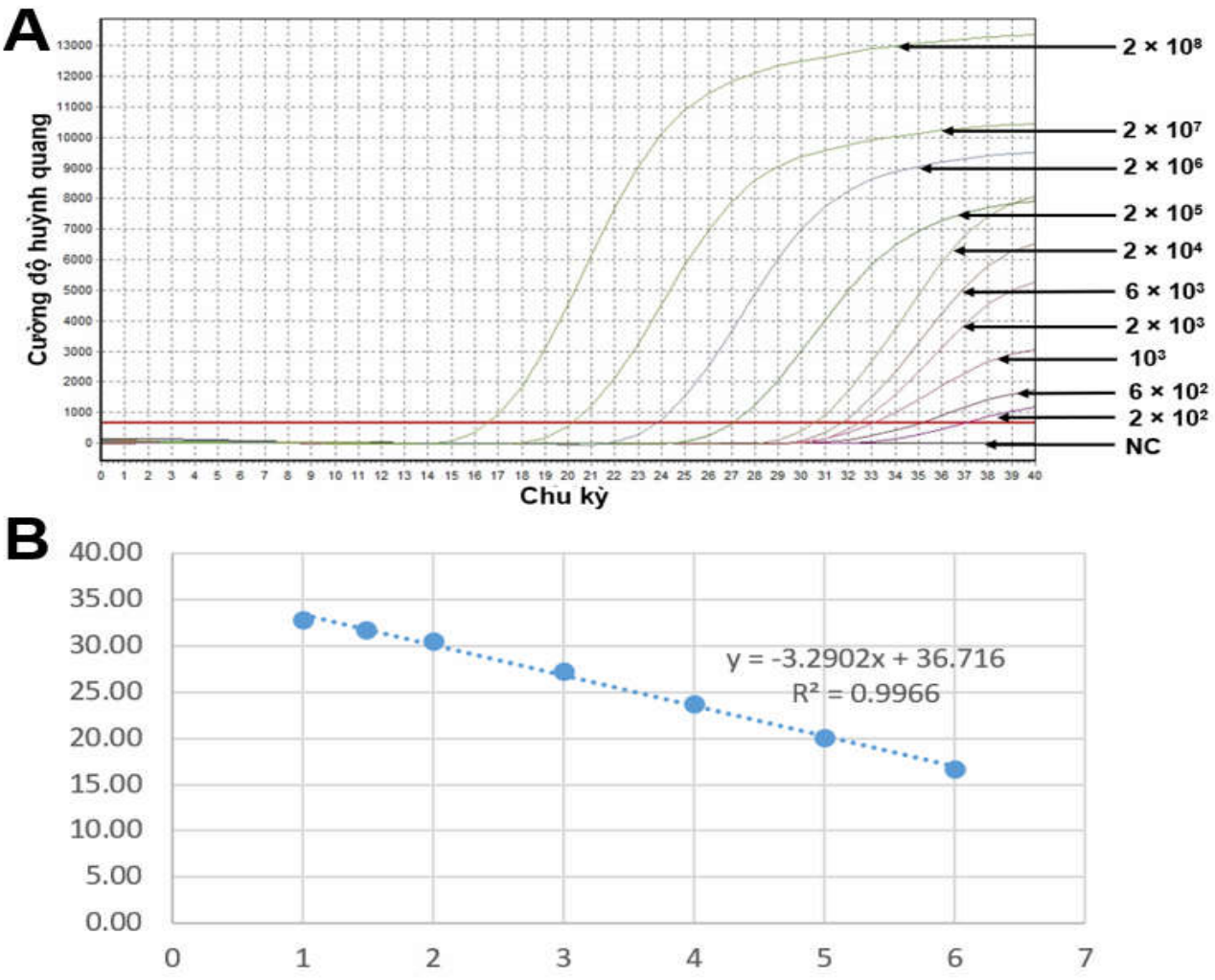
Nồng độ RNA (bản sao/phản ứng)	Số phản ứng dương tính/Tổng phản ứng
5	10/10
3	10/10
1	8/10



Hình 2. Kết quả xác định giới hạn phát hiện với xác suất 95% (LOD95%) của phản ứng Real-time RT-PCR phát hiện HEV

3.5.2. Xác định khoảng định lượng

Phản ứng xác định khoảng định lượng của quy trình Real-time RT-PCR được thực hiện với khuôn là RNA phiên mã *in vitro* của HEV ở các nồng độ 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2, 10^1, 5, 3 và 1 bản sao/phản ứng.



Hình 3. Quan hệ tuyến tính giữa giá trị chu kỳ ngưỡng C_T của phản ứng Real-time RT-PCR và log_{10} lượng phiên bản RNA của HEV trong khoảng nồng độ khảo sát từ 2 x 10^8 đến 2 x 10^2 bản sao/mL

A: Đường cong khuếch đại đại diện của các phản ứng Real-time RT-PCR sử dụng khuôn là các mẫu RNA đích có nồng độ từ 2 x 10^8 đến 2 x 10^2 bản sao/mL.

B: Phương trình đường chuẩn thể hiện mối quan hệ tuyến tính giữa Log_{10}[RNA] và giá trị C_T trong khoảng nồng độ từ 2 x 10^8 đến 2 x 10^2 bản sao/mL.

Hình 3 cho thấy, trong khoảng nồng độ từ 10^6 đến 10^1 bản sao/phản ứng, tồn tại mối quan hệ tuyến tính giữa Log_{10}[RNA] và giá trị C_T với hệ số tương quan R^2 đạt 0,997, hệ số góc -3,29 tương đương với hiệu quả khuếch đại 1,01. Khi quy đổi về đơn vị nồng độ bản sao/mL, phản ứng Real-time RT-PCR phát hiện HEV có khoảng định lượng từ 2 x 10^8 đến 2 x 10^3 bản sao/mL, tương đối tương đồng với các nghiên cứu phát hiện các loại virus khác trên NTHMV [16-18].

3.6. Phản ứng chéo của quy trình Real-time RT-PCR phát hiện HEV

Phản ứng chéo của quy trình Real-time RT-PCR thiết lập trong nghiên cứu này được đánh giá *in silico* theo hướng dẫn của Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) với 8 tác nhân vi rút gây bệnh thường gặp trong NTHMV gồm Norovirus GI, GII, Hepatitis A virus (HAV), Sapovirus, Rotavirus, Human Astrovirus, Aichivirus, Adenovirus. Kết quả phân tích cho thấy, tổ hợp mồi và mẫu dò đã thiết kế không có phản ứng chéo với 8 tác nhân trên (Bảng 6).

Bảng 6. Kết quả phân tích *in silico* phản ứng chéo của tổ hợp mồi, mẫu dò phát hiện HEV với các tác nhân vi rút gây bệnh thường gặp trong NTHMV

Tác nhân vi rút gây bệnh thường gặp trong NTHMV	Khả năng bắt cặp
Norovirus GI	Không phát hiện
Norovirus GII	Không phát hiện
Hepatitis A virus (HAV)	Không phát hiện
Sapovirus	Không phát hiện
Rotavirus	Không phát hiện
Human Astrovirus	Không phát hiện
Aichivirus	Không phát hiện
Adenovirus	Không phát hiện

3.7. Áp dụng quy trình Real-time RT-PCR đã xây dựng để phát hiện HEV trên ngao dầu

Quy trình Real-time RT-PCR đã xây dựng được áp dụng trên 60 mẫu ngao thu thập trên địa bàn Hà Nội trong khoảng thời gian từ tháng 3 tới tháng 12 năm 2023. Kết quả phân tích cho thấy, có 4 mẫu dương tính với HEV (Bảng 7). Mức độ nhiễm tạp của các mẫu dao động từ 1,0 x 10^2 đến 1,2 x 10^3 bản sao/g tuyến tiêu hóa. Tỷ lệ nhiễm tạp HEV trong các mẫu ngao dầu chiếm 6,7%, thấp hơn so với một nghiên cứu trước đây được thực hiện tại Việt Nam (tỷ lệ nhiễm tạp HEV trong NTHMV là 11,6%) [19].

Bảng 7. Kết quả phát hiện và định lượng HEV trong các mẫu ngao dầu trên địa bàn Hà Nội

Mẫu ngao	C_T	Mức nhiễm (bản sao/g)	Mẫu ngao	C_T	Mức nhiễm (bản sao/g)	Mẫu ngao	C_T	Mức nhiễm (bản sao/g)
1	>40	-	21	33,50	1,4 x 10^2	41	>40	-
2	>40	-	22	>40	-	42	>40	-
3	>40	-	23	>40	-	43	>40	-
4	>40	-	24	>40	-	44	>40	-
5	>40	-	25	>40	-	45	>40	-
6	>40	-	26	>40	-	46	>40	-
7	>40	-	27	>40	-	47	>40	-
8	>40	-	28	>40	-	48	>40	-
9	>40	-	29	>40	-	49	>40	-
10	>40	-	30	>40	-	50	>40	-
11	>40	-	31	>40	-	51	>40	-
12	>40	-	32	>40	-	52	>40	-
13	>40	-	33	30,38	1,2 x 10^3	53	>40	-
14	33,98	1,0 x 10^2	34	>40	-	54	>40	-
15	>40	-	35	33,42	1,5 x 10^2	55	>40	-
16	>40	-	36	>40	-	56	>40	-
17	>40	-	37	>40	-	57	>40	-
18	>40	-	38	>40	-	58	>40	-
19	>40	-	39	>40	-	59	>40	-
20	>40	-	40	>40	-	60	>40	-

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã hiệu chỉnh được tổ hợp mồi, mẫu dò có độ bao phủ cao với các trình tự của HEV trên ngân hàng dữ liệu GenBank tính đến tháng 3/2023. Thành phần tối ưu của phản ứng Real-time RT-PCR phát hiện và định lượng HEV là: 4 mM Mg^{2+}, 0,5 µM mỗi mồi, 0,4 µM mẫu dò. Khoảng định lượng của quy trình Real-time RT-PCR là từ 2 x 10^8 đến 2 x 10^3 bản sao/mL, với giới hạn phát hiện LOD95% đạt 3,54 x 10^2 bản sao/mL.

Các phân tích độ đặc hiệu *in silico* cho thấy, tổ hợp mồi và mẫu dò đã thiết kế không có phản ứng chéo với các tác nhân vi rút gây bệnh thường gặp trong NTHMV. Quy trình đã được áp dụng thành công trên 60 mẫu ngao dầu, cho phép phát hiện 4 mẫu dương tính với HEV với mức nhiễm tạp từ 1,0 x 10^2 đến 1,2 x 10^3 bản sao/g tuyến tiêu hóa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Grodzki, M., *et al.* (2014). *Bioaccumulation efficiency, tissue distribution, and environmental occurrence of hepatitis E virus in bivalve shellfish from France.* Appl Environ Microbiol. 80 (14): p. 4269 - 76.

2. WHO (2010). *The Global Prevalence of Hepatitis E Virus Infection and Susceptibility: A Systematic Review.* World Health Organization, Department of Immunization, Vaccines and Biologicals. WHO IVB 10.14.

3. Berto, A., *et al.* (2018). *Hepatitis E in southern Vietnam: Seroepidemiology in humans and molecular epidemiology in pigs.* Zoonoses and Public Health. 65(1): p. 43 - 50.

4. Trung tâm Nghiên cứu CSI – Bộ phận phân tích ngành (2021). Báo cáo ngành Thủy sản Việt Nam.

5. Stephenson, F. H., *Chapter 9 - Real-Time PCR*, in *Calculations for Molecular Biology and Biotechnology (Third Edition)*, F. H. Stephenson, Editor. 2016, Academic Press: Boston. p. 215 - 320.

6. Cuevas-Ferrando, E., *et al.* (2020). *Assessment of ISO Method 15216 to Quantify Hepatitis E Virus in Bottled Water.* Microorganisms. 8(5).

7. Schlosser, J., *et al.* (2014). *Natural and experimental hepatitis E virus genotype 3-infection in European wild boar is transmissible to domestic pigs.* Vet Res. 45 (1): p. 121.

8. ISO 15216-2: 2019. *Microbiology of the food chain — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR — Part 2: Method for detection.*

9. Kutyavin, I. V., *et al.* (2000). *3'-minor groove binder-DNA probes increase sequence specificity at PCR extension temperatures.* Nucleic Acids Res. 28 (2): p. 655 - 61.

10. Uhlig, S., *et al.* (2015). *Validation of qualitative PCR methods on the basis of mathematical–statistical modelling of the probability of detection.* Accreditation and Quality Assurance. 20 (2): p. 75 - 83.

11. Administration, U. F. a. D. (2021). *Template for Developers of Molecular Diagnostic Tests (accessed 14 April 2022).*

12. Jothikumar, N., *et al.* (2006). A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *J. Virol Methods*. 131(1): p. 65-71.

13. Campan, M., *et al.* (2018). *MethyLight and Digital MethyLight.* Methods Mol Biol. 1708: p. 497-513.

14. Scientific, T. F., *SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR Kit.* 11732-020.

15. Persson, S. (2022). *Improved methodologies for molecular detection and quantification of viruses in food.* Uppsala University.

16. Hennechart-Collette, C., *et al.* (2021). Detection of norovirus, hepatitis A and hepatitis E viruses in multicomponent foodstuffs. *International Journal of Food Microbiology*. 337: p. 108931.

17. Rivadulla, E., *et al.* (2019). *Detection of Hepatitis E Virus in Shellfish Harvesting Areas from Galicia (Northwestern Spain).* Viruses. 11(7).

18. La Bella, G., *et al.* (2021). *First Report of Hepatitis E Virus in Shellfish in Southeast Italy.* Applied Sciences. 11(1): p. 43.

19. Suffredini, E., *et al.* (2020). *Occurrence and molecular characterization of enteric viruses in bivalve shellfish marketed in Vietnam.* Food Control. 108: p. 106828.

OPTIMIZATION OF REAL-TIME RT-PCR ASSAY FOR DETECTION OF HEPATITIS E VIRUS IN ASIATIC HARD CLAM

Phan Thi Thanh Ha, Nguyen Minh Anh, Nguyen Van Duc

Le Phan Duong, Truong Tuyet Mai, Le Quang Hoa

Summary

Hepatitis E virus is one of the most frequent foodborne viral agents found in bivalve molluscs. This study aims to optimize the Real-time RT-PCR assay to detect the Hepatitis E virus in Asiatic hard clam *(Meretrix meretrix)*. To achieve this goal, a primers/probe set reported as the most effective for HEV detection was selected and adjusted to ensure full coverage of HEV variants and quantification ability. In addition, the concentration of Mg^{2+}, primers and probe in the reaction were optimized to match with the thermal cycling of the ISO 15216-2: 2019 which is the standard procedure for analyzing common foodborne viruses. Using adjusted primers and the MGB-modified probe (Minor groove binder), 4 mM of Mg^{2+}, 0.5 µM of primers, 0.4 µM of probe, limit of detection (LOD95%) of the assay reached 3.54 x 10^2 copies/mL, quantification range was from 2 x 10^3 to 2 x 10^8 copies/mL. *In silico* analyses showed that the primers/probe set did not cross-react with viral pathogens commonly found in bivalve molluscs. The assay was applied on 60 Asiatic hard clam samples collected in Ha Noi from March to December 2022, showing 4 (6.7%) samples positive for HEV with the contamination levels from 100 to 1,200 copies/g.

Keywords: *Meretrix meretrix, Hepatitis E virus, HEV, Real-time RT-PCR.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Minh Khanh

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/3/2023

Ngày duyệt đăng: 29/3/2023

KHẢ NĂNG HẠ ĐƯỜNG HUYẾT, KHÁNG OXY HÓA, KHÁNG KHUẨN CỦA CAO CHIẾT PHÂN ĐOẠN n-BUTANOL TỪ VỎ THÂN CÂY TRÂM VỎ ĐỎ (*Syzygium zeylanicum* L.)

Nguyễn Minh Trung[1, 2], Bùi Thị Bích Huyên[1],
Mai Quốc Quân[1], Huỳnh Ngọc Phương Dung[1],
Nguyễn Ngọc Hà Giang[3], Lê Thị Thùy[4], Nguyễn Quang Vinh[1, *]

TÓM TẮT

Trâm vỏ đỏ (*Syzygium zeylanicum* L.) là thảo dược được sử dụng tương đối phổ biến trong các bài thuốc dân gian. Một số nghiên cứu cho thấy, tiềm năng ứng dụng của cây thuốc này trong hỗ trợ và phòng ngừa đái tháo đường, tuy nhiên, bằng chứng khoa học về khả năng hạ đường huyết và các hoạt tính liên quan các cao chiết phân đoạn còn nhiều hạn chế. Nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng hạ đường huyết và các hoạt tính liên quan đến khả năng hỗ trợ điều trị đái tháo đường, bao gồm: Khả năng kháng oxy hóa trên mô hình *in-vivo*, khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh trên mô hình *in-vitro* của cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ. Kết quả cho thấy, cao chiết phân đoạn n-butanol làm chậm quá trình gia tăng đường huyết sau ăn và hạ đường huyết trên cá mô hình bị đái tháo đường sau 15 ngày điều trị. Ngoài ra, cao chiết phân đoạn n-butanol có khả năng kháng oxy hóa trên mô hình ấu trùng cá ngựa vằn. Đồng thời, ức chế *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Kết quả này cho thấy, tiềm năng ứng dụng của cao chiết phân đoạn n-butanol trong hỗ trợ và phòng ngừa đái tháo đường thông qua tác dụng đa mục tiêu liên quan đến sự ổn định đường huyết, kháng oxy hóa. Nghiên cứu tương lai cần xác định các nhóm hợp chất chính, đồng thời xác định cơ chế tác động thông qua một số chỉ thị phân tử nhằm đưa ra các phương pháp tiếp cận phù hợp trong các thử nghiệm chuyên sâu khác và trên lâm sàng.

Từ khoá: *Hạ đường huyết, kháng oxy hóa, kháng khuẩn, Trâm vỏ đỏ.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường (ĐTĐ) là bệnh mạn tính gây gánh nặng kinh tế xã hội trên toàn thế giới. Tỷ lệ mắc ĐTĐ toàn cầu liên tục gia tăng theo thời gian và ước tính chạm mức 783,2 triệu người (tương đương 12% dân số) vào năm 2045 [1]. Việt Nam là quốc gia có tốc độ gia tăng nhanh tỷ lệ người mắc ĐTĐ và ước tính ở mức 6% dân số vào năm 2020 [2]. Gia tăng đường huyết không kiểm soát là triệu chứng đặc trưng của người bệnh đái tháo đường. Tình trạng này cho thấy, sự rối loạn trao đổi chất, về lâu dài là tác nhân dẫn đến các biến chứng nguy hiểm của ĐTĐ, bao gồm: Mắt, thận, tim và mạch máu [3]. Ngăn cản sự gia tăng đường huyết là một mục tiêu điều trị quan trọng đối với bệnh nhân ĐTĐ, đồng thời cũng giải pháp phòng ngừa quan trọng ở người có nguy cơ mắc bệnh này.

Sự gia tăng đường huyết thể hiện thông qua mức đường huyết sau ăn và mức đường huyết lúc đói ở bệnh nhân ĐTĐ. Mục tiêu điều trị hướng đến làm chậm quá trình gia tăng đường huyết sau ăn và ổn định giá trị đường huyết lúc đói ở mức

[1] Viện Công nghệ sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên
[2] Khoa Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Trường Đại học Tây Nguyên
[3] Trung tâm Kiểm soát bệnh tật tỉnh Đắk Lắk
[4] Khoa Khoa học cơ bản, Trường Cao đẳng Sư phạm Đắk Lắk
[*] Email: nqvinh@ttn.edu.vn; vinh12b@gmail.com

bình thường. Có nhiều yếu tố nguy cơ tác động đến sự rối loạn kiểm soát đường huyết ở người bệnh ĐTĐ. Trong đó, stress oxy hóa là yếu tố nguy cơ cao liên quan đến sự khởi phát, tiến triển và khởi phát các biến chứng ở bệnh nhân ĐTĐ [4]. Stress oxy hóa mạn tính có thể dẫn đến kháng insulin, suy thoái chức năng tế bào beta tuyến tụy, phá hủy khả năng dung nạp và chuyển hóa đường, mất chức năng chuyển hóa năng lượng của ty thể, từ đó dẫn đến tình trạng của bệnh ĐTĐ [5]. Nghiên cứu của Johansen và cs (2005) [6], Matough và cs (2012) [7] cho thấy, các hợp chất chống oxy hóa tự nhiên từ thực vật có thể giúp giảm trạng thái stress oxy hóa và gia tăng hiệu quả kháng đái tháo đường từ thực nghiệm *in-vitro* đến các thử nghiệm lâm sàng. Một cách tiếp cận mới trong điều trị ĐTĐ liên quan đến khả năng kháng khuẩn của các tác nhân chống ĐTĐ. Trong đó, các tác nhân có khả năng kháng khuẩn thể hiện hoạt tính chống đái tháo đường và ngược lại đã thúc đẩy các hướng nghiên cứu mới nhằm tìm ra tác nhân điều trị ĐTĐ hiệu quả với tác động đa mục tiêu [8]. Có thể nói, nghiên cứu các tác nhân điều trị ĐTĐ mới với khả năng chống lại sự gia tăng đường huyết sau ăn, ổn định mức đường huyết lúc đói, chống stress oxy hóa và kháng khuẩn là cách tiếp cận cần thiết nhằm tạo ra các tác nhân điều trị mới hiệu lực và hiệu quả.

Trâm vỏ đỏ (*Syzygium zeylanicum* L.) là cây thuốc được sử dụng trong một số bài thuốc dân gian của người bản địa khu vực Tây Nguyên. Các nghiên cứu đã minh chứng tiềm năng chống ĐTĐ cao của các chiết xuất từ lá [9] hay vỏ thân [10] thể hiện thông qua khả năng kháng oxy hóa *in-vitro*, ức chế enzym tiêu hóa tinh bột hay khả năng chống lại sự gia tăng đường huyết sau ăn trên mô hình *in-vivo*. Các nghiên cứu cho thấy, nhiều loài cây thuộc Chi Trâm thể hiện các hoạt tính sinh học đa dạng, trong đó có liên quan đến chống stress oxy hóa, cải thiện độ nhạy insulin và chống ĐTĐ [11]. Tuy nhiên, thông tin khoa học về hiệu quả chống ĐTĐ liên quan đến khả năng chống stress oxy hóa và kháng khuẩn của Trâm vỏ đỏ còn nhiều hạn chế, đặc biệt là các phân tích liên quan đến cao chiết phân đoạn nhằm nâng cao hiệu quả sử dụng. Nghiên cứu này sử dụng n-butanol, dung môi có hiệu quả cao trong việc phân tách các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học, để tạo cao chiết phân đoạn từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ. Từ đó đánh giá khả năng làm chậm quá trình tăng đường huyết sau ăn, ổn định đường huyết lúc đói, giảm stress oxy hóa và kháng khuẩn gây bệnh của cao chiết phân đoạn nhằm đề xuất một số hướng tiếp cận ứng dụng phù hợp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ thu thập tại Khu Bảo tồn Thiên nhiên Easo, huyện Eakar, tỉnh Đắk Lắk, được làm khô bằng phương pháp sấy ở nhiệt độ 50°C đến khi đạt độ ẩm < 6%, nghiền nhỏ, đóng gói trong các túi polyethylene (PE), và bảo quản ở –30°C đến khi sử dụng.

Acarbose, metformin, resazurin, môi trường Luria-Bertani (LB) được cung cấp bởi Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Ethanol, butanol, H_2O_2 được cung cấp bởi Xilong Scientific Co. Ltd. (Chaosan, Shantou, Guangdong, Trung Quốc). Maltodextrin (MAX1000® series, Matsutani Chemical Industry Co., Ltd.) được cung cấp bởi DKSH management Ltd., Việt Nam. Tất cả hóa chất và thuốc thử đều đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị cao chiết phân đoạn

Cao chiết thô được chuẩn bị bằng phương pháp ngâm kiệt hỗ trợ siêu âm của Nguyen và cs (2022) [12]. Bột vỏ thân cây (< 2 mm) được ngâm trong hỗn dịch ethanol 50% với tỷ lệ bột: dung dịch 1: 10 w: v trong 2 phút trước khi siêu âm 15 phút bằng đầu dò đường kính 10 mm, tần số 28 kHz (Vietsonic, VS28H, Việt Nam). Hỗn hợp được trích ly trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi lọc với giấy lọc Whatman No.1. Quá trình được lặp lại thêm 2 lần trước khi được trộn và cô đặc bằng máy

cô quay chân không (IKA, Đức) ở 60°C đến khi đạt 1/2 thể tích ban đầu. Quá trình trích ly phân đoạn được tiến hành theo phương pháp của Nguyen và cs (2021) [13]. Theo đó, dịch chiết thô được tiến hành trích ly phân đoạn bằng n-butanol ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ, quá trình lặp lại cho đến khi không ghi nhận màu ở dịch chiết phân đoạn. Sau đó được trộn lại các lần lại, cô đặc và sấy khô hoàn toàn bằng máy sấy đông khô Operon FBD-5503 (Hàn Quốc) ở nhiệt độ và áp suất lần lượt là – 56°C và 0,001 Mbars. Cao chiết phân đoạn được bảo quản ở – 30°C đến khi sử dụng.

2.2.2. Đánh giá khả năng hạ đường huyết sau ăn

Cá ngựa vằn trưởng thành (300 - 400 mg/con) nhịn ăn 12 giờ trước khi thí nghiệm. Cá sau thời gian nhịn ăn được cho vào nước lạnh 4°C để hạ thân nhiệt. Giai đoạn gây mê được phát hiện khi cá mất thăng bằng, chuyển động mạnh và không có phản ứng. Cá gây mê sẽ được cho ăn cưỡng bức (force-feeding) theo phương pháp của Collymore và cs (2013) [14]. Cá được chia thành ba nhóm (6 con/nhóm; 3 cái 3 đực), cho ăn bằng maltodextrin (MD) và maltodextrin kết hợp với acarbose hoặc cao chiết phân đoạn n-butanol, như được mô tả dưới đây:

Nhóm 1: MD với liều 1 mg/g khối lượng cá (KLC) (đối chứng âm).

Nhóm 2: MD (1 mg/g cá) + Acarbose 75 mg/kg KLC (đối chứng dương).

Nhóm 3: MD (1 mg/g cá) + Cao chiết phân đoạn n-butanol 75 mg/kg KLC.

Đường huyết sau ăn của cá được tiến hành xác định tại các thời điểm 0, 30, 60, 120 và 180 phút sau khi cho ăn, máu được lấy theo phương pháp được mô tả bởi Zang và cs (2013) [15]. Mức đường huyết được đo bằng máy kiểm tra nhanh đường huyết Multicare-In (Biochemical Systems International, Italia).

2.2.3. Đánh giá hiệu quả ổn định đường huyết trên mô hình cá ngựa vằn bị đái tháo đường

Cá ngựa vằn được gây đái tháo đường bằng phương pháp cho ăn thừa (Over-feeding) bằng thức ăn giàu chất béo trong vòng 8 tuần, mô tả bởi Zang và cs (2017) [16]. Cá gây đái tháo đường được cho ăn với khối lượng thức ăn là 120 mg/con/ngày (6 lần/ngày). Nhóm đối chứng cho ăn theo tiêu chuẩn với khối lượng 20 mg/con/ngày (2 lần/ngày). Trạng thái đái tháo đường được xác định bằng chỉ số đường huyết lúc đói của cá đái tháo đường với cá đối chứng hàng tuần. Chỉ số khối cơ thể (Body Mass Index - BMI) được xác định theo mô tả bởi Zang và cs (2017) [16] và đường huyết được xác định bằng máy Multicare-In (Biochemical Systems International, Italia). Cá bị đái tháo đường khi chỉ số đường huyết và chỉ số BMI gấp ít nhất 1,5 lần cá bình thường.

Cá bị đái tháo đường được chia thành các lô thí nghiệm theo các nhóm, mỗi nhóm 6 con (3 đực, 3 cái) như sau:

Nhóm 1: Cá bình thường (NORM, chế độ ăn bình thường).

Nhóm 2: Cá bị đái tháo đường (DIABE, đối chứng âm, chế độ ăn bình thường).

Nhóm 3: Cá bị đái tháo đường ngâm cao Butanol (10 mg/L) (SZL_BF, chế độ ăn bình thường).

Nhóm 4: Cá bị đái tháo đường ngâm Metformin 20 µM (METFO, chế độ ăn bình thường).

Các nhóm cá được theo dõi trong 20 ngày và máu được lấy tại các thời điểm 5 ngày, 10 ngày, 15 ngày và 20 ngày theo phương pháp Zang và cs (2013) [15]. Mức đường huyết được đo bằng máy đo nhanh đường huyết (Multicare-In, Biochemical Systems International, Italia).

2.2.4. Đánh giá khả năng kháng oxy hóa trên mô hình ấu trùng cá ngựa vằn

Thực nghiệm đánh giá khả năng kháng oxy hóa trên mô hình ấu trùng cá ngựa vằn được tiến hành theo phương pháp Vong và cs (2016) [17].

H_2O_2 được sử dụng để gây stress oxy hóa trên ấu trùng cá. Ba mươi ấu trùng cá 5 ngày tuổi được xử lý với cao chiết phân đoạn n-butanol ở các nồng độ khác nhau trong 24 giờ trước khi tiếp xúc với H_2O_2 (1,4 mM). Tỷ lệ sống sót của ấu trùng sau đó được xác định tại các thời điểm 12, 24, 36, 48 và 60 giờ. Thực nghiệm được lặp lại 3 lần và phân tích thống kê để mô tả mức độ tác động. Khả năng kháng oxy hóa trên mô hình *in-vivo* được đánh giá gián tiếp thông qua khả năng bảo vệ ấu trùng cá trước tác động của H_2O_2 thông qua tỷ lệ sống sót theo thời gian tác động.

2.2.5. Đánh giá khả năng đối kháng vi khuẩn gây bệnh

Khả năng đối kháng vi khuẩn gây bệnh của cao chiết phân đoạn n-butanol được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch [18]. Vi khuẩn gram âm (*Escherichia coli*) và gram dương (*Staphylococcus aureus*) được lựa chọn làm chủng vi khuẩn mục tiêu. Cụ thể, 100 µL dịch vi khuẩn được phân tán đều trong môi trường Luria-Bertani (LB) rắn, giữ yên 30 phút để cố định. Sau đó, các lỗ thạch đường kính 6 mm được chuẩn bị trước khi bổ sung 100 µL dung dịch cao chiết với các nồng độ khác nhau. Tetracycline được chuẩn bị với nồng độ 0,1 mM làm đối chứng dương. Các đĩa nuôi cấy được ủ trong ở 37°C trong 24 giờ. Hoạt tính đối kháng vi khuẩn gây bệnh của cao chiết phân đoạn được đánh giá thông qua kích thước vùng ức chế (zone of inhibition - ZOI), vùng không ghi nhận sự có mặt của vi khuẩn sau 24 giờ nuôi cấy, đơn vị đo là mm.

2.2.6. Xác định giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum Inhibitory Concentration - MIC) đối với vi khuẩn gây bệnh

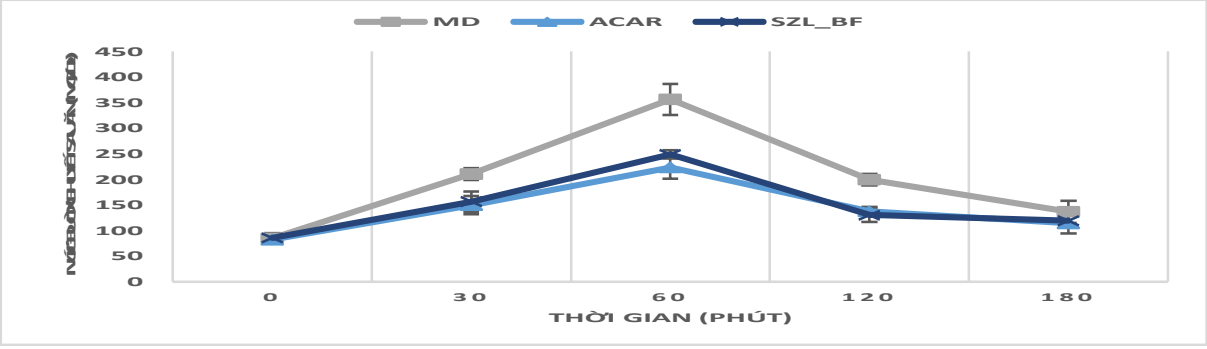
Nồng độ ức chế tối thiểu đối với *E. coli* và *S. aureus* được xác định dựa trên phương pháp resazurin-based turbidometric (TB) được mô tả bởi Teh và cs (2017) [19].

2.2.7. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần. Các kết quả được thể hiện dưới dạng kết quả trung bình của 3 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn. Sai khác có nghĩa về mặt thống kê của các kết quả được so sánh tại mức ý nghĩa $p \leq 0,05$ bằng phần mềm Statgraphics (StatPoint Technologies, USA). Đồ thị được biểu diễn bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Dữ liệu thực nghiệm đánh giá khả năng kháng oxy hóa được phân tích bằng phương pháp log-rank test và biểu thị bằng biểu đồ Kaplan-Meier sử dụng phần mềm Graphpad prism 9.0 (GraphPad Software, Boston, USA).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng hạ đường huyết sau ăn trên mô hình cá ngựa vằn



Hình 1. Khả năng hạ đường huyết sau ăn của cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ trên cá ngựa vằn bình thường

Ghi chú: MD: Maltodextrin (1 mg/g khối lượng cá - KLC); ACAR: Maltodextrin (1 mg/g KLC) + Acabose (75 mg/kg KLC); SZL_BF: Maltodextrin (1 mg/g KLC) + Cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ (75 mg/kg KLC).

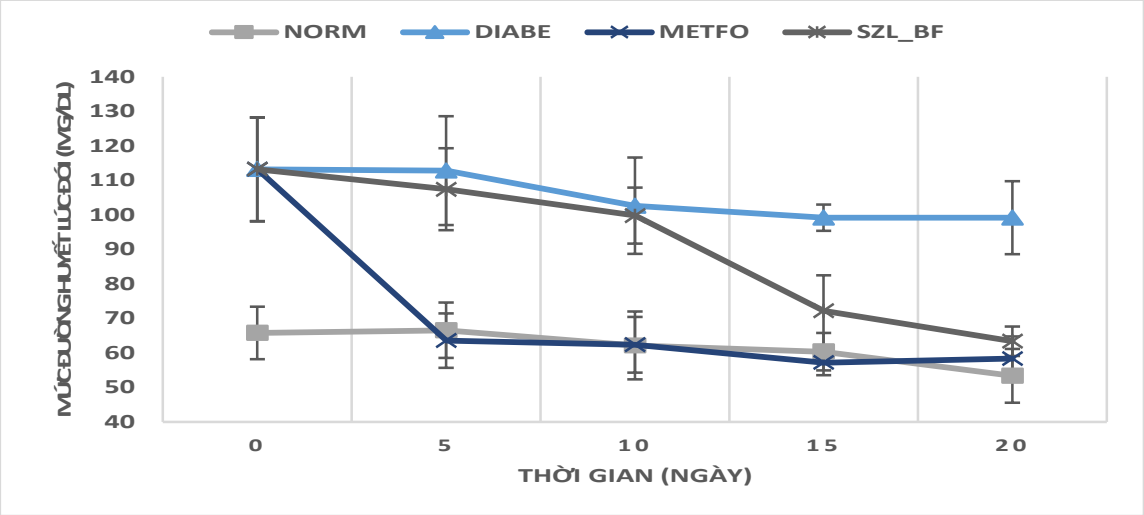
Kiểm soát đường huyết ở bệnh nhân đái tháo đường là một trong những mục tiêu điều trị quan trọng, trong đó kiểm soát đường huyết sau ăn ở mức ổn định được xem là phương pháp hữu hiệu [16]. Tối ưu mức đường huyết sau ăn và đường huyết lúc đói là rất quan trọng, tuy nhiên, nghiên

cứu của Hiyoshi và cs (2017) cho thấy, mức đường huyết sau ăn có thể là một dấu hiệu kiểm soát tốt hơn đường huyết lúc đói [20]. Thực nghiệm dung nạp bằng đường uống được sử dụng để đánh giá khả năng hạ đường huyết sau ăn của cao chiết phân đoạn n-butanol. Maltodextrin được sử dụng là nguồn cung cấp đường, quá trình tiêu hóa và hấp thụ maltodextrin có thể làm gia tăng đường huyết sau ăn. Acarbose, thuốc điều trị có hiệu lực trong việc làm chậm sự gia tăng đường huyết sau ăn, được sử dụng làm đối chứng dương.

Hình 1 cho thấy, đường huyết của tất cả các nghiệm thức đều tăng và đạt cực đại ở 60 phút và sau đó giảm dần. Tuy nhiên, mức độ gia tăng đường huyết ở các nghiệm thức là khác nhau. Cụ thể, việc bổ sung acabose và cao chiết phân đoạn n-butanol làm chậm đáng kể quá trình gia tăng đường huyết sau ăn từ 1,4 – 1,6 lần so với nghiệm thức không bổ sung, trong đó, hoạt tính của cao chiết phân đoạn n-butanol là tương đương so với acabose. Kết quả này cho thấy, cao chiết phân đoạn n-butanol có tiềm năng sử dụng hiệu quả trong hỗ trợ làm chậm quá trình gia tăng đường huyết sau ăn, từ đó có thể ứng dụng trong phòng và điều trị đái tháo đường.

3.2. Hiệu quả ổn định đường huyết trên mô hình cá ngựa vằn đái tháo đường

Hiệu quả tác động điều trị đái tháo đường được minh chứng cụ thể thông qua khả năng ổn định đường huyết ở bệnh nhân đái tháo đường. Nghiên cứu này tiến hành sử dụng mô hình cá đái tháo đường, được gây dựng bằng phương pháp được báo báo bởi Zhang và cs (2017) [16], nhằm đánh giá hiệu quả ổn định đường huyết của cao chiết phân đoạn n-butanol của vỏ thân Trâm vỏ đỏ. Trong đó, thuốc điều trị với hiệu lực ổn định đường huyết cao trên bệnh nhân đái tháo đường, metformin, được sử dụng làm đối chứng dương. Cá bình thường và cá đái tháo đường không được điều trị được sử dụng làm đối chứng âm để đánh giá hiệu quả tác động.



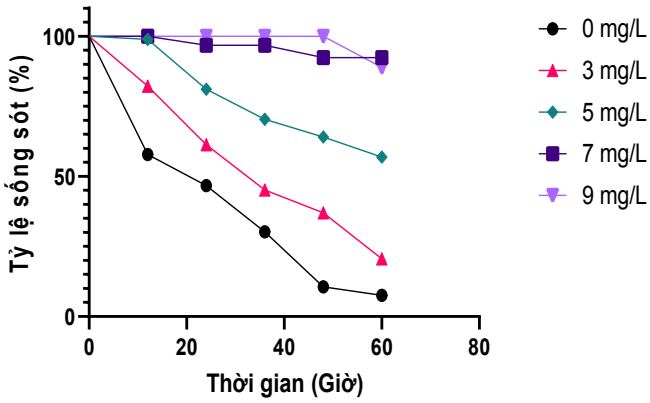
Hình 2. Hiệu quả tác động lên mức đường huyết của cá ngựa vằn bị đái tháo đường của cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ

NORM: Cá bình thường; DIABE: Cá bị đái tháo đường không được điều trị; METFO: Cá bị đái tháo đường được điều trị bằng Metformin (20 µM); SZL_BF: Cá bị đái tháo đường được điều trị bằng cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ (10 mg/L).

Hình 2 cho thấy, cao chiết phân đoạn n-butanol có hiệu quả tác động đáng kể đến mức đường huyết của cá bị đái tháo đường ($p < 0,05$). Cụ thể, mức đường huyết của cá bị đái tháo đường giảm đáng kể sau 15 ngày và về mức ổn định tương đương cá bình thường sau 20 ngày điều trị. Hoạt tính này thấp hơn khi so sánh với mức độ tác động của metformin, đường huyết về tương đương với cá bình thường sau 5 ngày điều trị ($p < 0,05$). Tuy nhiên, hiệu quả điều trị của cao chiết phân đoạn n-butanol vẫn thể hiện tốt từ 15 - 20 ngày điều

trị. Kết quả này cho thấy, cao chiết phân đoạn n-butanol tiềm năng ứng dụng hiệu quả trong điều trị đái tháo đường liên quan đến khả năng làm chậm sự gia tăng đường huyết sau ăn và ổn định đường huyết lúc đói.

3.3. Khả năng kháng oxy hóa trên mô hình ấu trùng cá ngựa vằn



Hình 1. Khả năng chống stress oxy hóa của cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ

Tỷ lệ sống sót của ấu trùng cá được đánh giá sau khi chịu tác động của hydrogen peroxide trong 60 giờ (n = 30). Dữ liệu được biểu diễn bằng đồ thị Kaplan-Meier and phân tích bằng phương pháp log-rank (từ dữ liệu 3 lần lặp lại)

Stress oxy hóa là một yếu tố góp phần vào sự khởi phát, tiến triển và các biến chứng liên quan của bệnh đái tháo đường. Môi trường stress oxy hóa có thể gây nên sự kháng insulin, rối loạn chức năng tế bào β, suy giảm khả năng dung nạp glucoza và rối loạn chức năng ty thể, cuối cùng có thể dẫn đến tình trạng bệnh đái tháo đường [5]. Nghiên cứu này đánh giá khả năng kháng đái tháo đường của cao chiết phân đoạn n-butanol thông qua hoạt tính chống stress oxy hóa. Thực nghiệm được tiến hành trên mô hình ấu trùng cá ngựa vằn, với tác nhân gây stress oxy hóa là hydrogen peroxide, sản phẩm trao đổi chất với khả năng gây oxy hóa mạnh. Hiệu lực chống stress oxy hóa của cao chiết phân đoạn n-butanol được mô tả thông qua khả năng bảo vệ ấu trùng cá trước tác động gây độc từ hydrogen peroxide, thể hiện ở tỷ lệ sống sót sau 60 giờ tác động.

Hình 3 cho thấy, dưới tác động của H_2O_2, tỷ lệ sống sót của ấu trùng cá giảm nhanh sau 12 giờ tác động và chỉ đạt 7,6% sau 60 giờ. Từ đó, việc bổ sung cao chiết phân đoạn n-butanol cho thấy hiệu quả rõ rệt trong việc chống lại stress oxy hóa gây nên bởi H_2O_2. Cụ thể, từ nồng độ cao chiết tác động 3 - 5 mg/L làm tăng tỷ lệ sống sót lên tương ứng 20,5% và 56,9%. Đặc biệt, khi sử dụng nồng độ 7 - 9 mg/L, tỷ lệ sống sót duy trì ở mức cao trong suốt quá trình theo dõi và đạt trên 89% sau 60 giờ tác động. Sự khác biệt rõ rệt về thống kê giữa các nghiệm thức được mô tả ở mức $p < 0,0001$. Kết quả này cho thấy, cao chiết phân đoạn n-butanol có thể tác động tích cực đến hoạt động chống stress oxy hóa, thông qua đó có hiệu lực tác động làm chậm quá trình gia tăng đường huyết sau ăn cũng như ổn định đường huyết sau điều trị ở trên.

3.4. Khả năng đối kháng vi khuẩn gây bệnh *E. coli* và *S. aureus*

Bảng 1 cho thấy, cao chiết phân đoạn n-butanol có khả năng đối kháng vi khuẩn *E. coli* và *S. aureus*. Cụ thể, kích thước vùng kháng khuẩn gia tăng rõ rệt theo nồng độ cao chiết sau 24 giờ nuôi cấy ($p < 0,05$). Đường kính vùng kháng khuẩn trung bình đối với *E. coli* và *S. aureus* đều đạt 17 mm ở nồng độ 100 mg/mL cao chiết. Khả năng kháng khuẩn này thấp hơn Tetracyline nồng độ 0,1 mM (Bảng 1).

Kết quả xác định giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) cho thấy, *S. aureus* nhạy cảm hơn so với *E. coli* dưới tác động của cao chiết phân đoạn n-butanol với giá trị MIC lần lượt là 1,6 và 12,5 mg/mL. Kết quả nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu Singh và cs (2016) [18] ghi nhận về mức độ ức chế mạnh hơn của các cao chiết từ *Syzygium cumini* đối với *S. aureus*. Nghiên cứu cho thấy, thành phần enzym phân hủy các hợp chất kháng khuẩn từ thực vật ít được tìm thấy trong cấu trúc lớp ngoài màng tế bào của vi khuẩn Gram dương hơn so với vi khuẩn Gram âm [21]. Đặc điểm này có thể liên quan đến sự khác nhau

về hoạt tính đối kháng của cao chiết phân đoạn n-butanol ghi nhận trong nghiên cứu này.

Đái tháo đường và tình trạng gia tăng đường huyết của bệnh lý này làm tăng nguy cơ xâm nhiễm các vi khuẩn gây bệnh [22] bao gồm *E. coli* [23] và *S. aureus* [24]. Khả năng kháng đái tháo đường và kháng khuẩn đang được xem xét là cách tiếp cập đa mục tiêu nhằm tăng hiệu quả phòng ngừa và điều trị đái tháo đường [8]. Do đó, khả năng đối kháng *E. coli* và *S. aureus* của cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ cùng với các hoạt tính ở trên cho thấy, khả năng sử dụng cao chiết này như một nguồn cung cấp hiệu quả các hợp chất có khả năng kháng đái tháo đường, đồng thời kháng khuẩn, phục vụ cho phát triển các loại thuốc mới có hiệu lực và hiệu quả cao.

Bảng 1. Khả năng đối kháng *E. coli* và *S. aureus* của cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ

Chủng vi khuẩn	Kích thước vùng ức chế (mm) theo nồng độ cao chiết (mg/mL)							Tetracycline 0,1 mM	MIC (mg/mL)
	5	10	12,5	25	50	75	100		
E. coli	$9,0\pm0,0^{h}$	$10,7\pm0,6^{g}$	$11,7\pm0,6^{f}$	$14,0\pm0,0^{e}$	$15,0\pm0,0^{d}$	$16,0\pm0,0^{c}$	$17,0\pm0,0^{b}$	$27,0 \pm 1,0^{a}$	12,5
S. aureus	$9,7\pm0,6^{g}$	$12,0\pm0,0^{f}$	$12,7\pm0,6^{ef}$	$13,5\pm0,5^{de}$	$14,5\pm0,5^{cd}$	$15,5\pm0,5^{c}$	$17,0\pm0,0^{b}$	$31,3 \pm 1,2^{a}$	1,6

Ghi chú: Kết quả được thể hiện dưới dạng trung bình 3 lần lặp ± độ lệch chuẩn. Ký tự khác nhau (a-f) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt tính giữa các nồng độ cao chiết ở mức ý nghĩa p < 0,05.

4. KẾT LUẬN

Cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ có khả năng làm chậm quá trình gia tăng đường huyết sau ăn trên cá ngựa vằn, đồng thời có hiệu quả điều trị đối với cá bị đái tháo đường thông qua khả năng ổn định đường huyết ở mức bình thường sau 20 ngày tác động. Ngoài ra, cao chiết phân đoạn có khả năng bảo vệ ấu trùng cá ngựa vằn trước tác động stress oxy hóa do H_2O_2 gây nên ở nồng độ tác động 7 – 9 mg/L. Bên cạnh đó, cao chiết phân đoạn còn thể hiện hoạt tính đối kháng vi khuẩn gây bệnh *E. coli* và *S. aureus*, trong đó, khả năng ức chế *S. aureus* nổi bật hơn so với *E. coli*. Như vậy, cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ có tiềm năng ứng dụng cao trong việc sử dụng như một tác nhân hiệu lực và hiệu quả trong phòng ngừa và điều trị đái thái đường với tác động đa mục tiêu thông qua khả năng giảm stress oxy hóa và kháng khuẩn. Ngoài ra, cao chiết này còn là nguồn cung cấp các hợp chất có tiềm năng phát triển các loại thuốc mới với cách tiếp cận đa hoạt tính, hiệu lực và hiệu quả cao. Nghiên cứu tương lai cần xác định nhóm hoạt chất chính này và phương pháp tiếp cận khai thác hiệu quả.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự tài trợ của Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED), mã số 106.99-2020.17.

Chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF) đã tài trợ cho NCS Nguyễn Minh Trung, mã số VINIF.2022.TS139.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sun H., Saeedi P., Karuranga S., Pinkepank M., Ogurtsova K., Duncan B. B., Stein C., Basit A., Chan J. C. N., Mbanya J. C., Pavkov M. E., Ramachandaran A., Wild S. H., James S., Herman W. H., Zhang P., Bommer C., Kuo S., Boyko E. J., Magliano D. J. (2022). IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. Diabetes Res Clin Pract 183: 109119. doi:10.1016/j.diabres.2021.109119.

2. Biswas T., Tran N., Thi My Hanh H., Van Hien P., Thi Thu Cuc N., Hong Van P., Anh Tuan K., Thi Mai Oanh T., Mamun A. (2022). Type 2 diabetes and hypertension in Vietnam: A systematic review and meta-analysis of studies

between 2000 and 2020. *BMJ Open* 12 (8):e052725. doi:10.1136/bmjopen-2021-052725.

3. Negre-Salvayre A., Salvayre R., Auge N., Pamplona R., Portero-Otin M. (2009). Hyperglycemia and glycation in diabetic complications. Antioxid Redox Signal 11 (12):3071-3109. doi:10.1089/ars.2009.2484.

4. Giacco F., Brownlee M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. Circ. Res. 107 (9):1058-1070. doi:10.1161/circresaha.110.223545.

5. Rains J. L., Jain S. K. (2011). Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. Free Radic Biol Med 50 (5): 567-575. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.006.

6. Johansen J. S., Harris A. K., Rychly D. J., Ergul A. (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. Cardiovasc Diabetol 4: 5. doi:10.1186/1475-2840-4-5.

7. Matough F. A., Budin S. B., Hamid Z. A., Alwahaibi N., Mohamed J. (2012). The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. Sultan Qaboos Univ Med J 12 (1): 5-18. doi:10.12816/0003082.

8. Hegazy W. A. H., Rajab A. A. H., Abu Lila A. S., Abbas H. A. (2021). Anti-diabetics and antimicrobials: Harmony of mutual interplay. *World J Diabetes*, 12 (11): 1832-1855. doi:10.4239/wjd.v12.i11.1832.

9. Mai T. T., Thu N. N., Tien P. G., Van Chuyen N. (2007). Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* (Tokyo) 53 (3): 267-276. doi:10.3177/jnsv.53.267.

10. Nguyen V. B., Wang S. L., Nguyen T. H., Doan C. T., Tran T. N., Kuo Y. H., Nguyen Q. V., Nguyen A. D. (2019). New indications of potential rat intestinal α-glucosidase inhibition by *Syzygium zeylanicum* (L.) and its hypoglycemic effect in mice. Research on Chemical Intermediates 45 (12): 6061-6071. doi:10.1007/s11164-019-04019-4.

11. Amir Rawa M. S., Mazlan M. K. N., Ahmad R., Nogawa T., Wahab H. A. (2022). Roles of Syzygium in Anti-Cholinesterase, Anti-Diabetic, Anti-Inflammatory, and Antioxidant: From Alzheimer’ s Perspective. Plants 11 (11): 1476.

12. Nguyen M. T., Van Chuyen H., Tran M. D., Nguyen Q. V. (2022). Microencapsulation of *Syzygium zeylanicum* (L.) DC. extract using spray drying: Effects of wall materials on physicochemical characteristics and biological activities of the microcapsules. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46 (7): e16647. doi:10.1111/jfpp.16647.

13. Nguyen Quang V., Hung P. V., Nguyen A. D. (2021). Antioxidant and hypoglycemic activities of various solvent fractions of methanol extract of Terminalia alata Heyne ex Roth trunk-bark. Nova Biotechnologica et Chimica 20 (1): 748. doi:10.36547/nbc.748.

14. Collymore C., Rasmussen S., Tolwani R. J. (2013). Gavaging adult zebrafish. *J. Vis. Exp.* (78). doi:10.3791/50691.

15. Zang L., Shimada Y., Nishimura Y., Tanaka T., Nishimura N. (2013). A novel, reliable method for repeated blood collection from aquarium fish. Zebrafish 10 (3): 425 - 432. doi:10.1089/zeb.2012.0862.

16. Zang L., Shimada Y., Nishimura N. (2017). Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus. Sci. Rep. 7 (1): 1461. doi:10.1038/s41598-017-01432-w.

17. Vong L. B., Kobayashi M., Nagasaki Y. (2016). Evaluation of the Toxicity and Antioxidant Activity of Redox Nanoparticles in Zebrafish (Danio rerio) Embryos. Molecular Pharmaceutics 13 (9):3091-3097. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.6b00225.

18. Singh J. P., Kaur A., Singh N., Nim L., Shevkani K., Kaur H., Arora D. S. (2016). In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. LWT - Food Science and Technology 65: 1025-1030. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.038.

19. Teh C. H., Nazni W. A., Nurulhusna A. H., Norazah A., Lee H. L. (2017). Determination of antibacterial activity and minimum inhibitory concentration of larval extract of fly via resazurin-based turbidometric assay. *BMC Microbiology* 17 (1): 36. doi:10.1186/s12866-017-0936-3.

20. Hiyoshi T., Fujiwara M., Yao Z. (2017). Postprandial hyperglycemia and postprandial hypertriglyceridemia in type 2 diabetes. *J. Biomed. Res.* 33 (1): 1-16. doi:10.7555/jbr.31.20160164.

21. Piekarska-Radzik L., Klewicka E. (2021). Mutual influence of polyphenols and Lactobacillus spp. bacteria in food: A review. *European Food Research and Technology* 247 (1): 9 - 24. doi:10.1007/s00217-020-03603-y.

22. Casqueiro J., Casqueiro J., Alves C. (2012). Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian J. Endocrinol. Metab.* 16 Suppl 1 (Suppl1): S27-36. doi:10.4103/2230-8210.94253.

23. Mohanty S., Kamolvit W., Scheffschick A., Björklund A., Tovi J., Espinosa A., Brismar K., Nyström T., Schröder J. M., Östenson C. G., Aspenström P., Brauner H., Brauner A. (2022). Diabetes downregulates the antimicrobial peptide psoriasin and increases *E. coli* burden in the urinary bladder. Nature Communications 13 (1): 4983. doi:10.1038/s41467-022-32636-y.

24. Wei R., Wang X., Wang Q., Qiang G., Zhang L., Hu H. Y. (2022). Hyperglycemia in Diabetic Skin Infections Promotes Staphylococcus aureus Virulence Factor Aureolysin: Visualization by Molecular Imaging. ACS Sens 7 (11): 3416-3421. doi:10.1021/acssensors.2c01565.

THE HYPOGLYCEMIC CAPACITY, *IN VIVO* ANTIOXIDANT, ANTI -BACTERIA ACTIVITIES OF n-BUTANOL FRACTION FROM THE TRUNK - BARK OF *Syzygium zeylanicum* L.

Nguyen Minh Trung[1, 2], Bui Thi Bich Huyen[1], Mai Quoc Quan[1], Huynh Ngoc Phuong Dung[1], Nguyen Ngoc Ha Giang[3], Le Thi Thuy[4], Nguyen Quang Vinh[1, *]

[1]*Institute of Biotechnology and Environment, Tay Nguyen University*
[2]*Faculty of Natural Science and Technology, Tay Nguyen University*
[3]*Centers for Disease Control and Prevention Dak Lak Province*
[4]*Faculty of Fundamental Science, Dak Lak College of Pedagogy*
[*] *Email: nqvinh@ttn.edu.vn; vinh12b@gmail.com*

Summary

Syzygium zeylanicum L. is a relatively popular herb used in folk medicines. Some scientific evidence suggests that this medicinal plant may be useful in preventing and treating diabetes; however, scientific evidence for antidiabetic and other biological activities related to antidiabetes of n-butanol fractional extract remains limited. The study aimed to evaluate antidiabetic and antioxidant activities *in-vivo* and antibacterial activity *in vitro* of the n-butanol fraction of the trunk bark of *S. zeylanicum* L. The results showed that the n-butanol fraction slowed postprandial hyperglycemia and hypoglycemia in diabetic zebrafish models after 15 days of treatment. Furthermore, the n-butanol fraction exhibited antioxidant capacities in the zebrafish larvae models. In addition, it also inhibited the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. These findings suggested that the n-butanol fraction could be useful in diabetes prevention due to its multi-targeted effects, including blood glucose stability and antioxidant activities. Future research needs to identify the main groups of compounds and the mechanisms-based biomarkers to provide appropriate approaches in intensive practices and clinical trials.

Keywords: *Antioxidant, antibacterial, hypoglycemia, Syzygium zeylanicum L.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Hoài Trâm

Ngày nhận bài: 8/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 5/4/2023

Ngày duyệt đăng: 12/4/2023

SẢN XUẤT SẢN PHẨM PROTEIN THỦY PHÂN TỪ DA CÁ HỒI *(Salmo salar)* BẰNG ENZYME ALCALASE

Lê Thị Minh Thủy[1, *],
Trương Thị Mộng Thu[1], Trần Thanh Trúc[2]

TÓM TẮT

Nghiên cứu ứng dụng alcalase sản xuất sản phẩm thủy phân protein từ da cá hồi được thực hiện nhằm tận dụng nguồn phụ phẩm thủy sản để sản xuất sản phẩm giá trị gia tăng. Nghiên cứu được thực hiện với 2 thí nghiệm: (i) khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiết xuất đến chất lượng gelatin từ da cá hồi; (ii) ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thủy phân gelatin đến chất lượng sản phẩm thủy phân protein. Kết quả cho thấy, chế độ nấu chiết da cá ở 80°C trong 2 giờ cho sản phẩm gelatin có hiệu suất thu hồi, độ bền gel, độ nhớt cao và màu sắc sáng tương ứng lần lượt là 12,9%, 158 g, 18,4 m.Pas và L* (79,0). Sản phẩm thủy phân protein thu được từ quá trình thuỷ phân gelatin với 5% alcalase ở 50°C trong 1 giờ có hiệu suất thu hồi, độ nhớt cao và màu sắc sáng tương ứng lần lượt là 96,1%, 13,3 mPa.s và L* (98,5). Hàm lượng amino axit kỵ nước trong sản phẩm thuỷ phân protein chiếm 580 đơn vị/1.000 đơn vị, hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) và hiệu suất thủy phân cao lần lượt là 59,75% và 63,83%.

Từ khoá: *Alcalase, da cá hồi, hoạt tính chống oxy hóa, phổ FTIR, sản phẩm protein thủy phân.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá hồi (*Salmo salar*) là loài cá có giá trị kinh tế cao vì chất lượng thịt ngon và giàu dinh dưỡng [1]. Ngành công nghiệp phi lê cá hồi phục vụ sản xuất sản phẩm sashimi phát triển với tốc độ nhanh đã tạo ra một lượng lớn phụ phẩm, trong đó da cá hồi chiếm khoảng 30% khối lượng toàn thân cá và chứa hàm lượng collagen cao, tuy nhiên nguồn da cá hồi chưa được tận dụng hiệu quả [2].

Sản phẩm protein thủy phân là hỗn hợp các peptide có khối lượng phân tử nhỏ hơn 20 kDa thu được bằng cách thủy phân collagen hoặc gelatin bởi enzyme. Trong số protease thì alcalase đã được nhiều nhà nghiên cứu sử dụng để thủy phân protein từ phụ phẩm thủy sản vì hiệu suất thủy phân cao. Hơn nữa, alcalase được lựa chọn sử dụng vì chí phí thấp hơn so với các loại protease khác [3]. Sản phẩm protein thủy phân có hoạt tính sinh học đa dạng như khả năng chống oxy hóa, chống đông, kháng khuẩn, ngăn chặn tia cực tím và là chất kích thích giúp các hormone trong trị bệnh viêm khớp và dễ dàng được hấp thụ vào cơ thể. Bên cạnh đó, sản phẩm protein thủy phân có khả năng hòa tan tốt trong nước, kể cả nước lạnh và khả năng tiêu hóa tốt. Do đó, sản phẩm protein thủy phân có thể được bổ sung vào thức ăn, đồ uống với vai trò là chất chống oxy hóa và đồng thời hỗ trợ cho sức khỏe, đặc biệt là xương và da [4]. Do đó, Tkaczewska và cs (2020) [5] đã nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện thủy phân đến hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm thuỷ phân protein từ da cá chép (*Cyprinus carpio*). Tuy nhiên, các báo cáo khoa học về sản xuất sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi ít được công bố. Chính vì thế, sản xuất sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi (*Salmo salar*) bằng enzyme alcalase đã được thực hiện ở quy mô phòng thí nghiệm nhằm nâng cao giá trị cho da cá hồi và đa dạng nguồn cung cấp sản phẩm protein thuỷ phân.

[1] Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
* Email: ltmthuy@ctu.edu.vn

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị mẫu

Da cá hồi được thu từ Công ty Cổ phần Thực phẩm VIDACA (phường An Bình, quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ), da cá được giữ lạnh bằng nước đá trong thùng xốp EPS và vận chuyển về Phòng thí nghiệm Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ không quá 1 giờ. Tại phòng thí nghiệm nguyên liệu được đo lại nhiệt độ và đạt nhiệt độ 6 - 8°C. Da cá được xử lý (cạo sạch vảy, thịt còn sót lại trên da) và rửa, đảo với nước đá trong 20 phút, tỷ lệ nước đá: da cá là 1: 1 để loại một phần lipid, rửa lại bằng nước lạnh sạch và để ráo, cắt nhỏ (kích thước 2 x 1 cm). Bảo quản da cá trong các bao PE (50 g/gói) ở nhiệt độ - 20 ± 2°C cho đến khi tiến hành thí nghiệm.

Alcalase có hoạt độ 825 U/ml, điều kiện hoạt động thích hợp là nhiệt độ 50 - 70°C, pH 6,5 - 8,5 tùy thuộc vào cơ chất.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiết xuất đến chất lượng gelatin từ da cá hồi

Tiến hành thí nghiệm: Da cá hồi được xử lý loại lipid bằng butanol 10% trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng, tỷ lệ da cá/ dung dịch butanol (w/v) là 1: 1. Sau đó, da cá hồi được loại nitơ phi protein trong dung dịch NaOH 0,1 M trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng, với tỷ lệ da cá/dung dịch (w/v) là 1: 8 theo phương pháp được mô tả bởi Lê Thị Minh Thủy và cs (2019) [6], hỗn hợp được lắc đảo đều trên máy lắc 0S - 2000 (Hàn Quốc) trong quá trình xử lý. Sau mỗi lần xử lý, tiến hành rửa da cá đến khi pH đạt trung tính. Tiến hành chiết xuất gelatin ở các mốc nhiệt độ (70, 80 và 90°C) và thời gian (1, 2 và 3 giờ) khác nhau, tỷ lệ da cá: nước là 1: 7 (w/v), tần suất khuấy đảo 5 phút/lần. Hỗn hợp sau đó được lọc qua 2 lớp vải lọc để loại phần bã, phần dung dịch tiếp tục được ly tâm (4.000 vòng/phút, 20°C trong 20 phút). Dung dịch gelatin được chứa vào khay nhựa (25 x 35 cm) và làm đông (- 20°C) khoảng 5 - 6 giờ, tiến hành loại bỏ lớp nước đá hình thành ở phía trên, sau đó sấy phần dung dịch gelatin còn lại ở 60°C cho đến khi ẩm độ gelatin đạt 10 - 12%, nghiền nhỏ các miếng gelatin và cân để xác định hiệu suất thu hồi, bột gelatin được sử dụng để phân tích độ bền gel, độ nhớt, đo màu để chọn chế độ chiết xuất gelatin phù hợp. Thí nghiệm được thực hiện với 3 lần lặp lại.

2.2.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của chế độ thủy phân gelatin đến chất lượng sản phẩm protein thuỷ phân

Tiến hành thí nghiệm: chọn nhiệt độ và thời gian nấu chiết gelatin thích hợp nhất từ thí nghiệm 1, tiến hành thí nghiệm 2. Sản phẩm bột gelatin (10 g) được hòa tan trong 250 mL nước cất ở 60°C, bổ sung enzyme alcalase với nồng độ 5% so với gelatin [4], quá trình thuỷ phân được thực hiện ở nhiệt độ 50 và 60°C với thời gian 1 và 2 giờ. Kết thúc quá trình thủy phân, hỗn hợp được bất hoạt enzyme ở nhiệt độ 95°C trong 5 phút. Tiến hành ly tâm hỗn hợp ở 4.000 vòng/phút, 20°C trong 20 phút. Dung dịch thuỷ phân được cấp đông (- 20°C) và sấy đông khô trong 24 giờ (ẩm độ 10 - 12%). Sản phẩm bột protein thủy phân được cân để tính hiệu suất thu hồi và đo độ nhớt, màu sắc, phân tích hoạt tính chống oxy hoá (DPPH) và hiệu suất thủy phân để tìm được nhiệt độ và thời gian thủy phân thích hợp nhất. Thí nghiệm được thực hiện với 3 lần lặp lại.

2.3. Phương pháp phân tích

Hàm lượng protein, lipid, khoáng và độ ẩm được xác định theo AOAC (2000) [7]

Hiệu suất thu hồi được xác định bằng phương pháp cân với $H = \frac{Y}{X} \times 100$

Trong đó: H (%) là hiệu suất thu hồi của sản phẩm, X (g) khối lượng mẫu trước khi sấy, Y (g) là khối lượng mẫu sau khi sấy.

Độ bền gel (g) của gelatin được xác định bằng máy Texture (Surrey, Anh), dung dịch gelatin có nồng độ 6,67% thu được bằng cách hoà tan gelatin

trong nước cất nóng (60°C) và khuấy đều (20 phút) cho đến khi gelatin tan hoàn toàn. Chuyển 15 mL dung dịch vào cốc thủy tinh có đường kính 2,5 cm và giữ lạnh ở 4 - 6°C trong 16 giờ, sử dụng đầu dò P/0.5S đường kính 12,5 mm, tốc độ di chuyển 1 mm/s và đâm xuyên 4 cm vào khối gel gelatin. Giá trị lực lớn nhất (g) được ghi nhận [6].

Độ nhớt: Sử dụng máy đo độ nhớt Brookfield DV (RVDV-11CP, Mỹ). Tốc độ vòng quay của đĩa 100 vòng/phút, duy trì nhiệt độ ở 7 ± 1°C trong suốt quá trình đo, thể tích dung dịch gelatin (nồng độ 6,67%) cho mỗi lần đo là 0,5 mL. Kết quả thu được là trung bình của 3 lần đo, đơn vị của độ nhớt là mPa.s [8].

Đo màu: Thông số L^* (màu trắng đến màu đen), a* (màu đỏ đến màu xanh lá cây) và b* (màu vàng đến màu xanh da trời) của gelatin và collagen thủy phân được xác định bằng thiết bị Colorimeter PCE-CSM 2 (Trung Quốc). Tổng sự chênh lệch màu sắc được tính bằng công thức: $\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$, các thông số a* và b* không được trình bày trong phần thảo luận.

Hoạt tính chống oxy hóa (DPPH%): Hút 1,5 mL dung dịch collagen thủy phân (10 mg/mL) cho vào 1,5 mL DPPH (0,5 mM) trong ethanol 95%, lắc đều. Sau khi ủ tối 30 phút độ hấp thụ của hỗn hợp được ghi nhận ở bước sóng 517 nm [9]. Khả năng khử gốc tự do DPPH được tính theo công thức: DPPH (%) = $100*(A_{blank}-A_{sample})/A_{blank}$. Trong đó, A_{blank} là độ hấp thụ của mẫu đối chứng (nước cất thay cho dung dịch protein thuỷ phân) và A_{sample} là độ hấp thụ của mẫu protein thủy phân.

Hiệu suất thủy phân (degree of hydrolysis, DH): Xác định trên tỷ lệ giữa hàm lượng protein hoà tan của mẫu sau khi thuỷ phân được xác định bằng phương pháp của Lowry và cs (1951) [10] so với hàm lượng protein mẫu trước thủy phân được xác định bằng phương pháp Kjehdal [2].

Thành phần amino axit của sản phẩm protein thuỷ phân: 20 g mẫu được thủy phân bằng HCl 6 M trong 22 giờ ở 110°C, sau đó trung hoà dung dịch bằng NaOH 0,6 M. Hệ thống phân tích amino axit (Shimadzu, Kyoto, Japan) được sử dụng để xác định các amino axit [11].

Phổ FTIR của sản phẩm protein thủy phân được xác định bằng bằng máy quang phổ 5ALPHA FT-IR của Bruker Optics trong phạm vi bước sóng từ 4.000 đến 400 cm^{-1} [12]. Chương trình của phần mềm OPUS 7.5 (Đức) được sử dụng để xử lý dữ liệu phân tích.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được tính trung bình ± độ lệch chuẩn, sử dụng chương trình Microsoft Excel, 2013. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức của các yếu tố được phân tích bằng ANOVA với mức ý nghĩa 95% và phép thử Duncan (p < 0,05) bằng chương trình SPSS 16.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hoá học của da cá hồi

Thành phần hóa học của da cá hồi được trình bày ở bảng 1. Hàm lượng protein trong da cá hồi chiếm tỷ lệ cao với 39,2%, vì thế da cá hồi là một nguồn đầy tiềm năng để chiết xuất collagen hay gelatin, mặc khác sự hiện diện của các hợp chất nitơ phi protein hay thành phần lipid (2,13%) sẽ ảnh hưởng đến các tính chất của sản phẩm nếu chúng không được loại bỏ khỏi nguyên liệu trước khi chiết xuất [6].

Bảng 1. Thành phần hóa học của da cá hồi

Chỉ tiêu	Ẩm độ	Protein	Lipid	Khoáng
Hàm lượng (%)	55,3 ± 0,023	39,2 ± 0,584	2,13 ± 0,322	1,54 ± 0,261

Ghi chú: Số liệu thống kê được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn với n = 3.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiết xuất đến chất lượng gelatin từ da cá hồi

3.2.1. Độ bền gel, hiệu suất thu hồi và độ nhớt của gelatin

Hiệu suất thu nhận và tính chất của gelatin (độ bền gel và độ nhớt) từ da cá hồi được chiết xuất ở các chế độ khác nhau được thể hiện trong bảng 2. Trong phạm vi nhiệt độ 70, 80 và 90°C, hiệu suất thu hồi gelatin tăng dần tương ứng với thời gian tăng từ 1 - 3 giờ (9,91 - 15,9%), tuy nhiên gelatin có độ bền gel và độ nhớt giảm ở thời gian chiết xuất 3 giờ cho cả 2 mức nhiệt độ 70°C và 80°C. Gelatin được chiết xuất ở nhiệt độ 90°C có giá trị độ bền gel và độ nhớt thấp hơn so với 2 mức nhiệt độ còn lại ở tất cả các thời gian khảo sát. Chế độ chiết xuất với nhiệt độ cao và thời gian dài sẽ cung cấp lượng nhiệt lớn, dẫn đến cấu trúc bậc 3 của collagen bị phá vỡ, sự cắt mạch của phân tử protein thành các mạch peptide có kích thước ngắn và hoà tan vào nước nên hiệu suất thu hồi gelatin cao. Mặc khác, khả năng tạo liên kết hydro của các mạch peptide bị hạn chế, từ đó làm giảm khả năng hình thành gel của gelatin [6]. Độ nhớt có mối tương quan với độ bền gel vì chúng phụ thuộc vào kích thước và sự phân bố của các mạch peptide trong gelatin [13]. Nhìn chung, gelatin ở điều kiện chiết xuất 80^0C, 2 giờ cho chất lượng gelatin tốt nhất với hiệu suất thu hồi đạt 12,9%, độ nhớt và độ bền gel có giá trị cao nhất là 18,4 mPa.s và 158 g. Nguyễn Thị Trúc Loan và Từ Thị Mỹ Lệ (2018) [13] đã trích ly gelatin từ vảy cá hồi ở nhiệt độ 70^0C trong 4 giờ kết quả thu được gelatin có hiệu suất thu hồi, độ nhớt và độ bền gel cao nhất lần lượt đạt 8,5%, 7,25 cP và 70 g.

Bảng 2. Ảnh hưởng của chế độ chiết xuất đến hiệu suất thu hồi, độ nhớt và độ bền gel của gelatin từ da cá hồi

Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giờ)	Hiệu suất thu hồi (%)	Độ bền gel (g)	Độ nhớt (mPa.s)
	1	9,91±0,212^{a}	111±7,59^{b}	13,6±0,382^{a}
70	2	11,9±0,226^{b}	132±6,15^{d}	15,4±0,235^{bc}
	3	12,7±0,268^{c}	145±3,01^{e}	17,4±0,283^{e}
	1	10,6±0,579^{a}	140±2,14^{e}	16,2±0,802^{d}
80	2	12,9±0,113^{c}	158±1,86^{f}	18,4±0,347^{f}
	3	14,2±0,028^{d}	124±1,27^{c}	17,2±0,183^{e}
	1	12,6±0,254^{bc}	111±1,61^{b}	17,1±0,405^{e}
90	2	13,6±0,296^{d}	106±1,59^{ab}	15,6±0,053^{cd}
	3	15,9±0,311^{e}	102±1,95^{a}	14,8±0,406^{b}

Ghi chú: Số liệu thống kê được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn với (n=3), những chữ cái (a, b, c, d, e và f) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

3.2.2. Sự thay đổi màu sắc của gelatin

Màu sắc cũng là một chỉ tiêu quan trọng trong ứng dụng của gelatin trong lĩnh vực công nghệ thực phẩm. Sự thay đổi màu sắc của gelatin từ da cá hồi được trình bày ở bảng 3.

Số liệu được trình bày trong bảng 3 cho thấy, thời gian chiết xuất dài hơn ở cùng một nhiệt độ thì độ sáng (L^*) của gelatin giảm và sự khác biệt màu sắc tăng. Cụ thể, giá trị L^* giảm từ 84,5 xuống 76,3 và cường độ màu (ΔE^*) tăng dần từ 21,4 lên 29,1 ở nhiệt độ 70^0C và thời gian chiết xuất tăng từ 1 - 3 giờ. Chế độ chiết xuất 80^0C thì giá trị L^* và ΔE^* của gelatin thay đổi từ 78,3-75,5 và 25,0-29,7. Gelatin có màu tối với giá trị L^* giảm mạnh khi tăng nhiệt độ chiết xuất đến 90^0C ở các mốc thời gian. Điều kiện nhiệt độ cao hơn, sự hình thành các mạch peptide ngắn hơn và giải phóng các

amino axit, các amino axit này có thể tham gia phản ứng Maillard với các nhóm đường khử hay carbohydrate trong nguyên liệu và gây sẫm màu cho gelatin [14]. Màu sắc của gelatin chịu sự chi phối bởi các sắc tố có trong nguồn nguyên liệu và chế độ chiết xuất [8].

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiết xuất đến màu sắc của gelatin từ da cá hồi

Nhiệt độ (˚C)	Thời gian (giờ)	Độ sáng (L^*)	Màu sắc (ΔE^*)
	1	84,5±0,978^{f}	21,4±1,35^{a}
70	2	79,4±0,307^{e}	25,1±0,292^{b}
	3	76,3±0,455^{c}	29,1±0,071^{cd}
	1	78,3±0,168^{d}	25,0±0,106^{b}
80	2	79,0±0,520^{de}	25,9±0,430^{b}
	3	75,5±0,448^{bc}	29,7±0,480^{d}
	1	75,0±0,385^{b}	28,5±0,377^{c}
90	2	74,6±0,546^{b}	28,8±0,468^{cd}
	3	72,2±0,931^{a}	30,8±0,157^{e}

Ghi chú: Số liệu thống kê được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn với (n=3), những chữ cái (a, b, c, d, e và f) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

Bảng 2 và 3 cho thấy, chế độ chiết xuất gelatin từ da cá hồi thích hợp là 80^{0}C trong 2 giờ.

3.3. Ảnh hưởng của chế độ thủy phân gelatin đến chất lượng sản phẩm protein thủy phân

3.3.1. Hiệu suất thu hồi, độ nhớt và màu sắc của sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi

Tương ứng với các chế độ thủy phân khác nhau, hiệu suất thu hồi, độ nhớt và màu sắc của sản phẩm protein thủy phân thay đổi được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Hiệu suất thu hồi, độ nhớt và màu sắc của sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi ở các chế độ thuỷ phân

Nhiệt độ (˚C)	Thời gian (giờ)	Độ nhớt (mPa.s)	Hiệu suất thu hồi (%)	Độ sáng (L^*)	Màu sắc (ΔE^*)
50	1	13,3±0,617^{c}	96,1±1,60^{b}	98,5±1,10^{c}	4,87±0,039^{a}
	2	10,4±0,396^{b}	92,5±1,10^{a}	95,6±0,669^{b}	7,38±0,280^{b}
60	1	9,17±0,125^{a}	95,3±0,416^{b}	92,5±0,304^{a}	12,1±0,201^{c}
	2	8,67±0,362^{a}	92,4±1,04^{a}	92,5±0,972^{a}	13,7±0,676^{d}

Ghi chú: Số liệu thống kê được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn với (n=3), những chữ cái (a, b, c, d và e) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 95%.

Bảng 4 cho thấy, các chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm protein thuỷ phân đều giảm khi tăng nhiệt độ và thời gian thủy phân. Thời gian thủy phân tăng từ 1 - 2 giờ và nhiệt độ tăng từ 50^{0}C đến 60^{0}C thì hiệu suất thu hồi sản phẩm protein thủy phân giảm từ 96,1 xuống 92,4%, độ sáng (L^*) giảm từ 98,5 còn 92,5 và cường độ màu (ΔE^*) tăng từ 4,87 - 13,7. Độ nhớt giảm từ 13,3 xuống 8,67 mPa.s đã cho thấy, sự thay đổi kích thước của phân tử

polypeptide, dưới tác động của enzyme thì các liên kết peptide bị phá vỡ và các mạch peptide có kích thước ngắn hơn và các amino axit tự do được hình thành [9], các thành phần này có thể tham gia phản ứng Maillard và hình thành các hợp chất mang màu [14]. Collagen thủy phân được sản xuất từ da cá ngừ vây vàng (*Thunnus albacares*) bằng alcalase 2% ở 55°C, 3 giờ cho hiệu suất thu hồi là 22,6% so với khối lượng da tươi và L^* là 96,7 [15] hay chế độ thủy phân gelatin từ da cá lóc với alcalase 2% ở 50°C, 3 giờ cho hiệu suất thu hồi, độ nhớt và độ sáng (L^*) lần lượt là 98,6%, 5,42 mPa.s và 81,8 [5]. Sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi ở chế độ thủy phân 50°C trong 1 giờ bằng alcalase 5% có giá trị độ nhớt, hiệu suất thu hồi là cao nhất và có màu trắng sáng hơn so với các chế độ thuỷ phân khác.

3.3.2. Hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) và hiệu suất thủy phân

Khả năng chống oxy hóa thông qua hoạt tính khử gốc tự do DPPH và hiệu suất thủy phân của sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Hoạt tính chống oxy hóa và hiệu suất thủy phân của sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi ở các chế độ thuỷ phân khác nhau

Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giờ)	Hoạt tính chống oxy hóa (DPPH%)	Hiệu suất thủy phân (DH%)
50	1	59,8±1,04^{c}	63,8±1,89^{b}
	2	58,6±0,51^{bc}	56,6±5,15^{a}
60	1	57,5±1,42^{b}	56,5±2,14^{a}
	2	51,5±0,80^{a}	51,4±1,06^{a}

Ghi chú: Số liệu thống kê trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3), những chữ cái (a, b, c và d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95.

Hoạt tính chống oxy hóa và hiệu suất thủy phân của sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi thay đổi đáng kể bởi điều kiện thuỷ phân. Nhiệt độ thủy phân tăng từ 50°C lên 60°C và thời gian thuỷ phân tăng từ 1 - 2 giờ thì hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm protein thuỷ phân và hiệu suất thủy phân lần lượt giảm từ 59,8% xuống 51,5%, 63,8% xuống còn 51,4%. Nhiệt độ cao hơn có thể ức chế hoạt động thuỷ phân của enzyme dẫn tới hiệu quả thuỷ phân cơ chất bị hạn chế và sản phẩm thu được có hoạt tính sinh học không cao. Hoạt tính chống oxy hóa tỷ lệ thuận với hiệu suất thủy phân, hiệu suất thủy phân càng cao sẽ tạo ra nhiều peptide mạch ngắn có hoạt tính sinh học cao và do đó hoạt tính chống oxy hóa càng lớn [15]. Tương tự, hoạt tính chống oxy hóa của collagen thuỷ phân từ da cá ngừ vây vàng (*Thunnus albacares*) đạt 56,05% khi sử dụng enzyme alcalase có nồng độ 2% để thuỷ phân collagen ở 55°C, 3 giờ và sản phẩm có hiệu suất thủy phân là 72,34% [15]. Collagen thủy phân từ da cá chép (*Cyprinus carpio*) với enzyme protamex 5% ở 50°C trong 3 giờ cho hoạt tính chống oxy hóa thấp hơn (18,8%) và hiệu suất thủy phân đạt 37,13% [4].

Kết quả phân tích trên cho thấy, điều kiện thuỷ phân gelatin từ da cá hồi ở nhiệt độ 50°C trong 1 giờ là thích hợp để thu nhận sản phẩm protein thủy phân có đặc tính sinh học cao.

3.3.3. Thành phần amino axit và phổ FTIR của sản phẩm thủy phân protein

Thành phần amino axit của sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi ở điều kiện thủy phân với enzyme alcalase 5% ở 50°C trong 1 giờ được trình bày ở bảng 6.

Nhìn chung, glycine chiếm tỷ lệ cao nhất (khoảng 31,5%) trong số các amino axit (bảng 6), theo Gómez-Guillén và cs (2011) [16] nhận định,

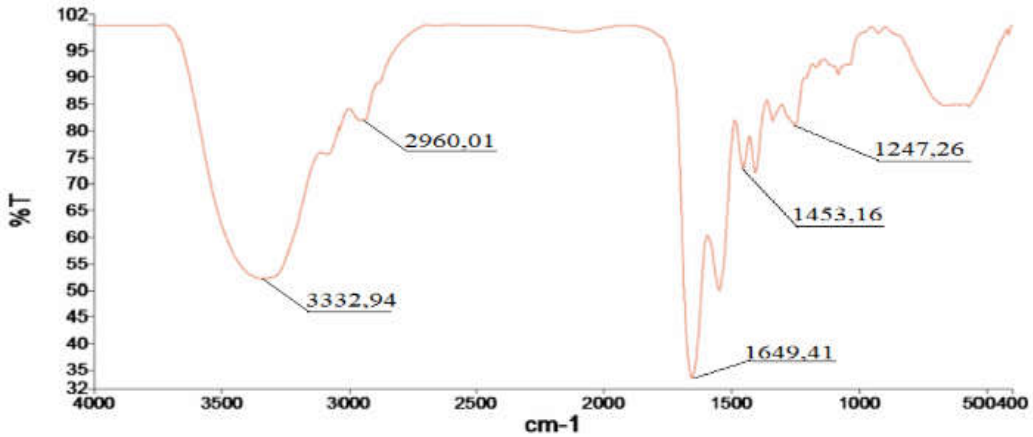
sản phẩm protein thủy phân có có hoạt tính chống oxy hóa cao khi chúng chứa nhiều glycine và proline. Mặc khác, khả năng chống oxy hóa có liên quan chặt chẽ đến đặc tính kỵ nước của amino axit có trong sản phẩm. Thành phần amino axit kỵ nước của sản phẩm protein thuỷ phân từ da cá hồi chiếm 580 đơn vị/1.000 đơn vị và tương tự như kết quả của Jridi và cs (2014) [17] từ nang mực bằng alcalase với tổng số amino axit kỵ nước là 585 đơn vị/1.000 đơn vị.

Bảng 6. Thành phần amino axit (đơn vị/1.000 đơn vị) của sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi bằng enzyme alcalase 5% ở 50°C trong 1 giờ

STT	Amino axit	Hàm lượng	STT	Amino axit	Hàm lượng
1	Aspartic axit	60	11	Isoleucine	22
2	Threonine	28	12	Leucine	20
3	Serine	41	13	Phenylalanine	10
4	Glutamic axit	89	14	Lysine	33
5	Glycine	315	15	Histidine	14
6	Alanine	92	16	Arginine	57
7	Valine	12	17	Hydroxyproline	98
8	Cystein	0	18	Proline	99
9	Methionine	6	19	TAA*	1.000
10	Tryptophan	4	20	THAA*	580

Ghi chú: TAA(Total amino axit): tổng số amino axit. THAA*: (Total hydrophobic): tổng số amino axit kỵ nước gồm Glycine, Alanine, Valine, Isoleucine, Leucine, Phenylalanine, Methionine, Tryptophan, Proline. Kết quả được tính theo số amino axit/1.000 amino axit tổng số.*

Quang phổ hồng ngoại (FTIR) của sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi bằng enzyme alcalase 5% ở 50°C trong 1 giờ được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Phổ FTIR của sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi

Các nhóm chức năng chịu trách nhiệm cho sự hình thành các liên kết hydro trong chuỗi peptide liên quan đến nhóm –NH của sản phẩm protein thuỷ phân từ da cá hồi được hấp thụ ở bước sóng tại vùng amide A đạt 3332,94 cm^{-1}. Đỉnh của amide B và amide I được hấp thụ ở các bước sóng lần lượt là 2960,01 cm^{-1} và 1649,41 cm^{-1} thể hiện vai trò

trong cấu trúc thứ cấp của protein và sự dao động của nhóm cacbonyl [12]. Sự hấp thụ ở bước sóng 1.453,16 cm^{-1} và 1.247,26 cm^{-1} đại diện cho đỉnh amide II và III tượng trưng cho sự dao động uốn cong của nhóm –NH và sự dao động của liên kết –CN. Sản phẩm protein thuỷ phân từ da cá hồi chứa đầy đủ các nhóm chức năng và có các đỉnh amide hấp thụ bước sóng tương tự như công bố đối với collagen thuỷ phân từ da cá lóc [5].

4. KẾT LUẬN

Phân tích và quá trình sản xuất sản phẩm protein thủy phân từ da cá hồi được tiến hành với thông số chiết tách gelatin ở 80°C trong 2 giờ (i) và điều kiện thuỷ phân gelatin bằng enzyme alcalase 5% ở nhiệt độ 50°C trong 1 giờ (ii) sẽ thu được sản phẩm protein thuỷ phân với hoạt tính sinh học tốt. Với điều kiện thủy phân tốt nhất, dịch collagen thủy phân có hoạt tính chống oxy hóa tốt là 59,75%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hixson, S. M. (2014). Fish Nutriton and Curent Issues in Aquaculture: The Ballance providing safe and nutritious seafood, in an environmentally sustainable manner. *Journal of Aquaculture Research and Development,* 2155-9546, 5 (3).

2. Gómez-Guillén, M. C., Turnay, J., Fernández-Dıaz, M. D., Ulmo, N., Lizarbe, M. A., & Montero, P. (2002). Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 25-34, 16 (1).

3. Kristinsson, H. G. & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: Production, biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43–81, 40 (1). https://doi.org/10.1080/10408690091189266.

4. Bilek, S. E., & Bayram, S. K. (2015). Fruit juice drink production containing hydrolyzed collagen. *Journal of Functional Foods*, 562–569, *14*. https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.024.

5. Tkaczewska, J., Borawska Dziadkiewicz, J., Kulawik, P., Duda, I., Morawska, M., & Mickowska, B. (2020). The effects of hydrolysis condition on the antioxidant activity of protein hydrolysate from *Cyprinus carpio* skin gelatin. *LWT-Food Science and Technology,* 108616, 117.

6. Lê Thị Minh Thủy, Nguyễn Văn Thơm (2019). Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp xử lí và điều kiện chiết rút đến chất lượng của gelatin từ da cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học – Công nghệ thủy sản,* 130 - 138, 4.

7. AOAC (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International,* 17th Edition, George, W. and Latimer, Jr (Eds.), Volume II. Washington DC. USA.

8. Jamilah, B., Tan, K. W., Umi Hartina, M. R., & Azizah, A. (2011). Gelatins from three cultured freshwater fish skins obtained by liming process. *Food Hydrocolloids,* 1256-1260, 25 (5).

9. Liua, F., Liub, C. E., Lorenac, D., & Zhang, X. (2012). Evaluation of the antioxidant activity of collagen peptide additive extracted from Cod skin. *Journal of Environmental Protection and Ecology,* 1836 – 1841, *13*(3).

10. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry,* 265-275, 193 (1).

11. Thuy, L. T. M., Okazaki., E., & Osako, K. (2014). Isolation and characterization of acid-soluble collagen from the scales of marine fishes from Japan and Vietnam. *Food Chemistry*, 264-270, *149*.

12. Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., & Duodu, K. G. (2004). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food chemistry*, 325 - 332, 86 (3).

13. Nguyễn Thị Trúc Loan, Từ Thị Mỹ Lệ (2018). Ảnh hưởng của phương pháp tiền xử lý bằng kiềm đến hiệu suất và chất lượng gelatin chiết xuất từ vảy cá hồi. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Đà Nẵng,* 1859 - 1531, 1 (122).

14. Zang, Y., Dutilleul, P., Li, C., & Simpson, B. K. (2019). Alcalase-asisted production of fish skin gelatin rich in hight molecular weight (HMW) polypeptide chains and their characterization for film forming capacity. *LWT-Food Science and Technology,* 117-125, 110.

15. Nurilmala, M., Hizbullah, H. H., Karnia. E., Kusumaningtyas, E., & Ochiai, Y. (2020). Characterization and Antioxidant Activity of Collagen, Gelatin, and the Derived Peptides from Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Skin. *Marine Drugs,* 1 - 12, 18 (98).

16. Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López - Caballero, M. A., & Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids,* 1813 - 1827, 25 (8).

17. Jridi, M., Lassoued, I., Nasri, R., Ayadi, M. A., Nasri, M., & Souissi, N. (2014). Characterization and potential use of cuttlefish skin gelatin hydrolysates prepared by different microbial proteases. *BioMed Research International,* 10 - 1155, 1 (14).

PRODUCTION OF PROTEIN HYDROLYSATE PRODUCT FROM SALMON (Salmo salar) SKIN BY ENZYME ALCALASE

Le Thi Minh Thuy[1,*], Truong Thi Mong Thu[1], Tran Thanh Truc[2]

[1]College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University

[2]Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University

** Email: ltmthuy@ctu.edu.vn*

Summary

Study on the application of alcalase in the production of protein hydrolysate product from salmon skin was performed to utilize seafood by-product producing add-value products. Research induded two experiments: (i) investigation of the effects of temperature and extraction time on the quality of gelatin from salmon skin; (ii) effects of temperature and gelatin hydrolysis time by using alcalase on the quality of protein hydrolysate product. The results indicated that gelatin had the highest of recovery yield, gel strenght, viscosity and bright color of 12.9%, 158 g, 18.4 m.Pas and L* (79.0), respectively when fish skin was extracted at 80°C for 2 hours. The obtained protein hydrolysate product from hydrolysing gelatin with 5% alcalase at 50°C for 1 hour exhibited high recovery yield, viscosity and expectedlightness were 96.1%, 13.3 mPa.s and L* (98.5), respectively. Hydrophobic amino acid content of hydrolyzed protein product was 580 residues/1.000 residues, antioxidant activity (DPPH) and degree of hydrolysis were 59.8% and 63.8%, respectively.

Keywords: *Alcalase, antioxidant activities, FTIR spectroscopy, protein hydrolysate product, salmon fish skin.*

Người phản biện: PGS.TS. Mai Thị Tuyết Nga

Ngày nhận bài: 01/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 27/3/2023

Ngày duyệt đăng: 3/4/2023

SỰ BIẾN ĐỔI CHẤT LƯỢNG CỦA CỦ CẢI TRẮNG KHI BẢO QUẢN BẰNG MÀNG GREENMAP TRÊN TÀU HẢI QUÂN

Phạm Thị Phương Liên[1, 2], Cung Thị Tố Quỳnh[1, *]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá khả năng bảo quản củ cải trắng bằng màng Green MAP (Modified Atmosphere Packaging) ở điều kiện thường (20 - 25°C) và điều kiện lạnh (2 - 5°C) so với khi bảo quản bằng màng PE thông thường ở cùng điều kiện trên tàu hải quân. Kết quả cho thấy, khi bảo quản ở nhiệt độ thường thì củ cải được bọc trong màng Green MAP cho thời gian bảo quản dài hơn so với bảo quản bằng màng PE thông thường 7 - 8 ngày, đồng thời giữ được cảm quan tốt, vỏ củ trắng, tươi, hàm lượng nước trong củ cũng như hàm lượng vitamin C hao hụt ít so với bảo quản trong màng PE với cùng mốc bảo quản. Tại ngày bảo quản thứ 21 ở nhiệt độ thường, hàm lượng nước trong củ bọc màng Green MAP vẫn đạt 43,9% cũng như hàm lượng vitamin C là 5,5 mg/100 g, hao hụt khối lượng cũng chỉ có 51,3% ít hơn nhiều so với củ bảo quản trong màng PE với cùng điều kiện bảo quản. Bên cạnh đó, bảo quản lạnh thì củ cải bọc trong màng Green MAP cho thời gian bảo quản dài hơn hẳn mẫu bọc trong màng PE 11-12 ngày. Củ cải bảo quản lạnh được bọc màng Green MAP đến ngày thứ 32 vẫn còn có thể sử dụng được, hàm lượng nước vẫn giữ được 39,6%, tỉ lệ thối hỏng chỉ 54,9% và hàm lượng vitamin C vẫn còn 4,2 mg/100g.

Từ khóa: *Củ cải trắng, màng Green MAP, chỉ tiêu chất lượng, bảo quản, màng PE.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Củ cải có tên khoa học là *Raphanus sativus*, thuộc họ Cải (*Brassicaceae*), được trồng trên khắp thế giới. Hiện nay, có hai loại củ cải chính được dùng phổ biến, đó là củ cải trắng (thường thu hoạch mùa đông) và củ cải đỏ (thu hoạch xuân hoặc hè). Củ cải trắng thường có hình dáng dài, nhỏ chứ không tròn như củ cải đỏ. Trong 100 g củ cải trắng có khoảng 1,4 g protit, 3,7 g gluxit, 1,5 g xenluloza, một số các nguyên tố vi lượng và các vitamin nhóm B, vitamin C…[1 - 3]. Củ cải trắng có khả năng làm giảm mức cholesterol huyết thanh, chất cay nhẹ trong củ còn giúp kháng khuẩn, giảm đau, giúp hỗ trợ gan và ngăn ngừa bệnh tim mạch [3, 4]. Khi thu hoạch cần nhổ cả cây rũ sạch đất, cắt toàn bộ phần lá chỉ để lại 3 - 4 cuống, rửa sạch bằng nước sạch tránh dập nát, trầy xước vỏ củ làm ảnh hưởng đến chất lượng. Sau khi thu hoạch, củ thường được bảo quản ở nhiệt độ khoảng 0 - 5° C, độ ẩm tương đối khoảng 85 - 90%. Ngoài ra để khắc phục ảnh hưởng của độ ẩm đến tốc độ bay hơi nước trong củ, người ta có thể sử dụng các loại bao bì màng mỏng như túi PE, PVC…vừa để chứa đựng, vừa để hạn chế bay hơi nước. Củ cải có cường độ hô hấp khá cao (40 - 70 mg/kg/h), do đó khi bảo quản cần chú ý đến hàm lượng oxi có sẵn để giảm sự thất thoát, hư hỏng của củ [1, 2].

Yêu cầu bảo đảm ăn uống để duy trì sức khoẻ cho lực lượng Hải quân là hết sức quan trọng. Qua khảo sát thực tiễn trên tàu Hải quân tại Hải đội 384 – Bộ Tư lệnh hải quân, hầu như các loại rau ăn củ trong đó có củ cải trắng được bảo quản ở điều kiện thường, một số ít được bọc túi PE và bảo quản ở ngăn mát tủ lạnh (từ 2 - 5°C) nên thời gian bảo quản ngắn, tỷ lệ hư hỏng cao, giá trị dinh dưỡng bị suy giảm đáng kể. Chính vì vậy, trên những chuyến đi biển dài ngày hoặc khi gặp thời tiết xấu thì các tàu hải quân đang làm nhiệm vụ không thể

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
[2] Viện Nghiên cứu Ứng dụng Quân nhu, Cục Quân nhu, Bộ Quốc phòng
* Email: cungtoquynh1@gmail.com

cập đất liền, dẫn đến tình trạng thiếu rau củ tươi. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến thời hạn bảo quản của rau quả như nhiệt độ, độ ẩm tương đối của không khí, thành phần khí quyển, thông gió, ánh sáng…, trong đó đáng kể nhất là nhiệt độ, độ ẩm và thành phần không khí [1, 2, 4].

Hiện nay, việc sử dụng phương pháp bảo quản rau quả nói chung và rau ăn củ nói riêng trong môi trường khí quyển cải biến (MAP – Modified Atmosphere Packaging) đang được sử dụng khá rộng rãi, trong đó rau quả được đựng trong túi màng mỏng có tính thẩm thấu chọn lọc, mức độ thẩm thấu của các loại màng là khác nhau (phụ thuộc vào loại màng, độ dày màng) [5]. Màng Green MAP áp dụng công nghệ MAP nói trên được làm từ nhựa LDPE (có tỷ trọng 0,94 g/ml ở 23°C) kết hợp với một số phụ gia vô cơ như silicat, zeolit, bentonit hoàn toàn không độc hại với sức khỏe con người [5]. Nghiên cứu của Phạm Thị Phương Liên và Cung Thị Tố Quỳnh (2020) đã tiến hành thử nghiệm bảo quản bằng loại màng này đối với cà chua và cho kết quả khá tốt kể cả khi bảo quản thường (20 - 25°C) và khi bảo quản lạnh (2 - 5°C), kéo dài được thời hạn bảo quản so với khi không bọc màng hoặc khi bọc với màng PE thông thường [6]. Nhằm tiếp tục thử nghiệm sử dụng màng Green MAP cho nhu cầu cấp thiết của Hải quân về việc kéo dài thời gian bảo quản rau củ trong những chuyến đi biển dài ngày mà vẫn giữ được chất lượng của sản phẩm *"Nghiên cứu và đánh giá sự biến đổi chất lượng của củ cải trắng khi bảo quản bằng màng Green MAP trên tàu Hải Quân"* đã được tiến hành.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Nguyên liệu được sử dụng trong nghiên cứu là củ cải trắng được thu hoạch đạt độ già sử dụng, thời điểm thu hoạch từ 45 - 60 ngày kể từ khi trồng với các đặc điểm: Có màu xanh nhạt phía đầu củ, rễ có màu trắng đục. Thời gian từ khi thu hái đến khi đưa vào thí nghiệm không quá 2 ngày.

Màng Green MAP được cung cấp nguyên cuộn bởi Công ty TNHH Quốc tế Sao Nam (thành phố Hồ Chí Minh) với kích thước túi là 27 cm x 47 cm x 20 µm. Màng PE thương mại thông thường (dùng cho nghiên cứu đối chứng) có kích thước 30 cm x 45 cm x 20 µm được mua tại siêu thị.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Nguyên liệu củ cải được lựa chọn, loại bỏ các củ bệnh, sứt sẹo. Chọn các củ khoảng 20 - 25 cm, thon dài về phần đuôi. Sau khi tiến hành loại bỏ phần lá, phần cuống, củ được rửa sạch sơ bộ trước khi đưa xuống tàu để tiến hành bảo quản. Mẫu củ cải được chia 2 phần có khối lượng khoảng 300 g/mẫu, được bao gói bằng màng PE và màng Green Map (GM) rồi đem bảo quản ở điều kiện thường (20 - 25°C) và điều kiện lạnh (2 - 5°C). Các mẫu được theo dõi sự biến đổi về mặt cảm quan và tỉ lệ hao hụt khối lượng, tỉ lệ thối hỏng, hàm lượng chất khô hòa tan, hàm lượng vitamin C, độ cứng của củ sau các khoảng thời gian cách nhau từ 3 - 4 ngày cho đến khi hỏng hoàn toàn. Các phép đo được tiến hành 5 lần rồi tính kết quả trung bình.

Các thí nghiệm được thực hiện vào tháng 4 - 5 với nhiệt độ thực tế trên tàu hải quân dao động 20 - 25°C, có lạnh hơn vào ban đêm, độ ẩm không khí khoảng 78% và sức gió 23 km/h.

2.2.2. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu chất lượng của củ cải trắng

- Đánh giá chỉ tiêu về trạng thái, màu sắc, xác định tỉ lệ hao hụt khối lượng trong quá trình bảo quản theo TCVN 4782 - 89 [7].

- Thối hỏng là những phần củ không thể sử dụng được dựa trên các chỉ tiêu cảm quan như màu sắc, mùi theo TCVN 4782: 1989 [7].

- Xác định hàm lượng chất khô tổng số theo TCVN 4414: 1987 [8].

- Hàm lượng nước của mẫu thử (X_1) biểu thị bằng phần trăm khối lượng được tính theo công thức:

X_1 (%) = 100 – X_2

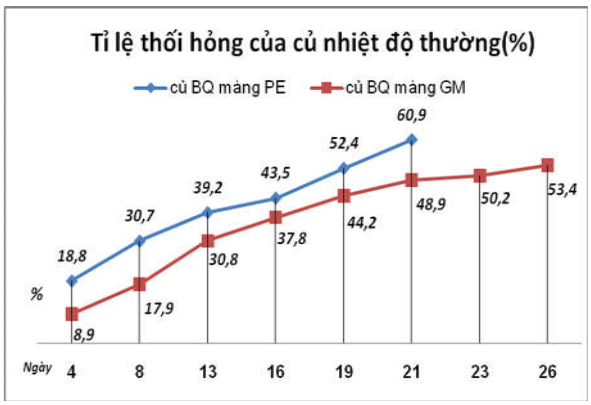
Trong đó: X_2 là hàm lượng chất khô hòa tan trong mẫu thử.

- Độ cứng được đo bằng thiết bị đo độ cứng cầm tay Lutron FR - 5120 do phòng thí nghiệm Cục Hậu cần – Bộ Tư lệnh Hải quân cung cấp.

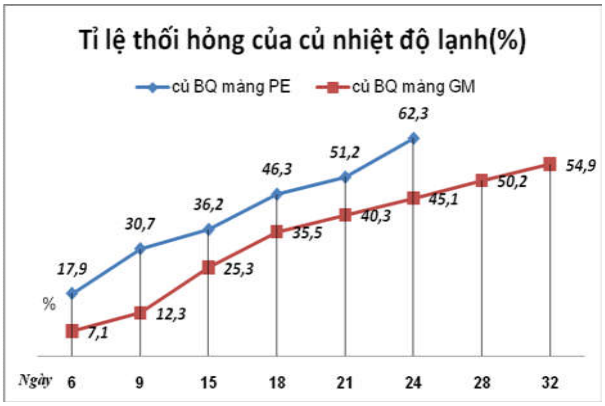
- Hàm lượng vitamin C được xác định theo TCVN 6427 - 2: 1998 [9].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của loại bao bì đến tỷ lệ thối hỏng của củ cải trong quá trình bảo quản



Hình 1a. Biến đổi % thối hỏng của củ cải (nhiệt độ thường)



Hình 1b. Biến đổi % thối hỏng của củ cải (nhiệt độ lạnh)

Hình 1a và 1b cho thấy, ở nhiệt độ thường củ cải bị hư hỏng nhanh hơn so với bảo quản ở nhiệt độ lạnh. Điều này là do nhiệt độ ảnh hưởng đến cường độ hô hấp, nhiệt độ càng cao thì tốc độ phản ứng sinh hóa xảy ra trong củ càng cao [2, 4, 5]. Khi được bảo quản ở điều kiện thường đến ngày thứ 21 thì củ được bọc trong màng PE đã thối hỏng 60,9%, củ được bọc bằng màng Green MAP (GM) kéo dài thêm được đến ngày thứ 26 với tỉ lệ thối hỏng là 53,4% (Hình 1a). Bên cạnh đó, mẫu bảo quản lạnh và được bọc màng GM kéo dài được thời gian bảo quản hơn hẳn so với mẫu bọc bằng màng PE, đến ngày thứ 32 thì tỉ lệ thối hỏng là 54,9% (Hình 1b).

3.2. Ảnh hưởng của loại bao bì đến chất lượng cảm quan của củ cải trong quá trình bảo quản

Sự biến đổi chất lượng cảm quan của củ cải trắng khi được bảo quản ở nhiệt độ thường (20 - 25°C) và nhiệt độ lạnh (2 - 5°C) theo thời gian bảo quản được thể hiện ở bảng 1 và 2.

Bảng 1. Biến đổi chất lượng cảm quan của củ cải khi bảo quản ở nhiệt độ thường

Thời gian (ngày)	Củ cải bảo quản bằng màng PE	Củ cải bảo quản bằng màng Green MAP
0	Củ cứng, rắn chác, vỏ trắng, thịt củ trắng đều, cuống tươi.	Củ cứng, rắn chắc, vỏ trắng, thịt củ trắng đều, cuống tươi.
4	Củ cứng, vỏ trắng, thịt củ trắng đều, cuống úa vàng.	Củ cứng, rắn chắc, vỏ trắng, thịt củ trắng đều, cuống tươi.
8	Củ cứng, vỏ xuất hiện đốm nâu, thịt củ trắng đều, bắt đầu thối hỏng từ cuống	Củ cứng, vỏ trắng, thịt củ trắng đều, bắt đầu vàng ở cuống
13	Củ hơi mềm, vỏ đốm nâu, thịt củ trắng, bắt đầu có hiện tượng thối hỏng từ cuống	Củ cứng, vỏ trắng, thịt củ trắng, cuống vàng hoàn toàn

16	Củ mềm hơn, vỏ đốm nâu nhiều hơn, thịt củ trắng, bắt đầu thối hỏng nhiều lan từ cuống	Củ hơi mềm, vỏ xuất hiện đốm nâu, thịt củ trắng, cuống vàng và bắt đầu có hiện tượng hỏng
19	Củ mềm nhiều, phần cuống thối hỏng hoàn toàn, củ thối hỏng 50%, thịt củ hóa bấc	Củ mềm, phần cuống chớm thối hỏng, thịt củ trắng, vỏ xuất hiện đốm nâu
21	Củ thối hỏng khoảng 2/3, bắt đầu chảy nước và có mùi khó chịu	Củ hơi mềm, phần cuống bắt đầu thối hỏng nhiều hơn, thịt củ trắng, vỏ nhiều đốm nâu
23	———————	Củ mềm, phần cuống thối hỏng hoàn toàn, củ thối hỏng 50%, thịt củ bắt đầu hóa bấc, vỏ nhiều đốm nâu hơn
26	———————	Củ thối hỏng hơn 50%, bắt đầu có hiện tượng chảy nước, có mùi khó chịu

Bảng 1 cho thấy, khi bảo quản ở điều kiện thường, củ cải trong màng PE qua các mốc thời gian tương ứng đều cho cảm quan kém hơn hẳn so với củ bảo quản bằng màng Green MAP. Qua ngày thứ 19 - 21 thì củ trong màng PE đã hư hỏng trên 50%, trong khi củ được bọc trong màng Green MAP vẫn có thể sử dụng đến ngày thứ 23 - 26.

Đối với củ cải bảo quản lạnh (bảng 2) được bọc trong màng PE thì qua ngày thứ 21 - 24 đã bắt đầu thối hỏng còn củ trong màng Green MAP lúc này vẫn cho màu sắc và cảm quan tốt hơn, thịt củ trắng hơn và ít bị hóa bấc, vẫn có thể sử dụng kéo dài đến 32 ngày.

Bảng 2. Biến đổi chất lượng cảm quan của củ cải khi bảo quản ở nhiệt độ lạnh

Thời gian (ngày)	Củ cải bảo quản bằng màng PE	Củ cải bảo quản bằng màng Green MAP
0	Củ cứng, rắn chắc, vỏ trắng, thịt củ trắng đều, cuống tươi	Củ cứng, rắn chắc, vỏ trắng, thịt củ trắng đều, cuống tươi
6	Củ cứng, vỏ trắng, thịt củ trắng đều, bắt đầu vàng cuống	Củ cứng, vỏ trắng, thịt củ trắng đều, cuống vẫn tươi
9	Củ cứng, vỏ xuất hiện đốm nâu, thịt củ trắng đều, bắt đầu thối hỏng từ cuống	Củ cứng, vỏ trắng, thịt củ trắng đều, bắt đầu vàng ở cuống
15	Củ hơi mềm, vỏ đốm nâu, thịt củ trắng, bắt đầu thối hỏng từ cuống	Củ cứng, vỏ trắng, thịt củ trắng, cuống vàng hoàn toàn
18	Củ mềm hơn, vỏ đốm nâu nhiều hơn, thịt củ trắng, bắt đầu thối hỏng nhiều hơn lan từ trên cuống	Củ hơi mềm, vỏ xuất hiện đốm nâu, thịt củ trắng, cuống vàng và bắt đầu hỏng
21	Củ mềm nhiều, phần cuống thối hỏng hoàn toàn, củ thối hỏng 50%, thịt củ hóa bấc	Củ mềm, phần cuống chớm thối hỏng, thịt củ trắng, vỏ xuất hiện đốm nâu
24	Củ thối hỏng hơn 2/3, bắt đầu có hiện	Củ mềm hơn, phần cuống bắt đầu thối hỏng

	tượng chảy nước, có mùi khó chịu	nhiều hơn, thịt củ trắng, vỏ nhiều đốm nâu hơn
28	_____	Củ mềm, phần cuống thối hỏng hoàn toàn, thịt củ bắt đầu hóa bấc, củ thối hỏng 50%, vỏ nhiều đốm nâu hơn
32	_____	Củ thối hỏng hơn 50%, bắt đầu chảy nước, có mùi khó chịu

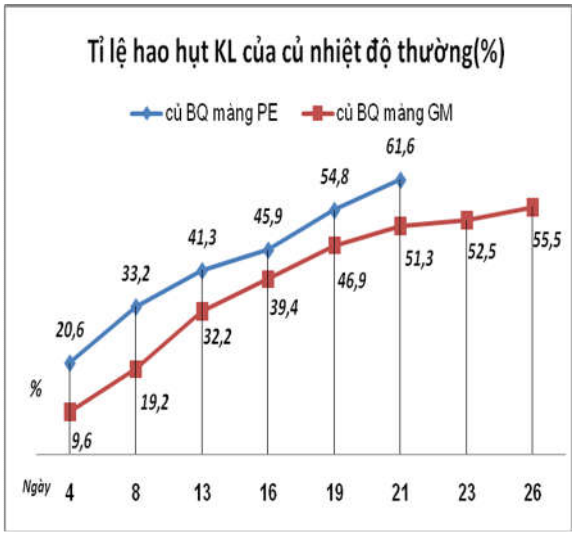


Hình 2. Một số hình ảnh trong quá trình bảo quản củ cải trắng

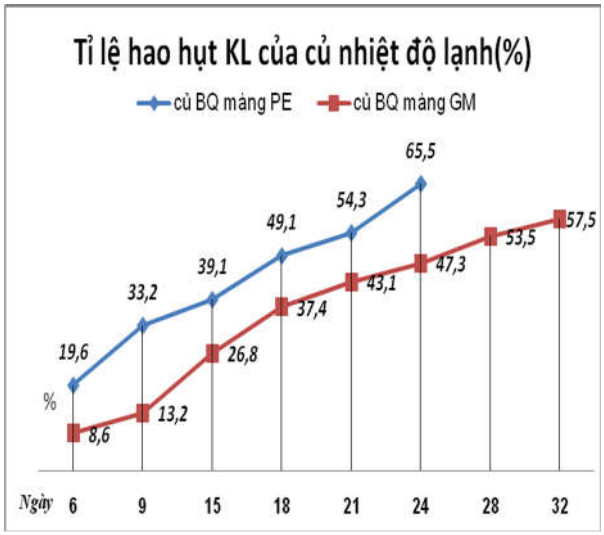
(Mẫu ban đầu và sau 19, 21 ngày bảo quản ở điều kiện thường)

3.3. Ảnh hưởng của loại bao bì đến một số chỉ tiêu chất lượng của củ cải trong quá trình bảo quản

3.3.1. Biến đổi của tỉ lệ hao hụt khối lượng củ cải trong quá trình bảo quản



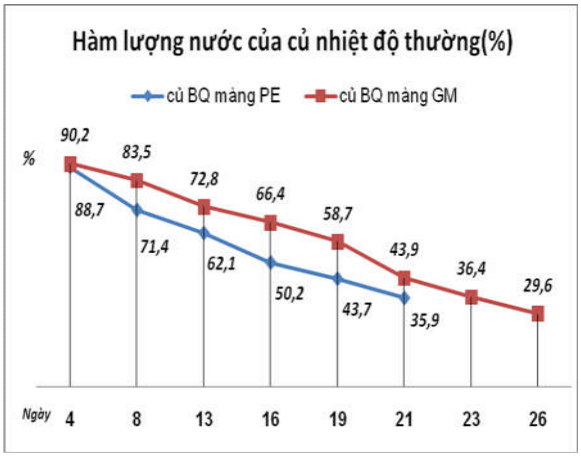
Hình 3a. Biến đổi % hao hụt của củ cải (nhiệt độ thường)



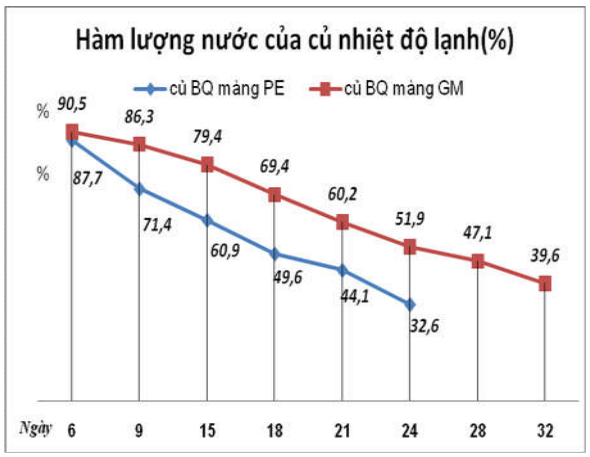
Hình 3b. Biến đổi % hao hụt của củ cải (nhiệt độ lạnh)

Hình 3a và 3b cho thấy, khi bảo quản ở nhiệt độ thường củ bị hao hụt khối lượng nhanh hơn khá nhiều so với bảo quản ở nhiệt độ lạnh. Tại điều kiện thường, đến ngày thứ 21 củ được bọc trong màng PE đã hao hụt khối lượng đến 61,6% trong khi củ được bọc bằng màng GM có thể kéo dài thêm được vài ngày, sang ngày thứ 26 thì tỉ lệ hao hụt mới chỉ 55,5%. Mặt khác, mẫu bảo quản lạnh thì sau 9 ngày đầu, mẫu bọc trong màng PE đã có tỉ lệ hao hụt đến 33,2% trong khi mẫu bọc trong màng GM chỉ là 13,2%. Đến ngày thứ 24 thì củ trong màng PE đã hư hỏng 2/3 củ (65,5%) trong khi đó củ trong màng GM có thể kéo dài đến ngày thứ 32 với tỉ lệ hao hụt là 57,5%.

3.3.2. Biến đổi hàm lượng nước của củ cải trong quá trình bảo quản



Hình 4a. Biến đổi hàm lượng nước của củ cải (nhiệt độ thường)

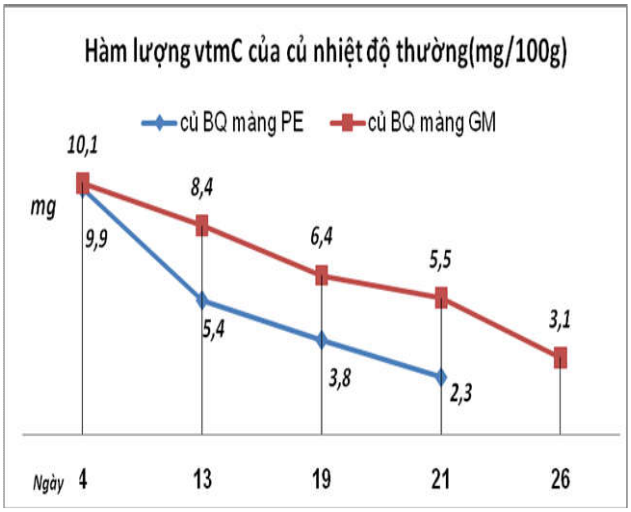


Hình 4b. Biến đổi hàm lượng nước của củ cải (nhiệt độ lạnh)

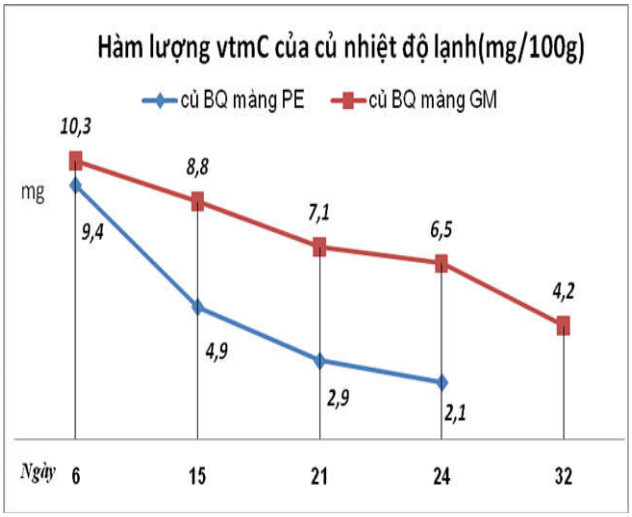
Hình 4a và hình 4b cho thấy, hàm lượng nước trong củ cải bị thay đổi phụ thuộc thời gian bảo quản, màng bảo quản và nhiệt độ bảo quản. Củ cải được bảo quản tại nhiệt độ lạnh cho thời gian bảo quản và hàm lượng nước cao hơn nhiều so với bảo quản bằng nhiệt độ thường. Đồng thời, củ cải được bọc màng PE khi được bảo quản ở nhiệt độ thường và nhiệt độ lạnh thì hàm lượng nước trong củ có xu hướng giảm nhanh và mạnh, đồng thời quả bị khô và bấc nhiều hơn so với củ cải được bọc màng Green Map ở cùng nhiệt độ bảo quản. Củ mất nước nhiều làm cho hoạt động của tế bào bị rối loạn, làm giảm khả năng tự đề kháng bệnh lý và từ đó củ nhanh chóng hỏng [3, 4].

3.3.3. Biến đổi hàm lượng vitamin C của củ cải trong quá trình bảo quản

Hình 5a và 5b cho thấy củ cải bảo quản tại nhiệt độ thường thì hàm lượng vitamin C có xu hướng giảm nhanh và mạnh hơn khi được bảo quản lạnh. Nhiệt độ ảnh hưởng đến cường độ hô hấp của củ, do đó tác động đến các phản ứng sinh hóa xảy ra trong củ, làm giảm hàm lượng các chất dinh dưỡng và vitamin C [2, 3, 4].



Hình 5a. Biến đổi hàm lượng vitamin C của củ cải (nhiệt độ thường)



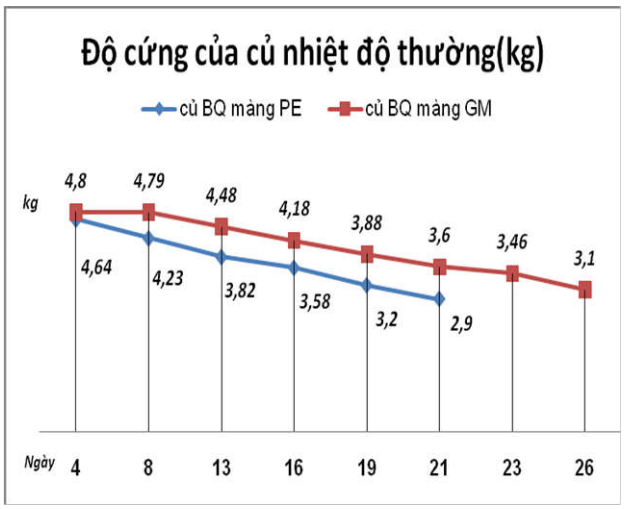
Hình 5b. Biến đổi hàm lượng vitamin C của củ cải (nhiệt độ lạnh)

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy củ cải được bọc màng GM thì lượng vitamin C giữ lại luôn cao hơn so với bọc trong màng PE tại các điều kiện bảo quản trong cùng thời gian. Sau 26 ngày bảo quản trong màng GM tại nhiệt độ thường thì hàm lượng vitamin C trong củ vẫn còn 3,1 mg/100 g và

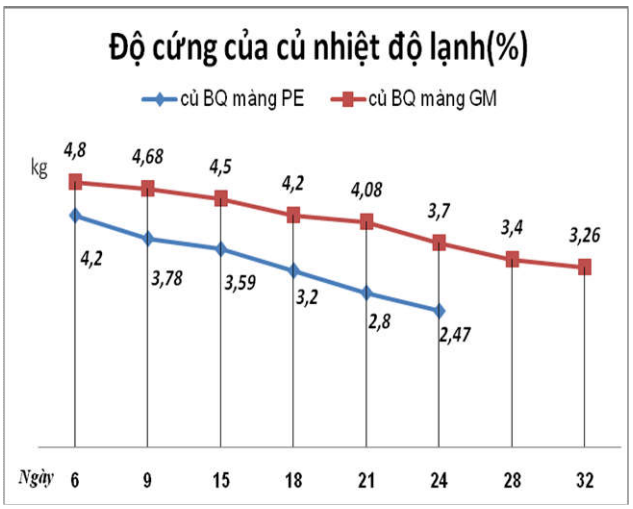
sau 32 ngày bảo quản lạnh thì vẫn đạt 4,2 mg/100 g.

3.3.4. Biến đổi độ cứng của củ cải trong quá trình bảo quản

Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian bảo quản càng dài thì độ cứng của củ cải càng giảm (Hình 6a và 6b). Củ cải được bọc bằng màng PE ban đầu độ cứng giảm nhẹ, xấp xỉ với bảo quản bằng màng GM, tuy nhiên, sau đó độ cứng của củ ngày càng giảm nhanh và thấp hơn so với bảo quản màng GM.



Hình 6a. Biến đổi độ cứng của củ cải (nhiệt độ thường)



Hình 6b. Biến đổi độ cứng của củ cải (nhiệt độ lạnh)

Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi bảo quản củ cải trắng bằng màng Green MAP mang lại hiệu quả lớn hơn so với bảo quản bằng màng PE ở cùng một nhiệt độ. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Phạm Thị Phương Liên và Cung Thị Tố Quỳnh (2020) khi áp dụng trên đối tượng bảo quản là cà chua [6], mang lại lợi ích lớn, góp phần bảo đảm nhu cầu cấp thiết về rau quả tươi trên tàu hải quân khi thực hiện nhiệm vụ dài ngày trên biển.

4. KẾT LUẬN

Khi bảo quản lạnh thì củ cải được bọc màng Green MAP cho thời gian bảo quản dài hơn 11-12 ngày so với củ cải bảo quản trong màng PE thông thường. Củ cải bảo quản trong màng Green MAP luôn giữ được màu sắc như lúc ban đầu, củ rắn, cuống tươi, củ ít bị đốm nâu, tỉ lệ hư hỏng được giảm đi tối đa, tỉ lệ nước trong củ được giữ lại cũng rất lớn. Hàm lượng vitamin C trong củ cũng ít thay đổi khi sử dụng bảo quản bằng màng GM, kể cả khi bảo quản ở điều kiện thường hay điều kiện lạnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Minh Tâm (2008). *Kỹ thuật xử lý và bảo quản sau thu hoạch quy mô nhỏ: Tài liệu kỹ thuật cho rau quả và hoa cây cảnh*. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.

2. Nguyễn Mạnh Khải (chủ biên), Nguyễn Thị Bích Thủy, Đinh Sơn Quang (2005). *Giáo trình bảo quản nông sản*. Trường Đại học Nông nghiệp, Hà Nội.

3. Magda G., Eralda A., Peter F. R., Marija G., Oscar H. F., Beatrice M., Weston B., Brandon M., Hua K., Taulant M. (2021). Nutritional and phytochemical characterization of radish (*Raphanus sativus)*: A systematic review. Trends in Food Science & Technology 113, 205 - 218.

4. Saltveit, M. A. (2001). *A summary of CA requirements and recommendations for*

vegetables. Postharvest Horticulture. University of California, Davis, 22A, 71 - 94.

5. Phạm Thị Thu Hà (2012). Nghiên cứu chế tạo và tính chất của màng polyme ứng dụng để bảo quản quả. Luận án tiến sĩ hóa học, chuyên ngành Hóa hữu cơ, Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

6. Phạm Thị Phương Liên, Cung Thị Tố Quỳnh (2020). Nghiên cứu sự biến đổi của một số chỉ tiêu chất lượng của cà chua khi bảo quản bằng màng Green Map trên tàu Hải quân. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT,* 17 (1), 31 - 38.

7. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4782: 1989 về rau quả tươi.

8. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4414: 1987 – Xác định hàm lượng chất khô bằng khúc xạ kế.

9. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6427-2: 1998: Rau quả và các sản phẩm rau quả - Xác định hàm lượng axit ascobic.

CHANGES IN SOME QUALITY INDEX OF WHITE RADISH WRAPPED BY GREEN MAP FILM DURING STORAGE ON THE NAVY SHIP

Pham Thi Phuong Lien[1, 2], Cung Thi To Quynh[1, *]

[1]*School of Biotechnology and Food Technology, Hanoi University of Science and Technology*

[2]*Institute of Applied Research of Military Supplies, Department of Military Supplies, Ministry of Defense*

**Email: cungtoquynh1@gmail.com*

Summary

This study was aimed to measure the preservation ability of white radish (*daikon*) wrapped by Green MAP (Modified Atmosphere Packaging) film under room temperature (20 - 25°C) and cool condition (2 - 5°C), then to compare with that wrapped by PE film under the same conditions. Results showed that when stored at room temperature, the white radish wrapped by Green MAP film had 7-to-8-days longer storage time than preserved with conventional PE film. Besides, the radish stored at room temperature in Green MAP film retained good senses, white - colored peel, freshness, water content as well as vitamin C content loss was less than that wrapped by PE films with the same preservation condition. In the other hands, preservation in Green MAP film also helped the radish keeping good sensorial properties up to the 21st day of storage: The water content was still 43.9%, the decay ratio was 51.3% and the vitamin C content was quite high at the level of 5.5 mg/100 g. In addition, white radish wrapped by Green MAP film retained good quality and lasted longer than PE films from 11 to 12 days when refrigerated. The radish preserved in Green MAP film at cold temperature until the 32nd day can still be used, the water content remained 39.6%, the spoilage rate was only 54.9% and the vitamin C content was still 4.2 mg/100 g.

Keywords: *White Radish, green MAP film, quality index, preservation, PE film.*

Người phản biện: PGS.TS. Hoàng Thị Lệ Hằng

Ngày nhận bài: 01/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 27/3/2023

Ngày duyệt đăng: 3/4/2023

NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHẾ HỆ NANO NHŨ TƯƠNG KÉP CHỨA BETALAIN TỪ DỊCH CHIẾT CỦ DỀN BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐỒNG HÓA

Võ Minh Trung[1], Nguyễn Thị Hải Yến[1], Phạm Minh Duy[1], Hà Anh Tuấn[1], Nguyễn Phương Tuyền[1], Nguyễn Văn Hải[1], Nguyễn Quỳnh Dao[1], Trần Quang Hiếu[1, 2, *]

TÓM TẮT

Đã sử dụng phương pháp năng lượng thấp hai bước trong việc điều chế hệ nhũ tương nano kép W/O/W để vi bao dẫn xuất betalain từ dịch chiết củ dền đỏ nhằm ổn định chất màu trước tác động của các yếu tố như nhiệt độ, pH, thời gian lưu trữ và lực ion. Hệ nhũ tương sơ cấp W_1/O bao gồm chất hoạt động bề mặt kị nước polyglyxerol polyricinoleate (PGPR), dầu đậu nành và cao chiết củ dền; được đồng hóa bằng thiết bị IKA Ultra -Turrax T25, IKA (Đức) ở tốc độ 10.000 vòng/phút, trong thời gian 5,0 phút. Hệ nhũ tương kép được điều chế bằng cách đồng hóa hỗn hợp chứa W_1/O và pha nước W_2 (chứa 5,0% Tween 80) theo tỷ lệ 30 : 70 về khối lượng được gia nhiệt ở 70°C sau đó hạ nhiệt độ hệ còn 10°C. Cuối cùng, hỗn hợp được đồng hóa bằng với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 3,0 phút để thu được hệ nano nhũ tương kép. Hệ nhũ tương nano được tạo ra có đường kính giọt là 328,5 nm; chỉ số PDI là 0,308 và thế Zeta là -32,1 mV. Độ ổn định của hệ nano đã được khảo sát trong các môi trường pH khác nhau, kết quả cho thấy kích thước hạt, chỉ số đa phân tán (PDI) và hiệu suất bao gói (E%) ổn định trong khoảng pH từ 2,0 – 9,0 và không thay đổi đáng kể trong môi trường có lực ion khác nhau của dung dịch NaCl. Các giá trị này cũng ổn định khi gia nhiệt và sau thời gian bảo quản 21 ngày ở nhiệt độ thường, 30 ngày ở 4°C.

Từ khóa: *Củ dền, vi bao, nano nhũ tương, nhũ tương kép.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Củ dền hay củ dền đỏ (*Beta vulgaris* L.) là loại củ được trồng nhiều nơi trên thế giới. Tại Việt Nam, củ dền là một nguyên liệu tiềm năng để sản xuất phụ gia tạo màu ứng dụng trong thực phẩm do khả năng tạo màu tốt cũng như có hoạt tính sinh học cao. Hợp chất đóng vai trò tạo màu chính trong củ dền là dẫn xuất của các hợp chất betalain. Betalain là các sắc tố chứa nitơ hòa tan trong nước, chứa betacyanin (đỏ tím) và betaxanthin (vàng), là chất tạo màu sắc cho một số loại trái cây và rau quả như củ dền và thanh long [1, 2]. Các hợp chất này là sản phẩm của liên hợp amoni của axit betalamic với cyclo-DOPA và axit amin hoặc amin. Ngoài vai trò là chất màu tự nhiên ứng dụng trong thực phẩm, các hợp chất betalains còn là một trong những chất chống oxy hóa giúp loại bỏ các gốc tự do khỏi các tế bào, ngăn ngừa ung thư thông qua việc ức chế sự tăng sinh của tế bào khối u [2]. Tuy nhiên, các hợp chất này thường kém bền và dễ dàng thay đổi cấu trúc hoặc bị phân hủy ở nhiệt độ cao, hoặc bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như: pH, kim loại nặng [3, 4]. Do đặc tính dễ thoái hóa của betalain nên mục tiêu của các nghiên cứu gần đây thường hướng tới việc tăng độ ổn định của betalain nhằm mục đích có thể khai thác được tiềm năng ứng dụng trong thực phẩm và các lợi ích cho sức khỏe của nhóm hợp chất này. Các hướng nghiên cứu đã và đang thu hút sự tham gia của nhiều nhà khoa học là vi bao hợp chất này trong một hệ bền

[1] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn
[2] Ban Khoa học Cơ bản, Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn
[*] Email: hieu.tranquang@stu.edu.vn

kết hợp với việc dùng các chất trợ sấy như maltodextrin hoặc lecithine rồi tiến hành sấy phun; hoặc vi bao chúng trong một hệ nhũ tương [5, 6, 7, 8, 9, 10]. Phương pháp đồng hóa là một trong những phương pháp phổ biến để điều chế hệ nano nhũ tương, như của Kaimainen và cs (2015), đã tiến hành vi bao betalain trong hệ nhũ tương kép và thực hiện quá trình giải phóng chất màu này trong môi trường giả lập ruột non [6]; Pagano và cs (2018) đã dùng nhũ tương kép để điều chế hệ nano W/O/W [7]; Harimurti và cs (2020) đã dùng kỹ thuật đồng hóa để điều chế nhũ tương kép với polyglycerol polyricinoleate (PGPR) là chất kị nước kết hợp với dầu đậu nành và Tween 80 để điều chế hệ nano từ dịch trích thanh long ruột đỏ [8].

Hiện nay, các nghiên cứu về betalain ở Việt Nam chủ yếu tập trung vào quá trình trích ly và khảo sát các hoạt tính sinh học [9, 10]. Vì vậy, việc nghiên cứu các điều kiện tối ưu để ổn định màu của họ hợp chất này nhằm tăng tính ứng dụng của chúng trong thực phẩm là cần thiết và có ý nghĩa khoa học lẫn thực tiễn.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị

Củ dền được thu mua từ siêu thị Coopmart Lý Thường Kiệt, quận 10, thành phố Hồ Chí Minh, có nguồn gốc Đà Lạt, Lâm Đồng. Nguyên liệu củ dền đỏ dạng củ tươi sau khi loại bỏ phần vỏ và lấy phần thịt sử dụng cho nghiên cứu, sau đó xay nhuyễn với nước cất. Các hóa chất polyglycerol polyricinoleate (PGPR), polysorbate 80 (Tween 80) được mua từ Xilong Ltd (Trung Quốc). Thiết bị siêu âm VCX 750 (Sonics – Mỹ), máy quang phổ Genesys 10 UV-VIS (Thermo Scientific), thiết bị đồng hóa IKA T 25 kỹ thuật số ULTRA-TURRAX® (Đức) với thể tích mẫu được đồng nhất là 1-2.000 mL và dải tốc độ rộng từ 3.000 - 25.000 vòng/phút, bể ổn nhiệt Memmert, WTB24 (Đức), thiết bị cô quay Yamato RE301 (Nhật Bản), máy khuấy từ gia nhiệt đĩa ceramic IKA C-MAGHS7 và một số thiết bị khác đã được sử dụng trong thí nghiệm.

2.2. Quy trình trích ly và phân tích betalain

Quy trình trích ly được tham khảo từ phương pháp của Fu (2020) và Otálora (2015) với điều chỉnh nhỏ [11, 5]. Củ dền được xay nhuyễn và hòa vào dung dịch đệm xitrat (pH=5,5) với tỉ lệ theo khối lượng là 30: 1. Sau đó, hỗn hợp được đồng hóa bằng thiết bị IKA ở tốc độ 10.000 vòng/phút trong thời gian 5,0 phút và để yên ở nhiệt độ phòng. Dịch trích được lọc qua giấy lọc kích thước 12 μm và tiến hành cô quay chân không bằng thiết bị cô quay Yamato RE301 (Nhật Bản) ở 60°C, áp suất chân không 1.000 Pa, thời gian 2,0 giờ thu dịch cô đặc có độ Brix 25°Bx. Sau đó dịch cô đặc được trữ trong tủ mát để tiến hành cho các nghiên cứu sau.

Hàm lượng betalain được được xác định bằng phương pháp quang phổ, đo độ hấp thụ ở bước sóng 535 nm theo công thức:

$$Ct(g/L) = \frac{A.MW.DF}{\varepsilon.L} \quad (1)$$

Trong đó: A là giá trị độ hấp thụ của dịch chiết ở bước sóng 535 nm đối với betacyanin; DF là hệ số pha loãng của dịch chiết; L là chiều dài đường truyền qua của cuvet (cm); MW biểu thị khối lượng phân tử là: 550 $g.mol^{-1}$ đối với betacyanin; ε, hệ số tắt, là 60,000 $M^{-1}.cm^{-1}$ đối với betacyanin.

2.3. Quy trình điều chế hệ nano nhũ tương

2.3.1. Nano nước trong dầu (W_1/O)

Trước hết, cân chính xác 5,0 gam dịch cô đặc (chứa 0,32 g betalain) hòa tan vào nước cất chứa $CaCl_2$ 0,3% thu được 20 mL dung dịch (pha nước lõi W_1). Sau đó, đồng nhất hệ này bằng máy khuấy từ ở tốc độ 350 vòng/phút trong 5,0 phút. Tiếp theo, 80 mL pha dầu (O) chứa dầu đậu nành và chất nhũ hóa kỵ nước PGPR ở các tỉ lệ 1,0%, 2,0%, 3,0%, 4,0% và 5,0% được hòa tan bằng máy khuấy từ ở 40°C với tốc độ 350 vòng/phút trong 10 phút. Sau đó, pha nước W_1 được thêm từ từ vào pha dầu

nhũ hóa (O) ở tỷ lệ 4: 6 về thể tích và đồng hoá bằng thiết bị đồng hóa tốc độ cao (Ultra -Turrax T25 IKA) với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 5,0 phút. Để yên hệ sau đó thu được hệ nano nước trong dầu W_1/O.

2.3.2. Nano kép (W/O/W)

Pha nước bên ngoài (W_2) có chứa chất hoạt động bề mặt ưa nước Tween 80 ở các nồng độ 1,0%, 2,0%, 3,0%, 4,0%, 5,0% và 6,0% về khối lượng được đồng nhất bằng máy khuấy từ ở tốc độ 350 vòng/phút trong thời gian 5,0 phút. Sau đó, thêm từ từ dịch W_1/O vào pha nước W_2 với tỉ lệ các tỷ lệ 1:9, 2:8, 3:7 và 4: 6 về thể tích rồi khuấy từ gia nhiệt ở 70°C. Hệ được hạ nhiệt độ đột ngột bằng cách ngâm vào chậu nước đá đến khi nhiệt độ của hệ còn 10°C. Sau đó đồng hóa hệ này bằng thiết bị đồng hóa tốc độ cao (Ultra -Turrax T 25, IKA, Đức) với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 3,0 phút, thu được nhũ tương nano $W_1/O/W_2$.

2.4. Xác định đặc tính của hệ nano

Phân bố kích thước tiểu phân nano và độ đa phân tán (PDI) được đo bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động (DLS) trên thiết bị SZ-100, HORIBA (Nhật Bản). Điện thế bề mặt các tiểu phân nano (thế Zeta) được đo trên thiết bị Zetasizer ZS90 (Malvern - Anh) tại Viện Khoa học Vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Hình thái của tiểu phân nano được đo trên thiết bị kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) tại Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Phổ hồng ngoại trong dải tần số 4.000 - 400 cm^{-1} của mẫu cao chiết và mẫu nano được dùng để xác định sự thay đổi của các nhóm chức đặc trưng hoặc sự thay đổi cường độ của các dao động. Phép đo được thực hiện bằng thiết bị FT/IR-6600, Jasco (Mỹ) tại Phòng Thí nghiệm Trọng điểm, Trường Đại học Sư phạm thành phố Hồ Chí Minh.

2.5. Xác định hiệu suất bao gói

Hiệu suất đóng gói (E%) được thực hiện bằng phương pháp trực tiếp, tham khảo từ phương pháp của Kaimainen và cs (2015) [6]. Quy trình được thực hiện như sau: Lấy 20 mL mẫu nhũ tương kép cho vào ống ly tâm, sau đó ly tâm với tốc độ 5.000 vòng/phút trong 10 phút; lấy phần nước bên dưới và đo độ hấp thụ ở bước sóng 535 nm với mẫu trắng là nước cất để xác định hàm lượng betalain. Hiệu suất bao gói được tính theo phương trình sau:

$$\%E = \frac{A_t - A}{A_t}.100(\%) \quad (2)$$

Trong đó: A_t là tổng khối lượng betalain trong thí nghiệm ban đầu; A là hàm lượng betalain trong pha nước sau khi ly tâm.

2.6. Đánh giá độ ổn định của hệ nano

Độ ổn định của hệ nano được đánh giá thông qua kích thước hạt, hiệu suất bao gói. Đã khảo sát ảnh hưởng của pH đến độ ổn định của nano betalain với các giá trị pH từ 1,0 - 11,0 bằng cách sử dụng dung dịch HCl 0,1 M và NaOH 0,1 M. Ảnh hưởng của lực ion được nghiên cứu bằng cách thêm các dung dịch NaCl 0,1 M, 0,5 M và 1,0 M. Ảnh hưởng đến thời gian lưu trữ được đánh giá ở nhiệt độ 4°C và nhiệt độ phòng trong khoảng thời gian 30 ngày. Ảnh hưởng của nhiệt độ được khảo sát trong khoảng nhiệt độ từ 30 - 100°C với bước nhảy 10°C trên thiết bị ổn nhiệt Memmert, WTB24 (Đức).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng betalain

Tiến hành trích ly betalain theo quy trình được trình bày ở mục 2.2, thu được dịch trích betalain có hàm lượng betalain đạt 14,31 ± 0,14 g/L với hiệu suất trích ly đạt 92,23 ± 1,23%. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Nguyễn Quốc Duy và cs (2017) [9], Thi và cs (2020) [10]. Sau đó, tiến hành cô quay dịch trích ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 3,0 giờ thu được cao chiết có độ Brix 25°Bx và hàm lượng betalain 65,53 g/L.

3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến kích thước hạt của tiểu phân nano

Hình 1 biểu diễn sự phân bố kích thước hạt trung bình của hệ nano nhũ tương sơ cấp và thứ

cấp. Kích thước của hệ W_1/O có giá trị 200,7 ± 4,7 nm, trong khi đó kích thước của hệ nano kép $W_1/O/W_2$ tăng lên gấp hơn 1,5 lần (328,5 ± 5,2 nm). Số liệu này cũng khá phù hợp với quy luật về kích thước hệ nhũ tương kép của Kaimainen và cs (2015) [6]. Trong nghiên cứu này, có nhiều yếu tố ảnh hưởng đã được khảo sát. Tuy nhiên, chỉ tập trung vào một số các yếu tố ảnh hưởng chính đến kích thước hạt nano, chỉ số PDI và hiệu suất vi bao E%.

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ chất nhũ hóa pha dầu PGPR

Để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chất nhũ hóa pha dầu, đã cố định các thông số khác và thay đổi hàm lượng chất nhũ hóa PGPR từ 1,0% - 6,0% để tìm ra được kích thước và độ đồng nhất tối ưu của hệ. Kết quả ở hình 2 cho thấy, khi nồng độ chất nhũ hóa tăng dần thì kích thước và chỉ số PDI cũng giảm rõ rệt. Khi tăng từ 1,0% lên 4,0% PGPR, kích thước giọt trung bình của nhũ tương $W_1/O/W_1$ giảm từ 585,4 ± 15,3 nm xuống 328,5 ± 5,2 nm. Tuy nhiên, kích thước giọt trung bình PDI và E% của hệ nano thay đổi không đáng kể khi nồng độ PGPR tăng từ 4,0% lên 5,0%. Nguyên nhân có thể là do khi nồng độ PGPR tăng lên, nhiều phân tử PGPR được hấp phụ ở ranh giới dầu-nước và tăng diện tích bề mặt tiếp giáp, do đó làm cho kích thước giọt nhỏ hơn tăng từ 1,0 lên 4,0% nồng độ PGPR. Tuy nhiên, giao diện W_1/O có thể bị PGPR bão hòa ở mức 5,0%, dẫn đến kích thước giọt không thay đổi và có xu hướng tăng nhẹ ở nồng độ 6,0 và 7,0%. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Wang và cs (2022) [12]. Do đó, đã chọn nồng độ 4,0% của PGPR cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nhũ tương sơ cấp và thứ cấp

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nhũ tương sơ cấp và thứ cấp đến kích thước, hiệu suất bao gói và độ đồng nhất của hệ nano nhũ tương khi pha dầu O được nhũ hóa bằng PGPR 4,0%, nhiệt độ đảo pha 70°C, tốc độ đồng hóa 10.000 vòng/phút trong 3,0 phút

Tỉ lệ $W_1O:W_2$ (v/v)	Kích thước ± SD (nm)	Hiệu suất bao gói, E ± SD (%)	PDI ± SD (a.u)
1 : 9	797,1 ± 13,3	30,4 ± 5,1	0,638 ± 0,04
2 : 8	549,8 ± 12,8	67,3 ± 5,8	0,547 ± 0,06
3 : 7	331,5 ± 11,5	91,6 ± 4,3	0,372 ± 0,05
4 : 6	345,6 ± 13,2	93,2 ± 6,6	0,402 ± 0,04
5 : 5	356,7 ± 14,5	89,2 ± 5,1	0,506 ± 0,05

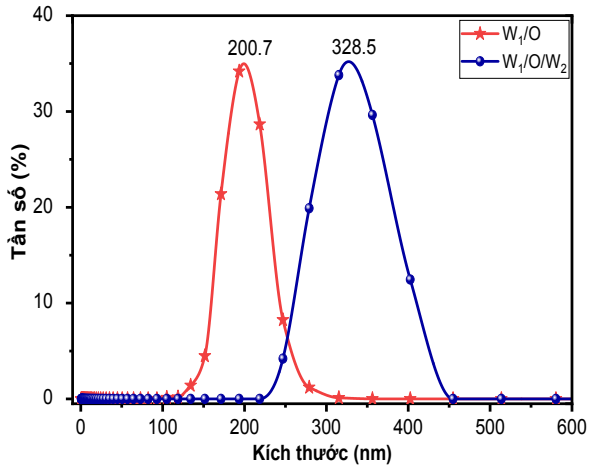
Ghi chú: SD: standard deviation: Độ lệch chuẩn.

Ảnh hưởng của tỉ lệ pha nhũ tương sơ cấp W_1/O và pha nước W_2 đến kích thước hạt, độ đồng nhất và màu sắc của hệ được khảo sát ở các tỷ lệ 1: 9, 2: 8, 3: 7 và 4: 6 về thể tích. Kết quả ở bảng 1 cho thấy, ở tỉ lệ 3: 7 thì hệ có độ đồng nhất cao, kích thước hạt đạt giá trị nhỏ nhất và màu sắc ổn định. Do đó, tỉ lệ 3: 7 được lựa chọn cho các thí nghiệm sau.

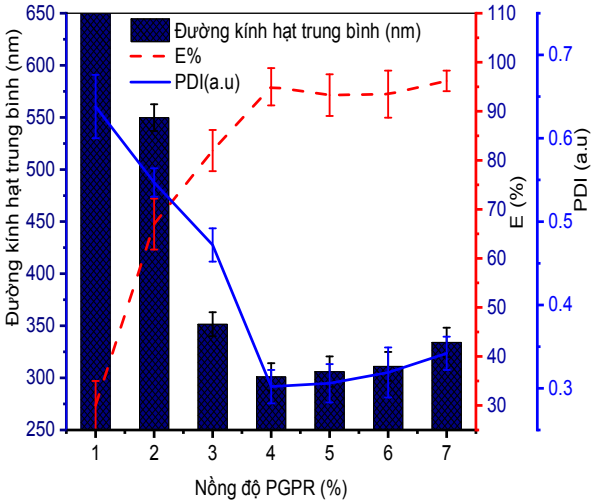
3.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ chất nhũ hóa pha nước Tween 80

Số liệu ở đồ thị hình 3 cho thấy, khi tăng nồng độ của chất diện hoạt ưa nước Tween 80 từ 1,0% đến 7,0% thì kích thước, PDI và E% hệ cũng có sự thay đổi đáng kể. Các giá trị này biến đổi theo quy luật trong khoảng nồng độ từ 1,0% - 5,0%. Kích thước trung bình, PDI giảm rõ rệt trong khoảng nồng độ này. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ chất diện hoạt này lên 6,0% và 7,0% thì kích thước của hệ lại có xu hướng tăng lên. Điều này có thể được giải thích do khi tăng nồng độ chất diện hoạt thì dung dịch pha nước trở nên sánh nhớt, ảnh hưởng đến cân bằng giữa sức căng bề mặt và độ nhớt pha nước, làm cho sự phân tán diễn ra khó

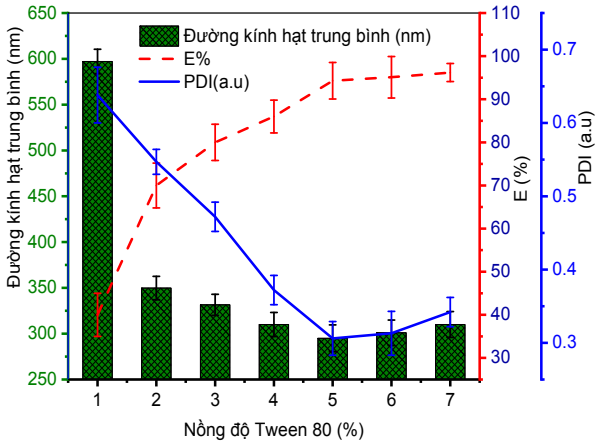
khăn hơn, gây cản trở quá trình tạo thành các tiểu phân có kích thước nhỏ. Ngược lại, hiệu suất bao gói E% lại có xu hướng tăng ở các nồng độ 6,0% và 7,0%. Nghiên cứu của Stoyanova và cs (2016) [13], Tran và cs (2021) [14] cũng đưa ra các giải thích tương tự khi dùng Tween làm chất nhũ hóa. Tuy nhiên, để hệ nano ổn định theo thời gian thì kích thước trung bình và chỉ số PDI đóng vai trò quan trọng. Do đó, đã lựa chọn nồng độ chất diện hoạt Tween 80 là 5,0% cho các thí nghiệm kế tiếp.



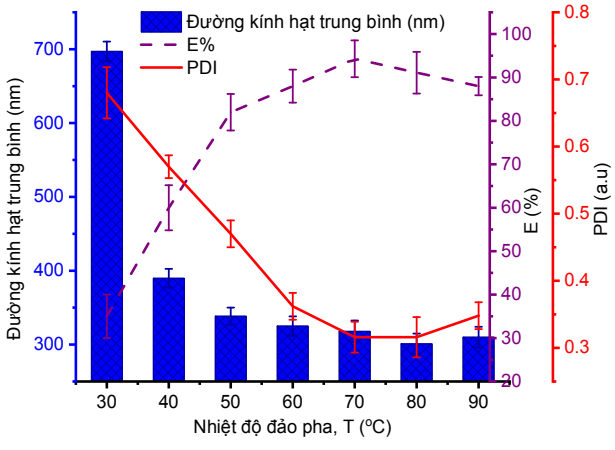
Hình 1. Giản đồ phân bố kích thước hạt của hệ nano nhũ tương W_1/O và $W_1/O/W_2$, pha dầu W_1/O được nhũ hóa bằng PGPR 4,0%, pha nước W_2 được nhũ hóa bằng Tween 80 5,0%, nhiệt độ đảo pha 70°C, tốc độ đồng hóa 10.000 vòng/phút trong 3,0 phút



Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ PGPR đến kích thước hạt, PDI và E% khi đồng hóa tại 10.000 vòng/phút trong 3,0 phút, nhiệt độ đảo pha 70°C, nồng độ Tween 5,0%



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ Tween 80 đến kích thước hạt, chỉ số đa phân tán và hiệu suất bao gói khi pha dầu O được nhũ hóa bằng PGPR 4%, nhiệt độ đảo pha 70°C, tốc độ đồng hóa 10.000 vòng/phút trong 3,0 phút

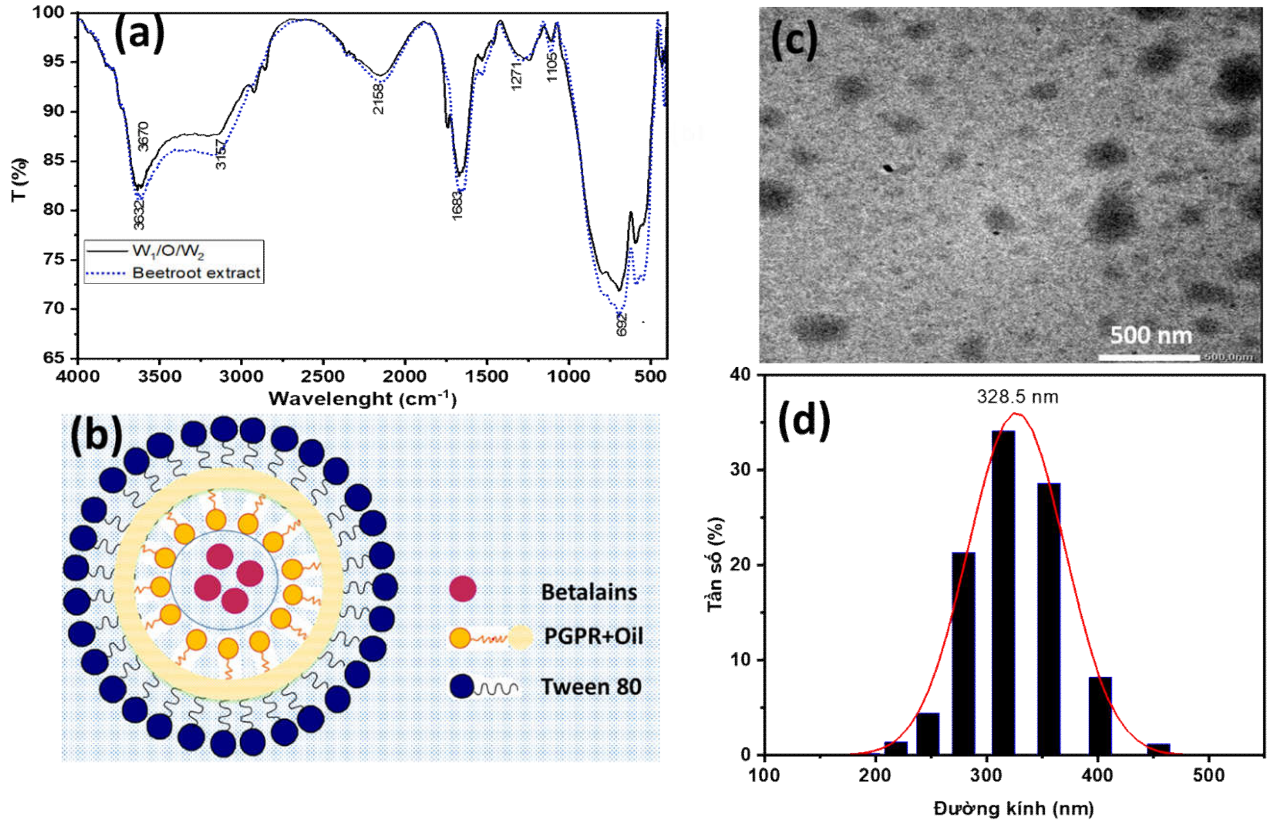


Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đảo pha đến kích thước hạt, chỉ số đa phân tán và hiệu suất bao gói khi pha dầu O được nhũ hóa bằng PGPR 4,0%, nhiệt độ đảo pha 70°C, tốc độ đồng hóa 10.000 vòng/phút trong 3,0 phút, nồng độ Tween 5,0%

3.2.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đảo pha

Số liệu ở hình 4 đã mô tả những thay đổi về kích thước trung bình, chỉ số PDI và E% theo nhiệt độ đảo pha. Ở nhiệt độ phòng 30°C hệ nano chưa hình thành, độ đục của hệ cao. Khi tăng nhiệt độ từ 40°C, dịch chuyển dần sang trong suốt, giá trị kích thước hạt trung bình giảm rõ rệt và dao động xung quanh 330 nm, trong khi đó PDI cũng giảm mạnh khi tăng nhiệt độ. Tại nhiệt độ 80°C và 90°C, hệ lại có xu hướng bị nhạt màu, do đó đã chọn nhiệt độ đảo pha là 70°C cho các nghiên cứu tiếp theo. Sự ảnh hưởng của nhiệt độ đảo pha đến sự hình thành hệ nano đã được giải thích trong nghiên cứu của Jintapattanakit và cs (2018) [15], Tran và cs (2021) [16], Jintapattanakit và cs (2018) [17]. Như vậy, trong nghiên cứu này đã khảo sát được các yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành của hệ nano kép chứa hợp chất màu từ dịch chiết củ dền, pha dầu O được nhũ hóa bằng PGPR có nồng độ 4,0%, pha nước W_2 được nhũ hóa bằng Tween 80 ở nồng độ 5,0%, nhiệt độ đảo pha 70°C, tốc độ đồng hóa 10.000 vòng/phút, thời gian đồng hóa là 3,0 phút.

3.3. Đặc tính lý hóa của hệ nano



Hình 5. (a): Phổ hồng ngoại của dịch chiết và hệ nano $W_1/O/W_2$, (b): mô phỏng cấu trúc $W_1/O/W_2$, (c): ảnh TEM của hệ nano và (d): phân bố kích thước hạt đo bằng phương pháp tán xạ laser động (DLS)

Trong thí nghiệm này, đã dùng phổ hồng ngoại FT-IR để xác định sự thay đổi tần số dao động hoặc cường độ của các nhóm chức betalain dạng tự do và ở dạng nano nhũ tương. Hình 5a cho thấy phổ FT-IR của dịch chiết củ dền và của hệ $W_1/O/W_2$ trong vùng 4.000 - 400 cm^{-1}. Đối với chiết xuất củ dền (a), dải ở 3.632 cm^{-1} được ghi nhận là dao động kéo dài của các nhóm –OH và –NH–. Mặt khác, dải ở 1.683 cm^{-1} được quy kết là dao động kéo dài của liên kết C=N. Dải tiếp theo ở 1.292 cm^{-1} là dao động kéo giãn của liên kết C–H, trong khi dải có tâm ở 1.271 cm^{-1} tương ứng với dao động kéo dãn của liên kết C–O trong nhóm -COOH. Một dải khác ở 1.105 cm^{-1} được quy kết cho dao động kéo dài đối xứng của liên kết C–O–C. Cuối cùng, dải ở 692 cm^{-1} tương ứng với dao

động kéo dài của liên kết C–COOH. Đối với hệ nano $W_1/O/W_2$ cường độ của các nhóm đặc trưng ở các tần số 3.632, 1.683, 1.105 và 692 cm^{-1} giảm và dao động của –OH chuyển về phía bước sóng dài với dao động cực đại ở 3.670 cm^{-1}. Kết quả này chỉ ra rằng lớp vỏ kép của nhũ tương đã hạn chế dao động của các nhóm chức đặc trưng của betalain, đặc biệt là các nhóm –OH, -NH, -COOH. Điều này cho thấy, các phân tử betalain trong lớp nhũ tương kép có khả năng bền với các yếu tố tác động của môi trường ngoài. Li và cs (2022) cũng chỉ ra rằng betalain thông qua liên kết hydro hoặc lực tĩnh điện với lớp vỏ sẽ giúp cho hiệu suất bao gói tăng lên [18]. Hình 5b minh họa cấu trúc của nhũ tương nano $W_1/O/W_2$, trong khi hình 5c cho thấy hình ảnh TEM. Kích thước giọt quan sát được từ TEM cũng phù hợp với kết quả đo bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động (Hình 5d).

3.4. Độ ổn định của hệ nano

3.4.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ.

Hình 6a thể hiện sự phụ thuộc độ bền của dịch chiết và hệ nano $W_1/O/W_2$ (được điều chế với các điều kiện tối ưu ở mục 3.1) với nhiệt độ. Kết quả cho thấy, ở 70°C, độ hấp thụ của dịch chiết bắt đầu giảm dần và ở 90°C thì chỉ còn khoảng 50%. Dữ liệu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Wybraniec và cs (2005) [3], Herbach và cs (2006) [19]. Trong khi đó, độ bền màu của $W_1/O/W_2$ khá tốt, chỉ giảm khoảng 10% ở nhiệt độ 90°C. Kích thước hạt có xu hướng tăng khi nhiệt độ tăng vì các giọt $W_1/O/W_2$ dao động mạnh và có thể kết hợp với nhau để làm tăng kích thước của hệ. Bên cạnh đó, kết quả hiệu suất đóng gói cho thấy, sự thay đổi không đáng kể và chỉ giảm mạnh ở 100°C. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phân hủy của betanin tương ứng với sự đứt gãy liên kết trong cấu trúc. Sự phá vỡ liên kết này có liên quan đến quá trình decarboxyl hóa mà phân tử betanin phải chịu khi tiếp xúc với nhiệt độ cao. Nghiên cứu của Wybraniec và cs (2005) [3], Herbach và cs (2006) [19] đã chỉ ra sự phá vỡ nhóm carboxyl của phân tử betanin bằng cách tăng nhiệt độ, tại đó phân tử betanin dễ bị decarboxyl hóa ở các vị trí C2, C15 và C17. Có thể coi việc mất nhóm -COOH đã dẫn đến việc hình thành chất trung gian làm mất ổn định phân tử. Do đó, việc sắp xếp lại các electron đã được thực hiện để lắp ráp liên kết đôi giữa C14 và C15 nhằm tạo ra phân tử neo-betanin. Do đó, khi được vi bao trong hệ $W_1/O/W_2$, các chất màu được bảo vệ và giữ cấu trúc bền vững trong lõi nhũ tương kép.

3.4.2. Ảnh hưởng của độ pH

Hình 6b cho thấy, ảnh hưởng của pH đối với $W_1/O/W_2$ tại nhiệt độ phòng. Độ ổn định màu và kích thước giọt trung bình của $W_1/O/W_2$ được thay đổi không đáng kể trong khoảng pH từ 2,0 đến 9,0. Tuy nhiên, ở độ pH quá thấp (1,0) hoặc quá cao (11,0), màu sắc của hệ nhạt dần, kích thước hạt và hiệu quả đóng gói cũng thay đổi đáng kể. Nguyên nhân được cho là do ở các khoảng giá trị pH này, lực đẩy tĩnh điện giữa các hạt nano bị giảm đi do sự hấp phụ ưu tiên của các ion hydronium (H^+) và anion hydroxit (OH^-) lên bề mặt giọt, dẫn đến bề mặt bị trung hòa điện tích. Do đó, các hạt này có xu hướng kết hợp với nhau làm cho kích thước hệ nano tăng lên. Rao và McClements (2010) cũng phát hiện ra rằng nhũ tương nano ổn định hơn ở giá trị pH trung tính và các hạt nano sẽ tăng kích thước ở giá trị pH thấp hơn hoặc cao hơn [20]. Kết quả này cũng chứng minh rằng lớp vỏ nhũ tương ngăn cản đáng kể ảnh hưởng của các ion H^+ và OH^- lên các sắc tố. Theo đó, lớp vỏ kép ngăn chặn sự xâm nhập và tấn công của ion H^+ và ion OH^- vào lớp lõi bên trong, khiến các phản ứng thủy phân và chuyển vị ít xảy ra hơn. Do đó, độ bền màu của hệ thống được duy trì tốt trong điều kiện thí nghiệm. Kết quả này có ý nghĩa khá quan trọng, cho thấy hệ $W_1/O/W_2$ chứa betalain có thể được ứng dụng làm chất tạo màu thực phẩm trong môi trường có giá trị pH thấp hoặc cao.

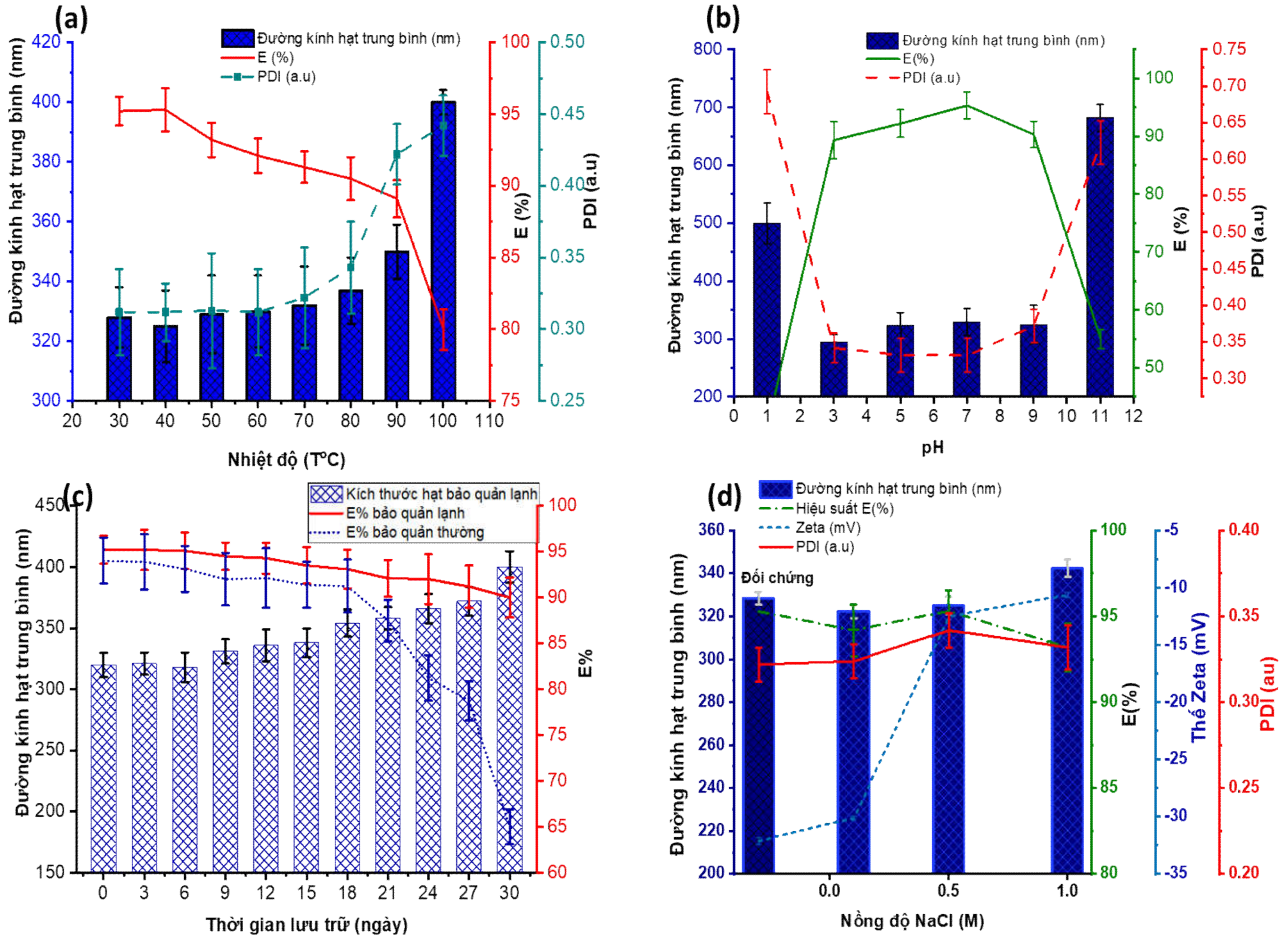
3.4.3. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản

Hình 6c mô tả sự suy giảm hiệu quả đóng gói chất màu (E%). Sau 30 ngày thử nghiệm ở điều kiện bảo quản lạnh, giá trị này chỉ giảm khoảng 5,0%. Trong khi đó, với điều kiện nhiệt độ phòng,

hiệu suất đóng bao giữ ổn định trong khoảng 21 ngày, sau đó giảm dần và chỉ còn khoảng 65% sau 30 ngày bảo quản. Hơn nữa, hệ $W_1/O/W_2$ cũng cho thấy sự tách lớp sau 24 ngày bảo quản. Kích thước trung bình của hệ cũng có sự thay đổi tương ứng với sự suy giảm của hiệu suất bao gói.

3.4.4. Ảnh hưởng của lực ion

Ảnh hưởng của lực ion đến độ bền, hiệu suất bao gói của nhũ tương nano đã được khảo sát. Số liệu ở đồ thị hình 6d cho thấy, kích thước hạt trung bình của hệ cũng thay đổi không đáng kể. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ NaCl từ 0,1, 0,5 và 1,0 M giá trị thế Zeta của hệ nano cũng tăng lên khá nhiều, tương ứng với -32,1 mV, -12,5 mV và -10,6 mV. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Tran và cs (2021) [16], Chuacharoen và cs (2019) [21], Wang và cs (1997) [22]. Theo đó, sự gia tăng giá trị của thế Zeta trong hệ nano nhũ tương là do ion natri đã trung hòa bề mặt tích điện âm của hệ thống nano.



Hình 6. Các yếu tố ảnh hưởng đến kích thước hạt, chỉ số PDI và hiệu suất vi bao E%. (a): ảnh hưởng của nhiệt độ, (b): ảnh hưởng của pH, (c): ảnh hưởng của thời gian lưu trữ và (d): ảnh hưởng của NaCl

4. KẾT LUẬN

Hệ nhũ tương kép chứa chất màu betalain trong lõi nước đã được điều chế. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành của hệ nano đã được khảo sát như: Nồng độ chất nhũ hóa pha dầu và pha nước. Một số đặc tính hóa lý của hệ cũng đã được nghiên cứu như phân bố kích thước hạt, hình thái của giọt nhũ tương, điện thế bề mặt Zeta. Các yếu tố ảnh hưởng đến độ ổn định của hệ như thời gian lưu trữ, độ pH, nhiệt độ, lực ion cũng đã được kiểm tra. Độ bền của chất màu tăng lên đáng kể khi được bao gói trong hệ nano hai lớp, từ đó mở

ra gợi ý ứng dụng hệ này làm chất màu thực phẩm trong các sản phẩm có các giá trị pH khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Calva-Estrada, S. J., Jiménez-Fernández, M., Lugo-Cervantes, E. (2019). Betalains and their applications in food: The current state of processing, stability and future opportunities in the industry. *Food Chem. Mol. Sci*. 4, 100089 (2022).

2. Sadowska-Bartosz, I., Bartosz, G. (2021). Biological Properties and Applications of Betalains. *Molecules*. 26, 2520.

3. Wybraniec, S. (2005). Formation of Decarboxylated Betacyanins in Heated Purified Betacyanin Fractions from Red Beet Root (*Beta vulgaris* L.) Monitored by LC–MS/MS. *J. Agric. Food Chem*. 53, 3483–3487.

4. Cejudo-Bastante, M. J., Hurtado, N., Delgado, A., Heredia, F. J. (2016). Impact of pH and temperature on the colour and betalain content of Colombian yellow pitaya peel (*Selenicereus megalanthus*). *J. Food Sci*. Technol. 53, 2405–2413.

5. Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Iturriaga, L., Nazareno, M. A., Osorio, C. (2015). Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (Opuntia ficus-indica) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents. *Food Chem*. 187, 174–181.

6. Kaimainen, M., Marze, S., Järvenpää, E., Anton, M., Huopalahti, R. (2015). Encapsulation of betalain into w/o/w double emulsion and release during in vitro intestinal lipid digestion. LWT - *Food Sci. Technol.* 60, 899–904.

7. Pagano, A. P. E., Khalid, N., Kobayashi, I., Nakajima, M., Neves, M. A., Bastos, E. L. (2018). Microencapsulation of betanin in monodisperse W/O/W emulsions. *Food Res. Int*. 109, 489–496 (2018).

8. Harimurti, N., Mulia, K., Nasikin, M. (2020). Preparation of W/O/W double nanoemulsions loaded by red dragon fruit extract. Presented at the AIP Conference Proceedings, 1-10.

9. Nguyễn Quốc Duy, Nguyễn Thị Vân Linh, Trương Thị Huỳnh Mai, Nguyễn Thị Thảo Quyên (2017). Ảnh hưởng của điều kiện trích ly lên hàm lượng betalain của dịch trích từ củ dền. *Tạp chí Công Thương*. 10, 404–409.

10. Thi, Hoang Nhon, N., Thi, Nguyen Hang, T. (2020). Optimization of extraction of betalain from red beetroot (*Beta vulgaris var . rubra (L .)* Moq). 20, 93–102.

11. Fu, Y., Shi, J., Xie, S. Y., Zhang, T. Y., Soladoye, O. P., Aluko, R. E. (2020). Red Beetroot Betalains: Perspectives on Extraction, Processing, and Potential Health Benefits. *J. Agric. Food Chem. 6*8, 11595–11611. (2020).

12. Wang, J., Zhao, W., Jiang, J., Xu, H., Li, S., Lim, W. S. (2022). Polyglycerol polyricinoleate stabilised water-in-oil emulsion: structural characteristics and functional performance. I*nt. Food Res. J.* 29, 349–356.

13. Stoyanova, K., Vinarov, Z., Tcholakova, S. (2016). Improving Ibuprofen solubility by surfactant-facilitated self-assembly into mixed micelles. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 36, 208–215.

14. Tran, Q. H., Thuy, T. T. H., Nguyen, T. T. T. (2021). Fabrication of a narrow size nano curcuminoid emulsion by combining phase inversion temperature and ultrasonication: preparation and bioactivity. *New J. Chem.* 45, 9658–9667 (2021).

15. Jintapattanakit, A. (2018). Preparation of nanoemulsions by phase inversion temperature (PIT) method. Pharm. Sci. Asia. 45, 1–12.

16. Tran, Q., Le Thi, T., Nguyen, T., Tran, T., Le, Q., Luu, T., Dinh, V. (2021). Facile synthesis of novel nanocurcuminoids–sacha inchi oil using the phase inversion temperature method: Characterization and antioxidant activity. *J. Food Process.* Preserv. 1–10.

17. Jintapattanakit, A., Hasan, H. M., Junyaprasert, V. B. (2018). Vegetable oil-based nanoemulsions containing curcuminoids: Formation optimization by phase inversion temperature method. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 44, 289–297.

18. Li, X., Zhang, Z. H., Qiao, J., Qu, W., Wang, M. S., Gao, X., Zhang, C., Brennan, C. S., Qi, X. (2022). Improvement of betalains stability extracted from red dragon fruit peel by ultrasound-assisted microencapsulation with maltodextrin. Ultrason. Sonochem. 82, 105897.

19. Herbach, K. M., Stintzing, F. C., Carle, R. (2006). Stability and Color Changes of Thermally Treated Betanin, Phyllocactin, and Hylocerenin Solutions. *J. Agric. Food Chem.* 54, 390–398.

20. Rao, J., McClements, D. J. (2010). Stabilization of phase inversion temperature nanoemulsions by surfactant displacement. Agric. *Food Chem.* 58, 11, 7059–7066.

21. Chuacharoen, T., Prasongsuk, S., Sabliov, C. M. (2019). Effect of Surfactant Concentrations on Physicochemical Properties and Functionality of Curcumin Nanoemulsions Under Conditions Relevant to Commercial Utilization. Molecules. 24, 27-44.
https://doi.org/10.3390/molecules24152744.

22. Wang, Y. J., Pan, M. H., Cheng, A. L., Lin, L. I., Ho, Y. S., Hsieh, C. Y., Lin, J. K. (1997). Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 15, 1867–1876.

STUDY ON PREPARATION OF THE W/O/W NANOEMULSION CONTAINING BETALAIN FROM RED BEETROOT EXTRACT BY THE HOMOGENIZATION METHOD

Vo Minh Trung[1], Nguyen Thi Hai Yen[1], Pham Minh Duy[1], Ha Anh Tuan[1], Nguyen Phuong Tuyen[1], Nguyen Van Hai[1], Nguyen Quynh Dao[1], Tran Quang Hieu[1, 2, *]

[1]Faculty of Food Technology, Saigon Technology University
[2]Basic Sciences Department, Saigon Technology University
[*]Email: hieu.tranquang@stu.edu.vn

Summary

This research used two-step low-energy emulsification to prepare a double nanoemulsion W/O/W for encapsulating hydrophilic betalains from beetroot extract to stabilize the color from the affection of temperature, period storage, pH, and ion strength. Hydrophobic surfactant polyglycerol polyricinoleate (PGPR), soya bean oil, and red beetroot extract were used for the emulsification of primary water in oil (W_1/O). Tween 80 at a concentration of 5.0% was used for emulsification of the outer aqueous phase W_2. The mixture of W_1/O and W_2 was homogenized with a magnetic stirrer at 350 rpm for 5.0 min and heated at 70°C. Afterward, the mixture was abruptly cooled down by immersing the system in an ice bath until the temperature dropped to 10°C. Finally, the mixture was homogenized by IKA homogenizer (IKA) at 10,000 rpm in 3.0 min to obtain W_1/O/W_2 nanoemulsion. Some characteristics of W_1/O/W_2 nanoemulsion were 328.5 nm droplet diameter, 0.308 a.u of PDI, and -32.1 mV zeta potential. The antioxidant activity of this W_1/O/W_2 nanoemulsion applying the DPPH method was 10% higher than betalains in the natural extract. The stability of the W_1/O/W_2 nanoemulsion, including droplet size, PDI, and E% was investigated in various conditions. These values were stable in the pH range from 2-9, did not change significantly with different ionic strengths of the NaCl solution, kept steady at temperatures up to 90°C, and were unchanged for 21 days at room temperature and 4°C of storage.

Keywords: *Beetroot, encapsulation, nanoemulsion, double emulsion.*

Người phản biện: PGS.TS. Hồ Tuấn Anh
Ngày nhận bài: 8/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 3/4/2023
Ngày duyệt đăng: 10/4/2023

ĐẶC TÍNH CHITINAZA TỪ VI KHUẨN *Vibrio proteolyticus* B02 VÀ TIỀM NĂNG ỨNG DỤNG TRONG THỦY PHÂN CHITIN

Vũ Thị Kiều Oanh[1], Trần Thị Vân Anh[1], Phạm Thu Hà[1],
Vi Thị Thanh Hiền[1], Lê Thanh Hà[1,*]

TÓM TẮT

Bài báo công bố các kết quả nghiên cứu đặc tính chitinaza sinh tổng hợp từ *Vibrio proteolyticus* B02 phân lập từ nước biển Cát Hải, thành phố Hải Phòng sử dụng các phương pháp xác định hoạt độ chitinaza, endochitinaza, chitobiosidaza cũng như xác định ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến hoạt độ và độ bền của chitinaza. Sản phẩm thủy phân được phân tích bằng sắc ký bản mỏng TLC và sắc ký lỏng cao áp HPLC. Kết quả nghiên cứu cho thấy, *V. proteolyticus* B02 có khả năng sinh tổng hợp chitinaza với đầy đủ hoạt tính endochitinaza, chitobiosidaza và β-N-axetyl-D-hexosaminidaza (NAHase). Các enzym thành phần này đều hoạt động tối ưu ở 40°C, tuy nhiên ở các pH khác nhau. Trong khi pH tối ưu cho endochitinaza và chitinaza tổng là 5-7, NAHaza là 7-8, thì chitobiosidaza có pH hoạt động thấp hơn, trong khoảng 4-6. Hoạt độ chitinaza trong dịch enzym thô bền ở pH 6-7 và nhiệt độ 30-35°C, giảm hơn 50% sau 72 giờ ở pH 5 và giảm mạnh chỉ còn 15% ở pH 4 chỉ sau 24 giờ. Chitinaza từ *V. proteolyticus* B02 có khả năng thủy phân chitin keo tạo sản phẩm chính là N-axetyl glucosamin NAG và N,N-diaxetyl glucosamin $(NAG)_2$. Hiệu suất thủy phân đạt cao nhất là 91,42% tại pH 6 và nhiệt độ 30°C.

Từ khóa: *Ảnh hưởng nhiệt độ, ảnh hưởng pH, chitin, chitinaza, Vibrio proteolyticus.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chitin là polime tự nhiên, không độc có sản lượng lớn thứ hai trong tự nhiên sau cellulose, có nhiều trong vỏ giáp xác như tôm, cua, nang mực, nấm và côn trùng với sản lượng hàng năm khoảng 10^{10}-10^{12} tấn [1]. Chitin là một polyme không tan, hiếm khi tồn tại ở trạng thái tự do. Trong vỏ tôm, chitin tồn tại ở dạng kết hợp với protein, astaxantin, khoáng chất,… với hàm lượng vào khoảng 12-42% so với khối lượng vỏ tôm khô [2]. Nhiều nghiên cứu đã tập trung vào việc tách chiết chitin từ vỏ tôm, tuy nhiên, do đặc tính tương đối bền, khả năng ứng dụng của chitin còn nhiều hạn chế. Một hướng nghiên cứu được quan tâm hiện nay là phân giải chitin thành các phần tử nhỏ hơn như oligome hay monome có hoạt tính sinh học. Dạng oligome của chitin đã được chứng minh có khả năng kháng khuẩn, kích thích sinh trưởng và tăng cường đề kháng cho thực vật. Đơn phân chitin N-axetyl-D-glucosamin (NAG) được chứng minh có khả năng chữa các bệnh về khớp [3].

Phương pháp sinh học dùng chitinase để thủy phân chitin được quan tâm hiện nay do thân thiện với môi trường. Về phân loại, chitinase được phân thành endochitinaza và exochitinaza. Endochitinaza (EC 3.2.1.14) phân cắt ngẫu nhiên chitin tại các vị trí bên trong tạo ra chitotrioza, chitotetraoza và diaxetylchitobioza. Trong khi đó, exochitinaza được phân thêm thành hai loại: (i) chitobiosidaza (EC 3.2.1.29), giải phóng N,N-diaxetylchitobioza $(NAG)_2$ từ đầu không khử của chitin và (ii) β-1,4-N-axetyl glucosaminidaza (EC 3.2.1.30) hay β-1,4-N-axetylhexosaminidaza (EC 3.2.1.52), phân cắt các sản phẩm của endochitinaza

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
[*]Email: ha.lethanh@hust.edu.vn

và chitobiosidaza, tạo ra các đơn phân N-axetyl-D-glucosamin NAG [4].

Vi khuẩn biển được coi là nguồn vi sinh vật phong phú có khả năng sinh tổng hợp chitinaza. Nhiều loài vi khuẩn thuộc chi *Vibrio* đã được chứng minh có khả năng sinh chitinaza [5]. *Vibrio proteolyticus* vi khuẩn Gram âm hình que sinh trưởng tùy tiện. Các nghiên cứu về *V. proteolyticus* hiện nay tương đối ít. *V. proteolyticus* đã được công bố có khả năng sinh endochitinaza thủy phân hexa-N-axetyl-chitohexaoza tạo sản phẩm chính là diaxetylchitobioza [6].

Trong nghiên cứu này, *V. proteolyticus* BO2 được chứng minh có khả năng sinh tổng hợp β-1,4-N-axetylhexosaminidaza NAHaza và chitobiosidaza ngoài endochitinaza. Ngoài ra, đặc tính của chitinaza như nhiệt độ và pH tối ưu, tính bền nhiệt và bền pH của chitinaza cũng đã được nghiên cứu và ứng dụng để thủy phân chitin thành chitin monome.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chủng giống vi sinh vật

Chủng *Vibrio proteolyticus* BO2 (mã số ON003467) phân lập từ nước biển Cát Hải, thành phố Hải Phòng và được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm, Bộ môn Công nghệ sinh học, Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội.

Các hóa chất chính sử dụng trong nghiên cứu bao gồm Na_2HPO_4, KH_2PO_4, NH_4Cl, NaCl được mua của hãng Samchun (Hàn Quốc); chiết xuất nấm men, pepton của Angel (Trung Quốc); p-nitrophenyl N-N'-diaxetyl-β-D-chitobioside, p-nitrophenyl N-axetyl-β-D glucosamine của Sigma (Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu nhận chitinaza

Chủng *V. proteolyticus* BO2 được nhân giống trên môi trường Luria Bertani trong 8 giờ và cấp giống theo tỷ lệ 1% sang bình tam giác 250 ml chứa 50 ml môi trường khoáng tối thiểu M9 [7], bổ sung 2% (w/v) chitin thô và 0,05% chiết xuất nấm men và nuôi ở 30°C, lắc 150 vòng/phút trong 72 giờ. Dịch enzym thô được thu bằng cách ly tâm ở 10°C, 6.000 vòng/phút trong 30 phút và được dùng để đo hoạt độ enzym và thuỷ phân chitin.

2.2.2. Phương pháp chuẩn bị chitin keo

Mỗi gam α – chitin thu từ vỏ tôm được bổ sung vào 20 ml HCl 37% lạnh, khuấy từ ở 4°C trong 18 giờ. Cho 100 mL ethanol 96% lạnh vào hỗn hợp trên, khuấy từ ở 4°C trong 24 giờ. Sau đó đem hỗn hợp trên ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 10 phút và rửa sạch nhiều lần bằng nước cất đến khi đạt pH = 5. Sau đó giữ ở 4°C để sử dụng lâu dài [8].

2.2.3. Phương pháp xác định hoạt độ chitinaza

Hoạt độ chitinaza tổng: Hoạt độ chitinaza tổng được xác định theo phương pháp Binod và cs (2007) có cải tiến [9]. Thêm 0,5 ml dịch nổi chứa enzym vào 0,5 mL dung dịch cơ chất chitin gel 1% pha trong đệm axetat natri (50 mM, pH 5,0). Hỗn hợp được ủ ở 37°C trong 30 phút sau đó đem ly tâm, xác đinh lượng đường khử sinh ra trong dịch nổi bằng phương pháp dinitrosalicylic axit (DNS), sử dụng N-axetyl glucosamin.

NAG làm chất chuẩn. Một đơn vị hoạt độ chitinaza là lượng enzym cần thiết để thủy phân chitin keo tạo ra 1 µmol đường khử trong một phút ở 37°C, pH 5,0.

Hoạt độ endochitinaza: Được xác định theo phương pháp Yabuki và cs (1986) có cải tiến [10]. Trộn 2 ml dịch enzym với 320 µl gel chitin 20% và 1680 µl dung dịch đệm acetate natri 0,1 M, pH 5, ủ 20 phút, ở 35^0C. Đo độ hấp phụ quang của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 610 nm trước và sau khi ủ. Nồng độ enzym cần được pha loãng ở ngưỡng sao cho sự giảm độ hấp phụ quang không quá 20%. Một đơn vị hoạt độ enzym được định nghĩa là sự giảm độ hấp phụ quang ở bước sóng 610 nm trong 1 phút bởi 1 mL enzym.

Hoạt độ chitobiosidaza: Ủ 100 µL dịch enzym với 100 µL dịch 10 mM p-nitrophenyl N-N'-diaxetyl-

β-D-chitobiosit (pNP-$(NAG)_2$) pha trong 300 µL đệm xitrat photphat 50 mM pH 6 trong thời gian 20 phút, ở 35°C. Kết thúc phản ứng bằng cách thêm 500 µL Na_2CO_3 1M. Đo độ hấp phụ quang của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 405 nm. Một đơn vị hoạt độ enzym được định nghĩa là lượng enzym cần thiết để giải phóng 1 µmol p-nitrophenol trong 1 phút ở 35°C, pH 6.

Hoạt độ β-N-axetyl-D-hexosaminidaza (NAHaza): Ủ 100 µL dịch enzym với 100 µL dịch 10 mM p-nitrophenyl N-axetyl-β-D glucosamin (pNP-NAG) pha trong 300 µL đệm xitrat photphat 50 mM pH 6 trong thời gian 20 phút ở 35°C. Kết thúc phản ứng bằng cách thêm 500 µL Na_2CO_3 1 M. Đo độ hấp phụ quang của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 405 nm. Một đơn vị hoạt độ enzym được định nghĩa là lượng enzym cần thiết để giải phóng 1 µmol p-nitrophenol trong 1 phút ở 35°C, pH 6 [11].

2.2.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ, pH và nồng độ gel đến quá trình thuỷ phân gel chitin

Khảo sát nhiệt độ thủy phân trong dải từ 30-45°C, với cơ chất 40% chitin keo có pH 5, tỉ lệ enzym/cơ chất là 1/1, lấy mẫu đo đường khử sau 24, 48 và 72 giờ.

Khảo sát pH thủy phân trong dải từ 4-8 với cơ chất 40% chitin keo, tỉ lệ enzym/cơ chất là 1/1, nhiệt độ thủy phân 30°C, lấy mẫu đo đường khử sau 24, 48 và 72 giờ.

Công thức tính hiệu suất thủy phân (HSTP):

$$HSTP\ (\%) = \frac{M_1 . 0{,}92}{M_2} . 100\% \quad (1)$$

Trong đó: M_1 là lượng NAG tạo thành trong dịch thủy phân (mg/ml) được xác định bằng phương pháp DNS (mg); M_2 là khối lượng chitin tính theo % chitin trong nguyên liệu (mg); 0,92 là hệ số chuyển đổi chitin thành NAG theo lý thuyết.

2.2.5. Phương pháp sắc ký bản mỏng (TLC) xác định phổ sản phẩm thuỷ phân

Dịch sau thủy phân được chấm trên bản silica gel (Kieselgel 60 F245 Merck), sử dụng n-propanol 99%: amoniac 27% theo tỷ lệ 2 : 1 (v/v) làm dung môi phân tách. Sản phẩm thủy phân được quan sát trên bản sắc ký sau khi phun bản sắc ký bằng dung dịch 5% H_2SO_4 pha trong EtOH tuyệt đối và sấy ở nhiệt độ 140°C trong 30 phút.

2.2.6. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) xác định phổ sản phẩm thuỷ phân

Lượng $(NAG)_i$, với i từ 1 – 3 được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC): thiết bị Agilent 1200 infinity, áp suất bơm P_{max} = 100 bar, cột Aminex HPX-*87H* tách rửa ở nhiệt độ 40°C, pha động H_2SO_4 10 mM, vận tốc dòng v = 0,6 ml/phút, thể tích mẫu 0,02 ml, phát hiện ở bước sóng 210 nm. Từ sắc ký đồ $(NAG)_i$ chuẩn, ta tính được lượng $(NAG)_i$ với i = 1-3.

2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn sử dụng chương trình Microsoft Excel 2016 với số thí nghiệm lặp n=3.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng sinh chitinase của chủng *V. proteolyticus* B02

Quá trình nuôi cấy *V. proteolyticus* B02 được thực hiện theo phương pháp mô tả ở mục 2.2.1. Mẫu được lấy ở các thời điểm 24, 48 và 72 giờ. Kết quả xác định hoạt độ các enzym thể hiện ở bảng 1 cho thấy, *V. proteolyticus* B02 có khả năng sinh tổng hợp tương đối đầy đủ các loại enzym bao gồm endochitinaza, chitobiosidaza và NAHaza. Kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng của *V. proteolyticus* B02 để thủy phân chitin [5]. Hoạt tính endochitinaza từ *V. proteolyticus* đã được công bố trước đây bởi Honda và cs (2008) [12]. Kết quả ở bảng 1 cũng chỉ ra rằng, endochitinaza được sinh tổng hợp trước, có hoạt tính cao nhất ở 48 giờ, đạt ~0,225 U/ml và giảm dần đến 0,183

U/mL ở 96 giờ phù hợp với vai trò endochitinaza trong phân cắt mạch polyme chitin thành các chitooligome kích thước lớn [5]. Các enzym chitobiosidaza và NAHaza phân giải các oligome hoà tan thành các đơn vị nhỏ hơn có hoạt độ tăng dần từ 48 - 96 giờ phù hợp với trình tự phân giải chitin. Hoạt độ chitinaza tổng tăng mạnh đến 19% từ 48 - 72 giờ khi hoạt độ chitobiosidaza và NAHaza tăng tương ứng 35,5% và 42,2%, trong khi hoạt độ endochitinaza giảm 11,11%. Từ 72 - 96 giờ hoạt độ chitinaza tổng chỉ tăng 4,55%, do hoạt tính chitobiosidaza và NAHaza chỉ tăng tương ứng 22,08% và 2,86% và hoạt độ endochitinaza giảm 8,5%. Nghiên cứu lựa chọn thu enzym sau 72 giờ lên men để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo do kết quả sử dụng dịch enzym thô để thủy phân chitin cho hiệu suất thủy phân cao hơn so với dịch enzym thu tại 48 giờ và 72 giờ (kết quả không thể hiện).

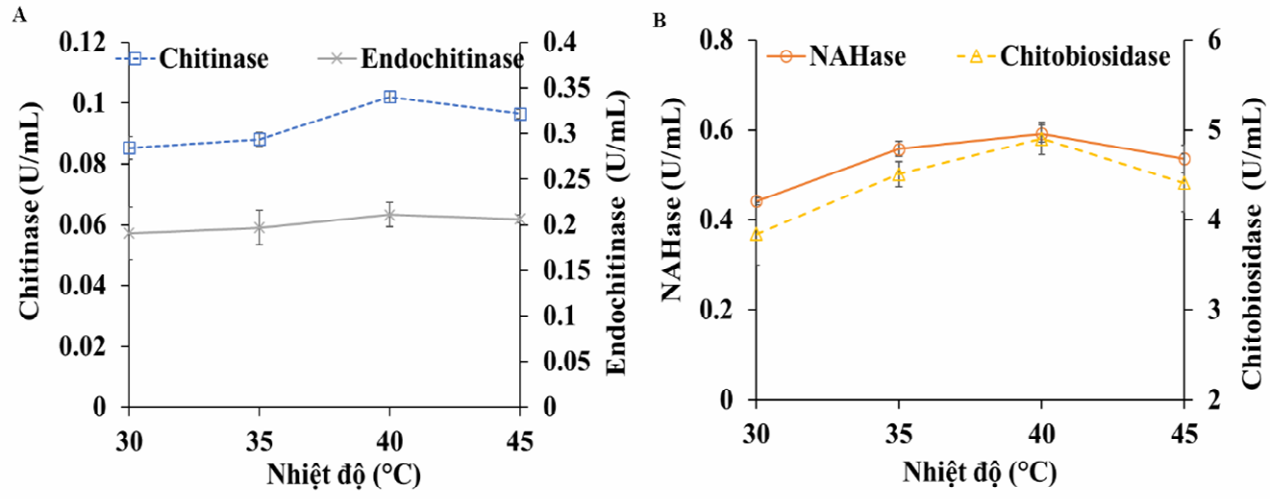
Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến hoạt độ của các enzym

	Thời gian lên men (giờ)		
	48	72	96
Chitinase tổng (U/mL)	0,068 ± 0,007	0,084 ± 0,002	0,088 ± 0,002
NAHaza (U/mL)	0,314 ± 0,022	0,543 ± 0,056	0,559 ± 0,067
Endochitinaza (U/mL)	0,225 ± 0,002	0,200 ± 0,008	0,183 ± 0,008
Chitobiosidaza (U/mL)	2,499 ± 0,001	3,875 ± 0,044	4,973 ± 0,179

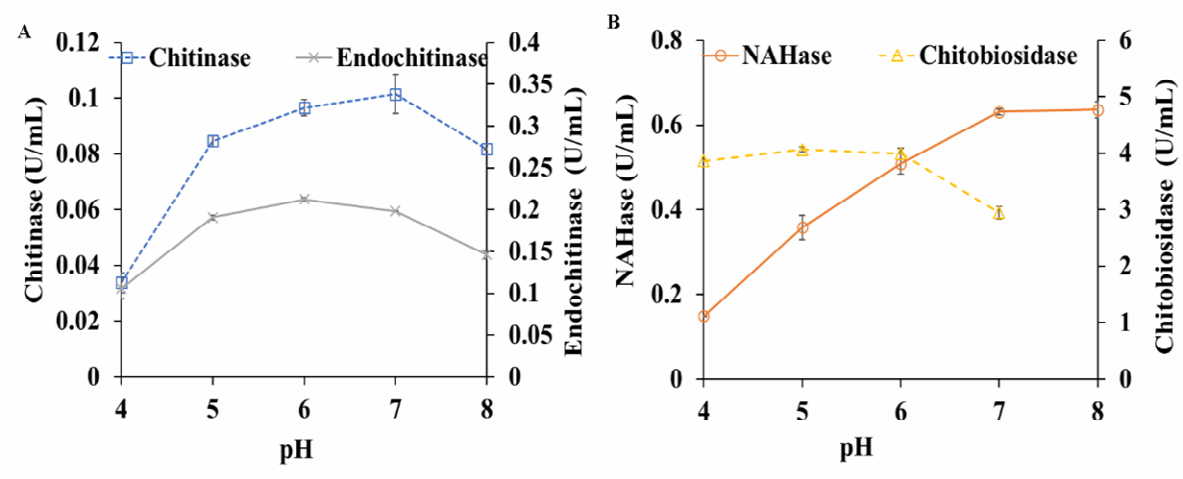
3.2. Một số đặc tính của chitinase từ *V. proteolyticus* BO2

3.2.1. Ảnh hưởng của pH, nhiệt độ đến hoạt độ của các enzym

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt độ các enzym được thực hiện tại pH 5 với nhiệt độ thay đổi từ 30 - 45°C. Kết quả ở hình 1 cho thấy, hoạt độ endochitinaza, chitobiosidaza và NAHaza đều tăng dần từ 30 - 40°C, đạt tối ưu tại 40°C và giảm tại 45°C, do vậy hoạt độ chitinaza tổng cũng thể hiện hoạt tính tối ưu tại 40°C. Hoạt độ NAHaza, chitobiosidazae và endochitinaza giảm tương ứng 9,5%, 10% và 2,2% tại 45°C, dẫn đến hoạt độ chitinaza tổng giảm 5,5% so với tại nhiệt độ tối ưu 40°C. Trong khi tại 35°C mức độ giảm hoạt độ các enzym tương ứng là 5,7%, 8% và 6,65%, dẫn đến hoạt độ chitinaza tổng giảm 13,67%. Endochitinaza từ *V. proteolyticus* cũng đã được công bố hoạt động tối ưu ở 40°C [12]. So với các loài cùng chi, chitinaza từ *V. parahaemolyticus* có nhiệt độ hoạt động tối ưu trong khoảng 50-55°C [13], trong khi NAHaza từ *Vibiro* sp. 98CJ11027 thể hiện hoạt tính cao nhất tại 45°C [14].



Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến hoạt độ của các enzym

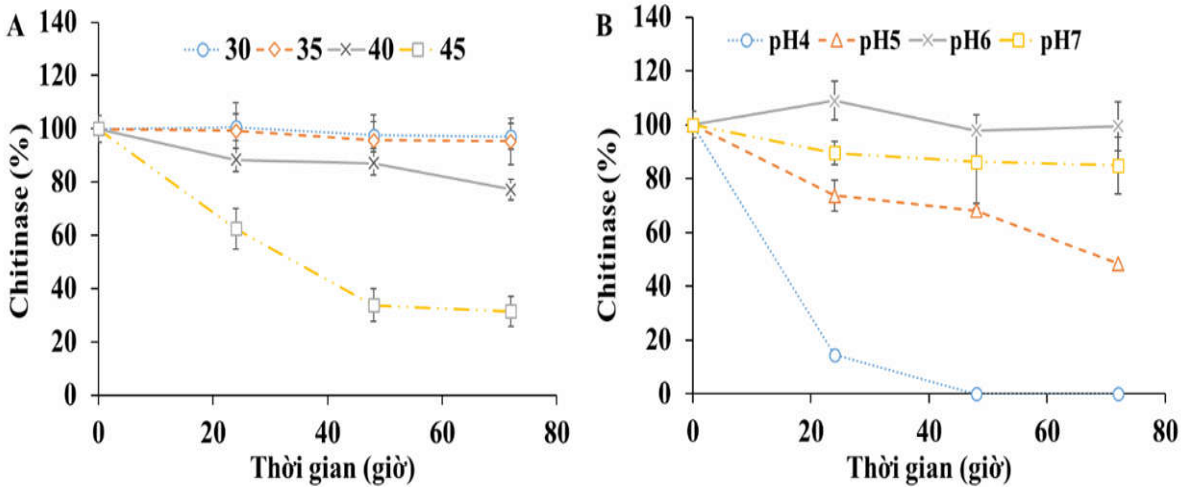


Hình 2. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến hoạt độ của các enzym

Ảnh hưởng của pH đến hoạt độ các enzym được xác định tại nhiệt độ 40°C với pH từ 4-8 (Hình 2). Kết quả ở hình 2 cho thấy, pH tối ưu cho hoạt độ của các enzym không giống nhau. Trong khi pH tối ưu cho endochitinaza là 7, NAHaza là 7-8, thì chitobiosidaza có pH tối ưu thấp hơn, từ 4-6. Do vậy chitinaza tổng có pH tối ưu trong khoảng từ 5-7 là khoảng pH phù hợp cho hoạt động của cả endochitinaza, chitobiosidaza và NAHaza. Chitobiosidaza từ *V. proteolyticus* [8] thể hiện hoạt tính cao nhất ở pH 7 (trong đệm MOPS 50 mM). He và cs (2020) chỉ ra hai enzym chitinaza từ *Vibrios* có đặc tính rất khác nhau dù tương đồng về trình tự amino axit lên đến 97,33%. Trong khi Chi1557 (từ *V. rotiferianus)* phân cắt chitooligom tạo sản phẩm chính $(NAG)_2$ và NAG có điều kiện hoạt động tối ưu ở 45-50°C, pH 5-7, Chi 4668 (từ *V. harveyi*) thể hiện hoạt tính endochitinaza phân cắt chitin keo tạo $(NAG)_{2,3,4}$ hoạt động tối ưu ở 50°C, pH trong dải 3-6 [15].

3.2.2. Đặc tính bền nhiệt và bền pH của chitinaza từ V. proteolyticus BO2

Thí nghiệm được thực hiện như mô tả ở mục 2.2.4. Kết quả ở hình 3A cho thấy, hoạt độ chitinaza giảm mạnh trong vòng 24 giờ đầu, sau đó hầu như không giảm tiếp tại 30 và 35°C, giảm nhẹ tại 40°C và giảm mạnh tại 45°C trong 48 giờ tiếp theo. Tại nhiệt độ tối ưu của enzym chitinaza 40°C, hoạt tính chitinaza giảm còn lại 77,29% sau 72 giờ ủ ở nhiệt độ 40°C và chỉ còn 31,42% tại nhiệt độ 45°C. Trong khi ở nhiệt độ 30°C và 35°C không có sự khác biệt về mức độ giảm hoạt tính và vẫn giữ được từ 95,33 - 97,12% sau 72 giờ ủ.



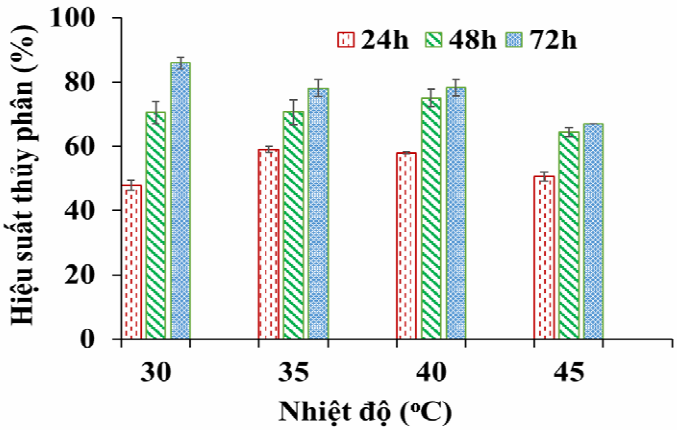
Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ (3A) và pH (3B) đến độ bền hoạt độ của enzym chitinaza theo thời gian

Hình 3B cho thấy, hoạt tính chitinaza giảm mạnh ở pH 4, chỉ còn ~15% sau 24 giờ và mất hoàn toàn hoạt tính sau 48 giờ. Ở pH 5 hoạt độ giảm ít hơn ở pH 4, còn 51% sau 72 giờ. Ở pH 6 và 7, enzym thể hiện tính ổn định cao với hoạt độ tương đối duy trì ở 90-100% sau 72 giờ ủ ở 30°C. pH 6-7 cũng là pH tối ưu cho hoạt độ enzym của endochitinaza, chitobiosidaza, NAHaza và chitinaza tổng (Hình 2). Điều này cho thấy tiềm năng ứng dụng cao của hệ enzym chitinaza thô từ BO2 do có thể giữ được hoạt độ cao trong khoảng thời gian dài ở pH 6-7 và nhiệt độ 30-35°C.

3.3. Ứng dụng chitinaza từ *V. proteolyticus* BO2 trong thủy phân chitin từ vỏ tôm

Nghiên cứu ứng dụng enzym thô từ *V. proteolyticus* để thủy phân chitin keo được tiến hành theo phương pháp mô tả tại mục 2.2.4. Quá trình thủy phân được thực hiện ở các nhiệt độ dao động trong khoảng 30-45°C, pH 4-8, trong 72 giờ. Hiệu suất thủy phân (HSTP) được tính theo công thức (1) ở mục 2.2.4.

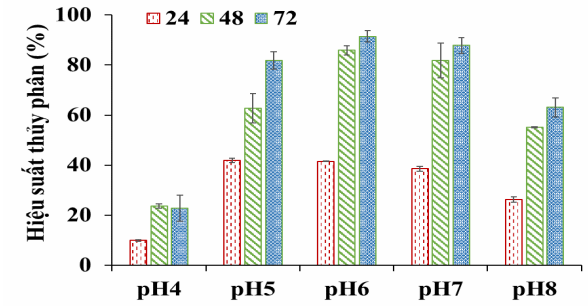
Hình 4 cho thấy, trong 24 giờ đầu, HSTP tăng đáng kể ở cả 4 nhiệt độ khảo sát, đạt giá trị cao nhất ở 35°C và 40°C, lần lượt là 59,08% và 57,97%. Khi kéo dài quá trình thủy phân HSTP tăng chậm hơn ở nhiệt độ cao hơn dẫn đến HSTP sau 72 giờ cao hơn ở nhiệt độ thấp hơn. Cụ thể, sau 72 giờ, ở 30°C HSTP đạt 85,97%, trong khi tại 45°C đạt 67,04%. Kết quả này có thể được giải thích do độ bền của enzym bị giảm mạnh ở 45°C sau 72 giờ ủ (Hình 3A). Mặc dù nhiệt độ 35°C cho hoạt độ các enzym cao hơn 30°C và độ bền chitinaza tương tự ở hai nhiệt độ này, HSTP thu được ở 35°C chỉ cao hơn 30°C trong 24 giờ thủy phân và có xu hướng tăng chậm hơn khi kéo dài thời gian thủy phân. Hiện tượng này có thể do độ bền nhiệt của endochitinaza, chitobiosidaza và NAHaza khác nhau dẫn đến sự thay đổi tỷ lệ giữa các enzym trong hệ chitinaza. Tỷ lệ tối ưu giữa các enzym được coi là chìa khóa để cải thiện mức độ thủy phân chitin tạo monome. Do đó, nhiệt độ 30°C được chọn cho quá trình thủy phân.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất của quá trình thủy phân

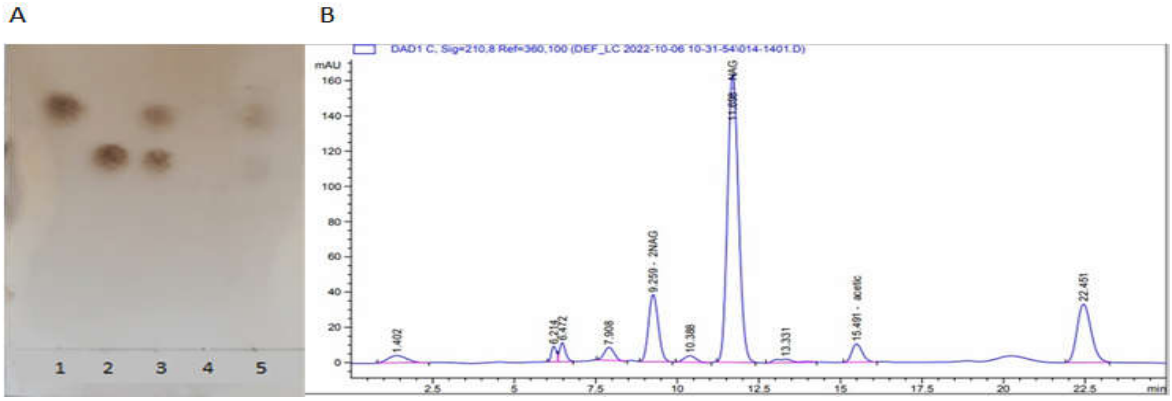
Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất thủy phân được thể hiện ở hình 4. HSTP rất thấp ở pH4 phù hợp với hoạt độ và độ bền chitinaza thấp quan sát được trong thí nghiệm trên (Hình 2 và 3B). Trong 24 giờ đầu của quá trình thủy phân, HSTP khác biệt không đáng kể ở pH5, pH6 và pH7 do đây là khoảng pH tối ưu của chitinaza từ *V. proteolyticus* B02 và enzym còn giữ hoạt độ tương đối cao. Tuy nhiên, từ sau 24 - 48 giờ thủy phân HSTP tăng mạnh ở pH6 (từ 41,56% lên 85,90%) và pH7 (từ 38,57% lên 81,78%) trong khi tăng chậm ở pH5 (từ 41,92% lên 62,68%). Điều này có thể giải thích do hoạt tính chitinaza bền hơn ở pH6 và pH7 so với pH5 (Hình 3B), sau 48 giờ hoạt tính enzym không đổi ở pH6, pH7, nhưng chỉ còn 68,2% ở pH5.

Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng điều kiện nhiệt độ và pH tối ưu của các chitinaza ở các loài vi sinh vật ưa ấm khác nhau thường nằm trong khoảng 35–50°C và pH 5–8 [16]. Các điều kiện nhiệt độ tối ưu (40°C) và pH tối ưu (pH 6) được xác định trong nghiên cứu này phù hợp với các giá trị được báo cáo trong tài liệu. Sự tăng chậm HSTP từ 48 - 72 giờ gợi ý rằng sự ức chế ngược có thể xảy ra, trong đó sự tích lũy của sản phẩm cuối làm giảm tốc độ thủy phân [17].



Hình 5. Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất của quá trình thủy phân

Như vậy, HSTP bởi enzym thô từ *V. proteolyticus* BO2 đạt cao nhất tại pH 6 sau 72 giờ thủy phân là 91,42%. HSTP đạt 79% sau 24 giờ thủy phân bởi chitinaza thô từ *Aeromonas* sp. PTCC1691 [17], trong khi enzym thô từ *Aeromonas* sp. GJ-18 sau thời gian thủy phân 120 giờ và 216 giờ cho HSTP tương ứng 83,0% và 94,9% [18]. So với các nghiên cứu đã công bố thì HSTP đạt được trong nghiên cứu này là tương đương, với thời gian ngắn hơn.



Hình 6. Sắc ký đồ sản phẩm thủy phân 24 giờ của chitinaza

Ghi chú: (A) phương pháp TLC: 1-NAG chuẩn; 2-$(NAG)_2$ chuẩn; 3 – Hỗn hợp NAG và $(NAG)_2$ chuẩn; 4 – dịch enzym; 5 – dịch sau thủy phân; (B) phương pháp HPLC.

Kết quả phân tích sắc ký đồ sản phẩm thủy phân sau 24 giờ bằng cả phương pháp TLC và HPLC đều cho thấy sản phẩm thủy phân chitin bởi chitinaza sinh tổng hợp từ *Vibrio proteolyticus* BO2 chủ yếu là NAG và $(NAG)_2$, trong đó NAG chiếm ưu thế. Kết quả này phù hợp với phổ enzym chitinaza sinh tổng hợp bởi chủng gồm endochitinaza, chitobiosidazae và NAHaza. Nghiên cứu của Chen và cs (2010) [19], Cardozo1 và cs (2019) [16] cũng đã chỉ ra rằng, hỗn hợp endochitinaza, chitobiosidaza và N-axetyl-glucosaminidaza rất cần thiết cho quá trình thủy phân hoàn toàn chitin thành NAG.

4. KẾT LUẬN

V. proteplyticus B02 có khả năng sinh tổng hợp hệ chitinaza bao gồm endochitinaza (nhiệt độ và pH tối ưu là 40°C và pH 5-7), chitobiosidaza (nhiệt độ và pH tối ưu là 40°C và pH 4-6) và β-N-axetyl-D-hexosaminidaza (nhiệt độ và pH tối ưu là 40°C, pH7-8). Hoạt độ chitinaza bền ở nhiệt độ 30-35°C và pH 6-7. Ứng dụng chitinaza thô từ *V. proteolyticus* B02 để thủy phân chitin keo cho thấy hiệu suất thủy phân cao nhất đạt được là 91,42% tại điều kiện bền của chitinase (pH 6 nhiệt độ 30°C) sau 72 giờ. Sản phẩm thủy phân chủ yếu chứa đường đơn NAG và đường đôi $(NAG)_2$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kumirska J. *et al.* (2010). Application of Spectroscopic Methods for Structural Analysis of Chitin and Chitosan. *Marine Drugs,* vol. 8, no. 5, pp. 1567-1636.

2. Rkhaila A., Chtouki T., Erguig H., El Haloui N., and Ounine K. (2021). Chemical Proprieties of Biopolymers (Chitin/Chitosan) and Their Synergic Effects with Endophytic *Bacillus* Species: Unlimited Applications in Agriculture. vol. 26, no. 4, p. 1117.

3. Liaqat F. and Eltem R. (2018). Chitooligosaccharides and their biological activities: A comprehensive review. *Carbohydrate Polymers,* vol. 184, pp. 243-259.

4. Singh R. S., Singh T., and Pandey A. (2019). Chapter 1 - Microbial Enzymes - An Overview. *Advances in Enzyme Technology*, pp. 1-40.

5. Hunt D. E., Gevers D., Vahora N. M., and Polz M. F. (2008). Conservation of the chitin utilization pathway in the *Vibrionaceae*. *Appl. Environ. Microbiol.,* vol. 74, no. 1, pp. 44-51.

6. Itoi S *et al.* (2007). Identification of a novel endochitinase from a marine bacterium *Vibrio proteolyticus* strain No. 442. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics,* vol. 1774, no. 9, pp. 1099-1107.

7. Salas-Ovilla R., Gálvez-López D., Vázquez-Ovando A., Salvador-Figueroa M., and Rosas-Quijano R. (2019). Isolation and identification of marine strains of *Stenotrophomona maltophilia* with high chitinolytic activity. (in eng), *PeerJ,* vol. 7, p. e6102.

8. Lee Y. G., Chung K. C., Wi S. G., Lee J. C., and Bae H. J. (2009). Purification and properties of a chitinase from *Penicillium* sp. LYG 0704. *Protein Expr. Purif.,* vol. 65, no. 2, pp. 244-50.

9. Binod P., Sandhya C., Suma P., Szakacs G., and Pandey A. (2007). Fungal biosynthesis of endochitinase and chitobiase in solid state fermentation and their application for the production of N-acetyl-D-glucosamine from colloidal chitin. *Bioresour Technol.,* vol. 98, no. 14, pp. 2742-8.

10. Yabuki M., K. Mizushina, T. Amatatsu, A. Ando, T. Fujii, M. Shimada, and M. Yamashita (1986). Purification and characterization of chitinase and chitobiase produced by *Aeromonas hydrophila* sub sp. anaerogenes A52. *The Journal of General and Applied Microbiology,* pp. 25-38.

11. Nguyen H. A., Nguyen T. H., Křen V., Eijsink V. G., Haltrich D., and Peterbauer C. K. (2012). Heterologous expression and characterization of an N-acetyl-β-D-hexosaminidase from *Lactococcus lactis* ssp. lactis IL1403. *J. Agric. Food Chem.,* vol. 60, no. 12, pp. 3275-81.

12. Honda Y., Taniguchi H., and Kitaoka M. (2008). A reducing-end-acting chitinase from *Vibrio proteolyticus* belonging to glycoside hydrolase family 19. *Appl. Microbiol. Biotechnol.,* vol. 78, no. 4, pp. 627-34.

13. Kadokura K. *et al.* (2007). Purification and characterization of *Vibrio parahaemolyticus* extracellular chitinase and chitin oligosaccharide deacetylase involved in the production of heterodisaccharide from chitin. *Appl. Microbiol. Biotechnol.,* vol. 75, no. 2, pp. 357-65.

14. Park S. H., Lee J. H., and Lee H. K. (2000). Purification and Characterization of Chitinase from a Marine Bacterium, *Vibrio* sp. 98CJ11027. *Journal of Microbiology,* vol. 38, pp. 224-229.

15. He X., Yu M., Wu Y., Ran L., Liu W., and Zhang X. H. (2020). Two Highly Similar Chitinases from Marine Vibrio Species have Different Enzymatic Properties. *Mar. Drugs,* vol. 18, no. 3.

16. Cardozo F. *et al.* (2019). Bioproduction of N-acetyl-glucosamine from colloidal α-chitin using an enzyme cocktail produced by *Aeromonas caviae* CHZ306. *World Journal of Microbiology and Biotechnology,* vol. 35, p. 114.

17. Jamialahma K., Behravan J., Najafi M., Yazdi M., Shahverdi A. R., and Faramarzi M. (2011). Enzymatic Production of N-Acetyl-D-Glucosamine from Chitin Using Crude Enzyme Preparation of *Aeromonas* sp. PTCC1691. *Biotechnology(Faisalabad),* vol. 10, pp. 292-297.

18. Kuk J. H., Jung W. J., Jo G. H., Kim Y. C., Kim K. Y., and Park R. D. (2005). Production of N-acetyl-beta-D-glucosamine from chitin by

Aeromonas sp. GJ-18 crude enzyme. *Appl. Microbiol. Biotechnol.,* vol. 68, no. 3, pp. 384-9.

19. Chen J. K., Shen C. R., and Liu C. L. (2010). N-Acetylglucosamine: Production and Applications. vol. 8, no. 9, pp. 2493-2516.

CHARACTERISATION OF CHITINASE FROM *Vibrio proteolyticus* BO2 AND ITS APPLICATIONS IN CHITIN HYDROLYSIS

Vu Thi Kieu Oanh, Tran Thi Van Anh, Pham Thu Ha,

Vi Thi Thanh Hien, Le Thanh Ha

Summary

This study studied the properties of chitinase from *Vibrio proteolyticus* B02, which was isolated from Cat Hai, Hai Phong city seawater using chitinase, endochitinase, chitobiosidase and β-N-acetyl-D-hexosaminidase assays. Fur thermore the influence of pH and temperature on the activity and stability of chitinase was also studied. The hydrolysis products were analysed by TLC and HPLC. Results showed that *V. proteolyticus* B02 can biosynthesize ensemble chitinase with endochitinase, chitobiosidase, and NAHase activities, the activities of which showed optimum at 40˚C but at various pH. While the optimal pH for endochitinase and total chitinase was 5-7, NAHase was 7-8, chitobiosidase 4-6. Chitinase activity was stable at pH of 6-7 and temperature of 30-35˚C, and was reduced by more than 50% after 72 hours at pH 5 and reduced dramatically to 15% after only 24 hours at pH 4. Chitinase from *V. proteolyticus* B02 could hydrolyse colloidal chitin to major products N-acetyl glucosamine NAG and N, N-diacetyl glucosamine $(NAG)_2$. The highest hydrolysis yield of 91.42% was reached after 72 hours hydrolysis at pH 6 and a temperature of 30˚C.

Keywords: *Temperature effect, pH effect, chitin, chitinase, Vibrio proteolyticus.*

Người phản biện: PGS.TS. Vũ Ngọc Bội

Ngày nhận bài: 8/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 3/4/2023

Ngày duyệt đăng: 10/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ TỚI KHẢ NĂNG CHIẾT XUẤT ERINACINE A TỪ NẤM BỜM SƯ TỬ (*Hericium erinaceus*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾT CÓ HỖ TRỢ SÓNG SIÊU ÂM

Nguyễn Đức Tiến[1,*], Nguyễn Trọng Duy[2], Nguyễn Thị Huyền[1]

TÓM TẮT

Erinacine A (EA) thuộc nhóm Diterpenoid được khai thác và thu hồi từ nấm bờm sư tử (*Hericium erinaceus*) bằng phương pháp chiết xuất. Các nghiên cứu đã chứng minh rằng EA có hoạt tính sinh học quan trọng, bao gồm: kích thích sinh tổng hợp yếu tố tăng trưởng thần kinh, hoạt động chống khối u, được ứng dụng giúp bổ não, chữa trị suy giảm thần kinh, giúp chữa bệnh giảm trí nhớ, tăng cường miễn dịch và chống khối u, hoạt tính chống HIV, tăng cường miễn dịch, tác dụng hạ đường huyết và hoạt tính kháng vi sinh vật... Những tác dụng có lợi của EA từ nấm bờm sư tử đối với sức khỏe con người đã tạo sự quan tâm về nghiên cứu phát triển các phương pháp chiết xuất chúng từ nấm bờm sư tử quả thể. Mục đích của nghiên cứu này là xác định một số yếu tố ảnh hưởng đến khả năng chiết xuất EA từ nấm bờm sư tử bằng hệ thống chiết siêu âm tần số 20 kHz. Kết quả cho thấy, các điều kiện thích hợp chiết xuất EA là: tỷ lệ EtOH 70%/nguyên liệu là 8/1 (v/w), cường độ siêu âm 50 w/cm^2, nhiệt độ 55^{o}C, thời gian chiết 8 phút, hiệu suất thu hồi EA là 0,272% khối lượng khô quả thể nấm bờm sư tử nguyên liệu.

Từ khóa: *Chiết xuất, erinacine, nấm bờm sư tử, siêu âm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm bờm sư tử có tên khoa học là *Hericium erinaceus* là một loài nấm ăn và nấm dược liệu thuộc họ *Hericiaceae*. Nấm bờm sư tử còn có tên gọi khác là nấm hầu thủ, nấm đầu khỉ, nấm lông nhím, Yamabushitake (Nhật). Nấm bờm sư tử phổ biến trong tự nhiên và phân bố chủ yếu ở châu Á, châu Âu và Bắc Mỹ. Quả thể của nấm bờm sư tử đã được biết đến như một loại nấm ăn và dược liệu trong nhiều thế kỷ ở Trung Quốc [1, 2]. Hiện nay, nhiều nghiên cứu đã phát hiện trong quả thể và sợi nấm của nấm bờm sư tử có nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như polysaccharid [3,4], hericenones [5], ergothioneine [6], erinacines [7]. Các hợp chất có hoạt tính sinh học này đã được báo cáo là hữu ích cho sức khỏe con người chống lại các bệnh về hệ sinh lý khác nhau, bao gồm hệ thần kinh, hệ tiêu hóa, hệ tuần hoàn và hệ miễn dịch [2,8,9,10]. Erinacine phân lập từ nấm Bờm sư tử thuộc nhóm Diterpenoid, một loại chất chuyển hóa thứ cấp. Một số Erinacine (A, B, C, D, E, F, G, H, I, P và Q) đã được chiết xuất từ nấm bờm sư tử. Trong đó Erinacine A (EA) được phát hiện là một hợp chất đặc biệt có khả năng thúc đẩy hoạt động của yếu tố tăng trưởng thần kinh [11,12]. Cho đến nay, EA từ nấm nấm bờm sư tử đã được khẳng định là có tác dụng dược lý đối với hệ thần kinh trung ương [13], tức là ngăn ngừa đột quỵ lâu dài [14], bệnh Parkinson [15], bệnh Alzheimer [16], trầm cảm, các bệnh liên quan đến thần kinh và lão hóa [17]. Một số nghiên cứu cho thấy, các bệnh liên quan đến thoái hóa thần kinh đã được cải thiện một cách hiệu quả thông qua việc uống các diterpenoid như EA [18]. Trong nghiên cứu này đã tiến hành khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng tới khả năng chiết xuất EA là loại Diterpenoid từ nấm

[1] Viện Cơ điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch
[2] Khoa Hóa học - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
[*] Email: nguyenductienvcd@gmail.com

bờm sư tử trồng tại huyện Ba Vì, thành phố Hà Nội bằng thiết bị sóng siêu âm nhằm thu nhận EA.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu, dụng cụ và máy móc thiết bị

2.1.1. Nguyên liệu

Nguồn nấm Bờm sư tử (*Hericium erinaceus)*: Thu mua tại cơ sở trồng nấm Ba Vì - Hà Nội, vào tháng 11 - 12/2022. Nấm được trồng từ giống nấm Bờm sư tử ký hiệu He1 do Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nấm - Viện Di truyền Nông nghiệp cung cấp. Thời điểm thu hoạch là thời gian quả thể trưởng thành, tính từ khi xuất hiện mầm quả thể đến khi quả trưởng thành có thể thu hoạch ở ngày thứ 14. Quả thể nấm thu thập được đóng gói trong sọt nhựa và vận chuyển đến phòng thí nghiệm trong vòng 3 giờ.

2.1.2. Vật liệu và hóa chất

Ethanol 96% (EtOH 96%), ethyl axetat, ethanol tuyệt đối được mua của Hãng Merck (Đức), nước cất, vanillin, chất chuẩn scutellarin (CAS 27740-01-8) erinacine A (EA) tinh chế theo phương pháp của Krzyczkowski và cs (2010) [19]… đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.1.3. Dụng cụ, máy móc và thiết bị

Máy siêu âm TJS-3000 V6.0, máy đo mật độ quang (Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech), hệ thống HPLC (Shimadzu Prominence, Kyoto, Nhật Bản), máy sấy (Grot DZ 47-63), cân phân tích (Precisa XT 320M, Thụy Sỹ), cân kỹ thuật (Cent-0-Gram Balance, OHAUS, Mỹ)...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu

Quả thể nấm bờm sư tử tươi được thu thập tại cơ sở trồng nấm cho mỗi đợt nghiên cứu là cùng điều kiện sản xuất và thu hoạch nấm, lượng mẫu mỗi đợt tiến hành thực nghiệm là 30 kg nguyên liệu nấm tươi, nguyên liệu được đóng gói trong sọt nhựa 10 kg nguyên liệu/sọt, vận chuyển đến phòng thí nghiệm trong vòng 3 giờ, mẫu thu nhận mẫu theo Codex Methods of Sampling (2004) [20], tại phòng thí nghiệm, tiến hành loại bỏ dị vật, làm sạch, đem sấy khô bằng sấy chân không ở nhiệt độ 45°C/-0,8 atm, sau đó xay nhỏ thành bột đạt cỡ hạt 1 mm có độ ẩm 12%, trộn đều để đồng nhất mẫu, gọi là bột nấm bờm sư tử, ký hiệu là: BV1. Nguyên liệu BV1 bảo quản ở nhiệt độ 5°C, tránh ánh sáng, ẩm để dùng triển khai cho các thí nghiệm.

2.2.2. Phương pháp xác định dung môi chiết xuất EA từ BV1

Mỗi mẫu 0,3 kg BV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở các dung môi sau: nước, EtOH 40%, EtOH 50%, EtOH 60%, EtOH 70%, EtOH 80% và EtOH 96%. Chiết xuất cùng điều kiện: tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10 (v/w), siêu âm cường độ 40 w/cm^2/tần số 20 kHz và chiết ở nhiệt độ 50°C/thời gian 7 phút. Dịch chiết xuất ở từng thực nghiệm đem xác định hàm lượng EA của từng mẫu [19].

2.2.3. Phương pháp xác định tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (DM/NL) chiết xuất EA từ BV1

Mỗi mẫu 0,3 kg BV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở các tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (DM/NL) sau: 4/1, 6/1, 8/1, 10/1 và 12/1 (v/w). Chiết xuất cùng điều kiện: dung môi EtOH 70%, siêu âm cường độ 40 w/cm^2/tần số 20 kHz và chiết ở nhiệt độ 50°C/thời gian 7 phút. Dịch chiết xuất ở từng thực nghiệm đem xác định hàm lượng EA của từng mẫu [19].

2.2.4. Phương pháp xác định nhiệt độ chiết xuất EA từ BV1

Mỗi mẫu 0,3 kg BV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở các nhiệt độ sau: 40, 45, 50, 55, 60 và 65°C. Chiết xuất cùng điều kiện: dung môi EtOH 70%, tỷ lệ DM/NL là 10 (v/w), siêu âm 40 w/cm^2/ tần số 20 kHz/thời gian 7 phút. Dịch chiết xuất ở từng thực nghiệm đem xác định hàm lượng EA của từng mẫu [19].

2.2.5. Phương pháp xác định thời gian và cường độ sóng siêu âm đến khả năng chiết xuất EA từ BV1

Mỗi mẫu 0,3 kg bột BV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở nhiệt độ 55°C, ở các cường độ siêu âm và thời gian khác nhau: cường độ siêu âm là 0 (không siêu âm) 30, 40 và 50 w/cm^2, thời gian siêu âm chiết xuất là 2, 4, 6, 8, 10, 12 phút và thời gian 180 phút ở phương pháp chiết xuất không sử dụng sóng siêu âm. Chiết xuất cùng điều kiện: tỷ lệ DM/NL là 8 (v/w), chiết ở nhiệt độ 55°C tần số siêu âm 20 kHz, sau đó thu dịch chiết xuất để xác định hàm lượng EA của từng mẫu [19].

2.2.6. Phương pháp định lượng erinacine

Chiết phân đoạn thu chế phẩm erinacine [21]: Nấm Bờm sư tử sau quá trình chiết xuất thu dịch chiết, đem cô chân không ở nhiệt độ 60°C/-0,8 atm thu hồi cao erinacine tổng độ ẩm < 25%, cân xác định hàm lượng cao chiết. Cao chiết đem chiết phân đoạn với dung môi ethyl axetat tỷ lệ dung dịch chiết và dung môi 1: 1 (Chiết làm 3 lần để hòa tan hết các chất). Gộp các phân đoạn chiết ethyl axetat đem cô chân không ở nhiệt độ 60°C/-0,8 atm thời gian 3 giờ thu hồi dung môi và sấy khô chân không ở nhiệt độ 60°C/-0,8 atm đến khối lượng không đổi thu được chế phẩm erinacine tổng số, cân xác định hàm lượng, xác định hiệu suất trên khối lượng nguyên liệu khô.

Định lượng EA [19]: Định lượng erinacine A (EA): Mẫu dịch chiết được phân tích bằng HPLC (Cột: SCpak, 5 µm C18, 250 × 4,6 mm), máy dò (Jusco: UV-1575): 340 nm, pha động: 80% metanol, dòng chảy tốc độ: 1,0 mL/phút, nhiệt độ cột: 25°C, thể tích tiêm: 10 µL. Năng suất EA là mg EA/g nấm khô nguyên liệu.

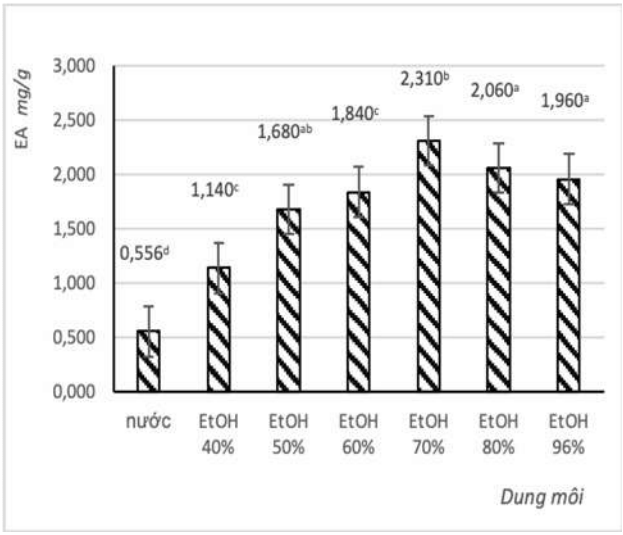
2.2.7. Xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm đều tiến hành lặp lại 3 lần độc lập, số liệu là kết quả trung bình của các lần thí nghiệm. Các số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phân tích phương sai một nhân tố (ANOVA) để xác định sự sai khác giữa các giá trị trung bình so sánh bằng LSD, có ý nghĩa với độ tin cậy P <0,05. Sử dụng phần mềm Statgraphics Plus, versoon 5.1.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của dung môi tới tới khả năng chiết xuất EA từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm

Để đánh giá ảnh hưởng của dung môi chiết xuất có hỗ trợ bằng sóng siêu âm của quá trình chiết xuất EA từ BV1, đã tiến hành thí nghiệm lần lượt ở nồng độ dung môi khác nhau: nước, EtOH 40%, EtOH 50%, EtOH 60%, EtOH 70%, EtOH 80% và EtOH 96%. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở hình 1.



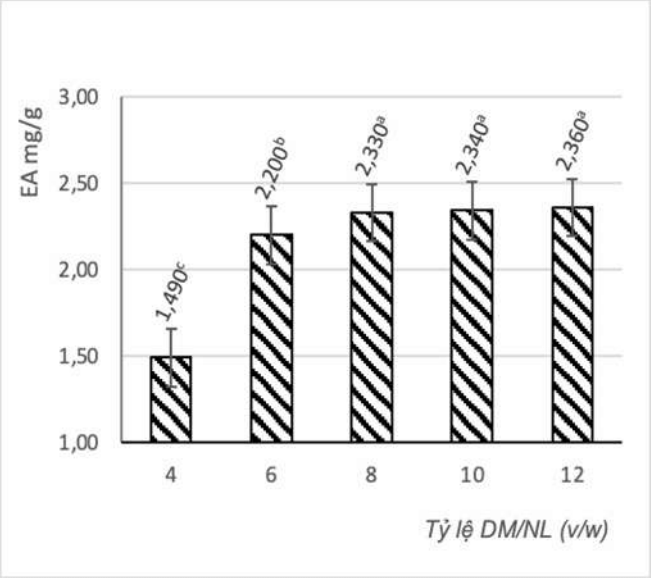
Hình 1. Ảnh hưởng của dung môi tới khả năng chiết xuất EA từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm

Ghi chú: Những chữ cái a, b, c, d khác nhau trong cùng một cột, biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (p<0,05).

Dung môi để hoà tan các chất cần chiết xuất và hạn chế hòa tan các tạp chất, do đó dung môi có ảnh hưởng lớn tới chất lượng của dịch chiết và thành phẩm. EA thuộc nhóm Diterpenoid là những chất tan trong các dung môi hữu cơ, dựa vào nghiên cứu của Lee và cs (2000) [21], đã lựa chọn khảo sát chiết xuất với dung môi ethanol ở các nồng độ khác nhau và nước cất. Hình 1 cho thấy, khi nấm bờm sư tử chiết bằng các dung môi khác nhau cho hàm lượng EA khác nhau. BV1 được chiết xuất bằng EtOH cho hàm lượng EA cao hơn rất

nhiều so với dung môi nước. Trong dải nồng độ EtOH thay đổi từ 40 - 70% hàm lượng EA tổng số thu được tăng dần, thấp nhất tại dung môi EtOH 40% cho hàm lượng EA là 1,84 mg/g và cao nhất tại dung môi ethanol 70% cho hàm lượng EA là 2,31 mg/g. Tuy nhiên khi nồng độ EtOH tăng từ 80 - 96% hàm lượng EA có hướng giảm dần, tại dung môi EtOH 80% hàm lượng EA là 2,06 mg/g và tại dung môi EtOH 96% hàm lượng EA là 1,96 mg/g, như vậy nồng độ EtOH thấp và cao là không thích hợp để chiết EA từ VB1. Kết quả này tương đồng với đa số các nghiên cứu trên thế giới, theo Lee và cs (2014) đã xác định nồng độ EtOH thích hợp nhất cho quá trình chiết EA từ nấm bờm sư tử là EtOH 85% [14]; Gerbec và cs (2015) sử dụng EtOH và methanol chiết xuất EA từ nấm bờm sư tử đã chỉ ra rằng chiết xuất với EtOH ở nồng độ EtOH 70% được cho là tối ưu [22]. Như vậy chiết xuất EA từ BV1 có hỗ trợ bằng sóng siêu âm với dung môi ethanol 70% là điều kiện thích hợp cho chiết xuất EA được nghiên cứu.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ DM/NL tới khả năng chiết xuất EA từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm



Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ DM/NL tới khả năng chiết xuất EA từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm

Ghi chú: Những chữ cái a, b, c, d khác nhau trong cùng một cột, biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (p<0,05).

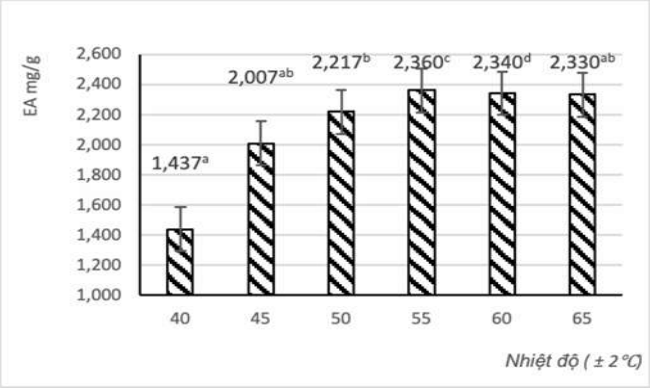
Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ DN/NL tới khả năng chiết xuất EA từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm, khi khảo sát chiết xuất ở các tỷ lệ DN/NL: 4/1, 6/1, 8/1, 10/1 và 12/1 (v/w). Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ DN/NL đến khả năng chiết xuất EA từ BV1 bằng sóng siêu âm được thể hiện ở hình 2.

Hình 2 cho thấy: Các tỷ lệ dung môi khác nhau cho hàm lượng EA khác nhau. Khi tỷ lệ DM/NL tăng tức là dung môi sử dụng tăng, EA và các chất tan có điều kiện hòa tan tốt vào dung môi bởi lượng dung môi lớn sẽ làm tăng khả năng tiếp xúc của tế bào với dùng môi và sóng âm, làm tăng sự chênh lệch nồng độ giữa môi trường bên trong và bên ngoài tế bào nấm. Từ đó làm tăng sự chênh lệch áp suất thẩm thấu và sự khuếch tán của các chất tan có trong tế bào nấm ra dung môi chiết, dẫn đến hàm lượng EA và các chất tan khác trong dịch chiết tăng lên. Tại tỷ lệ DM/NL: 4/1 (v/w) hàm lượng EA đạt là 1,49 mg/g, thấp hơn nhiều so với các tỷ lệ còn lại. Tại tỷ lệ DM/NL là 8/1(v/w) hàm lượng EA thu được tăng mạnh nhất, hàm lượng EA đạt 2,33 mg/g, tăng gấp 1,56 lần so với tỷ lệ 4/1 (v/w). Khi tiếp tục tăng lượng dung môi lên tỷ lệ DM/NL là 10/1 (v/w) và 12/1 (v/w) thì hàm lượng EA thu được tăng lên không đáng kể, tương ứng hàm lượng EA là 2,34 mg/g và 2,36 mg/g. Do khi tiếp tục tăng dung môi lên nữa thì các chất tan không mong muốn trong BV1 được chiết ra nhiều hơn. Tỷ lệ dung môi chiết xuất thấp cho hàm lượng EA thu hồi thấp, có thể do lượng dung môi sử dụng ít, không đủ xâm nhập vào toàn bộ nguyên liệu chiết xuất, không đủ cho sự khuyếch tán chất tan vào dung môi, gia tăng tỷ lệ dung môi sử dụng làm chênh lệch nồng độ chất tan và cơ chất tăng, làm tăng tính tan và tăng sự khuếch tán, vì thế làm tăng EA trong quá trình chiết xuất; khi tỷ lệ dung môi sử dụng và nguyên liệu gia tăng cũng thúc đẩy quá trình hòa tan EA vào dung môi tăng nhanh ở giai đoạn đầu, các chất tan có điều kiện hòa tan tốt vào dung môi bởi lượng dung môi lớn sẽ làm tăng khả năng tiếp xúc của tế bào với

dung môi, làm tăng sự chênh lệch nồng độ giữa môi trường bên trong và bên ngoài tế bào nấm. Từ đó làm tăng sự chênh lệch áp suất thẩm thấu và sự khuếch tán của các chất tan có trong tế bào nấm ra dung môi chiết xuất, dẫn đến hàm lượng EA và các chất tan khác trong dịch chiết xuất tăng lên, ban đầu nồng độ EA có trong nguyên liệu nhiều, dẫn đến sự khuếch tán chúng ra khỏi tế bào cũng nhanh.

Nghiên cứu của Cheung và Ching (2014) cho thấy, tỷ lệ rắn trên lỏng càng giảm tức dung môi chiết xuất càng tăng thì hàm lượng chiết xuất được từ nấm càng giảm [23]. Lượng chất tạp tăng lên sẽ làm tăng chi phí, thời gian tinh sạch, thu nhận chế phẩm. Đồng thời nếu chọn lượng dung môi quá lớn sẽ gây lãng phí dung môi và năng lượng, làm kéo dài thời gian cô đặc thu nhận hoạt chất. Ở các tỷ lệ DM/NL chiết xuất: 8, 10 và 12 (v/w) khả năng chiết xuất EA từ BV1 với hàm lượng EA trong dịch chiết xuất của các tỷ lệ này không có sự sai khác đáng kể, do đó để đảm bảo hiệu suất chiết xuất cũng như tối thiểu các chi phí (nguyên liệu, năng lượng…) thì tỷ lệ DM/NL là 8 (v/w) được chọn là phù hợp cho quá trình chiết xuất EA từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới khả năng chiết xuất EA từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới khả năng chiết xuất EA từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm

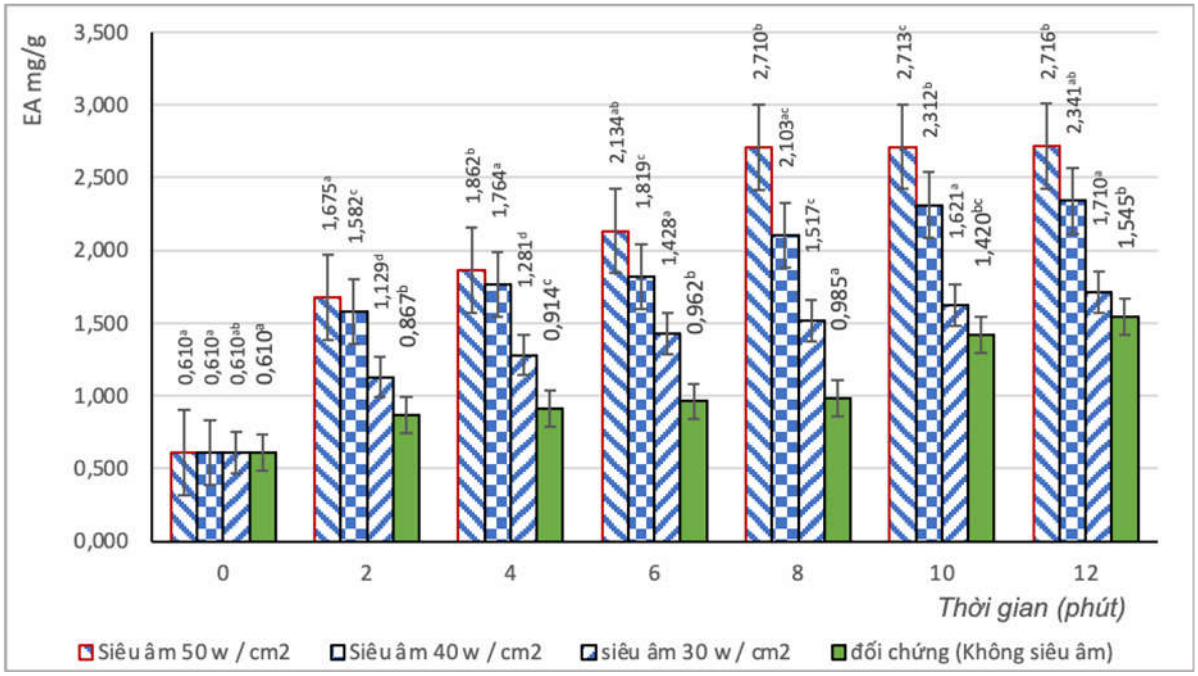
Ghi chú: Những chữ cái a, b, c, d khác nhau trong cùng một cột, biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (p<0,05).

Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ tới khả năng chiết xuất chiết xuất EA từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm, khi khảo sát chiết xuất ở các nhiệt độ: 40, 45, 50, 55, 60 và 65°C. Kết quả được thể hiện ở hình 3.

Hình 3 cho thấy: Khi chiết xuất EA từ BV1 bằng sóng siêu âm, tăng nhiệt độ từ 40, 45, 50 lên 55±2°C thì khả năng chiết EA từ BV1 tăng tương ứng hàm lượng EA từ 1,437 mg/g EA, 2,007 mg/g EA, 2,217 mg/g EA lên 2,360 mg/g EA. Tuy nhiên, tăng tiếp từ nhiệt độ 60±2°C đạt 2,346 mg/g EA lên nhiệt độ 65±2°C đạt 2,330 mg/g EA cho thấy, không thay đổi nhiều, có chiều hướng giảm và không có ý nghĩa về mặt thống kê. Bởi vì khả năng hòa tan của các chất trong dung dịch, nhất là EA hoàn toàn phụ thuộc vào nhiệt độ. Hơn nữa, EA nằm trong cấu trúc nấm BV1 mà cấu trúc bên ngoài là lớp xenluloza, pectin, polysaccharide không tan. Khi nhiệt độ chiết xuất càng cao sẽ làm cho độ xốp của nguyên liệu tăng lên (do nguyên liệu trương nở), độ nhớt giảm và hoạt chất sẽ hòa tan dễ hơn vào dung môi. Tuy nhiên, nhiệt độ là một yếu tố có giới hạn vì nhiệt độ quá cao có thể xảy ra các phản ứng khác không cần thiết như tăng độ tan của một số tạp chất, thúc đẩy các biến đổi hóa học làm chất lượng dịch chiết xuất biến đổi không có lợi và làm tăng chi phí sản xuất, ở nhiệt độ cao sẽ phá vỡ lớp màng, cũng như làm hòa tan các EA … Nhiệt độ chiết xuất bằng sóng siêu âm tăng sẽ làm gia tăng số lượng bọt khí tạo thành, tuy nhiên cường độ vỡ bọt khí sẽ bị giảm do ảnh hưởng của áp suất hơi tăng lên và đóng vai trò như lớp đệm, ngăn cản sự va chạm của các phân tử xung quanh khi bọt khí vỡ. Ngược lại, sự vỡ bọt khí sẽ khó khăn khi nhiệt độ giảm, vì độ nhớt môi trường tăng cao. Vậy chiết xuất EA từ BV1 có hỗ trợ bằng sóng siêu âm ở khoảng nhiệt độ 55±2°C được lựa chọn cho chiết xuất EA từ BV1. Kết quả này tương đối phù hợp so với nghiên cứu của Valu và cs (2020) công bố khi chiết xuất EA từ sinh khối nấm bờm sư tử cho khả năng chiết cao ở nhiệt độ khoảng 55 - 62°C [7].

3.4. Ảnh hưởng của thời gian và cường độ xử lý sóng siêu âm đến khả năng chiết xuất EA từ BV1

Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian và cường độ xử lý sóng siêu âm đến khả năng chiết xuất EA từ BV1 (Hình 3).



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian và cường độ xử lý sóng siêu âm đến khả năng chiết xuất EA từ BV1

Ghi chú: Những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột, biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (p<0,05).

Hình 3 cho thấy, hàm lượng EA chiết xuất phụ thuộc vào cường độ sóng siêu âm và thời gian siêu âm, hàm lượng EA trong dịch chiết xuất tăng khi cường độ siêu âm tăng và kéo dài thời gian chiết xuất:

- Khi điều chỉnh với thời gian chiết xuất từ 2, 4, 6 đến 8 phút cho hàm lượng EA dịch chiết xuất thu được tăng lần lượt: chiết xuất không sử dụng sóng siêu âm (đối chứng): hàm lượng EA đạt từ 0,867, 0,914, 0,962 đến 0,985 mg/g; chiết xuất ở cường độ sóng siêu âm 30 w/cm^2: hàm lượng EA đạt từ 1,129, 1,28, 1,428 đến 1,517 mg/g; chiết xuất ở cường độ sóng siêu âm 40 w/cm^2: hàm lượng EA đạt từ 1,582, 1,764, 1,819 đến 2,103 mg/g; chiết xuất ở cường độ sóng siêu âm 50 w/cm^2: hàm lượng EA đạt từ 1,675, 1,862, 2,134 đến 2,710 mg/g.

- Khi điều chỉnh với thời gian chiết xuất từ 10 - 12 phút ở: chiết xuất không sử dụng sóng siêu âm (đối chứng) tương ứng: hàm lượng EA đạt từ 1,420 - 1,545 mg/g; chiết xuất ở cường độ sóng siêu âm 30 W/cm^2 tương ứng: hàm lượng EA đạt từ 1,621 - 1,710 mg/g; chiết xuất ở cường độ sóng siêu âm 40 W/cm^2 tương ứng: hàm lượng EA đạt từ 2,312 - 2,341 mg/g; chiết xuất ở cường độ sóng siêu âm 50 W/cm^2 tương ứng: hàm lượng EA đạt từ 2,713 - 2,716 mg/g.

- Khi điều chỉnh với thời gian chiết xuất từ 8, 10 và 12 phút siêu âm chiết xuất cho thấy, EA vẫn tăng, nhưng tăng không đáng kể, cho thấy cường độ sóng siêu âm càng mạnh thì khả năng chiết xuất hoạt chất cao với thời gian càng ngắn hơn và sau thời gian nhất định càng tăng thời gian chiết xuất càng cho khả năng chiết xuất hoạt chất cao, ở thời gian chiết xuất kéo dài nhất định sẽ tăng các tạp chất hòa tan vào dung môi chiết xuất. Điều này cho thấy tại thời gian chiết xuất 8 phút hàm lượng EA trong mẫu đã được chiết xuất gần hết. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Cheung và Ching

(2014) thời gian chiết xuất các hoạt chất từ nấm bằng sóng siêu âm cường độ cao [23].

Các mốc thời gian ở các cường độ siêu âm được khảo sát là khi cường độ và thời gian siêu âm tăng thì EA thu được ở dịch chiết xuất tăng, cao hơn nhiều so với đối chứng (không sử dụng sóng siêu âm), cho thấy khả năng chiết xuất EA cao ở cường độ siêu âm là 50 w/cm^2. Điều này là do ở cường độ siêu âm càng cao, càng tăng hiện tượng sủi bọt tạo lực phá vỡ cao, tăng tốc độ truyền khối của chất chiết xuất. Ngoài ra, sự phá vỡ bọt cũng tạo sự khuấy trộn giúp cho khuyếch tán chất chiết xuất bên trong nguyên liệu thoát ra ngoài dễ dàng hơn [24]. Đi kèm với việc siêu âm là sự tăng nhiệt độ mẫu, cường độ siêu âm càng lớn, thời gian càng dài nhiệt độ mẫu càng cao, đây cũng là một tác nhân góp phần tăng hiệu suất chiết xuất, siêu âm cường độ cao làm giãn bong bóng quá nhanh trong suốt chu kỳ áp suất âm do đó làm cho bong bóng không có cơ hội co rút trong chu kỳ áp suất dương, ngược lại khi cường độ siêu âm nhỏ hơn thì số lần bong bóng giãn ra và nén lại sẽ tăng lên, do đó thời gian chiết xuất sẽ dài hơn [23,25,26]. Theo Dolatowski và cs (2007) cường độ sóng siêu âm là đại lượng đặc trưng cho khả năng phá vỡ tế bào để giải phóng các chất, vì vậy có ảnh hưởng rất lớn tới hiệu quả chiết xuất các hoạt chất từ nguyên liệu. Cường độ siêu càng lớn thì thời gian trích ly càng được rút ngắn lại, hiệu suất chiết xuất tăng lên [26]. Điều này cho thấy, khi sử dụng phương pháp chiết siêu âm cường độ cao cho thời gian thu hoạt chất rất ngắn, rút ngắn thời gian chiết rất nhiều lần so với phương pháp chiết cổ điển Cheung và Ching (2014) [23].

Kết quả thực nghiệm cho thấy chiết xuất EA ở cường độ 50 w/cm^2/tần số 20 kHz, chiết xuất ở nhiệt độ 55 ± 2°C trong 8 phút cho khả năng chiết EA từ BV1 đạt hàm lượng EA là 2,716 mg/g, tăng cao hơn nhiều so với phương pháp chiết xuất không sử dụng sóng siêu âm, tăng gấp khoảng 3,12 lần ở thời gian chiết xuất 2 phút, tăng gấp 1,31 lần so với ở thời gian chiết xuất 180 phút không sử dụng sóng siêu âm (hàm lượng EA đạt 2,061 mg/g), kết quả này tương đương so với nghiên cứu của Lee và và cs (2000) khi chiết phân đoạn EA từ sợi nấm Bờm sư tử thu phân đoạn ethyl axetat [21].

3.5. So sánh phương pháp chiết xuất EV từ BV1 bằng sóng siêu âm và không sử dụng sóng siêu âm

Bảng 1. So sánh phương pháp chiết xuất EA từ BV1 bằng sóng siêu âm và không dùng sóng siêu âm

Chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp chiết xuất		
		Siêu âm 50 W/cm^2/20 kHz	Không sử dụng sóng siêu âm	
Chiết xuất ở tỷ lệ dung môi EtOH 70%/nguyên liệu (v/w)	l/kg	8	8	8
Nhiệt độ chiết xuất	°C	55±2	55±2	55±2
Thời gian chiết xuất	phút	8	8	180
Hàm lượng Erinacine A (EA) chiết xuất	mg/g	2,716±0,047	0,985±0,036	2,061±0,021
Chế phẩm Erinacine chiết xuất	(%)	1,461±0,041	1,012±0,031	1,347±0,043

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3)

Bảng 1 cho thấy, chiết xuất bằng sóng siêu âm cường độ 50W/cm^2, tần số 20 kHz, ở nhiệt độ 55±2°C, dung môi ethanol 70%, tỷ lệ DM/NL là 8/1 (v/w), trong 8 phút cho EA cao nhất là hàm lượng EA đạt 2,716±0,047 mg/g (hiệu suất thu hồi EA là

0,272% khối lượng khô quả thể nấm bờm sư tử nguyên liệu) và chế phẩm Erinacine tổng số là 1,461 ± 0,041% so với nguyên liệu

Trong khi theo phương pháp chiết không dùng sóng siêu âm, chiết ở nhiệt độ 55±2°C, dung môi ethanol 70%, tỷ lệ DM/NL là 8/1 (v/w), trong 8 phút cho khả năng chiết EA cho hàm lượng EA đạt 0,985±0,036 mg/g và chế phẩm Erinacine tổng số là 1,012±0,031% so với nguyên liệu. Chiết không dùng sóng siêu âm ở 55±2°C (phương pháp truyền thống), tỷ lệ DM/NL là 8/1 (v/w), trong 180 phút (3 giờ) cho khả năng chiết hàm lượng EA cho hàm lượng EA đạt chỉ là 2,061±0,021 mg/g và chế phẩm Erinacine tổng số là 1,347% so với nguyên liệu. Chiết xuất không có sóng siêu âm cung cấp hàm lượng EA và chế phẩm Erinacine tổng số thấp hơn so với chiết xuất bằng sóng siêu âm. Ở cường độ sóng siêu âm 50 w/cm^2, tần số 20 kHz trong 8 phút hàm lượng EA cao hơn khoảng 1,32 lần (24,11%) so với không siêu âm trong 180 phút ở 55±2°C. Điều này cho thấy, năng lượng sóng siêu âm có tác dụng chiết tách EA từ BV1.

Do năng lượng sóng siêu âm đem lại hiệu quả chiết xuất EA từ BV1, tăng cường độ sóng siêu âm phần lớn tăng khả năng chiết xuất. Vì vậy, để tiết kiệm thời gian và chi phí chiết xuất EA từ BV1 ở cường độ siêu âm 50 w/cm^2 với thời gian 8 phút siêu âm chiết xuất được lựa chọn phù hợp nhất cho chiết xuất EA từ BV1.

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được một số yếu tố ảnh hưởng tới khả năng chiết suất EA từ nấm bờm sư tử có hỗ trợ bằng sóng siêu âm là chiết xuất bằng dung môi EtOH 70%, tỷ lệ DM/NL là 8 (v/w), thời gian 8 phút, nhiệt độ 55°C, cường độ siêu âm 50 W/cm^2/20 kHz, từ đó hiệu suất thu hồi EA là 0,272%. So với phương pháp không sử dụng sóng siêu âm thì phương pháp này cho hiệu suất thu hồi EA cao hơn 24,11%.

Tiềm năng ứng dụng sóng siêu âm trong chiết xuất EA từ nấm BV1 ở Việt Nam mang lại hiệu quả hơn so với phương pháp chiết xuất thông thường không sử dụng sóng siêu âm và rút ngắn thời gian chiết xuất cho thu nhận hàm lượng EA cao, cải thiện sản lượng EA sẽ tận dụng tối đa các nguồn tài nguyên và mang lại triển vọng phát triển cho công nghiệp sản xuất chế phẩm Erinacine từ BV1.

LỜI CẢM ƠN

Công trình này được hỗ trợ tài chính từ nhiệm vụ Khoa học công nghệ cấp Quốc gia: "Hoàn thiện công nghệ sản xuất các hoạt chất từ nấm dược liệu (nấm linh chi, nấm hương và nấm bờm sư tử) để chế biến một số sản phẩm thực phẩm chức năng". Mã số: DAĐL.CN-02/18.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thongbai B., Rapior S., Hyde K. D., Wittstein K., Stadler M. (2015). *Hericium erinaceus*, an amazing medicinal mushroom. *Mycol. Prog.* 14: 1–23.

2. Kim S. P., Moon E., Nam S. H., Friedman M. (2012). *Hericium erinaceus* mushroom extracts protect infected mice against *Salmonella Typhimurium*-Induced liver damage and mortality by stimulation of innate immune cells. *J. Agric. Food Chem.* 60: 5590–5596.

3. Yang Y., Zhao C., Diao M., Zhong S., Sun M., Sun B., Ye H., Zhang T. (2018). The prebiotic activity of simulated gastric and intestinal digesta of polysaccharides from the *Hericium erinaceus*. *Molecules*. 23: 3158.

4. Zhu L., Wu D., Zhang H., Li Q., Zhang Z., Liu Y., Zhou S., Wang W., Li Z., Yang Y. (2019). Effects of Atmospheric and Room Temperature Plasma (ARTP) mutagenesis on physicochemical characteristics and immune activity *in vitro* of *Hericiumerinaceus* polysaccharides. *Molecules*. 24: 262.

5. Chong P. S., Fung M. L., Wong K. H., Lim L. W. (2020). Therapeutic potential of *Hericium erinaceus* for depressive disorder. *Int. J. Mol. Sci.* 21: 163.

6. Kalaras M. D., Richie J. P., Calcagnotto A., Beelman R. B. (2017). Mushrooms: A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chem.* 233: 429–433.

7. Valu M. V., Soare L. C., Sutan N. A., Ducu C., Moga S., Hritcu L., Boiangiu R. S., Carradori S. (2020). Optimization of ultrasonic extraction to obtain erinacine and polyphenols with antioxidant activity from the fungal biomass of *Hericium erinaceus*. *Foods*. 9: 1889.

8. Shen T., Morlock G., Zorn H. (2015). Production of cyathane type secondary metabolites by submerged cultures of *Hericium erinaceus* and evaluation of their antibacterial activity by direct bioautography. *Fungal. Biol. Biotechnol.* 2: 8.

9. Lu Q. Q., Tian J. M., Wei J., Gao J. M. (2014). Bioactive metabolites from the mycelia of the basidiomycete *Hericium erinaceum*. *Nat. Prod. Res.* 28: 1288–1292.

10. Han S. S., Cho C. K., Lee Y. W., Yoo H. S. (2009). Antimetastatic and immunomodulating effect of water extracts from various mushrooms. *J. Acupunct Meridian Stud.* 2: 218–227.

11. Shimbo M., Kawagishi H., Yokogoshi H. (2005). Erinacine A increases catecholamine and nerve growth factor content in the central nervous system of rats. *Nutr. Res.* 25: 617–623.

12. Kawagishi H., Zhuang C., Yunoki R. (2008). Compounds for dementia from *Hericium erinaceum*. *Drugs Future*, 33 (2):149-155.

13. Li I. C., Lee L. Y., Tzeng T. T., Chen W. P., Chen Y. P., Shiao Y. J., Chen C. C. (2018). Neurohealth properties of *Hericium erinaceus* mycelia enriched with erinacines. *Behav. Neurol.* 2018: 1-10.

14. Lee K. F., Chen J. H., Teng C. C., Shen C. H., Hsieh M. C., Lu C. C., Lee K. C., Lee L. Y., Chen W. P., Chen C. C. (2014). Protective effects of *Hericium erinaceus* mycelium and its isolated erinacine A against ischemia-injury-induced neuronal cell death via the inhibition of iNOS/p38 MAPK and nitrotyrosine. *Int. J. Mol. Sci.* 15: 15073–15089.

15. Lee K. F., Tung S. Y., Teng C. C., Shen C. H., Hsieh M. C., Huang C. Y., Lee K. C., Lee L. Y., Chen W. P., Chen C. C. (2020). Post-treatment with erinacine A, a derived diterpenoid of *H. erinaceus*, attenuates neurotoxicity in MPTP model of Parkinson's disease. *Antioxidants*. 9: 137.

16. Li I., Chang H. H., Lin C. H., Chen W. P., Lu T. H., Lee L. Y., Chen Y. W., Chen Y. P., Chen C. C., Lin D. P. C. (2020). Prevention of early Alzheimer's disease by erinacine A-enriched *Hericium erinaceus* mycelia pilot double-blind placebo-controlled study. *Front. Aging Neurosci.* 12: 155.

17. Li I. C., Lee L. Y., Chen Y. J., Chou M. Y., Wang M. F., Chen W. P., Chen Y. P., Chen C. C. (2019). Erinacine A-enriched *Hericium erinaceus* mycelia promotes longevity in *Drosophila melanogaster* and aged mice. *PLoS ONE*.14: e0217226.

18. Chang S. T., Wasser S. P. (2012). The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *Int. J. Med. Mushrooms*. 14: 95–134.

19. Krzyczkowski W., Malinowska E., Herold F. (2010). Erinacine A biosynthesis in submerged cultivation of *Hericium erinaceum*: Quantification and improved cultivation. *Eng. Life Sci.* 10, 446 - 457.

20. Codex Methods of Sampling, General Guidelines on Sampling, CAC/GL 50. (2004).

21. Lee E. W., Shizuki K., Hosokawa S., Suzuki M., Suganuma H., Inakuma T., Li J., Ohnishi-Kameyama M., Nagata T., Furukawa S. (2000). Two novel diterpenoids, erinacines H and I from the mycelia of *Hericium erinaceum*. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 64: 2402 - 2405.

22. Gerbec B., Tavčar E., Gregori A., Kreft S., Berovic M. (2015). Solid State Cultivation of *Hericium erinaceus* Biomass and Erinacine: A Production. *Journal of Bioprocessing Biotechniques.* 5 (2): 1 - 5.

23. Cheung, Ching Y. (2014). High-intensity ultrasound for extraction and controlled degradation of high molecular weight polysaccharides from medicinal mushrooms: process characteristics and product properties. *Pao Yue – Kong Library, the Hong Kong Polytechnic University, Hung Hom, Kowloon, Hong Kong*: P: 74 – 110.

24. Jian - bing J., Xiang - hong L., Mei - qiang C. and Zhi - chao X. (2005). Improvement of leaching process of Geniposide with ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13, (5), pp. 455 – 462.

25. Von V., Kuldiloke J. (2002). Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatment on Enzym Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices. Food Biotechnology and process technology, the Technical University of Berlin, Germany.

26. Dolatowski Z. J., Stadnik J., Stasiak D. (2007). Applycations of ultrasound in food technology. *Acta Sci Pol, Technol Aliment*. 6 (3): 89 - 99.

INFLUENCE OF SOME FACTORS ON THE ABILITY TO EXTRACT ERINACINE A FROM LION'S MANE MUSHROOM FRUIT BODY (*Hericium erinaceus*) BY ULTRASONIC WAVE - ASSISTED EXTRACTION METHOD

Nguyen Duc Tien[1, *], Nguyen Trong Duy[2], Nguyen Thi Huyen[1]

[1] *Vietnam Institute of Agricultural Engineering and Post-Harvest Techbnology*

[2] *Department of Chemistry - VNU University of Science*

[*] *Email: nguyenductienvcd@gmail.com*

Summary

Erinacine belongs to the group of Diterpenoid are biologically active compounds isolated from Lion's Mane mushroom fruit body (*Hericium erinaceus*). It has been demonstrated that exerts important bioactivities, including: the induction of nerve growth factor (NGF) synthesis, anti - tumor activity, anti - HIV activity, immune enhancement, hypoglycemic effects and antimicrobial activity... The beneficial effects of Erinacines A (EA) from *Hericium erinaceus* on human health have been rising more and more interest in developing the extracion methods from raw materials. In this article, we extracted EA from *Hericium erinaceus* by Ultrasound extraction system frequency 20 kHz: The results indicated that the appropriate conditions extracted EA were an EtOH 70%/material ratio of 8/1, ultrasound intensity 50 w/cm^2, temperature 55C, extraction time 8 min, and the yield of EA was 0.272% of the dry weight of the raw material.

Keywords: *Extraction, erinacine, Lion's mane, ultrasonic.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Lợi

Ngày nhận bài: 01/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 31/3/2023

Ngày duyệt đăng: 7/4/2023

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH NƯỚNG ĐẾN CHẤT LƯỢNG BÁNH QUY BỔ SUNG KHOAI MÔN

Nguyễn Thị Phương Linh[1], Nguyễn Thị Thúy Hồng[2], Nhan Minh Trí[1,*]

TÓM TẮT

Củ khoai môn (*Colocasia esculenta* (LS) Schott) là loại cây lương thực quan trọng và có chứa nhiều chất dinh dưỡng (tinh bột, protein và chất xơ). Mục tiêu của nghiên cứu là khảo sát ảnh hưởng của: (i) nhiệt độ nướng (160°C, 170°C và 180°C) và (ii) thời gian nướng (15, 20 và 25 phút) đến chất lượng bánh quy bổ sung khoai môn (độ ẩm, độ hoạt động nước, độ nở, khối lượng riêng, độ cứng và giá trị cảm quan). Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian nướng ảnh hưởng nhiều đến tính chất vật lý (độ ẩm, độ cứng, độ hoạt động của nước, khối lượng riêng và độ nở) của bánh quy bổ sung khoai môn. Nhiệt độ nướng đóng góp đáng kể đến sự thay đổi của các tính chất vật lý này. Bánh quy bổ sung khoai môn đạt độ giòn khi độ ẩm khoảng 4-6%. Bánh quy bổ sung khoai môn đạt được chất lượng tốt nhất về cảm quan khi bánh được nướng ở 170°C trong 20 phút. Kết quả thống kê cho thấy, nhiều hệ số tương quan cao ($p<0,001$) giữa các chỉ tiêu chất lượng (độ ẩm, độ hoạt đông nước, độ cứng, độ nở, khối lượng riêng) và các nhân tố (nhiệt độ nướng, thời gian nướng).

Từ khóa: *Bánh quy, độ ẩm, độ cứng, độ nở, khoai môn, nướng.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bánh quy là loại bánh được sử dụng phổ biến trên thế giới và ngày càng được ưa chuộng ở Việt Nam nhờ mùi vị thơm ngon, đa dạng về chủng loại. Bánh quy được làm chủ yếu từ bột mì, đường, bơ cùng với các thành phần phụ khác. Tuy nhiên bột mì là loại bột nhập khẩu có giá thành tương đối cao, đồng thời bột mì cũng gây nên chứng dị ứng do gluten gọi là bệnh Celiac [1]. Do tính cạnh tranh trên thị trường hiện nay, bánh quy rất đa dạng về chủng loại, mẫu mã, giá thành cũng như chất lượng. Do đó việc nghiên cứu phát triển ra các loại bánh với nguyên liệu mới ngày càng được chú trọng để đáp ứng nhu cầu ngày càng cao của người tiêu dùng và thị trường.

Khoai môn là loại cây trồng phổ biến ở nhiều nơi trên thế giới, đặc biệt là khu vực nhiệt đới châu Á – Thái Bình Dương, trong đó có Việt Nam. Khoai môn là một loại cây có giá trị dinh dưỡng cao, đặc biệt là củ khoai môn chứa một lượng lớn tinh bột, khoảng 70-80% và có kích thước hạt tinh bột nhỏ, rất dễ tiêu hóa, thích hợp cho trẻ em và những người gặp vấn đề về tiêu hóa nên được sử dụng để chế biến các loại sản phẩm khác nhau [2]. Khoai môn giàu chất dinh dưỡng và có giá thành tương đối rẻ, nên việc quảng bá và đánh giá các sản phẩm từ khoai môn rất quan trọng về mặt công nghiệp. Có thể tận dụng nguồn khoai môn sẵn có để thay thế một phần bột mì trong sản xuất bánh quy giúp giảm hàm lượng gluten trong bánh và góp phần tạo màu sắc, hương thơm tự nhiên. Bên cạnh đó, khoai môn còn là nguồn cung cấp các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa như DPPH (2,2 Diphenyl-1- picrylhydrazyl), phenolic, carotenoid và axit ascobic [3]. Các chất keo góp phần chuyển hóa glucoza, làm chậm quá trình tái hấp thu các thành phần không mong muốn của chế độ ăn uống như cholesterol, giảm cholesterol toàn phần và LDL trong máu, giảm lượng insulin và glucoza trong máu sau khi ăn, đệm axit quá mức trong dạ dày, chống táo bón, ngoài ra còn

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Khoa Kỹ thuật Cơ Khí, Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ
[*]Email: nhanmtri@ctu.edu.vn

giúp tăng khả năng giữ nước của thực phẩm, tăng độ ổn định, kết cấu và tạo gel trong thực phẩm [4].

Quá trình nướng (nhiệt độ và thời gian) liên quan đến những thay đổi về cấu trúc là do sự bốc hơi nước và bọt khí tạo ra do sự phân hủy của các chất hóa học được sử dụng và dẫn đến sự phát triển của cấu trúc xốp nở của bánh [5]. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này góp phần tạo ra sản phẩm mới có giá trị dinh dưỡng cao, đa dạng hóa các sản phẩm từ bánh quy phục vụ cho người tiêu dùng, đồng thời nâng cao giá trị nguồn nguyên liệu khoai môn hiện nay.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu

Củ khoai môn được mua tại siêu thị Coopmart Cần Thơ, được rửa sạch và bảo quản trong kho mát (15°C) không quá 7 ngày. Các nguyên liệu (bột mì có hàm lượng protein 13%, đường saccaroza RE, mật ong nguyên chất, muối NaCl, sữa tươi tiệt trùng, dầu ăn, trứng gà, margarine, baking soda, axit xitric) được mua từ Thu Baker's Mart, quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ

2.2. Chuẩn bị mẫu

Củ khoai môn được gọt vỏ, rửa và cắt nhỏ với kích thước 3 cm x 3 cm x 3 cm. Sau khi được hấp trong 30 phút, khoai môn được nghiền nhuyễn và cân với tỉ lệ 4 : 6 so với bột mì. Các phụ liệu (margarine 15%, dầu ăn 5%, sữa tươi 5%, đường saccaroza 25%, lòng đỏ trứng gà 10%, mật ong 5, $NaHCO_3$ 1,5, axit xitric 0,5% và muối 0,5%) được tính so với tổng khối lượng của bột mì và khoai môn. Bánh được tạo hình bằng khuôn chuyên dụng có đường kính 4 cm, dày 0,4 cm. Bánh được nướng ở nhiệt độ 160°C, 170°C và 180°C và thời gian 15, 20 và 25 phút. Sau khi được làm nguội 30 phút, bánh quy được đánh giá các chỉ tiêu về độ nở, độ cứng, độ hoạt động nước và độ ẩm.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Độ ẩm và độ hoạt động của nước

Độ ẩm được xác định bằng cách sấy ở nhiệt độ 105°C theo phương pháp của Luigi (2004) [6]. Độ hoạt động của nước (a_w) được xác định theo phương pháp của Suzanne (2010) [7].

2.3.2. Độ cứng

Phương pháp đo độ cứng được thực hiện theo Abd Rahman và cs (2017) [8]. Độ cứng của bánh được đo bằng Dual range force (Vernier, USA) với với lực nén 50 N. Đầu đo hình trụ có đường kính 5 mm di chuyển xuống đến khi mẫu bị gãy. Sáu bánh được đo để lấy giá trị trung bình.

2.3.3. Độ nở và khối lượng riêng

Thể tích của bánh trước khi nướng (V_0) được tính theo công thức:

$$V_0 = \pi . r^2 . h$$

Trong đó: π, 3.14, r là bán kính (20 mm); h là chiều cao hoặc bề dày (4 mm).

Thể tích bánh sau khi nướng (10 cái bánh, V_s) được đo bởi sự thay thế thể tích của mè theo phương pháp AACC Method 10-05.01. Độ nở bánh là tỷ lệ giữa thể tích bánh sau (V_s) và trước khi nướng (V_0).

Khối lượng riêng của bánh được xác định bằng khối lượng của 10 bánh chia cho thể tích của chúng (V_s).

2.3.4. Đánh giá cảm quan

Đánh giá cảm quan bánh theo phương pháp QDA (Quantitative Descriptive Analysis) được mô tả bởi Poste (1991) [9]. Các thành viên đánh giá cảm quan đã được huấn luyện. Mười thành viên tham đánh giá điểm từ 1 - 5 cho từng chỉ tiêu (màu sắc, mùi, vị và cấu trúc). Thang điểm của từng chỉ tiêu cảm quan được mô tả. Các mẫu được mã hóa.

2.4. Phân tích số liệu

Tất cả thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được thống kế bằng chương trình Stagraphic Centurion 15 để tính ANOVA, kiểm định bằng Fisher t test, sự khác biệt có ý nghĩa (LSD), hệ số tương quan Pearson ở mức alpha = 0,05. Tác động

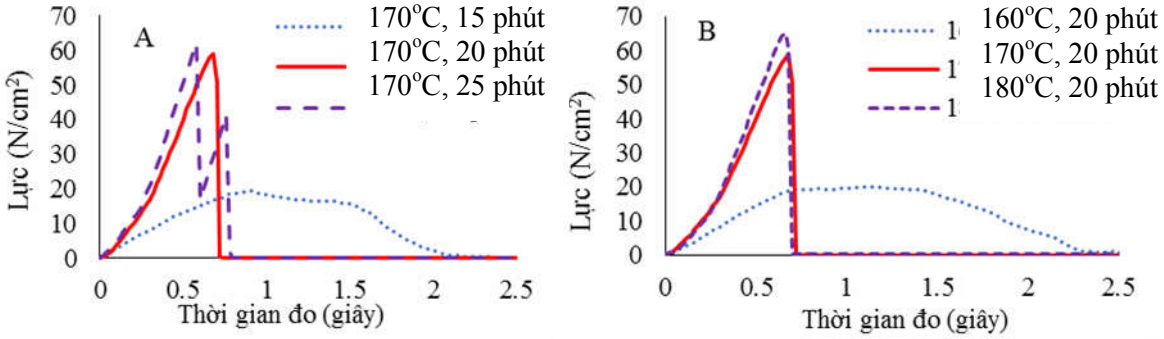
của các nhân tố (variance component) được tính dựa vào trung bình bình phương (mean square).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Sự thay đổi nhiệt độ và thời gian nướng có ảnh hưởng nhiều đến một số tính chất vật lý (độ cứng, độ nở, khối lượng riêng, độ ẩm và a_w) của bánh.

3.1. Đánh giá mức độ tác động của các nhân tố đến các chỉ tiêu bánh

Tính chất vật lý của bánh quy (độ ẩm, a_w, độ cứng, độ nở và khối lượng riêng) được sử dụng để đánh giá sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nướng. Độ cứng là lực lớn nhất phá vỡ mẫu được xác định từ đồ thị tiêu biểu bên dưới (Hình 1).



Hình 1. Lực đo bánh quy nướng ở 170°C (A) theo thời gian và ở 20 phút (B) theo nhiệt độ

Hình 1A cho thấy ở cùng nhiệt độ nướng 170°C, độ cứng của bánh bị ảnh hưởng bởi thời gian nướng. Độ cứng của bánh sẽ tăng từ 19,36 N/cm^2 lên 62,12 N/cm^2 khi tăng thời gian nướng bánh từ 15 - 25 phút. Khi nướng ở 170°C trong 15 phút, độ cứng thấp nhất (19,36 N/cm^2) và đỉnh tròn vì bánh còn độ ẩm cao (10,61%) và mềm dẻo.

Hình 1B cho thấy, với cùng thời gian nướng 20 phút, độ cứng của bánh bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ nướng. Độ cứng của bánh tăng từ 19,83 N/cm^2 lên 65,01 N/cm^2 khi tăng nhiệt độ nướng từ 160°C lên 180°C. Khi nướng ở 160°C trong 20 phút, độ cứng thấp nhất (19,83 N/cm^2) và đỉnh tròn vì bánh còn độ ẩm cao (9,66%) và mềm dẻo.

Các tính chất vật lý (độ cứng, độ ẩm, a_w, độ nở và khối lượng riêng) được thể hiện ở bảng 1 và 2.

Bảng 1. Tác động của nhiệt độ và thời gian nướng đến tính chất vật lý của bánh quy

Nhân tố	Trung bình bình phương				
	Độ cứng (N/cm^2)	Độ ẩm (%)	a_w	Độ nở (lần)	Khối lượng riêng (g/mL)
A: Nhiệt độ nướng (°C)	1.778,54***	37,35***	0,05***	7,41.10^{-3}*	0,03***
B: Thời gian nướng (phút)	3156,72***	94,71***	0,11***	0,01***	0,04***
A.B	269,76***	1,50***	1,59.10^{-3}**	5,33.10^{-3}*	3,21.10^{-3}
Sai số	8,17	0,15	2,65.10^{-4}	1,25.10^{-3}	1,32.10^{-3}

*Chú thích: ***: p<0,001; **: 0,001<p<0,01; *: p<0,05.*

Số liệu ở bảng 1 cho thấy, nhiệt độ nướng tác động mạnh (p<0,001) đến độ cứng, độ ẩm, a_w và khối lượng riêng, nhưng có tác động yếu (p<0,05) đến độ nở. Thời gian nướng tác động mạnh (p<0,001) đến độ cứng, độ ẩm, a_w, độ nở và khối lượng riêng. Sự tương tác giữa hai nhân tố nhiệt độ và thời gian nướng có tác động mạnh (p<0,001) đến độ cứng và độ ẩm, có tác động trung bình (0,001<p<0,05) đến a_w và tác động yếu (p<0,05) đến độ nở của bánh.

Bảng 2. Phần trăm ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nướng đến sự thay đổi tính chất vật lý của bánh quy

Nhân tố	Phần trăm ảnh hưởng (%)				
	Độ cứng (N/cm^2)	Độ ẩm (%)	a_w	Độ nở (lần)	Khối lượng riêng (g/mL)
A: Nhiệt độ nướng (^0C)	32,06	27,38	30,19	17,04	38,01
B: Thời gian nướng (phút)	56,90	69,43	66,49	32,62	41,88
A.B	9,72	2,20	1,90	24,52	6,92
Sai số	1,32	0,99	1,42	25,82	13,19

Bảng 2 cho thấy nhiệt độ nướng có ảnh hưởng trung bình đến độ cứng (32,06%), độ ẩm (27,38%), a_w (30,19%) và khối lượng riêng (38,01%), nhưng có ảnh hưởng ít đến độ nở (17,04%). Thời gian nướng có ảnh hưởng nhiều đến độ cứng (56,90%), độ ẩm (69,43%), a_w (66,49%) và khối lượng riêng (41,88%), đồng thời có ảnh hưởng trung bình đến độ nở (32,62%). Sự tương tác giữa hai nhân tố nhiệt độ và thời gian nướng có ảnh hưởng trung bình đến độ nở (24,52%), nhưng ảnh hưởng ít đến độ cứng (9,72%), độ ẩm (2,20%), a_w (1,90%) và khối lượng riêng (6,92%). Tương tự, nhiệt độ và thời gian nướng đều có ảnh hưởng đáng kể đến độ cứng và a_w của bánh phồng tôm [10].

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nướng đến các chỉ tiêu của bánh quy

Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của các chỉ tiêu được trình bày ở bảng 3 để đánh giá mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê do sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nướng.

Độ ẩm: Độ ẩm ảnh hưởng đến hàm lượng chất khô và thời gian bảo quản bánh quy. Hơn nữa, độ ẩm có liên quan đến cấu trúc và độ giòn của sản phẩm. Bảng 3 cho thấy, khi tăng nhiệt độ và thời gian nướng thì độ ẩm của bánh giảm. Với cùng nhiệt độ nướng, khi tăng thời gian nướng thì độ ẩm giảm dần, nguyên nhân là do khi cho bánh vào lò nướng, bánh cần khoảng thời gian để gia nhiệt từ nhiệt độ môi trường lên 100°C. Đây là nhiệt độ cần thiết để xảy ra quá trình bốc hơi và quá trình hồ hóa tinh bột, vì vậy ở thời gian nướng ngắn sẽ làm cho lượng nước còn lại trong bánh cao, sẽ làm cho bánh có độ ẩm cao. Khi ở cùng thời gian nướng, nhiệt độ nướng càng cao thì độ ẩm càng thấp. Nguyên nhân do khi nhiệt độ nướng càng cao thì thời gian để làm cho nhiệt độ của bánh đạt tới nhiệt độ bốc hơi của nước và nhiệt độ hồ hóa của tinh bột được rút ngắn lại, vì vậy nước có thời gian bốc hơi ra khỏi sản phẩm nhanh, làm cho sản phẩm có độ ẩm thấp hơn [11]. Bánh bích quy có cấu trúc giòn khi độ ẩm xuống 5,13%, hoặc 4,49% khi được nướng ở 170°C, hoặc 180°C trong 250 phút. Tương tự, bánh quy bổ sung bí đỏ và đậu có cấu trúc giòn khi độ ẩm từ 5,9, hoặc 4,4 khi được nướng ở nhiệt độ 180°C, hoặc 220°C trong 10 phút [12].

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nướng đến giá trị của các chỉ tiêu của bánh quy

Chỉ tiêu	Thời gian nướng (phút)	Nhiệt độ nướng (^0C)			Trung bình
		160	170	180	
Độ cứng	15	8,97±1,12	17,96±2,36	20,67±1,69	$15,87^c$±6,12
	20	15,30±1,33	50,58±2,42	61,34±1,27	$42,41^b$±24,08

(N/cm^2)	25	39,83±5,43	51,51±3,09	64,74±3,95	52,03[a]±12,46
Trung bình		21,37[c]±16,30	40,02[b]±19,11	48,92[a]±24,52	
Độ ẩm (%)	15	14,72±0,57	10,61±0,31	9,92±0,23	11,75[a]±2,60
	20	9,66±0,81	6,15±0,28	5,43±0,18	7,08[b]±2,26
	25	6,92±0,28	5,13±0,06	4,49±0,14	5,51[c]±1,26
Trung bình		10,43[a]±3,96	7,30[b]±2,91	6,61[c]±2,90	
a_w	15	0,800±0,017	0,731±0,031	0,694±0,010	0,742[a]±0,054
	20	0,671±0,013	0,597±0,011	0,504±0,008	0,591[b]±0,084
	25	0,624±0,018	0,501±0,014	0,450±0,013	0,525[c]±0,090
Trung bình		0,698[a]±0,091	0,610[b]±0,116	0,549[c]±0,128	
Độ nở (lần)	15	1,24±0,03	1,27±0,07	1,34±0,02	1,28[b]±0,05
	20	1,32±0,01	1,35±0,04	1,37±0,04	1,35[a]±0,03
	25	1,24±0,03	1,33±0,03	1,24±0,01	1,27[b]±0,05
Trung bình		1,27[b]±0,04	1,32[a]±0,04	1,32[a]±0,07	
Khối lượng riêng (g/mL)	15	0,71±0,08	0,58±0,01	0,54±0,03	0,61[a]±0,09
	20	0,54±0,03	0,53±0,02	0,44±0,01	0,51[b]±0,05
	25	0,54±0,05	0,50±0,03	0,44±0,02	0,49[b]±0,05
Trung bình		0,60[a]±0,10	0,54[b]±0,04	0,47[c]±0,06	

*Ghi chú: Những chữ cái khác nhau trong cùng một cột (hoặc một hàng) thể hiện sự khác biệt ý nghĩa giữa 5% các mẫu; * Độ lệch chuẩn (STD) của giá trị trung bình.*

Độ cứng: Độ cứng là tính chất cơ học quan trọng để xác định lực khi bánh được nhai vỡ, trong miệng. Độ cứng là tính chất quan trọng liên quan đến sự chấp nhận của người tiêu dùng. Lực phá vỡ thấp (độ cứng nhỏ) liên quan đến tính giòn, nhưng kết quả tăng độ cứng liên quan đến cấu trúc cứng chắc của bánh quy [13]. Bảng 3 cho thấy, khi thay đổi nhiệt độ và thời gian nướng thì độ cứng của bánh có sự khác biệt. Khi tăng nhiệt độ nướng từ 160°C lên 180°C và tăng thời gian nướng từ 15 phút lên 25 phút thì độ cứng của bánh tăng. Đặc biệt, khi tăng thời gian nướng từ 15 phút lên 20 phút khi nướng ở 170°C và 180°C thì độ cứng của bánh tăng lên rất nhiều. Nướng là giai đoạn quan trọng trong sản xuất bánh, vì dưới tác dụng của nhiệt trong khối bột nhào cùng một lúc xảy ra các quá trình lý - nhiệt, hóa - sinh và keo hóa [14]. Ngoài ra, nhiệt độ cao trong quá trình nướng làm hồ hóa tinh bột và đông tụ protein. Khi protein đông tụ thì nước được giải phóng và tinh bột bị hồ hóa liên kết với nước tự do có trong bột nhào. Quá trình này giúp tạo cấu trúc mao-xốp và hình thành vỏ bánh. Sự biến tính protein xảy ra ở nhiệt độ khoảng 50 – 70°C, giúp tạo thành bộ khung hình dạng cho bánh. Thời gian và nhiệt độ nướng đóng vai trò rất quan trọng trong việc hình thành cấu trúc của bánh quy. Bảng 3 cho thấy, độ cứng tăng từ 21,37 N/cm^2 lên 48,92 N/cm^2 khi tăng nhiệt độ nướng từ 160°C lên 180°C và khi tăng từ 15,87 N/cm^2 lên 52,03N/cm^2 khi tăng thời gian nướng từ 15 phút lên 25 phút [15]. Tương tự, ở cùng nhiệt độ nướng 170°C, độ cứng của bánh quy tăng khi thời gian nướng tăng từ 10 phút lên 16 phút, hoặc ở cùng thời gian nướng 16 phút thì bánh quy có độ cứng tăng khi nhiệt độ tăng từ 160°C lên 170°C [16]. Độ cứng bánh quy tăng từ 10,08 N đến 11,76 N khi nướng ở nhiệt độ 180 - 220°C trong 10 phút. Ở nhiệt độ cao, tinh bột hồ hóa nhanh, protein đông

tụ hoàn toàn và nước bốc hơi nhanh làm thể tích bánh tăng nhanh nhưng đồng thời góp phần hình thành vỏ cứng bánh quy [12].

Độ nở: Bảng 3 cho thấy có sự thay đổi độ nở của bánh khi thay đổi nhiệt độ và thời gian nướng. Nhìn chung, khi tăng nhiệt độ nướng và thời gian nướng thì độ nở của bánh có xu hướng tăng. Do dưới tác dụng của nhiệt độ cao khi nướng, hơi nước thoát ra tạo thành khí CO_2 và tạo ra áp suất làm nở bánh nên cải thiện được cấu trúc của bánh và đạt độ nở cao hơn ở 170°C và 180°C. Ngoài ra, thời gian nướng cũng ảnh hưởng đáng kể đến độ nở của bánh, khi nướng bánh ở 20 phút thì độ nở của bánh được cải thiện hơn so với khi nướng ở 15 phút và 25 phút. Do nướng ở nhiệt độ thấp trong thời gian ngắn (15 phút) bánh có độ ẩm cao độ nở bánh chưa tốt, còn nướng ở nhiệt độ cao trong thời gian dài (25 phút) lớp vỏ bánh nhanh chóng được tạo thành làm bánh không thể nở tiếp. Sự chuyển đổi hóa học trong bột bánh quy trong quá trình nướng rất phức tạp liên quan đến việc tan chảy chất béo, mất cấu trúc hạt tinh bột, biến tính protein, phản ứng Maillard, sự nở ra của bột nhào bằng cách giãn nở nhiệt của khí và bay hơi nước. Tất cả những thay đổi này phụ thuộc vào nhiệt độ nướng và thời gian nướng của bánh quy [5].

Khối lượng riêng: Bảng 3 cho thấy khối lượng riêng của bánh có sự thay đổi khi thay đổi nhiệt độ và thời gian nướng. Khi tăng nhiệt độ từ 160°C lên 180°C và thời gian nướng từ 15 phút lên 25 phút thì khối lượng riêng có xu hướng giảm. Theo công thức, khối lượng riêng tỉ lệ thuận với khối lượng và tỉ lệ nghịch với thể tích. Khi tăng nhiệt độ nướng và thời gian nướng, bánh có xu hướng nở và khối lượng giảm nên khối lượng riêng giảm. Quy luật giảm khối lượng riêng bánh quy bổ sung bột bí và đậu khi tăng nhiệt độ nướng [12].

Độ hoạt động của nước (a_w): Độ hoạt động nước có liên quan đến phản ứng hóa nâu không enzym (Maillard và Caramel) và sự phát triển vi sinh vật. Bảng 3 cho thấy, a_w của sản phẩm có sự thay đổi khi thay đổi nhiệt độ và thời gian nướng. Tương tự như độ ẩm, a_w giảm mạnh khi tăng nhiệt độ và thời gian nướng. Do khi tăng nhiệt độ và thời gian nướng, protein biến tính và lượng nước trong bánh bay hơi nhiều nên làm trong hàm lượng nước tự do trong sản phẩm giảm mạnh. Khi tăng nhiệt độ và thời gian nướng thì a_w của bánh giảm đáng kể, a_w giảm từ 0,961 khi bánh nướng ở 200°C trong 10 phút xuống còn 0,918 khi nướng ở 237°C trong 20 phút [9]. Tương tự, a_w giảm từ 0,60 xuống còn 0,36 khi thời gian nướng tăng từ 10 phút lên 16 phút [16].

3.3. Đánh giá mối quan hệ giữa các chỉ tiêu và nhân tố

Khi nướng, các chỉ tiêu chất lượng của bánh thay đổi theo thời gian và nhiệt độ nướng. Hệ số tương quan Pearson được tính để kiểm tra mối quan hệ giữa các nhân tố (nhiệt độ và thời gian nướng) và các chỉ tiêu (độ cứng, độ ẩm, a_w, độ nở và khối lượng riêng) và nhân tố (nhiệt độ và thời gian nướng).

Bảng 4. Hệ số tương quan (r) giữa các chỉ tiêu và nhân tố

	Nhiệt độ nướng (°C)	Thời gian nướng (phút)	Độ cứng (N/cm^2)	Độ ẩm (%)	a_w	Độ nở (lần)
Độ cứng	0,55**	0,73***				
Độ ẩm	-0,49**	-0,80***	-0,92***			
a_w	-0,55**	-0,79***	-0,93***	0,94***		
Độ nở	0,36	-0,08	0,24	-0,28	-0,22	
Khối lượng riêng (g/mL)	-0,62***	-0,59**	-0,78***	0,87***	0,84***	-0,34

*Chú thích: ***: $p<0,001$; **: $0,001<p<0,01$; *: $0,01<p<0,05$.*

Bảng 4 cho thấy, nhiệt độ nướng có quan hệ thuận chiều trung bình (0,001<p<0,01) với độ cứng, có quan hệ nghịch chiều mạnh (p<0,001) với khối lượng riêng và nghịch chiều trung bình (0,001<p<0,01) với độ ẩm và a_w. Thời gian nướng có quan hệ thuận chiều mạnh (p<0,001) với độ cứng, có quan hệ nghịch chiều mạnh (p<0,001) với độ ẩm, a_w, độ biến dạng đàn hồi và độ lún, có quan hệ nghịch chiều trung bình (0,001<p<0,01) với khối lượng riêng.

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nướng đến giá trị cảm quan của bánh quy bổ sung khoai môn

Nhiệt độ và thời gian nướng góp phần tạo cấu trúc và ảnh hưởng đến giá trị cảm quan của bánh quy. Nhiệt độ và thời gian nướng ảnh hưởng nhiều đến màu sắc, mùi, vị và cấu trúc của sản phẩm được thể hiện qua bảng 5.

Bảng 5. Giá trị cảm quan của bánh quy bổ sung khoai môn với nhiệt độ và thời gian nướng khác nhau

Nhiệt độ nướng (^{0}C)	Thời gian nướng (phút)	Chỉ tiêu			
		Màu sắc	Mùi	Vị	Cấu trúc
160	15	$3,13^{d}$±0,06	$4,13^{b}$±0,31	$4,13^{bc}$±0,40	$1,73^{d}$±0,32
	20	$3,33^{cd}$±0,15	$4,53^{a}$±0,23	$4,20^{abc}$±0,17	$1,80^{d}$±0,36
	25	$4,00^{b}$±0,10	$4,27^{ab}$±0,31	$4,67^{a}$±0,06	$3,40^{b}$±0,10
170	15	$3,47^{c}$±0,29	$4,47^{ab}$±0,21	$3,93^{c}$±0,31	$4,00^{a}$±0,00
	20	$4,60^{a}$±0,20	$4,47^{ab}$±0,06	$4,43^{ab}$±0,21	$4,20^{a}$±0,30
	25	$3,40^{cd}$±0,25	$1,47^{c}$±0,25	$1,73^{d}$±0,35	$4,20^{a}$±0,26
180	15	$4,33^{a}$±0,25	$4,40^{ab}$±0,10	$4,27^{abc}$±0,15	$4,07^{a}$±0,12
	20	$1,67^{e}$±0,06	$1,53^{c}$±0,31	$1,67^{d}$±0,35	$2,27^{c}$±0,05
	25	$1,67^{e}$±0,15	$1,53^{c}$±0,12	$1,47^{d}$±0,25	$2,27^{c}$±0,12

*Ghi chú: Các số liệu thống kê có ý nghĩa theo cột, những nghiệm thức có cùng chữ số ký tự hàng dọc thì không khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5%. * Độ lệch chuẩn (STD) của giá trị trung bình.*

Về màu sắc, khi tăng nhiệt độ và thời gian nướng thì màu của bánh đậm hơn. Điểm cảm quan màu sắc bánh quy đạt cao nhất 4,60 khi được nướng ở 170^{o}C trong 20 phút, nhưng thấp nhất (1,67) khi được nướng ở 180^{o}C trong 20 phút và 25 phút. Khi nướng ở nhiệt độ cao, phản ứng Maillard xảy ra giữa axit amin với đường khử hình thành melanoidin và phản ứng Caramel tạo ra các hợp chất màu làm cho bánh có màu vàng nâu sậm.

Về mùi và vị, khi nướng bánh ở nhiệt độ cao trong thời gian dài bánh sẽ tạo thành các hợp chất hương thơm do phản ứng Maillard và Caramel. Tuy nhiên, nếu nhiệt độ nướng cao và thời gian dài, bánh có màu rất sậm, mùi khét và vị đắng nên không được ưa thích. Vì vậy, bánh quy bổ sung khoai môn đạt điểm cảm quan cao nhất về mùi và vị khi được nướng ở 20 phút.

Về cấu trúc, khi tăng nhiệt độ và thời gian nướng thì nước bốc hơi tăng, độ ẩm giảm nhanh nên cấu trúc bánh quy trở nên cứng dần. Bánh đạt điểm trung bình cảm quan về cấu trúc cao nhất là 4,20 ở 170^{o}C trong 20 phút vì bánh cứng giòn. Nhưng bánh quy có điểm trung bình về cấu trúc thấp nhất (1,73) khi được nướng ở 160^{o}C trong 15 phút do bánh mềm. Các mẫu bánh quy có cấu trúc mềm khi độ ẩm cao hơn 9%. Do đó, nướng ở nhiệt độ 170^{o}C và thời gian nướng 20 phút, bánh quy bổ sung khoai môn đạt điểm cảm quan cao nhất về màu sắc, mùi, vị và cấu trúc. Khi đó, bánh quy có

độ nở cao và khối lượng riêng nhỏ (bánh nhẹ). Bánh quy đạt được độ hoạt động của nước 0,59 có thể ức chế sự phát triển vi sinh vật.

4. KẾT LUẬN

Thời gian nướng ảnh hưởng mạnh đến độ ẩm, độ cứng, a_w, độ nở và khối lượng riêng. Nhiệt độ nướng đóng góp đáng kể đến sự thay đổi cúa các tính chất vật lý này. Độ ẩm cao hơn 9%, bánh mềm và không giòn. Bánh có độ cứng giòn khi độ ẩm khoảng 4-6%. Ở nhiệt độ nướng 170°C và thời gian nướng 20 phút, bánh quy bổ sung khoai môn đạt điểm cảm quan cao nhất, màu sắc sáng đẹp, cấu trúc giòn, mùi và vị hài hòa. Bên cạnh đó, nhiều hệ số tương quan cao ($p<0,001$) giữa các các chỉ tiêu của bánh (độ cứng, độ ẩm, độ hoạt động của nước, độ nở và khối lượng riêng) với nhau và giữa các chỉ tiêu với các nhân tố chế biến (nhiệt độ và thời gian nướng).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Butterworth, J., & Los, L. (2019). Coeliac disease. In *Medicine (United Kingdom)* 47(5):314-319. https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2019.02.003.

2. Kaushal, P., Kumar, V., & Sharma, H. K. (2015). Utilization of taro (Colocasia esculenta): A review. In *Journal of Food Science and Technology,* 52(1): 27 - 40.

3. Nguimbou, R. M., Njintang, N. Y., Makhlouf, H., Gaiani, C., Scher, J., & Mbofung, C. M. F. (2013). Effect of Cross-Section Differences and Drying Temperature on the Physicochemical, Functional and Antioxidant Properties of Giant Taro Flour. *Food and Bioprocess Technology,* 6(7): 1809 -19.

4. Njoku P. C. and Ohia C. C. (2007). Spectrophometric Estimation Studies of Mineral Nutrient in Three Cocoyam Cultivars. *Pakistan Journal of Nutrition*. Volume: 6 | Issue: 6 | Page No.: 616-619.

5. Chevallier, S., Della Valle, G., Colonna, P., Broyart, B., & Trystram, G. (2002). Structural and chemical modifications of short dough during baking. *Journal of Cereal Science*. 35: 1-10. https://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0388.

6. Luigi O. AOAC (2004). Official methods of Analysis, AOAC 967.21 IFU Method No 17. The Association of official chemists 18th ed. Arlington, USA.

7. Suzanne, N. S. (2010). Food Analysis. 4th edition. Springer New York Dordrecht Heidelberg London.

8. Abd Rahman N. A., Abdul Razak S. Z., Lokmanalhakim L. A., Taip F. S. and Mustapa Kamal S. M. (2017). Response surface optimization for hot air-frying technique and its effects on the quality of sweet potato snack. *Journal of Food engineering*: Volume 40, Issue 4.

9. Poste, L. M., Mackie, A. D., Butler, G. and Larmond, E. (1991). Laboratory methods of sensory evaluation of food. Research branch Canada Department of Agriculture Publications.

10. Nipaporn K., Thongjuan K. and Rungroj T. (2022). Effects of baking time and temperature on product quality of ready to eat crispy stretched shrimp. *Science Technology and Engineering Journal*. Vol.8, No.1 pages 87-96.

11. Võ Tấn Thành (2011). *Giáo trình kỹ thuật thực phẩm 1*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.

12. Melese A. D., Keyata E. O. (2022). Effects of blending ratios and baking temperature on physicochemical properties and sensory acceptability of biscuits prepared from pumpkin, common bean, and wheat composite flour. Heliyon. 3; 8(10): e10848.

13. Leiva V. G. A., Quilaqueo M., Lagos D., Estay D., Pedreschi F. (2018). Effect of formulation and baking conditions on the structure and development of non-enzymatic browning in biscuit models using images. *J. Food Sci. Technol*. 55(4): 1234–1243.

14. Lê Bạch Tuyết (1996). *Các quá trình công nghệ cơ bản trong sản xuất thực phẩm*. Nhà xuất bản Giáo dục, 360 trang.

15. Panghal A., Navnidhi and Khatkar B. S. (2018). Effect of processing parameters and principal ingredients on quality of sugar snap cookies: a response surface approach. *Journal of Food Science and Technology*, 55(8): 3127–3134.

16. Bojana M. Šarić, Nataša M. N., Olivera D. Š., Mladenka V. P., Jovana J. K., Anamarija I. M., Marijana B. S., Ljubiša Ć. Š., Psodorov B. D, and Aleksandra Ĉ. M. (2014). The influence of baking time and temperature on characteristics of gluten free cookies enriched with blueberry pomace. Food and Feed Research, 41(1): 39-46.

STUDYING EFFECTS OF BAKING ON QUALITY OF BISCUIT ADDED WITH TARO PASTE

Nguyen Thi Phuong Linh[1], Nguyen Thi Thuy Hong[2], Nhan Minh Tri[1,*]

[1]*Institute of Food and BioTechnology, Can Tho University*

[2]*Faculty of Mechanical Engineering, Can Tho University of Technology*

[*]*Email: nhanmtri@ctu.edu.vn*

Summary

Taro roots (*Colocasia esculenta* (LS) *Schott*) are an important food crop and contains many nutrients (starch, protein and dietary fiber). The objectives of the study were to investigate effects of: (i) baking temperature (160°C, 170°C and 180°C) and (ii) baking time (15, 20 and 25 minutes) on taro biscuits's quality properties (moisture content, water activity, expansion, density, hardness, and sensory values). The results showed that baking time strongly affected physical properties (moisture content, water activity, hardness, expansion and density) of bisquy added taro flour. Baking temperature also contributed significantly on changes of these physical properties. Biscuits were crispy if theit moisture contents were about 4-6%. The taro biscuits obtained the best sensory values if they were baked at 170°C for 20 minutes. There were many strong correlation coefficients ($p<0.001$) between quality properties (moisture content, water activity, expansion, density and hardness) and factors (baking temperature and baking time).

Keywords: *Biscuits, hardness, moisture, resilience, taro, baking.*

Người phản biện: TS. Phạm Ngọc Hưng

Ngày nhận bài: 15/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 11/4/2023

Ngày duyệt đăng: 18/4/2023

THỂ LỆ VIẾT VÀ GỬI BÀI

1. Tạp chí Nông nghiệp và PTNT đăng tải các bài báo khoa học công bố các công trình nghiên cứu khoa học có nội dung khoa học mới, các bài tổng quan về ngành nông nghiệp và PTNT chưa gửi đăng ở bất kỳ loại hình báo chí nào.

2. Bài báo có thể viết bằng tiếng Việt (đăng trên Tạp chí bằng ngôn ngữ tiếng Việt) hoặc tiếng Anh (đăng trên Tạp chí bằng ngôn ngữ tiếng Anh), soạn thảo trên máy vi tính, các dòng cách nhau bằng 1,2 (Paragraph/Line spacing Multiple at 1,2), sử dụng font chữ Times New Roman, cỡ chữ 12, có độ dài không quá 10 trang giấy khổ A4 bao gồm cả tài liệu tham khảo.

3. Từ khóa được trình bày theo thứ tự alphabet, từ 3 - 5 từ. Từ khóa bằng tiếng Việt và tiếng Anh phải cùng nội dung, ý nghĩa của từ. Phần tóm tắt có độ dài không quá 350 từ viết liền, không xuống dòng, cỡ chữ 10, bao gồm: Nêu ngắn gọn về mục đích, phương pháp nghiên cứu, kết quả nghiên cứu chính. Bài báo viết bằng tiếng Việt phải có tóm tắt bằng cả tiếng Anh, tiếng Việt và không khác biệt về nội dung, ý nghĩa.

4. Bài báo phải được trình bày theo thứ tự sau: Tên bài báo bằng tiếng Việt và tiếng Anh, (các) tác giả, tên cơ quan của (các) tác giả, tóm tắt, từ khóa, nội dung của bài báo, lời cảm ơn (nếu có), tài liệu tham khảo. Tác giả liên hệ phải được chỉ rõ cùng với địa chỉ cơ quan, Email, số điện thoại trên trang nhất của bản thảo. Tên riêng tiếng Việt phải có đủ dấu thanh kể cả các bài viết bằng tiếng Anh.

5. Tài liệu tham khảo được trình bày theo thứ tự alphabet và đánh số đặt trong ngoặc vuông theo thứ tự xuất hiện trong bài báo và trong danh mục tài liệu tham khảo.

+ Đối với các tài liệu là bài báo trong Tạp chí ghi đầy đủ theo thứ tự: Tên tác giả, năm xuất bản, tên bài báo, tên tạp chí, tập, số, trang.

+ Đối với các tài liệu là sách ghi đầy đủ theo thứ tự: Tên tác giả, năm xuất bản, tên sách, nhà xuất bản, nơi xuất bản.

Nếu bài viết bằng tiếng Anh, tài liệu tham khảo nào không phải bằng tiếng Anh thì phải dịch ra tiếng Anh và chú thích ngôn ngữ gốc trong ngoặc đơn.

6. Tạp chí Nông nghiệp và PTNT thực hiện quy trình gửi bài, quy trình phản biện online trên hệ thống phần mềm của Tạp chí và sử dụng cơ sở dữ liệu các số báo đã phát hành xuất bản, đề nghị các cộng tác viên, phản biện bài báo và bạn đọc truy cập vào link: http://tapchikhoahocnongnghiep.vn/ sau đó tiến hành đăng ký tài khoản và đăng nhập để bắt đầu quy trình sử dụng.

7. Chi tiết xin liên hệ: Tạp chí Nông nghiệp và PTNT; Số 10 Nguyễn Công Hoan, Ba Đình, Hà Nội; Điện thoại: 024.37711070; 024.38345457; 024.37716634 Email: bbtnongnghiep@gmail.com.