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 II

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 II - 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

- PHẠM NGUYỄN NGỌC QUỲNH, PHAN THANH HẠ ĐOAN, TRẦN BẢO UYÊN, LÊ NGỌC LIỄU. Hàm lượng phenolic tổng, antoxian tổng của dịch trích hoa hồng đỏ (*Rosa vermelha*) và khả năng chống oxy hoá dưới điều kiện trích ly khác nhau — 7-15
- TẠ THỊ MINH NGỌC, NGUYỄN THỊ HOÀI TRÂM. Ảnh hưởng của độ deacetyl của chitosan tới hiệu quả bao gói dầu gấc — 16-21
- TRẦN THANH TRÚC, TỐNG THỊ QUÝ, TRẦN HÀ ĐÔNG QUÂN, NGUYỄN HOÀNG NHU. Ảnh hưởng của độ chín nguyên liệu đến chất lượng trái cây sấy dẻo định hình — 22-30
- ĐẶNG THỊ HƯỜNG, LÊ THANH HẢI HÀ, ĐỖ PHƯƠNG KHANH, NGUYỄN THỊ NGỌC ANH. Nghiên cứu nâng cao lượng cao chiết giàu phenolic, betanin từ phần vỏ củ dền đỏ (*Beta vulgaris* L.) — 31-39
- LÊ TRẦN HOÀI ÂN, LÊ NGỌC LIỄU. Khả năng kháng oxy hoá của dịch thuỷ phân bằng enzim từ màng nhầy hạt é (*Ocimum basilicum* L. var. *Pilosum* (Willd.) Benth.) — 40-46
- NGUYỄN THUỲ CHI, QUẢN LÊ HÀ. Ảnh hưởng của điều kiện sấy đến hoạt tính chống oxy hoá và hàm lượng phycoxyanin của tảo *Spirulina* — 47-55
- NGUYỄN THỊ TÂM THƯ, PHẠM TRỌNG NGHĨA, NGUYỄN HOÀNG ANH, PHẠM KIÊN CƯỜNG. Nghiên cứu quy trình sản xuất cơm ăn liền đóng túi retort — 56-62
- LÝ THỊ MINH HIỀN, ĐỐNG THỊ ANH ĐÀO. Khảo sát ảnh hưởng của quá trình thu nhận chondroitin sunfat từ sụn ức gà sau thuỷ phân và đánh giá chất lượng thành phẩm — 63-70
- NGUYỄN THỊ VÂN ANH, NGUYỄN VĂN HUẾ, NGUYỄN ĐỨC CHUNG, HỒ SỸ VƯƠNG, NGUYỄN VĂN TOẢN. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ và điều kiện bảo quản đến chất lượng trà atiso đỏ túi lọc — 71-78
- TRẦN NGỌC HIẾU, LÊ THỊ THU HIỀN, HỒ THỤY THANH TRÚC, HOÀNG KIM ANH. Ảnh hưởng của các điều kiện nảy mầm đến thành phần dinh dưỡng và khả năng chống oxy hoá của đậu ván trắng (*Dolichos lablab*) — 79-88
- TRẦN NGỌC MỸ LINH, LÊ THỊ THU SƯƠNG, LÊ HOÀNG NHÂN, MAI NGUYỄN TRÂM ANH, PHẠM VĂN HÙNG. Ảnh hưởng của quá trình nảy mầm và xử lý nhiệt - ẩm đến tính chất lý - hoá của bột và tinh bột gạo lức đỏ — 89-95
- BÙI QUANG THUẬT, NGUYỄN THỊ HOÀNG LAN, BÙI THỊ BÍCH NGỌC, ĐỖ THANH HÀ, LÊ BÌNH HOẰNG, NGUYỄN TRUNG HIẾU. Phân tích và đánh giá các thành phần hoá học chính trong cây tía tô tại một số vùng trồng ở các tỉnh phía Bắc, Việt Nam — 96-105
- LÊ THẾ TÂM, TRẦN PHƯƠNG CHI, ĐÀO THỊ THANH XUÂN. Nghiên cứu ảnh hưởng của màng chitosan/nano bạc tổng hợp bằng phương pháp hoá học xanh đến chất lượng mận sau thu hoạch — 106-114
- LƯƠNG HỒNG NGA, DƯƠNG HỒNG QUÂN, VŨ THU TRANG. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản đến một số tính chất của tinh bột khoai lang — 115-124
- TẠ LÊ QUỐC AN, LÊ THỊ NGỌC MAI, ĐẶNG QUỐC ANH. Chế tạo viên chỉ thị sự thay đổi nhiệt độ dùng cho bao bì bảo quản lạnh đông thực phẩm — 125-131

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 II - 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

- NGÔ TRỊNH TẮC ĐẠT, HOÀNG KIM ANH. Nghiên cứu quá trình trích ly polyphenol từ vỏ dưa hấu có sự hỗ trợ của enzim xenlulaza 132-140
- VŨ THỊ THANH ĐÀO, NGUYỄN THỊ MỸ DUYÊN, TRẦN NGHĨA KHANG. Ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản đến sự biến đổi sau thu hoạch một số giống xoài (*Mangifera indica* L.) phổ biến tại An Giang 141-150
- HOÀNG VĂN THẢNH, LÊ THỊ KIM NGÂN, NGUYỄN XUÂN HOÀN, PHẠM VĂN HÙNG, NGUYỄN THỊ LAN PHI. Ảnh hưởng của điều kiện sấy phun đến sản xuất bột hoà tan từ dịch chiết vỏ lụa hạt điều (*Anacardium occidentale* L.) sử dụng chất mang gum arabic và gelatin 151-158
- NGUYỄN DUY TÂN, VÕ THỊ XUÂN TUYỀN, TRỊNH THANH DUY, ĐỐNG THỊ ANH ĐÀO. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước/cua và thời gian kết tủa đến các thành phần hoá lý và cảm quan của thịt và nước riêu cua đồng (*Somanniathelphusa sinensis*) 159-166
- BÙI THỊ BÍCH NGỌC, BÙI QUANG THUẬT, VŨ ĐỨC CHIẾN, LÊ THANH TÙNG, TRỊNH NHƯ HOA, TRẦN NGỌC DIỆP, LÊ TRUNG LAM. Thu nhận hoạt chất sinh học từ một số loại thực vật bản địa phục vụ cho sản xuất rượu ngô men lá tại tỉnh Hà Giang 167-173
- TRẦN THỊ ÁNH NGUYỆT, NGUYỄN ĐỨC BÁCH, TÔ THỊ MAI HƯƠNG. Khảo sát ảnh hưởng của Tween 80 đến giá trị dinh dưỡng của tảo xoắn (*Spirulina platensis*) 174-180
- TÔ THỊ MAI HƯƠNG, TRẦN THỊ ÁNH NGUYỆT, NGUYỄN ĐỨC BÁCH. Ảnh hưởng của Tween 80 đến sự tích luỹ lipit, thành phần axit béo và hàm lượng axit amin tự do của tảo *Chlorella vulgaris* 181-187
- HOÀNG GIANG, NGUYỄN CHÍNH NGHĨA, ĐẶNG THỊ THUỲ LINH, TRẦN MINH KHUÊ, ĐINH THU LINH, VŨ HỒNG SƠN, HỒ PHÚ HÀ, VŨ THU TRANG. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố tới khả năng thu nhận và cấu trúc của khối sữa đông trong sản xuất phomat tươi 188-195
- PHẠM CAO THĂNG, PHẠM NGỌC TUYÊN, NGUYỄN ĐỨC TIẾN, NGUYỄN DUY LÂM. Thiết lập các thông số công nghệ của quá trình xử lý thuỷ nhiệt và thoái hoá đối với tinh bột gạo biến tính enzym để sản xuất tinh bột kháng loại RS3 196-206
- PHẠM NGỌC HƯNG, PHẠM DUY TỰ, NGUYỄN THỊ DUNG, BÙI UYỂN DIỄM, HOÀNG QUỐC TUẤN, NGUYỄN THỊ THẢO, PHÙNG ĐỨC ĐỊNH, PHÙNG ĐỨC LONG. Nghiên cứu tối ưu công nghệ sấy nấm đùi gà bằng phương pháp sấy lạnh 207-215
- TRƯƠNG THỊ MỘNG THU, NGUYỄN VĂN MƯỜI, LÊ THỊ MINH THUỶ, TRẦN THANH TRÚC. Ứng dụng collagen thuỷ phân từ hỗn hợp da vảy cá lóc (*Channa striata*) trong sản xuất nước ép giàu collagen 216-224
- PHẠM TUẤN ANH, ĐÀO THỊ NGUYỆT NGA, LƯƠNG HỒNG NGA, TÔ KIM ANH, CHU KỲ SƠN. Nghiên cứu công nghệ sản xuất nanoxenluloza tinh thể (NCC) từ bã rượu sắn theo phương pháp tẩy trắng H_20_2 225-233
- NGUYỄN HOÀNG ANH CHÂU, NGUYỄN THỊ KIM OANH, HUỲNH THỊ LÊ DUNG, NGUYỄN THỊ THUỲ DƯƠNG. Nghiên cứu một số thông số xử lý hạt thanh long để thu nhận dầu và bã hạt giàu protein 234-242
- TRẦN BẠCH LONG, HUỲNH XUÂN PHONG, TRẦN THANH TRÚC, NGUYỄN VĂN MƯỜI. Ảnh hưởng của độ dày và tiền xử lý nhiệt nguyên liệu đến chất lượng cam Sành (*Citrus reticulata* x *sinensis*) sấy dẻo dạng khoanh 243-250
- TRẦN THỊ MINH NGUYỆT, PHAN PHƯƠNG LAN, NGUYỄN THÀNH TRUNG, PHẠM BẢO YÊN. Thiết lập phương pháp phát hiện gen mã hoá BoNT týp A, B từ ARN thông tin 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 II - 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

- HUỲNH NGỌC THANH TÂM, ĐỖ TẤN THÀNH, LÊ HUỲNH NHƯ, HUỲNH YẾN NHI. Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn lactic từ trái sơ ri định hướng ứng dụng trong lên men sữa chua sơ ri (*Malpighia glabra* L.) 259-272
- TRẦN CHÍ NHÂN, LÊ NGỌC TUYỀN, TRẦN THỊ CẨM HỒNG, TRẦN TRỌNG NGUYÊN, LƯU THÁI DANH, ĐỖ THỊ TUYẾT NHUNG, NGUYỄN NHẬT MINH PHƯƠNG. Ảnh hưởng của phương pháp sấy đến chất lượng bột lá xạ đen (*Ehretia asperula* Zoll. & Mor.) 273-280
- LÊ TẤT THÀNH, PHẠM THU HUẾ, VŨ ĐÌNH PHÓNG. Nghiên cứu thành phần, hàm lượng các lớp chất lipit và axit béo của loài rong biển *Padina australis* Hauck ở biển Nha Trang và Côn Đảo, Việt Nam 281-289
- KHUẤT BÍCH PHƯỢNG, HỒ PHÚ HÀ, CHU KỲ SƠN, NGUYỄN TIẾN THÀNH, TỪ VIỆT PHÚ. Đánh giá khả năng sử dụng nấm men probiotic *Saccharomyces boulardii* trong sản xuất bia nồng độ cồn thấp 290-298
- NGUYỄN THỊ NGẦN, NGUYỄN NGỌC TUẤN, TRẦN ĐÌNH THẮNG. Tối ưu hoá các điều kiện để chiết flavonoit từ vỏ lụa hạt điều (*Anacardim occidentale* Linn) 299-307
- PHẠM CAO THĂNG, NGUYỄN DUY LÂM. Sự thay đổi tính chất và cấu trúc của tinh bột gạo được xử lý kết hợp thuỷ phân enzim, thuỷ nhiệt và thoái hoá tinh bột gạo 308-318
- BÙI THỊ THANH THẢO, PHẠM BẢO YÊN, TRẦN THỊ HUYỀN NGA, TRẦN THỊ MINH NGUYỆT. Thiết lập đối chứng dương cho việc phát triển phương pháp nhận diện sự có mặt của ADN bò, ADN lợn 319-326
- HỒ PHÚ HÀ, NGUYỄN THỊ HƯỞNG, NGUYỄN THỊ HỒNG, VŨ THU TRANG. Nghiên cứu khả năng sử dụng vi khuẩn probiotic trong sản phẩm sữa chua thực vật 327-335
- TRẦN CHÍ NHÂN, KIỀU MINH VƯƠNG, TRẦN THỊ TÚ NGUYÊN, NGUYỄN BẢO LỘC, LƯU THÁI DANH, NGUYỄN NHẬT MINH PHƯƠNG. Xác định điều kiện trích ly chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu (*Mangifera indica* L.) với sự hỗ trợ Pectinex® Ultra SP-L 336-346
- NGUYỄN BÌNH PHƯƠNG KHANH, NHAN MINH TRÍ. Ảnh hưởng của quá trình chiên đến hàm lượng antoxian và chất lượng bánh que gạo giòn bổ sung khoai lang tím 347-354
- NGUYỄN VĂN LỢI, LÊ ANH TUẤN, TRẦN VĂN QUY, VŨ KIỀU SÂM, PHẠM THỊ BÌNH. Xây dựng quy trình chế biến sa lát guacamole từ quả bơ 355-366
- LƯƠNG HỒNG NGA, NGUYỄN THỊ LOAN. Nghiên cứu ảnh hưởng của đường sacaroza đến một số tính chất của carrageenan 367-373
- LÊ NGỌC DIỄM NHI, LÊ NGỌC LIỄU. Ảnh hưởng của áp dụng tiền xử lý đến động học phân huỷ của Chlorophyll ở rau ngò ôm Việt Nam (*Limnophila aromatic* (Lam.) Meer.) trong quá trình sấy khô bằng không khí nóng 374-382
- LÂM KHẮC KỶ, HỒ THỊ NHƯ Ý, NGUYỄN HOÀNG TUYẾT NGÂN, DƯƠNG THỊ KIM LOAN. Nghiên cứu xác định tình trạng dinh dưỡng và các yếu tố liên quan đến bệnh nhân tiền phẫu thuật tại Bệnh viện Thống Nhất thành phố Hồ Chí Minh năm 2022 383-393
- ĐOÀN NGUYỄN THUÝ QUỲNH, NGUYỄN THỊ MINH NGỌC. Xây dựng khái niệm và tìm hiểu về mức độ quan trọng của các thuộc tính sản phẩm bánh ăn kiêng bằng phương pháp check-all-that-apply (CATA) đối với người tiêu dùng từ 18 đến 25 tuổi 394-402

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

- PHAM NGUYEN NGOC QUYNH, PHAN THANH HA DOAN, TRAN BAO UYEN, LE NGOC LIEU. Total phenolic content, total anthocyannin of red rose (*Rosa vermelha*) extract and its antioxidant capacities under different extraction conditions 7-15
- TA THI MINH NGOC, NGUYEN THI HOAI TRAM. Effect of chitosan's deacetylation degree on *Momordica cochinchinensis* (Gac) oil encapsulation in chitosan bead by dripping method 16-21
- TRAN THANH TRUC, TONG THI QUY, TRAN HA DONG QUAN, NGUYEN HOANG NHU. Harvest maturity affects fruit leather quality 22-30
- DANG THI HUONG, LE THANH HAI HA, DO PHUONG KHANH, NGUYEN THI NGOC ANH. Research for enhancement of phenolic, betanin rich extract from red beetroot peel (*Beta vulgaris* L.) 31-39
- LE TRAN HOAI AN, LE NGOC LIEU. Antioxidant capacities of hydrolysates from basil (*Ocimum basilicum* L. var. *Pilosum* (Willd.) Benth.) seed gum treated by enzymatic hydrolysis 40-46
- NGUYEN THUY CHI, QUAN LE HA. Influences of drying methods on phycocyanin content and antioxidant activity of *Spirulina* 47-55
- NGUYEN THI TAM THU, PHAM TRONG NGHIA, NGUYEN HOANG ANH, PHAM KIEN CUONG. Research on producing of retort packed instant rice 56-62
- LY THI MINH HIEN, DONG THI ANH DAO. Influence of receiving chodroitin sulphate process from chicken omosternum after hydrolytic degradation and estimation of finished product quality 63-70
- NGUYEN THI VAN ANH, NGUYEN VAN HUE, NGUYEN DUC CHUNG, HO SY VUONG, NGUYEN VAN TOAN. Effects of some parameters processing and storage conditions on the quality of hibiscus tea bag 71-78
- TRAN NGOC HIEU, LE THI THU HIEN, HO THUY THANH TRUC, HOANG KIM ANH. Effects of germination conditions on nutritional and bioactivity of hyacinth bean (*Dolichos lablab*) 79-88
- TRAN NGOC MY LINH, LE THI THU SUONG, LE HOANG NHAN, MAI NGUYEN TRAM ANH, PHAM VAN HUNG. Effect of germination and heat - moisture treatment on physicochemical properties of flours and starches of unpolished red rice 89-95
- BUI QUANG THUAT, NGUYEN THI HOANG LAN, BUI THI BICH NGOC, DO THANH HA, LE BINH HOANG, NGUYEN TRUNG HIEU. Analysis and assessment of main chemical ingredients of perilla plant in some growing areas in the Northern province of Vietnam 96-105
- LE THE TAM, TRAN PHUONG CHI, DAO THI THANH XUAN. Research on effects of chitosan-silver nanocomposite film synthesized by green chemical methods on plum *(Prunus salicina)* quality postharvest 106-114
- LUONG HONG NGA, DUONG HONG QUAN, VU THU TRANG. Effects of root's storage temperature and time on sweet potato starch physicochemical properties 115-124
- TA LE QUOC AN, LE THI NGOC MAI, DANG QUOC ANH. Studying on indicator for temperature change used in frozen food packaging 125-131

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

- NGO TRINH TAC DAT, HOANG KIM ANH. Study on cellulase-assisted extraction of polyphenol from watermelon rinds 132-140
- VU THI THANH DAO, NGUYEN THI MY DUYEN, TRAN NGHIA KHANG. Effects of storage temperature on post-harvest changes for mango varieties (*Mangifera indica* L.) in An Giang 141-150
- HOANG VAN THANH, LE THI KIM NGAN, NGUYEN XUAN HOAN, PHAM VAN HUNG, NGUYEN THI LAN PHI. Effects of spray drying conditions on producing microparticles of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) testa extract using gum arabic and gelatin carriers 151-158
- NGUYEN DUY TAN, VO THI XUAN TUYEN, TRINH THANH DUY, DONG THI ANH DAO. Effects of water/crab ratio and precipitant time on physicochemical and sensory properties of meat and extract liquid from field crab (*Somanniathelphusa sinensis*) 159-166
- BUI THI BICH NGOC, BUI QUANG THUAT, VU DUC CHIEN, LE THANH TUNG, TRINH NHU HOA, TRAN NGOC DIEP, LE TRUNG LAM. Obtaining biologically active substances from some native plants for trational corn spirit production in Ha Giang province 167-173
- TRAN THI ANH NGUYET, NGUYEN DUC BACH, TO THI MAI HUONG. Investigating the effect of Tween 80 on the nutritional value of *Spirulina platensis* 174-180
- TO THI MAI HUONG, TRAN THI ANH NGUYET, NGUYEN DUC BACH. Investigating the effect of Tween 80 on the lipid accumulation, fatty acid composition and free amino acid content of *Chlorella vulgaris* 181-187
- HOANG GIANG, NGUYEN CHINH NGHIA, DANG THI THUY LINH, TRAN MINH KHUE, DINH THU LINH, VU HONG SON, HO PHU HA, VU THU TRANG. Study the effect of some factors on the yield and structure of curd in fresh cheese production 188-195
- PHAM CAO THANG, PHAM NGOC TUYEN, NGUYEN DUC TIEN, NGUYEN DUY LAM. Establishment of technological parameters in hydrothermal and retrogradation process of enzyme-modified rice starch for producing resistant starch type III (RS3) 196-206
- PHAM NGOC HUNG, PHAM DUY TU, NGUYEN THI DUNG, BUI UYEN DIEM, HOANG QUOC TUAN, NGUYEN THI THAO, PHUNG DUC DINH, PHUNG DUC LONG. Study on the drying condition optimization of pleurotus eryngii in low-temperature dryer 207-215
- TRUONG THI MONG THU, NGUYEN VAN MUOI, LE THI MINH THUY, TRAN THANH TRUC. Application of hydrolyzed collagen from snakehead fish skin and scale mixture in the production of rich-collagen juice 216-224
- PHAM TUAN ANH, DAO THI NGUYET NGA, LUONG HONG NGA, TO KIM ANH, CHU KY SON. Preparation of nanocrytalline cellulose (NCC) from cassava - based dried distiller's grain using H_2O_2 bleaching 225-233
- NGUYEN HOANG ANH CHAU, NGUYEN THI KIM OANH, HUYNH THI LE DUNG, NGUYEN THI THUY DUONG. Enzyme-assisted extraction of dragon fruit to obtain seed oil and protein-rich residue 234-242
- TRAN BACH LONG, HUYNH XUAN PHONG, TRAN THANH TRUC, NGUYEN VAN MUOI. Effect of slice thickness and heat pre - treatment of materials on quality dryed cam Sanh (*Citrus reticulata* x *sinensis*) 243-250
- TRAN THI MINH NGUYET, PHAN PHUONG LAN, NGUYEN THANH TRUNG, PHAM BAO YEN. Establishing method to detect gene encoding BoNT/A and BoNT/B from mRNA 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

- HUYNH NGOC THANH TAM, DO TAN THANH, LE HUYNH NHU, HUYNH YEN NHI. Isolation, selection and application using lactic bacteria to ferment acerola yogurt (*Malpighia glabra* L.) 259-272
- TRAN CHI NHAN, LE NGOC TUYEN, TRAN THI CAM HONG, TRAN TRONG NGUYEN, LUU THAI DANH, DO THI TUYET NHUNG, NGUYEN NHAT MINH PHUONG. Surveying the effect of drying methods on the quality of *Ehretia asperula* Zoll. & Mor**.** leaf powder 273-280
- LE TAT THANH, PHAM THU HUE, VU DINH PHONG. Research on the composition and content of lipid classes and fatty acids of a seaweed *Padina australis* Hauck collected in Nha Trang and Con Dao, Vietnam 281-289
- KHUAT BICH PHUONG, HO PHU HA, CHU KY SON, NGUYEN TIEN THANH, TU VIET PHU. Evaluation of probiotic yeast *Saccharomyces bourladii* for low alcoholic beer production 290-298
- NGUYEN THI NGAN, NGUYEN NGOC TUAN, TRAN DINH THANG. Optimizing conditions to yield total flavonoid and total phenolic contents using ultrasound-assisted extraction from cashew testa (*Anacardim occidentale* Linn) 299-307
- PHAM CAO THANG, NGUYEN DUY LAM. The change in characteristics and structure of rice starch treated by combination of enzymatic debranching, hydrothermal and retrogradation 308-318
- BUI THI THANH THAO, PHAM BAO YEN, TRAN THI HUYEN NGA, TRAN THI MINH NGUYET. Establishing a positive control for development method of DNA bovine and DNA porcine detection 319-326
- HO PHU HA, NGUYEN THI HUONG, NGUYEN THI HONG, VU THU TRANG. Potential use of probiotic bacteria *Lactobacillus paracasei* B21060 in plant - based yoghurt production 327-335
- TRAN CHI NHAN, KIEU MINH VUONG, TRAN THI TU NGUYEN, NGUYEN BAO LOC, LUU THAI DANH, NGUYEN NHAT MINH PHUONG. Determination of fiber extraction conditions combined with enzyme Pectinex®–Assisted extraction from the peel of Cat Chu mango (*Mangifera indica* L.) 336-346
- NGUYEN BINH PHUONG KHANH, NHAN MINH TRI. Effects of frying on anthocyanin content and quality of rice crispy sticks added purple sweet potato 347-354
- NGUYEN VAN LOI, LE ANH TUAN, TRAN VAN QUY, VU KIEU SAM, PHAM THI BINH. Study on the establish the processing process of guacomole salad from avocado 355-366
- LUONG HONG NGA, NGUYEN THI LOAN. Effect of sugar on the properties of carrageenan 367-373
- LE NGOC DIEM NHI, LE NGOC LIEU. The effects of pre-treatments on the chlorophyll degradation kinetics of Vietnamese rice paddy herb (*Limnophila aromatic* (Lam.) Merr.) during hot air drying 374-382
- LAM KHAC KY, HO THI NHU Y, NGUYEN HOANG TUYET NGAN, DUONG THỊ KIM LOAN. Nutritional status and factors related to prior surgical patients at Thong Nhat Hospital in Ho Chi Minh city in 2022 383-393
- DOAN NGUYEN THUY QUYNH, NGUYEN THI MINH NGOC. Application of check-all-that-apply (CATA) questions to learn about diet cake profiling of consumers aged 18 – 25 in Ho Chi Minh city 394-402

HÀM LƯỢNG PHENOLIC TỔNG, ANTOXIAN TỔNG CỦA DỊCH TRÍCH HOA HỒNG ĐỎ *(Rosa vermelha)* VÀ KHẢ NĂNG CHỐNG OXY HÓA DƯỚI ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY KHÁC NHAU

Phạm Nguyễn Ngọc Quỳnh[1, 2], Phan Thanh Hạ Đoan[1, 2],
Trần Bảo Uyên[1, 2], Lê Ngọc Liễu [1, 2, *]

TÓM TẮT

Hoa hồng đỏ (*Rosa vermelha*) là loại hoa tươi được xuất khẩu nhiều thứ tư tại Việt Nam. Loại hoa này đã được sử dụng phổ biến trong mỹ phẩm và thuốc thảo dược nhờ vào tính chống oxy hóa cao. Trong nghiên cứu này, 4 yếu tố bao gồm dung môi (nước, ethanol 40%), phương pháp trích ly (trích ly thông thường và trích ly có sự hỗ trợ của sóng siêu âm), thời gian trích ly (20 - 100 phút) và nhiệt độ (30°C và 40°C) đã được khảo sát để trích ly hợp chất phenolic và antoxian từ hoa hồng đỏ. Khả năng khử gốc tự do DPPH và hoạt tính khử sắt của nguyên liệu cũng được đánh giá. Kết quả nghiên cứu cho thấy, ethanol 40% là dung môi tốt, giúp thu được tổng hàm lượng cao hợp chất phenolic (289,3 mg GAE/g mẫu), antoxian (24,4 mg antoxian/g mẫu). Khả năng khử gốc tự do DPPH (84,8 mg AAE/g mẫu) và hoạt tính khử sắt (2.406,3 µmol $FeSO_4$/g mẫu) tốt hơn. Phương pháp trích ly bằng sóng siêu âm giúp rút ngắn thời gian trích ly, cải thiện hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học và khả năng khử sắt của mẫu. Tuy nhiên, điều kiện trích ly trên có thể không hoàn toàn tốt cho khả năng khử gốc tự do của mẫu. Điều kiện nhiệt độ thấp (30°C) phù hợp hơn cho quá trình tách chiết. Ngoài ra, mối quan hệ tương quan chặt chẽ giữa hàm lượng phenolic và antoxian với khả năng chống oxy hóa của mẫu theo cơ chế khử sắt cũng được ghi nhận. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra hoa hồng đỏ rất giàu hợp chất phenolic, antoxian và khả năng chống oxy hóa. Do đó, loại hoa này có thể được nghiên cứu sâu hơn để ứng dụng nhiều hơn trong ngành công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và hóa học.

Từ khóa: *Antoxian, chống oxy hóa, trích ly, hoa hồng đỏ, phenolic, sóng siêu âm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa hồng đỏ (*Rosa vermelha*) là loài cây bụi có hoa thuộc chi Rosa, họ Rosaceae, nguồn gốc từ Trung Quốc và Hà Lan. Hoa hồng đã được ứng dụng nhiều trong lĩnh vực dược phẩm và mỹ phẩm vì đặc tính chống oxy hóa, chống viêm và kháng khuẩn [1]. Ngoài ra, hoa hồng rất giàu vitamin (A, B1, B2, B6, D, E, K và C), carotenoit, lycopene, ß-cryptoxanthin, ß-caroten, rubixanthin, gazaniaxanthin và đặc biệt là zeaxanthin [2].

Phenolic là các hợp chất có hoạt tính sinh học tự nhiên được tìm thấy trong thực vật, có đặc tính chống oxy hóa giúp bảo vệ chống lại tác hại của các gốc tự do, giúp bảo vệ cơ thể con người chống lại các rối loạn khác nhau như ung thư, tiểu đường và bệnh tim mạch [3]. Antoxian là nhóm sắc tố hòa tan trong nước lớn nhất, được phân bố rộng rãi trong các loại quả mọng, cây trồng, hoa, rau quả. Những sắc tố tự nhiên này rất được quan tâm trong ngành công nghiệp thực phẩm, do màu sắc hấp dẫn và tác dụng có lợi cho sức khỏe của chúng, bao gồm các hoạt động chống xơ vữa động mạch, chống ung thư, trị đái tháo đường, chống viêm và chống oxy hóa [4].

Nghiên cứu của VanderJagt và cs (2002) [5], Ge và Ma (2013) [6] cho thấy, các loài hoa thuộc họ Rosa có chứa hàm lượng lớn hợp chất phenolic, hàm lượng antoxian cao với khả năng chống oxy hóa đáng kể. Nghiên cứu của Kumar và cs (2008) [7] cũng chỉ ra rằng hoa hồng chứa nhiều hợp chất

[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: lnlieu@hcmiu.edu.vn

phenolic như: Axit gallic, kaempferol, rutin, myricetin và quercetin không chỉ có hoạt tính chống oxy hóa mà còn có tác dụng chống dị ứng, chống viêm, kháng khuẩn, kháng vi rút, kháng nấm,...

Chiết xuất dung môi là một kỹ thuật phổ biến để thu hồi các hợp chất phenolic hòa tan từ hoa hồng. Tuy nhiên, phương pháp này có nhược điểm là thời gian chiết xuất dài, cần lượng dung môi lớn và phá hủy các hợp chất nhạy cảm với nhiệt, đồng thời có thể gây tác động tiêu cực đến cả môi trường và hiệu quả chiết xuất [8]. Để giải quyết những vấn đề này, các phương pháp chiết xuất mới, thân thiện với môi trường đã được áp dụng, chẳng hạn như chiết xuất có hỗ trợ siêu âm (UAE), xử lý bằng enzim và chiết xuất có hỗ trợ vi sóng. So với 2 phương pháp còn lại, UAE là công nghệ nhanh hơn và hiệu quả hơn, vì sóng siêu âm có thể phá vỡ thành tế bào để giải phóng tốt hơn các hợp chất có hoạt tính sinh học, rút ngắn thời gian chiết xuất, giảm nhu cầu về dung môi và nhiệt độ, do đó làm giảm chi phí và mức tiêu thụ năng lượng của quy trình [9]. Do đó, UAE là một phương pháp thích hợp được sử dụng để chiết xuất các hợp chất phenolic và antoxian từ hoa hồng đỏ.

Do những đặc tính và lợi ích của hoa hồng, việc tiến hành các nghiên cứu để trích ly các hợp chất có lợi từ hoa hồng là vô cùng cần thiết. Hiện nay, có rất ít nghiên cứu về hoa hồng đỏ, cũng như về quy trình trích ly các chất có hỗ trợ siêu âm từ hoa hồng đỏ. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này hướng đến đánh giá tác động của những điều kiện trích ly có hỗ trợ siêu âm khác nhau đến hàm lượng các hợp chất phenolic và antoxian từ hoa hồng đỏ, đánh giá khả năng chống oxy hóa của dịch trích.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Hoa hồng đỏ được cung cấp từ thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng. Hoa được thu hoạch vào tháng 3 năm 2020, vận chuyển và xử lý trong ngày. Tất cả hóa chất (Sigma - Aldrich, Merck và chất có xuất xứ Trung Quốc có độ tinh sạch từ trên 99%) sẽ được mua từ nhà phân phối tại thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Chuẩn bị mẫu

Hoa hồng đỏ được rửa bằng nước sinh hoạt trong một giờ để loại bỏ bụi bẩn. Tiếp đó, cánh hoa được nhặt và sấy trong lò ở 40°C khoảng 10 giờ. Sau khi sấy khô, độ ẩm của cánh hoa hồng được kiểm tra. Nếu độ ẩm của cánh hoa nhỏ hơn 10%, các cánh hoa sẽ được nghiền thành bột và sàng qua rây để đảm bảo kích cỡ hạt nằm trong khoảng 1 mm. Sau khi rây, bột hoa hồng thu được sẽ được bảo quản trong túi ni lông ở nhiệt độ phòng cho đến khi sử dụng.

2.3. Phương pháp trích ly

Quá trình trích ly được dựa trên phương pháp của Choi và cs (2015) [10]. 0,1 g cánh hoa hồng khô được trích trong 10 mL ethanol 40% hoặc nước với tỉ lệ 1: 100 (w: v). Giữ mẫu trong bể ổn nhiệt, lắc đều với tần số 100 vòng/phút ở 30°C và 40°C trong khoảng thời gian thích hợp (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 phút). Đối với mẫu trích ly có hỗ trợ sóng siêu âm, mẫu sẽ được trích ly trong bể siêu âm ở nhiệt độ (30°C và 40°C) và thời gian tương ứng (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 phút). Sau khi chiết, dịch chiết sẽ được lọc bằng giấy lọc và bảo quản trong tủ đông cho đến khi phân tích. Thí nghiệm sẽ được lặp lại 3 lần.

2.4. Phương pháp phân tích

2.4.1. Xác định hàm lượng phenolic tổng

Hàm lượng phenolic tổng (TPC) của dịch chiết được đo bằng thuốc thử Folin - Ciocalteu, cải tiến dựa trên phương pháp của Geremu và cs (2016) [11]. Kết quả diễn đạt theo đơn vị mg đương lượng axit gallic/g mẫu (mg GAE/g mẫu).

2.4.2. Xác định hàm lượng antoxian tổng

Tổng hàm lượng antoxian (TAC) của mẫu được xác định dựa trên phương pháp của Lee và cs (2011) [12]. Kết quả thu được sẽ được diễn đạt theo đơn vị mg antoxian/g mẫu (mg antoxian/g mẫu).

2.4.3. Xác định khả năng bắt gốc tự do DPPH

Khả năng bắt gốc tự do DPPH (DPPH) của dịch chiết được xác định dựa theo phương pháp của Sivaraj và cs (2019) [13]. Kết quả thu được sẽ được diễn đạt theo đơn vị mg đương lượng axit ascobic/g mẫu (mg AAE/g mẫu).

2.4.4. Xác định hoạt tính khử sắt (FRAP)

Hoạt tính khử sắt (FRAP) của mẫu được xác định dựa theo phương pháp của Benzie và Strains (1996) [14]. Kết quả thu được sẽ được diễn đạt theo đơn vị µmol $FeSO_4$/g mẫu.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả các thí nghiệm được phân tích phương sai ANOVA kết hợp phép thử kiểm định LSD được phân tích bằng phần mềm Minitab v.17.0 với mức độ tin cậy là 95%.

Phương pháp phân tích tương quan Pearson's được thực hiện bằng phần mềm SPSS 13.0 để phân tích mối tương quan giữa hàm lượng phenolic và antoxian tổng với khả năng bắt gốc tự do DPPH và hoạt tính khử sắt (FRAP). Hệ số tương quan Pearson (r) sẽ nhận giá trị từ +1 đến -1. Với giá trị r dương thể hiện tương quan thuận và âm thể hiện tương quan nghịch. Giá trị tuyệt đối của r càng cao (càng tiến gần đến 1) thì mức độ tương quan giữa 2 biến càng lớn, r = 0 biểu thị hai đại lượng nghiên cứu không tương quan [15].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng phenolic tổng (TPC) của mẫu trích ly với các điều kiện khác nhau

Bảng 1 so sánh hàm lượng TPC trong các mẫu trích ly với các điều kiện khác nhau, trong đó thời gian trích ly đã được sàng lọc và được chọn theo mức độ trích ly đạt hàm lượng TPC cao nhất cho từng mẫu. Kết quả cho thấy, tại cùng một nhiệt độ trích ly, phương pháp trích ly có hỗ trợ sóng siêu âm và dung môi ethanol 40% cho thấy, hiệu quả trích ly cao, trong khi thời gian trích ly lại ngắn hơn so với phương pháp chiết xuất thông thường. Cụ thể, ở 30°C và có sự hỗ trợ của sóng siêu âm, hàm lượng phenolic tổng của mẫu trích bằng dung môi ethanol 40% cao nhất (289,3 mg GAE/g mẫu), cao hơn gần 29,45% so với mẫu trích ly bằng nước cất (204,1 mg GAE/g mẫu). Kết quả trên cũng cho thấy, hàm lượng phenolic tổng trong hoa hồng đỏ cao hơn 10 lần so với hoa xương rồng (*Opuntia ficus - indica* L.) (24,38 mg GAE/g chất khô) khi mẫu được trong trích ly bằng phương pháp có hỗ trợ siêu âm trong dung môi ethanol 35,70% [16].

Thời gian trích ly ngắn nhất cũng được ghi nhận ở 30 phút, khi sử dụng sóng siêu âm và dung môi ethanol 40%. Có thể nói rằng việc sử dụng sóng siêu âm đã nâng cao hiệu quả và rút ngắn thời gian trích ly. Nhận xét này cũng tương đồng với nghiên cứu của Ghafoor và cs (2009) [17]. Sóng siêu âm có khả năng phá vỡ tế bào thực vật, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình truyền khối từ tế bào sang dung môi. Kết hợp với tính phân cực thích hợp của hệ dung môi ethanol 40%, các hợp chất phenolic càng di chuyển dễ dàng hơn từ tế bào sang dung môi. Do đó, hàm lượng phenolic thu được cao hơn nhờ vào sự kết hợp của các điều kiện này. Mặt khác, ở 40°C, hàm lượng phenolic tổng của các mẫu thu được đều có sự suy giảm so với các mẫu trích ở 30°C. Hiện tượng này có thể là do sự phân hủy bởi nhiệt của một số hợp chất có hoạt tính sinh học. Hầu hết các hợp chất có hoạt tính sinh học đều nhạy cảm với nhiệt và dễ bị phân hủy bởi nhiệt [18]. Do đó, nhiệt độ cao cũng có thể dẫn đến hiện tượng này.

Bảng 1. Hàm lượng phenolic tổng của dịch trích trong những điều kiện trích ly khác nhau - có và không có sự hỗ trợ của sóng siêu âm[1, 2, 3]

Nhiệt độ (°C)	Phương pháp trích ly	Dung môi	Thời gian (phút)	TPC (mg GAE/g mẫu)
30	CE	DW	60	$228,3^{b} \pm 1,5$
		E40	50	$241,4^{b} \pm 6,3$
	UAE	DW	60	$204,1^{c} \pm 8,6$
		E40	30	$289,3^{a} \pm 0,5$
40	CE	DW	60	$196,1^{c} + 12,3$

		E40	70	$230,9^{b} \pm 6,8$
	UAE	DW	50	$194,1^{c} \pm 5,3$
		E40	40	$241,9^{b} \pm 6,7$

Ghi chú:[1] CE: phương pháp truyền thống, DW: nước cất, E40: ethanol 40%, UAE: phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm; [2]Các giá trị được thể hiện ở dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3); [3]Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa (p < 0,05)

3.2. Hàm lượng antoxian tổng (TAC) của mẫu trích ly với các điều kiện khác nhau

Bảng 2 so sánh hàm lượng antoxian trong các mẫu trích ly với các điều kiện khác nhau, dựa trên kết quả khảo sát sơ bộ của nghiên cứu. Thời gian trích ly đã được sàng lọc và được chọn theo mức độ trích ly đạt hàm lượng TAC cao nhất cho từng mẫu. So với TPC, hàm lượng antoxian trong mẫu hoa hồng thấp hơn nhiều, dao động trong khoảng 15 - 24 mg antoxian/g mẫu.

Bảng 2. Hàm lượng antoxian tổng của dịch trích trong những điều kiện trích ly khác nhau - có và không có sự hỗ trợ của sóng siêu âm[1, 2, 3]

Nhiệt độ (°C)	Phương pháp trích ly	Dung môi	Thời gian (phút)	TAC (mg antoxian/g mẫu)
30	CE	DW	100	$16,7^{bd} \pm 0,1$
		E40	70	$16,5^{d} \pm 0,3$
	UAE	DW	50	$15,2^{a} \pm 0,2$
		E40	40	$19,0^{cf} \pm 0,3$
40	CE	DW	100	$19,4^{cf} \pm 0,1$
		E40	60	$19,8^{f} \pm 0,1$
	UAE	DW	50	$15,1^{a} \pm 0,2$
		E40	20	$24,4^{e} \pm 0,1$

Ghi chú: [1]CE: phương pháp truyền thống, DW: nước cất, E40: ethanol 40%, UAE: phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm; [2]Các giá trị được thể hiện ở dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3); [3]Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa (p < 0,05)

Hàm lượng antoxian tổng của các mẫu đều có sự khác biệt có nghĩa, đặc biệt là ở 2 nhiệt độ trích ly khác nhau (30°C và 40°C). Ở 40°C, hàm lượng antoxian của các mẫu đều cao hơn so với khi trích ly ở 30°C, trong đó cao nhất là mẫu trích ly theo phương pháp UAE, sử dụng dung môi ethanol 40% (24,4 mg antoxian/g mẫu). Tại điều kiện này, dù sử dụng cùng một phương pháp trích ly nhưng mẫu trích trong nước cất lại thu được hàm lượng antoxian tổng thấp hơn (15,1 mg antoxian/g mẫu), tương đương 61,88% so với mẫu trích trong dung môi cồn. Kết quả nghiên cứu này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Pinela và cs (2019) [19], trong đó hàm lượng antoxian thu được là 23,83 mg antoxian/g mẫu đài hoa bụp giấm khi trích ly mẫu trong dung môi cồn: nước cất, có hỗ trợ sóng siêu âm trong 45 phút.

Trích ly bằng ethanol kết hợp sóng siêu âm cũng giúp rút ngắn thời gian trích còn 20 phút, ngắn hơn 5 lần so với 100 phút ở phương pháp trích ly theo phương pháp thông thường. Kết quả này cho thấy, antoxian trong hoa hồng tan tốt hơn trong môi trường ethanol và có khả năng bền nhiệt ở 40°C. Do đó khi tăng nhiệt độ, quá trình truyền

khối diễn ra tốt hơn dẫn tới lượng antoxian trích ly được nhiều hơn.

3.3. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của mẫu trích ly với các điều kiện khác nhau

Trong nghiên cứu này, khả năng kháng oxi hóa của mẫu trích ly được đánh giá qua khả năng bắt gốc tự do DPPH và khả năng khử sắt (FRAP). Bảng 3 trình bày kết quả về hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của mẫu trích ly, được diễn đạt theo đơn vị mg đương lượng axit ascobic/g mẫu. Thời gian trích ly đã được sàng lọc theo kết quả khảo sát sơ bộ và được chọn theo mức độ trích ly đạt hoạt tính bắt gốc tự do DPPH cao nhất cho từng mẫu.

Bảng 3. Khả năng bắt gốc tự do DPPH của dịch trích trong những điều kiện trích ly khác nhau - có và không có sự hỗ trợ của sóng siêu âm [1, 2, 3]

Nhiệt độ (°C)	Phương pháp trích ly	Dung môi	Thời gian (phút)	DPPH (mg AAE/g mẫu)
30	CE	DW	50	$77,3^{d} \pm 0,1$
		E40	40	$84,8^{a} \pm 0,2$
	UAE	DW	40	$74,9^{e} \pm 0,3$
		E40	20	$79,5^{c} \pm 0,2$
40	CE	DW	20	$75,8^{e} \pm 0,4$
		E40	60	$82,3^{b} \pm 0,5$
	UAE	DW	20	$71,4^{f} \pm 0,4$
		E40	50	$77,6^{d} \pm 0,3$

Ghi chú: [1]CE: phương pháp truyền thống, DW: nước cất, E40: ethanol 40%, UAE: phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm; [2]Các giá trị được thể hiện ở dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3); [3]Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa (p < 0,05)

Khả năng bắt gốc tự do DPPH của mẫu ghi nhận sự khác biệt có nghĩa ở các điều kiện trích ly khác nhau. Ở 30°C, mẫu trích ly bằng dung môi ethanol ghi nhận khả năng bắt gốc tự do DPPH cao nhất (84,8 và 79,5 mg AAE/g mẫu tương ứng cho mẫu không có và có hỗ trợ siêu âm). Trong khi đó, mẫu trích bằng nước ở 40°C lại ghi nhận khả năng bắt gốc tự do thấp nhất (71,4 và 75,8 mg AAE/g mẫu tương ứng cho mẫu không có và có hỗ trợ siêu âm). Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ càng tăng, khả năng bắt gốc tự do DPPH càng giảm. Điều này có thể là do sự phân hủy của các hợp chất chống oxy hóa liên quan đến các hợp chất phenolic, như đã trình bày ở bảng 1. Ngoài ra, khả năng bắt gốc tự do DPPH của mẫu trích ly cũng có thể bị ảnh hưởng bởi tính phân cực của hệ dung môi. Sự có mặt của ethanol trong dung môi tạo độ phân cực thích hợp để trích ly các hợp chất chống oxy hóa, dẫn đến các hoạt tính chống oxy hóa cao hơn [20].

3.4. Hoạt tính khử sắt của mẫu trích ly với các điều kiện khác nhau

Hoạt tính khử sắt được xác định dựa trên khả năng khử phức Fe^{3+} - TPTZ [2,4,6-tripyridyl-s-triazin (TPTZ)] (màu tía) thành phức Fe^{2+} - TPTZ (màu xanh) trong môi trường axit của các chất chống oxy hoá. Độ tăng cường độ màu xanh tỷ lệ với hàm lượng chất chống oxy hóa có trong nguyên liệu [14].

Bảng 4 trình bày hoạt tính khử sắt (FRAP) của các mẫu trích ly. Thời gian trích ly đã được sàng lọc theo kết quả khảo sát sơ bộ và được chọn theo mức độ trích ly đạt hoạt tính khử sắt cao nhất cho từng mẫu.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hoạt tính khử sắt của các mẫu tăng khi nhiệt độ trích ly tăng. Đồng thời, dung môi ethanol 40% cũng giúp cho mẫu có hoạt tính khử sắt cao hơn. Phương pháp trích ly có hỗ trợ sóng siêu âm cũng ghi nhận giúp làm tăng hoạt tính khử sắt. Ở 30°C, các mẫu trích ly trong dung môi ethanol 40% có hoạt tính khử sắt cao (1.979,1 và 2.162,0 µmol $FeSO_4$/g mẫu tương ứng cho mẫu không có và có hỗ trợ siêu âm). Tương tự, ở 40°C, các mẫu trích ly trong dung môi ethanol 40% cũng ghi nhận hoạt tính khử sắt cao nhất (2.127,8 và 2.406,3 µmol $FeSO_4$/g mẫu tương ứng cho mẫu không có và có hỗ trợ siêu âm). Mẫu trích ly theo phương pháp thông thường ở 30°C có hoạt tính khử sắt thấp nhất (1.305,1 µmol $FeSO_4$/g mẫu), trong khi mẫu trích ly bằng nước theo phương pháp thông thường lại có thời gian trích ly dài nhất (100 phút). Kết quả này cho thấy, hoa hồng có hoạt tính khử sắt cao, so với nghiên cứu của Cavalaro và cs (2020) [20], tiến hành trên *Baccharis dracunculifolia* - một loài thực vật có hoa thuộc họ Cúc - với hoạt tính khử sắt cao nhất là 534 µmol $FeSO_4$/g mẫu khi trích ly trong dung môi cồn và có sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Qua đó, có thể khẳng định phương pháp trích ly có sử dụng sóng siêu âm mang lại hiệu quả tốt cho quá trình trích ly.

Bảng 4. Hoạt tính khử sắt của dịch trích trong những điều kiện trích ly khác nhau - có và không có sự hỗ trợ của sóng siêu âm [1, 2, 3]

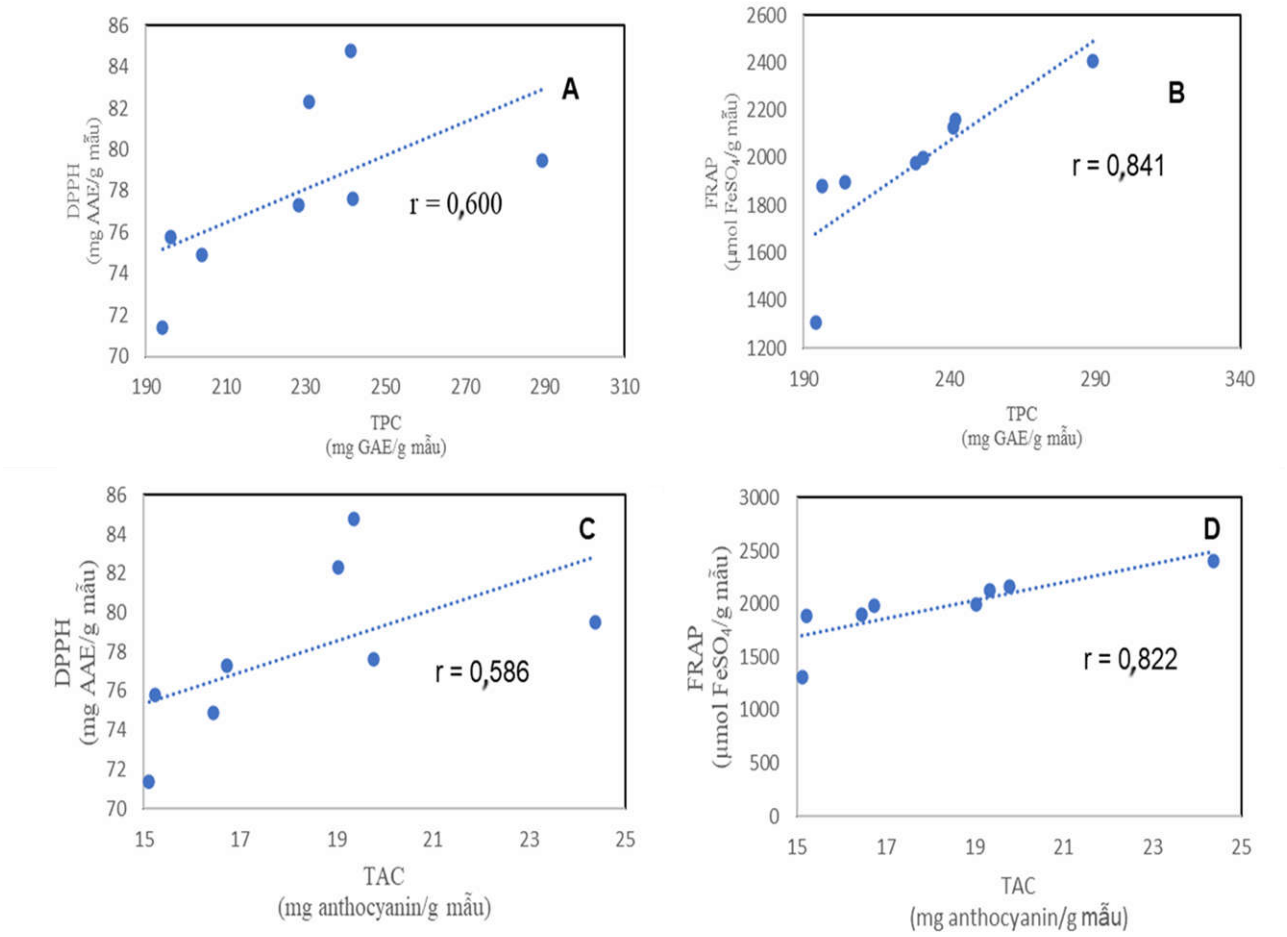
Nhiệt độ (°C)	Phương pháp trích ly	Dung môi	Thời gian (phút)	FRAP (µmol $FeSO_4$/g mẫu)
30	CE	DW	80	$1.305,1^{adf} \pm 15,6$
		E40	70	$1.979,1^{fg} \pm 101,9$
	UAE	DW	50	$1.882,1^{abdef} \pm 148,4$
		E40	30	$2.162,0^{efg} \pm 19,0$
40	CE	DW	100	$2.000,1^{defg} \pm 1,8$
		E40	60	$2.127,8^{g} \pm 26,2$
	UAE	DW	40	$1.899,9^{bdefg} \pm 7,1$
		E40	20	$2.406,3^{fg} \pm 77,0$

Ghi chú: [1]CE: phương pháp truyền thống, DW: nước cất, E40: ethanol 40%, UAE: phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm; [2]Các giá trị được thể hiện ở dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3); [3]Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa (p < 0,05)

3.5. Sự tương quan giữa hàm lượng phenolic, antoxian tổng và khả năng chống oxy hóa

Kết quả so sánh tương quan giữa hàm lượng phenolic, antoxian tổng và hoạt tính chống oxy hóa theo 2 phương pháp (DPPH, FRAP) của mẫu nghiên cứu được trình bày qua hình 1, kèm theo hệ số tương quan Pearson *r* được tính từ phần mềm SPSS.

Hình 1 cho thấy, có sự tương quan cao giữa hàm lượng phenolic, antoxian tổng và hoạt tính khử sắt (r =0,841 và r = 0,822), tương quan trung bình giữa hàm lượng phenolic, antoxian tổng và khả năng bắt gốc tự do DPPH, biểu hiện qua giá trị tương quan r = 0,600 và r = 0,586. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng phenolic tổng và antoxian tổng là tác nhân chính ảnh hưởng đến hoạt tính khử sắt của mẫu. Trong khi đó, có thể có những chất kháng oxi hoá khác đóng vai trò quan trọng hơn trong hoạt tính bắt gốc tự do DPPH. Nghiên cứu của Yang và cs (2018) [21] trên chiết xuất của cây kim hoa trà cũng cho thấy, mối quan hệ tương quan tương tự, khi hàm lượng phenolic tổng có tương quan chặt chẽ với hoạt tính khử sắt của mẫu với giá trị r = 0,95.



Hình 1. Biểu đồ biểu thị mối tương quan giữa (A) TPC và DPPH; (B) TPC và FRAP; (C) TAC và DPPH; (D) TAC và FRAP

4. KẾT LUẬN

Ethanol 40% là một dung môi phù hợp cho quá trình trích ly. Ngoài ra, phương pháp trích ly có hỗ trợ sóng siêu âm ở nhiệt độ thấp cũng cho thấy, hiệu quả, khi hàm lượng các chất kháng oxy hoá (phenolic và antoxian), cũng như các hoạt tính chống oxy hóa của mẫu đều tăng và thời gian trích ly cũng được rút ngắn đáng kể. Dựa vào những tính chất trên, có thể nhận thấy rằng sự kết hợp của các yếu tố trên là hoàn toàn phù hợp cho quá trình trích ly các hợp chất phenolic và antoxian tổng từ mẫu hoa hồng đỏ. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra có mối quan hệ tương quan chặt chẽ giữa hàm lượng phenolic và antoxian với khả năng chống oxy hóa của mẫu theo cơ chế khử sắt. Kết luận lại, hoa hồng đỏ là một nguyên liệu giàu hợp chất phenolic, giàu antoxian và có hoạt tính chống oxy hóa cao. Nghiên cứu này đã tạo nền tảng cho các nghiên cứu tiếp theo hướng đến tìm hiểu sâu hơn về các điều kiện tối ưu để trích ly các hợp chất có lợi từ hoa hồng đỏ. Đồng thời, từ đó có thể ứng dụng những hợp chất này vào trong các sản phẩm cụ thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Polumackanycz, M., *et al.* (2020). *Phenolic composition and biological properties of wild and commercial dog rose fruits and leaves.* Molecules, 25 (22), p. 5272.

2. Winther, K., A. S. V. Hansen, and J. Campbell - Tofte (2016). *Bioactive ingredients of rose hips (Rosa canina* L.*) with special reference to antioxidative and anti-inflammatory properties: in vitro studies.* Botanics: Targets and Therapy, 6, p. 11 - 23.

3. Cheynier, V. (2012). *Phenolic compounds: from plants to foods.* Phytochemistry reviews, 11 (2 - 3), p. 153 - 177.

4. De Pascual -Teresa, S. and M. T. Sanchez - Ballesta (2008). *Anthocyanins: from plant to health.* Phytochemistry reviews, 7, p. 281 - 299.

5. VanderJagt, T., *et al.* (2002). *Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico.* Life Sciences, 70 (9), p. 1035 - 1040.

6. Ge, Q. and X. Ma (2013). *Composition and antioxidant activity of anthocyanins isolated from Yunnan edible rose (An ning).* Food Science and Human Wellness, 2 (2), p. 68 - 74.

7. Kumar, N., *et al.* (2008). Reversed phase - HPLC for rapid determination of polyphenols in flowers of rose species. *Journal of separation science*, 31 (2), p. 262 - 267.

8. Rasul, M. G. (2018). Conventional extraction methods use in medicinal plants, their advantages and disadvantages. *Int. J. Basic Sci. Appl. Comput*, 2, p. 10 - 14.

9. Wen, C., *et al.* (2018). *Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops-A review.* Ultrasonics sonochemistry, 48, p. 538 - 549.

10. Choi, J. K., *et al.* (2015). Extraction conditions for phenolic compounds with antioxidant activities from white rose petals. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 58 (2), p. 117 - 124.

11. Geremu, M., Y. B. Tola, and A. Sualeh (2016). *Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (Coffea arabica* L.*) pulp of wet processing plants.* Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 3, p. 1 - 6.

12. Lee, J. H., H. J. Lee and M. G. Choung (2011). *Anthocyanin compositions and biological activities from the red petals of Korean edible rose (Rosa hybrida cv. Noblered).* Food Chemistry, 129 (2), p. 272 - 278.

13. Sivaraj, C., *et al.* (2019). Antioxidant, Antibacterial Activities and GC-MS Analysis of Fresh Rose Petals Aqueous Extract of *Rosa damascena* Mill L. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(4-s), p. 68 - 77.

14. Benzie, I. F. and J. J. Strain (1996). *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay.* Analytical biochemistry, 239 (1), p. 70 - 76.

15. Tăng Thế Cường, Lê Hoàng Anh, Vương Như Luận, Nguyễn Hồng Hạnh (2013). Ứng dụng phương pháp tương quan đánh giá tác động của biến đổi khí hậu đến chất lượng môi trường nước mặt lục địa. *Tạp chí Môi trường*, (8), tr. 61 - 64.

16. Brahmi F., Blando F., Sellami R., Mehdi S., De Bellis L., Negro C., & Makhlouf Boulekbache L. (2022). *Optimization of the conditions for ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Opuntia ficus - indica* [L.] Mill. *flowers and comparison with conventional procedures*. Industrial Crops and Products, 184, 114977.

17. Ghafoor, K., *et al.* (2009). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape *(Vitis vinifera)* seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57 (11), p. 4988 - 4994.

18. Osorio-Tobón, J. F. (2020). Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 57, p. 4299 - 4315.

19. Pinela, J., *et al.* (2019). *Optimization of heat-and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa calyces for natural food colorants.* Food chemistry, 275, p. 309 - 321.

20. Cavalaro R. I., L. F. d. F. Fabricio and T. M. F. d. S. Vieira (2020). *Ultrasound-assisted extraction of antioxidants from Baccharis dracunculifolia and green propolis.* Processes, 8 (12), p. 1530.

21. Yang, R., *et al.* (2018). *Antioxidant capacity of phenolics in Camellia nitidissima Chi flowers and their identification by HPLC Triple TOF MS/MS.* PLoS One, 13 (4), p. e0195508.

TOTAL PHENOLIC CONTENT, TOTAL ANTHOCYANNIN OF RED ROSE (*Rosa vermelha*) EXTRACT AND ITS ANTIOXIDANT CAPACITIES UNDER DIFFERENT EXTRACTION CONDITIONS

Pham Nguyen Ngoc Quynh, Phan Thanh Ha Doan,
Tran Bao Uyen, Le Ngoc Lieu

Summary

Red rose (*Rosa vermelha*) is Vietnam's fourth largest category of cut flowers for exportation. This plant has been widely applied in cosmetics and herbal medicines, due to its great antioxidant properties. In this research, four variables, namely solvent (water, ethanol 40%), extraction method (conventional and ultrasound-assisted extraction), duration (from 20 to 100 minutes) and temperature (30°C and 40°C) were studied to sufficiently extract phenolics and anthocyannins from red rose. DPPH radical scavenging capacity and ferric reducing antioxidant power of the material were also determined. The results displayed that ethanol 40% was a good solvent, resulting in the higher total phenolic content (289.3 mg GAE/g sample) and total anthocyanin content (24.4 mg anthocyanin/g sample) and leading the greater DPPH radical scavenging capacity (84.8 mg AAE/g sample) and ferric reducing power (2,406.3 µmol $FeSO_4$/g sample). Ultrasonic extraction, in addition, could also shorten extraction duration and improve the yields of bioactive compounds and their ferric reducing power. However, this treatment may be unfavorable for DPPH scavenging capacity of the extract. Moreover, low temperature (30°C) was more suitable for extraction. Strong correlations between total phenolic, anthocyanin content and ferric reducing antioxidant power were also observed. Results of this research also indicated that red rose is rich in phenolic compounds, anthocyanin and antioxidant capacities. Thus, this plant can be further studied for more applications in food, pharmaceutical and cosmetic industries.

Keywords: *Anthocyanin, antioxidant, extraction, red rose, phenolic, ultrasound.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Thanh Thủy
Ngày nhận bài: 27/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 25/4/2023
Ngày duyệt đăng: 4/5/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐỘ DEACETYL CỦA CHITOSAN TỚI HIỆU QUẢ BAO GÓI DẦU GẤC

Tạ Thị Minh Ngọc[1, 2, *], Nguyễn Thị Hoài Trâm[3]

TÓM TẮT

Chitosan với độ deacetyl thấp (63%), trung bình (72%) và cao (83%) được sử dụng để bao gói dầu gấc theo phương pháp nhỏ giọt. Dầu gấc được tạo nhũ tương với chitosan và tạo hạt trong dung dịch kiềm NaOH 1 N. Ảnh hưởng của độ deacetyl lên quá trình tạo vi nang được đánh giá thông qua hiệu suất bao gói dầu, hiệu quả bao gói dầu, tính chất hạt vi nang và độ bền của beta-caroten trong hạt vi nang theo thời gian bảo quản. Trong khoảng khảo sát của nghiên cứu này, độ decaetyl của chitosan không có ảnh hưởng rõ rệt lên hiệu quả bao gói, hàm lượng dầu và hình dạng hạt. Hiệu quả bao gói dầu gấc đạt trong khoảng 59,2 - 60,1% với hàm lượng dầu tương ứng trong khoảng 70,9 - 71,8%. Hạt vi nang thu được có độ tròn thấp 0,85 - 0,87 với đường kính hạt 0,144 - 0,158 mm. Độ ổn định và hiệu quả bảo vệ beta - carotene trong dầu gấc tăng theo độ deacetyl của chitosan sử dụng. Hàm lượng beta-caroten trong hạt vi nang chitosan có độ deaceyl 83% (DD 83) đạt 0,67 ± 0,02 mg/g hạt khô, cao hơn 1,5 lần so với chitosan DD 72 và 1,7 lần so với chitosan DD 63. Hạt vi nang có độ ẩm ổn định trong khoảng 9,5 - 10,5%. Hàm lượng beta - caroten còn lại cao nhất đối với hạt chitosan DD 83 đạt 60% sau 4 tuần bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Từ khóa: *Chitosan, dầu gấc, phương pháp nhỏ giọt, vi nang.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quả gấc Việt Nam chứa rất nhiều hoạt chất quý giá đối với sức khỏe con người, có tác dụng phòng và trị nhiều bệnh, trong đó có những bệnh hiểm nghèo như ung thư [1]. Tuy nhiên, các hợp chất này chỉ được hấp thu tốt nhất khi tồn tại dưới dạng hòa tan trong dầu và dễ bị các tác nhân môi trường phá hủy, làm hạn chế khả năng sử dụng trong công nghiệp thực phẩm [2].

Công nghệ vi nang là một biện pháp hữu hiệu giúp bao gói các chất có hoạt tính sinh học ở kích thước micromet và hạn chế ảnh hưởng của các tác nhân từ môi trường bên ngoài [3]. Dầu gấc có thể được bao gói trong whey protein/gôm arabic bằng phương pháp sấy phun với hiệu suất bao gói đạt 44,12 - 65,32% [4]. Phương pháp nhỏ giọt cũng được áp dụng thành công để bao gói dầu gấc với nhiều loại polyme sinh học khác nhau như gelatin [5], alginate [6] hoặc chitosan [7].

Chitosan là một dẫn xuất của chitin được hình thành khi tách nhóm acetyl (quá trình deacetyl hóa chitin) khỏi chitin, có cấu trúc tuyến tính từ các đơn vị β-D glucosamin liên kết với nhau bằng liên kết β-1,4-glucosit. Chitosan được sử dụng làm chất mang trong bao gói các chất có hoạt tính sinh học khác nhau [8-10]. Độ deacetyl của chitosan là một thông số quan trọng, đặc trưng cho tỷ lệ giữa 2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose với 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose trong phân tử chitosan. Tính chất của chitosan như khả năng hút nước, khả năng hấp phụ chất màu, kết dính với chất béo,… phụ thuộc rất lớn vào độ deacetyl [11]. Độ deacetyl đồng thời có ảnh hưởng tới đặc tính tinh thể và tính kỵ nước của chitosan [12, 13], làm thay đổi tương tác của chitosan với chất được bao gói, dẫn đến thay đổi khả năng bao gói và giải phóng hoạt chất của hạt vi nang chitosan [14].

Trong nghiên cứu này, chitosan với độ deacetyl khác nhau được sử dụng để tạo vi nang dầu gấc - chitosan. Ảnh hưởng của độ deacetyl lên

[1] Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang
[2] Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Khoa Kỹ thuật hóa học, Trường Đại học Bách Khoa, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[3] Hội Khoa học và Công nghệ lương thực thực phẩm Việt Nam (Vafost)
[*] Email: ttmngoc@hcmut.edu.vn

quá trình tạo vi nang được đánh giá thông qua hiệu quả bao gói dầu, tính chất hạt vi nang và độ bền của beta-carotene trong hạt vi nang theo thời gian bảo quản.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Dầu gấc nguyên chất được sản xuất tại Công ty TNHH MTV Gấc Việt. Chitosan được sản xuất tại Trường Đại học Nha Trang với 3 độ deacetyl khác nhau. Chitosan 1 có độ deacetyl 83%, (DD 83). Chitosan 2 có độ deacetyl 72% (DD 72). Chitosan 3 có độ deacetyl 63 (DD 63). Khối lượng phân tử của 3 loại chitosan 1120 ± 35 kDa. N-hexan được dùng để trích ly beta-caroten được mua của Prolabo, Pháp. Các hóa chất khác được mua của Xilong, Trung Quốc.

2.2. Quy trình chuẩn bị vi nang dầu gấc - chitosan

Chitosan với độ deacetyl khác nhau được chuẩn bị trong axit axetic 1%, để tan hoàn toàn qua đêm. Nhũ tương dầu gấc - chitosan được tạo thành bằng cách đồng hóa hỗn hợp (dung dịch chitosan, dầu gấc 5%, chất nhũ hóa lecithin 10%) tại tốc độ 19.000 v/ph trong 10 phút sử dụng thiết bị đồng hóa IKA T18 Basic, ULTRA_TURRAX. Nhũ tương sau đó được nhỏ giọt vào dung dịch kiềm NaOH 1 N. Hạt được ngâm trong kiềm 60 phút, rửa bằng nước cất 3 lần và để khô tự nhiên ở điều kiện nhiệt độ phòng (30 ± 2°C) trong 48 giờ.

2.3. Xác định tính chất hạt vi nang dầu gấc - chitosan

Kích thước và hình dạng hạt được phân tích bằng phần mềm ImageJ 14.6 [6]. Mật độ khối của hạt được tính bằng tỷ lệ giữa 2 g hạt và thể tích chứa tương ứng, xác định bằng ống đong 10 ml [15].

2.4. Xác định hàm lượng beta-caroten và hàm lượng dầu trong hạt vi nang dầu gấc - chitosan

Hàm lượng dầu trong hạt vi nang được xác định bằng cách trích ly 0,5 g vi nang với hỗn hợp dung môi petroleum ether/axeton (1/1 v/v). Vi nang dầu gấc - chitosan được nghiền mịn và trích ly với 5 ml dung môi. Quá trình trích ly được thực hiện 3 lần. Dịch chiết được cho bay hơi dung môi trong tủ sấy chân không ở 50°C tới khối lượng không đổi. Hàm lượng dầu trong hạt vi nang được cân và tính theo % trên khối lượng khô. Hàm lượng dầu bề mặt được xác định bằng cách cho 5 ml dung môi vào 0,5 g vi nang (không nghiền), lắc nhẹ trong 15 s [6].

Beta-caroten trong hạt vi nang được xác định bằng cách trích ly với n-hexan và xác định qua độ hấp thụ tại bước sóng 452 nm [7].

Hiệu quả bao gói hạt vi nang được xác định bằng công thức sau:

$$EE(\%) = \frac{Hàm\ lượng\ dầu\ tổng - Hàm\ lượng\ dầu\ trên\ bề\ mặt}{Hàm\ lượng\ dầu\ tổng} \times 100$$

Hiệu suất tạo vi nang được xác định bằng công thức sau:

$$EY(\%) = \frac{Hàm\ lượng\ dầu\ tổng}{Hàm\ lượng\ dầu\ gấc\ đưa\ vào} \times 100$$

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của độ deacetyl tới hiệu quả tạo vi nang dầu gấc - chitosan

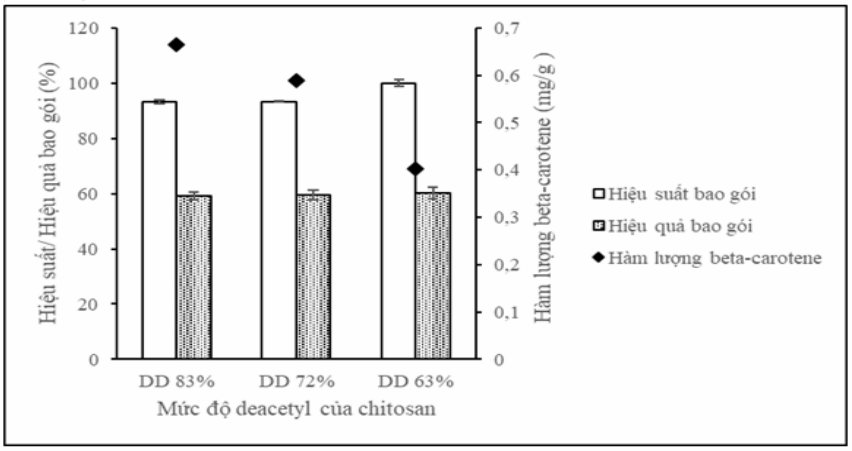
Hiệu quả tạo vi nang dầu gấc - chitosan được đánh giá qua hiệu suất bao gói, hiệu quả bao gói và hàm lượng beta-caroten trong hạt (Hình 1).

Kết quả cho thấy, độ deacetyl của chitosan trong khoảng khảo sát không có ảnh hưởng tới hiệu quả bao gói dầu gấc. Hiệu quả bao gói dao động trong khoảng 59,2 - 60,1% với cả 3 mẫu chitosan khảo sát. Kết quả này tương đối đồng nhất với kết quả nghiên cứu của Hussain và cs (2013) khi nghiên cứu bao gói tinh dầu với chitosan có độ deacetyl 61 - 85%. Tuy nhiên, hiệu quả bao gói có thể giảm khi độ deacetyl của chitosan tăng lên trong khoảng từ 55 - 61% hoặc từ 83 - 96% [16].

Đối với chitosan DD 83 và DD 72, hiệu suất bao gói dầu gấc là tương đương nhau và đạt 93%. Trong khi đó, với chitosan DD 63, hiệu suất bao gói dầu gấc đạt tới 100 ± 1%. Hiệu suất bao gói thể hiện sự tổn thất dầu vào pha nước trong quá trình đông tụ của giọt nhũ tương dầu gấc - chitosan. Mức độ deacetyl của chitosan tỷ lệ với số lượng nhóm amin tự do trong phân tử, đồng thời tỷ lệ với tính ưa nước của phân tử chitosan. Khi độ deacetyl tăng, tính ưa nước của chitosan tăng lên dẫn tới khả năng giữ dầu giảm xuống; do đó làm tăng sự

thất thoát dầu vào pha nước. Kết quả của Hussain và cs (2013) cho thấy, hàm lượng dầu trong hạt vi nang giảm từ 44,1 ± 1,2% xuống 42,2 ± 1,4% khi độ deacetyl của chitosan tăng từ 61% lên 85% [16].

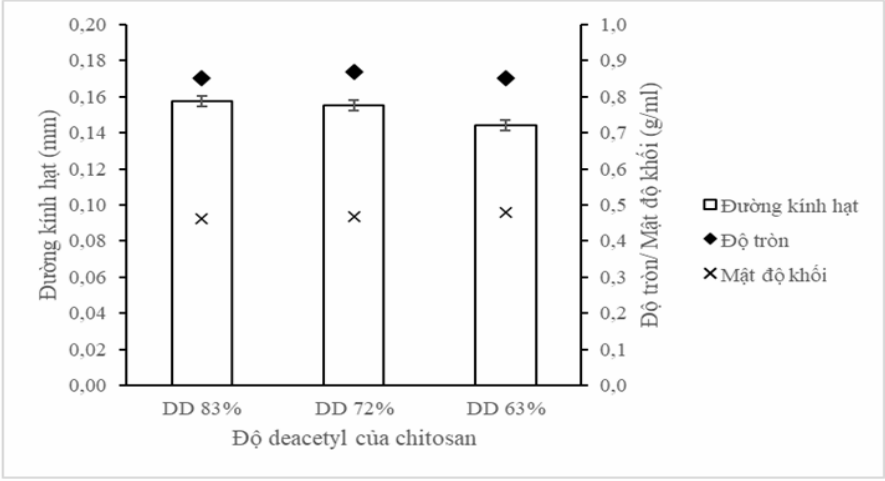
Hàm lượng beta-caroten được bao gói có sự khác biệt rõ rệt giữa các loại chitosan khảo sát. Cụ thể, khi độ deacetyl tăng từ 63% lên 72% và 83%, hàm lượng beta-caroten tăng tương ứng 1,5 - 1,7 lần. Điều này có thể do khả năng chống oxy hóa của chitosan tỷ lệ với độ deacetyl. Nghiên cứu của Park và cs (2004) đã chỉ ra rằng khả năng bắt gốc tự do của chitosan tăng lần lượt từ 13,99%, 35,52% và 38,72% khi độ deacetyl của chitosan tăng tương ứng từ 50%, 75% và 90% [17].



Hình 1. Ảnh hưởng của loại chitosan tới quá trình bao gói dầu gấc

3.2. Ảnh hưởng của độ deacetyl tới kích thước và hình dạng của hạt vi nang dầu gấc - chitosan

Kích thước và hình dạng là đặc tính quan trọng có ảnh hưởng tới cảm quan, khả năng vón cục cũng như độ chảy của khối hạt [18]. Hạt vi nang dầu gấc - chitosan được đánh giá kích thước và hình dạng bao gồm độ tròn và mật độ khối của hạt (Hình 2).



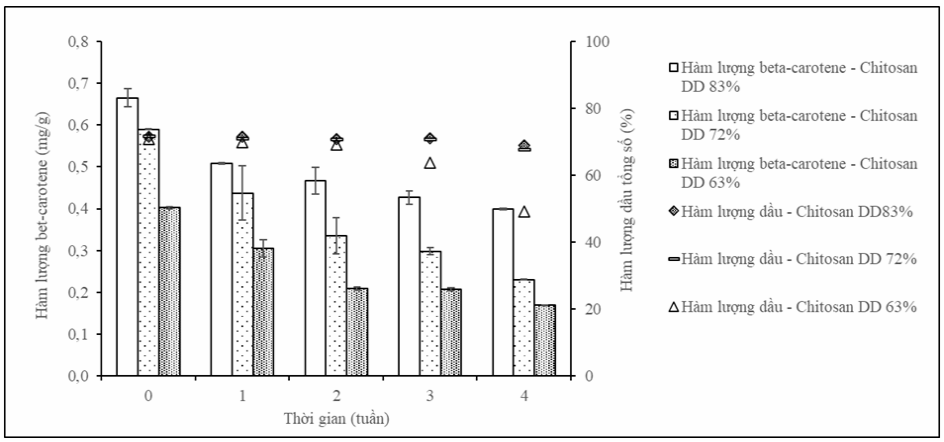
Hình 2. Tính chất vật lý của hạt dầu gấc - chitosan

Kết quả cho thấy, các hạt vi nang dầu gấc - chitosan có hình dạng tương tự nhau với độ tròn thấp (0,852 - 0,867) đối với cả 3 loại chitosan khảo sát. Tuy nhiên, kích thước hạt tăng theo độ deacetyl trong khi mật độ khối của hạt giảm. Hạt vi nang tạo thành với chitosan DD 63 có kích thước 144 ± 3 µm, nhỏ hơn 8,5% so với hạt vi nang tạo thành với DD 83 với kích thước tương ứng 158 ± 3 µm; đồng thời mật độ khối của hạt chitosan DD 63 đạt 0,478 ± 0,03 g/ml, thấp hơn 3,4% so với mật độ khối của hạt chitosan DD 83. Kết quả tương tự được báo cáo trong nghiên cứu của Gupta và cs (2006) khi tăng độ deacetyl từ 62 - 75%, kích thước hạt chitosan có thể tăng từ 119 - 132 µm [14]. Trong quá trình rơi của giọt chất lỏng, hình dạng giọt có thể thay đổi từ dạng giọt nước sang

hình trứng trước khi chuyển sang hình cầu, phụ thuộc theo chiều cao của đầu nhỏ giọt. Bên cạnh đó, hình dạng của hạt (sau khi giọt chất lỏng (chitosan) tiếp xúc với dung dịch chất tạo gel (dung dịch kiềm) lại phụ thuộc vào cả chiều cao đầu nhỏ giọt, độ nhớt của chất lỏng, tỷ trọng chất lỏng, kích thước giọt cũng như sức căng bề mặt; trong khi kích thước hạt phụ thuộc vào đường kính đầu nhỏ giọt và độ co của hạt khi tạo gel [19]. Do đó, cần có nghiên cứu sâu hơn để đánh giá hoặc thiết lập mô hình dự đoán kích thước và hình dạng hạt vi nang dầu gấc - chitosan.

3.3. Ảnh hưởng của độ deacetyl tới hàm lượng dầu và hàm lượng beta-caroten trong hạt vi nang dầu gấc - chitosan theo thời gian bảo quản

Độ ổn định của vi nang dầu gấc - chitosan được đánh giá qua biến đổi độ ẩm, hàm lượng dầu và hàm lượng beta-caroten trong hạt trong 4 tuần. Hạt vi nang được bảo quản ở nhiệt độ phòng (30 ± 2°C) trong túi zip PE và tránh sáng.



Hình 3. Biến đổi hàm lượng beta-caroten và hàm lượng dầu trong hạt vi nang dầu gấc - chitosan theo thời gian bảo quản

Độ deacetyl của chitosan không ảnh hưởng tới độ ẩm ban đầu của hạt (9,5 - 10%). Trong quá trình bảo quản, hạt có xu hướng hút ẩm trở lại, tùy theo độ deacetyl của chitosan. Hạt vi nang chitosan DD 83 có độ ẩm ổn định, đạt 10,5 ± 0% sau 4 tuần bảo quản. Đối với chitosan DD 72 và chitosan DD 63, độ ẩm hạt sau 4 tuần tăng lên lần lượt là 12,3 ± 0,4% và 13,3 ± 0,4%. Độ deacetyl có ảnh hưởng tới khả năng hút nước của chitosan. Chitosan có độ deacetyl thấp có khả năng hút nước cao hơn chitosan có độ deacetyl cao. Chitosan DD 75 có khả năng hút nước cao hơn 1,7 lần so với chitosan DD 87% [20].

Hàm lượng dầu trong hạt vi nang tạo thành với chitosan có độ deacetyl trung bình (DD 72) tới cao (DD 83) ổn định trong thời gian theo dõi. Tỷ lệ dầu còn lại sau 4 tuần đạt 94,6 - 96,3%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Đối với mẫu chitosan có độ deacetyl thấp (DD 63), tỷ lệ dầu còn lại ổn định trong 3 tuần đầu và giảm đáng kể ở tuần thứ 4, còn 69,5%. Theo Trung và cs (2006), khả năng giữ dầu của chitosan giảm theo độ deacetyl [20]. Chitosan có độ deacetyl cao mang nhiều nhóm chức cation hơn và do đó có ái lực cao hơn đối với các hợp chất màu anion và chất béo. Kết quả tương tự cũng được ghi nhận khi đánh giá tính chất chitosan thương mại với độ deacetyl khác nhau. Cụ thể, đối với chitosan DD 83, khả năng giữ dầu là 662 ± 16% và giảm xuống 506 ± 43% đối với chitosan DD 72,5 [21].

Hàm lượng beta-caroten trong hạt vi nang dầu gấc - chitosan giảm dần theo thời gian bảo quản đối với cả 3 loại chitosan sử dụng (Hình 3). Tuy nhiên, hàm lượng beta-caroten trong hạt vi nang chitosan DD 83 có mức độ ổn định cao hơn so với chitosan DD 72 và DD 63. Sau 4 tuần, hàm lượng beta-caroten còn lại trong hạt chitosan DD 83 là 60,0 ± 2,1%, trong khi hàm lượng beta-caroten còn lại trong hạt chitosan DD 72 và DD 63 khác nhau không có ý nghĩa thống kê, lần lượt là 39,2 ± 0,1% và 42,3 ± 0,36%. Sự khác biệt về độ ổn định của beta-caroten trong quá trình bảo quản có thể giải

thích dựa trên khả năng chống oxy hóa của chitosan phụ thuộc vào độ deacetyl. Khả năng này được giải thích dựa trên cấu trúc phân tử chitosan có các nhóm amin và nhóm hydroxyl [22]. Khi tăng độ deacetyl, số lượng nhóm amin trong phân tử chitosan tăng lên, điều này có thể giải thích cho khả năng chống oxy hóa của chitosan tăng theo độ deacetyl [23]. Mức độ ổn định của beta-caroten trong hạt vi nang dầu gấc - chitosan trong nghiên cứu này thấp hơn so với các nghiên cứu đã được công bố trước đó khi bao gói dầu gấc bằng alginate theo phương pháp nhỏ giọt [6] cũng như bằng whey và gôm arabic theo phương pháp sấy phun [24].

4. KẾT LUẬN

Chitosan có độ deacetyl trong khoảng 63 - 83% có thể được sử dụng để tạo vi nang dầu gấc - chitosan bằng phương pháp nhỏ giọt trong môi trường kiềm. Độ deacetyl của chitosan không thể hiện sự ảnh hưởng tới hiệu quả bao gói dầu trong khi hiệu suất bao gói dầu giảm khi độ deacetyl tăng. Bên cạnh đó, hàm lượng beta-carotene tăng theo độ deacetyl của chitosan, đồng thời, độ ổn định về hàm lượng dầu, hàm lượng beta - carotene cũng như độ ẩm của hạt chitosan tăng khi độ deacetyl tăng lên. Ảnh hưởng của độ deacetyl tới hình dạng và kích thước hạt thể hiện không rõ ràng và cần được nghiên cứu sâu hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chuyen, H. V., *et al.* (2015). Gac fruit (Momordica cochinchinensis Spreng.): A rich source of bioactive compounds and its potential health benefits. I*nternational Journal of Food Science & Technology*, 50 (3), p. 567 - 577.

2. Nhung, D. T. T., *et al.* (2010). *Changes in lycopene and beta carotene contents in aril and oil of gac fruit during storage.* Food Chemistry, 121 (2), p. 326 - 331.

3. Poncelet, D., e*t al.* (2007). *Introduction aux techniques de microencapsulation. Microencapsulation: des sciences aux technologies.* T. F. Vandamme, D. Poncelet, and P. Subra-Paternault, Editors, Lavoisier: Paris. p. 3 - 9.

4. Kha, T. C., *et al.* (2014). *Microencapsulation of Gac Oil by Spray Drying: Optimization of Wall Material Concentration and Oil Load Using Response Surface Methodology.* Drying Technology, 32 (4), p. 385 - 397.

5. Tran, H. D., *et al.* (2013). Effect of carrageenan addition in encapsulation of gac oil using gelatin gelation method. *Journal of fisheries science and technology*, p. 58 - 62.

6. Ta, T. M. N., H. D. Tran, and T. K. Huynh (2022). Encapsulation of Gac oil in alginate bead by dripping method. *VNUHCM Journal of Engineering and Technology,* 5 (1), p. 1392 - 1399.

7. Ta, T. M. N., H. D. Tran, and V. T. Tran (2016). Microencapsulation of gac oil in chitosan bead. *Journal of Science and Technology*, 54, p. 451 - 457.

8. Da Rosa, C. G., *et al.* (2013). *Microencapsulation of gallic acid in chitosan, β-cyclodextrin and xanthan.* Industrial Crops and Products, 46, p. 138 - 146.

9. Weerakody, R., P. Fagan, and S. L. Kosaraju (2008). Chitosan microspheres for encapsulation of α-lipoic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 357 (1), p. 213 - 218.

10. Qu, B. and Y. Luo (2020). Chitosan-based hydrogel beads: Preparations, modifications and applications in food and agriculture sectors – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, p. 437 - 448.

11. Aranaz, I., *et al.* (2021). *Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications.* Polymers (Basel), 13 (19).

12. Rinaudo, M. (2006). *Chitin and chitosan: Properties and applications.* Progress in Polymer Science, 31 (7), p. 603 - 632.

13. Sorlier, P., *et al.* (2001). *Relation between the degree of acetylation and the electrostatic properties of chitin and chitosan.* Biomacromolecules, 2 (3), p. 765 - 72.

14. Gupta, K. C. and F. H. Jabrail (2006). *Effects of degree of deacetylation and cross-linking on physical characteristics, swelling and release behavior of chitosan microspheres.* Carbohydrate Polymers, 66 (1), p. 43 - 54.

15. The Ministry Of Health. L.a.W. (2021). *Powder property determinations. The Japanese pharmacopoeia - Eighteenth edition*, p. 108 - 124.

16. Hussain, M. R., M. Iman, and T. K. Maji (2013). Determination of Degree of Deacetylation of Chitosan and Their effect on the Release Behavior of Essential Oil from Chitosan and

Chitosan - Gelatin Complex Microcapsules. *International Journal of Advanced Engineering Applications,* 2 (4), p. 4 - 12.

17. Park, P. J., J. Y. Je, and S. K. Kim (2004). *Free radical scavenging activities of differently deacetylated chitosans using an ESR spectrometer.* Carbohydrate Polymers, 55 (1), p. 17 - 22.

18. Huck, D. (2007). *Image analysis coupled with classification - A powerful combination for the study of agglomeration.* Powder Handling and Processing, 19 (1), p. 42 - 44.

19. Chan, E. S., *et al.* (2009). Prediction models for shape and size of ca-alginate macrobeads produced through extrusion - dripping method. *Journal of Colloid and Interface Science,* 338 (1), p. 63 - 72.

20. Trung, T. S., *et al.* (2006). *Functional characteristics of shrimp chitosan and its membranes as affected by the degree of deacetylation.* Bioresource Technology, 97 (4), p. 659 - 663.

21. Cho, Y. I., H. K. No and S. P. Meyers (1998). Physicochemical Characteristics and Functional Properties of Various Commercial Chitin and Chitosan Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 46 (9), p. 3839 - 3843.

22. Wei, L., *et al.* (2019). *The antioxidant and antifungal activity of chitosan derivatives bearing Schiff bases and quaternary ammonium salts.* Carbohydrate Polymers, 226, p. 115256.

23. Abd El-Hack, M. E., *et al.* (2020). Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, p. 2726 - 2744.

24. Kha, T. C., *et al.* (2015). *A storage study of encapsulated gac (Momordica cochinchinensis) oil powder and its fortification into foods.* Food and Bioproducts Processing, 96, p. 113 - 125.

EFFECT OF CHITOSAN'S DEACETYLATION DEGREE ON *Momordica cochinchinensis* (GAC) OIL ENCAPSULATION IN CHITOSAN BEAD BY DRIPPING METHOD

Ta Thi Minh Ngoc, Nguyen Thi Hoai Tram

Summary

Momordica cochinchinensis Lour. (Gac) oil contains many valuable active ingredients for human health. Daily use of *Momordica cochinchinensis* Lour. oil can help to prevent many diseases including cancer. However, these valuable compounds are sensible with environmental stresses. This fact limits uses of *Momordica cochinchinensis* Lour. (Gac) oil in the food industry. Encapsulating *Momordica cochinchinensis* Lour. oil in chitosan bead may help to overcome this challenge. In this study, chitosan with different deacetylation degree was used to encapsulate Gac oil using dripping method. The effect of deacetylation on the microencapsulation process was evaluated through encapsulation efficiency, beads properties and the stability of beta-carotene in chitosan bead over the storage time. The decaetylation degree of chitosan did not have significant effect on the encapsulation efficiency. However, the protective effect on beta-carotene content in Gac oil increased with the chitosan's deacetylation. With the deacetylation degree of 83%, the encapsulation efficiency was 59.2 ± 1.5%. Beta-carotene content in bead formed with chitosan DD 83 was 0.67 ± 0.02 mg/g dw, as 1.5-folds in compare with chitosan DD 72 and 1.7-folds in compare with chitosan DD 63. *Momordica cochinchinensis* Lour. (Gac) oil – chitosan beads' moisture were 9.5-10.5%. Beta-carotene content in beads formed with chitosan DD 83 remained 60% after 4 weeks at room temperature.

Keywords: *Chitosan, dripping method, encapsulation, Momordica cochinchinensis Lour. (Gac) oil.*

Người phản biện: PGS.TS. Vũ Thu Trang
Ngày nhận bài: 20/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 17/4/2023
Ngày duyệt đăng: 24/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐỘ CHÍN NGUYÊN LIỆU ĐẾN CHẤT LƯỢNG TRÁI CÂY SẤY DẺO ĐỊNH HÌNH

Trần Thanh Trúc[1], Tống Thị Quý[2,*],
Trần Hà Đông Quân[2], Nguyễn Hoàng Nhu[2]

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu xác định được độ chín thích hợp của nguyên liệu để chế biến các sản phẩm trái cây sấy dẻo định hình (fruit leather) từ xoài Cát Hòa Lộc (*Mangifera indica* L.), chuối Xiêm (*Musa paradisiaca* L.), thanh long ruột đỏ (*Hylocereus costaricensis*), đu đủ ruột đỏ (*Carica papaya*) và mãng cầu gai (*Annona muricata* L.). Độ chín được xác định dựa trên độ Brix ban đầu của quả, kết quả được đánh giá dựa trên sự thay đổi về hiệu suất thu hồi, màu sắc, đặc tính cấu trúc, độ hoạt động của nước, các tính chất hóa lý cơ bản của sản phẩm và chỉ tiêu cảm quan. Kết quả phân tích và đo đạc cho thấy, xoài Cát Hòa Lộc đạt độ chín 22-24°Bx, màu vàng có đốm xanh; chuối xiêm đạt độ chín 20-22°Bx, màu vàng xanh; thanh long ruột đỏ đạt độ chín 10-13°Bx, màu hồng, còn màu xanh trên vỏ quả, gai tươi còn xanh, thịt quả mềm; mãng cầu gai đạt độ chín 10-12°Bx, màu xanh hoàn toàn, thịt quả mềm; đu đủ ruột đỏ đạt độ chín 12-14°Bx, màu vàng còn sọc xanh trên vỏ quả, phù hợp để chế biến sản phẩm trái cây sấy dẻo định hình. Sản phẩm chế biến đạt các đặc tính tốt về màu sắc, tính chất hóa lý, hiệu suất thu hồi sản phẩm và giá trị cảm quan cao, được sự chấp nhận của người tiêu dùng.

Từ khóa: *Độ chín, độ Brix, hiệu suất thu hồi, sấy dẻo định hình, màu sắc.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trái cây sấy dẻo định hình, còn được gọi là thanh trái cây hoặc miếng trái cây, là một sản phẩm ăn kiêng làm từ trái cây đã khử nước, được dùng làm đồ ăn nhẹ hoặc tráng miệng [1]. Sản phẩm dai và ngon, ít chất béo tự nhiên, nhiều chất xơ và hidrat cacbon; đồng thời, sản phẩm có khối lượng nhỏ nên dễ dàng dự trữ và đóng gói [2]. Nghiên cứu về trái cây sấy dẻo định hình bắt đầu vào những năm 1970, hầu hết các loại trái cây sấy dẻo định hình được chế biến bằng cách trộn purée trái cây với các chất phụ gia như: đường, pectin, axit đường glucoza, màu thực phẩm, kali metabisunfit rồi khử nước trong các điều kiện cụ thể [3]. Phân loại sơ bộ trái cây sấy dẻo định hình vào nhóm sản phẩm trái cây tái cấu trúc, có thể được chế biến từ trái cây tươi, purée trái cây, hoặc hỗn hợp nước ép trái cây cô đặc và các thành phần khác [4], [5]. Trái cây sấy dẻo định hình làm từ purée trái cây được khách hàng chấp nhận cả về chất dinh dưỡng và về mặt cảm quan [6].

Hầu hết các loại trái cây tươi có mùa thu hoạch ngắn và rất dễ bị hư hỏng, ngay cả khi được bảo quản trong điều kiện lạnh. Do đó, chế biến trái cây sấy dẻo định hình từ trái cây tươi là một phương pháp hiệu quả để bảo quản [5]. Nghiên cứu của Gujral và Brar (2003) [6] đã thêm đường và pectin vào xoài sấy dẻo định hình. Chan và Cavaletto (1978) [7] đã làm đu đủ sấy dẻo định hình bằng đường sucroza và natri bisunfit ($NaHSO_3$). Các chất phụ gia khác nhau có thể được sử dụng, chẳng hạn như: glucoza, natri metabisunfit và axit sorbic, tùy thuộc vào loại trái cây nguyên liệu dùng để sản xuất [8-10]. Từ các kết quả nghiên cứu này đã cho thấy, trong khảo sát quá trình chế biến sản phẩm trái cây sấy đẻo định hình (fruit leather), các yếu tố về quá trình chế biến và phụ gia được quan tâm nhiều hơn, trong khi đó độ chín của nguyên liệu ban đầu mang tính chất quyết định đến chất lượng sản phẩm. Tuy nhiên, vai trò của độ chín nguyên liệu vẫn chưa được khảo sát. Nghiên cứu này nhằm xác

[1] Khoa Sau đại học, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Vườn ươm Công nghệ công nghiệp Việt Nam - Hàn Quốc
[*] Email: ttquy9291@gmail.com

định độ chín nguyên liệu thích hợp nhất để chế biến trái cây sấy dẻo định hình, thống nhất nguồn nguyên liệu cho quá trình chế biến gồm xoài Cát Hòa Lộc, chuối Xiêm, thanh long ruột đỏ, mãng cầu gai và đu đủ ruột đỏ.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Nguyên liệu trái cây khi đạt độ chín thu hoạch được thu mua tại các vựa trái cây gồm xoài Cát Hòa Lộc (*Mangifera indica* L.), chuối Xiêm (*Musa paradisiaca* L.), thanh long ruột đỏ (*Hylocereus costaricensis*), đu đủ ruột đỏ (*Carica papaya*) và mãng cầu gai (*Annona muricata* L.). Các nguyên liệu được đóng trong thùng xốp có giấy gói, vận chuyển về phòng thí nghiệm với thời gian trung bình 1 giờ. Đến phòng thí nghiệm, nguyên liệu được mở thùng và để ổn định, nhiệt độ phòng đạt khoảng 25°C, làm chín tự nhiên đến độ brix phù hợp cho quá trình chế biến.

2.2. Mục đích

Xác định độ chín thích hợp cho 5 loại trái cây nguyên liệu để chế biến trái cây sấy dẻo định hình, giúp sản phẩm có chất lượng cảm quan tốt, đồng nhất nguồn nguyên liệu trong quá trình chế biến.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được thực hiện với 1 nhân tố và 3 lần lặp lại; nhân tố: độ chín nguyên liệu (°Bx), thay đổi ở 2 mức độ với 5 loại nguyên liệu.

Tổng số nghiệm thức: 2 mức độ x 5 loại nguyên liệu = 10 nghiệm thức; số mẫu thí nghiệm: 10 nghiệm thức x 3 lần lặp lại = 30 mẫu; định mức nguyên liệu cho thịt quả thí nghiệm là 1,5.

Khối lượng thịt quả: 1 kg thịt quả/mẫu x 30 mẫu x 1,5 = 45 kg.

Trái cây nguyên liệu được phân loại thành 2 mức độ chín: xoài Cát Hòa Lộc 22 - 26°Bx; chuối Xiêm 20 - 24°Bx; mãng cầu gai 10 - 14°Bx; thanh long ruột đỏ 10 - 16°Bx; đu đủ ruột đỏ 12-16°Bx. Tiến hành gọt vỏ, tách hạt và thịt quả đối với xoài, mãng cầu và đu đủ; gọt vỏ và tách thịt đối với chuối và thanh long, cân xác định tỷ lệ các phần thịt quả, vỏ, hạt (%). Thịt quả được đo đạc các chỉ tiêu: độ ẩm (%), a_w, màu sắc (L*, a*, b*), cấu trúc (g lực/mm độ dày), hàm lượng vitamin C (mg%), đường khử (%), muối NaCl (%) và axit (%).

Phần thịt quả sau khi tách ra được cắt miếng dày 4 - 5 mm. Chần thịt quả ở 80 ± 2°C, 2 phút (tỷ lệ thịt quả: nước chần = 1 : 2 w/w), vớt ra để ráo. Nghiền nhuyễn bằng máy nghiền để thu purée quả. Cô đặc hỗn hợp ở nhiệt độ 80°C đến độ Brix thích hợp (khoảng 30°Bx). Phối trộn với 5% đường sucroza (Việt Nam), 3% glyxerin (Việt Nam), 0,1% axit xitric (Việt Nam) và 0,5% pectin (Việt Nam). Để ổn định ở nhiệt độ mát (dưới 14°C) trong thời gian 30 phút, tráng mỏng trên khay inox có đục lỗ, có lót giấy nến, độ dày 3 - 5 mm. Các khay sấy được đưa vào tủ sấy nhiệt ở nhiệt độ 50±2°C, dừng quá trình sấy khi đạt độ ẩm 12 -15%. Sản phẩm sau đó được phân tích các chỉ tiêu: độ ẩm (%), a_w, màu sắc (L*, a*, b*), cấu trúc (g lực/mm độ dày), hàm lượng vitamin C (mg%), đường khử (%), muối NaCl (%) và axit (%).

Phương pháp đánh giá cảm quan: Đánh giá mức độ ưa thích đối với sản phẩm theo thang điểm Hedonic.

Hiệu suất thu hồi tổng thể (% so với nguyên liệu ban đầu): Dựa trên công thức cơ bản H (%) = M*100/Mo. Trong đó: Mo (g) là khối lượng ban đầu, M (g) là khối lượng sản phẩm sau các công đoạn xử lý.

Kết quả được tính toán thống kê, phương pháp phân tích phương sai ANOVA theo kiểm định LSD để kết luận về sự khác biệt giữa trung bình các nghiệm thức. Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Statgraphics Centurion 19.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của độ chín của xoài Cát Hòa Lộc đến chất lượng sản phẩm

Đặc tính nguyên liệu ảnh hưởng đáng kể đến sản phẩm đặc biệt là độ chín. Độ chín càng tăng, thịt quả càng mềm, lượng dịch quả quá trình chín, tích lũy chất dinh dưỡng mang lại sự mềm mại cho thịt quả [11]. Sự thay đổi màu sắc của nguyên liệu là kết quả chung của quá trình thoái hóa của sắc tố chlorophyll và sự thể hiện rõ ràng hơn của các nhóm sắc tố khác, mà chủ yếu là nhóm sắc tố carotenoit [3]. Bên cạnh đó, các tính chất khác ở

độ chín khác nhau của xoài cũng ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1 cho thấy, xoài ở độ chín 1 có độ sáng tốt hơn, màu vàng đậm hơn nên có các giá trị L*, a* và b* cao hơn xoài ở độ chín 2. Độ chín của xoài ảnh hưởng đáng kể đến cấu trúc bởi xoài chín vàng, còn màu xanh có thịt quả cứng chắc hơn so với xoài chín vàng hoàn toàn, xoài của độ chín 1 đạt độ chín sinh lý nhiều hơn nên thịt quả mềm hơn, nên có giá trị cấu trúc thấp hơn. Xoài chín vàng hoàn toàn có hàm lượng axit thấp hơn (3,26%), hàm lượng đường khử cao hơn (45,53%), hàm lượng vitamin C cao hơn (96,02 mg/100 g thịt quả) so với xoài chín vàng còn đốm xanh. Trong quá trình chín sinh lý, trái xoài tiếp tục hô hấp nên làm tổn thất vitamin C, đồng thời hàm lượng chất khô hòa tan được chuyển thành đường khử, hàm lượng axit giảm dần nên xoài có vị ngọt hơn và ít chua hơn. Hàm lượng muối không có sự thay đổi nhiều trong quá trình chín.

Bảng 1. Tính chất của thịt quả và sản phẩm ở hai độ chín khác nhau

Thông số	Độ chín 1 (24-26°Bx)		Độ chín 2 (22-24°Bx)	
	Thịt quả	Sản phẩm	Thịt quả	Sản phẩm
L*	43,70±1,07^b	35,70±0,79^a	40,50±1,15^a	38,51±0,98^b
a*	12,78±1,08^b	12,78±1,08^b	9,95±0,77^a	10,62±0,69^a
b*	28,27±1,70^b	28,27±1,70^b	20,49±0,48^a	24,15±1,00^a
Độ ẩm (%)	65,28±0,80^b	12,41±0,30^a	63,35±0,33^a	12,61±0,25^a
a_w	0,95±0,01^a	0,64±0,03^a	0,93±0,01^a	0,65±0,04^a
Cấu trúc (g lực/mm)	11,58±0,35^a	390,80±5,40^a	18,54±0,43^b	404,17±0,05^b
Axit tổng (% cbk)	3,26±0,07^a	1,48±0,03^a	3,47±0,04^b	1,66±0,06^b
Muối tổng (% cbk)	0,46±0,03^a	0,21±0,01^a	0,46±0,02^a	0,22±0,01^a
Đường khử (% cbk)	45,53±0,93^b	37,10±0,68^b	41,33±0,60^a	34,82±0,48^a
Vitamin C (mg/100 g thịt quả)	96,02±0,68^b	18,91±0,63^a	94,54±0,60^a	21,55±0,35^b
Hiệu suất thu hồi (%)	67,82±0,28^a	16,87±0,32^a	70,71±0,13^b	20,57±0,51^b
Mức độ ưa thích	-	6,39±0,35^a	-	7,57±0,40^b

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng của thịt quả hoặc sản phẩm biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát theo kiểm định LSD ở độ tin cậy 95%.

Đặc tính của độ chín nguyên liệu ảnh hưởng đến các đặc tính của sản phẩm. Sản phẩm ở độ chín 2 có độ sáng tốt, màu vàng sáng đặc trưng của xoài nguyên liệu. Trong khi đó, xoài ở độ chín 1 cho sản phẩm có độ sáng kém hơn, màu vàng nâu sậm hơn nên có giá trị a* và b* cao hơn. Trong quá trình chế biến, sản phẩm trải qua các công đoạn xử lý nhiệt như chần, cô đặc, sấy nên sản phẩm có xu hướng bị sậm màu do các phản ứng tạo màu không enzim như maillard, caramel [3]. Sản phẩm xoài sấy dẻo định hình được sấy ở nhiệt độ 50±2°C đến khi đạt độ ẩm thích hợp (12-15%), sản phẩm có giá trị a_w dao động từ 0,64-0,65, đạt TCVN 4843: 2007 cho sản phẩm trái cây sấy dẻo. Sản phẩm ở độ chín 1 có cấu trúc thấp hơn (390,80 g lực/mm), sản phẩm mềm, dẻo, bị dính nhiều; sản phẩm ở độ chín 2 có cấu trúc vừa phải, độ mềm dẻo phù hợp với sản phẩm sấy dẻo định hình, sản phẩm không quá dính, rất dễ để tạo hình. Sản phẩm xoài sấy deri định hình ở độ chín 2

có hàm lượng axit và vitamin C cao hơn ở độ chín 1 (tương đương 1,48 và 18,91), hàm lượng đường khử thấp hơn, đạt 34,82%. Hàm lượng vitamin C có sự giảm mạnh so với nguyên liệu ban đầu do thất thoát trong quá trình chế biến. Hàm lượng vitamin C được đánh giá dựa vào hàm lượng axit ascobic (AA) và dạng oxy hóa (DHAA), nhiều nghiên cứu cho thấy, AA nhạy cảm với nhiệt, dễ dàng bị phá hủy trong chế biến và bảo quản thực phẩm [12], [13]. Hàm lượng đường khử có sự tăng mạnh ở sản phẩm do sự mất nước trong quá trình chế biến, độ ẩm sản phẩm giảm mạnh từ 65% xuống 12% làm hàm lượng chất khô tăng lên. Sản phẩm ở độ chín 2 có hiệu suất thu hồi sản phẩm cao hơn độ chín 1, tương đương 20,57% và 16,87%. Kết quả này là phù hợp do hiệu suất thu hồi thịt quả ban đầu ở độ chín 2 cao hơn độ chín 1, cả 2 mẫu đều được chế biến ở cùng điều kiện và dừng ở cùng độ ẩm. Sản phẩm được chế biến theo độ chín 2 được ưa thích hơn nhờ màu vàng sáng, mùi thơm đặc trưng, dẻo dai vừa phải và ít dính hơn mẫu còn lại.

3.2. Ảnh hưởng của độ chín của chuối Xiêm đến chất lượng sản phẩm

Bảng 2. Tính chất của thịt quả chuối Xiêm và sản phẩm ở hai độ chín khác nhau

Thông số	Độ chín 1 (22-24°Bx)		Độ chín 2 (20-22°Bx)	
	Thịt quả	Sản phẩm	Thịt quả	Sản phẩm
L*	58,81±1,00^{a}	35,70±1,01^{a}	62,95±0,72^{b}	38,50±1,16^{b}
a*	3,98±0,12^{b}	7,78±0,27^{b}	2,44±0,20^{a}	6,62±0,35^{a}
b*	33,03±0,82^{b}	26,27±0,74^{b}	27,29±0,53^{a}	22,49±0,63^{a}
Độ ẩm (%)	68,58±0,75^{b}	9,41±0,30^{a}	66,24±0,93^{a}	9,16±0,12^{a}
a_w	0,95±0,01^{a}	0,54±0,03^{a}	0,94±0,01^{a}	0,53±0,04^{a}
Cấu trúc (g lực/ mm)	9,57±0,80^{a}	90,10±0,66^{a}	12,24±0,62^{b}	102,46±0,50^{b}
Axit tổng (% cbk)	0,89±0,02^{a}	0,91±0,08^{a}	0,97±0,07^{a}	2,18±0,09^{b}
Muối tổng (% cbk)	2,27±0,10^{a}	0,64±0,01^{a}	2,10±0,05^{a}	0,74±0,02^{b}
Đường khử (% cbk)	82,14±2,68^{b}	42,50±0,67^{b}	65,68±2,04^{a}	40,11±0,46^{a}
Vitamin C (mg/100 g thịt quả)	2,02±0,07^{a}	0,29±0,04^{a}	2,12±0,07^{a}	0,38±0,03^{a}
Hiệu suất thu hồi (%)	84,84±2,83^{b}	49,87±0,32^{a}	78,15±2,15^{a}	53,42±0,37^{b}
Mức độ ưa thích	-	6,49±0,26^{a}	-	7,63±0,15^{b}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng của thịt quả hoặc sản phẩm biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát theo kiểm định LSD ở độ tin cậy 95%.

Chuối Xiêm ở độ chín 1 có hiệu suất thu hồi thịt quả nhiều hơn độ chín 2. Vỏ quả ở độ chín 2 còn tươi, nhiều ẩm nên có khối lượng nhiều hơn vỏ quả ở độ chín 1, đã khô héo và mất ẩm một phần. Giá trị độ sáng L* giảm dần, độ màu a* và b* tăng dần từ độ chín 1 đến độ chín 2. Sự thay đổi màu sắc của quả chuối là kết quả chung của quá trình thoái hóa của sắc tố chlorophyll và sự thể hiện rõ ràng hơn của các nhóm sắc tố khác [13]. Chuối ở độ chín 1 có độ sáng tương đối, màu vàng đậm hơn và ít màu xanh hơn nên có các giá trị L* thấp hơn, a* và b* cao hơn chuối ở độ chín 2. Độ chín của

chuối ảnh hưởng đáng kể đến cấu trúc bởi chuối chín vàng còn màu xanh có thịt quả cứng chắc hơn so với chuối chín vàng hoàn toàn. Sự thủy phân của pectin trong quá trình chín đã làm ảnh hưởng đáng kể đến cấu trúc thịt quả [13], chuối ở độ chín 1 đạt độ chín sinh lý nhiều hơn nên thịt quả mềm hơn nên có giá trị cấu trúc thấp hơn. Chuối chín vàng hoàn toàn có hàm lượng axit thấp hơn (0,89%), hàm lượng đường khử cao hơn (82,14%), hàm lượng vitamin C thấp hơn (2,02 mg/100 g thịt quả) so với chuối chín vàng còn đốm xanh. Trong quá trình chín sinh lý, trái chuối Xiêm tiếp tục hô hấp nên làm tổn thất hàm lượng vitamin C, đồng thời hàm lượng chất khô hòa tan được chuyển thành đường khử, hàm lượng axit giảm dần nên chuối có vị ngọt hơn và ít chua hơn.

Sản phẩm chuối Xiêm sấy dẻo định hình ở độ chín 2 có độ sáng tốt, màu trắng ngà đặc trưng của chuối nguyên liệu. Chuối sấy dẻo định hình ở độ chín 1 có độ sáng kém hơn, màu vàng nâu sậm hơn nên có giá trị a* và b* cao hơn. Chuối ở độ chín 1 có hàm lượng đường khử cao hơn cũng là nguyên nhân làm cho màu sắc sản phẩm sậm hơn so với chuối ở độ chín 2. Sản phẩm chuối sấy dẻo định hình được sấy ở nhiệt độ 50±2°C đến khi đạt độ ẩm thích hợp (9 -10%), sản phẩm có giá trị a_w dao động từ 0,53 - 0,54, đạt TCVN 4843: 2007 cho sản phẩm trái cây sấy dẻo. Sản phẩm chế biến từ chuối ở độ chín 1 có cấu trúc thấp hơn, sản phẩm mềm, dẻo, bị dính nhiều; sản phẩm chế biến từ chuối ở độ chín 2 có cấu trúc vừa phải, độ mềm dẻo phù hợp với sản phẩm sấy dẻo định hình, không quá dính, dễ tạo hình. Sản phẩm ở độ chín 2 có hàm lượng axit và vitamin C cao hơn ở độ chín 1, hàm lượng đường khử thấp hơn đạt 40,11%. Hàm lượng vitamin C có xu hướng giảm so với nguyên liệu ban đầu do thất thoát trong quá trình chế biến. Hàm lượng đường khử có sự tăng mạnh ở sản phẩm do sự mất nước trong quá trình chế biến, độ ẩm sản phẩm giảm mạnh từ khoảng 69% xuống 9% làm hàm lượng chất khô tăng lên. Chuối ở độ chín 2 có hiệu suất thu hồi sản phẩm cao hơn độ chín 1, tương đương 53,42% và 49,87%. Sản phẩm được chế biến theo độ chín 2 được ưa thích hơn nhờ màu vàng sáng, mùi thơm đặc trưng, dẻo dai vừa phải và ít dính hơn mẫu còn lại.

3.3. Ảnh hưởng của độ chín của thanh long ruột đỏ đến chất lượng sản phẩm

Bảng 3. Tính chất của thịt quả thanh long ruột đỏ và sản phẩm ở hai độ chín khác nhau

Thông số	Độ chín 1 (13-16°Bx)		Độ chín 2 (10-13°Bx)	
	Thịt quả	Sản phẩm	Thịt quả	Sản phẩm
L*	42,31±1,20[a]	18,61±0,54[a]	45,26±1,09[b]	21,19±0,73[b]
a*	46,78±0,33[b]	37,14±1,03[b]	38,21±0,29[a]	31,24±1,09[a]
b*	-0,24±0,12[b]	7,26±0,40[b]	-3,94±0,41[a]	6,11±0,48[a]
Độ ẩm (%)	83,31±1,17[a]	10,49±0,14[a]	84,18±1,12[a]	10,84±0,14[b]
a_w	0,90±0,01[a]	0,49±0,01[a]	0,94±0,01[b]	0,49±0,01[a]
Cấu trúc (g lực/ mm)	11,50±0,50[a]	266,33±3,06[a]	13,06±0,91[b]	295,33±3,51[b]
Axit tổng (% cbk)	4,09±0,34[a]	0,86±0,01[a]	4,84±0,66[a]	0,88±0,01[a]
Muối tổng (% cbk)	0,96±0,11[a]	0,53±0,02[a]	1,08±0,14[a]	0,57±0,03[a]
Đường khử (% cbk)	60,85±0,58[b]	45,06±0,68[b]	54,36±0,30[a]	42,62±0,51[a]
Vitamin C (mg/100 g thịt quả)	178,45±0,74[a]	6,49±0,21[a]	215,75±0,95[b]	8,65±0,42[b]
Hiệu suất thu hồi (%)	70,56±0,88[b]	17,15±0,38[b]	65,38±1,18[a]	15,50±0,28[a]
Mức độ ưa thích	-	6,23±0,25[a]	-	7,07±0,31[b]

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng của thịt quả hoặc sản phẩm biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát theo kiểm định LSD ở độ tin cậy 95%.

Độ chín 1 có hiệu suất thu hồi thịt quả cao hơn độ chín 2, tương đương 70,56% và 65,38%. Giá trị độ sáng L* giảm dần, độ màu a* và b* tăng dần từ độ chín 2 đến độ chín 1, trong giai đoạn chín của quả, các quá trình tổng hợp và tích tụ dần các sắc tố đỏ (đặc biệt là sắc tố betaxyanin) làm tăng màu sắc của vỏ khi chín [13], dẫn đến giá trị a* tăng đáng kể (38,21 và 46,78); màu xanh của trái bị giảm

nhiều hoặc không còn do quá trình phá hủy của hợp chất màu chlorophyll. Độ chín của thanh long ảnh hưởng đáng kể đến cấu trúc thịt quả, độ chín 2 cứng hơn độ chín 1. Do trong quá trình chín, protopectin biến đổi thành pectin hòa tan làm cho cấu trúc của độ chín 1 giảm đáng kể. Thanh long chín hoàn toàn có hàm lượng axit thấp hơn (4,09%), hàm lượng đường khử cao hơn (60,85%), hàm lượng vitamin C thấp hơn (178,45 mg%) so với thanh long ở độ chín 2.

Giá trị L* có xu hướng tăng dần, độ màu a* và b* có xu hướng giảm dần từ độ chín 1 đến độ chín 2. Sự chênh lệch về màu sắc giữa sản phẩm và nguyên liệu tương đối cao, nguyên nhân do hoạt động của enzim hóa nâu và sự biến màu của nhóm sắc tố trong thịt quả và phản ứng hóa nâu không enzim xảy ra trong quá trình chế biến [13]. Thanh long ở độ chín 1 có hàm lượng đường khử cao hơn cũng là nguyên nhân làm cho màu sắc sản phẩm sậm hơn so với thanh long ở độ chín 2. Sản phẩm thanh long ruột đỏ có độ ẩm dao động khoảng 10,49 - 10,84% và giá trị a_w vào khoảng 0,49, đạt TCVN 4843: 2007 cho sản phẩm trái cây sấy dẻo. Cấu trúc có sự khác biệt đáng kể, ở độ chín 2, sản phẩm tương đối cứng, dai và dẻo; ở độ chín 1 sản phẩm mềm, dẻo và bị dính nhiều. Sản phẩm ở độ chín 2 có hàm lượng vitamin C cao hơn ở độ chín 1, hàm lượng đường khử thấp hơn đạt 42,62%. Thanh long ở độ chín 2 có hiệu suất thu hồi sản phẩm thấp hơn độ chín 1. Sản phẩm được chế biến theo độ chín 2 được ưa thích hơn nhờ màu hồng sáng, mùi thơm đặc trưng, dẻo dai vừa phải và ít dính hơn mẫu còn lại.

3.4. Ảnh hưởng của độ chín của mãng cầu gai đến chất lượng sản phẩm

Bảng 4. Tính chất của thịt quả mãng cầu gai và sản phẩm ở hai độ chín khác nhau

Thông số	Độ chín 1 (12 - 14°Bx)		Độ chín 2 (10 - 12°Bx)	
	Thịt quả	Sản phẩm	Thịt quả	Sản phẩm
L*	42,48±0,93^a	62,18±0,67^a	46,42±0,62^b	68,52±0,50^b
a*	11,89±0,62^b	8,50±0,30^b	10,21±0,29^a	7,43±0,31^a
b*	23,76±0,80^b	27,26±0,40^b	21,31±0,84^a	24,11±0,48^a
Độ ẩm (%)	84,08±0,25^b	11,62±0,10^a	82,50±0,50^a	11,84±0,14^a
a_w	0,91±0,01^a	0,49±0,01^a	0,88±0,02^a	0,49±0,01^a
Cấu trúc (g lực/mm)	14,03±0,49^a	1.217,33±15,31^a	26,20±0,76^b	1.500,67±21,61^b
Axit tổng (% cbk)	7,83±0,35^a	2,38±0,06^a	10,06±0,10^b	2,46±0,24^a
Muối tổng (% cbk)	1,63±0,04^a	0,31±0,02^a	1,54±0,01^a	0,30±0,05^a
Đường khử (% cbk)	60,10±1,48^b	38,95±0,65^b	48,32±1,81^a	35,96±0,44^a
Vitamin C (mg/100 g thịt quả)	94,77±1,06^a	3,58±0,11^a	100,57±0,89^b	5,08±0,25^b
Hiệu suất thu hồi (%)	69,23±1,06^a	12,48±0,53^a	72,18±0,95^b	14,84±0,50^b
Mức độ ưa thích	-	6,27±0,31^a	-	7,27±0,31^b

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng của thịt quả hoặc sản phẩm biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát theo kiểm định LSD ở độ tin cậy 95%.

Độ chín 1 có hiệu suất thu hồi thịt quả thấp hơn độ chín 2. Ở độ chín 2, nguyên liệu có màu xanh bóng, da quả bắt đầu có những vết màu vàng, thịt quả chắc, cứng, có mùi thơm của mãng cầu gai, độ sáng L* cao hơn và độ màu a* và b* thấp hơn độ chín 1. Độ chín 1 là mãng cầu gai có màu vàng hoàn toàn, đã có những đốm nâu trên vỏ quả, cùi và gai héo, bề mặt nguyên liệu nhăn lại, sần sùi, mùi thơm khá đậm, thịt quả mềm. Độ chín ảnh hưởng đáng kể đến cấu trúc bởi mãng cầu ở độ chín 2 có thịt quả cứng chắc hơn so với mãng cầu ở độ chín 1, nguyên liệu ở độ chín 1 đạt độ chín sinh lý nhiều hơn nên thịt quả mềm hơn và có giá trị cấu trúc thấp hơn. Mãng cầu ở độ chín 1 có

hàm lượng axit thấp hơn (7,83%), hàm lượng đường khử cao hơn (60,10%), hàm lượng vitamin C thấp hơn (94,77 mg/100 g thịt quả) so với mãng cầu ở độ chín 2 với hàm lượng axit đạt 10,06%, đường khử 48,32% và vitamin C 100,57 mg/100 g thịt quả.

Ở độ chín 2 sản phẩm có độ sáng tốt, màu vàng sáng đặc trưng của nguyên liệu. Ở độ chín 1 sản phẩm có độ sáng kém hơn, màu vàng nâu sậm hơn nên có giá trị a* và b* cao hơn. Mãng cầu gai sấy dẻo định hình được sấy ở nhiệt độ 50±2°C đến khi đạt độ ẩm thích hợp (dưới 12%), sản phẩm có giá trị a_w dao động khoảng 0,49, đạt TCVN 4843: 2007 cho sản phẩm trái cây sấy dẻo. Ở độ chín 1 có cấu trúc thấp hơn, sản phẩm mềm, dẻo, bị dính nhiều; ở độ chín 2 có cấu trúc dẻo dai, bề mặt khô ráo, độ mềm dẻo phù hợp với sản phẩm trái cây sấy dẻo định hình, không quá dính, dễ tạo hình. Ở độ chín 2 có hàm lượng axit và vitamin C cao hơn ở độ chín 1, hàm lượng đường khử thấp hơn. Độ chín 2 có hiệu suất thu hồi sản phẩm cao hơn độ chín 1. Kết quả này là phù hợp do hiệu suất thu hồi thịt quả ban đầu cao hơn, cả 2 mẫu đều được chế biến ở cùng điều kiện và dừng ở cùng độ ẩm. Sản phẩm ở độ chín 2 được ưa thích hơn nhờ màu vàng sáng, mùi thơm đặc trưng, dẻo dai vừa phải và ít dính hơn.

3.5. Ảnh hưởng của độ chín của đu đủ đến chất lượng sản phẩm

Bảng 5. Tính chất của thịt quả đu đủ và sản phẩm ở hai độ chín khác nhau

Thông số	Độ chín 1 (14-16°Bx)		Độ chín 2 (12-14°Bx)	
	Thịt quả	Sản phẩm	Thịt quả	Sản phẩm
L*	38,45±0,83[a]	32,18±0,67[a]	49,56±0,77[b]	35,52±0,50[b]
a*	34,42±0,52[b]	38,57±0,40[b]	32,64±0,56[a]	35,77±0,31[a]
b*	28,76±0,21[b]	27,93±0,26[b]	26,64±0,32[a]	22,11±0,48[a]
Độ ẩm (%)	88,52±0,50[b]	12,88±0,13[a]	85,87±0,81[a]	12,84±0,14[a]
a_w	0,96±0,02[b]	0,64±0,02[a]	0,93±0,01[a]	0,65±0,02[a]
Cấu trúc (g lực/mm)	16,20±0,76[a]	384,33±4,04[a]	22,55±0,51[b]	456,33±3,21[b]
Axit tổng (% cbk)	2,81±0,22[b]	1,00±0,02[a]	2,36±0,14[a]	1,01±0,02[a]
Muối tổng (% cbk)	2,80±0,16[b]	0,55±0,02[a]	2,36±0,09[a]	0,54±0,04[a]
Đường khử (% cbk)	60,22±0,67[b]	35,28±0,26[b]	41,54±0,66[a]	33,00±0,33[a]
Vitamin C (mg/100 g thịt quả)	205,39±1,34[a]	32,18±0,67[a]	193,83±1,07[b]	25,24±0,78[b]
Hiệu suất thu hồi (%)	78,74±0,40[a]	15,48±0,53[a]	80,62±0,43[b]	18,84±0,50[b]
Mức độ ưa thích	-	6,20±0,20[a]	-	7,23±0,21[b]

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng của thịt quả hoặc sản phẩm biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát theo kiểm định LSD ở độ tin cậy 95%.

Độ chín càng tăng, thịt quả càng mềm, lượng dịch quả của độ chín 1 cao hơn so với độ chín 2 do quá trình chín, do đó hiệu suất thu hồi thịt quả cũng thấp hơn. Độ chín 2, nguyên liệu có màu vàng xen kẽ với sọc xanh, thịt quả hơi mềm, màu đỏ, có mùi thơm của đu đủ, độ sáng L* cao hơn và độ màu a* và b* thấp hơn. Độ chín ảnh hưởng đáng kể đến cấu trúc bởi đu đủ ở độ chín 2 có thịt quả cứng chắc hơn so với đu đủ ở độ chín 1, nguyên liệu ở độ chín 1 đạt độ chín sinh lý nhiều hơn nên thịt quả mềm hơn và có giá trị cấu trúc thấp hơn. Đu đủ ở độ chín 1 có lượng axit và muối cao hơn, đường khử cao hơn, vitamin C cao hơn so với đu đủ ở độ chín 2.

Ở độ chín 2 cho sản phẩm có độ sáng tốt, màu đỏ sáng đặc trưng của nguyên liệu. Ở độ chín 1, sản phẩm có độ sáng kém hơn, màu đỏ sậm hơn nên có giá trị a* và b* cao hơn. Đu đủ sấy dẻo định hình được sấy ở nhiệt độ 50 ± 2°C đến khi đạt độ ẩm thích hợp (dưới 13%), sản phẩm có giá trị a_w dao động khoảng 0,64 - 0,65, đạt TCVN 4843: 2007 cho sản phẩm trái cây sấy dẻo. Sản phẩm ở độ chín 1 có cấu trúc thấp hơn, sản phẩm mềm, dẻo, bị dính nhiều; ở độ chín 2 có cấu trúc dẻo dai, bề mặt khô ráo, độ mềm dẻo phù hợp với sản phẩm trái cây, không quá dính, dễ tạo hình. Sản phẩm ở độ chín 2 có hàm lượng vitamin C cao hơn ở độ chín 1, hàm lượng đường khử thấp hơn. Hàm lượng đường khử có sự tăng mạnh ở sản phẩm do sự mất nước trong quá trình chế biến, độ ẩm sản phẩm giảm mạnh từ 88% xuống 13% làm hàm lượng chất khô tăng lên. Sản phẩm ở độ chín 2 có hiệu suất thu hồi sản phẩm cao hơn độ chín 1. Sản phẩm được chế biến theo độ chín 2 được ưa thích hơn nhờ màu đỏ sáng, mùi thơm đặc trưng, dẻo dai vừa phải và ít dính hơn mẫu còn lại.



Hình 1. Hình sản phẩm sau sấy và đóng gói

4. KẾT LUẬN

Xoài Cát Hòa Lộc đạt độ chín 22-24°Bx, màu vàng có đốm xanh; chuối Xiêm đạt độ chín 20-22°Bx, màu vàng xanh; thanh long ruột đỏ đạt độ chín 10 -13°Bx, màu hồng, còn màu xanh trên vỏ quả, gai tươi còn xanh, thịt quả mềm; mãng cầu gai đạt độ chín 10 -12°Bx, màu xanh hoàn toàn, thịt quả mềm; đu đủ ruột đỏ đạt độ chín 12 -14°Bx, màu vàng còn sọc xanh trên vỏ quả có hiệu suất thu hồi thịt quả tốt, thịt quả có màu sắc, tính chất vật lý và tính chất hóa học phù hợp để chế biến sản phẩm trái cây sấy dẻo định hình.

Sản phẩm chế biến đạt các đặc tính tốt về màu sắc, tính chất vật lý, tính chất hóa học, hiệu suất thu hồi sản phẩm và giá trị cảm quan cao, được người tiêu dùng chấp nhận tốt.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện thông qua sự tài trợ kinh phí từ dự án khoa học và công nghệ cấp thành phố theo Hợp đồng số 05/HĐ-SKHCN ký ngày 23/9/2021: "Ứng dụng công nghệ chế biến trái cây sấy dẻo để tạo các sản phẩm chế biến định hình tận dụng nguồn nguyên liệu tại thành phố Cần Thơ".

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Raab C. and Oehler N. (1976). Making Dried Fruit Leather, Fact Sheet 232. Oregon State University Extension Service, Tillamook, Ore, USA.

2. Ayotte E. (1980). Fruit Leather. Publication no, P-228. University of Alaska Cooperative Extension Service, Fairbanks, Alaska, US.

3. Lemuel M., Diamante X. B. and Janette B. (2014). Fruit Leathers: Method of Preparation and Effect of Different Conditions on Qualities. *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Food Science*. 139890: 1-12.

4. Huang X and Hsieh F. H. (2005). Physical properties, sensory attributes, and consumer preference of pear fruit leather. *Journal of Food Science*, 70(3): E177–E186.

5. Maskan A., Kaya S. and Maskan M. (2002). Hot air and sun drying of grape leather (pistil). *Journal of Food Engineering*, 54(1): 81-88.

6. Gujral H. S. and Brar S. S. (2003). Effect of hydrocolloids on the dehydration kinetics, color, and texture of mango leather. *International Journal of Food Properties*, 6(2): 269- 279.

7. Chan H. T. and Cavaletto C. G. (1978). Dehydration and storage stability of papaya leather". *Journal of Food Science*, 43: 1723-1725.

8. Demarchi S. M., Quintero Ruiz N. A., Concellon A. and Giner S. A. (2013). Effect of temperature on hot-air drying rate and on retention of antioxidant capacity in apple leathers. *Food and Bioproducts Processing*, 91: 310-318.

9. Quintero Ruiz N. A., Demarchi S. M., Massolo J. F., Rodoni L. M. and Giner S. A. (2012). Evaluation of quality during storage of apple leather. *LWT-Food Science and Technology*, 47(2): 485-492.

10. Sharma S. K., Chaudhary S. P., Rao V. K., Yadav V. K. and Bisht T. S. (2013). Standardization of technology for preparation and storage of wild apricot fruit bar. *Journal of Food Science and Technology*, 50: 784-790.

11. Lê Văn Việt Mẫn (2011). *Công nghệ chế biến thực phẩm*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

12. Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Thị Tố Như, Nhan Minh Trí, Đinh Công Dinh, Nguyễn Phú Cường, Hồ Thanh Hương và Nguyễn Thị Mỹ Tuyền (2013). Ảnh hưởng của các điều kiện tiền xử lý đến chất lượng khóm sấy. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, B (29): 16-24.

13. Ottaway P. B. (2002). The stability of vitamins during food processing. *The Nutrition Handbook of Food Processors*: 247-264.

HARVEST MATURITY AFFECTS FRUIT LEATHER QUALITY

Tran Thanh Truc[1], Tong Thị Quy[2,*], Tran Ha Dong Quan[2], Nguyen Hoang Nhu[2]

[1]School of Graduate, Can Tho University

[2]Korea - Vietnam Incubator Park - KVIP

[*]Email: ttquy9291@gmail.com

Summary

The research aims to determine harvest maturity effects on fruit leather products from common materials of the Mekong delta, namely Cat Hoa Loc mango (*Mangifera indica* L.), Siamese banana (*Musa paradisiaca* L.), red flesh dragon fruit (*Hylocereus costaricensis*), red-fleshed papaya (*Carica papaya*) and soursop (*Annona muricata* L.). Using the initial Brix degree to determine fruit maturity. Results are evaluated based on changes in recovery performance, color, texture characteristics, water activity, basic physicochemical properties and organoleptic indicators of products. From the results, the Cat Hoa Loc mango reaches maturity 22-24˚Bx, yellow color with green spots; the Siamese banana has a maturity of 20-22˚Bx, yellow-green color; red flesh dragon fruit with a maturity of 10-13˚Bx, the pink color remains green on the rind, new spines are still green, fruit flesh is soft; meanwhile the maturity of soursop obtains 10-12˚Bx, completely green, soft flesh; and red flesh papaya maturity of 12-14˚Bx, yellow color and green stripes on the peel are suitable for processing fruit leather products. Products achieve good characteristics in terms of color, physical properties, chemical properties, product recovery efficiency and high sensory value, which consumers accept.

Keywords: *Maturity, Brix, recovery efficiency, fruit leather, color.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Phong
Ngày nhận bài: 6/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 5/4/2023
Ngày duyệt đăng: 12/4/2023

NGHIÊN CỨU NÂNG CAO LƯỢNG CAO CHIẾT GIÀU PHENOLIC, BETANIN TỪ PHẦN VỎ CỦ DỀN ĐỎ (*Beta vulgaris* L.)

Đặng Thị Hường[1, *], Lê Thanh Hải Hà[1],
Đỗ Phương Khanh[1], Nguyễn Thị Ngọc Anh[1]

TÓM TẮT

Củ dền đỏ có nhiều công dụng tốt cho sức khỏe con người bởi có chứa các hoạt chất sinh học quý chống oxi hóa như phenolic và betanin. Phần vỏ của củ dền đỏ chứa hàm lượng phenolic 12,703±0,099 mg axit garlic (GAE)/g chất khô (CK), hàm lượng betanin 3,448±0,013 mg/g CK. Nghiên cứu đã tập trung vào khảo sát các giải pháp tiền xử lý riêng rẽ hoặc kết hợp nhiệt, cơ học, sinh học lên phần vỏ củ dền đỏ nhằm nâng cao lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ đạt hàm lượng 19,821±0,112%. Cao chiết này chứa hàm lượng các chất chống oxi hóa cao như phenolic 14,703±0,105 mg GAE/g CK, betanin 4,909 ± 0,085 mg/g CK tại các giải pháp tiền xử lý nhiệt (chần ở nước nhiệt độ 85^{0}C trong thời gian 1 phút rồi nhúng luôn vào nước đá trong thời gian 20 giây) kết hợp cơ học (xay nhuyễn trên máy xay đa năng công suất 400 w, điện áp 220 v, tốc độ 9.500 vòng/phút trong thời gian 5 phút) và enzim (thủy phân ở nhiệt độ 40^{0}C với hoạt độ enzim xenlulaza 0,8 U/g trong thời gian 90 phút).

Từ khóa: *Betanin, cao chiết, phenolic, tiền xử lý, vỏ củ dền đỏ.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Củ dền đỏ (*Beta vulgaris* L.) là loại cây thảo có rễ phồng thành củ nạc, ngọt, màu đỏ thẫm, đã được trồng hàng ngàn năm tại Bắc Phi, phổ biến tại bờ biển Địa Trung Hải, các nước thuộc châu Âu... với mục đích y học và sử dụng lần đầu tiên làm thực phẩm vào khoảng thế kỷ thứ ba sau công nguyên. Ở Việt Nam, củ dền đỏ được trồng chủ yếu tại thành phố Đà Lạt và một số huyện Đức Trọng, Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng.

Củ dền đỏ có nhiều tác dụng tích cực hỗ trợ giảm thiểu được các bệnh liên quan tới stress oxy hóa, giảm sự oxi hóa chất béo, tăng khả năng chống oxi hóa, dọn gốc tự do, thể hiện rõ hiệu lực làm giảm nguy cơ các bệnh mạn tính như ung thư và các bệnh tim mạch cho người và đặc biệt phòng ngừa các bệnh như tăng huyết áp, xơ vữa động mạch, người mệt mỏi,.. Dịch ép củ dền đỏ chứa hoạt chất chống oxi hóa nhiều hơn so với dịch chiết từ các loại vỏ rau khác [1]. Đặc biệt, hàm lượng phenolic và betanin ở phần vỏ củ dền đỏ cao hơn nhiều so với hàm lượng phenolic và betanin trong phần thịt củ dền đỏ [2]. Phenolic và betanin thường nằm trong thực thể tế bào của phần vỏ củ dền đỏ, nên việc tách chiết triệt để các hoạt chất này bằng một số giải pháp đơn giản là không dễ.

Chính vì vậy, nâng cao lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ giàu thành phần các chất chống oxi hóa cao (phenolic, betanin) bằng các phương pháp xử lý nhiệt, cơ học, với enzim xenlulaza riêng lẻ hay kết hợp được quan tâm trong nghiên cứu này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Củ dền đỏ có nguồn gốc thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng. Nguyên liệu củ dền đỏ dạng củ tươi được thu hoạch tại thời điểm 70 ngày kể từ khi bắt đầu gieo hạt, cho vào bao PE có đục lỗ đường kính 4 mm với tỷ lệ 0,3% so với tổng diện tích bao bì, bảo quản tủ mát nhiệt độ 5 - 80C khi vận chuyển trong 1 tuần. Củ dền đỏ được rửa sạch, để ráo, sau đó được tách lấy phần vỏ.

[1] Trường Đại học Mở Hà Nội
* Email: dthuong10@hou.edu.vn

- Enzim xenlulaza hoạt độ 2.000 U/g được sản xuất bởi Công ty Cổ phần Hóa Dược và Công nghệ Sinh học Biogreen.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định hàm lượng ẩm

Theo tiêu chuẩn ngành 10TCN 842: 2006 [3]

2.2.2. Xác định hàm lượng phenolic

- Hàm lượng phenolic ở vỏ củ dền đỏ được xác định: 10 g vỏ củ dền đỏ được xay nhuyễn, sau đó bổ sung 50 ml nước cất, lọc thu dịch mẫu test. Lấy 0,5 ml dịch mẫu test, cùng 2,5 ml Folin - Ciocalteu 10% và 2,5 ml $NaHCO_3$ 7,5%, rồi ủ 45°C trong 45 phút, đọc kết quả đo OD 765 nm. Sử dụng galic làm chất chuẩn [4].

- Hàm lượng phenolic của cao chiết được xác định: Hòa tan 1 mg cao chiết trong 1 ml DMSO. Lấy 0,5 ml dịch mẫu test, cùng 2,5 ml Folin-Ciocalteu 10% và 2,5 ml $NaHCO_3$ 7,5%, lắc đều, rồi ủ 45°C trong 45 phút và tránh ánh sáng, đọc kết quả đo OD 765 nm. Sử dụng galic làm chất chuẩn.

$$\text{Hàm lượng axit phenolic (mg/gck)} = \frac{C.V.n.\%_{ck\ cao}}{m.1000}.100\%$$

Trong đó: C là nồng độ mẫu khi thay vào đường chuẩn (µg/ml); V là thể tích mẫu pha bằng DMSO (ml); n là hệ số pha loãng mẫu; $\%_{ck\ cao}$ là hàm lượng chất khô trong cao chiết (%); m là khối lượng cao chiết đem đi xác định; 1.000 - đổi đơn vị mg sang g [4].

2.2.3. Xác định hàm lượng betanin

- Hàm lượng betanin ở vỏ củ dền đỏ được xác định: 10 g mẫu vỏ củ dền đỏ được xay làm nhỏ, ly tâm 2 lần 6.000 vòng/phút, 25°C, 30 phút, thu nhận mẫu thử. Tách betanin: 2 ml mẫu thử, cùng 2 g PEG5000 và 2 g $(NH_4)_2SO_4$. Thêm 10 ml nước cất và lọc qua màng. Rồi khuấy đều trong 1 giờ và để yên phân tách lớp sau 3 giờ, thu mẫu lớp trên và thêm 2 ml chloroform, lắc đều, ly tâm mẫu 15.000 vòng/phút, trong 10 phút (sục khí nitơ vào mẫu betanin lớp trên thu được nhằm loại bỏ chloroform). Đo OD ở bước sóng 536 nm.

Nồng độ betanin được xác định theo phương trình Beer (Beer's law): $OD_{536} = C \times l \times \varepsilon$.

Trong đó: OD_{536} là độ hấp thụ ánh sáng ở 536 nm; C là nồng độ, tính theo M; l là độ dày của cuvette, tính theo cm; $\varepsilon = 6{,}5 \times 10^4\ L \times mol^{-1} \times cm^{-1}$ [5].

- Hàm lượng betanin của cao chiết được xác định: 0,002 g mẫu cao, cùng 2 g PEG5000 và 2 g $(NH_4)_2SO_4$. Thêm 10 ml nước cất và lọc qua màng. Rồi khuấy đều trong 1 giờ và để yên phân tách lớp sau 3 giờ, thu mẫu lớp trên và thêm 2 ml chloroform, lắc đều, ly tâm mẫu 15.000 vòng/phút trong 10 phút (sục khí nitơ vào mẫu betanin lớp trên thu được nhằm loại bỏ chloroform). Đo OD ở bước sóng 536 nm.

Nồng độ betanin được xác định theo phương trình Beer (Beer's law): $OD_{536} = C \times l \times \varepsilon$.

Trong đó: OD_{536} - độ hấp thụ ánh sáng ở 536 nm; C - nồng độ, tính theo M; l - độ dày của cuvette, tính theo cm; $\varepsilon = 6{,}5 \times 10^4\ L \times mol^{-1} \times cm^{-}$. Kết quả tính: Hàm lượng betanin trong cao chiết = 100 * (C/ 0,002) (%) [5].

2.2.4. Phương pháp DNS

Phản ứng DNS được thực hiện bởi 1 ml mẫu và 3 ml DNS vào ống nghiệm có nắp kín, lắc đều, đun sôi cách thủy đúng 5 phút (khi nồi cách thủy sôi mới cho mẫu vào), làm lạnh nhanh trong nước lạnh, sau đó đo độ hấp phụ tại bước sóng 540 nm [6].

2.2.5. Xác định hoạt độ enzim xenlulaza

Cân 0,1 g enzim xenlulaza hòa tan trong 1 ml dung dịch đệm xitrat (pH=5). Hoạt độ xenlulaza được tiến hành bằng cách ủ 0,1 ml enzim với 0,9 ml dung dịch CMC 1% (dung dịch CMC được pha trong đệm axetat 0,5 M, pH=5). Hỗn hợp enzim và CMC được ủ ở 50°C trong 30 phút sau đó xác định hàm lượng đường giải phóng ra được bằng phương pháp DNS.

Một đơn vị hoạt độ cellulase (U/g) được tính bằng lượng enzim cần thiết để giải phóng 1 µmol đường khử trong 1 phút ở điều kiện thí nghiệm.

$$\text{Hoạt độ xenlulaza (U/g)} = \frac{C_x \times 10^3 \times V_1 \times V_{đm}}{180 \times T \times m \times V_{xđ}}$$

Trong đó: C_x là nồng độ đường glucoza suy ra từ phương trình đường chuẩn (mg/ml); V_1 là thể tích dịch đem phản ứng DNS (ml) [5]; $V_{đm}$ là tổng thể tích dịch enzim ban đầu (ml); 180 là khối lượng mol đường glucoza (g/mol); T là thời gian ủ

enzim (phút); m là khối lượng enzim ban đầu (g); V_{xd} là thể tích enzim đem phản ứng với cơ chất (ml) [7].

2.2.6. Xác định hàm lượng xenlulaza (Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4590: 1988 [8])

Cân từ 10 - 20 g mẫu vỏ củ dền đỏ (m) cho vào bình 200 ml axit H_2SO_4 1,5% đã đun sôi sẵn và đun sôi cách thủy trong 30 phút. Lọc lấy bã và rửa đến pH không đổi bằng nước cất đun sôi. Thêm 100 ml dung dịch NaOH 2 - 5% đã đun sôi vào bình, đun sôi cách thủy 30 phút. Lọc lấy sơ bã và rửa sạch bằng nước sôi đến trung tính. Để ráo rửa bằng cồn 96^0 hai lần mỗi lần khoảng 5 ml.

Chuyển xơ bã vào một chén nung đã sấy khô, cân bì. Sấy chén có xơ bã trong tủ sấy ở nhiệt độ 105^0C đến khối lượng không đổi (m_1).

Chuyển chén nung vào lò nung, nung đến khối lượng không đổi, cân (m_2).

Hàm lượng xenlulaza (X) tính bằng % theo công thức:

$$X = \frac{(m_1 - m_2)}{m}.100\%.$$

Trong đó: m_1 là khối lượng chén nung và xơ bã sau sấy (g); m_2 là khối lượng chén nung và tro sau khi nung (g); m là lượng cân mẫu (g).

2.2.7. Tính hàm lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ

Hàm lượng cao chiết (Y, %) là tỷ lệ % khối lượng giữa lượng cao chiết sau cô quay so với khối lượng mẫu sử dụng và được xác định theo công thức:

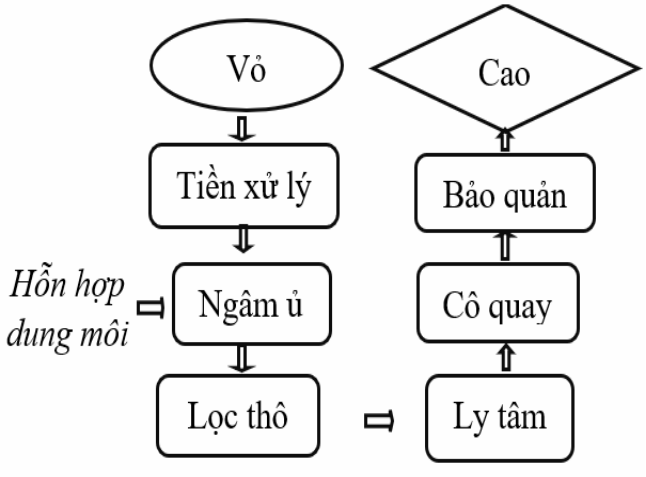
$$Y\ (\%) = \frac{m_2.C_2}{m_1.C_1}.100\%.$$

Trong đó: m_1 là khối lượng mẫu vỏ củ dền đỏ sử dụng (g); m_2 là khối lượng cao chiết sau cô quay (g); C_1 là hàm lượng chất khô trong mẫu vỏ củ dền tươi (%); C_2 là hàm lượng chất khô của cao chiết (%).

2.2.8. Phương pháp tiền xử lý phần vỏ củ dền đỏ nâng cao lượng cao chiết thu nhận

2.2.8.1. Quy trình thu nhận cao chiết từ vỏ củ dền đỏ

20 g vỏ củ dền đỏ (mẫu) được tiền xử lý bằng nhiều phương pháp khác nhau. Sau đó, bổ sung hỗn hợp H_2O: EtOH = 3: 7 (v/v) vào mẫu với tỷ lệ mẫu: dung môi = 1: 5 (w/v) và ngâm ủ trong 20 giờ. Sau đó, lọc thô và ly tâm tách bã để thu dịch chiết trong 10 phút ở 6.000 vòng/phút. Tiến hành cô quay chân không ở nhiệt độ 45^0C trong thời gian 40 phút với tốc độ quay là 100 vòng/phút để thu cao chiết. Bảo quản lạnh đông giữ đặc tính cao chiết. Xác định khối lượng, hàm lượng chất khô, axit phenolic, betanin và hàm lượng cao chiết thành phẩm.



Hình 1. Sơ đồ quy trình chiết cao từ vỏ củ dền đỏ

2.2.8.2. Tiền xử lý phần vỏ củ dền đỏ

a. Phương pháp tiền xử lý cơ học

Mẫu được thực hiện như sơ đồ ở hình 1, trong đó vỏ củ dền đỏ được xay nhuyễn trên máy xay đa năng công suất 400 w, điện áp 220 v, tốc độ 9.500 vòng/phút trong thời gian 1 phút, 3 phút, 5 phút, 7 phút và 9 phút. Đánh giá lựa chọn thời gian xay mà hàm lượng axit phenolic, betanin, hàm lượng cao chiết thành phẩm là cao hơn cả.

b. Phương pháp tiền xử lý nhiệt

Mẫu được thực hiện như sơ đồ ở hình 1, trong đó, vỏ củ dền đỏ không được xử lý nhiệt (đối chứng), được xử lý nhiệt lần lượt là chần trong nước 85^0C với thời gian 1 phút; chần trong nước 85^0C với thời gian 1 phút, rồi nhúng luôn vào nước đá trong thời gian 20 giây; chần trong nước 85^0C với thời gian 5 phút; tiếp theo xay trong thời gian (là kết quả của thí nghiệm a). Đánh giá hàm lượng axit phenolic, betanin, hàm lượng cao chiết thành phẩm.

c. Phương pháp tiền xử lý nhiệt và cơ học, kết hợp với enzim xenlulaza

Thí nghiệm khảo sát nồng độ enzim:

Mẫu được thực hiện như sơ đồ ở hình 1, trong đó vỏ củ dền đỏ được xử lý nhiệt (là kết quả của thí nghiệm b.1); tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (nước) là 1/5 (g/ml), tiến hành ủ với xenlulaza ở hoạt độ khác nhau lần lượt là: 0,5 U/g, 0,6 U/g, 0,7 U/g, 0,8 U/g, 0,9 U/g, 1,0 U/g trong thời gian 1 giờ, ở nhiệt độ 40^0C. Đánh giá hàm lượng axit phenolic, betanin, hàm lượng cao chiết thành phẩm.

Thí nghiệm khảo sát thời gian ủ enzim:

Mẫu được thực hiện như sơ đồ ở hình 1, trong đó vỏ củ dền đỏ được xử lý nhiệt (là kết quả hợp lý nhất của thí nghiệm b); tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (nước) là 1/5 (g/ml), trong đó thủy phân bởi xenlulaza ở nhiệt độ 40^0C với hoạt độ là kết quả hợp lý của khảo sát trên, thời gian thủy phân enzim được khảo sát trong các khoảng thời gian khác nhau lần lượt là 30 phút, 60 phút, 90 phút, 120 phút, 150 phút. Đánh giá hàm lượng axit phenolic, betanin, hàm lượng cao chiết thành phẩm.

2.2.9. Phương pháp lấy mẫu nghiên cứu

Mẫu nguyên liệu được lấy bằng phương pháp lấy mẫu ngẫu nhiên. Tiến hành lấy mẫu tại 5 vị trí khác nhau trong đống nguyên liệu, mỗi vị trí lấy 1 củ sau đó 5 củ được rửa sạch, để ráo và gọt lấy phần vỏ, trộn đều làm mẫu phân tích.

2.2.10. Xác định sai số trung bình

Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần, xử lý số liệu bằng mô hình phân tích phương sai 1 yếu tố (one way anova) trên phần mềm Excel 2017.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát thành phần một số chất ở phần vỏ củ dền đỏ

Củ dền đỏ ngay sau khi thu mua, được tiến hành làm sạch, để ráo nước và lấy phần vỏ. Xác định hàm lượng chất khô, hàm lượng axit phenolic, betanin, xenlulaza trong phần vỏ củ dền đỏ, được kết quả ở bảng 1.

Bảng 1 cho thấy, phần vỏ củ dền đỏ có hàm lượng chất khô 10,635 ± 0,671%, chiếm tỷ lệ khoảng 14,670% CK trên tổng củ. Phần vỏ củ dền đỏ có độ ẩm cao (85,330%). Vì vậy, sau khi thu hoạch hay trong thí nghiệm cần có phương pháp bảo quản hợp lý, xử lý ngay.

Bảng 1. Bảng đặc tính và hàm lượng phenolic, betanin, xenlulaza của phần vỏ củ dền đỏ

Các chỉ tiêu	Phần vỏ
Tỷ lệ so với tổng củ dền đỏ (% CK)	14,670±0,670
Hàm lượng chất khô (%)	10,635±0,671
Phenolic (mg GAE/g CK)	12,703±0,099
Betanin (mg/g CK)	3,448±0,013
Hàm lượng xenlulaza (%)	52,835±0,846

Ngoài ra, kết quả ở bảng 1 đã khẳng định: Hàm lượng các chất hoạt tính sinh học phenolic 12,703±0,099 mg GAE/g CK, betanin 3,448±0,013 mg/g CK ở phần vỏ củ dền đỏ là cao hơn so với phenolic 7,262±0,074 mg GAE/g CK, betanin 1,948±0,013 mg/g CK ở phần thịt củ dền đỏ [9], nên hàm lượng các hoạt chất này ở phần vỏ cao hơn so với ở phần thịt khoảng từ 1,5 - 2 lần. Điều này đã được Tytti và cs (2002) cho rằng, betanin phân bố hầu hết ở phần bên ngoài cùng của củ, hàm lượng betanin và isobetanin giảm từ ngoài vào lớp phía bên trong củ dền đỏ [2].

Củ dền đỏ được xếp loại trong top 10 loại rau chứa nhiều chất chống oxi hóa với hàm lượng chất phenol từ 50 - 60 μmol/g khối lượng khô [10]. Dịch chiết từ vỏ củ dền đỏ chứa hoạt chất chống oxi hóa nhiều hơn so với dịch chiết từ các loại vỏ rau khác [1]. Do đó, vỏ củ dền đỏ là nguyên liệu tiềm năng thu nhận cao chiết giàu hoạt chất phenolic và betanin, tuy nhiên các hoạt chất này khó bảo quản nên cần có giải pháp thu nhận hoạt chất cao và bền.

3.2. Ảnh hưởng thời gian xay đến hàm lượng cao chiết thu nhận và đặc tính cao chiết vỏ củ dền đỏ

Hàm lượng cao chiết và đặc tính cao chiết vỏ củ dền đỏ được xác định theo mục a, được thể hiện trên bảng 2. Kết quả đã khẳng định: Vỏ củ

dền đỏ được xay trong thời gian lần lượt 1 phút, 3 phút, 5 phút, 7 phút và 9 phút cho hàm lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ và hàm lượng betanin, phenolic trong cao chiết tăng mạnh khi thời gian xay tăng từ 1 phút đến 3 phút (hàm lượng cao chiết tăng 2,9%, cao chiết chứa phenolic tăng 9,5% và betanin tăng 12,2%), tốc độ tăng giảm dần khi thời gian xay tăng từ 3 - 5 phút (hàm lượng cao chiết tăng 2,0%, cao chiết chứa phenolic tăng 4,9% và betanin tăng 4,9%), đặc biệt tốc độ tăng không đáng kể khi thời gian xay từ 5 phút đến 9 phút (hàm lượng cao chiết tăng 0,1%, cao chiết chứa phenolic tăng 0,2% và betanin tăng 0,4%).

Bảng 2. Ảnh hưởng thời gian xay đến hàm lượng và đặc tính cao chiết vỏ củ dền đỏ

Thời gian xay (Phút)	H (%)	Đặc tính của cao chiết vỏ củ dền đỏ	
		Betanin (mg/g CK)	Phenolic (mg GAE /g CK)
1	11,082±0,107^{c}	2,929±0,057^{c}	11,061± 0,097^{c}
3	11,401±0,115^{b}	3,287±0,103^{b}	12,107±0,102^{b}
5	11,623±0,132^{a}	3,448±0,127^{a}	12,700±0,114^{a}
7	11.615±0,133^{a}	3.451±0,058^{a}	12.694±0,132^{a}
9	11,635±0,060^{a}	3,462±0,075^{a}	12,723±0,089^{a}

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái (a, b, c) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. H là hàm lượng cao chiết thu nhận được từ vỏ củ dền đỏ.

Nguyên tắc khi thời gian xay càng ngắn thì kích thước nguyên liệu càng lớn nên các chất tan khó khuếch tán vào dung môi do đó hàm lượng cao chiết của vỏ củ dền đỏ là thấp (khi xay 1 phút vỏ củ dền đỏ cho cao chiết đạt hàm lượng 11,082 ± 0,107%, trong đó cao chiết chứa axit phenolic 11,061 ± 0,097 mg GAE/g CK và betanin 2,929 ± 0,057 mg/g CK; xay 3 phút vỏ củ dền đỏ cho cao chiết hàm lượng 11,401 ± 0,115%, trong đó cao chiết chứa axit phenolic 12,107 ± 0,102 mg GAE/g CK và betanin 3,287 ± 0,103 mg/g CK). Khi thời gian xay càng dài thì khối nguyên liệu càng nhỏ giúp dung môi càng dễ thẩm thấu hòa tốt chất tan nên lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ càng tăng, tuy nhiên tăng có giới hạn đến lúc sự khuếch tán chất tan vào dung môi đạt đỉnh điểm, cụ thể thời gian xay từ 5 phút đến 9 phút cho cao chiết đạt hàm lượng khoảng 11,623 ± 0,132% đến 11,635 ± 0,060%, trong đó cao chiết chứa axit phenolic đạt cao khoảng 12,700 ± 0,114 mg GAE/g CK đến 12,723 ± 0,089 mg GAE/g CK và hàm lượng betanin đạt cao khoảng 3,448 ± 0,127 mg/g CK đến 3,462 ± 0,075 mg/g CK. Như vậy, thời gian xay 5 phút được chọn cho nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng tiền xử lý nhiệt kết hợp cơ học đến hàm lượng cao chiết thu nhận và đặc tính cao chiết vỏ củ dền đỏ

Cao chiết vỏ củ dền đỏ được xác định hàm lượng và được đánh giá một số hoạt chất sinh học theo mục b cho kết quả ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng tiền xử lý nhiệt kết hợp cơ học đến hàm lượng và đặc tính cao chiết vỏ củ dền đỏ

Tiền xử lý nhiệt-cơ	H (%)	Đặc tính của cao chiết vỏ củ dền đỏ	
		Betanin (mg/g CK)	Phenolic (mg GAE /g CK)
ĐC	11,623±0,102^{b}	3,448±0,127^{c}	12,700± 0,114^{c}
Chần 1 phút	12,163±0,138^{a}	3,773±0,037^{b}	13,070±0,097^{b}

Chần 1 phút rồi ngâm nước đá 20 giây	12,174±0,114[a]	4,525±0,089[a]	13,893±0,117[a]
Chần 5 phút	12,198±0,097[a]	3,029±0,073[d]	11,092±0,105[d]

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái (a, b, c) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. H là hàm lượng cao chiết thu nhận được từ vỏ củ dền đỏ. ĐC: đối chứng (vỏ củ dền đỏ không được xử lý nhiệt)

Bảng 3 cho thấy, khi so sánh các giải pháp xử lý (không chần (ĐC), chần 1 phút, chần 1 phút rồi ngâm luôn vào nước đá thời gian 20 giây và chần 5 phút) cho thấy: Hàm lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ ở giải pháp chần đều cao hơn so với giải pháp không chần từ 4,7 - 5,0%. Hàm lượng phenolic, betanin trong cao chiết khi chần 1 phút rồi ngâm luôn vào nước đá 20 giây là cao nhất và đều cao hơn so với giải pháp không chần lần lượt là 9,4% và 31,2%; nhưng hàm lượng phenolic, betanin trong cao chiết ở giải pháp chần 5 phút đều giảm hơn so với giải pháp không chần lần lượt là 12,7% và 12,2%. Cụ thể: Cao chiết từ vỏ củ dền đỏ khi chần 1 phút, chần 1 phút rồi ngâm nước đá 20 giây, cũng như chần 5 phút cho lượng cao chiết là tương đương nhau với hàm lượng lần lượt là 12,163 ± 0,138%, 12,174 ± 0,114%, 12,198 ± 0,097%; trong khi cao chiết ở giải pháp không chần chỉ đạt hàm lượng 11,623 ± 0,102%. Giải pháp chần vỏ củ dền đỏ trong 1 phút rồi ngâm nước đá 20 giây cho cao chiết có hàm lượng phenolic 13,893 ± 0,117 mg GAE/g CK, betanin 4,525 ± 0,089 mg/g CK là cao nhất; tiếp đến giải pháp chần 1 phút cho cao chiết có hàm lượng phenolic 13,070 ± 0,097 mg GAE/g CK, betanin 3,773 ± 0,037 mg/g CK; giải pháp chần 5 phút cho cao chiết có hàm lượng phenolic 11,092 ± 0,105 mg GAE/g CK, betanin 3,029 ± 0,073 mg/g CK thấp hơn hàm lượng phenolic 12,700 ± 0,114 mg GAE/g CK, betanin 3,448 ± 0,127 mg/g CK ở giải pháp không chần. Điều này cho thấy, hoạt chất phenolic, betanin trong cao chiết đã bị mất nhiều khi dùng giải pháp tiền xử lý vỏ củ dền đỏ bằng chần thời gian dài 5 phút. Đặc biệt giải pháp tiền xử lý vỏ củ dền đỏ bằng chần 1 phút rồi ngâm nước đá trong thời gian 20 giây đã giữ được hoạt chất phenolic và betanin là do khả năng enzim (trong vỏ củ đền đỏ phân giải hoạt chất phenolic, betanin) bị vô hoạt tức thì, đồng thời sau chần rồi ngâm luôn nước đá đã làm giảm nhanh được nhiệt nóng tác động. Sự ổn định betanin bị ảnh hưởng chủ yếu bởi chính yếu tố bên trong là do các enzim β-glucosidaza, polyphenol oxidaza và peroxidaza (luôn có ở trung tâm không bào của tế bào thực vật) [11].

3.4. Ảnh hưởng tiền xử lý nhiệt, cơ học, enzim đến hàm lượng cao chiết thu nhận và đặc tính cao chiết vỏ củ dền đỏ

3.4.1. Ảnh hưởng hoạt độ enzim đến hàm lượng và đặc tính cao chiết vỏ củ dền đỏ

Nồng độ enzim ảnh hưởng tới hàm lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ, hàm lượng phenolic và betanin trong cao chiết này được xác định theo phương pháp mục c cho kết quả ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng hoạt độ enzim đến hàm lượng và đặc tính cao chiết vỏ củ dền đỏ

Tiền xử lý hoạt độ enzim (U/g)	H (%)	Đặc tính của cao chiết vỏ củ dền đỏ	
		Betanin (mg/g CK)	Phenolic (mg GAE /g CK)
0,5	15,994±0,136[d]	4,606±0,058[b]	14,017±0,173[d]
0,6	17,134±0,119[c]	4,618±0,091[b]	14,191±0,092[c]
0,7	18,308±0,107[b]	4,662±0,102[ab]	14,325±0,109[b]
0,8	19,493±0,156[a]	4,775±0,078[a]	14,509±0,134[a]

0,9	19,489±0,198[a]	4,653±0,082[ab]	14,515±0,109[a]
1,0	19,502±0,103[a]	4,783±0,067[a]	14,498±0,162[a]

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. H là hàm lượng cao chiết thu nhận được từ vỏ củ dền đỏ.

Bảng 4 cho thấy, hoạt độ enzim tăng từ 0,5 - 0,8 U/g cho cao chiết có hàm lượng tăng dần từ 15,994±0,136% lên 19,493±0,156% và hàm lượng cao chiết gần như không đổi khi nồng độ enzim tăng từ 0,8 U/g lên 1,0 U/g. Nguyên nhân do khi nồng độ enzim đạt đến một giá trị nhất định thì mức độ tạo ra sản phẩm ngừng tăng và đạt giá trị ổn định. Khi nồng độ enzim bão hòa với nồng độ cơ chất, vận tốc phản ứng không thay đổi hoặc không tăng thêm khi tăng nồng độ enzim.

Kết quản nghiên cứu cũng khẳng định hàm lượng phenolic, betanin trong cao chiết vỏ củ dền đỏ gần như không thay đổi nhiều khi nồng độ enzim tăng từ 0,5 U/g lên 1,0 U/g. Chính vì vậy, xenlulaza hoạt độ 0,8 U/g cho cao chiết vỏ củ dền đỏ có hàm lượng cao nhất và là hoạt độ enzim hợp lý nhất được lựa chọn.

3.4.2. Ảnh hưởng thời gian ủ enzim đến hàm lượng và đặc tính cao chiết vỏ củ dền đỏ

Ảnh hưởng thời gian ủ xenlulaza 0,8 U/g đến hàm lượng cao chiết của vỏ củ dền đỏ, hàm lượng phenolic và betanin trong cao chiết được xác định theo phương pháp mục c cho kết quả ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng thời gian ủ xenlulaza 0,8 U/g đến hàm lượng và đặc tính cao chiết vỏ củ dền đỏ

Tiền xử lý bởi enzim trong thời gian (phút)	H (%)	Đặc tính của cao chiết vỏ củ dền đỏ	
		Betanin (mg/g CK)	Phenolic (mg GAE /g CK)
30	16,672±0,117[c]	4,612±0,093[b]	14,156±0,118[c]
60	19,493±0,156[b]	4,775±0,078[b]	14,509±0,134[b]
90	19,821±0,112[a]	4,909±0,085[a]	14,703±0,105[a]
120	19,814±0,178[a]	4,918±0,106[a]	14,719±0,179[a]
150	19,825±0,127[a]	4,905±0,072[a]	14,705±0,147[a]

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái (a, b, c) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. H là hàm lượng cao chiết thu nhận được từ vỏ củ dền đỏ.

Bảng 5 cho thấy, thời gian ủ xenlulaza càng dài thì lượng chất tan giải phóng ra càng tăng nên hàm lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ càng tăng, tuy nhiên có giới hạn và sau đó giữ không đổi. Cụ thể: Khi thời gian thủy phân tăng từ 30 phút lên 60 phút thì tốc độ tăng hàm lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ khoảng 17%; sau đó tốc độ tăng chỉ đạt 1,7% khi tăng thời gian thủy phân từ 60 phút lên 90 phút và tốc độ tăng này gần như bằng 0% trong thời gian thủy phân từ 90 - 150 phút.

Kết quả ở bảng 5 thể hiện thời gian thủy phân lần lượt là 30 phút, 60 phút, 90 phút cho cao chiết chứa: Hàm lượng phenolic lần lượt là 14,156 ± 0,118 mg GAE/g CK, 14,509 ± 0,134 mg GAE/g CK, 14,703 ± 0,105 mg GAE/g CK; hàm lượng betanin lần lượt là 4,612 ± 0,093 mg/g CK, 4,775 ± 0,078 mg/g CK, 4,909 ± 0,085 mg/g CK. Như vậy, thời gian thủy phân tăng từ 30 phút lên 60 phút thì hàm lượng phenolic, betanin tăng lần lượt 2,5% và 3,5%; còn khi thời gian thủy phân tăng từ 60 phút

lên 90 phút làm hàm lượng phenolic, betanin tăng lần lượt 1,3% và 2,8%. Thế nhưng, khi kéo dài thời gian thủy phân từ 90 phút đến 150 phút thì cao chiết vỏ củ dền đỏ có hàm lượng phenolic và hàm lượng betanin gần như không đổi. Chính vì vậy thời gian thủy phân 90 phút được chọn là hợp lý hơn cả.

Kết quả nghiên cứu trên cho thấy: Phần vỏ củ dền đỏ được tiền xử lý chần thời gian 1 phút trong nước 85°C rồi ngâm luôn vào nước đá trong thời gian 20 giây, sau đó được xay nhuyễn thời gian 5 phút, tiếp theo được ủ với xenlulaza 0,8 U/g ở 40°C trong 90 phút, mang lại hàm lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ cao và hàm lượng phenolic, betanin của cao chiết này là hợp lý hơn cả, được thể hiện trên bảng 6.

Bảng 6. Hàm lượng cao chiết thu nhận, hàm lượng phenolic và betanin của cao chiết vỏ củ dền đỏ đạt giá trị hợp lý nhất

Hàm lượng cao chiết vỏ củ dền đỏ (%)	19,821±0,112
Hàm lượng phenolic trong cao chiết (mg GAE /g CK)	14,703±0,105
Hàm lượng betanin trong cao chiết (mg/g CK)	4,909± 0,085

4. KẾT LUẬN

Trong các giải pháp tiền xử lý vỏ củ dền đỏ như: Xay nghiền; chần nước nhiệt độ 85°C kết hợp với xay nghiền; chần nước nhiệt độ 85°C rồi nhúng luôn vào nước đá trong thời gian 20 giây, sau đó xay nghiền; chần nước nhiệt độ 85°C rồi nhúng vào nước đá 20 giây, xay nghiền, sau đó kết hợp enzim thì giải pháp chần nước nhiệt độ 85^0C trong thời gian 1 phút rồi nhúng luôn vào nước đá trong thời gian 20 giây, kết hợp cơ học (xay nhuyễn trên máy xay đa năng công suất 400 w, điện áp 220 v, tốc độ 9.500 vòng/phút trong thời gian 5 phút) và enzim (thủy phân ở nhiệt độ 40^0C với hoạt độ enzim xenlulaza 0,8 U/g trong thời gian 90 phút) cho hàm lượng cao chiết vỏ củ dền đạt 19,821±0,112%, hàm lượng phenolic 14,703±0,105 mg GAE/g CK, betanin 4,909±0,085 mg/g CK của cao chiết vỏ củ dền đỏ là hiệu quả hơn cả. Việc khảo sát nghiên cứu này tạo tiền đề cho nghiên cứu làm giàu hàm lượng betanin, phenolic trong dịch chiết củ dền đỏ.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài cấp Trường Đại học Mở Hà Nội, mã số MHN 2023-02.04.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Harold E Miller, Fred Rigelhof, Leonard Marquart, Aruna Prakash, Mitch Kanter (2000). Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *J. Am. Coll. Nutr*, 19, 312-319.

2. Tytti S. Kujala, Maarit S. Vienola, Karel D. Klikajyrki M. Loponen, Kalevi Pihlaja (2002). Betalin and phenolic composition in four Beetroot (*Beta vulgaris* cultivars). *J. Eur. Food Res. Technol,* 214, 505-510.

3. Tiêu chuẩn ngành 10TCN 842: 2006 Tiêu chuẩn rau quả - Xác định hàm lượng nước và tính hàm lượng chất khô.

4. Milan Kragujevac (2011). Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts Sci., 33, 63-72.

5. Letícia Christina Pires Goncalves, Marco Aurélio de Souza Trassi, Nathana Barbosa Lopes, Felipe Augusto Dörr, Monica Teixeira dos Santos, Wilhelm Josef Baader, Vani Xavier Oliveira Jr, Erick Leite Bastos (2012). A comparative study of the purification of betanin. *Food Chemistry,* 131 (1), 231-238.

6. Gail Lorenz Miller (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem,* 31 (3), 426-428.

7. Shuchi Singh và Vijayanand Moholkar (2014). Optimization of carboxymethylcellulase production from *Bacillus amyloliquefaciens* SS35. *Biotech*, 411-424.

8. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4590: 1988 Đồ hộp - Phương pháp xác định hàm lượng xenluloza thô.

9. Đặng Thị Hường, Hà Thị Dung và Trần Thu Huyền (2022). Nghiên cứu nâng cao hiệu suất thu nhận dịch giàu phenolic, betanin, ascorbic từ phần thịt củ dền đỏ (*Beta vulgaris* L.). *Tạp chí Khoa học Công nghệ. Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội*, 58 (5), 97 - 102.

10. Joe A Vinson, Yong Hao, Xuehui Su và Ligia Zubik (1998). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 3630-3634.

11. Neelwarne B. and Rudrappa T. (2013). Peroxidases and other enzymes from red beet hairy roots. In: Neelwarne B. (ed) Red beet biotechnology: food and pharmaceutical applications. *Springer, New York,* 283-334.

RESEARCH FOR ENHANCEMENT OF PHENOLIC, BETANIN RICH EXTRACT FROM RED BEETROOT PEEL (*Beta vulgaris* L.)

Dang Thi Huong*, Le Thanh Hai Ha,
Do Phuong Khanh, Nguyen Thi Ngoc Anh
**Email: dthuong10@hou.edu.vn*

Summary

Red beetroot has many good uses for human health because it contains many valuable biologically active antioxidants such as phenolic and betanin. Red beetroot peel contains phenolic content 12,703±0,099 mg garlic acid (GAE)/g dry matter (CK), betanin 3,448±0,013 mg/g CK. The study focused on investigating the separate or combined thermal, mechanical, and biological pretreatment solutions on the red beetroot peel to improve the red beetroot peel extract to 19,821±0.112% content. and this extract contains high levels of antioxidants such as phenolic 14.703±0.105 mg GAE/g CK, betanin 4,909±0,085 mg/g CK at heat pretreatment solutions (blanching at 85^0C water for 1 minute and then immersed in ice water for 20 seconds) mechanical combination (pure on a multi-function blender 400 w power, voltage 220 v, speed 9.500 rpm for 5 minutes) and enzyme (hydrolyzed at 40^0C with cellulase enzyme activity 0.8 U/g for 90 minutes).

Keywords: *Betanin, extract, phenolic, pretreatment, red beetroot peel.*

Người phản biện: TS. Vũ Hồng Sơn
Ngày nhận bài: 27/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 25/4/2023
Ngày duyệt đăng: 4/5/2023

KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA CỦA DỊCH THỦY PHÂN BẰNG ENZIM TỪ MÀNG NHẦY HẠT É (*Ocimum basilicum* L. var. *pilosum* (Willd.) Benth.)

Lê Trần Hoài Ân [1,2], Lê Ngọc Liễu [1,2,*]

TÓM TẮT

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ảnh hưởng của các nồng độ β-glucosidaza khác nhau đến khả năng chống oxy hóa của sản phẩm thủy phân một phần thu được từ quá trình thủy phân màng nhầy hạt é (BSG), bao gồm hoạt tính khử gốc tự do 2,2-diphenyl-1-pircryhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) ($ABTS^{\bullet+}$), superoxyde (O_2^-) và khả năng khử ion sắt (FRAP). β-Glucosidaza được pha với dung dịch đệm natri phốt phát với hàm lượng khác nhau để thu được nồng độ mong muốn lần lượt là 0, 0,1, 0,2, 0,3 và 0,4 U/mL. BSG với hàm lượng hidrat các bon khá cao (chiếm 81,93% thành phần của màng nhầy), đã được xử lý với các dung dịch enzim này. Sau quá trình xử lý, các dịch thủy phân thu được tương ứng với các nồng độ enzim khác nhau được tiến hành phân tích. Kết quả cho thấy, các sản phẩm thủy phân này có khả năng chống oxy hóa cao hơn đáng kể so với các mẫu thô chưa được xử lý enzim, ở mức độ tăng dần xấp xỉ 1 - 5%, 27 - 40%, 30 - 72%, và 7 - 82% trong lần lượt các thí nghiệm về hoạt tính khử O_2^-, DPPH, FRAP và $ABTS^{\bullet+}$. Nồng độ enzim 0,2 U/mL và 0,3 U/mL được đánh giá cao vì tính kinh tế cũng như mang lại kết quả mong muốn nhất.

Từ khóa: *Khả năng chống oxy hóa, dịch nhầy hạt é, β-glucosidaza, thủy phân enzim.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây é (*Ocimum basilicum* L. var. *pilosum* (Willd.) Benth.) là một loại cây thân thảo thuộc họ Labiateae, được trồng phổ biến ở các nước cận nhiệt đới và nhiệt đới, đặc biệt là các vùng thuộc châu Á, châu Phi và Ấn Độ. Hầu hết tất cả các bộ phận của cây é bao gồm thân, lá và hạt đều có những chức năng riêng và được ứng dụng rộng rãi trong cả công nghiệp dược phẩm lẫn thực phẩm [1], [2].

Khi được ngâm trong nước, hạt é bắt đầu trương nở và hình thành một lớp màng nhầy màu trắng đục bao quanh lõi hạt. Màng nhầy này được mô tả là một polysacarit với khối lượng phân tử lớn (2.320 kDa), chứa 2,31% arabinogalactan phân nhánh cao kết hợp với glucan, một lượng nhỏ protein (1,32% wt/wt), axit uronic (12,1 - 19,5) và 43% glucomannan (tỷ lệ glucoza: mannoza là 10: 2) [3], [4]. Theo nghiên cứu của Razavi và cs (2009), BSG không chỉ được sử dụng để tạo màng và chất phủ mà còn có chức năng như chất nhũ hóa và chất ổn định trong công nghiệp chế biến thực phẩm [5]. Khi BSG được xử lý bằng phương pháp thủy phân một phần, đặc biệt là xử lý bằng enzim, lĩnh vực sẽ mở rộng hơn. Nghiên cứu của Li và cs (2020) [6], Zhang và cs (2021) [7] về polysacarit thô có nguồn gốc từ thực vật với các đặc tính tương đồng với đặc tính của màng nhầy hạt é đã góp phần củng cố dự đoán này. Cụ thể, một số loại enzim nhất định có thể thủy phân một phần các hydrocolloid này để tạo ra các hợp chất có đặc tính chống oxy hóa cao hơn so với màng nhầy thô [8], [9].

Khí hậu ở Việt Nam thích hợp cho cây é phát triển, tuy nhiên, do chưa có nhiều sản phẩm công nghiệp trong nước sản xuất từ cây é nên năng suất bình quân còn thấp. Vì vậy, nghiên cứu khả năng kháng oxy hóa của dịch thủy phân bằng enzim từ màng nhầy hạt é là rất cần thiết. Kết quả nghiên cứu nhằm khảo sát tính chất chức năng thông qua khả năng kháng oxy hoá của dịch thuỷ phân màng nhầy hạt é sử dụng enzim β-glucosidaza ở những nồng độ khác nhau.

[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

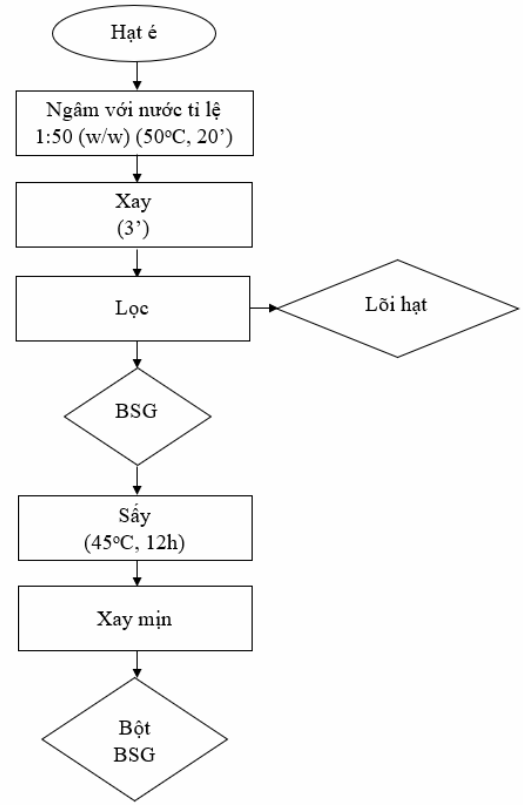
2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Hạt é dùng trong nghiên cứu này được mua từ các siêu thị trong khu vực thành phố Hồ Chí Minh ở dạng gói nhỏ 200 g (thương hiệu Việt San, Việt Nam). β-glucosidaza được trích xuất từ hạt hạnh nhân với hoạt tính công bố trên nhãn là 4 U/mg (Sigma-Aldrich). Các loại hóa chất được sử dụng để xử lý mẫu cũng như dùng trong các thí nghiệm thủy phân, xác định thành phần hóa học và khả năng kháng oxy hóa (bao gồm hexan, axit sunfuric, đồng II sunfat, kali sunfat, natri hydroxyt, axit boric, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, methanol, đệm natri phốt phát, kali ferricyanit, sắt III clorua, axit trichloraxetic, (±) - 6 - hydroxy - 2, 5, 7, 8 - tetramethylchromane - 2-carboxylic axitd, pyrogallol, axit hydrocloric, kali persunfat) thuộc đa dạng các nhãn hiệu (Sigma-Aldrich, Merck, Xi Long, Himedia) được mua từ các nhà phân phối địa phương (Công ty Hóa chất Bách Khoa, SBC Scientific). Tất cả các hóa chất đều là hóa chất phân tích với độ tinh khiết cao.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết xuất BSG



Hình 1. Phương pháp chiết xuất bột BSG

Phương pháp chiết xuất BSG được tiến hành dựa trên quy trình được công bố trước đây với một số sửa đổi (Hình 1) [5]. Đầu tiên, hạt é được ngâm vào nước theo tỷ lệ khối lượng là 1: 50 (w: v) ở nhiệt độ khoảng 50°C. Sau 20 phút, nước được chắt ra và hạt é trương nở được xử lý bằng máy xay trong vòng 3 phút trước khi được lọc bằng vải thưa để tách lớp màng ra khỏi lõi hạt. Sau đó, lớp màng nhầy thu được được sấy khô trong 12 giờ ở 50°C và nghiền thành bột mịn. Bột BSG thành phẩm được trữ trong bình hút ẩm ở nhiệt độ thường.

2.2.2. Phương pháp chế biến các sản phẩm thủy phân một phần từ bột BSG sử dụng enzim β-glucosidaza

Bột BSG (0,1 g) đóng vai trò như một cơ chất, được hòa tan trong dung dịch đệm natri phốt phát (pH 6,0) trước khi được xử lý bằng enzim β-glucosidaza ở năm nồng độ khác nhau (0, 0,1, 0,2, 0,3 và 0,4 U/mL). Quá trình thủy phân được thực hiện ở 60°C trong vòng 1 giờ. Mỗi mẫu (tương ứng với mỗi nồng độ enzim khác nhau) được chuẩn bị 3 lần và các đặc tính chống oxy hóa của dịch thủy phân thu được sau đó được đánh giá bằng các phương pháp khác nhau.

2.2.3. Phương pháp xác định các thành phần hóa học của bột BSG

Phương pháp xác định độ ẩm:

Độ ẩm của bột BSG sẽ được phân tích bằng phương pháp của AACC International Approved Method 44-15.02 [10].

Phương pháp xác định hàm lượng tro:

Phương pháp này được thực hiện dựa trên phương pháp của AACC International Approved 08-01.01 [11].

Phương pháp xác định hàm lượng chất béo:

Phương pháp Soxhlet [12] sẽ được áp dụng để xác định hàm lượng chất béo trong bột BSG.

Phương pháp xác định hàm lượng chất đạm:

Phương pháp AACC International Approved method 46-10.01 (phương pháp Kjeldahl cải tiến) [13] sẽ được sử dụng để đo hàm lượng đạm trong bột BSG.

Phương pháp xác định tổng hidrat các bon:

Tổng hàm lượng hidrat các bon được xác định dựa trên tổng phần trăm tro, protein, lipid và độ ẩm trong mẫu [14]. Kết quả sẽ được tính bằng phương trình sau:

Tổng hidrat các bon (%) = 100% -%tro - %đạm - %chất béo - %độ ẩm

2.2.4. Phương pháp xác định hoạt tính kháng oxy hóa

Phương pháp xác định hoạt tính bắt gốc tự do DPPH:

Hoạt tính bắt gốc tự do của dịch BSG thủy phân một phần được đo bằng thí nghiệm với DPPH [15]. Dung dịch DPPH 0,05 mM đã được sử dụng trong thử nghiệm này và độ hấp thụ được đo ở bước sóng 517 nm. Hoạt động bắt gốc tự do DPPH (%) được tính theo phương trình sau:

Hoạt động bắt gốc tự do DPPH (%) = $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$

Trong đó: A_0 là độ hấp thụ của đối chứng và A_1 là độ hấp thụ của mẫu.

Phương pháp xác định khả năng khử ion Fe^{3+}:

Thí nghiệm xác định khả năng chống oxy hóa khử Fe^{3+} của dịch thủy phân được thử nghiệm theo phương pháp đã công bố trước đó [9]. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 700 nm.

Phương pháp xác định hoạt tính nhặt gốc tự do ABTS:

Thí nghiệm này được thực hiện theo phương pháp từ nghiên cứu của Thaipong và cs (2006) [16]. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 734 nm. Hoạt động nhặt gốc tự do ABTS (%) được tính theo phương trình sau:

Hoạt tính nhặt gốc tự do ABTS (%) = $[(A_0 – A_1)/ A_0] \times 100$

Trong đó: A_0 là độ hấp thụ của đối chứng và A_1 là độ hấp thụ của mẫu.

Phương pháp bắt gốc O_2^-:

Thử nghiệm này được thực hiện theo phương pháp của Zhang và cs (2019) [9]. Độ hấp thụ được ghi lại ở bước sóng 320 nm. Chất chuẩn được chuẩn bị bằng cách kết hợp mẫu và nước cất thay vì HCl. Hoạt tính bắt gốc O_2^- (%) được tính theo công thức sau:

Hoạt tính bắt gốc O_2^- (%) = $[(A_0 - A_1)/(A_0 - A_2)] \times 100$

Trong đó: A_0 là độ hấp thụ của đối chứng, A_1 là độ hấp thụ của mẫu và A_2 là độ hấp thụ của dung dịch đệm natri phốt phát.

2.3. Xử lý số liệu

Kết quả các thí nghiệm được phân tích phương sai ANOVA kết hợp phép thử kiểm định Fisher bằng phần mềm Minitab ở mức độ tin cậy 95%. Việc phân tích các mẫu được thực hiện 3 lần. Tất cả dữ liệu thử nghiệm được tính bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định thành phần hóa học của bột BSG

Sự khác biệt trong giống cây é, đất trồng, khí hậu và phân bón có thể gây ảnh hưởng lớn đến thành phần hóa học có trong màng nhầy hạt é [17]. Vì vậy, kết quả thu được có phần khác biệt so với nghiên cứu của Razavi và Naji - Tabasi (2017) [17]. Nguyên nhân chính là vì tuy cùng khảo sát trên chi *Ocimum*, Razavi và Naji - Tabasi (2017) [17] nghiên cứu trên một loại hạt basil khác với hạt é trong nghiên cứu này.

Thành phần hóa học của bột BSG được trình bày trong bảng 1. So với dữ liệu của Razavi và cs (2009) [5], BSG có độ ẩm và tổng hàm lượng hidrat các bon cao hơn (7,39% và 74,19%). Ngược lại, xét về hàm lượng tro, chất béo và protein, số liệu trong nghiên cứu cao hơn với các giá trị lần lượt là 5,88%, 11,55% và 2,01% [5].

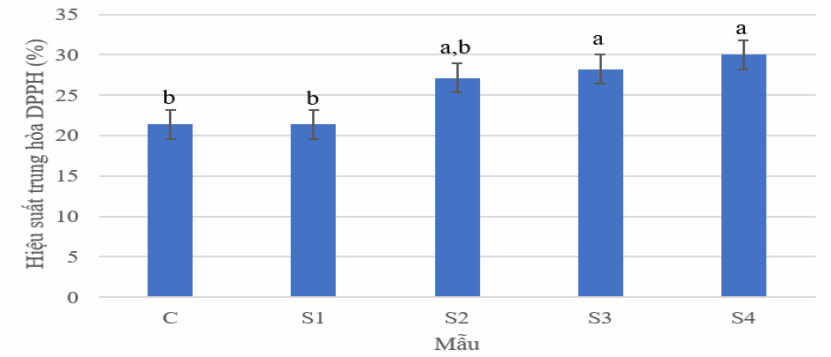
Bảng 1. Thành phần hóa học của bột BSG

Thành phần hóa học	%
Độ ẩm	9,82 ± 0,45
Hàm lượng tro	3,51 ± 0,31
Chất béo	3,50 ± 0,52
Chất đạm	1,24 ± 0,08
Hidrat các bon	81,93 ± 0,53

Ghi chú: Độ ẩm được tính khối lượng mẫu ướt, còn các thành phần còn lại được tính theo khối lượng chất khô.

3.2. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH

Kết quả cho thấy, hầu hết các sản phẩm thủy phân có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn so với mẫu thô khi được xử lý ở nồng độ β-glucosidaza tăng dần ở cùng một điều kiện ủ (Hình 2). Cụ thể, khi nồng độ enzim tăng từ 0,1 - 0,4 U/mL, hiệu suất loại bỏ gốc tự do cũng tăng dần từ 21,40 - 30,02%. Nói cách khác, mức độ gia tăng hoạt tính của các mẫu được xử lý enzim so với mẫu đối chứng là từ 27 - 40%. Lý do có thể là vì hàm lượng enzim cao làm tăng hiệu quả trong quá trình phá vỡ liên kết glycosit của dịch nhầy [18], tạo ra các oligome có chiều dài ngắn và kích thước phân tử nhỏ hơn so với ban đầu. Các oligome này, với mức độ cao các nhóm hydroxyl xuất hiện trong cấu trúc, làm tăng khả năng cho hydro, góp phần nâng cao đặc tính kháng oxy hóa cho dịch thủy phân [8].

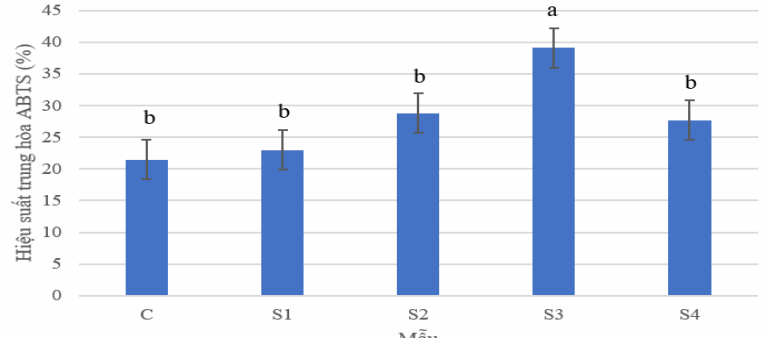


Hình 2. Hiệu suất bắt gốc tự do DPPH của các sản phẩm thu được sau quá trình thủy phân một phần BSG

Mẫu C, S1, S2, S3 và S4 lần lượt ứng với các mẫu thủy phân thu được từ nồng độ enzim 0, 0,1, 0,2, 0,3 và 0,4 U/mL

3.3. Hoạt tính bắt gốc tự do ABTS$^{\bullet+}$

Nhìn chung, không có sự khác biệt đáng kể nào về khả năng loại bỏ gốc tự do ABTS$^{\bullet+}$ được quan sát cho thấy, giữa mẫu đối chứng và mẫu được xử lý bằng enzim, ngoại trừ mẫu S3 với kết quả thu được cao nhất, chiếm gần 40% (Hình 3). Tuy nhiên, khi xét về giá trị thực tế thu được, các sản phẩm thủy phân này có khả năng chống oxy hóa so với mẫu thô ở mức độ tăng dần từ 7 - 28%. Lý do cho sự không nhất quán giữa các mẫu có thể đến từ nhiều yếu tố khác nhau như thành phần monosacarit, khối lượng phân tử và khả năng hòa tan của các mẫu [19], [20]. Hơn nữa, có ý kiến cho rằng sự thủy phân BSG do phá vỡ các liên kết glycosit có thể làm tăng khả năng hòa tan của mẫu, dẫn đến việc xuất hiện nhiều nhóm chức năng, có thể bắt được nhiều gốc tự do hơn [8]. Do đó, lời giải thích về khả năng chống oxy hóa vượt trội của mẫu S3 có thể là do sự phân cắt ngẫu nhiên của enzim ở nồng độ 0,3 U/mL có thể tạo ra nhiều nhóm hydroxyl hơn so với các mẫu khác.

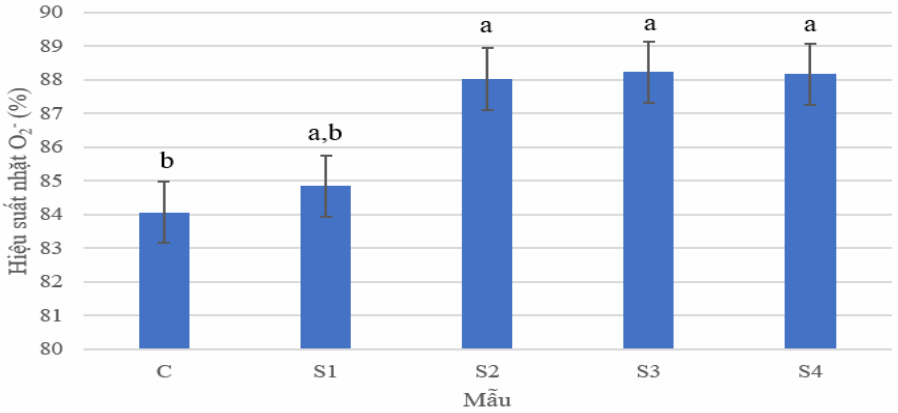


Hình 3. Hiệu suất bắt gốc tự do ABTS$^{\bullet+}$ của các sản phẩm thu được sau quá trình thủy phân một phần BSG

Mẫu C, S1, S2, S3 và S4 lần lượt ứng với các mẫu thủy phân thu được từ nồng độ enzim 0, 0,1, 0,2, 0,3 và 0,4 U/mL

3.4. Hiệu suất bắt gốc O_2^-

Ảnh hưởng bởi nồng độ enzyme đến khả năng bắt gốc O_2^- của các sản phẩm thủy phân một phần từ BSG được thể hiện trong hình 4. Kết quả cho thấy, hầu hết tất cả BSG được xử lý bằng β-glucosidaza đều có hoạt tính bắt gốc O_2^- cao hơn đáng kể so với mẫu đối chứng (tăng từ 84,07 - 88,22%). Xét về sự chênh lệch, các sản phẩm thủy phân có khả năng chống oxy hóa cao hơn mẫu thô ở mức độ tăng dần xấp xỉ 1 - 5%. Đó là do sự xuất hiện của các nhóm OH tự do lộ ra sau quá trình phân giải enzim có thể phản ứng với O_2^- hay còn được gọi là gốc zwitterionic [8].



Hình 4. Hiệu suất bắt gốc O_2^- của các sản phẩm thu được sau quá trình thủy phân một phần BSG

Mẫu C, S1, S2, S3 và S4 lần lượt ứng với các mẫu thủy phân thu được từ nồng độ enzim 0, 0,1, 0,2, 0,3 và 0,4 U/mL

3.5. Hiệu quả kháng oxy hóa dựa trên năng lực khử sắt

Bảng 2. Hàm lượng chất kháng oxy hóa dựa trên năng lực khử sắt của các sản phẩm thu được sau quá trình thủy phân một phần BSG

Mẫu	Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương µg/mL Trolox
C	$3,47\pm0,43^{b}$
S1	$4,49\pm2,53^{a,b}$
S2	$5,96\pm1,81^{a}$
S3	$4,49\pm1,09^{a,b}$
S4	$4,92\pm2,19^{a,b}$

Ghi chú: Mẫu C, S1, S2, S3 và S4 lần lượt ứng với các mẫu thủy phân thu được từ nồng độ enzim 0, 0,1, 0,2, 0,3 và 0,4 U/mL

Hiệu quả kháng oxy hóa của dịch thủy phân một phần thu được sau quá trình thủy phân BSG bằng enzim được tính tương đương µg/mL Trolox. Kết quả được trình bày trong bảng 2. Mẫu S2 với nồng độ enzim 0,2 U/mL cho thấy, sự khác biệt có nghĩa về khả năng khử sắt so với mẫu đối chứng. Bên cạnh đó, sự chênh lệch trong kết quả giữa các mẫu thủy phân và mẫu thô được nhận thấy tăng dần xấp xỉ 30 - 72%. Nguyên nhân có thể là do có nhiều nhóm hydroxyl đuôi mang tính khử lớn, được lộ ra sau quá trình xử lý bằng enzim và loại bỏ các gốc tự do [21].

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Khả năng chống oxy hóa của các mẫu BSG thủy phân một phần là cao hơn đáng kể so với mẫu đối chứng trong nhiều thử nghiệm hiệu suất chống oxy hóa bao gồm DPPH, ABTS, FRAP và hoạt động bắt gốc tự do O_2^-. Lý giải cho hiện tượng này có thể là do sự lộ ra của các nhóm hydroxyl hoặc các nhóm chức năng khác có khả năng bắt các gốc tự do trong cấu trúc của dịch thủy phân. Hai nồng độ enzim vượt trội được khuyến nghị sử dụng để thu được BSG thủy phân một phần với khả năng chống oxy hóa cao nhất là 0,2 và 0,3 U/mL. Lý do là vì các kết quả mong muốn có thể được tìm thấy ở các nồng độ này với lượng enzim tương đối vừa phải, dẫn đến việc nâng cao hiệu quả thủy phân trong khi vẫn có thể tiết kiệm chi phí.

4.2. Kiến nghị

Ngoài sự xuất hiện của các nhóm chức năng có hoạt tính kháng oxy hóa thì cấu trúc, khối lượng phân tử và độ hòa tan cũng góp phần ảnh hưởng không nhỏ đến khả năng ứng dụng của các sản phẩm thủy phân. Do đó, những tính chất này nên được khảo sát, nghiên cứu và làm rõ ở các nghiên cứu tiếp theo.

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. Oliver, B. (1960). Medicinal plants in Nigeria. Nigerian College of arts. Science and Technology 21 (37), 52 - 53.

2. Nguefack, J., *et al.* (2007). Fungicidal potential of essential oils and fractions from Cymbopogon citratus, Ocimum gratissimum and Thymus vulgaris to control Alternaria padwickii and Bipolaris oryzae, two seed-borne fungi of rice *(Oryza sativa* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 19 (6), 581 - 587.

3. Matia - Merino, L., Prieto, M., Roman, L., & Gómez, M. (2019). The impact of basil seed gum on native and pregelatinized corn flour and starch gel properties. *Food hydrocolloids, 89*, 122 - 130.

4. Naji - Tabasi, S., Razavi, S. M. A., Mohebbi, M., & Malaekeh - Nikouei, B. (2016). New studies on basil (*Ocimum bacilicum* L.) seed gum: Part I-Fractionation, physicochemical and surface activity characterization. *Food hydrocolloids, 52*, 350 - 358.

5. Razavi, S. M., Mortazavi, S. A., Matia - Merino, L., Hosseini - Parvar, S. H., Motamedzadegan, A., & Khanipour, E. (2009). Optimisation study of gum extraction from Basil seeds (*Ocimum basilicum* L.). *International journal of food science & technology, 44*(9), 1755-1762.

6. Li, Y.-x., Liu, H.-j., Shi, Y.-q., Yan, Q.-j., You, X., & Jiang, Z.-q. (2020). Preparation, characterization, and prebiotic activity of manno - oligosaccharides produced from cassia gum by a glycoside hydrolase family 134 β-mannanase. *Food Chemistry, 309*, 125709.

7. Zhang, R., Li, X. Y., Cen, X. L., Gao, Q. H., Zhang, M., Li, K. Y., Zhou, J. P. (2021). Enzymatic preparation of manno-oligosaccharides from locust bean gum and palm kernel cake, and investigations into its prebiotic activity. *Electronic Journal of Biotechnology, 49*, 64-71.

8. Yang, C., Hu, C., Zhang, H., Chen, W., Deng, Q., Tang, H., & Huang, F. (2020). Optimation for preparation of oligosaccharides from flaxseed gum and evaluation of antioxydant and antitumor activities *in vitro*. *International journal of biological macromolecules, 153*, 1107-1116.

9. Zhang, Y. H., Song, X. N., Lin, Y., Xiao, Q., Du, X. P., Chen, Y. H., & Xiao, A. F. (2019). Antioxydant capacity and prebiotic effects of Gracilaria neoagaro oligosaccharides prepared by agarase hydrolysis. *International journal of biological macromolecules, 137*, 177-186.

10. International, A. (1999). Method 44-15.02: moisture-air-oven methods. *Approved methods of analysis.*

11. Chemists, A. A. O. C. (2013). Approved Methods of Analysis, 08-01.01 Ash. In: AACC International St. Paul, MN, USA.

12. Nielsen, S. S. (2010). Phenol-sulfuric acid method for total carbohydrates. In Food analysis laboratory manual (pp. 47-53): Springer.

13. AACC International. Approved Methods of Analysis. 11th Ed. Method 46-10.01. Crude protein-Improved Kjeldahl method. Available online only. AACCI: St. Paul, MN.

14. Al-Jassir, M. S. (1992). Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chemistry, 45*(4), 239-242.

15. Ni, H., Chen, F., Jiang, Z. D., Cai, M. Y., Yang, Y. F., Xiao, A. F., & Cai, H. N. (2015). Biotransformation of tea catechins using Aspergillus niger tannase prepared by solid state fermentation on tea byproduct. LWT-*Food Science and Technology, 60*(2), 1206-1213.

16. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxydant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis, 19*(6-7), 669-675.

17. Razavi, S., & Naji-Tabasi, S. (2017). Rheology and Texture of Basil Seed Gum: A New Hydrocolloid Source. In *Advances in Food Rheology and Its Applications* (pp. 405-435): Elsevier.

18. Dotaniya, M., Aparna, K., Dotaniya, C., Singh, M., & Regar, K. (2019). Role of soil enzymes in sustainable crop production. In *Enzymes in food biotechnology* (pp. 569-589): Elsevier.

19. Chen, B. (2010). Optimization of extraction of Tremella fuciformis polysaccharides and itsantioxydant and antitumour activities *in vitro*. *Carbohydrate polymers,* 81 (2), 420 - 424.

20. Xiong, F., Li, X., Zheng, L., Hu, N., Cui, M., & Li, H. (2019). Characterization and antioxydant activities of polysaccharides from Passiflora edulis Sims peel under different degradation methods. *Carbohydrate polymers, 218*, 46 - 52.

21. Hu, T.-G., Zou, Y.-X., Li, E.-N., Liao, S.-T., Wu, H., & Wen, P. (2021). Effects of enzymatic hydrolysis on the structural, rheological, and functional properties of mulberry leaf polysaccharide. *Food Chemistry, 355*, 129608.

ANTIOXIDANT CAPACITIES OF HYDROLYSATES FROM BASIL (*Ocimum basilicum* L. var. *pilosum* (Willd.) Benth.) SEED GUM TREATED BY ENZYMATIC HYDROLYSIS

Le Tran Hoai An, Le Ngoc Lieu

Summary

This study aims to investigate the effect of different β-glucosidase concentrations on the antioxidant capacities of partially hydrolyzed basil seed gum (BSG), including 2,2-diphenyl-1-pircryhydrazyl (DPPH) radical scavengingactivity, 2,2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ($ABTS^{\bullet+}$) radical scavenging activity, superoxide radical (O_2^-) scavenging activity, and ferric ion reducing antioxidant power (FRAP). β-Glucosidase was combined with various amounts of sodium phosphate buffer to obtain desirable contents of 0, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4 U/mL. BSG with extremely high carbohydrate content, accounting for 81.93% of the composition, was experienced with these enzyme solutions. After enzymatic treatment, the obtained hydrolyzed products corresponding to different enzyme concentrations were analyzed. The results showed that partially hydrolysates had significantly greater antioxidant powers, compared to the crude one, at an increasing level of approxymately 1 - 5%, 27 - 40%, 30 - 72%, and 7 - 82% in terms of O_2, DPPH, FRAP, and $ABTS^{\bullet+}$ assays, respectively. The enzyme concentrations of 0.2 U/mL and 0.3 U/mL were highly considered due to their economic value as well as they possessed the most desirable antioxidant results.

Keywords: *Antioxidant capacities, basil seed gum, β-glucosidase, enzymatic hydrolysis.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thanh Hòa
Ngày nhận bài: 20/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 17/4/2023
Ngày duyệt đăng: 24/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN SẤY ĐẾN HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA VÀ HÀM LƯỢNG PHYCOXYANIN CỦA TẢO *Spirulina*

Nguyễn Thùy Chi[1], Quản Lê Hà[1,*]

TÓM TẮT

Tảo *Spirulina* (*Arthrospira*), còn gọi là tảo xoắn, là một trong những loài vi tảo phổ biến nhất hiện nay được sử dụng làm thực phẩm bổ sung chất dinh dưỡng đem lại nhiều lợi ích cho sức khỏe con người. Tảo *Spirulina* có giá trị nhờ các thành phần hoạt chất, nhưng nhiều hoạt chất sinh học dễ bị biến đổi trong quá trình sấy như: Protein, axit amin, sắc tố, vitamin. Mục đích của nghiên cứu là xác định mức độ suy giảm hoạt tính chống oxi hóa và hàm lượng phycoxyanin (sắc tố lam-lục) - một loại sắc tố có giá trị sinh học trong tảo *Spirulina* khi sấy bằng các phương pháp và điều kiện sấy khác nhau để tìm ra phương án sấy tốt nhất. Phương pháp nghiên cứu đã sử dụng: Các phương pháp sấy (vi sóng, sấy phun, sấy đông khô, sấy lạnh); bao nang tảo *Spirulina* với gel alginat; phân tích hàm lượng phycoxyanin bằng phương pháp quang phổ và xác định hoạt tính chống oxy hóa bằng DPPH. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong số các phương pháp sấy đã khảo sát thì phương pháp sấy phun là phương pháp sấy thích hợp nhất để bảo toàn tối đa lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxi hóa của tảo *Spirulina*. Nghiên cứu chứng minh được ảnh hưởng có lợi của gel alginat natri trong việc bao nang tế bào tảo *Spirulina*, bảo vệ được phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa của tảo *Spirulina* trong quá trình sấy. Sau khi sấy ở nhiệt độ 50^0C, so với tảo *Spirulina* không bao nang, tảo *Spirulina* bao nang có hàm lượng phycoxyanin cao hơn 16,2% (đạt 104,74 ± 2,65 mg/g) và hoạt tính chống oxy hóa cao hơn 4,65% (đạt 52,03 ± 2,25% DPPH).

Từ khoá: *Alginat natri, bao nang, hoạt tính chống oxy hóa, phycoxyanin, Spirulina.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tảo *Spirulina* (*Arthrospira*), hay tảo xoắn là loại tảo lam thuộc nhóm vi khuẩn lam (*Cyanobacteria*) chứa 55 - 70% protein, 6 - 9% chất béo, 15 - 20% hidrat các bon và rất giàu các nguyên tố vi lượng, vitamin, chất xơ và các loại sắc tố [1]. Tảo *Spirulina* được sử dụng làm thực phẩm bổ sung và phụ gia thực phẩm, làm chất tạo màu và chất nhũ hóa [2]. Sản lượng tảo *Spirulina* hàng năm trên thế giới ngày càng tăng, từ năm 2005 - 2013 sản lượng tăng từ 3.000 - 5.500 tấn tảo khô [3]. Theo Matej Mikulic (2022) [4], doanh thu tảo *Spirulina* trên thị trường toàn cầu đạt 400 triệu USD vào năm 2019 và dự báo tăng đến 1 tỷ USD vào năm 2030.

Tảo *Spirulina* chứa một loạt các chất màu, bao gồm carotenoit, chlorophyll và phycobiliprotein. Hàm lượng phycoxyanin chiếm tới 20% khối lượng khô của tảo *Spirulina* [5]. Phycoxyanin được sử dụng làm thành phần dinh dưỡng, thuốc nhuộm màu tự nhiên, chất đánh dấu huỳnh quang, làm chất chống oxy hóa và chất kháng viêm [5]. Tảo *Spirulina* được nuôi trồng và làm khô bằng các phương pháp sấy khác nhau. Các phương pháp sấy phun, sấy đông khô, sấy tự nhiên dưới ánh nắng mặt trời và sấy đối lưu là những phương pháp sấy được sử dụng để sấy tảo. Nhưng trong tảo có chứa nhiều thành phần hoạt chất dễ bị biến đổi bởi tác dụng nhiệt và oxy không khí. C-PC là thành phần nhạy với nhiệt độ, ánh sáng và pH. Nhiệt độ sấy trên 60^0C sẽ làm giảm hàm lượng C-PC [6].

Các phương pháp sấy truyền thống có thể giảm chi phí sấy tảo nhưng chất lượng thấp. Nghiên cứu của Betül Güroy và cs (2017) [7] cho thấy, ưu điểm của phương pháp sấy đông khô (-60^oC, 22 giờ) so với phương pháp sấy khí nóng

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
*Email: ha.quanle@hust.edu.vn

thông thường (80°C, 7 giờ là bảo toàn tuyệt đối lượng C-PC ban đầu 27,3 mg/100 mg. Nghiên cứu của Sarada và cs (1996) [8] cho thấy, sấy phun ở 150°C sẽ làm tổn thất 45% phycoxyanin, còn sấy khí nóng 60°C, 7 giờ thì tổn thất 46%. Nghiên cứu của Mariana Demarco và cs (2022) [9] cho thấy, kỹ thuật sấy tiên tiến - sấy chân không lớp mỏng băng dính (3 mm) ở điều kiện nhiệt độ 40 - 60°C là nhanh nhất (90 - 180 phút) và bảo toàn được hàm lượng phycoxyanin tốt nhất (còn 80 - 90% so với trước khi sấy).

Sử dụng tảo *Spirulina* bao nang được nghiên cứu áp dụng trong sản xuất mì ống chức năng cho thấy, tính ổn định đối với quá trình xử lý nhiệt [10]. Việc nghiên cứu sử dụng alginat natri bao nang được áp dụng rộng rãi cho các sản phẩm chứa protein vì có khả năng tạo gel với ion canxi [11] và gel alginat natri có độ xốp cao nên giảm thiểu sự biến tính của protein khi sấy, đồng thời có khả năng giải phóng nhanh protein ra khỏi gel khi sử dụng [12]. Mục đích của nghiên cứu này là tìm giải pháp sấy tảo S*pirulina* nhằm hạn chế sự suy giảm hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa sau khi sấy bằng cách sử dụng gel alginat bao ngoài tảo *Spirulina* trước khi đem sấy và so sánh với một số phương pháp sấy thường dùng.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Tảo *Spirulina* sử dụng trong nghiên cứu được Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học vi tảo, Học viện Nông nghiệp Việt Nam cung cấp ở dạng tươi.

Mẫu tảo *Spirulina* tươi được đem đông lạnh ở nhiệt độ -18°C, bảo quản và sử dụng trong thời gian 30 ngày. Khi sử dụng tảo *Spirulina* lạnh đông, đem rã đông mẫu ở nhiệt độ phòng và tiến hành các thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tảo *Spirulina* được sấy bằng 4 phương pháp sấy: Vi sóng, sấy phun, sấy lạnh, sấy đối lưu. Tất cả các mẫu tảo *Spirulina* khô thu được sau quá trình sấy sẽ được xác định độ ẩm, tách chiết phycoxyanin để xác định hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa.

2.2.1. Quy trình sấy mẫu tảo Spirulina bằng phương pháp vi sóng

Cân 30 g mẫu tảo *Spirulina* dàn đều mẫu lên đĩa sứ đường kính 15 cm với độ dày mẫu là 1 mm. Sau đó, cho đĩa chứa tảo *Spirulina* vào lò vi sóng. Thiết lập chế độ sấy: 20% (100 W) trong 20 phút.

2.2.2. Quy trình sấy mẫu tảo Spirulina bằng phương pháp sấy phun

Cân 30 g tảo *Spirulina* vào cốc thủy tinh và pha loãng bằng nước cất với nồng độ 10% (w/v, khối lượng chất khô/thể tích).

Tiến hành sấy phun bằng máy sấy phun (Buchi, Thụy sỹ) với tốc độ bơm là 21%, nhiệt độ đầu vào 120°C, nhiệt độ đầu ra 78°C.

2.2.3. Quy trình sấy mẫu tảo Spirulina bằng phương pháp sấy lạnh

Cân 30 g tảo *Spirulina* tươi (tảo *Spirulina* lạnh đông) dàn đều lên bề mặt đĩa sứ có đường kính 15 cm, độ dày mẫu là 1 mm. Tiến hành sấy trong tủ sấy lạnh ở nhiệt độ 4°C trong 72 giờ.

2.2.4. Quy trình sấy mẫu tảo Spirulina bằng phương pháp sấy đối lưu

Cân 30 g tảo *Spirulina* tươi vào đĩa, dàn đều lên bề mặt đĩa sứ có đường kính 15 cm. Tiến hành sấy mẫu trong tủ sấy ở nhiệt độ 50, 60, 70 và 80°C đến khối lượng không đổi. Tốc độ tác nhân sấy 2,5 m/s.

2.2.5. Phương pháp bao nang tảo Spirulina bằng alginat natri

Chuẩn bị dung dịch alginat natri nồng độ alginat natri là 3% (w/v). Trộn tảo *Spirulina* với gel theo tỷ lệ 15% (w/v). Đem hỗn hợp gel - tảo *Spirulina* nhỏ thành giọt vào cốc chứa 200 mL dung dịch $CaCl_2$ 2%, khoảng cách từ đầu kim tiêm đến mặt dung dịch $CaCl_2$ là 4 cm, tạo thành các hạt gel tảo *Spirulina* đường kính 1 mm. Để các hạt gel trong dung dịch $CaCl_2$ trong 30 phút. Sau đó lọc và rửa hạt gel 2 - 3 lần với nước cất. Các hạt tảo *Spirulina* bao trong gel được đem thí nghiệm sấy ở nhiệt độ 50, 70 và 80°C trong 4 giờ.

Tảo *Spirulina* trong gel trước khi sấy và sau khi sấy được đem hòa tan trong xitrat, xác định hàm lượng phycoxyanin cũng như hoạt tính chống oxy hóa.

Hạt gel không sấy được hòa tan trong dung dịch đệm xitrat natri 5% (tỷ lệ 1 g chất khô: 10 ml đệm). Sau đó, lấy 5 ml dịch này hòa tan vào 5 ml đệm phốt phát pH 7.

Hạt gel khô sau sấy được hòa tan trong xitrat natri 5% (tỷ lệ 1 g chất khô: 10 ml đệm). Sau đó, lấy 1 ml dịch này hòa tan vào 9 ml đệm phốt phát pH 7.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Phương pháp xác định hàm lượng phycoxyanin

Chuẩn bị dịch chiết phycoxyanin từ các mẫu tảo *Spirulina* phân tích: tảo *Spirulina* tươi/lạnh đông được pha trong dung dịch đệm phốt phát pH7 với tỷ lệ 1: 10 (w/v), ngâm chiết ở 4°C trong 24 giờ. Sau đó, ly tâm để thu dịch chiết. Hỗn dịch chiết được ly tâm ở 4°C, 6.000 vòng/phút, trong 10 phút để lấy phần dịch có chứa phycoxyanin, loại bỏ cặn. Với dịch chiết thu được, tiến hành đo độ hấp thụ quang phổ (OD) để xác định hàm lượng phycoxyanin. Kết quả thí nghiệm là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại thí nghiệm.

Hàm lượng phycoxyanin được xác định theo phương pháp sau [13]:

Nồng độ C-phycoxyanin (CPC) (mg/ml) được tính toán từ độ hấp thụ quang phổ của dịch chiết đo ở bước sóng 620 nm và 652 nm theo phương trình 1 (PT1):

$$CPC = \frac{(OD620 - 0{,}474 \times OD652)}{5{,}34} \; n \qquad \text{(PT1)}$$

Trong đó: n là độ pha loãng; OD620 là độ hấp thụ quang phổ đo ở bước sóng 620 nm; OD652 là độ hấp thụ quang phổ đo ở bước sóng 652 nm.

Hàm lượng phycoxyanin (mg/g chất khô) được tính toán theo phương trình 2 (PT2):

$$Hàm\ lượng\ phycoxyanin = \frac{CPC \times V \times 100}{M\ (100 - W)} \qquad \text{(PT2)}$$

Trong đó: CPC là nồng độ phycoxyanin (mg/ml); V là thể tích đệm phốt phát để pha loãng mẫu, ml; M là lượng chất khô dùng để pha loãng, mg; W là Độ ẩm của mẫu sau sấy, %.

2.3.2. Phương pháp xác định khả năng bắt gốc tự do DPPH

Nguyên tắc: Hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết tảo *Spirulina* được xác định bằng khả năng bắt gốc tự do DPPH theo phương pháp mô tả của Sagar và cs (2011) [14].

Tên khoa học của DPPH là 2.2 diphenyl-picryhydrazyl, có màu tím, phân tử không bị dime hóa như một số gốc tự do khác, có khả năng tạo ra các gốc tự do bền trong dung môi hữu cơ, có độ hấp thụ cực đại với bước sóng 517 nm. Khi cho các chất thử nghiệm vào dung dịch DPPH, nếu chất có khả năng làm trung hòa hoặc bao vây các gốc tự do sẽ làm giảm cường độ hấp thụ ánh sáng của các gốc tự do DPPH. Khi đó, các gốc tự do DPPH sẽ chuyển về dạng khử có màu vàng nhạt (màu của nhóm picryl.

- Chuẩn bị dung dịch DPPH 62,5 µM trong ethanol 95% (v/v).

- Chuẩn bị mẫu cần đo là các dịch chiết tảo *Spirulina* tươi và tảo *Spirulina* khô sau sấy bằng các phương pháp sấy khác nhau và điều kiện sấy khác nhau.

- Tiến hành phản ứng: Cho 0,1 ml dịch chiết vào ống falcon 20, thêm 1,9 ml dung dịch DPPH, lắc đều, để yên trong bóng tối 20 phút. Đo độ hấp thu quang phổ (OD) bằng máy đo quang phổ (UV-VIS Spectrophotometer, Genesys) ở bước sóng 517 nm. Kết quả thí nghiệm là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại thí nghiệm. Mẫu đối chứng gồm 0,1 ml ethanol và 1,9 ml dung dịch DPPH.

Khả năng quét gốc tự do (% DPPH) được tính theo công thức ở phương trình 3 (PT3):

$$\%DPPH = \frac{ODc - ODs}{ODs} \qquad \text{(PT3)}$$

Trong đó: Odc là độ hấp thụ quang của mẫu đối chứng; Ods là độ hấp thụ quang của mẫu thí nghiệm.

2.3.3. Xác định độ ẩm bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi

Sử dụng thiết bị sấy phân tích độ ẩm Satorius (Đức).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần, số liệu được tính toán là giá trị trung bình của 3 lần thí nghiệm độc lập và giá trị biểu diễn là giá trị trung bình ± sai số. Sai số cho phép nhỏ hơn 5%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của điều kiện bảo quản đến hoạt tính chống oxy hóa và hàm lượng phycoxyanin

Bảng 1. Hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxi hóa của tảo *Spirulina*

Tên mẫu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng phycoxyanin mg/g chất khô	Tỷ lệ tổn thất phycoxyanin (%)	Hoạt tính chống oxy hóa (% DPPH)
Tảo *Spirulina* tươi	84,31 ± 0,28	161,63 ± 4,13		68,57 ± 2,81
Tảo *Spirulina* lạnh đông	83,52 ± 0,51	122,13 ± 3,94	24,44%	55,53 ± 1,56

Hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa của nguyên liệu tảo *Spirulina* tươi và tảo *Spirulina* bảo quản lạnh đông (- 12°C, 72 giờ) được trình bày ở bảng 1.

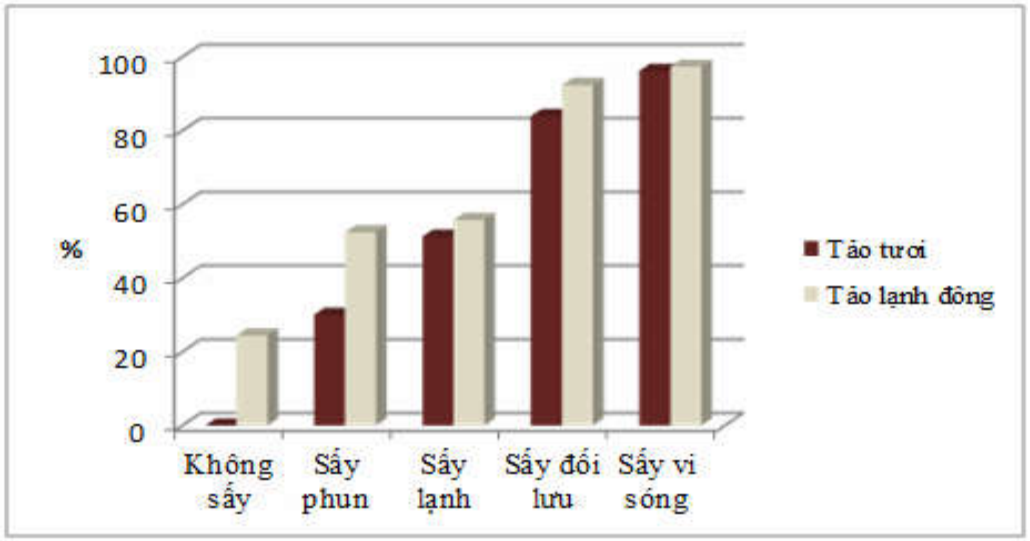
Bảng 1 cho thấy, mẫu tảo *Spirulina* tươi có hàm lượng phycoxyanin cao hơn so với mẫu lạnh đông. Tỷ lệ tổn thất phycoxyanin ở mẫu lạnh đông là 24,44% so với mẫu ban đầu. Khả năng bắt gốc tự do DPPH của mẫu tảo *Spirulina* tươi là 68,57 ± 2,81%. Trong khi đó, khả năng bắt gốc tự do DPPH của mẫu tảo *Spirulina* lạnh đông có xu hướng giảm so với mẫu tảo *Spirulina* tươi (còn 55,53 ± 1,56%). Phân tích tảo *Spirulina* bảo quản lạnh đông cho thấy, điều kiện bảo quản lạnh cũng có ảnh hưởng đến hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa. Như vậy, trong khi bảo quản lạnh đông, hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa của tảo *Spirulina* đều giảm xuống, do thời gian bảo quản dài.

3.2. Ảnh hưởng của các phương pháp sấy tảo *Spirulina* đến hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxi hóa

Mẫu tảo *Spirulina* tươi và tảo *Spirulina* lạnh đông sau khi sấy bằng phương pháp khác nhau sẽ được phân tích hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa. Kết quả phân tích được trình bày ở bảng 2.

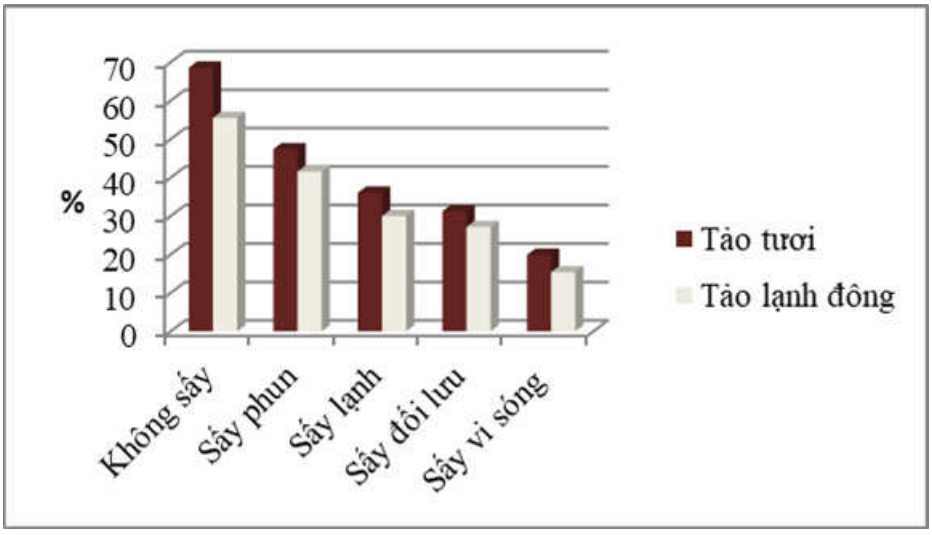
Bảng 2. Hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa của tảo *Spirulina* khô sau sấy bằng các phương pháp khác nhau

Phương pháp sấy	Tên mẫu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng phycoxyanin mg/g chất khô	Tỷ lệ tổn thất phycoxyanin so với mẫu tươi không sấy (%)	Hoạt tính chống oxy hóa (% DPPH)
Sấy phun	Tảo *Spirulina* tươi	7,30 ± 0,21	113,10 ± 3,24	30,02	47,39 ± 1,03
	Tảo *Spirulina* lạnh đông	12,56 ± 0,42	76,92 ± 1,45	52,41	41,56 ± 1,14
Sấy lạnh	Tảo *Spirulina* tươi	6,3 ± 0,13	78,75 ± 1,39	51,28	36,07 ± 0,08
	Tảo *Spirulina* lạnh đông	7,24 ± 0,08	71,44 ± 1,75	55,80	30,01 ± 0,05
Sấy đối lưu	Tảo *Spirulina* tươi	4,08 ± 0,12	25,82 ± 0,62	84,03	31,25 ± 0,08
	lạnh đông	6,33 ± 0,17	12,24 ± 0,28	92,43	27,14 ± 0,08
Sấy vi sóng	Tảo *Spirulina* tươi	3,86 ± 0,05	6,02 ± 0,09	96,27	19,89 ± 0,04
	Tảo *Spirulina* lạnh đông	3,24 ± 0,04	4,24 ± 0,07	97,38	15,39 ± 0,03



Hình 1.Tỷ lệ tổn thất hàm lượng phycoxyanin khi sử dụng các phương pháp sấy khác nhau

Hình 1 cho thấy, tảo *Spirulina* sau khi sấy có hàm lượng phycoxyanin giảm tùy thuộc vào phương pháp sấy. Đối với cả mẫu tảo *Spirulina* tươi lẫn mẫu tảo *Spirulina* lạnh đông thì tỷ lệ tổn thất phycoxyanin đều tăng trong tất cả các phương pháp sấy. Tỷ lệ tổn thất phycoxyanin nhiều nhất ở mẫu tảo *Spirulina* sấy vi sóng, ở cả mẫu tảo *Spirulina* tươi và tảo *Spirulina* lạnh đông. Phương pháp sấy phun cho tỷ lệ tổn thất phycoxyanin thấp nhất với tỷ lệ là 30,02% ở mẫu tảo *Spirulina* tươi và 52,41% ở mẫu tảo *Spirulina* lạnh đông. Như vậy, phương pháp sấy phun là phương pháp sấy giúp bảo toàn hàm lượng phycoxyanin tốt nhất trong 4 phương pháp sấy được nghiên cứu. Phương pháp sấy lạnh trong nghiên cứu này tiến hành ở 4^0C nhưng thời gian kéo dài (72 giờ) cho nên các hoạt tính sinh học của sản phẩm không tốt bằng phương pháp sấy phun.



Hình 2. Ảnh hưởng của phương pháp sấy đến hoạt tính chống oxi hóa (% DPPH)

Hình 2 cho thấy, hoạt tính chống oxy hóa của mẫu tảo *Spirulina* tươi và tảo *Spirulina* lạnh đông sau khi sấy bằng 4 phương pháp khác nhau. Hoạt tính chống oxy hóa đều giảm sau khi sấy ở tất cả các phương pháp sấy đối với cả mẫu tảo *Spirulina* lạnh đông và mẫu tảo *Spirulina* tươi. Hoạt tính chống oxy hóa cao nhất ở mẫu sấy phun (đạt tỷ lệ tương ứng là 47,39 ± 1,03% và 41,56 ± 1,14% tương ứng với mẫu tảo *Spirulina* tươi và tảo *Spirulina* lạnh đông), sau đó là mẫu sấy lạnh (đạt tỷ lệ tương ứng là 36,07 ± 0,08% và 30,01 ± 0,05%) và sấy đối lưu (đạt tỷ lệ tương ứng là 31,25 ± 0,08% và 27,14 ± 0,08%). Khả năng quét gốc DPPH ở mẫu sấy vi sóng là thấp nhất (đạt tỷ lệ tương ứng là

19,89 ± 0,04% và 15,39 ± 0,03%). Như vậy có thể thấy phương pháp sấy phun là phương pháp tốt nhất trong nghiên cứu này, giúp bảo toàn tối đa hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxi hóa trong tảo *Spirulina.*

3.3. Nghiên cứu sấy tảo *Spirulina* bao nang với gel alginat

Mẫu tảo *Spirulina* sau khi được bao nang với gel alginat natri sẽ được sấy đối lưu ở 3 khoảng nhiệt độ khác nhau 50°C, 70°C và 80°C. Mẫu tảo *Spirulina* khô không bao nang và bao nang sau khi sấy được đem phân tích hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa và được trình bày ở bảng 3 và 4.

Bảng 3 cho thấy, đối với tảo *Spirulina* không bao nang khi tăng nhiệt độ sấy từ 50^{0}C lên 80^{0}C, tỷ lệ tổn thất phycoxyanin tăng từ 26,19 - 89,97% và hoạt tính chống oxy hóa giảm dần, từ 47,38 ± 1,35% xuống 27,14 ± 0,08%. Nhiệt độ sấy tốt nhất trong 3 chế độ nhiệt khảo sát là 50°C. Kết quả nghiên cứu này tương tự kết quả của Oliveira và cs (2010) [15]. Như vậy, nhiệt độ sấy có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxi hóa của tảo *Spirulina* khi sử dụng phương pháp sấy đối lưu. Nhiệt độ sấy càng tăng thì hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa của tảo *Spirulina* càng giảm.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa của tảo *Spirulina* không bao nang

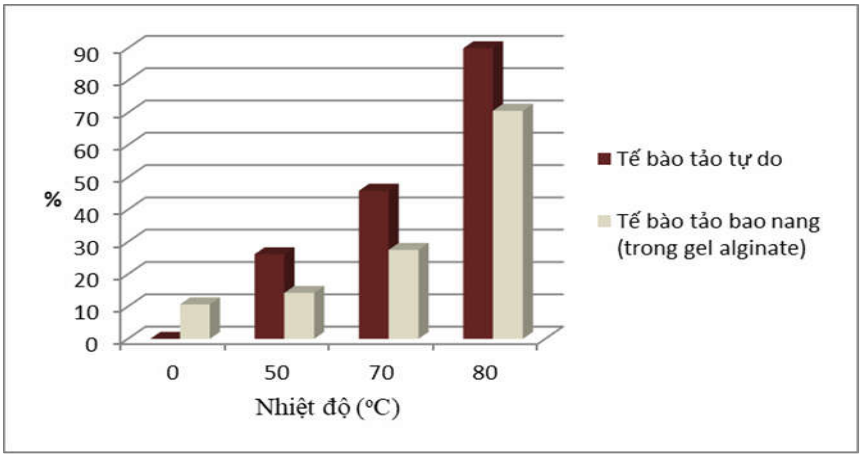
Tên mẫu	Nhiệt độ sấy (^{0}C)	Độ ẩm (%)	Hàm lượng phycoxyanin mg/g chất khô	Tỷ lệ tổn thất phycoxyanin so với mẫu trước khi sấy (%)	Hoạt tính chống oxy hóa (% DPPH)
1	0	83,52 ± 0,51	122,13 ± 3,94		55,53 ± 1,56
2	50	7,98 ± 0,02	90,14 ± 2,43	26,19	47,38 ± 1,35
3	70	6,3 ± 0,01	66,12 ± 1,23	45,86	43,78 ± 1,12
4	80	6,33 ± 0,16	12,24 ± 0,05	89,97	27,14 ± 0,08

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hàm lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa của tảo *Spirulina* bao nang

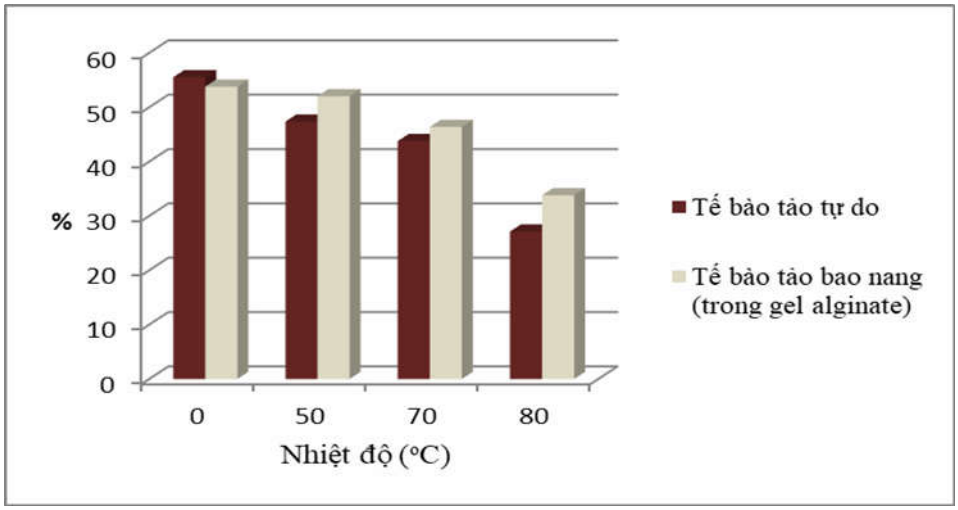
Tên mẫu	Nhiệt độ sấy (^{0}C)	Độ ẩm (%)	Hàm lượng phycoxyanin mg/g chất khô	Tỷ lệ tổn thất phycoxyanin so với mẫu trước khi sấy (%)	Hoạt tính chống oxy hóa (% DPPH)
1	0	83,52 ± 0,51	109,08 ± 5,28	-	53,81 ± 1,36
2	50	4,28 ± 0,03	104,74 ± 2,65	3,97	52,03 ± 2,25
3	70	4,46 ± 0,05	88,48 ± 3,21	18,89	46,39 ± 1,71
4	80	4,85 ± 0,08	35,86 ± 1,74	67,13	33,82 ± 0,08

Bảng 4 cho thấy, ở mẫu tảo *Spirulina* bao nang, khi tăng nhiệt độ sấy thì tỷ lệ thất thoát phycoxyanin tăng dần từ 3,97 - 67,13% tương ứng với hoạt tính chống oxy hóa giảm dần, từ 52,03 ± 2,25% xuống 33,82 ± 0,08%. Như vậy, khi nhiệt độ sấy tăng sẽ làm giảm hoạt tính sinh học của tảo *Spirulina* không bao nang lẫn tảo *Spirulina* bao nang.

Hình 3 cho thấy, sự ảnh hưởng của nhiệt độ và trạng thái tế bào đến tỷ lệ tổn thất phycoxyanin trong tảo *Spirulina* sau khi sấy. Khi tảo *Spirulina* không được bao nang (tế bào tự do) thì tỷ lệ tổn thất phycoxyanin lớn hơn ở các nhiệt độ sấy. Tổn thất nhiều nhất khi sấy ở 80°C, với trạng thái không bao nang thì tổn thất là 89,97%, trong khi hạt bao nang chỉ tổn thất 67,13%



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và trạng thái tế bào tảo *Spirulina* đến tỷ lệ tổn thất phycoxyanin (%)



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ và trạng thái tế bào tảo *Spirulina* đến hoạt tính chống oxy hóa (% DPPH)

Hình 4 cho thấy, hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu tảo *Spirulina* bao nang sau khi sấy cao hơn so với mẫu tảo *Spirulina* không bao nang và nhiệt độ sấy 50°C là chế độ sấy giữ được hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất. Kết quả ở bảng 3 và 4 cho thấy, ở chế độ sấy 50°C, hoạt tính chống oxy hóa của tảo *Spirulina* bao nang đạt 52,03 ± 2,25% DPPH, cao hơn 4,65% so với tảo *Spirulina* không bao nang (47,38 ± 1,35% DPPH).

Hình 3 và 4 cho thấy, ở các khoảng nhiệt độ sấy khác nhau, phycoxyanin trong mẫu tảo *Spirulina* bao nang đều cao hơn so với mẫu tảo *Spirulina* không bao nang và nhiệt độ sấy tối ưu nhất là 50°C. Ở điều kiện sấy đối lưu 50°C, hàm lượng phycoxyanin trong tảo *Spirulina* sấy đạt 104,74 mg/g cao hơn 16,2% so với tảo *Spirulina* không bao nang (90,14 mg/g).

4. KẾT LUẬN

Trong các phương pháp sấy đã khảo sát (sấy vi sóng, sấy phun, sấy lạnh, sấy đối lưu đối) với tảo *Spirulina* tươi và tảo *Spirulina* lạnh đông thì phương pháp sấy phun là phương pháp sấy tảo *Spirulina* thích hợp nhất để bảo toàn tối đa lượng phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa do thời gian sấy ngắn.

Khi tăng nhiệt độ sấy từ 50 - 80°C trong phương pháp sấy đối lưu, hoạt tính chống oxy hóa giảm và tỷ lệ tổn thất phycoxyanin tăng. Với nhiệt độ 50°C, sau khi sấy tảo *Spirulina* tươi, tỷ lệ tổn

thất phycoxyanin là thấp nhất (26,19%) và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất (47,38±1,35% DPPH).

Gel alginat natri có tác dụng bảo vệ được phycoxyanin và hoạt tính chống oxy hóa của tảo *Spirulina* trong quá trình sấy. So với tảo *Spirulina* không bao nang (dạng tế bào tự do), sau khi sấy ở nhiệt độ 50°C, tảo *Spirulina* bao nang có hàm lượng phycoxyanin cao hơn 16,2% (đạt 104,74 ± 2,65 mg/g) và hoạt tính chống oxy hóa cao hơn 4,65% (đạt 52,03 ± 2,25% DPPH).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kay R. A. (1991). Microalgae as food và supplement. Crit. Rev. Food Sci Nutr, 30 (6), 555 - 573, doi: 10.1080/10408399109527556.

2. Lafarga, José María Fernández - Sevilla, Cynthia González -López, Francisco Gabriel Acién -Fernández (2020). Spirulina for the food and functional food industries. Food research International, vol 37, November 2020, https:// doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109356

3. Nawal K. Z., Alfadhly, Nawfal Alhelfi, Amma B. Altemimi, Deepak Kumar Verma, Francesco Cacciola (2022). Tendencies Affecting the Growth and Cultivation of Genus *Spirulina*: An Investigative Review on Current Trends. Plants 2022, 11 (22), 3063; https://doi.org/10. 3390/plants11223063.

4. Matej Mikulic (2022). *Spirulina* market size worldwide 2019-2030. Statista, 22/4/2022. https:// www.statista.com/statistics/1258206/worldwide-spirulina-revenues/.

5. Devendra Kumar, Dolly Wattal Dhar, Sunil Pabbi, Neeraj Kumar, Suresh Walia (2014). Extraction and purification of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* (CCC540). Ind. *J. Plant Physiol.*, 19 (2) 184 - 188.

6. Oliveria E. G., Rosa G. S., Moraes M. A., Pinto L. A. A. (2008). Phycocyanin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer. *Journal of food process engineering*, 31 (1), 34 - 50.

7. Betül Güroy, Onur Karadal, Serhan Mantoglu, Oya Irmak Cebeci (2017). Effects of different drying methods on C-phycocyanin content of *Spirulina platensis* powder. Ege. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34 (2), 129 – 132. http://doi.org/10.12714/egejfas.2017.34.2.02.

8. Sarada R., Pillai M. G., Ravishankar G. A. (1996). Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. Process Biochemistry, 34 (8),795 - 801. https:// doi.org/10.1016/S0032-9592(98)00153-8.

9. Mariana Demarco, Jaqueline Olivera de Moraes, Mariana Costa Ferari, Fasbio de Farias Neves, Joao Borges Laurindo, Giustino Tribuz (2022). Production of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) powder by innovative and traditional drying techniques. *J.of Food Process Engineering*, 45 (1), http://doi.org/10.1111/jfpe.13919.

10. Zen C. K., Tiepo C. B. V., da Silva R. V., Reinehr C. O., Gutkoski L. C., Oro T., Colla L. M. (2020). Development of functional pasta with microencapsulated *Spirulina*: Technological and sensorial effects. *J. Sci. Food Agric*. 100, 2018 - 2026.

11. Ramos P. E., Cerqueira M. A., Teixeira J. A., Vicente A. A. (2018). Physiological protection of probiotic microcapsules by coatings. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 58, 1864 - 1877.

12. Yu C. Y., Jia L. H., Cheng S. X., Zhang X. Z., Zhuo R. X. (2010). Fabrication of microparticle protein delivery systems based on calcium alginate. *J. Microencapsul,* 27, 171 – 177.

13. Bennett A., Bogorad L. (1973). Comparative chromatic adaption in filamentous blue-green alga. *Journal of Cell biology*, 58, 419 - 435.

14. Sagar B. Kedare and R. P. Singh (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J. Food Sci.* Technol. 2011 Aug; 48(4): 412–422. doi: 10.1007/s13197-011-0251-1.

15. Oliveira E. G., Duarte J. H., Moraes K., Crexi V. T. and Pinto L. A. A. (2010). Optimisation of *Spirulina platensis* convective drying: Evaluation of phycocyanin loss and lipid oxidation. *International Journal of Food Science and Technology*, 45 (8), 1572 - 1578.

INFLUENCES OF DRYING METHODS ON PHYCOCYANIN CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Spirulina*

Nguyen Thuy Chi[1], Quan Le Ha[1,*]

[1] *School of Biotechnology and Food technology, Hanoi University of Science and Technology*

** Email: ha.quanle@hust.edu.vn*

Summary

Algae *Spirulina (Arthrospira),* also called spiral algae, is one of the most popular microalgae species currently used as nutritional supplements with many benefits for human health. Supplementing with *Spirulina* every day helps to keep the body healthy and prevent many different diseases. *Spirulina* is valuable for its active ingredients, but many biologically active substances are easily changed during drying such as proteins, amino acids, pigments, vitamins. The purpose of the study is to determine the degree of decrease in antioxidant activity and the content of phycocyanin - a pigment of biological value in *Spirulina* algae when dried by different drying methods and conditions to find out the best method for drying *Spirulina*. In this research, drying methods were used: microwave, spray drying, freeze drying, freeze drying; algae was encapsulated with alginate gel; phycocyanin content were determined by spectrophotometric method and antioxidant activity were determined by DPPH free radical scavenging assay. The results show that, among the investigated drying methods, spray drying is the most suitable drying method to preserve the maximum amount of phycocyanin and antioxidant activity of *Spirulina*. The study demonstrated the beneficial effect of sodium alginate gel on encapsulation of algal cells, protecting phycocyanin and antioxidant activity of algae during drying. After drying at 50^0C, in comparision with non-capsulated algae, the encapsulated algae had a higher phycocyanin content of 16.2% (reaching 104.74 ± 2.65 mg/g) and a higher antioxidant activity of 4.65% (reaching 52.03 ± 2.25% DPPH).

Keywords: *Sodium alginate, encapsulation, antioxidant activity, phycocyanin, Spirulina.*

Người phản biện: PGS.TS. Lại Quốc Đạt

Ngày nhận bài: 15/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 12/4/2023
Ngày duyệt đăng: 19/4/2023

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH SẢN XUẤT CƠM ĂN LIỀN ĐÓNG TÚI RETORT

Nguyễn Thị Tâm Thư[1, *], Phạm Trọng Nghĩa[1, 2],
Nguyễn Hoàng Anh[2], Phạm Kiên Cường[1]

TÓM TẮT

Cơm ăn liền là sản phẩm chế biến sẵn tiện lợi, được sử dụng cho người không có điều kiện hoặc hạn chế thời gian nấu ăn như khi đi trên biển, trường hợp bị cô lập do bão, lũ lụt. Trên thị trường hiện nay đã có một số sản phẩm cơm ăn liền của Việt Nam, Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc. Tuy nhiên, các sản phẩm này trước khi ăn vẫn cần làm nóng lại bằng lò vi sóng hay nước sôi (do hiện tượng lại gạo). Trong một số trường hợp, đặc biệt như bão lũ thì không thể có lò vi sóng hay nước nóng nên cơm ăn liền vẫn chưa phát huy hết hiệu quả. Nghiên cứu này sử dụng công nghệ retort kết hợp với xử lý gạo trước khi nấu để tạo ra cơm ăn liền không bị lại gạo khi bảo quản. Sản phẩm "Cơm ăn liền đóng túi retort" chế biến từ gạo ST25 đảm bảo sự tiện lợi và giá trị dinh dưỡng, cảm quan cũng như độ an toàn thực phẩm trong thời gian bảo quản dài. Kết quả cho thấy, khi ngâm gạo trong 2 giờ, hấp ở 100℃ trong 40 phút, bổ sung 0,05% phụ gia PG, đóng túi, tiệt trùng 115℃ trong 15 phút, sản phẩm cơm ăn liền sau chế biến có chất lượng cảm quan đạt mức điểm 24,63/32, trong 100 g sản phẩm năng lượng đạt 172 kcal, hàm lượng các chất glucid 38,6%, lipid 0,34%, protein 3,54%, các chỉ tiêu vi sinh vật vẫn đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm. Sau 2 tháng bảo quản trong điều kiện vi khí hậu (45°C, độ ẩm 75%), sản phẩm vẫn đảm bảo chất lượng về năng lượng và an toàn vệ sinh thực phẩm.

Từ khóa: *Bảo quản, cơm ăn liền, quy trình công nghệ, retort.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cùng với xu thế phát triển chung của xã hội, thực phẩm ăn nhanh, ăn liền ngày nay đã trở nên phổ biến và ngày càng có vị trí quan trọng trong đời sống hằng ngày. Các sản phẩm ăn liền như cháo ăn liền, phở ăn liền, miến ăn liền, mỳ ăn liền…đã góp phần làm cho việc chuẩn bị bữa ăn trở lên đơn giản, gọn nhẹ, thuận tiện khi sử dụng, thời gian bữa ăn được rút ngắn. Tuy nhiên, các sản phẩm trên không thể thay thế hoàn toàn cho cơm, vì ở nhiều nước trên thế giới, đặc biệt là châu Á, cơm là thành phần chính trong bữa ăn hằng ngày.

Ngày nay, nhu cầu sử dụng thực phẩm lại đa dạng đòi hỏi tính tiện dụng, chất lượng cao. Do đó cần phải nghiên cứu tạo ra các sản phẩm có thời gian bảo quản dài, cách thức bảo quản đơn giản. Bên cạnh đó trong các điều kiện thiên tai, bão lũ, cứu hộ cứu nạn, hoạt động dài ngày trên biển thì để nấu ăn rất khó thực hiện, do đó cần thiết có các dạng khẩu phần ăn chế biến sẵn, gọn nhẹ và đảm bảo dinh dưỡng trong đó có cơm.

Hiện nay, xu hướng sử dụng bao bì retort cho các sản phẩm thực phẩm rất phổ biến. Ưu điểm của loại bao bì này là nhỏ gọn, tiện lợi, tính kháng nhiệt tốt, thuộc tính bảo quản cao, kháng áp suất lớn, độ bền cao. Bao bì retort là loại bao bì phức hợp (gồm 4-5 lớp) có thể chứa màng nhôm hoặc không, có tính cản oxy, nước, ánh sáng (với bao bì chứa màng nhôm), truyền nhiệt và chịu nhiệt tốt. Theo Ksenia và Yurievna (2022), bao bì retort đáp ứng các yêu cầu của về an toàn và chất lượng theo tiêu chuẩn của Liên minh Hải quan (TR CU 005/2011) và GOST 32736 [1].

Trong các sản phẩm thực phẩm, việc sự dụng phụ gia làm tăng giá trị cho sản phẩm rất phổ biến. Trong đó PG (Propylene glycol, E1520) là loại phụ

[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

gia an toàn sử dụng trong thực phẩm theo Cơ quan An toàn thực phẩm châu Âu (EFSA) [2]. Propylene glycol thường được sử dụng như một chất phụ gia để hỗ trợ quá trình chế biến thực phẩm và cải thiện kết cấu, hương vị, hình thức và thời hạn sử dụng. Năm 1996, Ủy ban Khoa học về Thực phẩm (SCF) đã thiết lập lượng tiêu thụ hằng ngày có thể chấp nhận được (ADI) là 25 mg/kg khối lượng cơ thể mỗi ngày đối với PG [2].

Từ những vấn đề thực tiễn đặt ra việc cần phải có một sản phẩm cơm ăn liền đóng túi retort với chất lượng đảm bảo.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Nguyên liệu chính: Gạo ST25 loại túi 5 kg của Vinaseed sản xuất tháng 6/2022. Bao bì retort loại 4 lớp có màng nhôm (để cản ánh sáng) của Công ty Bảo Xuân (thành phố Hồ Chí Minh).

Các hóa chất dùng để phân tích vi sinh vật (các chất khoáng như $MgSO_4$, 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 (như 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. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian ngâm đến độ ẩm gạo

Tiến hành ngâm gạo ST25 với tỉ lệ gạo : nước ngâm là 1: 1,5 ở nhiệt độ phòng (25°C) trong các khoảng thời gian 10, 20, 30, 60, 120, 180, 240 phút. Tiến hành lặp lại 3 lần và ghi lại độ ẩm sau ngâm, từ đó chọn ra thời gian ngâm thích hợp. Đánh giá độ ẩm của gạo theo phương pháp sấy ở 105℃ đến khối lượng không đổi

2.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian hồ hóa

Cố định tỉ lệ gạo : nước ngâm, thời gian ngâm. Thay đổi thời gian hồ hóa gạo 5, 10, 15, 20, 30, 35 phút ở nhiệt độ phòng (25°C). Lặp lại thí nghiệm 3 lần, giá trị ghi nhận là độ ẩm gạo sau hồ hóa, đánh giá trạng thái. Từ đó chọn ra thời gian hồ hóa thích hợp nhất.

2.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ tiệt trùng đến chất lượng của sản phẩm

Ở thí nghiệm này, cố định tỉ lệ gạo: nước khi ngâm, thời gian ngâm, tỉ lệ gạo nước khi hấp, nhiệt độ hấp, thời gian hấp. Thử nghiệm trên hai điều kiện tiệt trùng được lựa chọn là 115℃ giữ nhiệt ở 15 phút (0,8 atm) và 121℃ giữ nhiệt ở 15 phút (1 atm). Kết quả thu nhận là chất lượng cảm quan của cơm sau tiệt trùng.

2.2.4. Đánh giá ảnh hưởng của tỉ lệ phụ gia PG

Cơm sau hấp được bổ sung phụ gia với các tỉ lệ 0,025%, 0,05%, 0,075%, tiệt trùng và bảo quản ở nhiệt độ 4 – 10℃ trong 24 giờ và kiểm tra mức độ thoái hóa tinh bột (độ lại gạo) bằng cách đánh giá cảm quan độ cứng của cơm.

2.2.5. Phương pháp phân tích

Chất lượng cảm quan cơm được đánh giá bằng phương pháp cho điểm theo Tiêu chuẩn ngành 10TCN 590: 2004 trên các chỉ tiêu: Mùi, độ mềm, độ dính, độ trắng và vị ngon.

Hàm lượng glucid của sản phẩm được xác định bằng phương pháp Bertand theo Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 4594: 88) [3].

Hàm lượng protein của sản phẩm được xác định bằng phương pháp Kjeldahl theo TCVN 8125: 2009 [4].

Hàm lượng lipid của sản phẩm được xác định bằng phương pháp Randall (TCVN 6555: 2011) [5].

Các chỉ tiêu vi khuẩn hiếu khí tổng số (VKHKTS), nấm men, nấm mốc được xác định bằng kỹ thuật đổ đĩa và đếm khuẩn lạc mọc trên môi trường thạch dinh dưỡng từ một lượng mẫu xác định (TCVN 4884: 2001) [6]. Chỉ tiêu *E. coli, Coliform* được xác định bằng phương pháp Most Probable Number (MPN) (SMEWW 9221.2017) [7].

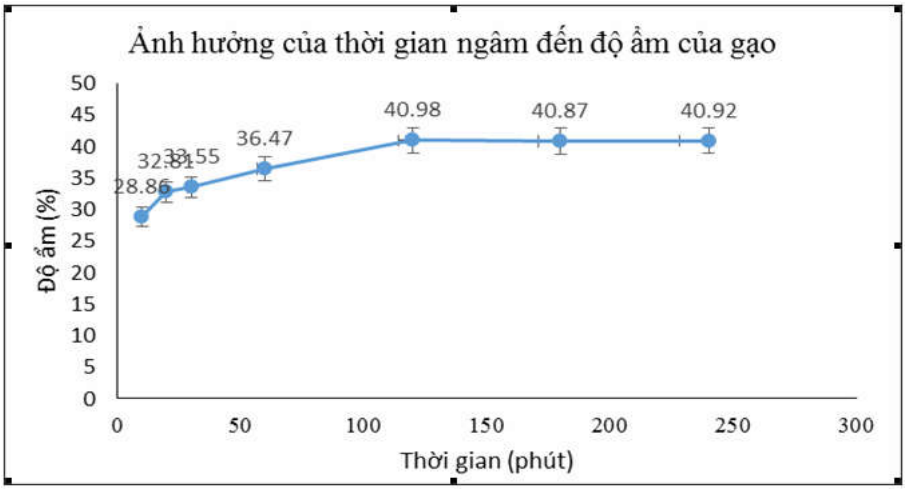
2.2.6. Phương pháp xử lí số liệu

Số liệu, biểu đồ, đồ thị được xử lí bằng chương trình Microsoft Excel. Phương sai được xử lí bằng phần mềm Minitap.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định thời gian ngâm gạo

Trong bảo quản các sản phẩm chế biến từ tinh bột thì hiện tượng thoái hóa tinh bột là một trong những tác nhân ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm. Mục đích của việc ngâm là để làm tăng độ ẩm, trương nở hạt gạo, rút ngắn thời gian gia nhiệt và hạn chế hiện tượng thoái hóa tinh bột.



Hình 1. Đồ thị biểu diễn sự thay đổi của độ ẩm theo thời gian ngâm

Đồ thị hình 1 cho thấy, trong vòng 120 phút đầu, độ ẩm của gạo tăng nhanh, sau 20 phút đầu độ ẩm tăng nhanh nhất, từ 28,86% lên 32,81%; từ 20 phút đến 60 phút ngâm gạo độ ẩm tăng từ 32,81% lên 36,47%, tăng chậm hơn 20 phút đầu. 60 phút tiếp theo độ ẩm tăng ít dần, từ 36,47% lên 40,89%, do lúc đầu sự chênh lệch nồng độ giữa dung dịch bên ngoài và bên trong hạt cao nên tốc độ khuếch tán nước từ bên ngoài vào bên trong hạt nhanh, do đó nước vào nhiều nên độ ẩm tăng nhanh.

Sau 120 phút bên trong hạt gạo và dung dịch ngâm có sự chênh lệch nồng độ không đáng kể, nên sự thẩm thấu nước từ ngoài vào trong hạt hầu như không có. Do đó, mặc dù tăng thời gian ngâm nhưng độ ẩm của hạt gạo không tăng nữa. Độ ẩm của hạt gạo đã cân bằng.

Theo kết quả xử lý ANOVA với mức ý nghĩa 5%, tương ứng với thời gian ngâm là 120 phút, mức tăng của độ ẩm là không có ý nghĩa. Do đó, chọn thời gian ngâm đối với gạo được xác định là 120 phút.

3.2. Kết quả nghiên cứu xác định thời gian hồ hóa

Mục đích khảo sát phương pháp hồ hóa nhằm chọn được phương pháp làm chín cơm với độ chín đều, tỉ lệ vỡ nát thấp, tổn thất chất dinh dưỡng ít. Theo Ali và cs (2012) [8], phương pháp hồ hóa gạo truyền thống là hấp cơm sẽ làm cho hạt cơm ít bị vỡ, chất lượng các hạt cơm sau hồ hóa đồng đều, độ mất chất khô không đáng kể.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian hấp đến độ ẩm và cảm quan của cơm ăn liền

Thời gian	10 phút	20 phút	30 phút	40 phút	50 phút
Độ ẩm (%)	33,85	34,45	34,72	41,69	41,85
Đặc điểm cảm quan	Cơm chưa chín, rất cứng	Cơm chưa chín	Cơm chín phần ngoài, lõi còn cứng	Cơm chín đều, bề mặt ráo nước	Cơm chín, một phần cơm nở quá to

Đối với phương pháp hấp được tiến hành bằng cách dùng hơi nước để làm chín gạo thành cơm. Trong quá trình hấp chỉ tiến hành khảo sát về thời gian hấp mà không khảo sát tỉ lệ gạo : nước hấp. Vì việc làm chín gạo trong quá trình hấp được thực hiện bằng hơi nước, do đó lượng nước sử dụng phải dư để tránh việc thiếu nước mà cơm vẫn chưa chín. Do việc hấp gạo không tiếp xúc trực tiếp với

nước nên sự thay đổi về tỷ lệ nước ảnh hưởng rất ít tới cấu trúc hạt gạo sau hồ hóa. Việc khảo sát thời gian hấp nhằm chọn ra được thời gian mà tại đó cơm có chất lượng tốt nhất và đồng đều nhất.

Kết quả về ảnh hưởng của thời gian hấp đến độ chín của cơm được trình bày ở bảng 1. Kết quả cho thấy, trong 30 phút đầu, độ ẩm của cơm tăng nhẹ từ 33,85% lên 34,72%, do lúc này sau khi được ngâm hạt gạo đã ngấm no nước và cơm chưa chín. Từ 30 phút đến 40 phút độ ẩm tăng mạnh từ 34,72% lên 41,81%, do lúc này cơm bắt đầu chín và tinh bột được hồ hóa dẫn đến việc hấp thu nước và tăng độ ẩm. Từ 40 phút tới 50 phút, độ ẩm của cơm có tăng nhưng không nhiều, cơm bắt đầu bị vỡ do việc nở quá to. Do đó, thời gian thích hợp cho việc hấp cơm là 40 phút.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ tiệt trùng đến chất lượng của sản phẩm cơm ăn liền

Mục đích của quá trình tiệt trùng là để loại bỏ tất cả các tác nhân vi sinh vật trong sản phẩm thực phẩm nhằm bảo quản lâu dài. Tuy nhiên, nhiệt độ và thời gian tiệt trùng cũng có thể ảnh hưởng tới chất lượng của sản phẩm nên cần được nghiên cứu đánh giá. Kết quả về ảnh hưởng của 2 chế độ tiệt trùng 115℃ và 121℃ (trong 15 phút) được đánh giá về cảm quan. Kết quả trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Chỉ tiêu cảm quan của sản phẩn cơm ăn liền ở hai nhiệt độ tiệt trùng

Chỉ tiêu cảm quan	Nhiệt độ tiệt trùng	
	115^0C	121^0C
Màu sắc	Màu trắng ngà	Màu vàng nâu
Mùi	Vẫn giữ được mùi thơm đặc trưng của cơm	Có mùi hơi khét
Vị	Vị ngọt khi nhai kĩ	Vị đắng nhẹ

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, ở nhiệt độ tiệt trùng 121℃, sản phẩm cơm ăn liền có dấu hiệu bị caramen hóa do ảnh hưởng của nhiệt độ cao. Trong khi đó nhiệt độ 115℃ chất lượng cảm quan của cơm ăn liền vẫn được đảm bảo tốt. Do đó, nhiệt độ tiệt trùng được lựa chọn là 115℃, 15 phút. Nhiệt độ tiệt trùng này cũng phù hợp với nhiệt độ tiệt trùng trong quy trình sản xuất cơm đóng hộp của Narkrugsa và Saeleaw (2009) [9].

3.4. Đánh giá ảnh hưởng của tỉ lệ phụ gia PG

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ chất phụ gia PG tới chất lượng cảm quan cơm ăn liền

Chỉ tiêu cảm quan	Nhiệt độ tiệt trùng	
	115^0C	121^0C
Màu sắc	Màu trắng ngà	Màu vàng nâu
Mùi	Vẫn giữ được mùi thơm đặc trưng của cơm	Có mùi hơi khét
Vị	Vị ngọt khi nhai kĩ	Vị đắng nhẹ

Trong sản phẩm cơm ăn liền phụ gia PG được sử dụng với vai trò là chất giữ ẩm cải thiện thời hạn bảo quản của sản phẩm, chống lại quá trình thoái hóa tinh bột (lại gạo). Theo EFSA (2018) [2], lượng phụ gia PG khuyến nghị là 25 mg/kg khối lượng cơ thể trên ngày thì với người có khối lượng trung bình 50 kg lượng phụ gia vào cơ thể trên ngày không được vượt quá 1.000 mg. Với người 50 kg mà tiêu thụ 600 g cơm/ngày (tương đương 4-5 bát) thì lượng PG tối đa có thể dùng trong 100 g sản phẩm cơm là 0,208 g (tương đương 0,208%). Nếu lượng cơm tiêu thụ ít hơn thì hàm lượng PG cho phép trong 100 g cơm sẽ lớn hơn. Trong nghiên cứu này, các mức phụ gia PG bổ sung vào

là 0,025%, 0,05%, 0,075% khối lượng sản phẩm (hoàn toàn đảm bảo độ an toàn cho người sử dụng).

Cơm sau khi nấu thường bị lại gạo (hiện tượng thoái hóa tinh bột) khi bảo quản lạnh hoặc thời gian dài. Do đó, nghiên cứu này để cơm sau khi nấu có bổ sung các tỷ lệ phụ gia ở trên trong ngăn mát tủ lạnh (4 - 10℃) trong 24 giờ và tiến hành đánh giá hiện tượng thoái hóa tinh bột bằng phương pháp cảm quan. Kết quả về ảnh hưởng của tỷ lệ PG đến chất lượng cơm sau khi nấu và để lạnh được trình bày ở bảng 3.

Như vậy, với tỉ lệ phụ gia PG bổ sung 0,05% và 0,075% cơm chưa có hiện tượng thoái hóa tinh bột, trong khi với tỉ lệ phụ gia 0,025% cơm đã bị thoái hóa tinh bột. Để đảm bảo điều kiện bảo quản sản phẩm và việc sử dụng PG ít nhất thì tỷ lệ 0,05% được lựa chọn sử dụng cho quá trình sản xuất.

3.5. Chất lượng cảm quan của sản phẩm cơm liền

Sau khi lựa chọn được chế độ ngâm gạo, hấp, tiệt trùng, tỷ lệ PG bổ sung, sản phẩm cơm ăn liền thành phẩm được đưa ra đánh giá cảm quan nhằm mục đích xác định mức độ hài lòng của người thử với sản phẩm. Sản phẩm được đánh giá bằng phép thử cho điểm theo 10TCN 590: 2004 [10]. Kết quả đánh giá cảm quan của 10 kiểm nghiệm viên được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đánh giá cảm quan sản phẩm cơm ăn liền

Chỉ tiêu đánh giá	Hệ số	Điểm trung bình	Độ lệch chuẩn
Mùi	1	4,27/5	0,21
Độ mềm	1	3,57/5	0,15
Độ dính	1	3,37/5	0,06
Độ trắng	1	3,93/5	0,12
Độ bóng	1	3,60/5	0,1
Vị ngon	1,5	5,90/7,5	0,23
Tổng điểm		24,63/32,5	0,45

Theo thang điểm 5 của tiêu chuẩn đánh giá cảm quan thì các tiêu chí đánh giá của cơm ăn liền đều ở mức điểm đánh giá cao. Với chỉ tiêu mùi, vị ngon, độ trắng cơm ăn liền được đánh giá với mức điểm cao và nằm trong mức thơm đặc trưng, ngon và hơi ngà. Các chỉ tiêu về độ mềm, độ dính, độ bóng ở mức trung bình là hơi mềm, hơi dính và hơi bóng.

Từ kết quả cảm quan trên, sản phẩm cơm ăn liền đạt 24,63/32,5 điểm cảm quan.

3.6. Đánh giá chỉ tiêu dinh dưỡng của sản phẩm

Hàm lượng glucid, lipid và protein của sản phẩm được đánh giá ở ba thời điểm, khi sản phẩm vừa hoàn thiện, khi sản phẩm bảo quản 30 ngày và 60 ngày trong tủ vi khí hậu (phương pháp lão hóa cấp tốc) với nhiệt độ 40℃ và độ ẩm 50% nhằm đánh giá độ ổn định của sản phẩm. Kết quả về sự thay đổi thành phần dinh dưỡng trong thời gian bảo quản được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Sự thay đổi hàm lượng chất dinh dưỡng trong thời gian bảo quản

Chỉ tiêu đánh giá	Đơn vị	Ngày 0	Ngày 30	Ngày 60
Hàm lượng glucid	g/100 g	38,6 ± 0,82	36,1 ± 0,36	35,8 ± 0,72
Hàm lượng lipid	g/100 g	0,34 ± 0,02	0,33 ± 0,01	0,32 ± 0,02
Hàm lượng protein	g/100 g	3,54 ± 0,49	3,48 ± 0,41	3,45 ± 0,37
Năng lượng	kcal/100 g	172	161	160

Có thể thấy, khi sản phẩm vừa hoàn thiện có giá trị dinh dưỡng tốt nhất khi cả 4 chỉ tiêu đều cho kết quả cao. Sau thời gian bảo quản 30 ngày và 60 ngày trong điều kiện lão hóa cấp tốc, các chỉ tiêu đều có dấu hiệu giảm nhẹ, trong đó năng lượng giảm 6,4% ở tháng đầu tiên và gần như không giảm ở tháng thứ hai. Hàm lượng glucid giảm ở tháng bảo quản đầu tiên là 6,5% và tháng thứ hai là 0,8%, các chỉ tiêu lipid và protein không có sự thay đổi nhiều. Việc thay đổi năng lượng của

sản phẩm chủ yếu do việc giảm của hàm lượng glucid. Hàm lượng dinh dưỡng của sản phẩm cơm ăn liền so với hàm lượng dinh dưỡng theo lí thuyết của cơm nấu bình thường là tương đồng. Sự thay đổi này chứng tỏ cơm vẫn được bảo quản tốt và cần theo dõi thêm thời gian để đánh giá thời hạn bảo quản của sản phẩm.

Theo đó lượng cơm ăn liền theo mức dinh dưỡng cần thiết cho 1 người bình thường với mức calo tiêu thụ 1.800 – 2.000 kcal/ngày (trong đó khoảng 1.200 kcal có nguồn từ glucid) thì lượng cơm ăn liền trung bình là 600 – 800 g/ngày. Do đó, nghiên cứu đề xuất đóng gói cơm ăn liền dưới dạng túi với khối lượng 200 g để thuận tiện cho việc chia thành các bữa.

3.7. Đánh giá chỉ tiêu vi sinh vật của sản phẩm

Chỉ tiêu vi sinh vật (VSV) của sản phẩm là một thông số đánh giá mức độ an toàn vệ sinh thực phẩm (ATVSTP). Trong nghiên cứu này, độ ATVSTP được đánh giá dựa trên 5 nhóm VSV là VKHKTS, nấm men, nấm mốc, *E. coli, Coliform* ở 3 thời điểm bảo quản là ngày 0 (cơm ăn liền vừa chế biến) và ngày 30, ngày 60 (ở điều kiện vi khí hậu). Sự thay đổi số lượng VSV được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Số lượng VSV của cơm ăn liền trong thời gian bảo quản

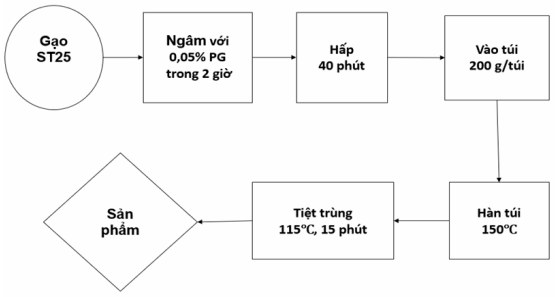
Chỉ tiêu vi sinh vật	Ngày 0	Ngày 30	Ngày 60
VKHKTS (CFU/g)	0	0	0
Nấm men (CFU/g)	0	0	0
Nấm mốc (CFU/g)	0	0	0
E.coli (MPN/g)	0	0	0
Coliform (MPN/g)	0	0	0

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, các chỉ tiêu VSV đều đảm bảo ATVSTP. Sau 60 ngày bảo quản ở tủ vi khí hậu chưa thấy có sự có xuất hiện của bất kỳ nhóm VSV nào trong mẫu nghiên cứu. Theo Quyết định số 46/2007/QĐ/BYT [11], các chi tiêu vi sinh cho phép trong 1 g thực phẩm đối với nhóm ngũ cốc và sản phẩm chế biến từ ngũ cốc, VKHKTS <, tổng số bào tử nấm men, nấm mốc <, *E. coli* < 3, *Coliform* < 10. Như vậy cho thấy nhiệt độ tiệt trùng đảm bảo và sản phẩm được bảo quản tốt trong thời gian theo dõi.

3.8. Đề xuất quy trình chế biến cơm ăn liền

Từ các kết quả nghiên cứu trên, quy trình sản xuất cơm ăn liền đóng túi retort quy mô 3 kg gạo/mẻ được đề xuất như sau:

Thuyết minh quy trình: Cân 3 kg gạo ST25 và làm sạch, ngâm vào nước có bổ sung 0,05% PG trong 2 giờ ở 25°C sau đó trút ra rá cho ráo nước. Tiến hành hấp trong 40 phút (từ lúc nước sôi) sau đó cân và chia đều vào các túi retort, mỗi túi 200 g. Bài khí để loại hết không khí trong túi sau đó hàn túi trên máy hàn ngang và hấp tiệt trùng ở 115°C (0,8 atm) trong 15 phút. Sau đó lấy sản phẩm ra làm lạnh nhanh trong nước ở 20°C, kiểm tra sự kín khí của túi. Tiến hành bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ phòng.



Hình 2. Sơ đồ quy trình chế biến cơm ăn liền

4. KẾT LUẬN

Đã hoàn thiện quy trình chế biến cơm ăn liền được áp dụng với loại gạo ST25. Gạo được ngâm trong 120 phút với nước có bổ sung bổ sung 0,05% phụ gia PG, hấp ở 100°C trong 40 phút. Sau khi cơm chín được đóng túi retort với khối lượng 200 g/túi và tiệt trùng ở 115°C giữ nhiệt trong 15 phút.

Sản phẩm cơm ăn liền sau chế biến có mức điểm cảm quan 24,63/32,5, năng lượng đạt 172 kcal/100 g, đảm bảo VSATTP theo Quyết định số 46/2007/QĐ/BYT.

Sản phẩm cơm ăn liền sau 2 tháng bảo quản trong điều kiện vi khí hậu vẫn đảm bảo về dinh

dưỡng và vi sinh vật. Cần đánh giá thêm về thời hạn sử dụng của sản phẩm này.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện bởi kinh phí của Đề tài độc lập cấp Nhà nước mã số ĐTĐL.CN-74/21-C.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ksenia G and Yurievna S. S. (2022). Qualitative characteristics of retort packaging for canned meat. Bulletin of Science and Practice, 8(11), pp. 408-413.

2. EFSA (2018). Re-evaluation of propane-1,2-diol (E 1520) as a food additive. EFSA-Q-2011-00591.

3. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4594: 88. Đồ hộp - Phương pháp xác định đường tổng số, đường khử và tinh bột, 2008.

4. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8125: 2009. Ngũ cốc và đậu đỗ - Xác định hàm lượng nitơ và tính hàm lượng protein thô - Phương pháp Kjeldahl, 2009.

5. Tiêu chuẩn Quốc gia 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.

6. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4884: 2001. Vi sinh vật học - Hướng dẫn chung về định lượng vi sinh vật - Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30°C.

7. SMEWW 9221.2017. Multiple-tube fermentation technique for members of the coliform group.

8. Ali M. A, Hasan S. M. K., Mahomud M. S., Sayed M. A. (2012). Processing and Storage of Instant Cooked Rice. *Bangladesh research publications journal, volume 7*, No 3, pp. 300 – 305.

9. Narkrugsa W. and Saeleaw M. (2009). The Retrogradation of Canned Rice During Storage. *KMITL Sci Tech J.*, volume 9, No 1, pp. 1-8.

10. Tiêu chuẩn ngành 10TCN: 590 - 2004. Đánh giá chất lượng cảm quan cơm bằng phương pháp cho điểm.

11. Bộ Y tế (2007).Quyết định 46/2007/QĐ-BYT ngày 19/12/2007 về việc ban hành "Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học hóa học thực phẩm".

RESEARCH ON PRODUCING OF RETORT PACKED INSTANT RICE

Nguyen Thi Tam Thu, Pham Trong Nghia, Nguyen Hoang Anh, Pham Kien Cuong

Summary

Instant rice is a convenient ready-made product, used for people who have no conditions or limited cooking time, such as when travelling at sea, were isolated due to storms or floods. On the market today, there are a number of instant rice products from Vietnam, Japan and Korea. However, these products still need to be reheated in the microwave or boiling water before eating (due to reraw-rice). In some special cases such as storms and floods, it is not possible to have a microwave or boiling water, so instant rice has not been fully effective. This study uses retort technology combined with rice treatment before cooking to create instant rice that does not reraw-rice when stored. The product "Instant rice in retort bag" made from ST25 rice ensures convenience and nutritional value, sensory as well as food safety during long storage time. The results showed that when soaking the rice for 2 hours, steaming at 100℃ for 40 minutes, adding 0.05% PG additive, packing, and sterilizing 115℃ for 15 minutes, instant rice products after processing have high quality. Sensory quality reached 24.63/32, in 100g of products reached 172 kcal, content of glucid is 38.6%; lipid is 0.34%; protein is 3.54%, ensuring food safety. After 2 months of storage in microclimate condition (45°C, 75% humidity), the product still ensures energy quality and food safety.

Keywords: *Instant rice, retort packed rice, technological process, preserve.*

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

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH THU NHẬN CHONDROITIN SUNFAT TỪ SỤN ỨC GÀ SAU THỦY PHÂN VÀ ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG THÀNH PHẨM

Lý Thị Minh Hiền[1], Đống Thị Anh Đào[2,*]

TÓM TẮT

Sụn là dạng mô liên kết trong cơ thể động vật được cấu tạo glycozaminopolisacarit (GAG) bao gồm chondroitin-4-sunfat (CS-4), chondroitin-6- sunfat (CS-6), heparan sunfat, dermatan sunfat, keratan sunfat và axit hyaluronic..., các glycozaminopolisacarit liên kết với protein được gọi là proteoglycan. Hàm lượng chondroitin -4-sunfat chiếm tỉ lệ cao nhất trong hợp chất GAG của sụn gia cầm; CS-4 được dùng làm nguyên liệu sản xuất thực phẩm chức năng có tác dụng ngăn ngừa và hỗ trợ điều trị bệnh thoái hóa khớp. Trong nghiên cứu này, CS-4 được trích ly từ sụn ức gà bằng enzym Protamex. Dịch thủy phân sau lọc thô được khảo sát quá trình tinh sạch qua hai bước, kết tủa protein hòa tan bằng axit tricloroaxetic và thẩm tích với màng xenluloza MWCO 12400. Kết quả cho thấy, với 4% TCA w/v và thời gian thẩm tích 3 giờ trong nước cất tạo chế phẩm CS với độ tinh sạch 85,6% và hiệu suất thu nhận cao nhất 30,4% trong điều kiện nghiên cứu. Ngoài ra, chế phẩm CS bột sau sấy phun có kích thước (184,570 kDa) và độ đồng nhất không khác biệt lớn so với mẫu CS thương mại so sánh thông qua phân tích khối lượng phân tử bằng sắc ký lọc thẩm thấu (GPC) và kính hiển vi điện tử quét (SEM).

Từ khóa: *Chondroitin-4-sunfat, thủy phân protein, Protamex, sụn ức gà, kết tủa protein, thẩm tích.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Glycozaminopolisacarit là các loại hidrat cacbon mạch dài có cấu trúc phức tạp. Các phân tử hidrat cacbon này liên kết với serin của các lõi protein tạo thành hợp chất proteoglycan bằng các liên kết GlcA-GalGal-Xyl tetrasacarit. Proteoglycan là thành phần chính trong cấu trúc mô liên kết ở động vật [1]. Các hợp chất này là một trong các thành phần quan trọng của chất ngoại bào [2, 3], cũng như được sử dụng rộng rãi trong các lĩnh vực như dược phẩm, mỹ phẩm và thực phẩm [4, 5].

Trong các hợp chất glycozaminopolisacarit thì chondroitin sunfat (CS) rất được quan tâm và là phân tử mang điện tích âm, bao gồm các đơn phân chứa N-axetylgalactosamin và glucuronic axit. CS được biết đến với vai trò chất điều trị thoái hóa khớp cũng như cải thiện chức năng khớp [6]. Ngoài ra, CS còn hỗ trợ trị liệu các bệnh về mắt và ngăn ngừa ung thư [7]. Nhiều nghiên cứu trên thế giới được thực hiện để trích ly CS từ các nguồn nguyên liệu khác nhau. Hàm lượng CS được phân tích từ các nguồn nguyên liệu khác nhau có giá trị khác nhau, như 30,08% trong sụn ức gà [8], 11,55% trong sụn xương ức cá sấu và 9,6% trong sụn vi cá mập [9]. Nghiên cứu của Garnjanagoonchorn và cs (2007) phân tích hàm lượng CS từ nhiều nguồn như sụn ức cá sấu, sụn khí quản cá sấu, sụn vây cá mập và sụn xương cá đuối, kết quả cho thấy hàm lượng chất này dao động từ 9 - 15% [10].

Trên cơ sở đó, hàm lượng CS trong sụn ức gà được đánh giá có hàm lượng cao so với các nguyên liệu khác. Từ đó, đã trích ly CS từ nguồn nguyên liệu này với các loại enzym proteaza khác nhau, đồng thời đánh giá chất lượng thành phẩm [11, 12, 13]. Để tiếp nối quá trình thủy phân, dịch sau thủy phân cần trải qua một số bước tinh sạch để nâng cao giá trị sử dụng của chế phẩm. Do đó, trong

[1] Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Mở thành phố Hồ Chí Minh
[2] Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[*]Email: dtanhdao@hcmut.edu.vn

nghiên cứu này, tiến hành kết tủa protein hòa tan trong dịch thủy phân, đồng thời thẩm tích loại bỏ các chất hòa tan kích thước nhỏ giúp tăng hàm lượng CS trong chế phẩm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Sụn ức gà được mua từ Công ty TNHH Phạm Tôn thành phố Hồ Chí Minh sau đó tiến hành xử lý loại thịt thừa, đem bảo quản lạnh đông ở -18°C.

Enzyme Protamex® của Hãng Novozymes (Mỹ) được sản xuất từ vi khuẩn *Bacillus subtilis.* Enzyme Protamex® là một endoproteaza. Hoạt độ riêng là 1,5 đơn vị Ason/g, nhiệt độ tối ưu từ 45 - 65^{0}C, pH tối ưu từ 5,5 - 7,5.

Các hóa chất cấp độ phân tích như: chondroitin 4 - sunfat (CS4), 1,9 -Dimethylmethylene blue (DMMB) của Sigma - Aldrich (Mỹ), Folin-Ciocalteu's phenol của Merck. Hóa chất HCl, NaCl, $Na_2HPO_4.12H_20$, $NaH_2PO_4.7H_2O$ của Trung Quốc. Ethanol, tricloroaxetic axit (TCA) được sản xuất tại Việt Nam.

2.2. Quy trình thủy phân và thu nhận CS từ sụn ức gà

Đầu tiên, sụn ức gà được chần ở 80°C trong 20 phút trong dung dịch đệm photphat pH 6,0 và tỷ lệ nguyên liệu : dung dịch 1: 10. Quá trình chần này nhằm làm sạch bề mặt và mềm chuẩn bị cho quá trình tiếp theo. Nguyên liệu sau chần được lột bỏ màng protein, chất béo bọc bên ngoài sụn. Tiếp theo, sụn được xử lý sạch và được nghiền thành kích thước nhỏ (0,2 - 0,5 mm) trước khi tiến hành thủy phân với enzym Protamex. Quá trình thủy phân được thực hiện ở pH 5,8; hàm lượng enzym bổ sung là 0,85% tính trên khối lượng protein khô của nguyên liệu; nhiệt độ thủy phân 55°C và thời gian thủy phân tương ứng là 200 phút [12].

Sau đó, nhằm thu nhận được CS tinh sạch, dịch thủy phân được xử lý với TCA để kết tủa toàn bộ protein. Quá trình lọc chân không được thực hiện để thu nhận dung dịch CS với giấy lọc kích thước 15 - 20 µm. Tiếp theo, quá trình thẩm tích được thực hiện nhằm tăng sự tinh sạch cho chế phẩm CS bằng cách loại bỏ các phân tử có kích thước bé hơn 12 kDa như axit amin, chất khoáng, muối, TCA,... có trong mẫu. Màng thẩm tích xenluloza D0655 (Sigma Aldrich), có khả năng chọn lọc các phần tử có phân tử lượng < 12 kDa qua màng. Quá trình thẩm tích được thực hiện trong nước cất. Mẫu sau thẩm tích được tiến hành cô quay với thiết bị cô quay chân không Buchi-Thụy Sĩ ở nhiệt độ 40°C, áp suất chân không 72 mbar để tăng hàm lượng chất khô từ 8% sau thẩm tích lên 14 - 15% cho quá trình sấy phun. Mẫu cô đặc được sấy phun tạo bột ở nhiệt độ khí vào 120°C với lưu lượng khoảng 285 mL/giờ [12].

2.3. Xác định hiệu suất thu hồi chondroitin sunfat

Hàm lượng chondroitin sunfat (CS) được xác định bằng phương pháp dimethylmethylen xanh [8]. Trong phương pháp này, 2 mL dung dịch thuốc thử 1,9- dimethylmethylen xanh được bổ sung vào 1 mL dung dịch thủy phân sau thẩm tích. Mẫu sau đó được đo độ hấp thu ở bước sóng λ=525 nm.

Hiệu suất thu hồi CS được tính bằng công thức sau:

$$H = \frac{(OD - 0.3183) \times k \times V \times 100}{1.4239 \times m \times (100 - h) \times 1000}$$ (Công thức 1)

Trong đó: OD là độ hấp thu ở bước sóng λ=525 nm; k là hệ số pha loãng; V là thể tích mẫu (mL); m là khối lượng mẫu sụn (g); h là ẩm độ mẫu (%).

2.4. Xác định hàm lượng protein hòa tan

Phương pháp này dựa trên cơ sở phức chất đồng protein khử hỗn hợp photphomolipden - photphovonphramat (thuốc thử Folin - Ciocalteu) tạo phức chất màu xanh da trời có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 660 nm. Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỉ lệ thuận với nồng độ protein trong một phạm vi nhất định. Dựa vào mức độ hấp thụ quang học của protein chuẩn, có thể xác định được hàm lượng protein trong mẫu nghiên cứu [14].

2.5. Các phương pháp phân tích mẫu CS thành phẩm

2.5.1. Xác định ẩm độ mẫu bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi

Dùng nhiệt để làm bay hơi nước có trong mẫu. Từ chênh lệch khối lượng mẫu trước và sau khi sấy, tính được độ ẩm của mẫu. Sấy mẫu ở 100 -

105°C đến khối lượng không đổi, khi đó lượng nước tự do có trong mẫu sẽ bốc hơi hết [15].

2.5.2. Xác định hàm lượng protein bằng phương pháp Kjeldahl

Khi đốt nóng mẫu đem phân tích với H_2SO_4 đậm đặc, các hợp chất dễ bị oxy hóa. Các bon và hydro thành CO_2 và H_2O, còn nitơ sau khi giải phóng ra dưới dạng NH_3 sẽ kết hợp với H_2SO_4 tạo thành $(NH_4)_2SO_4$ tan trong dung dịch. Đuổi NH_3 khỏi dung dịch bằng NaOH đồng thời chưng cất và thu hồi NH_3 bằng một lượng dư H_2SO_4 0,1 N còn lại bằng dung dịch NaOH chuẩn, qua đó tính được lượng nitơ có trong mẫu nguyên liệu thí nghiệm [16].

2.5.3. Xác định hàm lượng tro bằng phương pháp nung

Dùng sức nóng (550 - 600°C) nung cháy hoàn toàn các chất hữu cơ. Phần còn lại đem cân và tính ra phần trăm tro có trong thực phẩm [17].

2.5.4. Xác định hàm lượng CS bằng phương pháp HPLC

Phương pháp sắc ký lỏng cao áp được dùng để phân tách và định lượng CS trong mẫu với thiết bị Hitachi HPLC. Cột sắc ký ODS C18 (250 x 4,6 mm; 5 µ), đệm natri octane sulphonic axit (pH =4), đo ở bước sóng λ=260 nm, lưu lượng mẫu 0,5 ml/phút và tỷ lệ đệm: axetonitrile tương ứng là 85: 15 [12].

2.5.5. Xác định khối lượng phân tử bằng phương pháp GPC

Phương pháp sắc ký gel thẩm thấu được dùng để xác định khối lượng phân tử mẫu CS dựa trên thời gian lưu trong cột sắc ký [13]. Hệ thống sắc ký thẩm thấu gel Malvern Viscotek TDA 305DA được sử dụng. Nhiệt độ hệ thống vận hành 30°C. Thành phần pha động sử dụng là dung dịch Na_2HPO_4 0,1 M, NaH_2PO_4 0,01 M (pH 6,6), lưu lượng pha động 1 mL/phút.

2.5.6. Xác định hình thái bằng phương pháp kính hiển vi điện tử quét (SEM)

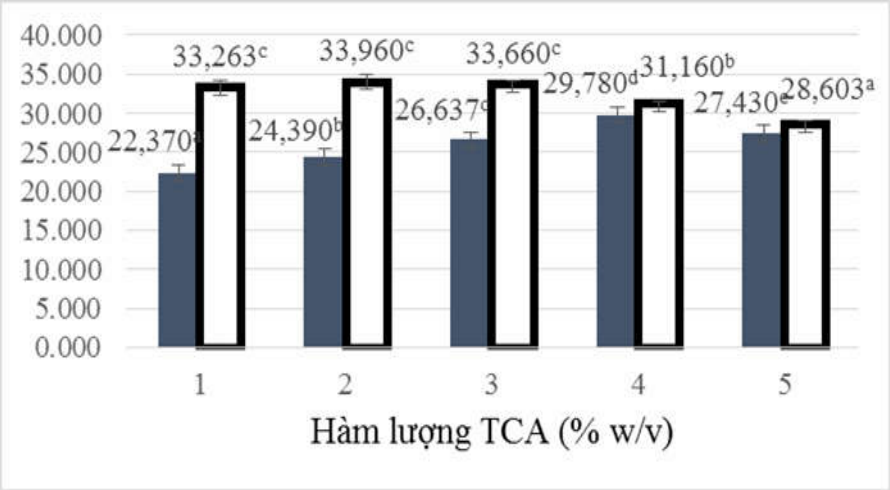
Mẫu bột CS được quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét (Hitachi S-4800). Mẫu bột rắn sau sấy được trải một lớp mỏng trên bề mặt chứa mẫu và đặt vào thiết bị quan sát.

2.5.7. Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần. Dữ liệu được phân tích phương sai (ANOVA) nhằm kiểm định độ tin cậy với mức ý nghĩa 5% để đánh giá sự khác biệt, sử dụng phần mềm STATGRAPHICS XV.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng TCA đến hiệu suất thu hồi CS



Hình 1. Ảnh hưởng của hàm lượng TCA đến hiệu suất thu hồi CS (%) và hàm lượng protein trong dịch lọc so với nguyên liệu khô (%)

Ghi chú: Hiệu suất thu hồi CS (%) ■ ; hàm lượng protein trong dịch lọc sau khi xử lý TCA so với nguyên liệu khô (% protein/khối lượng nguyên liệu khô) □ ; những số liệu có các ký tự giống nhau không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê với mức ý nghĩa α = 0,05.

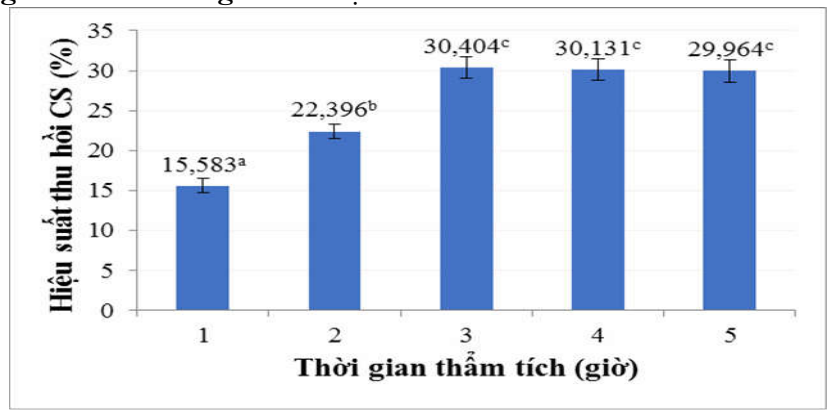
Sau quá trình làm sạch, nghiền và thủy phân sụn ức gà. Dung dịch chứa CS được thu nhận và xử lý TCA kết tủa lượng protein hòa tan còn lại trong mẫu, từ đó, thu nhận được chế phẩm CS tinh sạch hơn. Trong thí nghiệm này, hàm lượng TCA sử dụng được thay đổi từ 1 - 5% so với thể tích dung dịch thủy phân. Hàm lượng CS trong chế phẩm và hàm lượng protein hòa tan còn lại trong dịch lọc sau khi kết tủa với TCA được thể hiện trong hình 1.

Kết quả cho thấy, hàm lượng TCA sử dụng ảnh hưởng đến lượng CS thu nhận được. Khi tăng hàm lượng TCA từ 1 - 3% thì hàm lượng CS thu được có hiệu suất thấp 22,370 ± 0,670% đến 26,637 ± 0,393%. Lượng protein còn lại trong dịch lọc tính trên tổng chất khô nguyên liệu cao từ 33,263 ± 0,911% đến 33,660 ± 0,458%. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng hàm lượng TCA lên 4 - 5% để kết tủa protein, thì hàm lượng CS thu hồi tăng lên và đạt tương ứng 29,780 ± 1,538%, 27,430 ± 1,010%. Đồng thời, lượng protein còn lại trong dung dịch cũng giảm, đạt 31,160 ± 0,367% và 28,603 ± 0,361%.

Nếu nồng độ TCA sử dụng thấp, không kết tủa được hoàn toàn protein hòa tan trong dịch thô, hàm lượng protein hòa tan còn lại cao làm giảm độ tinh sạch của chế phẩm. Ở hàm lượng TCA bổ sung 4% trong điều kiện thí nghiệm cho hàm lượng CS thu được cao nhất. Do đó, hàm lượng này được sử dụng để thu nhận protein trong dịch thủy phân.

3.2. Ảnh hưởng của thời gian thẩm tích đến hiệu suất thu hồi CS

Để tiếp tục làm sạch dịch thủy phân, quá trình thẩm tích được thực hiện với màng cellophane nhằm loại bỏ các tạp chất có kích thước phân tử < 12 kDa. Khảo sát thời gian thẩm tích trong nước cất thay đổi từ 1 - 5 giờ. Kết quả hiệu suất thu hồi CS được trình bày ở hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian thẩm tích đến hiệu suất thu hồi CS

Ghi chú: Những số liệu có các ký tự giống nhau không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê với mức ý nghĩa α = 0,05.

Kết quả cho thấy, thời gian thẩm tích có ảnh hưởng đến hàm lượng CS trong chế phẩm. Khi thời gian thẩm tích càng dài thì hiệu suất thu hồi CS tăng đáng kể. Thời gian thẩm tích từ 1 giờ lên 3 giờ thì hiệu suất thu hồi CS tăng 1,95 lần, từ 15,583±0,897% lên 30,404±0,936%. Nếu tiếp tục tăng thời gian hàm lượng CS thu được tăng không đáng kể. Do đó, thời gian thẩm tích 3 giờ là phù hợp cho mẫu CS trong điều kiện thí nghiệm.

Thẩm tích là sự khuếch tán vi phân qua màng đối với các dạng dịch, các tinh thể (các muối, hợp chất hữu cơ có phân tử khối thấp...) theo định luật Fick. Theo thời gian, các chất tan có kích thước phân tử nhỏ như muối NaCl, amino axit, đường, CS có kích thước <12 kDa sẽ khuếch tán ra bên ngoài màng từ môi trường có nồng độ chất tan cao sang nồng độ thấp, ngược lại nước sẽ khuếch tán từ môi trường bên ngoài vào bên trong túi thẩm tích. Khi nồng độ trong túi thẩm tích và bên ngoài đạt cân bằng thì quá trình thẩm tích kết thúc.

3.3. Đánh giá tính chất của chế phẩm CS thu được

Dịch thủy phân sau khi kết tủa protein và làm sạch bằng phương pháp thẩm tích đã được sấy phun tạo bột và phân tích một số thành phần hóa học.

Bảng 1. Thành phần mẫu chế phẩm và quy định

STT	Chỉ tiêu (%)	Hàm lượng phân tích	Hàm lượng theo USP 39
1	Độ ẩm	7,46	≤10
2	Độ tro	11,15	20-30
3	Hàm lượng protein	6,05	≤6,0
4	Hàm lượng CS	85,6	≥90

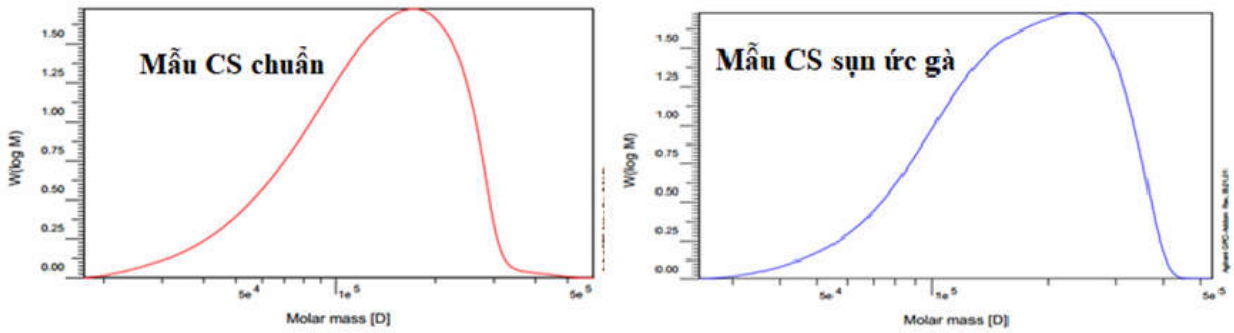
Ghi chú: Hàm lượng quy định của các chỉ tiêu dựa vào tiêu chuẩn USP39 [18].

Kết quả phân tích được ghi nhận trong bảng 1 cho thấy, hàm lượng ẩm và độ tro lần lượt là 7,46% và 11,15% của chế phẩm đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn USP39. Tuy nhiên, hàm lượng protein vượt mức quy định, cho thấy chế phẩm cần có các phương pháp tinh sạch để tăng độ tinh khiết. Vì mẫu chưa đủ độ tinh sạch nên hàm lượng CS trong mẫu cũng thấp hơn so với quy định tham khảo.

Trong các nghiên cứu khác, sụn ức gà được thủy phân với các loại enzym proteaza khác nhau, đều thu nhận được các chế CS có hàm lượng cao, với ẩm độ và hàm lượng tro đạt yêu cầu. Tuy nhiên, hàm lượng protein trong các mẫu chế phẩm sau sấy từ 6,05 - 8,6% đều cao hơn so với tiêu chuẩn [11, 12, 13].

Bảng 2. Kết quả phân tích khối lượng phân tử của các mẫu CS

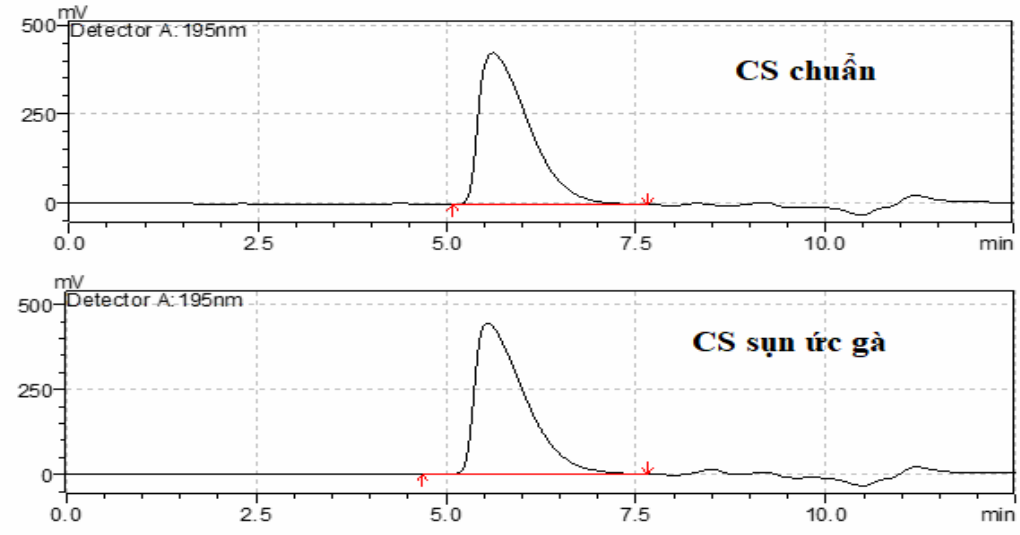
Nguồn gốc mẫu CS	Thời gian lưu (phút)	M_w (kDa)	M_n (kDa)	PI = M_w/M_n
Thương mại	7,457	145,120	108,460	1,338
Nghiên cứu	9,417	184,570	143,550	1,286



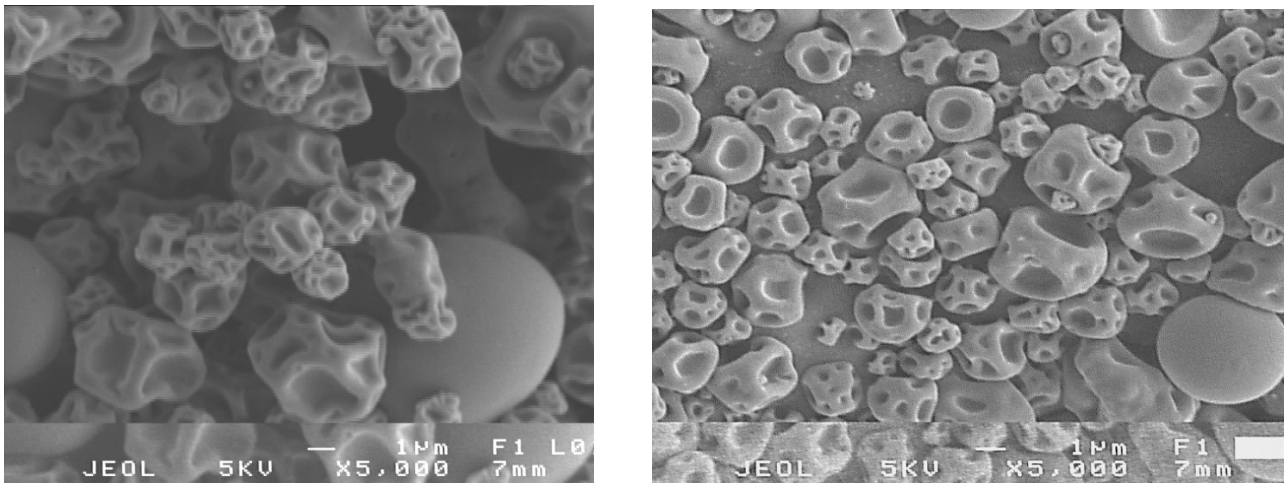
Hình 3. Kết quả phân tích GPC của các mẫu CS

Bên cạnh đó, kết quả phân tích khối lượng phân tử của mẫu CS thương mại và mẫu chế phẩm nghiên cứu (Bảng 2 và hình 3) cho thấy, mẫu CS thương mại có khối lượng phân tử thấp hơn so với mẫu CS nghiên cứu. Tuy nhiên, mẫu nghiên cứu có sự đồng nhất về khối lượng phân tử cao hơn với giá trị PI thấp hơn 1,286 < 1,338. Trên cùng đối tượng sụn ức gà, khi sử dụng enzym alcalaza kết hợp xử lý siêu âm hay sử dụng enzym papain đều cho mẫu CS có khối lượng phân tử trung bình cao hơn, lần lượt là M_w=159,530 kDa và M_w=256,900 kDa [11, 13].

Kết quả phân tích HPLC (Hình 4) cũng cho thấy có sự tương thích về vị trí đỉnh chất của CS chuẩn và CS trích ly từ sụn ức gà. Cụ thể là đỉnh của CS chuẩn xuất hiện ở thời gian lưu là 5,653 phút; CS trong chế phẩm ở thời gian lưu là 5,638 phút với chiều cao đỉnh là 399070 (uV). Điều đó chỉ ra rằng, CS trong chế phẩm thủy phân từ sụn ức gà có cấu tạo phân tử tương đồng với CS chuẩn.



Hình 4. Sắc ký đồ HPLC của mẫu CS chuẩn và CS trích ly từ sụn ức gà



a) b)

Hình 5. Ảnh chụp SEM của CS chuẩn (a) và chế phẩm nghiên cứu (b)

Hình thái chế phẩm bột CS thu nhận được từ sụn ức gà trong điều kiện thủy phân bởi Protamex và tinh sạch như trong điều kiện của nghiên cứu này được quan sát bởi kính hiển vi điện tử quét (SEM) (Hình 5). Hình thái vi mô và hình dạng bề mặt lồi, lõm, xoắn của các hạt trong chế phẩm CS chuẩn và chế phẩm trích ly tại phòng thí nghiệm có sự tương đồng.

Đánh giá sơ bộ về tính chất mẫu CS nghiên cứu cho thấy, mẫu CS từ sụn ức gà có mức độ tương đồng với mẫu chuẩn, tuy nhiên sự tinh khiết chưa cao cần khảo sát làm sạch mẫu loại bớt protein và khoáng nhằm tăng hàm lượng CS tinh khiết để đạt phẩm chất của chế phẩm theo chuẩn USP 39.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu hoàn thiện mẫu chondroitin sunfat trích ly từ sụn ức gà bằng phương pháp kết tủa loại protein bởi TCA 4% và thẩm tích qua màng xenluloza MWCO 12400 trong thời gian 3 giờ đã tăng độ tinh sạch của mẫu CS trích ly từ sụn ức gà. So với các tiêu chuẩn USP 39 thì chế phẩm CS còn chứa hàm lượng protein 6,05% cao hơn hàm lượng protein theo tiêu chuẩn là < 6,0%. Hiệu suất thu hồi CS từ nguyên liệu sụn ức gà là 30,4% (chất khô của nguyên liệu) và kích thước phân tử CS trung bình là 184,570 kDa. Thông qua kính hiển vi điện tử quét SEM và kết quả phân tích HPLC cho phép khẳng định sự có mặt của CS trong chế phẩm trích ly từ sụn ức gà và sự tương

đồng về hình thái vi mô của chế phẩm nghiên cứu và CS chuẩn.

LỜI CẢM ƠN

Xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh về sự hỗ trợ các điều kiện cơ sở vật chất trong quá trình thực hiện thí nghiệm của nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gschwandtner M., Strutzmann E., Teixeira M. M., Anders H. J., Diedrichs Möhring M., Gerlza T., Wildner G., Russo R. C., Adage T., Kungl A. J. (2017). Glycosaminoglycans are important mediators of neutrophilic inflammation in vivo. Cytokine. 91: 65-73.

2. Tomatsu S., Kubaski F., Sawamoto K., Mason R. W., Yasuda E., Shimada T., Montaño A. M., Yamaguchi S., Suzuki Y., Orii T. (2014). Newborn screening and diagnosis of mucopolysaccharidoses: Application of tandem mass spectrometry. Nihon Masu Sukuriningu Gakkai Shi. 24: 19-37.

3. Horigome T., Kido T., Hagiwara Chatani N., Nakashima A., Adachi N., Yano H., Hirai Y. (2017). Sulfated glycosaminoglycans and non-classically secreted proteins, basic FGF and epimorphin, coordinately regulate TGF-b-induced cell behaviors of human scar dermal fibroblasts. J. of Dermatol. Sci. 86: 132–141.

4. Nakano T., Betti M., Pietrasik Z. (2010). Extraction, Isolation and Analysis of Chondroitin Sulfate Glycosaminoglycans. Recent Pat. Food Nutr. Agric. 2: 61-74.

5. Akella R. R. D. and Kadali S. (2016). Amniotic fluid glycosaminoglycans in the prenatal diagnosis of mucopolysaccharidoses - A useful biomarker. Clinica Chimica Acta. 460: 63-66.

6. Choi R. K., Smith M. M., Martin J. H., Clarke J. L., Dart A. J., Little C. B., Clarke E. C. (2016). Chondroitin sulphate glycosaminoglycans contribute to widespread inferior biomechanics in tendon after focal injury. *J. Biomech.* 49:2694-2701.

7. Malavaki C., Mizumoto S., Karamanos N., Sugahara K. (2008). Recent advances in the structural study of functional chondroitin sulfate and dermatan sulfate in health and disease. Connect Tissue Res. 49: 133-139.

8. Farndale R. W., Buttle D. J., Barrett A. J. (1986). Improved quantitation and discrimination of sulphated glycosaminoglycans. Biochimica Biophysica Acta. 883: 173-177.

9. Ilaiyaraja N., Likhith K. R., Sharath Babu G. R., Khanum F. (2015). Optimisation of extraction of bioactive compounds from Feronia limonia (wood apple) fruit using response surface methodology (RSM). Food Chem. 173: 348-354.

10. Garnjanagoonchorn W., Wongekalak L., Engkagul A. (2007). Determination of chondroitin sulfate from different sources of cartilage. Chem. Eng. Process. 6: 465-471.

11. Vien N. T. L., Nguyen P. B., Cuong L. D., An T. T. T., Dao D. T. A. (2017). Optimization of Papain Hydrolysis Conditions for Release of Glycosaminoglycans from the Chicken Keel Cartilage. International Conference on Chemical Engineering. Food and Biotechnology (ICCFB2017). AIP Conf. Proc. 1878: 020009.

12. Vien N. T. L., Phu L. V. T., Phuong N. T. T., Hanh T. T. H., Dao D. T. A. (2018). Release of chondroitin sulfate from the chicken keel cartilage by protamex hydrolysis. *Vietnam J. Chem.* 56(5): 596-601

13. Thao T. N., Nhu V. N. T., Nguyen N. T., Dao D. T. A. (2018). Extraction of chondroitin sulfate from chicken keel cartilage by combined application of ultrasound treatment and alcalase hydrolysis. Vietnam J. Sci. Tech. 56(4A): 127-137.

14. Waterborg J. H. (2009). The lowry method for protein quantitation. In: Walker J. M. (ed) The Protein Protocols Handbook. Springer Protocols Handbooks. Humana Press, Totowa.

15. AOAC 934.01 (1998). AOAC Official method of Analysis: Dry Matter on Oven Drying at 95-100°C for Feeds. The Association of Official Agricultural Chemists.

16. AOAC 2001.11 (2002). AOAC Official method of Analysis: Protein (crude) in animal feed, forage (plant tissue), grain and oilseed. The Association of Official Agricultural Chemists.

17. ISO 7514: 1990, Instant tea in solid form: Determination of total ash. International Organization for Standardization, Switzerland, 1990.

18. The United States Pharmacopeia (2021). USP39 The national formulary, USA.

INFLUENCE OF RECEIVING CHODROITIN SULPHATE PROCESS FROM CHICKEN OMOSTERNUM AFTER HYDROLYTIC DEGRADATION AND ESTIMATION OF FINISHED PRODUCT QUALITY

Ly Thi Minh Hien, Dong Thi Anh Dao

Summary

Cartilage is a type of connective tissue in the animal body composed of glycosaminoglycans including chondroitin-4-sulphate (CS-4), chondroitin-6-sulphate (CS-6), heparan sulphate, dermatan sulphate, keratan sulphate and hyaluronic acids, which bind to proteins called proteoglycans. Chondroitin-4-sulfate content accounts for the highest proportion in GAGs compounds of poultry cartilage; CS-4 is used as a raw material to produce functional foods that support the treatment of degenerative joint diseases. In this study, CS-4 was extracted from chicken breast cartilage by Protamex enzyme. The hydrolysate after filtration was investigated for purification through two steps, soluble protein precipitation with trichloroacetic acid and dialysis with membrane pore size 12 kDa dialysis membrane. The results showed that with 4% TCA w/v and dialysis time of 3 hours in distilled water, CS with the highest purity and yield was obtained under the research conditions. In addition, the powder CS composition after spray-drying showed that the size and homogeneity were not significantly different from the comparable commercial CS samples through molecular weight analysis by Gel permeation chromatography (GPC) and photograph of scanning electron microscopy (SEM).

Keywords: *Chondroitin-4-sulphate, hydrolytic degradation of protein, protamex, chicken omosternum, deposition of protein, dialysis.*

Người phản biện: PGS.TS. Ngô Đăng Nghĩa

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 MỘT SỐ YẾU TỐ CÔNG NGHỆ VÀ ĐIỀU KIỆN BẢO QUẢN ĐẾN CHẤT LƯỢNG TRÀ ATISO ĐỎ TÚI LỌC

Nguyễn Thị Vân Anh[1], Nguyễn Văn Huế[2],
Nguyễn Đức Chung[1], Hồ Sỹ Vương[1], Nguyễn Văn Toản[1,*]

TÓM TẮT

Atiso đỏ (*Hibiscus sabdariffa* L.) là một loại cây thuộc họ Cẩm quỳ (*Malvaceae*) có nguồn gốc từ Tây Phi. Trong những năm gần đây, cây atiso đỏ được trồng ở nhiều vùng của Việt Nam, đặc biệt ở tỉnh Thừa Thiên Huế nhằm phục vụ cho việc chế biến một số sản phẩm thực phẩm. Với mục đích đa dạng hóa sản phẩm từ atiso đỏ và tạo ra một sản phẩm trà đạt chất lượng về vệ sinh an toàn thực phẩm, nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ (nhiệt độ sấy, tỉ lệ phối trộn) và điều kiện bảo quản đến chất lượng trà atiso đỏ túi lọc thông qua việc xác định các chỉ tiêu vật lý (độ ẩm), hóa học (hàm lượng đường tổng số, axit tổng số, vitamin C, antoxian) và cảm quan. Kết quả nghiên cứu cho thấy, với phương pháp sấy đối lưu bằng không khí nóng ở nhiệt độ sấy là 70^0C, trong 360 phút, tỉ lệ phối trộn atiso đỏ: cỏ ngọt: cam thảo = 1: 0,2: 0,1 (g/g/g), trà atiso đỏ túi lọc sẽ đạt chất lượng về phương diện vi sinh, cảm quan, dinh dưỡng. Chất lượng trà túi lọc được đảm bảo sau 4 tháng bảo quản trong điều kiện kín.

Từ khóa: *Atiso đỏ, ẩm độ, bụp giấm, nhiệt độ, trà túi lọc.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Atiso đỏ hay bụp giấm (*Hibiscus sabdariffa* L.) là loại cây bụi hằng năm thuộc họ Cẩm quỳ (*Malvaceae*), chủ yếu mọc ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Đài hoa atiso đỏ đã được sử dụng trong y học cổ truyền để hỗ trợ điều trị nhiều bệnh như tăng huyết áp, tiểu đường và rối loạn gan [1], [2], [3]. Nghiên cứu của Ajala và cs (2013) [4] về thành phần hóa học thực vật của atiso đỏ đã phát hiện các đài hoa có chứa một số lượng đáng kể các hợp chất hoạt tính sinh học, có thể góp phần tạo ra các tác dụng có lợi cho sức khỏe của nguyên liệu này như phenolic, antoxian, flavonoit, polysacarit và vitamin. Các antoxian chính là delphinidin-3-glucozit và cyanidin-3-sambubiozit [5] và là thành phần chính góp phần vào khả năng chống oxy hóa của dịch chiết từ đài hoa atiso đỏ [6]. Bên cạnh đó, atiso đỏ còn có hoạt tính kháng khuẩn chống lại các loài khác nhau như: *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Clostridium sporogenes* [7] và hoạt tính kháng nấm đối với *Aspergillus, Trichophy, Cryptococcus* [8]. Ngoài việc sử dụng làm thuốc, atiso đỏ thường được sử dụng như một chất tạo màu tím tự nhiên cho nhiều loại thực phẩm như thạch, đồ uống và món tráng miệng. Quả và đài hoa của atiso đỏ được chế biến thành mứt hoặc được sấy khô dùng làm trà thảo dược [9], [10].

Trà thảo mộc là dòng sản phẩm vừa mang tính giải khát vừa có chức năng hỗ trợ và tăng cường sức khoẻ của người sử dụng. Phần lớn các loại trà thảo mộc được nghiên cứu chế biến trong thời gian gần đây đều có xu hướng phát triển ở dạng sản phẩm trà túi lọc [11], [12], [13] bởi những lợi ích mà dòng sản phẩm này mang lại như khả năng sử dụng thuận tiện; dễ dàng phối chế với các nguyên liệu phụ liệu giúp tăng cường mùi vị và giá trị dinh dưỡng, giá trị dược liệu. Các nghiên cứu ở trên cũng cho thấy, nguyên liệu phụ được sử dụng phổ biến trong các công thức phối chế sản phẩm trà túi lọc dạng khô thường là thảo dược có tác dụng tạo mùi, tạo vị như cỏ ngọt, cam thảo, hoa

[1] Khoa Cơ khí và Công nghệ, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế
[2] Phòng Khoa học, Hợp tác Quốc tế và Thông tin thư viện, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế
[*]Email: nguyenvantoan@huaf.edu.vn

cúc…Nguyen và Chuyen (2020) [9] đã nghiên cứu về ảnh hưởng của chế độ sấy và chế độ pha trà đến các thành phần hoạt tính sinh học của trà atiso đỏ túi lọc và cho rằng nhiệt sấy, nhiệt độ nước pha trà, thời gian ủ trà, tỉ lệ trà, nước pha có ảnh hưởng đến hợp chất phenolic cũng như khả năng kháng oxi hóa của trà thành phẩm. Tuy vậy, vẫn chưa có nghiên cứu đánh giá đầy đủ về ảnh hưởng của các công đoạn trong quá trình chế biến và bảo quản đến chất lượng trà trên phương diện vi sinh vật, cảm quan và dinh dưỡng.

Mục đích của nghiên cứu này là đưa ra được một số thông số công nghệ thích hợp cho quy trình chế biến trà túi lọc từ hoa atiso đỏ thông qua việc khảo sát ảnh hưởng của chế độ sấy, tỉ lệ phối trộn đến đến chất lượng của trà atiso đỏ túi lọc, đồng thời chất lượng của trà túi lọc trước và sau thời gian bảo quản cũng được đánh giá. Từ đó, đề xuất một quy trình chế biến trà atiso đỏ thuận tiện, có thể dễ dàng áp dụng ở quy mô nhỏ để sản xuất trà túi lọc atiso đỏ có chất lượng cao, đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm, góp phần cải thiện sinh kế cho người trồng atiso đỏ tại địa phương.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu sử dụng trong nghiên cứu là đài hoa atiso đỏ được thu mua từ thôn Hà Cảng, xã Quảng Phú, huyện Quảng Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế. Chọn những hoa khô ráo, còn tươi, có cuống cứng. Cánh hoa dày, rộng, cao vượt hẳn qua hạt. Hoa không bị nám, dập nát và có màu đỏ đẹp mắt. Hoa sau khi thu hoạch được bảo quản ở 4^0C và tiến hành ngay các thí nghiệm chế biến không quá 2 ngày sau khi thu hoạch. Các loại hóa chất sử dụng để phân tích có xuất xứ Trung Quốc và có độ tinh khiết từ trên 99%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Trà atiso đỏ túi lọc được sản xuất theo quy trình dự kiến:

Đài hoa atiso đỏ → Cắt cuống, bỏ hạt → Rửa sạch, để ráo nước → Làm héo → Xé sợi (2x3 cm) → Sấy → Xay → Phối trộn → Đóng túi → Vào hộp → Thành phẩm.

↑

Nguyên liệu phụ (cỏ ngọt, cam thảo)

Thí nghiệm 1: Khảo sát một số thành phần hóa học của hoa atiso đỏ nguyên liệu

Hoa atiso đỏ được phân tích một số chỉ tiêu như: Nước, protein, đường tổng số, axit tổng số, vitamin C, antoxian.

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chất lượng trà thành phẩm

Đài hoa atiso đỏ nguyên liệu được sấy ở các mức nhiệt độ: 40, 50, 60, 70 và 80^0C đến khi đạt thuỷ phần dưới 10% [14]. Nhiệt độ sấy được lựa chọn dựa vào sự biến đổi hàm lượng antoxian cũng như điểm cảm quan của thành phẩm.

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu tỉ lệ phối trộn đến chất lượng cảm quan của trà thành phẩm

Đài hoa atiso được sấy theo nhiệt độ được lựa chọn từ thí nghiệm trên và xay nhỏ sau đó phối trộn với cỏ ngọt và cam thảo theo 8 công thức với tỷ lệ giữa hoa atiso đỏ: cỏ ngọt: cam thảo lần lượt là 1: 0,1: 0 (CT1); 1: 0,2: 0 (CT2); 1: 0,3: 0 (CT3); 1: 0,4: 0 (CT4); 1: 0,2: 0,1 (CT5); 1: 0,2: 0,2 (CT6); 1: 0,2: 0,3 (CT7); 1: 0,2: 0,4 (CT8). Tỉ lệ phối trộn được lựa chọn thông qua kết quả đánh giá cảm quan nước pha trà 2 g trà trong 150 mL nước đun sôi sau 5 phút hãm trà.

Thí nghiệm 4: Khảo sát sự biến đổi chất lượng của trà thành phẩm

Chất lượng của trà thành phẩm được đánh giá thông qua một số chỉ tiêu hóa học như hàm lượng antoxian, vitamin C, axit theo thời gian bảo quản từ 0, 1, 2, 3 và 4 tháng. Túi trà chứa 2 g trà được bảo quản trong hộp giấy có kích thước 15 x 5,5 x 18,5 cm ở điều kiện phòng với độ ẩm dao động trên 75% RH. Ngoài ra, trà thành phẩm được đánh giá một số chỉ tiêu vi sinh vật như: Tổng vi sinh vật hiếu khí, *Salmonella*, tổng số nấm men và nấm mốc, *Coliforms* như quy định theo TCVN 7975: 2008 [14] cho sản phẩm chè thảo mộc túi lọc.

2.2.2. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

- Phân tích một số chỉ tiêu hóa lý: Độ ẩm, đường tổng số, axit tổng số, vitamin C và antoxian trong nguyên liệu và thành phẩm lần lượt được xác định bằng các phương pháp sấy đến khối lượng không đổi theo TCVN 9934: 2013 [15], phương pháp Bertrand theo TCVN 4594: 1988 [16],

phương pháp trung hòa theo TCVN 4589: 1988 [17], phương pháp chuẩn độ iôt theo TCVN 4715: 1989 [18] và phương pháp pH vi sai theo TCVN 11028: 2015 [19].

- Phân tích chỉ tiêu vi sinh vật: Các chỉ tiêu *E. coli,* tổng vi khuẩn hiếu khí, *Coliforms* và tổng số bào tử nấm men, nấm mốc được phân tích lần lượt theo TCVN 6846: 2007 [20], TCVN 4884: 2005 [21], TCVN 4882: 2007 [22] và TCVN 8275-2: 2010 [23].

- Phân tích chỉ tiêu cảm quan: Chất lượng cảm quan của sản phẩm được đánh giá bằng phương pháp cho điểm thị hiếu các chỉ tiêu màu, mùi vị, trạng thái theo thang đo Hedonic.

- Xử lý số liệu: Số liệu và đồ thị được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel. Kết quả thí nghiệm được phân tích Oneway ANOVA trên phần mền IBM SPSS statistics 20.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát một số chỉ tiêu vật lý, hóa học cơ bản của đài hoa atiso đỏ

Đài hoa atiso đỏ nguyên liệu được phân tích một số thành phần vật lý, hóa học cơ bản, gồm: Hàm lượng nước, protein, đường tổng số, antoxian, vitamin C và axit tổng số. Kết quả phân tích được thể hiện trong bảng 1.

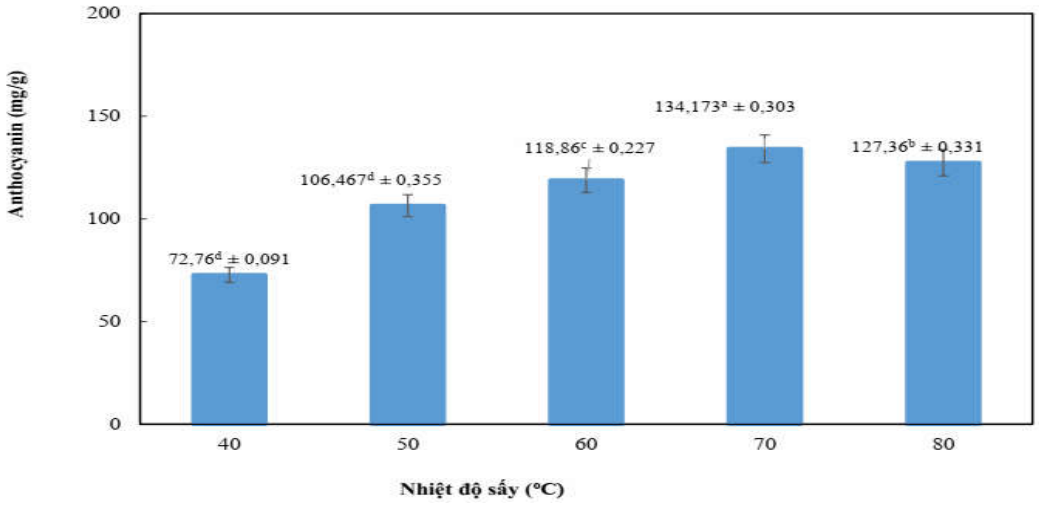
Bảng 1 cho thấy, hàm lượng nước trong nguyên liệu ban đầu khá cao (87,42%). Kết quả này cao hơn nghiên cứu của Ismail và cs (2008) [7] về độ ẩm của hoa bụp giấm là 84,5% và thấp hơn nghiên cứu của Ajala và cs (2013) [4] là 89,26%. Hàm lượng protein từ thực nghiệm của nguyên liệu ban đầu tương đối thấp (1,331%). Hàm lượng vitamin C ở hoa bụp giấm trong nghiên cứu là 12,613 mg/100 g và xấp xỉ kết quả nghiên cứu của Ismail và cs (2008) [7] là 14 mg/100 g. Hàm lượng đường tổng số có giá tương đối cao (2,984%). Hàm lượng antoxian trong nguyên liệu ban đầu tương đối cao (80,457 mg/g). Antoxian ảnh hưởng bởi pH trong quá trình chế biến sản phẩm. Chỉ tiêu này ảnh hưởng đến màu sắc, do đó ảnh hưởng đến giá trị cảm quan của sản phẩm trà. Vì vậy, đây là chỉ tiêu cần lưu ý trong quá trình chế biến.

Bảng 1. Một số chỉ tiêu hóa học của hoa atiso đỏ nguyên liệu

Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Hàm lượng
Nước	%	87,420±0,975
Protein	% chất khô	1,331±0,030
Đường tổng số	% chất khô	2,984±0,236
Axit tổng số	% chất khô	1,906±0,143
Vitamin C	% chất khô	12,613±0,508
Antoxian	mg/g	80,457 ± 0,224

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3)

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chất lượng trà atiso đỏ túi lọc



Hình 1. Sự thay đổi hàm lượng antoxian theo nhiệt độ sấy

Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,05.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy tới chất lượng cảm quan

Nhiệt độ sấy (°C)/Thời gian sấy (giờ)	Độ ẩm cuối (%)	Điểm cảm quan		
		Màu sắc	Mùi	Vị
40/15	6,04	$7,223^{c} \pm 0,012$	$6,220^{c} \pm 0,057$	$5,623^{c} \pm 0,032$
50/12	6,23	$7,263^{c} \pm 0,021$	$6,287^{c} \pm 0,068$	$5,680^{c} \pm 0,015$
60/9	6,18	$7,327^{ab} \pm 0,007$	$6,453^{b} \pm 0,047$	$5,773^{b} \pm 0,006$
70/6	5,98	$7,377^{a} \pm 0,037$	$6,740^{a} \pm 0,003$	$6,083^{a} \pm 0,032$
80/2	5,88	$7,320^{b} \pm 0,001$	$6,500^{b} \pm 0,017$	$5,807^{b} \pm 0,021$

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái (a, b, c, d) theo cột khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,05.

Kết quả sự thay đổi màu sắc (hàm lượng antoxian) và giá trị cảm quan theo nhiệt độ sấy được thể hiện ở hình 1 và bảng 2.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, khi sấy ở các nhiệt độ khác nhau thì thời gian sấy để đạt tới hàm ẩm thấp hơn 10% là khác nhau. Nhiệt độ càng tăng thì thời gian sấy nguyên liệu càng giảm. Trong đó, sau 15 giờ sấy ở 40^0C, hàm ẩm của hoa đạt 6,04% và với nhiệt độ sấy là 80^0C, hàm ẩm đạt là 5,88% sau 2 giờ sấy. Nguyen và Chuyen (2020) [9] cho rằng, nhiệt độ sấy 60^0C cần 22 giờ mới làm khô được hoa atiso đỏ về độ ẩm 7,1% và mất 9 giờ, 7 giờ và 3,5 giờ với nhiệt độ sấy lần lượt là 80, 100 và 120^0C để đưa hàm ẩm của đài hoa atiso về dưới 8%. Sự khác nhau này có thể là do sự khác nhau về chiều dày lớp vật liệu sấy, trạng thái nguyên liệu (để nguyên hay xé nhỏ), độ ẩm nguyên liệu trước khi sấy cũng như tốc độ không khí sấy.

Hình 1 cho thấy, nhiệt độ sấy 70^0C trong 6 giờ, hoa atiso sấy khô có hàm lượng antoxian cao nhất. Khi tăng nhiệt độ sấy lên 80^0C, hàm ẩm của đài hoa gần như không đổi (5,98% và 5,88%) nhưng hàm lượng antoxian có sự giảm nhẹ (từ 134,173 mg/g ở 70^0C xuống 127,36 mg/g ở 80^0C). Kết quả đánh giá cảm quan cũng cho thấy, nước pha đài hoa atiso có màu sắc, mùi và vị được người thử đánh giá điểm cao nhất ở 70^0C với mức đánh giá là tương đối thích theo thang Hedonic. Từ kết quả phân tích trên cho thấy, nhiệt độ sấy 70^0C trong thời gian 6 giờ được lựa chọn là thông số sấy cho những thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn đến giá trị cảm quan của atiso đỏ túi lọc

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn nguyên liệu phụ đến các chỉ tiêu cảm quan của trà

Tỷ lệ phối trộn theo khối lượng (hoa atiso đỏ: cỏ ngọt: cam thảo)	Điểm cảm quan[1] (điểm)		
	Màu sắc	Mùi	Vị
CT1 (1: 0,1: 0)	$6,413^{c} \pm 0,025$	$6,873^{b} \pm 0,027$	$5,460^{c} \pm 0,050$
CT2 (1: 0,2: 0)	$7,337^{a} \pm 0,059$	$7,257^{a} \pm 0,029$	$6,443^{a} \pm 0,058$
CT3 (1: 0,3: 0)	$6,707^{b} \pm 0,113$	$6,827^{b} \pm 0,010$	$5,957^{b} \pm 0,012$
CT4 (1: 0,4: 0)	$6,867^{b} \pm 0,056$	$6,74^{c} \pm 0,048$	$6,030^{b} \pm 0,011$
CT5 (1: 0,2: 0,1)	$7,450^{A} \pm 0,014$	$7,323^{A} \pm 0,023$	$7,003^{A} \pm 0,100$

CT6 (1: 0,2: 0,2)	$7,429^{A} \pm 0,043$	$6,950^{B} \pm 0,047$	$6,750^{B} \pm 0,033$
CT7 (1: 0,2: 0,3)	$7,405^{A} \pm 0,016$	$6,810^{B} \pm 0.050$	$6,227^{C} \pm 0,055$
CT8 (1: 0,2: 0,4)	$7,398^{A} \pm 0,023$	$6,693^{C} \pm 0,024$	$6,123^{C} \pm 0,008$

Ghi chú: [1]: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3). [a, b, c, A, B, C]: Các giá trị cùng một cột có chữ cái trên đầu khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa (p<0,05); CT = công thức.

Đối với một sản phẩm trà thì các chỉ tiêu màu, mùi, vị đóng vai trò quan trọng và là tiêu chí bắt buộc trong các chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm [14]. Trước khi xây dựng các công thức phối trộn sản phẩm, đã khảo sát sơ bộ các nguyên liệu phụ được phối trộn gồm cỏ ngọt, cam thảo, râu ngô, gừng, kết quả cho thấy, cỏ ngọt, cam thảo cho mùi và vị hợp với nguyên liệu hoa atiso đỏ. Hoa atiso đỏ có mùi nhẹ, vị chua gắt nên việc lựa chọn nguyên liệu phụ có vị ngọt sẽ mang đến sự hài hòa về mùi và vị cho trà thành phẩm. Trên cơ sở đó, đã tiến hành xác định tỉ lệ phối trộn các nguyên liệu phụ là cỏ ngọt và cam thảo, sau đó hãm nước trà để đánh giá các chỉ tiêu chất lượng sản phẩm (Bảng 3).

Kết quả đánh giá cảm quan công thức 1 (CT1) đến công thức 4 (CT4) cho thấy nước pha trà ở công thức 2 (CT2) với tỉ lệ hoa atiso đỏ: cỏ ngọt = 1: 0,2 cho điểm cảm quan cao nhất về cả 3 chỉ tiêu đánh giá (màu sắc, mùi và vị) với mức đánh giá là tương đối thích về vị (6,443 điểm) và thích về màu sắc và mùi (7,337 và 7,257 điểm) theo thang Hedonic. Sử dụng tỉ lệ cỏ ngọt ở CT2 và tiếp tục bổ sung cam thảo theo tỉ lệ từ công thức 5 (CT5) đến công thức 8 (CT8). Kết quả đánh giá cho thấy: Việc bổ sung cam thảo ở tỉ lệ thấp (CT5) được người thử ưa thích với mức điểm đạt thích ở cả 3 chỉ tiêu màu, mùi và vị lần lượt là 7,45, 7,32 và 7,00 điểm. Khi tăng tỉ lệ cam thảo bổ sung điểm cảm quan về chỉ tiêu mùi và vị giảm rõ rệt. Điều này có thể là do mùi đặc trưng và hậu vị mạnh của cam thảo gây nên.

Thành phần và hàm lượng trong công thức phối chế có sự khác nhau nhất định với những sản phẩm trà túi lọc khác nhau như trà diếp cá, trà tía tô, nấm vân chi. Nghiên cứu của Nguyễn Đức Chung và cs (2022) [11] cho thấy, ở công thức phối trộn nấm vân chi: trà xanh: cỏ ngọt = 1: 0,33: 0,11, trà túi lọc nấm vân chi cho kết quả điểm cảm quan đạt mức thích ở cả 3 chỉ tiêu màu, mùi và vị. Nghiên cứu của Nguyễn Tiến Dũng và cs (2018) [12] cho thấy, trà túi lọc lá vối phối trộn với lá nếp theo tỷ lệ 1,4: 0,6 hoặc 1,6: 0,4 được đánh giá chất lượng cảm quan đạt loại khá. Nhìn chung, nguyên liệu phụ bổ sung với tỉ lệ dưới 50% khối lượng so với nguyên liệu chính và việc phối trộn với nguyên liệu phụ cũng như liều lượng sử dụng là khác nhau tùy loại nguyên liệu. Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy, trà túi lọc atiso đỏ với tỉ lệ phối trộn hoa atiso đỏ: cỏ ngọt: cam thảo = 1: 0,2: 0,1 được người thử ưa thích nhất trong nghiên cứu này.

3.4. Đánh giá chất lượng sản phẩm trà atiso đỏ túi lọc

Chất lượng của sản phẩm trà túi lọc atiso đỏ được đánh giá thông qua phân tích các chỉ tiêu hóa học và một số chỉ tiêu vi sinh vật. Kết quả phân tích được thể hiện ở các bảng 4 và 5.

Bảng 4. Một số chỉ tiêu hóa học của sản phẩm trà túi lọc atiso đỏ

Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Hàm lượng[1]
Độ ẩm	%	6,947±0,122
Axit tổng số	%	1,125±0,108
Vitamin C	mg/100g	6,601±0,254
Antoxian	mg/g	81,08±1,185

Ghi chú: [1]: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3)

Kết quả nghiên cứu cho thấy: Độ ẩm trà đạt yêu cầu theo TCVN 7975: 2008 [14] (nhỏ hơn 10%). Hàm lượng vitamin C (6,601 mg/100 g) vẫn còn trong sản phẩm sau quá trình chế biến nhiệt. Hàm lượng antoxian được giữ ở mức cao trong sản phẩm cuối (81,08 mg/g). Kết quả phân tích vi sinh

vật cho thấy, cả 4 chỉ tiêu phân tích *Salmonella*, *Coliform*, tổng vi khuẩn hiếu khí, tổng số bào tử nấm men, nấm mốc đều ở ngưỡng thấp hơn quy định của TCVN 7975: 2008 [14]. Như vậy, sản phẩm đạt yêu cầu về mặt an toàn vi sinh vật.

Bảng 5. Chỉ tiêu vi sinh vật của sản phẩm trà atiso đỏ

Tên chỉ tiêu	Kết quả thử nghiệm	TCVN 7579: 2008 [14]
Salmonella (khuẩn lạc/25 g sản phẩm)	KPH	Không được có
Vi sinh vật hiếu khí tổng số (vi khuẩn/g sản phẩm)	$7,0.10^0$	$1,0.10^6$
Nấm men, nấm mốc (khuẩn lạc/g sản phẩm)	$1,8.10^2$	$1,0.10^4$
Coliform (khuẩn lạc/g sản phẩm)	KPH	$1,0.10^3$

3.5. Ảnh hưởng của điều kiện bảo quản đến một số hoạt chất sinh học trong trà atiso đỏ túi lọc

Kết quả đánh giá một số biến đổi chất lượng và chỉ tiêu vi sinh vật ở bảng 6 và 7 cho thấy, các hàm lượng hoạt chất có trong sản phẩm trà túi lọc biến đổi sau 1, 2, 3 và 4 tháng bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng. Theo thời gian bảo quản, sản phẩm có xu hướng tăng độ ẩm và giảm hàm lượng antoxian, vitamin C, axit tổng số. Nghiên cứu của Alighourchi và Barzegar (2009) [24] cho thấy, antoxian trong nước lựu thay đổi theo nhiệt độ và thời gian bảo quản. Sau 90 ngày bảo quản, các thành phần của antoxian trong nước lựu đều giảm mạnh ở cả nhiệt độ bảo quản là 20^0C và 37^0C. Nhiệt độ, ánh sáng, pH, oxy không khí, enzim, ion kim loại và đường được cho là các yếu tố gây tổn thất antoxian trong quá trình chế biến và bảo quản rau, quả và các sản phẩm chế biến từ rau, quả [25]. Như vậy, sự thay đổi của hàm lượng antoxian trong quá trình bảo quản trà túi lọc atiso đỏ trong nghiên cứu này có thể do sự có mặt của oxy không khí thông qua cơ chế oxy hóa và/hoặc sự có mặt của đường thông qua cơ chế glycosyl hóa [25].

Kết quả phân tích hàm lượng vi sinh vật cho thấy, kết thúc 4 tháng bảo quản, sản phẩm trà túi lọc atiso đỏ có các chỉ tiêu vi sinh vật thấp hơn so với quy định tại TCVN 7975: 2008 [14]. Do vậy, cần sử dụng trà trong thời gian dưới 4 tháng để có sản phẩm an toàn và cung cấp những hoạt chất sinh học tốt cho cơ thể.

Bảng 6. Sự biến đổi chất lượng của trà atiso túi lọc theo thời gian bảo quản

Thời gian bảo quản (tháng)	Chỉ tiêu[1]			
	Antoxian (mg/g)	Axit tổng số (%)	Vitamin C (mg%)	Độ ẩm (%)
0	$81,08^{a}$±1,185	$1,13^{b}$±0,05	$6,60^{a}$±0,08	$3,6^{e}$±0,02
1	$54,71^{b}$±0,981	$1,21^{a}$±0,11	$6,55^{a}$±$0,17^{a}$	$6,7^{d}$±0,01
2	$51,63^{b}$±0,552	$1,16^{b}$±0,02	$6,51^{ab}$±0,15	$7,8^{c}$±0,01
3	$35,38^{c}$±0,357	$1,03^{bc}$±0,12	$6,49^{bc}$±0,20	$8,4^{b}$±0,08
4	$20,58^{d}$±0,239	$0,97^{c}$±0,08	$6,48^{c}$±0,11	$9,0^{a}$±0,06

Ghi chú: [1]: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. [a, b, c]: Các giá trị cùng một cột có chữ cái trên đầu khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa (p<0,05)

Bảng 7. Một số chỉ tiêu vi sinh vật được đánh giá trà atiso đỏ túi lọc sau 4 tháng bảo quản

Tên chỉ tiêu	Kết quả thử nghiệm	TCVN 7975: 2008 [14]
Salmonella (khuẩn lạc/25 g sản phẩm)	Không phát hiện	Không được có
Vi sinh vật hiếu khí tổng số (vi khuẩn/g sản phẩm)	$1,2.10^5$	$1,0.10^6$
Nấm men, nấm mốc (khuẩn lạc/g sản phẩm)	$2,0.10^3$	$1,0.10^4$
Coliform (khuẩn lạc/g sản phẩm)	KPH	$1,0.10^3$

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được một số thành phần vật lý, hóa học chính của Đài hoa atiso đỏ trước khi đem vào chế biến. Thông số kỹ thuật ở công đoạn sấy Trà túi lọc atiso đỏ thích hợp nhất: nhiệt độ 70^0C; trong thời gian 6 giờ. Thành phần phối trộn của sản phẩm Trà túi lọc atiso đỏ phù hợp nhất: hoa atiso đỏ: cỏ ngọt: cam thảo = 1: 0,2: 0,1. Thời hạn sử dụng sản phẩm Trà túi lọc atiso đỏ là 4 tháng ở điều kiện bảo quản môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Da Costa Rocha I., Bonnlaender B., Sievers H., Pischel I. & Heinrich M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review. *Food chemistry*, 165, 424 - 443.

2. McKay D. L., Chen C. O., Saltzman E. & Blumberg J. B. (2010). *Hibiscus sabdariffa* L. tea (tisane) lowers blood pressure in prehypertensive and mildly hypertensive adults. *The Journal of nutrition*, 140 (2), 298 - 303.

3. Patel S. (2014). *Hibiscus sabdariffa*: An ideal yet under-exploited candidate for nutraceutical applications. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4 (1), 23 - 27.

4. Ajala L. O., Oyeleke G. O. & Olagunju E. O. (2013). Nutritional assessment of juice extract from Hibiscus sabdariffa. *Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 2v (1), 10 - 19.

5. Borrás Linares I., Fernández Arroyo S., Arráez Roman D., Palmeros Suárez P. A., Del Val Díaz R., Andrade Gonzáles I. & Segura-Carretero A. (2015). Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Industrial Crops and Products*, 69, 385-394.

6. Tsai P. J., McIntosh J., Pearce P., Camden B. & Jordan B. R. (2002). Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food research international*, 35 (4), 351 - 356.

7. Ismail A., Ikram E. H. K. & Nazri H. S. M. (2008). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds nutritional composition protein quality and health benefits. *Food*, 2 (1), 1 - 16.

8. Lin H. H., Chen J. H. & Wang, C. J. (2011). Chemopreventive properties and molecular mechanisms of the bioactive compounds in *Hibiscus sabdariffa* Linne. *Current medicinal chemistry*, 18 (8), 1245 - 1254.

9. Nguyen Q. V. & Chuyen H. V. (2020). Processing of herbal tea from roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.): Effects of drying temperature and brewing conditions on total soluble solid, phenolic content, antioxidant capacity and sensory quality. *Beverages*, 6 (1), 2.

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

11. Nguyễn Đức Chung, Vũ Tuấn Minh, Hồ Sỹ Vương, Nguyễn Ninh Hải, Nguyễn Văn Huế (2016). Nghiên cứu quy trình chế biến trà túi lọc nấm Vân Chi (*Trametes versicolor*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 6 (3), 3274 - 3284.

12. Nguyễn Tiến Dũng, Lê Hồng Nhung, Đào Văn Toàn, Phạm Quang Tiến, Trịnh Thị Chung, Đinh Thị Kim Hoa, Nguyễn Văn Bình (2018). Nghiên cứu sản xuất trà túi lọc là vối (*Cleistolyx operculatus* Roxb). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*. 184 (08), 11 - 16.

13. Trần Thanh Trúc, Mai Thành Thái, Mai Diễm Trinh và Nguyễn Trọng Tuân (2021). Nghiên cứu công nghệ chế biến trà túi lọc từ vỏ bưởi Năm roi (*Citrus grandis* (L.) OSBECK). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* (57), 10 - 20.

14. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7975: 2008 Chè thảo mộc túi lọc.

15. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 9934: 2013 (ISO 1666: 1996) Tinh bột - xác định độ ẩm - phương pháp dùng tủ sấy.

16. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4594: 1988 Đồ hộp - phương pháp xác định đường tổng số, đường khử và tinh bột.

17. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4589: 1988 Đồ hộp - phương pháp xác định hàm lượng axit tổng số và axit bay hơi.

18. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4715: 1989 Đồ hộp rau quả - phương pháp xác định hàm lượng vitamin C (Axit Ascobic).

19. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 11028: 2015 Đồ uống - xác định tổng hàm lượng chất tạo màu anthocyanin dạng monome - phương pháp pH vi sai.

20. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 6846: 2007 (ISO 7251: 2005) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - phương pháp phát hiện và định lượng *Escherichia coli* giả định - kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất.

21. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4884: 2005 (ISO 4833: 2003) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - phương pháp định lượng vi sinh vật trên đĩa thạch - kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30^0C

22. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4882: 2007 (ISO 4831: 2006) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng Coliform - Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất.

23. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8275-2: 2010 (ISO 21527-2 : 2008) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - phương pháp định lượng nấm men và nấm mốc - Phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc trong các sản phẩm có hoạt độ nước nhỏ hơn hoặc bằng 0,95.

24. Alighourchi H. & Barzegar M. (2009). Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 90 (2), 179 - 185.

25. Patras A., Brunton N. P., O'Donnell C. & Tiwari B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. Trends in Food Science & Technology, 21 (1), 3 - 11.

EFFECTS OF SOME PARAMETERS PROCESSING AND STORAGE CONDITIONS ON THE QUALITY OF HIBISCUS TEA BAG

Nguyen Thi Van Anh[1], Nguyen Van Hue[2], Nguyen Duc Chung[1], Ho Sy Vuong[1], Nguyen Van Toan[1,*]

[1]University of Agriculture and Forestry, Hue University

[2]Faculty of Science, International Cooperation and Library Information, Hue University of Agriculture and Forestry.

** Email: nguyenvantoan@huaf.edu.vn*

Summary

Hibiscus is a plant in the Malvaceae family, native to West Africa. In recent years, hibiscus have been planted in many areas in Vietnam, especially in Thua Thien Hue province, to collect flowers for processing some food products. With the aim of diversifying products from hibiscus and creating a quality tea product in terms of food hygiene and safety, this study was conducted to investigate the influence of a number of technological factors (drying temperature, ingredient mixing ratio) and storage conditions on the quality of hibiscus tea bags through the determination of physical (moisture), chemical (total sugar, total acid, vitamin C, anthocyanins and total polyphenols) and sensory properties. The results show that, with the hot air convection drying method at the drying temperature of 70^0C for 360 minutes, the mixing ratio of hibiscus: sweetleaf: licorice = 1: 0.2: 0.1 (g/g/g), the hibiscus tea bag has quality in terms of microbiology, sensory and nutritional aspects. The shelflife of hibiscus tea bags is 4 months of storage in sealed conditions. The success of the research also resulted in a quality product consistent with the local hibiscus production facility.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa, moisture, red artichoke, tea bag, temperature.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Đức Vượng

Ngày nhận bài: 12/4/2023

Ngày thông qua phản biện: 9/5/2023

Ngày duyệt đăng: 16/5/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC ĐIỀU KIỆN NẢY MẦM ĐẾN THÀNH PHẦN DINH DƯỠNG VÀ KHẢ NĂNG CHỐNG OXI HÓA CỦA ĐẬU VÁN TRẮNG (*Dolichos lablab*)

Trần Ngọc Hiếu[1], Lê Thị Thu Hiền[1],
Hồ Thụy Thanh Trúc[1], Hoàng Kim Anh[1,*]

TÓM TẮT

Đậu ván (*Dolichos lablab*) là một trong những cây họ đậu được trồng rất phổ biến ở Việt Nam. Nảy mầm là phương pháp có thể giúp nâng cao giá trị dinh dưỡng của các loại đậu, dễ dàng thực hiện, chi phí thấp và không đòi hỏi kỹ thuật đặc biệt. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định các điều kiện thích hợp của quá trình nảy mầm để tỉ lệ nảy mầm và hiệu suất thu hồi bột đậu cao. Sự thay đổi hàm lượng protein, tinh bột, phenolic tổng và khả năng chống oxi hóa của bột đậu trong các điều kiện khảo sát cũng được đánh giá. Các điều kiện trong giai đoạn ngâm hạt được thay đổi, bao gồm: Nhiệt độ, thời gian ngâm, tỉ lệ thể tích nước ngâm so với khối lượng hạt. Giai đoạn ủ cho hạt nảy mầm cũng được khảo sát tại các điều kiện nhiệt độ, thời gian và ánh sáng khác nhau. Khi hạt được ngâm với tỉ lệ 100 g hạt: 500 ml nước ở 30^0C, trong 4 giờ sau đó ủ trong khăn ẩm 40 giờ ở 30-35^0C trong điều kiện có ánh sáng hoặc tối thì tỉ lệ nảy mầm đạt trên 90%, hiệu suất thu hồi bột đậu đạt gần 70%. Thành phần sinh hóa và khả năng chống oxi hóa của đậu nảy mầm thay đổi đáng kể, hàm lượng protein của đậu nảy mầm tăng và đạt khoảng 30%, hàm lượng phenolic tổng và khả năng chống oxi hóa là 495 mg GAE/100 g và 24 μmol TE/g, tăng tương ứng 90% và 50% so với đậu nguyên liệu.

Từ khóa: *Đậu ván, hàm lượng phenolic tổng, hiệu suất thu hồi, khả năng chống oxi hóa, tỉ lệ nảy mầm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tại Việt Nam, đậu ván trắng được trồng rất phổ biến, đặc biệt ở các tỉnh miền Trung và miền Nam. Đây là loài đậu dùng làm thực phẩm rất tốt, được Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp của Liên hợp quốc (FAO) khuyến cáo trồng để cung cấp nguồn protein thực vật cho các nước đang phát triển. Hạt đậu ván (*Dolichos lablab*) chứa 34,96 ± 0,06% hidrat cacbon, chiếm tỷ lệ cao nhất trong tổng thành phần hóa học, tiếp theo là protein 24,21 ± 1,61%. Các thành phần khác gồm độ ẩm chiếm 10,62 ± 0,28%, chất béo 5,74 ± 0,23% và tro 2,91 ± 0,06% [1]. Do những thành phần dinh dưỡng dồi dào này mà đậu ván là nguồn cung cấp năng lượng và protein, giúp giảm thiểu sự thiếu hụt protein tại các quốc gia đang phát triển.

Nảy mầm là một quá trình hóa sinh, hóa lý và sinh lý phức tạp. Quá trình nảy mầm bắt đầu từ giai đoạn ngâm đậu kéo dài đến sau giai đoạn ủ đậu, có thể giúp cải thiện chất lượng dinh dưỡng, tăng cường protein dễ tiêu hóa, hình thành các hợp chất như polyphenol đồng thời làm giảm các thành phần không mong muốn như các loại protein gây dị ứng. Thành phần dinh dưỡng và hoạt tính sinh học của đậu sau nảy mầm chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố. Nước rất cần thiết cho sự nảy mầm. Khi hạt hấp thu đủ nước, các enzim thủy phân sẽ được kích hoạt và sẽ chuyển nguồn dinh dưỡng dự trữ thành các chất hữu ích cho quá trình nảy mầm. Tuy nhiên, thời gian ngâm hạt trong nước quá lâu có thể làm thất thoát các thành phần hòa tan, ảnh hưởng đáng kể đến các thành phần hóa học của hạt sau nảy mầm. Ngoài ra, nhiệt độ và thời gian nảy mầm cũng ảnh hưởng đến các thành phần dinh dưỡng, các đặc tính lý hóa cũng

[1] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn
[*]Email: anh.hoangkim@stu.edu.vn

như thành phần có hoạt tính sinh học của hạt nảy mầm [2].

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về quá trình nảy mầm ở các loại đậu như đậu xanh [3] đậu nành [4, 5], đậu gà [6], tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào về quá trình nảy mầm đậu ván được công bố. Vì thế, mục tiêu của nghiên cứu này là xác định các điều kiện thích hợp của quá trình nảy mầm đậu ván nhằm cải thiện giá trị dinh dưỡng, hướng tới việc ứng dụng bột đậu nảy mầm trong các sản phẩm thực phẩm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Đậu ván trắng khô (khoảng 10% độ ẩm) được mua ở chợ Bàu Cát, thành phố Hồ Chí Minh. Đây là giống đậu được trồng tại Quảng Ngãi, Việt Nam. Đậu được mua về, loại bỏ những hạt bị sâu hoặc lép, sau đó được cho nảy mầm dựa trên phương pháp của Phạm Văn Hùng và cs (2020) [3] với một vài sửa đổi.

2.2. Nghiên cứu quá trình nảy mầm đậu ván

500 g đậu khô được phối trộn với nước theo các tỉ lệ nguyên liệu: nước 1 : 5, 1 : 10, 1 : 15 (g/ml), sau đó ngâm trong các khoảng thời gian 0, 4, 8, 12 giờ ở các điều kiện nhiệt độ 25^{0}C, 30^{0}C, 35^{0}C, 40^{0}C, 45^{0}C trước khi vớt ra, chuyển đậu sang ủ trong khăn ẩm (độ ẩm 80%) trong 32 giờ ở nhiệt độ 30^{0}C - 32^{0}C. Sau khi xác định được các điều kiện ngâm phù hợp, các thông số của giai đoạn nảy mầm tiếp tục được khảo sát, gồm: thời gian nảy mầm (0, 8, 16, 24, 32, 40, 48 giờ), nhiệt độ nảy mầm (25^{0}C, 30^{0}C, 35^{0}C, 40^{0}C, 45^{0}C). Ảnh hưởng của ánh sáng tới quá trình nảy mầm cũng được khảo sát: các hạt đậu ván sau khi ngâm được chuyển vào một hộp nhôm kích thước 20 × 15 × 5 cm và được đặt trong tủ ổn nhiệt; hộp nhôm được đậy nắp kín khi quá trình nảy mầm được thực hiện trong điều kiện tối hoặc được đậy bằng 1 nắp có đục lỗ để gắn 2 đèn LED nhỏ bước sóng 550 nm, công suất 1 W, chiếu sáng liên tục trong thời gian nảy mầm [5]. Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu một yếu tố (OFAT - One Factor At a Time) và mẫu đối chứng là hạt đậu ván nguyên liệu chưa nảy mầm.

Đậu nảy mầm được bóc bỏ vỏ, phần còn lại được sấy đối lưu trong tủ sấy Memmert UF110 ở 60^{0}C cho đến khi đạt độ ẩm 10%. Đậu sau sấy được nghiền mịn, rây bằng rây có kích thước 70 mesh và bảo quản trong bao bì PA hút chân không, ở nhiệt độ -18^{0}C.

2.3. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu

- Tỉ lệ nảy mầm được tính theo công thức $T(\%) = \frac{n1}{n2} \times 100$. Trong đó: n_1 là khối lượng hạt nảy mầm và n_2 là tổng khối lượng hạt sau giai đoạn nảy nầm.

- Hiệu suất thu hồi (H) của bột đậu ván nảy mầm được tính theo công thức $H(\%) = \frac{m_s}{m_0} \times 100$. Trong đó: m_1 là khối lượng bột đậu sau nảy mầm thu được tính theo chất khô (g); m_0 là khối lượng đậu nguyên liệu tính theo chất khô (g).

- Hàm lượng protein được xác định theo phương pháp Kjeldahl - Nessler [7]. Gốc amôn tạo phức màu cam với thuốc thử Nessler và được đo OD tại bước sóng 375 nm. Hàm lượng nitơ trong mẫu được xác định thông qua việc xây dựng đường chuẩn với chất chuẩn là muối NH_4Cl.

- Hàm lượng tinh bột được xác định theo phương pháp thủy phân tinh bột thành đường khử (AACC 76-13.01). Đường khử trong dung dịch sau thủy phân tạo phức màu đỏ cam với thuốc thử DNS và được xác định bằng phương pháp đo quang phổ ở bước sóng 540 nm.

- Hàm lượng phenolic tổng (TPC - total phenolic content) được xác định theo phương pháp sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteau tạo phức màu vàng với các hợp chất phenolic và đo độ hấp thu ở bước sóng 760 nm [8]. Hàm lượng phenolic tổng được biểu thị bằng số mg đương lượng axit gallic (GAE - gallic acid equivalent) có trong 100 g chất khô của mẫu (mg GAE/100 g CK).

- Khả năng chống oxi hóa được xác định theo TCVN 11939: 2017 dựa trên phản ứng với gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1- Picrylhydrazyl). Khả năng chống oxi hóa của mẫu được biểu thị bằng số micromol đương lượng Trolox (TE - trolox equivalent) trên 1 g chất khô của mẫu (µmol TE/g CK).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Thí nghiệm khảo sát được thực hiện với tối thiểu 3 lần lặp lại. Kết quả trong báo cáo được thể

hiện bằng giá trị trung bình của 3 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn. Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được xác định bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) theo kiểm định Turkey với $p<0,05$ sử dụng phần mềm JMP 13.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của điều kiện ngâm hạt đến quá trình nảy mầm

3.1.1. Ảnh hưởng của thời gian ngâm

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tỉ lệ nảy mầm của hạt đạt cao nhất >80% khi ngâm hạt trong khoảng thời gian từ 4 -8 giờ ở 30^0C và tỉ lệ hạt: nước là 1 : 15 (g : ml). Khi ngâm hạt trong 12 giờ, hạt đậu trương nở to hơn so với những hạt nảy mầm trong các điều kiện ngâm còn lại. Tuy nhiên, thời gian ngâm này cho kết quả tỷ lệ nảy mầm thấp hơn. Nguyên nhân là do khi ngâm hạt trong một khoảng thời gian dài, lượng nước hạt hấp thụ được sẽ bị dư thừa và hạt bị thiếu oxi nên làm giảm khả năng nảy mầm [3]. Bảng 1 cũng cho thấy xu hướng hàm lượng tinh bột trong bột đậu nảy mầm giảm từ 44,8% xuống còn 39,8% khi kéo dài thời gian ngâm từ 0 - 12 giờ. Một số nghiên cứu cho rằng, trong lúc ngâm quá trình chuyển hóa tinh bột vẫn diễn ra, các enzim phân giải tinh bột được tổng hợp [9]. Tương tự, trong nghiên cứu của Samia El-Safy F. và cs (2013) [4], hàm lượng tinh bột của đậu nành cũng giảm dần và tổng lượng đường tăng khi tăng thời gian ngâm hạt. Như vậy, khi ngâm càng lâu, hạt đậu ván càng có thêm thời gian cho quá trình chuyển hóa tinh bột, nên hàm lượng tinh bột giảm. Khi ngâm hạt với thời gian 12 giờ, hàm lượng tinh bột giảm nhiều cũng có thể là lý do khiến tỷ lệ nảy mầm thấp, do tinh bột là thành phần chính được sử dụng để chuyển thành năng lượng cho mầm phát triển. Hàm lượng protein trong bột đậu nảy mầm cũng giảm nhẹ khi kéo dài thời ngâm hạt đậu ván từ 4 giờ đến 12 giờ, tuy nhiên sự hao hụt này là không đáng kể so với hạt trước khi nảy mầm.

Theo Vũ Thùy Anh và cs (2019) [10], trên đối tượng đậu xanh, khi thời gian ngâm đủ lâu, vỏ đậu bị vỡ, các gian bào giải phóng axit amin và protein hòa tan vào trong môi trường nước, protein cũng bị phân giải nên hàm lượng protein bị hao hụt dần. Sự thất thoát tinh bột và protein có thể là nguyên nhân dẫn đến hiệu suất thu hồi giảm so với đối chứng khi kéo dài thời gian ngâm. TPC và khả năng chống oxi hóa tăng dần và đạt cao nhất (tương ứng 460,41 ± 27,33 mg GAE/100 g và 22,08 ± 0,32 µmol TE/g) tại thời gian ngâm là 4 giờ, trùng với thời điểm hạt nảy mầm tốt nhất. Một số nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng lượng nước hạt hấp thụ và thời gian ngâm một số loại đậu có ảnh hưởng lớn đến khả năng sinh tổng hợp polyphenol trong quá trình nảy mầm [11]. Khoảng thời gian ngâm hạt tối ưu cho hàm lượng polyphenol của đậu tăng cao nhất là 6 - 8 giờ [12]; sự khác biệt này có thể là do đối tượng đậu khác nhau. Khi thời gian ngâm đạt tới một ngưỡng nhất định thì khả năng chống oxi hóa của hạt nảy mầm sẽ có chiều hướng giảm. Đây là kết quả của việc giảm hiệu quả hoạt động chuyển hóa khi nảy mầm do thời gian ngâm quá dài.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian ngâm hạt đến tỉ lệ nảy mầm, hiệu suất thu hồi, các thành phần dinh dưỡng và khả năng chống oxi hóa của bột đậu ván nảy mầm

Thời gian ngâm (giờ)	Tỉ lệ nảy mầm (%)	Hiệu suất thu hồi (%)	Tinh bột (%)	Protein (%)	TPC (mg GAE/100 g)	Khả năng chống oxi hóa (µmol TE/g)
0	$48,34 \pm 3,97^{c}$	$78,22 \pm 1,50^{a}$	$44,80 \pm 0,20^{a}$	$29,41 \pm 0,24^{ab}$	$299,72 \pm 30,81^{c}$	$19,63 \pm 0,23^{c}$
4	$83,51 \pm 4,09^{a}$	$73,43 \pm 1,87^{b}$	$42,01 \pm 0,26^{b}$	$30,69 \pm 0,43^{a}$	$460,41 \pm 27,33^{a}$	$22,08 \pm 0,32^{a}$
8	$81,49 \pm 4,42^{a}$	$74,28 \pm 1,31^{b}$	$42,77 \pm 0,62^{b}$	$30,40 \pm 0,60^{a}$	$404,18 \pm 20,10^{b}$	$22,04 \pm 0,23^{a}$
12	$72,96 \pm 2,39^{b}$	$69,74 \pm 3,89^{b}$	$39,80 \pm 1,75^{c}$	$29,28 \pm 0,17^{b}$	$388,93 \pm 32,50^{b}$	$20,75 \pm 0,15^{b}$

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

3.1.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu và nước ngâm hạt

Nước là thành phần quan trọng giúp các phản ứng sinh hóa có thể diễn ra trong quá trình nảy mầm, vì vậy hạt cần được ngâm nước trước khi cho nảy mầm. Với tỷ lệ 1 : 5, lượng nước ngâm đáp ứng đủ nhu cầu của hạt, tỉ lệ nảy mầm thu được cao (trên 80%); khi tỷ lệ nước ngâm thấp hơn, lượng nước không đủ ngập hạt nên hạt không nảy mầm. Ngâm là quá trình hydrat hóa, hạt từ trạng thái ngủ chuyển sang trạng thái hoạt động và nảy mầm. Vì vậy, lượng nước ngâm phù hợp sẽ làm tăng hoạt tính của enzim và làm tăng khả năng nảy mầm. Kết quả ở bảng 2 cho thấy, tỉ lệ nước ngâm sẽ làm ảnh hưởng đến hàm lượng tinh bột có trong đậu ván sau nảy mầm. Với tỉ lệ nước ngâm 1 : 5, quá trình nảy mầm xảy ra tốt khiến hàm lượng tinh bột giảm xuống còn 44,78%. Tuy nhiên, khi ngâm đậu với một lượng nước cao hơn ở tỉ lệ 1 : 10 và 1 : 15, nồng độ oxi có trong nước giảm ảnh hưởng đến quá trình hô hấp của hạt, dẫn đến hạn chế hoạt động của các enzim nội bào [5], vì vậy lượng tinh bột còn lại trong hạt cao hơn và tỷ lệ nảy mầm thấp hơn so với khi hạt được ngâm ở tỷ lệ nước thấp hơn. Lượng nước quá cao cũng có thể làm thất thoát một số chất hòa tan như protein vào nước ngâm, dẫn đến hiệu suất thu hồi giảm. Theo nhiều nghiên cứu, mầm càng sinh trưởng sẽ càng tích tụ các hợp chất chống oxi hóa [12]. Trong nghiên cứu này, hàm lượng phenolic tổng đạt mức cao nhất, tương ứng với tỉ lệ ngâm 1 : 5 (là tỷ lệ nước ngâm cho tỉ lệ nảy mầm cao), tăng 1,9 lần so với hạt chưa nảy mầm. Khả năng chống oxi hóa cũng đạt mức cao nhất khi tỉ lệ ngâm là 1 : 5 và cao gấp 1,4 lần so với mẫu đối chứng. Hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxi hóa đều có xu hướng tăng lên trong quá trình nảy mầm. Như vậy, sự gia tăng hàm lượng polyphenol có ý nghĩa quan trọng đối với sự gia tăng hoạt tính kháng oxi hóa, vì khả năng chống oxi hóa của các chất chiết xuất từ thực vật là do một lượng lớn polyphenol của chúng [13].

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước ngâm đến tỉ lệ nảy mầm, hiệu suất thu hồi, các thành phần dinh dưỡng và khả năng chống oxi hóa của bột đậu ván nảy mầm

Tỉ lệ hạt: nước (g : ml)	Tỉ lệ nảy mầm (%)	Hiệu suất thu hồi (%)	Tinh bột (%)	Protein (%)	TPC (mg GAE/100 g)	Khả năng chống oxy hóa (µmol TE/g)
Đối chứng	-	-	$46,98 \pm 1,45^{a}$	$26,79 \pm 0,19^{b}$	$243,82 \pm 4,51^{c}$	$16,33 \pm 0,55^{c}$
1 : 5	$85,51 \pm 4,85^{a}$	$78,60 \pm 0,61^{a}$	$44,78 \pm 0,95^{b}$	$30,15 \pm 0,71^{a}$	$462,67 \pm 6,76^{a}$	$22,57 \pm 0,29^{a}$
1 : 10	$77,00 \pm 5,16^{a}$	$73,81 \pm 1,28^{b}$	$45,93 \pm 0,71^{a}$	$28,25 \pm 1,39^{b}$	$436,94 \pm 9,31^{b}$	$20,03 \pm 0,21^{b}$
1 : 15	$77,67 \pm 4,23^{a}$	$73,28 \pm 1,06^{b}$	$45,72 \pm 0,62^{a}$	$28,63 \pm 0,58^{b}$	$441,64 \pm 5,13^{b}$	$20,68 \pm 0,43^{b}$

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

3.1.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ nước ngâm hạt

Nhiệt độ nước ngâm hạt cũng là một yếu tố ảnh hưởng đáng kể đến tỉ lệ nảy mầm của hạt và hiệu suất thu hồi. Cụ thể, ở nhiệt độ thấp (25°C), hạt nảy mầm kém, hàm lượng tinh bột trong bột đậu nảy mầm cao và hàm lượng protein thấp. Khi ngâm hạt ở 30°C tỉ lệ nảy mầm đạt khoảng 90%, trong khi ngâm ở 45°C, tỷ lệ nảy mầm chỉ đạt gần 34% trong tổng khối lượng hạt sau nảy mầm. Nhiệt độ ngâm cao khiến hạt dễ bị trương nở, tỷ lệ nước hấp thụ lớn khiến hạt thiếu oxi cho quá trình nảy mầm. Nhiệt độ ngâm cũng là điều kiện cần được kiểm soát vì nó ảnh hưởng đến hoạt tính của enzim thủy phân tinh bột [14]. Ở nhiệt độ nước ngâm 40 - 45°C, enzim hoạt động mạnh hơn dẫn đến tinh bột bị thủy phân nhiều, hàm lượng tinh bột giảm khiến hạt có ít nguồn năng lượng dự trữ cho mầm phát triển. Ngược lại, khi ngâm hạt ở

30°C, enzim thủy phân tinh bột hoạt động kém hơn; sau khi ngâm, lượng tinh bột còn lại nhiều giúp hạt nảy mầm tốt hơn. Hàm lượng protein trong hạt nảy mầm đạt mức cao nhất (gần 32%) khi ngâm hạt ở 30°C và giảm còn 29% khi tăng nhiệt độ nước ngâm lên đến 45°C.

Nhiệt độ ngâm quá cao cũng làm tăng tốc độ khuếch tán, dẫn đến thất thoát đáng kể các chất tan như protein vào môi trường nước [15]. Có thể nhận thấy xu hướng khá đặc biệt là hiệu suất thu hồi tăng khi tỷ lệ nảy mầm giảm trong thí nghiệm này. Như vậy, khi ngâm ở cùng một tỷ lệ nước ngâm và thời gian ngâm, việc thất thoát các chất tan khi nhiệt độ tăng không làm ảnh hưởng nhiều đến hiệu suất thu hồi; giá trị này giảm khi tỷ lệ nảy mầm tăng chủ yếu do các thành phần dưỡng chất đã được sử dụng cho sự phát triển của mầm. Hàm lượng phenolic tổng trong hạt nảy mầm tăng cao nhất khi ngâm hạt ở 30°C, gấp 2 lần so với hạt chưa nảy mầm và giảm mạnh khi nhiệt độ tăng lên 35-45°C. Mầm càng sinh trưởng sẽ càng tích tụ các hợp chất chống oxi hóa [12]. Vì thế, nhiệt độ ngâm phù hợp nhất cho hạt nảy mầm với tỷ lệ cao (30°C) cũng là điều kiện thuận lợi để hạt sinh tổng hợp polyphenol.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ ngâm hạt đến tỉ lệ nảy mầm, hiệu suất thu hồi, các thành phần dinh dưỡng và khả năng chống oxi hóa của bột đậu ván nảy mầm

Nhiệt độ ngâm hạt (°C)	Tỉ lệ nảy mầm (%)	Hiệu suất thu hồi (%)	Tinh bột (%)	Protein (%)	TPC (mgGAE/100 g)	Khả năng chống oxy hóa (µmol TE/g)
Đối chứng	-	-	$46,61 \pm 0,78^{a}$	$26,56 \pm 1,06^{d}$	$240,25 \pm 11,35^{c}$	$15,27 \pm 1,57^{c}$
25	$53,95 \pm 0,62^{c}$	$74,59 \pm 0,66^{c}$	$45,28 \pm 1,62^{a}$	$27,44 \pm 0,53^{cd}$	$331,86 \pm 49,96^{b}$	$17,52 \pm 1,45^{bc}$
30	$89,66 \pm 1,12^{a}$	$71,55 \pm 0,57^{d}$	$42,53 \pm 1,05^{b}$	$31,37 \pm 0,43^{a}$	$480,02 \pm 69,04^{a}$	$23,22 \pm 2,90^{a}$
35	$81,59 \pm 1,89^{b}$	$74,23 \pm 0,80^{c}$	$43,56 \pm 1,47^{ab}$	$30,11 \pm 0,41^{ab}$	$465,41 \pm 39,25^{a}$	$22,16 \pm 0,41^{ab}$
40	$74,27 \pm 0,93^{d}$	$77,05 \pm 0,54^{b}$	$42,16 \pm 1,06^{b}$	$29,01 \pm 0,37^{bc}$	$333,29 \pm 46,93^{b}$	$18,21 \pm 3,28^{bc}$
45	$33,97 \pm 1,12^{e}$	$80,14 \pm 0,71^{a}$	$43,63 \pm 0,59^{ab}$	$28,86 \pm 0,35^{bc}$	$267,19 \pm 18,10^{c}$	$17,47 \pm 1,19^{bc}$

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

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của các điều kiện nảy mầm

3.2.1. Ảnh hưởng của thời gian nảy mầm

Hạt đậu ván được ngâm tại các điều kiện ngâm thích hợp (xác định được từ mục 3.1), sau đó được cho nảy mầm trong thời gian 48 giờ. Kết quả ở bảng 4 cho thấy, khi kéo dài thời gian nảy mầm từ 0 - 48 giờ thì tỉ lệ nảy mầm tăng và đạt xấp xỉ 100% ở 48 giờ. Khi nảy mầm, lớp vỏ hạt tách ra và xuất hiện mầm. Sau 48 giờ, chiều dài mầm tăng gần 6 lần so với ban đầu. Ngoài ra, thời gian nảy mầm tỉ lệ nghịch với hiệu suất thu hồi bột đậu ván nảy mầm. Cụ thể, ở mẫu 48 giờ hiệu suất thu hồi giảm 1,2 lần so với mẫu 0 giờ, kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Phạm Văn Hùng và cs (2020) [3] trên đậu xanh nảy mầm. Thời gian nảy mầm càng dài thì hiệu suất thu hồi càng giảm do lớp vỏ hạt bị tách ra gây hao hụt khối lượng hạt; ngoài ra hạt cũng đã sử dụng nguồn hidrat cacbon, lipid và một số thành phần khác như một nguồn năng lượng quan trọng cho sự phát triển của mầm.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian nảy mầm đến tỉ lệ nảy mầm, hiệu suất thu hồi, các thành phần dinh dưỡng và khả năng chống oxi hóa của bột đậu ván nảy mầm

Thời gian nảy mầm (giờ)	Tỉ lệ nảy mầm (%)	Hiệu suất thu hồi (%)	Tinh bột (%)	Protein (%)	TPC (mg GAE/100 g)	Khả năng kháng oxy hóa (µmol TE/g)
0	0±0,00^{d}	79,08 ± 1,79^{a}	45,07 ± 2,86^{a}	24,05 ± 1,28^{b}	291,58 ± 30,76^{c}	18,83 ± 0,58^{e}
8	64,75 ± 23,94^{c}	77,05 ± 2,04^{ab}	43,47 ± 1,60^{a}	26,67 ± 0,45^{ab}	317,35 ± 30,76^{bc}	20,51 ± 0,13^{d}
16	77,61 ± 27,97^{c}	74,01 ± 3,92^{b}	43,96 ± 1,41^{a}	26,76 ± 1,32^{ab}	340,38 ± 46,83^{b}	21,60 ± 0,39^{c}
24	85,63± 17,23^{b}	73,15 ± 2,33^{b}	43,91 ± 0,41^{a}	28,03 ± 1,95^{a}	349,07 ± 8,79^{b}	22,23 ± 0,45^{b}
32	87,73 ± 13,62^{b}	71,96 ± 1,39^{bc}	41,05 ± 0,89^{b}	28,34 ± 0,33^{a}	376,84 ± 18,89^{b}	24,37 ± 0,19^{a}
40	92,13 ± 6,80^{a}	69,50 ± 2,87^{c}	41,48 ± 2,30^{b}	30,19 ± 1,76^{a}	494,08 ± 16,62^{a}	24,69 ± 0,33^{a}
48	96,74 ± 2,83^{a}	65,12 ± 1,80^{d}	36,28 ± 1,08^{c}	32,45 ± 0,73^{a}	419,09 ± 17,33^{a}	24,21 ± 0,27^{a}

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



Hình 1. Hình thái của hạt đậu ván sau các khoảng thời gian nảy mầm

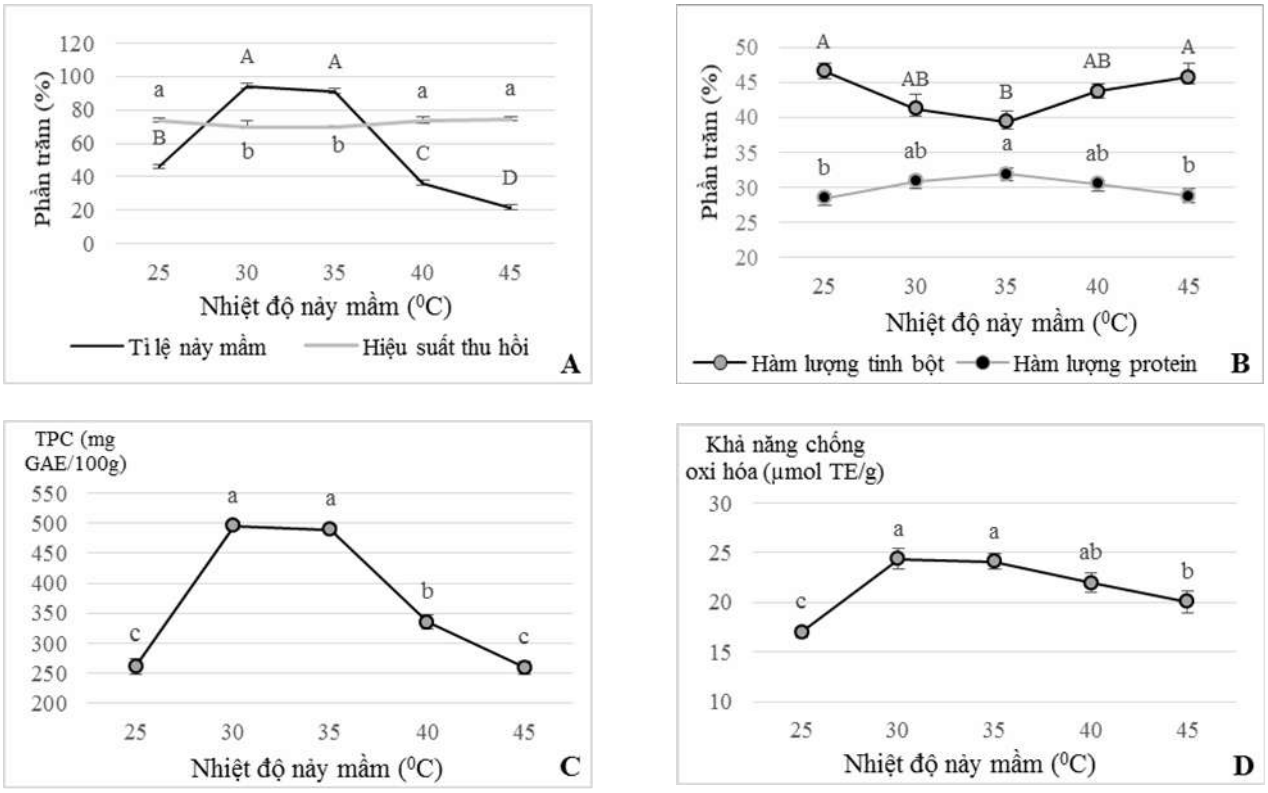
Thời gian nảy mầm ảnh hưởng đáng kể đến các thành phần dinh dưỡng và hoạt tính sinh học của đậu ván. Hàm lượng tinh bột giảm 1,2 lần khi thời gian nảy mầm kéo dài đến 48 giờ. Sự thay đổi này là do hoạt động của amylase khiến hàm lượng tinh bột giảm dần và lượng đường tăng dần [16] nhằm mục đích cung cấp năng lượng cho mầm [17]. Hàm lượng protein có xu hướng tăng lên khi thời gian nảy mầm kéo dài. Hàm lượng protein đạt mức cao nhất tại thời gian nảy mầm 40 giờ, tăng 1,4 lần so với mẫu chưa nảy mầm. Sự gia tăng hàm lượng protein là do giảm hàm lượng chất khô, đặc biệt là hidrat cacbon trong quá trình nảy mầm. Ngoài ra, trong quá trình thu nhận bột đậu, vỏ hạt sau nảy mầm sẽ bị loại bỏ nên làm cho lượng protein tăng theo phần trăm chất khô [18]. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trên đậu lăng của Xu và cs (2019) [6], theo đó hàm lượng tinh bột của loại đậu này giảm sau 6 ngày nảy mầm, từ 41,02 g/100 g xuống 34,96 g/100 g chất khô, còn hàm lượng protein lại tăng đáng kể sau 6 ngày nảy mầm, từ 24,36 g/100 g chất khô lên 27,75 g/100 g chất khô. Như vậy, quá trình nảy mầm sẽ có lợi cho việc cải thiện giá trị dinh dưỡng của hạt và có tiềm năng ứng dụng bột đậu nảy mầm vào các sản phẩm cần hàm lượng protein cao. Quá trình nảy mầm cũng làm tăng hàm lượng TPC và hoạt tính kháng oxi hóa của hạt; các giá trị này đạt cao nhất tương ứng là 494,08 mg GAE/100 g và 24,69 µmol TE/g ở thời gian nảy mầm 40 giờ. Ở đậu nành,

Chen và Chang (2015) [5] cũng nhận được kết quả là hàm lượng TPC tăng từ 710 mg GAE/100 g lên 830 mg GAE/100 g khi đậu nành nảy mầm đến ngày thứ 5.

3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ nảy mầm

Kết quả ở hình 2 cho thấy nhiệt độ nảy mầm ảnh hưởng đáng kể đến tỉ lệ nảy mầm của đậu ván. Cụ thể, ở nhiệt độ 30 - 35°C, tỉ lệ nảy mầm đạt hơn 90% sau 40 giờ và chỉ còn khoảng 20% khi nhiệt độ nảy mầm tăng lên 45°C. Nhiệt độ nảy mầm cao có thể làm thay đổi hoạt tính của enzim và các phản ứng trao đổi chất làm giảm sự phát triển của phôi và hạn chế sự nảy mầm của hạt. Ngoài ra, khi nhiệt độ nảy mầm thấp hơn (25°C), tốc độ phản ứng trao đổi chất giảm, mầm đậu lúc này sẽ chậm phát triển, từ đó tỉ lệ nảy mầm thấp.

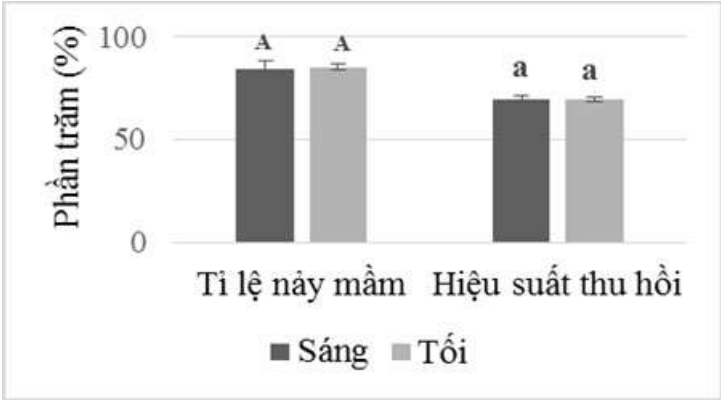
Hiệu suất thu hồi bột đậu cũng bị ảnh hưởng nhiều khi thay đổi nhiệt độ nảy mầm. Hiệu suất thu hồi đạt gần 70% khi nảy mầm ở 30 - 35°C, tuy nhiên các mẫu ủ ở 40°C và 45°C có tỉ lệ nảy mầm thấp hơn nên hiệu suất thu hồi cao hơn. Nhiệt độ nảy mầm thích hợp sẽ kích thích hoạt động của enzim nội bào, chuẩn bị cho quá trình sinh trưởng và quá trình hô hấp của hạt [14]. Hiệu suất thu hồi thấp là do mầm đã sử dụng nhiều chất dinh dưỡng dự trữ của hạt làm nguồn năng lượng cho sự phát triển của mầm [12]. Kết quả ở hình 2 cũng cho thấy, nhiệt độ nảy mầm có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng tinh bột của đậu ván. Cụ thể, ở các điều kiện nảy mầm không thích hợp (25°C hoặc 40-45°C), hàm lượng tinh bột còn lại cao hơn (khoảng 44 - 46%), nhưng ở 30°C thì hàm lượng tinh bột giảm và giảm mạnh nhất ở 35°C (chỉ còn 39,4%). Hàm lượng tinh bột giảm và sự sinh tổng hợp các enzim nội bào có thể là nguyên nhân khiến hàm lượng protein tăng; khi hạt được nảy mầm ở nhiệt độ 35°C hàm lượng protein đạt gần 32%, cao nhất so với các điều kiện còn lại. Ở các khoảng nhiệt độ 25°C và từ 35 - 45°C, hàm lượng protein sẽ giảm dần và thấp nhất ở 45°C. Kết quả tương tự cũng được công bố trong nghiên cứu trên đậu xanh của Hussain và Brhanddin(2011) [19], hàm lượng protein giảm nhẹ khi cho hạt nảy mầm ở 38°C, lúc này protein hạt chiếm 24,9%, trong khi hạt nảy mầm ở 32°C có hàm lượng protein là 25,4%.



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ nảy mầm đến tỉ lệ nảy mầm và hiệu suất thu hồi bột đậu (A), hàm lượng tinh bột và protein (B), TPC (C) và khả năng chống oxi hóa (D) của bột đậu nảy mầm

Khả năng chống oxi hóa bị ảnh hưởng rất lớn bởi yếu tố nhiệt độ nảy mầm của đậu ván. Ở nhiệt độ 30 - 35°C, khả năng chống oxi hóa của bột đậu đạt mức cao nhất và tăng gần 1,5 lần so với bột đậu chưa nảy mầm và giảm dần khi tăng nhiệt độ lên 40°C. Ở thực vật, khả năng chống oxi hóa và hàm lượng polyphenol thường có mối tương quan tỉ lệ thuận với nhau. Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả của nghiên cứu này. Tỉ lệ nảy mầm đạt cao nhất ở 30-35°C, lúc này quá trình hô hấp xảy ra trong ti thể mạnh hơn để tạo ra năng lượng cho sự phát triển của đậu ván, do đó các gốc tự do sẽ được tạo ra nhiều hơn [20] và các chất chống oxi hóa sẽ được hình thành [5].

3.2.3. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng



Hình 3. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng đến tỉ lệ nảy mầm, hiệu suất thu hồi bột đậu sau 40 giờ nảy mầm

Kết quả ở hình 3 cho thấy, điều kiện sáng, tối trong giai đoạn nảy mầm ảnh hưởng không có ý nghĩa thống kê đến tỉ lệ nảy mầm và hiệu suất thu hồi sản phẩm. Kết quả cũng tương tự đối với các thành phần tinh bột, protein, TPC và khả năng chống oxi hóa (số liệu không trình bày). Điều này được giải thích là do sự tạo thành, hoạt động của các enzim chuyển hóa và sự hô hấp ở ti thể không bị ảnh hưởng bởi điều kiện ánh sáng. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Phạm Văn Hùng và cs (2020) [3] trên hạt đậu xanh khi điều kiện chiếu sáng không ảnh hưởng đến một số thành phần sinh hóa như hàm lượng các axit amin thiết yếu, hàm lượng protein của đậu xanh nảy mầm trong điều kiện tối khác biệt không có nghĩa so với hạt nảy mầm trong điều kiện có ánh sáng (31,9% so với 31,3%). Tuy nhiên, nảy mầm trong điều kiện tối giúp tăng hàm lượng các hợp chất polyphenol và khả năng chống oxi hóa của đậu xanh. Sự khác biệt này có thể là do loại đậu và các điều kiện nảy mầm khác nhau.

4. KẾT LUẬN

Quá trình nảy mầm đã thay đổi đáng kể thành phần sinh hóa và cải thiện khả năng chống oxi hóa của hạt đậu ván trắng. Điều kiện thích hợp của quá trình ngâm hạt gồm: thời gian ngâm 4 giờ, nhiệt độ ngâm 30°C, tỉ lệ nước ngâm 1 : 5 (g hạt : ml). Điều kiện nảy mầm thích hợp cho đậu ván trắng là thời gian nảy mầm 40 giờ ở nhiệt độ 30 - 35°C. Đậu ván có tỉ lệ nảy mầm trên 90% và hiệu suất thu hồi của bột đậu ván nảy mầm đạt ~70%. Sau khi nảy mầm, hàm lượng tinh bột trong hạt đậu ván giảm, hàm lượng protein tăng, hàm lượng phenolic tổng (TPC) và khả năng chống oxi hóa đều tăng so với đậu nguyên liệu.

Các nghiên cứu tiếp theo cần tiếp tục đánh giá ảnh hưởng của quá trình nảy mầm tới các tính chất chức năng, khả năng tiêu hóa của tinh bột và protein, làm cơ sở cho việc ứng dụng bột đậu ván nảy mầm trong các sản phẩm thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Habib, H. M., Theuri, S. W., Kheadr, E. E., & Mohamed, F. E. (2017). Functional, bioactive, biochemical, and physicochemical properties of the Dolichos lablab bean. *Food & Function*. 8(2): 872-880.

2. Randhir R., Lin Y., Shetty K. (2004). Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean. *Process Biochemistry*. 39(5): 637-646.

3. Pham Van Hung, Nguyen Thi Hoang Yen, Nguyen Thi Lan Phi, Nguyen Phung Ha Tien, Nguyen Thi Thu Trung (2020). Nutritional composition, enzyme activity and bioactive compounds of mung bean (*Vigna radiata* L.) germinated under dark and light conditions. *Food Science anf Technology*. 133: 110100.

4. Samia El-Safy F., Rabab H. A. Salem and Ensaf Mukhtar Y. Y. (2013). The Impact of Soaking and Germination on Chemical Composition, Carbohydrate Fractions, Digestibility, Antinutritional Factors and Minerals Content of Some Legumes and Cereals Grain Seeds. *Alexandria Science Exchange Journal*, 34(4): 499-513.

5. Chen Y., Chang S. (2015). Macronutrients, phytochemicals, and antioxidant activity of soybean sprout germinated with or without light exposure. *Journal of Food Science*. 80(6): 1391-1398.

6. Xu M., Jin Z., Simsek S., Hall C., Rao J., Chen B. (2019). Effect of germination on the chemical composition, thermal, pasting, and moisture sorption properties of flours from chickpea, lentil, and yellow pea. *Food Chemistry*. 295: 579-587.

7. Jeong H., Park J., & Kim H. (2013). Determination of NH_4^+ in environmental water with interfering substances using the modified Nessler method. *Journal of Chemistry* (2013): 1-9.

8. Randhir R., Lin Y., Shetty K. (2004). Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean. *Process Biochemistry*. 39(5): 637-646.

9. Warle B., Riar C., Gaikwad S., Mane V. (2015). Effect of germination on nutritional quality of soybean (Glycine Max). *Journal of Enviromental Science*, 9: 10-15.

10. Vũ Thùy Anh, Phan Tại Huân, Kha Chấn Tuyền (2019). Ảnh hưởng của điều kiện ngâm và ủ đến hàm lượng gamma-aminobutyric axit và polyphenol trong hạt đậu xanh nảy mầm. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 18(2): 112-118.

11. Akillioglu H. G., Karakaya S. (2010). Changes in total phenols, total flavonoids, and antioxidant activities of common beans and pinto beans after soaking, cooking, and in vitro digestion process. *Food Science and Technology*. 19(3): 633-639.

12. Tiansawang K., Luangpituksa P., Varanyanond W., Hansawasdi C. (2016). GABA (γ -aminobutyric acid) production, antioxidant activity in some germinated dietary seeds and the effect of cooking on their GABA content. *Food Science and Technology* 36: 313-321.

13. Xiang N., Guo X., Liu F., Li Q., Hu J., Brennan C. (2017). Effect of light-and dark-germination on the phenolic biosynthesis, phytochemical profiles, and antioxidant activities in sweet corn (*Zea mays* L.) sprouts. *International Journal Molecular Sciences*. 18(6): 1246-1259.

14. Ali A. S., Elozeiri A. (2017). Metabolic processes during seed germination. *Advances in seed biology* (Chapter 8): 141-166.

15. Pan Z., Tangratanavalee W. (2003). Characteristics of soybeans as affected by soaking conditions. *Food Science and Technology*. 36(1): 43-151.

16. Lorenz K., D'Appolonia B. (1980). Cereal sprouts: composition, nutritive value, food applications. *Food Science and Nutrition*. 13(4): 353-385.

17. Kaneko M., Itoh H., Ueguchi-Tanaka M., Ashikari M., Matsuoka M. (2002). The α -amylase induction in endosperm during rice seed germination is caused by gibberellin synthesized in epithelium. *Plant Physiol*.128(4): 1264-1270.

18. Atudorei D., Codină G. (2020). Perspectives on the use of germinated legumes in the bread making process, a review. *Applied Sciences*. 10(18): 6244.

19. Hussain I., Burhanddin M. (2011). Optimization of germination conditions for germinated mung bean flour by response surface methodology. *African Journal of Food Science and Technology*. 2(10): 232-239.

20. Navrot N., Rouhier N., Gelhaye E., Jacquot J. (2007). Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. *Physiologia Plantarum*. 129(1): 185-195.

EFFECTS OF GERMINATION CONDITIONS ON NUTRITIONAL AND BIOACTIVITY OF HYACINTH BEAN (*Dolichos lablab*)

Tran Ngoc Hieu, Le Thi Thu Hien,
Ho Thuy Thanh Truc, Hoang Kim Anh

Summary

Hyacinth bean (*Dolichos lablab*) is widely grown in Vietnam. Germination is an easy and low-cost technology that can enhance the nutritional value of legumes and does not require special techniques. This study was carried out to determine the optimal conditions for seed germination to achieve high germination rate and yield. The study also evaluated the changes in protein, starch, total phenolic content and antioxidant capacity of bean meal under germination conditions. The conditions during the soaking period were changed. They included temperature, duration of soaking, and the ratio of water volume to seed weight. The incubation period for seed germination was also investigated in terms of temperature, the duration of incubation and the presence of light. The germination rate reached 90%, yield of bean meal reached 70% with seeds soaked with the ratio of 500 ml of water: 100 g seeds at 30^0C, for 4 hours then incubated in a damp towel for 40 h at 30-35^0C under light or dark conditions. The biochemical composition and antioxidant capacity of germinated hyacinth beans were significantly different from those of raw beans. The protein content of germinated beans increased and reached about 30%, the total phenolic content (TPC) and antioxidant capacity were 495 mg GAE/100 g and 24 μmol TE/g, increased by 90% and 50% respectively compared to the raw beans.

Keywords: *Antioxidant capacity, Dolichos lablab, germination rate and yield, total phenolic content.*

Người phản biện: TS. Dương Thị Phượng Liên

Ngày nhận bài: 6/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 3/4/2023
Ngày duyệt đăng: 10/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH NẢY MẦM VÀ XỬ LÝ NHIỆT - ẨM ĐẾN TÍNH CHẤT LÝ - HÓA CỦA BỘT VÀ TINH BỘT GẠO LỨC ĐỎ

Trần Ngọc Mỹ Linh[1], Lê Thị Thu Sương[1], Lê Hoàng Nhân[1],
Mai Nguyễn Trâm Anh[1, 2], Phạm Văn Hùng[1, 2, *]

TÓM TẮT

Gạo lức đỏ đã và đang được sử dụng rộng rãi vì những dưỡng chất có lợi cho sức khoẻ của con người. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định ảnh hưởng của quá trình nảy mầm và quá trình xử lý nhiệt - ẩm (HMT) đến sự thay đổi tính chất lý - hóa của bột và tinh bột của gạo lức đỏ và khả năng tiêu hoá của tinh bột gạo lức đỏ sau khi xử lý. Nghiên cứu được thực hiện ở điều kiện nảy mầm trong 12 giờ, có hoặc không có kèm theo quá trình xử lý nhiệt - ẩm ở nhiệt độ 100°C trong 6 giờ. Kết quả cho thấy, thành phần hóa học của bột gạo lức đỏ không có sự thay đổi có nghĩa trong thời gian nảy mầm. Trong khi đó, độ nhớt cực đại của bột gạo giảm từ 718,5 BU xuống 336,5 BU sau khi nảy mầm và xử lý ẩm nhiệt. Sau khi xử lý, hạt tinh bột bị thủy phân một phần với việc xuất hiện nhiều lỗ trên bề mặt, tuy nhiên cấu trúc kết tinh của tinh bột không thay đổi. Hàm lượng tinh bột tiêu hóa chậm (SDS) và kháng tiêu hóa (RS) của tinh bột tách từ gạo lức đỏ sau khi nảy mầm kết hợp xử lý ẩm - nhiệt tăng lên ở mức từ 10,3% lên 17,5% đối với SDS và từ 14,7% lên 29% đối với RS. Kết quả cho thấy, bột nghiền từ gạo lức đỏ sau khi nảy mầm và xử lý ẩm - nhiệt có thể được sử dụng trong sản xuất các sản phẩm sinh đường thấp.

Từ khóa: *Gạo lức đỏ, nảy mầm, tính chất lý - hóa, tinh bột, xử lý nhiệt - ẩm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gạo là nguồn lương thực chính của hơn 2/3 dân số thế giới. Khoảng 80% lượng gạo trên thế giới được sản xuất từ việc canh tác lúa (*Oryza sativa* L.) ở châu Á [1]. Hạt gạo lức giàu các thành phần hoạt tính sinh học, chẳng hạn như proanthocyanidins, axit γ-aminobutyric, γ-oryzanol, chất xơ, vitamin và khoáng chất, so với gạo nguyên chất thông thường [2]. Nảy mầm là phương pháp được sử dụng để thay đổi các đặc tính của hạt tinh bột. Các loại ngũ cốc nảy mầm có hàm lượng protein, khoáng chất và vitamin cao hơn so với các loại ngũ cốc nguyên bản [3]. Nghiên cứu của Liu và cs (2017) đã chứng minh rằng, quá trình nảy mầm làm giảm độ kết tinh của tinh bột gạo [4]. Hệ enzym amylaza trong hạt nảy mầm được kích hoạt làm cho tinh bột bị thủy phân một phần trong vòng 12 giờ đầu tiên sau khi hạt nảy mầm để cung cấp năng lượng cho hạt nảy mầm [5]. Do đó, tinh bột gạo lức nảy mầm có thể dễ hòa tan và dễ tiêu hóa hơn so với tinh bột tự nhiên. Xử lý nhiệt - ẩm (HMT) là một phương pháp biến đổi vật lý được thực hiện ở độ ẩm thấp (thường trong khoảng giới hạn 10 - 30%), kết hợp với nhiệt độ cao (90 - 120°C) trong khoảng từ 15 phút đến 16 giờ [6]. Đây được coi là phương pháp xử lý làm thay đổi cơ bản tính chất hóa - lý của tinh bột của hầu hết các loại ngũ cốc, đặc biệt là tinh bột gạo [7], [8]. Quá trình xử lý nhiệt - ẩm đã được chứng minh làm tăng hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa trong hạt tinh bột do quá trình kết hợp giữa các phân tử amyloza và giữa các nhánh của amylopectin lại với nhau trong quá trình xử lý [7], [8].

Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá các đặc tính hóa - lý của bột và khả năng tiêu hóa của tinh bột tách từ gạo lức đỏ sau khi nảy mầm có hoặc không kết hợp xử lý nhiệt - ẩm. Hơn nữa,

[1] Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[2] Phòng thí nghiệm Nghiên cứu và Phân tích liên ngành Hóa - Thực phẩm - Môi trường
*Email: pvhung@hcmiu.edu.vn

nghiên cứu cũng xác định hàm lượng tinh bột kháng có trong hạt gạo lức đỏ nảy mầm có hoặc không kết hợp xử lý nhiệt - ẩm. Sự kết hợp giữa 2 phương pháp có thể tạo ra loại gạo có thành phần dinh dưỡng và hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa cao giúp phòng chống các bệnh đái tháo đường và béo phì và có thể được áp dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Gạo lức đỏ sử dụng trong nghiên cứu này thuộc giống lúa nổi (Riz flotant) có nguồn gốc từ Ấn Độ và được cung cấp bởi Nhà máy gạo Tuấn Mùi, thành phố Hồ Chí Minh. Nguyên liệu được đựng trong túi zip lock và bảo quản trong bình hút ẩm cho đến khi thực hiện các thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nảy mầm và xử lý nhiệt - ẩm

Phương pháp nảy mầm: Cho gạo lức đỏ vào thùng và ngâm trong nước sạch theo tỷ lệ 1: 4 trong một giờ và để ráo nước. Tiếp theo, ngâm các hạt gạo này trong dung dịch natri hipoclorit 0,05% trong 10 phút để khử trùng bề mặt hạt, ức chế sự phát triển của vi sinh vật và rửa sạch bằng nước. Tiếp theo, các hạt gạo này tiếp tục được ngâm trong nước theo tỷ lệ 1: 4 ở nhiệt độ phòng trong 8 giờ để giúp hạt hút ẩm. Sau đó, các hạt gạo lức đỏ được nảy mầm ở nhiệt độ phòng bằng thiết bị nảy mầm hạt tự động (CB - 321, Hãng KF Rainbow) trong 12 giờ. Sau khi nảy mầm, gạo được sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong tủ sấy (Memmert UNE700, Đức) trong thời gian 24 giờ cho đến khi đạt độ ẩm 10 - 12%. Các hạt nảy mầm được nghiền thành bột mịn (lọt mắt rây 125 micrômét) trước khi cất giữ để sử dụng.

Phương pháp xử lý nhiệt - ẩm: Trước khi xử lý nhiệt - ẩm, điều chỉnh độ ẩm của hạt gạo nảy mầm ở bước 1 tới độ ẩm 30% bằng cách ngâm hạt trong nước cất [8]. Sau đó, 100 g mẫu đã nảy mầm được cho vào bình tam giác thuỷ tinh có nút đậy mài nhám, đậy kín và gia nhiệt trong tủ sấy (Memmert UNE700, Đức) ở 100°C trong 6 giờ [8]. Gạo đã xử lý nhiệt - ẩm được sấy khô trong tủ sấy ở 50°C trong 24 giờ cho đến khi đạt độ ẩm 10 - 12%, nghiền mịn (lọt rây 125 micrômét) và bảo quản trong bình hút ẩm để làm các thí nghiệm tiếp theo.

2.3. Phân tích thành phần hóa học trong bột gạo lức đỏ

Hàm lượng đạm thô được xác định bằng phương pháp Kjeldahl được công bố bởi AACC international với mã số 46-10.01 [9]. Hàm lượng chất béo thô được xác định bằng phương pháp trích ly bằng hệ thống Soxhlet và hàm lượng tro được xác định bằng cách đốt trong lò nung theo các phương pháp chuẩn công bố AACC international (2010) với các mã số tương ứng là 30-10.01 và 08-01.01 [9].

2.4. Xác định đặc tính hồ hóa của bột nghiền từ gạo lức đỏ sau khi nảy mầm và xử lý nhiệt - ẩm

Độ nhớt được xác định bằng thiết bị Microvisco - amylograph Brabender (Brabender, Duisberg, Đức) theo phương pháp tiêu chuẩn ICC số 162 (ICC, 1996). Bột gạo lức đỏ (14,3 g) được trộn đều với 100,5 ml nước cất. Hỗn hợp sau đó được gia nhiệt từ 50 - 95°C với tỷ lệ không đổi là 7,5°C/phút. Sau đó, nhiệt độ được giữ ở 95°C trong 15 phút trước khi giảm xuống 50°C. Đồ thị amylograph tự động cho các kết quả về nhiệt độ hồ hóa, độ nhớt cực đại, độ nhớt đáy, độ nhớt cuối cùng, độ nhớt giảm (Breakdown) và độ nhớt rung (Setback).

2.5. Phương pháp tách tinh bột

Tinh bột gạo lức đỏ được tách bằng phương pháp kết tủa trong dung dịch kiềm theo nghiên cứu của Hung và cs (2020) [8]. Theo đó, ngâm bột gạo lức đỏ qua đêm trong dung dịch natri hydroxit (0,2%) ở 4°C để tách protein. Phần lắng được lấy lại và ngâm với natri hydroxit lần thứ 2. Phần lắng sau đó được hòa với nước cất và được lọc qua rây 100 mesh. Dịch tinh bột sau đó được ly tâm bằng máy ly tâm (Hettich Zentrifugen, Đức) với tốc độ 4.500 vòng/phút trong 10 phút. Các mẫu được sấy khô trong tủ sấy thông gió (SLW 53 ECO, Ba Lan) ở 50°C cho đến khi đạt độ ẩm 10 - 11%.

2.6. Xác định hình thái hạt và cấu trúc hạt tinh bột

Hình thái của hạt tinh bột gạo lức đỏ được phân tích dựa theo phương pháp của Hung và cs (2020) [8]. Các mẫu được kiểm tra và chụp ảnh bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) (model S-

3700 N, Hitachi, Nhật Bản) ở điện thế gia tốc 20 kV.

Cấu trúc tinh thể của tinh bột gạo lức đỏ nảy mầm được phân tích bằng máy đo nhiễu xạ tia X. Các mẫu tinh bột được cân bằng ẩm trong buồng có độ ẩm tương đối bão hòa trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Các mẫu được quét trong phạm vi 44° (2θ) với điện áp mục tiêu là 40 kV, dòng điện mục tiêu là 80 mA, tốc độ quét là 4°/phút và bước quét là 0,02°.

2.7. Xác định khả năng tiêu hóa của hạt tinh bột

Các thành phần tiêu hóa của tinh bột gạo lức đỏ gồm tinh bột tiêu hóa nhanh (%RDS), tinh bột tiêu hóa chậm (%SDS) và tinh bột kháng tiêu hóa (%RS) được phân tích theo phương pháp của Englyst và cs (1996) [10]. Thủy phân tinh bột gạo lức đỏ ở 37°C với hỗn hợp α-amylaza (1.400 AGU/mL) và amylo - glucosidaza (13 AGU/mL) trong 20 phút và 120 phút. Hàm lượng đường sau thủy phân được xác định sử dụng phương pháp axit phenol - sulfuric. Nồng độ glucoza của các sản phẩm thủy phân trong 20 phút (G20), trong 120 phút (G120) và nồng độ glucose tổng (TG) được sử dụng để tính các thành phần tinh bột RDS, SDS và RS như sau: RDS = G20 x 0,9; SDS = G120 – G20 x 0,9; RS = TG – G120 x 0,9.

2.8. Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm đã được thực hiện 3 lần. Các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của dữ liệu được tính toán cho từng yếu tố. Dữ liệu được phân tích ANOVA giữa các giá trị trung bình bằng Statistical Package for Social Sciences - SPSS (phiên bản 20).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa học của bột nghiền từ gạo lức đỏ trước và sau khi nảy mầm và xử lý nhiệt - ẩm

Ảnh hưởng của các phương pháp xử lý đến thành phần hóa học của bột gạo lức đỏ được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Thành phần của bột nghiền từ gạo lức đỏ trước và sau khi nảy mầm có và không kết hợp xử lý nhiệt - ẩm

Mẫu bột gạo	Đạm thô (%)	Chất béo thô (%)	Tro (%)
Chưa nảy mầm	$7,33 \pm 0,06^{a}$	$1,63 \pm 0,22^{a}$	$1,94 \pm 0,08^{a}$
Nảy mầm 12 giờ	$7,04 \pm 0,03^{b}$	$1,61 \pm 0,07^{a}$	$1,90 \pm 0,04^{a}$
Nảy mầm và HMT	$7,48 \pm 0,09^{a}$	$1,61 \pm 0,42^{a}$	$1,84 \pm 0,11^{a}$

Bảng 1 cho thấy, hàm lượng tro, lipid và protein của bột gạo lức đỏ trước và sau khi xử lý ở trong khoảng 1,9%, 1,6% và 7,3% hàm lượng chất khô. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, hàm lượng protein thô của gạo giảm nhẹ sau khi nảy mầm.

Sự thay đổi hàm lượng chất béo thô và tro trong hạt gạo nảy mầm trong thời gian 12 giờ là không có ý nghĩa thống kê, mặc dù chất béo có thể bị thủy phân trong quá trình nảy mầm và được sử dụng để tạo ra năng lượng cần thiết cho các biến đổi sinh hóa và lý hóa xảy ra trong hạt. Sự khác biệt nhỏ về thành phần hóa học so với các nghiên cứu khác có thể đến từ sự khác biệt của các giống gạo khác nhau. Thời gian nảy mầm ngắn hơn 24 giờ có thể không làm thay đổi thành phần hóa học của gạo như trong nghiên cứu của Chiang và Yeh (2002) [11].

3.2. Đặc tính hồ hóa của bột nghiền từ gạo lức đỏ trước và sau khi nảy mầm có và không kết hợp xử lý nhiệt - ẩm

Đặc tính hồ hóa của bột nghiền từ gạo lức đỏ trước và sau khi nảy mầm có và không kết hợp xử lý nhiệt - ẩm được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2 cho thấy, độ nhớt cực đại của dịch hồ các mẫu bột gạo nảy mầm được quan sát là không thay đổi so với mẫu bột gạo chưa nảy mầm (716,5 BU so với 718,5 BU). Sự giảm nhẹ độ nhớt của dịch hồ chủ yếu là do mức độ thủy phân tinh bột và protein xảy ra trong quá trình nảy mầm. Các enzym phân giải tinh bột như α-amylaza, β-

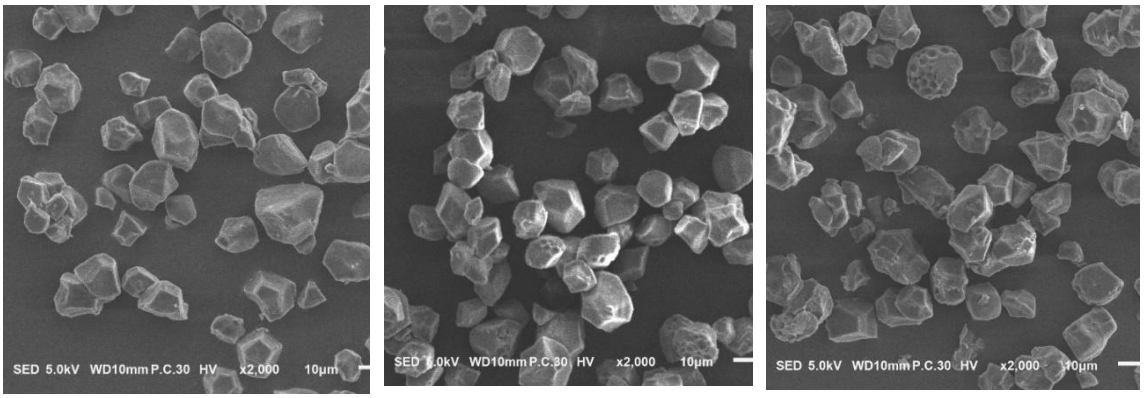
amylaza, limit dextrinaza và α-glucosidaza được kích hoạt trong hạt gạo trong quá trình nảy mầm. Việc nảy mầm chỉ thay đổi nhẹ ở 2/6 tính chất và có thể thấy tổng quan độ nhớt sau nảy mầm gần như không thay đổi khi so sánh với mẫu đối chứng.

Bảng 2. Đặc tính hồ hóa của bột nghiền từ gạo lức đỏ trước và sau khi nảy mầm có và không kết hợp xử lý nhiệt - ẩm

Mẫu bột gạo	Độ nhớt cực đại (BU)	Độ nhớt đáy (BU)	Độ nhớt giảm (BU)	Độ nhớt cuối cùng (BU)	Độ nhớt rung (BU)	Nhiệt độ hồ hóa (°C)
Chưa nảy mầm	718,5 ± 27,5^{a}	616 ± 25,4^{a}	277,5 ± 13,4^{b}	791,5 ± 13,4^{a}	460 ± 12,7^{a}	74,6 ± 0,1^{a}
Nảy mầm 12 giờ	716,5 ± 19,1^{a}	661 ± 16,9^{a}	328,5 ± 19,1^{a}	777,5 ± 16,2^{a}	420 ± 4,2^{b}	73,7 ± 0,5^{a}
Nảy mầm và HMT	336,5 ± 9,2^{b}	410 ± 14,0^{b}	45 ± 7,0^{b}	667 ± 22,6^{b}	459 ± 8,4^{a}	36,5 ± 0,2^{b}

Sau khi áp dụng HMT với mẫu gạo nảy mầm, tính chất độ nhớt đã bị ảnh hưởng rõ rệt và là tác nhân chính trong sự thay đổi về tính chất vật lí của mẫu gạo đã qua xử lí nhiệt - ẩm. Việc giảm độ nhớt cực đại có thể liên quan đến việc giảm khả năng trương nở của các hạt tinh bột, nguyên nhân là do sự phá hủy và sắp xếp lại các phân tử tinh bột sau khi HMT. Sự kết dính chỉ xảy ra trên bề mặt của các hạt tinh bột và một lớp vỏ cứng được hình thành, ngăn không cho nước xâm nhập vào bên trong các hạt tinh bột, do đó ức chế quá trình hồ hóa của tinh bột. Kết quả này có thể là do lượng nước vừa đủ có xu hướng thúc đẩy quá trình sắp xếp lại các chuỗi tinh bột, làm tăng cường vùng vô định hình của tinh bột và làm cho quá trình phá hủy các hạt tinh bột trở nên khó khăn. Pucha - Arnon và Uttapap (2013) [12] tiến hành nghiên cứu về đặc tính hồ hóa của bột gạo trong đó mức độ nhớt giảm hạt tinh bột gần như bằng 0, điều này là do protein có thể bị biến tính khi xử lý nhiệt. Nhiệt độ hồ hóa càng thấp thì tinh bột càng dễ bị hydrat, trương nở và hồ hóa. Việc giảm giá trị độ nhớt hồ hóa cho thấy, độ bền của các liên kết hóa học bên trong tinh bột tăng lên sau HMT và tinh bột cần nhiều năng lượng phân hủy hơn, điều này khẳng định sự tương tác nhiều hơn giữa các phân tử tinh bột [13].

3.3. Hình thái hạt tinh bột

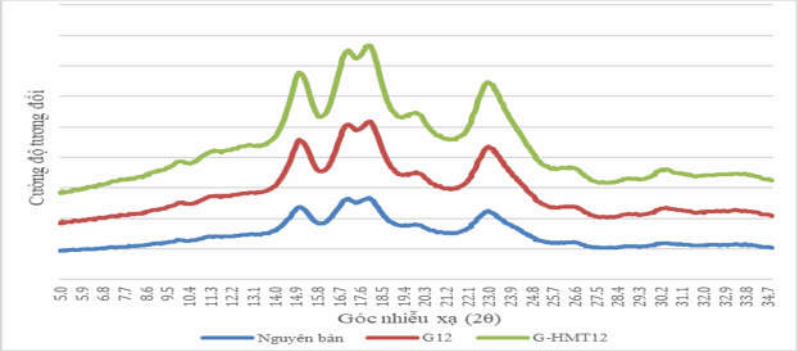


A. Nguyên bản B. G12 C. G-HMT12

Hình 1. Hình ảnh qua máy hiển vi điện tử (SEM) của tinh bột tách từ gạo lức đỏ trước và sau khi nảy mầm có và không kết hợp xử lý nhiệt - ẩm: (A) Nguyên bản; (B) G12 – Tinh bột gạo sau khi nảy mầm; (C) G-HMT12 – Tinh bột gạo được xử lý nhiệt - ẩm sau khi nảy mầm. SEM của tất cả các loại tinh bột được ghi lại ở độ phóng đại 2.000 lần

Hạt tinh bột gạo lức đỏ được quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét ở độ phóng đại 2.000 lần, có thể cho thấy, rõ ràng bề mặt tinh bột của gạo nguyên bản và gạo đã qua xử lý (Hình 1). Các hạt tinh bột gạo chưa được xử lý có cấu trúc đa diện và có bề mặt nhẵn. Sau 12 giờ hạt nảy mầm, có thể quan sát thấy các lỗ và vết lõm trên bề mặt. Các enzym có thể xâm nhập vào bên trong hạt và sau đó tạo ra các lỗ trên bề mặt cùng với quá trình thủy phân đồng thời từ trong ra bên ngoài, dẫn đến việc tạo ra các hõm trên bề mặt hạt [14]. Thời gian nảy mầm tăng lên có thể dẫn đến sự gia tăng các enzym thủy phân, gây ra các lỗ xốp trên bề mặt [15]. Quan sát trên các mẫu tinh bột có xử lý nhiệt - ẩm xuất hiện nhiều hình dạng bất thường hơn và cấu trúc bề mặt bị hư hỏng nhiều hơn. Điều này là do tác động nhiệt lên cấu trúc mô yếu, dẫn đến sự liên kết lại của các hạt tinh bột ở nhiệt độ gia nhiệt cao [16].

3.4. Nhiễu xạ tia X của tinh bột



Hình 2. Giản đồ nhiễu xạ tia X của tinh bột gạo lức đỏ nguyên bản, tinh bột tách từ gạo lức đỏ sau khi nảy mầm (G12) và tinh bột gạo lức đỏ qua xử lý nhiệt - ẩm sau khi nảy mầm (G-HMT12)

Nhiễu xạ tia X của tinh bột tự nhiên và tinh bột đã xử lý được thể hiện trong hình 2. Cả 2 loại tinh bột trong nghiên cứu này đều thể hiện cấu trúc tinh thể dạng A, có các đỉnh nhiễu xạ ở khoảng 17°, 18° và 23°. Điều này phản ánh kiểu cấu trúc tinh thể của tinh bột không bị ảnh hưởng nhiều bởi sự nảy mầm và xử lý HMT. Do xử lý nhiệt - ẩm tạo ra sự sắp xếp đều đặn của các vòng xoắn kép được hình thành bởi các nhánh amylopectin để tạo ra vùng kết tinh, nhưng do số lượng các vòng xoắn kép lớn hơn nhiều so với số lượng của các tinh thể, nên không phải tất cả các vòng xoắn kép của amylopectin phân nhánh đều tham gia vào sự hiện diện của các vùng kết tinh đó [17]. Vì thế cho nên dù có sự thay đổi nhỏ trong tương tác giữa các hạt tinh thể nhưng vẫn giữ nguyên loại cấu trúc tinh thể.

3.5. Khả năng tiêu hóa của tinh bột

Bảng 3. Hàm lượng RDS, SDS và RS (%, w/w, chất khô) của tinh bột tách từ gạo lức đỏ trước và sau khi nảy mầm có và không kết hợp xử lý nhiệt - ẩm

Mẫu tinh bột gạo	%RDS	%SDS	%RS
Chưa nảy mầm	75,0 ± 0,1a	10,3 ± 0,8b	14,7 ± 1,0b
Nảy mầm 12 giờ	79,0 ± 0,5a	9,2 ± 0,9ab	11,8 ± 0,3c
Nảy mầm và HMT	53,5 ± 1,9b	17,5 ± 1,8a	29,0 ± 0,4a

Khả năng tiêu hóa của tinh bột được xác định bằng tỉ lệ các dạng tinh bột tiêu hóa khác nhau gồm: Tinh bột tiêu hóa nhanh (RDS), tinh bột tiêu hóa chậm (SDS) và tinh bột kháng tiêu hóa (RS). Tỷ lệ RDS, SDS và RS từ tinh bột tách từ gạo lức đỏ trước và sau khi nảy mầm có và không kết hợp xử lý nhiệt - ẩm được thể hiện trong bảng 3. Có sự khác biệt đáng kể về tỷ lệ phần trăm của mỗi nhóm trong phần tinh bột. Sau thời gian nảy mầm, RS thấp hơn và RDS cao hơn được ghi nhận như kết quả được trình bày trong bảng 3, điều này cho thấy, quá trình nảy mầm làm tăng khả năng tiêu hóa của tinh bột.

Theo Chung và cs (2012) [15], các chuỗi tinh bột bị thủy phân bởi các enzym amylaza trong quá trình nảy mầm làm chúng trở nên dễ tiêu hóa. Bên

cạnh đó, nghiên cứu của Wu và cs (2013) cho thấy, tỷ lệ amylopectin cao hơn góp phần vào khả năng tiêu hóa nhanh (RDS), trong khi tỷ lệ amyloza/amylopectin giảm xuống được ghi nhận trong quá trình nảy mầm [18]. Tỷ lệ RS và SDS của tinh bột trong hạt gạo nảy mầm được xử lý HMT tăng lên so với hạt gạo không được xử lý. Theo Chung và cs (2012) [15], sự tương tác ngày càng tăng giữa các chuỗi tinh bột, sự thoái hóa của amyloza khi làm lạnh và sự phát triển của các liên kết chéo vật lý trong các vùng vô định hình giúp tăng cường sự hoàn thiện của các tinh thể tinh bột hiện có dẫn đến sự gia tăng nồng độ RS và SDS trong quá trình xử lý nhiệt - ẩm. Xử lý nhiệt - ẩm gây ra những thay đổi cấu trúc bên trong hạt tinh bột, khiến chúng ít đặc hiệu hơn với các enzym tiêu hóa. Khả năng tiêu hóa giảm được xác minh bằng hàm lượng RDS thấp hơn và hàm lượng SDS và RS cao hơn [19].

4. KẾT LUẬN

Quá trình nảy mầm có và không kết hợp xử lý nhiệt-ẩm được xác định có ảnh hưởng đến thành phần và tính chất của bột và tinh bột gạo lức đỏ và khả năng tiêu hóa của tinh bột loại gạo này. Hàm lượng tro và lipid không thay đổi sau khi nảy mầm và xử lý nhiệt - ẩm, nhưng hàm lượng protein giảm nhẹ. Quá trình xử lý nhiệt - ẩm làm giảm đáng kể độ nhớt của các mẫu bột gạo do sự sắp xếp lại cấu trúc của tinh bột khiến bột gạo dễ bị trương nở và hồ hoá. Thời gian nảy mầm kéo dài làm giảm hàm lượng RS và làm tăng hàm lượng RDS, theo đó là khả năng tiêu hóa của tinh bột tăng lên. Trong khi đó, quá trình xử lý nhiệt - ẩm gây ra những thay đổi về cấu trúc bên trong các hạt tinh bột làm cho chúng ít đặc hiệu hơn với các enzym tiêu hóa dẫn đến khả năng tiêu hóa của tinh bột giảm xuống.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh cho đề tài mã số B2022-28-02.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bhat F. M., & Riar C. S. (2015). Health Benefits of Traditional Rice Varieties of Temperate Regions. *Medicinal and Aromatic Plants Research Journals*, 04: 198.

2. Ding, J., Ulanov, A. V., Dong M. Yang, T., Nemzer, B. V., Xiong, S., Zhao, S. & Feng H. (2018). Enhancement of gama-aminobutyric acid (GABA) and other health - related metabolites in germinated red rice (*Oryza sativa* L.) by ultrasonication. Ultrason Sonochemistry. 40: 791 - 797.

3. Nelson K., Stojanovska L., Vasiljevic T. & Mathai, M. (2013). Germinated grains: A superior whole grain functional food? *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 91: 429 - 441.

4. Liu M., Hu B., Zhang H., Zhang Y., Wang L., Qian H., & Qi X. (2017). Inhibition study of red rice polyphenols on pancreatic α-amylase activity by kinetic analysis and molecular docking. *Journal of Cereal Science*, 76: 186 - 192.

5. Kalita, D., Bhattacharya, S. & Srivastava, B. (2018). Predicting enzymatic starch hydrolysis mechanism during paddy malting by vibrational spectroscopy and multivariate calibration analysis. Food Chemistry. 259: 89 - 98.

6. Liu Y., Su C., Saleh A. S. M., Wu H., Zhao K., Zhang G., Jiang H., Yan W., & Li W (2020). Effect of germination duration on structural and physicochemical properties of mung bean starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154: 706 - 713.

7. Chung H. J., Liu Q., & Hoover R. (2009). Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. Carbohydrate Polymer. 75: 436 - 447.

8. Hung P. V., Binh V. T., Nhi P. H. Y., Phi N. T. L. (2020). Effect of heat - moisture treatment of unpolished red rice on its starch properties and *in vitro* and *in vivo* digestibility. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154: 1 - 8.

9. AACC International (2010). Approved methods of analysis, 11th edition. (*Online) AACC International*, St. Paul, MN.

10. Englyst H. N., Kingman S. M., Hudson G. J., & Cummings J. H. (1996). Measurement of resistant starch *in vitro* and *in vivo*. *British Journal of Nutrition*, 75: 749 - 755.

11. Chiang P. Y., & Yeh A. I. (2002). Effect of soaking on wet-milling of rice. *Journal of Cereal Science*, 35: 85 - 94.

12. Puncha - Arnon S. & Uttapap D. (2013). Rice starch vs. rice flour: Differences in their

properties when modified by heat - moisture treatment. Carbohydrate Polymer. 91: 85 - 91.

13. Olayinka O. O., Adebowale K. O. & Olu - Owolabi B. I. (2008). Effect of heat - moisture treatment on physicochemical properties of white sorghum starch. Food Hydrocolloids. 22: 225 - 230.

14. Planchot V., Colonna P., Gallant D. J. & Bouchet B. (1995). Extensive degradation of native starch granules by alpha-amylase from aspergillus fumigatus. *Journal of Cereal Science,* 21: 163 - 171.

15. Chung H. J., Cho D. W., Park J. D., Kweon D. K. & Lim S. T. (2012). *In vitro* starch digestibility and pasting properties of germinated brown rice after hydrothermal treatments. *Journal of Cereal Science*, 56: 451 - 456.

16. Li S., Ward R. & Gao Q. (2011). Effect of heat - moisture treatment on the formation and physicochemical properties of resistant starch from mung bean (*Phaseolus radiatus*) starch. Food Hydrocolloids. 25: 1702 - 1709.

17. Chen Y., Xiong X. & Gao Q. (2018). Digestibility and physicochemical properties of starch-galactomannan complexes by heat - moisture treatment. Food Hydrocolloids. 77: 853 - 862.

18. Wu F., Chen H., Yang N., Wang J., Duan X., Jin Z. & Xu X. (2013). Effect of germination time on physicochemical properties of brown rice flour and starch from different rice cultivars. *Journal of Cereal Science*, 58: 263 - 271.

19. Zavareze E. D. R. & Dias A. R. G. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. Carbohydrate Polymers. 83: 317 - 328.

EFFECT OF GERMINATION AND HEAT - MOISTURE TREATMENT ON PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF FLOURS AND STARCHES OF UNPOLISHED RED RICE

Tran Ngoc My Linh[1], Le Thi Thu Suong[1], Le Hoang Nhan[1], Mai Nguyen Tram Anh[1, 2], Pham Van Hung[1, 2, *]

[1]Department of Food Technology, School of Biotechnology, International University, Vietnam National University in Ho Chi Minh City, Vietnam

[2]Laboratory of Interdiscipline Research and Analysis in Chemistry, Food and Environmental

**Email: pvhung@hcmiu.edu.vn*

Summary

The consumption of red rice has gradually increased due to its various health benefits. The objective of this study is to investigate effects of germination with or without heat -moisture treatment on nutritional compounds, physicochemical properties of unpolished red rice flours and starches, and digestibility of these starches. The germination was carried out for 12 h with or without heat - moisture treatment at 100°C for 6 h. The proximate nutritional compounds were not significantly changed after germination and heat-moisture treatment. However, prolonged time of germination process caused the change in pasting property and the peak viscosity of starch reduced from 718.5 BU to 336.5 BU. A porous morphology of starch granules were observed, however, the crystallinity of starch was not changed. The slowly digestible starch (SDS) and resistant starch (RS) of rice starch increased after germination and heat-moisture treatment significantly increased from 10.3% to 17.5% for SDS and from 14.7% to 29% for RS. Thus, the unpolished red rice after germination and heat-moisture treatment could used to produce low - carb foods.

Keywords: *Red rice, germination, heat - moisture treatment, physicochemical properties, starch.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Duy Lâm

Ngày nhận bài: 27/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 27/3/2023
Ngày duyệt đăng: 3/4/2023

PHÂN TÍCH VÀ ĐÁNH GIÁ CÁC THÀNH PHẦN HÓA HỌC CHÍNH TRONG CÂY TÍA TÔ TẠI MỘT SỐ VÙNG TRỒNG Ở CÁC TỈNH PHÍA BẮC, VIỆT NAM

Bùi Quang Thuật[1, *], Nguyễn Thị Hoàng Lan[2], Bùi Thị Bích Ngọc[1],
Đỗ Thanh Hà[1], Lê Bình Hoằng[1], Nguyễn Trung Hiếu[1]

TÓM TẮT

Tía tô (*Perilla frutescens*) là loại cây gia vị phổ biến, lâu đời và được trồng nhiều ở Việt Nam, nhất là ở các tỉnh phía Bắc. Loại cây này có được các giá trị ứng dụng cao là do chứa 3 nhóm hoạt chất chính: Tinh dầu, các hoạt chất chống oxy hóa (có nhiều trong lá tía tô) và dầu béo (trong hạt tía tô với thành phần chính là omega 3 và omega 6). Trước đây, giống tía tô được trồng chủ yếu ở Việt Nam là *Perilla frutescens* var. *Crispa.* Giống tía tô này có hàm lượng tinh dầu, các hoạt chất chống oxy hóa cao. Thời gian gần đây, giống tía tô này đã bị lai tạp nên các thành phần chính của tía tô đã có nhiều biến động và có sự khác biệt giữa các vùng trồng khác nhau. Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát, phân tích hàm lượng và thành phần của 3 nhóm hoạt chất chính của cây tía tô tại một số vùng trồng ở các tỉnh phía Bắc, Việt Nam. Kết quả cho thấy, hàm lượng tinh dầu trong lá tía tô dao động 0,24 - 1,22% (so với chất khô) với thành phần chất thơm khá khác biệt. Hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng cũng dao động lần lượt: 1,42 - 1,95% và 0,27 - 0,41%. Dầu trong hạt tía tô cũng có sự khác biệt giữa các vùng trồng về hàm lượng và thành phần các axit béo. Hàm lượng dầu trong hạt dao động 22,80 - 33,34% với tổng lượng omga 3 và omega 6 trong dầu 71,69 - 74,06%.

Từ khóa: *Axit béo omega 3, axit béo omega 6, flavonoid, polyphenol, tía tô, tinh dầu.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây tía tô có tên khoa học là *Perilla frutescens*, là một trong những cây gia vị lâu đời và được trồng rộng rãi ở nhiều nước châu Á, đặc biệt là ở các nước Đông Á. Trước đây, tía tô được xem như một loại gia vị không thể thiếu trong nhiều món ăn truyền thống ở Trung Quốc, Ấn Độ, Nhật Bản, Hàn Quốc, Việt Nam và được sử dụng làm dược liệu trong y học cổ truyền bởi trong cây chứa một lượng tinh dầu đáng kể (0,2 - 1,3% so với chất khô), có hương vị đặc trưng, cay nồng.

Trên thế giới, 3 loại sản phẩm: Tinh dầu, các chất chống oxy hóa, dầu hạt tía tô (omega 3 và omega 6) đã được sản xuất ở quy mô công nghiệp, tạo ra các chế phẩm thuốc, thực phẩm chức năng có giá trị kinh tế - xã hội cao. Các nước sản xuất dầu tía tô, viên nang dầu hạt tía tô giàu omega 3, tinh dầu lá tía tô chủ yếu trên thế giới là Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Singapore…. Trong khi đó, ở Việt Nam tía tô là loại cây gia vị lâu đời, quen thuộc và có tiềm năng phát triển nhưng hiện nay mức độ phát triển và sử dụng cây tía tô vẫn còn rất hạn chế, vùng trồng tía tô chưa được quy hoạch cụ thể, đặc biệt, chưa có những nghiên cứu sâu về giống cây trồng, về thành phần và công nghệ khai thác, chế biến các nhóm hoạt chất chính trong cây tía tô. Trước đây, giống tía tô được trồng chủ yếu ở Việt Nam là *Perilla frutescens* var. *Crispa.* Loại giống này có mép lá quăn, màu tím đậm hơn ở cả 2 mặt lá và có mùi thơm mạnh nên có hàm lượng tinh dầu, các hoạt chất chống oxy hóa cao, phù hợp để làm gia vị và thuốc y học cổ truyền [1]. Hiện nay, loại giống tía tô này đã dần bị lai tạp nên các thành phần các hoạt chất chính đã có nhiều biến động và có sự khác biệt giữa các vùng trồng khác nhau. Với mục đích góp phần nâng cao giá trị và quy hoạch vùng nguyên liệu cây tía tô, nghiên cứu đã tiến hành khảo sát, phân

[1] Viện Công nghiệp Thực phẩm, Bộ Công thương
[2] Học viện Nông nghiệp Việt Nam
* Email: bqthuat2002@yahoo.com

tích hàm lượng và thành phần của 3 nhóm hoạt chất chính (tinh dầu, các chất chống oxy hóa và dầu béo) của cây tía tô tại một số vùng trồng ở các tỉnh phía Bắc, Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Lá và hạt tía tô được mua dạng tươi tại các vùng trồng tía tô: huyện Đông Anh, huyện Gia Lâm, huyện Thường Tín - thành phố Hà Nội, huyện Văn Lâm - tỉnh Hưng Yên, xã Vạn Hòa - thành phố Lào Cai, huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang, phường Ngọc Hà - thành phố Hà Giang, phường Võ Cường - thành phố Bắc Ninh. Lá tía tô được thu hái vào khoảng tháng 4 đến tháng 5 khi cây chuẩn bị ra hoa, có chất lượng đồng đều, tươi, không bị sâu, bệnh.

- Hạt được mua ở dạng khô, chất lượng đồng đều, không sâu, mọt, ẩm mốc, được bảo quản trong túi PE hai lớp, để nơi khô ráo.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân tích hạt tía tô

- Xác định độ ẩm nguyên liệu hạt tía tô và dầu theo TCVN 6120: 2007 [2].

- Xác định hàm lượng dầu theo TCVN 8948: 2011 [3].

- Xác định thành phần axit béo theo phương pháp AOCS Ce 1e-91 [4].

2.2.2. Phương pháp phân tích lá tía tô

- Xác định độ ẩm bằng phương pháp chưng cất với toluen theo Dược điển VN V 2017 [5].

- Xác định hàm lượng tinh dầu bằng phương pháp chưng cất cuốn theo hơi nước trên thiết bị Clevenger.

- Xác định thành phần hóa học của sản phẩm tinh dầu lá tía tô:

Thành phần hóa học có trong tinh dầu lá tía tô được xác định bằng phương pháp sắc kí khí nối ghép khối phổ GC-MS thực hiện trên thiết bị GC-MS 2010 Shimadzu với các điều kiện: Năng lượng ion hóa 70 eV; cột tách DB-Wax-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm); chương trình nhiệt độ ở 70°C trong thời gian 10 phút, sau đó gia nhiệt với tốc độ 5°C/phút đến 230°C giữ trong 15 phút; nhiệt độ bơm mẫu 230°C; nhiệt độ detector 250°C; nhiệt độ buồng bơm mẫu 200°C. Sau đó định tính và nhận biết các thành phần bằng cách so sánh phổ khối lượng của từng peak sắc ký (chất được rửa giải ra khỏi cột sắc ký) với phổ khối lượng của các chất có trong thư viện chuẩn đã được công bố, đồng thời kết hợp chỉ số khoá thời gian lưu (retention time index hay Kovats index). Chỉ số này (RI) được chuẩn hóa bằng thời gian lưu của các chất n-alkanes và loại trừ được các sai số do các máy đo khác nhau, chương trình nhiệt độ khác nhau, cột phân tích hay hệ thống phân tích khác nhau. RI được đăng tải dữ liệu tại cổng Chemical Name Search. Việc định lượng các thành phần dựa theo tỷ lệ phần trăm diện tích peak của nó trên tổng diện tích các peak có trong hỗn hợp.

- Xác định hàm lượng polyphenol tổng theo Yadav và Agarwala (2011) [6].

- Xác định hàm lượng flavonoid tổng theo Chang và cs (2002) [7].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích xác định hàm lượng và thành phần các hoạt chất trong thân, lá tía tô

3.1.1. Đặc điểm hình thái thân, lá tía tô

Chất lượng và hàm lượng tinh dầu nguyên liệu lá tía tô phụ thuộc vào giống loài, khí hậu, đất đai, kỹ thuật canh tác. Các nguyên liệu lá tía tô được mua trực tiếp tại ruộng ở một số vùng chuyên canh trồng tía tô tại một số tỉnh miền Bắc. Đặc điểm hình thái lá tía tô của các vùng nguyên liệu được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm hình thái nguyên liệu lá tía tô

STT	Vùng nguyên liệu	Lá	Thân
1	Huyện Thường Tín - thành phố Hà Nội	- Lá mọc đối, nhỏ, mép lá hơi quăn - Mặt trên xanh, mặt dưới tím - Lá có lông nhám, răng cưa sâu, nhỏ - Mùi thơm mạnh	Thân có lông, màu xanh sọc tím

STT	Vùng nguyên liệu	Lá	Thân
2	Phường Võ Cường - thành phố Bắc Ninh	- Lá mọc đối, nhỏ, mép lá phẳng - Mặt trên xanh, mặt dưới tím - Lá có lông nhám, răng cưa nông và rộng - Mùi thơm nhẹ	
3	Huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang	- Lá to, mép lá phẳng, có lông nhám - Mặt trên xanh, dưới tím - Răng cưa sâu, to - Mùi thơm nhẹ	
4	Huyện Văn Lâm - tỉnh Hưng Yên	- Lá to, mép lá phẳng, có lông nhám - Mặt trên xanh, dưới tím - Răng cưa sâu, to - Mùi thơm mạnh	
5	Xã Vạn Hòa - thành phố Lào Cai	- Lá to, mép lá phẳng - Mặt trên xanh, mặt dưới tím - Lá có lông nhám, răng cưa sâu - Mùi thơm mạnh	
6	Phường Ngọc Hà - thành phố Hà Giang	- Lá to, mép lá phẳng, có lông nhám - Mặt trên xanh, dưới tím - Răng cưa sâu - Mùi thơm mạnh	
7	Huyện Gia Lâm - thành phố Hà Nội	- Lá phẳng, kích thước trung bình, có lông nhám - Mặt trên xanh, dưới tím - Mùi thơm mạnh - Răng cưa sâu	
8	Huyện Đông Anh - thành phố Hà Nội	- Lá kích thước trung bình, mép lá hơi quăn - Mặt trên xanh, dưới tím - Mùi thơm mạnh - Răng cưa sâu	

Bảng 1 cho thấy, tất cả các mẫu tía tô nghiên cứu ở thân đều có lông, màu xanh sọc tím, lá có mặt trên xanh, mặt dưới tím, sự khác biệt về hình thái giữa chúng không nhiều. Dựa vào đặc điểm hình thái có thể kết luận rằng loại tía tô gieo trồng tại 8 địa phương trên đều thuộc loài *Perilla frutescens* var. *crispa.* Tuy nhiên, các giống tía tô ở các địa phương này thường bị lai tạp, không ổn định nên cho đến nay chưa có nghiên cứu nào công bố về các giống cây tía tô tại Việt Nam. Điều

cần nhấn mạnh rằng, trong nỗ lực tìm hiểu và xác định giống tía tô tại 8 vùng nguyên liệu, trong đó có nhiều địa phương đã được nghiên cứu về thực vật nói chung và giống cây trồng nói riêng. Tuy nhiên, sau khi trao đổi và nghiên cứu nhưng đều không thu được kết quả như mong muốn.

Các vùng nguyên liệu ở phường Ngọc Hà, thành phố Hà Giang; huyện Văn Lâm - tỉnh Hưng Yên; xã Vạn Hòa, thành phố Lào Cai: Lá tía tô to, mùi thơm mạnh; ở huyện Thường Tín và huyện Đông Anh - thành phố Hà Nội: Lá nhỏ đến trung bình, mùi thơm mạnh; ở huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang: Lá to, mùi thơm nhẹ. Điều này cho thấy đặc điểm hình thái lá tía tô phụ thuộc vào đất đai, khí hậu và điều kiện canh tác.

3.1.2. Phân tích hàm lượng và thành phần tinh dầu lá tía tô

Thành phần hóa học và hàm lượng tinh dầu lá tía tô rất phức tạp, thay đổi theo từng loài, điều kiện địa lý, yếu tố môi trường, thời vụ gieo trồng, trạng thái nguyên liệu (tươi hay khô), thời điểm thu hái trước khi ra hoa hay sau khi ra hoa, lá non hay lá già, vị trí lá trên cây, phương pháp tách chiết. Qua tham khảo tài liệu cũng như nghiên cứu ảnh hưởng của thời kỳ thu hái đến hàm lượng tinh dầu lá tía tô, tiến hành thu hái nguyên liệu lá để thu nhận tinh dầu ở các vùng trồng khác nhau vào thời kỳ cây chuẩn bị nở hoa hoặc bắt đầu xuất hiện chồi hoa đầu tiên. Hàm lượng tinh dầu lá tía tô ở một số vùng trồng phổ biến được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng tinh dầu lá tía tô ở các vùng trồng tại các tỉnh phía Bắc

STT	Vùng nguyên liệu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng tinh dầu (%, theo CK)
1	Huyện Thường Tín - thành phố Hà Nội	80,0	$0,52^{f} \pm 0,02$
2	Phường Võ Cường - thành phố Bắc Ninh	78,2	$0,24^{h} \pm 0,02$
3	Xã Vạn Hòa - thành Lào Cai	85,1	$1,22^{a} \pm 0,03$
4	Phường Ngọc Hà - thành Hà Giang	75,0	$1,03^{b} \pm 0,01$
5	Huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang	82,1	$0,59^{e} \pm 0,04$
6	Huyện Văn Lâm - tỉnh Hưng Yên	74,2	$0,47^{g} \pm 0,02$
7	Huyện Gia Lâm - thành Hà Nội	79,3	$0,60^{d} \pm 0,03$
8	Huyện Đông Anh - thành Hà Nội	82,0	$0,76^{c} \pm 0,02$

Ghi chú: Các số liệu theo cột có các chữ ở mũ khác nhau là có giá trị khác biệt ở mức ý nghĩa α = 5%

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, hàm lượng tinh dầu trong các mẫu nghiên cứu dao động từ 0,24 - 1,22% theo chất khô. Kết quả này khá phù hợp với nghiên cứu của Tian và cs (2014) [8] khi phân tích hàm lượng tinh dầu lá tía tô ở 11 vùng trồng khác nhau của Trung Quốc là 0,18 - 1,11. Hàm lượng tinh dầu tía tô ở các tỉnh vùng núi phía Bắc cho kết quả cao hơn hẳn hàm lượng tinh dầu ở vùng đồng bằng. Cụ thể, hàm lượng tinh dầu lá tía tô ở thành phố Lào Cai là 1,22%, ở thành phố Hà Giang là 1,03% phù hợp với đặc điểm hình thái của lá tía tô ở 2 vùng này to và có mùi thơm mạnh. Hàm lượng tinh dầu lá tía tô ở thành phố Bắc Ninh thấp nhất chỉ đạt 0,24% tương ứng với lá chỉ có mùi thơm nhẹ. Như vậy, hàm lượng tinh dầu lá tía tô có sự khác biệt khá lớn giữa các vùng trồng do có sự khác biệt về điều kiện đất đai, khí hậu. Kết quả nghiên cứu này cao hơn so với các nghiên cứu trên lá tía tô Trung Quốc, Nhật Bản, Thổ Nhĩ Kỳ, Latvia và cũng cao hơn hàm lượng tinh dầu trong lá tía tô Việt Nam trong nghiên cứu đối với lá tía tô trồng tại huyện Thường Tín, thành phố Hà Nội (0,52%). Về tính chất cảm quan, tinh dầu lá tía tô thu được là chất lỏng trong suốt, màu vàng, hương tía tô đặc trưng.

Để xác định các thành phần và hàm lượng các cấu tử bay hơi trong tinh dầu lá tía tô ở các vùng trồng khác nhau, lá tía tô được thu thập từ 8 vùng trồng ở các tỉnh phía Bắc, Việt Nam và kết quả phân tích thành phần hóa học trong các vùng trồng tinh dầu được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Thành phần hóa học tinh dầu lá tía tô ở các vùng trồng tại các tỉnh phía Bắc

TT	Tên hóa học	Thành phần bay hơi của các loại tinh dầu tía tô, % diện tích peak							
		Huyện Đông Anh, thành phố Hà Nội	Huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội	Phường Võ Cường, thành phố Bắc Ninh	Huyện Văn Lâm, tỉnh Hưng Yên	Phường Ngọc Hà, thành phố Hà Giang	Huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang	Huyện Thường Tín, thành phố Hà Nội	Xã Vạn Hòa, thành phố Lào Cai
1	Hex-3-en-1-ol<Z->	0,79	1,68	4,84	2,16	1,45	-	1,25	1,19
2	Benzaldehyde	0,18		0,29	-	-	*0,16*	0,14	0,25
3	Octen-3-ol<1->	2,77	1,50	5,41	2,69	3,94	3,44	3,47	3,12
4	Octanol<3->	0,50	-	0,55	-	0,46	0,19	0,27	0,36
5	Limonene	3,23	9,32	9,91	9,97	15,85	*3,82*	13,10	16,06
6	Linalool	1,95	1,37	2,24	2,02	1,00	*0,27*	1,65	0,85
7	Terpineol<a->	0,52	0,35	0,22	0,32	0,35	-	0,26	0,32
8	Perilla aldehyde	38,99	20,89	29,57	46,82	39,73	*5,51*	34,15	46,88
9	Anethole <E->	-	*42,65*	-	-	-	-	-	-
10	Perilla alcohol	23,71	5,02	9,41	7,10	8,02	*2,51*	10,22	5,69
11	Eugenol	0,33	-	0,54	0,27	0,24	-	0,24	0,23
12	Copaene <a->	0,52	-	0,77	0,21	-	-	0,68	0,13
13	Elemene <cis-b->	0,49	-	0,56	0,22	-	-	0,47	0,13
14	Caryophylene<E->	5,63	1,50	7,97	7,59	8,09	*11,55*	7,53	5,34
15	Humulene <a->	1,45	0,27	1,31	1,14	0,93	*1,37*	1,38	0,65
16	Germacrene D	-	0,72	5,43	2,55	-	-	-	1,33
17	Bicyclogermacrene	-	-	1,05	0,68	-	*0,29*	1,05	0,20
18	Myristicin	-	2,77	0,54	2,12	5,46	*56,06*	-	4,29
19	Cadinene <d->	-	-	0,83	0,24	-	-	0,68	0,16
20	Nerolidol <E->	0,62	-	0,32	0,35	0,24	*0,22*	0,23	0,18
21	Caryophyllene oxide	-	-	0,16	-	0,18	-	0,16	0,11
22	Phytol	-	-	1,29	0,40	0,35	*0,38*	1,37	0,18

23	Các thành phần khác	18,92	11,96	16,79	13,09	13,76	13,23	22,70	12,35
24	Tổng số peak	23	25	28	25	27	*21*	25	31
Tổng 4 chất chính của loại tinh dầu PA (Perilla aldehyde, *Limonene,* Perilla alcohol và Caryo-phylene)		71,56	36,30	56,86	71,48	71,69	23,39	65,00	73,97

Bảng 3 cho thấy, về thành phần, tinh dầu từ 8 vùng trồng tía tô ở phía Bắc, Việt Nam có 21 - 31 cấu tử bay hơi được xác định, trong đó tinh dầu tía tô ở xã Vạn Hòa, thành phố Lào Cai có nhiều cấu tử nhất (31), tinh dầu tía tô ở huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang có ít cấu tử nhất (21). Nhìn chung, các cấu tử được tìm thấy trong tinh dầu tía tô tại các vùng trồng được nghiên cứu có sự phù hợp với các thành phần tinh dầu ở các nước như: Trung Quốc, Nhật Bản, Latvia [9]. So với nghiên cứu của Lê Ngọc Thạch và cs (1999) [10], nghiên cứu này phát hiện thêm một số các hợp chất như: (E)-anethol, myristicin, elemicine, humulene, phytol.

Theo sự phân loại của Ito và cs (2000) [11], 7 trong số 8 loại tinh dầu của 8 vùng nguyên liệu được nghiên cứu thuộc loại tinh dầu PA (perilla aldehyde) gồm các thành phần chính: Perilla aldehyde, linonene, β-caryophylene, perilla alcohol. Hàm lượng của 4 thành phần chính này của 7 loại tinh dầu PA đạt từ 36,30 - 73,97%. Đây là các thành phần chính tạo nên mùi hương đặc trưng của tía tô. Hàm lượng của 4 thành phần chính này trong tinh dầu là một tiêu chí để đánh giá chất lượng tinh dầu tía tô thương mại. Hàm lượng các chất này càng cao thì tinh dầu đó càng có giá trị. Tinh dầu tía tô của xã Vạn Hòa, thành phố Lào Cai; huyện Văn Lâm, tỉnh Hưng Yên; phường Ngọc Hà, thành phố Hà Giang có hàm lượng perilla aldehyde rất cao, từ 39,73 - 46,88%. Tại thành phố Hà Nội, hàm lượng perilla aldehyde của tinh dầu từ tía tô huyện Đông Anh cao hơn nhiều so với huyện Gia Lâm (38,99% so với 20,89%), điều này chứng tỏ đất đai và điều kiện canh tác có ảnh hưởng rất lớn đến thành phần và chất lượng tinh dầu lá tía tô. Một điều chưa giải thích được là tinh dầu tía tô ở huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội có hàm lượng (E)-anethol rất cao (đây là thành phần chính chiếm tới 42,65%), trong khi hàm lượng của perilla alcohol lại rất thấp (5,02%). Tương tự như vậy, tinh dầu tía tô ở huyện Tân Yên, Bắc Giang có thành phần chính là myristicin (56,06%), trong khi hàm lượng của perilla aldehyde, perilla alcohol lại rất thấp (5,51% và 2,51%). Có thể giả thuyết rằng đã có sự chuyển hóa của các chất thuộc nhóm terpenoid như perilla aldehyd, perilla alcohol thành (E)-anethol hay myristicin.

Tinh dầu tía tô ở huyện Tân Yên, Bắc Giang thuộc loại tinh dầu phenylpropanoid (PP) vì có thành phần chủ yếu là myristicin (56,06%), loại tinh dầu này thường thu nhận được từ loài hoang dại *Perilla citriodora*, thường có ở Trung Quốc… [11]. Myristicin là hợp chất được biết đến với vai trò quan trọng trong việc ngăn chặn sự hình thành khối u trong phổi. Hơn nữa, hợp chất myristicin cũng làm giảm tác hại các chất gây ung thư có mặt trong khói thuốc lá. Myristicin được xem là nguồn cung cấp phenylpropanoid khá quan trọng trong ngành dược phẩm. Hợp chất chủ yếu trong thành phần tinh dầu tía tô ở huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang có sự khác biệt so với các vùng trồng còn lại có thể ngoài yếu tố ảnh hưởng của điều kiện khí hậu, đất đai thì nguồn gốc của hạt giống cũng có ảnh hưởng rất lớn.

Nghiên cứu của Tian và cs (2014) [8] trên 11 vùng trồng tía tô của Trung Quốc cho thấy, các vùng này được chia làm 4 nhóm chính dựa trên hợp chất đặc trưng của tinh dầu. Nghiên cứu cho rằng, sự thay đổi về thành phần tinh dầu trong các quần thể khác nhau phụ thuộc chủ yếu vào điều kiện địa lý (độ cao), còn trong cùng một quần thể thì sự biến đổi này phụ thuộc vào gen và các yếu tố môi trường như khí hậu, đất đai.

Kết quả cũng cho thấy, tinh dầu lá tía tô Việt Nam có khả năng kháng khuẩn do có tỷ lệ tương đối cao perilla aldehyde và caryophylene trong thành phần. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô chủ yếu do perilla aldehyde và caryophylene.

3.1.3. Phân tích hàm lượng các hoạt chất chống oxy hóa trong lá tía tô

Các hoạt chất chống oxy hóa (chủ yếu là polyphenol và flavonoid) là thành phần quan trọng và có giá trị cao trong lá tía tô nên được tiến hành phân tích từ lá tía tô ở các vùng nguyên liệu. Hàm lượng các hoạt chất này trong thân, lá tía tô được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng các hoạt chất chống oxy hóa chính trong thân, lá tía tô

Nguyên liệu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng (% chất khô)	
		Polyphenol tổng	Flavonoid tổng
Huyện Thường Tín, thành phố Hà Nội	80,3 ± 1,05	$1,58^{e} \pm 0,18$	$0,33^{b} \pm 0,02$
Huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội	79,7 ± 1,65	$1,64^{d} \pm 0,05$	$0,34^{b} \pm 0,02$
Huyện Đông Anh, thành phố Hà Nội	81,8 ± 2,16	$1,95^{a} \pm 0,09$	$0,41^{a} \pm 0,03$
Phường Võ Cường, thành phố Bắc Ninh	78,2 ± 2,16	$1,42^{f} \pm 0,02$	$0,27^{c} \pm 0,02$
Xã Vạn Hòa, thành phố Lào Cai	82,1 ± 1,93	$1,83^{b} \pm 0,05$	$0,38^{b} \pm 0,04$
Phường Ngọc Hà, thành phố Hà Giang	75,6 ± 1,90	$1,76^{c} \pm 0,03$	$0,36^{b} \pm 0,02$
Huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang	82,1 ± 1,90	$1,53^{e} \pm 0,07$	$0,32^{b} \pm 0,04$
Huyện Văn Lâm, tỉnh Hưng Yên	74,9 ± 1,13	$1,49^{f} \pm 0,04$	$0,30^{b} \pm 0,02$

Bảng 4 cho thấy, hàm lượng chất chống oxy hóa (polyphenol tổng, flavonoid tổng) trong các vùng nguyên liệu lá tía tô có sự khác biệt khá lớn. Một điều dễ nhận thấy, nguyên liệu nào có hàm lượng hoạt chất polyphenol cao cũng có hàm lượng flavonoid cao và ngược lại. Lá tía tô từ vùng nguyên liệu huyện Đông Anh, thành phố Hà Nội có hàm lượng polyphenol và flavonoid cao nhất (1,95% và 0,41%), trong khi đó vùng nguyên liệu phường Võ Cường, thành phố Bắc Ninh có hàm lượng 2 nhóm hoạt chất này thấp nhất (1,42% và 0,27%). Có sự tương đồng giữa màu sắc tía của lá tía tô với hàm lượng polyphenol và flavonoid, sắc tía của lá tía tô càng đậm thì có hàm lượng polyphenol và flavonoid càng cao.

3.2. Phân tích xác định hàm lượng và thành phần của dầu béo trong hạt tía tô

3.2.1. Đặc điểm hình thái hạt tía tô

Bảng 5. Đặc điểm hình thái hạt tía tô tại các vùng nguyên liệu

STT	Vùng nguyên liệu	Đặc điểm hình thái hạt tía tô
1	Huyện Thường Tín - thành phố Hà Nội	Tròn, nhỏ, màu nâu xám, hạt không đồng đều, nhiều hạt lép
2	Phường Võ Cường - thành phố Bắc Ninh	Hình ovan, màu sắc không đồng đều, màu nâu xám và màu nâu đỏ
3	Huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang	Hạt tròn, nhỏ, đồng đều, màu nâu đen
4	Huyện Gia Lâm - thành phố Hà Nội	Hạt tròn, nhỏ, màu sắc đồng đều
5	Huyện Đông Anh - thành phố Hà Nội	Hạt tròn, nhỏ, màu sắc không đồng đều, màu nâu xám

Ở Việt Nam, hiện nay, người dân chỉ thu hái lá và thân non của cây tía tô, hạt tía tô chỉ được lưu giữ để làm giống. Do vậy, không mua được hết nguyên liệu hạt tía tô của 8 vùng nguyên liệu ở các tỉnh phía Bắc, Việt Nam mà chỉ mua được tại 5 vùng trồng là: Phường Võ Cường - thành phố Bắc Ninh, huyện Tân

Yên - tỉnh Bắc Giang, huyện Thường Tín, Gia Lâm, huyện Đông Anh - thành phố Hà Nội. Kết quả đánh giá đặc điểm hình thái các mẫu hạt được trình bày trong bảng 5.

Bảng 5 cho thấy, hạt tía tô có hình tròn hoặc ovan, hạt nhỏ có màu nâu xám hoặc đen. Hạt do người dân tự để giống nên chất lượng thường không đồng đều, lẫn nhiều hạt lép. Trong số 5 vùng nguyên liệu, xét về trạng thái, hạt tía tô của 2 huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang và huyện Gia Lâm - thành phố Hà Nội có chất lượng đồng đều nhất.

3.2.2. Phân tích hàm lượng và thành phần dầu béo trong hạt tía tô

Thành phần quan trọng nhất của hạt tía tô là dầu béo với hàm lượng từ 20 - 32% theo nguyên liệu khô. Hơn nữa, dầu hạt tía tô là loại dầu thực phẩm cao cấp có hàm lượng omega 3 và omega 6 cao (70 - 75%), đặc biệt sau khi làm giàu, hàm lượng 2 loại axit béo này lên tới 95%, trong đó hàm lượng omega 3 đạt > 75%. Có thể khẳng định rằng dầu hạt tía tô là một trong số ít các dầu thực vật có hàm lượng omega 3 và omega 6 cao nhất và quý hơn nữa là dầu có hàm lượng omega 3 rất cao (56 - 58%). Do vậy, việc khảo sát hàm lượng dầu trong hạt và hàm lượng omega 3 và omega 6 trong dầu tại các vùng nguyên liệu có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao. Kết quả khảo sát được thể hiện tại bảng 6.

Bảng 6. Hàm lượng dầu trong hạt tía tô và hàm lượng các axit béo trong dầu (% chất khô)

TT	Vùng nguyên liệu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng dầu (% CK)	Hàm lượng ω3 + ω6 (%)
1	Huyện Thường Tín – thành phố Hà Nội	7,05 ± 0,15	$22,80^{d}$ ± 0,17	72,47
2	Huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang	7,15 ± 0,12	$33,34^{a}$ ± 0,50	71,69
3	Xã Võ Cường – thành phố Bắc Ninh	4,60 ± 0,92	$25,48^{e}$ ± 0,73	72,83
4	Huyện Gia Lâm - thành phố Hà Nội	11,56 ± 0,06	$30,09^{b}$ ± 0,43	74,06
5	Huyện Đông Anh - thành phố Hà Nội	13,22 ± 0,32	$26,00^{c}$ ± 0,19	73,56

Ghi chú: Các số liệu theo cột có các chữ ở mũ khác nhau là có giá trị khác biệt ở mức ý nghĩa α = 5%

Bảng 6 cho thấy, sự khác biệt về hàm lượng dầu và hàm lượng omega 3 và omega 6 (trong dầu) giữa các vùng nguyên liệu hạt tía tô. Cụ thể, hạt ở vùng nguyên liệu huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang cho hàm lượng dầu cao nhất là 33,34% do chọn giống tốt. Tuy nhiên, hàm lượng omega 3 và omega 6 trong dầu của vùng nguyên liệu này thấp nhất trong 5 vùng nguyên liệu (khác biệt về giống và vùng trồng), hơn nữa, xét về giá thành, hạt ở huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang có giá thành cao hơn nhiều so với các vùng nguyên liệu khác. Nguyên liệu hạt tía tô ở huyện Thường Tín - thành phố Hà Nội với hàm lượng dầu thấp nhất là 22,80%.

Kết quả phân tích cũng cho thấy, hàm lượng dầu của hạt tía tô Việt Nam tương đối thấp so với các nước trồng tía tô trên thế giới. Hàm lượng dầu trong hạt tía tô Hàn Quốc khoảng 40% [12], trong hạt tía tô Trung Quốc khoảng 32,25 - 42,58% [13], trong hạt tía tô Thái Lan khoảng 34 - 36% [14]. Điều này cũng dễ hiểu bởi ở Việt Nam chưa phát triển vùng nguyên liệu riêng cho việc khai thác dầu nên năng suất và chất lượng hạt còn nhiều hạn chế. Hy vọng rằng, khi các nghiên cứu về việc thu nhận dầu và hỗn hợp các axit béo omega 3 và omega 6 từ hạt tía tô được công bố sẽ mở ra triển vọng phát triển những vùng nguyên liệu trồng tía tô chuyên canh thu hoạch hạt với năng suất hạt và hàm lượng dầu cao hơn.

Thành phần axit béo của dầu tía tô được xác định bằng phương pháp sắc ký khí (có dùng các chất chuẩn) cho 2 loại dầu từ huyện Gia Lâm - thành phố Hà Nội và huyện Tân Yên - tỉnh Bắc

Giang. Kết quả được trình bày tại bảng 7.

Bảng 7 cho thấy, trong thành phần axit béo của dầu hạt tía tô, ngoài 2 thành phần quan trọng nhất là axit béo linolenic (omega 3) và linoleic (omega 6), còn có thành phần cũng có giá trị là axit oleic (omega 9) có hàm lượng cao thứ 3 (15,12 - 16,97%). Điều này càng khẳng định, dầu hạt tía tô là nguồn nguyên liệu rất quý, có giá trị cao để sản xuất thực phẩm chức năng và dược phẩm. Hàm lượng omega 3 khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Phạm Quốc Long và Châu Văn Minh (2005) [15] là 59%. Thành phần axit béo và hàm lượng axit béo omega 3 của dầu hạt tía tô Việt Nam cũng khá tương đồng kết quả của các nghiên cứu đã được công bố trên thế giới như dầu hạt tía tô của Trung Quốc có hàm lượng omega 3 là 52,58 - 61,98% [13], với dầu Thái Lan là 54,26 - 59,84% [14] và với dầu Hàn Quốc là 60,93% [12]. Điều đặc biệt hơn nữa là dầu hạt tía tô có tỷ lệ omega 6/omega 3 thấp nhất trong các loại dầu thực vật nên rất có lợi cho sức khỏe vì trong chế độ ăn uống hiện nay của con người đang tiêu thụ nhiều dầu ăn giàu omega 6 và thiếu omega 3 dẫn đến phản ứng viêm của cơ thể khi mất cân bằng giữa hai axit béo này. Tỷ lệ omega 6/omega 3 trong dầu hạt tía tô Việt Nam phù hợp với nghiên cứu của Zhang và cs (2015) [16]. Theo nghiên cứu này, tỷ lệ omega 6/omega 3 trong dầu tía tô là 0,26 sẽ có lợi trong việc cải thiện tỷ lệ omega 6/omega 3 trong khẩu phần ăn của con người.

Bảng 7. Thành phần axit béo trong 2 mẫu dầu hạt tía tô

TT	Tên axit béo	Hàm lượng so với tổng lượng axit béo, %	
		Mẫu dầu ở huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội	Mẫu dầu ở huyện Tân Yên - tỉnh Bắc Giang
1	Palmitic (C16:0)	8,17±0,12	8,38±0,16
2	Stearic (C18:0)	2,64±0,15	2,96±0,10
3	Oleic (C18:1), omega 9	15,12±0,11	16,97±0,15
4	Linoleic (C18:2), omega 6	16,36±0,24	15,39±0,27
5	Linolenic (C18:3), omega 3	57,70±0,63	56,30±0,66
Tổng axit béo omega 3 và omega 6		74,06	71,69
Tỷ lệ omega 6/ omega 3		0,28	0,27

4. KẾT LUẬN

Qua phân tích các hoạt chất chính: tinh dầu, các chất chống oxy hóa (polyphenol, flavonoid) và dầu béo trong cây tía tô của 8 vùng trồng tía tô chính ở các tỉnh phía Bắc, Việt Nam, có thể khẳng định: Có sự khác biệt rõ rệt về hàm lượng các nhóm hoạt chất chính giữa các vùng nguyên liệu tía tô. Hàm lượng tinh dầu trong lá tía tô dao động từ 0,24 - 1,22% (so với chất khô) với thành phần các cấu tử thơm khá khác biệt. Hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng cũng dao động lần lượt là: 1,42 - 1,95% và 0,27 - 0,41%. Hàm lượng dầu trong hạt dao động từ 22,80 - 33,34% với tổng lượng omega 3 và omega 6 trong dầu từ 71,69 - 74,06%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Xuân Phương (2000). *Thực vật chí Việt Nam*. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật, tập 2, trang 183- 186.

2. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6120: 2007 (ISO 662: 1998) về Dầu mỡ động thực vật - Xác định độ ẩm và hàm lượng chất bay hơi.

3. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8948: 2011 về Hạt có dầu - Xác định hàm lượng dầu.

4. AOCS Surplus Method Ce 1e-91, declared Surplus 2001 - Fatty Acid Composition by Capillary GLC.

5. Dược điển Việt Nam V 2017 – Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi, PL-279.

6. Yadav, R. N. S., Agarwala M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3 (12), 10 -14.

7. Chang C. C., Yang M. H., Wen H. M., Chern J. C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two 3. Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis,* 10 (3), 178 - 182.

8. Tian J., Zeng X., Zhang S., Wang Y., Zhang P., Lu A., Peng X. (2014). Regional variation in components and antioxidant and antifungal activities of *perilla frutescens* essential oils in China. *Industrial crops and products*, 59, 69 -79.

9. Lâm Xuân Thanh, Lê Ngọc Tú, Masayochi sawamura, Ito Toshiki (2000). Nghiên cứu thành phần hương của tía tô. *Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm,* số 10, trang 468 - 469.

10. Lê Ngọc Thạch và cộng sự (1999). Khảo sát tinh dầu tía tô. *Báo cáo khoa học - đề tài cấp trường,* Khoa Hóa, Đại học Khoa học Tự nhiên thành phố Hồ Chí Minh.

11. Ito, M., Kiuchi, F., Yang, L., L., Honda, G. (2000). *Perilla citriodora* from Taiwan and its phytochemical characteristics. *Biol. Pharm. Bull.,* 23, 359-362.

12. Ciftci O. N., Przybylski R. and Rudzi M. (2012). Lipid components of flax, perilla and chia seeds, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 114, 794-800.

13. Ding Y., Neo M.C., Hu Y., Shi L., Ma C., Liu Y. J. (2012). Characterization of fatty acid composition from five perilla seed oils in China and its relationship to annual growth temperature. *Journal of Medicinal Plants Research.* Vol. 6 (9), pp. 1645-1651.

14. Siriamornpun S., Li D., Yang L., Suttajit M. (2006). Variation of lipid and fatty acid compositions in Thai Perilla seeds grown at different locations. *Journal Science and Technology,* 28 (Suppl.1): 17 - 21.

15. Phạm Quốc Long, Châu Văn Minh (2005). *Lipid và các axit béo hoạt tính sinh học có nguồn gốc thực vật.* Nxb Khoa học và Kỹ thuật.

16. Zhang X. W., Hou W. S., Li M., Tang Z. Y. (2015). Omega-3 fatty acids and risk of cognitive decline in the elderly: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Aging. Clin Exp. Res.* 165 - 169.

ANALYSIS AND ASSESSMENT OF MAIN CHEMICAL INGREDIENTS OF PERILLA PLANT IN SOME GROWING AREAS IN THE NORTHERN PROVINCE OF VIETNAM

Bui Quang Thuat, Nguyen Thi Hoang Lan, Bui Thi Bich Ngoc, Do Thanh Ha, Le Binh Hoang, Nguyen Trung Hieu

Summary

Perilla (*Perilla frutescens*) is a popular, long - standing and widely grown spice plant in Vietnam, especially in the northern provinces. This plant has high application values because it contains 3 main groups of active substances: essential oils, antioxidant active substances (found in perilla leaves) and fatty oils (in perilla seeds with omega 3 and omega 6 as the main ingredient). Previously, the main variety of perilla grown in our country was *Perilla frutescens* var. *Crispa*. This variety has a high content of essential oils and antioxidants, so it is very suitable for making traditional medicine or making spices. Recently, this type of perilla has been hybridized, so the main components of perilla have fluctuated and there are differences between different growing regions. Therefore, this study conducted a survey, analyzed the content and composition of 3 main active substances groups of perilla plant in some growing areas in the Northern provinces of Vietnam. The results showed that the content of essential oil in perilla leaves ranged from 0.24 - 1.22% (in dry material) with quite different aromatic composition. The content of total polyphenols and total flavonoids also fluctuated: 1.42 - 1.95% and 0.27 - 0.41%, respectively. The oil in perilla seeds also varies between growing regions in terms of fatty acid content and composition. The oil content in the seeds ranged from 22.80 - 33.34% with the total amount of omega 3 and omega 6 in the oil ranging from 71.69 - 74.06%.

Keywords: *Omega 3 fatty acids, omega 6 fatty acids, flavonoids, polyphenols, perilla, essential oil.*

Người phản biện: GS.TS. Trần Đình Thắng
Ngày nhận bài: 13/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 10/4/2023
Ngày duyệt đăng: 17/4/2023

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MÀNG CHITOSAN/NANO BẠC TỔNG HỢP BẰNG PHƯƠNG PHÁP HÓA HỌC XANH ĐẾN CHẤT LƯỢNG MẬN SAU THU HOẠCH

Lê Thế Tâm[1,*], Trần Phương Chi[1,*], Đào Thị Thanh Xuân[1]

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, màng phức hợp chitosan-nano bạc được tổng hợp bằng phương pháp hóa học xanh, có chứa chất kháng khuẩn an toàn để tăng thời gian bảo quản mận (*Prunus salicina*). Dịch chiết ethanol của lá vối (*Cleistocalyx operculatus*) được sử dụng để khử ion bạc trong dung dịch axit của $AgNO_3$ và chitosan. Sự tạo thành các hạt nano bạc có kích thước bé 10 - 20 nm phân bố trên màng chitosan đã được xác định bằng phương pháp chụp kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) và phổ UV-Vis. Phối chế hỗn dịch tạo màng từ dung dịch chitosan 1% và dung dịch nano bạc trong dịch chiết ethanol của lá vối với các tỷ lệ thể tích khác nhau bằng thiết bị khuấy từ kết hợp gia nhiệt. Mận sau khi làm sạch được nhúng vào các hỗn dịch tạo màng trong 30 giây. Kết quả cho thấy, chất lượng quả mận được bao màng ổn định và thời gian sử dụng cao hơn so với mẫu đối chứng (không xử lý tạo màng). Hệ tạo màng chitosan/nano bạc được phối trộn theo tỉ lệ thể tích 3 : 1 cho kết quả tốt nhất, mận lưu trữ được 15 ngày ở nhiệt độ phòng. Cách tiếp cận này có thể dễ dàng được sử dụng trong sản xuất quy mô lớn tạo ra các màng sinh học chitosan chứa các hạt nano bạc.

Từ khóa: *Màng phức hợp chitosan-nano bạc, lá vối (Cleistocalyx operculatus), mận (Prunus salicina), tồn trữ, kháng khuẩn.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mận (*Prunus salicina*) có nguồn gốc ôn đới, thường được trồng ở những nơi có mùa đông lạnh ở các tỉnh: Lào Cai, Lạng Sơn, Hà Giang, Cao Bằng, Sơn La, Bắc Kạn... Mận được coi là loại quả tốt cho sức khỏe vì giàu vitamin, khoáng chất, phenolic và các hợp chất hoạt tính sinh học như antoxian [1]. Sau thu hoạch, quả mận rất dễ hư hỏng do các hoạt động sinh lý sinh hoá diễn ra mạnh mẽ. Hơn nữa, nếu trong quá trình xử lý và vận chuyển không đảm bảo, lớp sáp bảo vệ tự nhiên của mận bị mất, dẫn đến tăng khả năng mất nước, bầm dập, mềm quả và lây nhiễm vi sinh vật... Do đó, cần phải có các biện pháp xử lý nhằm kiểm soát những biến đổi hoá lý, giảm tình trạng mềm quả và tăng thời hạn bảo quản mận. Một số phương pháp như bao gói khí quyển cải biến (MAP), bảo quản ở nhiệt độ thấp và xử lý với các hóa chất như canxi, 1-MCP, polyamin, axit ascobic để duy trì chất lượng mận sau thu hoạch đã được nghiên cứu [2].

Gần đây, việc sử dụng màng bao gói sinh học ăn được để bảo quản thực phẩm ngày càng được chú trọng vì chúng tiết kiệm, thân thiện môi trường và dễ áp dụng hơn so với các phương pháp bảo quản khác. Các màng bao sinh học ăn được phổ biến bao gồm chitosan, pullulan, tinh bột, gellan, pectin, canxi anginit, caseinat, tinh dầu và lớp phủ nano [3]. Chitosan là polysaccarit có nguồn gốc từ vỏ động vật giáp xác, được tạo thành quá trình deaxetyl hóa chitin. Chitosan có khả năng tạo màng trên bề mặt quả giúp giữ độ ẩm, giữ cho quả căng mọng, giá trị cảm quan tốt. Theo Rodríguez-León và cs (2013), việc bổ sung các hạt nano bạc lên lớp chitosan giúp tăng khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa, cải thiện cấu trúc và

[1] Viện Công nghệ Hóa sinh - Môi trường, Trường Đại học Vinh
[*]Email: tamlt@vinhuni.edu.vn; phuongchi53@gmail.com

tính chất cơ học của màng. Nano bạc không độc đối với tế bào người và có hại cho vi sinh vật. Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) đã liệt kê nano bạc là vật liệu an toàn [4].

Hiện nay, các phương pháp điều chế nano bạc khá tốn kém và sử dụng các chất khử như hydrazin, natri borohydrit… gây ảnh hưởng không tốt tới môi trường [5]. Do đó, việc tăng cường mối quan tâm đến độ an toàn cho người tiêu dùng và môi trường, hướng tổng hợp xanh đang được các nhà khoa học quan tâm. Tổng hợp xanh nhằm tránh tạo ra các sản phẩm phụ không mong muốn hoặc có hại thông qua xây dựng các quy trình tổng hợp đáng tin cậy, bền vững và thân thiện với môi trường. Việc sử dụng các hệ thống dung môi lý tưởng và tài nguyên thiên nhiên (chẳng hạn như các chất hữu cơ) là điều cần thiết để đạt được mục tiêu này.

Tổng hợp xanh của các hạt nano kim loại đã được áp dụng bằng các vật liệu sinh học khác nhau (ví dụ: vi khuẩn, nấm, tảo và chiết xuất thực vật). Trong số các phương pháp xanh có sẵn của tổng hợp các hạt nano kim loại, sử dụng các chất chiết xuất từ thực vật là một quá trình khá đơn giản và dễ dàng để tạo ra các hạt nano ở quy mô lớn so với quá trình tổng hợp qua trung gian vi khuẩn hoặc nấm [6]. Những sản phẩm này được gọi chung là các hạt nano sinh học. Phương pháp tổng hợp xanh giúp giảm nồng độ bạc sử dụng và giúp ổn định các nano bạc bằng cách kết hợp phân tử sinh học như polyphenol, hợp chất có sẵn trong dược liệu thích hợp để làm chất khử trong tổng hợp nano bạc, đồng thời cấu trúc của polyphenol cũng có khả năng dùng làm chất ổn định kích thước và bảo vệ các hạt nano bạc sau quá trình khử [7]. Mặc dù vậy, các nghiên cứu về tổng hợp màng chitosan-nano bạc để bảo quản rau quả nói chung và quả mận nói riêng còn rất hạn chế. Do vậy, trong nội dung nghiên cứu này, đã sử dụng dịch chiết nước lá vối để tổng hợp màng phức hợp chitosan-nano bạc. Đồng thời, nghiên cứu đánh ảnh hưởng của màng phức hợp chitosan-nano bạc đối với chất lượng mận sau thu hoạch, cũng như tác dụng kháng khuẩn và dư lượng bạc theo thời gian bảo quản.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Mận Tam hoa được thu hoạch tại xã Mường Lống, huyện Kỳ Sơn, tỉnh Nghệ An. Mận được lựa chọn đồng đều về khối lượng (30 – 35 g), kích thước (đường kính 2,5 – 3 cm), độ chín (10% - 30% màu tím phủ khắp quả). Mận được vận chuyển đưa về bảo quản tại phòng thí nghiệm thuộc Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Vinh từ ngày 21/5/2022.

Chiết xuất dịch ethanol của lá vối (*Cleistocalyx operculatus*), để phối hợp cùng các vật liệu khác tạo hệ màng kháng khuẩn-nano bạc.

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều là hóa chất tinh khiết dùng trong phân tích gồm: bạc nitrat ($AgNO_3$) ≥ 99,9% hãng Sigma-Aldrich, axetic axit (>99%); chitosan (độ deaxetyl >80%), glycerol, ethanol, nước cất.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

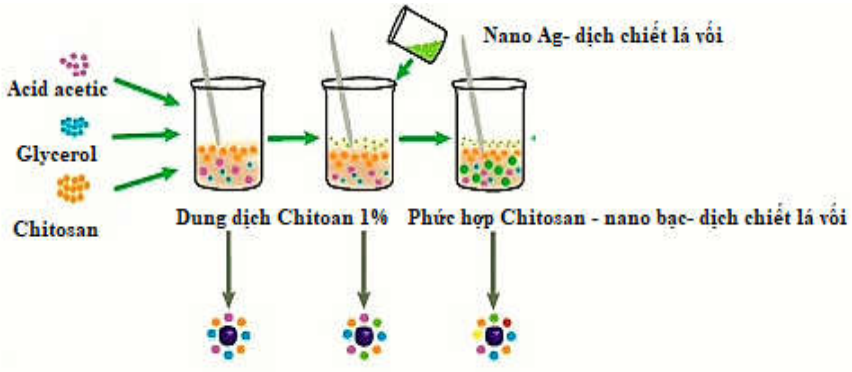
2.2.1. Quy trình điều chế màng chitosan-nano bạc

Chuẩn bị dung dịch chitosan được thực hiện theo phương pháp của Han C. và cs (2014): Pha 7 g chitosan với 500 mL axetic axit 1,5% và khuấy đều cơ học. Sau đó thêm vào 3 g glyxerin, tiếp tục khuấy để các thành phần tan đều tạo được dung dịch chitosan [8].

Thu nhận dịch chiết lá vối: Cân khoảng 5 g lá vối khô đã nghiền nhỏ (kích thước 2 mm) cho vào 50 ml dung môi ethanol 60% và chiết có hỗ trợ đánh siêu âm ở nhiệt độ 40^0C trong 90 phút. Lọc dịch chiết vào bình định mức 250 ml. Tiếp tục chiết như trên thêm 2 lần, thêm nước cất vừa đủ tới vạch. Trong điều kiện này, dịch chiết thu được có hàm lượng polyphenol tổng số là 186,375 ± 1,305 mg GAE/g.

Điều chế nano bạc từ dịch chiết etanol của lá vối và bạc nitrat theo phương pháp của Praveena và Kumar (2014) có sửa đổi: Cho 200 ml dung dịch $AgNO_3$ 10^{-4} M và 100 ml PVP 1% vào cốc thể tích 1 L, hỗn hợp được khuấy trên máy khuấy từ tốc độ 400 vòng/phút trong thời gian 30 phút. Sau đó, cho 300 ml dịch chiết lá vối chuẩn bị ở trên vào cốc, hỗn hợp được khuấy trên máy khuấy từ tốc độ

400 vòng/phút ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 30 phút thu được dung dịch nano bạc nồng độ tương ứng 6 ppm. Sử dụng các phương pháp phổ UV-Vis và kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) để xác định tính chất và hình thái, kích thước của nano bạc vừa tổng hợp [9].



Hình 1. Quy trình điều chế màng chitosan-nano bạc

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm bao màng cho mận được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên 1 yếu tố với các tỉ lệ phối trộn giữa chitosan và nano bạc (v/v) như bảng 1 với 3 lần lặp lại (mỗi công thức sử dụng 500 g).

Bảng 1. Bố trí công thức (CT) thí nghiệm

Công thức	Tỉ lệ phối trộn giữa chitosan : nano bạc
CT	1 : 1
CT2	2 : 1
CT3	3 : 1
CT4	4 : 1
CT5	100% chitosan
CTĐC	Đối chứng (không xử lý)

Mận được rửa qua dung dịch clo 100 ppm, để khô hoàn toàn, sau đó nhúng qua các dung dịch như bố trí thí nghiệm khoảng 1 phút. Mận sau khi xử lý được đóng gói trong các túi PE đục lỗ (mỗi túi 500 g, đục 9 lỗ có đường kính 3 mm) và bảo quản ở điều kiện thường (nhiệt độ 18 - 25°C và độ ẩm 80 - 82%). Thời gian bảo quản mận được tính từ lúc mang mận vào bảo quản cho đến khi xuất hiện dấu hiệu hư hỏng trên quả. Các chỉ tiêu được xác định 3 ngày 1 lần và theo dõi cho đến hết thời gian bảo quản.

2.2.3. Xác định đặc trưng hình thái, tính chất của mẫu nano bạc tạo thành

Hình thái và kích thước hạt nano Ag được xác định bằng phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (TEM) trên thiết bị JEOL JEM 1010 (Nhật Bản) tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương. Phân bố kích thước và đường kính trung bình của hạt được tính toán bằng phần mềm công cụ hình ảnh Java (ImageJ), dựa trên dữ liệu trung bình của các hạt. Phổ UV-Vis của các mẫu được ghi trên máy quang phổ Agilent 8453, Mỹ tại Trung tâm Thực hành – Thí nghiệm, Trường Đại học Vinh.

2.2.4. Phương pháp phân tích

- Xác định sự biến đổi màu sắc vỏ quả (ΔE) qua từng giai đoạn bằng máy đo màu Color Meter, Mỹ.

- Xác định độ cứng của quả bằng máy đo độ cứng cầm tay Mitutoyo, Nhật Bản.

- Tổng hàm lượng antoxian được xác định bằng phương pháp pH vi sai, sử dụng hai dung dịch đệm có pH =1 (KCl + HCl) và pH = 4,5 ($KHC_8H_4O_4$ + HCl) [10].

- Xác định đường tổng theo TCVN 4074: 2009.

- Xác định axit ascorbic theo TCVN 6427-2: 1998.

- Hao hụt khối lượng trong quá trình bảo quản:

$$\%H = \frac{(m_1 - m_h).100}{m_1}$$

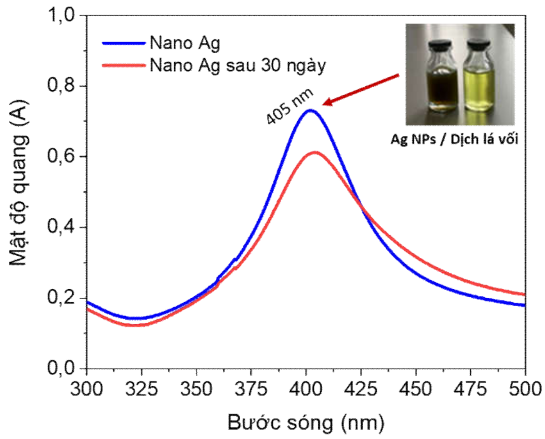
Trong đó: %H là phần trăm hao hụt khối lượng (%); m_0 là khối lượng quả ngày 0; m_h là khối lượng quả tại thời điểm h.

- Xác định tổng vi sinh vật hiếu khí: TCVN 4884 - 2005 (ISO 4833-1: 2013).

- Phương pháp xử lý thống kê: Sử dụng phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

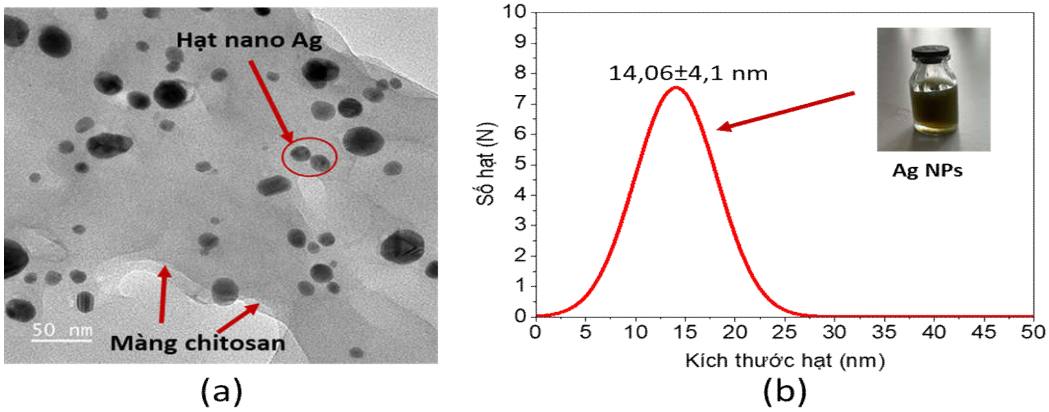
3.1. Đặc trưng hình thái, tính chất của nano bạc



Hình 2. Phổ UV-Vis của mẫu nano bạc tổng hợp từ dịch chiết lá vối

Mẫu nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết lá vối có màu xanh nâu. Kết quả phổ UV-Vis được thể hiện ở hình 2 cho thấy, vị trí đỉnh hấp thu cực đại tại bước sóng 405 nm, nằm trong vùng 400 - 430 nm đặc trưng của các hạt nano bạc [11].

Kết quả phân tích ảnh TEM và sự phân bố kích thước được thể hiện ở hình 3 cho thấy, mẫu nano bạc tổng hợp trong dịch chiết lá vối có kích thước trong khoảng từ 5-25 nm, tập trung chủ yếu ở 15 nm, kích thước trung bình là 14,06 ± 4,1 nm và được phân bố trên màng chitosan. Mẫu nano bạc được bảo quản ở nhiệt độ phòng, sau thời gian bảo quản 30 ngày mẫu được tiến hành đo UV-Vis để xác định tính chất hóa lý sau thời gian bảo quản, kết quả được thể hiện ở hình 2. Sau thời gian bảo quản mẫu nano bạc tổng hợp trong dịch chiết lá vối vẫn có màu xanh nâu, trong suốt. Kết quả phổ UV-Vis cho thấy, không có sự thay đổi đáng kể sau thời gian bảo quản ở nhiệt độ thường, có độ hấp thu cực đại tại bước sóng 410 nm, điều này cho thấy sự ổn định kích thước hạt của mẫu nano bạc tạo thành.



Hình 3. Ảnh TEM với độ phóng đại 60.000 lần của dung dịch chứa nano bạc phân bố trên nền chitosan (a) và giản đồ phân bố kích thước hạt (b)

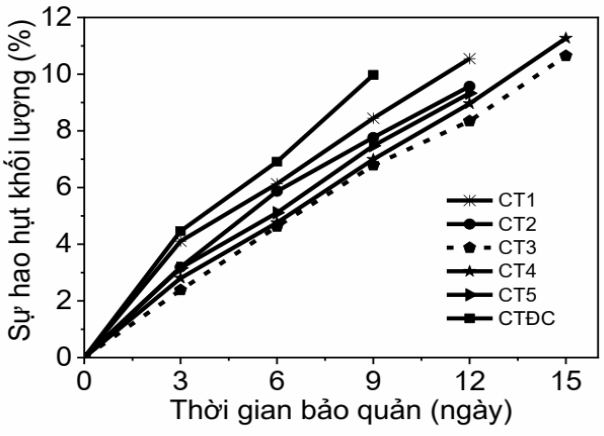
3.2. Ảnh hưởng của màng phức hợp chitosan-nano bạc đến chất lượng mận sau thu hoạch

3.2.1. Ảnh hưởng của màng phức hợp chitosan-nano bạc các chỉ tiêu cơ lý của mận theo thời gian bảo quản

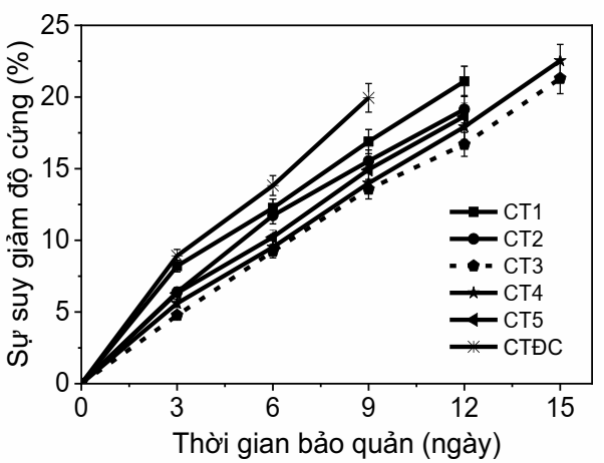
Ảnh hưởng của màng phức hợp chitosan-nano bạc các chỉ tiêu cơ lý của mận theo thời gian bảo quản được đánh giá qua sự hao hụt khối lượng, sự biến đổi độ cứng và sự biến đổi màu sắc của vỏ quả (ΔE). Kết quả được thể hiện ở hình 4, 5, 6, 7.

Sự hao hụt khối lượng tự nhiên của rau quả không thể tránh khỏi trong bất cứ điều kiện tồn trữ nào, đó là điều tất yếu do sự thoát hơi nước và sự tổn thất chất hữu cơ trong quá trình hô hấp. Khi khối lượng tự nhiên hao hụt lớn không chỉ gây tổn thất về số lượng mà còn ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan của rau quả. Sự hao hụt khối lượng tự nhiên là khác nhau ở các công thức. Kết quả ở hình 4 cho thấy, hao hụt khối lượng ở CTĐC là lớn nhất và thời gian bảo quản ngắn nhất (9 ngày),

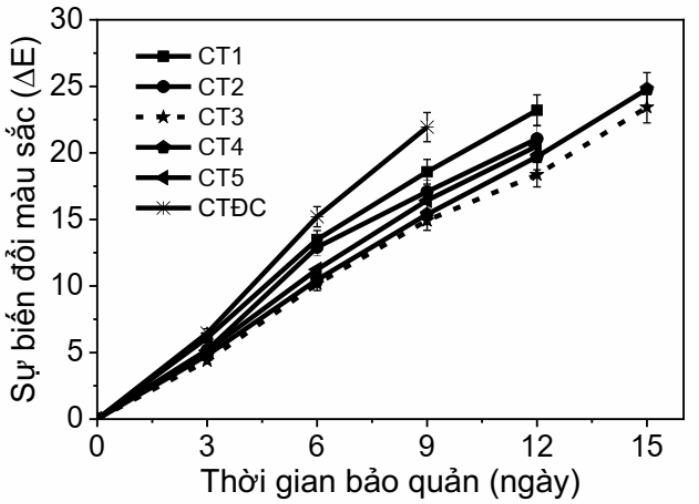
trong khi đó hao hụt khối lượng ở CT3 là nhỏ nhất (10,649%) sau 15 ngày bảo quản. Sự hao hụt khối lượng của mận ở CT5 (sau 12 ngày) lớn hơn so CT3, CT4 (sau 15 ngày bảo quản). Sau 12 ngày trở đi, mận ở CT2, CT5 đã hỏng, riêng mận ở CTĐC bị hỏng sau 9 ngày. Có thể giải thích như sau: Với đặc điểm vỏ mỏng, hàm lượng nước trong quả lớn, quả mận ở CT5 không được bao màng bị tác động trực tiếp với môi trường xung quanh có sự lưu thông không khí lớn, hàm lượng O_2 cao nên cường độ hô hấp lớn và tốc độ bay hơi nước ra môi trường bên ngoài cũng rất lớn. Chính vì vậy mà khối lượng của quả giảm đi rất nhiều. Trong khi đó, quả mận ở CT3 hao hụt khối lượng nhỏ nhất, điều này cho thấy màng phức hợp chitosan - nano bạc đã hạn chế được tốc độ thoát hơi nước và hô hấp của quả.



Hình 4. Sự hao hụt khối lượng tự nhiên của mận trong thời gian bảo quản



Hình 5. Sự suy giảm độ cứng của mận trong thời gian bảo quản



Hình 6. Sự biến đổi màu sắc (ΔE) của mận trong thời gian bảo quản



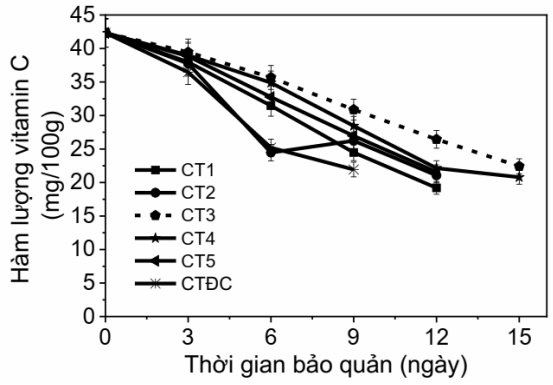
Hình 7. Sự thay đổi màu sắc của vỏ quả mận (CT3) theo thời gian bảo quản

Độ cứng của quả là yếu tố chính chi phối thời gian bảo quản của mận và khả năng chấp nhận của người tiêu dùng đối với quả. Mận bị mềm quá mức là một yếu tố hạn chế lớn đối với thời gian bảo quản. Kết quả ở hình 5 cho thấy, độ cứng đều giảm ở cả mận phủ màng và mận không phủ màng trong thời gian bảo quản. Khi kết thúc thí nghiệm, quả mận được phủ màng thể hiện độ cứng tốt hơn so với quả không được bọc (CTĐC), cho thấy tác dụng tích cực của màng chitosan và màng phức hợp chitosan - nano bạc trong việc ngăn chặn các hoạt động enzim và sự phân hủy thành tế bào trong quả. Hơn nữa, quả mận phủ màng phức hợp chitosan - nano bạc ở CT3 có tốc độ giảm độ cứng của quả chậm nhất, cho thấy hiệu quả của màng phức hợp được phối trộn giữa chitosan: nano bạc theo tỷ lệ thể tích 3 : 1.

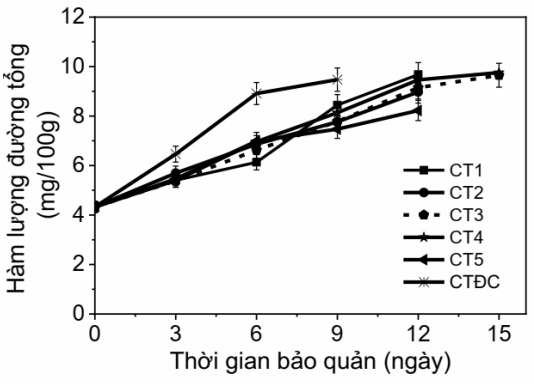
Tốc độ thay đổi màu sắc của quả biểu hiện cho sự chín, là yếu tố quan trọng đánh giá quá trình bảo quả. Kết quả ở hình 6 cho thấy, mận không phủ màng (đối chứng) có sự thay đổi nhanh chóng về màu sắc so với mận phủ màng. Việc ức chế sự thay đổi màu sắc trong các mẫu mận được phủ màng được cho là do màng chitosan và màng phức hợp chitosan - nano bạc làm giảm tốc độ hô hấp và sản sinh etylen, dẫn đến làm chậm quá trình chín của quả [12]. Hình 7 cho thấy, mận ở CT3 vẫn giữ được lớp vỏ bóng và màu sắc đẹp sau 15 ngày bảo quản. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu của Han và cs (2014), Mannozzi và cs (2018) trên đối tượng quả ổi, quả việt quất tươi [7, 13].

3.2.2. Ảnh hưởng của màng phức hợp chitosan-nano bạc đến một số thành phần hoá học của mận theo thời gian bảo quản

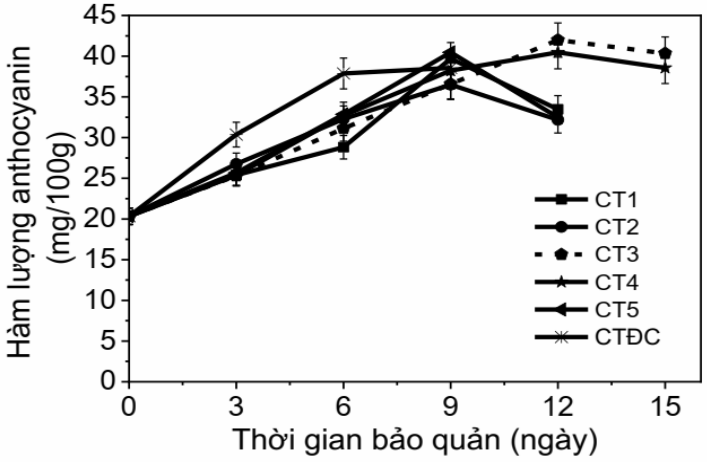
Ảnh hưởng của màng phức hợp chitosan-nano bạc đến hàm lượng vitamin C, hàm lượng đường tổng số, hàm lượng antoxian trong mận được thể hiện ở hình 6, 7 và 8.



Hình 8. Hàm lượng vitamin C của quả mận trong thời gian bảo quản



Hình 9. Hàm lượng đường tổng của quả mận trong thời gian bảo quản



Hình 10. Hàm lượng antoxian của quả mận trong thời gian bảo quản

Vitamin C là hoạt chất sinh học rất quan trọng, có lợi cho sức khỏe của con người. Vitamin C rất dễ bị oxi hóa trong môi trường có không khí và ánh sáng, do đó hàm lượng vitamin C sẽ giảm dần theo thời gian bảo quản. Kết quả ở hình 8 cho thấy, tốc độ giảm hàm lượng vitamin C ở 6 công thức là khác nhau, cụ thể: ở CTĐC giảm 48,16% sau 9 ngày bảo quản; ở CT1, CT2, CT5 giảm lần lượt là 57%, 50%, 49% sau 12 ngày bảo quản; ở CT3, CT4 giảm lần lượt là 51%, 55% sau 15 ngày bảo quản. Như vậy, hàm lượng vitamin C ở mẫu đối chứng giảm nhanh hơn so với ở các mẫu có bao màng. Hàm lượng vitamin C ở CT3 là giảm chậm nhất sau 15 ngày bảo quản. Như vậy, màng phức hợp chitosan - nano bạc có tác dụng làm giảm hao hụt vitamin C trong quá trình bảo quản do ngăn chặn sự tiếp xúc trực tiếp của quả với O_2 không khí và ánh sáng, hạn chế quá trình oxi hóa vitamin C.

Kết quả ở hình 9 cho thấy, hàm lượng đường tổng số tăng dần cả ở 6 công thức, tăng nhanh nhất ở CTĐC trong 9 ngày (tăng 2,19 lần) và chậm nhất ở CT3 trong 15 ngày (tăng 2,23 lần). Ở CT3, CT4, hàm lượng đường chậm đều sau 12 ngày, đến ngày thứ 15 tăng không đáng kể. Hàm lượng đường tăng là do trong thời gian bảo quản, các phản ứng sinh hoá vẫn diễn ra, tinh bột thủy phân thành đường và tham gia vào quá trình hô hấp. Từ đó cho thấy màng phức hợp chitosan - nano bạc có tác dụng ức chế tốc độ chín và hô hấp của quả.

Quả mận chứa một số sắc tố antoxian như xyanidin 3-rutinosit (chiếm 52,6% đến 73,0%), peonidin 3-rutinosit (từ 6,5% đến 37,9%), xcyanidin 3-glucosit (từ 1,8% đến 18,4%), xyanidin 3-xylosit (từ 4,7% đến 7,8%) và peonidin 3-glucosit (nhỏ hơn 0,4%). Quá trình chín dẫn đến tăng nồng độ tổng số antoxian và thay đổi tỷ lệ giữa các antoxian [10]. Hình 7 và 10 cho thấy, ở cả mận có phủ màng và không phủ màng, màu sắc vỏ quả thay đổi từ tím nhạt sang tím đậm, nhưng sự thay đổi này diễn ra chậm hơn đối với quả có phủ màng. Ở CTĐC, hàm lượng antoxian tăng sau 6 ngày bảo quản, đến ngày thứ 9 giảm. Ở CT1, CT2, CT5, hàm lượng antoxian tăng sau 9 ngày bảo quản, đến ngày thứ 12 giảm. Ở CT3, hàm lượng antoxian tăng chậm sau 12 ngày bảo quản, đến ngày thứ 15 bắt đầu giảm nhẹ. Sự tăng chậm hàm lượng antoxian trong các mẫu mận được phủ màng phức hợp chitosan - nano bạc cho thấy, màng có tác dụng ức chế tổng hợp sắc tố antoxian. Sự giảm hàm lượng antoxian trong những ngày cuối của quá trình bảo quản ở các công thức có thể được giải thích là do quả đã bị mất nước dẫn đến sự giải phóng các enzim gây sẫm màu PPO, POD xúc tác cho các phản ứng oxy hóa diễn ra. Xu hướng tương tự cũng đã được nghiên cứu bởi Diaz-Mula và cs (2009), quan sát thấy sự gia tăng hàm lượng antoxian ở mận phủ màng alginat thấp hơn so với mẫu mận đối chứng [14].

3.2.3. Ảnh hưởng của màng phức hợp chitosan - nano bạc đến tổng vi sinh vật hiếu khí trên quả mận theo thời gian bảo quản

Ảnh hưởng của màng phức hợp chitosan - nano bạc đến tổng vi sinh vật hiếu khí trên quả mận theo thời gian bảo quản được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Tổng vi sinh vật hiếu khí (CFU/g) của mận theo thời gian bảo quản

Thời gian bảo quản (ngày)	Tổng vi sinh vật hiếu khí trên quả mận (CFU/g)					
	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5	CTĐC
0	2×10^1	$2,5 \times 10^1$	3×10^1	$3,1 \times 10^1$	3×10^1	3×10^1
3	7×10^1	9×10^1	5×10^1	$6,4 \times 10^1$	$7,5 \times 10^1$	$2,3 \times 10^2$
6	$1,1 \times 10^2$	$2,2 \times 10^2$	$7,2 \times 10^1$	$9,5 \times 10^1$	$2,6 \times 10^2$	9×10^3
9	$2,3 \times 10^2$	6×10^2	$9,8 \times 10^1$	$1,3 \times 10^2$	6×10^2	$6,7 \times 10^5$
12	$4,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^3$	$1,3 \times 10^2$	$3,2 \times 10^2$	$3,7 \times 10^3$	
15			$2,2 \times 10^2$	$4,2 \times 10^2$		

Theo thời gian bảo quản, các vi sinh vật trên bề mặt quả mận có xu hướng tăng dần ở tất cả các công thức. Trong đó, công thức đối chứng, tổng vi sinh vật hiếu khí tăng nhanh theo thời gian bảo quản (đạt $6,7x10^5$ CFU/g sau 9 ngày bảo quản). Lúc này, mận đã có dấu hiệu hư hỏng, vì vậy sau 9 ngày bảo quản đã quyết định dừng thí nghiệm. Đối với các công thức còn lại, sự hiện diện của các chất ức chế vi sinh chitosan, nano bạc nên sự phát triển của các vi sinh vật trên bề mặt quả mận có phần bị ức chế, tốc độ tăng chậm theo thời gian bảo quản. Sự kết hợp giữa chitosan và nano bạc làm tăng hiệu quả kháng vi sinh trên bề mặt quả hơn so với công thức chỉ xử lí chitosan (CT5). Thời gian bảo quản của các công thức bao màng kéo dài hơn so với công thức đối chứng 3 - 6 ngày. Trong đó, mận ở công thức xử lí màng chitosan: nano bạc theo tỉ lệ 3 : 1, thời gian bảo quản đạt đến 15 ngày ở nhiệt độ 25±1°C. Màng chitosan kết hợp nano bạc ức chế hiệu quả sự phát triển của các vi sinh vật trên bề mặt quả mận trong suốt thời gian bảo quản, giúp hạn chế sự thối hỏng và kéo dài thời gian bảo quản.

4. KẾT LUẬN

Nano bạc đã được tổng hợp thành công bằng phương pháp hóa học xanh với việc sử dụng polyphenol được chiết suất từ dịch chiết lá vối với vai trò vừa là chất khử, vừa là chất bảo vệ. Nano bạc tổng hợp trong dịch chiết lá vối có dạng hình cầu, được phân bố đồng đều với kích thước trung bình 14,06 ± 4,1 nm và được phân bố trên màng chitosan. Kết quả thử nghiệm màng phức hợp chitosan-nano bạc sử dụng trong bảo quản mận cho hiệu quả tốt, chất lượng mận ổn định trong suốt thời gian bảo quản. Với tỷ lệ phối trộn dung dịch tạo màng chitosan 1%/nano bạc theo tỉ lệ 3 : 1 cho hiệu quả tốt nhất, kéo dài thời gian bảo quản mận ở nhiệt độ bảo quản thường (25 ± 1°C) lên đến 15 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Choi W. S., Singh S. and Lee Y. S. (2016). Characterization of edible film containing essential oils in hydroxypropyl methylcellulose and its effect on quality attributes of 'Formosa' plum (*Prunus salicina* L.). *Food Science and Technology* 70: 213-222.

2. Valero D., Serrano M. (2010). Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality. CRC-Taylor & Francis, Boca Raton, USA.

3. Valero D., Mula-diaz H. M., Zapata P. J. (2013). Effect of alginate edible coating on preserving fruit quality in four plum cultivars during postharvest storage. *Postharvest Biol. Tech.* 77, 1-6.

4. Rodríguez-León E., Iñiguez-Palomares R., Navarro R. E., Herrera-Urbina R., Tánori J., Iñiguez-Palomares C. and Maldonado A. (2013). Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts). *Nanoscale Research Letters*, 8: 318-326.

5. Rafique M., Sadaf I., Rafique M. S., Tahir M. B. (2017). A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial Cells Nanomedicine Biotechnology*. 45(7):1272-91.

6. Youssef A. M., El-Sayed S. M. (2018). Bionanocomposites materials for food packaging applications: Concepts and future outlook. *Carbohydr. Polym.*, 193, 19-27.

7. Han C., Zuo J., Wang Q., Xu L., Zhai B., Wang Z., Dong H. and Gao L. (2014). Effects of chitosan coating on postharvest quality and shelf life of sponge gourd *(Luffa cylindrica*) during storage. *Scientia Horticulturae*, 166, 1-8.

8. Sahin M., Gubbuk I. H. (2016). Green Synthesis of Antioxidant Silver and Platinum Nanoparticles Using Ginger and Turmeric (2016). Extracts and Investigation of Their Catalytic Activity. *Journal of the Turkish Chemical Society A: Chemistry*, 6(3), 403-410.

9. Praveena V. D., Kumar K. V. (2014). Green synthesis of Silver Nanoparticles from Achyranthes Aspera Plant Extract in Chitosan Matrix and Evaluation of their Antimicrobial Activities. *Indian Journal of Advances in Chemical Science*, 2 (3), 171-177.

10. Usenik, V., Štampar, F., & Veberič, R. (2009). Anthocyanins and fruit colour in plums (*Prunus domestica* L.) during ripening. *Food Chemistry*, *114*(2), 529–534.

11. Amirjani A., Koochak N. N. and Haghshenas D. F. (2019). Investigating the Shape and Size-Dependent Optical Properties of Silver Nanostructures Using UV-vis Spectroscopy. *J. Chem. Educ.*, 96(11), 2584-2589.

12. Kumar, P., Sethi, S. (2022). Impact of chitosan on quality and storability of plums (*Prunus salicina*) under supermarket conditions. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, *91*(12).

13. Mannozzi C., Tylewicza U., Chinnicia F., Sirolia L., Rocculia P., Rosaa M. D. and Romania S. (2018). Effects of chitosan based coatings enriched with procyanidin by-product on quality of fresh blueberries during storage. *Food Chemistry*, 251: 18-24.

14. Díaz-Mula H. M., Zapata P. J., Guillén F., Martínez-Romero D., Castillo S., Serrano M. et al. (2009). Changes in hydrophilic and lipophilic antioxidant activity and related bioactive compounds during postharvest storage of yellow and purple plum cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, 51, 354-363.

RESEARCH ON EFFECTS OF CHITOSAN- SILVER NANOCOMPOSITE FILM SYNTHESIZED BY GREEN CHEMICAL METHODS ON PLUM (*Prunus salicina*) QUALITY POSTHARVEST

Le The Tam[1,*], Tran Phuong Chi[1,*], Dao Thi Thanh Xuan[1]

[1] *Institute of Chemistry, Biology and Environmental Technology, Vinh University*

[*] *Email: tamlt@vinhuni.edu.vn; phuongchi53@gmail.com*

Summary

In this research the chitosan-silver nanocomposite film was synthesized by green chemistry method, containing safe antibacterial agent to increase the storage time of plum (*Prunus salicina*). The ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* leaves was used to reduce silver ions in acidic solutions of $AgNO_3$ and chitosan. The formation of silver nanoparticles with small size of 10 - 20 nm distributed on chitosan films was determined by transmission electron microscopy (TEM) and UV-Vis spectroscopy. Preparation of film forming suspension from 1% chitosan solution and silver nanoparticle solution in ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* leaves with different volume ratios by magnetic stirrer combined with heating. After cleaning, plums were dipped in film-forming suspensions for 30 seconds. The results show that the quality of coated plums is stable and the shelf life is higher than that of the control sample (without the film forming treatment). The chitosan-silver nanocomposite film forming system was mixed in a volume ratio of 3 : 1 for the best results, plums were stored for 12 days at room temperature. This approach can easily be used in large-scale production of chitosan biofilms containing silver nanoparticles.

Keywords: *Chitosan-silver nanocomposite film, Cleistocalyx operculatus, Prunus salicina, storage, antimicrobial.*

Người phản biện: PGS.TS. Hồ Phú Hà

Ngày nhận bài: 20/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 17/4/2023
Ngày duyệt đăng: 24/4/2023

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN BẢO QUẢN ĐẾN MỘT SỐ TÍNH CHẤT CỦA TINH BỘT KHOAI LANG

Lương Hồng Nga[1, *], Dương Hồng Quân[1, 2], Vũ Thu Trang[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu sự biến đổi tính chất tinh bột khoai lang theo nhiệt độ và thời gian bảo quản giúp định hướng ứng dụng tinh bột khoai lang tại các thời điểm bảo quản khác nhau sao cho phù hợp với mục đích sản xuất các sản phẩm thực phẩm từ khoai lang. Nguyên liệu nghiên cứu gồm khoai lang vàng và khoai lang tím được trồng ở huyện Việt Yên, tỉnh Bắc Giang. Khoai sau khi thu hoạch được bảo quản ở 3 chế độ: Nhiệt độ thường (20 - 25^{0}C, độ ẩm 83 - 86%), 10^{0}C và 4^{0}C. Kết quả cho thấy, khả năng trương nở, hòa tan của tinh bột, độ trong của hồ tinh bột, độ cứng của gel tinh bột tăng dần theo thời gian bảo quản. Hàm lượng tinh bột, hiệu suất thu hồi tinh bột, hàm lượng amyloza, khả năng thoái hóa, độ đàn hồi của gel tinh bột càng giảm theo thời gian bảo quản. Bên cạnh đó nhiệt độ bảo quản càng thấp, độ đàn hồi càng cao, độ cứng, độ trong, độ hòa tan và độ trương nở tăng chậm, khả năng thoái hóa, hút dầu và hút nước của tinh bột giảm chậm. Bảo quản củ ở 4^{0}C giúp sự biến đổi tính chất của tinh bột khoai lang diễn ra chậm nhất. Việc thu hồi tinh bột khoai lang tại các thời điểm sau thu hoạch khác nhau ảnh hưởng đến ứng dụng sau này.

Từ khóa: *Bảo quản khoai lang, nhiệt độ, thời gian bảo quản, tinh bột khoai lang, tính chất tinh bột.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khoai lang là loại cây lương thực giàu dinh dưỡng, được trồng phổ biến ở rất nhiều nơi trên thế giới. Tại Việt Nam, khoai lang là thực phẩm quen thuộc trong bữa ăn hằng ngày bởi vị ngọt dịu, giàu tinh bột, chất xơ hỗ trợ tiêu hóa. Các sản phẩm từ khoai lang ngày càng trở nên phổ biến như khoai lang sấy, snack, bột khoai lang, bánh truyền thống từ khoai lang… Giống như nông sản khác, sau khi thu hoạch củ khoai lang vẫn hô hấp, tiếp tục quá trình tổng hợp và phân hủy các chất [1], [2]. Củ khoai thường được bảo quản trong vài ngày đến hàng tháng trước khi được tiêu thụ hay chế biến tiếp theo. Trong quá trình bảo quản sau thu hoạch, enzym trong củ hoạt động, tạo ra tính chất chức năng cho khoai. Đặc biệt, α và β amylaza, sucroza synthetaza và invertaza trong củ chịu ảnh hưởng bởi quá trình bảo quản củ, lượng đường saccharoza, glucoza và fructoza tăng.

Tinh bột là thành phần quan trọng trong củ khoai lang với hàm lượng dao động trong khoảng 15 - 25% khối lượng củ [2]. Tinh bột khoai lang không những được sử dụng như nguyên liệu chế biến mà còn được dùng như phụ gia thực phẩm làm dày, ổn định, tăng độ cứng giúp cải thiện khả năng giữ nước, duy trì chất lượng thực phẩm. Tinh bột thường được tách ra khỏi củ khi khoai đã bảo quản sau thu hoạch được 1 thời gian nhất định, vì vậy ảnh hưởng của quá trình bảo quản đến tính chất tinh bột cần được quan tâm. Trong quá trình bảo quản, hàm lượng tinh bột khoai lang giảm [1], [3], [4], amyloza giảm [4], [5], độ nhớt giảm do sự thủy phân của tinh bột, củ trở nên mềm hơn, mất chất khô và ảnh hưởng đến chất lượng nấu, nướng. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản đến tính chất tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím, gồm có: Hàm lượng tinh bột, độ hút dầu, khả năng trương nở hòa tan, mức độ thoái hóa, độ trong của hồ tinh bột và độ cứng của gel tinh bột.

[1] Viện Công nghệ Sinh học - Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
[2] Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh
* Email: nga.luonghong@hust.edu.vn

Từ đó giúp định hướng ứng dụng tinh bột khoai lang phù hợp với mục đích sản xuất.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, phương pháp bảo quản và lấy mẫu khoai lang

Khoai lang vàng và khoai lang tím, trồng ở huyện Việt Yên, tỉnh Bắc Giang. Khoai sau thu hoạch được bảo quản ở 3 chế độ: Nhiệt độ thường (20 - 25^{0}C, độ ẩm 83 - 86%), 10^{0}C và 4^{0}C. Ở nhiệt độ thường, cứ cách 4 ngày tách tinh bột khoai 1 lần sau đó đem xác định các tính chất của tinh bột. Ở 10^{0}C và 4^{0}C, cách 8 ngày tách tinh bột 1 lần và sau đó cũng đem xác định các tính chất của tinh bột.

2.2. Tách và thu hồi tinh bột

Theo phương pháp của Talele và cs (2015) [6] khoai nguyên liệu được cân để xác định khối lượng, sau đó rửa sạch, để ráo, cân để xác định tạp chất. Sau khi để ráo khoai được gọt vỏ, thái lát và ngâm trong dung dịch $NaHSO_3$ 0,1% trong 2 giờ và rửa sạch với nước. Khoai lát được đem nghiền thô và nghiền tinh bằng máy nghiền tạo thành dịch sữa khoai lang. Pha loãng dịch với nước và rây tinh bột qua 3 lần rây: Rây thô, rây No200 và rây No400. Dịch tinh bột sau rây được để lắng 6 giờ, sau đó đổ dịch phía trên, rửa lớp bề mặt, hòa loãng rồi lại để lắng. Tinh bột sau khi rửa 3 lần thì đem sấy ở 35^{0}C trong 10 - 12 giờ để đạt độ ẩm bảo quản dưới 12%, đem xác định khối lượng, đóng bao bì và bảo quản nơi khô ráo thoáng mát, tránh sự xâm nhập của côn trùng và động vật gây hại.

2.3. Xác định độ hút dầu

Độ hút dầu của tinh bột được xác định dựa trên phương pháp của theo Yadav và cs (2016) [4]. Cân chính xác 1 g tinh bột vào ống ly tâm rồi bổ sung 10 ml dầu. Xoáy nước và đợi 30 phút phản ứng xảy. Ly tâm ở tốc độ 5.000 vòng/phút trong 20 phút. Khả năng hấp thụ nước hay dầu được xác định bằng phần trăm dầu bị hấp thụ trên 1 g tinh bột.

2.4. Xác định độ trương nở, hòa tan

Xác định khả năng trưởng nở, hòa tan của tinh bột theo Wangsagonsup và cs (2014) [7]. Cân chính xác 0,2 g tinh bột theo khối lượng khô vào ống Falcon chứa 10 ml nước cất. Lắc đều bằng máy lắc và đun cách thuỷ ở nhiệt độ 95^{0}C trong vòng 1 giờ và làm lạnh nhanh tới nhiệt độ phòng. Sau đó ly tâm ở 5.000 vòng trong 15 phút. Cân phần gel tạo thành dưới đáy ống Falcon, phần nước còn lại đổ vào cốc đã sấy khô, sấy ở 105^{0}C trong 24 giờ (tới khối lượng không đổi). Độ trương nở và hoà tan được xác định theo công thức:

$$\text{Độ hoà tan} = \frac{m_{cặn\ sau\ sấy}}{m_{mẫu}}.\ 100\%$$

$$\text{Độ trương nở} = \frac{m_{gel}}{m_{mẫu}.(100\% - \%\ hoà\ tan)}.\ 100\%$$

2.5. Xác định mức độ thoái hóa tinh bột

Dựa trên phương pháp của Lee và Yoo (2011) [8], cân tinh bột 5% (khối lượng/thể tích nước), gia nhiệt 95^{0}C trong 30 phút kết hợp khuấy đều cho tới khi hồ hóa hoàn toàn, làm nguội dịch tinh bột. Cân 10 g gel tinh bột vào ống Fancol (mỗi mẫu làm 3 ống) và đưa vào làm lạnh ở 4 - 5^{0}C trong 24 giờ và đưa về nhiệt độ phòng trong vòng 4 giờ. Sau đó tiến hành ly tâm ở 3.000 vòng/phút trong 15 phút. Cân phần chất lỏng tách ra trong ống, mức độ thoái hóa chính là phần trăm nước tách ra so với tổng khối lượng mẫu trong ống.

2.6. Xác định độ trong của hồ tinh bột

Độ trong của dịch hồ tinh bột được xác định theo phương pháp của Wangsagonsup và cs (2014) [7]: Cân chính xác 0,2 g tinh bột cho vào cốc thuỷ tinh trong suốt dung tích ml chứa 20 ml nước cất (tinh bột 1%). Đun cách thuỷ trong nồi nước sôi đồng thời lắc đều trong 30 phút. Sau đó hạ xuống nhiệt độ phòng trong 5 phút, 15 phút, 30 phút và 60 phút. Độ trong của dịch hồ tinh bột được đánh giá bằng tỷ lệ ánh sáng truyền qua ở bước sóng 650 nm đo bằng máy đo quang tại phòng thí nghiệm.

2.7. Xác định cấu trúc gel tinh bột

Cấu trúc gel tinh bột khoai lang được xác định bằng máy phân tích cấu trúc Texture Analyzer TA XT-plus (Stable Micro Systems, UK) theo phương pháp của Raina và cs (2006) [9] với đầu đo P/25. Tốc độ trước đo 5,0 mm/s, tốc độ đo 2 mm/s, tốc độ nhấc đầu đo 10 mm/s, khoảng cách 30 mm.

2.8. Xác định tỷ lệ giảm hàm lượng tinh bột

Là phần trăm lượng giảm hàm lượng tinh bột trong củ so với ngày đầu.

2.9. Phương pháp xử lí số liệu

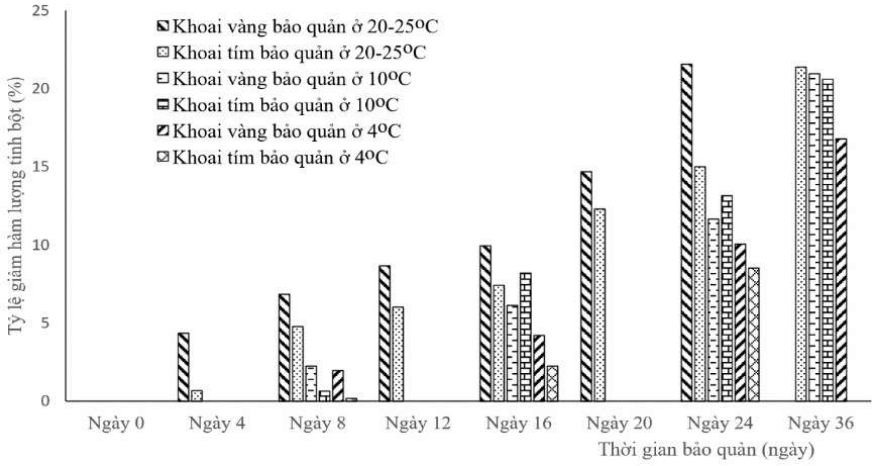
Sử dụng Microsoft Excel và phần mềm xử lí thống kê số liệu SPSS.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản củ đến hàm lượng tinh bột trong khoai lang

Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản củ đến sự giảm hàm lượng tinh bột trong củ khoai lang được thể hiện ở hình 1.

Hình 1 cho thấy, khi bảo quản ở nhiệt độ thường, hàm lượng tinh bột trong củ khoai lang vàng giảm 21,55% sau 24 ngày bảo quản, còn trong củ khoai lang tím giảm 21,36% sau 36 ngày bảo quản. Nhiệt độ bảo quản càng thấp thì mức độ giảm hàm lượng tinh bột càng chậm và mức độ giảm hàm lượng tinh bột tăng dần theo thời gian bảo quản được thể hiện trong hình 1. Khi bảo quản ở 10^0C, sau 36 ngày bảo quản hàm lượng tinh bột trong củ khoai lang vàng giảm 20,94%, bên cạnh đó, trong củ khoai lang tím giảm 20,60%. Ở 4^0C, sau 36 ngày bảo quản, hàm lượng tinh bột trong củ khoai lang vàng giảm 16,77%, trong củ khoai lang tím giảm 16,01%. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tốc độ giảm hàm lượng tinh bột của giống khoai lang vàng lớn hơn giống khoai lang tím. Điều này có thể giải thích là do khả năng nảy mầm của giống khoai lang vàng nhanh hơn giống khoai lang tím. Khi mọc mầm, sự trao đổi chất diễn ra trong củ mạnh. Trong những ngày đầu trước khi mọc mầm, sự chuyển hóa diễn ra mạnh mẽ tăng cường cho việc hình thành mầm. Trong quá trình bảo quản, sự hô hấp của củ khoai mạnh mẽ do việc hô hấp làm tăng độ ẩm không khí xung quanh củ khoai. Bên cạnh đó việc xuất hiện các lá con ở các thân mầm đòi hỏi cung cấp một lượng đường lớn để nuôi chúng. Do đó ở những ngày cuối hàm lượng tinh bột giảm mạnh. Ruột củ khoai tạo thành các lỗ xốp. Lúc này nếu sấy khoai lang sau khi luộc hoặc hấp, sản phẩm tạo thành có những vệt trắng [4].



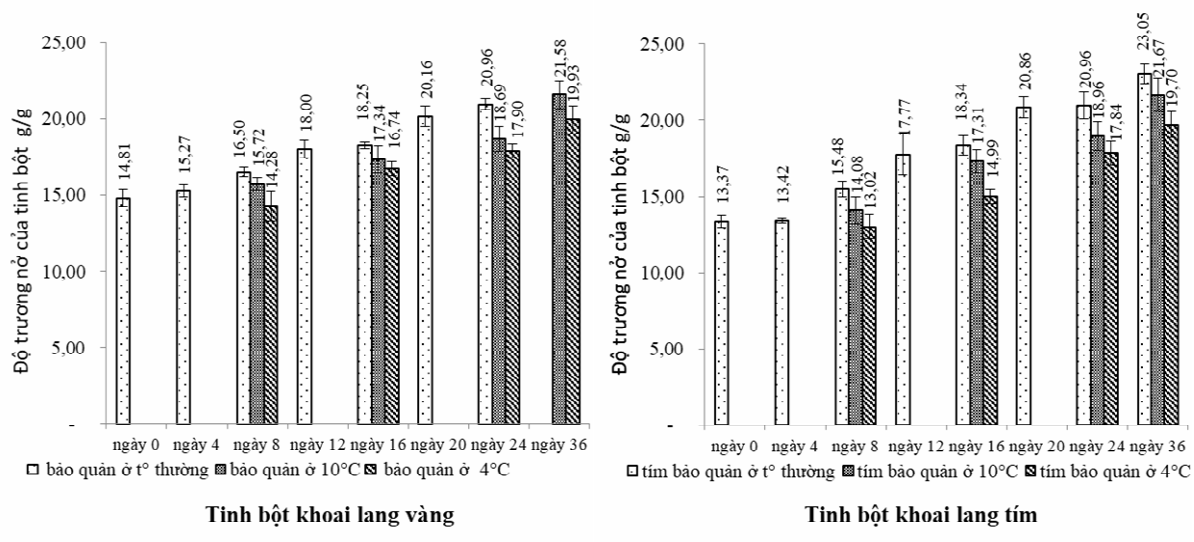
Hình 1. Tỷ lệ giảm hàm lượng tinh bột (% so với hàm lượng ngày đầu) trong quá trình bảo quản

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản củ đến đến khả năng trương nở của tinh bột khoai lang

Ảnh hưởng của quá trình bảo quản đến độ trương nở của tinh bột khoai lang tím và khoai lang vàng được thể hiện ở hình 2.

Hình 2 cho thấy, nhiệt độ và thời gian bảo quản có ảnh hưởng đến khả năng trương nở của tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím. Nhiệt độ bảo quản càng thấp thì tốc độ tăng độ trương nở của tinh bột càng chậm. Ở nhiệt độ thường, từ ngày đầu đến ngày thứ 24 sau thu hoạch, khả năng trương nở của tinh bột khoai lang vàng tăng dần từ 14,81 - 20,96 g/g; ở 10^0C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau thu hoạch, khả năng trương nở của tinh bột khoai lang vàng cũng tăng dần từ 15,72 - 21,58 g/g; ở 4^0C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau thu hoạch đạt 14,28 - 19,93 g/g. Kết quả tương tự đối với tinh bột khoai lang tím. Độ trương nở của tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím của Việt nam tương tự với 3 giống khoai ruột vàng, trắng và tím Việt Nam của Phan Thanh Bảo Trung (2017) [10] và các giống khoai lang Trung Quốc với độ

trương nở nằm trong khoảng 15 - 29 g/g theo nghiên cứu của Zhenghong Chen (2003) [11]. Hoạt động của α và β amylaza, sucroza synthetaza và invertazae diễn ra trong quá trình bảo quản củ khoai lang [10], [12], chính vì vậy dẫn đến sự thay đổi trong cấu trúc của hạt tinh bột. Sự thủy phân một phần hạt có khả năng liên quan đến hiện tượng trương nở này. Nhiệt độ càng thấp, sự hoạt động của các enzym càng hạn chế, do đó ít tác động đến cấu trúc tinh bột.

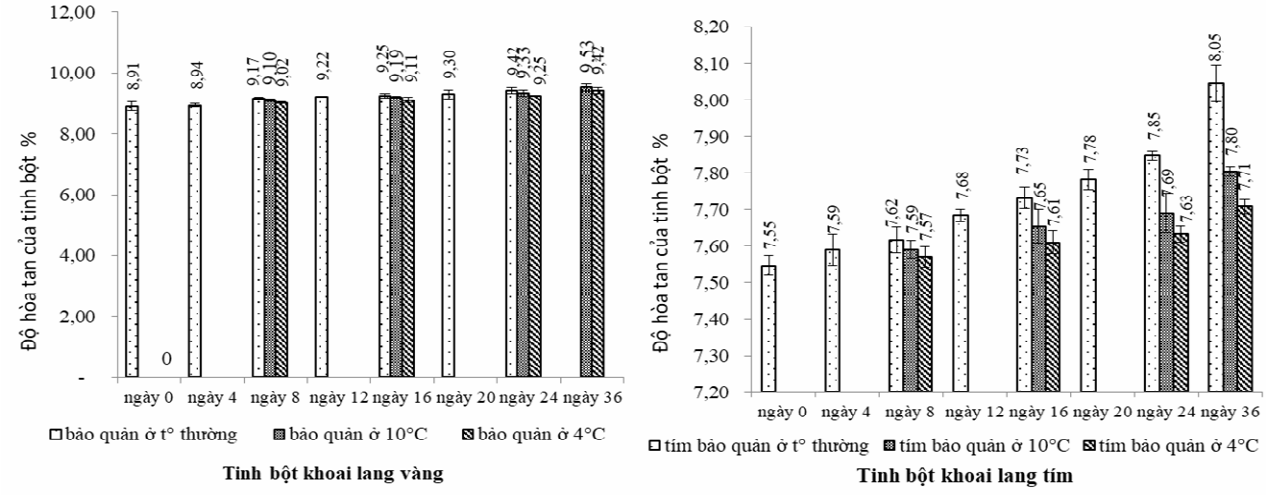


Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản đến khả năng trương nở của tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím

Hình 2 cho thấy, thời gian bảo quản càng lâu thì độ trương nở của tinh bột càng tăng. Sự tăng khả năng trương nở của tinh bột có thể giải thích trong quá trình bảo quản, hoạt lực amylaza tăng [12], tinh bột trong củ bị thủy phân một phần bởi enzym amylaza trong củ [12]. Dưới tác dụng của enzym amylaza trên hạt tinh bột xuất hiện các lỗ nhỏ do một phần hạt bị thủy phân, thời gian càng dài quá trình dẫn đến sự bào mòn bề mặt tinh bột [13]. Điều này làm các phân tử nước dễ dàng xâm nhập vào hạt tinh bột, đặc biệt là khi gia nhiệt.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản củ đến đến khả năng hòa tan của tinh bột khoai lang

Ảnh hưởng của quá trình bảo quản đến khả năng hòa tan của tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím được thể hiên ở hình 3.

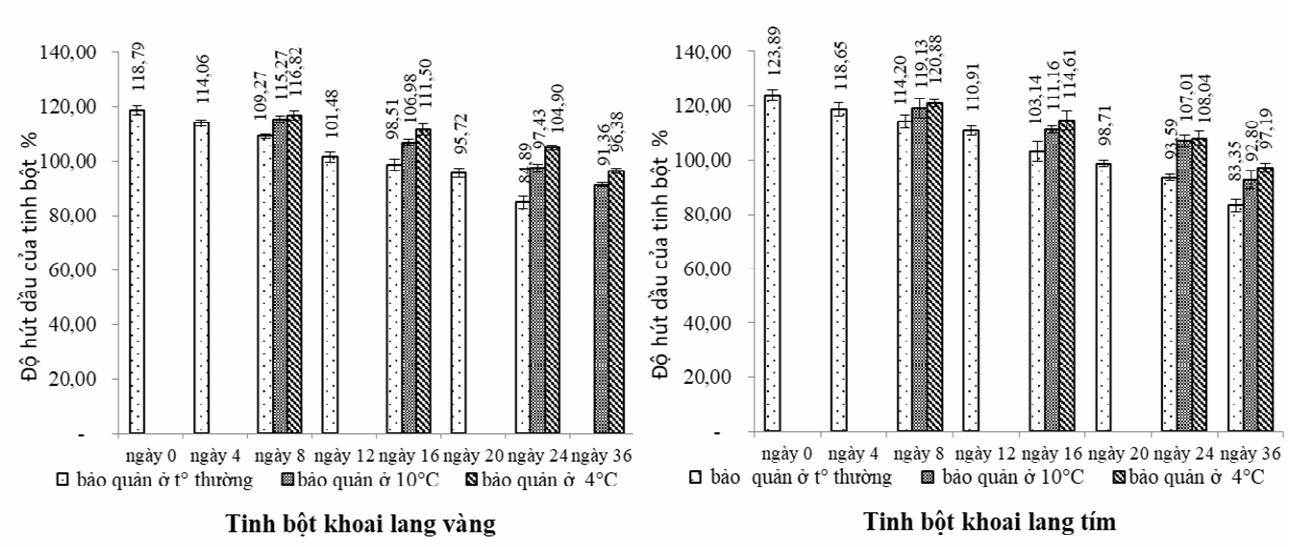


Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản đến khả năng hòa tan của tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím

Hình 3 cho thấy, nhiệt độ và thời gian bảo quản có ảnh hưởng tới khả năng hòa tan của tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím. Trong quá trình bảo quản độ hòa tan của tinh bột khoai lang tăng dần: Tinh bột khoai lang vàng 8,91 - 9,42%, tinh bột khoai lang tím 7,55 - 8,05%. Nhiệt độ bảo quản càng thấp thì tốc độ tăng độ hòa tan của tinh bột càng chậm. Cụ thể, đối với tinh bột khoai lang vàng: Ở nhiệt độ thường, từ ngày thứ 0 đến ngày thứ 24 sau thu hoạch, độ hòa tan của tinh bột tăng dần từ 8,91 - 9,42%; ở 10^0C, từ ngày thứ 0 đến ngày thứ 36 sau thu hoạch, độ hòa tan cũng tăng dần từ 9,10 - 9,53%; ở 4^0C, từ ngày thứ 0 đến ngày thứ 36 sau thu hoạch, độ hòa tan cũng tăng dần từ 9,02 - 9,42%. Kết quả tương tự đối với tinh bột khoai lang tím.

Kết quả độ hòa tan trên tương đồng với kết quả nghiên cứu của Kusumayanti và cs (2015) [14] (Độ hòa tan của bột khoai lang trắng, khoai lang vàng, khoai lang tím lần lượt là 9,37%, 9,56%, 8,61%. Sự tăng độ hòa tan của tinh bột trong quá trình bảo quản củ khoai lang có thể được giải thích do sự tác động của enzym amylaza trong củ khoai trong quá trình bảo quản, tinh bột bị thủy phân thành các phần có khối lượng phân tử thấp hơn từ đó làm tăng khả năng hòa tan của tinh bột. Tinh bột khoai lang tự nhiên tại thời điểm thu hoạch củ có 92,45% là các phân tử có khối lượng phân tử 1,0 - 1,5 x 10^7 g/mol [5], tinh bột các giống khoai lang Việt Nam có mức độ trùng hợp là 876 - 931 [15]. Theo Lu và cs (2019), sau thời gian bảo quản đến 20 ngày, hàm lượng những phân tử này giảm, tăng hàm lượng các phân tử có khối lượng lớn hơn 1,0 - 1,5 x 10^7 g/mol. Thời gian càng dài, khối lượng trung bình của phân tử tinh bột càng tăng, tuy nhiên sau 15 ngày, hàm lượng các phân tử có khối lượng phân tử cao giảm nhanh chóng [5]. Tính chất hòa tan này cũng ảnh hưởng đến quá trình chế biến, tinh bột có khả năng hòa tan tốt sẽ có độ đồng đều tốt hơn.

3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản củ đến khả năng hút dầu của tinh bột khoai lang



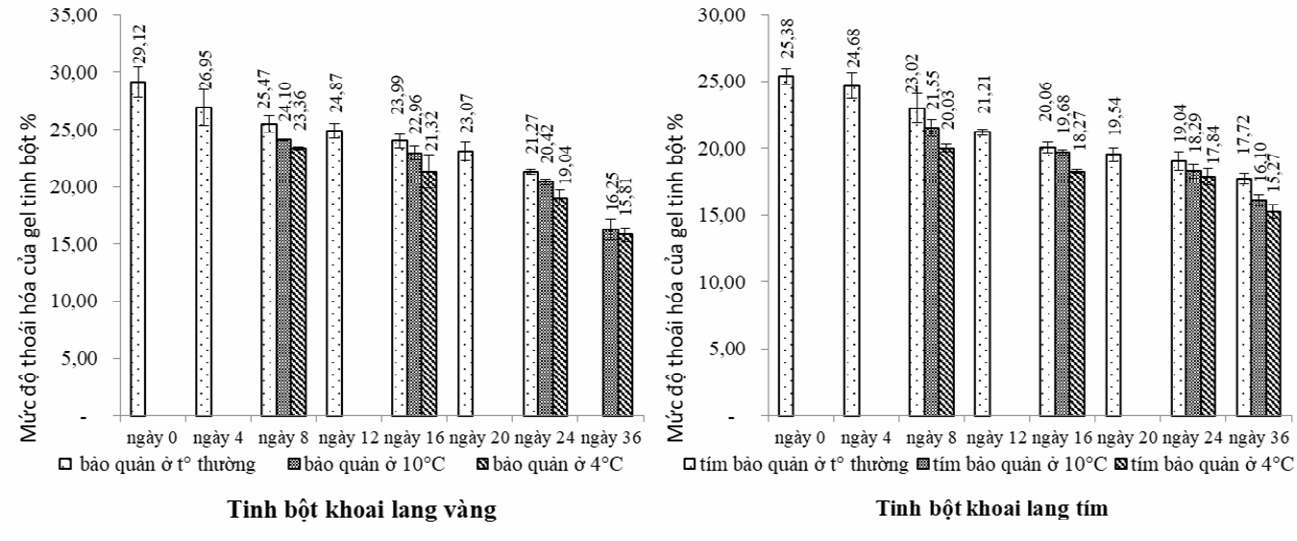
Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản đến độ hút dầu của tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím

Hình 4 cho thấy, nhiệt độ và thời gian bảo quản có ảnh hưởng tới độ hút dầu của tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím. Trong quá trình bảo quản độ hút dầu của tinh bột khoai lang giảm dần: Tinh bột khoai lang vàng 118,79 - 84,89%, tinh bột khoai lang tím 123,89 - 83,35%. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ bảo quản càng thấp thì tốc độ giảm độ hút dầu của tinh bột khoai lang càng ít theo thời gian bảo quản. Cụ thể đối với tinh bột khoai lang vàng: Ở nhiệt độ thường, từ ngày đầu đến ngày thứ 24 sau khi thu hoạch, độ hút dầu của tinh bột khoai giảm dần từ 118,79 - 84,89%; ở 10^0C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau khi thu hoạch, độ hút dầu của tinh bột khoai lang giảm dần từ 115,27 - 91,36%; ở 4^0C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau thu hoạch, độ hút dầu của tinh bột khoai

lang cũng giảm dần từ 116,82 - 96,38%. Kết quả tương tự đối với giống khoai lang tím. Trong quá trình bảo quản củ khoai lang, độ nhớt tinh bột giảm, tương tác giữa các phân tử tinh bột lỏng lẻo hơn [16].

3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản củ đến mức độ thoái hóa của tinh bột khoai lang

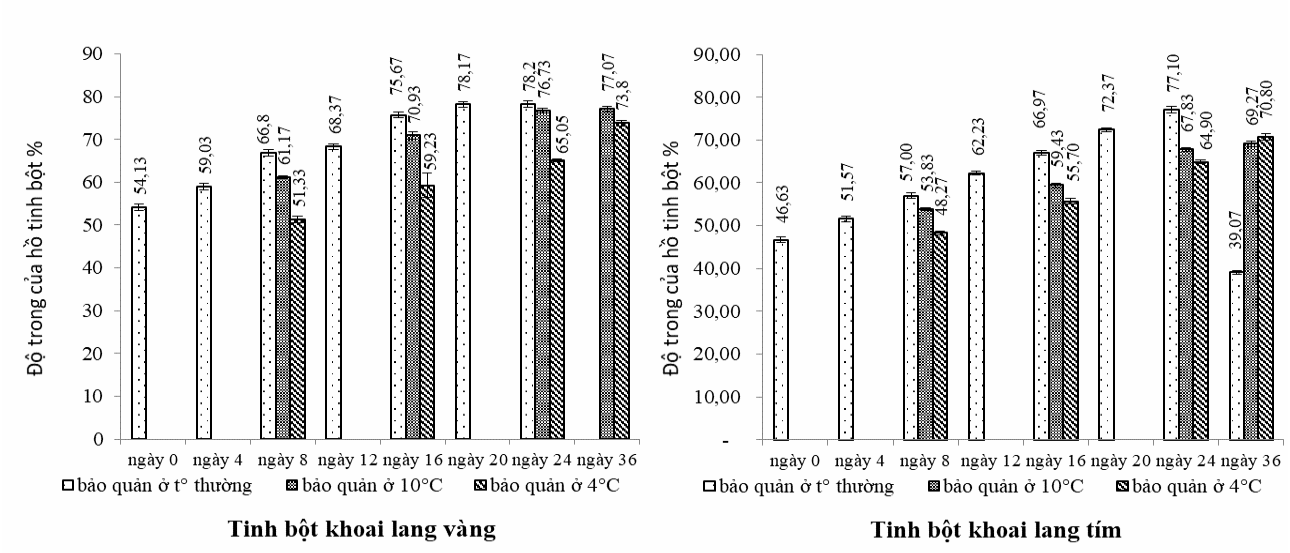
Mức độ thoái hóa gel tinh bột là mức độ tách nước của gel tinh bột sau một thời gian bảo quản ở nhiệt độ lạnh đông. Hình 5 cho thấy, trong quá trình bảo quản khả năng thoái hóa của gel tinh bột khoai lang giảm dần: Tinh bột khoai lang vàng 29,12 - 21,27%, tinh bột khoai lang tím 25,38 - 17,72%. Nhiệt độ bảo quản càng thấp thì khả năng thoái hóa gel càng thấp. Cụ thể đối với tinh bột khoai lang vàng: Ở nhiệt độ thường, từ ngày thứ 0 đến ngày thứ 24 sau thu hoạch, mức độ thoái hóa của gel tinh bột giảm dần từ 29,12 - 21,27%; ở 10^0C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau thu hoạch, mức độ thoái hóa của gel tinh bột cũng giảm dần từ 24,10 - 16,25%; ở 4^0C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau thu hoạch, mức độ thoái hóa của gel tinh bột cũng giảm dần từ 23,36 – 15,81%. Kết quả tương tự đối với khoai lang tím. Trong quá trình hình thành và thoái hóa gel tinh bột, xảy ra hiện tượng tái sắp xếp lại cấu trúc [5], [16]. Khối lượng phân tử giảm và chiều dài của mạch phân tử kèm sự có mặt của polyphenol, cấu trúc sắp xếp trật tự và độ bền của gel tinh bột có thể bị thay đổi, từ đó ảnh hưởng đến khả năng tiêu hóa của tinh bột khoai lang. Tỷ lệ thoái hóa phụ thuộc vào giống tinh bột, nồng độ tinh bột, nhiệt độ, pH và muối [15]. Tỷ lệ thoái hóa cũng tăng lên khi tăng nồng độ tinh bột vì ít trương nở và sự mất phương hướng cấu trúc xảy ra khi nồng độ tinh bột tăng lên [17]. Sự thoái hóa gel tinh bột tăng lên mạnh mẽ bởi mức nhiệt độ thấp vào khoảng 0 - 5^0C.



Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản đến mức độ thoái hóa của tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím

3.6. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản củ đến độ trong của hồ tinh bột khoai lang

Tinh bột sau khi hồ hóa thường có độ trong suốt nhất định. Chính độ trong suốt này có ý nghĩa quan trọng đối với nhiều loại thực phẩm có chứa tinh bột, đặc biệt là làm tăng giá trị cảm quan của các sản phẩm này. Hình 6 cho thấy, theo thời gian bảo quản, độ trong của hồ tinh bột tăng dần: tinh bột khoai lang vàng 54,13 - 78,2%, tinh bột khoai lang tím 46,63 - 79,07%. Nhiệt độ bảo quản càng thấp độ trong của hồ tinh bột càng thấp. Cụ thể đối với tinh bột khoai lang vàng: Ở nhiệt độ thường, từ ngày đầu đến ngày thứ 24 sau thu hoạch, độ trong của hồ tinh bột tăng dần từ 54,13 - 78,2%; ở 10^0C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau thu hoạch, độ trong của hồ tinh bột cũng tăng dần từ 61,17 - 77,07%; ở 4^0C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau thu hoạch, độ trong của hồ tinh bột cũng tăng dần từ 51,33 - 73,08%. Kết quả tương tự đối với tinh bột khoai lang tím.

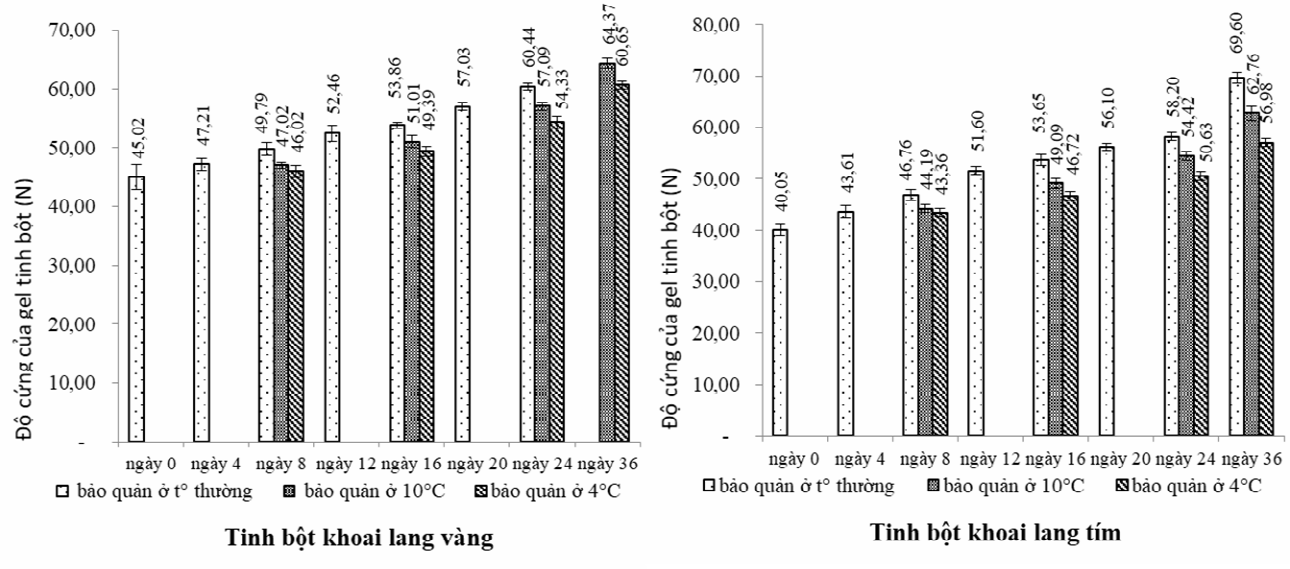


Hình 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản đến độ trong của hồ tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím

Độ trong tăng trong quá trình bảo quản cũng có thể giải thích do bảo quản càng dài hàm lượng đường trong khoai lang tăng 8% lên hơn 10% sau 2 tuần bảo quản ở 19 -21^{0}C, độ ẩm 90 - 95% hạt tinh bột có cấu trúc rỗng xốp có khả năng hấp thụ các chất hòa tan và tăng theo thời gian bảo quản củ, làm tăng độ trong của dịch hồ.

3.7. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản củ đến độ cứng của gel tinh bột

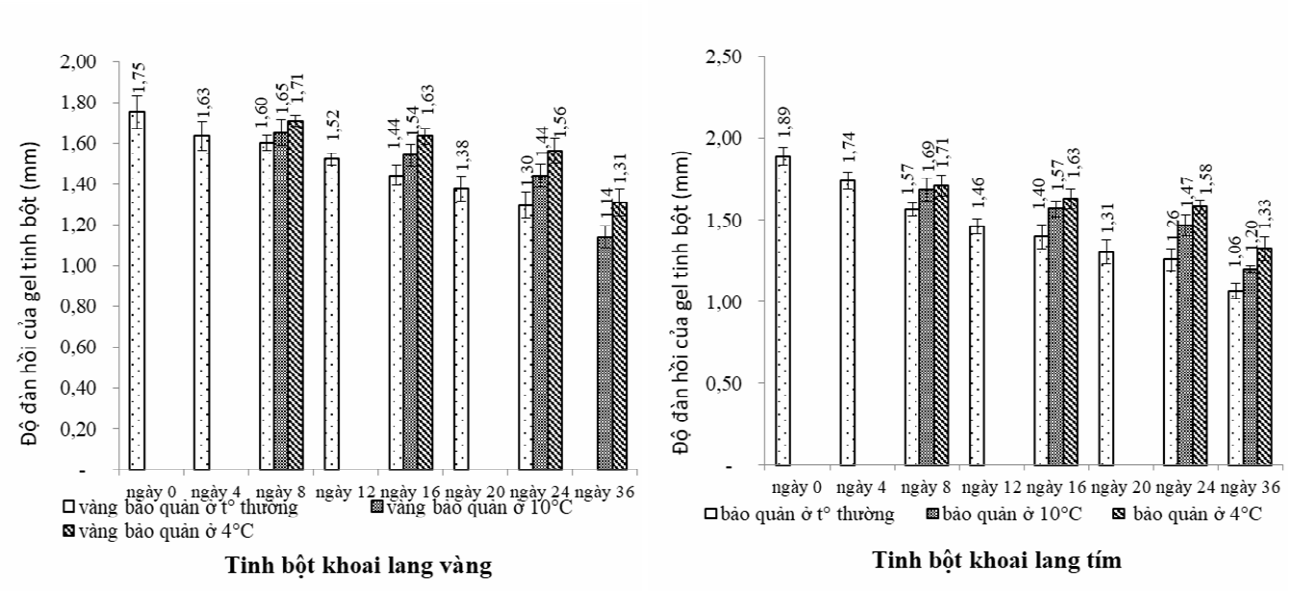
Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản được thể hiện trong hình 7. Trong quá trình bảo quản độ cứng của gel tinh bột tăng dần: Tinh bột khoai lang vàng 45,02 - 60,44 g, tinh bột khoai lang tím 40,05 - 69,60 g. Nhiệt độ bảo quản càng thấp thì độ cứng của gel tinh bột càng nhỏ. Cụ thể đối với tinh bột khoai lang vàng: Ở nhiệt độ thường, từ ngày đầu đến ngày thứ 24 sau khi thu hoạch, độ cứng của gel tinh bột tăng dần từ 45,02 - 60,44 g; ở 10^{0}C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau khi thu hoạch, độ cứng của gel tinh bột tăng dần từ 47,02 - 64,37 g; ở 4^{0}C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau khi thu hoạch, độ cứng của gel tinh bột cũng tăng dần từ 46,02 - 60,65 g. Kết quả tương tự đối với tinh bột khoai lang tím.



Hình 7. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản đến độ cứng của gel tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím

Điều này có thể giải thích bởi tính chất tạo gel của các phân tử amyloza, do sự hình thành các liên kết hydro theo cấu trúc mạng không gian 3 chiều, sự hình thành các phân tử cao, lượng liên kết hydrat trong dịch hồ tinh bột càng lớn, lúc này, gel tinh bột được củng cố vững chắc hơn, độ cứng gel cao hơn.

3.8. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản củ đến độ đàn hồi của gel tinh bột khoai lang



Hình 8. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản đến độ đàn hồi của gel tinh bột khoai lang vàng và khoai lang tím

Hình 8 cho thấy, tinh bột khoai lang vàng 1,75 - 1,30 mm, tinh bột khoai lang tím 1,89 - 1,06 mm. Nhiệt độ bảo quản càng thấp thì độ đàn hồi của gel tinh bột càng cao. Cụ thể đối với tinh bột khoai lang vàng: Ở nhiệt độ thường, từ ngày đầu đến ngày thứ 24 sau khi thu hoạch, độ đàn hồi của gel tinh bột giảm dần từ 1,75 - 1,30 mm; ở 10^0C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau khi thu hoạch, độ đàn hồi của gel tinh bột giảm dần từ 1,65 - 1,14 mm; ở 4^0C, từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 36 sau khi thu hoạch, độ đàn hồi của gel tinh bột cũng giảm dần từ 1,71 - 1,31 mm. Kết quả tương tự đối với tinh bột khoai lang tím. Độ đàn hồi của gel tinh bột tỉ lệ nghịch với độ cứng. Khi độ cứng bề mặt tăng lên thì khả năng trở lại trạng thái ban đầu của gel giảm xuống, khả năng giữ vững cấu trúc mong muốn giảm.

Theo Guaraya và cs (1998) [1] trong hạt tinh bột còn có 1 lượng polyphenol. Polyphenol có khả năng hạn chế enzym như amylaza, alpha-glucosidaza trong củ khoai lang [1], [5]. Bên cạnh đó polyphenol tương tác với các phân tử tinh bột qua các liên kết cộng hóa trị, liên kết ion và hydrogen. Khi bảo quản khoai lang ở $12,5^0$C, trong vòng 10 ngày đầu, hàm lượng polyphenol tăng, kéo dài thời gian bảo quản, hàm lượng polyphenol giảm.

4. KẾT LUẬN

Điều kiện bảo quản củ khoai lang có ảnh hưởng đến tính chất của tinh bột khoai. Khả năng trương nở, hòa tan của tinh bột, độ trong của hồ tinh bột, độ cứng của gel tinh bột tăng dần theo thời gian bảo quản. Hàm lượng tinh bột, hiệu suất thu hồi tinh bột, khả năng thoái hóa, độ đàn hồi của gel tinh bột càng giảm theo thời gian bảo quản. Từ đó có thể định hướng cách thức bảo quản cho các ứng dụng. Bên cạnh đó nhiệt độ bảo quản càng thấp, độ đàn hồi càng cao, độ cứng, độ trong, độ hòa tan và độ trương nở tăng chậm, khả năng thoái hóa, hút dầu và hút nước của tinh bột giảm chậm. Bảo quản củ ở 4^0C giúp sự biến đổi tính chất của tinh bột khoai lang diễn ra chậm nhất.

LỜI CẢM ƠN

Công trình được tiến hành nhờ sự hỗ trợ bởi đề tài cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo B2021-BKA-21.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Guraya H. S., R. T. Toledo, and S. J. Kays (1998). Effect of cultivar and root storage on pasting characteristics of sweet potato starches. Tropical Science, pp. 57 - 61 – vol. 38, no. 1.

2. Mai Lề, Bùi Đức Hợi, Lương Hồng Nga (2009). *Công nghệ bảo quản lương thực*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật.

3. Hoàng Thị Chấp, Phạm Thị Hậu, Nguyễn Bình Nhự (2009). *Giáo trình Thu hoạch, bảo quản và sơ chế khoai lang*. MĐ06. Bộ Nông nghiệp và PTNT, tr. 1 – 56.

4. Yadav R. B., Kumar N., and B. S. Yadav (2016). Characterization of banana, potato, and rice starch blends for their physicochemical and pasting properties. Cogent Food Agric, vol. 2, no. 1, Jan. 2016, doi: 10.1080/23311932.2015.1127873.

5. Lu P., Li X., Janaswamy S., Chi C., Chen L., Wu Y., Yi Liang (2019). Insights on the structure and digestibility of sweet potato starch. *Effect of postharvest storage of sweet potato roots International Journal of Biological Macromolecules*. Vol. 145, pp 694 - 700.

6. Talele P. B., Sharma K. S., Dalvi P. B., Nandan S. S. (2015). Isolation of starch from Ginger rhizome (*Zingiber officinale*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 3 (6) 157-162.

7. Wongsagonsup R. (2014). Effect of cross-linking on physicochemical properties of tapioca starch and its application in soup product. Carbohydr Polym, vol. 101, pp. 656-665, doi: 10.1016/j.carbpol.2013.09.100.

8. Lee H. L. and Yoo B. (2011). Effect of hydroxypropylation on physical and rheological properties of sweet potato starch. LWT - Food Science and Technology, vol. 44, no. 3, pp. 765-770, doi: 10.1016/J.LWT.2010.09.012.

9. Raina C. S., Sigh S., Bawa A. S., Saxena D. C. (2006). Some characteristics of acetylated, cross-linked and dual modified Indian rice starches. European Food Research Technology, vol 223, pp 561 - 570.

10. Phan Thanh Bao Trung, Luu Bui Bao Ngoc, Phan Ngoc Hoa, Nguyen Ngoc Thanh Tien, Pham Van Hung (2017). Impact of Heat - moisture and Annealing Treatments on Physicochemical Properties and digestibility of Starches from Different Colored Sweet Potato Varieties. *International Journal of Biological Macromolecules*. pp 1071 - 1078. Vol 105.

11. Chen Z. (2003). Physicochemical properties of sweet potato starches and their application in noodle products. Wageningen University and Research ProQuest Dissertations Publishing.

12. Lương Hồng Nga (1996). Nghiên cứu sự ảnh hưởng của biến thiên hoạt độ amilaza đến hàm lượng đường trong củ khoai lang khi bảo quản và chế biến. Luận án thạc sỹ ngành Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách Khoa Hà Nội.

13. Rocha T. de S., Carneiro A. P. de A., and Franco C. M. L. (2010). Effect of enzymatic hydrolysis on some physicochemical properties of root and tuber granular starches. Ciência e Tecnologia de Alimentos, vol. 30, no. 2, pp. 544 – 551, doi: 10.1590/s0101-20612010000200039.

14. Kusumayanti H., Handayani N. A., Santosa H. (2015). Swelling power and water solubility of cassava and sweet potatoes flour. Procedia Environmental Sciences, 23, 164 - 167.

15. Dương Hồng Quân (2022). Nghiên cứu quá trình thủy phân tinh bột khoai lang bằng phương pháp enzyme tạo tinh bột tiêu hóa chậm và Isomaltooligosaccharide nhằm ứng dụng trong thực phẩm. Luận án Tiến sỹ ngành Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách Khoa Hà Nội.

16. Li Y. Z., Zhao J. Y., S. M. Wu, X. W. Fan, X. L. Luo, and B. S. Chen (2015). Characters related to higher starch accumulation in cassava storage roots. Sci. Rep., vol. 6, no. September 2015, pp. 1-17, 2016, doi: 10.1038/srep19823.

17. Collison, R., and Elton, G. A. (1961). Some factors which influence the rheological properties of starch gels. Staerke No. 5, pp. 164-173.

EFFECTS OF ROOT'S STORAGE TEMPERATURE AND TIME ON SWEET POTATO STARCH PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES

Luong Hong Nga, Duong Hong Quan, Vu Thu Trang

Summary

This study was to study the change of sweet potato starch properties with temperature and storage time to help direct the application of sweet potato starch at different storage times so that it is suitable for production purposes. Research materials include yellow sweet potato and purple sweet potato grown in Viet Yen district, Bac Giang province. After harvesting, potatoes are stored in 3 methodes: Normal temperature (20 - 25^{0}C, humidity 83 - 86%), 10^{0}C and 4^{0}C. The results showed that the swelling power and solubility of starch, the clarity of starch paste, and the hardness of starch gel gradually increased with the storage time. Starch content, starch yield, degradation ability, and elasticity of starch gels decreased with storage time. Besides, the lower the storage temperature, the higher elasticity, the slower increase in hardness, clarity, solubility and swelling power, and the slower decrease in starch syneresis, oil and water absorption ability. Storing tubers at 40^{0}C led to the slower change in properties of sweet potato starch. The sweet potato starch at different postharvest times affects further application.

Keywords: *Storage of sweet potato roots, storage temperature, storage time, sweet potato starch, starch properties.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Thanh Thủy

Ngày nhận bài: 27/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 24/3/2023
Ngày duyệt đăng: 31/3/2023

CHẾ TẠO VIÊN CHỈ THỊ SỰ THAY ĐỔI NHIỆT ĐỘ DÙNG CHO BAO BÌ BẢO QUẢN LẠNH ĐÔNG THỰC PHẨM

Tạ Lê Quốc An[1,*], Lê Thị Ngọc Mai[1], Đặng Quốc Anh[1]

TÓM TẮT

Nhu cầu bảo quản thực phẩm lâu dài giúp thúc đẩy nghiên cứu các phương pháp ổn định và theo dõi chất lượng sản phẩm trong suốt thời gian bảo quản. Nhiệt độ là yếu tố quan trọng quyết định đến hiệu quả bảo quản thực phẩm lạnh đông. Sự gia tăng nhiệt độ bảo quản làm tăng tốc độ các phản ứng gây hư hỏng thực phẩm và thúc đẩy các vi sinh vật phát triển. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tạo ra chỉ thị đối với sự thay đổi nhiệt độ và dùng cho bao bì bảo quản lạnh đông thực phẩm. Từ kết quả nghiên cứu, chỉ thị nhiệt độ được chế tạo bằng cách hòa tan natri clorua (NaCl) 3,4% (w/v) với natri alginat (SA) 0,7% (w/v) trong nước nóng 60°C, sau đó quá trình tạo viên (Spherification) được thực hiện bằng cách nhỏ hỗn hợp này vào dung dịch canxi clorua ($CaCl_2$) 3% và ngâm giữ trong 1 phút; viên chỉ thị được phủ parafin làm tăng độ cứng và độ dày phù hợp để bảo quản trước khi sử dụng. Viên chỉ thị được đánh giá tỷ lệ nứt vỏ, nhiệt độ tan giá, sự mất khối lượng, khả năng khuếch tán, hiệu quả hoạt động. Kết quả cho thấy, viên chỉ thị tan giá và khuếch tán dịch muối lên bề mặt giấy lọc nhiệt độ bảo quản cao hơn - 2°C với độ sai lệch không quá 0,5°C.

Từ khóa: *Bao bì thông minh, chỉ thị nhiệt độ, bảo quản lạnh đông thực phẩm, thay đổi nhiệt độ.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nhiều năm qua, ngành công nghiệp thực phẩm ngày càng phát triển trong đó nhu cầu về lưu trữ và bảo quản thực phẩm ngày càng tăng đã tạo ra nhu cầu phát triển các phương pháp có thể dễ dàng theo dõi sự biến đổi chất lượng thực phẩm tươi. Chính vì thế, xu hướng hiện nay là phát triển các loại bao bì thông minh có thể giúp người dùng kiểm soát được chất lượng thực phẩm trong quá trình bảo quản.

Nhiệt độ và thời gian rất quan trọng để kiểm soát chất lượng thực phẩm đông lạnh trong quá trình bảo quản và vận chuyển. Trong quá trình bảo quản và vận chuyển sản phẩm đến tay người tiêu dùng sẽ có nguy cơ về nhiệt độ sản phẩm bị thay đổi do nhiều nguyên nhân và sự cố không mong muốn như: Hệ thống cấp đông bị hỏng, sự cố mất điện, xe vận chuyển sản phẩm không kín gây thoát hơi, cách sắp xếp hàng hóa không đúng trong xe vận chuyển hoặc trong kho bảo quản làm khí lạnh không đảm bảo, xe vận chuyển bị hư hỏng… Sự thay đổi nhiệt độ trong quá trình bảo quản sẽ gây ảnh hưởng đến chất lượng cũng như các vấn đề về an toàn thực phẩm. Thịt đông lạnh bị giảm chất lượng trong quá trình bảo quản nguyên nhân chính do quá trình phân hủy lipid và protein [1]. Sự dao động hoặc tăng nhiệt do chu trình đông lạnh - rã đông kích thích quá trình oxy hóa lipid và hoặc tăng tốc sự đổi màu bề mặt của thịt [2], [3], [4]. Việc đóng băng hay rã đông đều không làm giảm số lượng vi sinh vật có trong thịt. Tuy nhiên, trong quá trình đông lạnh, sự hư hỏng do vi sinh vật được hạn chế hiệu quả khi các vi sinh vật không hoạt động. Trong quá trình rã đông, chúng hoạt động trở lại [5]. Vì rã đông là một quá trình chậm hơn nhiều so với đông lạnh và kém đồng đều hơn, một số vùng nhất định của thịt sẽ tiếp xúc với điều kiện nhiệt độ thuận lợi hơn cho sự phát triển của vi sinh vật. Lượng nước thoát ra trong quá trình rã đông rất giàu protein, vitamin và khoáng chất do sự phá vỡ cấu trúc tế bào gây ra bằng quá trình đóng băng, do đó cung cấp một môi trường cho sự phát triển của vi sinh vật. Tốc độ suy giảm chất lượng thực phẩm tăng theo logarit khi tăng nhiệt độ bảo quản và như vậy phản ứng là không thể đảo ngược [6].

[1] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn
[*] Email: an.talequoc@stu.edu.vn

Một số chủng vi sinh vật có khả năng phát triển ở nhiệt độ dưới 0^0C như: *Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes, Aeromonas hydrophila.* Trong đó: *Yersinia enterocolitica* là 1 chủng vi sinh vật có mặt ở khắp nơi có thể tồn tại và phát triển ở nhiệt độ lạnh (- 2^0C) gây ra các triệu chứng bệnh đường ruột [7], [8].

Để xác định rõ ràng sự thay đổi nhiệt độ của sản phẩm, cần một tín hiệu có thể nhận biết được sự thay đổi trong lúc bảo quản lạnh đông của các sản phẩm. Bao bì "thông minh" là một trong những nghiên cứu được xem xét như một nguồn dẫn thông tin đến người tiêu dùng để xác định tính an toàn của sản phẩm thực phẩm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Những nguyên liệu chính sử dụng trong nghiên cứu này bao gồm: Natri clorua (Độ tinh khiết: ≥ 99,5%; Xilong Scientific Co., Ltd), natri aginat (Độ tinh khiết: ≥ 99,9%; Xilong Scientific Co., Ltd), canxi clorua (Độ tinh khiết: ≥ 96,0%; Xilong Scientific Co., Ltd), parafin (Nhiệt độ nóng chảy: 56 - 58^{0}C, hàm lượng dầu: < 2,0%; East Town Petroleum & Chemicals Company).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Dựa theo TCVN 7085 - 2011: Sữa - xác định điểm đóng băng - phương pháp đo nhiệt độ đông lạnh bằng điện trở nhiệt (phương pháp chuẩn) xây dựng được phương trình hồi quy tuyến tính y= -57,881x-8,6291 (với R2 = 1). Từ phương trình hồi quy tuyến tính xác định được nồng độ dung dịch muối ở điểm đóng băng tại - 2^0C là 3,44% (w/v).

Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả tạo viên được khảo sát bao gồm nồng độ SA (0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7% (w/v)), nồng độ dung dịch $CaCl_2$ (1%, 2%, 3% (w/v)) và thời gian ngâm viên chỉ thị (1 phút, 2 phút, 3 phút) được tiến hành theo các bước sau:

Muối NaCl 3,4% (w/v) được phối trộn với SA theo các nồng độ thí nghiệm được cho vào nước nóng 60^0C để hòa tan và màu xanh dương thực phẩm được thêm vào với nồng độ 0,05% (w/v) để nhận biết sự thay đổi màu của dịch muối, hỗn hợp khuấy đồng hóa (1.500 vòng/phút) tạo thành dung dịch đồng nhất (dung dịch chỉ thị nhiệt). Bơm mỗi lần 1 ml dung dịch chỉ thị nhiệt vào bể chứa $CaCl_2$ ở các nồng độ thí nghiệm và ngâm trong các khoảng thời gian khảo sát, sau khi định hình viên chỉ thị được vớt ra để ráo. Tiến hành nhúng viên chỉ thị vào parafin lỏng ở nhiệt độ 65^0C trong thời gian 1 giây và làm nguội nhanh bằng nước ở nhiệt độ 20^0C để parafin đông đặc tạo thành màng bọc kín hạt chỉ thị. Viên chỉ thị được lạnh đông ở nhiệt độ - 18^0C trong thời gian 4 giờ. Viên chỉ thị được xác định tỉ lệ hao hụt về khối lượng sau khi lạnh đông, sau khi tan giá, hiệu quả hoạt động và xác định vận tốc khuếch tán trên giấy lọc

2.2.2. Phương pháp xác định các chỉ tiêu

2.2.2.1. Xác định khối lượng mất đi sau quá trình lạnh đông và tan giá của viên chỉ thị

Các viên chỉ thị ở mỗi thí nghiệm khảo sát sẽ được lấy mẫu (20 viên) một cách ngẫu nhiên để xác định khối lượng mất đi sau khi lạnh động và tan giá.

Khối lượng mất đi sau lạnh đông được xác định bởi công thức:

$$m_{\text{lạnh đông}} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100$$

Khối lượng mất đi sau tan giá được xác định bởi công thức:

$$m_{\text{tan giá}} = \frac{m_2 - m_3}{m_2} \times 100$$

Trong đó: $m_{\text{lạnh đông}}$, $m_{\text{tan giá}}$ là khối lượng mất đi sau lạnh đông, tan giá của viên chỉ thị (%); m_1 là khối lượng viên trước khi lạnh đông (g); m_2 là khối lượng viên sau 4 giờ lạnh đông (g); m_3 là khối lượng viên sau 2 giờ tan giá (g).

2.2.2.2. Xác định hiệu quả hoạt động của viên chỉ thị nhiệt độ bảo quản

Dung dịch muối 8,6% (w/v) được làm lạnh và ổn định ở nhiệt độ - 2^0C. Viên chỉ thị được cho vào dung dịch muối trong 30 phút. Tiến hành so màu của dung dịch muối trước và sau khi cho viên chỉ thị vào bằng máy so màu Konica Minolta CR-410. Thí nghiệm được lặp lại tương tự ở nhiệt độ dung dịch -1,5^{0}C. Sự thay đổi màu của dung dịch muối sau khi ngâm viên chỉ thị được tính bằng công thức theo hệ màu CIE - Lab với các giá trị L (độ

sáng tối), a (độ đỏ/xanh lá cây), b (độ vàng/xanh dương) và độ chênh lệch màu ΔE.

Công thức tính ΔE:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

2.2.2.3. Xác định vận tốc khuếch tán đối với các loại giấy lọc khác nhau

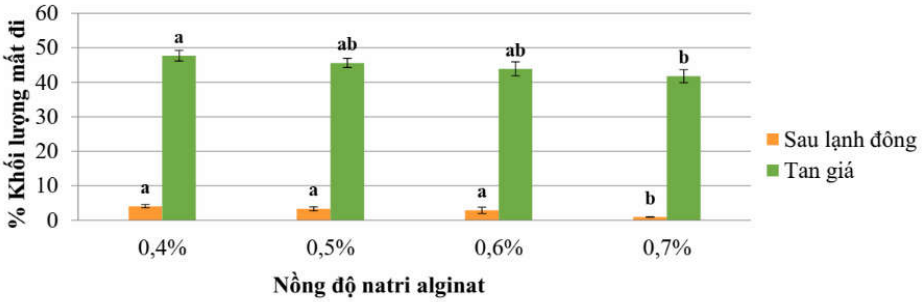
Sau quá trình lạnh đông, các viên chỉ thị sẽ được tiến hành tan giá ở nhiệt độ từ 0 - 4^{0}C trong thùng xốp kín có chèn đá gel lạnh để nhiệt độ môi trường không tăng quá nhanh nhằm mô phỏng môi trường mất nhiệt của tủ đông. Sau mỗi 15 phút xác định vận tốc dòng chảy trên các mẫu giấy lọc (10 cm x 3 mm) có kích thước lỗ mao quản khác nhau (20 ~ 25 µm, 15 ~ 20 µm, 10 ~ 15 µm). Vận tốc khuếch tán giúp xác định được thời gian quá nhiệt của viên chỉ thị. Thời gian quá nhiệt được xác định bằng công thức: T = V/S. Trong đó: V là vận tốc thấm của dịch muối (cm/phút), S là chiều dài khuếch tán (cm), T là thời gian khuếch tán (phút).

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Sử dụng phần mềm JMP ver 10.0 để phân tích thống kê số liệu thí nghiệm và đánh giá sự khác biệt giữa các mẫu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nồng độ natri alginat (SA) thích hợp để tạo ra viên chỉ thị nhiệt độ bảo quản



Hình 1. Biểu đồ ảnh hưởng của nồng độ natri alginat đến khối lượng mất đi sau lạnh đông và tan giá của viên chỉ thị

Hình 1 cho thấy, sự giảm khối lượng của hạt chỉ thị sau lạnh đông và tan giá đều tỷ lệ nghịch với nồng độ SA sử dụng, các số liệu có ý nghĩa về mặt thống kê với hệ số p < 0,05. Sau khi lạnh đông, tỉ lệ mất khối lượng của viên chỉ thị ở các nồng độ SA 0,4%, 0,5%, 0,6% có sự chênh lệch không đáng kể. Ở nồng độ 0,7% thì tỉ lệ mất khối lượng của viên chỉ thị nhỏ nhất là 0,96% ± 0,07% và tỉ lệ mất khối lượng nhiều nhất là 4,09% ± 0,47% ở nồng độ SA 0,4%.

Khi tan giá, khối lượng viên chỉ thị mất đi sau tan giá nhiều nhất ở nồng độ 0,4% là 47,72% ± 1,55% và ở các nồng độ SA 0,5%, 0,6%, 0,7% tỉ lệ mất khối lượng trung bình của viên chỉ thị tương đương nhau là 43,77% ± 1,75%.

Do vậy, đã chọn nồng độ 0,7% cho các thí nghiệm tiếp theo vì nồng độ này có khối lượng mất đi sau lạnh đông thấp nhất và khối lượng mất đi sau tan giá không có sự khác biệt đáng kể so với các nồng độ còn lại. Vì khi tăng nồng độ lên thì độ nhớt dịch chỉ thị tăng do nồng độ chất tan tăng. Theo nghiên cứu của Hucheng Zhang và cs (2001) [9], tại một nồng độ polyme nhất định, nồng độ muối càng tăng thì độ nhớt càng giảm. Độ nhớt giảm có liên quan đến độ dài bền tĩnh điện.

Nghiên cứu của Macosko (1994) [10], khi tăng nồng độ muối thì ion tăng dẫn đến chuỗi polyme thay đổi thành một cấu trúc nhỏ gọn hơn so với cấu trúc ban đầu và hình thành mạng lưới yếu. Bản chất của SA mang điện tích âm, khi tăng nồng độ NaCl thì ion Na^+ trung hòa điện tích của SA làm mất điện tích thì các sợi polyme không còn liên kết với nhau dẫn đến cấu trúc của mạng lưới polyme trở nên đơn giản hơn do các phân tử SA bị dãn ra và làm giảm độ nhớt.

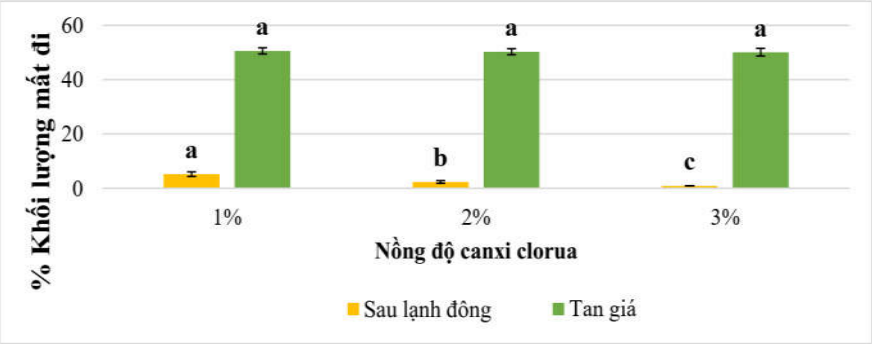
3.2. Nồng độ $CaCl_2$ tạo viên chỉ thị có tổn thất khối lượng ít nhất

Sau lạnh đông, khi tăng nồng độ $CaCl_2$ từ 1 - 3% thì khối lượng mất đi giảm dần. Khối lượng viên chỉ thị mất đi nhiều nhất ở nồng độ 1% là 5,2% ±

0,84% và ít nhất ở nồng độ 3% là 0,9% ± 0,03% (hệ số p<0,05). Khi tan giá, ở cả 3 nồng độ $CaCl_2$ không có sự khác biệt về mặt thống kê về khối lượng mất đi của viên chỉ thị (p>0,05).

Khi nồng độ canxi clorua càng cao thì khối lượng mất đi sau tan giá càng giảm do mạng lưới SA tạo các liên kết ngang nhanh hơn. Nồng độ ion Ca^{2+} cao tạo ra nhiều ion Ca^{2+} tự do hơn để khuếch tán và liên kết với phân tử guluronic trong chuỗi alginat. Kết quả là, các vị trí liên kết tăng lên, dẫn đến tăng độ dày màng của viên làm tăng khả năng tạo gel của dung dịch muối và giảm lượng dịch thoát ra khi tan giá [11], [12].

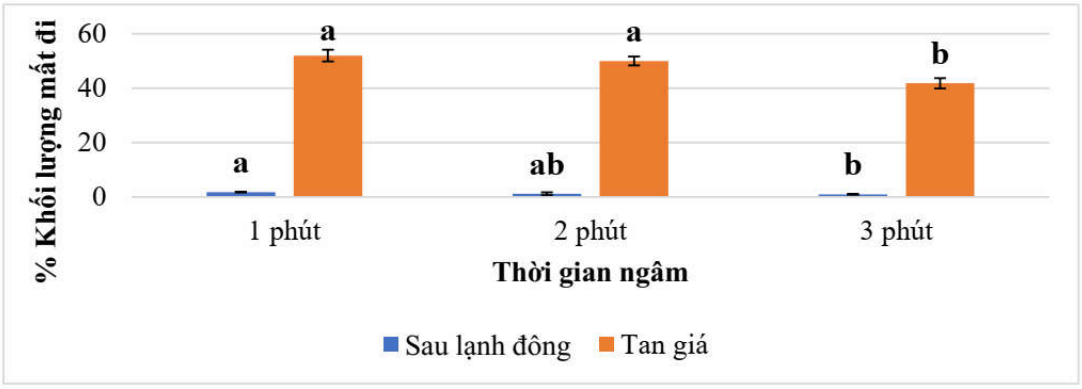
Do vậy, nồng độ $CaCl_2$ 3% được sử dụng để tiến hành xác định thời gian ngâm vì nồng độ này có khối lượng mất đi sau lạnh đông thấp nhất và khối lượng mất đi sau tan giá không có sự khác biệt đáng kể so với các nồng độ còn lại.



Hình 2. Biểu đồ ảnh hưởng của nồng độ canxi clorua đến khối lượng mất đi sau lạnh đông và tan giá của viên chỉ thị

3.3. Xác định thời gian ngâm thích hợp

Hình 3 cho thấy, khi tăng thời gian ngâm thì khối lượng mất đi sau lạnh đông và tan giá càng giảm (p < 0,05). Sau lạnh đông, khối lượng viên chỉ thị bị mất nhiều nhất ở 1 phút là 1,77% ± 0,04% và mất ít nhất ở 3 phút là 0,96% ± 0,07%. Khi tan giá, khối lượng viên chỉ thị tan giá nhiều nhất ở thời gian ngâm 1 phút là 51,98% ± 2,16% và ít nhất ở 3 phút là 41,78% ± 1,89%.



Hình 3. Biểu đồ ảnh hưởng của thời gian ngâm đến khối lượng mất đi sau lạnh đông và tan giá của viên chỉ thị

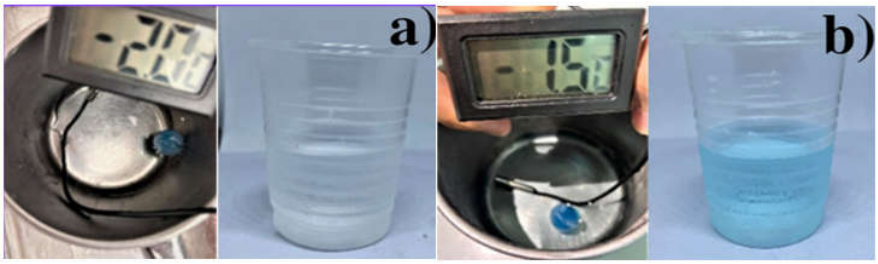
Thời gian ngâm càng tăng thì khối lượng mất đi sau lạnh đông và tan giá càng giảm do các ion Ca^{2+} khuếch tán vào sâu bên trong dịch chỉ thị và làm tăng khả năng tạo gel của dung dịch muối và giảm lượng dịch thoát ra khi tan giá [11], [12]. Sự co lại của viên chỉ thị là do ion liên kết chéo giữa các ion Ca^{2+} và SA, chủ yếu thay đổi theo nồng độ của chất phản ứng và thời gian phản ứng. Mức độ co ngót tăng dần theo thời gian phản ứng cho đến khi đạt được điểm cân bằng của phản ứng liên kết ngang. Sự co lại của viên alginat giảm khi tăng dung dịch SA do phản ứng không đều với các ion Ca^{2+} [13].

Do vậy, đã chọn thời gian ngâm là 1 phút vì nồng độ này có khối lượng mất đi sau tan giá cao nhất và khối lượng mất sau lạnh đông không có sự

khác biệt nhiều so với các mốc thời gian còn lại. Ngoài ra, chọn thời gian ngâm càng thấp sẽ tránh ảnh hưởng đến sự thay đổi hàm lượng muối NaCl tránh ảnh hưởng đến điểm đóng băng.

3.4. Đánh giá hiệu quả hoạt động của viên chỉ thị

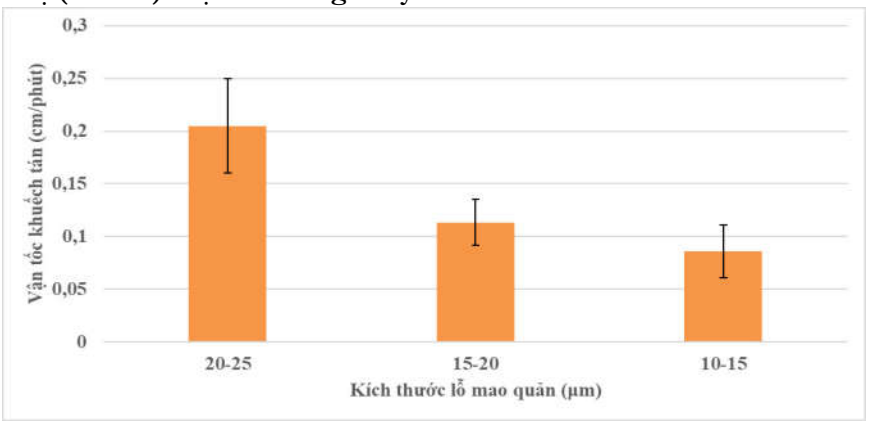
Viên chỉ thị ngâm 30 phút trong dung dịch nước muối ở nhiệt độ - 2^0C không làm thay đổi màu sắc của dung dịch làm lạnh (ΔE là 0,84). Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ lên cao hơn (-1,5^0C) so với nhiệt độ đóng băng của viên chỉ thị sẽ xảy ra quá trình tan giá và dịch chỉ thị khuếch tán vào dung dịch chứa trong cốc làm dung dịch muối từ không màu chuyển sang màu xanh dương (Hình 7) và giá trị ΔE thay đổi lớn ΔE =16,02 (tăng gấp 19,1 lần), giá trị b (biểu thị cho sắc xanh - vàng) thay đổi từ 0,35 sang -4,4 (giảm 12,5 lần). Chứng tỏ rằng ở viên chỉ thị hoạt động tốt khi nhiệt độ cao hơn nhiệt độ đóng băng của viên chỉ thị.



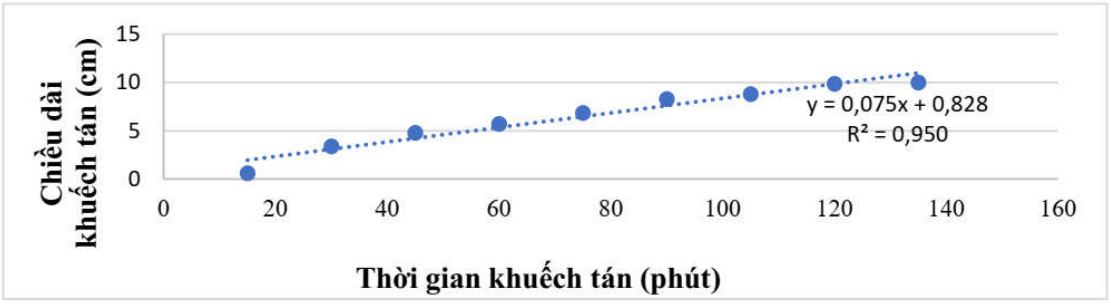
Hình 4. Sự thay đổi màu sắc của dịch muối sau thời gian ngâm 30 phút ở nhiệt độ - 2^0C (a), -1,5^0C (b)

3.5. Khả năng khuếch tán của dung dịch chỉ thị trên các loại giấy lọc

Khi thay đổi các loại giấy có kích thước mao quản khác nhau dẫn đến sự thay đổi vận tốc dòng chảy viên chỉ thị (Hình 5). Vận tốc dòng chảy cao nhất ở loại giấy có kích thước lỗ mao quản 20 - 25 µm là 0,21 ± 0,05 (cm/phút). Vận tốc dòng chảy thấp nhất ở loại giấy có kích thước lỗ mao quản 10 - 15 µm là 0,09 ± 0,02 (cm/phút).



Hình 5. Biểu đồ ảnh hưởng của các loại giấy lọc có kích thước lỗ mao quản khác nhau đến vận tốc thấm của dịch muối



Hình 6. Biểu đồ thể hiện mối quan hệ giữa chiều dài khuếch tán và thời gian khuếch tán của dung dịch chỉ thị

Xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính cho giấy lọc có kích thước lỗ mao quản 10 - 15 µm.

Hình 6 cho thấy, phương trình hồi quy tuyến tính giữa chiều dài khuếch tán và thời gian khuếch tán của dung dịch chỉ thị là y= 0,0752x + 0,8286 (với R^2 = 0,9505). Giấy lọc có kích thước lỗ mao quản là 10 - 15 µm được dùng cho viên chỉ thị nhiệt độ bảo quản - 2^0C sẽ được chọn 4 mốc thời gian để chỉ thị là 15 phút, 30 phút, 45 phút và 60 phút tương ứng với chiều dài khuếch tán của dung dịch chỉ thị là 1,9566 cm, 3,0846 cm, 4,2126 cm và 5,3406 cm. Các kích thước này sẽ được sử dụng cho thiết kế bao bì chỉ thị sự thay đổi nhiệt độ giúp nhận biết thời gian mất nhiệt trong quá trình bảo quản.

4. KẾT LUẬN

Viên chỉ thị sự thay đổi nhiệt độ bảo quản ở - 2^0C được chế tạo từ các thành phần an toàn khi tiếp xúc với thực phẩm là natri clorua 3,4%, natri alginat 0,7% được ngâm trong dung dịch canxi clorua 3% trong thời gian ngâm 1 phút. Sau đó được nhúng parafin ở nhiệt độ 65^0C cho chỉ thị có độ cứng và độ dày phù hợp để bảo quản trước khi sử dụng. Viên chỉ thị có độ chính xác cao với sai số so với nhiệt độ thiết kế nhỏ hơn $0,5^0$C. Vận tốc khuếch tán dịch chỉ thị trên giấy lọc (10 cm x 3 mm) với kích thước lỗ 10 - 15 µm là 0,09 ± 0,02 (cm/phút) giúp tính toán được thời gian quá nhiệt của viên chỉ thị từ đó làm tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng viên chỉ thị sự thay đổi nhiệt độ cho các bao bì bảo quản lạnh đông.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Zhang, Farouk, Young, Wieliczko, Podmore (2005). *Functional stability of frozen normal and high pH beef*. Meat Science, Volume 69, Issue 4, 765 - 772.

2. Hansen, E., Juncher, D., Henckel, P., Karlsson, A., Bertelsen, G., Skibsted, L. H. (2004). *Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage*. Meat Science, Volume 68, Issue 3, 479 - 484.

3. V. J. Moore (1990). *Effect of tray liners on the drip loss of lamb chops during retail display*. Meat Science, Volume 27, Issue 1, 87 - 90.

4. V. J. Moore, O. A. Young (1991). *The effects of electrical stimulation, thawing, ageing and packaging on the colour and display life of lamb chops.* Meat Science, Volume 30, Issue 2, 131-145

5. Löndahl, G., Nilaaon, T. (1993). *Storage of frozen foods*. In B. Caballero (Ed.), Encyclopaedia of food science and nutrition (pp. 2732–2735). (2nd ed.). Oxford: Academic Press

6. S, H, Yoon, C, H, Lee, D, Y, Kim, J, W, Kim, K, H, Park (1994). Time - Temperature Indicator using Phospholipid - Phospholipase System and Application to Storage of Frozen Pork. *Journal of Food Science*, Volume 59, Issue3, Pages 490 – 493.

7. Latiful Bari Md, Anwar Hossain M., Kenji Isshiki, and Dike Ukuku (2011). Review Article Behavior of Yersinia enterocolitica in Foods. *Journal of Pathogens*.

8. Adarns M. R., Little C. L. and Easter M. C. (1991). *Modelling the effect of pH, acidulant and temperature on the growth rate of Yersinia enterocolitica*. Applied Microbiology, 71 (1), 65 - 71.

9. Zhang H., Wang H., Wang J., Guo R., Zhang Q. (2001). *The effect of ionic strength on the viscosity of sodium alginate solution.* Polymers for Advanced Technologies, 12 (11 - 12), 740 - 745.

10. Macosko C. W. (1994). *Rheology principles.* Measurements and Applications.

11. Abang S., Chan E. S., Poncelet D. (2012). Effects of process variables on the encapsulation of oil in ca - alginate capsules using an inverse gelation technique. *Journal of microencapsulation*, 29 (5), 417 - 428.

12. Li J., Wu Y., He J., Huang Y. (2016). A new insight to the effect of calcium concentration on gelation process and physical properties of alginate films. *Journal of Materials Science*, 51 (12), 5791 - 5801.

13. Li L., Chen Y., Wang Y., Shi F., Nie Y., Liu T., & Song K. (2019). Effects of concentration variation on the physical properties of alginate - based substrates and cell behavior in culture. *International journal of biological macromolecules*, 128, 184 - 195.

STUDYING ON INDICATOR FOR TEMPERATURE CHANGE USED IN FROZEN FOOD PACKAGING

Ta Le Quoc An[1,*], Le Thi Ngoc Mai[1], Dang Quoc Anh[1]

[1]Faculty of Food Technology, Saigon Technology University

** Email: an.talequoc@stu.edu.vn*

Summary

The need for long - term food preservation has prompted research into methods to stabilize and monitor product quality throughout the storage period. Temperature is an important factor determining the effectiveness of frozen food preservation. The increase in temperature during storage accelerates food spoilage reactions and promotes microbial growth. This study was carried out to create an indicator for temperature changes and use it for frozen food packaging. From the research results, the temperature indicator was made by dissolving 3.4% (w/v) sodium chloride (NaCl) with 0.7% (w/v) sodium alginate (SA) in hot water 60^0C, then the pelletizing process (Spherification) was carried by dropping this mixture to 3% calcium chloride ($CaCl_2$) solution and keeping it for 3 minutes. Indicator beads were coated by paraffin for hardness and thickness that were suitable for storage before using. The indicator beads were evaluated the shell cracking rate, thawing temperature, mass loss, diffusivity, and activity efficiency. The results showed that the indicator can detect a storage temperature that is higher than -2^0C with an error of less than 0.5^0C.

Keywords: *Food freezing preservation, smart packaging, temperature change, temperature indicator.*

Người phản biện: PGS.TS. Hoàng Thị Lệ Hằng

Ngày nhận bài: 13/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 10/4/2023

Ngày duyệt đăng: 17/4/2023

NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH TRÍCH LY POLYPHENOL TỪ VỎ DƯA HẤU CÓ SỰ HỖ TRỢ CỦA ENZIM XENLULAZA

Ngô Trịnh Tắc Đạt[1], Hoàng Kim Anh[1,*]

TÓM TẮT

Vỏ dưa hấu là sản phẩm phụ của quá trình sản xuất các sản phẩm từ dưa hấu, chứa nhiều polyphenol có hoạt tính chống oxy hóa, giúp cản trở sự hình thành các gốc tự do và giảm nguy cơ mắc các bệnh mãn tính do stress oxy hóa. Trong nghiên cứu này, enzim xenlulaza (Celluclast 1.5L, Novozyme) được sử dụng để hỗ trợ quá trình trích ly polyphenol từ vỏ dưa hấu. Thí nghiệm một yếu tố được bố trí để xác định ảnh hưởng của các thông số công nghệ của quá trình trích ly tới hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxy hóa của dịch trích. Các điều kiện thích hợp của quá trình trích ly như sau: tỷ lệ dung môi nước/nguyên liệu 17 : 1, pH 4,5, nồng độ enzime 1%, nhiệt độ trích ly 45°C và thời gian trích ly 55 phút. Dịch trích thu được có hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng lần lượt là 475,57±4,38 mg GAE/100 g chất khô và 439,22±1,23 mg QE/100 g chất khô; khả năng chống oxy hóa xác định theo DPPH là 1.022,85±8,88 µmol TE/100 g chất khô, khả năng khử sắt là 1.218,27±24,72 µmol TE/100 g chất khô. Các thông số động học của quá trình trích ly có sự hỗ trợ của xenlulaza như khả năng trích ly (Ce), tốc độ trích ly ban đầu (h), hằng số tốc độ trích ly (k) đều cao hơn đáng kể so với trích ly không sử dụng enzim.

Từ khóa: *Khả năng chống oxy hóa, thông số động học, trích ly có enzim hỗ trợ, polyphenol, vỏ dưa hấu.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phụ phẩm của ngành công nghiệp chế biến rau quả hiện nay đang thu hút sự quan tâm từ các nhà nghiên cứu vì chúng rất giàu chất xơ và các hợp chất có hoạt tính sinh học như polyphenol. Các hợp chất này được chứng minh có khả năng hạn chế sự hình thành và ức chế gốc tự do, từ đó hạn chế những tác động bất lợi của chúng đến cơ thể, giảm tỷ lệ mắc các bệnh mãn tính như cao huyết áp, tiểu đường, ung thư và một số bệnh tim mạch [1].

Dưa hấu là loại trái cây ăn quả có kích thước lớn và được trồng nhiều tại Việt Nam; vỏ dưa hấu chiếm khoảng 20 – 30% tổng khối lượng quả và đa phần chưa được tận dụng [2]. Tại Việt Nam, các sản phẩm chế biến từ dưa hấu chủ yếu là nước ép và sản phẩm sấy; các sản phẩm này chỉ sử dụng phần thịt quả, còn phần vỏ được xem là phụ phẩm của quá trình chế biến. Việc bỏ đi một lượng lớn vỏ dưa hấu làm cho lợi nhuận thu được từ quá trình chế biến dưa hấu chưa tối ưu, đồng thời gây ô nhiễm môi trường. Nhằm nâng cao giá trị của phụ phẩm này, nhiều nghiên cứu đã tận dụng vỏ dưa hấu trong nhiều ứng dụng khác nhau. Vỏ dưa hấu thường được dùng để chế biến một số món ăn hoặc làm mứt [3]; do có cấu trúc xốp nên được sử dụng làm vật liệu hấp phụ kim loại [4] và chất màu [3]. Phụ phẩm này cũng là nguồn nguyên liệu để thu nhận các hợp chất có hoạt tính sinh học như phenolic axit, flavonoid, các hợp chất polyphenol có khả năng chống oxy hóa [1, 5]. Trong những nghiên cứu này, các loại dung môi hữu cơ thường được sử dụng để trích ly polyphenol với sự hỗ trợ của một số kỹ thuật vật lý như siêu âm hoặc vi sóng. Enzim cũng được sử dụng để hỗ trợ quá trình trích ly polyphenol từ nhiều loại nguyên liệu thực vật, tuy nhiên phương pháp này chưa được sử dụng để trích ly polyphenol từ vỏ dưa hấu [6, 7].

Phương pháp trích ly có sự hỗ trợ của enzim có nhiều ưu điểm hơn so với phương pháp trích ly ngâm chiết thông thường như không sử dụng dung môi hữu cơ, tăng hiệu suất thu nhận chất chiết với nhiệt độ trích ly thấp và thời gian ngắn [7]. Trong nghiên cứu này, phụ phẩm vỏ dưa hấu

[1] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn
[*]Email: anh.hoangkim@stu.edu.vn

được tận dụng để thu nhận hợp chất polyphenol, tránh lãng phí một nguồn nguyên liệu tiềm năng đồng thời tạo ra các sản phẩm có giá trị cao. Mục tiêu của nghiên cứu là xác định các điều kiện phù hợp để trích ly polyphenol từ vỏ dưa hấu với sự hỗ trợ của enzim xenlulaza, đồng thời đánh giá các thông số động học của quá trình này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Vỏ dưa hấu được thu nhận tại các quầy nước ép trái cây của Siêu thị Big C CityLand. Vỏ được rửa sạch, sau đó loại bỏ các phần thịt đỏ còn lại, cắt nhỏ với kích thước 4 x 1 x 0,5 cm (dài x rộng x dày) và được bảo quản trong túi zip ở nhiệt độ -10°C. Vỏ dưa hấu nguyên liệu có độ ẩm trung bình là 92,93 ± 0,42%.

2.2. Hóa chất

Thuốc thử Folin-Ciocalteu được cung cấp bởi Merck (Đức); 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ), Trolox, Quercetin, gallic axit được cung cấp bởi Sigma (Mỹ); các hóa chất khác (analytical grade) được cung cấp bởi Công ty Hóa chất Xilong – Trung Quốc. Xenlulaza thương mại (Celluclast 1.5L với hoạt tính là 755 endoglucanase unit/g) được cung cấp bởi Công ty Brentag Việt Nam.

2.3. Trích ly các hợp chất polyphenol từ vỏ dưa hấu có sự hỗ trợ của enzim

Vỏ dưa hấu xay nhuyễn được phối trộn với dung môi nước (đã được điều chỉnh pH từ 4,0 – 6,0 bằng đệm xitrat) với tỷ lệ dung môi : nguyên liệu 5 : 1 - 19 : 1 v/w, enzim được bổ sung vào hỗn hợp với tỷ lệ 0,1 - 1% (v/w). Quá trình trích ly được tiến hành ở nhiệt độ 40 – 60°C với thời gian 0-90 phút trong bể ổn nhiệt Memmert (Đức). Hỗn hợp sau đó được gia nhiệt đến 90°C trong vòng 5 phút để bất hoạt enzim và lọc qua giấy lọc (20-25 µm) để thu được dịch trong. Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu đơn yếu tố (OFAT - One factor at a time) và mẫu đối chứng trong nghiên cứu này được tiến hành với các điều kiện tương tự nhưng không có sự bổ sung của enzim.

2.4. Phương pháp xác định hàm lượng các hợp chất polyphenol và khả năng chống oxy hóa

- Hàm lượng phenolic tổng trong dịch trích được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu, tương tự như trong nghiên cứu của Dewanto và cs (2002) [8].

- Hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo phương pháp của Nur Syazwani và cs (2018) [9].

- Khả năng quét gốc tự do được xác định theo phương pháp của Brand-William và cs (1995) [10].

- Khả năng khử gốc Fe^{3+} (FRAP) được xác định theo phương pháp của HNT Pham và cs (2017) [11].

2.5. Xác định các thông số động học của quá trình trích ly

Các thông số động học của quá trình trích ly các hợp chất polyphenol từ vỏ dưa hấu được xác định tương tự như nghiên cứu của Hong Van Le và cs (2012) [12]. Mô hình động học bậc hai được viết dưới dạng phương trình (1):

$$\frac{dC_t}{dt} = k\,(C_e - C_t)^2 \quad (1)$$

Trong đó: k là hằng số tốc độ trích ly bậc hai (100 g CK/mg/phút); C_e và C_t (mg/100 g CK) tương ứng là nồng độ của hợp chất được trích ly tại thời điểm cân bằng và thời điểm t. Quy luật trích ly theo phương trình bậc hai với các điều kiện biên t = 0 đến t và C_t = 0 đến C_t có thể được viết dưới dạng phương trình (2). Phương trình nghịch đảo vận tốc của quá trình trích ly được biểu thị dưới dạng phương trình đường thẳng (3). Tốc độ trích ly ban đầu (h, mg/100 g CK.phút) bằng C_t/t khi t tiến tới 0 có thể được xác định dựa vào phương trình (4).

$$C_t = \frac{Ce^2kt}{1+Cekt} \quad (2) \qquad \frac{1}{Ct} = \frac{1}{kCe^2t} + \frac{1}{Ce} \quad (3)$$

$$h = kC_e^2 \quad (4)$$

Dựa trên các phương trình (3) và (4), C_t có thể được biểu diễn bằng phương trình (5):

$$\frac{t}{Ct} = \frac{1}{Ce}.t + \frac{1}{h} \quad (5)$$

Như vậy, các giá trị vận tốc trích ly ban đầu h, khả năng trích ly Ce và hằng số tốc độ trích ly k có thể được xác định bằng thực nghiệm dựa trên phương trình đường thẳng giữa t/C_t và t.

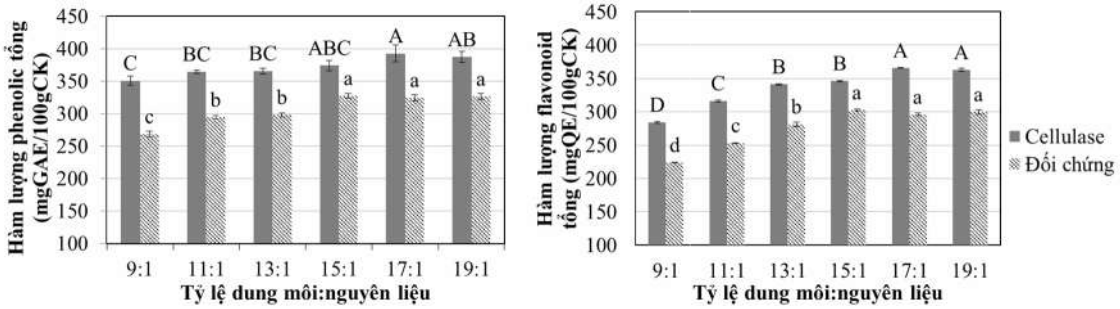
2.6. Xử lý thống kê số liệu

Kết quả trong nghiên cứu được thể hiện bằng giá trị trung bình của 3 lần lặp lại và độ lệch chuẩn. Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được xác định bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) theo kiểm định Turkey với $p<0,05$ sử dụng phần mềm JMP 13.

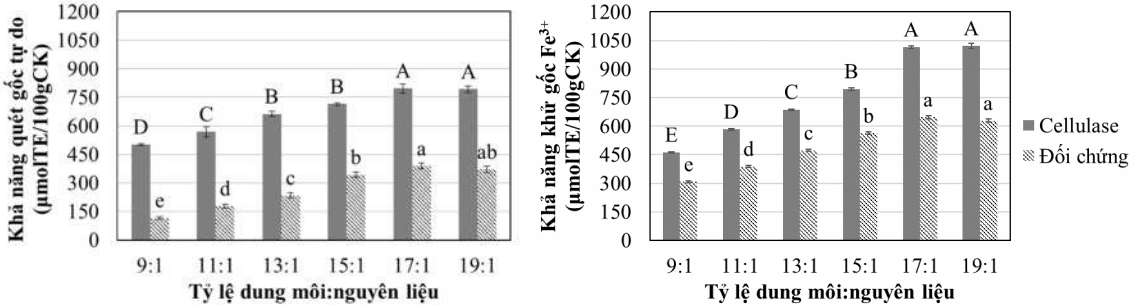
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu

Hình 1 và 2 thể hiện hàm lượng phenolic và flavonoid tổng cùng khả năng chống oxy hóa của dịch trích thu được khi trích ly với các tỷ lệ dung môi: nguyên liệu khác nhau. Kết quả cho thấy, khi tăng tỷ lệ dung môi : nguyên liệu thì chênh lệch gradient nồng độ tăng dẫn đến khả năng khuếch tán các hợp chất tăng cao. Lượng dung môi càng tăng thì khả năng tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi được cải thiện. Tuy nhiên, khi quá trình trích ly đạt trạng thái cân bằng, sự chênh lệch gradient nồng độ giữa chất tan trong nguyên liệu và dung môi không còn nhiều cho nên hàm lượng hợp chất trích ly được không tăng thêm. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu trích ly polyphenol và các hợp chất chống oxy hoá có hỗ trợ enzim trên nguyên liệu chanh dây [13] và phụ phẩm vỏ cam [14].



Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hàm lượng phenolic và flavonoid tổng của dịch trích



Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến khả năng chống oxy hóa của dịch trích

Khi trích ly với tỷ lệ dung môi : nguyên liệu tối ưu 17 : 1 có sự hỗ trợ của xenlulaza, tổng hàm lượng phenolic và flavonoid thu được trong dịch trích lần lượt là 392,73 ± 13,15 mg GAE/100 g CK và 365,42 ± 0,41 mg QE/100 g CK, cao hơn tương ứng 1,2 và 1,23 lần so với mẫu đối chứng. Khả năng khử ion sắt và quét gốc tự do của dịch trích thu được lần lượt là 1014,24 ± 7,69 µmol TE/100 g CK và 796,69 ± 23,51 µmol TE/100 g CK, cao hơn tương ứng 1,4 và 1,5 lần so với khi trích ly không có sự hỗ trợ của enzim. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, khả năng trích ly các hợp chất polyphenol cao hơn 1,8 lần so với nghiên cứu trước đây của Ho và cs (2018) trên cùng đối tượng vỏ dưa hấu ruột đỏ khi sử dụng phương pháp trích ly ngâm chiết bằng dung môi. Theo đó, sử dụng dung môi nước để trích ly thu được hàm lượng các hợp chất phenolic và flavonoid trong dịch trích cao

hơn so với sử dụng các dung môi methanol, ethanol và axeton [5].

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ enzim

Xenlulaza có vai trò thủy phân xenluloza trong thành tế bào thực vật. Vỏ dưa hấu có hàm lượng chất xơ đáng kể bao gồm 43 - 49% holoxenluloza (20 - 26% xenluloza, 23% hemixenluloza), 10 - 11% lignin và 13 - 19% pectin [2, 15]. Sự có mặt của xenluloza sẽ giúp phá vỡ một phần xenluloza trong thành tế bào vỏ dưa hấu, ngoài ra một số liên kết giữa hợp chất polyphenol và các polysaccarit trong thành tế bào cũng bị phân cắt bởi tác động của enzim nên giúp tăng cường khả năng giải phóng polyphenol [16, 17]. Kết quả ở bảng 1 cho thấy, hàm lượng các hợp chất phenolic, flavonoid và khả năng chống oxy hóa của dịch trích đạt giá trị tối đa ở nồng độ xenluloza 1% (v/w), tăng tương ứng 1,3 - 1,4 lần đối với hàm lượng các hợp chất polyphenol và 1,2 - 1,3 lần đối với khả năng chống oxy hóa so với không sử dụng enzim. Tuy nhiên, khi nồng độ xenluloza lớn hơn 1% thì hàm lượng các hợp chất polyphenol và khả năng chống oxy hóa có xu hướng giảm.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ enzim đến lượng phenolic và flavonoid tổng trích ly được

	Nồng độ xenlulaza (%)					
	0	0,5	0,75	1,0	1,25	1,5
Hàm lượng phenolic tổng (mg GAE/100 g CK)	319,91 ± 2,19^{d}	358,64 ± 5,80^{c}	392,73 ± 3,80^{b}	446,96 ± 5,80^{a}	392,73 ± 6,57^{b}	378,78 ± 7,59^{b}
Hàm lượng flavonoid tổng (mg QE/100 g CK)	294,24 ± 0,41^{d}	334,17 ± 2,17^{c}	361,95 ± 2,17^{b}	383,66 ± 3,20^{a}	364,56 ± 2,17^{b}	361,08 ± 1,23^{b}
Khả năng quét gốc tự do (µmol TE/100 g CK)	715,02 ± 8,88^{d}	821,82 ± 15,39^{c}	872,08 ± 8,88^{b}	934,90 ± 15,39^{a}	878,36 ± 15,39^{b}	865,79 ± 17,77^{bc}
Khả năng khử gốc Fe^{3+} (µmol TE/100 g CK)	888,68 ± 42,35^{c}	954,60 ± 11,74^{bc}	985,99 ± 7,69^{ab}	1033,07 ± 20,34^{a}	998,54 ± 11,74^{ab}	989,13 ± 11,74^{ab}

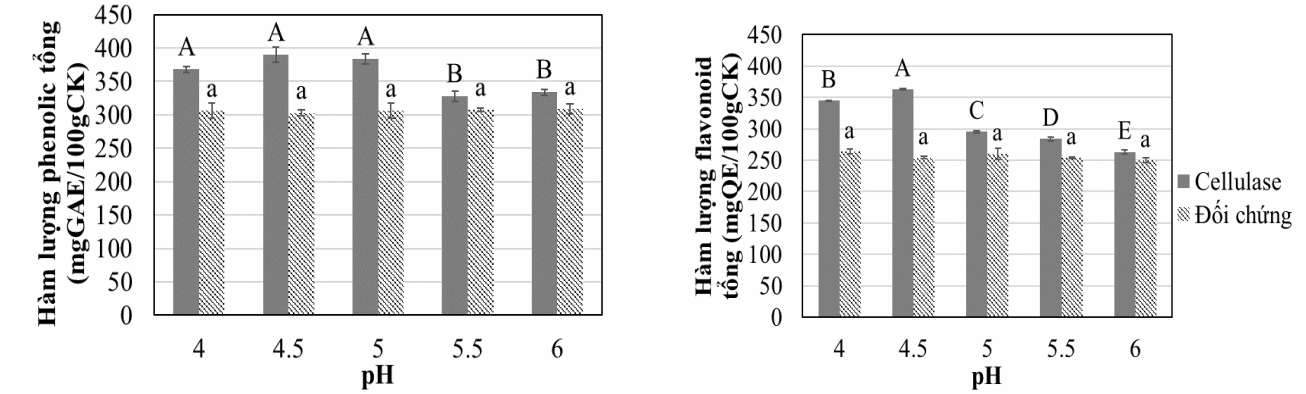
Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình Ơ độ lệch chuẩn (n>=3), những chữ cái a, b, c, d, e khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

Trong nghiên cứu của Ghandahari và cs (2019), khi sử dụng enzim với nồng độ phù hợp, khả năng trích ly polyphenol từ vỏ lụa hạt hồ trăn được cải thiện so với không sử dụng enzim [16]. Kết quả nghiên cứu của Hai và cs (2016) cũng cho thấy, khi sử dụng xenlulaza với nồng độ 2% thì khả năng trích ly polyphenol từ lá trà tăng 1,3 lần so với không sử dụng enzim [18]. Việc sử dụng nồng độ enzim quá cao không làm tăng hiệu quả trích ly cũng được đề cập trong các nghiên cứu trước do xenlulaza bị ức chế ngược bởi các sản phẩm sinh ra trong quá trình thủy phân như glucoza, xenlobioza dẫn đến giảm hoạt tính [17, 19]. Kết quả của nghiên cứu này trên đối tượng vỏ dưa hấu cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu trích ly polyphenol từ một số nguyên liệu khác như lá trà [18] và bã nho [20].

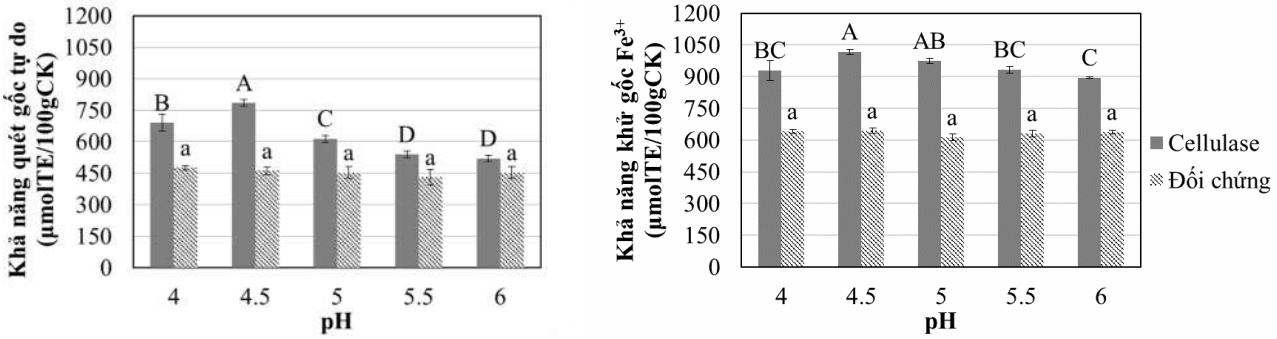
3.3. Ảnh hưởng của pH

pH môi trường ảnh hưởng đến trạng thái ion hóa của các gốc axit và bazơ của các amino axit trong chuỗi polypeptide, từ đó ảnh hưởng đến các

liên kết ion trong cấu trúc không gian của phân tử protein và tâm hoạt động của enzim [21]. Hình 3 cho thấy, khi pH của môi trường vượt qua ngưỡng tối ưu, hoạt tính của enzim giảm, khả năng trích ly các hợp chất phenolic và flavonoid cũng giảm theo. Kết quả trên cũng tương đồng với các công bố trong nghiên cứu trích ly polyphenol có sự hỗ trợ của enzim trên đối tượng lá trà [18] và chanh dây [13]. Kết quả cũng cho thấy, trong vùng pH axit yếu (4,0 - 5,0) là vùng hoạt động tối ưu của enzim xenlulaza, sự hỗ trợ của enzim giúp cải thiện đáng kể khả năng trích ly các hợp chất polyphenol so với khi không sử dụng enzim. Tuy nhiên, khi pH tăng lên 5,5-6,0, hoạt động của enzim giảm, hàm lượng phenolic tổng, flavonoid tổng và khả năng kháng oxy hóa của dịch trích khác biệt không đáng kể giữa hai trường hợp có sử dụng và không sử dụng enzim để hỗ trợ quá trình trích ly. Trong trường hợp không sử dụng enzim, pH môi trường không ảnh hưởng đến việc trích ly các hợp chất polyphenol và khả năng chống oxy hóa của dịch trích.



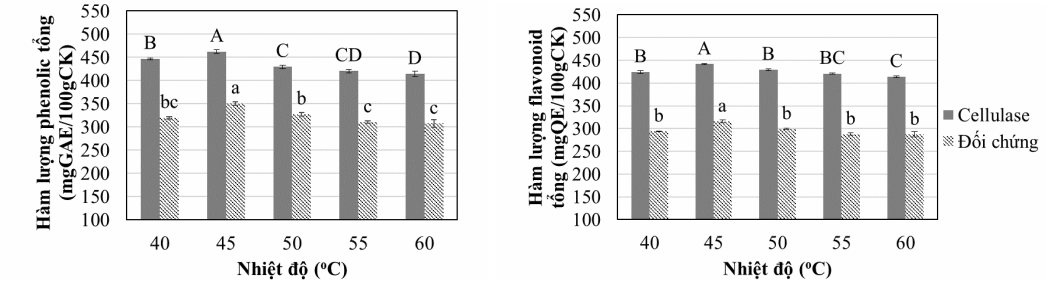
Hình 3. Ảnh hưởng của pH đến hàm lượng phenolic và flavonoid tổng của dịch trích



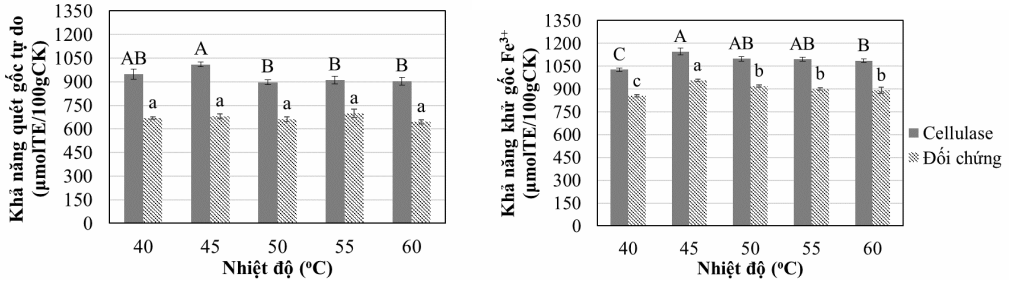
Hình 4. Ảnh hưởng của pH đến khả năng chống oxy hóa của dịch trích

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ cung cấp năng lượng hoạt hóa cho các phản ứng hóa học và là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tốc độ của phản ứng enzim. Nhiệt độ phù hợp có thể làm tăng khả năng truyền nhiệt và truyền khối dẫn đến tăng tốc độ khuếch tán, từ đó cải thiện hiệu quả trích ly [22]. Hình 5 và 6 thể hiện ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng các hợp chất sinh học và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích. Kết quả cho thấy, xu hướng ảnh hưởng của nhiệt độ tới quá trình trích ly có và không có sự hỗ trợ của enzim là khá tương đồng, tuy nhiên hàm lượng phenolic tổng, flavonoid tổng và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích thu được khi trích ly có sự hỗ trợ của enzim vẫn luôn cao hơn. Nhiệt độ tối ưu của quá trình trích ly là 45°C, tăng nhiệt độ có thể dẫn đến phân hủy một số hợp chất có hoạt tính sinh học nên làm giảm hàm lượng các hợp chất phenolic và flavonoid. Ngoài ra, enzim bị biến tính ở nhiệt độ cao dẫn đến khả năng thủy phân thành tế bào vỏ dưa hấu giảm cũng là nguyên nhân khiến hàm lượng chất chiết và hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết giảm. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu suất trích ly polyphenol từ lá chè [23].



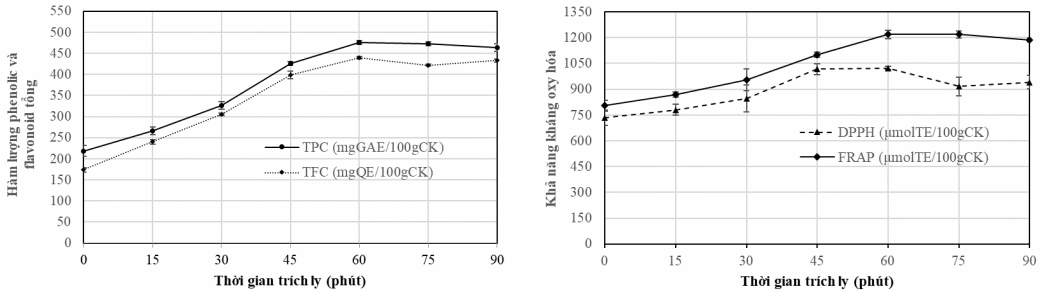
Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng của dịch trích



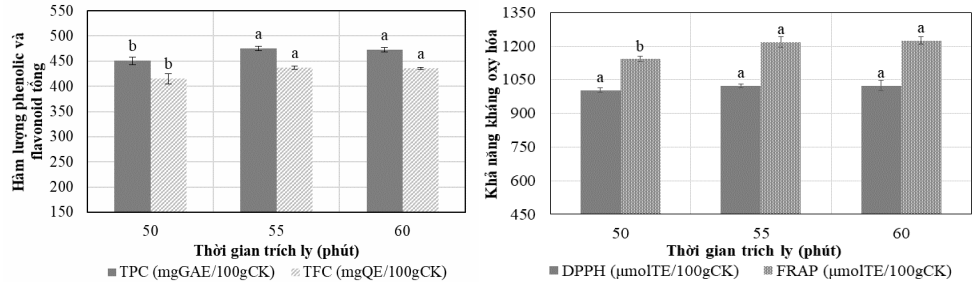
Hình 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng chống oxy hóa của dịch trích

3.5. Ảnh hưởng của thời gian trích ly và động học của quá trình

Hình 7 thể hiện ảnh hưởng của thời gian đến quá trình trích ly. Kết quả thu được cho thấy, thời gian ảnh hưởng rất lớn đến khả năng trích ly. Trong giai đoạn đầu của quá trình, tốc độ trích ly các hợp chất diễn ra nhanh do sự chênh lệch nồng độ giữa nguyên liệu và dung môi; đồng thời tác động thủy phân của enzim xenlulaza giúp các hợp chất polyphenol dễ dàng khuếch tán vào môi trường. Tốc độ trích ly sẽ diễn ra chậm dần khi hệ đạt đến trạng thái cân bằng, hàm lượng các hợp chất phenolic, flavonoid và khả năng chống oxy hóa của dịch trích đạt mức tối ưu ở thời điểm 55 phút (Bảng 2). Quy luật về sự ảnh hưởng của thời gian đến quá trình trích ly các hợp chất polyphenol từ vỏ dưa hấu có sự hỗ trợ của enzim cũng tương đồng với nghiên cứu trên các đối tượng như vỏ bưởi và bã dâu tằm [24, 25].



Hình 7. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hàm lượng các hợp chất polyphenol và khả năng chống oxy hóa của dịch trích



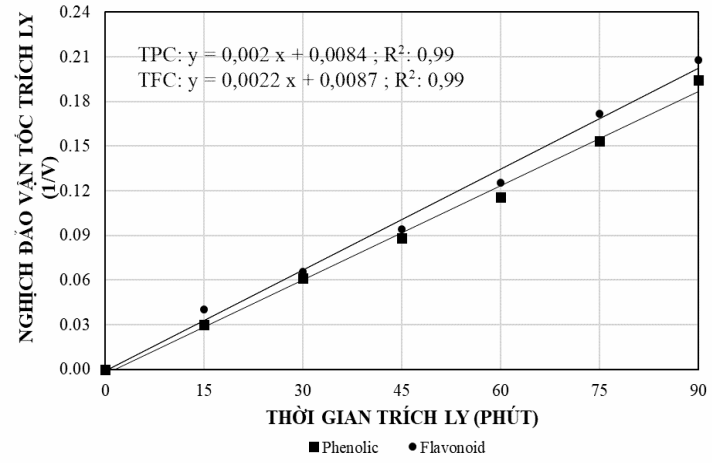
Hình 8. Hàm lượng các hợp chất polyphenol và khả năng chống oxy hóa của dịch trích trong khoảng thời gian gần điểm tối ưu

Bảng 2. Kết quả trích ly các hợp chất polyphenol từ phụ phẩm vỏ dưa hấu có sự hỗ trợ của enzim xenlulaza tại các điều kiện tối ưu

Hàm lượng phenolic tổng (mg GAE/100 g CK)	Hàm lượng flavonoid tổng (mg QE/100 g CK)	Khả năng quét gốc tự do (µmol TE/100 g CK)	Khả năng khử gốc Fe^{3+} (µmol TE/100 g CK)
475,57 ± 4,38	439,22 ± 1,23	1022,85 ± 8,88	1218,27 ± 24,72
Thông số của quá trình trích ly: *Tỷ lệ DM : NL (v/w) 17 : 1; pH 4,5; tỷ lệ enzim 1%; nhiệt độ 45°C và thời gian trích ly 55 phút.*			

Từ kết quả thực nghiệm, tốc độ trích ly tại các mốc thời gian được xác định. Nhằm giải thích quá trình trích ly các hợp chất polyphenol, các thông số động học của quá trình trích ly được xác định theo phương trình (5) nghịch đảo vận tốc (t/C_t tương ứng với nghịch đảo vận tốc 1/V theo thời gian t). Hình 9 biểu thị dạng đường thẳng tuyến tính của mô hình trích ly các hợp chất polyphenol có sự hỗ trợ của xenlulaza; các thông số động học của quá trình trích ly được trình bày trong bảng 3.

Khả năng trích ly (giá trị Ce) các hợp chất phenolic và flavonoid khi có sự hỗ trợ của enzim lần lượt là 488,92 mg GAE/100 g CK và 449,20 mg QE/100 g CK, cao hơn tương ứng là 1,4 và 1,5 lần so với phương pháp trích ly không sử dụng enzim. Tương tự, tốc độ trích ly các hợp chất phenolic và flavonoid (giá trị h) cũng cao hơn tương ứng là 1,3 lần và 1,4 lần so với trích ly không sử dụng enzim. Điều này cho thấy, sử dụng xenlulaza có thể cải thiện đáng kể khả năng trích ly polyphenol từ vỏ dưa hấu.



Hình 9. Đồ thị nghịch đảo vận tốc (1/V) của quá trình trích ly hợp chất phenolic và flavonoid

Bảng 3. Thông số động học của quá trình trích ly polyphenol từ vỏ dưa hấu

		Khả năng trích ly, C_e (mg/100 g CK)	Tốc độ trích ly ban đầu, h (mg/100 g CK/phút)	Hằng số tốc độ trích ly, k (100 g CK/mg/phút)	R^2
Trích ly có hỗ trợ enzim	Phenolic tổng	488,92	119,59	0,00050	0,99
	Flavonoid tổng	449,20	114,85	0,00057	0,99
Trích ly không có hỗ trợ enzim	Phenolic tổng	348,47	46,28	0,00038	0,98
	Flavonoid tổng	302,46	37,42	0,00041	0,97

4. KẾT LUẬN

Enzim xenluclast 1.5L đã được sử dụng hiệu quả để trích ly các hợp chất polyphenol từ vỏ dưa hấu. Các điều kiện trích ly thích hợp bao gồm tỷ lệ dung môi : nguyên liệu (v/w) 17 : 1, pH 4,5, nồng độ xenlulaza 1%, nhiệt độ 45°C và thời gian trích ly 55 phút. Quá trình trích ly các hợp chất phenolic phù hợp với mô hình động học bậc hai, phương trình bậc nhất nghịch đảo vận tốc (1/V) có độ tin cậy cao (với hệ số $R^2 > 0,9$). Các thông số động học của quá trình trích ly có sự hỗ trợ của xenlulaza cao hơn đáng kể so với trích ly không sử dụng enzim, cho thấy vai trò tích cực của enzim trong quá trình trích ly polyphenol từ vỏ dưa hấu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sagar N. A., *et al.* (2018). *Fruit and vegetable waste: Bioactive compounds, their extraction, and possible utilization.* Comprehensive reviews in food science and food safety, p. 512-531, 17(3).

2. Petkowicz C., L. Vriesmann and P. Williams (2017). *Pectins from food waste: Extraction, characterization and properties of watermelon rind pectin.* Food Hydrocolloids, p. 57-67, 65.

3. Bellary A. N., *et al.* (2016). *Anthocyanin infused watermelon rind and its stability during storage.* Innovative Food Science & Emerging Technologies, p. 554-562, 33.

4. Liu C., H. H. Ngo and W. Guo (2012). *Watermelon rind: agro-waste or superior biosorbent?.* Applied biochemistry and biotechnology, p. 1699-1715, 167.

5. Ho L. H. *et al.* (2018). *Effect of extraction solvents and drying conditions on total phenolic content and antioxidant properties of watermelon rind powder.* Sains Malays, p. 99-107, 47(47).

6. Puri M., D. Sharma, and C. J. Barrow (2012). *Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants.* Trends in biotechnology, p. 37-44, 30(1).

7. Gligor O., *et al.* (2019). *Enzyme-assisted extractions of polyphenols-A comprehensive review.* Trends in Food Science & Technology, p. 302-315, 88.

8. Dewanto V. *et al.* (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, p. 3010-3014, 50(10).

9. Nur Syazwani I. and K. Khairul Farihan (2018). *Comparative study on the extraction methods of Clinachanthus nutans for total phenolic content, total flavonoid content and DPPH scavenging activity.* Special Issue on Bioprocess & Biosystem Engineering and their Downstream Processing, p. 1-8, 10(1).

10. Brand Williams W., M. E. Cuvelier and C. Berset (1995). *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.* LWT-Food science and Technology, p. 25-30, 28(1).

11. Pham H. N. T., *et al.* (2017). 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*, p. e12879, 41(1).

12. Le H. V. and V. V. M. Le (2012). Comparison of enzyme-assisted and ultrasound-assisted extraction of vitamin C and phenolic compounds from acerola *(Malpighia emarginata* DC.) fruit*. International journal of food science & technology*, p. 1206-1214, 47(6).

13. Wang W. *et al.* (2021). *Optimization of ultrasonic cellulase-assisted extraction and antioxidant activity of natural polyphenols from passion fruit.* Molecules, p. 2494, 26(9).

14. Nishad J., S. Saha and C. Kaur (2019). Enzyme-and ultrasound-assisted extractions of polyphenols from Citrus sinensis (cv. Malta) peel: a comparative study*. Journal of Food Processing and Preservation*, p. e14046, 43(8).

15. Kassim M. *et al.* (2022). Valorisation of watermelon (Citrullus lanatus) rind waste into bioethanol: An optimization and kinetic studies. *International Journal of Environmental Science and Technology*, p. 1-14.

16. Ghandahari Yazdi, A. P., *et al.* (2019). *Optimization of the enzyme-assisted aqueous extraction of phenolic compounds from pistachio green hull.* Food science & nutrition, p. 356-366, 7(1).

17. Nadar S. S., P. Rao and V. K. Rathod (2018). *Enzyme assisted extraction of*

biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. Food Research International, p. 309-330, 108.

18. Hai T. *et al.* (2016). Enzyme assisted extraction of polyphenols from the old tea leaves. *J. Nutr. Health Sci.*, p. 404-410, 3(4).

19. Hsieh C. W. C. *et al.* (2014). *Cellulase inhibition by high concentrations of monosaccharides.* Journal of agricultural and food chemistry, p. 3800-3805, 62(17).

20. Maier T. *et al.* (2008). *Optimization of a process for enzyme-assisted pigment extraction from grape (Vitis vinifera* L.*) pomace.* European Food Research and Technology, p. 267-275, 227.

21. Robinson P. K. (2015). *Enzymes: principles and biotechnological applications.* Essays in biochemistry, 59, p. 1.

22. Robards K. (2003). Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of chromatography A*, p. 657-691, 1000(1-2).

23. Giang T. K. (2017). Bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu suất trích ly polyphenol từ lá chè *(Camellia sinensis* (l) o. kuntze*). Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 205-213, 2.

24. Khue D., T. Phuc and D. Mai (2013). *Optimization of Combined Pectinex and Viscozyme Application for Polyphenol Extraction in Grapefruit Peels.II Southeast Asia Symposium on Quality Management in Postharvest Systems, p557 - 562, 1088.*

25. Li Y. *et al*. (2020). Process optimization for enzymatic assisted extraction of anthocyanins from the mulberry wine residue. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing, p 012011, 559 (1).

STUDY ON CELLULASE-ASSISTED EXTRACTION OF POLYPHENOL FROM WATERMELON RINDS

Ngo Trinh Tac Dat[1], Hoang Kim Anh[1]

[1]Faculty of Food Technology, Saigon Technology University

Summary

Watermelon rind is a by-product of the production of watermelon products. It is rich in polyphenols with antioxidant activity, which help to inhibit the formation of free radicals and reduce risk of chronic diseases caused by oxidative stress. In this study, cellulase enzyme (Celluclast 1.5L, Novozyme) was used to support the extraction of polyphenols from watermelon rind. One factor at a time (OFAT) experimental design was used to determine the influence of the extraction parameters on the polyphenol content and antioxidant capacity of the extract. The suitable extraction conditions were as follows: water solvent/material ratio 17 : 1 v/w, pH 4.5, enzyme concentration 1%, extraction temperature 45°C and extraction time 55 minutes. The obtained extracts had total phenolic and flavonoid content of 475.57±4.38 mg GAE/100 g dry weight and 439.22±1.23 mg QE/100 g dry weight, respectively. The extract's antioxidant capacity determined by DPPH assay was 1022.85±8.88 µmol TE/100 g dry weight, and the ferric reducing power was 1218.27±24.72 µmol TE/100 g dry weight. The kinetic parameters of cellulase-assisted extraction such as extraction capacity (Ce), initial extraction rate (h), and extraction rate constant (k) were all significantly higher than those of non-enzyme extraction.

Keywords: *Antioxidant capacity, enzyme-assisted extraction, kinetic parameter, polyphenol, watermelon rind.*

Người phản biện: TS. Dương Thị Phượng Liên
Ngày nhận bài: 6/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 3/4/2023
Ngày duyệt đăng: 10/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ BẢO QUẢN ĐẾN SỰ BIẾN ĐỔI SAU THU HOẠCH MỘT SỐ GIỐNG XOÀI (*Mangifera indica* L.) PHỔ BIẾN TẠI AN GIANG

Vũ Thị Thanh Đào[1,*], Nguyễn Thị Mỹ Duyên[1], Trần Nghĩa Khang[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản đến sự thay đổi đặc tính hóa lý của 8 giống xoài trồng phổ biến trên địa bàn tỉnh An Giang, bao gồm xoài Đài Loan, Thái Xanh, Keo, Cát Hòa Lộc, Cát Chu, Thanh Ca, Thơm Vĩnh Hòa và Úc. Kết quả thu được cho thấy, độ chắc thịt quả, hàm lượng chất khô tổng số, tro, axit tổng và vitamin C có xu hướng giảm, trong khi đó hàm lượng chất khô hòa tan, đặc biệt là hàm lượng đường tổng số lại tăng lên. Xu hướng biến đổi sau thu hoạch xảy ra tương tự ở các giống xoài và ở cả 2 nhiệt độ bảo quản lạnh (10±2°C) và bảo quản thường (30±2°C). Tuy nhiên, việc sử dụng nhiệt độ thấp giúp duy trì được độ sáng và màu xanh của vỏ quả, giữ được cấu trúc thịt quả và thành phần hóa học của xoài biến đổi chậm hơn so với khi bảo quản ở nhiệt độ phòng. Do đó, khi bảo quản lạnh có thể kéo dài thời gian bảo quản của xoài đến 30 - 35 ngày so với thời gian bảo quản trung bình 10 ngày ở nhiệt độ phòng (ngoại trừ xoài Đài Loan, xoài Thái Xanh và xoài Úc có thể kéo dài đến 15 ngày).

Từ khóa: *Xoài, Mangifera indica L., nhiệt độ bảo quản, An Giang.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đồng bằng sông Cửu Long chiếm khoảng 40% diện tích trồng cây ăn trái của cả nước với khoảng 307.000 ha diện tích cây ăn trái [1]. Xoài (*Mangifera indica* L.) thuộc họ Anacardiaceae là một trong những loại cây ăn quả quan trọng được ưa chuộng và trồng nhiều nơi trên thế giới. Cây xoài có thể trồng ở hầu hết các vùng sinh thái khác nhau, từ vùng núi cao đến vùng trũng, ngập lũ, phèn, mặn,… nên rất gần gũi với nông dân vùng đồng bằng sông Cửu Long [2]. An Giang là tỉnh đứng đầu cả nước về sản lượng trồng xoài đạt chất lượng xuất khẩu, tiếp đến là 2 tỉnh Đồng Tháp và Đồng Nai [1].

Xoài có hương vị đậm đà, chứa vitamin A cao hơn nhiều loại trái cây khác, hàm lượng vitamin C trong xoài cũng vào loại khá, ngoài ra, xoài còn chứa nhiều chất khác như protein, lipit, gluxit, tro, canxi, sắt, phốt pho... [3], [4]. Do đó, xoài là một trong những loại quả cây có tiềm năng và khả năng cạnh tranh cao trên thị trường, được sử dụng rộng rãi với nhiều mục đích khác nhau.

Xoài là loại quả có hô hấp đột phát và chứa hàm lượng nước cao nên quả tươi rất dễ bị dập nát và thối rữa khi bảo quản trong môi trường không thích hợp. Một số biến đổi chất lượng quả xoài thường gặp như các biến đổi về vị, màu sắc, khối lượng, kích thước và hình dạng [5]. Việc bảo quản xoài tươi sau thu hoạch để hạn chế hư hỏng và duy trì chất lượng được lâu góp phần nâng cao giá trị kinh tế của xoài trong chế biến, vận chuyển, phân phối và xuất khẩu.

Nguyễn Nhật Minh Phương và cs (2006) [6] đã nghiên cứu sử dụng nhiệt độ thấp và lựa chọn bao bì phù hợp trong tồn trữ quả xoài Cát Hòa Lộc sau thu hoạch để giữ được chất lượng và giá trị cảm quan của xoài đến 32 ngày. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu theo dõi thời gian bảo quản đến biến đổi phẩm chất của vỏ quả và chất lượng thịt quả của các giống xoài trồng ở Việt Nam. Do đó, nghiên cứu này sẽ cung cấp nguồn dữ liệu cho thấy sự biến đổi sau thu hoạch về đặc tính lý hóa

[1] Khoa Nông nghiệp – TNTN, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[*]Email: vttdao@agu.edu.vn

và thành phần quả xoài theo thời gian bảo quản, đồng thời góp phần tìm ra giải pháp hữu hiệu nhằm giảm tổn thất sau thu hoạch và kéo dài thời gian bảo quản quả xoài.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu sử dụng

Qua quá trình khảo sát tại 5 huyện có diện tích trồng xoài lớn của tỉnh An Giang (Chợ Mới, An Phú, Tân Châu, Tịnh Biên và Tri Tôn), đã xác định được 8 giống xoài trồng phổ biến tại An Giang 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, Úc).

Quả 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 xoài ăn chín có thời gian thu hoạch trong khoảng 110 - 120 ngày sau khi đậu quả, trong khi nhóm xoài ăn sống 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 quả.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Địa điểm thực hiện: Khu thí nghiệm trung tâm, Trường Đại học An Giang.

- Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 1 nhân tố và 3 lần lặp lại.

Nhân tố A: giống xoài: A_1: Xoài Cát Hòa Lộc; A_2: Xoài Cát Chu; A_3: Xoài Thanh Ca; A_4: Xoài Thơm; A_5: Xoài Thái Xanh; A_6: Xoài Đài Loan; A_7: Xoài Keo; A_8: Xoài Úc.

Xoài sau khi thu hoạch, được lau sạch bên ngoài quả, để ráo và bảo quản trong bao bì PE (30 x 40 mm) có đục lỗ với đường kính lỗ 5 mm, tỉ lệ đục lỗ 0,5% so với tổng diện tích bao bì, các lỗ được bố trí đều trên hai mặt của bao bì. Bảo quản song song các mẫu ở điều kiện nhiệt độ bình thường (30 ± 2^0C) với độ ẩm không khí đo được khoảng 65-74% và ở nhiệt độ tủ mát 10 ± 2^0C. Theo dõi, đánh giá sự biến đổi các chỉ tiêu hóa lý và cảm quan của các giống xoài sau mỗi 5 ngày bảo quản. Thời gian bảo quản dự kiến là 35 ngày hoặc đến khi mẫu hỏng.

Chỉ tiêu đánh giá bao gồm: Các số liệu về tổng số chất khô hòa tan, hàm lượng tro tổng, đường tổng, vitamin C và axit tổng số (độ chua) được dùng để đánh giá sự thay đổi chất lượng quả trong thời gian bảo quản. Số liệu về độ chắc và giá trị màu sắc quả được dùng để đánh giá sự thay đổi cảm quan quả trong thời gian bảo quản.

Độ chắc (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 (^{o}Bx) được xác định bằng brix kế Atago - Nhật Bản (Model N-2E).

Các chỉ tiêu hóa học được phân tích theo Phạm Văn Sổ và Bùi Thị Nhu Thuận (1975) [7]. Hàm lượng tro tổng (%) được xác định theo phương pháp nung thành tro trắng ở 550 - 600^{o}C. Hàm lượng axit tổng số (%) được xác định theo phương pháp chuẩn độ bằng NaOH 0,1N 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 iôt 0,01 N với chỉ thị hồ tinh bột.

Các số liệu thu thập được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel và thống kê bằng chương trình Statgraphics Centurion XV.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Nhiệt độ là yếu tố rất quan trọng trong bảo quản thực phẩm. Việc bảo quản lạnh giúp làm chậm biến đổi của xoài hơn so với bảo quản nhiệt độ phòng, do đó giúp kéo dài thời gian bảo quản.

Bảng 1. Thời gian bảo quản của các giống xoài theo nhiệt độ

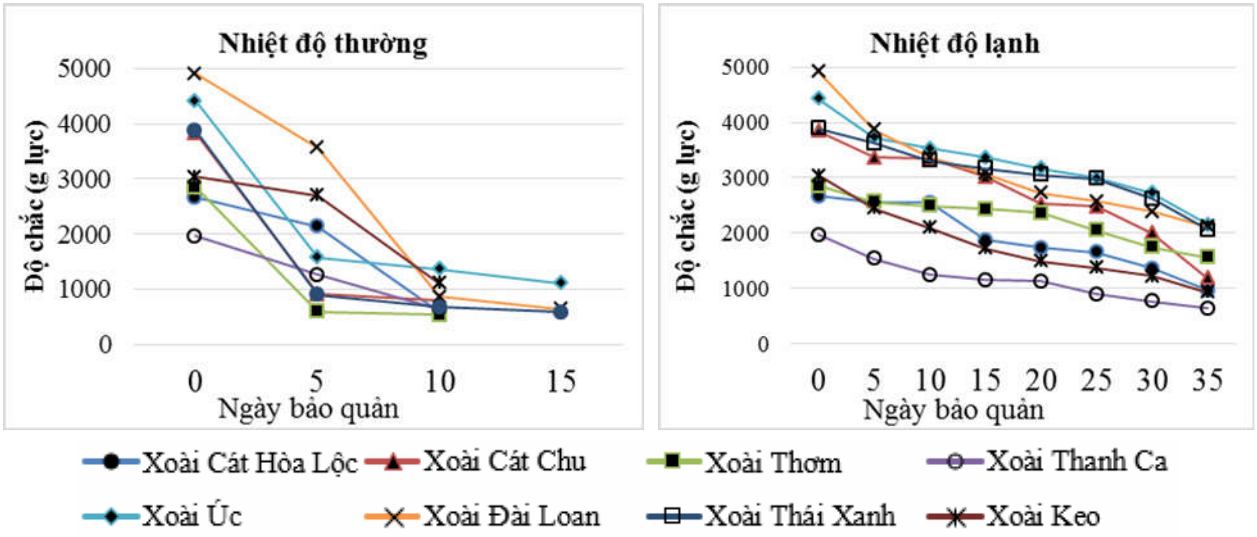
STT	Giống xoài	Thời gian bảo quản (ngày)	
		Bảo quản nhiệt độ thường	Bảo quản nhiệt độ lạnh
1	Cát Hòa Lộc	10	35

2	Cát Chu	10	35
3	Thơm	10	35
4	Thanh Ca	10	35
5	Úc	15	35
6	Đài Loan	15	35
7	Thái Xanh	15	35
8	Keo	10	35

3.1. Sự biến đổi về chỉ tiêu vật lý của các giống xoài dưới ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản

3.1.1. Sự biến đổi cấu trúc của xoài dưới ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản

Sự thay đổi độ chắc là một trong những điểm đặc trưng trong quá trình chín của rau quả.



Hình 1. Sự thay đổi cấu trúc của xoài theo thời gian bảo quản

Độ chắc thịt quả đều có xu hướng giảm dần theo thời gian bảo quản ở tất cả các giống xoài và khác biệt về mặt thống kê mức ý nghĩa 5% (Hình 1). Tuy nhiên, ở nhiệt độ bình thường thì độ chắc thịt quả của các giống xoài đều giảm đi nhanh chóng và thể hiện khá rõ rệt, nhưng các mẫu bảo quản lạnh có độ chắc thịt quả giảm chậm hơn. Nhìn chung, sau 35 ngày bảo quản, giống xoài Úc giữ được độ chắc tốt hơn so với các giống khác, tiếp đến là xoài Đài Loan và xoài Thái Xanh, thấp nhất là xoài Thanh Ca. Kết quả phân tích trên cũng phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Nhật Minh Phương và cs (2006) [6].

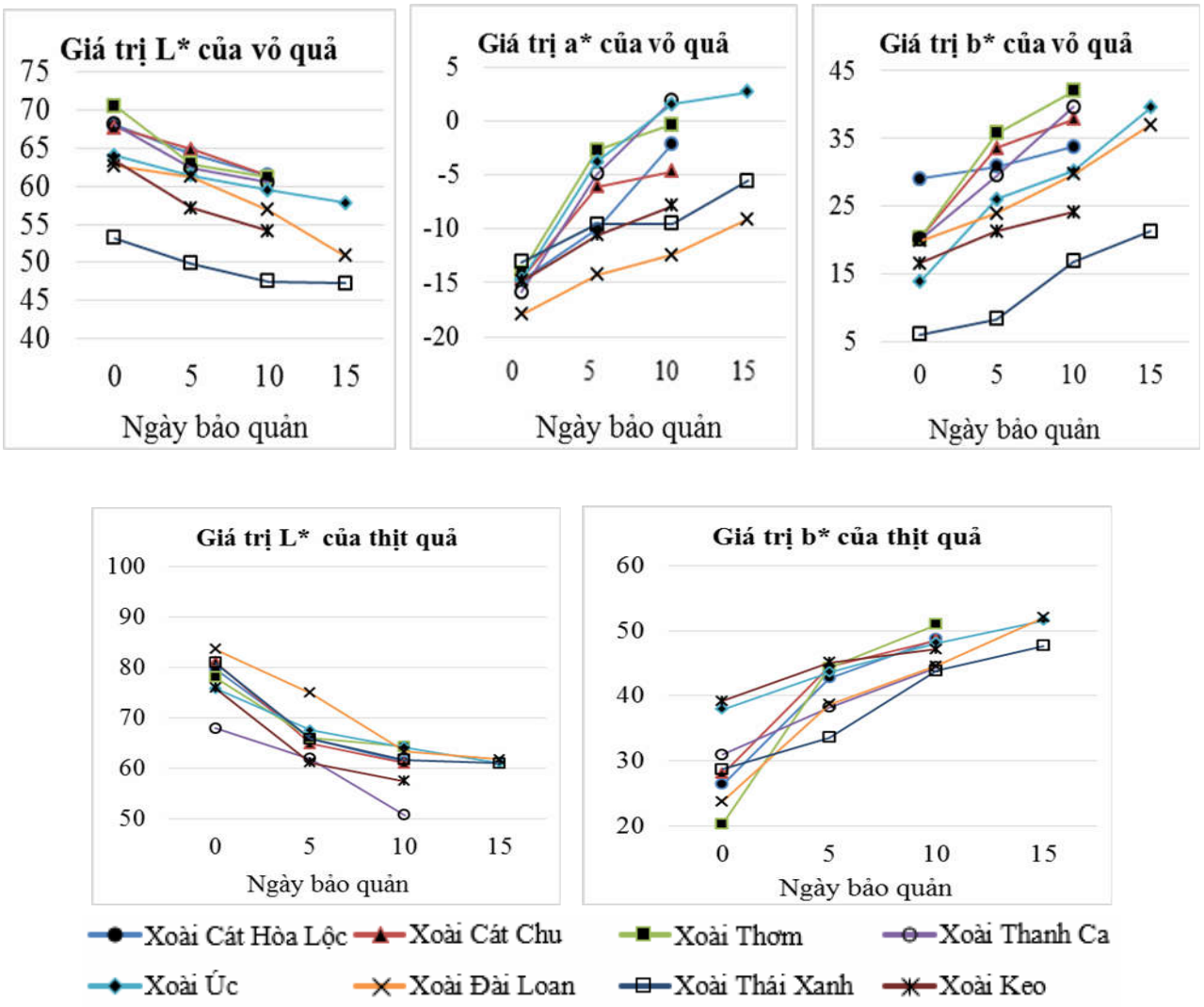
Trong suốt quá trình chín, các phản ứng thủy phân protopectin thành pectin hòa tan làm giảm độ chắc quả, tốc độ giảm độ chắc nhanh hay chậm tùy thuộc vào tốc độ phản ứng thủy phân. Mặt khác, khi tồn trữ ở nhiệt độ bình thường quá trình hô hấp diễn ra nhanh, hàm lượng chất khô hòa tan tiêu hao cho quá trình hô hấp nhiều, hệ keo bị lão hóa, cường độ hô hấp giảm, quá trình thoái hóa tinh bột diễn ra, tinh bột chuyển thành đường nhiều, hàm lượng nước thoát ra ít làm cho cấu trúc quả mềm đi [8].

3.1.2. Sự biến đổi giá trị màu sắc của xoài dưới ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản

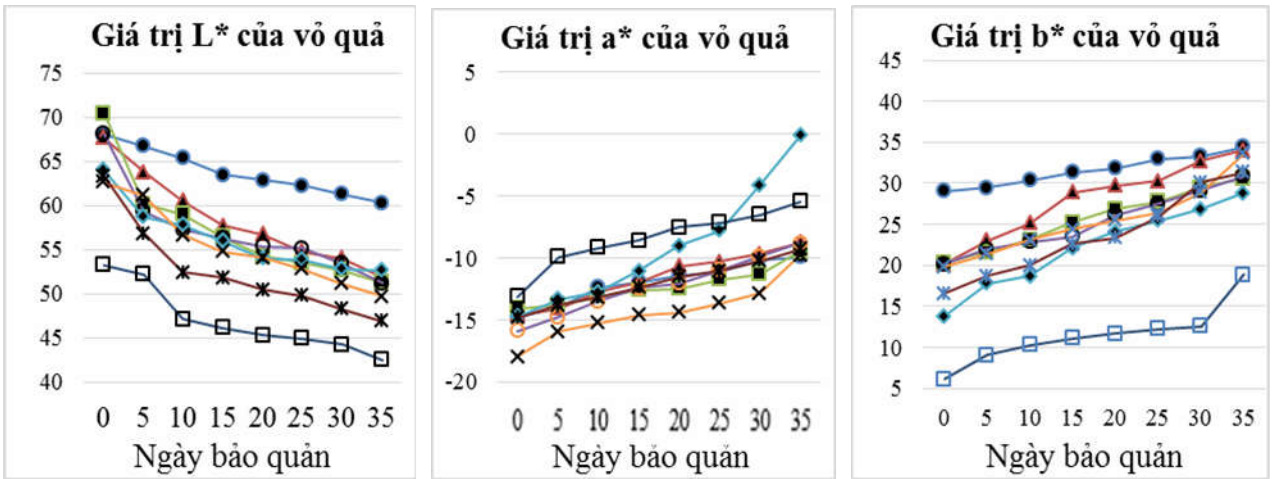
Màu sắc là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng và biểu thị mức độ chín của xoài.

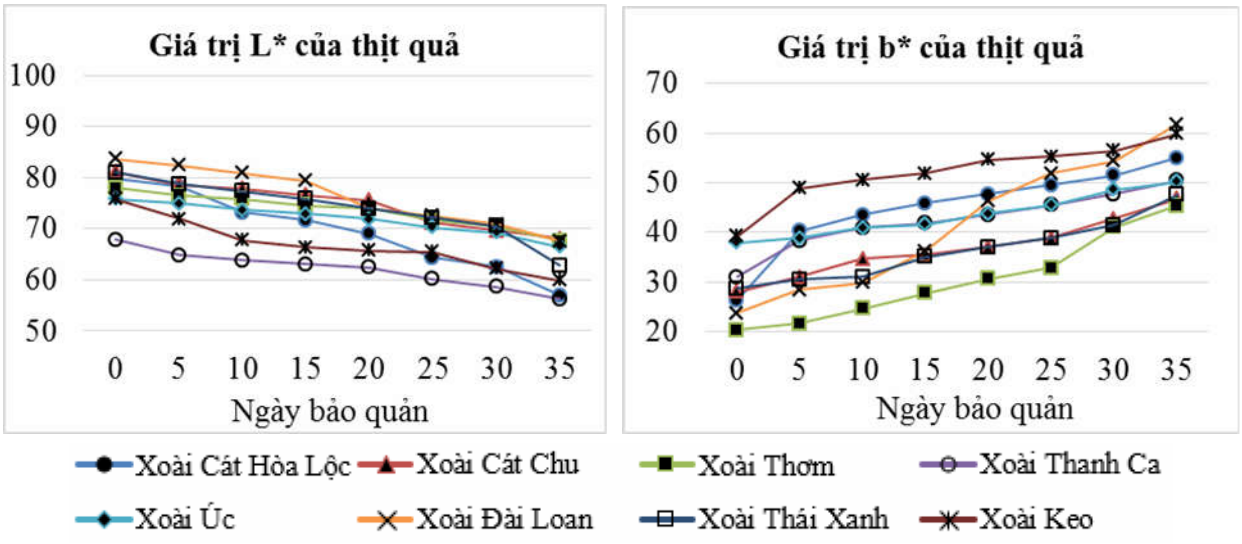
Kết quả đánh giá về màu sắc vỏ xoài được trình bày tại hình 2 cho thấy, trong suốt quá trình bảo quản, giá trị màu xanh của xoài giảm (thể hiện qua giá trị a tăng), đồng thời giá trị màu vàng tăng lên (thể hiện qua giá trị b* tăng) dẫn đến độ sáng

của xoài giảm (thể hiện qua giá trị L* giảm). Nguyên nhân là do các chất lục lạp trong quả mất dần chlorophyll trong quá trình chín và chuyển thành sắc lục lạp có chứa chất màu caroten [9].



Hình 2. Sự thay đổi giá trị màu sắc của các giống xoài ở nhiệt độ thường



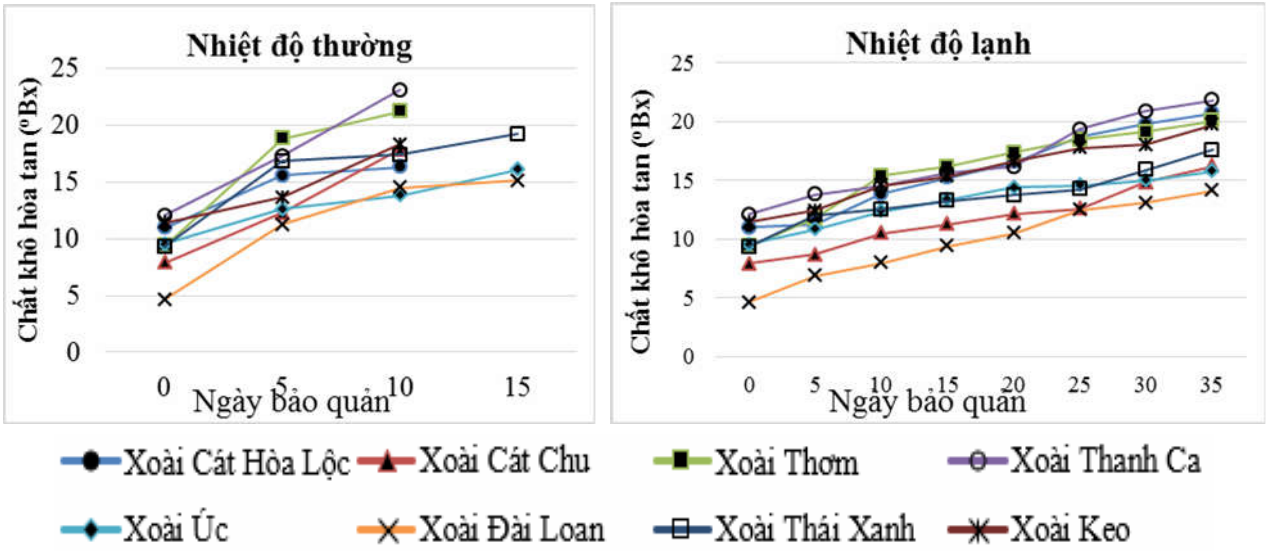


Hình 3. Sự thay đổi giá trị màu sắc của các giống xoài ở nhiệt độ lạnh

Xu hướng tương tự cũng diễn ra khi đánh giá màu sắc của thịt quả xoài (Hình 3). Ở nhiệt độ bình thường, màu sắc của vỏ và thịt quả thay đổi rất nhanh, tuy nhiên ở các mẫu bảo quản nhiệt độ lạnh thì sự thay đổi này diễn ra khá chậm, hầu hết vẫn giữ được màu xanh của vỏ quả và giữa các mẫu ít có sự chênh lệch. Điều này chứng tỏ nhiệt độ lạnh giúp duy trì màu sắc xoài khá tốt.

3.2. Sự biến đổi về chỉ tiêu hóa học của các giống xoài dưới ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản

3.2.1. Sự biến đổi hàm lượng chất khô hòa tan của xoài dưới ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản



Hình 4. Sự thay đổi chất khô hòa tan của các giống xoài theo thời gian bảo quản

Hàm lượng chất khô là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng của quả trong quá trình bảo quản. Kết quả ở hình 4 cho thấy, hàm lượng chất khô hòa tan của các giống xoài tăng lên trong suốt thời gian bảo quản ở cả hai nhiệt độ. Sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ($p<0,05$). Bên cạnh đó, sự thay đổi hàm lượng chất khô của xoài ở nhiệt độ phòng diễn ra nhanh hơn so với nhiệt độ lạnh.

Dưới tác dụng của enzim protopectinaza, protopectin bị thủy phân chuyển hóa thành pectin hòa tan các polysacarit khác trong quả cây như xenluloza và hemixenluloza, tinh bột bị thủy phân, từ đó làm giảm cấu trúc tế bào với sự phát triển của vị ngọt do tích lũy dẫn đến hàm lượng chất khô hòa tan tăng theo. Như vậy, khi hàm lượng chất khô hòa tan càng cao, độ ngọt quả càng tăng. Sau quá trình bảo quản thì xoài Thanh Ca có hàm

lượng chất khô hòa tan cao nhất và thấp nhất là xoài Đài Loan.

3.2.2. Sự biến đổi hàm lượng tro tổng của xoài dưới ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản

Bảng 1. Sự thay đổi hàm lượng tro tổng (%) của các giống xoài theo thời gian bảo quản

Ngày bảo quản		Giống xoài							
		Cát Hòa Lộc	Cát Chu	Thơm	Thanh Ca	Úc	Đài Loan	Thái Xanh	Keo
Nhiệt độ thường	0	0,44^{a}	0,44^{a}	0,41^{a}	0,42^{ab}	0,45^{a}	0,45^{a}	0,43^{a}	0,45^{a}
	5	0,22^{a}	0,36^{a}	0,40^{a}	0,37^{b}	0,42^{a}	0,36^{a}	0,31^{b}	0,40^{a}
	10	0,37^{a}	0,39^{a}	0,37^{a}	0,51^{a}	0,37^{a}	0,38^{a}	0,39^{ab}	0,39^{a}
	15	-	-	-	-	0,42^{a}	0,39^{a}	0,34^{ab}	-
Nhiệt độ lạnh	0	0,44^{a}	0,40^{ab}	0,44^{a}	0,36^{ab}	0,33^{ab}	0,43^{a}	0,38^{ab}	0,40^{ab}
	5	0,44^{a}	0,32^{b}	0,33^{b}	0,33^{b}	0,35^{ab}	0,34^{ab}	0,38^{ab}	0,37^{b}
	10	0,41^{b}	0,40^{ab}	0,41^{ab}	0,42^{a}	0,42^{a}	0,45^{a}	0,44^{a}	0,45^{a}
	15	0,42^{ab}	0,43^{a}	0,42^{ab}	0,36^{ab}	0,35^{ab}	0,35^{ab}	0,39^{ab}	0,42^{a}
	20	0,45^{a}	0,39^{ab}	0,38^{ab}	0,33^{b}	0,42^{a}	0,36^{ab}	0,40^{a}	0,39^{ab}
	25	0,45^{a}	0,39^{ab}	0,32^{b}	0,37^{ab}	0,42^{a}	0,42^{a}	0,43^{a}	0,38^{ab}
	30	0,43^{ab}	0,34^{b}	0,38^{ab}	0,31^{b}	0,32^{b}	0,40^{a}	0,40^{ab}	0,40^{ab}
	35	0,45^{a}	0,40^{ab}	0,38^{ab}	0,39^{ab}	0,35^{ab}	0,33^{b}	0,37^{b}	0,34^{b}

Ghi chú: Các số có cùng kí tự a, b, c… trong cùng một hàng không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD; "-" Mẫu hỏng.

Hàm lượng tro trong thực phẩm thường được sử dụng để biểu thị cho hàm lượng khoáng chất có trong nguyên liệu. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng tro tổng ở mỗi giống không có sự khác biệt theo thời gian bảo quản ở mức ý nghĩa 5% (Bảng 1). Nói cách khác, nhiệt độ bảo quản không ảnh hưởng đến hàm lượng tro tổng của xoài mà chủ yếu bị ảnh hưởng bởi nơi trồng, đất đai, điều kiện chăm sóc.

3.2.3. Sự biến đổi hàm lượng axit và đường tổng số của xoài dưới ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản

Độ chua thường được thể hiện qua hàm lượng axit tổng số. Kết quả ở bảng 2 cho thấy, hàm lượng axit tổng số có xu hướng giảm dần theo quá trình bảo quản ở tất cả các mẫu đối với mỗi giống xoài. Sự khác biệt về hàm lượng axit tổng số giữa các giống xoài đều có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Điều này có thể giải thích, do việc sử dụng chất khô bao gồm các axit hữu cơ của xoài vào hoạt động hô hấp cũng như việc tham gia vào quá trình decacboxyl hoá của các axit hữu cơ trong quá trình bảo quản. Ngoài ra, tốc độ giảm hàm lượng axit tổng số ở các mẫu bảo quản lạnh xảy ra chậm hơn so với các mẫu bảo quản ở nhiệt độ phòng và giữa các mẫu ở các giống còn lại có sự chênh lệch hàm lượng axit tổng số không nhiều. Đến ngày 35, xoài Thái Xanh có hàm lượng axit tổng thấp nhất và cao nhất là xoài Cát Chu.

Bảng 2. Sự thay đổi hàm lượng axit tổng số (%) của các giống xoài theo thời gian bảo quản

Ngày bảo quản		Giống xoài							
		Cát Hòa Lộc	Cát Chu	Thơm	Thanh Ca	Úc	Đài Loan	Thái Xanh	Keo
Nhiệt độ thường	0	1,06^{ef}	2,93^{a}	2,51^{b}	1,48^{c}	0,84^{fg}	1,20^{de}	0,62^{g}	1,41^{cd}
	5	0,44^{c}	1,92^{a}	1,04^{b}	0,49^{c}	0,62^{c}	0,89^{b}	0,53^{c}	0,99^{b}
	10	0,23^{b}	0,25^{a}	0,13^{f}	0,12^{f}	0,19^{d}	0,20^{c}	0,12^{f}	0,15^{e}
	15	-	-	-	-	0,10^{b}	0,17^{a}	0,09^{c}	-
Nhiệt độ lạnh	0	1,06^{ef}	2,93^{a}	2,51^{b}	1,48^{c}	0,84^{fg}	1,20^{de}	0,62^{g}	1,41^{cd}
	5	1,04^{ab}	0,88^{bc}	0,79^{b}	1,2^{a}±	0,52^{c}	0,78^{b}	0,40^{c}	1,09^{a}
	10	0,96^{b}	0,68^{c}	0,65^{c}	1,12^{a}±	0,46^{d}±	0,64^{c}	0,29^{e}	0,97^{b}
	15	0,67^{bc}	0,68^{bc}	0,57^{bc}	0,89^{a}	0,36^{d}±	0,53^{c}	0,24^{d}	0,69^{b}
	20	0,46^{c}	0,64^{b}	0,5^{c}	0,76^{a}	0,33^{d}	0,45^{c}	0,23^{e}	0,51^{c}
	25	0,39^{c}	0,62^{a}	0,41^{c}	0,53^{b}	0,29^{d}	0,41^{c}	0,20^{e}	0,42^{c}
	30	0,36^{b}	0,45^{a}	0,33^{b}	0,35^{b}	0,22^{c}	0,30^{b}	0,14^{d}	0,32^{b}
	35	0,28^{bc}	0,42^{a}	0,13^{e}	0,33^{b}	0,17^{de}	0,24^{cd}	0,11^{e}	0,24^{cd}

Ghi chú: Các số có cùng kí tự a, b, c… trong cùng một hàng không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD; "-": Mẫu hỏng.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, cùng với sự giảm độ chua là sự tăng độ ngọt của xoài trong quá trình chín. Nguyên nhân của sự biến đổi này có liên quan trực tiếp đến sự phân cắt phức chất hidrat các bon thành đường đơn bởi hoạt động của enzim [10]. Nhìn chung, hàm lượng đường tổng số ở các mẫu đều có xu hướng tăng trong thời gian bảo quản ở cả 2 nhiệt độ và mang ý nghĩa thống kê. Cụ thể, ở thời điểm ban đầu, hàm lượng đường tổng trong xoài Úc và Thái Xanh là cao nhất, trong khi xoài Đài Loan có ít nhất. Tuy nhiên, sau thời gian bảo quản thì hàm lượng đường tổng trong xoài Thanh Ca có giá trị lớn nhất, tiếp đến là xoài Cát Hòa Lộc và thấp nhất là xoài Cát Chu.

Bảng 3. Sự thay đổi đường tổng số (%) của các giống xoài theo thời gian bảo quản

Ngày bảo quản		Giống xoài							
		Cát Hòa Lộc	Cát Chu	Thơm	Thanh Ca	Úc	Đài Loan	Thái Xanh	Keo
	0	6,48^{bc}	7,08^{ab}	6,29^{bc}	6,10^{c}	7,50^{a}	5,28^{d}	7,48^{a}	5,72^{cd}
	5	10,41^{bc}	11,98^{a}	10,15^{c}	11,11^{b}	8,23^{d}	7,01^{e}	9,92^{c}	8,47^{d}

Nhiệt độ thường	10	17,13^{b}	13,82^{c}	13,25^{c}	20,79^{a}	9,03^{e}	9,24^{e}	11,08^{d}	16,33^{b}
	15	-	-	-	-	10,21^{c}	19,86^{a}	15,65^{b}	-
Nhiệt độ lạnh	0	6,48^{bc}	7,08^{ab}	6,29^{bc}	6,10^{c}	7,50^{a}	5,28^{d}	7,48^{a}	5,72^{cd}
	5	7,12^{cd}	7,59^{bc}	7,73^{bc}	7,71^{bc}	7,99^{b}	6,72^{d}	8,79^{a}	6,65^{d}
	10	7,93^{bcd}	8,17^{bc}	8,31^{abc}	8,47^{ab}	8,18^{bc}	7,41^{d}	8,91^{a}	7,77^{cd}
	15	9,15^{c}	8,31^{d}	8,53^{d}	11,05^{a}	8,66^{d}	8,43^{d}	9,35^{c}	10,11^{b}
	20	10,20^{c}	8,46^{e}	9,10^{d}	12,85^{a}±	8,78^{de}	8,90^{de}	10,96^{b}	11,31^{b}
	25	12,28^{c}	8,72^{e}	9,78^{d}	14,51^{a}	9,06^{e}	10,00^{d}	12,89^{b}	12,55^{bc}
	30	13,68^{c}	9,53^{f}	10,53^{e}	16,24^{a}	9,43^{f}	11,96^{d}	13,14^{c}	15,21^{b}
	35	18,96^{ab}	11,39^{e}	15,03^{d}	19,79^{a}	11,25^{e}	18,72^{b}	16,24^{c}	16,73^{c}

Ghi chú: Các số có cùng kí tự a, b, c…trong cùng một hàng không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD; "-": Mẫu hỏng.

3.2.4. Sự biến đổi hàm lượng vitamin C của xoài dưới ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản

Hàm lượng vitamin C trong quả cây và rau quả thay đổi rất nhanh khi tồn trữ, do đó đây là một trong những chỉ tiêu quan trọng đánh giá hiệu quả của quá trình bảo quản [6]. Các kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng vitamin C của các giống xoài giảm dần theo quá trình bảo quản đối với mỗi giống xoài (Bảng 4). Nguyên nhân là do trong quá trình bảo quản, protopectin và hemixenluloza bị thủy phân làm cho cấu trúc tế bào không còn chặt chẽ nên không khí dễ đi vào trong quả và thúc đẩy quá trình oxy hóa vitamin C dưới tác dụng của emzim ascobinoxydaza [11]. Ở nhiệt độ thấp, quá trình oxy hóa diễn ra chậm hơn nên nên hàm lượng vitamin C ít bị biến đổi hơn. Trong số các giống xoài khảo sát thì xoài Thanh Ca có hàm lượng vitamin C cao nhất, kế đến là xoài Cát Hòa Lộc nên hàm lượng vitamin C còn lại sau quá trình bảo quản cũng nhiều nhất.

Bảng 4. Sự thay đổi vitamin C (mg/100 g) của các giống xoài theo thời gian bảo quản

Ngày bảo quản		Giống xoài							
		Cát Hòa Lộc	Cát Chu	Thơm	Thanh Ca	Úc	Đài Loan	Thái Xanh	Keo
Nhiệt độ thường	0	0,94^{a}	0,28^{d}	0,32^{cd}	1,09^{a}	0,23^{d}	0,50^{bc}	0,21^{d}	0,67^{b}
	5	0,89^{a}	0,19^{e}	0,25^{de}	0,65^{b}	0,17^{e}	0,33^{cd}	0,18^{e}	0,42^{c}
	10	0,57^{a}	0,16^{cd}	0,11^{d}	0,6^{a}	0,15^{d}	0,25^{b}	0,17^{bcd}	0,24^{bc}
	15	-	-	-	-	0,14^{b}	0,23^{a}	0,12^{c}	-
	0	0,94^{a}	0,28^{d}	0,32^{cd}	1,09^{a}	0,23^{d}	0,50^{bc}	0,21^{d}	0,67^{b}

Nhiệt độ lạnh	5	0,71^{b}	0,21^{d}	0,20^{d}	0,92^{a}	0,16^{d}	0,41^{c}	0,19^{d}	0,42^{c}
	10	0,73^{b}	0,19^{d}	0,17^{d}	0,89^{a}	0,13^{d}	0,31^{c}	0,17^{d}	0,34^{c}
	15	0,68^{a}	0,17^{d}	0,15^{d}	0,59^{b}	0,11^{d}	0,30^{c}	0,15^{d}	0,30^{c}
	20	0,65^{a}	0,15^{d}	0,13^{d}	0,57^{b}	0,10^{d}	0,28^{c}	0,14^{d}	0,27^{c}
	25	0,35^{b}	0,14^{de}	0,12^{e}	0,42^{a}	0,09^{e}	0,24^{c}	0,12^{e}	0,21^{cd}
	30	0,33^{a}	0,12^{de}	0,09^{ef}	0,3^{b}	0,08^{f}	0,21^{c}	0,11^{ef}	0,14^{d}
	35	0,17^{b}	0,08^{de}	0,07^{de}	0,29^{a}	0,09^{de}	0,12^{c}	0,06^{e}	0,09^{cd}

Ghi chú: Các số có cùng kí tự a, b, c…trong cùng một hàng không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD; "-": Mẫu hỏng.

4. KẾT LUẬN

Trong suốt quá trình bảo quản, độ chắc, hàm lượng chất khô tổng số, tro, axit và vitamin C có xu hướng giảm, trong khi đó hàm lượng chất khô hòa tan, đặc biệt là hàm lượng đường tổng số của xoài lại tăng lên. Bên cạnh đó, nhiệt độ bảo quản có ảnh hưởng đến sự biến đổi chất lượng và thời gian bảo quản của xoài. Ở nhiệt độ lạnh 10 ± 2°C, xoài giữ được màu sắc, cấu trúc và thành phần hóa học ít bị biến đổi trong thời gian bảo quản hơn so với ở nhiệt độ bình thường 30 ± 2°C. Một số giống như xoài Đài Loan, xoài Thái Xanh đến ngày 35 vẫn chưa có dấu hiệu hư hỏng.

Trong những nghiên cứu tiếp theo cần khảo sát các phương pháp xử lí xoài sau thu hoạch, cũng như đánh giá sự biến đổi các hợp chất có giá trị như các hợp chất sinh học, các chất màu, mùi có trong xoài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. 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, tháng 4 năm 2020.

2. Nguyễn Bảo Vệ và Lê Thanh Phong (2011). *Giáo trình Cây ăn quả*. Nxb Đại học Cần Thơ.

3. Trần Thế Tục, Ngô Hồng Bình (2004). *Cây xoài và kỹ thuật trồng*. Nxb Lao động - Xã hội.

4. Nguyễn Văn Luật, Nguyễn Minh Châu, Lê Thị Thu Hồng (2009). Xoài - *Giống và kỹ thuật trồng trọt*. Nxb Nông nghiệp.

5. Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Thị Mỹ Tuyền (2016). *Kỹ thuật sau thu hoạch (Bảo quản và chế biến) một số loại nông sản ở đồng bằng sông Cửu Long*. Nxb Đại học Cần Thơ.

6. Nguyễn Nhật Minh Phương, Lâm Thị Việt Hà, Võ Xuân Minh Đăng, Lý Nguyễn Bình, Nguyễn Văn Mười (2006). Ảnh hưởng của nhiệt độ và bao bì đến chất lượng và thời gian bảo quản xoài Cát Hòa Lộc. *Tạp chí Nghiên cứu Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 2006:6, 9-17.

7. Phạm Văn Sổ và Bùi Thị Nhu Thuận (1975). Kiểm nghiệm lương thực và thực phẩm. Nxb Khoa học và Kỹ thuật.

8. Nuzba Anjum (2006). Effect of various Coating on keeping quality of mangose (*Mangifera indica*) stored at low temperature. Dearment of food and technology: University of Ariid Agriculture Rawalpindin. Pakistan.

9. Lê Văn Tán, Nguyễn Thị Hiền, Hoàng Thị Lệ Hằng và Quản Lê Hà (2008). *Công nghệ bảo quản và chế biến rau quả*. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

10. Rathore H. A. K. (2007). Effect of surface coating and packaging on the keeping quality of mango (*Mangifera indica* L.). Faculty of Crop and

Food Sciences, University of Arid Agriculture Rawanpindi, Pakistan.

11. Trần Thị Kim Ba (2007). Nâng cao năng suất, phẩm chất và kéo dài thời gian tồn trữ xoài cát Hòa Lộc bằng biện pháp xử lý hóa chất trước và sau thu hoạch. Luận án Tiến sỹ Nông nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ.

EFFECTS OF STORAGE TEMPERATURE ON POST-HARVEST CHANGES FOR MANGO VARIETIES (*Mangifera indica* L.) IN AN GIANG

Vu Thi Thanh Dao, Nguyen Thi My Duyen, Tran Nghia Khang

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 *Moringa oleifera* - Taiwanese mango, *Morinda officinalis How* - Thai xanh mango, Ta Keo mango, Cat Hoa Loc mango, Cat Chu mango, *Mangifera mekongensis* - Thanh Ca mango, *Mangifera odorata* - Thom mango and *Kensington Pride* – Uc mango. Results showed that pulp hardness, total dry matter content, ash, acid and vitamin C content tended to decrease, while soluble dry matter content, especially total sugar content increased. Postharvest change trends were similar for mango cultivars at both cold (10 ± 2°C) and normal (30 ± 2°C) storage temperatures. However, the use of low temperature helps to keep the brightness and green color of the skin, preserves the pulp structure, the chemical composition of mango changes more slowly than when stored at room temperature. Therefore, cold storage can extend the shelf life of mango to 30 - 35 days compared to the average storage time of 10 days at room temperature, except for *Moringa oleifera*, *Morinda officinalis How* and *Kensington Pride* mango that can be stored up to 15 days.

Keywords: *Mango, Mangifera indica* L., *storage temperature, An Giang.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Phong
Ngày nhận bài: 6/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 5/4/2023
Ngày duyệt đăng: 12/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN SẤY PHUN ĐẾN SẢN XUẤT BỘT HÒA TAN TỪ DỊCH CHIẾT VỎ LỤA HẠT ĐIỀU (*Anacardium occidentale* L.) SỬ DỤNG CHẤT MANG GUM ARABIC VÀ GELATIN

Hoàng Văn Thảnh[1], Lê Thị Kim Ngân[2, 4],
Nguyễn Xuân Hoàn[1], Phạm Văn Hùng[2, 4], Nguyễn Thị Lan Phi[3, 4, *]

TÓM TẮT

Điều là nguồn nguyên liệu có chứa các hợp chất phenolic và chất chống oxy hóa, đặc biệt là trong các phụ phẩm như vỏ lụa và quả điều tươi, trong khi những loại này chưa được sử dụng có hiệu quả. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định các điều kiện sấy phun thích hợp bao gồm các biến độc lập như: Nhiệt độ sấy phun (110°C, 130°C, 160°C), nồng độ gum arabic (5%, 10%, 15%) và tỷ lệ phối trộn giữa gum arabic và gelatin (7: 3, 6: 4, 5: 5) để thu được bột hòa tan từ dịch chiết vỏ lụa hạt điều *(Anacardium occidentale* L.*)* có hàm lượng phenolic tổng, flavonoit tổng, catechin tổng và khả năng bắt gốc tự do DPPH cao. Điều kiện sấy phun được xác định với các thông số như sau: Nhiệt độ đầu vào 130°C, nồng độ chất mang là 10% và tỷ lệ phối trộn gum arabic và gelatin là 6: 4. Kết quả nghiên cứu cho thấy, bột hòa tan từ vỏ lụa hạt điều có hàm lượng phenolic tổng là 57,62 ± 0,70 (mg GAE/g chất khô), hàm lượng flavonoit tổng là 84,93 ± 1,09 (mg RE/g chất khô), hàm lượng catechin tổng là 40,43 ± 0,63 (mg CE/g chất khô) và khả năng bắt gốc tự do DPPH là 72,03 ± 0,12%. Bột có hình tròn, độ ẩm thấp, độ hòa tan cao, có thể dùng làm thực phẩm chức năng.

Từ khóa: *Catechin tổng, flavonoit tổng, phenolic tổng, vỏ lụa hạt điều, kháng oxy hóa DPPH, sấy phun.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vỏ lụa hạt điều là phụ phẩm của quá trình sản xuất hạt điều nhân. Theo Viswanath và cs (2016) [1] vỏ lụa chiếm 1 - 3% tổng khối lượng hạt. Đây là nguồn hydrosable tanin bao gồm các chất như: tanin, catechin, epicatechin, epigallocatechin và các proanthocyanidin. Hàm lượng của các catechin và epicatechin lần lượt là 5,70 và 4,46 g/kg chất khô [1], [2], [3]. Theo Viswanath và cs (2016) [1], khoảng 25% tanin có trong vỏ ngoài của hạt điều có đặc tính giống như vỏ cây keo được sử dụng trong ngành công nghiệp thuộc da. Các axit phenolic chính như axit syringic, axit gallic và axit pcoumaric là các chất có hoạt tính sinh học có trong vỏ lụa hạt điều có khả năng kháng oxy hóa, kháng viêm, chống dị ứng và kháng khuẩn.

Theo Murugesan và Orsat (2012) [4], sấy phun là phương pháp tốt nhất để chuyển đổi trực tiếp trạng thái vật liệu từ dạng lỏng sang dạng rắn hoặc bán rắn. Sấy phun là một quá trình tương tác của nhiều thông số công nghệ, các yếu tố này ảnh hưởng đến chất lượng cuối cùng của sản phẩm [5]. Quá trình sấy phun có thể tạo ra chất lượng sản phẩm cuối cùng có hoạt độ nước thấp, giảm khối lượng, thuận tiện cho quá trình lưu trữ và vận chuyển. Các tính chất hóa lý chủ yếu của sản phẩm cuối cùng phụ thuộc vào các yếu tố đầu vào như nhiệt độ đầu vào, tốc độ dòng khí, tốc độ dòng nhập liệu, tốc độ phun, loại chất mang và nồng độ của chúng. Sấy phun thường được lựa chọn vì có thể xử lý vật liệu rất nhanh đồng thời kiểm soát tương đối sự phân bố kích thước hạt [6].

[1] Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh
[2] Bộ môn công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[3] Bộ môn công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[4] Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
* Email: lanphi@hcmut.edu.vn

Theo Kha Chấn Tuyền và cs (2010) [7], một số chất mang thường được sử dụng trong quá trình sấy phun như maltodextrin, gum arabic và gelatin để làm chất trợ sấy. Hiện nay, gum arabic và gelatin là những chất mang được sử dụng rộng rãi cho quá trình sấy phun do có giá thành rẻ, có sẵn trên thị trường và khả năng hỗ trợ sấy tốt. Mặc dù vậy, chưa có nghiên cứu nào sử dụng gum arabic và gelatin để làm chất trợ sấy cho dịch chiết từ vỏ lụa hạt điều. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là xác định ảnh hưởng của các chất mang gum arabic, gelatin, nhiệt độ sấy phun đến các đặc tính hóa lý và khả năng chống oxy hóa của bột thu nhận được từ quá trình sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều. Từ đó xác định được các đặc tính vật lý và chức năng của sản phẩm cuối cùng bao gồm: Hàm ẩm, hàm lượng phenolic tổng, hàm lượng catechin tổng, hàm lượng flavonoit tổng, độ hòa tan trong nước và khả năng kháng oxy hóa.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu và hóa chất nghiên cứu

Vỏ lụa hạt điều được thu nhận từ tỉnh Bình Phước. Sau đó mẫu nguyên liệu được sấy để đạt được hàm ẩm nhỏ hơn 10%. Tiến hành nghiền mẫu thành bột và cho lọt sàng 250 - 500 μm. Vỏ lụa hạt điều được chiết xuất theo phương pháp của Phạm Văn Hùng và cs (2020) [8]. Bột vỏ lụa hạt điều được trộn với nước theo tỷ lệ thích hợp và bổ sung enzim Pectinex ultra-SP với nồng độ 2%. Tiếp theo mẫu được ủ ở điều kiện nhiệt độ và thời gian tối ưu. Sau đó enzim được bất hoạt ở 90°C trong 10 phút và hỗn hợp dịch được đem đi ly tâm với tốc độ 6.500 vòng/phút trong 10 phút để loại bỏ cặn. Dịch chiết vỏ lụa hạt điều cuối cùng thu được ở dạng lỏng.

Hóa chất: Methanol, ethanol, hexan, $AlCl_3$, kali axetat, thuốc thử Folin-Ciocateu, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), các chất mang gum arabic và gelatin được mua từ Công ty Merck.

2.2. Sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều

Ảnh hưởng của nồng độ chất mang đến khả năng sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều được xác định như sau: Gum arabic được sử dụng để trộn với dịch chiết từ vỏ lụa hạt điều với các nồng độ khác nhau (5%, 10%, 15%, w/v) trước khi sấy phun ở 130°C nhằm tìm ra hàm lượng gum arabic bổ sung tốt nhất.

Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn gum arabic và gelatin đến khả năng sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều được xác định như sau: Hỗn hợp gum arabic và gelatin với các tỷ lệ khác nhau (7: 3; 6: 4; 5: 5) được sử dụng để phối trộn với dịch chiết vỏ lụa hạt điều theo nồng độ được xác định ở thí nghiệm 1. Sau khi phối trộn, hỗn hợp chất mang và dịch chiết được tiến hành sấy phun ở nhiệt độ 130°C để tìm ra tỷ lệ phối trộn tối ưu.

Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đến chất lượng của bột sấy phun từ dịch chiết được xác định như sau: Sau khi tìm được điều kiện tối ưu của nồng độ và tỷ lệ chất mang để phối trộn với dịch chiết vỏ lụa hạt điều, hỗn hợp được tiến hành sấy phun với các điều kiện nhiệt độ khác nhau (110°C, 130°C, 160°C) để tìm ra kiều kiện nhiệt độ sấy tốt nhất.

Các mẫu trong nghiên cứu được sấy bằng thiết bị sấy phun Labplant SD06 (UK) với các thông số cố định: Lưu lượng nhập liệu 485 ml/h; áp lực 3 bar. Các mẫu sau khi sấy phun được bảo quản trong túi PA, hút chân không và bảo quản trong ngăn mát của tủ lạnh.

2.3. Quan sát hình thái của bột sấy phun bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM)

Hình thái của bột hòa tan từ dịch chiết vỏ lụa hạt điều được xác định theo phương pháp của Phạm Văn Hùng và Morita (2008) [9], sử dụng kính điện tử quét SEM (Hitachi model S-800, Tokyo, Japan) với điện thế gia tốc 40 Kv.

2.4. Xác định độ ẩm

Độ ẩm của mẫu từ dịch chiết và mẫu bột được xác định theo phương pháp AACC 44-15.

2.5. Xác định độ hòa tan của bột sấy phun

Độ hòa tan được xác định theo phương pháp của Cano-Chauca và cs (2005) [10]. Quy trình xác định độ hòa tan mẫu bột: Cân chính xác 0,5 g bột vào cốc thủy tinh 100 ml, thêm 50 ml nước cất vào để hòa tan mẫu, hòa tan mẫu bằng thiết bị khuấy từ với tốc độ tối đa trong 5 phút. Sau đó, đem ly tâm với tốc độ 3.000 vòng/phút trong thời gian 5 phút. Dịch sau ly tâm lấy 5 ml đem sấy đến khối lượng không đổi. Tiến hành đo khối lượng mẫu

sau sấy. Phần trăm độ tan được xác định bằng công thức:

$$WSI\ (\%) = \frac{\text{Khối lượng chất khô của dịch sau ly tâm}}{\text{Khối lượng chất khô ban đầu}} \times 100$$

Trong đó: WSI (Water solubility index) là độ hòa tan.

2.6. Xác định hàm lượng phenolic tổng

Hàm lượng phenolic tổng được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu của Jeong và cs (2004) [11]. Lấy 0,5 ml dịch chiết từ vỏ lụa hạt điều trộn với 0,5 ml thuốc thử Folin-Ciocalteu và 1 ml NaOH bão hòa. Sau đó bổ sung vào hỗn hợp 10 ml nước cất, tiến hành đảo trộn hỗn hợp và ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong thời gian 45 phút. Độ hấp thu của mẫu được đo bằng máy quang phổ (PhotoLab 7600 UV-Vis, WTW, Germany) tại bước sóng 725 nm. Đường chuẩn được xây dựng dựa trên chất chuẩn axit gallic, từ đường chuẩn này tính ra hàm lượng có trong mẫu (mg GAE/g chất khô).

2.7. Xác định hàm lượng catechin tổng

Hàm lượng catechin được xác định theo phương pháp của Sun và cs (1998) [12] với một số hiệu chỉnh nhỏ. 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°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 (mg CE/g chất khô).

2.8. Xác định hàm lượng flavonoit tổng

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo phương pháp của Phạm Văn Hùng và cs (2020) [8]. Lấy 0,5 mL mẫu dịch chiết sẽ được trộn với 3,3 ml nước cất vào bình định mức (thể tích 10 ml). Thêm 0,1 ml ethanol 95%, 0,1 ml CH_3COOK 1 M và 0,1 ml $AlCl_3$ 10%. Hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối trong 30 phút. Độ hấp thu của mẫu được đo ở bước sóng 415 nm bằng máy quang phổ. Hàm lượng flavonoit sẽ được tính bằng cách sử dụng đường chuẩn của quercetin (QE) trên một gam chất khô.

2.9. Xác định khả năng loại bỏ gốc tự do bằng 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

DPPH được xác định bằng cách sử dụng 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy [8]. Lấy 0,1 ml dịch chiết trộn với 3,9 ml dung dịch DPPH (0,075 mM), sau đó ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong khoảng thời gian 30 phút. Độ hấp thu của dung dịch được đo bằng máy quang phổ (PhotoLab 7600 UV-Vis, WTW, Germany) tại bước sóng 515 nm. Mẫu trắng chuẩn bị bằng cách trộn 0,1 ml nước cất với 3,9 ml dung dịch DPPH (0,075 mM). Khả năng loại bỏ gốc tự do của DPPH được xác định bằng công thức:

$$\%DPPH = \left[\frac{Abs(t=0) - Abs(t=30)}{Abs\ (t=0)}\right] \times 100\%$$

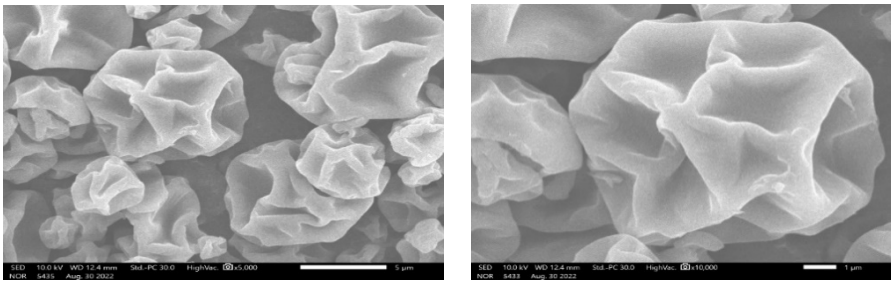
Trong đó: Abs (t=0) là độ hấp thụ của gốc DPPH tại t=0 và Abs (t=30 phút) là độ hấp thụ của gốc DPPH và phương pháp chiết tại t = 30.

2.10. Phân tích thống kê

Tất cả các thí nghiệm đã được thực hiện trong 3 lần. Xử lý thống kê và độ lệch chuẩn của dữ liệu đã được tính toán cho mỗi giá trị. Phân tích phương sai (ANOVA) đã được thực hiện để xác định bất kỳ sự khác biệt đáng kể nào ($p < 0,05$).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hình thái của bột từ dịch chiết vỏ lụa hạt điều



Hình 1. Hình thái bột sấy phun từ dịch chiết vỏ lụa hạt điều

Kết quả quan sát bằng kính điện tử quét SEM bột sấy phun từ dịch chiết vỏ lụa hạt điều ở độ phóng đại 5.000 (a) và 10.000 (b) được thể hiện trong hình 1. Kết quả chỉ ra rằng bột có đường kính từ 1 - 5 µm có hình dạng không đồng đều. Hình ảnh quan sát cho thấy, một số hạt bột có cấu trúc hạt bị biến dạng, có thể do ảnh hưởng bởi yếu tố nhiệt độ, quá trình ma sát, tốc độ bay hơi nước nhanh, hoặc do hàm lượng chất mang không vi bao hết.

Theo Ezhilarasi và cs (2014) [13], Anandharamakrishnan và cs (2007) [14], tất cả các loại bột sấy phun đều có vết lõm bề mặt và co lại. Điều này có thể do sự co rút không đồng đều và sự đông cứng nhanh chóng của các giọt nhỏ trong giai đoạn khô sớm và độ ẩm thấp dẫn đến sự hình thành vết lõm.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ chất mang lên đặc tính của bột sấy phun hòa tan

Bảng 1 cho thấy, các đặc tính và thành phần chức năng của bột chiết vỏ lụa hạt điều bị ảnh hưởng bởi các nồng độ khác nhau của gum arabic. Hàm lượng ẩm của bột chiết vỏ lụa hạt điều bị ảnh hưởng bởi các nồng độ khác nhau của gum arabic được thể hiện trong bảng 1. Độ ẩm dao động từ 5,5 ± 0,1% đến 7,5 ± 0,2%. Có sự khác biệt đáng kể ($p \leq 0,05$) về độ ẩm của bột chiết vỏ lụa hạt điều khi bổ sung gum arabic trong dịch chiết để sấy phun. Khi tăng hàm lượng gum arabic từ 5% lên 15% với các thông số cố định nhiệt độ sấy phun 130°C, áp lực 3 bar, lưu lượng nhập liệu 485 ml/h độ ẩm giảm đáng kể ($p<0,05$) trong sản phẩm. Hiện tượng này có thể được giải thích bằng sự biến đổi cấu hình hạt với sự có mặt của gum arabic.

Bảng 1. Đặc tính của bột chiết vỏ lụa hạt điều bị ảnh hưởng bởi nồng độ gum arabic khác nhau

Nồng độ gum arabic (%)	Độ ẩm (%)	Độ hòa tan (%)	TPC (mg/g)	TFC (mg/g)	TCC (mg/g)	DPPH (%)
5	$7,5 \pm 0,2^{a}$	$98,9 \pm 0,1^{b}$	$41,3 \pm 0,3^{c}$	$7,6 \pm 0,6^{c}$	$30,4 \pm 0,2^{b}$	$51,8 \pm 0,2^{b}$
10	$5,6 \pm 0,1^{b}$	$99,1 \pm 0,1^{a}$	$55,4 \pm 1,1^{a}$	$13,1 \pm 0,3^{a}$	$34,3 \pm 0,6^{a}$	$67,1 \pm 0,2^{a}$
15	$5,5 \pm 0,1^{b}$	$99,1 \pm 0,1^{a}$	$53,3 \pm 0,1^{b}$	$9,5 \pm 0,5^{b}$	$32,4 \pm 1,5^{ab}$	$52,6 \pm 0,6^{ab}$

Ghi chú: Tất cả dữ liệu là giá trị trung bình ± SD. Các giá trị có chữ cái (a, b, c) khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). TPC là hàm lượng phenolic tổng, TFC là flavonoit tổng, TCC là catechin tổng.

Độ hòa tan của bột chiết vỏ lụa hạt điều không bị ảnh hưởng bởi các nồng độ khác nhau của gum arabic (Bảng 1). Do đó, đưa gum arabic vào công thức chất mang đã tạo ra bột mịn hơn với cấu trúc bán tinh thể và khoảng trống ít hơn giữa các hạt bột nên độ hòa tan của bột trong nước cao hơn.

Bảng 1 cho thấy, TPC, TFC và TCC của bột chiết vỏ lụa hạt điều bị ảnh hưởng bởi các nồng độ khác nhau của gum arabic. TPC từ 41,3 ± 0,3 đến 55,4 ± 1,1 mg GAE/g chất khô. Nồng độ gum arabic cao hơn làm tăng khả năng bao gói các chất phenolic. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ gum arabic từ 10% lên 15% thì TPC giảm nhẹ từ 55,4 ± 1,1 mg GEA/g chất khô xuống 53,3 ± 0,1 mg GEA/g chất khô do lượng gum arabic càng cao làm cho độ nhớt của dịch chiết càng đậm đặc hơn vì thế TPC trong bột sau sấy phun thấp hơn. TFC cao nhất được ghi nhận ở nồng độ 10% (13,1 ± 0,3 mg RE/g chất khô) và TFC thấp nhất ở nồng độ 5% (7,5 ± 0,6 mg RE/g chất khô). TCC cũng tăng dần khi nồng độ gum arabic tăng từ 5% lên 15% và đạt giá trị cao nhất ở 10% (34,3 ± 0,6 mg CE/g chất khô) sau đó giảm nhẹ xuống ở 15% (32,3 ± 1,5 mg CE/g chất khô). Sự gia tăng nồng độ của gum arabic cũng đã được chứng minh là có ảnh hưởng đáng kể đối với bột sấy phun của dịch catechin vì lượng gum arabic cao hơn đã ảnh hưởng đến độ nhớt của quá trình sấy phun. Khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH của bột chiết vỏ lụa hạt điều nằm trong khoảng 51,8 ± 0,2% - 67,1 ± 0,2%. Kết quả chỉ ra rằng chất chiết được bao chặt bởi các vi hạt khi sử dụng chất mang có nồng độ 5 - 10%. Khả năng chống oxy hóa là yếu tố quan trọng quyết định công dụng của bột sấy phun. Điều này là cần thiết để các vi hạt của

chất chiết vỏ lụa hạt điều duy trì khả năng chống oxy hóa cao.

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ gum arabic và gelatin đến đặc tính của bột sấy phun hòa tan

Độ ẩm của bột sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều bị ảnh hưởng bởi các tỷ lệ khác nhau của hỗn hợp gum arabic và gelatin được trình bày trong Bảng 2 với các thông số cố định nhiệt độ sấy phun 130°C, nồng độ chất mang 10%, áp lực 3 bar, lưu lượng nhập liệu 485 ml/h. Giá trị độ ẩm cao nhất được ghi nhận ở tỷ lệ 7: 3 (7,1 ± 0,1%) và giá trị thấp nhất ở tỷ lệ 6: 4 (6,2 ± 0,1%). Những kết quả này có thể được giải thích bởi thực tế là độ hút ẩm của bột càng cao thì độ ẩm đạt được càng cao. Thực tế cho thấy, bột sấy phun được tạo ra khi sử dụng chất mang gum arabic và gelatin có độ hút nước cao hơn so với chỉ sử dụng gum arabic. Vì vậy, trong quá trình xử lý sau khi sấy phun, bột sấy phun sử dụng hỗn hợp gum arabic và gelatin được cho là có khả năng hấp thụ nước từ môi trường xung quanh nhanh hơn so với chỉ sử dụng gum arabic, dẫn đến độ ẩm cao hơn.

Độ hòa tan của bột sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều không bị ảnh hưởng bởi các tỷ lệ khác nhau của gum arabic và gelatin với 99,0 ± 0,2%. Do đó, việc đưa gelatin vào trộn với gum arabic trong công thức chất mang đã tạo ra bột mịn hơn và có độ hòa tan của bột trong nước cao hơn.

Bảng 2. Đặt tính của bột chiết vỏ lụa hạt điều bị ảnh hưởng bởi tỷ lệ khác nhau giữa gum arabic và gelatin

Tỷ lệ gum arabic và gelatin	Độ ẩm (%)	Độ hòa tan (%)	TPC (mg/g)	TFC (mg/g)	TCC (mg/g)	DPPH (%)
7: 3	7,1 ± 0,1^{a}	99,3 ± 0,1^{a}	50,4 ± 0,3^{b}	68,5 ± 0,8^{c}	38,7 ± 0,2^{b}	79,1 ± 5,3^{a}
6: 4	6,2 ± 0,1^{c}	99,0 ± 0,1^{c}	57,6 ± 0,7^{a}	84,9 ± 1,0^{a}	40,4 ± 0,6^{a}	72,0 ± 0,1^{a}
5: 5	6,4 ± 0,1^{b}	99,0 ± 0,1^{b}	46,9 ± 0,9^{c}	74,6 ± 0,3^{b}	35,1 ± 0,2^{c}	62,7 ± 1,3^{b}

Ghi chú: Tất cả dữ liệu là giá trị trung bình ± SD. Các giá trị có chữ cái (a, b, c) khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05). TPC là hàm lượng phenolic tổng, TFC là flavonoit tổng, TCC là catechin tổng.

Bảng 2 cho thấy, kết quả TPC, TFC, TCC và khả năng bắt gốc tự do DPPH của bột sấy phun được thực hiện bởi các tỷ lệ khác nhau của gum arabic và gelatin. TPC nằm trong khoảng từ 46,9 ± 0,9 mg GAE/g chất khô đến 57,6 ± 0,7 mg GAE/g chất khô. TPC cao nhất được ghi nhận ở tỷ lệ 6: 4 (57,6 ± 0,7 mg GAE/g chất khô) và giá trị thấp nhất ở tỷ lệ 5: 5 (46,9 ± 0,9 mg GAE/g chất khô). TFC cao nhất cũng được ghi nhận ở tỷ lệ 6: 4 (84,9 ± 1,1 mg RE/g chất khô) và TFC thấp nhất ở tỷ lệ 7: 3 (68,5 ± 0,8 mg RE/g chất khô). TCC nằm trong khoảng từ 35,1 ± 0,2 mg CE/g chất khô đến 40,4 ± 0,6 mg CE/g chất khô với giá trị cao nhất ở tỷ lệ 6: 4. Kết quả nghiên cứu cho thấy, gelatin hoạt động như một chất phủ, góp phần bao TFC cao so với việc chỉ sử dụng gum arabic.

Khả năng bắt gốc tự do DPPH của bột sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều nằm trong khoảng 62,7 ± 1,3% đến 79,1 ± 5,3%. Kết quả nghiên cứu cho thấy, không có sự khác biệt đáng kể về khả năng chống oxy hóa theo tỷ lệ 7: 3 và 6: 4. Khả năng chống oxy hóa là yếu tố quan trọng quyết định công dụng của các loại bột sấy phun dịch chiết tự nhiên. Điều này là cần thiết để các vi hạt của dịch chiết vỏ hạt điều duy trì khả năng chống oxy hóa cao [7]. Như vậy, khả năng chống oxy hóa của bột sấy phun hòa tan sử dụng hỗn hợp gum arabic và gelatin cao hơn so với chỉ sử dụng gum arabic, điều này có thể là do khả năng vi bao của gelatin tốt hơn.

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đến đặc tính của bột sấy phun hòa tan

Độ ẩm của bột hòa tan dịch chiết vỏ lụa hạt điều sấy phun ở các nhiệt độ sấy phun (với các thông số cố định tỷ lệ hỗn hợp gum arabic và gelatin 6: 4, nồng độ chất mang 10%, áp lực 3 bar, lưu lượng nhập liệu 485 ml/h) khác nhau được thể hiện trong bảng 3. Độ ẩm của bột sấy phun giảm từ 9,3 ± 0,1% xuống 5,5 ± 0,1% bằng cách tăng nhiệt độ đầu vào. Có sự khác biệt đáng kể ($p \leq 0,05$) về độ ẩm của bột sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều.

Có thể kết luận rằng nhiệt độ không khí đầu vào càng cao thì tốc độ truyền nhiệt đến các hạt càng cao, tạo ra động lực lớn hơn cho sự bay hơi nước, do đó tạo thành bột có độ ẩm thấp. Một quan sát tương tự cũng thu được ở các loại bột nước ép trái cây khác nhau, trong đó độ ẩm có xu hướng giảm khi nhiệt độ tăng như từ 2,78 - 1,47% đối với nước ép dưa hấu, từ 12,41 - 2,91% đối với nước ép cà chua và từ 2,89 - 0,64% đối với nước quả acai [7].

Bảng 3. Đặt tính bột chiết vỏ lụa hạt điều ảnh hưởng bởi nhiệt độ đầu vào

Nhiệt độ đầu vào	Độ ẩm (%)	Độ hòa tan (%)	TPC (mg/g)	TFC (mg/g)	TCC (mg/g)	DPPH (%)
110°C	$9,3 \pm 0,1^a$	$98,9 \pm 0,1^b$	$64,8 \pm 0,1^a$	$15,8 \pm 1,1^b$	$38,7 \pm 0,2^a$	$45,5 \pm 0,3^b$
130°C	$6,4 \pm 0,1^b$	$99,1 \pm 0,1^a$	$54,1 \pm 0,1^b$	$18,1 \pm 0,2^a$	$39,6 \pm 1,2^a$	$52,7 \pm 0,2^a$
160°C	$5,5 \pm 0,1^c$	$99,1 \pm 0,1^a$	$52,2 \pm 0,2^c$	$13,1 \pm 0,3^c$	$34,0 \pm 0,4^b$	$58,8 \pm 4,2^a$

Ghi chú: Tất cả dữ liệu là giá trị trung bình ± SD. Các giá trị có chữ cái (a, b, c) khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05). TPC là hàm lượng phenolic tổng, TFC là flavonoit tổng, TCC là catechin tổng.

Độ hòa tan của bột sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều bị ảnh hưởng của các nhiệt độ sấy phun khác nhau với giá trị cao nhất là 99,1 ± 0,1% và giá trị thấp nhất là 98,9 ± 0,1%. Không có sự khác biệt đáng kể (p<0,05) về độ hòa tan của bột chiết vỏ lụa hạt điều ở 130°C và 160°C.

Theo Mishra và cs (2014) [15] vỏ lụa hạt điều chứa hàm lượng cao các hợp chất phenolic, được coi là chất chống oxy hóa và nhạy cảm với nhiệt. Bảng 3 cho thấy, TPC giảm xuống khi tăng nhiệt độ sấy đầu vào. Bột thu được khi sấy ở 110°C và 160°C có chứa tương ứng với TPC cao nhất (64,1 ± 0,1 mg GAE/g chất khô) và TPC thấp nhất (52,2 ± 0,2 mg GAE/g chất khô). Như vậy, dịch chiết vỏ lụa hạt điều chứa các hợp chất phenolic nhạy cảm với nhiệt, bị phân hủy ở nhiệt độ sấy cao. TFC của bột sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều cao nhất ở 130°C (18,1 ± 0,2 mg RE/g chất khô) và thấp nhất ở 160°C (13,1 ± 0,3 mg RE/g chất khô). Không có sự khác biệt đáng kể (p<0,05) giữa 110°C (13,9 ± 0,6 mg RE/g chất khô) và 160°C (13,1 ± 0,3 mg RE/g chất khô). Cortés-Rojas và cs (2015) [16] cho rằng tùy thuộc vào thành phần của nhiệt độ đầu vào, nhiệt độ cao hơn của không khí đầu vào tạo ra lớp vỏ nhanh hơn trong giai đoạn sấy khô ban đầu khi các giọt tiếp xúc với không khí sấy khô. Quá trình này tạo ra một màng bán thấm có thể cải thiện hiệu quả vi bao. Tuy nhiên, tùy thuộc vào đặc tính của vật liệu vi bao, nhiệt độ cao hơn có thể làm tăng sự phân hủy flavonoit trong sản phẩm. TCC của bột sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều cao nhất ở 130°C (39,6 ± 1,2 mg CE/g chất khô) và thấp nhất ở 160°C (34,0 ± 0,4 mg CE/g chất khô). Không có sự khác biệt đáng kể về TCC giữa 110°C và 130°C. Zokti và cs (2016) [17] cho rằng nhiệt độ sấy phun là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đáng kể đến tổng hàm lượng catechin. Khi nhiệt độ trên 150°C sẽ ảnh hưởng đến tổng nồng độ catechin, trong khi nhiệt độ dưới 150°C có thể tạo ra bột không tốt.

Khả năng chống oxy hóa của bột sấy phun tăng khi tăng nhiệt độ sấy phun. Kết quả nghiên cứu cho thấy, bột được sấy ở nhiệt độ 130°C và 160°C có khả năng chống oxy hóa cao nhất, trong khi bột được sấy ở nhiệt độ 110°C có giá trị thấp nhất. Chiều hướng này có thể được giải thích rằng nhiệt độ sấy phun cao có thể liên quan đến việc kích hoạt một số hợp chất phenolic, dẫn đến tăng khả năng chống oxy hóa của bột. Nadeem và cs (2013) [18] cho rằng khả năng chống oxy hóa của bột cây xô thơm tăng đáng kể từ 130 µmol TE/g DW lên 145 µmol TE/g DW khi nhiệt độ đầu vào tăng từ 145°C lên 165°C.

4. KẾT LUẬN

Ảnh hưởng của điều kiện sấy phun đến tính chất lý hóa và khả năng chống oxy hóa của bột sấy phun dịch chiết vỏ lụa hạt điều đã được khảo sát. Độ ẩm, khả năng hòa tan trong nước, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng phenolic tổng số, hàm lượng catechin tổng số, hàm lượng flavonoit tổng số và đặc điểm hình thái của bột sấy phun bị ảnh hưởng đáng kể bởi nồng độ chất mang, tỷ lệ gum

arabic và gelatin và nhiệt độ sấy phun. Điều kiện sấy phun thích hợp trong nghiên cứu này được xác định bao gồm tỷ lệ phối trộn gum arabic và gelatin là 6: 4, nồng độ chất mang trong dịch chiết là 10% và nhiệt độ sấy phun ở 130°C. Kỹ thuật này được coi là công nghệ xanh cải tiến vì không sử dụng dung môi độc hại, tuy nhiên phương pháp này cần tiếp tục nghiên cứu cải tiến hơn nữa để đạt được hiệu quả như mong đợi, vượt qua các phương pháp truyền thống.

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. Viswanath, V., Leo, V. V., Sabna Prabha, S., Prabhakumari, C., Potty, V. P., & Jisha, M. S. (2016). Thermal Properties of Tannin Extracted from *Anacardium occidentale* L. Using TGA and FT-IR Spectroscopy. *Natural Product Research* 30(2), 223-27. https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1040992.

2. Edison, T. N. J. I., Atchudan, R., Sethuraman, M. G., & Lee, Y. R. (2016). Reductive-Degradation of Carcinogenic Azo Dyes Using Anacardium Occidentale Testa Derived Silver Nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 162, 604-10. https://doi.org/ 10.1016/j.jphotobiol.2016.07.040.

3. Trox, J., Vadivel, V., Vetter, W., Stuetz, W., Kammerer, D. R., Carle, R., ... & Biesalski, H. K. (2011). Catechin and Epicatechin in Testa and Their Association with Bioactive Compounds in Kernels of Cashew Nut (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chemistry* 128(4), 1094-99. https://doi.org/ 10.1016/j.foodchem.2011.04.018.

4. Murugesan, R., & Orsat, V. (2012). Spray Drying for the Production of Nutraceutical Ingredients-A Review. *Food and Bioprocess Technology* 5(1), 3-14. https://doi.org/10.1007/s11947-011-0638-z.

5. Chegini, G. R., Khazaei, J., Ghobadian, B., & Goudarzi, A. M. (2008). Prediction of Process and Product Parameters in an Orange Juice Spray Dryer Using Artificial Neural Networks. *Journal of Food Engineering* 84(4), 534-43. https://doi.org/ 10.1016/ j.jfoodeng.2007.06.007.

6. Obón, J. M., Castellar, M. R., Alacid, M., & Fernández-López, J. A. (2009). Production of a Red-Purple Food Colorant from Opuntia Stricta Fruits by Spray Drying and Its Application in Food Model Systems. *Journal of Food Engineering* 90(4), 471-79. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.013.

7. Tuyen, C. K., Nguyen, M. H., & Roach, P. D. (2010). Effects of Spray Drying Conditions on the Physicochemical and Antioxidant Properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) Fruit Aril Powder. *Journal of Food Engineering* 98(3), 385-92. https:// doi.org/ 10.1016/ j.jfoodeng. 2010. 01. 016.

8. Van Hung, P., Yen Nhi, N. H., Ting, L. Y., & Lan Phi, N. T. (2020). Chemical Composition and Biological Activities of Extracts from Pomelo Peel By-Products under Enzyme and Ultrasound-Assisted Extractions. *Journal of Chemistry* 2020. https://doi.org/10.1155/2020/1043251.

9. Van Hung, P., & Morita, N. (2008). Distribution of Phenolic Compounds in the Graded Flours Milled from Whole Buckwheat Grains and Their Antioxidant Capacities. *Food Chemistry* 109(2), 325-31. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.060.

10. Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., & Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the Carriers on the Microstructure of Mango Powder Obtained by Spray Drying and Its Functional Characterization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6(4), 420-28. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2005.05.003.

11. Jeong, S. M., Kim, S. Y., Kim, D. R., Jo, S. C., Nam, K. C., Ahn, D. U., & Lee, S. C. (2004). Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (11), 3389 - 93. https://doi.org/10.1021/jf049899k.

12. Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998). Critical Factors of Vanillin Assay for Catechins and Proanthocyanidins.

Journal of Agricultural and Food Chemistry 46 (10), 4267-74. https://doi.org/10.1021/jf980366j.

13. E Ezhilarasi, P. N., Indrani, D., Jena, B. S., & Anandharamakrishnan, C. (2014). Microencapsulation of Garcinia fruit extract by spray drying and its effect on bread quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94 (6), 1116 - 1123.

14. Anandharamakrishnan C., Rielly C., & Stapley A. (2007). Effects of process variables on the denaturation of whey proteins during spray drying. *Drying Technology* 25(5), 799-807.

15. Mishra, P., Mishra, S., & Mahanta, C. L. (2014). Effect of Maltodextrin Concentration and Inlet Temperature during Spray Drying on Physicochemical and Antioxidant Properties of Amla (*Emblica officinalis*) Juice Powder. *Food and Bioproducts Processing* 92 (3), 252-58. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.08.003.

16. Cortés-Rojas, D. F., Souza, C. R. F., & Oliveira, W. P. (2015). Optimization of Spray Drying Conditions for Production of *Bidens pilosa* L. Dried Extract. *Chemical Engineering Research and Design* 93, 366-76. https://doi.org/10.1016/j.cherd.2014.06.010.

17. Zokti, J. A., Sham Baharin, B., Mohammed, A. S., & Abas, F. (2016). Green tea leaves extract: Microencapsulation, physicochemical and storage stability study. *Molecules*, 21 (8), 940.

18. Şahin-Nadeem, H., Dinçer, C., Torun, M., Topuz, A., & Özdemir, F. (2013). Influence of Inlet Air Temperature and Carrier Material on the Production of Instant Soluble Sage (*Salvia fruticosa* Miller) by Spray Drying. *LWT-Food Science and Technology* 52 (1), 31-38.

EFFECTS OF SPRAY DRYING CONDITIONS ON PRODUCING MICROPARTICLES OF CASHEW NUT (*Anacardium occidentale* L.) TESTA EXTRACT USING GUM ARABIC AND GELATIN CARRIERS

Hoang Van Thanh, Le Thi Kim Ngan,

Nguyen Xuan Hoan, Pham Van Hung, Nguyen Thi Lan Phi

Summary

Cashew nuts are rich sources of underutilized phenolic compounds and antioxidants, especially in testa and apples. The objective of this study was to determine the appropriate spray drying conditions including independent variables: Inlet temperature (110˚C, 130˚C, 160˚C), concentration of carriers (5%, 10%, 15%), and ratio of mixture of gum arabic and gelatin (7: 3, 6: 4, 5: 5) for obtaining an instant powder with high total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), total catechin content (TCC) and DPPH scavenging capacity from cashew nut testa (*Anacardium occidentale* L.) extract. The appropriate spray drying conditions were determined as the inlet temperature of 130˚C, the concentration of carriers of 10%, and the ratio of the mixture of gum arabic and gelatin of 6: 4. The results showed that under appropriate spray drying conditions, the cashew nut testa instant powder had the total phenolic content of 57.62 ± 0.70 mg GAE/g dry basis, total flavonoid content of 84.93 ± 1.09 mg RE/g dry basis, total catechin content of 40.43 ± 0.63 mg CE/g dry basis, and DPPH scavenging capacity of 72.03 ± 0.12%. The results also indicated that the powder had a round shape, low moisture content and high solubility, which could be used as a functional food.

Keywords: *Cashew nut testa, DPPH scavenging capacity, spray drying method, total catechin content, total flavonoid content, total phenolic content.*

Người phản biện: GS.TS. Trần Đình Thắng

Ngày nhận bài: 29/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 27/4/2023
Ngày duyệt đăng: 4/5/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ NƯỚC/CUA VÀ THỜI GIAN KẾT TỦA ĐẾN CÁC THÀNH PHẦN HÓA LÝ VÀ CẢM QUAN CỦA THỊT VÀ NƯỚC RIÊU CUA ĐỒNG (*Somanniathelphusa sinensis*)

Nguyễn Duy Tân[1,*], Võ Thị Xuân Tuyền[1],
Trịnh Thanh Duy[1], Đống Thị Anh Đào[2]

TÓM TẮT

Cua đồng (*Somanniathelphusa sinensis*) là loài giáp xác phổ biến ở khu vực đồng bằng sông Cửu Long và giàu giá trị dinh dưỡng. Theo đông y thịt cua đồng có vị ngọt, tính hàn, có tác dụng tán huyết, bổ gân cốt, xương khớp, chữa phong nhiệt. Nhằm tạo ra sản phẩm nước lẩu cua đồng và thịt cua đồng đóng hộp tiện dụng cho người tiêu dùng. Nghiên cứu bước đầu thực hiện khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ nước/cua (3/1, 4/1, 5/1 và 6/1 v/w) và thời gian kết tủa (5, 10 và 15 phút) đến hiệu suất thu hồi và các đặc tính hóa lý và cảm quan của sản phẩm. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nước/cua từ 5/1 - 6/1 mL/g và thời gian kết tủa từ 10 - 15 phút có hiệu suất thu hồi thịt riêu cua, nước riêu cua cao và hàm lượng protein trong thịt riêu cua, nước riêu cua cao nhất. Ngoài ra, các thông số màu sắc (L^*, ΔE), hàm ẩm và các tiêu chí đánh giá cảm quan của mẫu cũng được đánh giá cao: tỷ lệ nước/cua là 5/1 (mL/g) và thời gian kết tủa 10 phút ở nhiệt độ sôi. Mẫu thịt riêu cua thu được có hiệu suất thu hồi 55,43%, hàm lượng protein 119,42 mg/g, hàm ẩm 85,34%, giá trị độ sáng L 51,32 và độ khác màu tổng ΔE 40,08. Đối với nước riêu cua có hiệu suất thu hồi 79,26%, hàm lượng protein 0,251 g/mL, giá trị độ sáng L 30,31 và độ khác màu tổng ΔE 60,6.

Từ khóa: *Cua đồng, các thông số màu sắc, hàm lượng protein, hiệu suất thu hồi, kết tủa.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cua đồng có tên khoa học (*Somanniathelphusa sinensis*), tên tiếng Anh (rice crab hay field crab), là loài giáp xác phân bố rộng rãi trong các thủy vực nước ngọt ở Việt Nam, thường gặp ở vùng ao, hồ, sông, suối từ đồng bằng, trung du, miền núi. Thịt cua đồng giàu giá trị dinh dưỡng, trong 100 g thịt cua đồng chứa 12,3% protid, 3,3% lipid, 2% glucid, tro 8%. Hàm lượng các chất khoáng như: Ca 120 mg, P 171 mg, K 266 mg, Na 453 mg, Fe 1,40 mg, vitamin B1 0,01 mg, vitamin B2 0,51 mg, vitamin PP 2,10 mg và vitamin A 0,21 mg [1]. Theo đông y thịt cua đồng có vị ngọt, mùi tanh, tính lạnh, có tác dụng tán huyết, bổ gân cốt, xương khớp, chữa phong nhiệt, trừ mụn độc… [2].

Ngày nay cùng với sự phát triển của kinh tế xã hội, các sản phẩm chế biến sẵn đang dần trở nên phổ biến trong các bữa ăn gia đình, vì sự tiện dụng và tốn ít thời gian cho việc chuẩn bị bữa ăn. Do đó, nhu cầu sử dụng các sản phẩm chế biến sẵn ngày một tăng cao vì có thể sử dụng ngay hoặc chế biến thành các món ăn đa dạng khác nhau đảm bảo đầy đủ thành phần dinh dưỡng và an toàn vệ sinh thực phẩm. Hiện nay trên thị trường chưa có nhiều sản phẩm chế biến sẵn từ cua đồng, mà chỉ có sản phẩm cua xay lạnh đông. Một số sản phẩm thịt cua đóng hộp từ nguyên liệu là cua biển, cua tuyết…Vì vậy, nghiên cứu chế biến các sản phẩm tiện dụng từ cua đồng là một việc làm cần thiết, nhằm đa dạng hóa sản phẩm từ cua đồng rất được ưa chuộng của người dân Việt Nam.

Để tạo ra sản phẩm thịt riêu cua đồng đóng hộp hay nước lẩu cua có giá trị cảm quan và dinh

[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

dưỡng tốt thì bước đầu tiên trong quy trình chế biến là thu hồi thịt cua và nước cua. Để thu hồi được thịt cua và nước cua đồng một cách hiệu quả và giữ được chất lượng thơm ngon, thì việc nghiên cứu các thông số trong quá trình xay và kết tủa là rất quan trọng. Vì thế, nội dung nghiên cứu này tập trung vào khảo sát tỷ lệ nước/cua bổ sung trong quá trình xay và gạn lọc, cũng như thời gian kết tủa ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất thu hồi, các đặc tính lý hóa và cảm quan của thịt và nước riêu cua.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị nguyên liệu và bố trí thí nghiệm

- Cua đồng được mua từ một vựa cua ở huyện An Phú, tỉnh An Giang khối lượng cua khoảng 25 - 30 con/kg. Sau khi được rửa sạch tách mai, yếm và mang (tua) thu nhận phần mình cua và càng cua (tỷ lệ thu hồi khoảng 80%). Cho vào túi nhựa PE với khối lượng 1 kg cua/túi, được trữ trong tủ đông (hiệu Sanaky, model VH-4099A3, dung tích 305 lít, nhiệt độ ≤ -18°C) để sử dụng cho nghiên cứu.

- Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 yếu tố và 3 lần lặp lại. Yếu tố tỷ lệ nước/cua (g/mL) được bố trí với 4 mức độ 3/1, 4/1, 5/1 và 6/1. Yếu tố thời gian kết tủa được khảo sát với 3 mức thời gian 5, 10 và 15 phút.

- Mỗi mẫu thí nghiệm sử dụng 500 g cua lạnh đông, tiến hành xay cua trong máy xay sinh tố hiệu Philip 600 W với thời gian 1 phút. Trong quá trình xay cho 1% muối ăn và sau đó tiến hành gạn lọc với lượng nước như bố trí qua rây (kích lỗ 0,6 mm) thu nhận dịch cua và loại bỏ xác bã. Đun sôi dịch cua trong các khoảng thời gian như bố trí, tiến hành gạn lọc để thu hồi phần thịt riêu cua đã kết tủa, để ráo nước trong 5 phút. Tiến hành phân tích và đánh giá các chỉ tiêu cần thu nhận như hiệu suất thu hồi thịt riêu cua và nước riêu cua, hàm lượng protein tổng, hàm ẩm, thông số màu sắc (chỉ số L, a, b và độ khác màu tổng ΔE) và đánh giá cảm quan về màu sắc, mùi vị, cấu trúc hoặc trạng thái của thịt và nước riêu cua sau quá trình kết tủa.

2.2. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu

- Đo màu sắc (L, a, b và tính độ khác mà tổng ΔE) sử dụng thiết bị đo màu Konica Minolata, CR - 400, Nhật. Công thức tính $\Delta E = [(L_o - L)^2 + (a_o - a)^2 + (b_o - b)^2]^{1/2}$. Trong đó L_o, a_o, b_o là giá trị đo màu của mẫu trắng, còn L, a, b là giá trị đo màu của mẫu thí nghiệm [3].

- Phân tích hàm lượng protein tổng theo phương pháp Lowry được mô tả bởi Mahre và cs (2018) [4] với thiết bị đo độ hấp thu quang phổ (LABOMED UV-VIS Spectro UV-2602, USA). Phân tích ẩm bằng cân sấy hồng ngoại (AND MX-50, Japan).

- Đánh giá cảm quan về màu sắc, mùi vị, cấu trúc hoặc trạng thái theo phương pháp mô tả cho điểm (TCVN 3215 - 79). Thang điểm mô tả từ 0 - 5 điểm cho các chỉ tiêu từ chưa tốt đến tốt. Số cảm quan viên là 15 sinh viên ngành công nghệ thực phẩm, được tập huấn trước khi đánh giá. Các mẫu nghiên cứu được đánh số thứ tự từ 1 - 12 cho thịt riêu cua và nước riêu cua tương ứng. Các cảm quan viên tiến hành quan sát và nếm thử mẫu, sau đó cho điểm vào phiếu đã thiết kế sẵn.

- Hiệu suất thu hồi thịt riêu cua được tính theo công thức X (%) = (Khối lượng thịt cua kết tủa/Khối lượng nguyên liệu cua đem xay) x 100. Hiệu suất thu hồi nước riêu cua Y (%) = (Thể tích nước cua thu nhận sau kết tủa/thể tích nước bổ sung ban đầu) x 100.

2.3. Phương pháp phân tích dữ liệu

Sử dụng phần mềm Microsoft Excel và phần mềm Statgraphics Centurion XVI để tính toán xây dựng các phương trình hồi quy, vẽ đồ thị bề mặt đáp ứng và contour, phân tích phương sai ANOVA, kiểm tra mức độ khác biệt ý nghĩa của các nghiệm thức thông qua LSD (Least Significant Difference).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1 cho thấy, hiệu suất thu hồi thịt cua có sự gia tăng theo thời gian kết tủa và lượng nước bổ sung. Cụ thể, hiệu suất thu hồi tăng từ 48,45% ở thời gian kết tủa 5 phút lên 55,25% ở 10 phút và giảm đi một ít còn 54,93% ở thời gian 15 phút nhưng chưa có sự khác thống kê ở mức ý nghĩa P≤0,05 và từ 48,91% ở tỷ lệ nước/cua (mL/g) 3/1 lên 56,75% ở tỷ lệ 6/1. Điều này có thể giải thích là do khi kéo dài thời gian kết tủa thì sẽ giúp protein kết tủa hiệu quả hơn tăng được tỷ lệ thu hồi protein thịt cua và khi tăng tỷ lệ nước/cua trong

quá trình xay giúp dễ tách lấy thịt cua do gạn lọc được nhiều lần. Tuy nhiên, đối với hiệu suất thu hồi nước cua có xu hướng giảm khi kéo dài thời gian kết tủa từ 76,61% ở thời gian 5 phút xuống 73,98% ở thời gian 15 phút, có xu hướng tăng từ 67,82% ở tỷ lệ nước/cua (mL/g) 3/1 lên 80,54% ở tỷ lệ 6/1. Điều này là do khi kéo dài thời gian kết tủa lượng nước sẽ bốc hơi đi nhiều nên nước riêu cua thu được giảm, còn khi tăng lượng nước trong quá trình xay cua thì nước riêu cua thu được nhiều, khi kết tủa thể tích nước bay hơi đi sẽ ít hơn do tổng diện tích bề mặt tiếp xúc không khí ít hơn vì thực hiện trên thiết bị có cùng thể tích. Bên cạnh đó, theo Lê Ngọc Tú (2000) [5] khi kéo dài thời gian giữ nhiệt các liên kết protein với nước bị giảm đi, lượng nước tách ra làm giảm hiệu suất thu hồi.

Bảng 1. Hiệu suất thu hồi và hàm lượng protein trong thịt cua và nước cua theo thời gian kết tủa và tỷ lệ nước/cua khác nhau

Thời gian kết tủa (phút)	Hiệu suất thu hồi		Hàm lượng protein	
	Thịt riêu cua (%)	Nước riêu cua (%)	Thịt riêu cua (mg/g)	Nước riêu cua (g/mL)
5	48,45^{b}	76,61^{a}	91,05^{c}	0,027^{a}
10	55,25^{a}	75,15^{ab}	119,33^{a}	0,026^{a}
15	54,93^{a}	73,98^{b}	106,03^{b}	0,015^{b}
Tỷ lệ nước/cua (mL/g)	Hiệu suất thu hồi		Hàm lượng protein	
	Thịt riêu cua (%)	Nước riêu cua (%)	Thịt riêu cua (mg/g)	Nước riêu cua (g/mL)
3/1	48,91^{c}	67,82^{c}	91,86^{c}	0,031^{a}
4/1	50,96^{b}	73,74^{b}	101,37^{b}	0,024^{b}
5/1	55,98^{a}	80,27^{a}	119,74^{a}	0,019^{c}
6/1	56,75^{a}	80,54^{a}	118,89^{a}	0,016^{d}

Ghi chú: Số liệu trung bình (n=3), các trung bình nghiệm thức mang các kí tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P<0,05)

Hàm lượng protein trong thịt cua cũng có sự thay đổi đáng kể theo thời gian kết tủa. Hàm lượng protein thu được cao nhất ở thời gian kết tủa 10 phút là 119,33 mg/g và có sự khác biệt ý nghĩa thống kê (P≤0,05) so với các mẫu còn lại. Bên cạnh đó, hàm lượng protein trong mẫu tăng khi tăng lượng nước vì có sự gia tăng các liên kết protein và nước, khả năng giữ nước trong khối thịt cua nhiều hơn. Theo Lê Văn Việt Mẫn và cs (2009) [6], thời gian đông tụ quá ngắn sẽ làm cho hiệu suất thu hồi protein của quá trình đông tụ bị giảm đi. Ngược lại, thời gian đông tụ quá dài sẽ làm giảm năng suất hoạt động của thiết bị. Nếu kéo dài thời gian gia nhiệt trong một khoảng nhất định thì gel protein thu được sẽ có nhiều lỗ xốp hơn do có nhiều gốc kị nước của phân tử protein bị lộ ra ngoài và tương tác với nhau. Hàm lượng protein trong nước riêu cua có xu hướng giảm khi kéo dài thời gian kết tủa cũng như khi tăng tỷ lệ nước/cua. Thời gian càng dài hiệu suất thu hồi và hàm lượng protein đều giảm do ảnh hưởng của nhiệt độ cao. Lượng nước càng tăng hiệu suất thu hồi thịt riêu cua càng tăng, nhưng ngược lại hàm lượng protein trong nước riêu cua giảm do quá trình kết tủa thu hồi protein tăng. Kết quả này là tương tự với nghiên cứu của Batista (1999) [7].

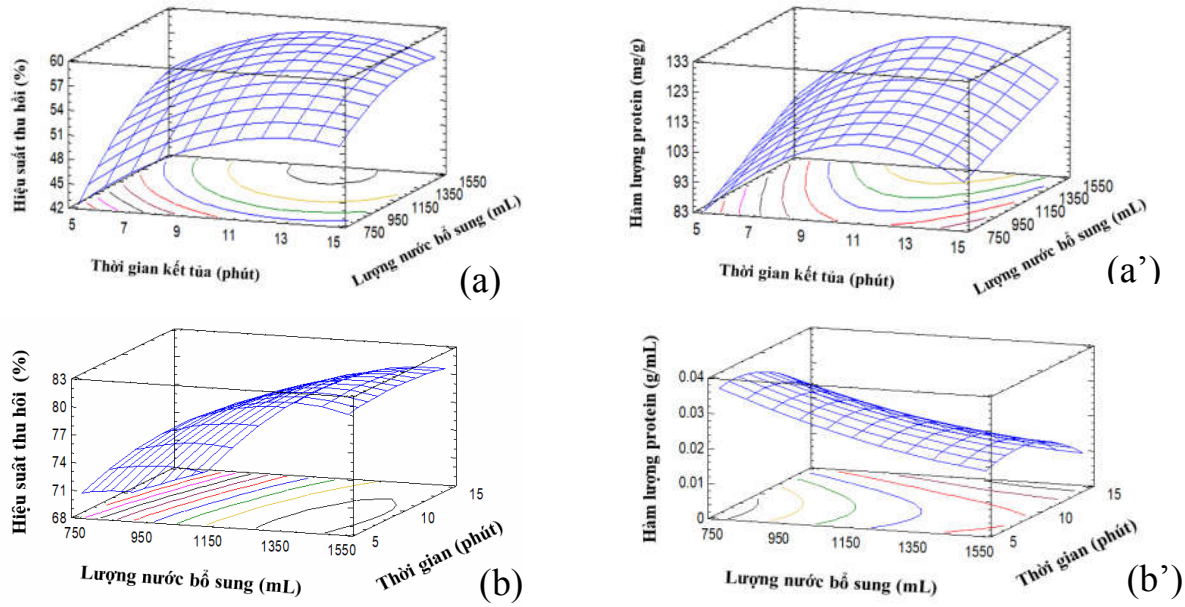
Mặt khác, nghiên cứu còn xây dựng các phương trình hồi quy để dự đoán sự thay đổi hiệu suất thu hồi và hàm lượng protein của thịt riêu cua và nước riêu cua ở dạng $Z= aX + bY + cX^2 + dY^2 + eXY$ (Bảng 2). Theo Guan và Yao (2008) [8] các mô hình hồi quy có hệ số xác định tương quan $R^2 \geq 0,8$ thì có sự tương thích tốt giữa mô hình và thực nghiệm. Các phương trình tìm được có hệ số xác

định tương quan R^2 và R^2_{adj} > 0,9 do đó có thể sử dụng các phương trình này để dự đoán sự thay đổi hiệu suất thu hồi và hàm lượng protein trong thịt và nước riêu cua theo thời gian kết tủa từ 5 - 15 phút và tỷ lệ nước/cua từ 3/1 - 6/1 mL/g đã khảo sát. Sự biến đổi này được thể hiện rõ qua các đồ thị bề mặt đáp ứng và contour ở hình 1.

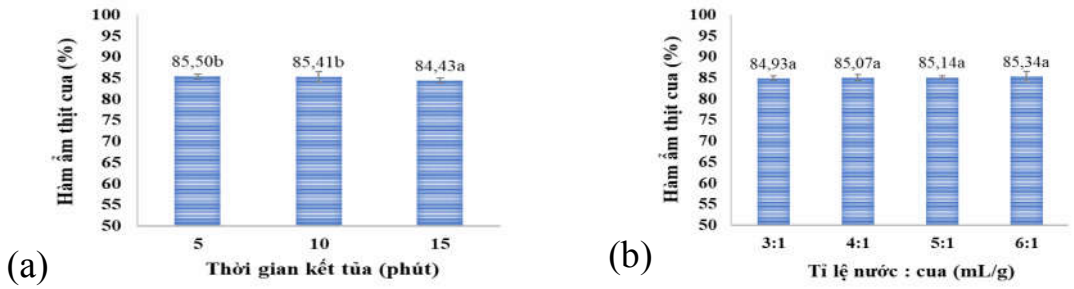
Bảng 2. Các phương trình hồi quy dự đoán sự thay đổi hiệu suất thu hồi và hàm lượng protein thịt cua và nước cua trong quá trình kết tủa

Phương trình hồi quy	R^2	R^2_{adj}	P-value
Hiệu suất thu hồi thịt cua (%) = 7,0101X + 0,0444Y - 0,0007XY - 0,1472X^2 - 0,0001Y^2	0,9996	0,9872	0,0001
Hàm lượng protein thịt cua (mg/g) = 18,5577X + 0,939Y - 0,00065XY - 0,6737X^2 - 0,0002Y^2	0,9824	0,9684	0,0005
Hiệu suất thu hồi nước cua (%) = 79,4322 + 0,0756X - 0,6986Y + 0,0007XY - 0,0003 X^2 - 0,0231Y^2	0,9451	0,9235	0,0000
Hàm lượng protein nước cua (g/mL) = 0,0661 - 0,0001X + 0,0021Y + 8,4001XY + 1,4667X^2 - 0,0002Y^2	0,9706	0,9611	0,0000

Ghi chú: X – Thời gian kết tủa (5-15 phút) và Y – Tỷ lệ nước bổ sung (0,75 - 1,5 lít)



Hình 1. Đồ thị bề mặt đáp ứng và contour hiệu suất thu hồi và hàm lượng protein trong thịt cua (a, a') và nước cua (b, b') theo thời gian kết tủa và lượng nước bổ sung



Hình 2. Đồ thị biểu diễn ẩm thịt cua theo thời gian kết tủa (a) và tỷ lệ nước/cua (b)

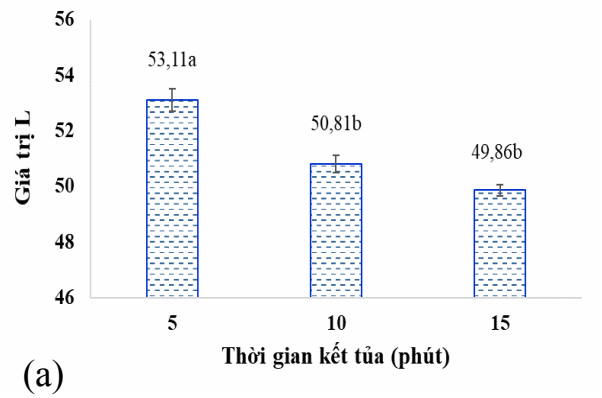
Bên cạnh đó, hàm ẩm của thịt cua cũng được phân tích, kết quả cho thấy hàm ẩm trong thịt cua có xu hướng giảm khi kéo dài thời gian kết tủa, còn khi tăng tỷ lệ nước bổ sung thì hàm ẩm trong thịt cua có xu hướng tăng nhẹ nhưng chưa khác biệt có ý nghĩa thống kê (Hình 2). Điều này là do khi kéo dài thời gian kết tủa các liên kết protein với nước bị phá hủy làm cho lượng nước tách ra [5]. Sự giảm hàm lượng nước và hiệu suất thu hồi protein sau khi gia nhiệt kéo dài cũng đã được công bố trên đối tượng cá tuyết và cá hồi. Tuy nhiên, mức độ giảm hiệu suất thu hồi sau khi gia nhiệt và hàm lượng nước trên mỗi đối tượng khác nhau thì không giống nhau [9].

Bảng 3 cho thấy, thời gian kết tủa và lượng nước bổ sung cũng có ảnh hưởng sâu sắc đến màu sắc, mùi vị và trạng thái của thịt cua thu hồi. Ở thời gian gia nhiệt 10 phút thịt cua thu hồi có điểm cảm quan cao nhất về màu sắc (4,17), mùi vị (4,01) và cấu trúc (3,98) do có màu sắc hồng sáng, mùi vị đặc trưng của thịt cua và cấu trúc ổn định, khối thịt mềm, có sự kết dính tốt. Ở thời gian 15 phút thì thịt cua có màu sậm tối, mùi cua giảm và trạng thái cấu trúc thịt cua hơi khô cứng. Ở thời gian 5 phút, do kết tủa hình thành chưa hoàn chỉnh và các protein hòa tan trong dịch cua tạo nhiều bọt bám lên khối kết tủa làm màu sắc và trạng thái cấu trúc của thịt cua không đồng đều và kém hấp dẫn, còn mùi tanh của cua sống. Theo lượng nước bổ sung thì có ảnh hưởng ít đến mùi vị, màu sắc và trạng thái cấu trúc thịt cua, kết quả cho thấy, ở tỷ lệ nước/cua (mL/g) là 5/1 và 6/1 có điểm cảm quan cao. Do ở tỷ lệ này thịt cua có màu sắc, mùi vị và trạng thái cấu trúc tốt.

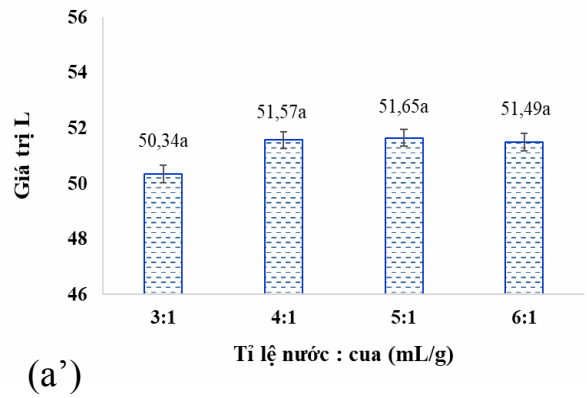
Bảng 3. Chỉ tiêu cảm quan thịt cua theo thời gian kết tủa và tỷ lệ nước/cua

Thời gian kết tủa (phút)	Điểm cảm quan		
	Màu sắc	Mùi vị	Cấu trúc
5	3,67^{b}	3,61^{b}	3,56^{b}
10	4,17^{a}	4,01^{a}	3,98^{a}
15	3,75^{ab}	3,88^{ab}	3,78^{ab}
Tỷ lệ nước : cua (mL/g)	Điểm cảm quan		
	Màu sắc	Mùi vị	Cấu trúc
3 : 1	3,44^{b}	3,67^{b}	3,53^{b}
4 : 1	3,67^{b}	3,87^{b}	3,73^{b}
5 : 1	4,55^{a}	4,13^{a}	4,08^{a}
6 : 1	3,78^{b}	3,95^{ab}	3,80^{ab}

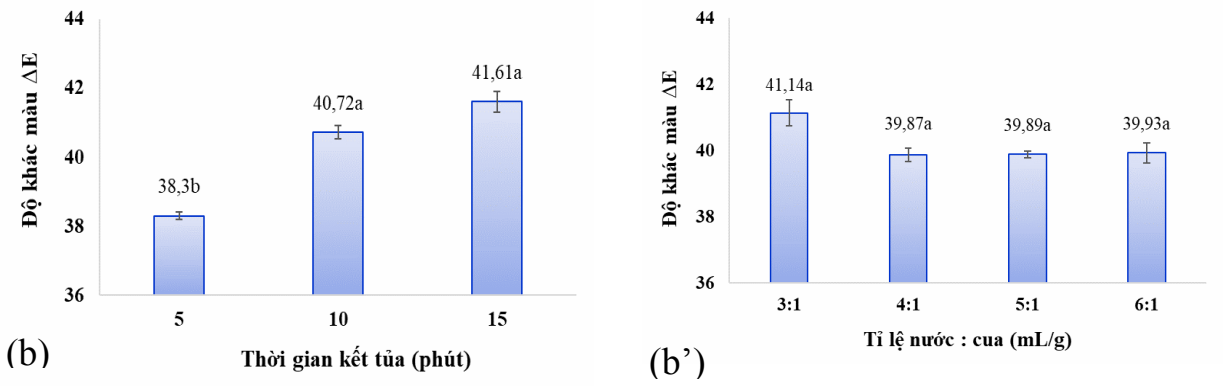
Ghi chú: Số liệu trung bình (n=3); các trung bình nghiệm thức mang các kí tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P<0,05)



(a)



(a')



Hình 3. Đồ thị biểu diễn thông số màu sắc L (a, a') và độ khác màu tổng ΔE (b, b') của thịt cua theo thời gian kết tủa và tỷ lệ nước/cua

Hình 3 cho thấy, thời gian kết tủa có ảnh hưởng đến các thông số màu sắc của thịt cua, độ sáng L của các mẫu có sự khác biệt ở mức ý nghĩa ($p \leq 0,05$) ở thời gian kết tủa 5 phút so với 10 và 15 phút. Tuy nhiên, tỷ lệ nước/cua không có ảnh hưởng trực tiếp đến độ sáng L và độ khác màu tổng ΔE của thịt cua, các giá trị màu sắc của thịt cua ở các tỷ lệ nước/cua khác nhau không khác biệt ý nghĩa thống kê ($p \geq 0,05$).

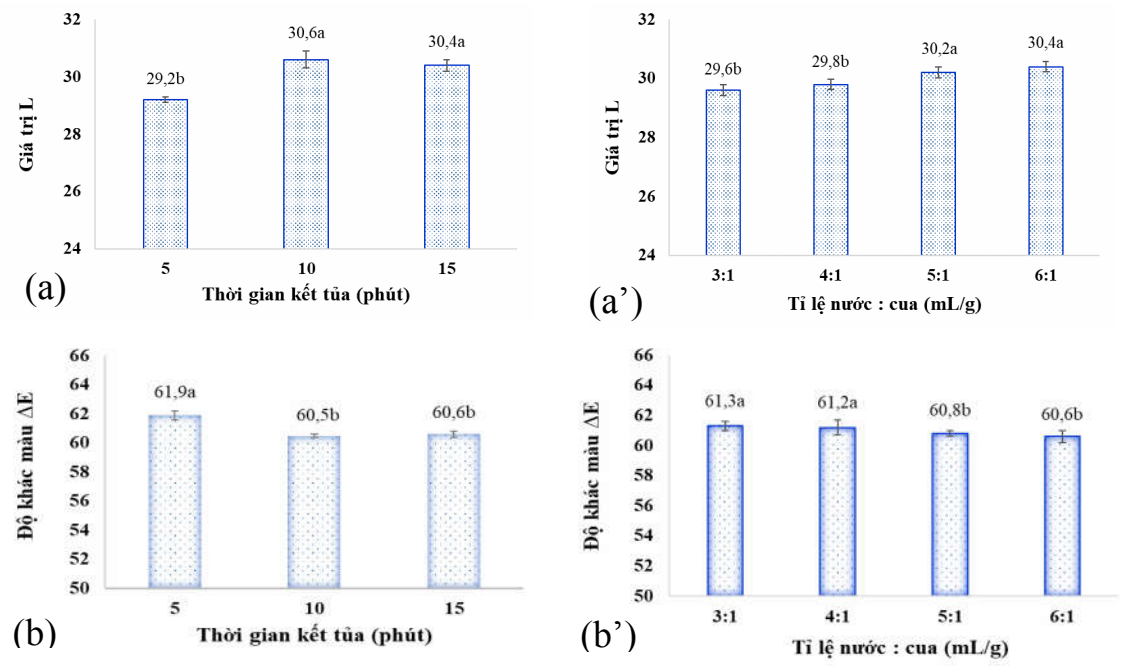
Ngoài ra, kết quả đánh giá cảm quan nước cua (Bảng 4) cho thấy, ở thời gian kết tủa 10 phút nước cua thu hồi cũng có màu sắc, mùi vị và trạng thái tốt, còn tỷ lệ nước bổ sung không ảnh hưởng nhiều đến màu sắc và trạng thái, chỉ ảnh hưởng lớn đến mùi vị của nước cua. Ở tỷ lệ nước cao 6/1 (mL/g) mùi vị đặc trưng của nước cua giảm mạnh. Hơn nữa các thông số màu sắc của nước cua cũng được đo đạt kết quả được thể hiện qua hình 4. Độ sáng L của nước cua tăng khi tăng thời gian kết tủa và tỷ lệ nước/cua, độ khác màu tổng có xu hướng ngược lại.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian kết tủa 10 phút và tỷ lệ nước/cua = 5/1 mL/g là phù hợp, vừa thu được hiệu suất thu hồi và hàm lượng protein cao, có điểm cảm quan về màu sắc, mùi vị, cấu trúc/trạng thái của thịt cua và nước cua tốt nên được chọn là mẫu tối ưu để làm cơ sở cho các nghiên cứu sau.

Bảng 4. Chỉ tiêu cảm quan nước cua theo thời gian kết tủa và tỷ lệ nước/cua

Thời gian kết tủa (phút)	Điểm cảm quan		
	Màu sắc	Mùi vị	Trạng thái
5	4,00^{ab}	3,45^{c}	3,26^{b}
10	4,20^{a}	4,26^{a}	4,09^{a}
15	3,85^{b}	3,88^{b}	3,98^{ab}
Tỷ lệ nước: cua (mL/g)	Điểm cảm quan		
	Màu sắc	Mùi vị	Trạng thái
3 : 1	3,71^{b}	3,87^{b}	3,63^{b}
4 : 1	4,10^{a}	4,05^{ab}	4,04^{ab}
5 : 1	4,15^{a}	4,21^{a}	4,32^{a}
6 : 1	4,20^{a}	3,55^{c}	3,98^{ab}

Ghi chú: Số liệu trung bình (n=3); các trung bình nghiệm thức mang các kí tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P<0,05).



Hình 4. Đồ thị biểu diễn độ sáng L (a, a') và độ khác màu tổng ΔE (b, b') của nước cua theo thời gian kết tủa và tỷ lệ nước/cua

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nước/cua từ 5/1 - 6/1 mL/g và thời gian kết tủa từ 10 - 15 phút có hiệu suất thu hồi thịt cua, lượng nước cua thu được cao và hàm lượng protein trong thịt cua, nước cua cao nhất. Ngoài ra, các thông số màu sắc (L^*, ΔE), hàm ẩm và các tiêu chí đánh giá cảm quan (màu sắc, mùi vị, trạng thái (cấu trúc) của mẫu tối ưu: điều kiện kết tủa tối ưu (tỷ lệ nước/cua = 5/1 mL/g; thời gian kết tủa 10 phút ở nhiệt độ sôi). Mẫu thịt riêu cua thu được có hiệu suất thu hồi 55,43%, hàm lượng protein 119,42 mg/g, hàm ẩm 85,34%, giá trị độ sáng L 51,32 và độ khác màu tổng ΔE 40,08. Đối với nước riêu cua có hiệu suất thu hồi 79,26%, hàm lượng protein 0,251 g/mL, giá trị độ sáng L 30,31 và độ khác màu tổng ΔE 60,6. Đây là nghiên cứu bước đầu để thu nhận được thịt riêu cua và nước riêu cua cho nghiên cứu tiếp theo sau (thịt riêu cua đồng đóng hộp và nước lẩu cua đồng đóng gói).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Viện Dinh dưỡng (2007). *Thành phần dinh dưỡng thức ăn Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học.

2. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học.

3. Sharma, S., Vaidya, D. & Rana, N. (2013). Development and quality evaluation of kiwi-apple juice concentrate. *Indian Journal of Applied Research*, 3(11), 229-231.

4. Mahre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O. & Jensen, I. J. (2018). Protein Determination - Method Matter. *Foods, 7, 5,doi:10.3390/foods7010005.*

5. Lê Ngọc Tú (2000). *Hóa sinh công nghiệp*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

6. Lê Văn Việt Mẫn, Lại Quốc Đạt, Nguyễn Thị Hiền, Tôn Nữ Minh Huyệt và Trần Thị Thu Hà (2009). *Công nghệ chế biến thực phẩm*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

7. Batista, I. (1999). Recaery of proeins from fish waste products by alkaline exraction. *Eur. Food Res. Technol, 210, 84-89.*

8. Guan, X. & Yao, H. (2008). Optimization of viscozyme L assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry, 106: 345-351.*

9. Nguyen, H., Bao, D., Þórarinsdóttir, K.A., & Arason, S. (2007). Effects of Dry Ice and Superchilling on Quality and Shelf Life of Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*) Fillets. *International Journal of Food Engineering*, 3(3), https://doi.org/ 10.2202/1556-3758.1093.

EFFECTS OF WATER/CRAB RATIO AND PRECIPITANT TIME ON PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES OF MEAT AND EXTRACT LIQUID FROM FIELD CRAB (*Somanniathelphusa sinensis*)

Nguyen Duy Tan, Vo Thi Xuan Tuyen, Trinh Thanh Duy, Dong Thi Anh Dao

Summary

Field crab (*Somanniathelphusa sinensis*) is a common crustacean in the Mekong Delta region, and it is rich in nutritional value. According to oriental medicine, crab meat is sweet taste, supporting blood circulation, strengthening the tendons and bones joints, and curing heat. In order to make a convenient product for consumers such as crab hotpot and canned field crab meat, the initial study was conducted to investigate the effects of the water/crab ratio (3/1, 4/1, 5/1 and 6/1 mL/g) and precipitation time (5, 10 and 15 minutes) on the recovery-yield, physicochemical and sensorial properties of crab meat and extract liquid. The results showed that the water/crab ratio from 5/1 to 6/1 (mL/g) and precipitation time from 10 to15 minutes led to high recovery yields of crab meat and extract liquid and their highest protein contents. In addition, their color parameters (L, ΔE), moisture contents and sensorial scores were also appreciated in high levels. At the water/crab ratio of 5/1 (mL/g) and the precipitation time of 10 minutes in boiling temperature, the obtained crab meat samples had a recovery yield of 55.43%, protein content of 119.42 mg/g, moisture content of 85.34%, L-brightness value of 51.32 and ΔE-total color difference of 40.08. The extract liquid had the recovery yield of 79.26%, protein content of 0.25 g/mL, L-brightness value of 30.31 and ΔE-total color difference of 60.6.

Keywords: *Field crab, color parameters, protein content, recovery yield, precipitation.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Ngọc Liễu
Ngày nhận bài: 27/02/2023
Ngày thông qua phản biện: 23/3/2023
Ngày duyệt đăng: 30/3/2023

THU NHẬN HOẠT CHẤT SINH HỌC TỪ MỘT SỐ LOẠI THỰC VẬT BẢN ĐỊA PHỤC VỤ CHO SẢN XUẤT RƯỢU NGÔ MEN LÁ TẠI TỈNH HÀ GIANG

Bùi Thị Bích Ngọc[1,*], Bùi Quang Thuật[1], Vũ Đức Chiến[1],
Lê Thanh Tùng[1], Trịnh Như Hoa[1], Trần Ngọc Diệp[1], Lê Trung Lam[1]

TÓM TẮT

Thực vật bản địa đóng vai trò quan trọng trong sản xuất rượu ngô men lá của đồng bào H'Mông ở Việt Nam nói chung và tại tỉnh Hà Giang nói riêng vì chúng góp phần tạo nên hương vị và bản sắc riêng cho sản phẩm rượu ngô men lá của mỗi vùng miền. Tuy nhiên, hiện nay, các loài thực vật bản địa được sử dụng trong sản xuất rượu ngô men lá thường được thu hái tại rừng, ven núi đá, sườn đồi nên rất khó đảm bảo được đầy đủ các loại thực vật và chất lượng của chúng quanh năm. Hơn nữa, cũng khó định lượng khi sử dụng trong sản xuất. Đây là một trong những nguyên nhân chính dẫn tới chất lượng rượu ngô men lá không đồng đều. Nghiên cứu này trình bày công nghệ chiết tách các hoạt chất sinh học từ một số thực vật bản địa tại huyện Mèo Vạc, tỉnh Hà Giang, nhằm nâng cao và ổn định được sản xuất, chất lượng rượu ngô men lá của địa phương. Từ các kết quả nghiên cứu, đã xây dựng được quy trình thu nhận các hoạt chất sinh học từ 3 loại thực vật (Cúc đồng tiền dại, Phong quỳ, Thóc lép đeo) tại huyện Mèo Vạc, Hà Giang với hiệu suất thu nhận đạt 93 - 95%. Chế phẩm cao chiết thu được có chất lượng tốt, đáp ứng được yêu cầu của sản xuất rượu ngô men lá.

Từ khóa: *Chiết tách, hoạt chất sinh học, rượu ngô men lá, thực vật bản địa, tinh dầu, polyphenol.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rượu ngô men lá Hà Giang là rượu của đồng bào H'Mông, được nấu từ giống ngô bản địa của người dân cao nguyên đá cùng với men lá truyền thống, sản xuất theo phương pháp lên men và chưng cất thủ công.

Loại rượu này có bản sắc riêng là bởi sự khác biệt của bánh men lá sử dụng lên men rượu, cùng hương vị khác biệt của giống ngô bản địa. Bánh men lá là sự kết hợp của rất nhiều loại lá rừng mà hầu hết là những vị thuốc nam quý hiếm bản địa, bao gồm các hoạt chất tinh dầu (0,2 - 2,0% chất khô) và polyphenol (1,0 - 3,0% chất khô) nên tạo ra hương vị đặc trưng cho rượu ngô truyền thống [1], [2]. Hương vị của rượu thành phẩm phụ thuộc rất nhiều vào chủng loại và số lượng các loại lá dùng trong bánh men. Đây chính là một nét đặc trưng độc đáo so với nhiều loại rượu khác trên thị trường, là điểm lợi thế để phát triển của rượu ngô men lá Hà Giang [3], [4].

Tuy nhiên, hiện nay, các loài thực vật bản địa được sử dụng trong sản xuất men lá thường được thu hái tại rừng, các vùng ven núi đá, sườn đồi nên khó đảm bảo được đầy đủ về số lượng, chất lượng, chủng loại các loại thực vật quanh năm và cũng khó định lượng được khi sử dụng trong sản xuất. Đây là một trong nguyên nhân chính dẫn tới việc rượu ngô men lá có chất lượng không đồng đều. Do vậy, công nghệ trích ly giúp chiết tách được các hoạt chất sinh học từ các loại thực vật, giúp cho sản xuất bánh men lá được ổn định, không phụ thuộc vào thời vụ (thời tiết) và các yếu tố về thu hái. Qua đó nâng cao và ổn định được sản xuất và chất lượng rượu ngô men lá.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Một số thực vật bản địa được sử dụng cho quá trình sản xuất rượu ngô men lá Hà Giang bao gồm: Thóc lép đeo, Phong quỳ, Cúc đồng tiền dại, Tía tô

[1] Viện Công nghiệp Thực phẩm, Bộ Công thương
* Email: ngocbtb@firi.vn

rừng, Kinh giới dại và Trầu rừng. Đây là các loại cây một năm được thu hái toàn cây vào thời điểm tháng 8 khi cây đang có hoa tại rừng, các vùng ven núi đá, sườn đồi… ở vùng xã Cán Chu Pìn thuộc huyện Mèo Vạc, tỉnh Hà Giang.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp trích ly các hoạt chất sinh học

Quá trình trích ly các hoạt chất sinh học từ một số thực vật bản địa được thực hiện trong bộ trích ly có bộ phận khuấy trộn, ở nhiệt độ nhất định. Các thí nghiệm được tiến hành với 100 g nguyên liệu đã được xử lý. Sau thời gian trích ly nhất định, dịch trích ly được tách ra khỏi bã, rồi cô kiệt dung môi bằng thiết bị cô quay chân không đến khối lượng không đổi sẽ thu được cao chiết. Sau đó, tiến hành xác định hàm lượng tinh dầu và hàm lượng polyphenol tổng có trong cao chiết. Hiệu suất trích ly tinh dầu và polyphenol tổng được tính bằng % lượng tinh dầu (hay polyphenol tổng) thu được từ cao chiết so với lượng tinh dầu (hay polyphenol tổng) tính theo lý thuyết có trong mẫu thí nghiệm. Mỗi mẫu thí nghiệm được lặp lại 3 lần và xử lý số liệu bằng chương trình phần mềm Microsoft Excel và IRRISTAT 4.0.

Nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến quá trình trích ly dựa trên nguyên tắc: Khi nghiên cứu ảnh hưởng của một yếu tố nhất định thì các thí nghiệm đều được tiến hành ở cùng các điều kiện công nghệ (trừ yếu tố đang được khảo sát). Sau khi chọn được giá trị thích hợp của các yếu tố đã được nghiên cứu thì giá trị đó được cố định trong các thí nghiệm tiếp theo để khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố còn lại. Việc lựa chọn các giá trị thích hợp của các yếu tố công nghệ dựa vào hiệu suất trích ly tinh dầu và hiệu suất trích ly polyphenol, chất lượng cao chiết và hiệu quả kinh tế.

2.2.2. Các phương pháp phân tích

- Xác định độ ẩm (trong nguyên liệu và cao chiết) bằng phương pháp chưng cất với toluen (theo DĐVN V 2017).

- Xác định hàm lượng tinh dầu (trong nguyên liệu và cao chiết) bằng phương pháp chưng cất cuốn theo hơi nước trên thiết bị Clevenger.

- Xác định hàm lượng polyphenol tổng số (trong nguyên liệu và cao chiết): Được xác định theo mô tả của Yadav và Agawala (2011) [5].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích và đánh giá một số loại thực vật bản địa cho rượu ngô men lá

Thực vật bản địa có vai trò quan trọng trong sản xuất rượu ngô truyền thống của đồng bào H'Mông tại tỉnh Hà Giang. Nghiên cứu này đã quan tâm đến những loài thực vật bản địa có ở vùng cao núi đá của xã Cán Chu Pìn thuộc huyện Mèo Vạc với loại rượu ngô truyền thống "Mê cung đá". Theo khảo sát có hơn 10 loài thực vật được sử dụng trong sản xuất rượu ngô; từ đó đã lựa chọn 6 loại chủ yếu (không thể thiếu) để tiến hành phân tích và đánh giá thành phần các hoạt chất sinh học (tinh dầu và polyphenol), đó là Thóc lép đeo, Phong quỳ, Cúc đồng tiền dại, Tía tô rừng, Kinh giới dại và Trầu rừng. Kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Hàm lượng các hoạt chất sinh học trong các loài thực vật bản địa

Nguyên liệu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng (tính theo chất khô), %	
		Tinh dầu	Polyphenol tổng
Thóc lép đeo	8,8 ± 0,1	1,18 ± 0,03	1,89 ± 0,03
Phong quỳ	9,1 ± 0,2	0,65 ± 0,02	1,38 ± 0,02
Cúc đồng tiền dại	9,4 ± 0,2	0,26 ± 0,01	1,45 ± 0,02
Tía tô rừng	8,9 ± 0,2	1,03 ± 0,03	1,76 ± 0,03
Kinh giới dại	8,6 ± 0,1	0,24 ± 0,01	1,24 ± 0,01
Trầu rừng	8,5 ± 0,1	0,81 ± 0,02	1,63 ± 0,03

Bảng 1 cho thấy, cả 6 loại thực vật bản địa đều chứa một lượng đáng kể tinh dầu (0,24 - 1,18%) và polyphenol (1,24 - 1,89%), trong đó, 3 loại thực vật Thóc lép đeo, Phong quỳ và Tía tô rừng có chứa tinh dầu và polyphenol cao hơn 3 loài thực vật còn lại. Tuy nhiên, xét về chất lượng hương và vai trò tạo hương đặc trưng cho rượu ngô, 3 loại Thóc lép đeo, Phong quỳ và Cúc đồng tiền dại nổi trội hơn so với 3 loại thực vật còn lại nên được lựa chọn để khảo sát công nghệ thu nhận cao chiết có chứa các hoạt chất sinh học, phục vụ cho sản xuất rượu ngô Hà Giang.

3.2. Chế độ xử lý nguyên liệu trước khi trích ly

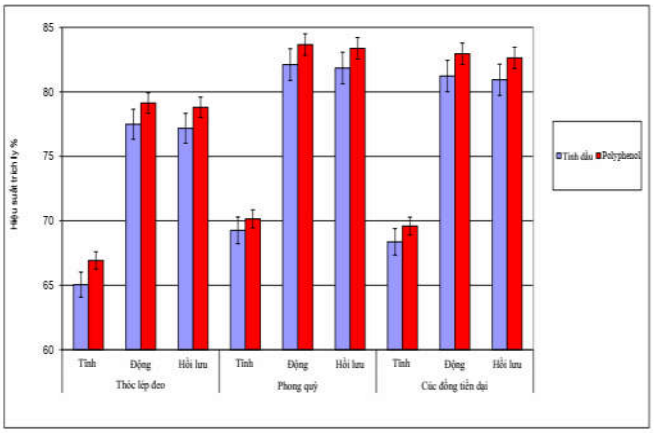
Để trích ly các hoạt chất sinh học từ thực vật bằng dung môi hữu cơ, thường sử dụng nguyên liệu đã qua công đoạn sấy khô. Nguyên liệu có độ ẩm thấp sẽ giúp cho nguyên liệu tơi xốp, tạo điều kiện cho các hoạt chất sinh học thoát ra khỏi bề mặt nguyên liệu hòa tan vào dung môi hữu cơ. Hơn nữa, nguyên liệu khô còn tạo điều kiện cho quá trình bảo quản nguyên liệu, đồng thời nâng cao hiệu quả sử dụng thiết bị trích ly. Mặt khác, kích thước hạt (độ mịn) nguyên liệu có ảnh hưởng lớn đến quá trình trích ly các hoạt chất sinh học từ thực vật. Tùy thuộc vào loại và bản chất của nguyên liệu có thể lựa chọn được độ mịn nguyên liệu thích hợp sao cho tăng cao bề mặt tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi, đồng thời tạo điều kiện cho dung môi dễ dàng thâm nhập vào màng tế bào để hòa tan các chất cần chiết tách, nhưng không gây cản trở đến quá trình trích ly. Qua khảo sát, độ ẩm và độ mịn nguyên liệu thích hợp được xác định lần lượt là: 8 - 10% và 1 mm < d ≤ 2 mm.

3.3. Xác định chế độ trích ly thích hợp cho quá trình chiết tách các hoạt chất sinh học từ một số loại thực vật bản địa

3.3.1. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly

Phương pháp trích ly là yếu tố đóng vai trò quyết định đến quá trình chiết tách các hoạt chất tự nhiên từ thực vật. Tùy thuộc vào bản chất nguyên liệu, điều kiện sản xuất và yêu cầu về chất lượng cao chiết mà lựa chọn ra phương pháp trích ly thích hợp. Trong nghiên cứu này, để trích ly tinh dầu, các hợp chất polyphenol từ 3 loại nguyên liệu Cúc đồng tiền, Thóc lép đeo và Phong quỳ, đã khảo sát 3 phương pháp trích ly (thường được sử dụng để chiết tách các hoạt chất tự nhiên từ thực vật) là: Trích ly tĩnh (ngâm chiết), trích ly động (có khuấy trộn nguyên liệu) và trích ly hồi lưu (tại nhiệt độ sôi của dung môi với sinh hàn hồi lưu).

Hình 1 cho thấy, phương pháp động và phương pháp hồi lưu cho hiệu suất trích ly tinh dầu và hợp chất polyphenol cao hơn nhiều so với phương pháp trích ly tĩnh (ngâm chiết). Điều này chứng tỏ sự đảo trộn nguyên liệu, dung môi và trích ly ở nhiệt độ cao đã làm tăng mạnh hiệu suất trích ly các hoạt chất sinh học. Tuy nhiên, đối với phương pháp trích ly hồi lưu do trích ly ở nhiệt độ cao (> 80^0C) nên ít nhiều ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm cao chiết thu nhận được. Do vậy, phương pháp thích hợp nhất để thu nhận cao chiết chứa các hoạt chất sinh học từ 3 loài thực vật bản địa là phương pháp trích ly động (có khuấy trộn nguyên liệu). Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu thu nhận các hoạt chất sinh học từ thực vật trong và ngoài nước.

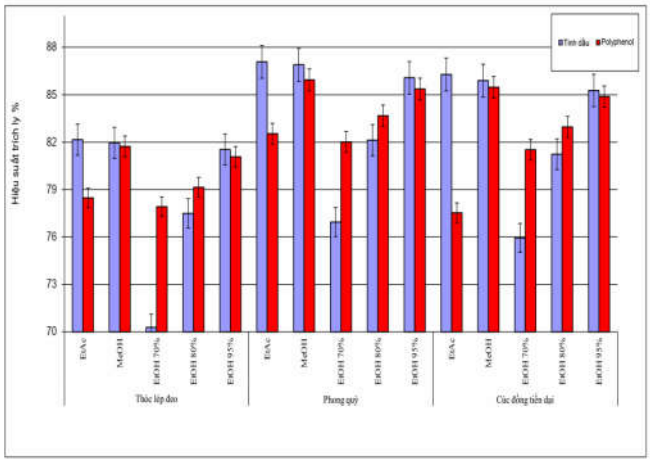


Hình 1. Ảnh hưởng của các phương pháp trích ly đến quá trình trích ly

3.3.2. Xác định loại dung môi trích ly thích hợp

Trong quá trình trích ly, dung môi trích ly giữ vai trò hết sức quan trọng, đối với mỗi loại nguyên liệu hay mỗi loại hoạt chất cần tách ra đều cần lựa chọn một loại dung môi thích hợp, đặc biệt khi cần chiết tách đồng thời 2 nhóm hoạt chất có độ phân cực khác nhau như tinh dầu và polyphenol thì dung môi trích ly càng có vai trò cực kỳ quan trọng. Theo Kang và Lee (2011) [6], Hong và cs (2011) [7], Jun và cs (2014) [8], dung môi được lựa chọn để thực hiện khảo sát này gồm: Ethyl axetat,

methanol, ethanol ở các nồng độ: 70%, 80% và 95%. Kết quả được thể hiện tại hình 2.



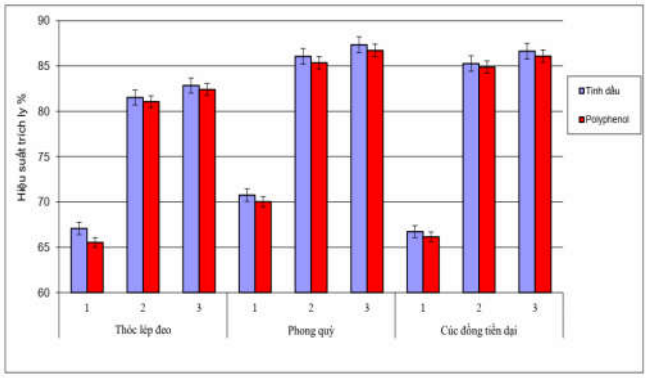
Hình 2. Ảnh hưởng của loại dung môi đến quá trình trích ly

Hình 2 cho thấy, mỗi loại dung môi được dùng khi chiết tách các hoạt chất sinh học từ cả 3 loại thực vật bản địa có sự khác biệt về hiệu suất thu nhận tinh dầu và polyphenol. Đối với mục đích chiết tách tinh dầu thì ethyl axetat tỏ ra là dung môi ưu việt hơn metanol và ethanol (ở các nồng độ). Trong khi đó, để thu nhận các hợp chất polyphenol thì metanol và ethanol lại cho hiệu quả chiết tách cao hơn, điều này phù hợp với nghiên cứu của Kang và Lee (2011) [6], Hong và cs (2011) [7], Hồ Bá Vương và cs (2015) [9]. Mục đích của nghiên cứu là thu nhận cao chiết chứa đồng thời tinh dầu và polyphenol với hàm lượng cao, do vậy ethanol 95% được lựa chọn là dung môi thích hợp nhất.

3.3.3. Ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến quá trình trích ly

3.3.3.1. Ảnh hưởng của số lần trích ly

Về nguyên tắc, số lần trích ly càng nhiều thì hàm lượng cao chiết thu được càng cao. Tuy nhiên, khi trích ly tới một ngưỡng nhất định thì lượng cao chiết thu được tăng lên không đáng kể, trong khi lại phải tiêu tốn thời gian và dung môi để trích ly. Do đó, cần lựa chọn số lần trích ly thích hợp cho từng loại nguyên liệu, sao cho đạt hiệu quả kinh tế cao nhất. Trong nghiên cứu này đã khảo sát số lần trích ly là 1, 2 và 3 lần. Kết quả được trình bày ở hình 3.

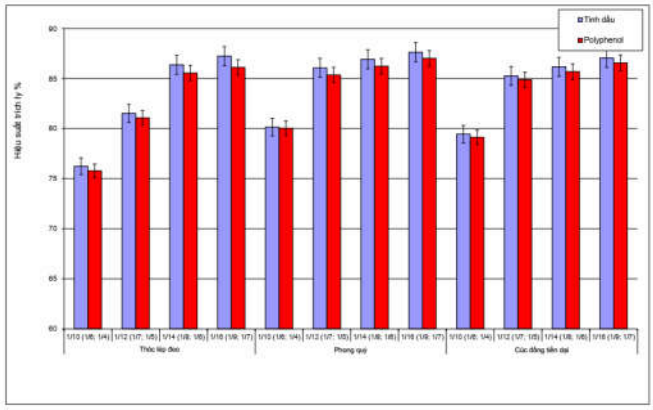


Hình 3. Ảnh hưởng của số lần trích ly đến quá trình chiết tách

Hình 3 cho thấy, trích ly 2 lần có hiệu suất cao hơn nhiều so với trích ly 1 lần, trong khi trích ly 3 lần không có hiệu quả bởi hiệu suất trích ly tăng không đáng kể so với trích ly 2 lần. Xét về hiệu quả hiệu quả kinh tế, trích ly 2 lần là thích hợp nhất cho quá trình chiết tách các hoạt chất sinh học từ 3 loại thực vật bản địa.

3.3.3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến đến quá trình trích ly

Khi trích ly với lượng dung càng nhiều thì khả năng khuếch tán của hoạt chất sinh học vào dung môi càng lớn nhưng nếu lượng dung môi tăng quá lớn mà hiệu suất trích ly cao chiết tăng không đáng kể thì sẽ không hiệu quả do tốn dung môi, tốn thời gian và năng lượng để đuổi dung môi. Do vậy, để xác định lượng dung môi thích hợp cho từng quá trình trích ly đã tiến hành các thí nghiệm khảo sát với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ở các mức là: 1/10, 1/12, 1/14 và 1/16. Kết quả được thể hiện ở hình 4.

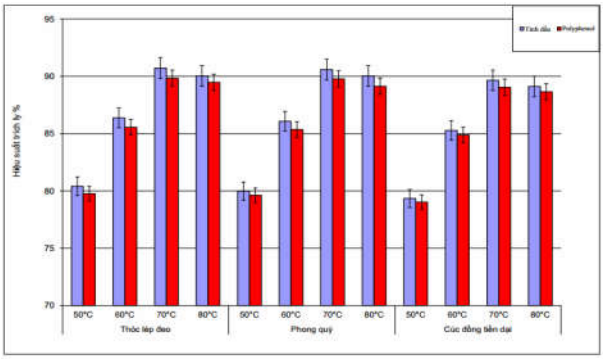


Hình 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến quá trình trích ly

Hình 4 cho thấy, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ảnh hưởng đến từng loại nguyên liệu đã có sự khác biệt. Đối với nguyên liệu Thóc lép đeo, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi thích hợp là 1/14, trong khi đối với Phong quỳ và Cúc đồng tiền dại, tỷ lệ này thích hợp ở mức 1/12 vì khi lượng dung môi tăng lên hiệu suất trích ly kể cả tinh dầu và polyphenol đều tăng không đáng kể.

3.3.3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến quá trình trích ly

Nhiệt độ trích ly là một trong những yếu tố có ảnh hưởng rất lớn đến quá trình trích ly. Khi nhiệt độ càng cao nguyên liệu trương nở và dung môi sẽ linh động hơn, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình trích ly. Tuy nhiên, nếu nhiệt độ tăng quá cao sẽ thúc đẩy các biến đổi hóa học của các hoạt chất sinh học trong nguyên liệu, ảnh hưởng tới chất lượng cao chiết. Vì vậy, đối với từng loại nguyên liệu, để xác định được nhiệt độ trích ly thích hợp, đã tiến hành khảo sát ở nhiệt độ trích ly ở các mức: 50°C, 60°C, 70°C và 80°C. Kết quả được thể hiện ở hình 5.

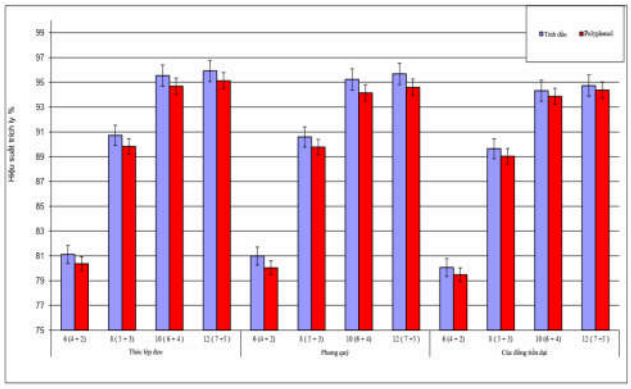


Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ khuấy trộn đến quá trình trích ly

Hình 5 cho thấy, hiệu suất trích ly tăng theo chiều thuận với chiều tăng nhiệt độ trích ly, nhưng khi trích ly ở 80°C thì hiệu suất trích ly bị giảm bởi ở nhiệt độ này tinh dầu bị tổn thất do bay hơi, còn đối với polyphenol hiệu suất giảm là do đã có sự biến đổi hóa học xảy ra. Do vậy, đã lựa chọn nhiệt độ trích ly thích hợp cho quá trình trích ly cả 3 loại cây thực vật bản địa là 70°C. Kết quả này khác với một số công trình đã công bố. Theo Hồ Bá Vương và cs (2015) [9], nhiệt độ thích hợp để trích ly polyphenol từ lá ổi là 90°C, trong khi đó Nguyễn Văn Thủy và cs (2020) [10] công bố nhiệt độ thích hợp để trích ly polyphenol từ lá cây mãng cầu xiêm là 60°C. Điều này có thể giải thích là do các hợp chất polyphenol thành phần trong các nguyên liệu có bản chất khác nhau, dẫn đến nhiệt độ trích ly thích hợp của mỗi loại nguyên liệu khác nhau.

3.3.3.4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu suất trích ly cao chiết

Theo lí thuyết, thời gian trích ly càng dài thì hiệu suất thu nhận sản phẩm càng tăng, nhưng đến một ngưỡng thời gian nhất định thì lượng sản phẩm thu được tăng thêm không đáng kể, đồng thời có thể ảnh hưởng xấu đến chất lượng sản phẩm. Do vậy, cần xác định thời gian trích ly thích hợp cho từng loại nguyên liệu, sản phẩm. Thời gian trích ly được khảo sát là 8 giờ, 10 giờ và 12 giờ. Kết quả được thể hiện ở hình 6.

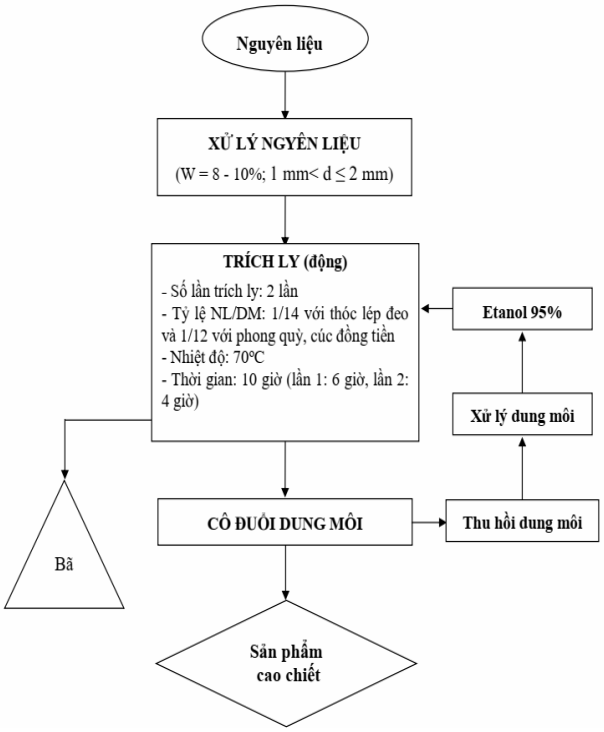


Hình 6. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình trích ly

Hình 6 cho thấy, thời gian trích ly càng dài thì hiệu suất trích ly càng cao. Tuy nhiên, khi thời gian tăng lên 12 giờ thì hiệu suất trích ly tinh dầu và polyphenol có tăng nhưng không đáng kể. Điều này chứng tỏ với thời gian trích ly 10 giờ đã trích ly gần như tối đa lượng hoạt chất sinh học có trong nguyên liệu (trên 93% đối với cả 3 loại cây thực vật bản địa). Do vậy, đã lựa chọn thời gian trích ly là 10 giờ cho quá trình trích ly cao chiết chứa hoạt chất sinh học.

3.3.4. Xây dựng quy trình công nghệ chiết tách các hoạt chất sinh học từ một số loại thực vật bản địa

Đã đề xuất được quy trình công nghệ thích hợp cho việc trích ly các hoạt chất sinh học từ nguyên liệu Thóc lép đeo, Phong quỳ và Cúc đồng tiền dại ở hình 7.



Hình 7. Sơ đồ quy trình công nghệ chiết tách các hoạt chất sinh học từ 3 loại thực vật bản địa (Thóc lép đeo, Phong quỳ và Cúc đồng tiền dại)

Thuyết minh quy trình công nghệ

- Nguyên liệu: 3 loại thực vật bản địa gồm: Cúc đồng tiền dại, Phong quỳ, Thóc lép đeo, được thu hái toàn cây vào thời điểm tháng 8 khi cây đang có hoa tại rừng, các vùng ven núi đá, sườn đồi… ở vùng xã Cán Chu Pìn thuộc huyện Mèo Vạc, tỉnh Hà Giang. Sau đó, chúng được đem đi rửa, rồi sấy trong tủ sấy đối lưu (có quạt gió) ở nhiệt độ thấp hơn 80^0C đến độ ẩm 10%. Nguyên liệu sau khi sấy được đem đi xay với kích thước 1 mm < d ≤ 2 mm.

- Công đoạn trích ly: Cân 100 g nguyên liệu thực vật bản địa mỗi loại đã được xử lý cùng một lượng ethanol 95% nhất định (800 ml đối với thóc lép và 700 ml đối với Phong quỳ và Cúc đồng tiền dại) cho vào bình trích ly. Trong suốt quá trình trích ly, nguyên liệu và dung môi được khuấy trộn và gia nhiệt sao cho nhiệt độ luôn đạt khoảng 60ºC. Sau thời gian trích ly 6 giờ, dịch trích ly được lọc tách riêng ra, bã trích ly được cho lại vào bình trích ly cùng 600 ml ethanol 95% đối với Thóc lép (đối với Phong quỳ và Cúc đồng tiền dại là 500 ml) để trích ly lần 2 với các điều kiện công nghệ giống như lần 1 với thời gian trích ly 4 giờ. Gộp dịch trích ly lần 1 và lần 2 lại để cô đuổi và thu hồi dung môi.

- Cô đuổi dung môi: Dịch trích ly được cô đuổi dung môi ở thiết bị cô quay chân không cho đến cạn kiệt ở áp suất thấp sẽ thu được sản phẩm cao chiết cho từng loại nguyên liệu. Dung môi thu hồi được xử lý và được sử dụng lại ở quá trình trích tiếp theo. Bã trích ly được sử dụng cho các mục đích khác. Hiệu suất thu nhận đạt 93 – 95% tùy từng loại nguyên liệu. Chế phẩm cao chiết thu được có chất lượng tốt, đáp ứng được yêu cầu của sản xuất rượu ngô men lá.

4. KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu chế độ xử lý nguyên liệu, xác định chế độ trích ly thích hợp cho quá trình chiết tách các hoạt chất sinh học từ 3 loại thực vật bản địa gồm: Thóc lép đeo, Phong quỳ và Cúc đồng tiền dại (Mèo Vạc, Hà Giang), đã đề xuất được quy trình công nghệ trích ly (động) các hoạt chất sinh học từ 3 loại thực vật này với ethanol 95% và các thông số công nghệ: độ ẩm: 8 - 10%, độ mịn nguyên liệu 1 mm < d ≤ 2 mm, số lần trích ly là 2, tỷ lệ NL/DM: 1/14 với Thóc lép đeo và 1/12 với Phong quỳ, Cúc đồng tiền, nhiệt độ trích ly: 70^0C, thời gian trích ly khoảng 10 giờ (lần 1: 6 giờ, lần 2: 4 giờ). Với công nghệ này hiệu suất trích ly tinh dầu và polyphenol tổng đạt 93 – 95%, chất lượng sản phẩm cao chiết tốt, đáp ứng các yêu cầu của sản xuất rượu ngô men lá. Đã thử nghiệm các sản phẩm cao chiết để sản xuất bánh men lá, phục vụ cho sản xuất rượu ngô và bước đầu cho thấy, các sản phẩm cao chiết có tác dụng kích thích lên men và tạo nên hương vị đặc trưng, hài hòa cho sản phẩm rượu ngô.

LỜI CẢM ƠN

Xin chân thành cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã cấp kinh phí để thực hiện đề tài độc lập cấp Quốc gia mã số: 06/20-ĐTĐL.CN-VĐP.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. 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 về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Hội nghị khoa học toàn quốc lần thứ 5, tr. 1057-1063.

2. Đặng Kim Vui (2012). Khai thác và phát triển một số loài cây địa phương dùng làm men

rượu phục vụ chế biến rượu đặc sản. Báo cáo tổng kết khoa học, Đại học Thái Nguyên.

3. Vũ Đức Chiến và cộng sự (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. Nhà xuất bản Lao động và Xã hội, tr. 363-370.

4. Phạm Thành Trang, Đỗ Văn Trường (2012). Kinh nghiệm sử dụng cây cỏ làm men lá của cộng đồng người Tày tại Hà Giang. Báo cáo khoa học về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật – Hội nghị khoa học toàn quốc lần thứ 4, tr. 1319-1322.

5. Yadav R. N. S., Agarwal (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3 (12), 10 - 14.

6. Kang N. S. and Lee J. H. (2011). Characterisation of phenolic phytochemicals and quality changes related to the harvest times from the leaves of Korean purple perilla (*Perilla frutescens*). Food Chemistry, 124, 556 - 562.

7. Hong E., Park K. H., Kim G. H. (2011). Phenolic - enriched fractions from *Perilla frutescens var. acuta:* Determinating rosmarinic acid antioxidants activity. *Journal of Food Biochemistry*, 35, 1637 - 1645.

8. Jun H. I., Kim B. T., Song J. S., Kim Y. S. (2014). Structural characterization of phenolic antioxidants from purple Perilla (*Perilla frutescens var. acuta)* leaves. Food chemistry, 148, 367 - 372.

9. Hồ Bá Vương, Nguyễn Xuân Duy, Nguyễn Anh Tuấn (2015). Tối ưu hóa chiết polyphenol từ lá ổi bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, tập 13, số 7: 1144-1152.

10. Nguyễn Văn Thủy, Nguyễn Ngọc Quý, Phạm Văn Thịnh, Nguyễn Minh Tiến, Nguyễn Thị Ngọc Quyên, Lê Văn Minh, Nguyễn Thị Xuân Liễu, Nguyễn Thị Thùy Trang, Nguyễn Thanh Tố Nhi, Huỳnh Linh Tý (2020). Ảnh hưởng của các điều kiện chiết tách đến hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng của lá cây Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* Linn.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. Đại học Nguyễn Tất Thành, số 9, tr. 52-56.

OBTAINING BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FROM SOME NATIVE PLANTS FOR TRADITIONAL CORN SPIRIT PRODUCTION IN HA GIANG PROVINCE

Bui Thi Bich Ngoc, Bui Quang Thuat, Vu Duc Chien, Le Thanh Tung, Trinh Nhu Hoa, Tran Ngoc Diep, Le Trung Lam

Summary

Native plants play an important role in the production of traditional corn spirit of the H'Mong people in our country in general and in Ha Giang province in particular because they contribute to the flavor and distinctive of traditional corn spirit products of each region. However, at present, the native plant species used in the production of corn spirit often collected in forests, rocky mountainside and hillside areas, so it is difficult to ensure the full range of plant species and the quality of their leaves round year. Furthermore, it is also difficult to quantify when used them in production. This is one of the main reasons for the uneven quality of traditional corn spirit. This research presents the technology to extract biologically active substances from some native plants in Meo Vac district, Ha Giang province, in order to improve and stabilize the production and quality of traditional corn spirit at local area. From the research results, to put forward a technology process to obtaining biologically active substances from 3 plant species in Meo Vac district, Ha Giang province with yield of 93 - 95%. The obtained extracts have good quality, meeting the requirements of traditional corn spirit production.

Keywords: *Extraction, biological active substances, traditional corn spirit, native plants, essential oil, polyphenol.*

Người phản biện: PGS.TS. Mai Huỳnh Cang
Ngày nhận bài: 13/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 10/4/2023
Ngày duyệt đăng: 17/4/2023

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA TWEEN 80 ĐẾN GIÁ TRỊ DINH DƯỠNG CỦA TẢO XOẮN (*Spirulina platensis*)

Trần Thị Ánh Nguyệt[1], Nguyễn Đức Bách[2], Tô Thị Mai Hương[1,*]

TÓM TẮT

Việc sản xuất tảo xoắn (*Spirulina platensis*) là một hướng phát triển công nghệ sinh học đầy hứa hẹn và có giá trị thương mại đáng kể do sự phong phú về các thành phần sinh học của chúng. Tảo xoắn là một nguồn dinh dưỡng nổi tiếng giàu chất dinh dưỡng đa lượng như protein, vitamin, axit gamma - linolenic, phycocyanin và polysacarit sunfat. Với giá trị quan trọng như một loại thực phẩm tốt cho sức khỏe, dược phẩm, thực phẩm chức năng hoặc thực phẩm bổ sung cho chế độ ăn uống, tảo xoắn đã được khai thác trong một số ứng dụng thực tế trong công nghệ sinh học và khoa học y tế. Trong nghiên cứu này, tác động của các nồng độ khác nhau của chất bổ sung Tween 80 (0,1%, 0,5% và 1%) đối với hàm lượng lipit, thành phần axit béo và thành phần axit amin tự do của tảo xoắn đã được thực hiện. Kết quả cho thấy, hàm lượng lipit trong mẫu tăng lên, từ 6,67 - 13,80%. Về thành phần axit béo, tỷ lệ axit béo không bão hòa/axit béo bão hòa (UFA/SFA) của tảo xoắn cao (1,47 - 2,17) và hàm lượng axit gamma linolenic (GLA) chiếm lần lượt là 24,07%, 23,02% và 18,58% trong tổng số axit béo (tương ứng bổ sung 0,1%, 0,5% và 1% Tween 80), các axit béo là axit oleic và axit dihomo gamma - linolenic tăng đáng kể so với mẫu đối chứng trong khi các thành phần khác không thay đổi nhiều.

Từ khóa: *Axit béo, axit amin tự do, axit gamma linolenic, tảo xoắn, Tween 80.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Do những thách thức liên quan đến việc duy trì lối sống bền vững và đáp ứng nhu cầu lương thực ngày càng tăng của thế giới trong khi vẫn giữ giá sản xuất lương thực ở mức thấp, việc tìm kiếm các nguồn chất béo, protein và polyme thay thế đã trở thành một xu hướng trên toàn cầu. Trong những năm gần đây, các nhà nghiên cứu đang tập trung vào việc sản xuất sinh khối của vi tảo như một nguồn protein thay thế phù hợp cho chế độ ăn kiêng. Tảo xoắn được coi là có triển vọng hơn mặc dù một số loại vi tảo đã được nghiên cứu trước đó. *Spirulina platensis* là một loại vi khuẩn nhân sơ có cấu trúc xoắn ốc, sử dụng năng lượng ánh sáng để phân tách lượng các bon dioxit dồi dào và các phân tử nước thành các thành phần thức ăn và giải phóng oxy. Tảo xoắn là một nguồn dinh dưỡng nổi tiếng giàu chất dinh dưỡng đa lượng như protein, vitamin, axit gamma - linolenic, phycocyanin và polysacarit sunfat. Với giá trị quan trọng như một loại thực phẩm tốt cho sức khỏe, dược phẩm, thực phẩm chức năng hoặc thực phẩm bổ sung cho chế độ ăn uống, tảo xoắn đã được khai thác cho một số ứng dụng thực tế trong công nghệ sinh học và khoa học y tế [1]. Tảo xoắn được coi là một nguồn axit béo không bão hòa đa chuỗi dài (PUFA) tiềm năng. Các axit béo không bão hòa đa chuỗi dài của vi tảo này rất cần thiết cho cả mục đích y tế và dinh dưỡng. Chúng được cho là có lợi trong việc điều trị các bệnh tim mạch, ung thư, tăng lipit máu, tăng trương lực cơ, xơ vữa động mạch và các bệnh về tim mạch, da và viêm niêm mạc đường tiêu hóa…[1] [2] [3]. Ngoài ra với hàm lượng protein cao từ 60 - 70% khối lượng, tảo *Spirulina platensis* là loài thường được nuôi trồng để làm nguồn thực phẩm bổ dưỡng [4].

Tween 80 (Polysorbate 80) là chất nhũ hóa và chất khử bọt được sử dụng trong thực phẩm, vitamin, thuốc và vắc xin. Tween 80 chứa một sorbitol và một axit oleic có thể là tiền chất tiềm năng cho quá trình sinh tổng hợp gama-linolenic axit. Tween 80 gần đây đã nhận được một số quan

[1] Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
[2] Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[*]Email: to-thi-mai.huong@usth.edu.vn

tâm do tác dụng của nó đối với axit béo và axit amin tự do [5], [6]. Trong nghiên cứu này tảo xoắn được sử dụng để kiểm tra tác động của Tween 80 đối với thành phần axit béo và axit amin tự do. So sánh thành phần axit béo, hàm lượng dầu và sự thay đổi của axit amin tự do trong các mẫu tảo xoắn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Chủng tảo xoắn (*Spirulina platensis*) được cung cấp bởi Ngân hàng giống Vi tảo của Viện Nghiên cứu Vi tảo và Dược mỹ phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Mẫu tảo xoắn được kiểm tra bằng kính hiển vi quang học để kiểm tra hình thái. Tảo xoắn được trồng trên môi trường Zarouk cải tiến [7].

2.2. Môi trường nuôi cấy

Tảo xoắn trong giai đoạn nhân giống được nuôi trong bình nón thủy tinh 50 mL, sau đó dung tích tăng dần và được chuyển sang bình 1 L để tăng trưởng thêm. Điều kiện canh tác ở nhiệt độ từ 25 - 27^{0}C, sử dụng đèn huỳnh quang Rạng Đông để chiếu sáng liên tục trong quá trình nuôi cấy, mẫu được sục khí liên tục bằng khí nén với tỷ lệ 10 - 15% (thể tích sục khí so với thể tích huyền phù tảo trong 1 phút). Mật độ của tảo xoắn đo được ở bước sóng 750 nm là OD750 =1 được sử dụng cho thí nghiệm.

Thí nghiệm được bố trí bao gồm 4 bình nuôi tảo xoắn. Điều kiện nuôi thí nghiệm giống như điều kiện nhân giống. Mật độ ban đầu (OD) của tảo trong các bình thí nghiệm là 0,1. Tảo xoắn nuôi đến hết giai đoạn tăng trưởng (giai đoạn logarit) sẽ bổ sung Tween 80 với các nồng độ khác nhau 0,1% Tween 80, 0,5% Tween 80 và 1% Tween 80 (tương đương 1 Ml, 5 mL và 10 mL Tween 80 được bổ sung trong 1 L của môi trường nuôi cấy). Nồng độ của Tween 80 đã được thêm vào dựa trên các nghiên cứu trước đây về tác động của Tween 80 đối với vi khuẩn [5], [6]. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Mật độ quang học (OD) ở bước sóng 750 nm được đo để theo dõi sự phát triển của tế bào mỗi ngày của tảo xoắn. OD được đo bằng máy quang phổ UV/VIS (V-730, JASCO). Sinh khối tảo thu được bằng cách ly tâm tảo ở 3.000 vòng/phút trong 5 phút. Phần cặn sau đó được lọc qua lưới lọc Screen Mesh/120T/300. Sinh khối tảo được sấy khô ở 60^{0}C cho đến khi khối lượng không thay đổi. Tảo được bảo quản ở -20^{0}C.

2.3. Phân tích hàm lượng axit amin tự do

100 mg bột tảo xoắn được đồng nhất hóa trong 3 ml dung dịch đệm natri axetat (pH = 2,2) trong 1 phút và khuấy bằng máy trộn vi ống ở tốc độ 1.000 vòng/phút trong 1 giờ. Dung dịch mẫu được ly tâm và lọc qua bộ lọc ống tiêm nylon 0,22 µm (Finetech, Trung Quốc) và phần nổi phía trên được thu vào lọ thủy tinh 1,5 mL và được bảo quản ở 4^{0}C để phân tích sau bằng sắc ký trao đổi ion - Biochrom 30+ (Biochrom, Cambridge, Vương quốc Anh) [8]. Hỗn hợp axit amin chuẩn (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, Mỹ) đã được sử dụng để xác định các axit amin trong các mẫu phân tích. Công thức sau đây được sử dụng để xác định hàm lượng axit amin:

$$\text{FAA} = \text{Nồng độ của AA} \times \text{Khối lượng phân tử của AA} \times 3 \times 10^{-5} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right)$$

2.4. Phân tích hàm lượng axit béo

Lipit được chiết xuất từ sinh khối tảo khô bằng phương pháp của Bligh và Dyer (1959) [9]. Sau khi ly tâm, dịch chiết cloroform/metanol được thu vào các lọ đã được cân trước. Khí nitơ được sử dụng để làm bay hơi dung môi trong các lọ và các lọ được cân lại để tính khối lượng chất béo tách ra trong mỗi mẫu tảo. Hàm lượng dầu được tính theo công thức sau:

$$\%\ \text{Dầu chiết} = \frac{\text{Khối lượng dầu chiết}}{\text{Khối lượng bột tảo ban đầu}} \times 100\%$$

Quá trình methyl hóa axit béo trên được tạo ra bằng cách sử dụng BF3-Methanol 14%.

2.5. Thành phần axit béo phân tích bởi GC-MS

GC/MS trên Sê-ri GC/MS Trace 1310 của Thermo Scientific với cột mao quản (30 m; 0,25 mm; 0,25 m; Thermo Scientific, Hoa Kỳ) đã được sử dụng để phân tích thành phần axit béo của tảo xoắn. Dựa trên phân tích dữ liệu MS để xác định hàm lượng axit béo, các đỉnh của sắc ký đồ đã được xác định. Axit béo chính của mỗi mẫu sau đó được xác định bằng cách sử dụng tỷ lệ của từng

axit béo được xác định bằng phần trăm diện tích (%) của mỗi pic. Tỉ lệ UFA/SFA được tính bằng tổng phần trăm của các axit béo không bão hòa trên tổng phần trăm của các axit béo bão hòa.

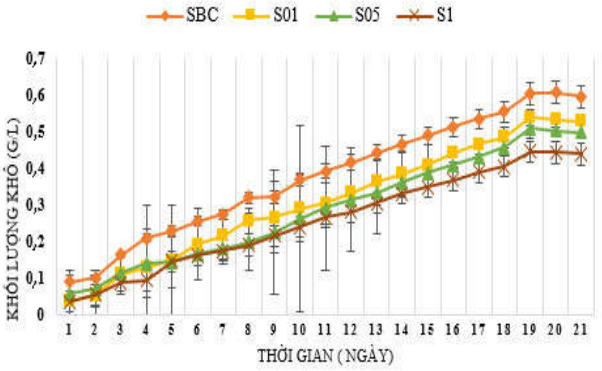
2.6. Phân tích thống kê

T-test được sử dụng để xác định sự khác biệt giữa các nhóm thử nghiệm và đối chứng. Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được sử dụng để biểu thị dữ liệu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đường cong sinh trưởng của tảo xoắn

Đường cong sinh trưởng của tảo xoắn là giá trị trung bình của 2 lần lặp lại được thể hiện ở hình 1. Các đường cong sinh trưởng chủ yếu biểu thị hai giai đoạn phát triển (pha trễ và pha log), không có sự khác biệt đáng kể ở tất cả các thí nghiệm. Điều kiện môi trường luôn thuận lợi cho sự phát triển của tảo trong suốt thí nghiệm. Để đảm bảo cho tảo phát triển, nhiệt độ luôn được duy trì trong khoảng từ 25 - 27°C và độ pH luôn nằm trong ngưỡng cho phép để tảo sinh sống (pH của tảo xoắn là từ 8 - 10).



Hình 1. Đường cong sinh trưởng của tảo xoắn

SBC là mẫu đối chứng; S01 là mẫu có bổ sung 0,1% Tween; S05 là bổ sung 0,5% Tween và S1 là mẫu bổ sung 1% Tween.

3.2. Thành phần axit amin tự do của tảo xoắn được bổ sung Tween 80

Bảng 1. Hàm lượng axit amin tự do của tảo xoắn bổ sung bằng Tween 80 (mg/g)

Axit amin	SBC	S01	S05	S1
Axit amin thiết yếu (EAA)				
Thr.	ND	ND	ND	4,66Ơ 0,021
Val.	9,38± 0,311	10,74± 0,240*	8,41± 0,192	8,59± 0,052
Met.	16,59± 1,831	16,25± 0,559	12,12± 0,866*	13,09± 0,864*
Ile.	18,47± 0,358	19,11± 0,795	17,15± 0,667	17,62± 0,504
Leu.	ND	ND	ND	ND
Phe.	17,52± 0,141	18,59±0,002**	15,79± 0,011*	16,20± 0,114*
His.	1,66± 0,129	2,77±0,143*	1,57± 0,687	3,22± 0,0006*
Trp.	2,32± 0,118	2,71± 0,199	2,34± 0,083	2,40± 0,066
Lys.	ND	ND	ND	ND
Σ EAA	70,22±0,494	74,48±0,551*	60,30±3,210*	65,93±0,381*
Axit amin không thiết yếu (NEAA)				
Tau.	5,03± 0,084	5,7± 2,561	3,83± 0,028*	2,60± 0,064*
Asp.	ND	ND	ND	ND
Ser.	18,93± 1,074	17,18± 6,274	12,07± 1,393*	9,22± 0,614**
Glu.	33,93± 1,074	35,60± 2,897	29,95± 0,846*	27,28± 1,425*
Pro.	34,87± 2,057	34,63± 17,955	24,93± 1,286*	44,63± 1,145*

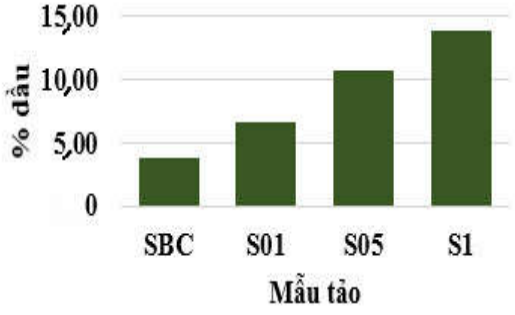
Gly.	4,54± 0,245	4,73± 0,366	3,62± 0,313*	3,99± 0,220*
Ala.	12,34± 2,190	12,77± 0,994	11,07± 0,866	11,56± 0,903
Cys.	4,60± 0,183	5,62± 0,129*	4,48± 0,356	4,74± 0,358
Tyr.	16,58± 0,254	17,81± 0,275*	14,51± 0,508*	16,01± 0,309
Arg.	12,62± 0,487	8,90± 0,791*	10,24± 0,517*	12,30± 0,304
Σ NEAA	143,53±1,300	142,49±5,074	114,70±7,619*	132,32±8,801*
Tổng	213,74± 1,523	216,98±12,129	175,01±0,115***	198,25±1,765**

Ghi chú: CBC là mẫu đối chứng; C01 là mẫu có bổ sung 0,1% Tween; C05 là bổ sung 0,5% Tween và C1 là mẫu bổ sung 1% Tween. Các giá trị được thể hiện bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 2); các giá trị có kí hiệu (,**,***) khác nhau có ý nghĩa thống kê (p < 0,05, p < 0,01 và p < 0,001); ND là không được phát hiện và các ô màu có giá trị cao hơn đối chứng.*

Bảng 1 cho thấy, thành phần axit amin tự do (FAA) của tảo xoắn thể hiện sự khác biệt đáng kể đáp ứng với môi trường nuôi cấy được bổ sung các nồng độ Tween 80 khác nhau. Tảo xoắn được nuôi cấy trong môi trường bổ sung 0,1% Tween 80 có tổng hàm lượng FAA là 216,98 mg/g cao hơn so với đối chứng là 213,74 mg/g. Ngược lại, hàm lượng FAA ở 2 mẫu bổ sung 0,5% Tween 80 (175,01 mg/g) và 1% Tween 80 (198,25 mg/g) lại thấp hơn so với đối chứng (213,74 mg/g). Trong số các axit amin được tìm thấy, glutamin và prolin là 2 axit amin có hàm lượng cao nhất, lần lượt là 27,28 - 35,6 mg/g và 24,93 - 44,63 mg/g. Trong khi đó, hàm lượng thấp nhất thuộc về 2 axit amin tryptophan và histidin lần lượt là 2,32 - 2,71 mg/g và 1,57 - 3,22 mg/g. Tổng hàm lượng axit amin thiết yếu (EAA) (60,30 - 74,48 mg/g) thấp hơn nhiều so với tổng hàm lượng axit amin không thiết yếu (NEAA) (114,70 - 143,53 mg/g). Hàm lượng EAA cao nhất là isoleuxin ở tất cả các mẫu, dao động từ 17,15 – 19,11 mg/g và cao nhất ở mẫu S01 (xử lý với 0,1% Tween 80). Methionin và phenylalanin là 2 EAA có hàm lượng cao thứ hai trong cả 4 mẫu tảo xoắn, dao động lần lượt là 12,12 – 16,59 mg/g và 15,79 – 18,59 mg/g. Histidin và tryptophan là 2 axit amin thiết yếu có hàm lượng thấp nhất. Những kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Mišurcová và cs (2014) [10], Volkmann và cs (2008) [11]. Trong cả 4 mẫu, chỉ có mẫu tảo xoắn được xử lý bằng 0,1% Tween 80 có nồng độ tất cả các axit amin thiết yếu cao hơn so với mẫu đối chứng. Điều này có nghĩa là việc bổ sung 0,1% Tween 80 vào môi trường nuôi cấy tảo xoắn sẽ kích thích sản xuất axit amin, do đó làm tăng hàm lượng axit amin. Tảo xoắn cũng chứa các axit amin không thiết yếu taurin, asparagin, serine, glutamin, prolin, glyxin, alanin, cysteine, tyrosin và arginin. Tổng hàm lượng axit amin không thiết yếu trong mẫu đối chứng (143,53 mg/g) cao hơn so với cả 3 mẫu có bổ sung Tween 80.

3.3. Hàm lượng dầu của tảo xoắn bổ sung bằng Tween 80

Tỷ lệ dầu có trong tảo được thể hiện ở hình 2. Lượng dầu trong các mẫu được xử lý bằng chất bổ sung Tween 80 dao động từ 6,67 - 13,80%; trong khi mẫu đối chứng tảo xoắn chỉ có 3,73% dầu. Kết quả cho thấy, Tween 80 làm tăng đáng kể hàm lượng dầu trong tảo. Nghiên cứu của Lee và cs (2011) [12], Mata và cs (2010) [13] cũng chỉ ra rằng quá trình sản xuất lipit cũng có thể được tăng cường dưới các tác nhân từ môi trường như ảnh hưởng của ánh sáng, nhiệt độ và độ pH.



Hình 2. Hàm lượng dầu của tảo xoắn

SBC là mẫu đối chứng; S01 là mẫu có bổ sung 0,1% Tween 80; S05 là bổ sung 0,5% Tween 80 và S1 là mẫu bổ sung 1% Tween 80.

3.4. Hàm lượng dầu của tảo xoắn được bổ sung bằng Tween 80

Sự phân bố của các thành phần axit béo và nồng độ của chúng trong cả 4 mẫu tảo xoắn được thể hiện ở bảng 2. Hệ thống GC-MS đã phân tích và thu được các axit béo: C12: 0, C14: 0, C16: 1, C16: 0, C17: 1, C17: 0, omega 6 C18: 3, C18: 2, C18: 1, C18: 0, C20: 4, C20: 3, C20: 2, C20: 0 và C22: 1. Các axit béo chính được tìm thấy trong mẫu bao gồm axit palmitoileic (C16: 1), axit palmitic (C16: 0), axit gamma-linolenic (GLA), axit linoleic (C18: 2) và axit oleic (C18: 1). Tỷ lệ xuất hiện của các axit này phù hợp với nghiên cứu của Colla và cs (2004) [14], Bhakar và cs (2014) [15], tuy nhiên tỷ lệ của các axit béo cũng dao động đáng kể tùy thuộc vào môi trường tăng trưởng. Kết quả nghiên cứu chỉ ra axit palmitic có hàm lượng cao nhất, từ 29,16 - 44,69% trong khi đó axit erucic (C22: 1) là axit béo được phát hiện ở nồng độ thấp nhất (0,07 - 0,11%) (Bảng 2). Tổng hàm lượng axit béo bão hòa trong tảo xoắn ở các mẫu bổ sung Tween 80 dao động từ 31,35 - 40,41% thấp hơn một chút so với mẫu đối chứng là 46,08%.

Trong số các axit béo không no được phát hiện, hàm lượng GLA là cao nhất. Các mẫu tảo bổ sung Tween 80 có hàm lượng GLA dao động từ 18,58 - 24,07%, trong khi mẫu đối chứng là 23,65%, không có sự khác biệt có ý nghĩa khi phân tích hàm lượng này. Hàm lượng Tween 80 được bổ sung vào tỷ lệ nghịch với lượng GLA được phát hiện trong 3 mẫu tảo. Do đó, việc bổ sung 0,1% Tween 80 đã kích thích tảo tạo ra nhiều GLA nhất. Sự gia tăng hàm lượng GLA trong điều kiện 0,1% Tween 80 có thể là do sử dụng thành phần tiền chất (axit linoleic) để tổng hợp GLA. Ngoài ra hàm lượng C20: 3 (Dihomo Linolenic) trong các mẫu cũng được tìm thấy. Đây là một axit béo thiết yếu vì có tác dụng chống viêm [16]. Ở các mẫu có bổ sung Tween 80 hàm lượng DGLA tăng lên rõ rệt, từ 0,29 - 0,31% trong khi mẫu đối chứng chỉ có 0,18%. Ba axit béo không no là axit palmitoleic, axit linoleic axit oleic cũng có hàm lượng axit béo tương đối cao (Bảng 2). Tỷ lệ UFA/SFA trong các mẫu tảo xoắn dao động trong khoảng 1,17 - 2,17. Có thể nói Tween 80 đã tăng hiệu quả sản xuất axit béo. Nghiên cứu của Volkmann và cs (2008) [11], Ronda và Lele (2008) [17] cũng chỉ ra các điều kiện căng thẳng khác nhau hỗ trợ tích lũy GLA. Nghiên cứu của Ronda và Lele (2008) [17] cho thấy, axit oleic và axit linoleic, trong các thí nghiệm với nhiệt độ tăng trưởng thay đổi và bổ sung dầu (0,8% dầu hoa anh thảo) đã giúp tích lũy axit γ-linolenic.

Bảng 2. Thành phần axit béo của tảo xoắn được bổ sung bằng Tween 80

Axit béo	SBC	S01	S05	S1
Axit béo bão hòa (SFA)				
C12: 0	0,10±0,007	0,12±0,001*	0,28±0,0421*	0,54±0,063*
C14: 0	0,24±0,021	0,34±0,007*	0,44±0,035*	0,35±0,007*
C16: 0	44,69±0,756	38,84±0,403*	34,47±0,431*	29,16±2,036*
C17: 0	0,27±0,021	0,25±0,007	0,28±0,021	0,25±0.000
C18: 0	0,74±0,007	0,79±0,007*	0,81±0,028*	1,11±0.070*
C20: 0	0,04±0,007	0,06±0,021	0,07±0,014	0,11±0,014*
ΣSFA	46,08±0,749	40,41±0,388	36,35±0,318*	31,35±2,008*
Axit béo không bão hòa				
C16: 1	8,24±1,555	8,59±0,0001*	8,07±0,572	8,53±0,367
C17: 1	0,49±0,049	0,50±0,007	0,47±0,035	0,47±0,035
GLA	23,65±0,445	24,07±0,480	23,02±1,074	18,58±0,339*

C18: 2	14,34±0,219	15,71±0,106*	13,73±0,268	12,05±0,021*
C18: 1	6,52±0,127	10,01±0,091**	17,56±0,961**	27,85±1,027**
C20: 4	0,25±0,014	0,16±0,007*	0,18±0,127	0,45±0,012**
C20: 3	0,18±0,028	0,30±0,002*	0,31±0,014*	0,29±0,027*
C20: 2	0,19±0,099	0,18±0,001	0,20±0,063	0,17±0,056
C22: 1	0,07±0,021	0,07±0,000	0,11±0,035	0,11±0,042
ΣUFA	53,92±0,466	59,59±0,466**	63,65±0,466**	68,49±1,110*
Tổng	100	100	100	100
UFA/SFA	1,17	1,47	1,75	2,17

Ghi chú: SBC là mẫu đối chứng; S01 là mẫu có bổ sung 0,1% Tween80; S05 là bổ sung 0,5% Tween 80 và S1 là mẫu bổ sung 1% Tween 80. Các giá trị được thể hiện bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 2); các giá trị có kí hiệu (,**,***) khác nhau có ý nghĩa thống kê (p < 0,05; p < 0,01 và p < 0,001); ND là không được phát hiện và các ô màu có giá trị cao hơn đối chứng.*

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, Tween 80 có thể được sử dụng để tăng hàm lượng lipit, thành phần FA và AA của vi tảo. Hàm lượng GLA được tìm thấy nhiều nhất trong mẫu tảo xoắn bổ sung 0,1% Tween 80. Việc bổ sung 0,1% Tween 80 cũng làm tăng hàm lượng axit amin tổng số và axit amin thiết yếu trong mẫu tảo xoắn. Tảo xoắn được trồng trong những điều kiện trong nghiên cứu này là một nguồn dầu có thể được thêm vào các bữa ăn hoặc được sử dụng như một chất bổ sung dinh dưỡng. Chúng là một nguồn protein và PUFA quan trọng và cần có nhiều nghiên cứu hơn để tìm ra các điều kiện tối ưu nhằm tích lũy lipit và một số axit amin thiết yếu trong tảo xoắn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. I. Priyadarshani and B. Rath (2012). Commercial and industrial applications of micro algae - A review, vol. 3, no. 4, pp. 89-100.

2. M. Raczyk, K. Polanowska, B. Kruszewski, A. Grygier and D. Michałowska (2022). Effect of Spirulina (*Arthrospira platensis*) Supplementation on Physical and Chemical Properties of Semolina (Triticum durum) Based Fresh Pasta, Molecules, vol. 27, no. 2, doi: 10.3390/molecules27020355.

3. S. Ötleş and R. Pire (2001). Fatty acid composition of Chlorella and *Spirulina microalgae* species," J. AOAC Int., vol. 84, no. 6, pp. 1708-1714, doi: 10.1093/jaoac/84.6.1708.

4. A. C. FAO. (2008). Fisheries, a Review on Culture, Production and Use of Spirulina As Food for Humans and Feeds for, vol. 1034, no. 1034. doi: ISBN 978-92-5-106106-0.

5. Y. Taoka, N. Nagano, Y. Okita, H. Izumida, S. Sugimoto and M. Hayashi (2011). Effect of Tween 80 on the growth, lipid accumulation and fatty acid composition of Thraustochytrium aureum ATCC 34304. *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 111, no. 4, pp. 420 - 424, doi: 10.1016/j.jbiosc. 2010.12.010.

6. G. A. Mohammad and S. Taha Daod (2021). Impact of Tween 80 on Fatty Acid Composition in Two Bacterial Species, Arch. Razi Inst., vol. 76, no. 6, pp. 1617 - 1627, doi: 10.22092/ari.2021.356359. 1826.

7. R. A. Andersen (2005). Algae Culturing Techniques, Illustrate. Academic Press.

8. J. A. Hogenboom, P. D'Incecco, F. Fuselli, and L. Pellegrino (2017). Ion - Exchange Chromatographic Method for the Determination of the Free Amino Acid Composition of Cheese and Other Dairy Products: an Inter-Laboratory Validation Study, Food Anal. Methods, vol. 10, no. 9, pp. 3137–3148, doi: 10.1007/s12161-017-0876-4.

9. Bligh E. G and Dyer W. J. (1959). Canadian Journal of Biochemistry and Physiology Issued by The National Research Council Of Canada A Rapid Method Of Total Lipid Extraction And

Purification1, Can. *J. Biochem. Physiol.*, vol. 37, no. 8, pp. 911-917, [Online]. Available: www.nrcresearchpress.com

10. L. Mišurcová, F. Buňka, J. Vávra Ambrožová, L. Machů, D. Samek, and S. Kráčmar (2014). Amino acid composition of algal products and its contribution to RDI, Food Chem., vol. 151, pp. 120 - 125, May 2014, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2013.11.040.

11. H. Volkmann, U. Imianovsky, J. L. B. Oliveira, and E. S. Sant'Anna (2008). Cultivation of arthrospira (Spirulina) platensis in desalinator wastewater and salinated synthetic medium: Protein content and amino - acid profile, *Brazilian J. Microbiol.*, vol. 39, no. 1, pp. 98-101, doi: 10.1590/S1517-83822008000100022.

12. S. J. Lee, S. Go, G. T. Jeong, and S. K. Kim (2011). Oil production from five marine microalgae for the production of biodiesel, Biotechnol. Bioprocess Eng., vol. 16, no. 3, pp. 561 - 566, doi: 10.1007/s12257-010-0360-0.

13. T. M. Mata, A. A. Martins, and N. S. Caetano (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, Renew. Sustain. Energy Rev., vol. 14, no. 1, pp. 217-232, Jan. 2010, doi: 10.1016/J.RSER.2009.07.020.

14. L. M. Colla, T. E. Bertolin, and J. A. V. Costa (2004). Fatty Acids Profile of Spirulina platensis Grown under Different Temperatures and Nitrogen Concentrations, Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. *C J. Biosci.*, vol. 59, no. 1-2, pp. 55-59, doi: 10.1515/znc-2004-1-212.

15. R. Bhakar, B. Brahmdutt, and S. Pabbi (2014). Total lipid accumulation and fatty acid profiles of microalga Spirulina under different nitrogen and phosphorus concentrations, *Egypt. J. Biol.*, vol. 16, no. 1, p. 57, doi: 10.4314/ejb.v16i1.8.

16. M. M. B. W. Dooper, B. Van Riel, Y. M. F. Graus, and L. M'Rabet (2003). Dihomo-γ-linolenic acid inhibits tumour necrosis factor-α production by human leucocytes independently of cyclooxygenase activity, Immunology, vol. 110, no. 3, pp. 348-357, doi: 10.1046/j.1365-2567. 2003.01749.x.

17. S. R. Ronda and S. S. Lele (2008). Culture conditions stimulating high γ-linolenic acid accumulation by Spirulina platensis, *Brazilian J. Microbiol.*, vol. 39, no. 4, pp. 693-697, doi: 10.1590/S1517-83822008000400018.

INVESTIGATING THE EFFECT OF TWEEN 80 ON THE NUTRITIONAL VALUE OF *Spirulina platensis*

Tran Thi Anh Nguyet[1], Nguyen Duc Bach[2], To Thi Mai Huong[1,*]

Summary

Due to the richness of their biological components, *Spirulina platensis* production is a promising direction for the future of biotechnology and has a significant commercial worth. In this study, the effect of different concentrations of Tween 80 (0.1%, 0.5% and 1%) supplements on the lipid content, fatty acid composition and free amino acid composition of *Spirulina platensis* was investigated. As a result, the lipid content in the sample increased, from 6.67% to 13.80%. Regarding the fatty acid composition, the ratio of unsaturated fatty acid and saturate fatty acids (UFA/SFA) of *Spirulina platensis* was high (1.47 to 2.17) and the gamma linolenic acid content (GLA) accounted for 24.07%, 23.02% and 18.58%, respectively, of the total FAs (with the addition of 0.1%, 0.5% and 1% Tween 80, respectively), the oleic acid and dihomo gamma - linolenic acid significantly increased compared to the control sample while other components did not change much.

Keywords: *Fatty acids, free amino acids, GLA, Spirulina platensis, Tween 80.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn La Anh
Ngày nhận bài: 14/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 12/4/2023
Ngày duyệt đăng: 19/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA TWEEN 80 ĐẾN SỰ TÍCH LŨY LIPIT, THÀNH PHẦN AXIT BÉO VÀ HÀM LƯỢNG AXIT AMIN TỰ DO CỦA TẢO *Chlorella vulgaris*

Tô Thị Mai Hương[1, *], Trần Thị Ánh Nguyệt[1], Nguyễn Đức Bách[2]

TÓM TẮT

Nghiên cứu khoa học về vi tảo được thúc đẩy từ triển vọng sản xuất hàng hóa có giá trị kinh tế cao. Nhiều công dụng của chất béo trong vi tảo có thể được khám phá bởi sự đa dạng về thành phần hóa học của chúng. Thành phần của các chất béo này ảnh hưởng rất lớn đến giá trị dinh dưỡng và ứng dụng của vi tảo. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng chất béo của tảo *Chlorella vulgaris* tăng từ 9,93 - 23,07%. Về thành phần axit béo, tỷ lệ axit béo không bão hòa/axit béo bão hòa (UFA/SFA) của tảo *Chlorella vulgaris* tăng từ 0,7 tới 1,87 và hàm lượng axit gamma linolenic (GLA) chiếm 0,06%, 0,08% và 0,28% tổng FA (tương ứng có bổ sung 0,1%, 0,5% và 1% Tween 80). Về phần axit amin, prolin tăng đáng kể từ 40,77 - 81,07 mg/g tuy nhiên, Tween 80 cũng làm giảm hàm lượng một số axit amin thiết yếu.

Từ khóa: *Axit amin tự do, axit béo, tảo Chlorella vulgaris, GLA, Tween 80.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thuật ngữ vi tảo đề cập đến vi khuẩn quang hợp oxi và vi tảo. Vi tảo là sinh vật tự dưỡng, chúng tạo ra thức ăn bằng cách sử dụng năng lượng ánh sáng và các chất dinh dưỡng vô cơ bao gồm CO_2, nitơ và phốt pho [1]. Điểm đặc biệt của vi tảo chính là khả năng sinh trưởng nhanh, chi phí canh tác tối thiểu và khả năng trao đổi chất có thể so sánh được với con đường trao đổi chất của thực vật bậc cao. Quá trình quang hợp chuyển đổi năng lượng mặt trời thành sinh khối và tạo ra axit béo, lipit, vitamin, cacbohidrat, kháng sinh, chất chống oxy hóa và protein. Nhiều dẫn xuất axit béo khác, bao gồm axit béo hydroxy, oxylipin, alkenon và diol, được sản xuất bởi vi tảo, bổ sung vào nhóm các phân tử có tính ứng dụng cao trong công nghệ sinh học [2]. Chủng vi tảo đang được quan tâm nghiên cứu nhiều gần đây là tảo *Chlorella vulgaris*. Đây là một loại vi tảo đơn bào, màu xanh lá cây có đường kính từ 2 - 10 nm và độ dày thành tế bào từ 100 - 200 nm. Các tế bào của nó có dạng hình cầu, bán cầu hoặc hình elip không có roi, phát triển nhanh và chu kỳ sinh sản ngắn [3]. Bởi khả năng sinh trưởng mạnh mẽ nên tảo *Chlorella vulgaris* dễ thích nghi với các điều kiện lý hóa thay đổi. Tảo *Chlorella vulgaris* được sử dụng như một loại thực phẩm chức năng giúp nâng cao sức khỏe con người, ứng dụng trong mỹ phẩm, dược phẩm, thức ăn chăn nuôi và các ngành công nghiệp khác [4], [5], [6] nhờ sự phong phú của các hóa chất thiết yếu, bao gồm carotenoit, astaxanthin, phycoxianin, beta-caroten, chất chống oxy hóa và axit béo trong tảo. Trong những năm gần đây, đã có sự gia tăng đáng kể trong nghiên cứu về vi tảo và sử dụng chúng làm nguồn protein [7], [8]. Tảo *Chlorella vulgaris* có thể được sử dụng như một nguồn axit amin quan trọng. Các axit amin này đóng góp vào giá trị dinh dưỡng cao của vi tảo, khiến cho vi tảo phù hợp làm chất bổ sung cho chế độ ăn uống và các sản phẩm tốt cho sức khỏe. Khi phát triển trong điều kiện stress và thiếu hụt dinh dưỡng, tảo *Chlorella vulgaris* thường tích lũy một lượng lớn chất béo dự trữ carotenoit, và chất diệp lục cũng chiếm khoảng 2 - 3% [9].

Tween 80 (Polysorbate 80) là chất nhũ hóa và chất khử bọt được sử dụng trong thực phẩm, vitamin, dược phẩm và vắc-xin. Tween 80 là một tiền chất của axit oleic (C18: 1) với một sorbitol và một axit oleic là các axit béo chính. Tween 80 gần

[1] Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
[2] Học viện Nông nghiệp Việt Nam
* Email: to-thi-mai.huong@usth.edu.vn

đây đã thu hút sự chú ý vì ảnh hưởng của nó đối tới sự tổng hợp của axit béo và axit amin tự do [10], [11]. Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá ảnh hưởng của Tween 80 đến hàm lượng lipit, thành phần axit béo và thành phần axit amin tự do của tảo *Chlorella vulgaris*.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Tảo *Chlorella vulgaris*

Tảo *Chlorella vulgaris* là chủng vi tảo nội địa và được cung cấp từ Ngân hàng giống Vi tảo của Viện Nghiên cứu Vi tảo và Dược mỹ phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Tảo *Chlorella vulgaris* nuôi cấy trong môi trường BBM đã được Hogenboom và cs (2017) [12] sửa đổi.

2.2. Môi trường nuôi cấy *Chlorella vulgaris*

Tảo *Chlorella vulgaris* được nuôi trong bể 1 L sau khi chuyển từ giai đoạn nhân giống sang bình 50 mL. Nhiệt độ nuôi cấy được duy trì ở mức 25 - 27^{0}C và chiếu sáng liên tục bằng đèn huỳnh quang trong suốt thời gian nuôi cấy. Ngoài ra, các mẫu tảo *Chlorella vulgaris* được sục với 10 - 15% khí nén liên tục. Mật độ tảo *Chlorella vulgaris* được xác định tại mật độ quang OD = 1 ở bước sóng 680 nm. Các thí nghiệm được thực hiện với mẫu đối chứng (CBC) và ba phương pháp xử lý với Tween 80 được bổ sung ở 3 nồng độ: 0,1% Tween 80 (ký hiệu là C01); 0,5% Tween 80 (ký hiệu là C05) và 1% Tween 80 (ký hiệu C1). Mật độ ban đầu tảo *Chlorella vulgaris* trong bình thí nghiệm là 0,1. Tween 80 được bổ sung vào cuối pha sinh trưởng dựa trên một số nghiên cứu của Taoka và cs (2011) [10], Mohammad và Taha Daod (2021) [11]. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Sinh khối tảo *Chlorella vulgaris* được thu hồi bằng cách ly tâm dịch tảo ở tốc độ 5.000 vòng/phút trong 10 phút sau đó. Sinh khối tảo sau đó được sấy khô ở 60^{0}C cho đến khối lượng không đổi. Các mẫu tảo tảo *Chlorella vulgaris* được bảo quản ở - 20^{0}C cho các phân tích sinh hóa sau này.

2.3. Phân tích hàm lượng axit amin tự do

Axit amin tự do được tách chiết từ bột tảo *Chlorella vulgaris* bằng cách lắc đều 100 mg trong 3 ml dung dịch đệm natri axetat (pH = 2,2) trong 1 phút và vortex ở tốc độ 1.000 vòng/phút trong vòng 1 giờ. Dung dịch chứa mẫu tảo *Chlorella vulgaris* được ly tâm, phần dịch trong và phần nổi phía trên được thu lại và lọc qua màng lọc nylon có kích thước 0,22 μm (Finetech, Trung Quốc). Dịch lọc được chuyển sang vial thủy tinh 1,5 mL, bảo quản ở 4^{0}C để phân tích sau bằng sắc ký trao đổi ion - Biochrom 30+ (Biochrom, Cambridge, UK) [12]. Hỗn hợp axit amin chuẩn (Sigma - Aldrich, St. Louis, MO, US) đã được sử dụng để so sánh với mẫu phân tích trong quá trình thí nghiệm. Hàm lượng axit amin cuối cùng được tính theo công thức sau đây:

$$\text{FAA} = \text{Nồng độ của AA} \times \text{Khối lượng phân tử của AA} \times 3 \times 10^{-5} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right)$$

2.4. Phân tích tách chiết và định lượng tổng axit béo

Chất béo tổng được chiết xuất từ sinh khối tảo *Chlorella vulgaris* khô bằng phương pháp của Bligh và Dyer (1959) [13]. Tảo *Chlorella vulgaris* sau khi ngâm ủ trong dung dịch cloroform/methanol trong 1 giờ được bổ sung 1 ml dung dịch NaCl 3M, hỗn hợp sẽ phân tách thành 2 pha. Pha dưới là axit béo tổng được hòa tan trong dịch chiết cloroform/metanol sẽ được thu vào các vial đã được cân trước. Dung môi trong các vial sẽ được thổi khô bằng khí nitơ. Các vial sau đó được cân lại để tính khối lượng chất béo tách ra trong mỗi mẫu tảo. Hàm lượng dầu được tính theo công thức sau:

$$\%\ \text{Dầu chiết} = \frac{\text{Khối lượng dầu chiết}}{\text{Khối lượng bột tảo ban đầu}} \times 100\%$$

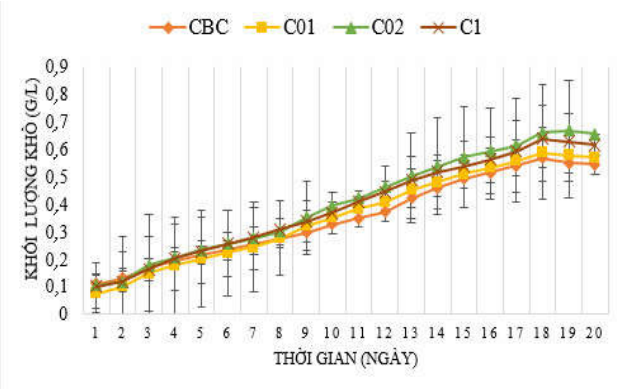
2.5. Phân tích thành phần axit béo

Chất béo đã tách được este hóa bằng methanol với chất xúc tác là BF3 (Sigma, Mỹ) trong vòng 1 giờ ở 80^{0}C. Các este của axit béo sau phản ứng được hòa tan trong dung dịch hexan và được tách riêng ra. Dung dịch este sau đó được đưa vào hệ thống phân tích sắc ký khí GC/MS Trace 1310 của Thermo Scientific và cột mao quản (30 mm x 0,25 mm x 0,25 m, Thermo Scientific, Hoa Kỳ) để xác định thành phần.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đường cong sinh trưởng và mối tương quan giữa khối lượng tảo khô với mật độ quang OD của tảo *Chlorella vulgaris*

Hình 1 cho thấy, đường cong sinh trưởng của *Chlorella vulgaris* không có sự khác biệt đáng kể về khả năng tăng trưởng của tảo *Chlorella vulgaris* giữa mẫu đối chứng và các mẫu bổ sung Tween 80.



Hình 1. Đường cong sinh trưởng của tảo Chlorella vulgaris được xử lý bằng Tween 80

CBC là mẫu đối chứng; C01 là mẫu có bổ sung 0,1% Tween; C05 là bổ sung 0,5% Tween và C1 là mẫu bổ sung 1% Tween.

3.2. Axit amin tự do của tảo *Chlorella vulgaris* được xử lý bằng Tween 80

Kết quả của việc bổ sung Tween 80 đối với thành phần axit amin của *Chlorella vulgaris* được thể hiện ở bảng 1. Các axit amin tự do được định lượng bằng thiết bị sắc ký BioChrom 30+. Chỉ có 18 axit amin được phát hiện, bao gồm: Taurin, asparin, threonin, serin, glutamin, propyn, glyxin, alanin, cystin, valin, methionin, isoleuxin, tyrosin, phenin, histidin, tryptophan, lyzin và arginin. Phát hiện cho thấy, tổng hàm lượng amino axit tự do của các mẫu tảo *Chlorella vulgaris* thay đổi từ 61,03 - 142,02 mg/g. Lượng axit amin thiết yếu trung bình là 11,79 - 32,49 mg/g trong khi lượng axit amin không thiết yếu (NEAA) là 26,77 - 116,54 mg/g. Nhìn chung, hàm lượng axit amin tự do của các mẫu tảo *Chlorella vulgaris* được xử lý bằng Tween 80 cao hơn so với mẫu đối chứng và mẫu tảo *Chlorella vulgaris* có hàm lượng axit amin cao nhất là C05 (mẫu được bổ sung 5% Tween 80) với hàm lượng 142,02 mg/g.

Tổng lượng axit amin không thiết yếu cao hơn nhiều so với axit amin thiết yếu trong tất cả các thí nghiệm bổ sung Tween 80 và hàm lượng này ngược lại đối với các mẫu đối chứng. Về cấu hình axit amin, tất cả các mẫu tảo *Chlorella vulgaris* cho thấy, nồng độ cao nhất của axit amin không thiết yếu proline (trong khoảng 15,7 - 81,60 mg/g), các axit amin không thiết yếu còn lại có nồng độ thấp hơn nhiều. Trong số các axit amin thiết yếu của tảo *Chlorella vulgaris*, nồng độ lyzin và methionin cao nhất trong các mẫu bổ sung C05 (0,5% Tween 80) ở mức 7,4 mg/g và 4,57 mg/g và C1 (1% Tween 80) tương ứng ở mức 5,96 mg/g và 3,39 mg/g. Mẫu C01 (bổ sung 0,1% Tween 80) có hàm lượng lyzin và phenin cao nhất, 6,03 và 4,83 mg/g (Bảng 1). Lyzin và methionin là 2 axit amin thiết yếu được hấp thụ qua chế độ ăn uống. Met. có tác động đến tuổi thọ và sức khỏe trao đổi chất, tập trung vào việc giảm căng thẳng oxy hóa và lyzin cần thiết cho sự tăng trưởng và phát triển cơ bắp bình thường [14], [15]. Một chế độ ăn uống kết hợp bổ sung nguồn protein từ tảo có thể cung cấp đủ axit amin thiết yếu cho cơ thể. Tổng lượng axit amin thiết yếu có trong tảo *Chlorella vulgaris* thay đổi nhẹ. Tảo *Chlorella vulgaris* bổ sung 1% Tween 80 có nồng độ axit amin thiết yếu thấp nhất, trong khi tảo *Chlorella vulgaris* bổ sung 0,1% Tween 80 có nồng độ cao nhất. Ngoài ra, việc bổ sung Tween 80 vào môi trường không làm thay đổi nhiều quá trình tổng hợp axit amin, tổng số axit amin tự do của cả 2 loại thiết yếu và không thiết yếu đều thấp hơn so với đối chứng.

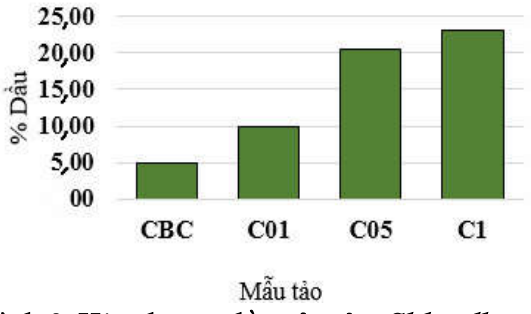
Bảng 1. Thành phần axit amin tự do của tảo *Chlorella vulgaris* được bổ sung Tween 80 (mg/g)

Axit amin	CBC	C01	C05	C1
Axit amin thiết yếu				
Thr.	ND	1,32±0,018	ND	3ND
Val.	1,68±0,040	1,15±0,011*	0,16±0,006*	0,19±0,0001*
Met.	2,15±0,067	1,65±0,020*	4,57±0,092**	3,39±0,056**
Ile.	6,95±0,104	1,59±0,017**	3,50±0,078***	1,81±0,042**
Leu.	ND	ND	ND	ND
Phe.	4,17±0,024	4,83±0,065*	0,96±0,024***	0,49±0,002**

His.	0,04±0,000	0,11±0,0001*	0,04±0,019	0,03±0,001
Trp.	2,40±0,001	0,50±0,006**	0,24±0,000**	0,10±0,002**
Lys.	15,10±0,713	6,03±0,288*	7,40±0,001*	5,96±0,015*
ΣAA thiết yếu	32,49±0,477	17,17±0,410***	16,86±0,121**	11,97±0,114**
Axit amin không thiết yếu (NEAA)				
Tau.	0,38±0,000	0,67±0,003*	1,64±0,005**	1,04±0,025*
Asp.	ND	ND	ND	ND
Ser.	0,29±0,105	1,36±0,003*	4,17±0,084***	3,73±0,087**
Glu.	2,16±0,228	2,83±0,050	13,84±0,295***	10,73±0,208***
Pro.	15,70±5,257	41,82±0,851*	81,60±1,363**	40,77±0,815*
Gly.	0,52±0,112	1,50±0,027*	4,97±0,078***	4,25±0,087**
Ala.	0,59±0,070	2,88±0,070***	8,85±0,066****	8,05±0,066***
Cys.	0,43±0,040	0,60±0,001*	0,47±0,007	0,43±0,001
Tyr.	6,43±0,024	4,75±0,052**	0,91±0,014***	0,63±0,027***
Arg.	0,27±0,144	0,30±0,018	0,09±0,006	0,09±0,002
ΣAA không thiết yếu	28,31±6,781	56,71±1,078*	116,54±1,894**	71,66±2,671*
Tổng	61,03±6,14	73,88±1,50	142,02±8,10**	87,30±0,20*

Ghi chú: CBC là mẫu đối chứng; C01 là mẫu có bổ sung 0,1% Tween; C05 là bổ sung 0,5% Tween và C1 là mẫu bổ sung 1% Tween. Các giá trị được thể hiện bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 2); các giá trị có kí hiệu (,**,***) khác nhau có ý nghĩa thống kê (p < 0,05, p < 0,01 và p < 0,001); ND là không được phát hiện và các ô màu có giá trị cao hơn đối chứng.*

3.3. Hàm lượng dầu của tảo *Chlorella vulgaris* được bổ sung bởi Tween 80



Hình 2. Hàm lượng dầu của tảo *Chlorella vulgaris*

CBC là mẫu đối chứng; C01 là mẫu có bổ sung 0,1% Tween 80; C05 là bổ sung 0,5% Tween 80 và C1 là mẫu bổ sung 1% Tween 80

Tỷ lệ dầu có trong tảo *Chlorella vulgaris* được thể hiện ở hình 2. Lượng dầu trong các mẫu được xử lý bằng chất bổ sung Tween 80 tăng từ 9,93 tới 23,07% trong khi nồng độ dầu trong mẫu đối chứng chỉ là 4,87%. Kết quả cho thấy, Tween 80 làm tăng đáng kể hàm lượng dầu trong tảo *Chlorella vulgaris*.

3.4. Hàm lượng axit béo của tảo *Chlorella vulgaris* được bổ sung bởi Tween 80

Thành phần axit béo của tảo *Chlorella vulgaris* được bổ sung với các nồng độ Tween 80 khác nhau được trình bày trong bảng 2. Các axit béo chính bao gồm C16: 1, C16: 0, C18: 2, C18: 1 và C18: 0 với hàm lượng cao vượt trội so với axit béo khác. Việc bổ sung các nồng độ Tween 80 khác nhau có ảnh hưởng đáng kể (P < 0,05) đến hàm lượng axit béo của tảo *Chlorella vulgaris*.

Tổng hàm lượng axit béo không bão hòa trong mẫu đối chứng và mẫu bổ sung 0,1% Tween 80 thấp hơn so với tổng hàm lượng axit béo bão hòa với tỷ lệ UFA/SFA (axit béo không bão hòa/ axit béo bão hòa) lần lượt là 1,87 và 0,90 (Bảng 2). Đối

với 2 mẫu bổ sung 0,5% Tween 80 và 1% Tween 80, tỷ lệ UFA/SFA ở mức 0,70 và 0,83. Tỷ lệ PUFA/SFA trên 0,45 được chỉ định nhằm ngăn ngừa bệnh tim mạch và một số bệnh mãn tính liên quan đến chế độ ăn uống của con người, tỷ lệ UFA trên SFA đại diện cho giá trị dinh dưỡng của chất béo trong chế độ ăn uống, nên nằm trong khoảng từ 1 - 2 để giảm colestêrôn trong máu và giảm nguy cơ mắc bệnh tim [16]. Trong số các axit béo no, nồng độ axit palmitic (C16: 0) và axit stearic (C18: 0) là cao nhất, dao động lần lượt từ 20,21 - 20,99% và 29,49 - 35,90%. Hàm lượng axit palmitic giảm nhẹ so với mẫu đối chứng, trong khi hàm lượng axit stearic tăng đáng kể. Linoleic (LA) và gamma - linolenic (GLA), dihomo-gamma-linolenic (DGLA) và arachidic axit (ARA) là những axit béo quan trọng nhất trong nhóm omega-6 FA. Mặc dù không có sự xuất hiện của DGLA trong các mẫu, nhưng đã ghi nhận sự hiện diện của các axit béo còn lại bao gồm GLA, ARA và ALA, điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Ötleş và Pire (2001) [17], Jahromi và cs (2022) [18]. Có sự khác biệt đáng kể giữa hàm lượng GLA của các mẫu tảo *Chlorella vulgaris*. Mẫu bổ sung 0,1% Tween 80 có hàm lượng GLA cao hơn đối chứng là 0,28%; và 2 mẫu bổ sung 0,5% và 1% Tween 80 cũng có hàm lượng GLA cao hơn so với đối chứng, lần lượt là 0,08% và 0,06% GLA; trong khi mẫu đối chứng phát hiện 0,04% GLA. Kết quả này tương tự với kết quả của nghiên cứu về ảnh hưởng của axit béo của vỏ cam quýt đến hàm lượng axit béo [18]. Bên cạnh GLA, cũng phát hiện được sự hiện diện của ALA trong các mẫu tảo *Chlorella vulgaris*. Hàm lượng ALA ở các mẫu có bổ sung Tween 80 dao động từ 0,53 - 0,71% và cao hơn so với mẫu đối chứng chỉ có 0,47% ALA. Trong số tất cả các axit béo không no được tìm thấy, hàm lượng C18: 1 (axit Oleic) là cao nhất, tiếp theo là hàm lượng C18: 2 (axit linoleic), ngoài ra, C20: 2 (axit eicosadienoic) cũng được tìm thấy trong tất cả các mẫu tảo (0,51 - 1,06%). Do đó, việc bổ sung Tween 80 có hiệu quả làm tăng nhẹ hàm lượng các axit béo, đặc biệt là các axit béo thiết yếu, đây là một lợi ích có giá trị đối với tảo *Chlorella vulgari*.

Bảng 2. Thành phần axit béo của tảo *Chlorella vulgaris* bổ sung bằng Tween 80

Axit béo	CBC	C01	C05	C1
Axit béo bão hòa				
C12: 0	0,19	0,15±0,007*	0,24±0,007**	0,28±0,014*
C13: 0	0,46±0,014	0,27±0,007*	0,28±0,007*	0,13±0,007**
C14: 0	1,59±0,049	0,99±0,049*	0,81±0,014*	0,99±0,021*
C16: 0	25,82±0,523	20,55±0,028	20,99±0,091*	20,21±1,223*
C17: 0	0,60±0,007	0,47±0,000*	0,14±0,007***	0,10±0,000**
C18: 0	4,87±0,007	29,49±0,007**	35,90±0,586**	32,69±0,608*
C20: 0	0,48±0,028	Nd	Nd	Nd
C24: 0	0,49±0,014	0,27±0,021**	0,14±0,000***	0,15±0,000*
C26: 0	0,32±0,007	0,18±0,000*	0,17±0,007**	0,18±0,007*
Σ axit béo bão hòa (SFA)	34,84±0,608	52,38±0,120*	58,67±0,466***	54,73±1,866*
Axit béo không bão hòa				
C16: 1	8,91±0,021	5,20±0,063**	5,53±0,007***	3,81±0,056**
ALA	0,47±0,007	0,53±0,014*	0,69±0,000**	0,71±0,042*
GLA	0,04±0,007	0,28±0,0.14*	0,08±0,000*	0,06±0,001*
C18: 2	5,97±0,106	3,19±0,190*	7,92±0,205**	4,28±0,289*
C18: 1	47,49±0,799	37,71±0,438**	26,06±0,099**	35,66±3,040*
C20: 5	0,70±0,000	Nd	Nd	0,02±0,007**
C20: 4	0,73±0,014	Nd	Nd	nd
C20: 2	0,51±0,014	0,64±0,0001*	1,06±0,007*	0,24±0,014*
C22: 5	Nd	0,06±0,000	Nd	Nd

C22: 1	0,28±0,000	Nd	Nd	Nd
Σ Axit béo không bão hòa (UFA)	65,16±0,721	47,62±0,537**	41,33±0,318*	45,27±2,630*
Tổng	100	100	100	100
UFA/SFA	1,87	0,90	0,70	0,83

Ghi chú: CBC là mẫu đối chứng; C01 là mẫu có bổ sung 0,1% Tween 80; C05 là bổ sung 0,5% Tween 80 và C1 là mẫu bổ sung 1% Tween 80. Các giá trị được thể hiện bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 2); các giá trị có kí hiệu (,**,***) khác nhau có ý nghĩa thống kê (p < 0,05, p < 0,01 và p < 0,001); ND là không được phát hiện và các ô màu có giá trị cao hơn đối chứng.*

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tập trung vào sự thay đổi hàm lượng dầu và thành phần axit béo, axit amin tự do của tảo *Chlorella vulgaris* khi bổ sung Tween 80 trong môi trường nuôi cấy. Kết quả cho thấy, Tween 80 có thể được sử dụng để tăng hàm lượng lipit, thành phần AAs, FA và của tảo *Chlorella vulgari*. Lượng axit amin thiết yếu giảm rõ rệt nhưng lượng axit amin không thiết yếu lại tăng mạnh nên tổng lượng axit amin tăng lên. Tảo *Chlorella vulgaris* là một nguồn protein và PUFA quan trọng, cần có thêm các nghiên cứu để tối ưu hóa sự tích lũy lipit và đa dạng sinh hóa trong vi tảo *Chlorella vulgaris*. Những phát hiện trong nghiên cứu này có thể đóng vai trò là nền tảng cho chiến lược tăng cường hàm lượng dinh dưỡng tối ưu của tảo *Chlorella vulgaris*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Randrianarison G. and Ashraf M. A. (2017). Microalgae: a potential plant for energy production. *Geol. Ecol. Landscapes*, 1, 104–120. Available at: http://doi.org/10.1080/24749508. 2017.1332853.

2. Markou G. and Nerantzis E. (2013). Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnol. Adv.*, 31, 1532–1542. Available at: http://dx.doi.org/10. 1016/j.biotechadv.2013.07.011.

3. Coronado-Reyes, J. A., Salazar-Torres, J. A., Juárez-Campos, B. and González-Hernández J. C. (2022). *Chlorella vulgaris*, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review. *Food Sci. Technol.*, 42, 1–11.

4. Lucakova S., Branyikova I. and Hayes M. (2022). Microalgal Proteins and Bioactives for Food, Feed, and Other Applications. *Appl. Sci.*, 12.

5. Thye San Cha *et al.* (2011). Differential regulation of fatty acid biosynthesis in two Chlorella species in response to nitrate treatments and the potential of binary blending microalgae oils for biodiesel application. Bioresource Technology. Volume 102, Issue 22, November 2011, Pages 10633-10640.

6. Lei Qin *et al.* (2023). Investigating the effects of surfactants on Chlorella pyrenoidosa in the hydrolysis acidification liquor by integrated physiochemical and transcriptome analyses. Algal Research. Volume 70, March 2023, 103009.

7. Kim J., Kim T. K., Cha J. Y., Ku S. K., Jung S. and Choi Y. S. (2022). Effect of Drying Methods on Physicochemical Characteristics and Functional Properties of Duck Blood Gel. *Food Sci. Anim. Resour.*, 42, 861–873.

8. Lee S. J., Go S., Jeong G. T. and Kim S. K. (2011). Oil production from five marine microalgae for the production of biodiesel. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 16, 561–566.

9. Ru I. T. K., Sung Y. Y., Jusoh M., Wahid M. E. A. and Nagappan T. (2020). *Chlorella vulgaris*%: a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts . *Appl. Phycol.*, 1, 2–11. Available at: https://doi.org/10.1080/26388081.2020.1715256.

10. Taoka Y., Nagano N., Okita Y., Izumida H., Sugimoto S. and Hayashi M. (2011). Effect of Tween 80 on the growth, lipid accumulation and fatty acid composition of Thraustochytrium aureum ATCC 34304. *J. Biosci. Bioeng.*, 111, 420-424. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/

j.jbiosc.2010.12.010.

11. Mohammad G. A. and Taha Daod S. (2021). Impact of Tween 80 on Fatty Acid Composition in Two Bacterial Species. *Arch. Razi Inst.*, 76, 1617–1627.

12. Hogenboom J. A., D'Incecco P., Fuselli F. and Pellegrino L. (2017). Ion-Exchange Chromatographic Method for the Determination of the Free Amino Acid Composition of Cheese and Other Dairy Products: an Inter-Laboratory Validation Study. *Food Anal. Methods*, 10, 3137–3148.

13. Bligh E. G. and Dyer W. J. (1959). Canadian Journal of Biochemistry and Physiology Issued by The National Research Council Of Canada A Rapid Method Of Total Lipid Extraction And Purification1. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911–917. Available at: www.nrcresearchpress.com.

14. Kitada M., Ogura Y., Monno I., Xu J. and Koya D. (2021). Effect of methionine restriction on aging: Its relationship to oxidative stress. Biomedicines, 9, 1–15.

15. Jin C., Ye J., Yang J., Gao C. and Yan H. (2019). mTORC1 Mediates Lysine-Induced Satellite Cell. *Cells*, 8, 1549.

16. Garcıa J. L., Vicente M. de and Galan B. (2022). Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. Available at: https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1751-7915.12800.

17. Ötleş S. and Pire R. (2001). Fatty acid composition of Chlorella vulgari and Spirulina microalgae species. *J. AOAC Int.*, 84, 1708–1714.

18. Jahromi K. G., Koochi Z. H., Kavoosi G. and Shahsavar A. (2022). Manipulation of fatty acid profile and nutritional quality of Chlorella vulgaris by supplementing with citrus peel fatty acid. Sci. Rep., 12, 1–11. Available at: https://doi.org/10.1038/s41598-022-12309-y.

INVESTIGATING THE EFFECT OF TWEEN 80 ON THE LIPID ACCUMULATION, FATTY ACID COMPOSITION AND FREE AMINO ACID CONTENT OF *Chlorella vulgaris*

To Thi Mai Huong[1,*], Tran Thi Anh Nguyet[1], Nguyen Duc Bach[2]

[1]*University of Sciences and Technology of Hanoi, Vietnam Academy of Science and Technology*

[2]*Vietnam National university of Agriculture*

**Email: to-thi-mai.huong@usth.edu.vn*

Summary

Scientific investigation into microalgae is sparked by the prospect of producing goods with high economic value. It is feasible to explore a wide variety of microalgal lipid uses due to the diversity of their chemical makeup. Most lipid classes are formed and converted through the metabolism of fatty acids (FAs), and the composition of these lipids greatly influences their characteristics and applications. The research on the fatty acid content of microalgae is therefore given a lot of attention (including cyanobacteria). In this study, the effect of Tween 80 on the lipid content, fatty acid composition, and free amino acid composition of the algae *Chlorella vulgaris* was investigated. As a result, the lipid content increased of *Chlorella vulgaris* from 9.93% to 23.07%. Regarding the fatty acid composition, the ratio of unsaturated fatty acid and saturated fatty acids (UFA/SFA) ratio of *Chlorella vulgaris* was from 0.7 to 1.87 and the content of Gamma linolenic acid (GLA) accounted for 0.06%, 0.08%, 0.28% of total FA. For amino acid analysis, the proline increased significantly from 40.77 mg/g to 81.07 mg/g however Tween 80 decreased the required amino acid content. This study evaluates the influence of Tween 80 on the nutritional composition of *Chlorella vulgaris*, contributing to the research and exploitation of potential microalgae nutrients.

Keywords: *Chlorella vulgaris, fatty acid, free amino acid, GLA, Tween 80.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn La Anh

Ngày nhận bài: 14/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 12/4/2023

Ngày duyệt đăng: 19/4/2023

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ TỚI KHẢ NĂNG THU NHẬN VÀ CẤU TRÚC CỦA KHỐI SỮA ĐÔNG TRONG SẢN XUẤT PHOMAT TƯƠI

Hoàng Giang[1, 2], Nguyễn Chính Nghĩa[1], Đặng Thị Thùy Linh[1]
Trần Minh Khuê[1], Đinh Thu Linh[1], Vũ Hồng Sơn[1], Hồ Phú Hà[1], Vũ Thu Trang[1, *]

TÓM TẮT

Phomat, sản phẩm từ sữa, được đông tụ hoặc kết hợp khéo léo các enzyme, vi sinh vật để tạo một khối với hương vị đặc trưng, chứa nhiều giá trị dinh dưỡng từ đạm và chất béo đang trở thành sản phẩm thu hút người tiêu dùng Việt Nam, đặc biệt là giới trẻ. Tại Việt Nam, sản xuất công nghiệp các sản phẩm phomat còn chưa đa dạng và đang trở thành mối quan tâm của nhiều doanh nghiệp trong nước. Nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình tiền lên men tới khả năng đông tụ và hiệu suất thu hồi phomat tươi đã được thực hiện. Kết quả cho thấy, tiền lên men sữa với chủng *Streptococcus thermophilus* mật độ 10^6 CFU/ml ở 40^0C trong 115 phút góp phần nâng cao hiệu suất thu hồi và hương vị của khối sữa. Nồng độ $CaCl_2$ bổ sung 0,15 g/L cho thời gian đông tụ ngắn, hiệu suất thu hồi và hàm lượng chất khô cao, cấu trúc tốt. Kết quả cảm quan mô tả cho thấy, một số đặc tính tương đồng với mẫu thị trường. Kết quả cảm quan thị hiếu cho thấy mức độ ưa thích tương đồng với 2 mẫu sản phẩm thương mại trên thị trường. Đây là kết quả quan trọng cho các quá trình sản xuất và đa dạng hóa các sản phẩm phomat từ nguyên liệu trong nước, có ý nghĩa lớn trong việc đa dạng hóa các sản phẩm từ sữa.

Từ khóa: *Khối sữa đông tụ, phomat tươi, sữa nguyên liệu, tiền lên men.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phomat là thực phẩm từ sữa bổ dưỡng nhất, có giá trị dinh dưỡng quan trọng trong chế độ ăn vì bao gồm hầu hết protein, chất béo, khoáng chất thiết yếu, vitamin và các chất dinh dưỡng khác [1]. Tuy nhiên, so với các sản phẩm sữa khác, phomat không phải là sản phẩm quen thuộc tại Việt Nam do sự thiếu hụt sữa tươi nguyên liệu. Theo Cục Chăn nuôi, sản lượng sữa bò tươi liên tục tăng nhanh: Năm 2020 đạt 1.049 nghìn tấn (tăng 6,4% so với năm 2019); sản lượng sữa bò tươi nguyên liệu năm 2021 ước đạt 1.200 nghìn tấn, tăng 10,5% so với năm 2020, khai thác từ đàn bò sữa 375,2 ngàn con, tăng 13,2% nhưng mới đáp ứng khoảng 30 % nhu cầu của người tiêu dùng [2]. Phomat trở nên phổ biến khi ngày càng có nhiều người Việt Nam, đặc biệt là giới trẻ, quan tâm đến lối sống cũng như ẩm thực phương Tây và dần được dung hợp với các món ăn của Việt Nam. Sự thay đổi phương thức tiêu thụ sẽ dẫn đến nhu cầu sử dụng các sản phẩm phomat mới bên cạnh các sản phẩm hiện có trên thị trường [3]. Chính vì thế, việc đưa ra các thông số công nghệ đóng vai trò quan trọng trong chủ động sản xuất phomat tại Việt Nam.

Hiện nay, thị trường phomat Việt Nam chủ yếu chỉ gồm các sản phẩm phomat chế biến như món tráng miệng, hoặc các sản phẩm phomat tươi. Các sản phẩm phomat đã ủ chín chủ yếu được nhập khẩu từ New Zealand, Pháp, Đức với số lượng rất hạn chế. Trong nước, thương hiệu phomat "Con bò cười" của hãng Bel chiếm 85% thị phần tại Việt Nam, nhưng đây là phomat nấu chảy, chế biến từ sản phẩm phomat nhập khẩu. Các doanh nghiệp Việt Nam có khả năng chủ động nguồn sữa tươi gần đây cũng tích cực tham gia vào sản phẩm này nhưng sản lượng vẫn còn hạn chế. Các công ty quốc tế vẫn chiếm phần lớn doanh thu của thị trường.

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
[2] Bộ Tư lệnh Cảnh vệ, Bộ Công an
[*]Email: trang.vuthu@hust.edu.vn

Theo TCVN 7401: 2004 về tiêu chuẩn chung đối với phomat, phomat tươi là phomat không qua quá trình ủ chín. Theo Fox và cs (2017), phomat tươi đại diện cho một nhóm đa dạng các loại được sản xuất bằng cách đông tụ sữa hoặc váng sữa thông qua quá trình axit hóa, axit hóa kết hợp tác động của enzyme, hoặc sự kết hợp giữa axit và nhiệt và sẵn sàng tiêu thụ ngay sau khi chế biến mà không qua quá trình ủ chín sinh hóa [4]. Đây là sản phẩm có giá trị dinh dưỡng cao, hương vị dịu nhẹ, dễ sử dụng so với các sản phẩm phomat đã qua ủ chín [5]. Chất lượng của phô mai tươi bị ảnh hưởng bởi nhiều thông số, bao gồm chất lượng của sữa nguyên liệu, đặc tính protein, quá trình tiền xử lý sữa, cấu trúc gel, điều kiện tách whey và cách xử lý sữa đông.

Với mong muốn kiểm soát quá trình sản xuất phomat từ nguồn nguyên liệu địa phương, nghiên cứu sẽ khảo sát ảnh hưởng của phương pháp tiền xử lý như lên men, axit hóa tới khả năng thu nhận curd, tìm điều kiện lên men phù hợp cho quá trình chuẩn bị sữa trước đông tụ và nồng độ canxi bổ sung tới khả năng thu nhận và cấu trúc của khối sữa đông tụ trong sản xuất phomat tươi.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Sữa sử dụng trong nghiên cứu này là sữa bò tươi, được thu nhận trong thời gian từ tháng 10/2022 đến tháng 3/2023 tại trạm thu mua sữa nguyên liệu tại xã Phù Đổng, huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội. Sữa tươi nguyên liệu được làm lạnh nhanh qua hệ thống trao đổi nhiệt tấm bản tại trạm thu mua sau khi vắt trong 1 giờ và bảo quản ở nhiệt độ 2 - 4°C. Sữa lạnh được duy trì tại nhiệt độ này trong suốt quá trình vận chuyển từ trạm thu mua về phòng thí nghiệm tại Đại học Bách khoa Hà Nội cho đến khi tiến hành thí nghiệm. Sữa sau khi thu mua sẽ được kiểm tra các chỉ tiêu theo TCVN7405: 2018: Hàm lượng chất khô, protein, chất béo, tế bào soma, độ axit, độ tươi của sữa, tỷ trọng, khả năng đông tụ bởi rennet.

Enzyme đông tụ được sử dụng là Marzyme® (Dupont, Danisco, Mỹ), được sản xuất bằng cách lên men dịch nuôi thuần của nấm *Rhizomucor miehei*. pH tối ưu là 5,5 - 6,0; nhiệt độ tối ưu là 36-40°C và hoạt tính enzyme là 703 - 738 IMCU/mL. Liều lượng khuyến nghị từ nhà sản xuất là 24 - 48 IMCU/L sữa.

Chủng vi sinh vật khởi động: STI-12 *Streptococcus thermophilus* (hãng Chr Hansen, Đan Mạch). Nhiệt độ hoạt động: 35 - 45°C, nồng độ sử dụng khuyến cáo: 100U/1.000 L sữa.

Muối $CaCl_2$ của hãng Solvay, Italia. Dung dịch axit lactic của hãng PURAC® FCC, Thái Lan. Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Sữa tươi nguyên liệu được kiểm tra chất lượng và xác định hàm lượng chất khô tổng số và chất béo để tiêu chuẩn hóa cho quá trình sản xuất phomat.

500 mL sữa nguyên liệu được thanh trùng ở 65°C trong 15 phút trong cốc thủy tinh 1 L. Sữa được bổ sung chế phẩm vi sinh vật ở các mật độ 5.10^5, 10^6, 5.10^6, 10^7 CFU/ml với nhiệt độ lên men 35°C, 40°C, 42°C, 45°C; thực hiện quá trình lên men để giảm pH xuống 5,5 là pH tối ưu cho hoạt động của enzyme Marzyme®. Sữa sau lên men được bổ sung Marzyme® với nồng độ 0,05 mL/L sữa nguyên liệu để thực hiện quá trình đông tụ. $CaCl_2$ được bổ sung với tỷ lệ 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 g/L trước quá trình bổ sung enzyme để nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ canxi bổ sung tới quá trình đông tụ và cấu trúc phomat tươi. Khối sữa đông tụ được cắt hình lập phương với kích thước mỗi cạnh 1 cm, sau đó được gia nhiệt nhẹ nhàng ở 38°C nhằm tạo điều kiện cho quá trình tách whey. Hạt curd được để khuôn và ép với lực ép 0,03 kg/cm^2 trong 1 giờ. Phomat tươi được tách khuôn và bảo quản ở 4°C cho các nghiên cứu đặc tính của sản phẩm thu được. Các thông số về hiệu suất thu hồi (HSTH) curd, HSTH chất khô được tính toán.

2.2.2. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

pH của sữa được xác định bằng máy đo pH Model: Lab 845 SI Analytics - Đức.

Phương pháp đánh giá thời gian xuất hiện đông tụ được thực hiện theo IDF Standard 157: 2007/ISO 11815: sử dụng một thìa nhựa spatula,

đưa vào gel nhiều lần. Thời gian xuất hiện đông tụ xác định bằng khoảng thời gian từ lúc bổ sung enzyme cho đến khi xuất hiện những đám nhỏ casein có thể nhìn thấy bằng mắt thường trên bề mặt của spatula [6]. Thời gian cắt curd được xác định bằng 4 lần khoảng thời gian từ khi bổ sung chế phẩm enzyme đến thời điểm xuất hiện đông tụ.

Phương pháp đo cấu trúc: Tính chất vật lý của phomat được xác định bằng máy phân tích cấu trúc Tensipresser My Boy 2 (Taketomo Electric, Co., Tokyo, Nhật Bản). Dao cắt và đế (80 mm x 80 mm), tốc độ cắn: 2 mm/s, khoảng cách: 30 mm, cảm biến lực: 10 kg. Việc đo được thực hiện năm lần và dữ liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm được cung cấp với Tensipresser. Các đặc tính cơ học cơ bản về độ cứng, độ mềm dẻo, độ dai và độ giòn được xác định thông qua các thông số cụ thể.

Hàm lượng chất khô của phomat được xác định theo TCVN 8082: 2013 (ISO 6731: 2010). HSTH chất khô được tính bằng % lượng chất khô thu được trong phomat so với lượng chất khô trong sữa nguyên liệu đem sản xuất.

Phương pháp cảm quan mô tả được thực hiện theo Hà Duyên Tư (2006) [7]. Phép thử mô tả được sử dụng để mô tả chi tiết các tính chất cảm quan một số sản phẩm để nghiên cứu các tính chất đặc trưng của sản phẩm đó với hội đồng chuyên gia. Phép thử mô tả có 3 bước: Lựa chọn đặc tính cần đánh giá; thực hiện phép thử sơ bộ để các thành viên cùng thống nhất cách sử dụng thanh cường độ đưa ra; đánh giá cường độ của các đặc tính đã chọn trên thang điểm.

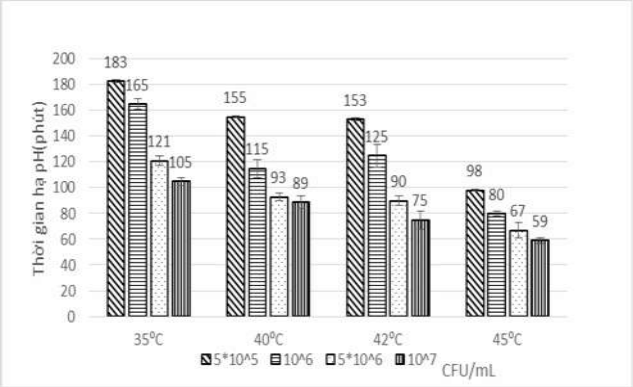
Phương pháp cảm quan thị hiếu [7]: Đây là phép thử thực hiện trên số đông người tiêu dùng để tìm hiểu mức độ hài lòng, ưa thích của họ đối với sản phẩm nghiên cứu. Người thử sẽ được mời nếm sản phẩm và đánh giá cường độ mức độ ưa thích, hài lòng của mình đối với sản phẩm bằng thang điểm: 1-Cực kì không thích; 2-Rất không thích; 3-Không thích; 4-Hơi không thích; 5-Không thích, không ghét; 6-Hơi thích; 7-Thích vừa phải; 8-Rất thích; 9-Cực kì thích. Phương pháp được thực hiện với 60 người có độ tuổi từ 18 - 60 tuổi.

Xử lý số liệu: Kết quả các thí nghiệm được phân tích phương sai ANOVA kết hợp phép thử kiểm định $LSD_{0,05}$ để xác định mức độ khác biệt tại mức ý nghĩa 5% của các nghiệm thức bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVIII.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của điều kiện tiền lên men tới khả năng đông tụ và chất lượng phomat thu được

Việc bổ sung chủng khởi động nhằm mục tiêu giảm pH khối sữa đông tụ và có thể giúp tạo hương vị đặc trưng cho sản phẩm thông qua quá trình lên men. Trong nghiên cứu này, chủng *Streptococcus thermophilus* đã được khảo sát với mật độ chủng bổ sung 10^5, 5.10^6, 10^6, 10^7 CFU/mL và nhiệt độ lên men 35°C, 40°C, 42°C, 45°C.

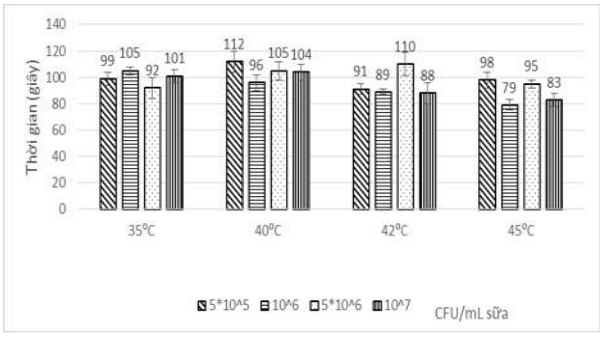


Hình 1. Ảnh hưởng của mật độ chủng bổ sung và nhiệt độ lên men tới thời gian hạ pH của sữa

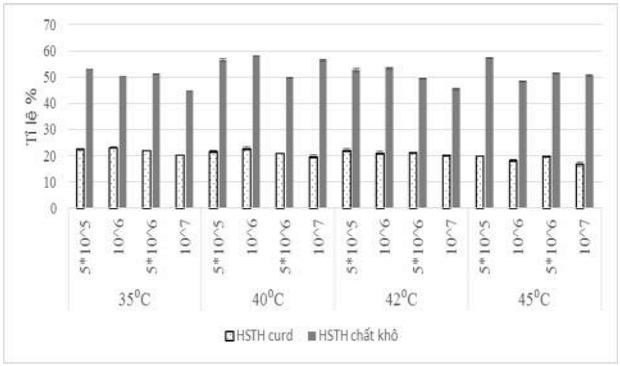
Kết quả nghiên cứu khẳng định mật độ chủng càng cao và nhiệt độ lên men càng lớn thì thời gian hạ pH tới 5,5 càng nhanh. Khi bổ sung cùng một mật độ chủng, giữa các mẫu lên men ở nhiệt độ 40°C và 42°C không thấy sự chênh lệch đáng kể về thời gian hạ pH ($p>0,05$). Tuy nhiên, khi bổ sung mật độ vi sinh vật khác nhau ở cùng một nhiệt độ lên men cho thấy, có sự chênh lệch rõ ràng về thời gian hạ pH. Độ lệch giữa mẫu có thời gian hạ pH dài nhất và mẫu có thời gian hạ pH ngắn nhất (183 phút và 59 phút) là khoảng 3 lần. Đây là một yếu tố quan trọng để lựa chọn được mật độ chủng thích hợp.

Thời gian xuất hiện đông tụ của các mẫu có sự chênh lệch không quá lớn khi thực hiện quá trình đông tụ bởi enzyme tại pH 5,5. Tại nhiệt độ lên men 45°C, các mẫu có thời gian đông tụ ngắn hơn so với các mẫu khác, mẫu bổ sung 10^5 CFU/ml có thời gian đông tụ ngắn nhất và có sự chênh lệch đáng kể ($p<0,05$) so với 3 mẫu cùng nhiệt độ còn

lại. Tại các nhiệt độ 35°C, 40°C và 42°C, thời gian đông tụ của các mẫu có sự chênh lệch không đáng kể. Trong cùng nhiệt độ lên men, thời gian đông tụ giữa các mẫu cũng không có sự chênh lệch quá lớn. Kết quả cho thấy thời gian đông tụ không bị ảnh hưởng bởi quá trình tiền lên men khi pH sữa đạt 5,5. Khi đó khả năng hoạt động của enzyme không thay đổi ở các điều kiện đã khảo sát.



Hình 2. Ảnh hưởng của mật độ chủng bổ sung và nhiệt độ lên men tới thời gian xuất hiện đông tụ



Hình 3. Ảnh hưởng của mật độ chủng bổ sung và nhiệt độ lên men tới HSTH curd và HSTH chất khô

HSTH curd và HSTH chất khô khi sử dụng các điều kiện tiền lên men khác nhau được thể hiện ở hình 3 cho thấy, HSTH curd và HSTH chất khô ở các mẫu lên men tại 35°C ở các nồng độ từ 10^6 - 10^7 CFU/ml có xu hướng giảm nhẹ. Ở nồng độ 5.10^5 và 10^6 CFU/ml, HSTH chênh lệch nhau không đáng kể ($p>0,05$). Nhìn chung, HSTH chất khô tốt nhất được quan sát thấy ở nhiệt độ 40°C - 42°C. Tại nhiệt độ 35°C, HSTH chất khô tương đối cao (58%) với mật độ chủng bổ sung 10^6 CFU/ml. Tại cùng một nhiệt độ tiền lên men, mật độ bổ sung 10^5 CFU/ml cho HSTH cao nhất, tương đối ổn định ở mức 20 - 22%. Còn tại 45°C, mẫu bổ sung 10^7 CFU/ml có HSTH curd thấp nhất (16,58%). Kết quả có thể được giải thích rằng, quá trình lên men chậm khi tiền xử lý cho hiệu suất thu hồi chất khô cao và thu hồi phomat cao. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Kumar và cs (2014), khi chỉ ra rằng hàm lượng chất béo, chất khô không béo, protein của phomat thu được cũng tăng lên cùng với sự gia tăng mật độ chủng khởi động và nhiệt độ lên men [8].

Qua các khảo sát trên có thể thấy rằng, ở điều kiện: mật độ bổ sung 10^6 CFU/ml và tiền lên men ở 40°C, thời gian hạ pH ngắn (<2 giờ) và HSTH curd và HSTH chất khô đạt cao nhất. Đây được chọn là điều kiện bổ sung chủng khởi động cho quá trình tiền lên men trước khi đông tụ phomat.

3.2. Ảnh hưởng của hàm lượng canxi bổ sung tới khả năng đông tụ và chất lượng phomat thu được

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ $CaCl_2$ bổ sung tới thời gian đông tụ và HSTH

Nồng độ $CaCl_2$ (g/L sữa)	Thời gian đông tụ (giây)	HSTH phomat tươi (%)	HSTH chất khô (%)
0	$103 \pm 1,33^{a}$	$53,15 \pm 0,5^{e}$	$22,51 \pm 0,09^{f}$
0,05	$82 \pm 2,06^{b}$	$56,45 \pm 0,7^{e}$	$23,65 \pm 0,19^{f}$
0,1	$70 \pm 1,17^{c}$	$56,22 \pm 0,2^{e}$	$23,14 \pm 0,15^{f}$
0,15	$65 \pm 2,1^{c,d}$	$57,84 \pm 0,66^{e}$	$23,72 \pm 0,16^{f}$
0,2	$59 \pm 1,93^{d}$	$55,5 \pm 0,34^{e}$	$23,03 \pm 0,12^{f}$

Ghi chú: Các giá trị có cùng chữ cái a,b,c,d,e,f thì khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p>0,05$) và ngược lại

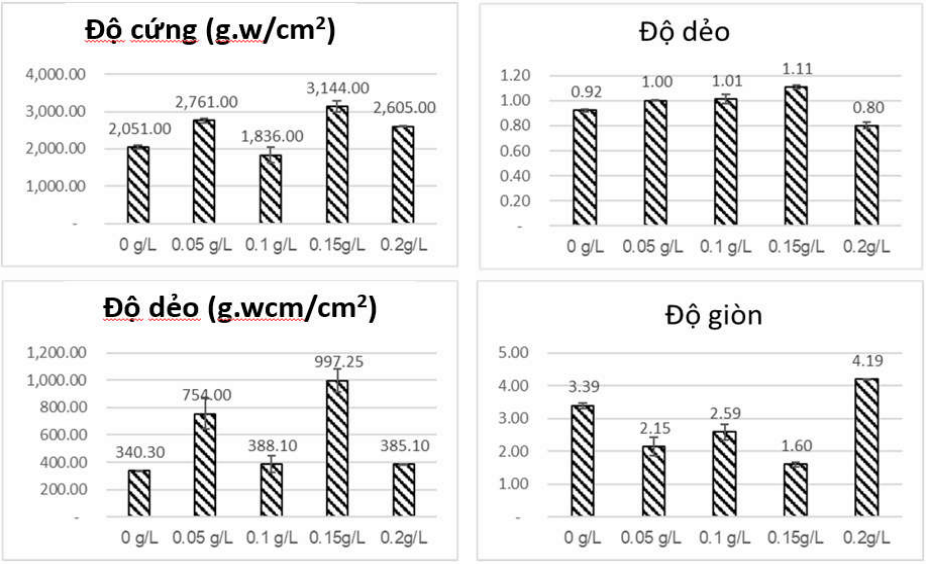
Quá trình đông tụ phomat chính là quá trình đông tụ casein của sữa dưới tác dụng của enzyme đặc hiệu thủy phân hạn chế casein K làm cho vỏ háo nước của casein bị phá hủy, do đó các ion canxi dễ dàng tiếp cận với các casein α, β và paracasein K làm cho chúng tạo gel. Chính vì thế, việc bổ sung ion canxi có thể nâng cao HSTH curd và giảm thiểu thất thoát casein trong whey, thể hiện trên HSTH chất khô sữa trong phomat.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian xuất hiện đông tụ giữa các mẫu giảm dần một cách rõ ràng khi nồng độ $CaCl_2$ tăng dần ($p<0,05$). Khi không bổ sung $CaCl_2$, thời gian xuất hiện đông tụ tăng 40%. Tại nồng độ $CaCl_2$ = 0,2 g/L, thời gian xuất hiện đông tụ ngắn nhất (59 giây), tuy nhiên không có sự khác biệt đáng kể ($p>0,05$) với nồng độ $CaCl_2$ = 0,15 g/L. Tại các nồng độ $CaCl_2$ là 0,05 g/L và 0,1 g/L cũng không thấy có sự khác biệt đáng kể.

Việc bổ sung canxi sẽ giúp tăng cầu nối canxi giữa các mixen casein, tạo điều kiện thuận lợi hơn cho việc hình thành khối đông tụ [9]. Việc tăng nồng độ Ca^{2+} của sữa cải thiện giai đoạn thứ hai của quá trình đông tụ rennet (tập hợp gel) thông qua việc giảm lực đẩy tĩnh điện giữa các mixen casein, do đó, thúc đẩy sự kết tụ của chúng thành dạng gel. Ca^{2+} có tác dụng quan trọng trong quá trình đông tụ casein và tạo độ cứng cho khối đông tụ nhờ quá trình đông tụ của mixen để tạo phức canxi-paracaseinat. Thông qua ảnh hưởng của nó đến hệ thống muối sữa, việc bổ sung Ca^{2+} cũng làm giảm nhẹ độ pH của sữa, thúc đẩy hoạt động của rennet và làm giảm sự biến tính của whey protein [10]

Nồng độ $CaCl_2$ còn ảnh hưởng đến HSTH phomat tươi, nhưng sự khác biệt này không quá rõ rệt tại các nồng độ ($p>0,05$). HSTH phomat tươi được mô tả là các chất dinh dưỡng của sữa trong phomat thu hồi được, vì vậy sản lượng sẽ liên quan đến khả năng giữ ẩm, đặc biệt là protein, chất béo và canxi trong khối quện sữa. Độ ẩm của phomat không bị ảnh hưởng đáng kể khi bổ sung canxi ở các nồng độ khác nhau ở pH bất kì trong quá trình đông tụ sữa [11].

Bảng 1 cho thấy, không có sự khác nhau có ý nghĩa khi bổ sung $CaCl_2$ ở các nồng độ 0,05; 0,1 và 0,15 g/L ($p > 0,05$) tới HSTH sản phẩm. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Lydia Ong và cs (2013), theo đó không có sự khác biệt đáng kể ($p>0,05$) về lượng chất béo được giữ lại trong sản phẩm phomat cuối cùng. Thành phần chất béo, chất khô không béo và độ ẩm của phomat không bị ảnh hưởng đáng kể khi bổ sung $CaCl_2$ ở các nồng độ từ 0,1 – 0,6 g/L [9]. Có thể thấy mẫu bổ sung $CaCl_2$ với nồng độ 0,15 g/L sữa cho kết quả khả quan nhất cả về thời gian xuất hiện đông tụ, HSTH phomat tươi và HSTH chất khô. Để đánh giá nồng độ $CaCl_2$ phù hợp, cần tiến hành đánh giá cấu trúc của phomat tươi.



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ $CaCl_2$ bổ sung tới cấu trúc phomat

Kết quả đo cấu trúc tại các nồng độ $CaCl_2$ khác nhau được thể hiện trên hình 4. Độ cứng, độ dẻo, độ dai của mẫu phomat tươi kiểm chứng (không bổ sung $CaCl_2$) thấp hơn các mẫu bổ sung $CaCl_2$ ở các nồng độ từ 0,05 – 0,15 g/L. So với mẫu bổ sung 0,2 g/L $CaCl_2$, mẫu kiểm chứng có độ cứng và độ dai thấp hơn và cao hơn về độ giòn và độ dẻo. Mẫu bổ sung 0,05 g/L có độ cứng, độ dẻo, độ dai thấp hơn mẫu bổ sung 0,1 g/L và có độ giòn thấp hơn ($p<0,05$), tuy nhiên cấu trúc không tốt bằng mẫu bổ sung 0,15 g/L. Mẫu 0,15 g/L có độ cứng, độ dẻo và độ dai cao nhất và có sự khác biệt rõ rệt ($p<0,05$) đối với những mẫu còn lại. Trong một nghiên cứu về ảnh hưởng của nồng độ Ca^{2+} tới casein của sữa trong quá trình sản xuất phomat, Choi và cs (2008) chỉ ra rằng nồng độ Ca^{2+} càng cao sẽ càng làm tăng liên kết giữa các mixen casein, từ đó làm cho khối curd cứng hơn [12].

Kế tiếp, cấu trúc của mẫu phomat thành phẩm bổ sung 0,15 g/L $CaCl_2$ được so sánh với mẫu phomat Mozzarella trên thị trường được sản xuất tại Việt Nam (P-Moz Việt Nam) và cho thấy có sự khác biệt đáng kể (Hình 5). Mẫu Mozzarella Việt Nam có độ dẻo, độ giòn, độ cứng thấp hơn nhưng độ dai cao hơn mẫu phomat thành phẩm: Độ dẻo, độ giòn, độ cứng của mẫu bổ sung $CaCl_2$ có giá trị tương ứng là 1,65; 0,87; 6119 g.w/cm^2 lớn hơn nhiều so với mẫu Mozzarella Việt Nam ($p<0,05$) với giá trị tương ứng là 1,98; 1,09; 9.016 g.w/cm^2. Độ dai của mẫu bổ sung $CaCl_2$ có giá trị 1.817 g.w/cm^2 nhỏ hơn mẫu kiểm chứng với giá trị 1.992 g.w/cm^2.

Dựa vào thời gian xuất hiện đông tụ, HSTH và cấu trúc của sản phẩm, nồng độ $CaCl_2$ ở mức 0,15 g/L sữa được lựa chọn là phù hợp với tiêu chí sản phẩm hướng tới.

3.3. Đánh giá chất lượng cảm quan với các sản phẩm trên thị trường Việt Nam

Để đánh giá tính khả thi của nghiên cứu, đã xây dựng bộ thuật ngữ đánh giá chất lượng các sản phẩm phomat gồm 3 bước: Nghiên cứu định lượng bằng cách khảo sát qua bảng câu hỏi chi tiết bằng hình thức phiếu trả lời online và trực tiếp, sau đó dùng kiểm định thống kê; khi bình phương để rút gọn thuật ngữ lần 1; tuyển chọn và huấn luyện hội đồng để đánh giá cảm quan với các sản phẩm trên thị trường trên các thuật ngữ mô tả đã rút gọn lần 1, sử dụng phương pháp so sánh giá trị trung bình hình học để rút gọn thuật ngữ lần 2; tiếp tục lặp lại phép thử cho điểm để đánh giá cảm quan trên các thuật ngữ mô tả đã rút gọn lần 2, sử dụng phương pháp phân tích thành phần chính PCA để rút gọn thuật ngữ lần 3, sau đó sử dụng bộ thuật ngữ cuối cùng để xây dựng hồ sơ tính chất của các sản phẩm phomat [7]. Dựa trên bộ thuật ngữ đã xây dựng được cho sản phẩm phomat tươi gồm 22 tiêu chí, nghiên cứu đánh giá chất lượng của phomat tươi thành phẩm với các sản phẩm tương tự trên thị trường (Hình 5).



Hình 5. Đánh giá chất lượng cảm quan của phomat thành phẩm với các sản phẩm trên thị trường

Ghi chú: các mẫu phomat đối sánh P-Moz-NZ (Morazella New Zealand); P-Moz Bí (Morazella Bí); P- Moz Việt Nam (Morazella Việt Nam); P-Ricotta Italia (Ricotta Italia); P-Moz Italia (Morazella Italia)

Kết quả nghiên cứu cho thấy, mẫu nghiên cứu có độ mịn, độ tan chảy, độ mềm dẻo, vị vani, béo ngậy thấp và thấp hơn tương đối đồng đều so với mẫu phomat của Việt Nam và Bỉ. Bên cạnh đó, sản phẩm có độ bóng dầu hơn và ít vị mặn do không bổ sung muối và người thử cảm nhận rõ vị chua hơn, độ ngọt thì tương đồng. Như vậy, có thể thấy mẫu phomat thành phẩm có sự tương đồng nhiều về mặt tính chất so với 2 mẫu Mozzarella Bỉ và Mozzarella Việt Nam. Kết quả đánh giá thị hiếu sản phẩm trên 60 người với thang điểm thị hiếu cho thấy: Mẫu phomat Cream Cheese New Zealand có số điểm ưa thích cao nhất là 4,7 ± 1,89;

sau đó là 2 mẫu Mozzarella Việt Nam, Mozzarella Bỉ với số điểm lần lượt là 4,6 ± 1,89 và 4,6 ± 1,76. Mẫu phomat thành phẩm đạt 4,1 ± 1,62 điểm và thấp nhất là mẫu Mozzarela Italia đạt 3,6 ± 1,81. Kết quả thống kê cho thấy, mẫu phomat thành phẩm có mức độ ưa thích tương đương với 2 mẫu Mozzarella Bỉ và Mozzarella Việt Nam (p > 0,05).

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được một số điều kiện phù hợp cho quá trình sản xuất phomat tươi, bao gồm: Quá trình tiền lên men bằng chủng khởi động với mật độ chủng *Streptococuss thermophilus* là 10^6 CFU/ml ở 40^0C giúp thời gian hạ pH không quá dài (115 phút), HSTH curd và HSTH chất khô cao. Nồng độ $CaCl_2$ bổ sung 0,15 g/L cho thời gian đông tụ ngắn (65 ± 2,1 giây), HSTH và hàm lượng chất khô cao, cấu trúc tốt. Kết quả cảm quan mô tả cho thấy, phomat thành phẩm có một số đặc tính tương đồng với mẫu thị trường. Kết quả cảm quan thị hiếu cho thấy, phomat thành phẩm có mức độ ưa thích tương đồng với 2 mẫu sản phẩm thương mại trên thị trường.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đề tài Nghị định thư Việt Nam – Cộng hòa Séc, mã số: NĐT/CZ/22/04, Bộ Khoa học và Công nghệ.

Chân thành cám ơn sự hỗ trợ của Kichietsu Busan Co., Ltd, Nhật Bản (http://kbc-japan.com) cho thiết bị phân tích cấu trúc trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ah J, Tagalpallewar GP (2017). Functional properties of Mozzarella cheese for its end use application. *J. Food Sci. Technol.* 54:3766–3778. https://doi.org/10.1007/s13197-017-2886-z

2. Chương Phượng (2021). Chăn nuôi bò sữa Việt Nam vươn tầm thế giới. *VNEconomy*. https://vneconomy.vn/chan-nuoi-bo-sua-viet-nam-vuon-tam-the-gioi.htm

3. Europe Direct (2020). The Food and Beverage Market Entry Handbook: Vietnam. https://doi.org/10.2818/067189

4. Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, McSweeney PLH (2017). Fresh Cheese Products: Principals of Manufacture and Overview of Different Varieties. *In: Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, McSweeney PLH (eds) Fundamentals of Cheese Science.* Springer US, Boston, MA, pp 543-588

5. Yadav P, Chauhan AK, Singh RB (2019). Chapter 23 - Quark Cheese: Characteristics, Preparation, and Recent Advances as a Functional Food. *In: Singh RB, Watson RR, Takahashi TBT-TR of FFS in GH (eds) The Role of Functional Food Security in Global Health*. Academic Press, pp 395-408

6. Lobato-Calleros C, Reyes-Hernández J, Beristain CI, *et al.* (2007). Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. *Food Research International* 40:529-537. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.10.011

7. Hà Duyên Tư (2006). *Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm*. Nxb Khoa học Kỹ thuật.

8. Sanjeev K, S. K. K, Suryamani K, Sunil K (2014). Effect of rate of addition of starter culture on textural characteristics of buffalo milk Feta type cheese during ripening. *J. Food Sci. Technol.* 51(4): 800-804

9. Ong L, Dagastine RR, Kentish SE, Gras SL (2013). The effect of calcium chloride addition on the microstructure and composition of Cheddar cheese. *Int. Dairy J.* 33:135-141. https://doi.org/10. 1016/ j.idairyj.2013.03.002

10. McSweeney PLHBT-CPS (2007). Cheese yield. *In: Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*. Woodhead Publishing, pp 100–114.

11. Quarne EL, Larson WA, Olson NF (1968). Recovery of Milk Solids in Direct Acidification and Traditional Procedures of Manufacturing Pizza Cheese. *J. Dairy Sci.* 51:527–530. https://doi.org/10.3168/ jds.S0022-0302(68)87023-7

12. Choi J, Horne DS, Johnson ME, Lucey JA (2008). Effects of the concentration of insoluble calcium phosphate associated with casein micelles on the functionality of directly acidified cheese. *J. Dairy Sci.* 91:513–522. https://doi.org/10.3168/jds.2007-0454

STUDY THE EFFECT OF SOME FACTORS ON THE YIELD AND STRUCTURE OF CURD IN FRESH CHEESE PRODUCTION

Hoang Giang, Nguyen Chinh Nghia, Dang Thi Thuy Linh
Tran Minh Khue, Dinh Thu Linh, Vu Hong Son, Ho Phu Ha, Vu Thu Trang[1]

Summary

Cheese, a dairy product that is coagulated by the combination of enzyme, micro-organism to create a mass with characteristic flavor, containing a lot of nutritional value from protein and fat, is becoming an attractive product in Vietnamese market, especially for young customers. In Vietnam, the production of cheese products at industrial scale is not diversified, thus gains more and more attention from domestic enterprises. In this study, the effect of the pre-fermentation on the coagulation and curd yield were studied. The results showed that the pre-fermentation using *Streptococuss thermophilus* at 10^6 CFU/ml during 40°C in 115 min could improve the curd yield and the flavor of fresh cheese. The use of $CaCl_2$ at 0.15 g/L led to short coagulation time, high curd yield recovery, high dry matter, good structure. The sensorial analysis demonstrated the similarity in some properties between our product with commercial products. The taste perception test showed that the level of preference was similar to the two commercial product samples on the market. These results could be applied for the production and diversification of fresh cheese products from domestic raw milk.

Keywords: *Curd, fresh cheese, starter culture, raw milk.*

Người phản biện: PGS.TS. Hoàng Kim Oanh
Ngày nhận bài: 01/3/2023
Ngày thông qua phản biện: 30/3/2023
Ngày duyệt đăng: 6/4/2023

THIẾT LẬP CÁC THÔNG SỐ CÔNG NGHỆ CỦA QUÁ TRÌNH XỬ LÝ THỦY NHIỆT VÀ THOÁI HOÁ ĐỐI VỚI TINH BỘT GẠO BIẾN TÍNH ENZYM ĐỂ SẢN XUẤT TINH BỘT KHÁNG LOẠI RS3

Phạm Cao Thăng[1, *], Phạm Ngọc Tuyên[1],
Nguyễn Đức Tiến[1], Nguyễn Duy Lâm[1]

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định các thông số công nghệ thích hợp của công đoạn xử lý thủy nhiệt và thoái hoá tinh bột để sản xuất tinh bột kháng loại RS3 (Resistant Starch Type III) từ tinh bột gạo đã cắt mạch nhánh bằng enzym pullulanase. Từ kết quả so sánh 3 phương pháp xử lý thủy nhiệt là hấp nhiệt (autoclaving), ủ nhiệt (annealling) và nhiệt ẩm (heat-moiture) đã lựa chọn và đề xuất áp dụng phương pháp xử lý hấp nhiệt vì phù hợp nhất để sản xuất tinh bột kháng loại RS3 cả về mặt thời gian, hiệu quả hình thành chất kháng tiêu hóa và tính thuận lợi cho xử lý ở quy mô lớn. Các thông số công nghệ quan trọng của quá trình xử lý hấp nhiệt áp dụng cho nguyên liệu là tinh bột gạo giống lúa IR50404 đã qua tiền xử lý cắt mạch đã được xác định là: Nồng độ tinh bột gạo tiền xử lý 25-35%, xử lý 3 chu kỳ nhiệt/nguội. Các thông số công nghệ của quá trình xử lý thoái hóa tinh bột là: Nhiệt độ ủ tạo mầm tinh thể ở 55°C trong thời gian 3 giờ và nhiệt độ ủ phát triển mầm tinh thể ở 120 - 130°C trong 30 phút Từ kết quả nghiên cứu đã đề xuất sơ đồ quy trình xử lý hấp nhiệt và thoái hóa có thể áp dụng ở quy mô phòng thí nghiệm cho sản xuất tinh bột kháng dạng RS3 hàm lượng đạt trên 45%.

Từ khóa: *Hấp nhiệt, tinh bột gạo, tinh bột kháng, thoái hóa, thủy nhiệt.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tinh bột kháng tiêu hóa (resistant starch-RS) có vai trò như là một chất xơ thực phẩm, có tác dụng prebiotic tới hệ vi khuẩn đường ruột, chuyển hóa cholesterol, giảm chỉ số đường huyết, giảm rủi ro ung thư ruột kết, v.v.. [1, 2]. Cùng với lợi ích bảo vệ sức khỏe, RS còn được sử dụng làm phụ gia trong chế biến thực phẩm như cải thiện tính chất cảm quan, cơ lý của thực phẩm [3, 4]. Hiện nay, RS được phân thành 5 loại, trong đó loại RS3 được quan tâm nhiều nhất vì có tính bền nhiệt cao, vẫn duy trì được tính kháng tiêu hóa ngay cả khi bổ sung vào thực phẩm trong quá trình chế biến sử dụng nhiệt [3].

Về bản chất, RS3 là tinh bột thoái hóa (retrograded) hay là tái kết tinh (recrystalized) được tạo ra khi hồ hóa và tiếp theo là giai đoạn làm nguội trong một thời gian dài. Việc chế tạo RS3 phụ thuộc vào số lượng và độ dài của các mạch amylose, với mạch này càng nhiều và càng dài thì càng có lợi [4]. Nhiều nghiên cứu trước đây đã thủy phân tinh bột sử dụng enzym pullulanase để cắt mạch nhánh amylopectin như là một phương pháp tiền xử lý nhằm làm tăng tỷ lệ amylose/amylopectin. Bằng cách xử lý này đã thu được lượng RS3 hàm lượng cao hơn hẳn sau khi xử lý nhiệt và thoái hóa tinh bột [5, 6, 7].

Các phương pháp xử lý nhiệt để sản xuất tinh bột RS3 hiện nay đều thuộc nhóm xử lý thủy nhiệt (xử lý nhiệt ẩm, ủ nhiệt, hấp nhiệt) [4]. Trong những quá trình này, sự hình thành RS3 ngoài sự phụ thuộc vào nồng độ tinh bột, độ thủy phân liên

[1] Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch
[*]Email: phamcaothang2017@gmail.com

quan tới hàm lượng amylose và độ dài mạch amylose, còn phụ thuộc nhiều vào chế độ nhiệt (nhiệt độ và thời gian gia nhiệt), số lần (chu kỳ) xử lý làm mát/nhiệt, thời gian và nhiệt độ tồn trữ [4, 8, 9]. Mặt khác, cho đến nay, hầu hết các nghiên cứu về xử lý thủy nhiệt tinh bột để tạo RS3 chủ yếu đều sử dụng tinh bột khoai tây và ngô mà rất ít sử dụng tinh bột gạo.

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định các thông số công nghệ thích hợp của công đoạn xử lý thủy nhiệt (hydrothermal) và thoái hoá tinh bột (retrogradation) để sản xuất tinh bột kháng loại RS3 (Resistant Starch Type III) từ tinh bột gạo đã cắt mạch nhánh bằng enzym pullulanase.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu và hoá chất

Tinh bột gạo IR50404 được mua từ Công ty TNHH Thương mại và Chế biến Thực phẩm Hòa Phát (thành phố Hồ Chí Minh). Sau khi tinh chế và sấy khô, tinh bột gạo chứa các thành phần chính sau: 91,9% carbohydrate, 1,03% protein, 0,22% lipid và 5% độ ẩm được sử dụng làm mẫu tinh bột tự nhiên. Tinh bột gạo biến tính là tinh bột có amylopectin đã được xử lý cắt mạch nhánh bằng thủy phân enzym pullulanase Promozyme®D2. Các loại hóa chất được mua từ Sigma-Aldrich Corp. Enzym α-amylase, amyloglucosidase, kit phân tích tổng chất xơ (TDF), kit K- TDFR-100A/K-TDFR-200A 04/17 và K-GLUC (định dạng GOPOD) được mua từ Novozyme (Đan Mạch).

2.2. Phương pháp xử lý thủy nhiệt

Ba phương pháp xử lý thủy nhiệt đã được sử dụng là ủ nhiệt (annealing), nhiệt ẩm (heat-moisture) và hấp nhiệt (autoclaving). Xử lý ủ nhiệt và ẩm nhiệt thực hiện theo Chung và cs (2009) [10], xử lý hấp nhiệt theo Malisinovic và cs (2010) [11].

Phương pháp xử lý ủ nhiệt: Sử dụng dịch tinh bột độ ẩm 70% được ủ ở 55°C và 60°C để hồ hóa 24 giờ trong bể ổn nhiệt. Sau khi xử lý ủ nhiệt, mẫu được ly tâm 2.000 vòng/phút trong 20 phút để loại bỏ phần nổi. Rửa một lần với nước cất rồi sấy khô ở 60°C, nghiền và rây (125 micronmet).

Xử lý nhiệt ẩm: Bằng cách đặt các mẫu tinh bột vào các bình thủy tinh có nắp mài. Độ ẩm của mẫu tinh bột được chuẩn bị trước là 30%. Các mẫu tinh bột được trộn kỹ trong quá trình bổ sung nước. Các bình được nút chặt, đặt trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng rồi sau đó được đặt trong tủ sấy ở 120°C trong 2 giờ. Sau đó mẫu được sấy, nghiền như đối với mẫu xử lý ủ nhiệt.

Xử lý hấp nhiệt: Sử dụng nồi hấp các mẫu chứa trong các bình nón 250 ml, tỷ lệ bột/nước là 25/100 (w/w), nhiệt độ 121°C trong 30 phút. Ly tâm loại nước, rửa 1 lần, sấy và nghiền tương tự như hai phương pháp đã nêu ở trên.

Hồ hóa tinh bột: Dựa theo Chung và cs (2009) [10], theo đó tinh bột tự nhiên hay tinh bột đã xử lý theo 3 phương pháp: ủ nhiệt, nhiệt ẩm, hấp nhiệt nêu trên (100 mg) và nước (2 ml) được cho vào ống nghiệm. Các ống được đậy nắp và trộn kỹ bằng thiết bị vortex trong 1 phút. Sau đó được đun nóng trong bể nước sôi trong 20 phút. Sau khi đun nóng, ống được đặt trong bể nước ở 37°C để cân bằng trong 10 phút.

2.3. Phương pháp thủy phân enzym

Thủy phân enzym để đánh giá mức độ thủy phân và khả năng tiêu hóa tinh bột *in vitro* được xác định theo phương pháp được mô tả bởi Englyst và cs (1992) có chỉnh sửa [12]. Enzym α-amylase nguồn gốc từ tụy lợn (0,45 g) được hòa tan trong nước (4 ml) và ly tâm ở 1.500 vòng/phút trong 12 phút. Phần nổi phía trên (2,7 ml) được chuyển vào một cốc thủy tinh, thêm amyloglucosidase (0,3 ml) và invertase (0,2 ml). Tinh bột (100 mg) và 4 ml dung dịch đệm natri axetat 0,5 M (pH 5,2) được thêm vào mỗi ống nghiệm. Dung dịch enzym (1 ml) được thêm vào mỗi ống rồi được ủ trong nồi cách thủy có lắc (37°C, 200 vòng/phút). Lấy ra 0,1 ml mẫu theo thời gian và trộn với 1 ml ethanol 80%. Hàm lượng

glucose thủy phân được đo bằng thuốc thử glucose oxidase-peroxidase.

2.4. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm xác định phương pháp xử lý thủy nhiệt thích hợp có các công thức ký hiệu là TBG-TN, ANN55, ANN55 và HMT120. Công thức TBG-TN là tinh bột gạo giống lúa IR50404 không xử lý (tinh bột tự nhiên); ANN55 và ANN60 là xử lý ủ nhiệt ở 55 và 60°C trong 24 giờ; HMT120 là xử lý ẩm nhiệt ở 120°C trong 2 giờ; A121 là xử lý hấp nhiệt ở 121°C trong 30 phút. Trong loạt khảo sát thứ hai, các mẫu tinh bột vừa nêu tiếp tục được hồ hóa theo phương pháp ở mục 2.2. Chỉ tiêu phân tích là mức độ thủy phân enzym và khả năng tiêu hóa *in vitro*.

Thí nghiệm xác định nồng độ tinh bột thích hợp cho xử lý hấp nhiệt gồm 8 công thức, trong đó NĐ 15, NĐ 20, NĐ 25, NĐ 30, NĐ 40 và NĐ 45 tương ứng với các nồng độ tinh bột tính theo chất khô hòa tan 15%, 20%, 25%, 30%, 40% và 45%, thể tích mỗi mẫu 160 ml. Hai công thức ký hiệu NĐ 30-L và NĐ 40-L có nồng độ tinh bột là 30% và 40% nhưng có thể tích mẫu 1.200 ml. Xử lý hấp nhiệt ở nhiệt độ 121°C trong 60 phút, để nguội ở nhiệt độ phòng rồi 4°C trong 24 giờ. Lọc loại nước bằng giấy lọc, sấy khô, nghiền rây để phân tích.

Thí nghiệm xác định nhiệt độ, thời gian và số lần xử lý hấp nhiệt gồm 10 công thức ký hiệu là TEMP121, TEMP130, TEMP134, TEMP140, TIME30, TIME90, TIME120, 2-CYCLE, 3-CYCLE, 4-CYCLE tương ứng với nhiệt độ khác nhau (từ 121 đến 140^{0}C, thời gian khác nhau 30 đến 120 phút) và số chu kỳ xử lý nhiệt/nguội (1 đến 4 lần). Cách thức hấp nhiệt như thí nghiệm trước.

Thí nghiệm xác định chế độ làm nguội để thoái hóa tinh bột được tiến hành theo Zhao và Lin (2009) [13] và Haynes và cs (2003) [14] với một số cải tiến có các công thức ký hiệu N1-A, N1-B, N1-C, N1-D, N1-E là được xử lý hấp nhiệt ở 120°C trong 30 phút rồi được ủ tạo mầm tinh thể ở các nhiệt độ 4°C, 25 - 30°C, 40°C, 55°C và 80°C. Các công thức ký hiệu N2-A, N2-B N2-C, N2-D, N2-E là dãy công thức được xử lý nhiệt và làm nguội giống dãy N1 nhưng lại tiếp tục hấp nhiệt 120°C trong 3 giờ để phát triển tinh thể. Dãy công thức N3 có N3-A, N3-B, N3-C, N3-D, N3-E được xử lý giống như 5 mẫu N2 rồi hấp nhiệt 120°C trong 3 giờ. Tức là, các công thức mẫu N1, N2, N3 đã qua xử lý ủ tạo mầm lần lượt là 1, 2 và 3 lần và xử lý phát triển tinh thể lần lượt là 0, 1 và 2 lần. Hai công thức N04 và N55 là loạt mẫu tinh bột được ủ thoái hóa ở 4°C hay 55°C. Các công thức P110, P120 và P130 là 3 loạt mẫu được ủ phát triển tinh thể ở 110, 120 hay 130°C.

2.5. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu

2.5.1. Xác định mức độ thủy phân và mức độ tiêu hóa in vitro

Mức độ thủy phân của các mẫu tinh bột sau khi thủy phân enzym (mục 2.3) được tính theo hàm lượng glucose được đo bằng thuốc thử glucose oxidase-peroxidase. Công thức tính: D.H (%) = {[%RDs / %Tsm] x 100}. Trong đó: %RDs là hàm lượng đường khử sau thuỷ phân (%); %Ts là hàm lượng đường tổng số sau thuỷ phân (%) [10]. Phân loại tinh bột dựa trên tốc độ thủy phân là: tinh bột dễ tiêu hóa nhanh (tiêu hóa trong vòng 20 phút) ký hiệu là RDS, tinh bột chậm tiêu hóa (được tiêu hóa trong khoảng từ 20 - 180 phút) ký hiệu là SDS và tinh bột kháng (không tiêu hóa sau 180 phút) ký hiệu là RS. Xác định hàm lượng glucose (G20 và G120) bằng kit glucose oxidase-peroxidase. Các giá trị RDS, SDS và RS được tính bằng các công thức sau: RDS (%) = G20 x 0,9; SDS (%) = (G120 – G20) x 0,9; RS (%) = 100 – RDS – SDS. G20 và G120 là lượng glucose giải phóng ra trong 20 và 120 phút thủy phân.

2.5.2. Xác định hàm lượng tinh bột kháng

Thực hiện theo phương pháp AOAC Method 985.29 với nguyên tắc sử dụng 2 loại enzym là α-amylase và amyloglucosidase để thủy phân thành phần tinh bột tiêu hóa thành các phần hòa tan. Sử dụng enzym protease để thủy phân các enzym đã

nêu. Tiến hành kết tủa bằng cồn và rửa để loại bỏ những thành phần hòa tan. Sản phẩm cuối được xác định hàm lượng tro và hàm lượng protein để hiệu chỉnh kết quả [15].

Hàm lượng tinh bột tiêu hóa nhanh, tinh bột tiêu hóa chậm và tinh bột kháng được xác định theo phương pháp của Englyst và cs (1992) [12].

2.5.3. Tỷ lệ thu hồi tinh bột và hiệu suất thu hồi tinh bột kháng

Tỷ lệ thu hồi là tỷ số khối lượng sản phẩm giàu tinh bột kháng trên tổng khối lượng tinh bột nguyên liệu ban đầu, tính theo % khối lượng khô. Hiệu suất thu nhận tinh bột kháng (%) là hàm lượng tinh bột kháng nhân với tỷ lệ thu hồi.

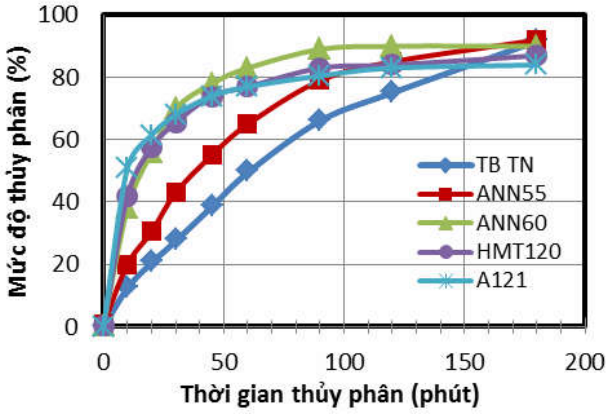
2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả phân tích được tiến hành 3 lần lặp lại. Số liệu thực nghiệm được phân tích theo ANOVA đơn yếu tố và biểu thị là giá trị trung bình. Duncan's test được sử dụng để kiểm định sự khác nhau có ý nghĩa của các giá trị trung bình. Phần mềm SPSS ver 16.0 đã được sử dụng cho các phân tích đã nêu. Ngoài ra phần mềm Microsoft Excel 2010 được dùng để vẽ và biểu thị mối tương quan giữa hàm lượng tinh bột kháng và một số thông số thủy phân.

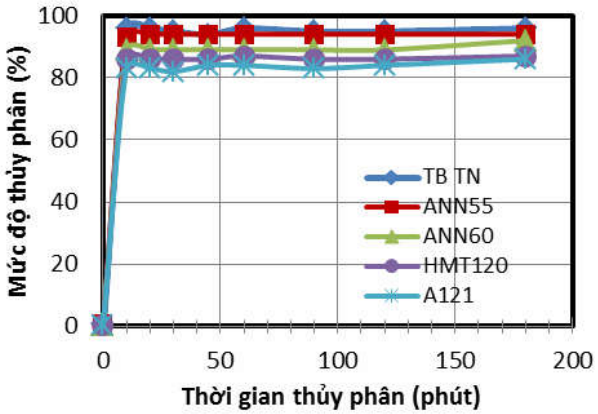
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định phương pháp xử lý thủy nhiệt thích hợp

Tác nhân xử lý thủy nhiệt khác nhau có thể làm tăng hoặc giảm mức độ thủy phân và khả năng tiêu hóa của tinh bột. Mặt khác, cùng một xử lý như nhau nhưng tinh bột ở trạng thái khác nhau cũng tạo ra mức độ thủy phân khác nhau. Kết quả xác định mức độ thủy phân enzym của tinh bột gạo tự nhiên TB TN (không xử lý) và được xử lý thủy nhiệt theo 3 phương pháp được nêu trên hình 1. Nhận thấy rằng mức độ thủy phân của tinh bột TB TN là thấp nhất. Mức độ thủy phân của xử lý ủ nhiệt ANN55 (55°C, 24 giờ) cao hơn so với TB TN nhưng thấp hơn so với xử lý ủ nhiệt ANN60°C trong cùng thời gian 24 giờ. Mức độ thủy phân của xử lý ẩm nhiệt và hấp nhiệt là như nhau và không khác biệt có ý nghĩa so với xử lý ủ nhiệt ở 60°C. Rõ ràng, đối với tinh bột tự nhiên, cả 3 phương pháp thủy nhiệt nêu trên đều làm tăng mức độ thủy phân. Vì vậy chưa thể xác định được phương pháp thích hợp, ngoại trừ xét về lợi thế thời gian, khả năng xử lý quy mô lớn thì phương pháp hấp nhiệt tỏ ra phù hợp hơn.



Hình 1. Mức độ thủy phân enzym của tinh bột gạo



Hình 2. Mức độ thủy phân enzym của tinh bột gạo sau khi hồ hóa 95°C trong 20 phút

Kết quả xác định mức độ thủy phân của 5 công thức tinh bột xử lý tương tự như phần trên nhưng đã được hồ hóa sau khi xử lý được thể hiện ở hình 2. Kết quả cho thấy, tốc độ thủy phân của tất cả các mẫu tinh bột đều rất nhanh, chỉ sau 10 phút đã đạt trên 80%. Sau 10 phút, tốc độ thủy phân gần như không thay đổi thể hiện ở các đường cong mức thủy phân phụ thuộc thời gian hầu như nằm ngang. Mức độ thủy phân của xử lý hấp nhiệt

(121°C, 30 phút) là thấp nhất, tiếp theo là xử lý ẩm nhiệt (120°C, 2 giờ), rồi tới xử lý ủ nhiệt. Cao nhất là ở mẫu tinh bột tự nhiên. Từ kết quả này có thể đánh giá mức độ thủy phân của các mẫu tinh bột đã hồ hóa là trái ngược so với các mẫu không hồ hóa. Mẫu lúc trước có mức thủy phân cao nhất thì lại là thấp nhất khi đã hồ hóa và ngược lại. Đáng chú ý nhất là trường hợp của mẫu hấp nhiệt A121 có mức thủy phân thấp nhất, điều này liên quan đến sự hình thành những thành phần kháng tiêu hóa do xử lý hồ hóa [9, 10]. Như vậy, xét về lợi ích thời gian, khả năng tạo hiệu quả thủy phân enzym, khả năng tạo hiệu quả hình thành những thành phần kháng và tính thuận lợi cho xử lý quy mô lớn thì phương pháp hấp nhiệt tỏ ra phù hợp nhất.

Kết quả xác định hàm lượng tinh bột tiêu hóa nhanh (RDS), tinh bột tiêu hóa chậm (SDS) và tinh bột kháng (RS) của các mẫu tinh bột được trình bày trong bảng 1. Kết quả cho thấy, xử lý thủy nhiệt đều làm tăng RDS và RS, trong khi làm giảm SDS. Sau khi hồ hóa, RDS của các công thức đều rất cao, vượt trên 85%. Khác với xử lý không hồ hóa, các mẫu có xử lý hồ hóa có SDS còn rất thấp so với không hồ hóa, chỉ còn vài phần trăm. Xử lý ẩm nhiệt và hấp nhiệt vẫn tạo được hàm lượng tinh bột kháng RS cao nhất trong số các xử lý nhiệt kể cả không và có hồ hóa. Xử lý ẩm nhiệt có tác dụng mạnh hơn ủ nhiệt. Xử lý hấp nhiệt làm tăng cả tỷ lệ RS và tinh bột SDS, đồng thời làm giảm tỷ lệ tinh bột RDS. Mức độ tăng hàm lượng tinh bột kháng do xử lý hấp nhiệt là lớn nhất trong 3 loại xử lý thủy nhiệt. Như vậy, có thể thấy rằng phương pháp xử lý hấp nhiệt là thích hợp nhất để tạo tinh bột kháng từ tinh bột gạo.

Bảng 1. Hàm lượng tinh bột RDS, SDS và RS của tinh bột gạo tự nhiên và tinh bột đã xử lý ủ nhiệt, nhiệt ẩm hoặc hấp nhiệt trước và sau khi hồ hóa

Xử lý	Trước hồ hóa			Sau hồ hóa		
	RDS (%)	SDS (%)	RS (%)	RDS (%)	SDS (%)	RS (%)
TBG-TN	29,7^{e}	65,7^{a}	4,4^{d}	95,3^{a}	0,1^{c}	4,6^{d}
ANN55	43,4^{a}	48,6^{b}	8,0^{c}	94,7^{a}	0,1^{c}	5,2^{d}
ANN60	59,9^{a}	31,4^{c}	8,7^{c}	90,2^{b}	1,6^{b}	8,2^{c}
HTM120	65,2^{a}	24,2^{d}	10,5^{b}	87,9^{c}	2,4^{a}	9,7^{b}
A121	70,4^{a}	17,3^{e}	12,3^{a}	85,1^{d}	2,6^{a}	12,8^{a}

*Ghi chú: * Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột là khác nhau ở p<0,05, mỗi mẫu được đo 3 lần.*

3.2. Xác định nồng độ tinh bột thích hợp cho xử lý hấp nhiệt

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, hàm lượng tinh bột kháng RS3 tăng lên trong khoảng nồng độ pha tinh bột (đã thủy phân cắt mạch nhánh) là 15 - 35%, đạt cao nhất trong khoảng 20 - 30%, tương ứng tỷ lệ bột với nước là từ 1: 4 đến 1: 3,3. Kết quả ở 2 công thức số 7 và 8 với quy mô lớn hơn (NĐ30-L và NĐ40-L) cũng chỉ ra nồng độ 30% cho hàm lượng RS3 cao hơn so với nồng độ 40%. Tỷ lệ thu hồi tinh bột kháng sau xử lý tăng lên từ 48,6% đến 57,2% khi sử dụng nồng độ tinh bột tăng dần trong khoảng 15 - 40%. Tỷ lệ thu hồi cao nhất ở nồng độ pha tinh bột 40% nhưng không thể sử dụng vì hiệu quả tạo RS3 thấp hơn các nồng độ khác. Hơn nữa, nồng độ cao sẽ khó tạo nên được sự đồng đều trong khối bột khi sản xuất quy mô lớn. Nồng độ 25% tương ứng tỷ lệ pha 1: 3 là thích hợp nhất vì vừa có RS3 cao, vừa có tỷ lệ thu hồi cao (không khác với tỷ lệ 30% với $p < 0,05$). Như vậy, nồng độ tinh bột gạo đã qua công đoạn tiền xử lý (thủy phân cắt mạch nhánh) thích hợp cho xử lý hấp nhiệt là 25 - 35%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ tinh bột gạo đã thủy phân tới hàm lượng tinh bột kháng RS3 và tỷ lệ thu hồi sản phẩm

TT	Ký hiệu mẫu	Nồng độ tinh bột đã thủy phân (%)	Tỷ lệ thu hồi (%)**	Hàm lượng RS3 (%)***
1	NĐ15	15	$48,6 \pm 1,3^{d}$	$35,7 \pm 1,3^{b}$
2	NĐ20	20	$50,2 \pm 1,8^{c}$	$37,5 \pm 1,1^{a}$
3	NĐ25	25	$51,7 \pm 1,1^{b}$	$37,2 \pm 1,3^{a}$
4	NĐ30	30	$52,4 \pm 1,5^{b}$	$37,3 \pm 0,9^{a}$
4	NĐ35	35	$53,4 \pm 1,3^{b}$	$35,6 \pm 0,8^{b}$
5	NĐ40	40	$55,2 \pm 1,5^{a}$	$33,1 \pm 1,2^{c}$
6	NĐ30-L	30	$55,4 \pm 1,6^{a}$	$37,8 \pm 1,4^{a}$
7	NĐ40-L	40	$55,7 \pm 1,8^{a}$	$33,3 \pm 1,3^{c}$

*Ghi chú: *Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột là khác nhau ở p<0,05, mỗi mẫu được đo 3 lần.*

3.3. Xác định nhiệt độ, thời gian và số lần xử lý hấp nhiệt

Số liệu trong bảng 3 ở các hàng 1 - 4 cho thấy, hiệu quả hình thành tinh bột kháng RS3 có phụ thuộc vào nhiệt độ xử lý. Trong khoảng nhiệt độ khảo sát 121 - 140°C thì hàm lượng RS3 có xu hướng tăng khi nhiệt độ tăng lên trong khoảng 121°C - 134°C, nhưng lại giảm đi ở 140°C. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra sự hình thành đẳng nhiệt của RS3 thích hợp ở 100°C và hầu hết các nghiên cứu xử lý hấp nhiệt đều với nhiệt độ thấp nhất là 121°C [6, 16, 17]. Nhiệt độ cao là thích hợp nhưng phải yêu cầu áp lực lớn. Nhiệt độ 134°C được đánh giá là thích hợp cho hình thành RS bền nhiệt [6, 18].

Từ bảng 3, ở các hàng 5, 2, 6, 7 có thể thấy hiệu quả tạo RS3 cũng phụ thuộc vào thời gian xử lý nhiệt, cụ thể hàm hượng RS3 tăng lên từ 30 phút tới 90 phút sau đó giảm ở 120 phút. Sự khác biệt giữa 60 và 90 phút không đáng kể. Việc xử lý thời gian dài (từ 120 phút) đã làm tăng biến màu sản phẩm, do vậy chỉ nên sử dụng xử lý tối đa 90 phút.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian và số lần hấp nhiệt tới sự tạo thành tinh bột kháng RS3

TT	Ký hiệu mẫu	Điều kiện hấp nhiệt			Hàm lượng RS3 (%)
		Nhiệt độ (°C)	Thời gian (min)	Số chu kỳ hấp nhiệt	
1	TEMP121	121	60	1	$34,4 \pm 1,2^{e}$
2	TEMP130	130	60	1	$36,7 \pm 1,3^{d}$
3	TEMP134	134	60	1	$36,5 \pm 1,1^{d}$
4	TEMP140	140	60	1	$32,2 \pm 1,2^{f}$
5	TIME30	130	30	1	$34,9 \pm 1,5^{e}$
6	TIME90	130	90	1	$37,8 \pm 1,2^{c}$

7	TIME120	130	120	1	$36,3 \pm 0,9^{d}$
8	2-CYCLE	130	30	2	$36,5 \pm 1,5^{d}$
9	3-CYCLE	130	30	3	$41,2 \pm 1,6^{b}$
10	4-CYCLE	130	30	4	$43,7 \pm 1,7^{a}$

*Ghi chú: * Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột là khác nhau ở p<0,05, mỗi mẫu được đo 3 lần.*

Kết quả nêu trong bảng 3 ở các hàng 5, 8, 9, 10 chỉ ra rằng khi tinh bột gạo tiền xử lý được xử lý với chu kỳ hấp - lạnh tăng lên (1 - 4 chu kỳ) thì hàm lượng RS3 tăng lên từ 34,9% (1 chu kỳ) tới 43,7% (4 chu kỳ). Xử lý 2 chu kỳ không làm tăng đáng kể RS3, mà tăng đáng kể chỉ sau 3 và 4 chu kỳ. Tuy nhiên, sự khác biệt về RS3 giữa 3 và 4 chu kỳ là không nhiều (41,2% và 43,7%), mặt khác áp dụng nhiều chu kỳ là rất mất thời gian và năng lượng nên việc lựa chọn 3 chu kỳ là hợp lý. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu của Haralampu (2000), Zhao và Lin (2009) [17, 18].

3.4. Xác định chế độ làm nguội để thoái hóa tinh bột

3.4.1. Nhiệt độ ủ tạo mầm tinh thể

Bảng 4 cho thấy, tỷ lệ phần trăm sự thay đổi RS3 được tính so với mẫu ủ thoái hóa ở nhiệt độ phòng (25 - 30°C). Từ kết quả về tinh bột RS và tỷ lệ phần trăm thay đổi so với nhiệt độ phòng, thấy rằng nhiệt độ thoái hóa 55°C và 80°C tạo ra hiệu suất RS cao hơn so với khi ủ thoái hóa ở 4 - 40°C. Cụ thể, đối với 1 lần ủ thoái hóa, hiệu suất tinh bột kháng là 1,45 - 8,91%, tương ứng với ủ ở 80°C và 55°C so với nhiệt độ phòng. Đối với 2 lần ủ thoái hóa, RS cao hơn 2,53 - 5,58% so với nhiệt độ phòng. Sau 3 lần ủ, tỷ lệ đó là 2,67 - 8,25%. Trong cả 3 lần ủ thoái hóa, nhiệt độ 55°C đều cho hàm lượng RS và tỷ lệ thay đổi cao nhất ở cả 5 nhiệt độ khảo sát. Sau 3 lần ủ, RS đạt tới 44,6%. Đây là điều khác biệt so với nhiệt độ làm thoái hóa trong giai đoạn tiền xử lý, ở đó nhiệt độ 4°C cho RS cao hơn 55°C. Bảng 4 cũng cho thấy, hàm lượng tinh bột RS của sản phẩm tinh bột sau 3 lần ủ thoái hóa ở 55°C (44,6%) là cao hơn so với chỉ ủ 1 lần (37,9%) và ủ 2 lần (41,6%).

Bảng 4. Ảnh hưởng cuả nhiệt độ ủ tạo mầm tinh thể và số chu kỳ xử lý tới sự tạo thành tinh bột kháng RS3 của tinh bột gạo IR50404 đã thủy phân*

TT	Ký hiệu mẫu**	Nhiệt độ ủ tạo mầm tinh thể (°C)	Số lần ủ tạo mầm tinh thể	Số lần ủ phát triển tinh thể ở 120°C, 3 giờ	Hàm lượng RS3 (%)	% thay đổi so với RS3 xử lý ở nhiệt độ phòng
1	N1-A	4	1	0	$34,3 \pm 0,8^{g}$	-1,44
2	N1-B	Nhiệt độ phòng	1	0	$34,8 \pm 1,1^{g}$	0
3	N1-C	40	1	0	$34,6 \pm 0,8^{g}$	-0,57
4	N1-D	55	1	0	$37,9 \pm 0,9^{e}$	8,91
5	N1-E	80	1	0	$35,2 \pm 1,0^{f}$	1,45
6	N2-A	4	2	1	$39,2 \pm 0,9^{c}$	-0,51
7	N2-B	Nhiệt độ	2	1	$39,4 \pm 1,1^{c}$	0

		phòng				
8	N2-C	40	2	1	$39,8 \pm 1,2^{c}$	1,02
9	N2-D	55	2	1	$41,6 \pm 1,2^{b}$	5,58
10	N2-E	80	2	1	$38,8 \pm 0,7^{c}$	-1,52
11	N3-A	4	3	2	$41,7 \pm 1,2^{b}$	1,21
12	N3-B	Nhiệt độ phòng	3	2	$41,2 \pm 1,1^{b}$	0
13	N3-C	40	3	2	$40,9 \pm 1,3^{b}$	-0,73
14	N3-D	55	3	2	$44,6 \pm 1,3^{a}$	8,25
15	N3-E	80	3	2	$39,3 \pm 1,2^{c}$	-1,90

*Ghi chú: * Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột là khác nhau ở p<0,05, mỗi mẫu được đo 3 lần.*

3.4.2. Nhiệt độ ủ phát triển tinh thể

Nhiệt độ ủ tạo mầm 55°C là kết quả của mục 3.4.1 được sử dụng, đồng thời số chu kỳ xử lý nhiệt/lạnh 1, 2 và 3 được tiến hành trong cả các công thức thí nghiệm. Kết quả trong bảng 5 cho thấy, cùng có số chu kỳ xử lý nhiệt/nguội như nhau, thì hàm lượng tinh bột kháng thu nhận ở nhiệt độ ủ phát triển tinh thể cao hơn sẽ cho giá trị cao hơn. Chẳng hạn, cùng có 2 lần ủ phát triển mầm nhưng tại 130°C cho RS 46,6%, cao hơn so với ở 120°C (44,1%) và 110°C (39,8%). Sự khác biệt về RS ở 130°C và 120°C không lớn bằng sự khác biệt giữa 130°C và 110°C. Do vậy nhiệt độ ủ phát triển mầm thích hợp là 120 - 130°C. Khi so sánh RS ở mẫu ủ tạo mầm 55°C và 4°C thấy rằng, nhiệt độ 55°C phù hợp hơn 4°C, thể hiện ở cả 3 số chu kỳ nhiệt/nguội khác nhau (1, 2 và 3 lần). Như vậy, lựa chọn chế độ thoái hóa tinh bột phù hợp là nhiệt độ ủ tạo mầm tinh thể ở 55°C trong 3 giờ và nhiệt độ ủ phát triển mầm ở 120 - 130°C trong 30 phút.

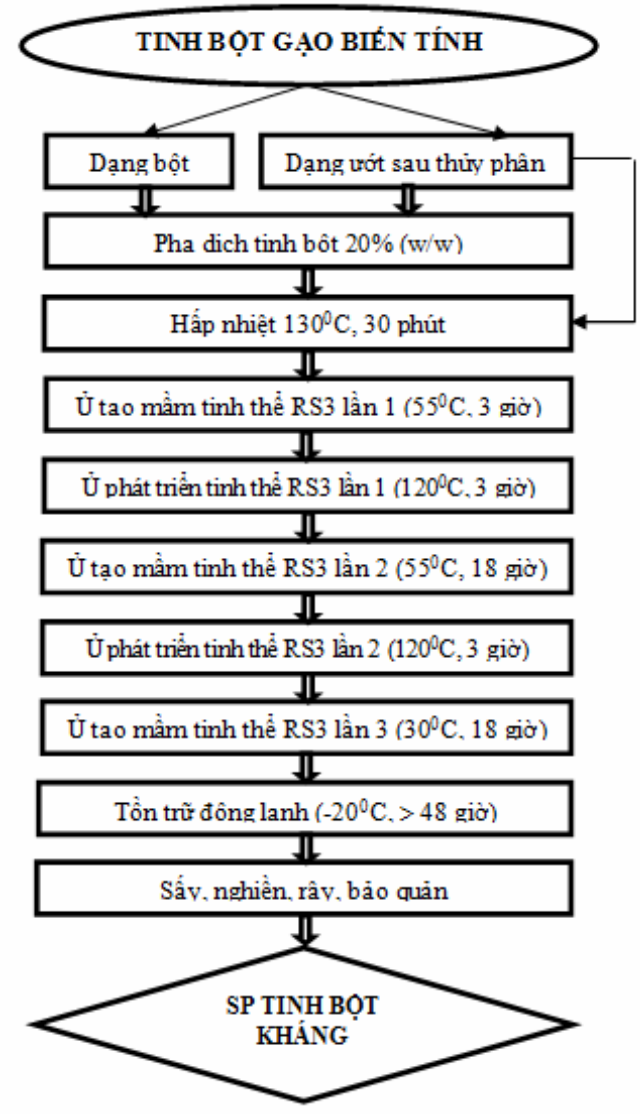
Bảng 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ phát triển tinh thể tới sự hình thành tinh bột kháng RS3 của tinh bột gạo IR50404 đã thủy phân trước*

TT	Ký hiệu mẫu**	Nhiệt độ phát triển mầm tinh thể (°C)	Nhiệt độ ủ tạo mầm tinh thể (°C)	Số lần ủ phát triển mầm tinh thể	Hàm lượng RS3 (%)
1	N55-P110-0	110	55	0	$34,7 \pm 1,3^{g}$
2	N55-P110-1	110	55	1	$35,1 \pm 1,1^{g}$
3	N55-P110-2	110	55	2	$39,8 \pm 1,1^{d}$
4	N04-P110-2	110	4	2	$39,4 \pm 1,2^{e}$
5	N55-P120-0	120	55	0	$36,5 \pm 1,1^{f}$
6	N55-0P120-1	120	55	1	$40,9 \pm 1,2^{d}$
7	N55-P120-2	120	55	2	$44,1 \pm 1,1^{b}$
8	N04-P120-2	120	4	2	$40,3 \pm 1,3^{d}$
9	N55-P130-0	130	55	0	$39,3 \pm 1,3^{e}$

10	N55-P130-1	130	55	1	42,5 ± 1,5^{c}
11	N55-P130-2	130	55	2	46,6 ± 1,2^{a}
12	N04-P130-2	130	4	2	41,8 ± 1,4^{c}

*Ghi chú: * Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột là khác nhau ở p<0,05, mỗi mẫu được đo 3 lần.*

3.5. Quy trình công nghệ xử lý nhiệt ẩm và thoái hóa tinh bột tạo tinh bột kháng RS3



Hình 3. Sơ đồ quy trình sản xuất RS3 từ nguyên liệu là tinh bột gạo biến tính (quy mô phòng thí nghiệm)

Sơ đồ quy trình công nghệ được trình bày ở hình 3.

Bước 1 và 2 - Chuẩn bị nguyên liệu và dịch tinh bột: Nguyên liệu là tinh bột gạo biến tính, tức là đã qua xử lý thủy phân cắt mạch nhánh bằng enzym pululannase. Nguyên liệu này có thể ở dạng ướt thu được khi kết thúc thủy phân cắt mạch nhánh. Nếu đã sấy thành dạng bột khô phải có độ mịn thích hợp (< 125 micromet) và độ ẩm < 10%). Khi sử dụng nguyên liệu dạng bột, cần trộn bột theo tỷ lệ 1 phần tinh bột với 4 phần nước. Nước đã xử lý khử i-on. Sử dụng máy khuấy để khuấy cho bột thấm nước và phân tán đều.

Bước 3 - Hấp nhiệt: Hấp bằng nồi hấp autoclave phù hợp ở 130°C trong thời gian 30 phút.

Bước 4 và 5 - Ủ tạo mầm và phát triển tinh thể RS3 lần 1: Lấy các bình đã hấp để cho nguội tự nhiên đến nhiệt độ 55°C. Chuyển các mẫu sang ủ trong tủ sấy đối lưu đã bật sẵn ở 55°C trong thời gian 3 giờ. Tiếp theo, chuyển các bình mẫu sang ủ ở nhiệt độ 120°C thực hiện trong nồi hấp autoclave trong thời gian 3 giờ.

Bước 6 và 7 - Ủ tạo mầm và phát triển tinh thể RS3 lần 2: Thực hiện bước 6 tương tự như bước 4, thời gian ủ là 18 giờ thay vì 3 giờ. Thực hiện bước 7 tương tự như bước 5 (hấp ở 120°C trong 3 giờ).

Bước 8 - Ủ tạo mầm tinh thể RS3 lần 3: Thực hiện tương tự như bước 4, nhiệt độ ủ là 30°C thay vì 55°C.

Bước 9 - Làm lạnh đông: Tồn trữ sản phẩm 24 - 72 giờ ở -20°C nếu có điều kiện, thiết bị và thời gian.

Bước 10 - Ly tâm tách nước: Ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 20 - 30 phút để loại bỏ phần nước nổi. Tráng bề mặt phần lắng bằng cồn ethanol 96 độ. Tiếp tục rửa 2 lần với lượng nước bổ sung vào mẫu nhiều hơn 4-5 lần khối lượng mẫu ướt (w/w).

Bước 11 - Sấy, nghiền, rây, bảo quản: Chuyển mẫu sang các khay kim loại để sấy. Sử dụng khay đục lỗ có lót vải. Nếu sử dụng tủ sấy đối lưu thì nên sấy 3 giai đoạn: ở 40°C trong 6 giờ, ở 60°C trong 10 giờ và 80°C đến độ ẩm <10%. Nghiền và rây thành bột mịn (< 125 micronmet), đóng gói 2 lớp PE/PP.

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được các thông số công nghệ của quá trình xử lý thủy nhiệt áp dụng cho nguyên liệu là tinh bột tiền xử lý. Theo đó, phương pháp xử lý hấp nhiệt (autoclaving) là thích hợp nhất để tạo tinh bột kháng dạng RS3 với nồng độ tinh bột gạo tiền xử lý thích hợp là 20 - 30% và với 3 chu kỳ xử lý nhiệt/nguội. Các thông số công nghệ của quá trình xử lý thoái hóa: Nhiệt độ ủ tạo mầm tinh thể ở 55°C trong 3 giờ và nhiệt độ ủ phát triển mầm ở 120 - 130°C trong 30 phút. Đã đề xuất sơ đồ quy trình xử lý hấp nhiệt và thoái hóa có thể áp dụng ở quy mô phòng thí nghiệm cho sản xuất tinh bột kháng dạng RS3.

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. Adrianna Bojarczuk, 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. Dupuis J. H., Liu Q., Yada R. Y. (2014). Methodologies for increasing the resistant starch content of food starches: A review. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 2014, 13, 1219–1234.

5. Phạm Cao Thăng, Phạm Minh Tuấn, Bùi Kim Thúy, Nguyễn Duy Lâm (2019). Thủy phân tinh bột gạo bằng enzym pullulanase để sản xuất tinh bột kháng tiêu hóa. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 3+4 (2019), 104-112.

6. Deda Wang, Xiaoqing Zheng, Wenhui Liu, Qingjie Sun, Hai-Hua Chen, Hongyan Mu (2023). Preparation and characterization of debranched starches: Influence of botanical source and debranching time. Food Chemistry, 407, 135141.

7. Deda Wang, Mei Zhao, Yanfei Wang, Hongyan Mu, Cong Sun, Haihua Chen, Qingjie Sun (2022). Research progress on debranched starch: Preparation, characterization, and application. Food Reviews International, 43, 1-21.

8. Li S., Ward R., Gao Q. (2011). Effect of heat-moisture treatment on the formation and physicochemical properties of resistant starch from mung bean (*Phaseolus radiatus*) starch. Food Hydrocolloids, 25, 1702–1709.

9. Onyango C., Bley T., Jacob A., Henle T., Rohm H. (2006). Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. Carbohydrate Polymers, 66, 494–499.

10. Chung H., Liu Q., Hoover R. (2009). Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. Carbohyd Polym., 75, 436–447.

11. Milasinovic M. S., Radosavljevic M. M., Dokic L. P. (2010). Effects of autoclaving and pullulanase debranching on the resistant starch yield of normal maize starch. *J. Serb. Chem. Soc.*, 75(4), 449–58.

12. Englyst H. N. N., Kingman S. M. M., Cummings J. H. (1992). Classification and

measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46 Suppl 2(Suppl 2), 33-50.

13. Zhao X. H., Lin Y. (2009). Resistant starch prepared from high amylose maize starch with citric acid hydrolysis and its simulated fermentation *in vitro*. European Food Research and Technology, 228(6), 1015–1021.

14. Haynes L., Gimmler N., Locke J. P., Kweon M.R., Slade L., Levine H. (2003). Enzyme-resistant starch for reduced calorie flour replacer. US patent 6.013.373.

15. Prosky, L., Asp, N. G., Schweizer, T. F., DeVries, J. W. & Furda, I. (1992). Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: Collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 75, 360-367.

16. Eerlingen R. C., Crombez M., and Delcour, J. A. (1993). Enzyme-resistant starch. I. Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclave starch on resistant starch formation. Cereal Chemistry, 70(3), 339-344.

17. Haralampu S. G. (2000). Resistant starch: A review of the physical properties and biological impact of RS3. Carbohydrate Polymers, 41, 285-292.

18. Zhao X. H., Lin Y. (2009). Resistant starch prepared from high amylose maize starch with citric acid hydrolysis and its simulated fermentation in vitro. European Food Research and Technology, 228(6), 1015–1021.

ESTABLISHMENT OF TECHNOLOGICAL PARAMETERS IN HYDROTHERMAL AND RETROGRADATION PROCESS OF ENZYME-MODIFIED RICE STARCH FOR PRODUCING RESISTANT STARCH TYPE III (RS3)

Pham Cao Thang, Pham Ngoc Tuyen,

Nguyen Duc Tien, Nguyen Duy Lam

Summary

The objective of this study is to determine the appropriate technology parameters of the hydrothermal process and the starch retrogradation to produce resistant starch type III (RS3) from rice starch that has been debranched with enzyme pullulanase. From the results of comparising of three methods (hydrothermal treatment namely autoclaving, annealing and heat-moiture), it can be seen that autoclaving is the most suitable method for the production of RS3 in terms of time, efficiency in digestibility, and for large-scale processing. The important technological parameters of the autoclaving process applied to variety IR50404 raw rice starch that has undergone enzymatic treatment are determined: concentration of pre-treated rice starch is 25 - 35% and 3 cycles of heat/cold treatment are conducted. The technological parameters of the starch retrogradation treatment process are determined as follows: Temperature of crystal nucleation creating incubation is 55°C for 3 hours, and temperature of crystal nucleation developing incubation is 120 - 130°C for 30 minutes. From the research results, a schematic diagram of the autoclaving and degrading treatment process is proposed, which can be applied at pilot scale for producing resistant starch type III (RS3) with the content of over 45%.

Keywords: *Autoclaving, rice starch, resistant starch, degradation, hydrothermal.*

Người phản biện: TS. Đỗ Trọng Hưng

Ngày nhận bài: 27/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 24/3/2023

Ngày duyệt đăng: 31/3/2023

NGHIÊN CỨU TỐI ƯU CÔNG NGHỆ SẤY NẤM ĐÙI GÀ BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẤY LẠNH

Phạm Ngọc Hưng[1, *], Phạm Duy Tự[1], Nguyễn Thị Dung[1], Bùi Uyển Diễm[1], Hoàng Quốc Tuấn[1], Nguyễn Thị Thảo[1], Phùng Đức Định[2], Phùng Đức Long[2]

TÓM TẮT

Nấm đùi gà dễ bị hư hỏng do có hàm lượng chất dinh dưỡng và độ ẩm cao. Công nghệ sấy lạnh có thể kéo dài thời gian bảo quản và giữ được tính chất hóa lý cũng như thành phần hóa học của nấm. Nghiên cứu đã điều tra ảnh hưởng của nhiệt độ sấy 35°C, 40°C, đến 45°C với độ ẩm ban đầu là 90% và độ ẩm cuối cùng là 12 - 13% theo phương pháp sấy lạnh. Một hội đồng cảm quan gồm 30 người được thành lập nhằm đánh giá sự khác biệt các mẫu sau khi sấy qua phép thử cảm quan Different From Control và thành lập hội đồng gồm 60 người đánh giá chất lượng sản phẩm sấy bằng phương pháp cho điểm với thang điểm 5. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ sấy là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến đặc tính động học của quá trình sấy. Các nhiệt độ sấy khác nhau có ảnh hưởng đáng kể tới 4 thuộc tính cảm quan: tổng thể, màu sắc, độ khô và mùi thơm ($p < 0,05$). Xét về tiêu chí tổng thể, nấm sấy ở 40°C được cho điểm ưa thích cao nhất. Kết quả nghiên cứu này sẽ giúp cho ngành công nghiệp có thể áp dụng phương pháp sấy lạnh hiệu quả hơn trong việc bảo quản nấm đùi gà và có thể mở rộng nghiên cứu trên các sản phẩm nông sản khác.

Từ khoá: *Cảm quan, động học sấy, nấm đùi gà, sấy lạnh.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm đùi gà (*Pleurotus eryngii*) có hai nhóm lớn: Nhóm chịu nhiệt (nấm kết quả thể từ 20°C - 30°C) và nhóm chịu lạnh (nấm kết quả thể từ 15°C -25°C). Loại nấm này là loài bản địa khu vực Địa Trung Hải của châu Âu, Trung Đông, Bắc Phi và hiện tại đang được trồng khắp châu Á. Nấm đùi gà là một loại quả thể thơm ngon, nhiều thịt, giàu hidrat cacbon, vitamin, protein, khoáng chất, axit amin thiết yếu và chất xơ [1], [2]. Loài nấm này có đường kính trung bình từ 2–4 cm, trơn bóng, màu từ xám đến trắng xám, thịt nấm dày và có màu trắng, có mùi thơm đặc trưng, dễ chịu. Sau thu hoạch, nấm đùi gà bị ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường khác nhau, bao gồm nhiệt độ, độ ẩm và vi sinh vật [3]. Nấm đùi gà tươi có độ ẩm khoảng 90% [4], [5], khi bảo quản ở nhiệt độ thường nấm có xu hướng bị ủng, thối, xám màu và có mùi khó chịu. Nấm có thể được bảo quản ở nhiệt độ thấp, từ 4°C đến 10°C trong thời gian khoảng 3 tuần.

Sấy nấm đùi gà cũng là một giải pháp để bảo quản nấm và mang lại hiệu quả kinh tế cao. Phương pháp sấy có thể thực hiện được bằng sấy nóng hoặc sấy ở nhiệt độ thấp. Các phương pháp sấy như sấy đối lưu, sấy hồng ngoại, sấy bơm nhiệt, sấy chân không, sấy vi sóng đều có những đặc trưng và ưu, nhược điểm riêng. Nhiệt độ sấy ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng của sản phẩm nấm. Nếu nhiệt độ quá cao sẽ làm thay đổi tính chất lý hóa và thành phần của nấm. Nấm có thể bị mất màu, giảm chất thơm, phá huỷ các hợp chất sinh học và vitamin. Nếu nhiệt độ sấy quá thấp thì quá trình mất nước sẽ diễn ra chậm, các hợp chất hóa học trong nấm dễ bị oxy hóa, giảm giá trị dinh dưỡng của sản phẩm. Nhiều nghiên cứu cũng đã chỉ ra rằng, đối với sản phẩm trong nông sản thực phẩm thì nhiệt độ sấy quá cao hoặc quá thấp đều có những ảnh hưởng không tốt đến chất lượng và giá trị cảm quan của sản phẩm [6 - 10]. Các chất dinh dưỡng trong nấm không bền với nhiệt nên

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
[2] Công ty TNHH Nấm Phùng Gia
[*] Email: hung.phamngoc@hust.edu.vn

việc chọn điều kiện sấy khô phù hợp là rất cần thiết để nâng cao giá trị và bảo quản sản phẩm [11].

Từ thực tiễn trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm ra nhiệt độ sấy tối ưu cho nấm đùi gà trong khoảng giá trị nhiệt độ sấy từ 30°C đến 50°C để duy trì được chất lượng tốt nhất của nấm. Các thí nghiệm sấy được thực hiện theo phương pháp sấy bơm nhiệt và được ghi lại thông số trong quá trình sấy. Hàm lượng vitamin C, protein và khả năng tái hydrat hoá của sản phẩm sẽ được phân tích. Đồng thời, thực hiện đánh giá cảm quan để thấy được chất lượng và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của sản phẩm nấm sấy.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Nấm đùi gà được nuôi trồng tại Công ty TNHH Nấm Phùng Gia, xã Tam Hợp, huyện Bình Xuyên, tỉnh Vĩnh Phúc. Nấm được lựa chọn là các cây nấm trưởng thành, cân nặng mỗi cây trung bình từ 55 - 65 g, đồng đều về kích thước. Sau thu hoạch, nấm được bảo quản ở nhiệt độ 4°C. Các loại hoá chất sử dụng để xác định hàm lượng vitamin C và protein gồm axit cloric (HCl), axit sunfuric (H_2SO_4), natri hydroxit (NaOH), kali hydroxit (KOH), kali sunfat (K_2SO_4) và đồng (II) sunfat ($CuSO_4$) có xuất xứ Trung Quốc và có độ tinh khiết trên 99%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu

Mỗi thí nghiệm sấy sử dụng 500 g nấm đùi gà tươi. Nấm được thái thành các lát dọc theo chiều dài cây nấm với độ dày từ 7 - 8 mm. Nấm được xếp trên các khay và được sấy bởi máy sấy lạnh Sasaki (Model HPTSASAKI010), làm việc theo nguyên lý sấy bơm nhiệt có gia nhiệt bổ sung, kích thước 650 x 800 x 1.100 mm (Hình 1), tác nhân sấy là không khí có tốc độ là 5 m/s. Nhiệt độ sấy được cài đặt và duy trì ở giá trị nhiệt 35°C, 40°C, 45°C và 50°C. Khối lượng nấm được ghi nhận bằng cân phân tích OHAUS CL201 (Nhật Bản) cứ sau mỗi 2 giờ. Thí nghiệm được thực hiện trong 14 giờ và lặp lại 2 lần.



Hình 1. Thiết bị sấy và các khay sấy nấm

2.2.2. Phương pháp xác định độ ẩm

Xác định độ ẩm dựa trên nguyên tắc làm khô đến khối lượng không đổi phần mẫu thử. Cụ thể, cân từ 5 – 10 g mẫu nấm và cho mẫu nấm vào cốc để trong tủ sấy. Thực hiện sấy trong 2 giờ với nhiệt độ 150°C. Sau đó, làm nguội trong bình hút ẩm và cân với độ chính xác 0,01 g. Lặp lại thao tác sấy đến khi sự khác biệt giữa 2 lần cân liên tiếp không vượt quá 0,01 g.

Độ ẩm (%) của mẫu biểu thị bằng phần trăm theo công thức sau:

$$W = \frac{m - m_1}{m}.100\ \%$$

Trong đó: m là khối lượng mẫu trước khi sấy (g); m_1 là khối lượng mẫu sau khi sấy (g).

2.2.3. Phương pháp xác định hàm lượng vitamin C

Cân 10 g mẫu vào cối sứ và nghiền nhỏ mẫu với 15 ml HCl 2%. Chuyển nhanh toàn bộ lượng mẫu vào bình định mức và thêm HCl 2% để được 100 ml, lắc đều trong 10 phút. Hút 5 – 10 ml HCl 2% (tương ứng với lượng dung dịch lọc lấy để chuẩn độ) cho vào bình tam giác dung tích 50 ml. Chuẩn độ bằng 2,6-dichloro-indophenol đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền trong 30 giây. Hàm lượng vitamin C trong mẫu được xác định bằng công thức:

$$X = \frac{(a-b) * F * V * 100}{Y * m}$$

Trong đó: a là số ml thuốc thử 2,6-dicloro-indophenol chuẩn được; b là số ml thuốc thử 2,6-dicloro-indophenol chuẩn được từ mẫu đối chứng; V là tổng thể tích dịch chiết VTM C; m là khối lượng mẫu cân được ban đầu; Y là thể tích dịch chiết dùng để chuẩn độ, ml; F là độ chuẩn của dung dịch 2,6-dicloro-indophenol theo axit ascobic, g.

2.2.4. Phương pháp xác định hàm lượng protein

Xác định hàm lượng protein tổng theo TCVN 8125: 2015.

2.2.5. Phương pháp đánh giá cảm quan

Sử dụng phép thử cảm quan different from control (DFC) theo tiêu chuẩn ISO 4120:2004 nhằm xác định sự tồn tại khác biệt và đánh giá được mức độ khác biệt giữa một hoặc nhiều mẫu kiểm tra so với mẫu đối chứng. Hội đồng đánh giá gồm 30 người, có độ tuổi và giới tính phân bố đều từ 18 - 23. Mẫu đánh giá là các mẫu nấm đùi gà sấy lạnh ở các nhiệt độ 35°C, 40°C và 45°C. Các tiêu chí đánh giá cảm quan là sự khác biệt tổng thể, màu sắc, độ khô và mùi của sản phẩm.

Sử dụng phương pháp đánh giá thị hiếu nhằm cho điểm yêu thích đối với tính chất mùi, màu và mức độ yêu thích tổng thể của sản phẩm nấm sấy dựa trên thang điểm 5 với số điểm tương ứng: 1 – rất không thích, 2 – không thích; 3 – bình thường; 4 – thích và 5 – rất thích. Hội đồng đánh giá gồm 60 người, có độ tuổi từ 18 - 25.

2.2.6. Phương pháp thống kê và xử lý dữ liệu

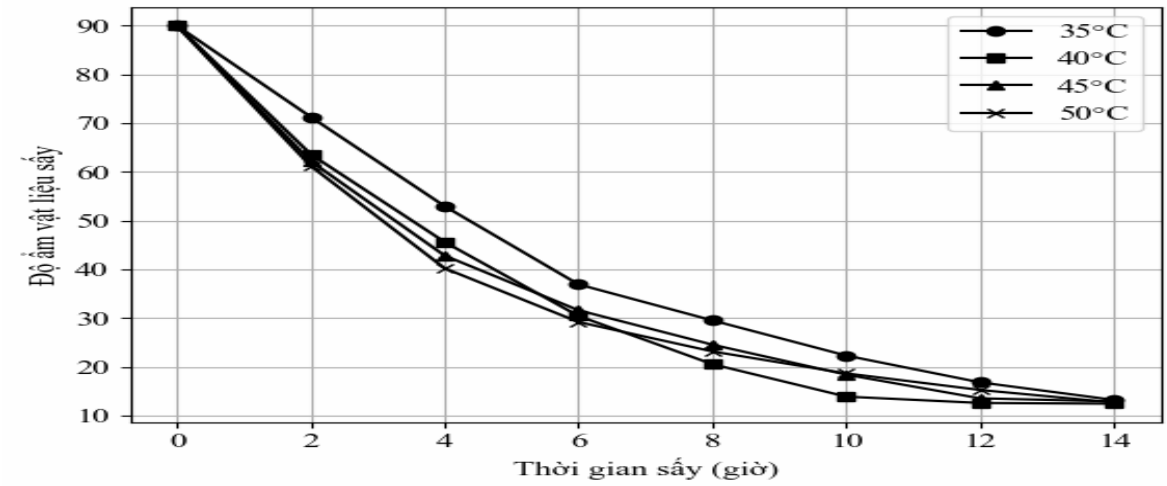
Sử dụng phần mềm Xlstat 2021 để phân tích dữ liệu, phần mềm Matlab 2017 để xác định thông số của mô hình sấy. Các tính toán thống kê được thực hiện trên phần mềm Microsoft Excel.

2.2.7. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 10/2022 đến tháng 3/2023 tại Trung tâm Đào tạo và Phát triển sản phẩm thực phẩm, Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến độ ẩm của sản phẩm trong quá trình sấy

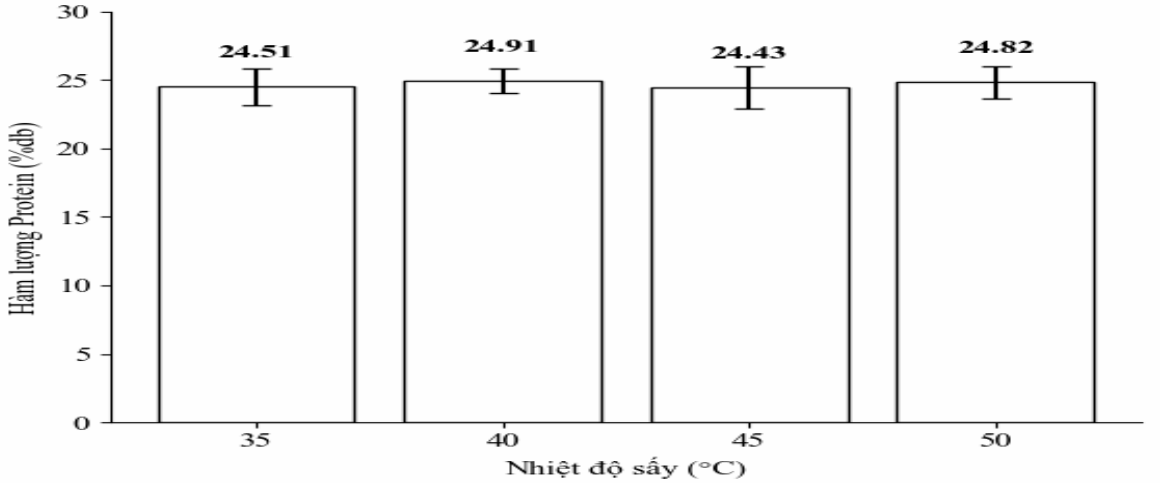


Hình 2. Đồ thị độ ẩm của nấm theo thời gian và nhiệt độ sấy

Độ ẩm của nấm trong quá trình sấy được tính toán và thể hiện trên hình 2. Kết quả cho thấy, nhiệt độ sấy là yếu tố có ảnh hưởng đến độ bay hơi nước của nấm trong quá trình sấy. Qua đó, nó ảnh hưởng đến sự biến đổi độ ẩm của nấm đùi gà, dẫn đến thời gian sấy ở các mẫu là khác nhau. Trong giai đoạn đầu, từ 0 - 4 giờ, mẫu nấm ở 50°C có tốc độ bay hơi nước nhanh nhất khi giảm từ 90% xuống còn 40,21%, trong khi mẫu sấy ở 45°C, 40°C và 35°C chỉ giảm còn 42,8%, 45,6% và 52,95%. Tuy nhiên, trong giai đoạn từ 4 - 8 giờ tiếp theo, tốc độ bay hơi nước trong mẫu nấm sấy ở 50°C và 45°C lại giảm đi đáng kể so với mẫu ở 40°C. Xét tổng thể cả quá trình sấy cho thấy, mẫu nấm sấy ở 40°C sẽ có tốc độ bay hơi nước nhanh hơn so với các mẫu sấy ở nhiệt độ 35°C, 45°C và 50°C. Điều này có thể được giải thích rằng, nhiệt độ 35°C tạo ra động lực sấy kém hơn khi ở nhiệt độ 40°C nên tốc độ bay hơi nước cũng sẽ chậm hơn. Ngược lại, ở nhiệt độ 45°C và 50°C thì ẩm trên bề mặt bay hơi quá nhanh đã tạo một lớp mặt khô cứng trong giai đoạn đầu, điều này đã hạn chế tốc độ bay hơi nước trong giai đoạn tiếp theo.

3.2. Hàm lượng protein của sản phẩm nấm đùi gà sấy

Kết quả phân tích cho thấy, sự biến đổi hàm lượng protein tổng của sản phẩm nấm đùi gà chịu ảnh hưởng bởi nhiệt độ sấy. Bốn mẫu nấm đùi gà khô đã sấy ở các nhiệt độ 35°C, 40°C, 45°C và 50°C có hàm lượng protein tổng số, tính theo hàm lượng chất khô được thể hiện trên hình 3. Hàm lượng protein tổng số của nấm tươi nguyên liệu là 26,42%. Trong quá trình sấy, lượng protein tổng số hao hụt khoảng 2%. Mẫu nấm sấy ở nhiệt độ 40°C có hàm lượng protein tổng (24,91%) cao nhất. Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với các mẫu nấm sấy còn lại.

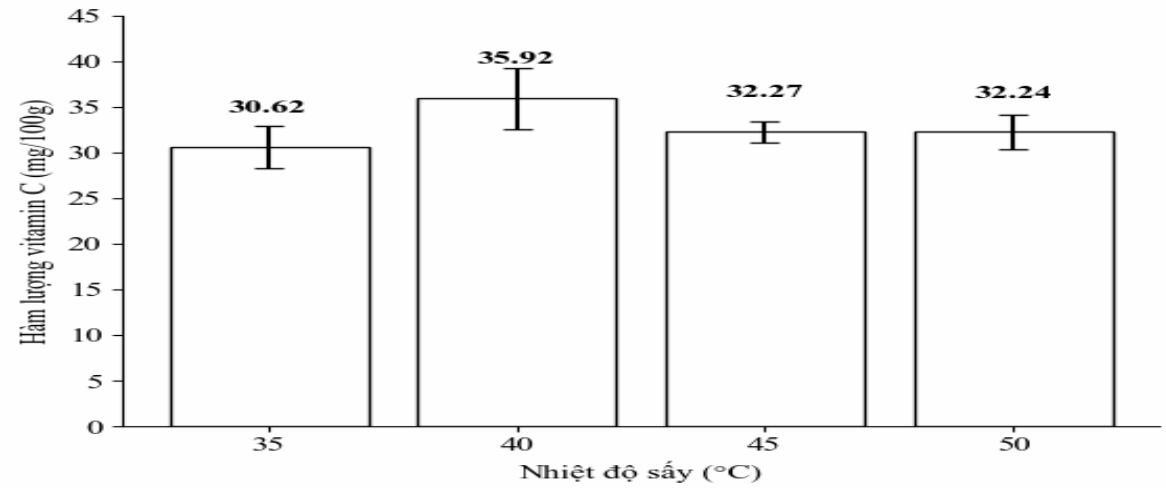


Hình 3. Hàm lượng protein trong các mẫu nấm đùi gà sấy ở các nhiệt độ khác nhau

3.3. Hàm lượng vitamin C của sản phẩm nấm đùi gà sấy

Vitamin C kém bền với nhiệt nên dễ bị biến đổi trong quá trình sấy. Hàm lượng vitamin C của sản phẩm sấy giữ được ở mức càng cao chất lượng sản phẩm sấy càng tốt, sản phẩm ít bị biến đổi so với nguyên liệu ban đầu. Để bảo vệ được vitamin C trong nấm thì việc nghiên cứu để chọn được nhiệt độ sấy là rất cần thiết. Kết quả thu được từ thực nghiệm trên 4 mẫu sấy ở các nhiệt độ 35°C, 40°C, 35°C và 50°C được thể hiện trên hình 4. Mẫu nấm đùi gà sấy ở nhiệt độ 40°C có hàm lượng vitamin C (35,92 mg/100 g chất khô) cao nhất. Hai mẫu nấm sấy ở nhiệt độ 45°C và 50°C có hàm lượng vitamin C tương đương nhau. Mẫu nấm sấy ở nhiệt độ 35°C có hàm lượng vitamin C thấp nhất. Hàm lượng vitamin C trong mẫu nấm tươi nguyên liệu là 37,12 mg/100 g. Mức độ hao hụt lượng vitamin C trong quá trình sấy dao động từ 3% đến 17,5% so với nguyên liệu đầu vào. Kết quả này có thể lý giải

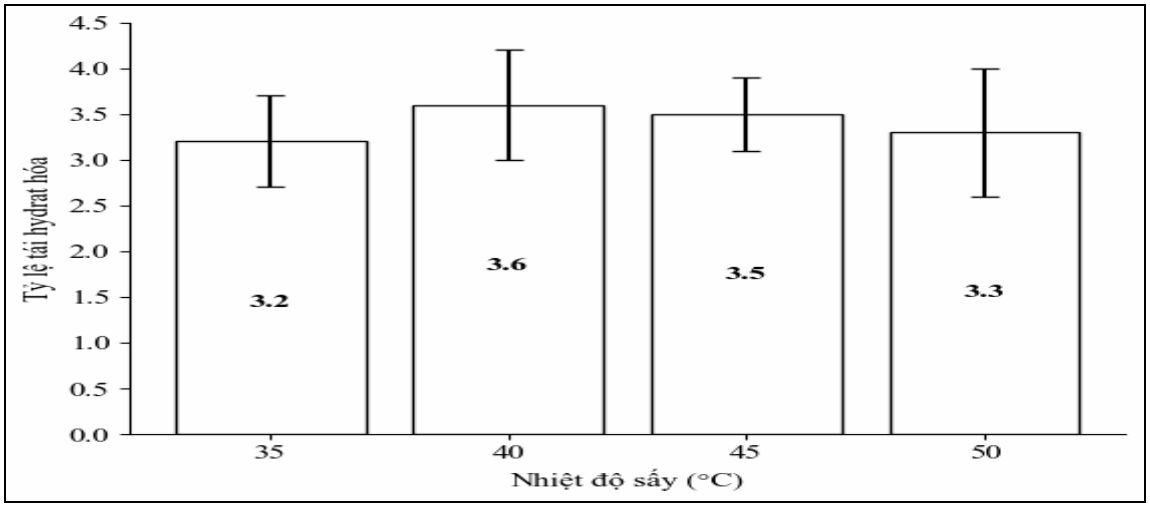
rằng, nhiệt độ cao sẽ thúc đẩy quá trình bay hơi và quá trình phân hủy vitamin C có trong nấm. Nhiệt độ thấp, thúc đẩy quá trình oxy hóa vitamin C do tham gia vào phản ứng oxy hóa có sự xúc tác của oxi không khí.



Hình 4. Biểu đồ thể hiện sự thay đổi hàm lượng vitamin C của nấm đùi gà sau sấy ở các nhiệt độ khác nhau

3.4. Tỷ lệ tái hidrat hóa của sản phẩm nấm đùi gà sấy

Tỷ lệ hidrat hóa hay khả năng hút nước phục hồi trạng thái ban đầu của sản phẩm nấm đùi gà sấy cũng phụ thuộc vào nhiệt độ sấy. Tỷ lệ hidrat hóa phản ánh sự bảo toàn các tính chất ban đầu của protein trong thực phẩm. Tỷ lệ tái hidrat hóa càng cao thì chất lượng của sản phẩm càng tốt, tức là các tính chất ban đầu của thực phẩm được bảo toàn. Kết quả trong hình 5 cho thấy, mẫu nấm đùi gà sấy lạnh ở nhiệt độ 40°C có tỷ lệ tái hidrat cao nhất, tiếp đến là mẫu nấm sấy ở nhiệt độ 45°C và 50°C, thấp nhất là mẫu nấm sấy ở nhiệt độ 35°C. Kết quả này đã khẳng định mẫu nấm sấy ở nhiệt độ 40°C có khả năng bảo toàn tính chất ban đầu cao nhất.



Hình 5. Tỷ lệ tái hidrat hoá của sản phẩm nấm đùi gà sấy

3.5. Đánh giá cảm quan sản phẩm nấm đùi gà sấy

Kết quả phân tích đánh giá về protein, vitamin C và tỷ lệ tái hidrat hoá đã chỉ ra rằng, sản phẩm nấm sấy ở nhiệt độ 50°C đều cho ra kết quả ở mức thấp nhất. Quan sát trực tiếp cũng có thể dễ thấy được sản phẩm nấm sấy ở nhiệt độ 50°C có màu sậm và không có mùi thơm đặc trưng so với các mẫu sản phẩm còn lại. Do vậy, mẫu sản phẩm nấm

sấy ở 50°C sẽ không được sử dụng trong phần nghiên cứu này. Để so sánh các mẫu sản phẩm nấm sấy ở 35°C, 40°C và 45°C, hội đồng cảm quan đã thực hiện phép thử DFC để đánh giá sự khác biệt tổng thể và sự khác biệt các thuộc tính cụ thể về màu sắc, độ khô và mùi thơm đặc trưng. Mẫu đối chứng mù được so sánh với mẫu đối chứng nhằm kiểm tra tính hợp lệ bên trong của người đánh giá bằng việc đo lường các mức độ không đồng nhất trong các mẫu đối chứng và/hoặc tín hiệu giả của người đánh giá.



a) *b)* *c)*

Hình 6. Mẫu nấm đùi gà sấy ở nhiệt độ a) 35°C, b) 40°C và c) 45°C

Người tham gia trong hội đồng sẽ quan sát các mẫu nấm đã được mã hoá và trả lời các câu hỏi về sự khác biệt thông qua việc cho điểm từ 0 - 5, tương ứng với các mức độ: Không có sự khác biệt; gần như không khác; hơi khác; khác vừa phải; khác nhiều và rất khác. Kiểm định T-Test được sử dụng trong kiểm tra sự khác biệt về giá trị trung bình giữa hai tổng thể trong mẫu khảo sát. Giá trị trung bình và p_Value của kiểm định T-Test của kết quả đánh giá của hội đồng gồm 30 người trong đánh giá phân biệt giữa mẫu sản phẩm kiểm chứng (ở 40°C) với các mẫu sản phẩm 35°C và 45°C được thể hiện tương ứng trong bảng 1 và 2.

Bảng 1. Giá trị trung bình và p-Value của kết quả đánh giá cảm quan giữa mẫu kiểm chứng là mẫu nấm sấy ở 40°C và mẫu thử là nấm sấy ở 35°C

Giá trị thống kê	Tiêu chí đánh giá							
	Tổng thể		Màu sắc		Độ khô		Mùi đặc trưng	
	Mẫu sấy 35°C	Mẫu kiểm chứng	Mẫu sấy 35°C	Mẫu kiểm chứng	Mẫu sấy 35°C	Mẫu kiểm chứng	Mẫu sấy 35°C	Mẫu kiểm chứng
Trung bình	3,5	1,24	3,07	1,3	2,87	1,2	3,73	0,87
p_Value	<0,01		<0,01		<0,01		<0,01	

Bảng 2. Giá trị trung bình và p-Value của kết quả đánh giá cảm quan giữa mẫu kiểm chứng là mẫu nấm sấy ở 40°C và mẫu thử là nấm sấy ở 45°C

Giá trị thống kê	Tiêu chí đánh giá							
	Tổng thể		Màu sắc		Độ khô		Mùi đặc trưng	
	Mẫu sấy 45°C	Mẫu kiểm chứng	Mẫu sấy 45°C	Mẫu kiểm chứng	Mẫu sấy 45°C	Mẫu kiểm chứng	Mẫu sấy 45°C	Mẫu kiểm chứng
Trung bình	3,53	1,23	3,23	1,3	3,56	1,2	3,56	0,87
p_Value	<0,01		<0,01		<0,01		<0,01	



Hình 7. Đánh giá chất lượng cảm quan nấm đùi gà sấy

Bảng 1 và bảng 2 cho thấy, giá trị trung bình p_Value < 0,05 ở tất cả các tính toán thống kê trong phép thử phân biệt về các thuộc tính đang xét. Điều đó có nghĩa rằng, có sự khác biệt đáng kể giữa mẫu thử và mẫu kiểm chứng. Do đó, có sự không tương đồng của mẫu nấm thử (sấy ở 35°C và 45°C) với mẫu kiểm chứng (sấy ở 40°C) trên cả 4 chỉ tiêu về tổng thể, màu sắc, độ khô và mùi. Để đánh giá chất lượng cảm quan của sản phẩm nấm sấy, một hội đồng đánh giá gồm 60 người đã được thành lập và thực hiện đánh giá thị hiếu. Sản phẩm được đánh giá là các mẫu nấm sấy ở 35°C, 40°C và 45°C. Các thành viên hội đồng sẽ đánh giá bằng cách cho điểm các sản phẩm dựa theo thang đo 5 điểm. Cụ thể: điểm 1 – rất không thích, 2 – không thích, 3 – bình thường, 4 – thích và 5 – rất thích. Bảng 3 thể hiện điểm trung bình và phương sai của hội đồng đánh giá theo các tiêu chí màu sắc, mùi và tổng thể với 3 sản phẩm nấm sấy.

Bảng 3. Kết quả đánh giá thị hiếu các mẫu sản phẩm nấm sấy ở 35°C, 40°C và 45°C theo hội đồng 60 người và dựa theo thang đo 5 điểm

Nhiệt độ sản phẩm nấm sấy (°C)	Điểm thích màu		Điểm thích mùi		Điểm thích tổng thể	
	Trung bình	Phương sai	Trung bình	Phương sai	Trung bình	Phương sai
35	3,28	0,87	3,22	1,09	3,11	1,05
40	3,26	0,80	3,43	0,60	3,60	0,83
45	2,90	0,68	2,72	0,72	2,87	0,65

Điểm ưa thích về màu sắc của sản phẩm nấm ở 35°C (3,28) tương đương với mẫu nấm sấy 40°C (3,26) nhưng hơn nhiều so với mẫu nấm sấy ở 45°C. Việc này có thể được giải thích rằng, sấy nấm ở nhiệt độ càng cao sẽ càng làm thay đổi màu sắc của sản phẩm. Đối với mùi của sản phẩm, nấm sấy ở 40°C cho kết quả tốt hơn do duy trì được mùi thơm đặc trưng so với hai mẫu còn lại. Xét về tiêu chí tổng thể, nấm sấy ở 40°C được cho điểm ưa thích tổng thể cao nhất.

4. KẾT LUẬN

Đã đánh giá được ảnh hưởng và tìm được nhiệt độ sấy thích hợp nhằm tối ưu các đặc tính hóa lý và cảm quan của nấm đùi gà sấy khô. Trong quá trình sấy, độ ẩm của nấm giảm liên tục theo thời gian. Tốc độ giảm ẩm diễn ra nhanh trong giai đoạn đầu của quá trình sấy do hàm lượng ẩm tự do còn cao. Trong giai đoạn sau, tốc độ giảm ẩm giảm dần do lượng ẩm chủ yếu là ẩm liên kết. Nhiệt độ sấy cũng ảnh hưởng đến thời gian sấy nấm đùi gà. Ở nhiệt độ thấp, thời gian sấy tăng do quá trình không tạo được động lực sấy đủ lớn để tách nhanh ẩm. Ở nhiệt độ sấy quá cao thì ẩm trên bề mặt bay hơi quá nhanh và sẽ tạo ra một lớp mặt khô cứng cản trở khả năng thoát hơi nước từ trong sản phẩm. Nhiệt độ sấy ở 40°C sẽ cho kết quả thời gian sấy ngắn nhất khi cần giảm ẩm từ 90% xuống còn 12,5% trong 10 giờ. Nhiệt độ sấy ảnh hưởng đến

hàm lượng vitamin C, protein và khả năng tái hydrat hóa của nấm đùi gà. Các thuộc tính tổng thể, màu sắc, độ khô và mùi đặc trưng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhiệt độ sấy 35°C, 40°C và 45°C. Đánh giá thị hiếu sản phẩm nấm sấy khô cũng chỉ ra rằng, ở nhiệt độ 40°C thì nấm đạt chất lượng cảm quan tốt nhất theo chỉ tiêu màu sắc, mùi và tổng thể.

Nghiên cứu này cung cấp tài liệu tham khảo về việc bảo quản và nâng cao chất lượng nấm đùi gà trong ứng dụng công nghiệp.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện thông qua sự tài trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ cấp tỉnh Vĩnh Phúc, mã số 28/ĐTKHVP/2021-2023: "Nghiên cứu ứng dụng, hoàn thiện công nghệ tự động hóa nâng cao chất lượng sản phẩm và tăng hiệu quả sản xuất nấm đùi gà tại Công ty TNHH Nấm Phùng Gia và trên địa bàn tỉnh Vĩnh Phúc".

Nghiên cứu sử dụng máy sấy lạnh Sasaki của Công ty Hanel PT và đặt tại Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yang R. L., Li Q. and Hu Q. P. (2020). Physicochemical properties, microstructures, nutritional components, and free amino acids of *Pleurotus eryngii* as affected by different drying methods. *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–10, doi: 10.1038/s41598-019-56901-1.

2. Melanouri E. M., Dedousi M. and Diamantopoulou P. (2022). Cultivating Pleurotus ostreatus and *Pleurotus eryngii* mushroom strains on agro-industrial residues in solid-state fermentation. Part II: Effect on productivity and quality of carposomes. *Carbon Resour. Convers.*, vol. 5, no. 1, pp. 52–60, doi: 10.1016/j.crcon.2021.12.005.

3. Ponkham K., Meeso N., Soponronnarit S. and Siriamornpun S. (2012). Modeling of combined far-infrared radiation and air drying of a ring shaped-pineapple with/without shrinkage. *Food Bioprod. Process.*, vol. 90, no. 2, pp. 155–164, doi: 10.1016/j.fbp.2011.02.008.

4. Dedousi M., Melanouri E. and Diamantopoulou P. (2023). Carposome productivity of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* growing on agro-industrial residues enriched with nitrogen, calcium salts and oils. *Carbon Resour. Convers.*, vol. 6, no. 2, pp. 150–165, doi: 10.1016/j.crcon.2023.02.001.

5. Melanouri E. M., Dedousi M. and Diamantopoulou P. (2021). Cultivating *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* mushroom strains on agro-industrial residues in solid-state fermentation. Part II: Effect on productivity and quality of carposomes TI2 - Carbon Resources Conversion. No. 2588–9133. doi: 10.1016/j.crcon. 12.005.

6. Li X. *et al.* (2015). Effects of drying methods on the tasty compounds of *Pleurotus eryngii*. *Food Chem.*, vol. 166C, pp. 358–364, Jan., doi: 10.1016/j.foodchem.2014.06.049.

7. Xiong X. *et al.* (2021). Effects of heat pump drying and superfine grinding on the composition of bound phenolics, morphology and microstructure of lychee juice by-products. *LWT*, vol. 144, p. 111206, 2021, doi: https://doi.org/10.1016/j.lwt. 111206.

8. Su D., Lv W., Wang Y., Li D. and Wang L. (2019). Drying characteristics and water dynamics during microwave hot-air flow rolling drying of Pleurotus eryngii. *Dry. Technol.*, vol. 38, pp. 1–12, Aug. 2019, doi: 10.1080/07373937. 1648291.

9. Chen M., Yang D. J. and Liu S. C. (2011). Effects of drying temperature on the flavonoid, phenolic acid and antioxidative capacities of the methanol extract of citrus fruit (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) peels. *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol.

46, pp. 1179–1185, Mar. 2011, doi: 10.1111/j.1365-2621.2011.02605.x.

10. Silva B. G., Fileti A. M. F., Foglio M. A., Rosa P. D. T. V. and Taranto O. P. (2017). Effects of Different Drying Conditions on Key Quality Parameters of Pink Peppercorns (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *J. Food Qual.*, vol. 2017, 2017, doi: 10.1155/3152797.

11. Reyes A., Mahn A., Cubillos F. and Huenulaf P. (2013). Mushroom dehydration in a hybrid-solar dryer. *Energy Convers. Manag.*, vol. 70, pp. 31–39, 2013, doi: 10.1016/j.enconman.2013.01.032.

STUDY ON THE DRYING CONDITION OPTIMIZATION OF PLEUROTUS ERYNGII IN LOW - TEMPERATURE DRYER

Pham Ngoc Hung[1,*], Pham Duy Tu[1], Nguyen Thi Dung[1], Bui Uyen Diem[1], Hoang Quoc Tuan[1], Nguyen Thi Thao[1], Phung Duc Dinh[2], Phung Duc Long[2]

[1]*School of Biotechnology and Food technology, Hanoi University of Science and Technology*

[2]*Phung Gia Limited Liability Company*

Summary

Pleurotus eryngii are prone to spoilage due to their high nutrient content and moisture. Low-temperature drying technology can extend the shelf life the preservation time and maintain the physicochemical properties and chemical composition of the mushrooms. This study investigated the effect of drying temperature (35˚C, 40˚C and 45˚C) on the initial moisture content of 90% and the final moisture content of 12%-13% using the low-temperature method. A sensory panel of 30 evaluators was established to assess the sensory differences between samples after drying using the different from control method, while a panel of 60 participants rated the quality of the dried product using a 5-point scoring system. The results showed that drying temperature is an important factor affecting the kinetic characteristics of the drying process. Different drying temperatures significantly affect four sensory attributes: overall appearance, color, dryness, and aroma ($p < 0.05$). Based on the overall criteria, mushrooms dried at 40˚C were given the highest preference score. This study will help the industry apply low temperature drying more effectively in preserving king oyster mushrooms and potentially extend research to other agricultural products.

Keywords: *Sensory, drying kinetic, Pleurotus eryngii, cold drying.*

Người phản biện: PGS.TS. Chu Văn Thiện

Ngày nhận bài: 31/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 25/4/2023

Ngày duyệt đăng: 28/4/2023

ỨNG DỤNG COLLAGEN THỦY PHÂN TỪ HỖN HỢP DA VẢY CÁ LÓC *(Channa striata)* TRONG SẢN XUẤT NƯỚC ÉP GIÀU COLLAGEN

Trương Thị Mộng Thu[1, 2, *], Nguyễn Văn Mười[3],
Lê Thị Minh Thủy[2], Trần Thanh Trúc[3]

TÓM TẮT

Nghiên cứu gồm 3 thí nghiệm: (i) ảnh hưởng của nhiệt độ hòa tan [nhiệt độ lạnh (0 – 4°C) và nhiệt độ phòng (27 – 30°C)] đến hàm lượng protein hoà tan và hoạt tính chống oxy hoá (DPPH); (ii) ảnh hưởng của loại nước ép (lựu, cà rốt, dâu tằm) và tỷ lệ collagen thủy phân từ hỗn hợp da vảy cá lóc (1, 2 và 3%) đến chất lượng cảm quan, DPPH và hàm lượng protein hoà tan; (iii) thời gian bảo quản lạnh (0, 1, 2, 3 và 4 tuần) đến chất lượng nước ép giàu collagen đã được khảo sát. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hòa tan collagen thủy phân vào nước ép ở nhiệt độ phòng cho hàm lượng protein hòa tan và giá trị DPPH cao hơn nhiệt độ lạnh. Nước ép dâu tằm với tỷ lệ collagen thủy phân 2% có điểm cảm quan, hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) và hàm lượng protein hòa tan cao tương ứng lần lượt là 17,9 điểm, 60,1% và 26,5 mg/mL. Nước ép dâu tằm giàu collagen vẫn đảm bảo chất lượng cảm quan, hoạt tính chống oxy hóa, màu sắc và vệ sinh an toàn thực phẩm trong thời gian bảo quản 4 tuần ở nhiệt độ lạnh (0 – 4°C).

Từ khoá: *Collagen thủy phân, hoạt tính chống oxy hóa, cà rốt, dâu tằm, lựu.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc tiêu thụ nước ép trái cây và rau quả có hàm lượng phenolic cao có khả năng làm giảm các bệnh tim mạch và tỷ lệ tử vong do ung thư. Do đó, nước ép có màu đỏ như lựu, nho và các loại quả mọng khác đã nhận được sự quan tâm do hàm lượng anthocyanin và hoạt tính chống oxy hóa cao. Trong đó, dâu tằm (*Morus nigra*) là một loại trái cây giàu polyphenol và anthocyanin [1]. Bên cạnh đó, nước ép lựu (*Punica granatum* L.) chứa một lượng đáng kể axit, đường, vitamin, polysaccaride, polyphenol và khoáng chất, giúp tăng cường hệ thống miễn dịch, chống oxy hóa và chống ung thư [2]. Thêm vào đó, nước ép cà rốt là một trong những loại nước ép rau củ phổ biến nhất và là nguồn giàu β- và α-caroten tự nhiên, có tác dụng chống oxy hóa và giảm nguy cơ mắc các bệnh về mắt [3].

Bên cạnh đó, phụ phẩm từ quá trình chế biến thủy sản (da, vây, vảy...) được xem là nguồn nguyên liệu sản xuất collagen an toàn, nguy cơ truyền bệnh thấp và không bị ràng buộc tôn giáo. Do đó, Trương Thị Mộng Thu và cs (2021) [4] đã nghiên cứu chiết tách collagen từ da cá lóc bằng pepsin. Trương Thị Mộng Thu và cs (2022) [5] cũng đã nghiên cứu điều kiện tiền xử lý và chiết tách collagen từ da và vảy cá lóc (*Channa striata*) bằng pepsin. Khi collagen được thủy phân bởi enzym tạo thành các đoạn peptide có khối lượng phân tử nhỏ hơn 20 kDa thì được gọi là collagen thủy phân [6]. Nhờ vào khả năng hòa tan trong nước dễ dàng, collagen thủy phân thường được bổ sung vào nước ép giúp tăng cường dinh dưỡng và khả năng tiêu hóa cho người tiêu dùng [7]. Vì vậy, nghiên cứu ứng dụng collagen thủy phân từ hỗn hợp da vảy cá lóc trong sản xuất nước ép giàu

[1] Nghiên cứu sinh ngành Công nghệ Thực phẩm khóa 2020, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ
[3] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[*] Email: ttmthu@ctu.edu.vn

collagen đã được thực hiện nhằm tìm được nhiệt độ hòa tan collagen thủy phân, loại nước ép và tỷ lệ collagen thủy phân bổ sung, thời gian bảo quản lạnh thích hợp nhằm tạo sản phẩm nước ép trái cây có giá trị cảm quan, dinh dưỡng và hoạt tính chống oxy hoá tốt.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị mẫu

Da và vảy cá lóc được thu mua tại cơ sở khô cá lóc 7 Chóp (huyện Thoại Sơn, tỉnh An Giang), cấp đông ở -20±2°C và đóng thùng chuyển về phòng thí nghiệm Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ không quá 6 giờ. Da cá lóc được loại thịt, mỡ và vảy còn sót lại, rửa sạch, cắt nhỏ với kích thước 2 x 1 cm. Vảy cá được rửa 3 lần trong nước muối loãng 0,5%, 2 phút/lần. Sau đó, vảy cá được tiếp tục rửa sạch trong nước và phơi ráo.

Quy trình chiết tách collagen từ hỗn hợp da vảy cá lóc theo nghiên cứu của Trương Thị Mộng Thu và cs (2022) [5]. Da cá lóc được xử lý loại các hợp chất protein phi collagen bằng dung dịch NaOH 0,1 M trong 6 giờ, ở 4°C, tỷ lệ nguyên liệu: dung dịch NaOH là 1: 8 (w/v) và dung dịch NaOH được thay sau mỗi 3 giờ. Da cá sau khi ngâm NaOH được rửa trong nước sạch cho đến khi đạt pH trung tính. Da cá được tiếp tục xử lý loại lipid bằng butyl alcohol 10% với tỷ lệ nguyên liệu: dung dịch butyl alcohol là 1: 10 (w/v) trong 24 giờ ở 4°C, thay mới dung dịch butyl alcohol sau mỗi 12 giờ và nguyên liệu được rửa sạch dưới vòi nước chảy, để ráo và chuẩn bị cho quá trình trích ly collagen. Vảy cá lóc được xử lý loại khoáng trong dung dịch EDTA-2Na nồng độ 0,8 M trong 24 giờ ở 4°C, tỷ lệ nguyên liệu vảy cá so với dung dịch EDTA-2Na là 1: 8 (w/v). Dung dịch EDTA-2Na được thay mới sau mỗi 12 giờ. Sau đó, vảy cá được rửa lại nhiều lần bằng nước sạch đến khi đạt pH trung tính. Trộn da và vảy cá lóc theo tỷ lệ 1: 1 (w/w), hỗn hợp da vảy cá được chiết tách collagen bằng pepsin với nồng độ 0,1% pepsin (pha trong dung dịch đệm axit acetic 0,6 M) trong 2 ngày. Cố định tỷ lệ hỗn hợp da vảy cá/dung dịch pepsin (w/v) là 1: 20, ở 4°C, hỗn hợp mẫu được khuấy nhẹ liên tục trong suốt thời gian trích ly. Mẫu sau khi ngâm pepsin lọc lấy dịch chiết, dịch chiết được ly tâm với tốc độ 9.000 vòng/phút trong 20 phút ở nhiệt độ 4°C. Thu phần lỏng và điều chỉnh pH bằng cách thêm Tris (hydroxymethane aminomethane 0,05 M) đến khi pH đạt từ 6,8 - 7,2. Tạo kết tủa bằng cách thêm từ từ muối NaCl vào dung dịch cho đến khi nồng độ NaCl đạt 2,6 M, sau đó thu kết tủa bằng cách ly tâm với tốc độ 9.000 vòng/phút trong 20 phút ở nhiệt độ 4°C. Kết tủa được hoà tan với axit axetic 0,5 M và tiến hành thẩm tách bằng axit axetic 0,1 M và nước cất trong 36 giờ, nhiệt độ trong suốt quá trình thực hiện được kiểm soát ở 0 - 4°C và sấy đông khô để thu collagen thành phẩm có độ ẩm ≤12%. Collagen thành phẩm từ hỗn hợp da vảy cá lóc chứa hàm lượng protein 90,1%, độ ẩm 10,5%, khoáng 0,65%, không phát hiện kim loại nặng (asen, thủy ngân, chì, cadimi) và SO_2, chỉ tiêu vi sinh (Enterobacteriaceace và Enterococcus) đạt theo quy định của Uỷ ban châu Âu.

Tiếp đến, thủy phân collagen bằng alcalaza theo phương pháp được mô tả bởi González-Serrano và cs (2022) [8]. Mẫu collagen được hòa tan trong nước cất để thu được dung dịch có nồng độ 6,67% (w/v) và thủy phân bằng 2% alcalaza ở 55°C trong 3 giờ. Sau đó bất hoạt enzym ở -20°C trong 10 phút và ly tâm với tốc độ 10.000 vòng trong 15 phút ở nhiệt độ 4°C để thu phần dịch lỏng, sấy đông khô để được bột collagen thủy phân từ hỗn hợp da vảy cá lóc. Bột collagen thủy phân được sử dụng bổ sung vào các loại nước ép trong nghiên cứu này.

Chuẩn bị nước ép lựu, cà rốt, dâu tằm. Trái cây, rau củ được mua tại chợ An Khánh, thành phố Cần Thơ. Trái cây, rau củ được lựa chọn kỹ, màu sắc tươi tốt, không bị hư hỏng. Lựu được lột vỏ, tách hạt; cà rốt được gọt vỏ, rửa sạch, cắt nhỏ; dâu tằm được rửa sạch sau đó ép bằng máy ép trái cây Ilian, lọc loại bỏ bã thu nước ép. Nước ép được bảo quản ở nhiệt độ lạnh (<5°C) và sử dụng trong 24 giờ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của nhiệt độ hoà tan đến hàm lượng protein hòa tan và hoạt tính chống oxy hóa của nước ép giàu collagen

Tiến hành thí nghiệm: Thí nghiệm được tiến hành với 1 nhân tố A: nhiệt độ hòa tan [A_1: nhiệt độ lạnh (0 – 4°C) và A_2: nhiệt độ phòng (27 – 30°C)]. Collagen thủy phân từ hỗn hợp da vảy cá lóc được chuẩn bị từ mục 2.1 được hòa tan vào 3 loại nước ép (lựu, cà rốt và dâu tằm) được chuẩn bị như mục 2.1, với tỷ lệ collagen thủy phân so với nước ép là 2% lắc đều trong 10 phút ở hai mốc nhiệt độ khác nhau. Sau đó, dung dịch nước ép giàu collagen được phân tích hàm lượng protein hòa tan và hoạt tính chống oxy hóa (DPPH). Từ đó chọn nhiệt độ hoà tan collagen thủy phân cho từng loại nước ép thích hợp nhất.

2.2.2. Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại nước ép và tỷ lệ collagen thủy phân đến chất lượng nước ép giàu collagen

Tiến hành thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí với 2 nhân tố B: loại nước ép (B_1: lựu, B_2: cà rốt, B_3: dâu tằm) và nhân tố C: tỷ lệ collagen thủy phân (C_1: 1%, C_2: 2% và C_3: 3%) theo nghiên cứu của Bilek và Bayram (2015) [7]. Ba loại nước ép trái cây được chuẩn bị như mục 2.1, chọn nhiệt độ hòa tan thích hợp nhất từ thí nghiệm 1 và tiến hành bổ sung collagen thủy phân với tỷ lệ khác nhau. Mẫu nước ép sau khi bổ sung collagen thủy phân, được rót chai với thể tích là 50 mL, thanh trùng ở nhiệt độ 95°C trong vòng 10 phút rồi tiến hành phân tích hàm lượng protein hòa tan, hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) và đánh giá cảm quan sản phẩm. Từ đó, chọn được loại nước ép và tỷ lệ collagen thủy phân thích hợp nhất.

2.2.3. Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến sự thay đổi chất lượng nước ép giàu collagen

Tiến hành thí nghiệm: Loại nước ép và tỷ lệ collagen thủy phân được chọn từ thí nghiệm 2, tiến hành bảo quản lạnh (0 – 4°C) trong thời gian 4 tuần (0, 1, 2, 3 và 4 tuần). Mỗi tuần lấy mẫu đánh giá cảm quan, đo màu, phân tích tổng số vi sinh vật hiếu khí (TSVSVHK) và sự thay đổi hoạt tính chống oxy hoá (DPPH) nhằm tìm được thời gian bảo quản sản phẩm thích hợp nhất.

2.3. Phương pháp phân tích

Xác định hàm lượng protein hòa tan theo phương pháp được mô tả bởi Lowry và cs (1951) [9]. Phân tích TSVSVHK theo AOAC (2000) [10]. Đo màu (L*, a*, b*) bằng thiết bị Colorimeter PCE – CSM 2 (Trung Quốc) với L*: có giá trị từ 0 – 100 tương ứng với màu từ đen tới trắng, a*: có giá trị từ âm (-) đến dương (+) tương ứng với màu từ xanh lá cây đến đỏ và b*: có giá trị từ âm (-) đến dương (+) tương ứng với màu từ xanh dương đến vàng. Đánh giá cảm quan bằng phương pháp cho điểm bởi hội đồng cảm quan gồm 13 thành viên. Cảm quan viên được yêu cầu đánh giá các chỉ tiêu như màu sắc, mùi, vị và trạng thái được mô tả trong bảng mô tả thang điểm cảm quan cho sản phẩm được xây dựng theo TCVN 3215-79 [11], với hệ số quan trọng của các chỉ tiêu như màu sắc (1,0), mùi (1,2), vị (0,8) và trạng thái (1,0).

Xác định hoạt tính chống oxy hoá theo phương pháp của Wu và cs (2003) [12]: hút 1,5 mL hỗn hợp dung dịch nước ép đã được bổ sung collagen vào ống nghiệm, tiếp đến thêm vào mỗi ống nghiệm 1,5 mL DPPH 0,1 mM được pha trong methanol 95%. Mẫu đối chứng được thực hiện tương tự nhưng thay thế dung dịch nước ép giàu collagen bằng methanol. Hỗn hợp được lắc đều và ủ tối trong 30 phút và được xác định bằng phương pháp quang phổ ở bước sóng 517 nm. Hoạt tính chống oxy hóa được tính theo công thức DPPH (%) = $\frac{A_{Blank}-A_{Sample}}{A_{Blank}} x100$. Trong đó: A_{Blank} là mẫu đối chứng, A_{Sample} là mẫu nước ép bổ sung collagen thủy phân.

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 5% và phép thử Duncan (p < 0,05) bằng chương trình SPSS 16.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ hoà tan đến hàm lượng protein hòa tan và hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm nước ép giàu collagen

Bảng 1. Hàm lượng protein hòa tan (mg/mL) và hoạt tính chống oxy hóa (DPPH, %) của 3 loại nước ép (bổ sung 2% collagen thủy phân) tương ứng với 02 mức nhiệt độ hòa tan

Loại nước ép	Nhiệt độ hoà tan (°C)	Hàm lượng protein hòa tan (mg/mL)	Hoạt tính chống oxy hóa (DPPH, %)
Lựu	Lạnh (0 – 4)	22,4±0,590[b]	12,3±0,947[b]
	Phòng (27 – 30)	29,6±0,941[a]	20,1±1,040[a]
Cà rốt	Lạnh (0 – 4)	16,3±0,032[b]	54,6±0,156[b]
	Phòng (27 – 30)	18,7±0,972[a]	65,5±0,288[a]
Dâu tằm	Lạnh (0 – 4)	25,8±0,027[b]	55,1±0,390[b]
	Phòng (27 – 30)	26,8±0,028[a]	66,7±0,486[a]

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, n=3.

Hàm lượng protein hòa tan và hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) của ba loại nước ép (bổ sung 2% collagen thủy phân) ở hai mức nhiệt độ hòa tan được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1 cho thấy, hoạt tính chống oxy hoá (DPPH) và hàm lượng protein hoà tan khi bổ sung collagen thủy phân ở nhiệt độ phòng (27 – 30°C) cao hơn nhiệt độ lạnh (0 – 4°C) cho cả 3 loại nước ép. Cụ thể, giá trị DPPH của nước ép lựu, cà rốt và dâu tằm khi bổ sung collagen thủy phân ở nhiệt độ phòng lần lượt là 20,1%, 65,5% và 66,7%, cao hơn tương ứng lần lượt là 12,3%, 54,6% và 55,1% khi bổ sung collagen thủy phân vào nước ép lựu, cà rốt và dâu tằm ở nhiệt độ lạnh. Tương tự, hàm lượng protein hòa tan của nước ép lựu, cà rốt và dâu tằm khi bổ sung collagen thủy phân ở nhiệt độ phòng lần lượt là 29,6 mg/mL, 18,7 mg/mL và 26,8 mg/mL, cao hơn tương ứng lần lượt là 22,4 mg/mL, 16,3 mg/mL và 25,8 mg/mL khi bổ sung collagen thủy phân vào nước ép lựu, cà rốt và dâu tằm ở nhiệt độ lạnh. Nguyên nhân có thể là do collagen và collagen thủy phân có thể bị tủa hoặc keo tụ ở nhiệt độ thấp và bị nóng chảy khi nhiệt độ trên 20°C nên hàm lượng protein hòa tan cao khi hòa tan ở nhiệt độ phòng [13]. Khả năng hòa tan của collagen đạt cao hơn trong điều kiện nhiệt độ phòng khi so sánh với nhiệt độ lạnh cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Sadowska và cs (2003) [13] khi khảo sát khả năng hòa tan collagen từ da cá tuyết Baltic ở các nhiệt độ khác nhau thì thấy ở nhiệt độ dưới 20°C khả năng hòa tan của collagen là rất thấp, khi tăng nhiệt độ thì khả năng hòa tan tăng dần và đạt cực đại khoảng 80 – 85% trong khoảng nhiệt độ 35 – 40°C. Trong nghiên cứu này, chọn bổ sung collagen thủy phân vào 3 loại nước ép ở nhiệt độ phòng để hàm lượng protein hòa tan và hoạt tính chống oxy hóa cao.

3.2 Ảnh hưởng của loại nước ép và tỷ lệ collagen thủy phân đến chất lượng nước ép giàu collagen

Nghiên cứu ảnh hưởng của loại nước ép (lựu, cà rốt, dâu tằm) và tỷ lệ collagen thủy phân từ hỗn hợp da vảy cá lóc đến khả năng chống oxy hoá (DPPH), hàm lượng protein hòa tan và cảm quan của sản phẩm nước ép giàu collagen. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Giá trị DPPH (%), hàm lượng protein hòa tan (mg/mL) và cảm quan (ĐTBCTL) theo 3 loại nước ép và 3 tỷ lệ collagen thủy phân

Nghiệm thức	Loại nước ép	Tỷ lệ (%) collagen thủy phân	DPPH (%)	Hàm lượng protein hòa tan (mg/mL)	ĐTBCTL
ĐC	Lựu	-	13,7±0,15	-	18,6±0,14
1		1	15,8±0,21^{g}	24,5±0,92^{c}	18,2±0,74^{a}
2		2	24,1±0,12^{f}	22,6±0,27^{d}	17,7±0,20^{bc}
3		3	27,0±0,19^{e}	21,2±0,86^{e}	15,9±0,13^{e}
ĐC	Cá rốt	-	31,5±0,14	-	18,4±0,21
4		1	46,1±0,31^{d}	16,9±0,81^{f}	17,3±0,06^{c}
5		2	60,8±0,74^{b}	16,4±0,40^{f}	18,3±0,07^{a}
6		3	65,5±0,82^{a}	16,1±0,52^{f}	16,6±0,13^{d}
ĐC	Dâu tằm	-	32,6±0,12	-	18,5±0,28
7		1	48,2±0,27^{c}	27,1±0,05^{a}	18,4±0,16^{a}
8		2	60,1±0,66^{b}	26,5±0,09^{ab}	17,9±0,09^{ab}
9		3	65,1±0,54^{a}	25,4±0,29^{b}	16,4±0,34^{d}
Giá trị *p*					
Loại nước ép (A)			0,0000	0,0000	0,1309
Tỷ lệ collagen thủy phân (B)			0,0000	0,0000	0,0000
A*B			0,0000	0,0142	0,0006

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình Ơ độ lệch chuẩn, n=3. ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng. ĐC: đối chứng.

Bảng 2 cho thấy, giá trị DPPH của mẫu đối chứng (không bổ sung collagen thủy phân) của nước ép lựu, cà rốt và dâu tằm tương ứng lần lượt là 13,7%, 31,5% và 32,6%. Kết quả này cho thấy nước ép dâu tằm và nước ép cà rốt có khả năng chống oxy hóa tốt hơn nước ép lựu. Điều này có thể giải thích là do cà rốt không chỉ chứa hoạt tính tiền vitamine A dưới dạng α- và β-carotene, mà còn chứa anthocyanin và lycopene không phải là tiền vitamine A, đều là chất chống oxy hóa mạnh [3]. Bên cạnh đó, dâu tằm giàu polyphenol và anthocyanin [1], vì vậy góp phần làm cho hoạt tính chống oxy hoá của nước ép cà rốt và nước ép dâu tằm cao hơn nước ép lựu. Hơn nửa, hoạt tính chống oxy hóa của cả ba loại nước ép (lựu, cà rốt và dâu tằm) có khuynh hướng tăng thể hiện ở giá trị DPPH tăng khi bổ sung collagen thủy phân. Cụ thể, đối với nước ép lựu giá trị DPPH tăng từ 13,7% lên 15,8 - 27,0%, nước ép cà rốt tăng từ 31,5% lên 46,1 - 65,5% và dâu tằm tăng từ 32,6% lên 48,2 - 65,1% khi tỷ lệ collagen thủy phân tăng từ 0% đến 3%. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả của Bilek và Bayram (2015) [7] đã bổ sung 2,5% collagen thủy phân vào nước ép cam và táo trong sản xuất nước ép trái cây giàu collagen. Nhóm tác giả còn chỉ ra rằng collagen thủy phân chứa các peptide mạch ngắn có tác dụng chống oxy hoá. Bên cạnh đó, nghiệm thức 6 (nước ép cà rốt với tỷ

lệ collagen thủy phân là 3%) có khả năng chống oxy hoá cao nhất với giá trị DPPH là 65,5% và khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức 9 với giá trị DPPH (65,1%), kế tiếp là nghiệm thức 5 và nghiệm thức 8 với giá trị DPPH cao tương ứng lần lượt là 60,8% và 60,1%.

Bảng 2 còn cho thấy, nghiệm thức 7 có hàm lượng protein hòa tan cao nhất (27,1 mg/mL) và khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức 8 với giá trị hàm lượng protein hòa tan là 26,5 mg/mL, kế tiếp là nghiệm thức 9 (25,4 mg/mL). Điều này cho thấy, trong 3 loại nước ép thì nước ép dâu tằm có hàm lượng protein hòa tan cao nhất ở cả ba tỷ lệ collagen thủy phân bổ sung, kế tiếp là nước ép lựu và nước ép cà rốt có hàm lượng protein hòa tan thấp nhất. Khi thay đổi tỷ lệ collagen thủy phân bổ sung vào nước ép trái cây thì hàm lượng protein hòa tan không khác biệt đối với nước ép cà rốt, tuy nhiên khi tỷ lệ collagen thủy phân tăng thì hàm lượng protein hòa tan giảm đối với nước ép lựu và nước ép dâu tằm. Hàm lượng protein hòa tan của nước ép lựu, cà rốt và dâu tằm dao động tương ứng lần lượt là 21,2 – 24,5 mg/mL, 16,1 – 16,9 mg/mL và 25,4 – 27,1 mg/mL. Kết quả này cũng gần giống với kết quả nghiên của Bilek và Bayram (2015) [7] khi bổ sung 2,5% collagen thủy phân vào nước ép cam và táo thì hàm lượng protein hòa tan trong nước ép là 2,22 – 2,48 g/100 mL (22,2 – 24,8 mg/mL).

Bảng 2 cho thấy, điểm cảm quan của mẫu đối chứng cao nhất đối với cả 3 loại nước ép và không khác biệt nhiều giữa 3 loại nước ép. Đồng thời, khi bổ sung collagen thủy phân thì nghiệm thức 7 có điểm cảm quan cao nhất (18,4 điểm) và khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức 8 (17,9 điểm), nghiệm thức 1 (18,2 điểm) và nghiệm thức 5 (18,3 điểm). Tuy nhiên, đối với nước ép lựu và dâu tằm khi tăng tỷ lệ collagen thủy phân từ 1% đến 3% thì điểm cảm quan của 2 loại nước ép này đều theo khuynh hướng giảm. Đối với nước ép cà rốt thì khi tăng tỷ lệ collagen thủy phân từ 1% đến 2% thì điểm cảm quan tăng, nhưng điểm cảm quan lại giảm khi tiếp tục tăng tỷ lệ collagen thủy phân lên 3%. Nguyên nhân là do tỷ lệ collagen thủy phân bổ sung càng nhiều thì sản phẩm nước ép xuất hiện mùi tanh nhẹ, màu hơi sậm và nước ép hơi đục.

Các kết quả trên cho thấy nghiệm thức 7 (nước ép dâu tằm với tỷ lệ collagen thủy phân 1%) có điểm cảm quan và hàm lượng protein hòa tan cao nhất, nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức 8 (nước ép dâu tằm với tỷ lệ collagen thủy phân 2%), tuy nhiên nghiệm thức 8 có giá trị DPPH cao hơn nghiệm thức 7. Vì vậy, chọn nghiệm thức 8 để sản xuất nước ép dâu tằm giàu collagen, với tỷ lệ collagen thủy phân bổ sung 2%.

3.3. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến chất lượng nước ép dâu tằm giàu collagen

Sự thay đổi chất lượng của nước ép dâu tằm giàu collagen trong suốt quá trình bảo quản lạnh (0 – 4°C) được khảo sát thông qua các chỉ tiêu hoạt tính chống oxy hóa (DPPH), TSVSVHK và cảm quan được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3 cho thấy, giá trị DPPH và cảm quan giảm dần tương ứng từ 60,9% và 17,4 điểm (tuần 0) giảm xuống còn 39,8% và 15,5 điểm (tuần 4). Tuy nhiên, TSVSVHK tăng dần từ $0,12x10^1$ CFU/mL (tuần 0) đến $3,18x10^1$ CFU/mL ở tuần 4. Điều này có thể giải thích là do hợp chất anthocyanin trong dâu tằm rất không ổn định và dễ bị phân hủy. Vì vậy, theo thời gian bảo quản càng dài thì có sự phá hủy các chất anthocyanin trong dâu tằm nên hoạt tính chống oxy hóa của nước ép giảm. Lượng anthocyanin tìm thấy trong thực phẩm giảm trong quá trình chế biến và bảo quản. Độ ổn định của anthocyanin bị ảnh hưởng mạnh mẽ bởi pH, nhiệt độ, nồng độ anthocyanin, oxy, ánh sáng, enzym và các chất đi kèm khác như axit ascobic, đường, sulfit và các ion kim loại [14]. Điểm cảm quan của sản phẩm giảm dần theo thời gian bảo quản là do độ sáng của sản phẩm giảm dần, sản phẩm thể hiện vị tanh nhẹ và hơi vẩn đục. Tuy nhiên, sau 4

tuần bảo quản nước ép dâu tằm giàu collagen vẫn đạt chất lượng cảm quan cho người tiêu dùng theo Tiêu chuẩn Việt Nam TC3215-79 [11]. TSVSVHK tăng nhẹ theo thời gian bảo quản có thể là do vi sinh vật thích nghi dần theo thời gian bảo quản nên phát triển trở lại. Tuy nhiên, TSVKHK là $3,18x10^1$ CFU/mL ở tuần 4 đạt theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia (QCVN 6-2:2010/BYT) [15] về giới hạn TSVSVHK đối với các sản phẩm đồ uống không cồn không quá 10^2 CFU/mL.

Bảng 3. DPPH (%), TSVSVHK (CFU/mL) và cảm quan (ĐTBCTL) của nước ép dâu tằm (bổ sung 2% collagen thủy phân) trong 4 tuần bảo quản lạnh (0 – 4°C)

Thời gian (tuần)	DPPH (%)	TSVSVHK (CFU/mL)	ĐTBCTL
0	60,9±0,591[a]	$0,12x10^1$	17,4±0,17[a]
1	55,2±0,413[b]	$0,45x10^1$	17,1±0,20[a]
2	51,4±0,559[c]	$1,14x10^1$	16,9±0,10[a]
3	45,1±0,532[d]	$2,05x10^1$	16,3±0,19[b]
4	39,8±0,071[e]	$3,18x10^1$	15,5±0,35[c]

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, n=3. ĐTBCTL: điểm trung bình có trọng lượng

Màu sắc là một trong những yếu tố quan trọng quyết định đến chất lượng và giá trị cảm quan của sản phẩm. Kết quả màu sắc của nước ép dâu tằm giàu collagen sau 4 tuần bảo quản được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Màu sắc (L*, a*, b*) của nước ép dâu tằm (bổ sung 2% collagen thủy phân) trong 4 tuần bảo quản lạnh (0 – 4°C)

Thời gian (tuần)	L *	a *	b *
0	7,52 ± 0,022[a]	3,99 ± 0,712[b]	1,13 ± 0,114[a]
1	7,29 ± 0,236[a]	3,92 ± 0,136[b]	1,10 ± 0,091[a]
2	7,18 ± 0,472[b]	4,48 ± 0,438[b]	-0,273 ± 0,873[b]
3	6,80 ± 0,127[a]	5,78 ± 0,353[a]	-0,821 ± 0,018[c]
4	6,12 ± 0,183[c]	5,87 ± 0,233[a]	-0,937 ± 0,282[c]

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, n=3.

Thông qua kết quả ở bảng 4 có thể thấy, giá trị L* và b* của nước ép dâu tằm giàu collagen có xu hướng giảm từ 7,52 và 1,13 xuống còn 6,12 và -0,937, tuy nhiên giá trị a* tăng từ 3,99 lên 5,87 khi thời gian bảo quản kéo dài từ tuần 0 đến tuần 4. Nguyên nhân có thể là do các phản ứng hóa nâu không do enzym, bao gồm phản ứng maillard và phân hủy axit ascobic trong quá trình chế biến và bảo quản, dẫn đến sản phẩm có màu sậm hơn nên giá trị L* giảm và a* tăng [14].

Từ kết quả ở bảng 3 và 4 có thể kết luận rằng, sản phẩm nước ép dâu tằm bổ sung collagen thủy phân vẫn đảm bảo chất lượng cảm quan và an toàn vệ sinh trong 4 tuần bảo quản lạnh.

4. KẾT LUẬN

Hòa tan collagen thủy phân từ hỗn hợp da vảy cá lóc vào nước ép lựu, cà rốt và dâu tằm ở nhiệt độ phòng cho hàm lượng protein hòa tan và hoạt tính chống oxy hóa cao với cả 3 loại nước ép. Bổ sung 2% collagen thủy phân vào nước ép dâu tằm cho chất lượng tốt nhất. Nước ép dâu tằm giàu collagen vẫn đảm bảo được chất lượng cảm quan tốt và an toàn cho người sử dụng trong 4 tuần bảo quản lạnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Kalbasi-Ashtari, A. & Omid, M. (2012). Effect of process conditions and carrier concentration for improving drying yield and other quality attributes of spray dried black mulberry *(Morus nigra)* juice. *International Journal of Food Engineering,* 1–20, *8*(1).

2. Oziyci, H. R., Karhan, M., Tetik, N. & Turhan, I. (2012). Effects of processing method and storage temperature on clear pomegranate juice turbidity and color. *Journal of Food Processing and Preservation,* 899–906, *37*(2).

3. Demi˙r, N., Bahçeci˙, K. S. & Acar, J. (2007). The effect of processing method on the characteristics of carrot juice. *Journal of Food Quality,* 813–822, *30*(5).

4. Trương Thị Mộng Thu, Nguyễn Đỗ Quỳnh, Trần Thanh Trúc, Lê Thị Minh Thủy (2021). Nghiên cứu điều kiện tiền xử lý và chiết tách collagen từ da cá lóc *(Channa striata)* bằng pepsin. *Can Tho University Journal of Science*, 178–188, *57*(6). https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.185.

5. Trương Thị Mộng Thu, Lê Thị Minh Thủy, Trần Thanh Trúc (2022). Nghiên cứu điều kiện tiền xử lý và chiết tách collagen từ da và vảy cá lóc *(Channa striata)* bằng pepsin. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn,* 77-85, *17.*

6. Boonmaleerat, K., Wanachewin, O., Phitak, T., Pothacharoen, P. & Kongtawelert, P. (2018). Fish collagen hydrolysates modulate cartilage metabolism. *Cell Biochemistry and Biophysics,* 279–292, *76* (1–2).

7. Bilek, S. E. & Bayram, S. K. (2015). Fruit juice drink production containing hydrolyzed collagen. *Journal of Functional Foods,* 562–569, *14.*

8. González-Serrano, D. J., Hadidi, M., Varcheh, M., Jelyani, A. Z., Moreno, A. & Lorenzo, J. M. (2022). Bioactive peptide fractions from collagen hydrolysate of common carp fish byproduct: antioxidant and functional properties. *Antioxidants,* 1-11, *11* (3). doi:10.3390/antiox11030509.

9. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry,* 265–275, *193*(1).

10. AOAC (2020). *Offcial methods of Analysis of AOAC internation, (20^{h} ed.).* George W. Latimer, Jr (Eds), Volume I.

11. TCVN 3215-79. Tiêu chuẩn Việt Nam về "Sản phẩm thực phẩm phân tích cảm quan bằng phương pháp cho điểm". Truy cập tại https://vanbanphapluat.co/tcvn-3215-1979-san-pham-thuc-pham-phan-tich-cam-quan-phuong-phap-cho-diem.

12. Wu, H., Chen, H. & Shiau, C. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel *(Scomber austriasicus). Food Research International,* 949–957, *36.*

13. Sadowska, M., Kołodziejska, I. & Niecikowska, C. (2003). Isolation of collagen from the skins of Baltic cod *(Gadus morhua). Food Chemistry,* 257–262, *81*(2).

14. Boranbayeva, T., Karadeniz, F. & Yılmaz, E. (2014). Effect of storage on anthocyanin degradation in black mulberry juice and concentrates. *Food and Bioprocess Technology,* 1894–1902, *7*(7).

15. QCVN 6-2: 2010/BYT (2010). QCVN 6-2:2010/BYT ban hành ngày ngày 02 tháng 6 năm 2010 về "Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống không cồn".

APPLICATION OF HYDROLYZED COLLAGEN FROM SNAKEHEAD FISH SKIN AND SCALE MIXTURE IN THE PRODUCTION OF RICH-COLLAGEN JUICE

Truong Thi Mong Thu[1, 2, *], Nguyen Van Muoi[3], Le Thi Minh Thuy[2] and Tran Thanh Truc[3]

[1]PhD student of Food Technology Course 2020, Can Tho University

[2]College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University

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

**Email: ttmthu@ctu.edu.vn*

Summary

The research included three experiments: (i) effects of soluble temperature for hydrolyzed collagen [cold (0 – 4°C) and room temperature (27 – 30°C)] on antioxidant activity (DPPH) and soluble protein content of juices, (ii) effects of juice types (pomegranate, carrot and mulberry) and the ratio of hydrolyzed collagen from snakehead fish skin and scales mixture (1, 2 and 3%) on sensory quality, antioxidant activity (DPPH) and soluble protein content of juices and (iii) effects of cold storage time (0, 1, 2, 3 and 4 weeks) on the quality of rich-collagen juice were investigated. Results show that, dissolving hydrolyzed collagen into juices at room temperature gave higher soluble protein content and DPPH value than cold temperature. Mulberry juice with the ratio of hydrolyzed collagen of 2% had high sensory scores, antioxidant activity and soluble protein content of 17.9 points, DPPH values of 60.1% and 26.5 mg/mL, respectively. Collagen-rich mulberry juice still ensures sensory quality, antioxidant activity, color, food hygiene and safety during 4– week storage period at cold temperature (0 – 4°C).

Keywords: *Antioxidant activity, carrot, hydrolyzed collagen, mulberry, pomegranate.*

Người phản biện: TS. Đặng Thị Thu Hương

Ngày nhận bài: 6/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 3/4/2023

Ngày duyệt đăng: 10/4/2023

NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NANOXENLULOZA TINH THỂ (NCC) TỪ BÃ RƯỢU SẮN THEO PHƯƠNG PHÁP TẨY TRẮNG BẰNG H_2O_2

Phạm Tuấn Anh[1, *], Đào Thị Nguyệt Nga[1],
Lương Hồng Nga[1], Tô Kim Anh[1], Chu Kỳ Sơn[1]

TÓM TẮT

Ở Việt Nam, bã rượu sắn – phụ phẩm của ngành chế biến cồn từ sắn – ước tính đạt 140 nghìn tấn/năm. Bã rượu sắn có giá trị dinh dưỡng thấp do hàm lượng xenluloza và lignin cao (30%) và lượng protein thấp (12%) nên hiện tại việc khai thác bã sắn còn hạn chế. Nanoxenluloza tinh thể (NCC) là vật liệu có bản chất xenluloza với đường kính 5 - 70 nm, chiều dài 50 - 500 nm. NCC có những ưu điểm vượt trội như diện tích bề mặt lớn, có tính háo nước mạnh, khả năng tạo huyền phù hoặc gel tốt ngay ở nồng độ rất thấp và đặc biệt có nguồn gốc tự nhiên, an toàn, nên đang được quan tâm nghiên cứu và hướng tới các ứng dụng trong thực phẩm, dược phẩm, vật liệu... Trong nghiên cứu này, phương pháp xử lý bã rượu sắn tạo NCC sử dụng H_2O_2 tẩy trắng thân thiện môi trường được phát triển nhằm gia tăng giá trị cho nguồn phụ phẩm giàu xenluloza này. Các bước xử lý bao gồm: Xử lý kiềm/tẩy trắng bằng H_2O_2/thuỷ phân giới hạn sử dụng axit H_2SO_4/đồng hoá áp suất cao cho phép thu hồi NCC có đường kính 51,3 ± 22,9 nm, chiều dài 151,2 ± 50,7 nm. Bước đầu đánh giá sử dụng NCC làm phụ gia trong sản xuất bánh mì giúp bánh có độ nở tốt hơn, độ mềm cao hơn so với đối chứng.

Từ khoá: *Bã rượu sắn, nanoxenluloza tinh thể, phụ gia bánh mì.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, sắn được trồng ở nhiều tỉnh/thành, đặc biệt tập trung ở vùng Đông Nam bộ và Tây Nguyên. Sắn là nguyên liệu cơ bản được sử dụng tại các nhà máy sản xuất cồn dùng cho thực phẩm, dược phẩm hoặc cồn nhiên liệu. Theo ước tính, sản xuất cồn từ 1 tấn sắn lát sẽ thải môi trường 0,131 tấn bã rượu sắn [1], nên hàng năm ước tính sẽ có khoảng 140.000 tấn bã rượu sắn thải ra môi trường.

Thành phần của bã rượu sắn bao gồm xơ (32,8 ± 2,1%), tinh bột sót (25,4 ± 2,2%), protein (12,0 ± 0,7%), tro (8,3±0,3) [2]. Với hàm lượng tinh bột sót cao, hàm lượng protein đáng kể, bã rượu sắn hiện được sử dụng bổ sung trong thức ăn chăn nuôi [2]. Nghiên cứu của Koutinas và cs (2014) cũng hướng tới các ứng dụng khác của công nghiệp sắn như thuỷ phân tạo đường có khả năng lên men, thuỷ phân lignin thành các hợp chất vòng thơm, ứng dụng trong sản xuất vật liệu sinh học…[3]. Trong đó ứng dụng để tạo các vật liệu sinh học có kích cỡ nano đang được tập trung nghiên cứu và khai thác dựa trên tính chất đặc biệt của nanoxenluloza.

Xenluloza là polyme sinh học phổ biến nhất trong tự nhiên. Mạch xenluloza bao gồm 2 vùng chính: Vùng vô định hình và vùng tinh thể. Cấu trúc vùng tinh thể chiếm khoảng 2/3 phân tử xenluloza, nhiều liên kết hydro có mặt tại vùng tinh thể giúp cấu trúc xenluloza bền vững trước tác động của axit, enzim và vi sinh vật. Trong khi đó, phần vô định hình có cấu trúc lỏng lẻo, dễ bị thủy phân bởi axit hoặc xenluloza [4].

Dựa trên kích thước, nguồn gốc và cấu trúc, nanoxenluloza được chia thành 3 loại: Nanoxenluloza tinh thể (nanocrystalline xenluloza - NCC), nanoxenluloza dạng sợi (nanofibrilated xenluloza - NFC) và nanoxenluloza từ vi khuẩn (bacterial nanoxenluloza – BNC) [5]. Trong đó,

[1] Viện Công nghệ Sinh học – Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
[*]Email: anh.phamtuan2@hust.edu.vn

NCC là xenluloza tinh thể hình que, có đường kính từ 5 - 70 nm, chiều dài từ 50 - 500 nm [6].

NCC được sản xuất từ các nguyên liệu lignoxenluloza bao gồm 2 giai đoạn [7]. Ở giai đoạn đầu, các thành phần không phải xenluloza như: Lignin, hemixenluloza sẽ được phân tách khỏi nguyên liệu ban đầu bằng các biện pháp xử lý hoá lý, hoá học hoặc sinh học. Trong giai đoạn này, bước tẩy trắng cũng có thể được tiến hành nhằm thu nhận các NCC có độ trắng cao đáp ứng yêu cầu cảm quan, đặc biệt cho ứng dụng trong thực phẩm và dược phẩm. Công đoạn tẩy trắng thường sử dụng các hợp chất của clo do tính oxi hoá mạnh, tuy nhiên, giai đoạn này sẽ gây ô nhiễm môi trường không mong muốn [8]. Trong giai đoạn hai, NCC được thu nhận thông qua quá trình thủy phân loại bỏ vùng vô định hình của chuỗi xenluloza và sau đó, sử dụng các lực cơ học để phân tách các bó sợi cellulose [9] để thu nhận xenluloza có kích thước nano.

NCC có những đặc tính vượt trội so với vật liệu xenluloza gốc và cả những vật liệu thường được sử dụng trong compozit hiện nay như: Khả năng háo nước cao, khả năng tạo huyền phù, tạo gel tốt, có độ bền cơ học tốt… NCC thân thiện với môi trường và an toàn với sức khỏe con người do được tạo ra từ nguồn gốc tự nhiên vì vậy NCC có tiềm năng lớn cho các ứng dụng trong thực phẩm, dược phẩm, bao bì, chất phụ gia trong sơn, chất kết dính… [10].

Sản xuất nanoxenluloza từ phụ phẩm chứa cellulose giúp mang lại lợi ích kép: Tận thu giá trị và giảm thiểu ô nhiễm môi trường. Với lượng lớn bã thải sau lên men rượu từ sắn, bã rượu sắn chứa xenluloza là nguyên liệu tiềm năng cho sản xuất nanoxenluloza. Nghiên cứu này tập trung vào quá trình thu nhận NCC từ bã rượu rắn thải ra từ quá trình lên men cồn theo công nghệ dịch hóa - đường hóa và lên men đồng thời (SLSF) nhờ công nghệ thân thiện môi trường hơn, NCC thu nhận được ứng dụng thử nghiệm làm phụ gia trong sản xuất bánh mì.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị mẫu

Nghiên cứu sử dụng bã rượu sắn từ Nhà máy Cồn Dung Quất và Đại học Bách khoa Hà Nội. Bã rượu sắn ướt được thu gom, sấy khô ở 90±2°C hoặc 50±2°C và bảo quản tại nhiệt độ phòng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tẩy trắng bã rượu sắn sử dụng kiềm kết hợp H_2O_2

Bã sắn được bổ sung dung dịch kiềm 20% w/v với tỷ lệ rắn lỏng 1/20. Khuấy đều hỗn hợp và để ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Đưa hỗn hợp vào bể ổn nhiệt 85^{0}C và để phản ứng trong 2 giờ. Lọc tách và rửa bã bằng nước đến pH 7.

Bã sau nấu kiềm được chuyển sang tẩy trắng trong bình schott. Bổ sung H_2O_2 30% w/v đạt các nồng độ cuối 5%, 10%; điều chỉnh tới pH 11 sử dụng NaOH 2 M. Giữ hỗn hợp tại bể ổn nhiệt 80^{0}C trong các khoảng thời gian khác nhau (1 giờ hoặc 3 giờ). Kết thúc quá trình, bã được ly tâm ở 6.000 vòng/phút, 20 phút ở 25°C, rửa lại bằng nước đến pH 7. Đánh giá hiệu quả loại lignin và tẩy trắng của quá trình thông qua thành phần lignin và độ trắng bã.

2.2.2. Thủy phân giới hạn xenluloza bã sắn và xử lý cơ học bổ sung thu nhận NCC

Lấy 145 ml dịch huyền phù xenluloza 3% vào bình schott 500 ml giữ trong đá, bổ sung H_2SO_4 (98% w/w) cho đạt nồng độ cuối 52% w/v. Làm nguội, đưa tổng thể tích lên 200 ml. Giữ hỗn hợp ở 50°C trong 30 phút, khuấy nhẹ. Bổ sung nước cất lạnh để dừng phản ứng. Ly tâm loại bỏ axit thu xenluloza.

Vi sợi được pha loãng trong nước cất đạt nồng độ 0,5% w/v, cho qua máy đồng hóa APV - 2000 (SPX, USA) áp suất 1.000 bar. Dịch huyền phù thu được được cho hồi lưu trở lại phễu tiếp liệu để bắt đầu chu kì thứ 2. Tiến hành tương tự cho tới 10 chu kỳ. Phân tích kích thước sợi bằng kính hiển vi điện tử quét SEM.

2.2.3. Ứng dụng thử nghiệm NCC làm phụ gia trong sản xuất bánh mì

Bánh mì được chuẩn bị theo phương pháp của Guiné và cs (2018) [11], với một số thay đổi như hàm lượng bột mỳ 62,27% w/w, nấm men 0,5% w/w, muối 0,44% w/w, đường 0,62% w/w, nước 35,80% w/w, phụ gia làm nở bánh 0,37% w/w. Các mẫu bánh được bổ sung 0,01%, 0,02% và 0,03% NCC theo khối lượng vào bột nhào để đánh giá vai trò phụ gia thực phẩm của NCC, so sánh với đối chứng (không bổ sung NCC).

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Thành phần bã rượu sắn

Hàm lượng tinh bột có trong bã rượu sắn được xác định bằng bộ kit Total starch của Megazyme (Mỹ). Bã được nghiền để lọt qua mắt sàng 0,5 mm. Thêm 10 mg bã vào 0,2 mL dung dịch ethanol (80% v/v). Sau đó, tinh bột trong bã được thủy phân bằng amylaza (α-amylaza, glucoamylaza), lượng glucoza giải phóng được xác định bằng kit D-Glucose (GOD-POD, Megazyme, USA).

Xenluloza, lignin và tro của các mẫu bã sắn được phân tích theo quy trình NREL [12] với một số thay đổi. Bã được thuỷ phân bằng axit sunfuric, sau đó lượng glucoza giải phóng được xác định bằng kít D-glucoza. Lượng xenluloza trong bã được xác định thông qua hàm lượng glucoza đã trừ đi lượng glucoza giải phóng từ tinh bột. Hàm lượng tro trong bã được xác định bằng phương pháp nung tới nhiệt độ 570°C trong 24 giờ đến khối lượng không đổi. Hàm lượng lignin xác đinh qua lượng lignin tan trong axit (đo bằng máy quang phổ tại bước sóng 230 nm) và hàm lượng lignin không tan trong axit (được xác định thông qua chênh lệch khối lượng rắn của bã sau thuỷ phân và tro).

2.3.2. Phân tích kích thước

Lấy 50 µL huyền phù NCC (0,01% w/w) vào các tấm mỏng bằng đồng sạch (5 mm x 5 mm), sấy khô trong không khí trong 24 giờ và sau đó được phủ bằng một lớp palladi dày khoảng 6 nm. Hình thái của các NCC thu được được quan sát bằng kính hiển vi FE-SEM của JEOL JSM-7600F (JEOL USA, Inc) hoạt động với điện áp gia tốc 2 kV.

Kích thước trung bình của NCC được xác định thông qua việc đo đường kính và chiều dài của hình ảnh các sợi NCC trên ảnh SEM với phần mềm NIS-Element Br [12].

2.3.3. Độ trắng

Độ trắng của bã được xác định sử dụng máy đo màu thực phẩm ColorLite SPH860.

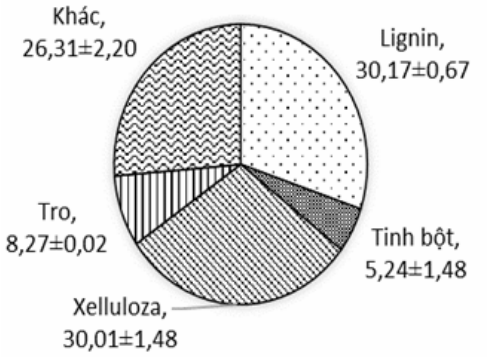
2.3.4. Đánh giá độ mềm và độ nở bánh mì

Độ nở của bánh được xác định dựa vào tỷ lệ giữa chiều cao của bánh trước và sau khi nén CO_2 ra khỏi bánh.

Độ mềm của bánh được xác định bằng máy đo cấu trúc thực phẩm TPA (texture profile analysis) với đầu đo P/25. Tốc độ trước đo 5 mm/s, tốc độ đo 0,5 mm/s, tốc độ nhấc đầu đo 10 mm/s, khoảng cách 10 mm, thời gian lưu 120 s. Kết thúc phép đo ghi lại giá trị lực cực đại tại 10 mm (F) và lực tại 120 s (Fr). Độ đàn hồi của bánh được tính theo tỷ lệ Fr/F.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích thành phần của bã rượu sắn



Hình 1. Thành phần của bã rượu sắn

Bã rượu sắn được thu hồi từ quy trình lên men cồn theo phương pháp SLSF. Thành phần của bã rượu sắn được thể hiện ở hình 1. Xenluloza và lignin là 2 thành phần có tỷ lệ cao nhất trong bã

rượu sắn, trong khi đó hàm lượng tinh bột sót còn lại không nhiều.

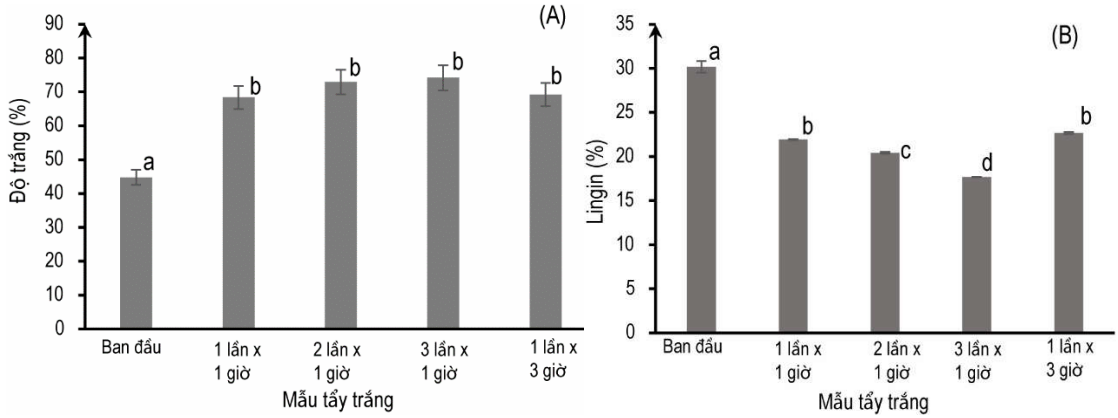
Bã rượu sắn có hàm lượng hàm lượng chất xơ 30%, hàm lượng tinh bột sót thấp, nên hướng khai thác làm nguồn thức ăn gia súc là không khả thi. Trong nghiên cứu này, bã rượu sắn sẽ được sử dụng để chuyển hoá thành nanoxenluloza.

3.2. Ảnh hưởng của điều kiện xử lý peroxit tới thành phần bã và độ trắng

Theo kết quả phân tích, bã rượu sắn chứa 30,17% lignin. Hàm lượng lignin cao làm nguyên liệu có cấu trúc cứng chắc dẫn tới khó khăn trong xử lý chuyển hoá thành nanoxenluloza. Bên cạnh đó, hàm lượng lignin cao làm cho nguyên liệu có màu nâu làm hạn chế các ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm hoặc dược phẩm. Trong một số nghiên cứu trước đây, các hợp chất của clo đã được sử dụng nhằm tẩy trắng bã sắn [8, 13], tuy nhiên các hợp chất này có thể gây hại tới môi trường. Trong nghiên cứu này, nhằm phát triển công nghệ thân thiện với môi trường hơn, quá trình tẩy trắng sẽ sử dụng H_2O_2, một hợp chất thân thiện hơn với môi trường.

3.2.1. Phương thức tẩy trắng

Bã sắn sau xử lý với NaOH 20% tại 85°C trong 2 giờ được tẩy trắng bằng dung dịch H_2O_2 5% tại 80°C, pH 11 trong 1 giờ, 3 giờ liên tiếp hoặc xử lý trong 1 giờ lặp lại 2 - 3 lần. Kết quả đo độ trắng của bã rượu sắn sau xử lý và thành phần lignin bã được thể hiện trong hình 2.



Hình 2. Độ trắng và hàm lượng lignin của bã rượu sắn sau xử lý H_2O_2 5%, 80°C, pH 11 *(các chữ cái a, b, c, d thể hiện sự khác nhau với p<0,05)*

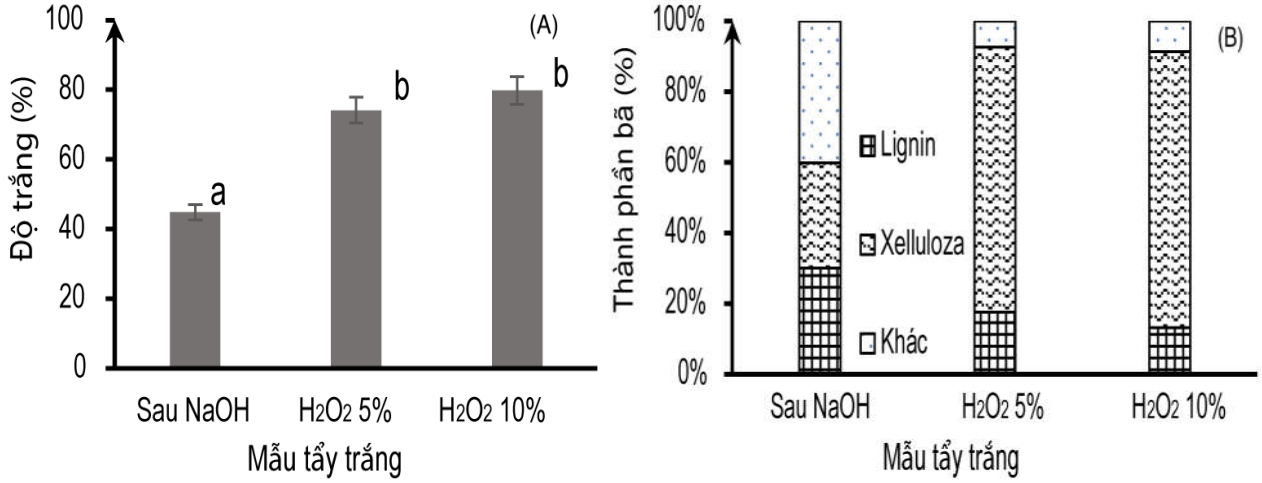
Theo kết quả phân tích trên hình 2A, quá trình tẩy trắng cho hiệu quả rõ ràng. Độ trắng bã sắn sau một lần tẩy trắng trong 1 giờ tăng 23,65% so với mẫu ban đầu. Tăng số lần tẩy trắng bằng H_2O_2 lên 2 hoặc 3 lần, độ trắng tăng lên tuy nhiên không có ý nghĩa về mặt thống kê. Đặc biệt khi kéo dài thời gian phản ứng từ 1 lên 3 giờ, độ trắng thay đổi cũng không có ý nghĩa. Kết quả này cũng cho thấy, giới hạn của việc tẩy trắng bã sắn bằng H_2O_2 so với sử dụng clo. Trong nghiên cứu của Pham và cs (2018), độ trắng của bã sắn sau tẩy trắng bằng $NaClO_2$ đạt 83,78% [13]. Tuy nhiên, tẩy trắng sử dụng H_2O_2 là quá trình thân thiện với môi trường hơn so với clo.

Bã rượu sắn sau tẩy trắng được phân tích thành phần (Hình 2B). Kết quả cũng cho thấy, xử lý H_2O_2 trong 1 giờ hoặc 3 giờ liên tiếp không làm thay đổi hiệu quả tách lignin (sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê). Ngược lại, hàm lượng lignin giảm dần khi lặp lại quá trình tẩy trắng 1 giờ hai hoặc ba lần, tương ứng giảm từ 21,91 ± 0,05% xuống 17,67 ± 0,03%. Trong môi trường kiềm ở nhiệt độ cao, H_2O_2 bị phân huỷ thành các gốc tự do (OH*), các gốc tự do này sẽ tấn công các gốc

phenyl làm phá vỡ các liên kết của lignin tạo ra các monome, hoặc mở các vòng thơm qua đó làm tăng khả năng hoà tan của lignin trong môi trường kiềm [14, 15]. Sự kém hiệu quả tách lignin khi kéo dài thời gian xử lý tới 3 giờ so với lặp lại quá trình xử lý 3 lần cho thấy, có thể H_2O_2 bị mất mát trong quá trình xử lý.

3.2.2. Ảnh hưởng nồng độ H_2O_2

Với mục tiêu xác định lượng H_2O_2 phù hợp cho quá trình tẩy trắng, bã rượu sắn sau nấu kiềm được xử lý bằng H_2O_2 với nồng 5% hoặc 10%, lặp 3 lần x 1 giờ tại 80°C. Kết quả được thể hiện trên hình 3.



Hình 3. Độ trắng và thành phần của bã rượu sắn sau xử lý H_2O_2 5% và 10%, ở 80°C, pH 11 *(chữ cái a, b thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$)*

Khi xử lý kết hợp NaOH/H_2O_2 và tăng nồng độ H_2O_2 từ 5% tới 10%, độ trắng của bã rượu sắn tăng từ 44,79% lên tương ứng 74,13% và 79,83%, tuy nhiên sự khác biệt về độ trắng giữa hai mẫu tẩy trắng không có ý nghĩa thống kê (Hình 3A). Tương đương với quan sát này, Seo và cs (2019) cũng sử dụng H_2O_2 để xử lý nguyên liệu *Liriodendron tulipifera*, hàm lượng lignin Klason đã giảm từ 32,1% xuống 13% đạt hiệu quả tách lignin 59% tuy nhiên, thời gian xử lý dài lên tới 5 giờ [16].

Hàm lượng xenluloza trong bã rượu sắn cũng tăng từ 30,01% lên tương ứng 74,88% và 78,32%, tương ứng tăng gấp 2,5 và 2,6 lần so với mẫu bã rượu sắn ban đầu (Hình 3 B).

Kết quả cho thấy, khi tăng hàm lượng H_2O_2 từ 5 - 10% đã giúp quá trình tách loại lignin hiệu quả hơn và tăng độ trắng cũng như hàm lượng xenluloza trong bã. Tuy nhiên, sự khác biệt về độ trắng là không ý nghĩa và hàm lượng xenluloza chỉ tăng 4,5% khi tăng gấp 2 lần nồng độ H_2O_2, do vậy để đảm bảo về mặt kinh tế cho quá trình xử lý, nồng độ H_2O_2 10% được lựa chọn mà không khảo sát thêm các dải nồng độ cao hơn.

3.2.3. Ảnh hưởng nhiệt độ sấy bã rượu sắn

Trong sản xuất cồn, bã rượu sắn sau quá trình chưng cất được thu hồi và sấy đến khô. Các nhà máy thường sấy ở nhiệt độ 90°C hoặc cao hơn để rút ngắn thời gian sấy. Tuy nhiên, quá trình sấy hưởng tới cấu trúc của bã, giảm các vùng hấp thụ nước [17], qua đó có thể giảm khả năng trương nở bã trong nước, hạn chế hiệu quả các quá trình xử lý tách loại lignin.

Trong nghiên cứu này, nhằm đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ sấy tới quá trình tách lignin và tẩy trắng sau này, hai chế độ nhiệt độ sấy được khảo sát. Chế độ sấy 90°C đang được sử dụng ở nhà máy. Chế độ sấy khô gió 50°C là chế độ làm khô thông dụng ở nhiệt độ thấp, đã được sử dụng trong nghiên cứu trước đây [18] được lựa chọn để so sánh.

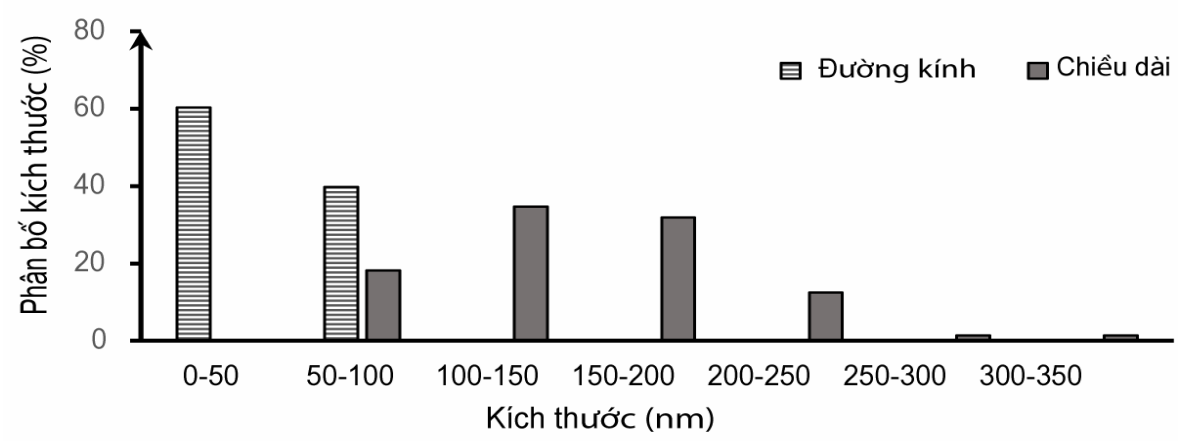
Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy tới quá trình tách loại lignin và tẩy trắng

Chế độ sấy (°C)	Độ trắng bột (%)	Hàm lượng lignin (%)	Hàm lượng xenluloza (%)
90	79,83	13,02 ± 0,01	78,32 ± 2,56
50	80,75	8,86 ± 2,37	84,76 ± 3,63

Bảng 1 cho thấy, nhiệt độ sấy ảnh hưởng đáng kể tới hiệu quả quá trình tách loại lignin. Khi sấy bã ở nhiệt độ 50°C, hiệu quả tách lignin trong bã đạt tới 70,63% so với 56,84% khi sấy bã ở nhiệt độ 90°C, hàm lượng xenluloza tăng lên 84,76%.

3.3. Thu nhận tinh thể nanoxenluloza từ bã sau tẩy trắng

Tinh thể nanoxenluloza cần có đường kính 10 - 50 nm và chiều dài 100 - 500 nm, do vậy cần có các tác động cơ học hoặc hóa học để giảm chiều dài và tách bó sợi xenluloza. Quá trình này thường sử dụng các máy đồng hoá áp suất cao hoặc kết hợp thuỷ phân axit và đồng hoá áp suất cao [13]. Trong nghiên cứu này, thuỷ phân giới hạn mạch xenluloza sử dụng axit H_2SO_4 52% trong 30 phút tại 50°C được sử dụng kết hợp với đồng hoá 1.000 bar – 10 chu kỳ. Sau đồng hoá, mẫu được chụp FE-SEM và phân tích kích thước bằng phần mềm NIS-Element BR. Kết quả phân tích được thể hiện trên hình 4.

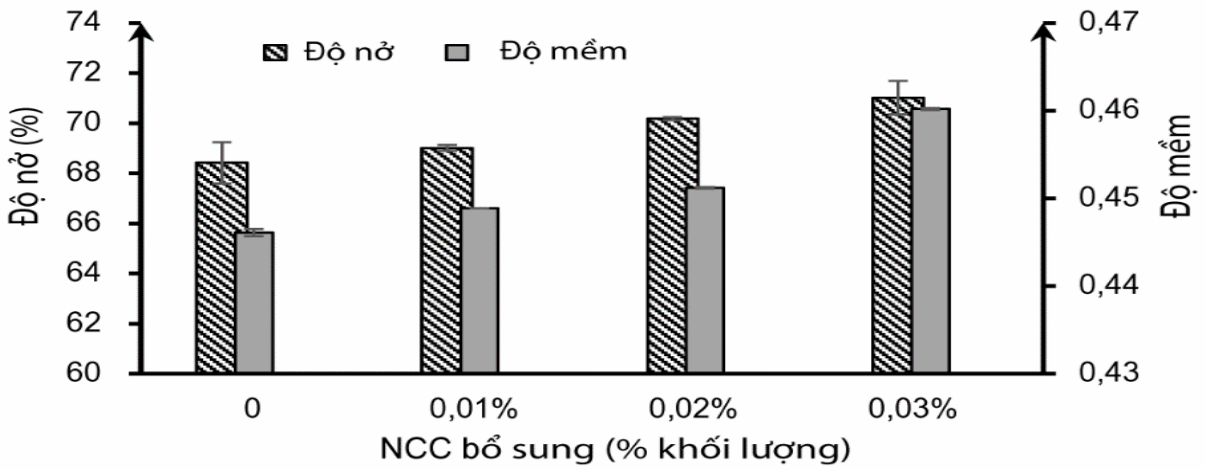


Hình 4. Phân bố kích thước của sợi xenluloza sau thuỷ phân và đồng hoá

Sợi trong mẫu sau thủy phân bằng axit H_2SO_4 52% và đồng hóa 10 chu kỳ có kích thước trung bình đường kính 51,3 ± 22,9 nm, chiều dài 151,2 ± 50,7 nm. Kết quả đo kích thước sợi cho thấy, dưới tác động của thủy phân giới hạn mạch xenluloza, mạch xenluloza bị cắt ngắn, đồng hóa áp suất cao giúp phá vỡ liên kết ngang giữa các bó sợi xenluloza, các sợi đạt đường kính của sợi xenluloza đơn lẻ hoặc bó sợi nhỏ. Phân bố kích thước cho thấy 100% các sợi có kích thước đường kính < 100 nm, khoảng 60% sợi có kích thước chiều dài từ 100 – 200 nm (Hình 4). Kết quả cho thấy, nghiên cứu đã thành công trong việc tạo NCC từ quá trình kết hợp tẩy trắng bằng kiềm với hydroperoxit, thủy phân giới hạn với axit H_2SO_4 và đồng hóa áp suất cao.

3.4. Thử nghiệm sử dụng NCC làm phụ gia trong sản xuất bánh mỳ

Nanoxenluloza đã được nghiên cứu ứng dụng rộng rãi bao gồm ứng dụng làm phụ gia trong ngành công nghiệp thực phẩm. Các đặc tính như diện tích bề mặt lớn, đặc tính lưu biến, khả năng hấp thụ nước, độ kết tinh và không có độc tính tế bào và độc tính di truyền… là những đặc tính quan trọng thúc đẩy ứng dụng của NCC trong chế biến thực phẩm [19]. Trong nghiên cứu này, NCC từ bã rượu sắn được thử nghiệm làm phụ gia trong làm bánh mì.



Hình 5. Độ nở và độ mềm của bánh theo hàm lượng NCC sử dụng

Hình 5 cho thấy, khi bổ sung NCC với hàm lượng 0,01 - 0,03% theo khối lượng thì độ nở và độ mềm của bánh đều tăng lên so với mẫu bánh không bổ sung NCC. Độ nở và độ mềm của bánh tăng dần và tỷ lệ với hàm lượng NCC bổ sung. NCC được biết đến với khả năng tạo bền nhũ tương cao [7], do vậy khi bổ sung vào bánh sẽ giúp tăng khả năng giữ các bóng khí của khối bột nhào và giữ khung bánh sau các quá trình tạo hình, ủ bánh, qua đó làm tăng thể tích của bánh. Ngoài ra với diện tích bề mặt lớn cùng các nhóm OH vô cùng ưu nước nên NCC có khả năng giữ nước cao. Các đánh giá ban đầu cho thấy, bổ sung NCC vào bánh có thể làm tăng nước liên kết giúp bánh mềm hơn và giảm khả năng lão hóa của protein và tinh bột, qua đó tăng thời hạn bảo quản bánh nhờ giữ được độ tươi của bánh. Tuy vậy, các thử nghiệm NCC làm phụ gia bánh mỳ mới chỉ dừng ở bước khởi đầu, cần thêm các nghiên cứu ở mức độ sâu hơn để khẳng định ý nghĩa của phụ gia này.

4. KẾT LUẬN

Bã rượu sắn được sử dụng để chuyển hoá thành nanoxenluloza tinh thể nhằm nâng cao giá trị cho nguồn phụ phẩm này. Quá trình xử lý bã rượu sắn bao gồm: Xử lý kiềm kết hợp tẩy trắng bằng H_2O_2/thuỷ phân giới sử dụng axit H_2SO_4/đồng hoá áp suất cao cho phép thu hồi NCC có đường kính 51,3 ± 22,9 nm, chiều dài 151,2 ± 50,7 nm. Bước đầu thử nghiệm sử dụng NCC làm phụ gia cho quá trình sản xuất bánh mì làm tăng độ nở và độ mềm cho bánh. Kết quả nghiên cứu này mở ra tiềm năng mới nhằm khai thác nguồn bã rượu sắn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ekop I. E., Simonyan K. J. & Evwierhoma E. T. (2019). Utilization of cassava wastes for value added products: an overview. *International journal of Scientific engineering and science*, 3 (1), 31 - 39.

2. Taranu I., Nguyen T. T., Pham K. D., Gras M. A., Pistol G. C., Marin D. E., Rotar C., Habeanu M., Ho P. H. & Le T. M. (2019). Rice and Cassava Distillers Dried Grains in Vietnam: Nutritional Values and Effects of Their Dietary Inclusion on Blood Chemical Parameters and Immune Responses of Growing Pigs. *Waste and Biomass Valorization*, 10 (11), 3373 - 3382.

3. Koutinas A. A., Vlysidis A., Pleissner D., Kopsahelis N., Lopez Garcia I., Kookos I. K., Papanikolaou S., Kwan T. H. & Lin C. S. (2014). Valorization of industrial waste and by-product streams via fermentation for the production of chemicals and biopolymers (in eng). *Chemical Society reviews*, 43 (8), 2587 - 627. 10.1039/c3cs60293a.

4. Taherzadeh M. J. & Karimi K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review.

International journal of molecular sciences, 9 (9), 1621 - 1651.

5. Blanco A., Monte M. C., Campano C., Balea A., Merayo N. & Negro C. (2018). Nanocellulose for industrial use: cellulose nanofibers (CNF), cellulose nanocrystals (CNC), and bacterial cellulose (BC). In *Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications*: Elsevier, pp. 74 - 126.

6. Bai W., Holbery J. & Li K. (2009). A technique for production of nanocrystalline cellulose with a narrow size distribution. *Cellulose*, 16 (3), 455 - 465. 10.1007/s10570-009-9277-1.

7. Trache D., Tarchoun A. F., Derradji M., Hamidon T. S., Masruchin N., Brosse N. & Hussin M. H. (2020). Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Applications (in English). *Frontiers in Chemistry,* Review, 8 (10.3389/fchem.2020.00392.

8. Luu X. C., To K. A. & Pham T. A. (2018). Effect of cellulase treatment on nano-fibril cellulose production from paper pulp. Presented at the Vietnam National Biotechnology.

9. Li R., Fei J., Cai Y., Li Y., Feng J. & Yao J. (2009). Cellulose whiskers extracted from mulberry: A novel biomass production. *Carbohydrate Polymers*, 76 (1), 94 - 99. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.09.034.

10. Shamskar K. R., Heidari H. & Rashidi A. (2016). Preparation and evaluation of nanocrystalline cellulose aerogels from raw cotton and cotton stalk. *Industrial Crops and Products*, 93 (203 – 211).

11. Guiné R., Santos C., Rocha C., Marques C., Rodrigues C., Manita F., Sousa F., Félix M., Silva S. & Rodrigues S. (2018). Whey - Bread, an Improved Food Product: Evaluation of Textural Characteristics. *Journal of Culinary Science & Technology*, 18(1-14. 10.1080/15428052.2018.1502112.

12. Sluiter A., Hames B., Ruiz R., Scarlata C., Sluiter J., Templeton D. & Crocker D. (2011). Determination os structural carbohydrates and lignin in biomass. Technical Report NREL/TP-510-42618. NREL.

13. Pham T. A., Luu X. C. & To K. A. (2018). Potential value - added production from cassava bagasse: Glucose and nanocrystaliine cellulose. Presented at the Vietnam National Biotechnology.

14. Yazici E. & Deveci H. (2010). Factors affecting decomposition of hydrogen peroxide. in *Proceedings of the XIIth International Mineral Processing Symposium, Cappadocia, Turkey*, pp. 6 - 10.

15. Špalek O., Balej J. & Paseka I. (1982). Kinetics of the decomposition of hydrogen peroxide in alkaline solutions. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases,* 10.1039/F19827802349, 78(8), 2349-2359. 10.1039/F19827802349.

16. Seo P. N., Han S. Y., Park C. W., Lee S. Y., Kim N. H. & Lee S. H. (2019). Effect of alkaline peroxide treatment on the chemical compositions and characteristics of lignocellulosic nanofibrils. *BioResources*, 14 (1), 193 - 206.

17. Gordobil O., Herrera R., Poohphajai F., Sandak J. & Sandak A. (2021). Impact of drying process on kraft lignin: Lignin - water interaction mechanism study by 2D NIR correlation spectroscopy. *Journal of Materials Research and Technology*, 12 (159 - 169). https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.02.080.

18. Nguyen T. T., Nguyen T. T. & Chu - Ky S. (2021). Enrichment of protein content in rice-brice-based dried distillers' grain food-ethanol factory by chemical method. *JST: Engineering and Technology for sustainable develepment*, 31 (4), 1 - 6.

19. Perumal A. B., Nambiar R. B., Moses J. A. & Anandharamakrishnan C. (2022). Nanocellulose: Recent trends and applications in the food industry. *Food Hydrocolloids*, 127 (107484. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107484.

PREPARATION OF NANOCRYTALLINE CELLULOSE (NCC) FROM CASSAVA - BASED DRIED DISTILLER'S GRAIN USING H_2O_2 BLEACHING

Pham Tuan Anh, Dao Thi Nguyet Nga,

Luong Hong Nga, To Kim Anh, Chu Ky Son

Summary

In Vietnam, cassava - based dried distiller's grain (cassava - based DDG) - a by-product of the alcohol processing industry from cassava - is estimated at 140 thousand tons per year. Cassava - based DDG has low nutritional value due to its high content of cellulose and lignin (30%); and low protein content (12%), its exploitation is therefore limited. Nanocrystalline cellulose (NCC) is a cellulose material with a diameter of 5 - 70 nm and a length of 50 - 500 nm. NCC has outstanding advantages such as large surface area, strong water absorption, high gelation and suspension ability, safety, it is thus promising in research for applications in food, pharmacecutical, material sectors. In this study, a mild treatment was developed to form NCC from cassava - based DDG. The treatment steps included: Alkaline treatment/bleaching with H_2O_2/hydrolysis using H_2SO_4/High pressure homogenization allowing recovery of NCC with a diameter of 51.3 ± 22.9 nm and length of 151.2 ± 50.7 nm. The initial attemp to use NCC as additive in bread production helps to increase the softness and expansion of the bread than the sample without NCC.

Keywords: *Cassava - based dried distiller's grain, nanocrystalline cellulose, bread additive.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Minh Nguyệt

Ngày nhận bài: 27/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 24/4/2023

Ngày duyệt đăng: 4/5/2023

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ THÔNG SỐ XỬ LÝ HẠT THANH LONG ĐỂ THU NHẬN DẦU VÀ BÃ HẠT GIÀU PROTEIN

Nguyễn Hoàng Anh Châu[1], Nguyễn Thị Kim Oanh[1],
Huỳnh Thị Lê Dung[1], Nguyễn Thị Thùy Dương[1,*]

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu này là xác định các thông số xử lý hạt thanh long để thu nhận dầu và bã hạt giàu protein. Kết quả cho thấy, hạt thanh long được phân tích có 28,7% dầu, 24,7% protein, 34,05% hidrat-cacbon và 2,68% tro. Trích ly dầu bằng enzim *Viscozyme* L. ở nồng độ 1,75%, pH 4,5, thời gian 180 phút, nhiệt độ 50°C cho hiệu suất trích ly dầu 61,96%, cao gấp 3 lần so với mẫu không xử lý enzim ở cùng điều kiện 20,21%. Dầu hạt thanh long có các chỉ tiêu chất lượng bao gồm: Chỉ số iôt 108,15 g/100 g, peroxit 6,27 MEQ/kg, omega-3 192 mg/100 g, omega-6 64,30 mg/100 g và vitamin E 66,88 mg/kg, đáp ứng chỉ tiêu chất lượng của dầu thực vật theo TCVN 7597: 2018. Bã hạt thanh long sau khi tách dầu được sấy ở nhiệt độ 50°C trong 7 giờ ở dạng bột có 23,94% protein, 3,66% hidrat-cacbon và 42,05% xơ thô. Bột hạt có 9 amino axit thiết yếu với các hàm lượng tương ứng histidin 9,09 g/kg, isoleuxin 6,36 g/kg, leuxin 15,21 g/kg, lyzin 6,23 g/kg, methionin 5,50 g/kg, phenylalanin 9,36 g/kg, threonin 9,25 g/kg, valin 8,43 g/kg, tyroxin 7,78 g/kg. Nghiên cứu này đặt cơ sở cho việc tận dụng hạt thanh long để thu nhận dầu và bột bã hạt giàu protein ứng dụng trong các sản phẩm thực phẩm dinh dưỡng.

Từ khóa: *Bã hạt, dầu hạt thanh long, enzim Viscozyme L., hạt thanh long, protein.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây thanh long có tên khoa học *Hylocereus* spp., là loại cây ăn trái được trồng và phát triển đáng kể tại Việt Nam với diện tích trồng thanh long cả nước hơn 55.000 ha. Vùng tập trung nhiều nhất là Bình Thuận, Long An và Tiền Giang (3 tỉnh này có hơn 48.000 ha), tiếp theo là Tây Ninh, Đồng Nai và một số tỉnh Tây Nguyên [1].

Hạt thanh long chiếm khoảng 1 - 2% khối lượng thịt quả [2]. Trong quá trình sản xuất nước ép, phần vỏ và hạt thanh long được xem là phụ phẩm và thải bỏ, chiếm khoảng 33% [3]. Trong đó, phần hạt thanh long bị thải bỏ sau quá trình chế biến chiếm khoảng 7,9 - 8,6% [3]. Thành phần hạt thanh long với tỉ lệ dầu tương đối cao, từ 22,8 - 29,5% khối lượng khô [2, 5] với hơn 50% là các axit béo thiết yếu omega-3 và omega-6 [2]. Do đó, khai thác phụ phẩm hạt từ quá trình chế biến thanh long để trích ly thu nhận dầu chứa các thành phần axit béo thiết yếu là một hướng nghiên cứu có tiềm năng và ý nghĩa.

Trong quy trình thu nhận dầu từ hạt, trích ly bằng enzim có nhiều ưu điểm so với phương pháp trích ly bằng dung môi và ép [6]. Phương pháp trích ly bằng dung môi hữu cơ (ete dầu hoả, hexan) đã được sử dụng trong một số nghiên cứu trước đây để thu nhận dầu từ hạt thanh long. Tuy nhiên, phương pháp này có nhược điểm là phải loại bỏ dung môi sau quá trình trích ly để thu nhận được dầu tinh khiết. Quá trình loại bỏ dung môi không kỹ lưỡng sẽ dẫn đến dầu thành phẩm còn lẫn dung môi. Điều này là không phù hợp để ứng dụng trong thực phẩm [2, 7]. Thu nhận dầu bằng phương pháp ép có thể gây nhiệt độ tăng cục bộ dẫn đến phản ứng oxy hóa dầu, làm giảm chất lượng dầu [8].

Trong ứng dụng enzim để thu nhận dầu, enzim hỗ trợ phá hủy cấu trúc tế bào, tạo điều kiện

[1] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh
*Email: duongntt@fst.edu.vn

giải phóng dầu [9]. Dầu được phân tách theo sự khác biệt về tỷ trọng và khác biệt về ái lực của dầu và nước [9]. Nghiên cứu của Bisht (2015) cho thấy, sử dụng enzim riêng lẻ hoặc kết hợp các enzim với nhau sẽ làm tăng sản lượng dầu hiệu quả ở nồng độ thích hợp [10]. *Viscozyme* L. là hệ hỗn hợp enzim bao gồm glucanaza, pectinaza, hemixenlulaza, xylanaza phân hủy thành tế bào chứa xenluloza, hemixenlulaza và pectin bào, thúc đẩy quá trình giải phóng dầu [11, 12]. Sau quá trình tách dầu, phần bã hạt còn chứa các thành phần dinh dưỡng như protein, hidrat-cacbon, lipit… [2] có thể được tiếp tục chế biến. Tuy nhiên các nghiên cứu trích ly dầu thanh long áp dụng hệ enzim xenluloza và tận dụng bã hạt sau tách dầu còn hạn chế.

Nghiên cứu này nhằm khảo sát các thông số xử lý hạt thanh long thu nhận dầu sử dụng hệ enzim *Viscozyme* L. và thu nhận bã hạt giàu protein định hướng ứng dụng trong các sản phẩm thực phẩm dinh dưỡng.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu, dụng cụ và máy móc thiết bị

2.1.1. Nguyên liệu

Hạt thanh long, được cung cấp bởi Công ty Nước ép Phúc Hà tháng 1/2022, là phụ phẩm của quá trình sản xuất nước ép thanh long ruột đỏ (*Hylocereus costaricensis)* trồng tại tỉnh Bình Thuận. Sau quá trình ép lấy dịch quả, hạt thanh long được Công ty Nước ép Phúc Hà xử lý chà khỏi bã, sấy ở nhiệt độ 40°C đến độ ẩm <6% và vận chuyển đến phòng thí nghiệm.

2.1.2. Vật liệu và hóa chất

Enzim *Viscozyme* L. (nhiệt độ hoạt động 40-50°C, pH 3,3-5,5) là hỗn hợp enzim bao gồm glucanaza, pectinaza, hemixenlulaza và xylanaza được cung cấp bởi Novozyme (Đan Mạch). Hydrocloric axit, natri hydroxit, sunfuric axit được cung cấp bởi Xilong Selentific Co., Ltd. (Trung Quốc).

2.1.3. Dụng cụ, máy móc và thiết bị

Các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: bể ổn nhiệt MEMMERT (WNB14), máy ly tâm HERMEL (Z206A), máy xay PHILIPS (HR2118), cân kỹ thuật SHIMADZU (TBX-622L), pH kế SI ANALYTICS (LAB 845), tủ sấy MEMMERT (UN110).

Các thiết bị sử dụng trong phân tích gồm thiết bị phá mẫu DK6 (Velp - Ý), bộ chưng cất đạm UDK129 (Velp - Ý), cân phân tích 224i-1S (Entris - Đức), bộ phân tích xơ 4 vị trí EXR4 (Behr - Đức), bộ lọc xơ thủy tinh 4 vị trí FU4 (Behr - Đức), thiết bị chiết béo Soxhlet R106S (Behr – Đức), tủ sấy ED53 (Binder - Đức), máy quang phổ AAS iCE 3000 (Thermo - Đức), máy phân tích axit amin Aracus (MembraPure – Đức), hệ thống sắc ký lỏng HPLC LC-20A Series (Shimadzu – Nhật Bản).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xử lý mẫu

Hạt thanh long được tiến hành xay (máy xay Philips HR 2118) đến kích thước qua rây 0,5 mm. Tiến hành trích ly với sự hỗ trợ của enzim bằng cách cân hạt (40 g) vào nước với tỉ lệ nguyên liệu: dung môi (w/v). pH được điều chỉnh bằng NaOH 2 N hoặc HCl 1,5 N.

2.2.2. Phương pháp trích ly dầu hạt thanh long với sự hỗ trợ của enzim Viscozyme L.

Cho enzim *Viscozyme* L. (% $v_{enzyme}/w_{hạt}$) vào mẫu hạt thanh long đã xử lý, tiến hành ủ (bể ổn nhiệt Memmert WNB14) để trích ly dầu. Sau quá trình trích ly, hỗn hợp được ly tâm (máy ly tâm Hermle Z206A) ở vận tốc 5.500 vòng/phút trong 20 phút, thu được hỗn hợp tách pha gồm dầu, dịch nước và bã. Gạn bỏ bã, dùng phễu chiết 250 ml thu nhận pha dầu tách ở phía trên. Lượng dầu thu được từ quá trình trích ly được sử dụng để tính toán hiệu suất trích ly dầu H (%) theo công thức:

$$H\ (\%) = \frac{m_1}{m} \times 100$$

Trong đó: m_1 là khối lượng dầu thu được (g); m là khối lượng dầu trong nguyên liệu (g) [13].

- Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ enzim đến hiệu suất trích ly dầu từ hạt thanh long:

Hạt thanh long được trích ly dầu với nồng độ enzim *Viscozyme* L. khảo sát là 1; 1,25; 1,5; 1,75; 2,0; 2,25% (v/w). Thông số cố định bao gồm tỉ lệ hạt: nước là 1: 6 (w/v), pH 4,5, nhiệt độ 50°C trong 120 phút.

- Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long:

pH trích ly được khảo sát ở các mức 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5. Thông số cố định bao gồm tỉ lệ hạt: nước là 1: 6 (w/v), nhiệt độ 50°C trong 120 phút.

- Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long:

Nhiệt độ trích ly khảo sát ở 35, 40, 45, 50, 55°C. Thông số cố định bao gồm tỉ lệ hạt: nước là 1:6 (w/v), thời gian 120 phút.

- Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long:

Thời gian trích ly khảo sát lần lượt tại 60, 90, 120, 150, 180 phút. Lượng dầu thu nhận được dùng để tính hiệu suất thu nhận dầu.

2.2.3. Phương pháp nguyên cứu xác định một số thành phần dinh dưỡng của bột bã hạt thanh long

Bã hạt thanh long sau tách dầu được tiến hành sấy ở 50°C trong 7 giờ (tủ sấy Memmert UN110) để thu nhận bột bã hạt thanh long với độ ẩm <10%. Bột bã hạt thanh long được tiến hành phân tích protein tổng [14], hidrat-cacbon [15], tro tổng [16], xơ thô (%) [17], khoáng bao gồm canxi [18], sắt [18], magie [18], kẽm [18], đồng (mg/kg) [18] và thành phần amino axit (g/kg) [19].

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Phương pháp xác định thành phần nguyên liệu của bột bã hạt thanh long

Nguyên liệu hạt thanh long và bột hạt được tiến hành phân tích protein theo TCVN 10034: 2013 [14], hidrat-cacbon theo AOAC 986.25 [15], dầu theo FAO FOOD 14/7 [20], tro tổng theo FAO FOOD 14/7.1986 [16] và xơ thô theo TCVN 5103: 1990 [17].

2.3.2. Phương pháp xác định chất lượng dầu hạt thanh long

Dầu thành phẩm được phân tích các chỉ số bao gồm iôt theo TCVN 6122: 2015 [21], peroxit theo TCVN 6121: 2018 [22], axit theo TCVN 6127: 2010 [23], vitamin E theo TCVN 9124: 2011 [24], omega-3 và omega-6 theo AOAC 996.06 [25].

2.3.3. Phương pháp xác định một số amino axit của bột bã hạt thanh long

Phân tích amino axit của bột bã hạt thanh long theo AOAC 994.12 [19], khoáng canxi (Ca) theo AOAC 999.11 [18] và AOAC 968.08 [26], sắt (Fe) theo AOAC 999.11 [18], magie (Mg) theo AOAC 999.11 [18] và AOAC 968.08, kẽm (Zn) theo AOAC 999.11 [18], đồng (Cu) theo AOAC 999.11 [18].

2.4. Xử lí số liệu

Các thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần. Kết quả được trình bày là giá trị trung bình Ơ độ lệch chuẩn. Phân tích sự khác biệt ANOVA bằng Minitab 16.0 (Minitab USA), kiểm định Turkey (α =0,05). Tính toán và trình bày bằng Excel 2016 (Microsoft Office).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định thành phần hóa học của hạt thanh long

Kết quả phân tích thành phần nguyên liệu hạt thanh long được trình bày ở bảng 1.

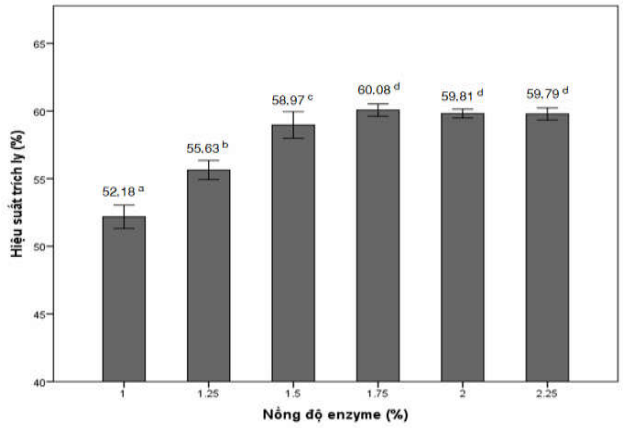
Bảng 1. Một số thành phần hóa học của hạt thanh long

TT	Chỉ tiêu	Giá trị (%)
1	Protein	24,70 ± 1,02
2	Hidrat-cacbon	34,05 ± 2,02
3	Dầu	28,70 ± 1,6
4	Tro tổng	2,68 ± 0,12

Phân tích cho thấy, hạt thanh long có hàm lượng lớn dầu chiếm 28,70%, ngoài ra hàm lượng protein và hidrat-cacbon khá cao, chiếm hơn 50% gồm 24,70% protein và 34,05% hidrat-cacbon. Lượng protein và hidrat-cacbon cao có thể tạo nhũ gây khó khăn trong quá trình phá vỡ cấu trúc hạt, giải phóng các thành phần và tách pha dầu. Hàm lượng béo tổng chiếm 28,7%, tương đương với nghiên cứu của Ariffin và cs (2009) [2], cao hơn so với nghiên cứu của Chemah, T. C. và cs (2010) [5]. Sự khác biệt về hàm lượng dầu có thể do điều kiện khí hậu, đất trồng khác nhau giữa các vùng.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ enzim đến hiệu suất trích ly dầu từ hạt thanh long

Ảnh hưởng của nồng độ enzim *Viscozyme* L. đến hiệu suất trích ly dầu được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ enzim *Viscozyme* L. đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long

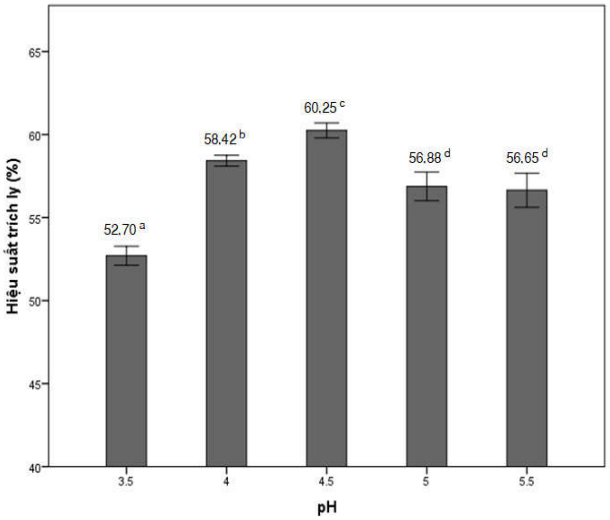
Ghi chú: Ký hiệu chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

Hiệu suất trích ly dầu có xu hướng tăng khi tăng nồng độ enzim. Trong khoảng nồng độ enzim từ 1% đến 1,75% hiệu suất trích ly dầu tăng và đạt giá trị cao nhất tại 60,08%, tăng 7,9%. Hiệu suất trích ly dầu đạt cực đại 60,08% tại nồng độ enzim 1,75%, cao gấp 3 lần so với mẫu không xử lí enzim ở cùng điều kiện đạt 20,21%. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ enzim từ 1,75% lên 2,25% thì hiệu suất trích ly dầu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Về nguyên tắc, với lượng cơ chất xác định, khi tỉ lệ enzim càng tăng thì sự tạo thành phức hợp enzim - cơ chất càng cao, dẫn tới vận tốc phản ứng xúc tác càng cao. Tuy nhiên, phản ứng xúc tác đạt bão hòa ở tỉ lệ enzim - cơ chất xác định. Vượt quá tỉ lệ này, vận tốc phản ứng không thay đổi [27]. Trong khảo sát này, nồng độ enzim *Viscozyme* L. 1,75% có thể tương ứng với tỉ lệ bão hòa enzim - cơ chất và do đó khi nồng độ tăng cao hơn, hiệu suất trích ly dầu thay đổi không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Chen Liu và cs (2020) [28] và Zhi-jian Tan và cs (2016) [29]. Nồng độ enzim *Viscozyme* L. 1,75% được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long

Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long được thể hiện qua hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long

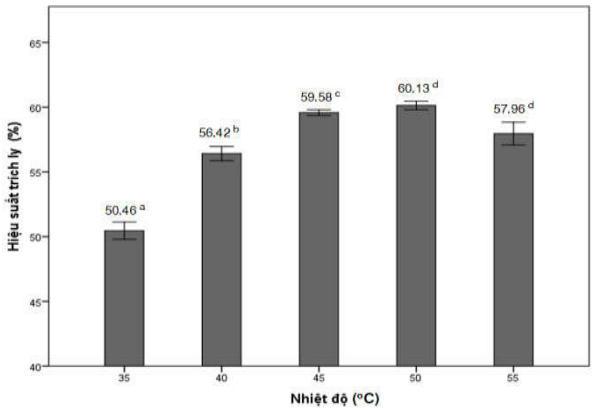
Ghi chú: Ký hiệu chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

Hiệu suất trích ly tăng dần khi pH thay đổi từ 3,5 đến 4,5 và có xu hướng giảm trong khoảng pH từ 4,5 đến 5,5. Trong khoảng pH từ 3,5 đến 4,5 hiệu suất trích ly dầu tăng và đạt giá trị cao nhất 60,25%, tăng 7,25%. Trong khoảng pH 4,5 đến 5,5 hiệu suất trích ly giảm từ 60,25% xuống còn 56,65%.

Sự thay đổi của pH ảnh hưởng nhiều đến hoạt tính của enzim. Mỗi enzim hoạt động mạnh nhất ở một pH xác định, gọi là pH tối ưu. Khi pH quá cao hay quá thấp đều ảnh hưởng đến hoạt tính của enzim [27], kết quả này tương tự với nghiên cứu của Zhi-jian Tan và cs (2016) [29]. Như vậy, đối với nguyên liệu hạt thanh long tại pH 4,5 thì quá trình thủy phân của enzim *Viscozyme* L. đạt hiệu quả cao nhất, dẫn đến hiệu suất trích ly dầu cao. Do đó pH 4,5 được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long được thể hiện ở hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long

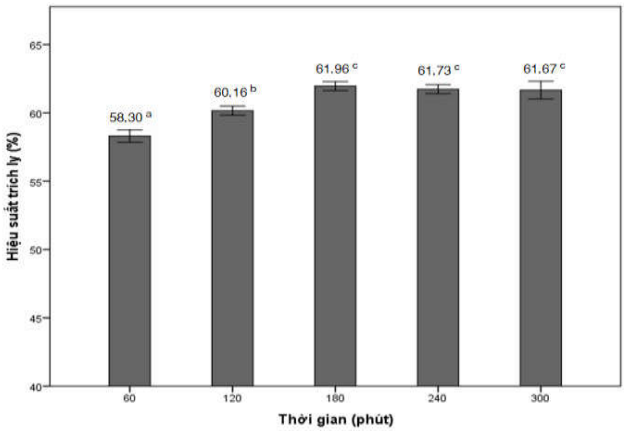
Ghi chú: Ký hiệu chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Hiệu suất trích ly dầu có xu hướng tăng trong khoảng nhiệt độ từ 35°C đến 50°C và giảm tại 55°C. Tại nhiệt độ 35°C hiệu suất trích ly dầu thấp nhất là 50,46%, tại 50°C hiệu suất trích ly dầu đạt cao nhất là 60,13%, tăng 9,67%. Khi tăng nhiệt độ lên 55°C thì hiệu suất trích ly dầu giảm còn 57,96%, giảm 2,17%.

Như vậy, khoảng nhiệt độ 35°C - 50°C là điều kiện thích hợp để enzim *Viscozyme* L. hoạt động, thủy phân phá vỡ thành tế bào giúp dầu thoát ra khỏi nguyên liệu dễ dàng hơn [12], dẫn đến hiệu suất trích ly dầu tăng. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Chen Liu và cs (2020) [28] và Zhi-jian Tan và cs (2016) [29]. Khi nhiệt độ càng tăng thì hoạt lực của enzim có xu hướng giảm dẫn đến hiệu suất trích dầu giảm theo. Do đó nhiệt độ 50°C được chọn để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

3.5. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long

Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất trích ly dầu được thể hiện qua hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất trích ly dầu hạt thanh long

Ghi chú: Ký hiệu chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

Hiệu suất trích ly dầu có xu hướng tăng trong khoảng thời gian từ 60 đến 300 phút. Khi tăng thời gian trích ly từ 60 đến 180 phút thì hiệu suất trích ly dầu tăng từ 58,3% đến 61,96%. Khi tiếp tục tăng thời gian trích ly từ 180 đến 300 phút thì hiệu suất trích ly không có sự khác nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

Enzim thủy phân các thành phần khác nhau của thành tế bào (xenluloza, hemixenluloza, v.v.) và dầu được giải phóng. Việc kéo dài thời gian trích ly sẽ làm tăng hiệu suất trích ly dầu. Tuy nhiên, khi vượt qua ngưỡng thời gian tối ưu thì hoạt tính của enzim có xu hướng giảm, do đó không làm tăng hiệu suất trích ly dầu [30]. Xu hướng này tương tự với nghiên cứu của Chen Liu và cs (2020) [28]. Do đó, thời gian trích ly 180 phút được chọn để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

3.6. Phân tích một số chỉ tiêu hóa lý của dầu hạt thanh long

Kết quả phân tích một số chỉ tiêu hóa lý của dầu hạt thanh long được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả một số chỉ tiêu hóa lý của dầu hạt thanh long

Chỉ tiêu	Kết quả
Chỉ số iôt	108,15 ± 5,15 (g iôt/100 g)
Chỉ số peroxit	6,27 ± 0,35 (MEW/kg)
Vitamin E	66,88 ± 3,78 (mg/kg)
Omega 3	192 ± 7,40 (mg/100 g)
Omega 6	64,30 ± 2,47 (mg/100 g)

Kết quả phân tích dầu hạt thanh long thu được từ quá trình trích ly với enzim *Viscozyme* L. đã xác định được chỉ số iod ở dầu hạt thanh long (108,15 g iôt/100 g) khá cao, chứng tỏ dầu giàu các axit béo chưa bão hòa, là những axit béo cần thiết và có giá trị dinh dưỡng. Chỉ số peroxit của dầu hạt thanh long là 6,27 MEQ/kg đạt tiêu chuẩn theo TCVN 7595: 2018 [31]. Hàm lượng omega-6 trong dầu hạt thanh long 64,30 mg/100 g cao hơn so với nghiên cứu của Ariffin và cs (2009) [2] là 49,6 g/100 g. Dầu hạt thanh long chứa các thành phần tốt khác là omega-3 (192 mg/100 g) và vitamin E (66,88 mg/kg).

3.7. Phân tích thành phần hóa học của bột bã hạt thanh long

Kết quả phân tích thành phần hóa học bột bã hạt thanh long được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân tích thành phần hóa học của bột bã thanh long

Chỉ tiêu	Kết quả (%)	Chỉ tiêu	Kết quả (%)
Protein	23,94 ± 1,14	Hidrat-cacbon	3,66 ± 1,22
Tro tổng	1,66 ± 0,09	Xơ thô	42,05 ± 2,75
		Độ ẩm	6,54 ± 0,45

Bột bã hạt thanh long được phân tích bao gồm protein là 23,94%, hidrat-cacbon là 3,66%, tro tổng là 1,66%, xơ thô là 42,05% và độ ẩm là 6,54%. Các kết quả này gần bằng với nghiên cứu của S. D. Ehsan (2010) [32], có tiềm năng phát triển thành nguyên liệu hoặc thực phẩm chức năng.

Kết quả phân tích một số thành phần khoáng và vitamin của bột bã hạt thanh long được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Phân tích một số thành phần khoáng và vitamin bột bã hạt thanh long

Khoáng	Kết quả (mg/kg)	Khoáng	Kết quả (mg/kg)
Canxi (Ca)	1,52 ± 0,05	Đồng (Cu)	13,33 ± 0,63
Sắt (Fe)	110,24 ± 6,24	Vitamin A	Không phát hiện
Magie (Mg)	2,21 ± 0,10	Vitamin E	Không phát hiện
Kẽm (Zn)	103,89 ± 3,99		

Thành phần một số chất khoáng trong bột bã hạt thanh long được xác định gồm canxi (Ca) là 1,52 mg/kg, sắt (Fe) là 110,24 mg/kg, magie (Mg) là 2,21 mg/kg, kẽm (Zn) là 103,89 mg/kg, đồng (Cu) là 13,33 mg/kg. Vitamin A và vitamin E không phát hiện trong mẫu bã bột thanh long.

Kết quả phân tích một số thành phần amino acid thiết yếu trong bột bã hạt thanh long được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Phân tích một số thành phần amino axit trong bột bã hạt thanh long

Amino axit	Kết quả (g/kg)	Amino axit	Kết quả (g/kg)
Histidin	9,09 ± 0,43	Phenylalanin	9,36 ± 0,61
Isoleuxin	6,36 ± 0,24	Threonin	9,25 ± 0,44
Leuxin	15,21 ± 0,72	Valin	8,43 ± 0,47
Lyzin	6,23 ± 0,35	Tyrozin	7,78 ± 0,50
Methionin	5,50 ± 0,26		

Bột bã hạt thanh long với tổng lượng protein là 23,94% và có đủ 9 amino axit thiết yếu. Như vậy, so với một số loại ngũ cốc thì hàm lượng protein trong bột bã hạt thanh long cao hơn (hàm lượng protein trong lúa gạo là 7,9%, lúa mì là 16,8%, ngô 10,6%, cao lương 12,7%, kê 11,3% tính theo hàm lượng chất khô) [33] thì bột bã hạt thanh long có phần vượt trội và phổ của các amino axit nhiều hơn.

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được thành phần hạt thanh long nguyên liệu gồm lượng lớn dầu 28,7%, ngoài ra còn có lượng protein chiếm khá cao 24,7%, hidrat-cacbon 34,05% và tro tổng 2,68%.

Kết quả khảo sát thông số trích ly dầu từ hạt với hỗ trợ của enzim *Viscozyme* L. cho thấy, ở nồng độ enzim 1,75%, pH 4,5, thời gian 180 phút, nhiệt độ 50°C thu được hiệu suất trích ly dầu 61,96%, cao gấp 3 lần so với mẫu không xử lí enzim ở cùng điều kiện. Chất lượng dầu hạt thanh long đáp ứng theo TCVN 7597: 2018 (dầu thực vật). Phần bã hạt thanh long sau tách dầu được sấy ở nhiệt độ 50°C trong 7 giờ đạt độ ẩm <10%. Bột hạt thanh long có hàm lượng protein cao 23,94%, hydrat-cacbon 3,66%, chứa các khoáng bao gồm canxi (Ca), magie (Mg), sắt (Fe), kẽm (Zn) và đồng (Cu). Thành phần của bã hạt thanh long chứa đầy đủ 9 amino axit thiết yếu.

Kết quả nghiên cứu đặt cơ sở cho việc khai thác hạt thanh long thu nhận dầu và bã hạt giàu protein ứng dụng trong các sản phẩm thực phẩm dinh dưỡng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hien P. T. T. (2019). The Dragon Fruit Export Challenge and Experiences in Vietnam. The Food and Fertilizer Technological Center. Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region.

2. Ariffin A. A., Bakar J., Tan C. P. *et al.* (2009). Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. Food Chemistry, vol. 114, p. 561-564.

3. Liaotrakoon W. (2013). Characterization of dragon fruit *(Hylocereus* spp.) components with valorization potential. Ghent University.

4. Jalgaonkar K., Mahaa M. K. and Profile P. (2022). Processing and Waste Utilization of Dragon Fruit (*Hylocereus* spp.): A Review. Food Rev. International, vol. 28, p. 733-759.

5. Chemah, T. C., Aminah A. *et al.* (2010). Determination of pitaya seeds as a natural antioxidant and source of essential fatty acids. *International Food Research Journal*, vol. 17, p. 1003-1010.

6. Sharma A., Khare S. K. and Gupta M. N. (2022). Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Peanut Oil. Chemistry Department, Indian Institute of Technology, vol. 79, p. 215-218.

7. Phan Thị Thanh Quế, Nguyễn Thị Thu Thuỷ, Tống Thị Ánh Ngọc (2018). Khảo sát đặc tính và sự ổn định của dầu hạt thanh long

(*Hylocereus* spp.) ở các điều kiện bảo quản khác nhau. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, vol. 54, p. 192-201.

8. Uitterhaegen E. and Evon P. (2017). Twin-screw extrusion technology for vegetable oil extraction: A review. *J. Food Engin*, vol. 212, p. 190-200.

9. Yusoff M. M., Gordon M. H., Niranjan K. J. T. i. F. S. *et al.* (2015). Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: A review. Trends in Food Science and Technology, vol. 41, p. 60-82.

10. Bisht T. S. (2015). Improvement of efficiency of oil extraction from wild apricot kernels by using enzymes. *J. Food Sci. Technol.*, vol. 32, p. 1543-1551.

11. Zuniga M., Soto C., Mora A. *et al.* (2003). Enzymatic pre-treatment of Guevina avellana mol oil extraction by pressing. Process Biochemistry, vol. 39, p. 51-57.

12. Gaur R., Sharma A., Khare S. *et al.* (2007). A novel process for extraction of edible oils: enzyme assisted three phase partitioning (EATPP). Bioresource Technol., vol. 98, p. 696-699.

13. Nguyễn Thị Hoàng Lan, Nguyễn Thị Quyên, Nguyễn Ngọc Cường (2016). Ảnh hưởng của một số điều kiện công nghệ đến hiệu suất trích ly dầu ngô. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, vol. 14, p. 1825-1834.

14. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 10034: 2013 (ISO 1871: 2009) về thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Hướng dẫn chung về xác định hàm lượng nitơ bằng phương pháp Kjeldahl.

15. Phương pháp: AOAC 986.25. Xác định hàm lượng carbohydrate.

16. Phương pháp: SOP.01-196: 2021 (Ref. FAO FOOD 14/7.1986).

17. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5130: 1990 về nông sản thực phẩm - Xác định hàm lượng xô thô - phương pháp chung.

18. Phương pháp: AOAC 999.11 - 2005 (2005). Lead, cadmium, copper, iron and zinc in foods.

19. Phương pháp: AOAC 994.12 -1997. Amino acids in feeds. Performic acid oxidation.

20. Phương pháp: SOP.01-194: 2021 (Ref. FAO FOOD 14/7).

21. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6122: 2015 về dầu mỡ động vật và thực vật - Xác định chỉ số iôt.

22. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6121: 2018 về dầu mỡ động vật và thực vật - Xác định trị số peroxit - Phương pháp xác định điểm kết thúc chuẩn độ iôt (quan sát bằng mắt).

23. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6127: 2010 về dầu mỡ động vật và thực vật – xác định trị số axit và độ axit.

24. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9124: 2011 về xác định hàm lượng vitamin E - Phương pháp sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao.

25. Phương pháp: AOAC 996.06 - 1996 (2010). Fat (total, saturated and unsaturated) in foods.

26. Phương pháp: AOAC 968.08 - 1969 (1996). Minerals in animal feed and pet food.

27. Muniglia L., Claisse N., Baudelet P. H. *et al.* (2014). Enzymmatic aqueous extraction (EAE). Alternative solvents for natural products extraction. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, vol. 167-204.

28. Chen Liu, Lihua Hao, Fusheng Chen *et al.* (2020). Study on extraction of peanut protein and oil bodies by aqueous enzymatic extraction and characterization of protein. *Journal of Chemistry*, vol. 2020, p.

29. Zhi-Jian Tan, Zi-Zhen Yang, Yong-Jian Yi, *et al.* (2016). Extraction of oil from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) using enzyme-assisted

three-phase partitioning. Appl Biochem. Biotechnol., vol. 179, p. 1325-1335.

30. Alev Yüksel Aydar (2018). Utilization of response surface methodology in optimization of extraction of plant materials. in Statistical Approaches With Emphasis on Design of Experiments Applied to Chemical Processes, vol. 157-169.

31. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7597: 2018 về dầu thực vật.

32. Ehsan S. D. (2010). Determination of pitaya seeds as a natural antioxidant and source of essential fatty acids. *International Food Research Journal*, vol. 17, p. 1003-1010.

33. Nguyễn Công Khẩn, Hà Thị Anh Đào (2007). *Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học.

ENZYME-ASSISTED EXTRACTION OF DRAGON FRUIT TO OBTAIN SEED OIL AND PROTEIN-RICH RESIDUE

Nguyen Hoang Anh Chau, Nguyen Thi Kim Oanh,

Huynh Thi Le Dung, Nguyen Thi Thuy Duong

Summary

Dragon fruit (*Hylocereus* spp.) seed is a by-product from the processing of fruit juice and wine. The purpose of this study was to investigate the effect of enzyme-assisted extraction of dragon fruit seed oil and the protein-rich residue. The seed contained a considerably high oil ratio of 28.7%, 24.7% protein, 34.05% carbohydrate and 2.68% ash. The conditions for extracting the dragon fruit seed oil with *Viscozyme* L. - a blend of cellulases, pectinases, glucanases, and xylanases were investigated. The conditions for the oil obtained were with enzyme *Viscozyme* L. 1.75%, pH 4.5 for 180 min, with an extraction yield of 61.96%. The resulting seed oil had the following analyses of iodine at 108.15 g/100 g, peroxide value at 6.27 MEQ/kg, omega-3 at 192 mg/100 g, omega-6 at 64.30 mg/100 g and vitamin E at 66.88 mg/kg. The residue after oil extraction was dried at 50°C for 7 hours to produce a protein-rich residue with protein content of 23.94%, carbohydrate of 3.66% and fiber of 42.05%. The residue had a profile of 9 essential amino acids including histidine (9.09 g/kg), isoleucine (6.36 g/kg), leucine (15.21 g/kg), lysine (6.23 g/kg), methionine (5.50 g/kg), phenylalanine (9.36 g/kg), threonine (9.25 g/kg), valine (8.43 g/kg), tyrosine (7.78 g/kg).

Keywords: *Dragon fruit seed, dragon fruit oil, enzyme Viscozyme L., seed residue, protein.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Đức Tiến

Ngày nhận bài: 20/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 19/4/2023

Ngày duyệt đăng: 26/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐỘ DÀY VÀ TIỀN XỬ LÝ NHIỆT NGUYÊN LIỆU ĐẾN CHẤT LƯỢNG CAM SÀNH (*Citrus reticulata x sinensis*) SẤY DẺO DẠNG KHOANH

Trần Bạch Long[1], Huỳnh Xuân Phong[1],
Trần Thanh Trúc[1, 2], Nguyễn Văn Mười[1, *]

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là xác định chiều dày lát cam Sành (*Citrus reticulata x sinensis*) và chế độ tiền xử lý nhiệt đến chất lượng sản phẩm cam Sành sấy. Nghiên cứu được tiến hành xác định độ dày lát cắt cam Sành là 2,5, 3,5, 4,5, 5,5, 6,5 và 7,5 mm, tiếp tục lát cắt cam Sành được tiền xử lý qua nước ở nhiệt độ là 80, 90 và 100°C với thời gian là 1, 2, 3, 4, 5 và 6 phút. Kết quả nghiên cứu cho thấy, lát cam có độ dày 3,5 mm là phù hợp để sản phẩm cam Sành sấy dẻo dạng khoanh đạt trạng thái tốt. Bên cạnh đó, chế độ tiền xử lý nhiệt cam Sành cắt lát ở nhiệt độ 90°C trong 6 phút giúp loại bỏ một phần vị đắng (naringin) mà vẫn giữ được màu sắc, vitamin C và ổn định chất lượng.

Từ khóa: *Cam Sành, chất lượng, chiều dày, nhiệt độ, thời gian.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, giá cam Sành liên tục giảm gây nhiều khó khăn cho các hộ nông dân trồng cam. Hơn nữa, quả cam tươi rất dễ bị tổn thất trong quá trình thu hoạch, vận chuyển và bảo quản bởi nhiều nguyên nhân khác nhau như hoạt động chủ quan của con người, các phản ứng sinh lý, sinh hóa của cam và ảnh hưởng của điều kiện môi trường. Do đó, việc nghiên cứu chế biến các sản phẩm từ cam Sành sẽ góp phần giải quyết đầu ra cho sản phẩm và nâng cao giá trị của loại quả này. Trong đó có thể kể đến là cam Sành sấy dẻo. Tuy nhiên, sản phẩm cam sấy dẻo dạng khoanh đòi hỏi cao về mặt cam quan như kích thước đồng đều, sản phẩm cần có sự hài hòa của vị the đắng của vỏ cam, vị ngọt, chua và hương thơm đặc trưng. Do đó, việc xác định độ dày cũng như chế độ xử lý nhiệt nguyên liệu thích hợp giúp sản phẩm có vị hài hòa, đồng thời giữ màu sắc đặc trưng và hạn chế sự mất mất hàm lượng chất khô cũng như loại đi một phần hàm lượng naringin cần được quan tâm. Độ dày của nguyên liệu ảnh hưởng đáng kể đến tốc độ sấy và điều đó ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng sản phẩm, Gojiya và Vyas (2015) [1] cho thấy, độ dày (3 mm, 5 mm, 7 mm) của *Cucumis callosus* (Rottl.) ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng vitamin C trong quá trình sấy. Độ dày của lát cắt cà chua (3 mm, 5 mm, 7 mm, 9 mm, 11 mm) cũng ảnh hưởng đến chất hòa tan, độ axit và pH. Rafiee và cs (2010) [2] cũng xác định giá trị năng lượng hoạt hóa lát cam sấy ở độ dày của lát là 4 mm là 16,47 kJ/mol với tốc độ không khí sấy 2 m/s. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Nguyễn Thị Hiền và cs (2020) [3] về khả năng chống hóa nâu của axit ascorbic, nhiệt độ sấy đến chất lượng trái bần cũng thực hiện ở độ dày lát cắt 3 - 5 mm, hoặc độ dày lát bí là 4,0 x 3,0 x 0,2 cm cũng được đánh giá về hàm lượng carotene, hàm lương phenolic, pectin trong quá trình sấy. Mặt khác, chần làm tăng tốc độ khô và mất nước bằng cách thay đổi các đặc tính vật lý của sản phẩm, điều này có thể cải thiện các thuộc tính chất lượng của chúng. Việc cải thiện chất lượng sản phẩm là kết quả của việc tăng tính thấm của màng tế bào, do đó làm tăng tốc độ thoát ẩm. Chần cũng có thể làm sạch bề mặt thực vật, tiêu diệt ký sinh trùng và trứng của chúng, loại bỏ hạt bị hư hỏng hoặc biến màu, vật lạ

[1] Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
* Email: nvmuoi@ctu.edu.vn.
[2] Khoa Sau đại học, Trường Đại học Cần Thơ

và bụi của trái cây và rau quả. Qua các vấn đề được nêu trên, nghiên cứu này chủ yếu tập trung xác định độ dày lát cam và chế độ tiền xử lý nhiệt đến chất lượng sản phẩm cam Sành sấy dẻo.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Cam Sành được thu mua từ các nhà vườn thuộc huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ. Cam Sành khi đậu trái được tính đến thời gian thu hoạch là 8 tháng (khoảng 240 ngày), cam có hình dáng tròn đều, không bị méo mó, không bị bên to bên nhỏ, vỏ bên ngoài vẫn còn tươi, không quá sần sùi, phần núm ngay đầu quả cam phải có vỏ dày, hơi nhô cao, đặc biệt phải còn cuống lá, khi dùng tay chạm nhẹ vào phần cuống không bị rụng. Cam khi thu mua về, rửa sạch, để ráo, tiến hành xử lý sơ bộ. Sau đó tiến hành nghiên cứu theo bố trí thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân tích

Cảm quan sản phẩm được đánh giá bằng phương pháp cho điểm theo TCVN 3215-79; độ axit toàn phần (TA) (%) sử dụng phương pháp chuẩn độ bằng NaOH 0,1 N (AOAC 942.15); độ ẩm (%) được thực hiện bằng phương pháp sấy ở nhiệt độ 105°C đến khối lượng không đổi (phương pháp NMKL số 23-1991); độ hoạt động của nước được xác định bằng thiết bị đo a_w (nhiệt độ xác định 25°C); hàm lượng đường khử (%) sử dụng phương pháp bertrand; hàm lượng naringin (ppm) được thực hiện dựa trên phản ứng tạo màu với thuốc thử ethylen glycol trong môi trường kiềm; màu sắc với giá trị độ sáng L*, độ màu a* và độ màu b* được xác định bằng máy Colorimeter NH300 (ShenZhen Technology Co., Trung Quốc).

2.2.2. Phương pháp thu nhận và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion 16.2 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 khác.

2.2.3. Bố trí thí nghiệm

2.2.3.1. Ảnh hưởng của độ dày lát cắt đến đặc tính cảm quan và chất lượng đối với sản phẩm cam Sành

Nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu xác định độ dày lát cắt thích hợp cho sản phẩm cam Sành sấy dẻo dạng khoanh chất lượng và cảm quan tốt. Cam Sành sau khi thu hái về được tiến hành rửa sơ bộ để loại bỏ tạp chất trên phần vỏ quả, tiếp đến cam được ngâm bằng dung dịch NaCl 5% và metabisulfit 75 mg/L trong 5 phút, tiếp theo cam được vớt ra rửa lại với nước trước khi thực hiện công đoạn chà xát giúp loại bỏ một phần các túi tinh dầu. Cam sau khi chà được chần ở 90°C trong 5 phút (lặp lại 3 lần chần) giúp giảm bớt vị đắng. Tiếp đến, cắt cam thành từng lát với các độ dày từ 2,5 - 7,5 mm (bước nhảy 1 mm), sau đó chần ở 90°C trong 5 phút và làm nguội nhanh bằng nước đá để chuẩn bị cho công đoạn ngâm. Phần lát cam sau chần được ngâm trong dung dịch đường 45°Bx (tỷ lệ nguyên liệu: dịch là 1: 6) ở 60°C trong 5 giờ. Lát cam sau ngâm được sấy đối lưu ở nhiệt độ 60°C trong 6 giờ (khối lượng mẫu: 1 kg/mẫu) trong hệ thống thiết bị sấy kết hợp năng lượng mặt trời [4]. Sản phẩm cam sấy dẻo sau sấy được tiến hành phân tích về độ ẩm, độ hoạt động của nước (a_w), hàm lượng đường khử, hàm lượng axit toàn phần, hàm lượng naringin, màu sắc và cảm quan.

2.2.3.2. Ảnh hưởng của chế độ tiền xử lý đến chất lượng sản phẩm cam Sành sấy dẻo

Thí nghiệm được tiến hành tương tự mục 2.2.3.1. Cam sau khi chần (nguyên quả) được tiến hành cắt thành từng lát, kích thước lát cam được chọn từ mục 2.2.3.1. Lát cam sau đó được chần ở các mức nhiệt độ 80, 90 và 100°C trong thời gian từ 1 - 6 phút (bước nhảy 1 phút), sau khi chần lát cam được làm lạnh nhanh bằng nước đá. Lát cam được ngâm trong dung dịch đường 45°Bx (tỷ lệ nguyên liệu: đường là 1: 6) ở nhiệt độ 60°C trong 5 giờ. Lát

cam sau ngâm được sấy đối lưu ở 60°C trong 6 giờ (khối lượng mẫu: 1 kg/mẫu) trong hệ thống thiết bị sấy kết hợp năng lượng mặt trời. Sản phẩm cam sấy dẻo sau thu được, thực hiện phân tích các chỉ tiêu về hàm lượng naringin, vitamin C, màu sắc và cảm quan.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng hưởng của độ dày đến chất lượng cam Sành sấy dẻo

Độ dày là thông số ảnh hưởng đến quá trình thẩm thấu và quá trình sấy. Trong nghiên cứu này, độ dày lát cam đã được khảo sát với độ dày từ 2,5 - 7,5 mm và kết quả một số chỉ tiêu được trình bày ở bảng 1. Hai thông số khác bị ảnh hưởng bởi độ dày ban đầu của cam Sành đó là độ ẩm sản phẩm khi cùng điều kiện và thời gian sấy, độ dày nguyên liệu càng lớn càng ngăn cản quá trình thoát ẩm xảy ra. Kết quả cho thấy, độ dày càng lớn thì độ ẩm cuối của sản phẩm càng cao. Cụ thể, độ dày 2,5 mm sản phẩm sau sấy có độ ẩm ở mức khoảng 10,01% trong khi đó khi độ dày 7,5 mm thì độ ẩm sản phẩm lên đến 21,88%. Kết quả nghiên cứu cũng phù hợp với Khan và cs (2019) [5], theo đó, độ dày lát cắt của cà tím là 4 mm có thời gian sấy ít hơn độ dày 6 mm và 8 mm. Azizi và cs (2017) [6] cho rằng các lát kiwi có độ dày thấp hơn giúp tăng tốc độ thoát ẩm. Điều đó tác động đến độ hoạt động của nước trong sản phẩm, khi độ dày càng lớn thì độ hoạt động của nước càng cao, đó là yếu tố bất lợi trong quá trình bảo quản sản phẩm. Sản phẩm cam Sành sấy dẻo có a_w phù hợp cho bảo quản ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,65, như vậy ở độ dày 2,5 và 3,5 mm có thể đạt được a_w mong muốn, các mẫu có độ dày lớn hơn đều có a_w khá cao.

Bảng 1. Ảnh hưởng của độ dày đến tính chất hóa hóa lý trong sản phẩm

Độ dày (mm)	Hàm lượng axit toàn phần (%)	Hàm lượng đường khử (căn bản khô)	Hàm lượng naringin (ppm)	Độ ẩm (%)	Độ hoạt động của nước (a_w)
2,5	$0,08^{a}$±0,001	$43,90^{d}$±3,18	$21,12^{a}$±0,53	$10,01^{a}$±0,71	$0,574^{a}$±0,003
3,5	$0,09^{b}$±0,002	$41,80^{d}$±1,18	$24,14^{b}$±0,20	$12,16^{b}$±1,61	$0,686^{b}$±0,014
4,5	$0,13^{c}$±0,004	$37,15^{bc}$±0,83	$25,34^{c}$±0,28	$13,97^{c}$±0,54	$0,711^{c}$±0,006
5,5	$0,15^{d}$±0,003	$38,20^{c}$±0,84	$25,88^{c}$±0,67	$15,14^{c}$±0,86	$0,719^{c}$±0,003
6,5	$0,16^{d}$±0,002	$34,96^{ab}$±0,66	$29,43^{d}$±0,34	$17,18^{d}$±0,47	$0,766^{d}$±0,025
7,5	$0,16^{d}$±0,002	$34,07^{a}$±0,54	$32,59^{e}$±0,74	$21,88^{e}$±0,93	$0,797^{e}$±0,001

Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại; trong cùng một cột các chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95% (p<0,05).

Bảng 1 cho thấy, độ dày lát cắt có ảnh hưởng đến hàm lượng axit toàn phần của sản phẩm. Hàm lượng axit xitric chiếm phần lớn trong múi cam, khoảng 1,41%. Do độ dày nhỏ nên phần tép cam tổn thất nhiều, tạo nên các khoảng rỗng trên sản phẩm. Độ dày càng nhỏ thì hàm lượng axit càng thấp và ngược lại độ dày càng lớn thì hàm lượng axit còn lại trong sản phẩm càng cao. Ở độ dày lát cắt nhỏ nhất là 2,5 mm, độ axit toàn phần cũng thấp nhất chỉ chiếm 0,08%. Ở các bề dày lớn hơn như 5,5 mm, 6,5 mm và 7,5 mm, độ axit ở mức 0,15 - 0,16%, cao gấp 2 lần độ axit của lát cam có độ dày nhỏ. Bên cạnh đó, độ dày cũng ảnh hưởng đến quá trình thẩm thấu. Trong cùng một thời gian ngâm, các lát cam có bề dày nhỏ như 2,5 mm, 3,5 mm có hàm lượng đường khử (theo căn bản khô) cao lần lượt là 43,90 và 41,80, khi bề dày lát cam tăng thì sự mất nước, thấm đường đều giảm dần. Mặt khác, hàm lượng naringin trong sản phẩm cũng bị ảnh hưởng đáng kể khi sản phẩm có độ dày khác nhau, kết quả ở bảng 1 cũng cho thấy, độ dày càng nhỏ thì hàm lượng naringin càng ít. Mặc dù vậy, hàm lượng naringin thể hiện mùi vị đặc trưng của cam Sành, chính vì vậy ở các độ dày 2,5, 3,5 và 4,5 mm

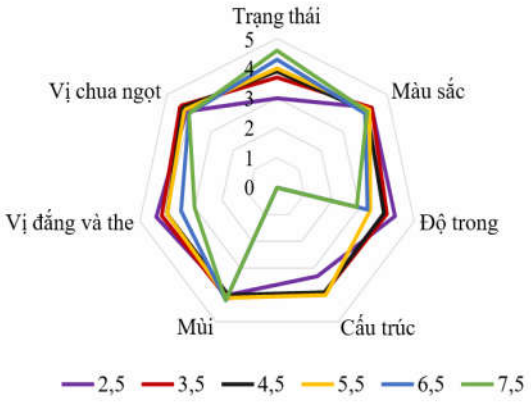
hàm lượng naringin còn lại tương đối phù hợp, không ảnh hưởng nhiều đến điểm cảm quan.

Bảng 2. Ảnh hưởng của độ dày lát cắt đến màu sắc phần vỏ sản phẩm

Độ dày (mm)	Màu sắc của vỏ sản phẩm			Màu sắc của ruột sản phẩm		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
2,5	$36,67^{d}$±1,09	$1,87^{a}$±0,46	$34,80^{d}$±1,06	$43,34^{e}$±1,23	$3,75^{a}$±0,22	$33,97^{d}$±0,57
3,5	$35,84^{cd}$±0,38	$2,13^{a}$±0,02	$33,76^{d}$±1,04	$43,31^{e}$±0,43	$5,67^{b}$±0,31	$25,72^{c}$±0,49
4,5	$34,43^{bc}$±1,06	$2,64^{a}$±0,32	$29,41^{c}$±0,59	$39,44^{d}$±0,79	$5,95^{b}$±0,81	$22,94^{b}$±0,88
5,5	$34,05^{b}$±0,97	$4,93^{b}$±0,78	$28,80^{c}$±0,21	$37,32^{c}$±0,89	$7,76^{c}$±0,83	$21,88^{ab}$±0,74
6,5	$34,06^{b}$±0,62	$6,54^{c}$±0,69	$26,28^{b}$±0,10	$35,10^{b}$±0,62	$7,97^{c}$±0,32	$21,89^{ab}$±1,36
7,5	$31,03^{a}$±0,87	$7,07^{c}$±0,35	$21,00^{a}$±0,89	$33,28^{a}$±1,09	$7,93^{c}$±0,79	$20,98^{a}$±1,44

Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại; trong cùng một cột các chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95% (P<0,05).

Bảng 2 cho thấy, độ sáng của vỏ giảm khi độ dày lát cắt tăng, giá trị L* ở độ dày 2,5 mm đạt 36,37 giảm còn 31,03 ở độ dày 7,5 mm. Bên cạnh đó, giá trị màu a* (đặc trưng cho màu xanh) tăng dần khi độ dày tăng, điều này chứng tỏ độ dày lát cắt càng lớn càng khó giữ lại màu xanh cho vỏ cam. Màu của phần vỏ trở nên sậm hơn. Nghiên cứu sự thay đổi màu sắc trong sấy đối lưu tỏi của Rasouli và cs (2011) [7] cho thấy, việc tăng cả nhiệt độ sấy và độ dày của mẫu làm cho sản phẩm sấy khô sẫm màu hơn. Kết quả phân tích giá trị màu của phần ruột ở bảng 2 cho thấy, độ sáng L* và độ màu b* cũng giảm dần khi tăng độ dày lát cắt. Giá trị L* cao nhất đạt 43,34 và 43,31 ở độ dày 2,5 và 3,5 mm nhưng ở độ dày 7,5 mm giảm chỉ còn 33,28. Cùng với đó, giá trị b* giảm khi tăng chiều dày lát cắt, giá trị này đạt 33,97 ở 2,5 mm giảm xuống còn 21,88 ở 5,5 mm.



Hình 1. Sơ đồ đánh giá cảm quan cam Sành sấy dẻo dạng khoanh ở các độ dày lát cắt khác nhau

Độ dày ban đầu của nguyên liệu cũng ảnh hưởng đến giá trị cảm quan của sản phẩm. Hình 1 cho thấy, trạng thái của sản phẩm có độ dày 2,5 mm là kém nhất, lát cam sau sấy xong hầu như đều co rút lại và méo mó, không giữ được hình dạng khoanh tròn đặc trưng. Trong khi đó, lát cam sấy có độ dày từ 5,5 - 7,5 mm đều có trạng thái tròn đồng đều và không mất phần tép cam. Đối với vị của sản phẩm thì khi nguyên liệu ban đầu có độ dày càng lớn thì vị đắng và the có xu hướng nhiều hơn. Ở mẫu có độ dày 2,5 mm, vị chua ngọt không được hài hòa, thường vị ngọt nhiều hơn vị chua do lượng đường thấm vào cao trong khi tép cam bị mất nhiều, không giữ được thành phần axit và vitamin C có trong cam. Ngược lại, ở các mẫu có độ dày quá lớn, lượng đường thấm vào ít trong cùng thời gian ngâm và tép cam không bị mất nhiều nên sản phẩm có vị chua ngọt hài hòa. Xét về độ trong, do đường thẩm thấu vào ít hơn, quá trình gel hóa tạo trong chưa hoàn toàn nên các mẫu có độ dày lớn tạo độ trong kém hơn các mẫu có độ dày nhỏ. Về cấu trúc, độ dày càng nhỏ sản phẩm càng ít mềm dẻo, thậm chí còn khô cứng, ngược lại độ dày càng lớn làm cho cấu trúc sản phẩm mềm dẻo hơn, do độ dày lớn, tốc độ thoát ẩm ở mặt ngoài diễn ra nhanh hơn ở mặt trong. Tuy nhiên, khi độ dày quá lớn dẫn đến cấu trúc rất mềm, gây ngấy cho cảm quan viên. Đối với điểm cảm quan về mùi vị của 6 độ dày hầu như không khác nhau nhiều. Vị chua ngọt, trạng thái, vị đắng và the là những chỉ tiêu đáng chú ý nhất của sản phẩm cam sành sấy dẻo dạng khoanh, những chỉ tiêu này bị ảnh hưởng bởi độ dày lát cắt. Kết quả

đánh giá cảm quan ở hình 1 cho thấy, độ dày 2,5, 3,5 và 4,5 mm cho điểm cảm quan ổn định ở đa số các chỉ tiêu. Bên cạnh đó, hàm lượng đường, naringin và màu sắc ở 3 độ dày này cũng phù hợp hơn các độ dày còn lại. Tuy nhiên, khi so sánh chỉ tiêu trạng thái, mẫu có độ dày 2,5 mm đạt điểm cảm quan thấp nhất. So sánh giữa hàm lượng đường khử trong sản phẩm thì mẫu ở độ dày 3,5 mm có hàm lượng cao hơn, chứng tỏ quá trình thẩm thấu đường ở độ dày 3,5 mm là thích hợp để tạo được vị chua ngọt hài hòa hơn. Bên cạnh đó, giá trị a_w của mẫu ở độ dày 3,5 mm cũng khá phù hợp với khoảng a_w yêu cầu của sản phẩm sấy dẻo (không quá 0,65). Độ dày này gần đúng với độ dày cố định 0,3 cm mà Solanke và cs (2018) [8] chọn để tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của các chất làm ngọt khác nhau lên các lát cam ngọt trong dung dịch thẩm thấu và cả vị của những lát cam sấy. Tóm lại, độ dày 3,5 mm được chọn làm nhân tố cố định để tiến hành khảo sát thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của chế độ tiền xử lý đến chất lượng cam Sành sấy dẻo

Quá trình chần có thể làm mất các chất dinh dưỡng hòa tan trong nước và nhạy cảm đối với nhiệt. Tác động của thời gian và nhiệt độ chần đến việc làm giảm vị đắng và giảm hàm lượng vitamin C được trình bày ở bảng 3 cho thấy, nhiệt độ chần kết hợp thời gian chần càng cao thì việc loại bỏ naringin càng hiệu quả. Hàm lượng naringin thấp nhất và không có sự khác biệt ở các chế độ chần 80°C - 6 phút (23,30 ppm), 90°C - 5 phút (24,41 ppm), 90°C - 6 phút (23,21 ppm), 100°C - 4 phút (24,36 ppm), 100°C - 5 phút (23,12 ppm) và 100°C - 6 phút (22,72 ppm). Ở các chế độ chần này, hàm lượng naringin giảm gần một nửa so với hàm lượng naringin trong lát cam nguyên liệu ban đầu. Trong khi đó, hàm lượng này còn lại trong sản phẩm rất cao khi chần ở nhiệt độ 80°C trong 1, 2 và 3 phút, tạo ra vị đắng không mong muốn cho sản phẩm. Bên cạnh đó, hàm lượng vitamin C có tầm quan trọng rất lớn trong dinh dưỡng người. Tuy nhiên, vitamin C rất nhạy cảm với nhiệt độ, không bền với nhiệt và tan trong nước nên vitamin C bị tổn thất trong quá trình chần. Sự mất mát của hàm lượng vitamin C trong rau và trái cây thông qua quá trình chần từ 32 - 68%. Bảng 3 cho thấy, thời gian và nhiệt độ chần càng tăng thì sự tổn thất vitamin C càng nhiều. Ở nhiệt độ thấp 80°C, hàm lượng vitamin C được giữ lại cao nhất so với các chế độ chần khác, tuy nhiên, hàm lượng này cũng ở mức rất thấp khi so sánh với nguyên liệu ban đầu, chỉ đạt 5,13 mg% ở thời gian chần 1 phút. Khi chần ở 100°C, hàm lượng vitamin C giảm mạnh và tồn tại không đáng kể trong sản phẩm khi thời gian chần tăng. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Gupta và cs (2008) [4] về quy trình chần nước trên một số loại rau ăn lá nhiệt đới khi thời gian chần tăng dần hàm lượng vitamin C giảm dần.

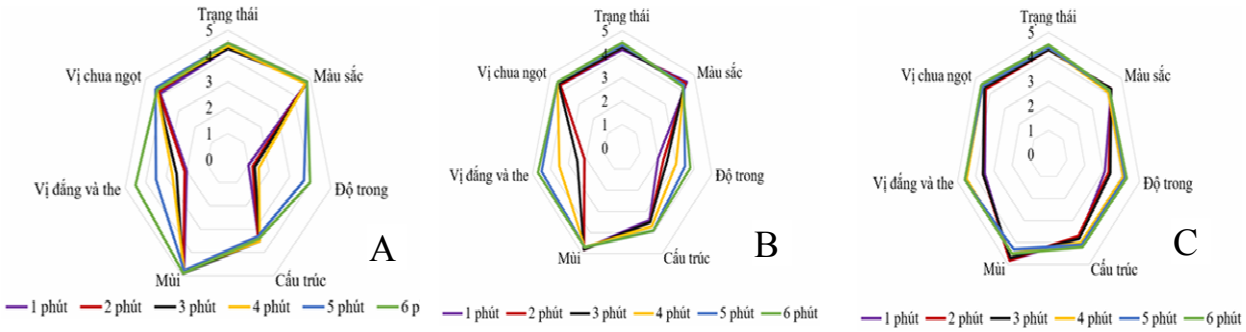
Bảng 3. Ảnh hưởng nhiệt độ và thời gian chần đến naringin, vitamin C và màu sắc của sản phẩm

Nhiệt độ chần (°C)	Thời gian chần (phút)	Naringin (ppm)	Vitamin C (mg%)	L*	a*	b*
80	1	$32,54^{g}\pm0,89$	$5,13^{l}\pm0,53$	$52,04^{j}\pm0,92$	$9,70^{bcde}\pm0,19$	$50,16^{k}\pm0,74$
	2	$33,21^{g}\pm1,01$	$4,75^{k}\pm0,20$	$44,99^{h}\pm0,51$	$7,70^{a}\pm1,12$	$49,72^{k}\pm1,15$
	3	$33,08^{h}\pm0,87$	$4,56^{k}\pm0,00$	$43,21^{g}\pm0,88$	$8,58^{abc}\pm0,01$	$48,70^{k}\pm1,85$
	4	$30,50^{f}\pm1,41$	$4,22^{j}\pm0,18$	$42,95^{g}\pm1,06$	$9,51^{abcd}\pm1,29$	$33,04^{i}\pm1,23$
	5	$26,94^{de}\pm0,73$	$3,75^{i}\pm0,10$	$37,03^{e}\pm0,92$	$8,14^{ab}\pm1,58$	$29,29^{fg}\pm0,20$
	6	$23,30^{abc}\pm0,20$	$3,43^{h}\pm0,10$	$35,45^{de}\pm0,66$	$11,00^{de}\pm0,85$	$26,29^{de}\pm0,02$

90	1	29,39^{f}±0,40	2,36^{g}±0,23	48,61^{i}±0,81	10,79^{de}±1,43	38,60^{j}±0,66
	2	27,61^{e}±0,47	2,45^{g}±0,09	39,76^{f}±1,09	11,48^{ef}±2,00	32,82^{i}±0,66
	3	27,12^{e}±0,13	1,91^{ef}±0,18	40,48^{f}±0,18	9,72^{bcde}±0,54	31,64^{hi}±0,64
	4	26,63^{de}±0,47	1,98^{f}±0,10	39,40^{f}±1,26	9,84^{bcde}±1,59	30,64^{gh}±0,98
	5	24,41^{c}±0,63	1,69^{def}±0,10	34,95^{d}±0,89	9,26^{abcd}±0,10	23,25^{ab}±1,09
	6	23,21^{ab}±0,15	1,57^{d}±0,00	34,45^{d}±0,90	10,66^{de}±1,12	21,92^{a}±0,96
100	1	27,39^{e}±1,39	1,64^{de}±0,10	35,21^{d}±0,68	10,64^{de}±1,93	32,35^{hi}±1,13
	2	26,85^{de}±0,23	1,11^{c}±0,10	34,91^{d}±1,08	10,24^{cde}±1,14	32,62^{i}±0,72
	3	25,88^{d}±0,47	0,85^{c}±0,18	31,80^{c}±1,92	13,27^{f}±0,06	27,74^{ef}±1,51
	4	24,36^{bc}±0,28	0,41^{b}±0,10	30,56^{bc}±1,40	9,70^{bcde}±0,64	25,28^{cd}±1,30
	5	23,12^{a}±0,58	0,06^{a}±0,10	30,05^{ab}±0,73	8,57^{abc}±1,18	24,57^{bcd}±0,20
	6	22,72^{a}±0,46	0,00^{a}±0,00	28,46^{a}±0,62	9,76^{bcde}±0,39	24,41^{bc}±1,46

Ghi chú: Giá trị được thể hiện bằng trung bình ± độ lệch chuẩn của phép đo 3 lần lặp lại. Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, p<0,05.

Mặt khác, ở bảng 3 cho thấy, chế độ chần cũng có ảnh hưởng ý nghĩa đến màu sắc cam Sành sấy dẻo. Khi nhiệt độ và thời gian chần càng cao, phần vỏ của lát cam có xu hướng chuyển từ màu xanh đặc trưng sang màu sậm vì hầu hết hợp chất màu trong vỏ cam là chlorophyll, màu xanh này rất dễ bị mất đi dưới tác dụng của nhiệt độ tạo ra hợp chất pheophytin có màu olive. Do đó, độ màu a* của vỏ cũng tăng lên. Khi chần trong thời gian 1 phút với các nhiệt độ 80°C và 100°C, độ màu a* của vỏ chỉ nằm trong khoảng lần lượt là 3,62 và 5,00 nhưng ở 6 phút với nhiệt độ chần tương tự thì giá trị màu này tăng lên rõ rệt ở mức 7,42 và 10,69. Do màu vỏ sậm dần nên độ sáng L* cũng giảm dần. Begum và cs (1997) [9] đã nghiên cứu quy luật tương tự này trên nguyên liệu măng tây sau chần, màu xanh trở nên vàng hơn.



Hình 2. Giản đồ cảm quan sản phẩm ở nhiệt độ chần 80°C (A), 90°C (B) và 100°C (C) theo các thời gian chần khác nhau

Màu sắc của phần thịt quả cam cũng cho thấy, độ sáng L* của phần ruột cũng giảm dần khi nhiệt độ và thời gian chần tăng. Màu cam của phần ruột tồn tại chủ yếu dưới dạng carotenoid, hợp chất này không tan trong nước, do đó độ màu b* của ruột giảm không đáng kể ở các nhiệt độ 90°C và 100°C. Tuy nhiên, tại chế độ chần 80°C, độ màu b* giảm mạnh từ giá trị 50,16 ở 1 phút giảm còn 26,29 ở 6 phút chần. Tóm lại, độ sáng của sản phẩm giảm dần khi nhiệt độ và thời gian chần tăng, độ sáng giữ được tốt ở 2 nhiệt độ chần là 80°C và 90°C. Mặc dù ở nhiệt độ chần 80°C, hàm lượng vitamin C có trong sản phẩm cao nhất, tuy nhiên hàm lượng naringin vẫn còn cao, sản phẩm có độ trong kém

do quá trình chần chưa thủy phân hoàn toàn pectin để tạo gel, dẫn đến giá trị cảm quan thấp.

Giản đồ cảm quan cho thấy, kết quả điểm cảm quan ở chỉ tiêu vị đắng the của sản phẩm khi chần với 90°C trong 5 phút và 6 phút (Hình 2B), 100°C trong 5 và 6 phút không có sự khác biệt lớn (Hình 2C). Kết quả cho thấy, hàm lượng vitamin C của sản phẩm khi chần ở 90°C trong 5 và 6 phút cao hơn mẫu ở chế độ chần 100°C trong 5 và 6 phút. Bên cạnh đó, điểm cảm quan về độ trong của mẫu được chần ở 90°C - 6 phút cao hơn mẫu chần ở 90°C - 5 phút. Như vậy, để đáp ứng yêu cầu giảm bớt hàm lượng naringin, giữ được màu sắc, vitamin, độ trong tốt thì chế độ xử lý nhiệt 90°C trong 6 phút được chọn làm nghiệm thức tốt nhất của thí nghiệm khảo sát chế độ chần ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định độ dày và chế độ tiền xử lý thích hợp cho sản phẩm cam Sành sấy dẻo dạng khoanh. Kết quả đã xác định được lát cam có độ dày 3,5 mm là phù hợp, cho sản phẩm có trạng thái tròn đồng đều, không mất phần tép cam, có vị chua ngọt hài hòa, cấu trúc mềm dẻo. Bên cạnh đó, chế độ tiền xử lý nhiệt cam sành cắt lát ở nhiệt độ 90°C trong 6 phút giúp loại bỏ một phần vị đắng (naringin) mà vẫn giữ được màu sắc, vitamin C và cho chất lượng sản phẩm ổn định.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện thông qua đề tài "Nghiên cứu quy trình công nghệ sản xuất các sản phẩm từ cam Sành (Citrus sinensis)" theo hợp đồng thực hiện nhiệm vụ khoa học và công nghệ số 10/HĐ-SKHCN ngày 18/10/2021 giữa Sở Khoa học và Công nghệ thành phố Cần Thơ và Trường Đại học Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gojiya, D. K. and Vyas, D. M. (2015). Studies on effect of Slice Thickness and Temperature on Drying Kinetics of Kothimbda (*Cucumis callosus*) and its Storage. *Journal of Food Processing & Technology*, 6 (1): 1000406. doi: 10.4172/2157-7110.1000406.

2. Rafiee, S., Mohammad, S., Alireza, K., Mahmoud, O., Ali, J., Seyed, S. M. & Hossain, M. (2010). *International Journal of Food Properties*, 13: 32 – 40. doi: 10.1080/10942910802144345.

3. Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Thị Hồng Thảo, Nguyễn Hồng Phúc và Nguyễn Kim Phụng (2020). Khảo sát khả năng chống hóa nâu của acid ascorbic và ảnh hưởng nhiệt độ sấy đến chất lượng trái bần (*Sonneratia caseolaric* L.). *Tạp chí Công thương*, 1: 342 - 348.

4. Gupta, S., Lakshmi, A. J. & Prakash, J. (2008). Effect of different blanching treatments on ascorbic acid retention in green leafy vegetables. *Department of Studies in Food Science & Nutrition*, 7 (2): 111 - 116.

5. Khan, M. J., Yeasmin, F., Islam, M. N., Ahmmed, R., Das, P. C. & Ali, M. H. (2019). Effect of pretreatments on drying behavior of eggplant. *Journal of Bangladesh Agricultural University*, 17 (1): 105 – 109.

6. Azizi, A., Gadinski, M. R., Li, Q., AlSaud, M. A., Wang, J., Wang, Y., ... & Wang, Q. (2017). High - performance polymers sandwiched with chemical vapor deposited hexagonal boron nitrides as scalable high - temperature dielectric materials. *Advanced Materials*, 29 (35): 1701864.

7. Rasouli, M., Ghasemzadeh, H. R. & Nalbandi, H. (2011). Convective drying of garlic (*Allium sativum* L.): Part I: Drying kinetics, mathematical modeling, and change in color. *Australian Journal of Crop Science*, 5 (13): 1707 – 1714.

8. Solanke, S., Deshmukh, S. & Patil, B. N. (2018). Development of Osmo-convective drying of sweet orange slices by using different osmotic agents. *International Journal of Chemical Studies*, 6 (5), 838 – 842.

9. Begum, S. & Brewer, M. S. (1997). Microwave blanching effects on color, chemical, and sensory characteristics of frozen asparagus. *Journal of Food Quality*, 20 (6): 471 – 481.

EFFECT OF SLICE THICKNESS AND HEAT PRE - TREATMENT OF MATERIALS ON QUALITY DRYED CAM SANH (*Citrus reticulata* x *sinensis*)

Tran Bach Long[1], Huynh Xuan Phong[1],

Tran Thanh Truc[1, 2], Nguyen Van Muoi[1, *]

[1] *Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University*

[2] *School of Graduate, Can Tho University*

[*] *Email: nvmuoi@ctu.edu.vn*

Summary

The objective of the study was to determine the thickness of slices of Cam Sanh (*Citrus reticulata x sinensis*) and the heat pretreatment regime on the quality of dried oranges. The study was conducted to determine the thickness of the Cam Sanh slice of 2.5, 3.5, 4.5, 5.5, 6.5 and 7.5 mm, continuing to slice Cam Sanh pretreated with water at 80, 90 and 100°C for 1, 2, 3, 4, 5 and 6 minutes. The research results show that Cam Sanh slices with a thickness of 3.5 mm are suitable for good condition for dried oranges. In addition, pre - treatment of sliced oranges at 90°C for 6 minutes helps to remove part of the bitter taste (naringin) while preserving the color, vitamin C and quality stability.

Keywords: *Cam Sanh, pretreatment, quality, slices, thickness.*

Người phản biện: TS. Lê Đức Thông

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 21/3/2023

Ngày duyệt đăng: 28/3/2023

THIẾT LẬP PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN GEN MÃ HOÁ BONT TÝP A, B TỪ ARN THÔNG TIN

Trần Thị Minh Nguyệt[1,*], Phan Phương Lan[1],
Nguyễn Thành Trung[2], Phạm Bảo Yên[1]

TÓM TẮT

Độc tố thần kinh botulinum (BoNT) do vi khuẩn *Clostridium botulinum (C. botulinum)* sinh ra là chất độc cực mạnh gây ra tình trạng liệt thần kinh có thể dẫn đến tử vong trong vòng 24 giờ (gọi là ngộ độc thịt botulism). Dựa trên cơ sở huyết thanh học, BoNT được chia thành 7 týp từ A-G trong đó 2 týp A, B phổ biến nhất gây ngộ độc thực phẩm ở người. Việc phát triển các phương pháp nhận diện *C. botulinum* và BoNT trong thực phẩm trong thời gian ngắn với độ chính xác và độ nhạy cao là quan trọng hàng đầu với sức khoẻ cộng đồng. Độc tố BoNT thường được phát hiện bằng cách sử dụng các phép thử sinh học trên chuột, có nhược điểm là bước chuẩn bị phức tạp, chi phí cao và gây ra những tranh cãi về quyền động vật. Một phương pháp khác được đánh giá cho độ nhạy tương đương với phép thử sinh học trên chuột để phát hiện BoNT là Real-time PCR (RT-PCR) nhân bản đoạn gen đặc hiệu của *C. botulinum*. Trong nghiên cứu này, đã tiếp cận phương pháp phát hiện gen mã hoá BoNT týp A và BoNT týp B từ mARN, phân tử chứng tỏ quá trình biểu hiện gen đang diễn ra. Việc đo lượng mARN cung cấp bằng chứng về việc biểu hiện gen vì mARN bị phân huỷ nhanh trong tế bào vi khuẩn. Sau khi tách chiết ARN tổng số ở các thời điểm 24, 48, 72 và 96 giờ, phản ứng phiên mã ngược được tiến hành để tạo ra cDNA dùng làm khuôn cho phản ứng PCR đoạn gen bont/a và bont/b. Kết quả ở các thời điểm cho thấy, sản phẩm PCR khuếch đại từ sản phẩm cDNA tăng dần và đạt cực đại ở 96 giờ từ thời điểm bắt đầu nuôi cấy, cụ thể ở Ct 14,5 tín hiệu khuếch đại bắt đầu được ghi nhận.

Từ khoá: *BoNT, độc tố thần kinh, cDNA, mARN, týp A/B, RT-PCR.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

C. botulinum là vi khuẩn Gram dương, kỵ khí bắt buộc, sinh độc tố thần kinh botulinum (botulinum neurotoxin – BoNT) [1]. Bên cạnh việc sinh độc tố, khả năng hình thành bào tử của *C. botulinum* đóng một vai trò quan trọng trong việc làm tăng nguy cơ mắc botulism (ngộ độc thịt) thông qua việc tạo điều kiện thuận lợi cho sự tồn tại và lan truyền của vi khuẩn trong môi trường, đặc biệt trong các thực phẩm đóng hộp, bảo quản hoặc lên men ngày càng phổ biến.

BoNT là độc tố được xếp loại độc bảng A, là loại độc nhất đã được biết đến với liều gây chết 1 - 2 ng/kg khối lượng cơ thể, tác động nhanh, có thể gây tử vong trong vòng 24 giờ [2]. Các chủng Clostridium đa dạng biểu hiện các kiểu huyết thanh BoNT khác nhau được phân thành 7 týp (serotype) bao gồm từ A đến G, trong đó BoNT/A, B, E và F chịu trách nhiệm cho phần lớn các trường hợp ngộ độc ở người [3], [4]. BoNT ở nồng độ từ rất thấp đã gây ngộ độc, sự đa dạng của các týp của *C. botulinum* và các nền mẫu thực phẩm với nhiều thành phần khá phức tạp là những vấn đề thách thức cho các phương pháp phát hiện BoNT. Hiện nay, các phương pháp phát hiện được sử dụng trong các trường hợp nghi ngờ nhiễm botulism thường bao gồm: Nuôi cấy kết hợp sử dụng động vật sống thử nghiệm trên chuột (Mouse bioassay-MBA), các phương pháp khuếch

[1] Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
[2] Viện Kiểm nghiệm An toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia
*Email: minhnguyetanh2002@gmail.com

đại gen dựa trên trình tự đoạn ADN/ARN và dựa trên độc tố (miễn dịch và hoạt tính cắt cơ chất đặc hiệu của BoNT). Trong 3 phương pháp trên thì phương pháp sử dụng chuột sống có độ nhạy cao với giới hạn phát hiện 5 - 10 pg BoNT được sử dụng phổ biến và được coi là "tiêu chuẩn vàng" để phát hiện tất cả các kiểu huyết thanh của BoNT [5 - 9]. Tuy nhiên, thời gian của loại xét nghiệm này có thể kéo dài tới vài ngày và các vấn đề đạo đức sử dụng động vật sống là những hạn chế chủ yếu của MBA.

Phương pháp Real-time PCR nhân bản đoạn gen đặc hiệu của *C. botulinum* được xem là kỹ thuật cho độ nhạy tương đương với MBA. Nhằm khắc phục hạn chế của Real - time PCR ở khả năng không thể phân biệt được các phân tử ADN nằm bên trong và bên ngoài tế bào, cũng như ADN của tế bào sống và tế bào chết và thiếu thông tin liên quan đến độc tố trong các chủng có gen kép hoặc thể khảm, nên trong nghiên cứu này đã đưa ra một chiến lược dùng mARN thay vì ADN như các phương pháp hiện có để phát hiện *C. botulinum* týp A-B với hiệu quả cao hơn [10]. Đoạn gen mã hoá BoNT týp A (bont/a) và B (bont/b) có chiều dài tương ứng 250 bp và 205 bp có thể được phát hiện bằng phản ứng khuếch đại thông thường sử dụng các cặp mồi đặc hiệu. Bên cạnh đó, việc nhận biết các đoạn gen bont/a và bont/b từ khuôn hệ gen ADN (genome) hoặc cDNA do quá trình phiên mã ngược cũng là một phương pháp tốt để đo lượng độc tố BoNT tạo ra ở mức độ mARN. Phương pháp này cũng đã được sử dụng tương đối phổ biến để để định lượng độc tố của một số chủng *C. botulinum* týp A, B và E [1], [9].

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Các chủng *Clostridium botulinum* týp A và B lần lượt được ký hiệu là 671 và Cb do Viện Kiểm nghiệm An toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia cung cấp.

Các hoá chất như kit tách chiết ARN/ADN tổng số từ hãng Invitrogen (Mỹ), kit tổng hợp cDNA từ hãng Enzynomic (Hàn Quốc), Solis Biodyne (Estonia) và các hoá chất thông dụng dùng trong sinh học phân tử được mua từ Serva, Thermo Scientific (Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết ARN tổng số

Các chủng vi khuẩn *Clostridium botulinum* týp A (chủng 671) và B (Cb) được nuôi cấy theo TCVN 9049 : 2012 sử dụng môi trường Difco cooked meat (môi trường canh thang thịt) (1 lít môi trường chứa tim bò 98 g, proteoza pepton 20 g, dextroza 2 g và natri clorit 5 g). Môi trường được khử trùng ở 121°C trong 15 phút và để nguội. Ban đầu, 100 µl chủng gốc từ -80°C được hoà vào ống nghiệm thuỷ tinh chứa 10 ml môi trường canh thang thịt ở trên, nuôi lắc qua đêm ở 37°C. Tiếp đó, 1 ml dịch tế bào sẽ được thu lần lượt sau 4 thời điểm nuôi cấy ở 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ và 96 giờ và tiến hành tách chiết ARN tổng số theo quy trình của nhà sản xuất PureLink RNA Mini Kit, cung cấp bởi hãng Invitrogen (Mỹ). Mẫu ARN tổng số sau khi tách chiết được đo nồng độ và kiểm tra độ sạch trên thiết bị huỳnh quang Nanodrop.

2.2.2. Phương pháp tổng hợp cDNA

Những mẫu ARN tổng số sau khi tách chiết bằng kit được sử dụng để tổng hợp cDNA theo quy trình của kit Enzynomic (Hàn Quốc). Cụ thể, 60 ng ARN tổng số được bổ sung thêm 1 µl mồi hexamer ngẫu nhiên 100 mM, 2 µl hỗn hợp các dNTP 2 mM, 2 µl đệm 10X M-MLV RT và 1 µl enzim phiên mã ngược M-MLV Reverse Transcriptase 200 U. Thêm nước vào cho đến khi thể tích phản ứng đạt 20 µl. Cài đặt nhiệt độ 25°C trong 10 phút để mồi ngẫu nhiên gắn vào ARN khuôn, tiếp theo 42°C trong 60 phút và bất hoạt enzim ở 95°C trong 5 phút sau đó giữ lạnh để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.3. Phương pháp khuếch đại đoạn gen bont/a/b

Các cDNA thu nhận được từ phản ứng phiên mã ngược tại 4 thời điểm được sử dụng làm khuôn cho phản ứng khuếch đại gen bont a/b với các cặp mồi đặc trưng. Ở đây, có sử dụng phản ứng khuếch đại PCR thông thường và đồng thời cũng sử dụng phản ứng RT- PCR sử dụng Sybr Green để phát hiện tín hiệu khuếch đại thu nhận được. Trình tự mồi, thành phần phản ứng và chu trình nhiệt sử dụng để nhân các đoạn gen bont/a/b được thể hiện trong bảng 1, 2 và hình 2.

Bảng 1. Trình tự mồi và chu trình nhiệt cho phản ứng PCR thông thường của đoạn gen bont/a và bont/b

	Đoạn gen bont/a	Đoạn gen bont/b
Trình tự mồi	*bonta/F3* *5'-* TCAATACATTAGATTTAGCCCA-*3'* *bonta/B3:* *5'-* CCCAAATGTTCTAAGTTCCT *-3'*	*bontb/ Cbb1-F* 5'-CAggAg AAgTggAgCGAAAA-3' *bontb/ Cbb1-R 5'-CTTgCg CCTTTgTTTTCTTg-3'*
Kích hoạt và biến tính ban đầu	5 phút /95˚C	5 phút/95˚C
Khuếch đại	30 giây /95˚C	20 giây /95˚C
	20 giây /59˚C	20 giây /59˚C
	20 giây /72˚C	20 giây /72˚C
Số lượng chu trình khuếch đại	30	40
Kéo dài cuối cùng	10 phút /72˚C	10 phút /72˚C

Bảng 2. Thành phần phản ứng PCR thông thường và RT-PCR của đoạn gen bont/a và bont/b

STT	Thành phần PCR thông thường			Thành phần RT-PCR	
1	Master mix Go taq 2x	7,5 µl		Top real qPCR SYBR Premix 2x	7,5 µl
2	10 µM Primer *bonta/F3 (hoặc bontb/ Cbb1-F)*	0,5 µl		10 µM Primer *bonta/F3 (hoặc bontb/ Cbb1-F)*	0,5 µl
3	10 µM Primer *bonta/B3 (hoặc bontb/ Cbb1-R)*	0,5 µl		10 µM Primer *bonta/B3 (hoặc bontb/ Cbb1-R)*	0,5 µl
4	Khuôn cDNA	1 µl		Khuôn cDNA	1 µl
5	H_2O	5,5 µl		H_2O	5,5 µl
6	Tổng thể tích phản ứng	15 µl		Tổng thể tích phản ứng	15 µl

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

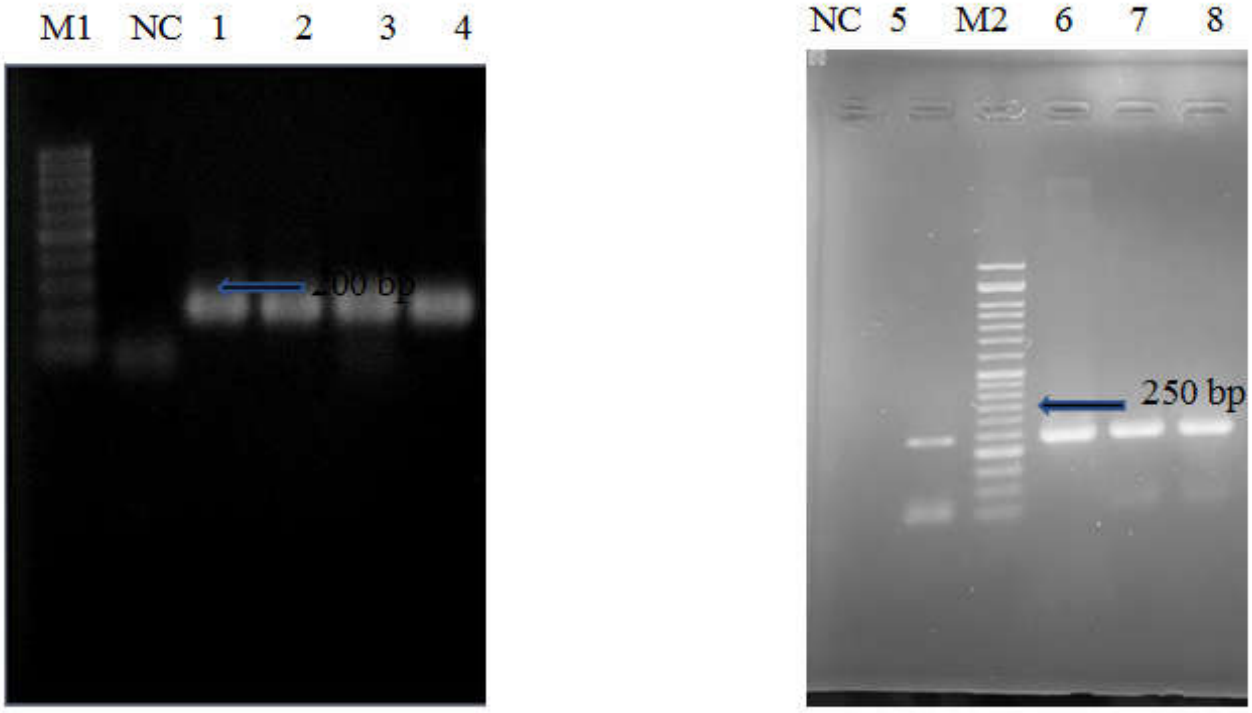
3.1. Kết quả tách chiết ARN tổng số từ chủng *C. botulinum* týp A (671) và B (Cb)

ARN tổng số từ các chủng *Clostridium botulinum* A và B nuôi cấy tại 4 thời điểm khác nhau được tách chiết theo quy trình hướng dẫn từ

nhà sản xuất PureLink RNA Mini Kit, cung cấp bởi hãng Invitrogen (Mỹ). Sau khi tách chiết, ARN được tiến hành đo nồng độ và xác định độ sạch. Nồng độ ARN tổng số của mẫu 671 ở 4 thời điểm lần lượt là 13,9 ng/µl, 19,11 ng/µl, 77,6 ng/µl và 34,5/µl, trong khi nồng độ ARN tổng số của mẫu Cb ở 4 thời điểm lần lượt là 33,7 ng/µl, 47,6 ng/µl, 112,7 ng/µl, 84,5 ng/µl. Các ARN này sẽ được dùng làm khuôn để tổng hợp cDNA phục vụ cho thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Kết quả khuếch đại đoạn gen bont/a; bont/b dùng cặp mồi đặc trưng

Các sản phẩm ARN sau khi tách chiết tại các thời điểm được sử dụng làm khuôn cho sản phẩm phiên mã ngược tổng hợp cDNA theo quy trình của nhà sản xuất. Sau đó, 360 ng khuôn cDNA tại mỗi thời điểm được sử dụng để nhân đoạn gen bont/a có kích thước 250 bp với cặp mồi F3/B3 trong khi đoạn gen bont/b có kích thước khoảng 200 bp cũng được nhân lên với cặp mồi đặc trưng Cbb1 F/R. Các sản phẩm khuếch đại được thể hiện bằng phương pháp điện di ADN trên gel agaroza 2% như ở hình 1a và 1b.



Hình 1. Sản phẩm khuếch đại gen bont/b và bont a

M1: Marker 100 bp; M2: marker 50 bp, NC: đối chứng âm

1 đến 4: sản phẩm khuếch đại gen bont/b ở 4 thời điểm 24, 48, 72 và 96 giờ

5 đến 8: sản phẩm khuếch đại gen bont/a ở 4 thời điểm 24, 48, 72 và 96 giờ

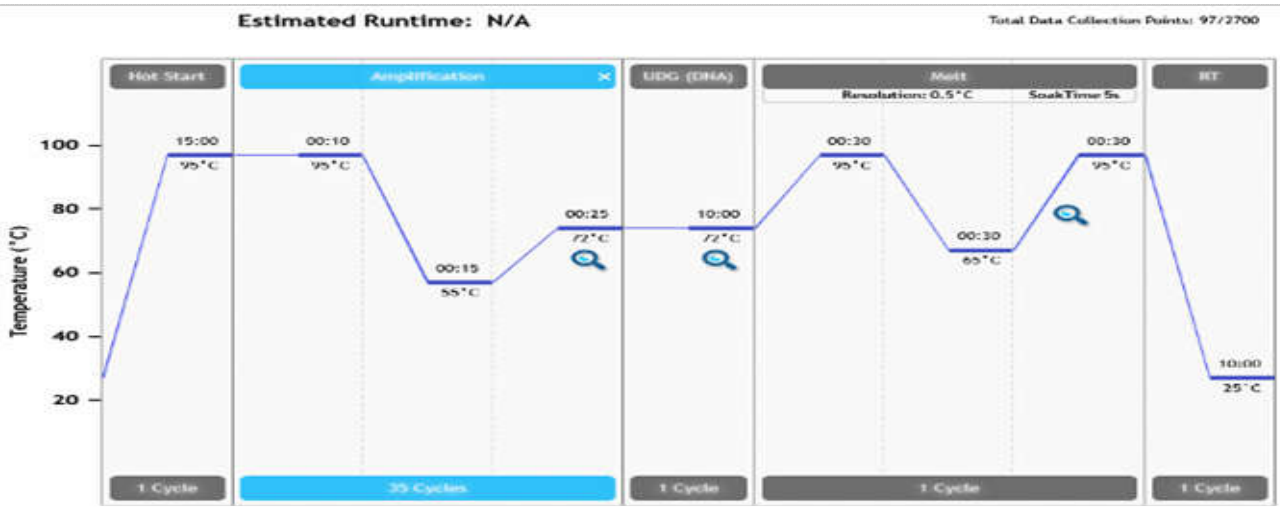
Kết quả điện di ở hình 1 cho thấy, các sản phẩm khuếch đại sử dụng khuôn cDNA và các cặp mồi đặc trưng cho gen bont/b và gen bont/a đã được nhân lên đặc hiệu. Điều đó chứng tỏ các mồi và các điều kiện sử dụng cho phản ứng tổng hợp cDNA cũng như PCR đều được thiết kế phù hợp. Hơn nữa, sản phẩm PCR cho băng sáng nét theo độ tăng dần về thời gian. Điều này cho phép dự đoán rằng cDNA cũng như mARN ngày càng được tổng hợp nhiều hơn.

Để lý giải tại tại sao nồng độ ARN tổng số từ 2 chủng đều cao nhất ở 72 giờ nhưng sản phẩm khuếch đại đoạn gen bont/a và bont/b với các cặp mồi đặc trưng lại đạt cực đại ở 96 giờ, có thể giải thích rằng, ARN tổng số không chỉ gồm sản phẩm phiên mã mARN của rất nhiều gen khác nhau mà

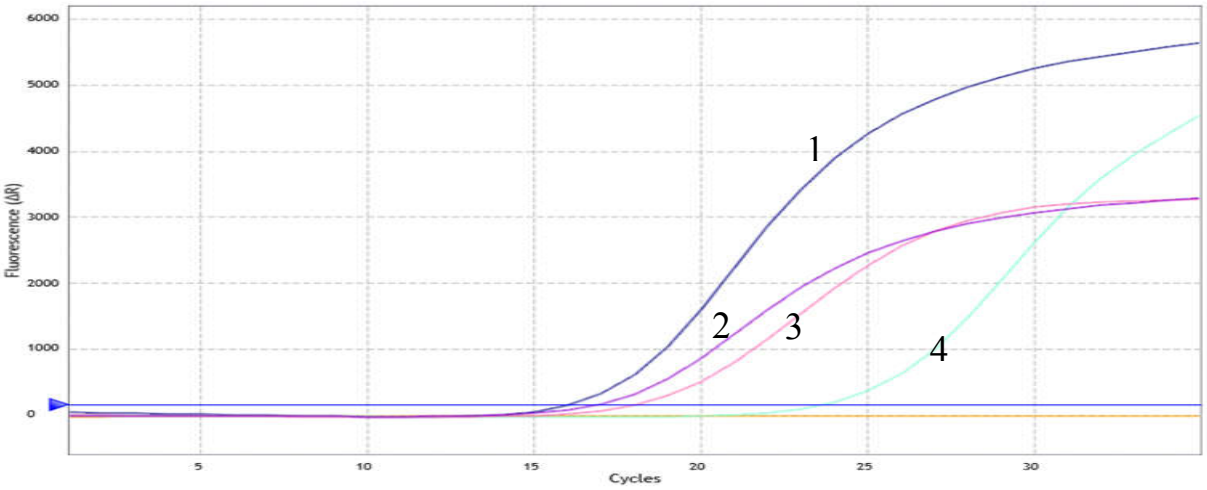
còn bao gồm các ARN khác như rARN và tARN. Các bản sao mARN chỉ tồn tại trong thời gian rất ngắn và chỉ có thể được phát hiện trong các tế bào sống, nhiều ARN sẽ bị mất đi trong quá trình ly giải của tế bào. Hơn nữa, sản phẩm khuếch đại đoạn gen trên dựa trên khuôn là cDNA tổng số, sản phẩm của quá trình phiên mã ngược từ mARN nên nếu sản phẩm càng nhiều chứng tỏ mRNA càng được tổng hợp nhiều. Điều này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của McGrath và cs (2000) [9].

3.3. Tín hiệu khuếch đại trong phản ứng Real time

Song song với phương pháp khuếch đại thông thường và sử dụng phương pháp điện di trên gel agaroza, còn sử dụng phương pháp Real time PCR để nhận biết tín hiệu khuếch đại. 360 ng sản phẩm cDNA (từ bont/b) tương ứng với 4 thời điểm nêu trên lần lượt được sử dụng làm khuôn cho phản ứng Real time PCR dùng SYBR Green. Chu trình phản ứng và các tín hiệu khuếch đại thu được lần lượt được thể hiện trên bảng 2, hình 2, 3 và 4.



Hình 2. Chu trình tối ưu phản ứng Real time- PCR



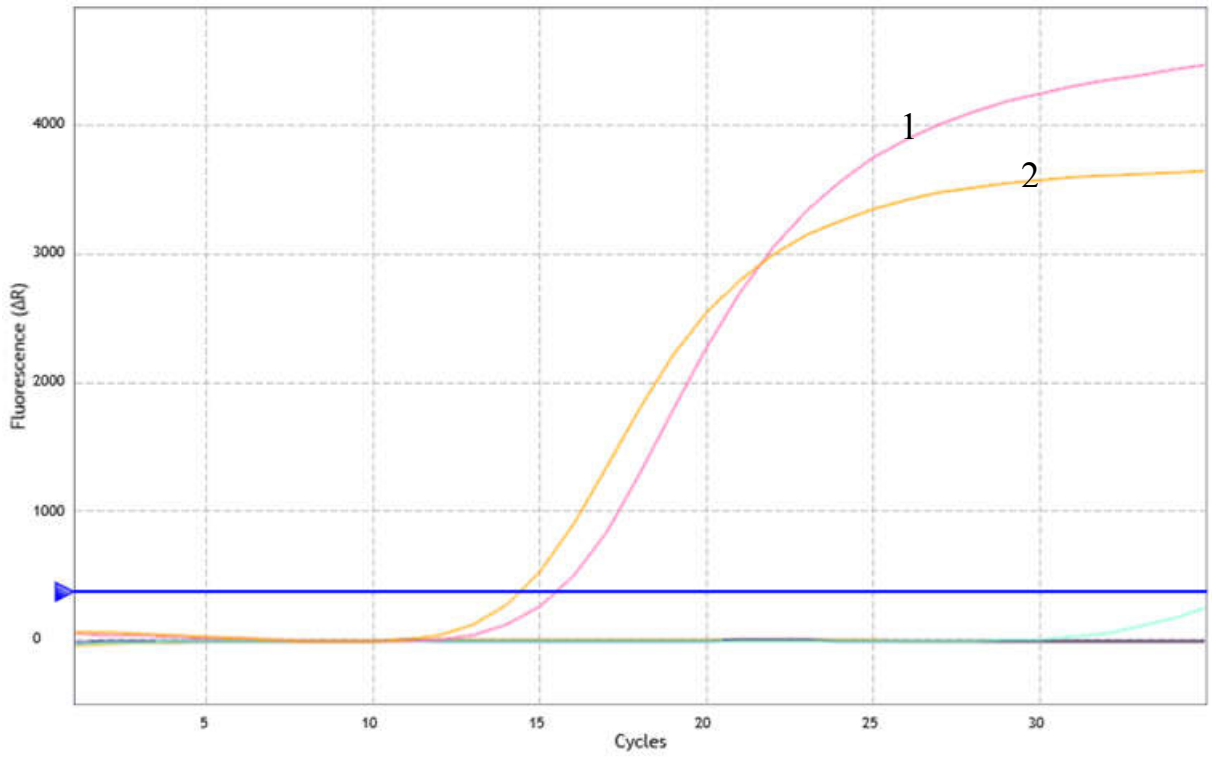
Hình 3. Đường khuếch đại phản ứng Real time với khuôn cDNA thời điểm 24 và 48 giờ

1: Đường khuếch đại với khuôn cDNA thời điểm 24 giờ

2: Đường khuếch đại với khuôn cDNA thời điểm 48 giờ

3: Đường khuếch đại với khuôn cDNA pha loãng 20 lần thời điểm 24 giờ

4: Đường khuếch đại với khuôn cDNA pha loãng 20 lần thời điểm 48 giờ



Hình 4. Đường khuếch đại phản ứng Real time với khuôn cDNA thời điểm 72 và 96 giờ

1: Đường khuếch đại với khuôn cDNA thời điểm 72 giờ

2: Đường khuếch đại với khuôn cDNA thời điểm 96 giờ

Bảng 3. Chu kỳ ghi nhận tín hiệu khuếch đại ở các thời điểm khác nhau

STT	Tên mẫu	Tín hiệu khuếch đại (Ct)
1	Khuôn cDNA ở thời điểm 24 giờ	18,2
2	Khuôn cDNA ở thời điểm 48 giờ	17,02
3	Khuôn cDNA đại ở thời điểm 72 giờ	15,6
4	Khuôn cDNA ở thời điểm 96 giờ	14,5
5	Đối chứng âm	Không thu nhận tín hiệu

Kết quả ở bảng 3 và các hình 2, 3, 4 cho thấy, tín hiệu khuếch đại sơ bộ từ khuôn cDNA tương ứng với thời gian nuôi cấy chủng ở 96 giờ đang cho kết quả tốt nhất. Đây là những tín hiệu khả quan chứng tỏ quá trình biểu hiện gen ở mức ARN đang diễn ra.

Thí nghiệm tương tự dùng 360 ng sản phẩm cDNA của bont/a thu nhận từ chủng 671 tương ứng với 4 thời điểm cũng lần lượt được sử dụng làm khuôn cho phản ứng khuếch đại Real time PCR dùng SYBR Green (kết quả không trình bày cụ thể).

Có thể thấy rằng, ARN đích của *C. botulinum* týp A và B đã được tách chiết và việc phát hiện gen mã hoá cho các độc tố týp A, B từ ARN cũng thành công bằng cách sử dụng kỹ thuật RT-PCR như mô tả ở trên. Thử nghiệm này đã được chứng minh là nhạy hơn và nhanh hơn so với thử nghiệm sinh học trên chuột đối với gen mã hoá độc tố týp E [9]. Khi phương pháp RT-PCR được so sánh với thử nghiệm sinh học trên chuột, cả hai thử nghiệm

đều cho thấy rằng ở giai đoạn tĩnh, *C. botulinum* týp E sinh trưởng trong môi trường canh thang thịt đã tạo ra lượng BoNT nhiều hơn 100 lần so với *C. botulinum* týp E sinh trưởng trong môi trường BHI. Mối tương quan này chỉ ra rằng, kỹ thuật RT-PCR có thể được sử dụng như một phương pháp hiệu quả hơn để phát hiện biểu hiện gen độc tố *C. botulinum* so với xét nghiệm sinh học trên chuột.

4. KẾT LUẬN

Đã tổng hợp cDNA thành công từ mẫu ARN tổng số tách chiết ở 4 thời điểm nuôi cấy chủng và nhận thấy rằng ở thời điểm nuôi cấy 96 giờ có thể cho ra được lượng ARN cũng như cDNA nhiều nhất. Đây là những kết quả khảo sát ban đầu và có ý nghĩa quan trọng vì lượng mARN tạo ra là bằng chứng rõ rệt nhất cho thấy sự biểu hiện của gen sản sinh độc tố đang diễn ra. Việc phát hiện được sự biểu hiện gen ở mức độ ARN đối với độc tố thần kinh botulinum sẽ giúp ích cho quá trình thử nghiệm sinh học trên chuột do những hạn chế về mặt thời gian, kinh tế cũng như vấn đề đạo đức mà phép thử hoạt tính sinh học trên chuột mang lại.

LỜI CẢM ƠN

Quỹ đổi mới sáng tạo Vingroup (VIN IF) đã tài trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hatheway C. L. (1992). *Clostridium botulinum* and other clostridia that produce botulinum toxin. In: Hauschild A H W, Dodds K L, editors. Clostridium botulinum: ecology and control in foods. New York, N.Y: Marcel Dekker, Inc.; 3–20.

2. Middlebrook J. L. (1989). Cell surface receptors for protein toxins. In: Simpson L L, editor. Botulinum neurotoxin and tetanus toxin. San Diego, Calif: *Academic Press*; 95–119.

3. Collins M. D., East A. K. (1998). Phylogeny and taxonomy of the food-borne pathogen *Clostridium botulinum* and its neurotoxins. *J. Appl. Microbiol.*; 5–17; 84.

4. Harris L., Griffiths M. W. (1992). The detection of food-borne pathogens by the polymerase chain reaction. *Food Res Int.*; 457–469; 25.

5. Aranada E., Rodriguez M. M., Cordoba J. J. (1997). Detection of *Clostridium botuli*num types A, B, E and F in foods by PCR and DNA probe. *Lett Appl Microbiol.*; 186–190;25.

6. Cheng L. W., Land K. M. and Stanker L. H. (2012). Current methods for detecting the presence of botulinum neurotoxins in food and other biological matrices. *In: Stephen Morse (Ed.), Bioterrorism*. In Tech. ISBN 978-953-51-0205-2.

7. Grate J. W., Ozanich R. M., Jr. Warner M. G., Marks J.D. and Bruckner Lea C. J. (2010). Advances in assays and analytical approaches for botulinum-toxin detection. Trends Anal Chem. 1137–56; 29(10).

8. Hakami R. M., Ruthel G., Stahl A. M. and Bavari S. (2010). Gaining ground: assays for therapeutics against botulinum neurotoxin. *Trends Microbiol*; 164–72; 18(4).

9. McGrath S. J. and Dooley R. W. (2000). Quantification of Clostridium botulinum Toxin Gene Expression by Competitive Reverse Transcription-PCR. *Appl Environ Microbiol.* Apr; 1423–1428; 66(4).

10. Szabo E. A., Pemberton J. M., Gibson A. M., Eyles M. J., Desmarchelier P. M. (1994). PCR for detection of Clostridium botulinum types A, B and E in food, soil and infant faeces. *J. Appl. Bacteriol.*; 539–545; 76.

ESTABLISHING METHOD TO DETECT GENE ENCODING BONT/A AND BONT/ B FROM mRNA

Tran Thi Minh Nguyet, Phan Phuong Lan,
Nguyen Thanh Trung, Pham Bao Yen

Summary

Clostridium botulinum (C. botulinum) produces the powerful botulinum neurotoxin (BoNT) that can cause a fatal neuroparalytic condition within 24 hours, known as botulism. Based on serological method, BoNT is divided into 7 types from A-G, in which types A and B, mainly cause foodborne poisoning in humans. The development of methods to identify *C. botulinum* and BoNT in food in a short time with high accuracy and sensitivity is a priority for pubic health. Botulinum neurotoxin is normally detected by the mouse bioassay. However, the mouse bioassay is expensive, time-consuming, and may raise animal rights issues. Another method that has been evaluated with sensitivity equivalent to the mouse bioassay is to detect specific BoNT encoding genes using real-time PCR (RT-PCR). In this study, we approached the establishment of a method to detect the two genes encoding BoNT types A and type B from the messenger RNA (mRNA), the indicatior of gene expression as mRNA is rapidly turned over in bacterial cells. After extraction of total RNA at different time points of 24, 48, 72, 96 hours relatively, a reverse transcription reaction was performed to generate cDNA used as template for PCR reaction of *bont/a* and *bont/b* gene fragments. The results showed that maximal amplification was reached with mRNA extracted at 96 hours since starting bacterial culture with a recorded Ct value of 14.5.

Keywords: *BoNT, Botulinum neurotoxin, cDNA, mRNA, type A/B, RT-PCR.*

Người phản biện: PGS.TS. Trần Liên Hà

Ngày nhận bài: 01/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 28/3/2023

Ngày duyệt đăng: 4/4/2023

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VI KHUẨN LACTIC TỪ TRÁI SƠRI ĐỊNH HƯỚNG TRONG LÊN MEN SỮA CHUA SƠRI (*Malpighia glabra* L.)

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm[1,*], Đỗ Tấn Thành[1],
Lê Huỳnh Như[1], Huỳnh Yến Nhi[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện dựa trên cơ sở phân lập và tuyển chọn dòng vi khuẩn lactic có khả năng lên men sữa chua từ trái sơri tại thị xã Gò Công (Tiền Giang), quận Ninh Kiều và huyện Phong Điền (thành phố Cần Thơ). Từ nguồn mẫu sơri ban đầu, 17 dòng vi khuẩn lactic đã được phân lập thuộc 3 chi vi khuẩn lactic: *Lactobacillus*, *Lactococcus* và *Pediococcus*, các chủng vi khuẩn đã được phân lập có khuẩn lạc dạng hình tròn, màu trắng trong, trắng ngà hoặc trắng sữa, độ nổi mô hoặc lài, bìa nguyên, kích thước dao động từ 0,5 - 3 mm, tế bào vi khuẩn có dạng hình cầu hoặc que ngắn, Gram dương, oxidaza và catalaza âm tính. Trong đó, dòng vi khuẩn TG2 có hoạt lực lên men và khả năng kháng khuẩn tốt nhất (12,54 g/L axit tổng sau 72 giờ lên men, đường kính vòng kháng khuẩn là 11,33 mm). Thử nghiệm khả năng lên men sữa chua có bổ sung 8% dịch sơri ở pH 6,32, độ Brix 33,5 và mật số vi khuẩn 6,7 x 10^6 tế bào/mL sinh ra hàm lượng axit lactic cao nhất, đồng thời với giá trị cảm quan đạt 14,42/15 điểm. Kết quả của phương pháp giải trình tự và phân tích trình tự gen 16S rRNA cho thấy, dòng vi khuẩn TG2 là dòng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* với độ tương đồng ở mức 100%.

Từ khóa: *Kháng khuẩn, lên men, phân lập, sữa chua, vi khuẩn lactic.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sữa chua là một trong những sản phẩm sữa lên men phổ biến nhất với lượng tiêu thụ ngày càng tăng trên toàn thế giới [1]. Sữa chua có thể làm giảm mức độ colesteron và hỗ trợ điều trị một số bệnh về đường tiêu hóa như tiêu chảy, ung thư ruột, các bệnh nhiễm trùng do các vi khuẩn gây bệnh đường ruột gây nên [2].

Việc ứng dụng vi khuẩn axit lactic (LAB) trong sản xuất các sản phẩm lên men ngày càng phổ biến nhằm phát triển các sản phẩm lên men đa dạng từ nhiều nguồn nguyên liệu khác nhau, với mục đích tạo ra nguồn thực phẩm không chỉ cho giá trị dinh dưỡng cao mà còn hỗ trợ điều trị một số bệnh. Trong quá trình lên men, các vi khuẩn này thực hiện 3 giai đoạn phản ứng sinh hóa: (i) chuyển đổi hidrat-cacbon thành axit lactic hoặc các chất chuyển hóa khác (sự thủy phân glucoza-glycolysis); (ii) thủy phân cazein thành pepti và axit amin tự do (phân giải protein); (iii) phân hủy chất béo trong sữa thành axit béo tự do [3]. Các enzym được tạo ra từ LAB có vai trò quan trọng trong việc hỗ trợ sản xuất các hợp chất tạo mùi hương và mùi vị khác nhau cho sữa chua [4]. Các sản phẩm lên men từ vi khuẩn axit lactic đã giúp hệ tiêu hóa hoạt động tốt hơn, chất dinh dưỡng từ các loại thực phẩm được hấp thu ở mức cao hơn vì hệ tiêu hóa được cung cấp một hàm lượng lớn các lợi khuẩn [5].

Đồng bằng sông Cửu Long là vùng có sản lượng cây ăn trái lớn nhất cả nước, đa dạng về chủng loại và sản lượng. Tuy nhiên, với khí hậu nhiệt đới ẩm nên việc bảo quản trái cây tươi rất khó, dễ bị hỏng sau thu hoạch và vận chuyển làm giảm chất lượng ban đầu của trái cây. Vì vậy, bên cạnh việc bảo quản trái cây tươi thì việc chế biến

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[*]Email: hnttam@ctu.edu.vn

các loại trái cây cũng có ý nghĩa rất quan trọng nhằm nâng cao giá trị sử dụng của các loại trái cây và tăng thu nhập cho người dân. Nghiên cứu của José và cs (2020) [6] đã phân lập được nhiều chủng LAB từ nhiều nguồn trái cây tươi khác nhau như ổi, táo, lựu, lê, dưa chuột...

Sơri (*Malpighia glabra* L.) được phân nhóm là loại trái cây giàu vitamin C, các axit amin các hợp chất phenolic bao gồm antoxian, flavonoit và carotenoit [7]. Tuy nhiên, hiện nay loại quả này vẫn chưa được nghiên cứu sâu để phát triển thành những sản phẩm có giá trị thương mại. Từ thực tế trên, việc lên men sữa chua có bổ sung dịch quả sơri nhằm tạo ra sản phẩm sữa chua đạt chất lượng cao, cũng như tăng giá trị sử dụng của sơri, từ đó nâng cao được nguồn thu nhập cho nông dân là rất cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu thí nghiệm

Mẫu sơri được thu nhận tại Cần Thơ và Tiền Giang. Khi thu mẫu sử dụng bao tay chuyên dụng và hạn chế tiếp xúc với bề mặt đất, hoặc các bề mặt khác để tránh làm thay đổi quần thể vi sinh vật trên trái; sau đó được đóng gói, bảo quản trong từng bao PE (polyetylen) riêng biệt, trữ lạnh trong các thùng, hộp chứa mẫu, tránh ánh sáng mặt trời trực tiếp, vận chuyển ngay đến phòng thí nghiệm để giảm thiểu tối đa sự thay đổi tính chất, trạng thái ban đầu.

Sữa tươi, sữa đặc, đường được mua tại siêu thị Bách hóa xanh, thành phố Cần Thơ.

Vi sinh vật thử nghiệm *Escherichia coli* (*E. coli*) được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Vi sinh vật thực phẩm, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập các dòng vi khuẩn lactic từ trái sơri

Sơri sau khi được thu về được khử trùng bề mặt bằng cồn 70 trong 1 phút, sau đó khử khuẩn với H_2O_2 3% trong 1 phút và rửa lại bằng nước cất đã khử trùng từ 4 – 5 lần. Sau đó, sơri được thu lấy thịt (loại bỏ hạt và cuống) cho vào bình tam giác có chứa môi trường MRS lỏng để nuôi tăng sinh ở nhiệt độ 37°C trong 48 giờ. Tiến hành phân lập trên môi trường MRS agar đến khi thu được các dòng vi khuẩn axit lactic thuần chủng, sau đó định danh sơ bộ các dòng vi khuẩn này thông qua việc xác định các đặc điểm hình thái khuẩn lạc (màu sắc, hình dạng, kích thước, độ nổi, dạng bìa...), đặc điểm tế bào (khả năng chuyển động, hình dạng tế bào), kết hợp với một số đặc điểm sinh hóa (nhuộm Gram, thử nghiệm catalaza và oxydaza, kiểm tra khả năng phân giải $CaCO_3$).

2.2.2. Tuyển chọn các dòng vi khuẩn lactic có khả năng lên men axit lactic cao từ các dòng phân lập

Các dòng vi khuẩn có đặc tính là vi khuẩn LAB được nuôi ở 37°C trong 48 giờ trong môi trường MRS lỏng. Thu 300 µL dịch tăng sinh vào ống falcon có chứa 30 mL sữa tươi có bổ sung 4% sucroza đã khử trùng nhằm tăng khả năng tạo axit lactic, để nguội 40°C – 45°C. Sau đó, ủ ở 37°C. Sử dụng phương pháp chuẩn độ axit để phân tích hàm lượng axit tổng số sinh ra sau 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ. Thu 2 mL dung dịch nuôi vi khuẩn trong mỗi ống falcon cho vào ống nghiệm. Sau đó, nhỏ 1 giọt phenolphthalein vào mỗi ống nghiệm chứa dung dịch nuôi vi khuẩn và tiến hành chuẩn độ bằng cách thêm vào 20 µL NaOH 0,1 N đã chuẩn bị, đếm số lần cho vào đến khi mẫu trong ống nghiệm chuyển sang màu hồng bền màu. Từ số lần nhỏ NaOH xác định được thể tích NaOH 0,1 N cần dùng.

Công thức tính hàm lượng axit lactic trong dịch mẫu: A = (0,009 x n x 1.000)/2 (g/L)

Trong đó: A là hàm lượng axit trong mẫu (g/L), n là số mL NaOH 0,1 N dùng để chuẩn độ, 0,009 là hệ số K của axit lactic.

Chỉ tiêu theo dõi: Ghi nhận hàm lượng axit lactic trong mẫu sau 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ.

2.2.3. Tuyển chọn các dòng vi khuẩn lactic có khả năng kháng khuẩn cao bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch

Các dòng vi khuẩn LAB được nuôi ở 37℃ trong 48 giờ trong môi trường MRS lỏng. Sau đó, sẽ tiến hành ly tâm 13.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4℃ để thu dịch ly tâm. Phần dịch trong sau ly tâm được chuẩn về pH 6,5 bằng NaOH 1 N để thu được bacteriocin thô. Trải đều 50 µL huyền phù của vi khuẩn *E. coli* với mật số 10^6 tb/trên đĩa chứa môi trường NA bằng tăm bông vô trùng. Các giếng được tạo thành bằng phương pháp đục lỗ, với đường kính mỗi giếng là 4 mm. Sau đó, 50 µL bacteriocin của các dòng vi khuẩn LAB, nước cất và kháng sinh được cho lần lượt vào các giếng. Đường kính vòng kháng khuẩn (ĐKVKK) được tính bằng công thức: ĐKVKK (mm) = D_1 - D_0

Trong đó: D_1 là đường kính tổng (mm), D_0 là đường kính giếng thạch (4 mm).

Chỉ tiêu theo dõi: Tính kháng khuẩn được biểu hiện khi ĐKVKK ≥ 2 mm, trong đó ĐKVKK < 5 mm: Tính kháng yếu; ĐKVKK từ 5 mm đến 10 mm: Tính kháng khuẩn trung bình; ĐKVKK > 10 mm: Tính kháng mạnh.

Từ kết quả của thí nghiệm ở mục 2.2.2 và 2.2.3 chọn được dòng vi khuẩn có khả năng sinh hàm lượng axit lactic cao, đồng thời có khả năng kháng mạnh với vi khuẩn *E. coli* sẽ được tiến hành định danh bằng phương pháp 16S rRNA đến mức độ loài.

2.2.4. Định danh các dòng vi khuẩn lactic bằng phương pháp giải trình tự kết hợp với đặc điểm về hình thái và sinh hóa

Dựa vào hình dạng khuẩn lạc và tế bào, sinh hóa (nhuộm Gram, khả năng phân giải $CaCO_3$, thử nghiệm catalaza, oxidaza) và khả năng lên men, dòng vi khuẩn lactic được chọn giải trình tự đoạn gen bằng phản ứng PCR với cặp mồi được thiết kế theo Sambrook và Russell (2001) [8] để khuếch đại đoạn gen mục tiêu có trình tự:

1492R (5'–TACGGTTACCTTGTTACGACT–3') và 27F (5'–AGAGTTTGATCCTGGCTC–3').

2.2.5. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dịch sơri đến quá trình lên men sữa chua

Khảo sát ảnh hưởng của dịch sơri đến quá trình lên men sữa chua với tỷ lệ dịch sơri khảo sát là 2%, 4%, 6% và 8% trong 50 mL thể tích sữa. Dịch sơri được thu bằng cách ép sơri chín vàng đỏ tươi lấy dịch, bỏ hạt, dịch sơri có độ ẩm khoảng 85%, độ Brix 9,2.

Chế biến sữa chua cái: sữa tươi không đường (Vinamilk) (trong 100 g sữa tươi không đường chứa 49,5 kcal năng lượng, 2,3 g chất béo, 3,0 g chất đạm, 7,4 g hidrat-cacbon, 140 mg chất sơ hòa tan, 100 mg Ca), sữa đặc (Ngôi sao phương Nam) (trong 100 g sữa đặc chứa 336 kcal năng lượng, 2,7 g chất đạm, 10,8 g chất béo) và nước (tỉ lệ là 2: 1: 1) [9], sau đó đun nóng ở 85℃ nhằm mục đích tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình lên men sữa chua trong giai đoạn ủ. Mặt khác, giúp tiêu diệt vi sinh vật gây hại (trong 2 – 3 phút, để nguội 35℃ – 40℃) và được chủng 10% dịch tăng sinh dòng vi khuẩn đã tuyển chọn. Chế biến sữa chua: sữa đặc, sữa tươi (tỷ lệ: 2,5: 1), sau đó đun nóng khoảng 85℃, làm nguội (35 – 40℃), kế đến tiến hành cấy giống (vi khuẩn đã được phân lập và định danh ở thí nghiệm trên sau khi được nuôi tăng sinh trong môi trường MRS lỏng) và phối trộn với dịch sơri tỷ lệ 2%, 4%, 6% và 8%), tiến hành ủ men. Cuối cùng, ủ lạnh sản phẩm (4℃ – 6℃).

Chỉ tiêu theo dõi: đo pH, hàm lượng chất khô hòa tan (độ Brix), hàm lượng axit lactic sinh ra và phân tích cảm quan (TCVN 7030: 2002) về màu sắc, mùi vị và trạng thái. Từ đó, chọn được tỷ lệ dịch sơri bổ sung cho hàm lượng axit lactic cao nhất.

2.2.6. Khảo sát sự ảnh hưởng của độ Brix, độ pH và mật số vi khuẩn đến quá trình lên men sữa chua

Chuẩn bị vi khuẩn giống: Sử dụng dòng vi khuẩn đã được phân lập và định danh ở thí nghiệm

ở mục 2.2.4. Mật số vi khuẩn lactic được xác định bằng phương pháp đếm sống trên MRS agar. Tỷ lệ dịch sơri bổ sung được chọn dựa trên kết quả thí nghiệm ở mục 2.2.5.

Bảng 1. Khoảng giá trị khảo sát của các nhân tố ảnh hưởng đến quá trình lên men

Nhân tố ảnh hưởng	Khoảng giá trị khảo sát	
	Giá trị thấp nhất	Giá trị cao nhất
Độ Brix	30	40
pH	6	7
Mật số vi khuẩn (tế bào/mL)	10^3	10^7

Bảng 2. Các nghiệm thức với 3 nhân tố độ Brix, pH và mật số vi khuẩn được bố trí bằng phần mềm Design Expert 11.0

Nghiệm thức	Độ Brix	pH	MSVK (tb/ml)
1	35,0	6,50	$5,0 \times 10^6$
2	31,5	6,85	$8,5 \times 10^6$
3	38,5	6,85	$1,5 \times 10^6$
4	35,0	6,50	$5,0 \times 10^6$
5	35,0	6,50	$5,0 \times 10^6$
6	35,0	6,50	$5,0 \times 10^6$
7	35,0	6,50	10^3
8	35,0	6,50	$5,0 \times 10^6$
9	38,5	6,15	$8,5 \times 10^6$
10	35,0	6,50	10^7
11	31,5	6,15	$1,5 \times 10^6$
12	40	6,5	$5,0 \times 10^6$
13	35	6,0	$5,0 \times 10^6$
14	30	6,5	$5,0 \times 10^6$
15	35	7,0	$5,0 \times 10^6$

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức Box Behnken phần mềm Design Expert 11.0 với 3 nhân tố ảnh hưởng đến quá trình lên men sữa chua. Nhân tố A: nồng độ Brix, giá trị nhỏ nhất (min) 30 và giá trị lớn nhất (max) 40 (hiệu chỉnh bằng nước cất và sữa đặc). Nhân tố B: pH, giá trị nhỏ nhất (min) 6 và giá trị lớn nhất (max) 7 (hiệu chỉnh bằng axit xitric và Na_2CO_3). Nhân tố C: mật số vi khuẩn (tế bào/mL), giá trị nhỏ nhất (min) 10^3 và giá trị lớn nhất (max) 10^7. Khoảng giá trị khảo sát của các nhân tố ảnh hưởng đến quá trình lên men được trình bày trong bảng 1.

Phương pháp chế biến sữa chua: Đun nóng hỗn hợp sữa đặc và sữa tươi ở khoảng 85℃, sau đó làm nguội (35℃ – 40℃), kế đến tiến hành cấy giống và phối trộn với dịch sơri, tiến hành ủ men, cuối cùng ủ lạnh sản phẩm (4℃ – 6℃).

Chỉ tiêu theo dõi: Đo pH, hàm lượng chất hòa tan (độ Brix), hàm lượng axit lactic sinh ra và phân tích cảm quan (TCVN 7030: 2002). Chọn được các nghiệm thức cho hàm lượng axit lactic kết hợp với giá trị cảm quan cao ở các điều kiện pH và độ Brix tương ứng.

2.2.7. Phân tích thống kê

Nghiệm thức của thí nghiệm được bố trí theo theo thể thức Box Behnken, phần mềm Design Expert 11.0. Số liệu được phân tích bằng phần mềm thống kê MINITAB. Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2016.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập các dòng vi khuẩn lactic từ trái sơri (*Malpighia glabra* L.)

Sau khi tiến hành phân lập thu được 17 dòng vi khuẩn lactic từ nguồn quả sơri ban đầu. Khuẩn lạc 17 dòng LAB phân lập đều có dạng hình tròn, có màu trắng trong, trắng ngà hoặc trắng sữa, độ nổi mô hoặc lài, bìa nguyên, kích thước dao động

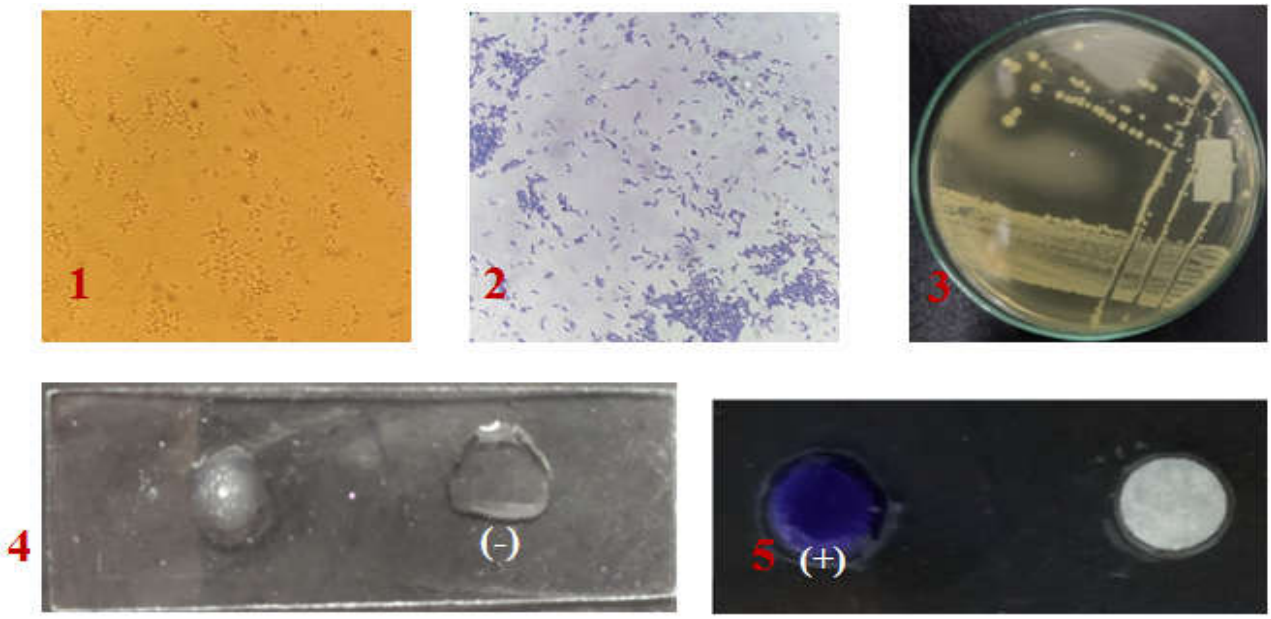
từ 0,5 – 3 mm trên môi trường MRS agar. Kiểm tra đặc điểm hình thái trên kính hiển vi quang học, trong số 17 dòng có 4 dòng có dạng cầu đơn, 8 dòng hình que ngắn, 4 dòng cầu đôi và 1 dòng chuỗi cầu (NK4) (Bảng 3, hình 1).

Các chủng vi khuẩn LAB phân lập được ký hiệu như sau: TG (Tiền Giang), PĐ (Phong Điền), NK (Ninh Kiều) và kèm theo số thứ tự của các dòng vi khuẩn phân lập.

Bảng 3. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào vi khuẩn phân lập

STT	Dòng LAB	Đặc điểm hình thái tế bào	Đặc điểm hình thái khuẩn lạc				
			Màu sắc	Hình dạng	Độ nổi	Dạng bìa	Kính thước (mm)
1	TG1	Cầu đơn	Trắng ngà	Tròn	Mô	Nguyên	0,5 – 1,0
2	TG2	Que	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	2,0 – 3,0
3	TG3	Que	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	2,5 – 3,0
4	TG4	Cầu đôi	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	2,5 – 3,0
5	TG5	Que	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	1,0 – 1,5
6	TG6	Cầu đôi	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	1,5 – 3,0
7	TG7	Que	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	2,0 – 3,0
8	TG8	Que	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	1,5 – 3,0
9	PĐ1	Cầu đôi	Trắng sữa	Tròn	Lài	Nguyên	0,5 – 1,5
10	PĐ2	Que	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	1,5 – 2,5
11	PĐ3	Cầu đôi	Trắng ngà	Tròn	Mô	Nguyên	1,0 – 2,0
12	PĐ4	Cầu đôi	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	2,0 – 3,0
13	PĐ5	Cầu đơn	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	1,5 – 2,5
14	NK1	Que	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	2,0 – 2,5
15	NK2	Cầu đơn	Trắng trong	Tròn	Lài	Nguyên	1,5 – 2,0
16	NK3	Que	Trắng ngà	Tròn	Lài	Nguyên	1,0 – 2,0
17	NK4	Chuỗi cầu	Trắng ngà	Tròn	Lài	Nguyên	0,5 – 1,0

Thông qua quan sát hình thái tế bào và sinh hóa cho thấy, tế bào vi khuẩn có hình que ngắn, cầu đơn, cầu đôi và chuỗi cầu. Tất cả đều là vi khuẩn Gram dương, catalaza và oxidaza âm tính, có khả năng phân giải $CaCO_3$. Các đặc tính này phù hợp với đặc điểm của vi khuẩn lactic được mô tả bởi Paul và cs (2009) [10]. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thúy Duy (2019) [11] về đặc điểm hình thái và sinh hóa của nhóm vi khuẩn lactic.



Hình 1. Đặc điểm hình thái tế bào và sinh hóa của các dòng vi khuẩn phân lập

1: Hình dạng vi khuẩn LAB trên kính hiển vi độ phóng đại X100; 2: Kết quả nhuộm Gram của các dòng LAB ở độ phóng đại X100; 3: Khả năng phân giải $CaCO_3$; 4 và 5: Kết quả test catalaza, oxidaza; (+): Dương tính; (–): Âm tính

Từ kết quả trên, 17 dòng vi khuẩn phân lập từ trái sơri tại quận Ninh Kiều, huyện Phong Điền (thành phố Cần Thơ) và tại thị xã Gò Công (tỉnh Tiền Giang) được nhận định sơ bộ là các dòng vi khuẩn lactic.

3.2. Tuyển chọn các dòng vi khuẩn lactic có khả năng lên men axit lactic cao

Hàm lượng axit lactic tổng số sinh ra ở 3 mốc thời gian là 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ (Bảng 4). 17 dòng LAB phân lập được đều có khả năng sinh axit lactic cao trong môi trường sữa sau 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ nuôi cấy. Sau 24 giờ đa số các mẫu sữa trong mỗi ống nghiệm đều có sự đông tụ sữa, chứng tỏ tất cả các dòng phân lập đều có khả năng sinh axit lactic, cấu trúc đông tụ ở mỗi ống tùy thuộc vào khả năng sinh axit lactic của từng dòng. Cụ thể, hàm lượng axit lactic được sinh ra từ 17 dòng LAB phân lập được dao động khoảng 3,48 – 5,49 g/L (nuôi cấy sau 24 giờ); 5,88 – 9,96 g/L (nuôi cấy sau 48 giờ); 7,59 – 16,71 g/L (nuôi cấy sau 72 giờ). Tất cả các dòng LAB phân lập được đều có hàm lượng axit tổng số cao nhất sau 72 giờ. Dòng PĐ1 có hàm lượng axit tổng sinh ra sau 72 giờ, cao hơn so với các dòng còn lại (16,71 g/L).

Bảng 4. Hàm lượng axit tổng số (g/L) sinh ra theo thời gian của 17 dòng LAB ở nhiệt độ 37°C

STT	Dòng LAB	Hàm lượng axit tổng số (g/L)		
		24 giờ	48 giờ	72 giờ
1	TG1	$4,20^{bcd}$	$9,96^{a}$	$16,35^{a}$
2	TG2	$3,93^{cd}$	$7,56^{defg}$	$12,54^{b}$
3	TG3	$4,47^{abcd}$	$5,88^{h}$	$8,43^{fgh}$
4	TG4	$4,89^{abc}$	$7,32^{efgh}$	$9,36^{efgh}$
5	TG5	$4,08^{bcd}$	$7,47^{efg}$	$11,12^{bc}$
6	TG6	$4,05^{bcd}$	$6,18^{gh}$	$7,59^{h}$

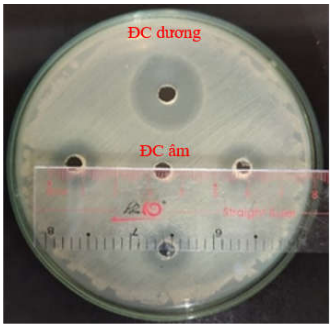
STT	Dòng LAB	Hàm lượng axit tổng số (g/L)		
		24 giờ	48 giờ	72 giờ
7	TG7	3,81^{cd}	6,51^{fgh}	8,46^{fgh}
8	TG8	4,14^{bcd}	6,96^{efgh}	8,25^{gh}
9	PĐ1	3,48^{d}	9,51^{ab}	16,71^{a}
10	PĐ2	4,02^{bcd}	6,27^{gh}	8,82^{efgh}
11	PĐ3	4,35^{bcd}	9,12^{abc}	9,27^{efgh}
12	PĐ4	4,89^{abc}	9,18^{abc}	12,60^{b}
13	PĐ5	4,26^{bcd}	8,22^{bcde}	9,66^{defg}
14	NK1	5,49^{a}	7,95^{cdef}	10,47^{cde}
15	NK2	5,10^{ab}	6,57^{fgh}	9,90^{defg}
16	NK3	3,87^{cd}	8,97^{abcd}	10,26^{cdef}
17	NK4	4,38^{abcd}	6,72^{fgh}	11,31^{bcd}
CV(%)		8,63	6,40	5,63

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị trung bình của cùng một cột, theo sau có các mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định Tukey.

Nguyên nhân hàm lượng axit tăng theo thời gian là do sau 24 giờ số lượng vi khuẩn tăng sinh chưa đủ nên hàm lượng axit lactic sinh ra ít, sau 48 giờ và 72 giờ thì số lượng vi khuẩn tăng lên nhiều hơn, nên lượng axit sinh ra cao hơn. Yếu tố thời gian nuôi cấy sẽ có ảnh hưởng đến việc tăng số lượng tế bào vi khuẩn. Để chuyển hóa được hết nguồn dinh dưỡng thành axit lactic, vi khuẩn cần phải có thời gian nhất định và đủ lượng vi khuẩn, nếu khoảng thời gian này quá dài sẽ tác động ngược lại làm giảm số lượng vi khuẩn và lượng axit sinh ra.

3.3. Tuyển chọn dòng vi khuẩn lactic có khả năng kháng khuẩn

Sau khi kiểm tra khả năng kháng khuẩn của 17 dòng LAB bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch, có 14/17 dòng vi khuẩn khảo sát thể hiện khả năng đối kháng với vi khuẩn *E. coli* (Bảng 5). Dòng TG6 có khả năng ức chế *E. coli* mạnh nhất, với ĐKVKK là 11,67 mm, khác biệt không có ý nghĩa thống kê với các dòng TG2 (11,33 mm), TG3 (10,33 mm), TG4 (10,33 mm), PĐ3 (9,33 mm), PĐ4 (10 mm) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% với các dòng còn lại. Bên cạnh đó, dòng NK3 có khả năng ức chế *E. coli* nhỏ nhất với ĐKVKK là 6,67 mm, khác biệt không có ý nghĩa thống kê với các dòng TG5 (8,67 mm), TG7 (7,33 mm), TG8 (8,67 mm), PĐ2 (8,67 mm), PĐ3 (9,33 mm), PĐ5 (7 mm), NK1 (8 mm), NK2 (8 mm) và khác biệt có ý nghĩa với các dòng còn lại với mức ý nghĩa 5%, còn những dòng TG1, PĐ1, NK4 không có khả năng kháng *E. coli*.



Hình 2. Khả năng kháng vi khuẩn *Escherichia coli* của LAB

Ghi chú: ĐC dương (đối chứng dương): Ampicilin 0,1 mg/mL; ĐC âm (đối chứng âm): Nước cất; các giếng còn lại: Mẫu bacteriocin thô của các dòng vi khuẩn phân lập.

Bảng 5. Khả năng ức chế *E. coli* của 17 dòng LAB

STT	Dòng LAB	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)	STT	Dòng LAB	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)
1	TG1	$0,00^{f}$	11	PĐ3	$9,33^{abcde}$
2	TG2	$11,33^{ab}$	12	PĐ4	$10,00^{abcd}$
3	TG3	$10,33^{abc}$	13	PĐ5	$7,00^{e}$
4	TG4	$10,33^{abc}$	14	NK1	$8,00^{cde}$
5	TG5	$8,67^{bcde}$	15	NK2	$8,00^{cde}$
6	TG6	$11,67^{a}$	16	NK3	$6,67^{e}$
7	TG7	$7,33^{de}$	17	NK4	$0,00^{f}$
8	TG8	$8,67^{bcde}$	18	Đối chứng dương	16,00
9	PĐ1	$0,00^{f}$	19	Đối chứng âm	0,00
10	PĐ2	$8,67^{bcde}$			
CV(%)		12,81			

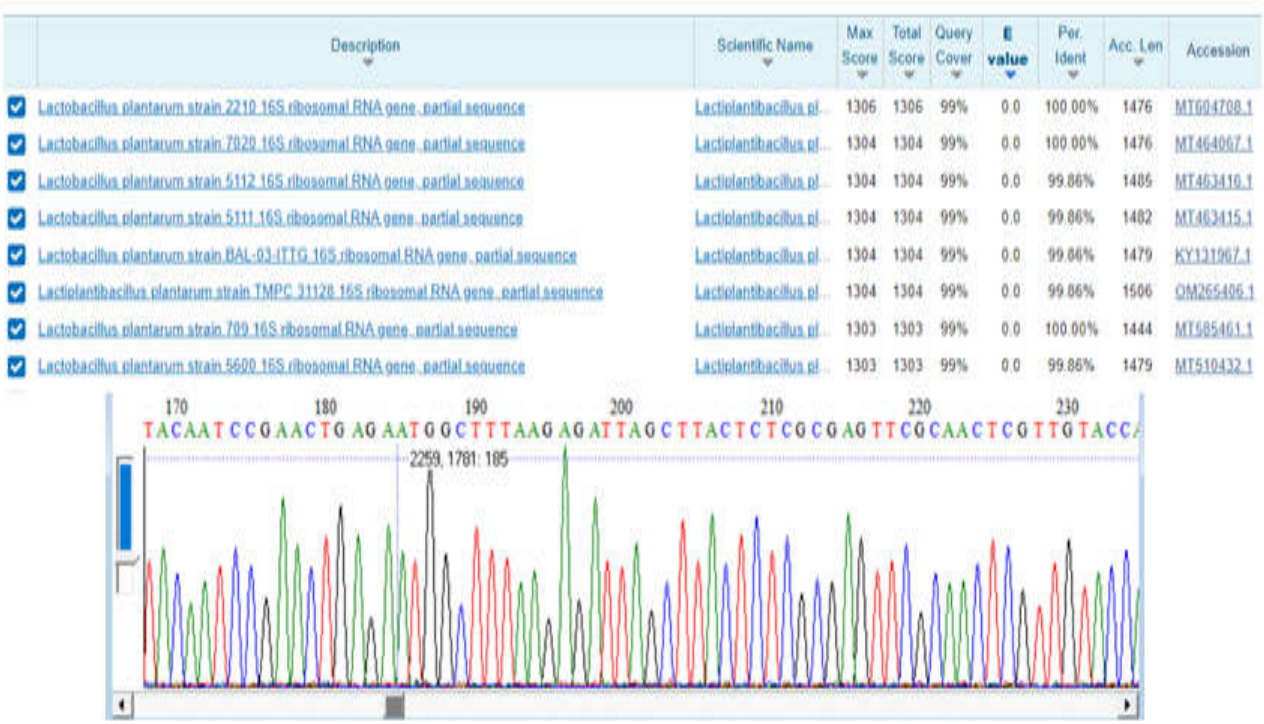
Ghi chú: Không có tính kháng khuẩn khi ĐKVVK <1 mm, tính kháng khuẩn trung bình khi 1 mm ≤ ĐKVVK ≤ 5 mm, tính kháng khuẩn mạnh khi 5 mm < ĐKVVK ≤ 20 mm [12]. Số liệu ĐKVVK là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột, các số có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định Tukey.

Do được nuôi trong điều kiện kị khí và tĩnh để tránh sự hình thành H_2O_2, đồng thời dịch ly tâm được đưa về pH 6,5 nên có thể kết luận rằng khả năng ức chế vi khuẩn *E. coli* là do bacteriocin được sinh ra trong quá trình sinh trưởng mà không phải do các điều kiện khác. Theo Wang và cs (2012) [13] bacteriocin plantaricin CLP29 và enterocin CLE34 được sản xuất từ vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* F1 có khả năng kháng lại vi khuẩn *Salomonella pullorum* và *E. coli* với đường kính vòng vô khuẩn khoảng 10 - 15 mm.

Từ kết quả của thí nghiệm ở mục 3.2 và 3.3, chọn được dòng vi khuẩn TG2 có khả năng sinh hàm lượng axit lactic cao đồng thời có khả năng kháng mạnh với vi khuẩn *E. coli* sẽ được tiến hành định danh bằng phương pháp 16S rRNA đến mức độ loài.

3.4. Kết quả định danh dòng LAB bằng phương pháp giải trình tự

Bộ gen của dòng TG2 được định danh bằng phương pháp giải và phân tích trình tự gen 16S rRNA và so sánh mức độ tương đồng của trình tự được giải với trình tự của các dòng nấm men trong ngân hàng gen trên NCBI với công cụ BLASTN (Nucleotide Blast). Kết quả giải trình tự và so sánh độ tương đồng (Hình 3) cho thấy, dòng LAB được tuyển chọn có 100% tương đồng với dòng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* (tên gọi hiện nay là *Lactiplantibacillus plantarum*).



Hình 3. Kết quả so sánh độ tương đồng của dòng vi khuẩn TG2 bằng công cụ BLAST

(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)

3.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch sori đến quá trình lên men sữa chua

Thí nghiệm được bố trí với tỷ lệ dịch sori (dịch sori có độ ẩm khoảng 85%, độ Brix 9,2), thay đổi trên cùng thể tích với 2 lần lặp lại. Hàm lượng axit lactic ở nghiệm thức 8% có giá trị cao nhất là 8,37 g/L và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các nghiệm thức 2%, 4% hay 6% vì trong sori chứa rất nhiều chất dinh dưỡng như xơ cao, vitamin C, kali, mangan,... các vi khuẩn lactic góp phần thúc đẩy quá trình lên men. Do lượng đường trong dịch quả tương đối ít và chỉ bổ sung vào sữa chua từ 2-8% nên có ảnh hưởng đến quá trình lên men. Do đó, nghiệm thức 8% cho giá trị hàm lượng axit lactic cao nhất. Từ đó có thể thấy, việc bổ sung dịch sori có ảnh hưởng đến sự lên men sữa chua (Bảng 6).

Bảng 6. Kết quả thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ dịch sori

STT	Tỉ lệ dịch sori bổ sung (%)	Độ Brix sau lên men	pH sau lên men	Axit tổng số (g/L)	Điểm cảm quan (điểm)
1	2%	26,0^{a}	4,69^{a}	7,65^{b}	14,42
2	4%	25,0^{b}	4,68^{a}	8,10^{ab}	13,83
3	6%	24,8^{b}	4,54^{ab}	8,19^{ab}	12,67
4	8%	24,1^{c}	4,40^{b}	8,37^{a}	12,08
CV(%)		0,63	1,32	1,76	

Bảng 6 cho thấy, với lượng dịch trái sori bổ sung là 8% thì điểm cảm quan (TCVN 7030: 2002) sản phẩm là cao nhất. Nếu tỷ lệ dịch sori bổ sung thấp hơn 8% thì sản phẩm tạo ra có vị ngọt nhiều, không lưu vị sori, không đặc trưng cho sản phẩm. Do vi khuẩn sau khi lên men sẽ còn dư một lượng đường, lượng đường này tạo nên vị ngọt đậm cho sản phẩm và với lượng dịch sori ít như vậy sẽ không tạo được hương vị đặc trưng cho sản phẩm sữa chua sori.

3.6. Ảnh hưởng của độ Brix, độ pH và mật số vi khuẩn đến quá trình lên men sữa chua

Trong lên men sữa chua, quá trình lên men càng nhanh thì thời gian lên men càng ngắn, điều này giúp tiết kiệm thời gian và chi phí cho sản xuất. Sau 16 giờ lên men với nhiệt độ ủ 35℃, pH, độ Brix và hàm lượng axit lactic của mẫu sữa chua có bổ sung 8% dịch sơri được phân tích, kết quả được trình bày ở bảng 7.

Các nghiệm thức có độ Brix là 35 cho hàm lượng axit lactic cao nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức có độ Brix ban đầu là 30 và 40. Ở nghiệm thức có độ Brix ban đầu là 40, sau lên men độ Brix vẫn còn khá cao; tức là quá trình lên men diễn ra chậm và khó khăn; làm cho sữa chua thành phẩm có vị ngọt nhiều, mùi sữa lên men kém đồng nghĩa với việc hàm lượng đường nhiều sẽ ức chế sự phát triển của vi khuẩn lactic do ảnh hưởng của áp suất thẩm thấu lên thành tế bào vi khuẩn. Ở nghiệm thức có độ Brix ban đầu là 30, sau lên men độ Brix giảm xuống mức thấp do không đủ cơ chất cho vi khuẩn phát triển và làm cho sữa chua khó đông tụ, điển hình là sữa chua có vị chua nhiều, mùi sơri bị lấn át mùi chua, cấu trúc mịn kém. Trong khi đó, ở nghiệm thức có độ Brix ban đầu là 35 cho sữa chua thành phẩm có vị ngọt và chua hài hòa, lưu vị sơri và đạt cấu trúc mịn. Bên cạnh đó, sự tác động của mật số vi khuẩn có ảnh hưởng nhất định lên quá trình lên men sữa chua, cụ thể ở các nghiệm thức có mật số 10^6 và 10^7 tb/mL cho hàm lượng axit lactic cao hơn so với nghiệm thức có mật số vi khuẩn 10^3 tb/mL. Mật số vi khuẩn thấp là nguyên nhân dẫn đến sữa chua khó đông tụ.

Bảng 7. Kết quả trung bình của 15 nghiệm thức thiết kế theo Design Expert 11.0

Nghiệm thức	Độ Brix – pH – MSVK (tb/mL)	Brix sau khi lên men	pH sau khi lên men	Axit lactic (g/L)
1	35,0 – 6,50 – 5,0 x 10^6	27,00^{ab}	4,98^{cd}	7,47^{ab}
2	31,5 – 6,85 – 8,5 x 10^6	27,00^{ab}	4,70^{de}	5,94^{c}
3	38,5 – 6,85 – 1,5 x 10^6	27,25^{ab}	5,46^{ab}	5,85^{c}
4	35,0 – 6,50 – 5,0 x 10^6	25,50^{abc}	4,95^{cde}	7,74^{a}
5	35,0 – 6,50 – 5,0 x 10^6	26,00^{abc}	4,99^{cd}	7,74^{a}
6	35,0 – 6,50 – 5,0 x 10^6	25,50^{abc}	4,99^{cd}	7,79^{a}
7	35,0 – 6,50 – 10^3	28,00^{a}	5,70^{a}	6,53^{bc}
8	35,0 – 6,50 – 5,0 x 10^6	25,50^{abc}	4,94^{cde}	7,07^{ab}
9	38,5 – 6,15 – 8,5 x 10^6	26,50^{abc}	4,66^{de}	5,94^{c}
10	35,0 – 6,50 – 10^7	26,00^{abc}	4,73^{de}	6,53^{bc}
11	31,5 – 6,15 – 8,5 x 10^6	23,00^{bc}	4,99^{cd}	5,76^{c}
12	40,0 – 6,50 – 5,0 x 10^6	28,50^{a}	4,96^{cd}	5,76^{c}
13	35,0 – 6,00 – 5,0 x 10^6	25,50^{abc}	4,54^{e}	7,29^{ab}
14	30,0 – 6,50 – 5,0 x 10^6	22,50^{c}	4,73^{de}	6,53^{bc}
15	35,0 – 7,00 – 5,0 x 10^6	25,00^{abc}	5,24^{bc}	5,99^{c}
CV(%)		4,19	2,06	3,77

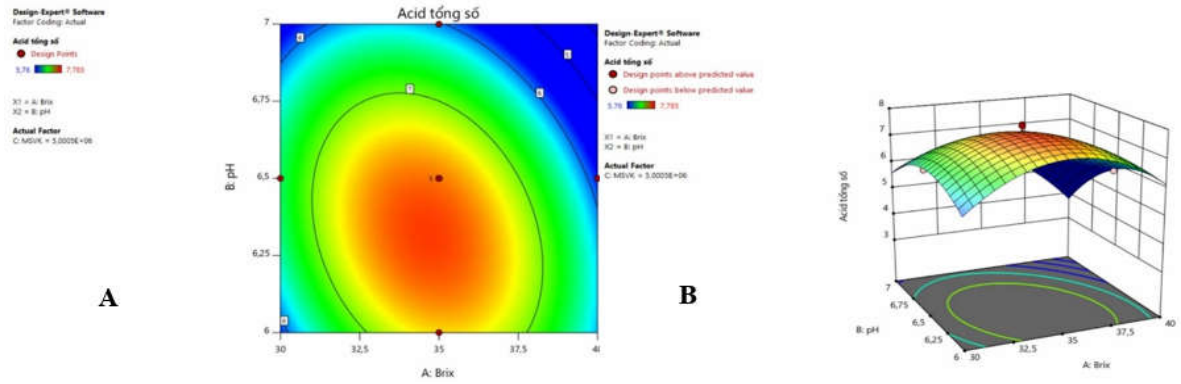
Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 2 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định Tukey.

Hàm lượng axit tổng số ở nghiệm thức 1, 4, 5, 6, 8, 13 có giá trị cao nhất và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với các nghiệm thức còn lại. Giá trị axit tổng càng cao, càng cho thấy khả năng sinh

axit lactic của vi khuẩn lactic trong môi trường dịch lên men càng mạnh. Từ đó thấy rằng, vi khuẩn TG2 phát triển mạnh trong môi trường sữa có pH dao động từ 6,0 đến 6,5. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Lê Văn Việt Mẫn (2004) [14] và Sánchez và cs (2008) [15] về ngưỡng pH tối ưu của chủng vi khuẩn LAB là trong khoảng pH từ 6,3 đến 6,9.

Xây dựng phương trình hồi quy dựa trên kết quả lượng axit lactic sinh ra sau 16 giờ ủ ở nhiệt độ 35℃ của 15 nghiệm thức để xác định giá trị tối ưu về các nhân tố pH, độ Brix và MSVK mà tại các điều kiện này hàm lượng axit lactic sinh ra là cao nhất.

Axit lactic (g/L) = 7,54 – 0,2705*A – 0,4614*B – 0,1909*C – 0,2584*A*B – 0,4839*A*C – 0,2930*B*C – 0,6737*A^2 – 0,4263*B^2 – 0,6175*C^2



Hình 4. Sự tương quan giữa pH và độ Brix ban đầu dẫn đến quá trình lên men sữa chua có bổ sung dịch sori (A); biểu đồ bề mặt đáp ứng của pH và độ Brix của sữa chua (B)

Từ phương trình hồi quy trên, bằng phần mềm Design expert 11.0 đã xác định được mô hình tối ưu gồm 30 nghiệm thức với các thông số tối ưu (độ Brix, pH, MSVK và lượng axit lactic thuật toán) mà phần mềm dự đoán dựa trên phương trình hồi quy, tiến hành kiểm tra thực nghiệm 3 trên tổng 30 nghiệm thức tối ưu dự đoán, kết quả được thể hiện trong bảng 8.

Bảng 8. Kết quả 30 nghiệm thức dự đoán theo mô hình tối ưu bố trí bằng phần mềm Design Expert

Nghiệm thức	Độ Brix	pH	MSVK (tế bào/mL)	Axit lactic (g/L)	Nghiệm thức	Độ Brix	pH	MSVK (tế bào/mL)	Axit lactic (g/L)
1	33,2	6,51	$4,3x10^6$	7,436	16	36,4	6,66	$7,1 x 10^6$	6,65
2	35,0	6,50	$5x10^6$	7,560	17	37,8	6,84	$5,3 x 10^6$	5,91
3	38,5	6,85	$1,5x10^6$	5,850	18	37,2	6,37	$6,2 x 10^6$	7,11
4	31,5	6,15	$1,5x10^6$	5,760	19	31,6	6,64	$2,2 x 10^6$	6,33
5	31,5	6,85	$8,5x10^6$	5,940	20	34,9	6,22	$7,9 x 10^6$	7,50
6	38,0	6,69	$6,5x10^6$	6,066	21	36,9	6,24	$2,2 x 10^6$	7,03
7	32,8	6,18	$4,6x10^6$	7,379	22	32,5	6,31	$6,0 x 10^6$	7,58
8	33,1	6,79	$3,2x10^6$	6,706	23	32,1	6,24	$6,5 x 10^6$	7,53
9	38,5	6,58	$5,3x10^6$	6,403	24	37,9	6,77	$4,7 x 10^6$	6,28
10	33,5	6,29	$4,8x10^6$	7,620	25	38,5	6,51	$4,1 x 10^6$	6,68

Nghiệm thức	Độ Brix	pH	MSVK (tế bào/mL)	Axit lactic (g/L)	Nghiệm thức	Độ Brix	pH	MSVK (tế bào/mL)	Axit lactic (g/L)
11	37,9	6,58	$2,8x10^6$	6,818	26	33,5	6,32	$6,7 \times 10^6$	7,70
12	36,0	6,38	$5,4x10^6$	7,515	27	38,4	6,31	$2,9 \times 10^6$	6,78
13	36,6	6,28	$4,5x10^6$	7,413	28	38,3	6,24	$3,8 \times 10^6$	6,85
14	35,8	6,85	$2,6x10^6$	6,58	29	34,3	6,37	$5,2 \times 10^6$	7,70
15	37,7	6,60	$6,4x10^6$	6,51	30	33,7	6,81	$5,4 \times 10^6$	6,82

Tiến hành bố trí thực nghiệm với các thông số tối ưu ở bảng 8, kết quả thực nghiệm với 3 nghiệm thức tối ưu cho lượng axit lactic cao nhất được tính bằng phần mềm Design Expert 11.0 được trình bày trong bảng 9. Kết quả thực nghiệm 3 nghiệm thức tối ưu cho thấy, ở nghiệm thức 26 (độ Brix 33,5, pH 6,32, MSVK $6,7 \times 10^6$) cho hàm lượng axit cao nhất sau lên men là 8,64 (g/L), khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với nghiệm thức 22 (8,55 g/L). Nghiệm thức 29 cho kết quả hàm lượng axit lactic thấp nhất (7,61 g/L).

Bảng 9. Kết quả thực nghiệm của 3 nghiệm thức tối ưu theo mô hình tối ưu của phần mềm Design Expert 11.0

NT	Brix–pH–MSVK (tb/mL)	Độ Brix sau lên men	pH sau lên men	Lượng axit lactic thực tế (g/L)	Lượng axit lactic thuật toán (g/L)
22	$32,5 – 6,31 – 6,0 \times 10^6$	25^a	$4,88^b$	$8,55^a$	7,58
26	$33,5 – 6,32 – 6,7 \times 10^6$	25^a	$4,78^c$	$8,64^a$	7,70
29	$34,3 – 6,37 – 5,2 \times 10^6$	25^a	$5,00^a$	$7,61^b$	7,70
CV(%)		1,63	3,13	0,46	

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 2 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định Tukey.

4. KẾT LUẬN

Đã phân lập được 17 dòng vi khuẩn lactic thuần từ 3 mẫu sơri được thu thập tại 3 khu vực. Tuyển chọn được dòng vi khuẩn TG2 có hoạt lực lên men tốt nhất, đạt 12,54 g/L và khả năng kháng khuẩn sau 72 giờ lên men với ĐKVKK 11,33 mm. Dòng vi khuẩn TG2 được thử nghiệm lên men sữa chua có bổ sung 8% dịch sơri ở pH 6,32, độ Brix 33,5 và mật số vi khuẩn $6,7 \times 10^6$ tế bào/mL cho hàm lượng axit lactic cao nhất (8,64 g/L) với giá trị cảm quan là 14,4/15 (TCVN 7030: 2002) và được định danh ở mức độ loài là *Lactobacillus plantarum* với mức độ tương đồng 100%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Shiby V. K. and Mishra H. N. (2013). Fermented Milks and Milk Products as Functional Foods—A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 53, 482-496.

2. Hossain A. Z., Shaheb M. R., Ahmed S. and Sarker A. (2015). Studies on the microbial quality of yoghurts in Sylhet city and preparation of new flavoured yoghurts. *American Journal Food Science nutrition research*. 2(6): 172-179.

3. Steele C. M., Alsanei W. A., Ayanikalath S., Barbon C. E,. Chen J., Cichero J. A., Coutts K., Dantas R. O., Duivestein J., Giosa L., Hanson B., Lam P., Lecko C., Leigh C., Nagy A., Namasivayam A. M., Nascimento W. V., Odendaal I., Smith C. H. and Wang H. (2015). The influence of food texture and liquid consistency modification on swallowing physiology and function: A Systematic Review. 30(1):2-26.

4. Smid E. J. and Kleerebezem M. (2014). Production of Aroma Compounds in Lactic Fermentations. The Annual Review of Food Science and Technology, 4. 5:313–26.

5. Abee T., Beldman G., van de Broek B., Houben J., Nout R., Rombouts F., Schuostra S., Voragen F., Wouters J., Noomen A. and P. Walstra (1999). *Food Fermentation*. Wageningen Agricultural University, Holland.

6. José R. L. M., Guillermo E. C. N., Blanca E. R. C., Néstor G. M., S. B. P. V. and Guadalupe V. N. M. (2020). Selection of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fresh Fruits and Vegetables Based on Their Antimicrobial and Enzymatic Activities. MDPI, 9, 1399.

7. Tarun B., Hari P. D., Hanaa A. Hassan, Sudhir A., Mohamed F. R., Andrei M. and Atanas G. A. (2018). Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. Trends in Food Science and Technology, 74, 99-106.

8. Sambrook J. and Russell D. W. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. Vol.1,

9. Nguyễn Ngọc Thạnh, Huỳnh Xuân Phong, Nguyễn Thị Việt Trinh, Huỳnh Thị Thu Ba, Bùi Hoàng Đăng Long và Ngô Thị Phương Dung (2015). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn lactic ứng dụng trong lên men sữa chua bổ sung tảo *Spirulina*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ sinh học 40(1): 8–14.

10. Paul De Vos, George M. Garity, Dorothy Jones, Noel R. Krieg, Wolfgang Ludwig, Fred A. Rainey, Karl-Heinz Schleifer and William B. Whitman (2009). Bergey's Manual Reineccius, G. An Overview of Flavor Perception In Flavor Chemistry and Technology; Heath, H.; Reineccius, G.; Eds.; Taylor and Francis: Boca Raton, USA; 1–53.

11. Nguyễn Thị Thúy Duy (2019). Phân lập và tuyển chọn các dòng vi khuẩn lactic từ sữa người có khả năng kháng khuẩn và ứng dụng trong lên men sữa chua. Luận văn tốt nghiệp cao học ngành Công nghệ thực phẩm. Trường Đại học Cần Thơ.

12. Moore G. L., Barbaree J., Vodyanoy V., and Sorokulov I. (2013). Antagonistic activity of *Bacillus* bacteria against food–borne pathogens. Journal of Probiotics & Health, 1(3). Doi: 10.4172/2329-8901.1000110

13. Wang Q., Yizhe C., Wenmei W., Jili X. and Li X. (2012). Production of two bacteriocins in various growth conditions produced by Gram-positive bacteria isolated from chicken cecum. *Canadian Journal of Microbiology*, 58(1): 93–101.

14. Lê Văn Việt Mẫn (2004). *Công nghệ sản xuất các sản phẩm từ sữa và thức uống:* Tập 1: Công nghệ sản xuất các sản phẩm từ sữa. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.

15. Sánchez C., Ana R. N., João C., Margarida M. d. S., Nieves G. Q., Paloma L., and Helena S. (2008). Contribution of Citrate Metabolism to the Growth of *Lactococcus lactis* CRL264 at Low pH. Applied and Environmental Microbiology. 74(4): 1136–1144.

ISOLATION, SELECTION AND APPLICATION USING LACTIC BACTERIA TO FERMENT ACEROLA YOGURT (*Malpighia glabra* L.)

Huynh Ngoc Thanh Tam[1,*], Do Tan Thanh[1], Le Huynh Nhu[1], Huynh Yen Nhi[1]

[1]*Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University*

[*]*Email: hnttam@ctu.edu.vn*

Summary

The study aimed to isolate and select lactic acid bacteria prossessing good fermentation capacity and to apply in yogurt fermentation of acerola fruit (*Malpighia glabra* L.) collected in Go Cong town (Tien Giang), Ninh Kieu district and Phong Dien district (Can Tho city). Seventeen strains of lactic acid bacteria (LAB) were isolated from acerola samples. Based on the description of morphological characteristics and some initial biochemical tests, the isolates of 3 genera of lactic acid bacteria *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* have been identified. Besides, colonies of isolates were round, clear, off-white or off-white milk, tissue buoyancy or crust, whole cover, size ranges from 0.5-3 mm, bacterial cells are spherical or short rods, positive Gram. In addition, those strains could not perform oxidase and catalase activities. In particular, the bacterial strain TG2 had the best fermentation activity and antibacterial ability (12.54 g/L acid after 72 hours of fermentation, the diameter of the antibacterial ring was 11.33 mm). Testing the ability to ferment yogurt with 8% acerola juice added at pH 6.32, Brix degree 33.5 and bacterial density 6.7 x 10^6 cells/mL producing lactic acid content is the best results with sensory value reached 14.42/15 points. The results of the 16S rRNA gene sequencing and sequencing method showed that the TG2 strain was *Lactobacillus plantarum* with 100% similarity.

Keywords: *Antibacterial, fermentation, isolation, lactic acid bacteria, yogurt.*

Người phản biện: PGS.TS. Hồ Phú Hà

Ngày nhận bài: 20/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 17/4/2023

Ngày duyệt đăng: 24/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA PHƯƠNG PHÁP SẤY ĐẾN CHẤT LƯỢNG BỘT LÁ XẠ ĐEN (*Ehretia asperula* Zoll. & Mor.)

Trần Chí Nhân[1], Lê Ngọc Tuyền[1],
Trần Thị Cẩm Hồng[1], Trần Trọng Nguyên[1], Lưu Thái Danh[2],
Đỗ Thị Tuyết Nhung[3], Nguyễn Nhật Minh Phương[1,*]

TÓM TẮT

Lá xạ đen được biết đến như nguồn thảo dược quý do chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao. Mục tiêu nghiên cứu là lựa chọn phương pháp, điều kiện sấy để tạo sản phẩm bột lá xạ đen với hàm lượng chất chống oxy hóa cao, màu sắc cảm quan tốt. Lá xạ đen được chần bằng vi sóng ở mức năng lượng 500 W, thời gian 60 giây. Sau đó nghiên cứu sự ảnh hưởng của 3 phương pháp sấy: đối lưu (60°C, 65°C và 70°C), chân không (30°C, 40°C và 50°C; áp suất -96 ± 0,5 kPa) và thăng hoa đến tổng hàm lượng polyphenol (TPC), flavonoid (TFC) và màu sắc (L^*, a^*, b^*) của bột lá xạ đen. Kết quả cho thấy, nhiệt độ sấy càng cao thì tốc độ sấy càng nhanh dẫn đến thời gian sấy càng ngắn. Trong đó, sấy chân không mang lại hiệu quả về thời gian hơn so với sấy đối lưu. Sấy chân không và sấy thăng hoa giúp duy trì đặc tính màu sắc tốt hơn sấy đối lưu. Sấy chân không ở 40°C là điều kiện thích hợp cho sấy bột lá xạ đen do có khả năng duy trì được hàm lượng TPC và TFC cao nhất với 175,35 mg GAE/ g cbk và 27,61 mg QE/ g cbk, tương ứng. Ngoài ra, giá trị L^*, a^*, b^* tương ứng là 59,62±0,30, -8,20±0,11 và 21,46±0,16 được ghi nhận trong điều kiện này cũng tốt nhất.

Từ khoá: *Flavonoid, lá xạ đen, polyphenol, sấy đối lưu, sấy thăng hoa, sấy chân không.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây xạ đen gồm 2 giống là *Celastrus hindsii* và *Ehretia asperula* Zoll. & Mor. Ở Việt Nam, xạ đen chủ yếu được tìm thấy ở các tỉnh: Hà Nam, Ninh Bình, Hoà Bình… [1], trong đó, giống *Ehretia asperula* Zoll. & Mor. được trồng phổ biến hơn. Nghiên cứu của Bui Thi Thanh Duyen và cs (2020) [2], Le và cs (2021) [3] đã chứng minh trong cây *Celastrus hindsii* và *Ehretia asperula* Zoll. & Mor. đều có những tác dụng sinh học nổi bật như giải độc tế bào, chống các khối u và chống oxy hóa tốt; các hoạt tính kháng vi-rút như chống lại vi-rút hợp bào hô hấp [4]. Ngoài các thành hóa học cơ bản, cây xạ đen còn chứa rất nhiều các hợp chất hóa học có hoạt tính sinh học cao, trong đó, có một số thành phần chính như: Sesquiterpenes, triterpenes [5] và các hợp chất chống oxy hóa chủ yếu là polyphenol và flavonoid [6], [7]. Hợp chất chống oxy hóa này rất nhạy cảm với phương pháp sấy và nhiệt độ trong quá trình sấy [8], [9] bởi vì ảnh hưởng trực tiếp đến thành phần và hoạt tính sinh học của nguyên liệu. Sau quá trình sấy, hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số và khả năng kháng oxy hóa của nguyên liệu có thể tăng hay giảm tùy thuộc vào từng loại nguyên liệu [10], [11]. Cụ thể, sấy hồng ngoại ở 30°C là phương pháp sấy phù hợp để giữ được thành phần và hoạt tính kháng oxy hóa trong cây xáo tam phân (*Phyllanthus amarus*) [12]. Trong khi đó, nhiệt độ sấy đối lưu 50°C phù hợp nhằm duy trì được hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số trong lá ổi rừng (*Psidium guajava* L.) [13], nhiệt độ 60°C là phù hợp nhất khi sấy quả mortino (*Vaccinium meridionale* Swartz) nhằm duy trì được các hợp chất polyphenol và anthocyanins [14], kết quả cũng tương tự đối với lá và vỏ cây chân danh [15].

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ
[3] Trường Đại học Kỹ thuật – Công nghệ Cần Thơ
[*] Email: nnmphuong@ctu.edu.vn

Trong khi đó, nhiệt độ sấy 80°C phù hợp cho đài hoa bụp giấm [16]. Các phương pháp sấy như sấy đối lưu, sấy chân không, sấy thăng hoa, sấy hồng ngoại, sấy bơm nhiệt đều có ưu khuyết điểm đặc trưng. Các kết quả nghiên cứu liên quan đến ảnh hưởng của phương pháp sấy đến hàm lượng polyphenol, flavonoid và màu sắc của bột từ lá xạ đen còn nhiều hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này tập trung xác định được điều kiện và phương sấy phù hợp nhằm duy trì được chất lượng bột từ lá xạ đen (*Ehretia asperula* Zoll. & Mor.).

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Lá xạ đen được thu mua tại Cao Thắng, Lương Sơn, Hòa Bình còn nguyên vẹn, không sâu, bệnh, dập nát. Sau khi thu mua, lá được vận chuyển về phòng thí nghiệm trong thời gian không quá 24 giờ. Nguyên liệu được bảo quản trong kho lạnh (4 - 5^0C) trước khi tiến hành bố trí thí nghiệm hoặc phân tích các chỉ tiêu có liên quan.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị mẫu thí nghiệm

Nguyên liệu sau khi thu hái được tách cuống, rửa sạch và để ráo. Mỗi lần, cân 20 g lá xạ đen cho vào hộp chuyên dụng có nắp đậy (500 mL) và gia nhiệt mà không cần thêm nước trong lò vi sóng (Sharp R-G52XVN-ST, Nhật Bản) ở mức năng lượng 500 W trong thời gian 60 giây để vô hoạt enzim hoá nâu. Mẫu được làm nguội ngay bằng nước lạnh ở 0 - 5°C trong 60 giây và làm ráo, công đoạn chần được lặp lại nhiều lần nhằm chuẩn bị đủ nguyên liệu cho quá trình khảo sát phương pháp và điều kiện sấy tiếp theo.

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Lá xạ đen sau khi được xử lý như miêu tả ở phần *2.2.1* tiếp tục được tiến hành sấy ở 3 phương pháp sấy: Sấy đối lưu (Memmert UF55, 53L, Đức) với 3 mức nhiệt độ 60^0C, 65^0C và 70^0C, lá xạ đen được trải 1 lớp đều trên 3 vỉ sấy; sấy chân không (Thermoline, VORD-460-D, 150L, Australia) với 3 mức nhiệt độ 30^0C, 40^0C và 50^0C, áp suất được cố định ở -96±0,5 kPa, lá xạ đen trải 1 lớp đều trên vỉ sấy và sấy thăng hoa (Thermo Savant, MODULYOD-230, Mỹ) ở điều kiện -50^0C trong giai đoạn sấy chính trong 24 giờ. Theo dõi sự thay đổi độ ẩm của phương pháp sấy đối lưu và sấy chân không sau mỗi 30 phút; lá xạ đen sau khi sấy đến khối lượng không đổi và được nghiền thành bột bằng máy nghiền khô Yamafuji 2500. Bột sau khi xay sẽ được rây qua thiết bị rây bột có kích thước lỗ lưới là 100 mesh trước khi lấy mẫu phân tích kiểm tra hàm lượng polyphenol (mg GAE/g cbk), hàm lượng flavonoid tổng (mg QE/g cbk) và giá trị (L^*, a^*, b^*) bột lá xạ đen của cả 3 phương pháp sấy.

2.3. Phương pháp phân tích

Hàm lượng ẩm, % (AOAC 950.46); giá trị (L^*, a^*, b^*) được áp dụng theo phương pháp đo màu CIELAB [17]; hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g) được xác định dựa trên phản ứng khử hóa học của thuốc thử Folin - Ciocalteu có chứa vonfram và molypden với sự hiện diện của các hợp chất phenol, sản phẩm của sự khử này có màu xanh với quang phổ hấp thụ ánh sáng cực đại tại bước sóng 765 nm [18]; hàm lượng flavonoids tổng (mg QE/g) được xác định dựa vào phản ứng với $AlCl_3$ tạo sản phẩm có màu, đo độ hấp thu ở bước sóng 415 nm [19].

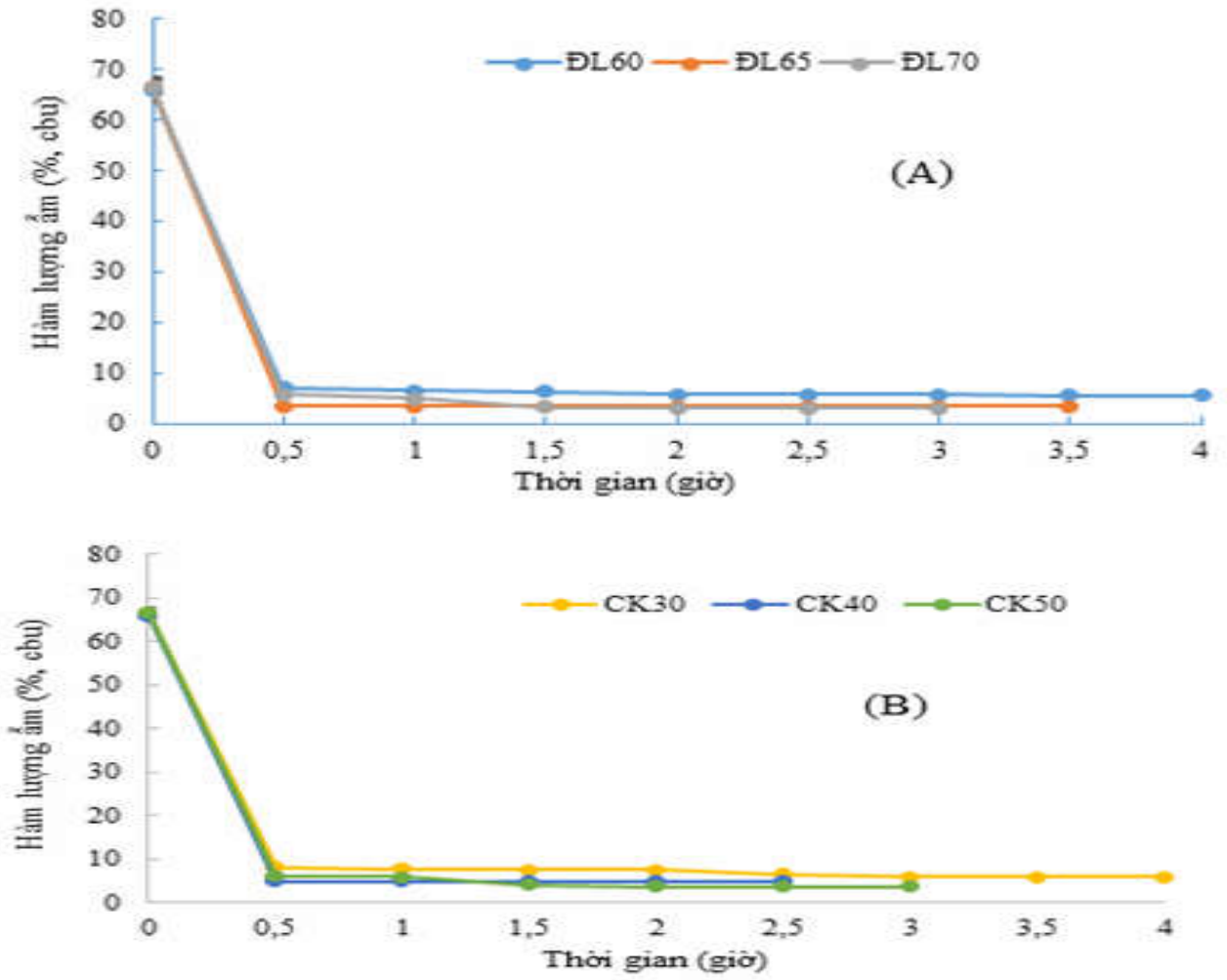
2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Thí nghiệm được bố trí với 3 lần lặp lại. Các kết quả được thể hiện dưới dạng trung bình của 3 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn. Kết quả được thống kê, phân tích phương sai, kiểm định LSD ở mức ý nghĩa 5% bằng chương trình Statgraphics Centurion 16.1. Số liệu biểu thị là giá trị trung bình của các nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của phương pháp sấy đối lưu và sấy chân không đến tốc độ sấy

Đồ thị biểu diễn hàm lượng ẩm (% căn bản ướt) theo thời gian được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Đường cong sấy đối lưu (60^{0}C, 65^{0}C và 70^{0}C) (A) và sấy chân không (30^{0}C, 40^{0}C và 50^{0}C) (B)

Hình 1 cho thấy, khi sấy ở nhiệt độ càng cao thì tốc độ sấy càng nhanh dẫn đến thời gian sấy càng ngắn. So với sấy đối lưu, sấy chân không làm giảm đáng kể thời gian sấy là do điểm sôi của nước bị giảm ở điều kiện làm khô chân không và tốc độ di chuyển của nước tăng lên, dẫn đến tốc độ làm khô nhanh [20].

Cụ thể, để độ ẩm của bột đạt độ ẩm cuối tương đương nhau thì thời gian sấy cần thiết của phương pháp sấy đối lưu ở 60^{0}C là 4 giờ (5,52%, cbu) (Hình 1A) so với 1,5 giờ của phương pháp sấy chân không ở 40^{0}C để đạt độ ẩm cuối cùng khoảng 4,80%, cbu (Hình 1B). Tuy nhiên, khi sấy chân không ở 30^{0}C, thời gian sấy kéo dài đến hơn 4 giờ nhưng độ ẩm chỉ đạt 5,80% (cbu). Để đạt độ ẩm gần 4%, sấy đối lưu ở 65^{0}C cần 0,5 giờ, cần 2 giờ cho sấy chân không ở 50^{0}C. Nhằm lựa chọn được phương pháp sấy với điều kiện phù hợp (nhiệt độ, thời gian) các chỉ tiêu liên quan đến chất lượng của bột lá xạ đen cần được theo dõi.

3.2. Ảnh hưởng của phương pháp sấy đối lưu, sấy chân không và sấy thăng hoa đến chất lượng bột lá xạ đen

3.2.1. Hàm lượng polyphenol tổng (TPC) và hàm lượng flavonoid tổng (TFC)

Sấy ngoài mục đích chính là tách ẩm ra khỏi nguyên liệu còn làm cho các mô giòn hơn, do đó dẫn đến phá vỡ thành tế bào nhanh chóng trong các bước nghiền và đồng nhất của quy trình chiết xuất. Những tế bào bị hỏng này có thể giải phóng nhiều hợp chất polyphenol hơn trong dung môi. Trong các mẫu khô, do hoạt độ nước thấp, các enzim phá hủy bị bất hoạt và hàm lượng các hợp chất polyphenol vẫn còn trong dịch chiết [21]. Sự

thay đổi TPC và TFC của lá xạ đen khi sấy ở các phương pháp khác nhau được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các phương pháp sấy đến TPC (mg GAE/g cbk) và TFC (mg QE/g cbk) của bột lá xạ đen

Phương pháp sấy	Nhiệt độ (°C)	TPC (mg GAE/g cbk)	TFC (mg QE/g cbk)
Sấy chân không	30	140,99*±6,93^{c}	25,09*±0,99^{bc}
	40	175,35±5,64^{a}	27,61±1,56^{ab}
	50	170,50±15,55^{ab}	29,94±0,47^{a}
Sấy đối lưu	60	174,85±5,92^{ab}	23,39±2,05^{c}
	65	137,59±8,98^{c}	23,46±0,53^{c}
	70	136,73±13,37^{c}	25,90±1,35^{bc}
Sấy thăng hoa	-50	152,48± 3,46^{bc}	27,64±1,60^{ab}

*Ghi chú: * Trung bình±STDEV (n=3). Các giá trị trung bình có cùng chữ cái đi kèm trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.*

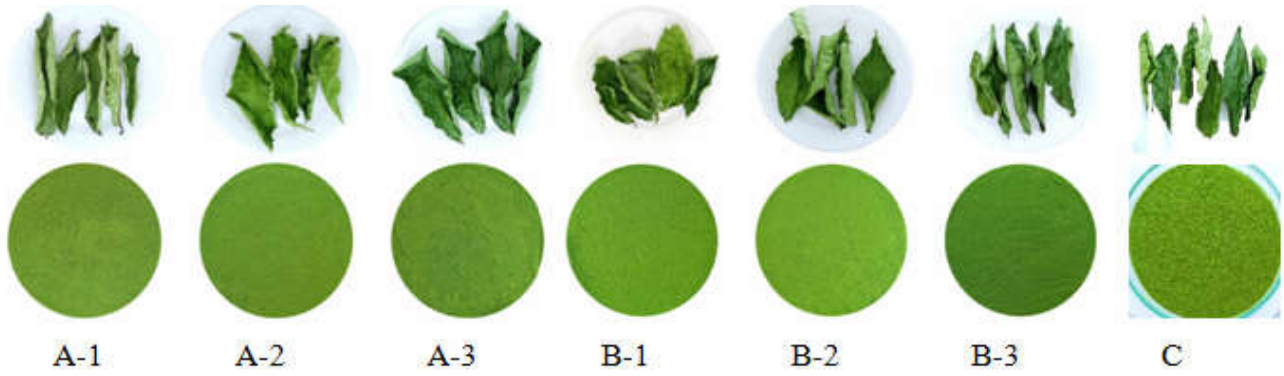
Bảng 1 cho thấy, TPC cao nhất (175,35 ± 5,64 mg GAE/g cbk) khi sấy chân không ở nhiệt độ 40^{0}C, tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với mẫu sấy ở 50^{0}C trong cùng điều kiện và mẫu sấy đối lưu 60^{0}C. Kết quả nghiên cứu của Roshanak và cs (2016) [8] cho thấy, mẫu sấy đối lưu ở 60^{0}C có TPC cao nhất so với các phương pháp khác. Ngoài ra Hossain và cs (2010) [21] cho rằng, mẫu sấy chân không có hàm lượng TPC cao hơn so với mẫu sấy thăng hoa trong trường hợp cây hương thảo và cây húng tây. Khi phân tích vi cấu trúc của lá *A. paniculata* sấy thăng hoa cho thấy, cấu trúc lá ít co ngót và độ xốp cao hơn so với sấy bằng không khí nóng [9]. Trong quá trình sấy thăng hoa, vì cố định trước cấu trúc của nguyên liệu ở giai đoạn đông lạnh và điều kiện đóng băng được duy trì trong suốt quá trình làm khô, quá trình sấy thăng hoa xảy ra thông qua các lỗ xốp hoặc mạng lưới lỗ rỗng, dường như không làm nguyên liệu co lại nhiều [17]. Cấu trúc mô nguyên vẹn của mẫu được sấy thăng hoa có thể làm cho nguyên liệu có hình dạng tốt hơn, nhưng lại là rào cản để giải phóng các hợp chất polyphenol trong chiết xuất [21]. Đồng thời, kết quả ở bảng 1 cũng ghi nhận được TPC giảm khi tăng nhiệt độ sấy đối lưu tăng (65^{0}C và 70^{0}C) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mẫu được sấy ở nhiệt độ 60°C. Mặc dù sấy chân không ở nhiệt độ thấp (30^{0}C) nhưng TPC cũng thấp tương đương (140,99±6,93).

Hàm lượng flavonoid tổng (TFC) dao động trong khoảng từ 23,39 – 29,94 mg QE/g cbk tùy thuộc vào nhiệt độ và phương pháp sấy. TFC cao nhất cũng được quan sát thấy khi sấy chân không ở nhiệt độ 40^{0}C, 50^{0}C và sấy thăng hoa. Lá xạ đen có hàm lượng flavonoid khá cao tương tự như trong lá trà xanh sau khi sấy. Nghiên cứu của Roshanak và cs (2016) [8] cho thấy, hàm lượng flavonoid thay đổi trong trà xanh từ 14,3 mg QE/g cbk khi làm khô trong lò vi sóng đến 38,18 mg QE/g cbk khi sấy đối lưu ở 100°C. Các hợp chất flavonoids, mà cụ thể là catechin trong lá xạ đen thuộc nhóm polyphenol, có liên quan tới màu xanh của trà, giữ vai trò quyết định đến sự tạo thành màu sắc của bột, nó có thể liên quan tới các phản ứng hóa nâu của enzim, bởi thế hàm lượng TFC càng cao thì màu xanh của bột càng cao. Bảng 1 cho thấy, sấy chân không tại 50°C mang lại hiệu quả cao (TFC cao nhất đạt 29,94±0,47) cho bột lá xạ đen, khác biệt có ý nghĩa so với sấy ở 30°C (25,09±0,99) và không khác biệt có ý nghĩa so với sấy ở 40°C (27,61±1,56).

Như vậy, xem xét kết quả đồng thời TPC và TFC, ở điều kiện sấy chân không 40°C được đề nghị áp dụng cho việc sấy lá xạ đen vì có khả năng cho bột lá xạ đen chứa hàm lượng TPC và TFC cao nhất so với các nghiệm thức còn lại.

3.2.2. Màu sắc sản phẩm

Bên cạnh hàm lượng các hợp chất quan trọng giữ lại sau khi xử lý ở các điều kiện của từng phương pháp sấy, màu sắc cũng là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng của bột lá xạ đen. Màu sắc của rau xanh chủ yếu do sắc tố diệp lục có sẵn trong nguyên liệu thực vật quyết định, giữ vai trò quan trọng trong quá trình quang hợp dưới ánh sáng mặt trời. Nhiệt độ và độ ẩm tương đối trong quá trình sấy khô là một trong những nguyên nhân dẫn đến sự suy giảm màu sắc trong các sản phẩm khử nước [8].



Hình 2. Lá và bột của lá xạ đen được sấy đối lưu (A), sấy chân không (B) và sấy thăng hoa (C) ở các mức nhiệt độ khác nhau (A-1: 60°C, A-2: 65°C, A-3: 70°C, B-1: 30°C, B-2: 40°C, B-3: 50°C, C: -50°C)

Giá trị L^* cao nhất khi sấy chân không ở điều kiện 40°C và sấy thăng hoa và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại, được thể hiện ở bảng 2 và hình 2 (B-2 và C). Sấy đối lưu ở điều kiện 70°C cho thấy, giá trị L^* thấp nhất (52,83±0,20). Kết quả tương tự thu được cho giá trị b^*. Sấy chân không 40°C cho giá trị b^* cao nhất (21,46±0,16), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với sấy thăng hoa và sấy đối lưu ở 65°C. Sấy đối lưu ở 60°C cho màu vàng thấp nhất (16,88±0,99). Giá trị a^* thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) cũng được tìm thấy ở phương pháp sấy chân không 40°C, nhưng không có sự khác biệt với sấy chân không 30°C và sấy đối lưu trong điều kiện 65°C, 70°C và sấy thăng hoa.

Sấy đối lưu ở nhiệt độ 60°C mặc dù ở nhiệt độ thấp hơn so với 65°C hay 70°C nhưng thể hiện giá trị a^* lớn nhất (kém xanh nhất), trong khi sấy chân không ở nhiệt độ 30°C, thời gian sấy dài tương tự sấy đối lưu ở 60°C nhưng màu sắc vẫn duy trì tốt hơn. Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian sấy và nhiệt độ sấy ảnh hưởng lên hàm lượng chất diệp lục trong lá. Kết quả nghiên cứu của Roshanak và cs (2016) [8] cho thấy, hàm lượng chlorophyll của lá trà cao nhất khi sấy thăng hoa và thấp nhất khi sấy đối lưu ở 60°C. Sự chuyển đổi màu sắc có thể là do magiê của chất diệp lục dễ dàng được thay thế bởi hai nguyên tử hydro với sự hiện diện của axit như axit oxalic hoặc axit axetic để tạo ra hợp chất gọi là pheophytin do đó ảnh hưởng đến màu sắc trong các quá trình nhiệt [22]. Tổng hợp kết quả ở hình 2 và bảng 2 cho thấy, sấy chân không ở điều kiện nhiệt độ 40°C cho sản phẩm có giá trị màu sắc không khác biệt so với mẫu được sấy thăng hoa và giá trị TPC, TFC cao nhất so với các nghiệm thức còn lại. Do đó, đây là điều kiện sấy phù hợp cho quá trình chế biến bột là xạ đen có khả năng duy trì được màu sắc tự nhiên của lá; hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao.

Bảng 2. Màu sắc L^*, a^*, b^* của phương pháp sấy đối lưu, sấy chân không và sấy thăng hoa

Phương pháp sấy	Nhiệt độ	L^*	a^*	b^*
Sấy chân không	30	57,50±0,55^{c}	-7,56±0,27^{bc}	19,09±0,42^{bc}
	40	59,62±0,30^{a}	-8,20±0,11^{c}	21,46±0,16^{a}
	50	57,98±0,80^{c}	-6,96±0,44^{b}	18,79±0,75^{c}
Sấy đối lưu	60	58,03±0,47^{c}	-5,03±0,65^{a}	16,88±0,99^{d}
	65	58,25±0,47^{bc}	-7,51±0,37^{bc}	20,38±0,58^{abc}
	70	52,83±0,20^{d}	-7,66±1,03^{bc}	19,06±1,85^{bc}
Sấy thăng hoa	-50	58,95±0,40^{ab}	-7,61±0,29^{bc}	20,47±0,53^{ab}

*Ghi chú: * Trung bình±STDEV (n=3). Các giá trị trung bình có cùng chữ cái đi kèm trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.*

4. KẾT LUẬN

Nhiệt độ sấy càng cao thì tốc độ sấy càng nhanh dẫn đến thời gian sấy càng ngắn; đồng thời phương pháp sấy cũng ảnh hưởng trực tiếp đến thời gian sấy. Để đạt hàm lượng ẩm cuối dao động trong khoảng 3 - 6%, thời gian sấy chân không là 1,5 giờ ở 40°C thì thời gian sấy đối lưu là 4 giờ ở 60°C. Do đó, sấy chân không mang lại hiệu quả về thời gian so với sấy đối lưu. Sấy chân không và sấy thăng hoa giúp làm tăng hay duy trì đặc tính màu sắc tốt hơn sấy đối lưu. Sấy chân không ở 40°C là thích hợp cho sấy lá xạ đen, có khả năng duy trì được hàm lượng TPC và TFC với 175,35 mg GAE/g cbk và 27,61 mg QE/g cbk, tương ứng. Ngoài ra, giá trị (L^*, a^*, b^*) được ghi nhận trong điều kiện này cũng tốt nhất so với các nghiệm thức còn lại, tương ứng là 59,62±0,30; -8,20±0,11; 21,46±0,16.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tram, N. L. (2018). Separation process of rosmarinic acid and their derivatives from *Celastrus hindsii* Benth leaves. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 54 (2C), 380.

2. Bui, T. T. D., Dang, K. T., Vu, M. H., & Bui, T. T. (2020). Cytotoxicity and antioxidant effects of *Celastrus hindsii* Benth. Leaf extract. *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, 36 (1), 39 – 45.

3. Le, T. T., Kang, T. K., Do, H. T., Nghiem, T. D., Lee, W. Bin, & Jung, S. H. (2021). Protection against oxidative stress - induced retinal cell death by compounds isolated from *Ehretia asperula*. *Natural Product Communications*, 16 (12), 1–7.

4. Luo, D., Xiong, S., Li, Q. G., Jiang, L., Niu, Q.-W., He, L. J., Li, Y. L., Zhang, Y. B., & Wang, G. C. (2018). Terpenoids from the stems of *Celastrus hindsii* and their anti -RSV activities. *Fitoterapia*, 130, 118 – 124.

5. Tran, V. S., Nguyen, H. C., Trinh, T. T., Pham, T. N., & Le, T. N. H. (2008). Isolation and structural characterization of Phenolic glycoside and Triterpenes in *Celastrus hindsii* Benth. *Journal of Chemistry*, 46, 224 – 228.

6. Tran, D. V., Tran, D. X., Andriana, T. M., Rayee, Y., R., & H. D. Tran (2019). Comprehensive Fractionation of Antioxidants and GC - MS and ESI - MS Fingerprints of Celastrus hindsii Leaves. Medicines, 6 (2), 64.

7. Đái Thị Xuân Trang, Nguyễn Thúy Tố Minh, Nguyễn Hoàng Duy, Trần Chí Linh, Phan Ngọc Thùy Ngân (2022). Tối ưu hóa quy trình ly trích cao chiết lá xạ đen (*Celastrus hindsii*) giàu polyphenol, flavonoid có hoạt tính kháng oxy hóa

và kháng đái tháo đường *in vitro*. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 58, 48 - 58.

8. Roshanak, S., Rahimmalek, M., & Goli, S. A. H. (2016). Evaluation of seven different drying treatments in respect to total flavonoid, phenolic, vitamin C content, chlorophyll, antioxidant activity and color of green tea (*Camellia sinensis* or *C. assamica*) leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 53 (1), 721 – 729.

9. Tummanichanont, C., Phoungchandang, S., & Srzednicki, G. (2017). Effects of pretreatment and drying methods on drying characteristics and quality attributes of Andrographis paniculata. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41 (6), e13310.

10. Kamiloglu, S. & Capanoglu, E. (2015). Polyphenol content in figs (*Ficus carica* L.): Effect of sun-drying. *International Journal of Food Properties*, 18, 521 - 535.

11. Nguyen, V. T., Tran, T. G. & Tran, N. L. (2021). Phytochemical compound yield and antioxidant activity of cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.) as influenced by different dehydration conditions. Drying Technology, 1-13.

12. Nguyen, V. T., Van Vuong, Q., Bowyer, M. C., Van Altena, I. A. & Scarlett, C. J. (2015). Effects of different drying methods on bioactive compound yield and antioxidant capacity of *Phyllanthus amarus*. Drying Technology, 33, 1006-1017.

13. Nguyễn Quang Vinh, Bùi Thị Bích Huyên, Nguyễn Minh Trung (2022). Ảnh hưởng của nhiệt độ và phương pháp sấy đến hàm lượng một số hợp chất hóa thực vật và hoạt tính sinh học của lá ổi rừng (*Psidium guajava* L.). *Tạp chí Khoa học Đại học Tây Nguyên*, 53, 9 – 14.

14. López - Vidaña, E. C., Pilatowsky Figueroa, I., Cortés, F. B., Rojano, B. A. & Navarro Ocaña, A. (2017). Effect of temperature on antioxidant capacity during drying process of mortiño (Vaccinium meridi-onale Swartz). *International Journal of Food Properties*, 20, 294 - 305.

15. Hoàng Thị Hằng, Hoàng Văn Chuyển, Nguyễn Anh Dũng, Nguyễn Quang Vinh (2020). Ảnh hưởng của phương thức sấy đến hàm lượng hoạt chất và hoạt tính sinh học của lá và vỏ cây chân danh hoa thưa (*Eunonymus laxiflorus* Champ.) thu hái tại Vườn Quốc gia Yokdon, tỉnh Đắk Lắk. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 19 (4.2).

16. Nguyen, Q. V. & Hoang, V. C. (2020). Processing of Herbal Tea from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.): Effects of Drying Temperature and Brewing Conditions on Total Soluble Solid, Phenolic Content, Antioxidant Capacity and Sensory Quality. Beverages, 6, 2.

17. Chen, X. D., & Mujumdar, A. S. (2008). Drying Technologies in Food Processing. Blackwell, United Kingdom.

18. Nguyen, N. M. P., Le, T. T., Vissenaekens, H., Gonzales, G. B., Van Camp, J., Smagghe, G., & Raes, K. (2019). In vitro antioxidant activity and phenolic profiles of tropical fruit by-products. *International Journal of Food Science and Technology,* 54 (4), 1169–1178.

19. Pham, D.-C., Nguyen, H.-C., Nguyen, T.-H. Le, Ho, H.-L., Trinh, T.-K., Riyaphan, J., & Weng, C.-F. (2020). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Flavonoids from Celastrus hindsii Leaves Using Response Surface Methodology and Evaluation of Their Antioxidant and Antitumor Activities.

20. Lin, X., Zhang, L., Lei, H., Zhang, H., Cheng, Y., Zhu, R., & Ruan, R. (2010). Effect of drying technologies on quality of green tea. 19 (3), 30 – 37.

21. Hossain, M. B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., & Brunton, N. P. (2010). Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. Food Chemistry, 123 (1), 85 – 91.

22. Arslan, D., & Özcan, M. M. (2012). Evaluation of Drying Methods with Respect to Drying Kinetics, Mineral Content, and Color Characteristics of Savory Leaves. Food and Bioprocess Technology, 5 (3), 983 – 991.

SURVEYING THE EFFECT OF DRYING METHODS ON THE QUALITY OF *Ehretia asperula* Zoll. & Mor. LEAF POWDER

Tran Chi Nhan, Le Ngoc Tuyen, Tran Thi Cam Hong, Tran Trong Nguyen

Luu Thai Danh, Do Thi Tuyet Nhung, Nguyen Nhat Minh Phuong

Summary

The leave of *Ehretia asperula* Zoll. & Mor. is now known as a valuable herbal source because they contain many compounds with high biological activity. To maintain these compounds, choosing suitable drying methods and conditions in the processing process of leaf powder is necessary. The research aims to select the practical methodology and requirements of drying the leaves for the powder with high antioxidant content, good color, and sensory value. The leaves were blanched by microwave at the energy level of 500 W for 60 seconds, then studied the influence of three drying methods: convection drying (60°C, 65°C and 70°C), vacuum drying (30°C, 40°C and 50°C) and freeze - drying to total polyphenols, flavonoids, and color (*L*, a*, b**) of the leaf powder. The results show that the drying time can be shortened with increasing temperature. In addition, the drying method also directly affects the drying time. In particular, vacuum drying is more efficient in terms of time and energy than convection drying. Furthermore, vacuum drying and freeze - drying maintain the color of leaves powder better than convection drying. Vacuum drying at 40^0C is suitable for drying leaf powder due to its ability to maintain the highest TPC and TFC content with 175.35 mg GAE/g db and 27.61 mg QE/g db, respectively. In addition, the *L*, a*, b** values are 59.62±0.30, -8.20±0.11 and 21.46±0.16, respectively, determined under this condition, are also reasonable compared with the rest of the treatments.

Keywords: *Convection drying, Ehretia asperula Zoll. & Mor., flavonoid, freeze-drying, polyphenol, vacuum drying.*

Người phản biện: TS. Phạm Ngọc Hưng

Ngày nhận bài: 13/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 11/4/2023

Ngày duyệt đăng: 18/4/2023

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN, HÀM LƯỢNG CÁC LỚP CHẤT LIPIT VÀ AXIT BÉO CỦA LOÀI RONG BIỂN *Padina australis* Hauck Ở BIỂN NHA TRANG VÀ CÔN ĐẢO, VIỆT NAM

Lê Tất Thành[1, 3, *], Phạm Thu Huế[2], Vũ Đình Phóng[3, 4]

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định thành phần, hàm lượng lipit tổng, các lớp chất lipit và axit béo loài rong biển *Padina australis* Hauck thu ở vùng biển Nha Trang và Côn Đảo, Việt Nam. Hàm lượng lipit tổng của mẫu Nha Trang là 8,2% (khối lượng rong khô), gấp hơn 2 lần mẫu Côn Đảo là 3,8%. Bằng phương pháp TLC đã xác định được 7 lớp chất lipit, trong đó mẫu Nha Trang có 5 lớp chất gồm: Pol, ST, FFA, TG, HW với hàm lượng từ 0,9% đến 36,6%; mẫu Côn Đảo có 6 lớp chất gồm: Pol, ST, DG, TG, MADG và HW với hàm lượng từ 6,0% đến 41,3%. Đã xác định được 23 loại axit béo có mạch các bon từ 14 - 22 nguyên tử. Trong đó, 7 axit béo no có hàm lượng từ 38,41% đến 55,18%, 5 axit béo nhóm MUFA với hàm lượng từ 20,85% đến 39,36% và 11 axit béo nhóm PUFA với hàm lượng từ 19,02% đến 22,59%. Đặc biệt mẫu Nha Trang có 5 axit béo C20 với hàm lượng 14,25%, trong khi mẫu cùng loài ở Côn Đảo không phát hiện nhóm này. Đối với mẫu Côn Đảo, đã phát hiện 02 a axit béo mạch dài có hoạt tính sinh học rất cao là DHA và DPA. Điều đó cho thấy sự tổng hợp lipit và axit béo không những phụ thuộc vào bản chất sinh học của loài mà chúng còn bị tác động mạnh bởi các yếu tố ngoại sinh khác như môi trường sống, nhiệt độ, điều kiện dinh dưỡng... Rong biển *Padina australis* Hauck chứa nguồn lipit có lợi với cơ thể thông qua chỉ số omega-6/omega-3 và PUFA/SFA, đây là 1 nguồn lipit rất giàu EPA, DHA với hàm lượng 11,31% và 18,54%.

Từ khoá: *Axit béo, Côn Đảo, lớp chất lipit, Nha Trang, rong biển, Padina australis.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lipit từ các sinh vật biển nhận được sự chú ý ngày càng tăng vì những tác dụng tích cực của chúng đối với tim mạch và não, các bệnh này chủ yếu liên quan tới vai trò sinh học và dược lý của các axit béo không no đa nối đôi (PUFAs) [1], [2]. Một số nghiên cứu cho thấy các axit béo C18:2, 18:3 là axit béo khởi đầu của quá trình sinh tổng hợp các dãy omega-3 và omega-6 [3], axit béo C20:4 là tiền chất sinh tổng hợp các hợp chất prostaglandin nhóm 2 trong cơ thể [4], [5], vì vậy chúng tham gia vào quá trình cân bằng omega-3/omega-6 và điều biến quá trình viêm trong cơ thể. Ở Việt Nam, Phạm Thu Huế (2021) [6] đã nghiên cứu hoạt tính sinh học của các phân đoạn lipit 2 loài rong *Lobophora* sp. và *Halimeda incrassata* Lamx, kết quả cho thấy, chúng đều ức chế tốt sự sản sinh NO với các giá trị IC_{50} tương ứng là 52,1- 66,22 µg/ml và 32,57 - 41,66 µg/mL. Phân đoạn lipit phân cực (Pol) của rong Nâu *Lobophora* sp. có khả năng ức chế được 44,94 - 49,97% sự phát triển của 3 dòng tế bào ung thư SK-LU-1, Hep G2 và MCF7; phân đoạn lipit phân cực của rong Lục *Halimeda incrassata* Lamx. có khả năng ức chế được 42,5% sự phát triển của dòng tế bào ung thư vú MCF7. Kết hợp với tính bền oxy hóa cao và tác dụng kháng một số chủng vi sinh vật kiểm định, lipit của hai loài rong biển này có

[1] Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
[2] Học viện Hải quân
[3] Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
[4] Trường Đại học Đại Nam
[*] Email: thanh.lt@igr.ac.vn

thể được dùng cho các sản phẩm dinh dưỡng, dược và mỹ phẩm.

Loài *Padina australis* Hauck thuộc chi *Padina*, họ Dictyotaceae, bộ Dictyotales, ngành rong Nâu (Phaeophyta). Ở Việt Nam, chúng không được nuôi trồng như một số loài rong khác (rong Đỏ - *Gracilaria tenuistipitata,* rong Sụn - *Kappaphycus alvarezil* hay rong Nho - *Caulerpa lentillifera)* mà chủ yếu được tìm thấy trong tự nhiên ở một số vùng biển ở Khánh Hòa, Côn Đảo, Lý Sơn, quần đảo Nam Du... [7, 8]. Các nghiên cứu về lipit, thành phần các lớp chất lipit và axit béo của loài rong này thu ở Việt Nam hầu như chưa được công bố.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Hai mẫu của loài rong biển thuộc ngành rong Nâu (Phaeophyta), bộ Dictyotales, họ Dictyotaceae, chi *Padina* với tên khoa học: *Padina australis* Hauck được thu ở biển Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa (mẫu Nha Trang) và Côn Đảo, tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu (mẫu Côn Đảo). Các mẫu sau khi thu được rửa sạch bằng nước ngọt và bảo quản trong điều kiện tiêu chuẩn ở 4°C. Mẫu được thu và xác định tên khoa học bởi Đàm Đức Tiến - Viện Tài nguyên và Môi trường Biển [9, 10].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định hàm lượng lipit tổng

Lipit tổng được xác định theo phương pháp Bligh & Dyer (1959) [11] có hỗ trợ bởi sóng siêu âm. 50 g rong biển được cắt nhỏ, trộn với 150 ml $CHCl_3/M_eOH$ (tỉ lệ 2/1, v/v), sau đó siêu âm 3 lần mỗi lần 30 phút. Lọc thu dung dịch 1, bã còn lại đem ngâm tiếp với 50 ml $CHCl_3$, tiếp tục siêu âm như trên. Lọc thu dịch lần 2 đem gom với dịch lần 1, bổ sung thêm 40 ml nước cất, lắc đều rồi đưa lên phễu chiết để phân thành hai pha. Thu pha hữu cơ phía dưới chứa lipit, làm khan bằng Na_2SO_4 trước khi quay kiệt dung môi. Sau đó, pha này được cất cô chân không để thu lipit tổng. Hàm lượng lipit tổng được tính theo phần trăm khối lượng rong khô (phương pháp chiết tách được lặp lại 3 lần lấy giá trị trung bình). Dịch chiết lipit sau đó được chuyển vào lọ 4 ml, làm khô lại bằng khí nitơ, bảo quản ở -20°C để sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.2. Xác định các lớp chất lipit

Các lớp chất lipit được xác định bằng sắc ký lớp mỏng (TLC) trên tấm silicagel (6 cm x 6 cm, Sorbfil, Krasnodar, Nga) và hệ dung môi n-hexan/di-ethyl ether/axit axetic (85/15/1, v/v), lipit phân cực được chạy lại với hệ cloroform/metanol/nước (65/35/5, v/v). Mỗi mẫu chấm 3 lần với 3 nồng độ khác nhau, sau đó được phun thuốc thử 10% H_2SO_4/MeOH và được làm nóng ở 210^0C trong 20 phút. Các sắc kí đồ được quét bởi máy scan Epson Perfection 2.400 PHOTO (Nagano, Nhật Bản) ở chế độ xám với các điều kiện tiêu chuẩn. Hàm lượng của các lớp lipit (% tổng hàm lượng các lớp chất) được xác định dựa trên phép đo diện tích và cường độ sáng của vệt chất bằng chương trình phân tích hình ảnh Sorbfil TLC Videodensitometer, Krasnodar, Nga [12].

2.2.3. Xác định hàm lượng các axit béo

Metyl este của các axit béo (FAME) thu được bằng cách ủ 10 mg lipit tổng với 2 ml 2% H_2SO_4/CH_3OH trong lọ vial 4 ml ở 80°C trong 2 giờ. Sau đó, thêm 2 ml hexan và 0,1 ml H_2O, lắc mạnh trong 60 giây. Pha hữu cơ trên được thu lại và làm khô bằng dòng nitơ trước khi làm sạch bằng TLC với hệ dung môi hexan/dietyl ete (95/5, v/v). FAME được phân tích bằng máy sắc ký khí Shimadzu GC-2010 (Kyoto, Nhật Bản), đầu dò ion hóa ngọn lửa (FID), cột mao quản Equity 5 (Merck, L x ID 30 m x 0,25 mm, df 0,25 µm). Khí mang He ở tốc độ 20 ml/phút. Chương trình nhiệt độ trong lò bắt đầu ở 160°C, tăng 2°C/phút lên 240°C sau đó giữ trong 20 phút. Các axit béo được xác định theo giá trị thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu chuẩn của hai axit béo chuẩn C16:0 và C18:0. Các cấu trúc axit béo được xác định bằng

máy GC-MS. Phổ được so sánh với thư viện NIST 11 và kho lưu trữ phổ khối của axit béo [13].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần, hàm lượng lipit tổng và các lớp chất

Kết quả xác định thành phần và hàm lượng lipit tổng và các lớp chất lipit của 2 mẫu rong biển thu tại Nha Trang và Côn Đảo được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần và hàm lượng các lớp chất trong lipit tổng của *Padina australis*

TT		Mẫu Nha Trang (%)	Mẫu Côn Đảo (%)
Lipit tổng *(% khối lượng khô)*		8,2 ± 0,02	3,8 ± 0,015
Các lớp chất lipit *(% tổng các lớp chất)*			
1	Polar lipit (Pol)	21,3 ± 0,04	19,4 ± 0,29
2	Sterols (ST)	10,1 ± 0,13	15,7 ± 0,20
3	Diacyl glycerol (DG)	-	6,9 ± 0,11
4	Free fatty acids (FFA)	36,4 ± 0,20	-
5	Triglycerid (TG)	15,1 ± 0,13	41,4 ± 0,16
6	Monoalkyl diacylglycerol (MADG)	-	10,5 ± 0,09
7	Hydrocacbon and Wax (HW)	0,9 ± 0,04	6,1 ± 0,07
8	Khác	16,1 ± 0,11	-

3.1.1. Hàm lượng lipit tổng

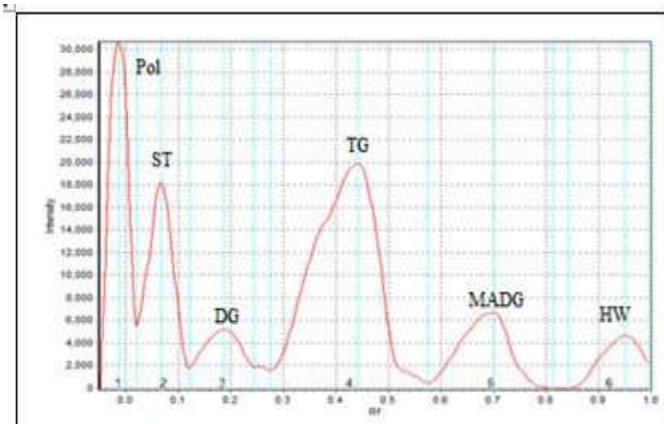
Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng lipit tổng của 2 mẫu rong *Padina australis* thu tại Côn Đảo và Nha Trang lần lượt là 3,8% và 8,2% (khối lượng khô). Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu trước đó về hàm lượng lipit tổng của một số loài rong thuộc ngành rong Nâu (Phaeophyta) thu ở vùng biển Việt Nam [14, 15, 16] và cao hơn một số công bố quốc tế về hàm lượng lipit tổng của cùng loài rong này thu tại vùng biển của Indonesia (36,7 mg/g tương ứng với 3,67% khối lượng khô). Một điểm đặc biệt đáng chú ý, ở cùng một loài, được thu cùng 1 thời điểm nhưng ở 2 khu vực khác nhau, lượng lipit tổng của mẫu lấy tại Nha Trang cao hơn gấp đôi so với mẫu lấy tại Côn Đảo, điều này một lần nữa khẳng định hàm lượng nhóm chất không những phụ thuộc vào bản chất sinh học của loài mà phụ thuộc nhiều vào các yếu tố ngoại sinh như môi trường sống, dinh dưỡng, khí hậu…[17, 18].

3.1.2. Thành phần và hàm lượng các lớp chất lipit

Kết quả ở hình 1 đã xác định được 7 lớp chất lipit từ loài rong biển *Padina australis*. Trong đó, mẫu rong biển thu tại Nha Trang đã xác định được 5 lớp chất gồm Pol, ST, FFA, TG, HW với hàm lượng từ 0,9 - 36,4% (tổng các lớp chất), ngoài ra còn lớp chất khác chưa xác định được chiếm 16,1%. Mẫu rong biển thu tại Côn Đảo đã xác định được 6 lớp chất gồm Pol, ST, DG, TG, MADG và HW với hàm lượng từ 6,1 - 41,4%.

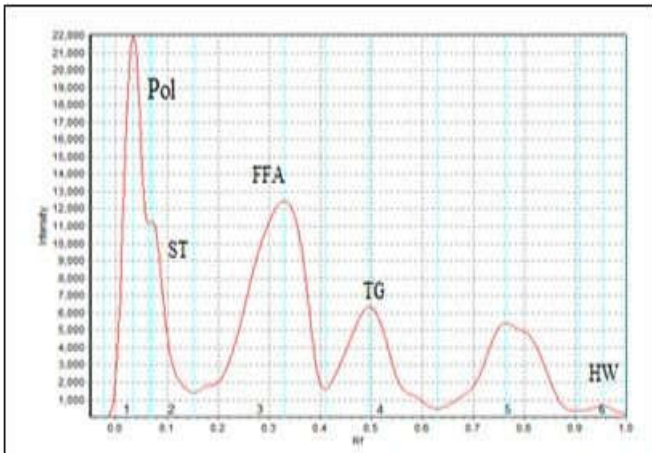
Kết quả phân tích cũng chỉ ra rằng thành phần và hàm lượng các lớp chất của 2 mẫu rong cùng loài này thu ở vùng biển gần bờ (mẫu Nha Trang) và xa bờ (mẫu Côn Đảo) có sự khác biệt rất lớn. Có 4 lớp chất đều phát hiện ở cả hai mẫu là Pol, ST, TG và HW nhưng hàm lượng có sự biến động mạnh. Ngoài lớp chất Pol có sự chênh lệch không đáng kể 7,5% so với lớp chất này (tương ứng 21,3% và 19,4% với lần lượt các mẫu thu tại Nha Trang và Côn Đảo) thì 3 lớp chất còn lại có sự chênh lệch

lên tới 35% như ở lớp chất ST (tương ứng là 10,1% và 15,7%), 64% ở lớp chất TG (tương ứng 15,1% và 41,4%) và 85% (tương ứng 0,9% và 6,1%) ở lớp chất HW. Một số lớp chất xuất hiện ở mẫu thu tại vùng biển xa bờ Côn Đảo nhưng không có ở mẫu thu gần bờ Nha Trang như DG là 6,9%, MADG là 10,5%. Ngược lại, ở mẫu Côn Đảo không phát hiện FFA, trong khi ở mẫu Nha Trang FFA lại có hàm lượng rất lớn, chiếm 36,4%. Ngoài ra mẫu thu tại Nha Trang còn 16,1% lớp chất khác chưa xác định được và cần có thêm các nghiên cứu về lớp chất này.



Mẫu Côn Đảo

Peak	Rf	S	%S	Description
1	0.01	633203	19.7	Pol
2	0.07	498252	15.5	ST
3	0.19	217697	6.8	DG
4	0.44	1323992	41.3	TG
5	0.7	340330	10.6	MADG
6	0.95	193536	6	HW
Total		3207010		



Mẫu Nha Trang

Peak	Rf	S	%S	Description
1	0.03	379579	21.3	Pol
2	0.10	179685	10.1	ST
3	0.33	652161	36.6	FFA
4	0.52	269646	15.1	TG
5	0.76	286954	16.1	-
6	0.95	16178	0.9	HW
Total		1784203		

Hình 1. Sắc kí đồ xác định các lớp chất lipit

3.2. Thành phần và hàm lượng các axit béo

Trong lipit của rong biển *Padina australis* đã xác định được 23 loại axit béo có số lượng nguyên tử cacbon dao động từ 14 - 22 (Bảng 2).

3.2.1. Các axit béo no (SFAs)

Kết quả phân tích đã xác định được 7 loại axit béo bão hoà có từ 14 - 20 nguyên tử các bon (SFAs) với hàm lượng là 38,41% tổng hàm lượng axit béo (mẫu Nha Trang) và 55,18% (mẫu Côn Đảo), trong đó chiếm hàm lượng chủ yếu là axit palmitic (C16:0) với hàm lượng tương ứng là 33,10 và 47,64% (chiếm 86% tổng hàm lượng SFAs), tiếp đến là axit myristic (C14:0) với hàm lượng từ 3,17% - 4,1%. Đặc biệt trong số các axit béo no đã phát hiện được 3 axit béo có mạch cacbon lẻ rất hiếm gặp trong tự nhiên với hàm lượng thấp (<2%) là C15:0, C17:0 (chỉ có ở mẫu Nha Trang) và C19:0 (chỉ xuất hiện ở mẫu Côn Đảo). Kết quả cũng cho thấy có sự biến động mạnh ở nhóm SFAs trong

thành phần axit béo của các mẫu thu ở vùng khác nhau nhất là với axit béo mạch cacbon lẻ và axit béo C20:0.

Bảng 2. Thành phần và hàm lượng các axit béo của rong biển *Padina australis*

TT	Hàm lượng / Tên axit béo	Mẫu Nha Trang *(% tổng axit béo)*	Mẫu Côn Đảo *(% tổng axit béo)*
∑ SFAs		38,41	55,18
1	14:0	3,17	4,10
2	15:0	0,66	-
3	16:0	33,10	47,64
4	17:0	0,24	-
5	18:0	0,73	1,57
6	19:0	-	1,88
7	20:0	0,51	-
∑ MUFAs		39,36	20,85
8	16:1n-5	16,46	-
9	16:1n-7	3,60	2,88
10	18:1n-7	0,64	4,62
11	18:1n-9	18,66	11,97
12	18: 1n-11	-	1,38
∑ PUFAs		19,02	22,59
13	18:2n-6	3,18	0,33
14	18:3n-3	1,05	1,04
15	18:3n-6	0,53	0,49
16	18:4n-3	-	0,82
17	20:3n-6	0,22	-
18	20:3n-9	1,33	-
19	20:4n-3	0,24	-
20	20:4n-6 (AA)	1,15	-
21	20:5n-3 (EPA)	11,31	-
22	22:6n-3 (DHA)	-	18,54
23	22:5n-3 (DPA)	-	1,37
	Khác	3,21	1,38
C20		14,25	0
Omega-6/Omega-3		0,40	0,04
PUFA/SFA		0,50	0,41

Ghi chú: SFAs: các axit béo no; MUFAs: các axit béo có 1 nối đôi; PUFAs: các axit béo đa nối đôi; C20: các axit béo có 20 nguyên tử các bon; n6: các axit béo omega6; n3: các axit béo omega-3.

3.2.2. Các axit béo không no có 1 nối đôi (MUFAs)

Trái ngược với nhóm SFAs, hàm lượng các axit béo không bão hòa nhóm MUFAs thu ở Nha Trang cao hơn gần gấp 2 lần mẫu thu ở Côn Đảo, tương ứng là 39,36% và 20,85%. Trong thành phần nhóm này đã xác định được 5 axit béo mà mạch cacbon có 16 và 18 nguyên tử mà vị trí nối đôi ở cacbon thứ 5, 7, 9, 11 tính từ đầu methyl (hay còn gọi là axit béo omega 5, 7, 9, 11). Axit béo quan trọng nhất nhóm này phải kể đến axit oleic (C18:1n-9) với hàm lượng từ 11,97 - 18,66%, đây là axit béo omega-9 xuất hiện chủ yếu trong thực vật và có nhiều tác dụng tích cực với sức khoẻ con người [19]. Hai mẫu rong biển cùng loài này có sự biến động rất thú vị ở axit C16:1n-5 chỉ thấy ở mẫu Nha Trang với hàm lượng khá cao 16,46%, trong khi không xuất hiện ở mẫu Côn Đảo. Ngược lại, mẫu Côn Đảo xuất hiện C18:1n-11 với hàm lượng 1,38% mà không tìm thấy trong mẫu Nha Trang.

3.2.3. Các axit béo không no đa nối đôi (PUFAs)

Khác với hai nhóm axit béo trên, nhóm PUFAs ở các mẫu thu ở hai vùng khác nhau không sai khác nhiều về hàm lượng (tương ứng là 19,02% mẫu Nha Trang và 22,59% mẫu Côn Đảo), tuy nhiên thành phần các axit béo có sự biến động rất lớn. Trong số 11 axit béo nhóm này đã được phát hiện, chỉ có 3 axit béo có trong cả hai mẫu thuộc nhóm C18 là C18:2n-6, C18:3n-3 và C18:3n-6 với hàm lượng thấp từ 0,33 - 3,18%. Có thể các axit này

đã được sử dụng làm nguyên liệu sinh tổng hợp các axit béo có mạch các bon dài hơn thuộc dãy omega-3, omega-6 [3]. Ngoài ra, còn có axit C18:4n-3 ít gặp trong tự nhiên chỉ thấy trong mẫu thu tại Côn Đảo với hàm lượng 0,82%.

Điều rất đặc biệt ở hai mẫu rong biển cùng loài này là nhóm các axit béo mạch có 20 nguyên tử các bon (C20). Trong khi mẫu thu ở Nha Trang phát hiện có 5 loại gồm: C20:3n-6; C20:3n-9; C20:4n-3; C20:4n-6 (arachidonic axit – AA); C20:5n-3 (eicosapentaenoic acid - EPA) với hàm lượng là 14,25% tổng axit béo, thì mẫu thu ở Côn Đảo không xuất hiện nhóm axit béo này. Chiếm hàm lượng chủ yếu cho nhóm axit béo này phải kể đến C20:5n-3 có hàm lượng 11,31%. Đây là axit béo nhóm omega-3 thiết yếu có tác dụng sinh học đặc biệt được sử dụng nhiều trong các sản phẩm phòng ngừa bệnh tim mạch [20]. Các axit béo C20 là tiền chất của quá trình sinh tổng hợp các hợp chất eicosanoid giúp điều hoà quá trình viêm trong cơ thể, nhất là các prostaglandin, hợp chất có hoạt tính sinh học mạnh đã được sử dụng làm thuốc kích chuyển dạ trước sinh [21].

Tuy không có mặt các axit béo C20 như mẫu thu ở Nha Trang nhưng mẫu rong biển *Padina australis* thu ở Côn Đảo xuất hiện 02 axit béo omega-3 khác là C22:6n-3 (docosahexaenoic axit - DHA) với hàm lượng rất cao 18,54% và C22:5n-3 (docosapentaenoic axit – DPA) hàm lượng 1,37%. DHA là axit béo thiết yếu có hoạt tính sinh học cao, rất cần thiết cho sự tăng trưởng và phát triển chức năng của não ở trẻ sơ sinh, duy trì chức năng não bình thường ở người lớn, có tác dụng tích cực đối với các bệnh tăng huyết áp, viêm khớp, xơ vữa động mạch, trầm cảm, đái tháo đường khởi phát ở người trưởng thành, nhồi máu cơ tim, huyết khối và một số bệnh ung thư [22]. DHA cũng là hoạt chất không thể thiếu cho các loài thủy sản giai đoạn con giống [23]. Trong khi đó, DPA là hợp chất chuyển hoá trung gian giữa EPA và DHA. Chất này đã được chứng minh có hoạt tính với tim mạch mạnh hơn EPA khi tiến hành thử nghiệm trên chuột [24].

Các dữ liệu về thành phần và hàm lượng các axit béo PUFAs, nhất là nhóm C20 và DHA, DPA, EPA rất đáng được nghiên cứu chuyên sâu để tìm hiểu cơ chế chuyển hoá giữa các axit béo thiết yếu và từ đó điều khiển quá trình sản sinh hoạt chất EPA, DHA theo mong muốn cũng như sự biến động nhóm C20 với phản ứng tự vệ sinh học của loài rong biển này trong việc sản sinh ra các nhóm chất eicosanoid [25, 26].

3.2.4. Chỉ số omega-6/omega-3

Chỉ số omega-6/omega-3 của hai mẫu rong biển *Padina australis* thu ở Nha Trang và Côn Đảo lần lượt là 0,40 và 0,04 (Bảng 2) cho thấy, loài rong này có nguồn lipit tốt cho sức khoẻ con người theo khuyến cáo của WHO (chỉ số omega-6/omega-3 <10). Đặc biệt, đây là nguồn cung cấp các axit béo thiết yếu EPA, DHA với hàm lượng cao (tương ứng là 11,31% và 18,54%).

3.2.5. Chỉ số PUFA/SFA

Chỉ số PUFA/SFA của hai mẫu rong thu tại Nha Trang và Côn Đảo lần lượt là 0,50 và 0,41 cho thấy loài rong biển *Padina australis* có chứa lipit lành với cơ thể con người theo khuyến cáo của WHO (chỉ số PUFA/SFA >0,4).

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được hàm lượng lipit tổng, thành phần và hàm lượng các lớp chất lipit và axit béo của loài rong biển *Padina australis* Hauck thu tại biển Nha Trang và Côn Đảo của Việt Nam. Hàm lượng lipit tổng từ 3,8 - 8,2% khối lượng rong khô, đã xác định được 7 lớp chất lipit là Pol, ST, DG, FFA, TG, MADG, HW có hàm lượng từ 0,9 - 43,1% tổng các lớp chất và 23 axit béo có hàm lượng từ 0,24 - 47,64%.

Thành phần và hàm lượng các lớp chất lipit, các axit béo của loài rong biển này biến động rất lớn phụ thuộc vào khu vực, vị trí thu mẫu đặc biệt là đối với nhóm các axit béo không no đa nối đôi mạch dài nhóm C20 và DHA.

Rong biển *Padina australis* Hauck chứa nguồn lipit tốt và lành với cơ thể và rất giàu EPA, DHA với hàm lượng 11,31% và 18,54% tổng axit béo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. La Guardia M. S., Giammanco D. Di Majo, G. Tabacchi, E. Tripoli & M. Giammanco (2005). *Omega 3 fatty acids: biological activity and effects on human health.* Panminerva Med., No 47, pp. 245–257.

2. Calder P. C., Yaqoob P. (2009). *Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcomes.* Biofactors, No. 35(3), pp. 266-272.

3. Phạm Quốc Long, Châu Văn Minh (2005). *Lipit và các axit béo hoạt tính sinh học có nguồn gốc thiên nhiên*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, 213 tr.

4. Harwood J. L., P. A. Murata (1998). *Lipids in photosynthesis: Structure, Funtion and Genetics*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp.53-54.

5. Dembitsky V. M. & Rezanka T. (1995). *Distribution of acteylenic acids and polar lipids in some aquatic bryophytes.* Phytochem, No. 40, pp. 93-97.

6. Phạm Thu Huế (2021). *Nghiên cứu các thành phần và hoạt tính sinh học của lipit trong một số loài rong biển ở Việt Nam.* Luận án Tiến sĩ hóa học, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 150 tr.

7. Đỗ Duy Anh, Trần Văn Hướng, Bùi Minh Tuấn, Nguyễn Văn Hiếu, Nguyễn Thị Mai, Đặng Diễm Hồng (2019). Đa dạng loài rong biển ven đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế:* Khoa học Tự nhiên. Tập 128, số 1A, tr. 51-72.

8. Đỗ Anh Duy, Đinh Thanh Đạt, Đàm Đức Tiến (2019). Đa dạng loài và phân bố rong biển quần đảo Nam Du, Kiên Giang. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ,* tập 55, số 4A, tr. 71-81.

9. Tien, D. D., Anh, N. T M., Nguyen, L. M., Hue, P. T., & Liao, L (2020). Species composition and distribution of marine macro algae at Co To and Thanh Lan archipelago. *Vietnam Journal of Marine Science and Technology*, 20(3), 267–276.

10. Thanh, L. T., Hue, P. T., Anh, N. V. T., Tien, D. D (2021). Study on using fatty acid data in the botanical chemotaxonomy for Vietnamese seaweed species. *Vietnam Journal of Biotechnology,* 19(2), 371–379.

11. Bligh E. G. and W. J. Dyer (1959). Arapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. Vol. (No) 37(8), pp. 911-917.

12. Uthai S., Panadda P. (2011). A Comparison of Image Analysis Software for Quantitative TLC of Ceftriaxone Sodium. *Silpakorn U. Science & Tech. J.*, 5(1), pp. 7-13.

13. Pham Thu Hue, Nguyen Van Tuyen Anh, Pham Quoc Long, Le Tat Thanh (2020). Lipid classes, fatty acid composition and molecular species of betaine lipid of the green algae Halimeda incrassata Lamx. collected at Truong Sa island. *Vietnam J. Chem.*, 59 (3), 369-375.

14. Pham Thu Hue, Nguyen Van Tuyen Anh, Nguyen Thi Cam Binh, Dam Duc Tien, Le Tat Thanh, Pham Quoc Long (2017). *Research on the content of lipid classes and fatty acids from*

Sargassum seaweed. ASAM conferences in Vietnam, VAST, pp 577-582.

15. Thu Hue Pham, Van Tuyen Anh Nguyen, Thi Thanh Trung Do, Anh Duy Do, Duc Tien Dam, Thi Thanh Van Tran, Quoc Long Pham and Tat Thanh Le (2020). Fatty acid, lipid classes and polar lipids molecular species composition of Lobophora sp. from Con Dao marine areas, Ba Ria - Vung Tau province, Viet Nam. *Journal of Chemistry*, 10 pages.

16. Pham Thu Hue, Van Tuyen Anh Nguyen, Thi Hoang Yen Kieu, Le My Anh Nguyen, Hai Nam Hoang, Quoc Long Pham, Duc Tien Dam, Thi Thanh Van Tran, Tat Thanh Le (2021). Content and composition of lipid classes, fatty acid from Sargassum seaweed collected at Con Dao and Van Phong bay. *Vietnam Journal of Marine Science and Tecnology*, 1-8.

17. Eko Susanto, Akhmad Suhaeli Fahmia, Masayuki Abe, Masashi Hosokawac, Kazuo Miyashita (2015). *Lipids, Fatty Acids, and Fucoxanthin Content from Temperate and Tropical Brown Seaweeds.* 2nd International Symposium on Aquatic Products Processing and Health ISAPPROSH, aquatic Procedia 7 (2016) 66-75.

18. Bjorn J. Gosch, Marie Magnusson, Nicholas A. Paul and Rocky de Nys (2012). *Total lipid and fatty acid composition of seaweeds for the selection of species for oil-based biofuel and bioproducts.* GCB Bioenergy, 7-9.

19. Helioswilton Sales-Campos, Patrícia Reis de Souza, Bethânea Crema Peghini, João Santana da Silva and Cristina Ribeiro Cardoso (2013). *An Overview of the Modulatory Effects of Oleic Acid in Health and Disease.* Medicinal Chemistry, 13, 201-210.

20. Cottin S. C., T. A. Sanders and W. L. Hall (2011). *The differential effects of EPA and DHA on cardiovascular risk factors.* Proceedings of the Nutrition Society, 70, 215–231.

21. Lê Tất Thành (2016). *Nghiên cứu sàng lọc phân lập và nhận dạng các hoạt chất axit béo, axit arachidonic và prostaglandin.* Luận án Tiến sĩ Hóa học, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 130 tr.

22. Lloyd A., Horrocks U. and Young K. Yeoc (1999). *Health benefits of docosahexaenoic of docosahexaenoic acid (DHA).* Pharmacological Research. Vol. 40. No. 3.

23. Nguyen Thi Nguyet Hue, Dinh Truong An, Phan Thi Khanh (2019). Effect of enriching live feeds with HUFA on growth and survival of clownfish. *Journal of Marine Science and Technology*, 19, 191-199.

24. Xiao Fei Guo, Andrew J. Sinclar, Gunveen Kaur, Duo Li (2018). *Differential effects of EPA, DPA and DHA on cardio-methabolic rish factors in hight-fat diet fed mice.* Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 136:47-55.

25. Rempt, Weinberger F., Grosser K., Pohnert G. and Beilstein J. (2012). *Conserved and speccies – specific oxylipin pathways in the wound-activated chemical defense of the noninvasive red alga Gracilaria chilensis and the invasive Gracilaria vermiculophylla (Ohmi) Papenf.* Chem., 8, 283.

26. Weinberger F., Lion M., Delage L., Kloareg B., Potin P., Beltran J., Floes V., Faugeron S., Correa J. and Pohnert G. (2011). Up-Regulation of lipoxygenase, phospholipase and oxylipin – production in the induced chemical defense of the red alga Gracilaria chilensis against Epiphytes. *J. chem. Ecol.*, 37, 677.

RESEARCH ON THE COMPOSITION AND CONTENT OF LIPID CLASSES AND FATTY ACIDS OF A SEAWEED *Padina australis* Hauck COLLECTED IN NHA TRANG AND CON DAO, VIETNAM

Le Tat Thanh[1, 3, *], Pham Thu Hue[2], Vu Dinh Phong[3, 4]

[1]*Insititute of genome research (VAST)*

[2]*Naval Academy*

[3]*Graduate University of Sciences and Technology (VAST)*

[4]*Dai Nam University*

[*]*Email: thanhlt@igr.ac.vn*

Summary

This study aimed to investigate the composition and content of lipid classes and fatty acids found in samples of theseaweed species, *Padina autralis* Hauck, 1887 collected in Nha Trang and Con Dao, Vietnam. The total lipid content of the sample collected in Nha Trang is 8.2% (weight of dry seaweed) and is twice more than that of the sample collected in Con Dao, which is 3.8%. By using thin-layer chromatography (TLC) method, 7 layers of lipids have been identified, in which Nha Trang sample has 5 layers including: Pol, ST, FFA, TG, HW with content from 0.9% to 36.6% while the Con Dao sample has 6 classes of substances including: Pol, ST, DG, TG, MADG and HW with content from 6.0% to 41.3%. 23 types of fatty acids have been identified with the number of carbon atoms ranging from 14 to 22. Of which, 7 saturated fatty acids have content from 38.41% to 55.18%, 5 fatty acids of MUFA group have a content of 20.85% to 39.36% and 11 PUFA group fatty acids with content from 19.02% to 22.59%. Especially, the Nha Trang sample has 5 C20 fatty acids with a content of 14.25% while this group was not detected in the sample of same species in Con Dao. However, in Con Dao sample, we detected 02 long-chain fatty acids with very high bioactivities: DHA and DPA. These evidence partly show that the synthesis of lipids and fatty acids depends not only on the biological nature of the species, but also is strongly influenced by other exogenous factors such as habitat, temperature, and nutritional conditions. *Padina australis* contains a source of lipids beneficial to the body indicated through the index of Omega-6/Omega-3 and PUFA/SFA, which are very rich source of EPA, DHA, with the content of 11.31% and 18.54%, respectively.

Keywords: *Con Dao, fatty acid, lipid classes, Nha Trang, Padina australis, seaweed.*

Người phản biện: TS. Vũ Hồng Sơn

Ngày nhận bài: 13/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 10/4/2023

Ngày duyệt đăng: 17/4/2023

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG SỬ DỤNG NẤM MEN PROBIOTIC *Saccharomyces boulardii* TRONG SẢN XUẤT BIA NỒNG ĐỘ CỒN THẤP

Khuất Bích Phượng[1], Hồ Phú Hà[1], Chu Kỳ Sơn[1],
Nguyễn Tiến Thành[1,*], Từ Việt Phú[2]

TÓM TẮT

Mối quan tâm của người tiêu dùng đối với sức khỏe ngày càng tăng cao nên những năm gần đây, thị trường bia không cồn và bia có nồng độ cồn thấp đã có sự tăng trưởng đáng kể và hứa hẹn sẽ phát triển hơn nữa trong tương lai. Việc nghiên cứu sử dụng nấm men để sản xuất loại bia này đang thu hút được sự quan tâm của các nhà khoa học và các nhà sản xuất bia trên thế giới. *Saccharomyces boulardii* là loại nấm men duy nhất được coi là probiotic, việc sử dụng nó trong sản xuất thực phẩm bắt đầu được nghiên cứu khá nhiều. Trong nghiên cứu này, các đặc điểm phát triển của loại nấm men này trong môi trường dịch đường lên men bia, có iso-α-axit đắng và cồn đã được tiến hành khảo sát. Kết quả cho thấy, nồng độ cồn nhỏ hơn 2,5% thể tích không ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển của *Saccharomyces boulardii*. Tác động của iso-α- axit đắng với hàm lượng nhỏ hơn 25 IBU đối với loại nấm men này không đáng kể. Tiến hành đường hoá ở các mức nhiệt độ cao (76°C và 78°C), lựa chọn được chế độ đường hoá ở 78°C trong 30 phút cho dịch đường có tỷ lệ đường lên men được thấp nhất, phù hợp để sản xuất bia nồng độ cồn thấp. Sản phẩm bia thu được có nồng độ cồn nhỏ hơn 1,5% thể tích và có chứa nấm men probiotic mật độ được đánh giá cảm quan bằng phép thử thị hiếu và đã được 97,5% người thử chấp nhận.

Từ khóa: *Bia có lợi sức khoẻ, độ cồn thấp, probiotic, Saccharomyces boulardii.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bia là một loại đồ uống đặc biệt, có nồng độ cồn thấp và giàu chất dinh dưỡng: vitamin, axit amin, polyphenol, khoáng chất… Chính vì thế, nếu tiêu thụ với lượng hợp lý thì bia có thể đem lại những lợi ích nhất định cho người sử dụng, cải thiện sức khoẻ và giảm nguy cơ mắc một số bệnh. Các nhà sản xuất bia đã tìm cách cải thiện để tạo ra các sản phẩm bia ngày càng có lợi với người tiêu dùng hơn như bổ sung thêm các thành phần có lợi từ thảo mộc, các vi khuẩn có lợi…hoặc loại bỏ các thành phần gây bất lợi như cồn, gluten, hidrat cacbon…[1]. Trong đó, các sản phẩm bia không cồn (Nonalcoholic beer – NAB) (nồng độ cồn dưới 0,5% v/v) và bia có nồng độ cồn thấp (Low alcohol beer – LAB) (nồng độ cồn dưới 2,5% v/v) [2] đang được quan tâm và hứa hẹn tiềm năng phát triển mạnh mẽ trong tương lai do đáp ứng được nhu cầu của người tiêu dùng [3]. Các nhà nghiên cứu đang từng bước cải tiến sản phẩm bia không cồn hoặc độ cồn thấp với những thành phần tốt cho sức khoẻ (vitamin, khoáng chất, hợp chất phenolic) và giảm những tác động xấu do việc tiêu thụ nhiều cồn [4].

Saccharomyces boulardii là loại nấm men duy nhất được coi là probiotic, được sử dụng rộng rãi trong các sản phẩm thuốc hỗ trợ tiêu hoá và như một chất bổ sung vào chế độ ăn uống [5]. Có khá nhiều sản phẩm vi sinh thương mại đang sử dụng chủng *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745. Gần đây, các nghiên cứu ứng dụng *S. boulardii* trong sản xuất thực phẩm đang được quan tâm, phổ biến là các sản phẩm từ sữa, nước trái cây và các loại đồ uống lên men [6], ngũ cốc, các loại đậu và sản phẩm từ chúng [7]. Các nghiên cứu này hầu hết đều kết hợp *S. boulardii* vào sản phẩm với vai trò là probiotic chứ chưa sử dụng *S. boulardii* như một chủng khởi động để tạo ra các sản phẩm.

[1] Viện Công nghệ sinh học và Công nghệ thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
[2] Công ty TNHH Vietsense
[*]Email: thanh.nguyentien@hust.edu.vn

Trong nghiên cứu này, chủng *S. boulardii* được phân lập từ 1 chế phẩm thương mại đã được đánh giá khả năng sinh trưởng trong điều kiện có mặt ethanol, axit đắng và ứng dụng trong quá trình lên với dịch đường hoá được điều chỉnh để tạo ra sản phẩm bia có độ cồn thấp. Qua đó đánh giá được khả năng ứng dụng *S. boulardii* để tạo sản phẩm bia nồng độ cồn thấp chứa probiotics có lợi cho sức khoẻ.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Hai loại malt đại mạch được sử dụng để sản xuất dịch đường lên men trong nghiên cứu: malt Pilsner và malt Carabelge từ nhà cung cấp Weyermann (Đức). Hoa houblon được sử dụng là hoa viên Saaz (từ Czech) có hàm lượng α-axit đắng là 3,5%. Khuẩn lạc của nấm men probiotic *Saccharomyces boulardii* được phân lập từ chế phẩm Bioflora (Laboratories Biocodex, Pháp) được cấy vạch trên đĩa thạch YPD (cao nấm men 1%, pepton 2%, glucoza 2%, agar 1%) và bảo quản ở 4°C trên môi trường thạch YPD để sử dụng trong nghiên cứu này.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập và khẳng định lại chủng Saccharomyces boulardii từ chế phẩm thương mại

Chế phẩm Bioflora 100 mg (Laboratories Biocodex, Pháp) được hoà tan trong nước cất vô trùng, sau đó được cấy vạch trên đĩa petri chứa thạch YPD để thu nhận các khuẩn lạc đơn. Các khuẩn lạc đơn được nuôi cấy, thu nhận sinh khối và đem giải trình tự ITS (mồi ITS 1 và ITS4), đồng thời đánh giá khả năng sử dụng đường galactoza để khẳng định chủng nấm men *Saccharomyces boulardii.*

Khuẩn lạc được hoạt hoá trong môi trường YPD lỏng ở 25°C, lắc 120 vòng/phút trong 24 giờ. Từ dịch hoạt hoá, nấm men được tiếp giống (theo mật độ 10^6 tế bào/mL) vào hai loại môi trường lỏng chứa cao nấm men 1%, pepton 2%, kết hợp với 1 trong 2 loại đường D-glucoza hoặc D-galactoza cùng với lượng sử dụng 2%. Quá trình nuôi được thực hiện ở 25°C, lắc 120 vòng/phút. Theo dõi sự thay đổi mật độ tế bào và hàm lượng đường trong môi trường theo thời gian trong 24 giờ.

Song song, sử dụng chủng *Saccharomyces cerevisiae* SafAle US-05 (Fermestis, Lesaffre, Pháp) để làm đối chứng so sánh khả năng sử dụng đường với khuẩn lạc được phân lập.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của cồn và độ đắng tới sự sinh trưởng và phát triển của chủng

Sau khi đã khẳng định được chủng *Saccharomyces boulardii*, tiến hành khảo sát ảnh hưởng của độ cồn và độ đắng (do iso-α-axit đắng từ hoa houblon) tới sự phát triển của chủng. Chủng được nuôi trong 100 mL môi trường YPD lỏng và có bổ sung thêm ethanol tinh khiết vào dịch sao cho đạt các nồng độ khác nhau: 0%, 2,5%, 5%, 7,5% và 10% (v/v). Song song với thí nghiệm về nồng độ cồn, dịch chiết iso-α-axit đắng có độ đắng 200 IBU được bổ sung vào môi trường YPD lỏng để tạo ra các độ đắng khác nhau, bao gồm: 0, 10, 15, 20 và 25 IBU. Lượng nấm men đã được hoạt hoá được cùng bổ sung với mật độ $6x10^6$ tế bào/mL và nuôi ở 25°C, lắc 120 vòng/phút. Tiến hành theo dõi mật độ tế bào nấm men trong các mẫu theo thời gian.

2.2.3. Nghiên cứu chế độ đường malt

Tỷ lệ đường lên men được trong dịch lên men sẽ quyết định nồng độ cồn thu được của bia. Trong nghiên cứu này, các chế độ đường hoá malt được khảo sát nhằm chọn ra phương án cho tỷ lệ đường lên men được thấp, thông qua đó cho phép tạo sản phẩm có độ cồn thấp.

Hai loại malt được lựa chọn sử dụng trong nghiên cứu là Pilsner và Carabelge, phối theo tỷ lệ: 70% Pilsner và 30% Carabelge. Hai loại malt sau khi nghiền được phối trộn với nước theo tỷ lệ malt : nước là 1 : 5 để tiến hành đường hoá theo các chế độ khác nhau, lọc hỗn hợp để thu được dịch trong. Quy trình đường hoá được thực hiện ở nhiệt độ 72°C hoặc 78°C trong các khoảng thời gian khác nhau gồm: 72°C trong 60 phút, 72°C trong 45 phút, 72°C trong 30 phút và 78°C trong 30 phút. Sau đường hoá, lọc thu dịch trong và đem xác định nồng độ chất hoà tan, lượng nitơ amin tự do (FAN), hàm lượng maltoza và glucoza.

Để xác định tỷ lệ đường lên men được, 100 mL dịch đường thu nhận được tiệt trùng ở 110°C trong 30 phút, cấp giống *S. boulardii* với mật độ 10^7 tế bào/mL, nuôi ở 25°C, lắc 120 vòng/phút đến khi

mật độ tế bào nấm men không tăng lên (sau 3 - 4 ngày) thì coi như quá trình lên men đã kết thúc. Lượng chất hoà tan còn lại trong dịch nuôi tương ứng với lượng chất chiết không thể sử dụng được. Lượng chất chiết giảm đi (phần lớn là các loại đường) so với ban đầu tương ứng với lượng đường lên men được.

2.2.4. Tạo sản phẩm bia độ cồn thấp sử dụng S. boulardii và đánh giá chất lượng

Tổng 3 kg malt gồm 70% Pilsner, 30% Carabelge được nghiền và phối trộn với 15 L nước và tiến hành đường hoá theo chế độ đường hoá đã chọn. Kết thúc quá trình đường hoá, lọc để thu được dịch đường và rửa bã bằng nước 78°C đến khi thu được 25 L dịch có nồng độ chất hoà tan khoảng 6 - 7°P. Đun sôi dịch đường sau khi lọc với 35 g hoa Saaz, 3,5% α-axit đắng (bổ sung khi dịch bắt đầu sôi) trong 60 phút, bổ sung thêm nước trong quá trình sôi để duy trì nồng độ chất hoà tan trong dịch là 6-7°P. Sau khi kết thúc đun sôi, để lắng và làm nguội dịch về 25°C. Lọc thu dịch trong, kiểm tra nồng độ chất hoà tan của dịch và bổ sung thêm nước vô trùng để đảm bảo nồng độ chất hoà tan là 6 - 7°P trước khi lên men. Tiến hành lên men 20 L dịch trong thiết bị lên men vô trùng với *Saccharomyces boulardii* đã được nhân giống theo mật độ 10^7 tế bào/mL. Quá trình lên men diễn ra ở 25°C được theo dõi hằng ngày các chỉ tiêu pH và mật độ nấm men. Khi nồng độ chất hoà tan không còn giảm, tiến hành lắng tách cặn và tiếp tục lên men bia lần 2 trong chai với 0,8% đường saccaroza bổ sung. Sau 4 - 5 ngày lên men trong chai ở 25°C bia sẽ được ổn định và bảo quản ở 8 - 10°C.

Sản phẩm bia chai được tiến hành phân tích các chỉ tiêu nồng độ cồn, độ đắng, hàm lượng CO_2, mật độ nấm men và một số các hợp chất tạo hương trong bia. Bia được đánh giá cảm quan theo phương pháp đánh giá mức độ chấp nhận của người tiêu dùng. Trong thời gian bảo quản, mẫu bia được theo dõi các chỉ tiêu: mật độ nấm men tổng số, tỷ lệ nấm men sống, hàm lượng CO_2 và nồng độ cồn.

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ít nhất 2 lần.

2.2.5. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

- Mật độ nấm men được đếm trực tiếp bằng buồng đếm hồng cầu.

- Nồng độ chất hoà tan (°P) được đo bằng Baume kế.

- Nồng độ đường maltoza, glucoza và cồn trong mẫu được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC, sử dụng hệ thống Agilent 1200 (Agilent Technologies, USA), cột Aminex HPX-87H (Biorad, USA), đầu dò tín hiệu RID. Pha động được sử dụng là dung môi H_2SO_4 10 mM với tốc độ 0,5 mL/phút, nhiệt độ cột 60°C. Các mẫu trước khi phân tích bằng HPLC được ly tâm ở tốc độ 6.000 vòng/phút trong thời gian 10 phút ở 4°C để thu dịch nổi và dịch nổi được lọc qua màng 0,2 µm để sử dụng.

- Hàm lượng nitơ amin tự do (FAN), độ đắng của bia được xác định theo các phương pháp chuẩn theo Analytical-EBC (2018) [8]. Hàm lượng CO_2 trong bia được xác định thông qua sử dụng dụng cụ đo áp suất [9].

- Các hợp chất tạo hương vị trong bia được xác định bằng phương pháp sắc lý khí - quang phổ khối (GC-MS), sử dụng hệ thống SCION 456-GC (SCION, USA), nguồn ion hoá bằng va chạm điện tử (Electron impact, EI) hoạt động ở 70 eV. Khí mang được sử dụng là He, tốc độ dòng 1,1 mL/phút, cột MS-5 (30 m x 250 µm x 0,25 µm). Nhiệt độ lò: Giữ 50°C trong 3 phút, sau đó tăng lên 120°C với tốc độ 5°C/phút và giữ ở nhiệt độ này trong 1 phút. Tiếp tục tăng lên 280°C với tốc độ 20°C/phút và giữ tại nhiệt độ này trong 3 phút. Nhiệt độ nguồn ion hoá MS 250°C, nhiệt độ khối tứ cực MS 250°C, nhiệt độ đường dẫn kết nối GC và MS 250°C. Dựa vào thư viện phổ NIST 17 chứa thông tin về thời gian lưu và thông tin về khối phổ để xác định sự có mặt của các chất chuyển hoá khác nhau trong mẫu.

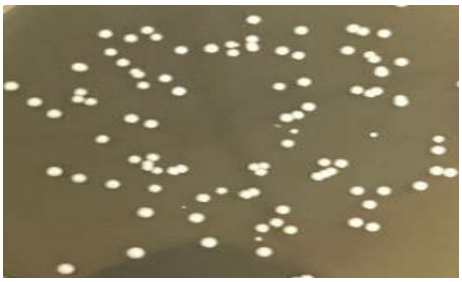
- Phương pháp đánh giá cảm quan là phép thử cho điểm thị hiếu [10], thực hiện trên 120 người tiêu dùng, độ tuổi 20-30 tuổi, gồm cả nam và nữ. Người dùng được nếm sản phẩm và đánh giá mức độ ưa thích, hài lòng đối với sản phẩm bằng cách cho điểm theo thang đo: (1) cực kỳ không thích, (2) rất không thích, (3) không thích, (4) tương đối không thích, (5) không ghét không thích, (6) tương đối thích, (7) thích, (8) rất thích và (9) cực kỳ thích.

- Xử lý số liệu: kết quả của các thí nghiệm được phân tích phương sai ANOVA bằng phần mềm MegaStat 10.4 tích hợp trên MS Excel.

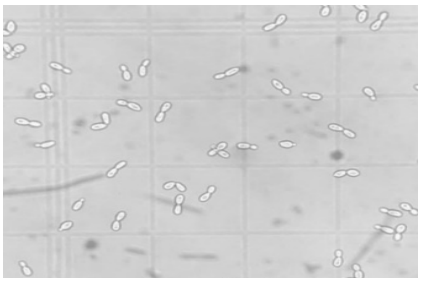
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và khẳng định lại chủng *Saccharomyces boulardii* từ chế phẩm thương mại

Thông qua phương pháp cấy vạch trên đĩa thạch môi trường YPD từ mẫu chế phẩm Bioflora (Biocodex, Pháp), thu được các khuẩn lạc (Hình 1). Các khuẩn lạc có các đặc điểm điển hình của nấm men như có màu trắng đục, nhẵn bóng, đường kính khoảng 2-3 mm, bề mặt hơi lồi, rìa tròn (Hình 1). Khi qua sát dưới kính hiển vi, tế bào của chủng có dạng hình trứng hoặc hình bầu dục (Hình 2). Kết quả giải trình tự ITS (kết quả không công bố) cho thấy độ tương đồng 99% với *Saccharomyces cerevisiae*. Cùng với mô tả về hình ảnh khuẩn lạc, có thể khẳng định rằng khuẩn lạc này là *S. cerevisiae*.

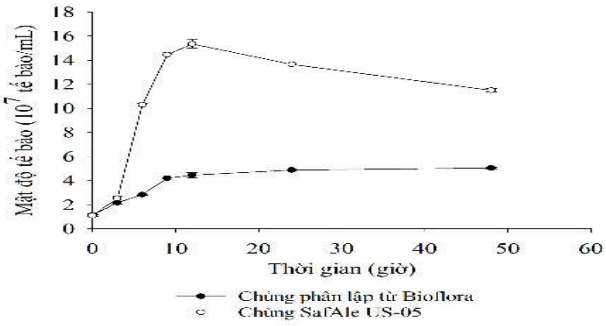


Hình 1. Hình ảnh khuẩn lạc phân lập trên môi trường thạch YPD

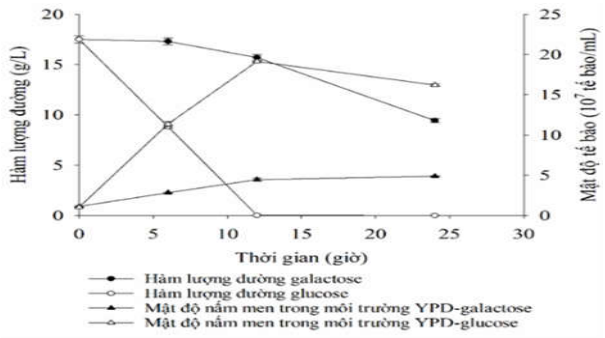


Hình 2. Hình ảnh tế bào trong môi trường YPD lỏng

Saccharomyces boulardii thực chất là một loài phụ của *Saccharomyces cerevisiae*, với đặc điểm nhận diện là khả năng sử dụng đường galactoza kém [11]. Do vậy, để khẳng định, khả năng sử dụng đường galactoza của chủng đã được đánh giá và so sánh với chủng *Saccharomyces cerevisiae* thương mại khác là SafAle US-05 (Fermentis, Lesaffre, Pháp). Kết quả cho thấy (Hình 3), trong môi trường có nguồn dinh dưỡng cacbon là D-galactoza, chủng phân lập từ chế phẩm Bioflora sinh trưởng kém, mật độ tăng chậm, chỉ đạt $5{,}05\times10^7$ tế bào/mL sau 48 giờ, chậm hơn nhiều so với chủng *S.cerevisiae* SafAle US-05 đạt mật độ cao nhất là $15{,}35\times10^7$ tế bào/mL và giảm xuống còn $11{,}5\times10^7$ tế bào/mL sau 48 giờ sinh trưởng.



Hình 3. Sự tăng trưởng của chủng phân lập từ Bioflora và chủng *S.cerevisiae* SafAle US-05 trong môi trường YPD sử dụng D-galactoza

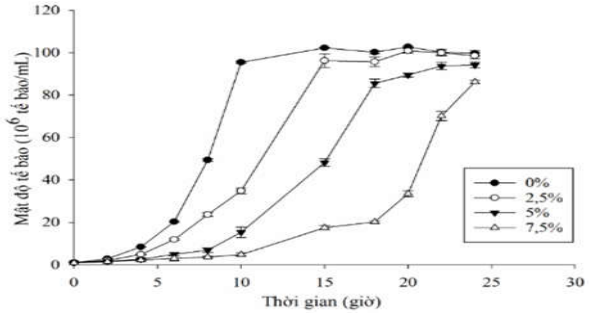


Hình 4. Sinh trưởng của chủng trong môi trường YPD-glucoza và YPD-galactoza của chủng phân lập từ Bioflora

So sánh khả năng phát triển của chủng phân lập từ Bioflora trên môi trường sử dụng glucoza và galactoza cho thấy chủng tiêu thụ đường glucoza nhanh hơn so với đường galactoza. Cùng với hàm lượng đường ban đầu 17,5 g/L, đường glucoza được tiêu thụ nhanh chóng và hết sau 12 giờ, trong khi galactoza được tiêu thụ chậm hơn hẳn (tiêu thụ khoảng 8 g/L trong 24 giờ), tương ứng với đó là sự sinh trưởng trong 12 giờ đầu của chủng trong môi trường có glucozae nhanh hơn hẳn so với trong môi trường có galactoza (Hình 4). Cùng với kết quả giải trình tự ITS đã khẳng định chủng phân lập là *Saccharomyces cerevisiae*, kết hợp với đặc tính sử dụng galactoza kém, có thể kết luận

chủng phân lập được từ chế phẩm Bioflora là *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, gọi tắt là *Saccharomyces boulardii.*

3.2. Khảo sát ảnh hưởng của cồn và độ đắng tới sự sinh trưởng và phát triển của chủng *S. boulardii*



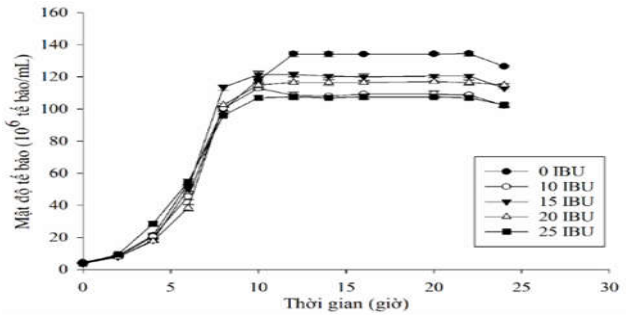
Hình 5. Ảnh hưởng của cồn đến khả năng sinh trưởng của *S. boulardii*

Kết quả ở hình 5 cho thấy, cồn có tác động tới sự sinh trưởng của chủng, nhưng ảnh hưởng của nồng độ cồn dưới 2,5% v/v là không có ý nghĩa về mặt thống kê (p=0,603, mức chấp nhận α=0,05). Chủng có thể chịu được nồng độ cồn 5-7,5% v/v, ảnh hưởng của các nồng độ cồn này đến chủng vẫn ở trong mức chấp nhận được (p=0,078, mức chấp nhận α=0,05). Hàm lượng iso-α-axit đắng (thành phần tạo độ đắng cho bia) được chỉ ra là có tác động tới sự sinh trưởng của chủng, ở các môi trường có độ đắng 10-25 IBU, mật độ tế bào nấm men ở pha cân bằng thấp hơn so với môi trường không có độ đắng, tuy nhiên, sự ảnh hưởng này là không đáng kể và không có ý nghĩa về mặt thống kê (p=0,973, mức chấp nhận α=0,05) (Hình 6). Các kết quả thu được từ khảo sát ảnh hưởng của độ cồn và độ đắng đến sự phát triển của *S. boulardii* tương tự với kết quả đã chỉ ra của Senkarcinova và cs (2018) [12]. Như vậy, *Saccharomyces boulardii* có thể được sử dụng trong sản xuất các loại bia với nồng độ cồn và độ đắng như các sản phẩm bia trên thị trường hiện nay (độ cồn 4-5% v/v, độ đắng từ 10-20 IBU).

3.3. Nghiên cứu chế độ đường hoá malt

Hiện tại, có nhiều phương án sản xuất bia nồng độ cồn thấp được sử dụng, trong đó có thể ứng dụng các kỹ thuật để loại bỏ cồn sau lên men như chưng cất, lọc màng… hoặc sử dụng các chủng nấm men đặc biệt có đặc tính chỉ sử dụng

Với định hướng ứng dụng làm chủng khởi động cho sản phẩm bia, chủng *S. boulardii* được đánh giá khả năng phát triển trong điều kiện có nồng độ cồn và độ đắng (hàm lượng iso-α-axit đắng) khác nhau trong khoảng nồng độ thường thấy với các sản phẩm bia phổ thông.



Hình 6. Ảnh hưởng của độ đắng đến khả năng sinh trưởng của *S. boulardii*

một số loại đường [13]. Trong nghiên cứu này, để tạo cồn thấp với chủng *Saccharomyces boulardii*, phương án kiểm soát lượng đường lên men được thông qua điều chỉnh quy trình đường hoá được áp dụng. Việc kiểm soát thời gian để các enzyme chính thuỷ phân tinh bột tạo đường có trong malt đại mạch gồm α-amylaza (hoạt động tốt ở nhiệt độ 60-65°C) và α-amylaza (hoạt động tốt ở 72-75°C) [14] sẽ quyết định tỷ lệ đường lên men được và không lên men được khi đường hoá. Trong đó, để thu tỷ lệ đường lên men thấp cần bỏ qua nhiệt độ cho α -amylaza hoạt động (tạo nhiều maltoza lên men được), đồng thời rút ngắn, hoặc thậm chí bỏ qua nhiệt độ 72-75°C cho α-amylaza hoạt động (tạo sản phẩm chính là dextrin). Tuy nhiên, lượng đường không lên men được còn lại sau lên men cũng cần được chú ý bởi nó góp phần tạo hậu vị cho bia. Hàm lượng đường không lên men được (đường sót) trong các sản phẩm bia thương mại hiện nay khoảng 2,5-3 g/100 mL. Đối với bia nồng độ cồn thấp, lượng đường sót trong bia nên cao hơn, khoảng 5 g/100 mL để tạo hậu vị "đậm đà", bù lại độ "nhạt" do giảm nồng độ cồn.

Với mục tiêu tạo sản phẩm bia cuối có độ cồn từ 1,2-1,5% v/v kết hợp với lượng đường sót trong bia khoảng 5 g/100 mL để tạo hậu vị cho sản phẩm, các chế độ đường hoá đã được khảo sát. Kết quả cho thấy, việc rút ngắn thời gian giữ ở 72°C từ 60 phút xuống 45 phút hay 30 phút làm giảm tổng

lượng đường maltoza và glucoza, giảm tổng lượng chất hoà tan thu được (sau lọc). Mặc dù vậy, lượng đường lên men được vẫn ở mức 43,29% (Bảng 1). Lượng đường không lên men được quy về độ cồn 1,5% của các chế độ với 72°C đều thấp hơn 4 g/100 mL.

Ở chế độ giữ 78°C trong 30 phút, nồng độ chất hoà tan của dịch lọc thu được là 13,94 g/100 mL, trong đó đường không lên men được là 9,3 g/100 mL, đường lên men được là 4,64 g/100 mL (tương ứng 33,29%). Từ lượng đường lên men được 4,64 g/100 mL, lượng cồn thu được bởi chủng nấm men *S. boulardii* đạt 2,58% v/v. Lượng đường không lên men được quy về cùng với độ cồn 1,5% là 5,4 g/100 mL, phù hợp theo mục tiêu sản phẩm bia đề ra.

Lượng FAN (nito amin tự do) cũng giảm tương ứng với các chế độ đường hoá, tuy nhiêu đều trên ngưỡng cần thiết cho nấm men (khoảng 120 mg/L) [8].

Bảng 1. So sánh các chế độ đường hoá

Chế độ đường hoá	72°C - 60 phút	72°C - 45 phút	72°C - 30 phút	78°C - 30 phút
Maltoza + glucozae (g/100 mL)	7,67	7,40	6,20	4,26
Nồng độ chất hoà tan ban đầu (g/100 mL)	15,06	14,87	14,46	13,94
Nồng độ chất hoà tan cuối (g/100 mL) = đường không lên men được	7,40	7,43	8,26	9,30
Lượng đường đã lên men (g/100 mL) tỷ lệ theo tổng đường ban đầu (%)	7,90 (52,46)	7,48 (50,30)	6,26 (43,29)	4,64 (33,29)
Nồng độ cồn (%)	3,54	3,31	3,25	2,58
Nồng độ đường không lên men được quy về nồng độ cồn 1,5% (g/100 mL)	3,14	3,37	3,81	5,41
Hàm lượng FAN (mg/L)	190,21	183,47	176,00	165,35

3.4. Tạo sản phẩm bia độ cồn thấp sử dụng *S. boulardii* và đánh giá chất lượng

Bảng 2, Chất lượng dịch đường trước khi lên men

Chỉ tiêu	Dịch trước lên men
Nồng độ chất hoà tan ban đầu (g/100 mL)	6,56 ± 0,03
pH	5,40 ± 0,01
Độ đắng (IBU)	16,57 ± 0,27
Mật độ nấm men (10^7 tế bào/mL)	1,085 ± 0,015

Với chế độ đường hoá đã chọn, sản phẩm bia được sản xuất ở quy mô 20 L (như mô tả ở mục 3.2.4). Quá trình lên men được bắt đầu với các chỉ tiêu được thể hiện trong bảng 2.

Quá trình lên men chính diễn ra trong 4 ngày. Kết quả theo dõi quá trình lên men chính cho thấy, pH của dịch giảm dần trong quá trình lên men (từ 5,4 xuống 4,29) và gần như được duy trì ở pH khoảng 4,3 từ ngày thứ 2 lên men. Mật độ nấm men tăng nhanh trong ngày đầu tiên lên men (từ $1,085\times10^7$ tế bào/mL lên $10,7\times10^7$ tế bào/mL), sau đó giảm dần do hết đường lên men, quá trình lên men giảm nên nấm men lắng xuống đáy thiết bị.

Sau khi kết thúc lên men chính, bia được đóng chai và tiếp tục lên men trong chai (bổ sung 0,8% đường saccaroza vào chai) 4 ngày trước khi bảo quản trong tủ lạnh (8-10°C).

Các thành phần tạo hương vị trong sản phẩm bia được phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng-quang phổ khối. Kết quả phân tích được 8 hợp chất dễ bay hơi tạo hương vị cho sản phẩm. Các hợp chất α-pinene (0,45%), undecane (0,68%), tetradecane (0,92%) và decanal (0,37%) là các hidrat cacbon và aldehyt có trong tinh dầu hoa bia [15]. Phenyl alcohol (71,91%) là một loại rượu bậc cao có mùi thơm giống hoa hồng, tương đối mạnh và benzyl alcohol (1,04%) là một loại rượu có mùi

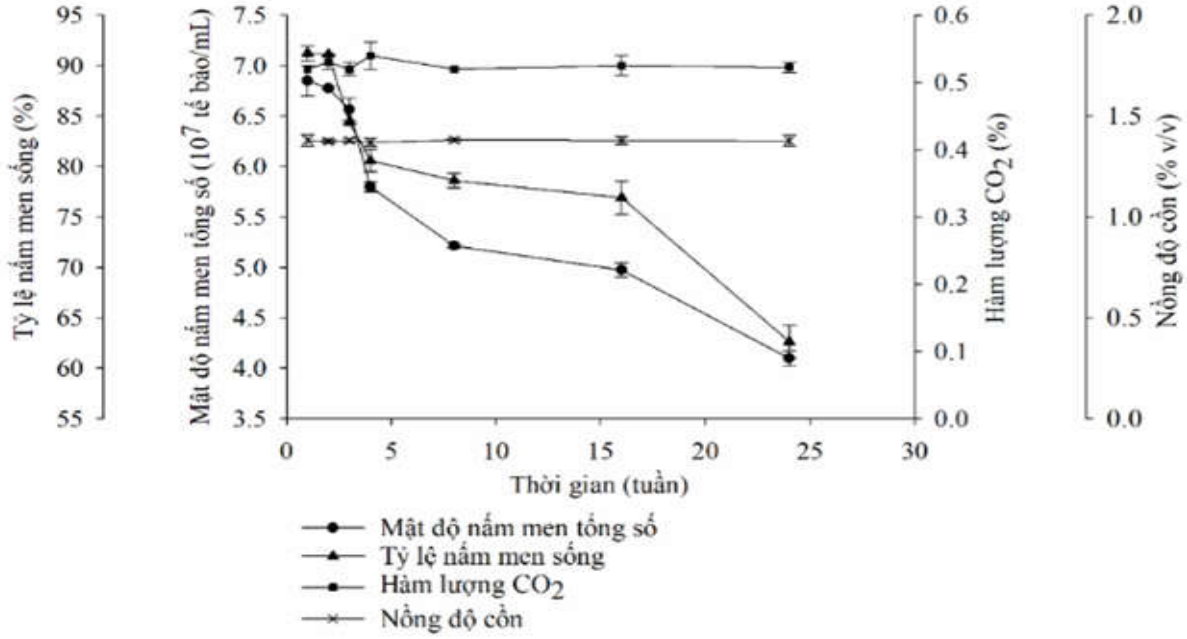
thơm nhẹ, chiếm một phần nhỏ trong bia. N-butyl axetamit (23,79%) hình thành từ các phản ứng sinh hoá của các axit amin trong quá trình lên men, là một trong các chất góp phần tạo mùi đặc trưng cho bia. Axit octanoic (0,84%) được tạo ra bởi nấm men trong quá trình ủ chính bia, góp phần tạo hương vị tốt cho bia, đặc biệt là các loại bia lager, bia nhẹ.

Bảng 3. Các chỉ tiêu của bia sau khi lên men trong chai 4 ngày

Chỉ tiêu	Kết quả
Nồng độ chất hoà tan còn lại (g/100 mL)	4,46 ± 0,01
Nồng độ cồn (% v/v)	1,38 ± 0,03
Mật độ nấm men (10^7 tế bào/mL)	6,90 ± 0,15
Hàm lượng CO_2 (%)	0,52 ± 0,01
pH	4,25 ± 0,01
Độ đắng (IBU)	16,19 ± 0,04

Về mức độ chấp nhận của người tiêu dùng, 101/120 (84,17%) người tiêu dùng thích sản phẩm, 16/120 (13,33%) người tiêu dùng không thích-không ghét sản phẩm, chỉ có 3/120 (2,5%) người ghét sản phẩm. Như vậy, tỷ lệ người tiêu dùng chấp nhận sản phẩm lên đến 97,5% (gồm điểm 5 đến 9) là một kết quả khả quan đối với một dòng sản phẩm mới. Sau khi được cung cấp thêm thông tin về sản phẩm bia: nồng độ cồn thấp và có chứa nấm men probiotic, có lợi cho sức khoẻ, 83,33% người thử (100/120 người) có nhận định muốn mua sản phẩm.

Trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ 8-10°C, nồng độ cồn và hàm lượng CO_2 trong chai bia gần như không thay đổi. Sau 4 tuần bảo quản, bia khá ổn định về các chỉ tiêu: pH, mật độ nấm men, hàm lượng CO_2. Sau 24 tuần, nồng độ cồn và nồng độ CO_2 tương ứng khoảng 1,38 ± 0,03 (%v/v) 0,52 ± 0,01% (Hình 7). Tuy nhiên, mật độ tế bào nấm men có sự thay đổi rõ rệt hơn. Sau tuần thứ 5, tỷ lệ nấm men sống giảm xuống dưới $6x10^7$ tế bào/mL. Sau đó tiếp tục duy trì gần như không đổi đến tuần thứ 16, trước khi giảm nhanh tới tuần 24 chỉ còn $2,57x10^7$ tế bào/mL. Nhờ việc bảo quản ở nhiệt độ 8-10°C, cũng như hàm lượng oxy hoà tan được triệt tiêu bằng công nghệ lên men trong chai đã giúp giảm thiểu sự tự phân của nấm men, sự oxy hoá nên giảm sự hình thành các mùi lỗi cho bia. Tương tự như đối với nhiều sản phẩm bia chứa nấm men như các dòng bia Bỉ (sử dụng công nghệ lên men trong chai) hay bia làm từ malt lúa mì có chứa nấm men của Đức đều không nhận thấy tác động xấu tới cảm quan của nấm men trong các sản phẩm bia đó.



Hình 7. Chất lượng bia chai trong quá trình bảo quản

Kết quả thu được từ khảo sát sơ bộ đối với sản phẩm bia này cho thấy, đây là một dòng sản phẩm có tiềm năng để phát triển trong tương lai. Điều này chứng tỏ chủng nấm men probiotic *Saccharomyces boulardii* hoàn toàn có thể sử dụng để tạo ra sản phẩm bia nồng độ cồn thấp.

4. KẾT LUẬN

Nấm men probiotic *Saccharomyces boulardii* phân lập từ chế phẩm Bioflora đã được khảo sát và đánh giá khả năng ứng dụng để tạo sản phẩm bia độ cồn thấp. Với quy trình đường hoá ở nhiệt độ cao (78^{o}C trong 30 phút), tỷ lệ nguyên liệu/nước là 1/5, lên men ở 25^{o}C bằng *S. boulardii* đã thu được sản phẩm bia có nồng độ cồn 1,38% v/v, mật độ nấm men còn sống sau 24 tuần (6 tháng) trong điều kiện bảo quản bia 8-10^{o}C là $2,57\times10^7$ tế bào/mL (8,48 tỉ tế bào/chai 330 mL). Sản phẩm được đánh giá là chấp nhận được với tỷ lệ 97,5% trong tổng số 120 người thử cảm quan. Tuy nhiên, để hoàn thiện sản phẩm, vẫn cần nghiên cứu thêm để cải thiện chất lượng cảm quan cho bia (độ bền bọt, hương thơm).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Leskosek (2016). Beer as an Integral Part of Healthy Diets: Current Knowledge and Perspective. *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food,* pp. 111-144.

2. Salan□ă L. C. *et al.* (2020). Non-alcoholic and craft beer production and challenges. *Processes,* vol. 8, no. 11.

3. Bellut K. and Arendt E. (2019). Chance and challenge: Non- Saccharomyces yeasts in nonalcoholic and low Alcohol beer brewing: A review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists,* vol. 77, pp. 1-15.

4. Sohrabvandi S., Mousavi M., Razavi S., Mortazavian A. M. and Rezaei K. (2010). Alcohol-free beer: Methods of production, sensorial defects, and healthful effects. *Food Reviews International,* vol. 26, pp. 335-352.

5. McFarland L. V. (2010). Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients. *World J Gastroenterol,* vol. 16, no. 18, pp. 2202-22.

6. Fratianni F. *et al.* (2013). Fermentation of tomato juice with the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae boulardii.* 2013, pp. 143-152.

7. Rekha C. R. and Vijayalakshmi G. (2010). Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones, mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast. *J. Appl. Microbiol.,* vol. 109, no. 4, pp. 1198-208.

8. Supelco Analytical Product (2018). *Manual Analysis Methods for the Brewery Industry*. Merck KGaA.

9. Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thuỷ, Nguyễn Thanh Hằng, Lê Thị Lan Chi (2009). *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

10. Hà Duyên Tư (2005). *Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

11. Liu J. J. *et al.* (2018). A mutation in PGM2 causing inefficient galactose metabolism in the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii. Appl. Environ. Microbiol.,* vol. 84, no. 10.

12. Senkarcinova B., Dias I., Nešpor J. and Brányik T. (2018). Probiotic alcohol-free beer made with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii. LWT,* vol. 100.

13. Brányik T., Silva D. P., Baszczyňski M., Lehnert R. and Almeida e Silva J. B. (2012). A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. *Journal of Food Engineering,* vol. 108, no. 4, pp. 493-506.

14. Kunze W. (2019). *Technology Brewing and Malting*: V. L. B. Berlin.

15. Sharpe F. R. and Laws D. R. J. (1981). The essential oil of hops A review. *Journal of the Institute of Brewing,* vol. 87, no. 2, pp. 96-107.

EVALUATION OF PROBIOTIC YEAST *Saccharomyces bourladii* FOR LOW ALCOHOLIC BEER PRODUCTION

Khuat Bich Phuong[1], Ho Phu Ha[1], Chu Ky Son[1], Nguyen Tien Thanh[1,*], Tu Viet Phu[2]

[1]*School of Biotechnology and Food Technology, Hanoi University of Science and Technlogy*

[2]*Vietsense Company*

[*]*Email: thanh.nguyentien@hust.edu.vn*

Summary

In recent years, when the consumers' concern for health is increasing, the market for non-alcoholic beer and low-alcohol beer is growing and promises to develop further in the future. Saccharomyces boulardii is the only yeast that is considered a probiotic and has shown potential for application in the food industry. For evaluation of this yeast in beer fermentation, especially for low alcoholic beer, in this study, the effect of several factors relating to beer production such as the presence of the hops bitter acids and alcohol on the growth of this yeast were investigated. The results showed that an alcohol content of less than 2.5% may not affect the growth of *Saccharomyces boulardii*. The effect of bitter acid at concentrations less than 25 IBU on this yeast was not significant. Carrying out saccharification at high temperatures, it is recommended to choose the saccharification temperature of 78°C for 30 minutes so that the sugar solution has the lowest rate of fermentable sugar, suitable for producing low-alcohol beer. The resulting beer product with an alcoholic content of less than 1.5% by volume and containing probiotic yeasts was accepted by 97.5% of testers. This indicates the highly potential of *Saccharmyces boulardii* in produce of a probiotic containing low-alcohol beer.

Keywords: *Saccharomyces boulardii, health benefit beer, probiotic, low alcohol.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Việt Anh

Ngày nhận bài: 6/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 5/4/2023

Ngày duyệt đăng: 12/4/2023

TỐI ƯU HÓA CÁC ĐIỀU KIỆN ĐỂ CHIẾT FLAVONOIT TỪ VỎ LỤA HẠT ĐIỀU (*Anacardim occidentale* Linn)

Nguyễn Thị Ngần[1,*], Nguyễn Ngọc Tuấn[1], Trần Đình Thắng[1]

TÓM TẮT

Tối ưu hóa quá trình chiết tách hàm lượng tổng flavonoit (TFC) đã được tiến hành trên nguyên liệu vỏ lụa hạt điều (*Anacardim occidentale* Linn) được thu nhận ở tỉnh Bình Dương. Đây là phụ phẩm thực phẩm thải ra trong quá trình chế biến sản phẩm hạt điều hằng năm. Có 4 yếu tố được khảo sát để tối ưu hóa hàm lượng flavonoit, đó là: dung môi chiết, tỷ lệ dung môi/mẫu, thời gian chiết và nhiệt độ chiết. Thí nghiệm được tiến hành bằng phương pháp chiết có sự hỗ trợ bởi bể siêu âm, tối ưu hóa các điều kiện bằng phương pháp đáp ứng bề mặt Box-Behnken. Các điều kiện được khảo sát cụ thể với các loại dung môi metanol, exeton, etylaxetat và nước; tỉ lệ dung môi/nguyên liệu thô 20-60 mL/g, thời gian chiết 40-130 phút, nhiệt độ chiết 30°C-60°C. Sau khi sử dụng mô hình tối ưu Box-Behnken với các điều kiện trên, kết quả thu được cho thấy, tổng hàm lượng flavonoit cao nhất thu được trong dịch chiết là 133,07 mg/g chất khô khi dung môi là metanol, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu khô là 42,6 mL/g, thời gian chiết ở 97,8 phút và nhiệt độ chiết ở 48,5°C.

Từ khóa: *Anacardim occidentale Linn, Box-Behnken, vỏ lụa hạt điều, tối ưu hóa, tổng flavonoit.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây điều (*Anacardim occidentale* Linn) là cây lấy quả và cây lấy hạt phân bố ở nhiều nước trên thế giới, trong đó Việt Nam là nước có diện tích trồng cây điều đứng thứ 3 trên thế giới sau Ấn Độ, Bờ Biển Ngà và có sản lượng hạt điều xuất khẩu lớn nhất thế giới. Phần vỏ lụa hạt điều là một lớp vỏ mỏng màu đỏ nâu, bao phủ bên ngoài nhân hạt điều, chiếm 1-3% tổng khối lượng hạt điều. Trong một số nghiên cứu, vỏ lụa hạt điều là nguồn nguyên liệu chứa nhiều các hợp chất tanin. Theo P. O. UKoha và cs (2010) [1], hàm lượng tanin có trong vỏ lụa hạt điều chiếm 19,9 - 22,1%. Mặt khác, theo Jennifer Trox và cs (2011), thành phần flavonoit trong vỏ lụa, đặc biệt là hai hợp chất catechin và epicatechin cũng chiếm một lượng lớn trong vỏ lụa hạt điều, tương ứng với 5,7 và 4,46 g/kg mẫu khô, ngoài ra còn chứa nhiều các thành phần khác như chất béo, polyphenol, carotenoit [2]. Trong khi đó, nghiên cứu của Natsume và cs (2000) cho thấy, hàm lượng hai hợp chất này lớn hơn trong cacao gấp 20 lần [3]. Bên cạnh đó, nghiên cứu của H. Q. V. Le và cs (2021), đã xác định tổng hàm lượng catechin và epicatechin ở một số dịch chiết khác nhau, với dịch chiết nước chứa 151,2 mg catechin và 85,2 mg epicatechin, chiết xuất etyl axetat có hàm lượng lớn hơn, tương ứng là 219,4 và 123,6 mg. Tổng hàm lượng TFC cũng được xác định và có hàm lượng cao với các loại dịch chiết khác nhau 163-256 mg/g chất khô [4].

Những hợp chất catechin và epicatechin đã được chứng minh là có một số lợi ích đối với sức khỏe, điều này có thể chứng minh khả năng loại bỏ các gốc tự do và làm chậm quá trình biến đổi ngoại bào do ô nhiễm và bức xạ cực tím (UV) gây ra [5]. Ngoài ra, quá trình chiết xuất bằng etanol của vỏ hạt điều đã được chứng minh là có hoạt tính chống oxy hóa ở mức độ đáng kể, được cho là nhờ thành phần phenolic [6, 7]. Mặt khác, vỏ điều còn được sử dụng làm thức ăn cho chuột theo mô hình trên heo và nghiên cứu cho thấy vỏ điều không có ảnh hưởng có hại đối với gan, tim, phổi,

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh
[*] Email: nguyenthingan-vsh@iuh.edu.vn

thận và khối lượng cơ thể cũng như hệ đường ruột [8].

Trong nghiên cứu này, đã xác định các điều kiện tốt nhất về dung môi chiết, thời gian chiết, nhiệt độ chiết và tỷ lệ lỏng - rắn để thu được tổng flavonoit lớn nhất từ vỏ điều theo mô hình Box-Behnken. Từ đây có thể chiết xuất hàm lượng lớn flovonoit từ vỏ lụa hát điều ứng dụng vào trong y dược và từ đó tạo ra một hướng ứng dụng mới cho loại phế phụ phẩm thực phẩm này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vỏ lụa hạt điều (*Anacardium occidentale* Linn) được thu thập tại tỉnh Bình Phước vào tháng 5/2020, sau khi thu hoạch, hạt điều được đưa vào chế biến sản phẩm. Vỏ lụa là phụ phẩm thực phẩm được thải ra với độ ẩm cao, khi đưa về phòng thí nghiệm nguyên liệu được rửa sạch, sấy khô ở nhiệt độ 60°C với độ ẩm 6,52 ± 0,58%, xay nhỏ (0,5 - 1 mm) và được tiến hành bảo quản trong túi PE đặt trong hộp nhựa kín, lưu trữ ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng và ẩm trước khi đưa vào phân tích.

2.2. Chiết có hỗ trợ bể siêu âm

Lấy 1 g vỏ lụa hạt điều cho vào erlen và cho dung môi metanol, etylaxetat, H_2O hoặc axeton vào theo tỉ lệ dung môi/mẫu (20 - 60 mL/g), miệng erlen được bọc parafin để hạn chế sự bay hơi dung môi, sau đó mẫu được chiết trong bể siêu âm (Sonica 3200 Eps) với nhiệt độ trong khoảng từ 40°C đến 60°C và thời gian chiết trong khoảng từ 40 đến 130 phút. Sau khi chiết, lọc bỏ bã, dịch lọc được mang đi phân tích tổng hàm lượng flavonoit.

2.3. Thiết kế thí nghiệm khảo sát các điều kiện chiết flavonoit

Thí nghiệm này được tiến hành với mục tiêu là tìm ra khoảng biến thiên thích hợp của các điều kiện tiến hành thí nghiệm như dung môi, thời gian chiết, tỉ lệ dung môi/mẫu (D/M) với sự hỗ trợ của bể siêu âm (Sonica 3200 EP) để thu nhận tổng hàm lượng TFC lớn nhất. Cụ thể, các yếu tố được lần lượt khảo sát độc lập, khi một yếu tố được khảo sát thì các yếu tố còn lại sẽ được cố định ở một mức được lựa chọn. Trong thí nghiệm này, dung môi được lựa chọn khảo sát là metanol, nước, etylaxetat, axeton với thời gian chiết, tỉ lệ dung môi/mẫu và nhiệt độ được cố định là 60 phút, 40 mL/g và 40°C; tỉ lệ D/M (mL/g) được khảo sát ở các mức 20, 30, 40, 50, 60 mL/g với dung môi tốt nhất ở khảo sát dung môi, các điều kiện thời gian, nhiệt độ được cố định là 60 phút, 40°C; thời gian chiết được khảo sát ở 40, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 130 phút với dung môi và tỉ lệ D/M theo khảo sát trên, cố định điều kiện nhiệt độ là 40°C; nhiệt độ khảo sát ở các mức 30°C, 40°C, 50°C và 60°C (các điều kiện dung môi, tỉ lệ D/M, thời gian theo các khảo sát trên).

2.4. Xác định hàm lượng tổng flavonoit trong mẫu

Phương pháp so màu nhôm clorua được sử dụng để xác định TFC, phương pháp này được tiếp nối nghiên cứu trước đây của Chang và cs (2002), với hiệu chỉnh nhỏ [9]. 1 mL dịch chiết TFC được chuyển sang ống so màu tối 10 mL và thêm 0,2 mL nhôm clorua 10%, 0,2 mL kali axetat 1 M. Điều chỉnh thành 10 mL bằng metanol và giữ trong 3 phút trong bóng tối. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo bằng phép đo quang phổ ở bước sóng 415 nm bằng máy quang phổ UV–VIS (Thermo GENESYS 20 UV-Vis). Quercetin đã được sử dụng như một hợp chất tiêu chuẩn.

2.5. Mô hình tối ưu hóa Box-Behnken

Thiết kế Box-Behnken được áp dụng cho thiết kế thí nghiệm sử dụng ba yếu tố, bao gồm tỷ lệ dung môi/mẫu (A) (mL/g), thời gian chiết (B) (phút) và nhiệt độ chiết (C) (°C) (biến thực nghiệm) với ba mức. Thiết kế thí nghiệm theo mô hình Box-Behnken có 17 nghiệm thức, trong đó có 12 nghiệm thức nhân tố, 5 nghiệm thức trung tâm, kết quả được thể hiện ở bảng 2. Các yếu tố tác động lên hàm lượng TFC (đáp ứng) gồm A (30-50 mL/g), B (80-100 phút), C (40 - 60°C) được mã hóa

ở ba mức (-1, 0, +1) và được thể hiện trong bảng 1. Sự ảnh hưởng chính của các yếu tố khảo sát A, B, C đến hàm lượng TFC tương ứng là Y1 đã được áp dụng trong các thí nghiệm này và được mô tả bằng phương trình bậc hai như sau:

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^{3} \beta_j X_j + \sum_{j=1}^{3} \beta_{jj} X^2 j + \sum\sum_{i<j} \beta_{ij} X_i X_j$$

Trong đó: Y đại diện cho hàm phản hồi; βo là phần chặn; βj là hệ số tuyến tính; βjj là hệ số bậc hai; βij là hệ số tương tác; Xi và Xj là các biến độc lập [10]. Mô hình đáp ứng bề mặt ba yếu tố tỷ lệ dung môi/mẫu, thời gian trích ly, nhiệt độ trích ly. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 1. Thứ hạng của các biến trong Box-Behnken

Yếu tố	Các mức độ		
	-1	0	+1
A (mL/g)	30	40	50
B (phút)	80	90	100
C (°C)	40	50	60

Ghi chú: A: Tỉ lệ dung môi/mẫu, B: Thời gian chiết, C: Nhiệt độ chiết mẫu.

Bảng 2. Các nghiệm thức theo thiết kế tối ưu Box-Behnken và kết quả thu được

Nghiệm thức	Các yếu tố tác động			Chỉ tiêu
	A (mL/g)	B (phút)	C (°C)	Y (mg/g chất khô)
1	40	90	50	143,10±0,07
2	40	90	50	138,62±0,38
3	50	90	40	107,69±0,13
4	50	90	60	126,61±0,41
5	50	80	50	128,41±0,13
6	30	90	60	109,13±0,21
7	40	90	50	136,25±0,30
8	30	80	50	113,66±0,41
9	30	90	40	106,43±0,06
10	40	80	60	121,29±0,17
11	40	90	50	136,25±0,38
12	40	90	50	141,10±0,29
13	30	100	50	115,43±0,42
14	40	100	60	132,82±0,36
15	40	80	40	124,62±0,27
16	40	100	40	101,39±1,56
17	50	100	50	130,75±0,96

2.6. Xử lý số liệu

Phân tích thống kê của mô hình đã được thực hiện để đánh giá phân tích phương sai (ANOVA) và các thí nghiệm được thực hiện ba lần. Công cụ phân tích dữ liệu trong Microsoft Excel 2013 đã được sử dụng để phân tích kết quả thử nghiệm của các điều kiện để xác định sự khác biệt về số liệu ($P \leq 0,05$). Phần mềm Design Expert (phiên bản 11)

được áp dụng để phân tích và lựa chọn mô hình tối ưu hóa.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát các điều kiện đến hàm lượng TFC

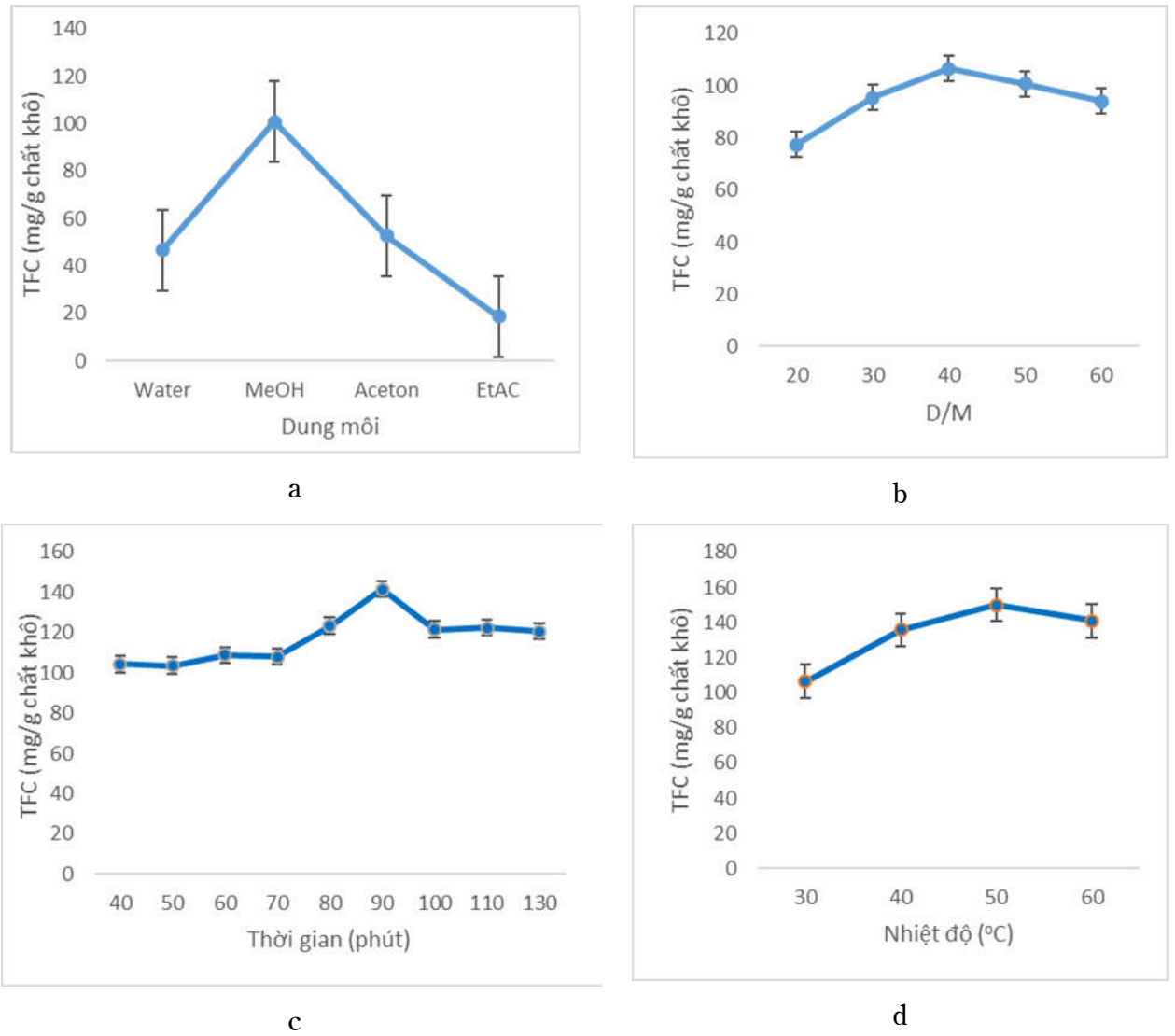
Khảo sát sự ảnh hưởng của từng yếu tố đến việc thu nhận hàm lượng TFC với mục tiêu xác định xem các yếu tố về dung môi, tỷ lệ D/M, nhiệt độ chiết xuất, thời gian chiết xuất ảnh hưởng thế nào nến hàm lượng TFC, sau đó xác định các khoảng giá trị thích hợp cho mô hình tối ưu.

Kết quả khảo sát cho thấy, dung môi khác nhau đã ảnh hưởng đến hiệu suất chiết TFC và được thể hiện ở hình 1a. Bốn loại dung môi khác nhau (metanol, nước, etylaxetat, axeton) được khảo sát với các kiện là thời gian chiết, nhiệt độ, tỉ lệ D/M cố định (60 phút, 40°C, 40 mL/g). Từ hình 1a có thể thấy khả năng trích ly TFC của các dung môi khảo sát được sắp xếp theo thứ tự metanol> axeton > nước > etylaxetat. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Rostagno và Juliana (2013) [11]. Vì vậy, dung môi metanol thích hợp để thực hiện quá trình chiết flavonoit từ vỏ lụa hạt điều.

Tỷ lệ D/M là một thông số quan trọng ảnh hưởng đến hiệu quả chiết xuất TFC, nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng, tỷ lệ thích hợp góp phần tăng hiệu quả của việc chiết TFC. Kết quả khảo sát tỉ lệ D/M trong nghiên cứu này với dung môi metanol, cố định điều kiện thời gian và nhiệt độ (60 phút, 40°C) được thể hiện ở hình 1b. Khi tăng tỉ lệ D/M từ 20 lên 40 mL/g thì hàm lượng TFC tăng và sau đó cho thấy dấu hiệu giảm xuống khi khảo sát từ tỉ lệ 40 đến 60 mL/g. Tỷ lệ tối ưu của D/M để đạt cực đại về hàm lượng TFC 40: 1 mL/g và theo kết quả ở trên, tỷ lệ chất lỏng so với chất rắn là 30:1 ~ 50:1 mL/g là phù hợp để tiến hành tối ưu hóa.

Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất trích ly TFC được thể hiện ở hình 1c và cho thấy thời gian ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất chiết TFC. Trong thời gian đầu, từ 60 phút tới 90 phút, hàm lượng TFC tăng dần và đạt đến giá trị cao nhất ở thời gian 90 phút và sau đó giảm dần khi thời gian tăng lên. Tuy nhiên, ít thấy có sự khác biệt về hàm lượng TFC ở 90 phút và ở 130 phút. Khi tăng thời gian chiết thì thời gian tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi cũng tăng lên, lúc này các hợp chất có khối lượng phân tử lớn dưới ảnh hưởng của độ phân cực của dung môi sẽ được trích ly ra khỏi nguyên liệu, do đó hàm lượng hợp chất flavonoit toàn phần thu được cũng tăng lên. Sau đó, hàm lượng flavonoit toàn phần hầu như không tăng lên mà có xu hướng giảm xuống. Nguyên nhân có thể là do sự tương tác giữa nguyên liệu và dung môi theo thời gian đã dẫn đến sự cân bằng giữa nồng độ dịch chiết và tỉ lệ nguyên liệu - dung môi, từ đó làm cho hàm lượng flavonoit không tăng lên. Việc giảm xuống của hàm lượng chất này do tác động của cường độ sóng siêu âm trong thời gian dài đã làm cho một số flavonoit nhạy cảm với sóng siêu âm bị phân hủy làm mất tính chất của nó. Mặt khác, nguyên liệu được ngâm trong dung môi một thời gian dài sẽ trương nở làm bít lỗ thông của màng tế bào, cản trở khả năng thẩm thấu của dung môi vào nguyên liệu, nên hiệu suất chiết flavonoit giảm [12]. Do đó, thời gian 90 phút được cố định cho bước tiếp theo và khoảng thời gian dùng để tiến hành tối ưu trong khoảng 80 - 100 phút.

Yếu tố nhiệt độ chiết cũng ảnh hưởng đến hiệu quả trích ly TFC và được thể hiện trong hình 1d. Kết quả cho thấy, khi tăng nhiệt độ từ 30°C lên 50°C hàm lượng TFC tăng lên, vì khi nhiệt độ tăng làm tăng độ khuếch tán của các phân tử flavonoit, làm tăng độ phân giải từ tế bào thực vật vào dung môi, kết quả tương tự cũng đã được báo cáo đối với việc chiết xuất anthraquinon từ rễ của Morinda citrifolia (cây Nhàu) [13]. Nhưng từ nhiệt độ 50°C trở lên, khả năng giải phóng flavonoit giảm có thể do nhiệt độ cao làm tăng độ phân hủy bởi nhiệt của một số phân tử flavonoit nhạy cảm bởi nhiệt, từ đó hàm lượng TFC giảm xuống [14]. Vậy điều kiện nhiệt độ tốt nhất để thu nhận TFC với điều kiện đã chọn là 50°C và khoảng nhiệt độ để tối ưu hóa là 40 - 60°C.



Hình 1. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của các yếu tố đến hàm lượng TFC

3.2. Mô hình Box-Behnken cho TFC

Ba yếu tố tác động bao gồm: Tỷ lệ chất lỏng - rắn (A), thời gian chiết xuất (B) và nhiệt độ chiết xuất (C) (°C) đã được chọn và sử dụng cho các thí nghiệm, trong đó Y (Y: TFC) được xác định là giá trị phản hồi. Có phương trình hồi quy về mối tương quan giữa các biến đáp ứng và nhân tố thí nghiệm, phương trình này đã phân tích hồi quy bội trên dữ liệu thực nghiệm và được tiến hành bằng phần mềm Design-Expert. Mô hình của phản hồi Y là hàm của các biến A, B, C và được ghi nhận bằng phương trình dưới đây:

Y = 11,79+0,26A–0,05B+0,27C–0,53A2–0,22B2–0,63C2+0,01AB+0,22AC+0,40BC

Phương trình trên về hàm lượng TFC cho thấy, sự phụ thuộc của hàm lượng TFC vào tất cả các yếu tố biến đổi đã khảo sát của quá trình chiết xuất (A, B, C). Bảng 3 cho thấy, hai yếu tố tỉ lệ lỏng - rắn và nhiệt độ chiết có ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu suất chiết TFC với giá trị P value thấp, còn yếu tố thời gian trích ly không hiệu quả bằng hai yếu tố trên.

Ngoài ra, bảng 3 cho thấy tóm tắt số liệu thống kê của mô hình Box-Behnken đối với hàm Y theo các biến A, B, C. Mô hình thể hiện kết quả tốt và có ý nghĩa với P<0,05 (P=0,0004). Hơn nữa, sự thiếu phù hợp của mô hình (giá trị F) lớn 0,1547, điều này có nghĩa là P>0,05 và không có ý nghĩa thống kê, với kết quả do sự thiếu phù hợp này, mô

hình thể hiện mức ý nghĩa tốt [15]. Mặc khác, hệ số xác định cao hơn 0,9 (R^2=0,9613) điều này có nghĩa là 3 yếu tố (A, B, C) đã giải thích được 96,13% kết quả của việc thu nhận TFC; kết quả này phù hợp nghiên cứu của Bas và cs (2007) [16].

Bên cạnh tác động tốt của ba yếu tố đến hiệu suất thu nhận TFC, tương tác hai yếu tố bao gồm AB, AC và BC cũng có tác động hiệu quả lên hàm lượng TFC. Cụ thể, với hai yếu tố AC và BC cho kết quả có ý nghĩa thống kê, còn hai yêu tố AB có sự tác động yếu hơn lên hiệu suất chiết TFC với giá trị P>0,05. Kết quả đã cho thấy, sự tác động của từng cặp yếu tố lên sự thu hồi hàm lượng TFC là đáng kỳ vọng.

Bảng 3. Kết quả thiết kế thí nghiệm

Nguồn	TFC			
	Hệ số xác định	Giá trị F	Giá trị P	b
Mô hình	11,79	19,30	0,0004	*
A	0,2604	17,67	0,0040	*
B	-0,0496	0,6416	0,4494	
C	0,2707	19,09	0,0033	*
AB	0,0050	0,0033	0,9559	
AC	0,2223	6,44	0,0388	*
BC	0,4014	20,99	0,0025	*
A^2	-0,5288	38,34	0,0004	*
B^2	-0,2204	6,66	0,0364	*
C^2	-0,6290	54,25	0,0002	*
Thiếu phù hợp (F)	0,1547			
R^2	0,9613			
R^2_{adj}	0,9114			
P_{value}	0,0004			

*Ghi chú: A: Tỷ lệ lỏng - rắn (mL/g); B: Thời gian chiết (phút); C: Nhiệt độ chiết (°C); *: có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).*

3.3. Phân tích đáp ứng bề mặt

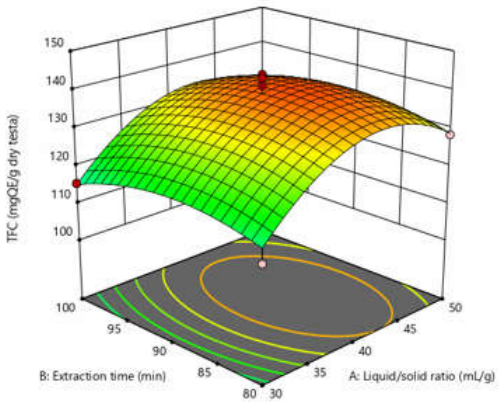
Khảo sát các tác động tương quan của các yếu tố thử nghiệm trên TFC bằng mô hình Box-Benhken và kết quả tương tác ba chiều (3D) có thể cung cấp hình ảnh trực quan giữa hai biến và tạo điều kiện tối ưu cho sản lượng TFC tối đa [17]. Biểu đồ bề mặt phản hồi được biểu diễn trong hình 2 và từ các biểu đồ 3D này, có thể thấy rõ mối tương quan tích cực giữa hai yếu tố A, B và C.

Ảnh hưởng của thời gian chiết xuất đến sản lượng TFC được thể hiện trong hình 2a và 2c, khi thời gian chiết xuất tương tác với các yếu tố khác. Sản lượng chiết xuất tối đa có thể đạt được đối với TFC khi thời gian chiết xuất là khoảng 90 phút và ở các mức thời gian chiết xuất thấp và cao, sản lượng TFC thấp hơn. So với các phương pháp chiết xuất nhiệt khác, siêu âm có thể thúc đẩy sự lan tỏa của dung môi vào tế bào vỏ hạt điều và giải phóng các sản phẩm nội bào [18], có thể làm tăng hiệu quả chiết xuất và rút ngắn thời gian chiết xuất.

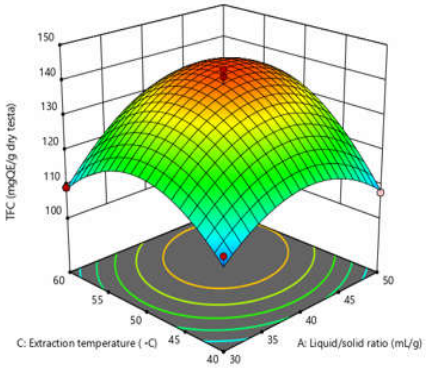
Mối tương quan tỷ lệ chất lỏng - rắn với các yếu tố thử nghiệm khác trên hàm lượng TFC được hiển thị trong hình 2a, 2b. Theo đó, hiệu suất của

TFC tăng lên khi tăng tỷ lệ từ 30 - 40 mL/g, nhưng giá trị A trên 40 mL/g dường như làm giảm hiệu suất chiết xuất. Những kết quả này cũng đã được báo cáo đối với quá trình chiết xuất flavonoit từ các nguyên liệu khác nhau [19]. Tỷ lệ chất lỏng-rắn tốt nhất cho sản lượng TFC và TPC là khoảng 40 mL/g.

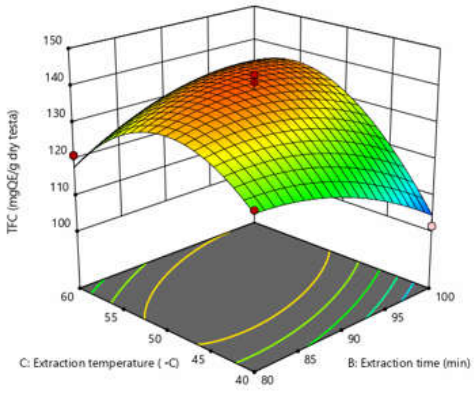
Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất được thể hiện trong hình 2b, 2c và hàm lượng của TFC tăng lên khi nhiệt độ chiết xuất tăng từ 40 - 50°C, điều này có thể là do sự gia tăng nhiệt độ chiết xuất đã đẩy nhanh quá trình chiết xuất, truyền khối. TFC bị giảm khi nhiệt độ khoảng 50°C, trong khi trên 50°C dường như bất lợi cho việc chiết xuất TFC, khả năng giải phóng flavonoit giảm có thể do nhiệt độ cao làm tăng sự phân hủy nhiệt của một số phân tử flavonoit nhạy cảm với nhiệt, do đó làm giảm TFC [20]. Vì vậy, nhiệt độ chiết xuất tốt nhất để thu nhận TFC và TPC là khoảng 50°C.



a



b



c

Hình 2. Biểu đồ bề mặt phản hồi hiển thị tác động tương tác của các biến độc lập lên hàm lượng TFC

Ghi chú: a, b, c: bức tranh của bề mặt đáp ứng với mối tương quan của các điều kiện khác nhau.

3.4. Kết quả tối ưu hóa và kiểm định phương pháp

Theo kết quả tối ưu hóa các điều kiện theo mô hình Box-Behnken, tỷ lệ tối ưu trong tương quan của 3 yếu tố để trích ly hàm lượng TFC cao nhất từ vỏ hạt điều được xác định như sau: Tỷ lệ lỏng - rắn 42,6 mL/g, thời gian trích ly 97,8 phút, nhiệt độ trích ly 48,5°C, sản lượng TFC của mô hình dự đoán là 133,07 mg/g chất khô và được thể hiện trong bảng 5. Kết quả hàm lượng TFC thu nhận được từ vỏ lụa hạt điều của Việt Nam cao hơn so với tổng flavonoit chiết xuất từ vỏ lụa hạt điều ở các nước như Indonesia, Ấn Độ và Sri Lanka [2, 3, 21].

Để kiểm tra thêm độ tin cậy của phương pháp BBD, các thí nghiệm xác nhận đã được tiến hành ba lần trong các điều kiện tối ưu này (A-42,6 mL/g, B-97,8 phút, C-48,5°C). Các kết quả dự đoán của TFC phù hợp với các giá trị thử nghiệm (Bảng 4) thu được bằng cách sử dụng ba yếu tố ở mức chiết xuất tối ưu và được xác nhận bởi CV ở mức 1,44 (TFC).

Bảng 4. Hàm lượng tổng flavonoit của dịch chiết được xác định ở 3 điều kiện tối ưu với phương pháp siêu âm

Đáp ứng	Các yếu tố tối ưu			Kết quả lớn nhất		% Sự khác nhau
	A (mL/g)	B (phút)	C (°C)	Thực nghiệm (mg/g chất khô)	Dự đoán theo mô hình (mg/g chất khô)	
Y	43	98	48	134,99	133,07	1,44

4. KẾT LUẬN

Điều kiện tốt nhất để chiết xuất hàm lượng TFC với dung môi methanol, tỉ lệ lỏng - rắn là 42,6 mL/g, thời gian chiết ở 97,8 phút và nhiệt độ chiết ở 48,5°C với hàm lượng TFC tương ứng là 133,07 mg/g chất khô. Kết quả này thu được sau khi tiến hành khảo sát sơ bộ từng điều kiện để lấy khoảng giá trị của từng điều kiện và sau đó sử dụng mô hình tối ưu Box-Behnken và xử lý số liệu theo mô hình để thu được kết quả tối ưu theo mô hình đã chọn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ukoha P. O., Ejikeme P. M. and Maju C. C. (2010). Tannin of the testa of Anacardium occidentale (Cashew) and Husk of Arachis hypogaea (Groudnut): characterization and potential applications. Jalca. p. 242-2, vol 105.

2. Trox J., Vadivel V., Vetter W., Stuetz W., Kammerer D. R., Carle R., Scherbaum V., Gola U., Nohr D., Biesalski H. K. (2011). Catechin and epicatechin in testa and their association with bioactive compoundsin kernels of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chem*, Vol 212, p. 1094 -1099.

3. Natsume M., Osakabe N., Yamagishi M., Takizawa T., Nakamura T., Miyatake, H. (2000). Analysis of polyphenols in cacao liquor, cocoa and chocolate by normal - phase and reversed - phase HPLC. Bioscience. *Biotechnology and Biochemistry,* 64 (12), 2581 - 2587.

4. Le H. Q. V., Tong T. D., Luu X. C., Le X. T. (2021). Preliminary extraction of catechin in cashew testa. Earth Environ Sci Trans., p.7, vol. 947.

5. Shi M., Nie Y., Zheng X. Q., Lu J. L., Liang Y. R., Ye J. H. (2016). Ultraviolet B (UVB) Photosensitivities of tea catechins and the relevant chemical conversions. *Molecules,* p. 21, vol 1345.

6. Kamath V., Rajini P. S. (2007). The efficacy of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) skin extract as a free radical scavenger. Food Chem., p. 428–433, vol. 103.

7. Chandrasekara N., Shahidi F. (2011). Effect of Roasting on Phenolic Content and Antioxidant Activities of Whole Cashew Nuts, Kernels, and Testa. *J. Agric. Food Chem.*, p. 5006–5014, vol. 59.

8. Donkoh A., Kotoku V. A., Kwame R. O. and Gascar R. (2012). Evaluation of Nutritional Quality of Dried Cashew Nut Testa Using Laboratory Rat as a Model for Pigs. *The Scientific World Journal*. p. 5.

9. Chang C. C., Yang M. H., Wen H. M., Chern J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Anal., p. 178-182, vol. 10(3).

10. Yiru R., Jinwu X. (2014). Crashworthines Uncertainty Analysis of Typical Civil Aircraft Based on BoxBehnken Method. Chin. *J. Aeronaut.*, p. 550–557, vol. 27(3).

11. Rostagno and Juliana M. (2013). Royal Society of Chemistry. Mauricio A and Prado (Ed). Natural product extraction: principles and applications. University of Campinas, Brazil, 230-275.

12. Silva Rogez E., Larondelle H. (2007). Optimization of extraction of phenolics from Inga edulis leaves using response surface methodology. Sep. Purif. Technol., p. 381–387, vol. 55.

13. Hemwimol S., Pavasant P., Shotipruk A. (2006). Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of Morinda citrifolia. Ultrason Sonochem, p. 543–548, vol. 13.

14. Chan E., Lim Y., Wong S., Lim K., Tan S., Lianto F., Yong M. (2009). Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. Food Chem., p. 166–172, vol. 113.

15. Khuri A. I. and Mukhopadhyay S. (2010). Response Surface Methodology. Wiley Interdiscip Rev Comput Stat, p.128-149, vol 2.

16. Bas D. and Boyac I. H. (2007). Modeling and Optimization I: Usability of Response Surface Methodology. *J. Food Eng.*, p. 836-845, vol 78.

17. Campone L., Celano R., Piccinelli A., Pagano L., Carabetta I., Di Sanzo S., Russo R., Ibañez M., Cifuentes E., Rastrelli A. L. (2018). Response surface methodology to optimize supercritical carbon dioxide/co-solvent extraction of brown onion skin by-product as source of nutraceutical compounds. Food Chem., p. 495-502, vol. 269.

18. Lee M. H., Lin C. C. (2007). Comparison of techniques for extraction of isoflavones from the root of Radix Puerariae: Ultrasonic and pressurized solvent extractions. Food Chem., p.223–228, vol. 105.

19. Liu W., Yu Y., Yang R., Wan C., Xu B. and Cao S. (2010). Optimization of Total Flavonoid Compound Extraction from Gynura medica Leaf Using Response Surface Methodology and Chemical Composition Analysis. Int. *J. Mol. Sci.*, p.4750-4763, vol. 11.

20. Chan E. W. C., Lim Y. Y., Wong S. K., Lim K. K., Tan S. P., Lianto F. S., Yong M. Y. (2011). Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. Food Chem., p. 166–172, vol. 113.

21. Mathew A. G. and Parpia H. A. B. (1970). Polyphenols of cashew kernel testa. *J. Food Sci.*, p.140-143, vol 35(2).

OPTIMIZING CONDITIONS TO YIELD TOTAL FLAVONOID AND TOTAL PHENOLIC CONTENTS USING ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION FROM CASHEW TESTA (*Anacardim occidentale* Linn)

Nguyen Thi Ngan, Nguyen Ngoc Tuan, Tran Dinh Thang

Summary

Optimization of the extraction process for total flavonoid content was carried out on cashew testa (*Anacardim occidentale* Linn), collected in Binh Duong province. This is a food waste produced during the processing cashew products every year. Four factors were investigated to optimize the flavonoid content: namely extraction solvent, solvent/dry material ratio, extraction time and extraction temperature. The experiment was conducted by ultrasonic bath-assisted extraction, optimizing the conditions by the Box-Behnken surface response method. The conditions were specifically investigated with solvents such as methanol, ethanol, ethylacetate and water; solvent/raw material ratio 20-60 mL/g, extraction time 40-130 min, extraction temperature 30-60°C. After using the Box-Behnken optimization model with the above conditions, the obtained results showed that the highest total flavonoid content obtained in the extract was 133.07 mg/g dry matter when the solvent was methanol, solvent/dry material ratio was 42.6 mL/g, extraction time at 97.8 min and extraction temperature at 48.5°C.

Keywords: *Anacardim occidentale Linn, Box-Behnken, cashew testa, optimal, total flavonoid.*

Người phản biện: PGS.TS. Lại Quốc Đạt

Ngày nhận bài: 6/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 3/4/2023

Ngày duyệt đăng: 10/4/2023

SỰ THAY ĐỔI TÍNH CHẤT VÀ CẤU TRÚC CỦA TINH BỘT GẠO ĐƯỢC XỬ LÝ KẾT HỢP THỦY PHÂN ENZIM, THỦY NHIỆT VÀ THOÁI HÓA TINH BỘT GẠO

Phạm Cao Thăng[1], Nguyễn Duy Lâm[1,*]

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm xác định sự thay đổi về tính chất và cấu trúc của tinh bột kháng loại RS3 được tổng hợp từ tinh bột gạo giống lúa IR50404 bằng phương pháp xử lý kết hợp thủy phân cắt mạch nhánh, thủy nhiệt và làm thoái hóa tinh bột theo chu kỳ. Theo đó, sản phẩm RS3 có hàm lượng amyloza 49,64%, độ thủy phân 8,82, tinh bột kháng 45,3% và độ hòa tan nước 65,1%, tăng lên nhiều so với các chỉ số tương ứng của tinh bột gạo IR50404 tự nhiên (23,38%, 0,29, 12,8%, 65,1%), trong khi độ trùng hợp polyme (237) và độ trương nở lại giảm đi đáng kể (947 và 1,27% tương ứng). Xử lý cắt mạch nhánh, thủy nhiệt và thoái hóa theo chu kỳ đã tạo ra sự sắp xếp lại phân tử mạch thẳng và cấu trúc phân tử trật tự hơn của tinh bột thoái hóa, thể hiện bởi cấu trúc V-type điển hình xuất hiện trên phổ nhiễu xạ tia X. Sự kết tinh lại của hạt tinh bột tạo ra hình ảnh các hạt có hình thù bất định, lớn hơn với mạng lưới lỗ rỗng xốp được quan sát bởi SEM. Các thông số độ nhớt của bột nhào từ khảo sát RVA đã bị thay đổi rõ rệt, phần lớn các thông số này mất khỏi giản đồ khi so sánh với mẫu tinh bột tự nhiên. Kết quả khảo sát nhiệt lượng vi sai (DSC) chỉ ra nhiệt độ hồ hóa (To, Tp và Te) của các mẫu xử lý nhiệt/nguội theo chu kỳ đã tăng lên nhiều, đồng thời nhiệt lượng ΔH giảm đi.

Từ khóa: *Cấu trúc, tính chất, tinh bột kháng RS3, thoái hóa, thủy nhiệt.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tinh bột kháng (resistant starch-RS) là tinh bột và những sản phẩm tinh bột không bị tiêu hóa khi đi qua ruột non sau khi ăn nhưng bị lên men ở ruột kết. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, tinh bột kháng là phân tử mạch thẳng chứa α-1,4-D-glucan được chuyển hóa từ phần amyloza bị thoái hóa và có trọng lượng phân tử tương đối thấp (1,2 x 10^5 Da). Tinh bột kháng đã được chứng minh có nhiều lợi ích cho sức khỏe như hạ đường huyết, hạ colesterôn huyết, có chức năng probiotic và làm tăng sự hình thành các axit béo mạch ngắn trong ruột kết [1, 2, 3, 4].

Trong 5 nhóm tinh bột kháng thì RS3 được quan tâm nhiều nhất bởi có tính bền nhiệt cao, duy trì được tính kháng tiêu hóa ngay cả khi bổ sung vào thực phẩm trong quá trình chế biến sử dụng [3, 4]. Nhóm RS3 được tạo thành do hiện tượng thoái hóa (retrogradation) của tinh bột, tức là khi tinh bột được nấu chín và làm nguội. Khác với RS1 và RS2, tinh bột kháng RS3 được hình thành ở những thực phẩm đã qua nấu chín được giữ ở nhiệt độ thấp hay nhiệt độ phòng. RS3 được đánh giá là rất bền với nhiệt độ và các tác nhân xử lý. Bởi vậy, RS3 được đặc biệt quan tâm và sử dụng rộng rãi trong thực phẩm. Quá trình chế biến thực phẩm thường có liên quan đến xử lý nhiệt và ẩm nên trong hầu hết các trường hợp làm phá hủy RS1 và RS2 nhưng lại có thể tạo ra RS3 [5-6]. Để sản xuất RS3, hiện nay hầu hết đều sử dụng các phương pháp xử lý thủy nhiệt (xử lý nhiệt ẩm, ủ nhiệt, hấp nhiệt) với tinh bột đã được cắt mạch nhánh bằng enzim [7, 8].

Trong nghiên cứu gần đây, nhóm nghiên cứu tại Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch đã tổng hợp thành công được tinh bột kháng từ tinh bột gạo. Theo đó, đã lựa chọn được loại tinh bột gạo thích hợp là giống IR50404 [9], điều kiện thủy phân cắt mạch nhánh bằng enzim

[1] Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch
[*]Email: nguyenduylam16@gmail.com

pullulanaza (pH, nhiệt độ, nồng độ enzim, thời gian) [10] và các thông số công nghệ của quá trình thủy nhiệt và thoái hóa (số chu kỳ xử lý hấp nhiệt, nhiệt độ và thời gian ủ tạo mầm tinh thể và ủ phát triển mầm) [11].

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định sự thay đổi về các đặc tính và cấu trúc của sản phẩm tinh bột kháng loại RS3 nhằm đánh giá chất lượng của sản phẩm tinh bột kháng RS3 được tạo ra từ xử lý kết hợp thủy phân cắt mạch nhánh, thủy nhiệt và thoái hóa theo chu kỳ với nguyên liệu ban đầu là tinh bột gạo giống lúa IR50404.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Tinh bột gạo IR50404 được Công ty TNHH Thương mại và Chế biến Thực phẩm Hòa Phát (thành phố Hồ Chí Minh) sản xuất tháng 10 năm 2020. Sau khi tinh chế và sấy khô, tinh bột chứa 93,9% hydrat cacbon 1,03% protein, 0,22% lipit và 5% độ ẩm được sử dụng làm mẫu tinh bột tự nhiên.

2.2. Quy trình tạo tinh bột kháng loại RS3

Tinh bột kháng RS3 được tổng hợp theo quy trình là kết quả của nghiên cứu đã công bố [10, 11]. Quy trình gồm 2 công đoạn chính là sản xuất tinh bột tiền xử lý và làm giàu hàm lượng kháng bằng xử lý nhiệt/nguội nhiều chu kỳ.

Tóm tắt sơ đồ công đoạn đầu tiên tạo tinh bột tiền xử lý: Tinh bột gạo tự nhiên (dịch bột 20%) → Thuỷ phân axit (HCl 1%, 50°C, 14-16 giờ) → Hồ hoá (pH 6, 130°C, 30 phút) → Ủ thoái hoá (40°C, 18-24 giờ) → Hấp nhiệt (120°C, 60 phút) → Thuỷ phân bằng pullulanaza (25 NPUN/g, 55°C, 6 giờ) → Khử hoạt tính enzim → Ly tâm loại nước → Sấy → Tinh bột tiền xử lý.

Tóm tắt sơ đồ công xử lý nhiệt/nguội theo chu kỳ: Tinh bột tiền xử lý (dịch 20%) → Hấp nhiệt (130°C, 30 phút) → Ủ tạo mầm tinh thể RS3 lần 1 (55°C, 3 giờ, ký hiệu: TBT-12) → Ủ phát triển tinh thể RS3 lần 1 (120°C, 3 giờ) → Ủ tạo mầm tinh thể lần 2 (55°C, 18 giờ, ký hiệu: TBT-13) → Ủ phát triển tinh thể lần 2 (120°C, 3 giờ) → Ủ tạo mầm tinh thể lần 3 (30°C, 18 giờ) → Tồn trữ (-20°C, 24 giờ) → Tinh bột kháng RS3 (ký hiệu: TBT-14).

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Xác định hàm lượng tinh bột kháng

Theo phương pháp AOAC 985.29 với nguyên tắc sử dụng 2 loại enzim là α-amylaza và amyloglucosidaza để thủy phân thành phần tinh bột tiêu hóa thành các phần hòa tan. Sử dụng enzim proteaza để thủy phân các enzim đã nêu. Tiến hành kết tủa bằng cồn và rửa để loại bỏ những thành phần hòa tan. Sản phẩm cuối được xác định hàm lượng tro và hàm lượng protein để hiệu chỉnh kết quả.

2.3.2. Xác định mức độ thuỷ phân

Mức độ thủy phân của các mẫu tinh bột sau khi thủy phân enzim được tính theo hàm lượng glucoza được đo bằng thuốc thử glucoza oxidaza-peroxidaza. Công thức tính: D.H (%) = {[%RDS/%TSm] x 100}.

Trong đó: %RDS là hàm lượng đường khử sau thuỷ phân (%); %TS là hàm lượng đường tổng số sau thuỷ phân (%) [10].

2.3.3. Xác định độ trùng hợp polyme

Xác định theo phương pháp của Hood và Mercier (1978) [12]. Theo đó, lấy 25 mg tinh bột hòa tan trong 1,5 ml 90% dimethyl sulfoxit (DMSO), đun nóng trên bếp cách thủy trong 20 phút, thêm dung dịch đệm axetat (3,5 ml, 0,05 M, pH 5,0) và pullulanaza (20 µl, 1350 NPUN/ml), ủ hỗn hợp ở 50°C trong 48 giờ. Enzim bị bất hoạt bằng cách đun sôi dung dịch trong 20 phút. Độ trùng hợp trung bình số (DP) được tính bằng phương trình sau:

$$\overline{DP}_n = \left(\frac{\text{TS of sample after hydrolysis} - \text{TS of pullulanase}}{\text{R of sample after hydrolysis} - \text{R of pullulanase}} \right)$$

Trong đó: R là hàm lượng đường khử tính bằng mg glucoza; TS là hàm lượng đường tổng số tính bằng mg glucoza. Đường tổng số được xác

định theo phương pháp sử dụng thuốc thử axit phenol-sunfuric, đường khử được xác định theo phương pháp Park- Johnson (1995) [10].

2.3.4. Xác định hàm lượng amyloza, độ trương nở và độ hòa tan nước

Hàm lượng amyloza được xác định theo TCVN 5716-2: 2017, độ trương nở và độ hòa tan nước được xác định ở 90°C theo phương pháp của Phạm Văn Hùng và cs (2015) [13].

2.3.5. Xác định đặc tính bột nhào bằng đo độ nhớt nhanh RVA

Theo AACC 61-02 [14], được tóm tắt như sau: Hòa tan 3 g bột gạo (13,5% độ ẩm) và 25 g nước cất vào trong ống nhôm và nạp vào nhớt kế nhanh RVA (RVA Super 3, Newport Scientific, USA). Hỗn hợp được khuấy trộn 900 vòng/phút trong 10 giây đầu tiên và giảm xuống 160 vòng/phút cho đến khi kết thúc phép đo. Đun mẫu dịch bột gạo ở 50°C trong 1 phút, sau đó tăng lên 95°C với tốc độ nâng nhiệt là 120°C/phút, giữ 2,5 phút. Sau đó, làm nguội mẫu gạo xuống 50°C với tốc độ giảm nhiệt 120°C/phút và duy trì mức 50°C/phút trong 2 phút tới khi kết thúc.

2.3.6. Phân tích nhiệt vi sai DTA

DTA được thực hiện trên thiết bị phân tích nhiệt vi sai (Labsys Evo S60/58988, Pháp). Cân khoảng 10 mg mẫu vào đĩa inox, thêm nước cất để thu được hỗn dịch nước - tinh bột chứa 75% nước (w/w). Đĩa được gắn kín và để qua đêm ở nhiệt độ phòng trước khi làm nóng trong máy DSC, sử dụng Indium làm chất chuẩn. Việc chạy DSC được thực hiện từ nhiệt độ phòng đến 200°C với tốc độ gia nhiệt 10°C/phút.

2.3.7. Phân tích SEM, phổ nhiễu xạ tia X và phổ hồng ngoại FT-IR

Phân tích hiển vi điện tử sử dụng kính hiển vi điện tử quét SEM (Jeol, JSM 6490 JED, Nhật Bản) với khay coaster (JFC 1200, JEOL, Nhật Bản). Phân tích nhiễu xạ tia X được xác đinh bằng thiết bị SIEMENS D500 (Đức). Theo đó, lấy khoảng 5 g mẫu, gói kín trong hộp silicon hình chữ nhật cho tiếp xúc với chùm tia X. Điều kiện nhiễu xạ với tia đơn sắc Cu-K2 (bước sóng 0,154060 nm) được tạo ra trong ống kín ở 40 kV và 40 mA. Hình ảnh nhiễu xạ được thu nhận ở dải góc quét Bragg (2θ) từ 4° hoặc 10° tới 45° hoặc 70°. Các thông số hoạt động khác bao gồm: bước quét 0,05°, tốc độ quét 2,5° và tốc độ quay 30 vòng/phút. Phân tích phổ hồng ngoại FT-IR được thu nhận bằng máy quang phổ Spectrum GX FTIR (Perkin Elmer Inc., Boston, MA, USA) được trang bị đầu dò triglyxin sunfat (DTGS) sử dụng phụ kiện phản xạ toàn phần (ATR) tắt dần nằm ngang với tinh thể ZnSe ở góc tới 45°.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các phân tích được tiến hành 3 lần lặp lại. Số liệu thực nghiệm được phân tích theo ANOVA đơn yếu tố và biểu thị là giá trị trung bình. Duncan's test sử dụng để kiểm định sự khác nhau có ý nghĩa của các giá trị trung bình. Phần mềm SPSS ver 16.0 đã được sử dụng cho các phân tích đã nêu. Ngoài ra, phần mềm Microsoft Excel 2010 được dùng để vẽ và biểu thị mối tương quan giữa hàm lượng tinh bột kháng và một số thông số thủy phân.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự thay đổi thành phần và tính chất hóa lý của tinh bột kháng RS3

Kết quả xác định một số thành phần và tính chất hóa lý của tinh bột tự nhiên và sản phẩm RS3 được thể hiện trong bảng 1. Kết quả cho thấy, amyloza của sản phẩm tinh bột kháng RS3 đạt 49,64%, cao hơn nhiều so với tinh bột tự nhiên ban đầu (28,38%). Điều này có thể do sự hoạt động của pullulanaza trong công đoạn tiền xử lý để sản xuất tinh bột RS3 đã cắt các mạch nhánh của phân tử tinh bột tạo cấu trúc mạch thẳng. Độ thủy phân tăng từ 0,24 lên 8,82 ở mẫu sản phẩm RS3 tương ứng. Mức độ trùng hợp giảm từ 947 ở tinh bột tự nhiên, xuống 237 ở sản phẩm RS3. Hàm lượng tinh bột kháng tăng từ 12,8% ở tinh bột tự nhiên tới

45,3% ở sản phẩm RS3. Sản phẩm có độ hòa tan tăng mạnh, từ 7,15% ở mẫu tự nhiên lên 65,1% ở mẫu tinh bột kháng RS3. Ngược lại, độ trương nở của sản phẩm lại giảm. Các kết quả về độ hoà tan nước và trương nở phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây đối với cả tinh bột gạo và ngô [15, 16].

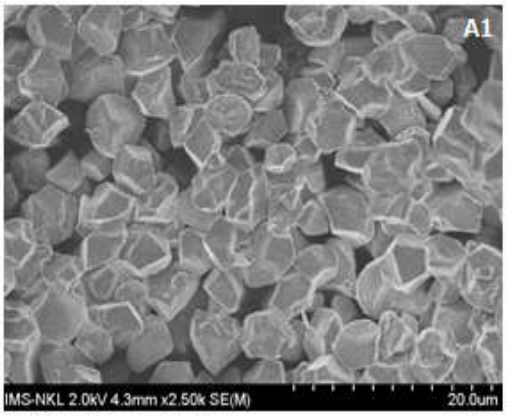
Bảng 1. Các thông số chất lượng của tinh bột gạo và sản phẩm tinh bột kháng RS3

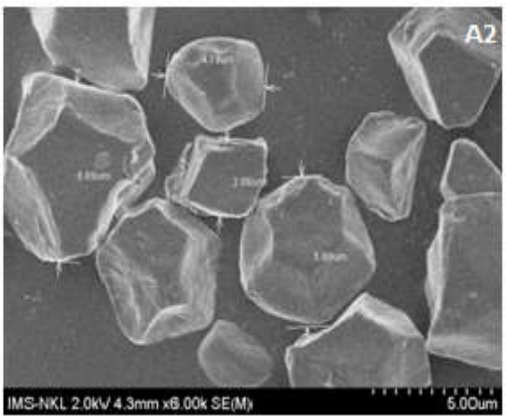
Thông số chất lượng	Tinh bột tự nhiên*	Sản phẩm RS3*
Amyloza, %	$28,38 \pm 0,9^{c}$	$49,64 \pm 1,6^{b}$
Độ thủy phân	$0,29 \pm 0,04^{c}$	$8,82 \pm 0,27^{a}$
Mức độ trùng hợp	947 ± 23^{a}	237 ± 12^{c}
Tinh bột kháng, %	$12,8 \pm 0,7^{c}$	$45,3 \pm 1,7^{a}$
Tỷ lệ thu hồi, %	$96,2 \pm 2,3^{a}$	$87,3 \pm 2,3^{b}$
Độ hòa tan, %	7,15 ± 0,6c	65,1 ± 1,6a
Độ trương nở, %	$13,27 \pm 0,9^{a}$	$2,17 \pm 0,7^{c}$

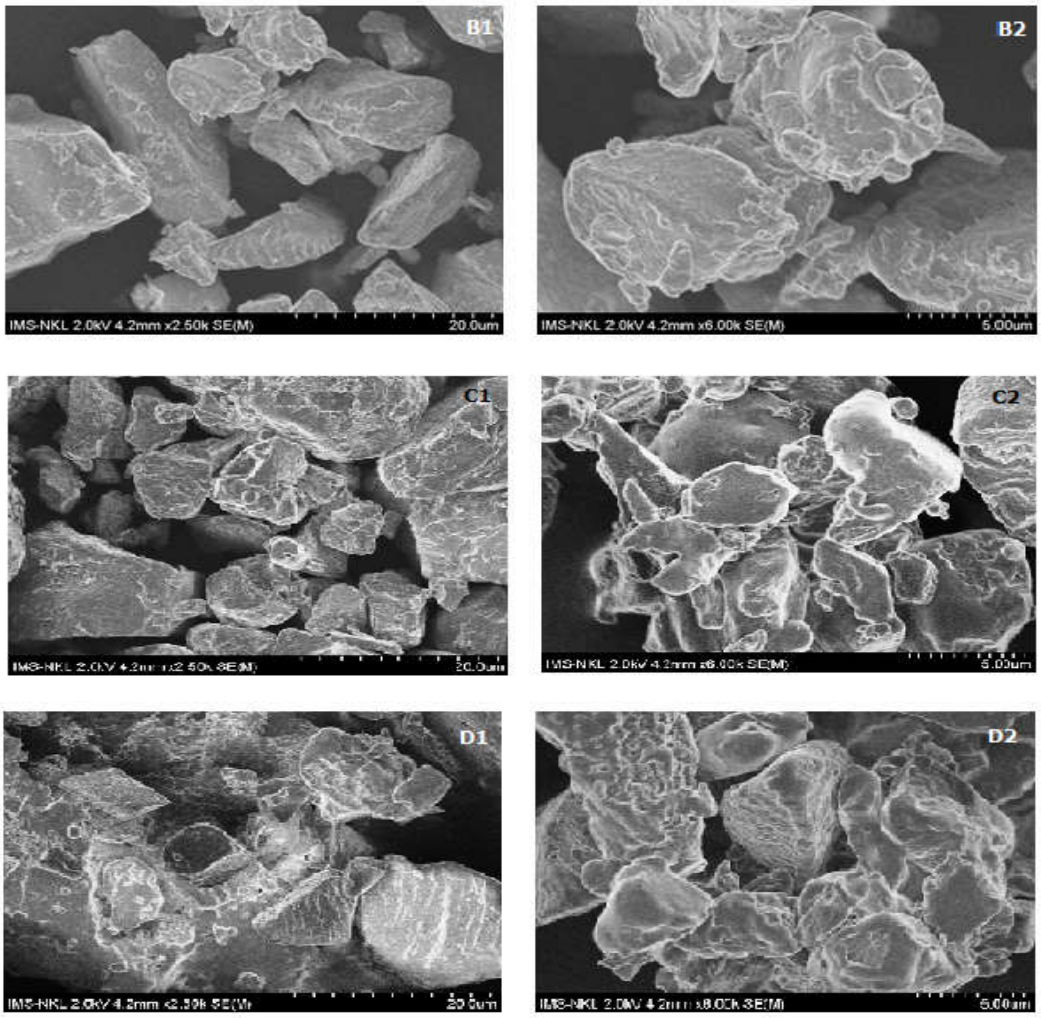
*Ghi chú: * Sản phẩm RS3: Là sản phẩm tinh bột kháng thu được sau xử lý 3 chu kỳ nhiệt/nguội, làm lạnh đông -20°C 48 giờ. Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một hàng là khác nhau ở p<0,05, mỗi mẫu được đo 3 lần.*

3.2. SEM và sự thay đổi về hình thái hạt tinh bột

Hình ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của mẫu tinh bột gạo IR50404 tự nhiên và các mẫu tinh bột kháng được tạo ra nhờ xử lý nhiệt/nguội theo chu kỳ (1, 2 và 3 chu kỳ) được trình bày ở hình 1. Ở mỗi hình đưa ra 2 mức phóng đại 2.500 và 6.000 lần. Từ ảnh SEM thấy rằng, các hạt tinh bột gạo tự nhiên (Hình A1 và A2) là những hạt đa diện có đường kính trong khoảng 3-7 µm. Bề mặt các hạt nhẵn không bị rỗ. Đây là hình ảnh SEM điển hình của tinh bột gạo. Xử lý nhiệt/nguội ở 1, 2 và 3 chu kỳ làm thay đổi hình thái, kích thước mạnh mẽ so với mẫu tinh bột ban đầu. Cấu trúc dạng hạt như ở tinh bột tự nhiên hầu hết không còn nữa mà bị biến dạng, nhiều hạt bị vỡ, hầu hết bị trưởng nở hoặc vỡ nhỏ tạo thành những mảnh hình thù không cố định. Sự thay đổi rất mạnh mẽ này về hình thái của mẫu là đặc trưng của thoái hóa và cắt mạch tinh bột. Zhang và Jin (2011) đã xác định rằng, sự thoái hóa của các chuỗi amyloza sẽ gây ra sự sắp xếp cấu trúc tinh bột thành các tổ hợp helix. Hiện tượng này làm tăng mật độ cấu trúc tinh thể và từ đó làm tăng tính kháng đối với tiêu hóa enzim [17].



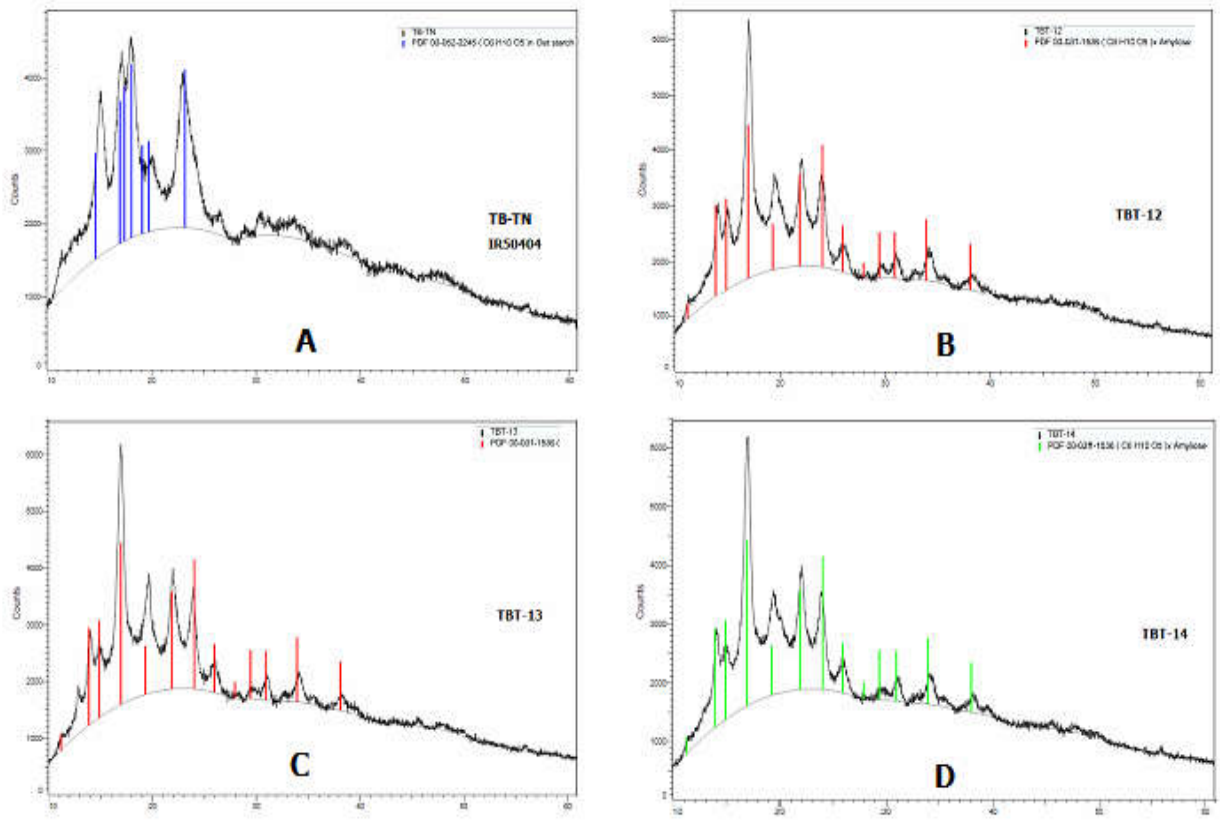




Hình 1. Hình thái và kích thước hạt tinh bột gạo IR50404 tự nhiên (A) và xử lý nhiệt/nguội 1 chu kỳ (B), 2 chu kỳ (C) và 3 chu kỳ (D). Độ phóng đại 2.500 X (cột bên trái) và 6.000 X (cột bên phải)

3.3. Phổ nhiễu xạ tia X và sự thay đổi độ kết tinh tương đối

Phổ nhiễu xạ tia X (XRD) của tinh bột gạo tự nhiên (Hình 2A) và 3 mẫu xử lý nhiệt/nguội ở 1, 2 và 3 chu kỳ (Hình 2B, 2C và 2D). Từ phổ XRD thấy rằng, cấu trúc tinh bột gạo IR50404 (tự nhiên) được phân loại là A-type vì có các pic đặc trưng ở 15^0, 17^0, 18^0, 20^0 và 23^0 của góc nhiễu xạ 2θ (Hình 2A và Bảng 2). Mẫu xử lý 1 chu kỳ nhiệt/lạnh TBT-12 (Hình 2B) có pic nhiễu xạ đơn rất cao tại vùng 17^0 2θ và có 3 pic rộng tại quanh vùng 22^0 và 23^0 2θ. Mẫu TBT-12 có thêm pic vùng 19^0. Pic ở vùng này là đặc trưng cho cấu trúc đa hình V-type. Sau khi xử lý cắt mạch ở công đoạn tiền xử lý, các mẫu xử lý theo 1, 2 và 3 chu kỳ đều thể hiện tương tự nhau, đó là sự kết hợp giản đồ nhiễu xạ B- và V-type với pic hẹp nhọn tại 17^0 2θ và một số ít pic nhỏ tại 19, 22 và 24 chính là đặc trưng của kết tinh B- và V-type. Trên hình 2, ở mẫu đo TBT-12, TBT-13 và TBT-14 (tương ứng với B, C, D hay xử lý ở 1, 2 và 3 chu kỳ nhiệt/nguội), máy đo tự động nhận dạng tên mẫu là amyloza là bằng chứng mẫu sau khi cắt mạch nhánh đã trở nên có đặc trưng là amyloza do hàm lượng đã tăng lên. Từ bảng 2 cũng thấy độ kết tinh của tinh bột kháng TBT-12 có tăng lên đáng kể (42,7%) so với tinh bột tự nhiên (32,2%) do thoái hóa tinh bột và tăng theo số chu kỳ thoái hóa tăng (47,1% và 52%). Điều này chứng tỏ tinh bột thoái hóa đã được kết tinh lại. Thông thường, nếu chỉ xử lý nhiệt thì độ kết tinh bị giảm, đó là lý do tinh bột trở nên dễ tiêu hóa hơn khi được xử lý nhiệt.



Hình 2. Phổ nhiễu xạ tia X của tinh bột gạo tự nhiên giống IR50404 (A), tinh bột kháng RS3 từ xử lý 1 kỳ nhiệt/nguội (B), 2 chu kỳ nhiệt/nguội (C) và 3 chu kỳ kỳ nhiệt nguội (D)

Bảng 2. Số liệu nhiễu xạ tia X của tinh bột tự nhiên và tinh bột xử lý nhiệt/nguội theo chu kỳ

Tinh bột gạo	Pic nhiễu xạ tại góc 2θ										Dạng cấu trúc	Độ kết tinh (%)
	15°	17°	18°	20°	22°	23°	26°	31°	34°	38°		
A	15,15	17,07	17,99	19,98	-	23,07	-	-	-	-	A	32,2
B	15,00	17,04	-	19,59	22,05	23,94	25,98	31,02	34,25	38,34	B+V	42,7
C	14,96	17,00	17,89	19,60	21,93	23,86	25,85	31,00	34,19	38,33	B+V	47,1
D	14,94	17,01	-	19,49	22,02	23,92	25,94	30,98	34,18	38,28	B+V	52,0

*Ghi chú: * A = TBTN = Tinh bột gạo tự nhiên giống lúa IR50404; B = TBT-12 = Tinh bột kháng RS3 thu được do xử lý nhiệt/nguội theo 1 chu kỳ; C = TBT-13 = Tinh bột kháng RS3 thu được do xử lý nhiệt/nguội 2 chu kỳ; D= TBT-14 = Tinh bột kháng RS3 thu được do xử lý nhiệt/nguội theo 3 chu kỳ.*

3.4. Giản đồ RVA và sự thay đổi đặc tính bột nhào

Sự thay đổi đặc tính bột nhào được thể hiện trong bảng 3 cho thấy, các mẫu đã xử lý phối hợp cắt mạch nhánh, nhiệt và thoái hóa đã bị thay đổi lớn ở các thông số RVA, các thông số mất khỏi giản đồ khi so sánh với mẫu tinh bột tự nhiên. Độ nhớt đỉnh (3682 cP) cũng như các thông số RVA của tinh bột gạo tự nhiên là lớn nhất. Xử lý theo chu kỳ 1, 2 và 3 hầu như không có tác dụng khác nhau có ý nghĩa tới tính chất tạo bột nhào (pasting) của các mẫu. Hiện tượng giảm các giá trị độ nhớt là do các hạt tinh bột bị phá hủy và sự hòa

tan tăng lên gây ra do nhiệt độ xử lý cao và sự thủy phân cắt mạch. Theo Gelencser và cs (2008), hàm lượng tinh bột kháng càng cao thì độ nhớt càng thấp [18], kết quả trên phù hợp với nghiên cứu này, khi đã xác định RS cao theo thứ tự TBT-14 > TBT-13 > TBT-12. Kết quả tương tự về việc giảm độ nhớt đỉnh PV, độ nhớt breakdown và các giá trị độ nhớt khác trong các mẫu tinh bột có RS cao cũng đã được chỉ ra trong nghiên cứu của Lee và cs (2012) [19], Babu và Parimalavalli (2016) [20]. Sự khác nhau về độ nhớt setback giữa các mẫu có thể là do số lượng và khối lượng phân tử của amyloza giải phóng ra khỏi hạt tinh bột và phần còn lại của tinh bột hồ hóa [21]. Nhiệt độ hồ hóa của các mẫu xử lý nhiệt và cắt mạch nhánh không được phát hiện là do chúng đã mất đi cấu trúc hạt.

Bảng 3. Các thông số RVA của tinh bột tự nhiên và xử lý nhiệt/nguội theo chu kỳ (*)

Tinh bột gạo	Độ nhớt đỉnh PV (cP)	Độ nhớt đáy TV (cP)	Độ nhớt Breakdown (cP)	Độ nhớt setback (cP)	Độ nhớt cuối FV (cP)	Nhiệt độ hồ hóa PT (°C)
A (TB TN)	3682,0	964,0	599,0	169,0	1732	84,6
B (TBT-12)	-55,0	-58,0	3,0	4,0	-51	-
C (TBT-13)	-55,0	-60,0	5,0	1,0	-54	-
D (TBT-14)	-58,0	-62,0	4,0	1,0	-57	-

Ghi chú: Như bảng 2.

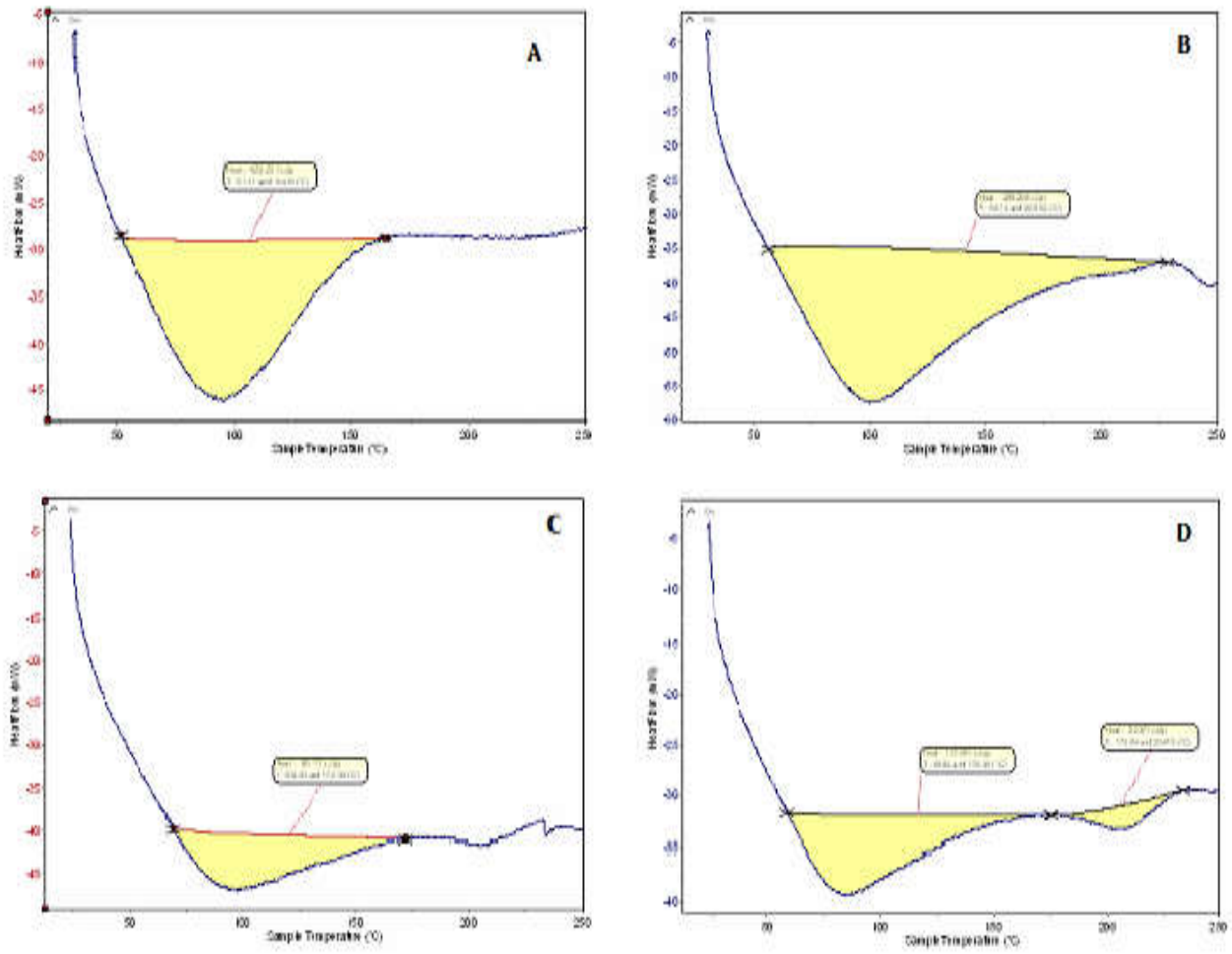
3.5. Sự thay đổi các đặc trưng nhiệt lượng quét vi sai (DSC)

Phân tích DSC được thể hiện ở bảng 4, thực hiện bắt đầu từ nhiệt độ phòng đến 250°C, trong không khí, tốc độ tăng nhiệt là 10°C/phút. Theo đó, tinh bột gạo IR50404 có nhiệt độ hồ hóa hoàn toàn ở 95,41°C với nhiệt lượng cao nhất là 4,25 J/g. Kết quả chỉ ra nhiệt độ hồ hóa (To, Tp và Te) của các mẫu xử lý nhiệt/nguội theo chu kỳ đã tăng lên rõ rệt, đồng thời nhiệt lượng ΔH giảm đi. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu khác và chứng tỏ rằng đã xảy ra sự thoái hóa tinh bột ở mức độ cao ở các mẫu tinh bột xử lý cắt mạch và thoái hóa.

Bảng 4. Các thông số nhiệt của tinh bột gạo tự nhiên IR50404 và tinh bột đã xử lý nhiệt/nguội theo chu kỳ*

Mẫu tinh bột	To (°C)	Tp (°C)	Te (°C)	ΔH (J/g)
A (TB-TN)	51,6	95,41	164,60	4,25
B (TBT-12)	96,4	122,73	187,73	1,74
C (TBT-13)	99,2	127,17	188,52	0,80
D (TBT-14)	108,8	132,44	187,15	1,37

*Ghi chú: * A = TB-TN: Tinh bột gạo tự nhiên IR50404; B, C, D = TBT-12, TBT-13 và TBT-14: Tinh bột đã xử lý nhiệt/nguội theo 1, 2 và 3 chu kỳ. To, Tp, Te và ΔH tương ứng là nhiệt độ bắt đầu hiệu ứng (onset), nhiệt độ đỉnh (peak), nhiệt độ kết thúc (end) và nhiệt lượng.*



Hình 3. Biểu đồ nhiệt lượng vi sai (DSC) của tinh bột gạo tự nhiên (A) và tinh bột đã xử lý 1, 2 và 3 chu kỳ nhiệt/nguội (B, C, D)

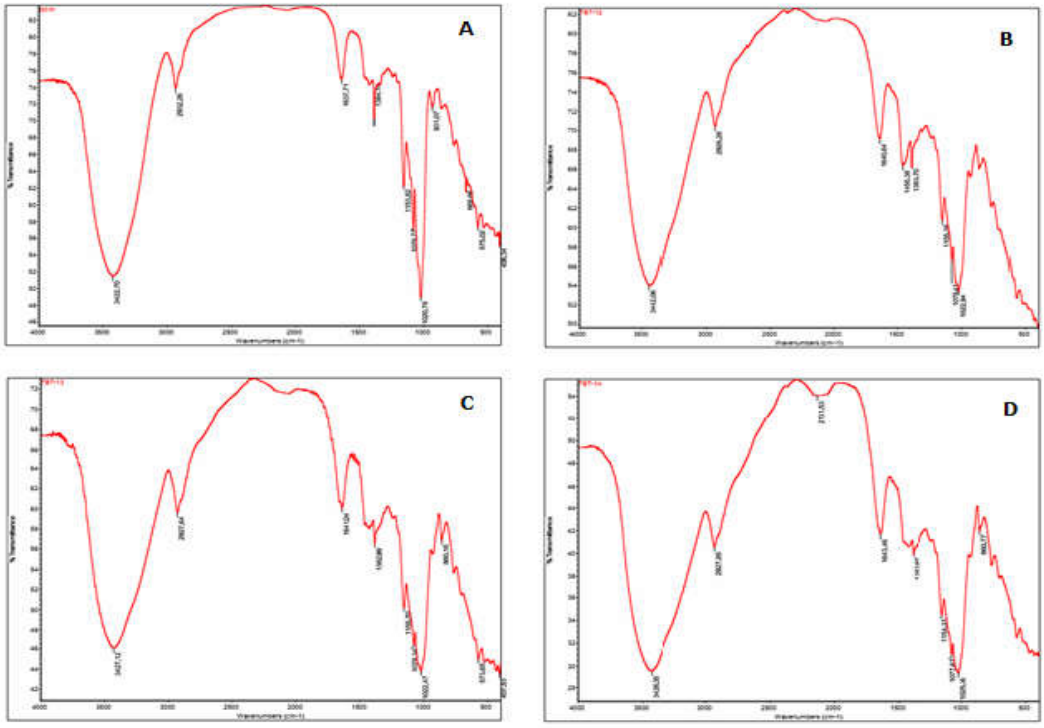
3.6. Sự thay đổi phổ hồng ngoại FT-IR

Phổ FT-IR của tinh bột được đánh giá là khá nhạy cảm với sự thay đổi cấu trúc ở mức độ phân tử, chẳng hạn về cấu hình chuỗi tinh bột, kết tinh và thoái hóa. Dải hấp thụ ở bước sóng 1.047 và 1.022 cm^{-1} là nhạy với cấu trúc trật tự hay tinh thể và cấu trúc vô định hình trong tinh bột. Tỷ số 1.047 cm^{-1}/1.022 cm^{-1} đã được sử dụng để diễn đạt mức độ kết tinh đối với mức vô định hình ở tinh bột. Phổ FT-IR (truyền qua) của tinh bột gạo IR50404 dạng tự nhiên và đã xử lý 1, 2 và 3 chu kỳ nhiệt/nguội được thể hiện trong hình 4. Tỷ số 1.047 cm^{-1}/1.022 cm^{-1} của các mẫu này được thể hiện trong bảng 5, theo đó, mẫu nghiên cứu là tinh bột gạo với mức độ 72,14% tương đồng với hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin (HPBCD), 65,58% tương đồng với Dextrose Monohydrate Powder (DMP) và 65% với xenlôfan (CLP). Sau khi xử lý cắt mạch bằng enzim (tiền xử lý) và xử lý nhiệt/nguội, mức tương đồng với HPBCD và DMP giảm, trong khi mức tương đồng với xenlôfan tăng dần. Tỷ lệ 1.047 cm^{-1}/1.022 cm^{-1} được tính toán là 23,8% cho mẫu tinh bột tự nhiên, bị giảm ở mẫu xử lý 1 chu kỳ nhiệt/nguội TBT - 12 (28,1%), sau đó tăng dần khi xử lý 2 và 3 chu kỳ. Một số nghiên cứu coi tỷ lệ 1.047 cm^{-1}/1.022 cm^{-1} như là mức kết tinh tương đối của tinh bột. Nếu như vậy chỉ có tính định tính, vì kết quả này thấp hơn so với khi xác định phổ nhiễu xạ tia X (32,2%). Kết quả đo phổ FT-IR ở đây có ý nghĩa là chứng minh các mẫu đều có bản chất là tinh bột, đồng thời xử lý nhiệt/nguội nhiều chu kỳ làm tăng tính kết tinh của cấu trúc tinh bột.

Bảng 5. Mức độ tương đồng và tỷ lệ hấp thụ tại bước sóng 1.047 cm^{-1}/1.022 cm^{-1}

Tinh bột gạo	Mức tương đồng với HPBCD (%)	Mức tương đồng với DMP (%)	Mức tương đồng với CLP (%)	1.047 cm^{-1}/1.022 cm^{-1} (%)
A (TB-TN)	72,14	65,58	65,00	23,8
B (TBT-12)	64,61	64,48	70,08	28,1
C (TBT-13)	63,35	63,34	70,55	30,5
D (TBT-14)	65,22	61,97	71,94	34,4

Ghi chú: Như bảng 2.



Hình 4. Phổ FT-IR của tinh bột gạo tự nhiên (A) và tinh bột đã xử lý 1, 2 và 3 chu kỳ nhiệt/nguội (B, C, D)

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được một số thay đổi về tính chất và cấu trúc của tinh bột kháng loại RS3 được tổng hợp từ tinh bột gạo giống lúa IR50404 bằng phương pháp phối hợp xử lý cắt mạch nhánh, thủy nhiệt và làm thoái hóa theo chu kỳ. Theo đó, sản phẩm RS3 có hàm lượng amyloza, độ thủy phân, hàm lượng tinh bột kháng và độ hòa tan nước tăng lên nhiều so với các chỉ số tương ứng của tinh bột gạo IR50404 tự nhiên, trong khi độ trùng hợp polyme và độ trương nở lại giảm đi đáng kể. Xử lý cắt mạch nhánh, thủy nhiệt và thoái hóa theo chu kỳ đã tạo ra sự sắp xếp lại phân tử mạch thẳng và cấu trúc phân tử trật tự hơn của tinh bột thoái hóa, thể hiện bởi cấu trúc V-type điển hình xuất hiện trên phổ nhiễu xạ tia X. Sự kết tinh lại của hạt tinh bột tạo ra hình ảnh các hạt có hình thù bất định, lớn hơn với mạng lưới lỗ rỗng xốp được quan sát bởi SEM. Các thông số độ nhớt của bột nhào từ khảo sát RVA đã bị thay đổi lớn vì hầu như các thông số này mất khỏi giản đồ khi so sánh với mẫu tinh bột tự nhiên.

Kết quả khảo sát nhiệt lượng vi sai (DSC) chỉ ra nhiệt độ hồ hóa (T_o, T_p và T_c) của các mẫu xử lý nhiệt/nguội theo chu kỳ đã tăng lên rõ rệt, đồng thời nhiệt lượng ΔH giảm đi. Sản phẩm tinh bột kháng loại RS3 về bản chất hóa học vẫn là một tinh

bột nhưng có nhiều tính chất hóa lý và cấu trúc tinh thể thay đổi theo hướng có thể tạo ra những sản phẩm có giá trị ứng dụng trong công nghiệp chế biến thực phẩm.

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. Adrianna Bojarczuk, 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. Brown I. L. (2004). Applications and uses of resistant starch. Journal of the Assoc. of Offic. *Anal. Chem. Inter.*, 87(3), 727-732.

5. Aravind N., Sissons M., Fellows, C. M., Blazek J. (2013). Optimisation of resistant starch II and III level in durum wheat pasta to reduce in vitro digestibility while maintaining processing and sensory characteristics. *Food Chem.*, 136, 1100-1109.

6. Deda Wang, Xiaoqing Zheng, Wenhui Liu, Qingjie Sun, Hai-Hua Chen, Hongyan Mu (2023). Preparation and characterization of debranched starches: Influence of botanical source and debranching time. *Food Chemistry*, 407, 135-141.

7. Li S., Ward R., Gao Q. (2011). Effect of heat-moisture treatment on the formation and physicochemical properties of resistant starch from mung bean (*Phaseolus radiatus*) starch. *Food Hydrocolloids*, 25, 1702–1709.

8. Liu X., Wang Y., Yu L., Tong Z., Chen L., Liu H., Li X. (2013). Thermal degradation and stability of starch under different processing conditions. Starch/Starke, 65, 48–60.

9. Phạm Cao Thăng, Bùi Ngọc Trung, Lã Mạnh Tuân, Nguyễn Duy Lâm (2019). Lựa chọn giống lúa có hàm lượng amyloza thích hợp để sản xuất tinh bột kháng tiêu hóa. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 2/2019, 55-63.

10. Phạm Cao Thăng, Phạm Minh Tuấn, Bùi Kim Thúy, Nguyễn Duy Lâm (2019). Thủy phân tinh bột gạo bằng enzim pullulanaza để sản xuất tinh bột kháng tiêu hóa. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 3+4/2019, 104-112.

11. Phạm Cao Thăng, Phạm Ngọc Tuyên, Nguyễn Đức Tiến, Nguyễn Duy Lâm (2023). Thiết lập các thông số công nghệ của quá trình xử lý thủy nhiệt và thoái hóa đối với tinh bột gạo biến tính enzym để sản xuất tinh bột kháng loại RS3. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, tập 1, số chuyên đề 2023.

12. Hood L. F. & Mercier C. (1978). Molecular structure of unmodified and chemically modified manioc starches. Carbohydr. *Res.* 61, 53-66.

13. Pham Van Hung, Ngo Lam Vien, Nguyen Thi Lan Phi (2015). Resistant starch improvement of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. F*ood Chemistry*, 191, 67-73.

14. AACC, Method 61-02 (1999). Determination of the pasting properties of rice with the Rapid Visco-Analyser. In *In: Approved Methods of Analysis.,10th*; AACC International: St. Paul, MN.

15. Englyst H. N. N., Kingman S. M. M., Cummings J. H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46 Suppl 2(Suppl 2), 33-50.

16. Chung H., Liu Q., Hoover R. (2010). Effect of single and dual hydrothermal treatments on the crystalline structure, thermal properties, and nutritional fractions of pea, lentil, and navy bean starches. *Food Res Int*, 43, 501–508.

17. Zhang H., Jin Z. (2011). Preparation of products rich in resistant starch from maize starch

by an enzymatic method. *Carbohyd Polym*, 86, 1610-1614.

18. Gelencser T., Juhasz R., Hodsagi M., Gergely S., Salgo A. (2008). Comparative study of native and resistant starches. Acta Aliment., 37(2), 255-270.

19. Lee C. J., Kim Y., Choi S. J., Moon T. W. (2012). Slowly digestible starch from heat–moisture treated waxy potato starch: preparation, structural characteristics, and glucose response in mice. *Food Chem.*, 133, 1222–1229.

20. Babu A. S., Parimalavalli R. (2016). Effect of pullulanase debranching and storage temperatures on structural characteristics and digestibility of sweet potato starch. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 208-216.

21. Loh J. (1992). The effect of shears and strain on pasting behaviour of food starches. *Journal of Food Engineering*, 16(1-2), 75-90.

THE CHANGE IN CHARACTERISTICS AND STRUCTURE OF RICE STARCH TREATED BY COMBINATION OF ENZYMATIC DEBRANCHING, HYDROTHERMAL AND RETROGRADATION

Pham Cao Thang, Nguyen Duy Lam

Summary

The objective of the study was to determine the changes in properties and structure of RS3 resistant starch synthesized from rice starch of rice variety IR50404 by the combined treatment of debranching, hydrothermal and retrogradation. Accordingly, the RS3 products have much increased amylose content (49.64%), hydrolysis (8.82), resistant starch (45.3%), and water solubility (65.1%) compared with the corresponding indexes of native rice starch IR50404 (23.38%, 0.29, 12.8%, 65.1%), while polymer polymerization (237) and swelling decreased significantly (947 and 1.27% respectively). The combined treatment resulted in a linear molecular rearrangement and a more orderly molecular structure of the retrograded starch, represented by the typical V-type structure that appeared on X-ray diffraction spectroscopy. The recrystallization of starch granules produced an image of larger, irregular-shaped particles with the porous pore network observed by SEM. The paste viscosity parameters from the RVA parterns were changed markedly because almost these parameters were lost from the plot when compared with the native starch sample. The results of the differential scanning calorimetry (DSC) showed that the gelatinization temperature (To, Tp and Te) of the cyclic heat/cold treated samples increased much, while the ΔH temperature decreased.

Keywords: *Structure, characteristics, resistant starch RS3, change, retrogradation, hydrothermal treatment.*

Người phản biện: PGS.TS. Lương Hồng Nga

Ngày nhận bài: 14/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 12/4/2023

Ngày duyệt đăng: 19/4/2023

THIẾT LẬP ĐỐI CHỨNG DƯƠNG CHO VIỆC PHÁT TRIỂN PHƯƠNG PHÁP NHẬN DIỆN SỰ CÓ MẶT CỦA ADN BÒ, ADN LỢN

Bùi Thị Thanh Thảo[1], Phạm Bảo Yên[2],
Trần Thị Huyền Nga[3], Trần Thị Minh Nguyệt[2,*]

TÓM TẮT

Nhu cầu sử dụng thịt và các sản phẩm từ thịt ngày càng phổ biến với sự phát triển kinh tế trên toàn cầu. Các vấn đề giả mạo, pha trộn thực phẩm có nguồn gốc từ thịt đã và đang được trú trọng vì những tác hại của nó không chỉ gây thiệt hại kinh tế mà còn tác động tiêu cực đến sức khỏe con người. Bên cạnh đó, việc sử dụng thịt và các sản phẩm từ thịt còn liên quan đến vấn đề tín ngưỡng của các tôn giáo, như việc tiêu thụ thịt lợn và gia súc bị nghiêm cấm đối với Hồi giáo và Ấn Độ giáo. Ngoài ra, những người ăn chay và thuần chay không ăn các sản phẩm có thành phần từ thịt hay những bệnh nhân bị dị ứng với các loại thịt. Việc sàng lọc, nhận biết chính xác các sản phẩm có nguồn gốc từ thịt được coi là một bước quan trọng, cần thiết để bảo vệ người tiêu dùng khỏi gian lận thương mại và từ đó thiết lập kỷ luật trong ngành công nghiệp thực phẩm. Bên cạnh các phương pháp đơn giản đã được sử dụng để nhận diện các loài có nguồn gốc từ thịt sống như quan sát, giải phẫu sự khác biệt có thể tồn tại trong thịt, tính chất của mô mỡ và mức độ glycogen trong mô cơ… thì kỹ thuật sinh học phân tử dùng để phát hiện chính xác ADN có trong thực phẩm đã và đang được ứng dụng ngày càng nhiều. Trong nghiên cứu này, đã thiết lập đối chứng dương cho việc phát triển phương pháp nhận diện sự có mặt của ADN bò và ADN lợn bằng cách nhân dòng đoạn gen đặc trưng của bò với kích thước 271 bp và đoạn gen đặc trưng của lợn với kích thước 212 bp bằng cặp mồi đặc hiệu. Sau đó, những plasmit tái tổ hợp mang đoạn gen đặc trưng này được tạo ra và được xác định bằng giải trình tự.

Từ khóa: *Chứng dương, mtADN bò, mtADN lợn, phát hiện.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vệ sinh an toàn thực phẩm là một vấn đề hết sức cấp thiết, có tính thời sự cao trong đời sống xã hội hiện nay, không chỉ đối với các nước đang phát triển, kém phát triển mà còn ở cả những nước phát triển, có trình độ khoa học tiên tiến. Bên cạnh đó, việc giả mạo, pha trộn thực phẩm có nguồn gốc từ thịt cũng rất được chú trọng vì những tác hại của nó ảnh hưởng lớn đến sức khỏe con người nên việc có thể phát hiện được rõ ràng nguồn gốc, thành phần chính xác có trong thực phẩm cũng giúp những bệnh nhân bị dị ứng tránh được những hậu quả đáng tiếc của vấn nạn này. Người Ai Cập và một số người ở châu Âu thích sử dụng thịt trâu để thay thế thịt bò do lo sợ bệnh bò điên [1]. Tại Việt Nam, lực lượng chức năng đã bắt quả tang rất nhiều vụ thịt heo nái được tẩm ướp với hóa chất để làm giả thịt bò.

Ngày nay, trên thị trường đã có nhiều bằng chứng cho thấy, sản phẩm thịt tươi và sản phẩm thịt chế biến không ghi đúng nhãn hiệu, thành phần các loại thịt để gian lận, lừa dối người tiêu dùng nhằm thu lợi bất chính. Cùng với đó, việc đảm bảo nguồn gốc thực phẩm giúp bảo về quyền lợi người tiêu dùng, ngoài giảm thiểu thiệt hại về kinh tế còn tránh được xung đột về tôn giáo [2], [3]. Những điều này đã hướng đến sự gia tăng nhu

[1] Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
[2] Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
[3] Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
*Email: minhnguyetanh2002@gmail.com

cầu của người tiêu dùng tìm kiếm các phương pháp xác định thịt chính xác để chống gian lận, tạp nhiễm trong thực phẩm. Các phương pháp điển hình để nhận dạng thịt bò như dựa trên phân tích protein, xét nghiệm miễn dịch, điện di và sắc ký [4]. Tuy nhiên, phương pháp phân tích protein có những hạn chế do protein trong các sản phẩm đã qua xử lý như sấy khô và tẩm gia vị dễ bị biến tính bởi nhiệt, muối và áp suất... [5]. Ngoài ra, việc phân tích protein cũng khó xác định được các loài có quan hệ gần gũi, ví dụ như gia cầm do phản ứng chéo [6]. Các phương pháp khuếch đại polymeraza đã được phát triển được xem là phương pháp tối ưu nhất để thay thế cho các phương pháp dựa trên protein do thời gian phát hiện nhanh, chi phí thấp, độ nhạy, độ đặc hiệu cao. Tuy nhiên, vấn đề được quan tâm đối với các phương pháp phát hiện này là xây dựng và sử dụng các đối chứng âm và đối chứng dương đáng tin cậy được xem là một trong những tiêu chí quan trọng để loại trừ các trường hợp âm tính giả và dương tính giả. Việc nhân dòng đoạn gen đặc trưng cho mtADN bò và mtADN lợn vào plasmit và biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* là cần thiết cho phản ứng phát hiện, vì có thể chủ động được nguồn đối chứng dương, từ đó là bản lề cho việc xác định giới hạn phát hiện cho phản ứng khuếch đại polymeraza (realtime PCR). Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là tạo ra đối chứng dương chứa đoạn gen mã hóa đoạn gen đặc trưng mtADN bò và đoạn gen mã hóa đoạn gen đặc trưng mtADN lợn, ứng dụng làm đối chứng dương cho phản ứng phát hiện realtime PCR.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Mẫu thịt tươi (bò, lợn) thu thập từ các siêu thị tại Hà Nội.

Cặp mồi được tổng hợp từ hãng Phù Sa Biochem (Việt Nam).

Các kit thương mại dùng cho phản ứng PCR từ hãng Thermo Scientific (Mỹ), kit thôi gel của ABT (Việt Nam), kit tách chiết ADN của hãng Gene all, gel điện di agaroza từ BioRad (Mỹ), vector nhân dòng pLUG của hãng iNtRON Biotechnology (Hàn Quốc) và một số hoá chất phổ biến dùng trong sinh học phân tử.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Tách chiết ADN

0,5 g mẫu thịt tươi (bò/lợn) sau khi phá vỡ tế bào bằng nitơ lỏng và nghiền nhỏ bằng cối được tách chiết bằng kit Geneall. ADN sau tách chiết được sử dụng cho phản ứng PCR.

2.2.2. PCR khuếch đại đoạn gen đặc trưng của bò, lợn và phản ứng nối vào vector tách dòng pULG

Mẫu ADN của của bò và lợn lần lượt được khuếch đại bằng phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) với cặp mồi đặc trưng cho đoạn gen ty thể của bò và lợn lần lượt là *J01394* và *AF039170* (Bảng 1) [7]. Nghiên cứu đã chứng minh hai cặp mồi này không có cặp mồi nào sử dụng có phản ứng chéo với ADN của các loài khác như ngựa, chó, mèo, cừu, dê [7].

Bảng 1. Trình tự cặp mồi J01394 và AF039170

Tên mồi	Trình tự	Vị trí	Kích thước
J01394 (bò)	5'- GCCATATACTCTCCTTGGTGACA- 3 '	8107/8127	271 bp
	5'- GTAGGCTTGGGAATAGTACGA- 3	8377/8357	
AF039170 (lợn)	5'- GCCTAAATCTCCCCTCAATGGTA- 3'	71/91	212 bp
	5'- ATGAAAGAGGCAAATAGATTTTCG- 3'	295/272	

Hỗn hợp thành phần phản ứng PCR gồm 5 ul Mastermix 2x (Thermo scientific, Mỹ); 0,5 ul cho mỗi cặp mồi đặc hiệu *J01394/AF039170* nồng độ 10 µM, 3 µl H2O, 1 µl ADN khuôn được trộn đều rồi đặt vào máy PCR và tiến hành chạy theo chu trình nhiệt đã được tối ưu (Bảng 2). Sản phẩm phản ứng sau đó được điện di trên gel agaroza 2%. Theo tính toán lý thuyết, đoạn gen đích đặc trưng cho bò có kích thước 271 bp, đặc trưng cho lợn có kích thước 212 bp.

Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch bằng kit thôi gel của ABT (Việt Nam) trước khi tiến hành nối vào vector pLUG theo quy trình của nhà sản xuất. Phản ứng nối được thực hiện trong 16 tiếng ở 4°C.

Bảng 2. Chu trình nhiệt phản ứng PCR đoạn gen đặc trưng cho mtADN bò và mtADN lợn

1x	94°C	2 phút
30 chu kỳ	94°C	30 giây
	58°C	45 giây
	72°C	45 giây
1x	72°C	5 giây

2.2.3. Biến nạp vào dòng tế bào khả biến Top10, sàng lọc khuẩn lạc và tách plasmit

Dung dịch nối được biến nạp vào chủng *E. coli* Top10 (Invitrogen, Mỹ) nuôi trên môi trường thạch Luria Bertani (LB) có bổ sung Ampicillin 50 µg/ml, IPTG 1 mM và Xgal 20 mg/ml, đĩa nuôi cấy được đặt qua đêm ở 37°C. Các thể biến nạp sau đó sẽ được sàng lọc bằng phương pháp chọn lọc trắng xanh rồi PCR khuẩn lạc với cặp mồi đặc hiệu *M13 forward/M13 reversed* trên vector pULG. Những khuẩn lạc có kích thước đoạn PCR đúng với tính toán lý thuyết sẽ được nuôi lắc và tách plasmit bằng kit tách của hãng ABT theo đúng quy trình của nhà sản xuất.

2.2.4. Giải trình tự sequencing

Để nhận biết các plasmit sau khi tách có chứa đoạn gen đích mong muốn, mẫu plasmit sau khi tách được khẳng định chính xác bằng phương pháp giải trình tự và phân tích trên công cụ Nucleotide BLAST.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

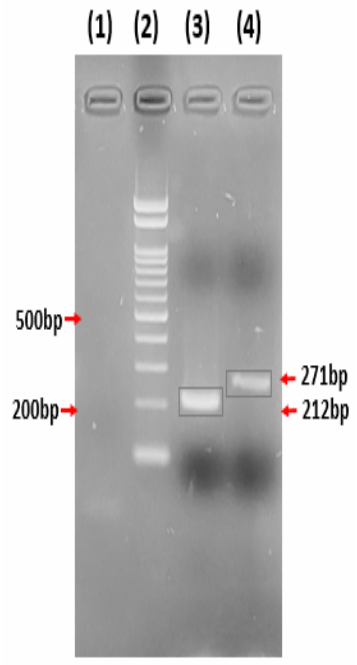
3.1. Nhân dòng đoạn gen đặc trưng cho bò và lợn vào vector pLUG

Đoạn gen đặc trưng cho bò có kích thước dự đoán 271 bp được nhân lên bằng cặp mồi *J01394 Fw, J01394 Rv* và đoạn gen đặc trưng cho lợn có kích thước dự đoán 212 bp được nhân lên bằng cặp mồi *AF039170 Fw, AF039170 Rv* với quy trình tối ưu như phần phương pháp nghiên cứu đề cập. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên hình 1A cho thấy, ở vị trí giếng số 3 và giếng số 4 đều xuất hiện một băng sáng, rõ nét, có kích thước xấp xỉ lần lượt là 212 bp và 271 bp, phù hợp với kích thước tính toán lý thuyết của đoạn gen đích. Như vậy, hai cặp mồi sử dụng trong phản ứng khuếch đại có độ đặc hiệu cao và sản phẩm PCR được sử dụng trực tiếp cho các thí nghiệm tiếp theo.

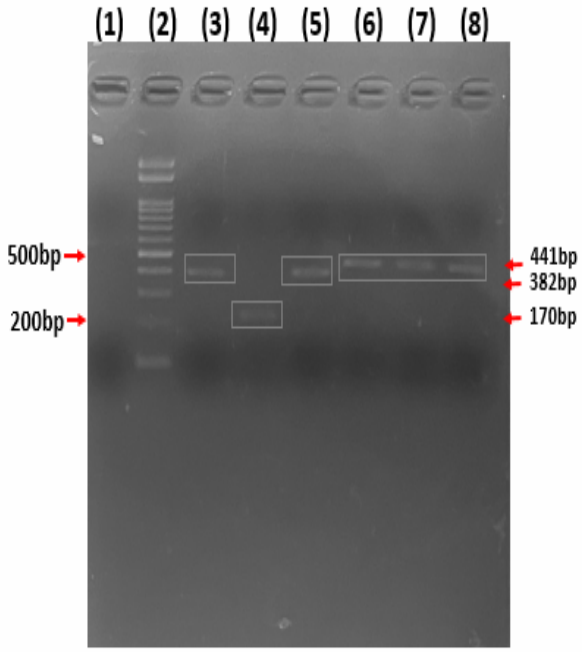
Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được sử dụng cho phản ứng nối vào vector pLUG. Dung dịch phản ứng nối sẽ được biến nạp vào tế bào khả biến *E. coli* Top10 bằng phương pháp sốc nhiệt và sàng lọc khuẩn lạc trắng xanh. 3 khuẩn lạc trắng có hình dạng đặc trưng cho mỗi loại (dự đoán có mang vector tái tổ hợp mong muốn) được lựa chọn để thực hiện PCR khuẩn lạc với cặp mồi *M13 forward/M13 reverse* trên vector pULG.

Kết quả điện di sản phẩm PCR khi sử dụng khuẩn lạc làm khuôn (Hình 1B) cho thấy, khuẩn lạc ở vị trí giếng số 3 và số 5 có kích thước khoảng 382 bp, phù hợp với kích thước tính toán dựa trên lý thuyết khi đoạn gen đặc trưng cho mtADN của lợn được chèn vào vector. Khuẩn lạc ở vị trí giếng số 4 có kích thước khoảng 170 bp, tương ứng với kích thước đoạn gen trên vector khi không chứa đoạn gen đích. Ở giếng số 6, 7, 8 xuất hiện đoạn băng có kích thước khoảng 441 bp, phù hợp với kích thước tính toán dựa trên lý thuyết khi đoạn gen đặc trưng cho mtADN của bò được chèn vào

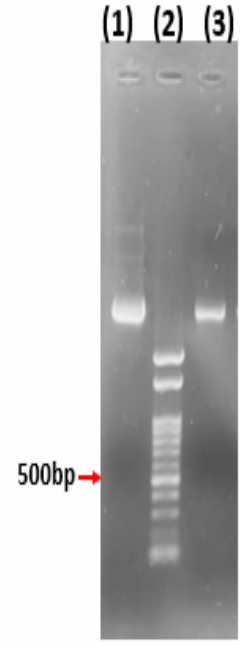
vector. Điều này chứng tỏ khuẩn lạc ở vị trí giếng số 3, 5, 6, 7, 8 đã biến nạp thành công plasmit tái tổ hợp vào tế bào *E. coli* Top 10. Các khuẩn lạc này được tiến hành nuôi tăng sinh, thu sinh khối rồi thực hiện tách plasmit theo quy trình của nhà sản xuất. Kết quả điện di sản phẩm plasmit (Hình 1C) cho thấy, hai mẫu đều xuất hiện dải băng, plasmit ở giếng số 1 mang đoạn gen đặc trưng mtADN lợn cho băng sáng hơn plasmit ở giếng số 3 mang đoạn gen đặc trưng mtADN bò, phù hợp với kết quả đo nồng độ bằng phương pháp quang phổ.



Hình 1A



Hình 1B



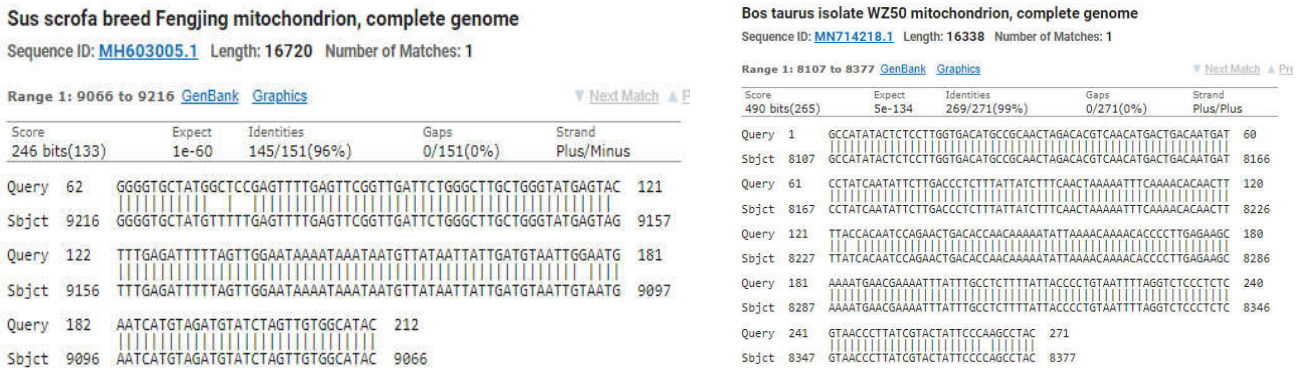
Hình 1C

Hình 1A. Sản phẩm PCR mẫu ADN tách chiết từ mẫu thịt bò và thịt lợn - trong đó (1) - chứng âm; (2) - thang chuẩn ADN 100 bp; (3) - sản phẩm PCR từ ADN lợn; (4) – sản phẩm PCR từ ADN bò.Hình 1B. Sản phẩm PCR khuẩn lạc - trong đó (1) - chứng âm; (2) - thang chuẩn ADN 100 bp; (3) đến (8) - khuẩn lạc đã được chọn lọc. Hình 1C. Kết quả điện di plasmit – trong đó (2) - thang chuẩn ADN 1kb; (1) - Plasmit mang đoạn gen đặc trưng cho mtADN lợn; (3) – Plasmit mang đoạn gen đặc trưng cho mtADN bò

3.2. Khẳng định sự có mặt của gen đích trong plasmit tái tổ hợp

Sau khi nhân dòng thành công đoạn gen đặc trưng cho ADN ty thể của bò và lợn vào vector pULG, trình tự mtADN chính xác của gen được xác nhận bằng phương pháp giải trình tự. Kết quả giải trình tự được phân tích và so sánh bằng công cụ Nucleotide BLAST trên cơ sở dữ liệu của NCBI. Trình tự đoạn gen được so sánh với các đoạn trình tự trong hệ gen ty thể của các chủng bò và lợn đã được công bố.

Kết quả xác định và so sánh trình tự gen quan tâm với trình tự gen tương ứng trên ngân hàng gen thế giới cho thấy, plasmit mang đoạn gen đặc trưng cho mtADN lợn có độ tương đồng 96% so với trình tự chuẩn đã được công bố (Hình 2A) mã số MH 603005.1, plasmit mang đoạn gen đặc trưng cho mtADN bò có độ tương đồng 99% so với trình tự chuẩn đã được công bố (Hình 2B) mã số MN71428.1. Sự sai khác nucleotit ở một số vị trí do tính đa hình trong di truyền, có thể đặc trưng cho các chủng bò/lợn tại Việt Nam.



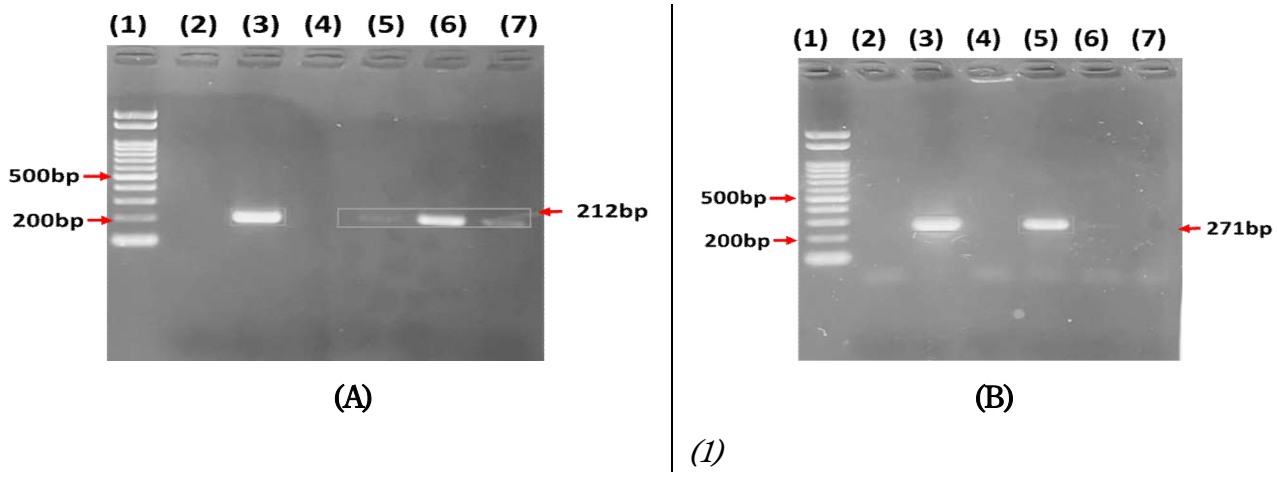
A B

Hình 2. Kết quả so sánh trình tự plasmit mang đoạn gen đặc trưng cho mtADN lợn (A) và mtADN bò (B)

Như vậy, có thể khẳng định rằng, đã nhân dòng thành công đoạn gen đặc trưng cho mtADN bò và lợn. Sản phẩm sau đó có thể sử dụng làm đối chứng dương cho các phản ứng khuếch đại polymeraza và là tiền đề cho việc xây dựng giới hạn phát hiện cho phương pháp khuếch đại realtime PCR.

3.3. Kết quả thử nghiệm trêm mẫu thật

4 mẫu thực phẩm ăn liền được thu thập trên thị trường tại thành phố Hà Nội bao gồm 2 mẫu thịt bò khô, 1 mẫu bắp bò muối, 1 mẫu bò viên được tiến hành tách chiết và PCR sử dụng hai cặp mồi *AF039170* và *J01394.*



(1)

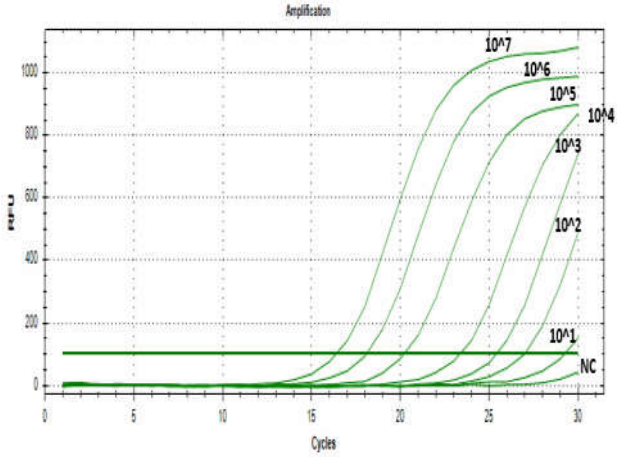
Hình 3. Sản phẩm PCR mẫu ADN tách chiết từ 4 mẫu thực phẩm ăn liền trên thị trường sử dụng mồi AF039170 (A) và mồi J01394 (B)

Trong đó: (1) - chuẩn ADN 100 bp; (2) - chứng âm; (3) - chứng dương; (4); (5); (6); (7): 4 mẫu trên thị trường

Kết quả phát hiện mẫu thịt bò khô của công ty A (giếng số 4) không phát hiện thấy ADN của bò/lợn có trong mẫu, mẫu bò khô của công ty B (giếng số 7) phát hiện thấy ADN của lợn có trong mẫu mà không phát hiện được ADN của bò. Mẫu bắp bò muối của công ty C (giếng 5), mẫu bò viên của công ty D (giếng 6) đều phát hiện ADN của bò và lợn có trong mẫu, trong đó lợn là thành phần không có trên nhãn sản phẩm bắp bò của công ty C và sản phẩm bò khô của công ty B. Như vậy, chỉ có 1 trong 4 mẫu khảo sát phát hiện đúng thành phần được công bố trên bảng thành phần.

3.4. Giới hạn phát hiện

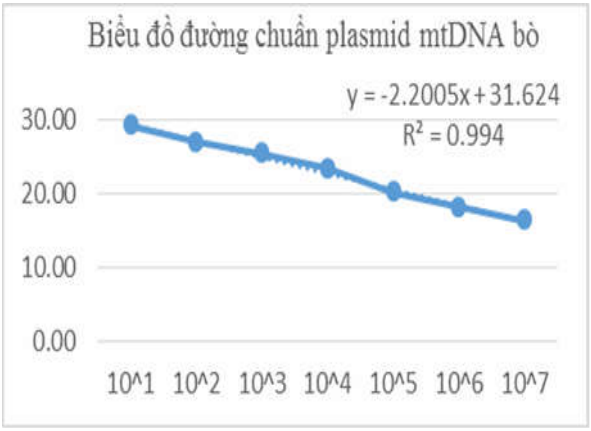
Từ kết quả đo quang phổ plasmit sau đó tính toán nồng độ từ nanogram sang số bản sao (sử dụng phần mềm calculator numbers online) nhận thấy, mẫu ban đầu có 1 x 10^9 bản copies. Sau đó pha loãng theo các nồng độ từ 10^9 đến 10^0 copies/µL. Tiến hành kiểm tra bằng phương pháp realtime PCR sử dụng bộ kit qPCR MasterMix Luna của hãng NEB và chu trình nhiệt đã nêu ở bảng 2 để tính độ nhạy của phương pháp.



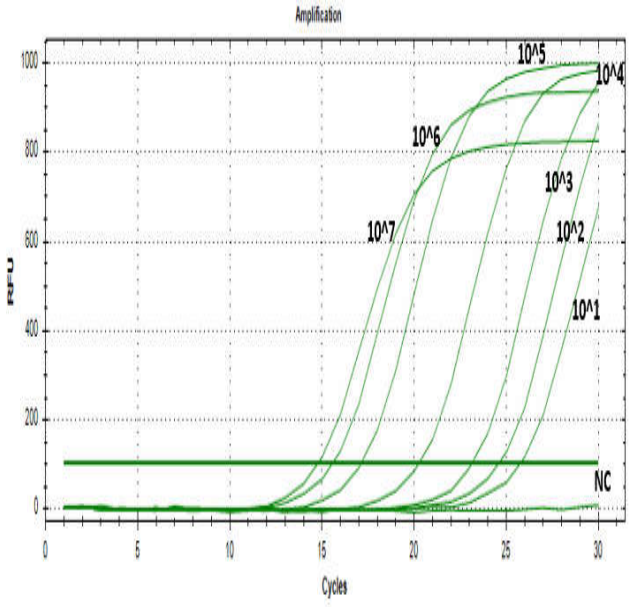
Hình 4. Tín hiệu khuếch đại realtime PCR nồng độ plasmit chứa mtADN bò pha loãng

Kết quả khuếch đại đoạn gen đặc trưng cho ADN ty thể của bò bằng phương pháp realtime PCR sử dụng cặp mồi *JO1394* có thể phát hiện được ở mức độ 10^1 bản copies và có hệ số tương quan R2=0,994.

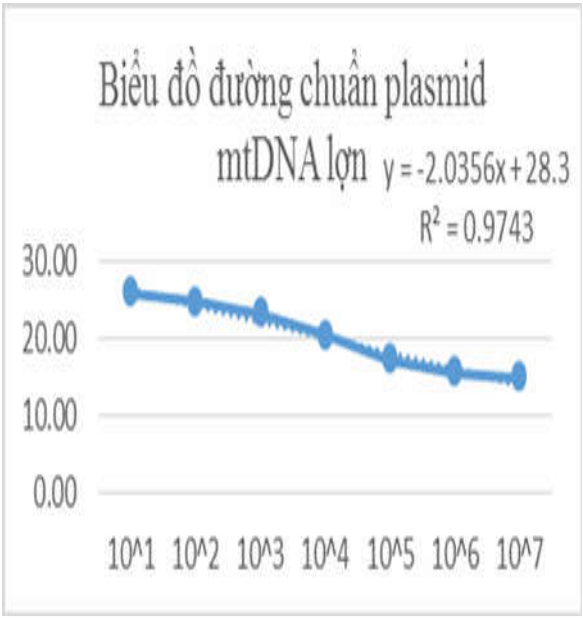
Kết quả khuếch đại đoạn gen đặc trưng cho ADN ty thể của lợn bằng phương pháp realtime PCR sử dụng cặp mồi AF039170 có thể phát hiện được ở mức độ 10^1 bản copies và có hệ số tương quan R^2=0,974.



Hình 5. Đường chuẩn dựa trên kết quả realtime PCR nồng độ plasmit chứa mtADN bò pha loãng

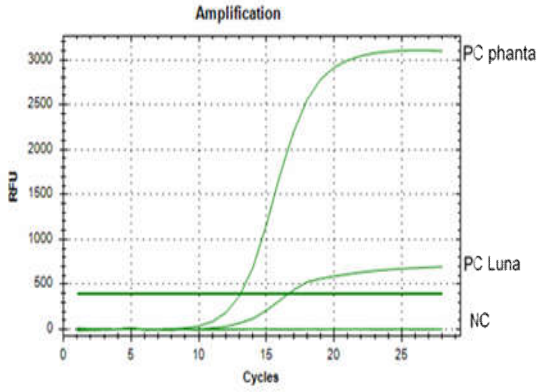


Hình 6. Tín hiệu khuếch đại realtime PCR nồng độ plasmit chứa mtADN lợn pha loãng



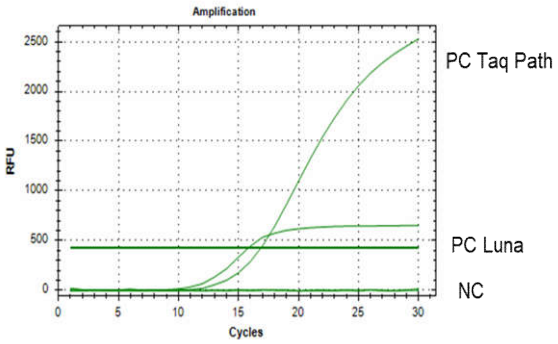
Hình 7. Đường chuẩn dựa trên kết quả realtime PCR nồng độ plasmit chứa mtADN lợn pha loãng

3.5. Kết quả tối ưu thành phần phản ứng realtime PCR



Hình 8. Tín hiệu khuếch đại realtime PCR sử dụng Phanta Master Mix

Mẫu	Ct
PC Phanta:	13,05
NC Phanta:	-
PC Luna:	16,56
NC Luna:	-



Hình 9. Tín hiệu khuếch đại realtime PCR sử dụng Taqpath Master Mix

Mẫu	Ct
PC Phanta:	16,84
NC Phanta:	-
PC Luna:	15,78
NC Luna:	-

Với mong muốn có thể rút ngắn thời gian phản ứng xuống dưới 1 giờ, đã tiến hành tối ưu các thành phần của phản ứng realtime PCR bằng cách sử dụng các loại master mix chứa enzim thế hệ mới như Phanta Master Mix và Taqpath Master Mix kết hợp với chất màu huỳnh quang SYBR Green, chu trình nhiệt dựa theo khuyến cáo của nhà sản xuất. Kết quả sau phản ứng được so sánh với phản ứng sử dụng bộ kit qPCR MasterMix.

Kết quả tối ưu thành phần phản ứng PCR cho thấy, phản ứng sử dụng master mix Phanta cho tín hiệu khuếch đại sớm hơn phản ứng sử dụng master mix Taqpath và qPCR Luna (>3Ct). Bên cạnh đó, thời gian phản ứng sử dụng master mix Phanta chạy trong 47 phút, ngắn hơn rất nhiều so với phản ứng sử dụng master mix Taqpath và qPCR mastermix Luna (1 giờ 37 phút).

4. KẾT LUẬN

Đã tạo thành công plasmit tái tổ hợp mang đoạn gen đặc trưng cho mtADN bò và mtADN lợn và có trình tự tương đồng cao so với trình tự chuẩn đã được công bố trên ngân hàng gen thế giới và ứng dụng làm đối chứng dương cho các phản ứng khuếch đại polymeraza.

Định hướng tiếp theo cho nghiên cứu là tối ưu các điều kiện phản ứng realtime PCR như nhiệt độ gắn mồi, tỉ lệ nồng độ các mồi, sử dụng hệ enzim thế hệ mới để có thể rút ngắn tối đa thời gian thực hiện phản ứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sakaridis, I., Ganopoulos, I., Argiriou, A., & Tsaftaris, A. (2013). High resolution melting analysis for quantitative detection of bovine milk in pure water buffalo mozzarella and other buffalo dairy products. *International Dairy Journal*, 32-35; 28.

2. Li, J. C., Li J. P., Xu, S. G., Xiong, S. Y. (2019). A rapid and reliable multiplex PCR assay for simultaneous detection of fourteen animal species in two tubes. *Food Che*m. 395–402; 295.

3. Li, T. T., Jalbani, Y. M., Zhang, G. L., Zhao, Z. Y., Wang, Z. Y. (2018). Detection of goat meat adulteration by real-time PCR based on a reference primer. *Food Chem*. 554–557; 277.

4. Bottero, M. T., & Dalmasso, A. (2011). Animal species identification in food products: evolution of biomolecular methods. *Veterinary journal*. 34–38; 190 (1).

5. Dincer, B., Spearow, J. L., Cassens, R. G., & Greaser, M. L. (1987). The effects of curing and cooking on the detection of species origin of meat products by competitive and indirect ELISA techniques. *Meat science*, 253–265; 20 (4).

6. Dooley, J.J, Paine, K. E., Garrett, S. D., & Brown, H. M. (2004). Detection of meat species using TaqMan real-time PCR assays. *Meat science*, 431-438; 68 (3).

7. Ilhak, O.I. and Arslan, A. (2017). Identification of Meat Species by Polymerase Chain Reaction (PCR) Technique. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 159-163; 31.

ESTABLISHING A POSITIVE CONTROL FOR DEVELOPMENT METHOD OF DNA BOVINE AND DNA PORCINE DETECTION

Bui Thi Thanh Thao[1], Pham Bao Yen[2], Tran Thi Huyen Nga[3], Tran Thi Minh Nguyet[2,*]

[1]*Faculty of Biology, Vietnam National University, University of Science, Hanoi*

[2]*Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology Vietnam National University, University of Science, Hanoi*

[3]*Faculty of Environmental Sciences, University of Science, Vietnam National University, Hanoi*

Summary

The consumption demand for meat and meat products is increasingly popular with economic development globally. The problem of the adulteration of meat-based foods has been addressed because of its harmful effects not only causing economic damage but also negative impacts on human health. On the other hand, the using of meat and meat products is associated with religious beliefs. For example, the consumption of pork and cattle is strictly prohibited by Islam and Hinduism. Moreover, vegetarians and vegans or some people such as sensitized patients are allergic to specific meat species who do not eat meat ingredients. Accurate screening for identification of meat-based products is really necessary to protect consumers from commercial fraud and thereby establish discipline in the food industry. In addition to the simple methods that have been used for species identification derived from raw meat such as observation, differential anatomy, considering the properties of adipose tissue, and glycogen levels in muscle tissue…, molecular biology techniques to accurately detect DNA in foods have been used more and more. In this study, we have established a positive control for the development method of DNA bovine and DNA porcine detection by cloning gene fragment with 271 bp and 212 bp length size using a specific primer pairs. Then recombinant plasmids carrying this specific gene fragment is generated and confirmed by sequencing.

Keywords: *Detect, establishing, mtDNA bovine, mtDNA porcine, positive control.*

Người phản biện: PGS.TS. Trương Quốc Phong

Ngày nhận bài: 22/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 20/4/2023

Ngày duyệt đăng: 27/4/2023

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG SỬ DỤNG VI KHUẨN PROBIOTIC TRONG SẢN PHẨM SỮA CHUA THỰC VẬT

Hồ Phú Hà[1], Nguyễn Thị Hưởng[1], Nguyễn Thị Hồng[1], Vũ Thu Trang[1,*]

TÓM TẮT

Lactobacillus paracasei B21060 là vi khuẩn probiotic với các đặc tính có lợi cho sức khoẻ và được sử dụng ở dạng thực phẩm bổ sung viên nang hoặc dạng bột. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu về khả năng sử dụng vi khuẩn này trong sản xuất thực phẩm. Nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng sử dụng *L. paracasei* B21060 trong lên men và tạo sản phẩm thực phẩm mới với các đặc điểm và chất lượng cảm quan chấp nhận được. Chủng vi khuẩn này sau khi hoạt hoá được bổ sung vào sữa đậu nành và lên men ở 37°C với các nồng độ đường saccaroza khác nhau và các phụ gia. Sữa đậu nành bổ sung 10% saccaroza và 0,2% pectin được lựa chọn để phát triển sản phẩm sữa chua sấy. Sữa chua tạo thành được đưa vào khuôn, ủ chín và sấy đông khô. Sản phẩm thu được có đặc tính cảm quan chấp nhận được, mật độ probiotic khoảng 3,2x10^8 CFU/g. Tỷ lệ sống sót của probiotic trong đường ruột phù hợp với khuyến cáo. Kết quả này cho thấy, chủng *L. paracasei* B21060 hoàn toàn có thể sử dụng trong đa dạng hoá sản phẩm lên men nguồn gốc thực vật có lợi cho sức khoẻ phù hợp với nhu cầu của người tiêu dùng.

Từ khóa: *Lactobacillus, probiotic, sữa chua thực vật.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Probiotic được hiểu là "chế phẩm hoặc sản phẩm có chứa một lượng nhất định vừa đủ vi sinh vật sống, có thể đem lại lợi ích sức khỏe cho vật chủ" [1]. Các vi sinh vật probiotic thường là vi khuẩn lactic thuộc giống *Lactobacillus* và thường được sử dụng dưới dạng bột hoặc viên nang giống như thuốc. Các thực phẩm chứa probiotic trên thị trường Việt Nam phổ biến hiện nay chủ yếu là các loại sữa chua uống với vi khuẩn probiotic đồng thời là vi khuẩn khởi động quá trình lên men như *L. casei*, *L. paracasei*[2], [3].

Sản phẩm sữa chua đậu nành cũng đã được biết đến trong những năm gần đây, phù hợp với xu hướng sử dụng sản phẩm thay thế sữa có nguồn gốc từ thực vật ngày càng tăng trên thế giới. Các vi khuẩn lactic, khi được phát triển trong sữa đậu nành, có khả năng chuyển hóa sinh học isoflavone glucozit thành các aglycon tương ứng, làm tăng cường hoạt tính sinh học và khả năng sinh khả dụng của isoflavone [4]. Nhờ quá trình lên men, protein trong sữa đậu nành được phân giải thành dạng đơn giản hơn như oligopeptit và di-, tripeptit, do đó làm giảm vấn đề dị ứng protein và là nguồn peptit hoạt tính sinh học tốt. Trong quá trình lên men sữa đậu nành và vi sinh vật sử dụng đường liên kết dạng phức với ion canxi làm giải phóng và nâng cao lượng canxi trong sản phẩm [5].

Sữa chua dạng ăn hiện nay thường phải được bảo quản lạnh để bảo toàn chất lượng sản phẩm cũng như khả năng sống sót và hoạt động của chủng vi sinh vật tới khi đến tay người tiêu dùng; do đó, điều kiện bảo quản, vận chuyển tương đối phức tạp. So với sữa chua ăn, sản phẩm sữa chua sấy có nhiều ưu điểm như nhẹ, có thể bảo quản ở nhiệt độ thường thuận lợi hơn cho người tiêu dùng. Hiện nay, ở Việt Nam chưa có sản phẩm sữa chua sấy từ đậu nành trên thị trường do vậy việc thử nghiệm sản xuất sữa chua đậu nành lên men bởi vi khuẩn probiotic ở dạng khô là phù hợp với

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
*Email: trang.vuthu@hust.edu.vn

xu hướng sử dụng sản phẩm nguồn gốc thực vật và góp phần đa dạng hoá các sản phẩm chứa probiotic.

Với mong muốn phát huy tiềm năng có lợi của sữa đậu nành lên men và kết hợp đặc tính probiotic, *L. paracasei* B21060 trong nghiên cứu này được thử nghiệm lên men sữa đậu nành để sản xuất sản phẩm khô có chứa probiotic và đánh giá chất lượng cảm quan.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Đậu nành hay đậu tương vàng nguyên liệu được thu nhận tại chợ đầu mối Hoàng Mai, đảm bảo TCVN 4849: 1989 [6]. Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều đạt tiêu chuẩn phân tích.

Các chế phẩm probiotic được lấy từ bộ sưu tập của Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Viện Công nghệ sinh học và Công nghệ thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội, gồm có *Lactobacillus casei* DG, *Lactobacilus acidophilus* và *L. paracasei* B21060. Trong đó: *L. paracasei* B21060 là chủng được phân lập từ chế phẩm vi sinh Flortec, được sản xuất bởi BRACCO SpA (Milan, Ý) và được làm sạch, bảo quản ở nhiệt độ -20°C.

Phụ gia sử dụng gồm có gelatin (Ewald, Đức) và pectin amit CM 020 (Herbstreith & Fox KG, Đức).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Quy trình thu nhận sữa đậu nành

Quy trình thu nhận sữa đậu nành được thực hiện theo Snyder và Wilson (2003) [7], trong đó nghiên cứu một số yếu tố thích nghi với nguyên liệu Việt Nam và phù hợp cho sản xuất sữa chua đậu nành. Đậu nành (200 g) được làm sạch, phân loại, bổ sung nước đến tỷ lệ hạt đậu: nước là 1: 6 ngâm ở nhiệt độ 25°C tới khi hút nước tối đa (thường 6 - 8 giờ, khi tách đôi nhân hạt đầy, độ ẩm hạt khoảng 60%), sau đó được xay nóng với nước 90°C và đun dịch huyền phù trong 15 - 20 phút để loại bỏ hết mùi ngái, mùi hăng, enzym lipooxygenaza, lọc qua vải lọc và thu dịch sữa. Dịch sữa sau lọc (hàm lượng N tổng số 2,8%) được đun sôi loại bỏ vi sinh vật và chuẩn bị cho quá trình lên men.

2.2.2. Quy trình sản xuất sữa chua đậu nành sử dụng chủng probiotic

Quy trình sản xuất sữa chua đậu nành được thực hiện tương tự với quy trình sản xuất sữa đậu nành lên men của Nazlin Imram (2003) [8]. Dịch đậu được phối trộn với đường saccaroza. Dịch sữa sau khi gia nhiệt tới 100°C, lọc nóng, được làm nguội tới nhiệt độ 37°C, thu được dịch sữa chuẩn bị lên men. Các vi sinh vật probiotic từ ống bảo quản được lấy ra hoạt hoá trong môi trường De Man - Rogosa -Sharpe (MRS) lỏng ở 37°C trong 24 giờ. Mật độ tế bào được xác định nhanh bằng phương pháp đo OD ở bước sóng 600 nm (Đường chuẩn OD ở bước sóng 600 nm và mật độ tế bào tính theo CFU/ml đã được thiết lập trước đó). Dịch vi khuẩn đã hoạt hoá được điều chỉnh để bổ sung vào dịch sữa đậu nành với mật độ 10^7 CFU/ml dịch sữa đậu nành chuẩn bị lên men. Mật độ tế bào trong dịch lên men được kiểm tra lại bằng phương pháp chang đếm khuẩn lạc trên môi trường thạch MRS. Thực hiện lên men dịch sữa ở 37°C (để phù hợp với nhiệt độ hoạt động của các vi khuẩn probiotic) đến khi đông tụ. Kết thúc thời gian lên men, hạ nhiệt độ dung dịch sau lên men xuống tới 4°C và ủ tại điều kiện này trong 24 giờ để tăng cường hương vị, ổn định cấu trúc, thu được sữa chua probiotic đậu nành.

2.2.3. Bố trí thí nghiệm

Đậu tương đảm bảo chất lượng theo TCVN 4849: 1989 được tiến hành sản xuất sữa đậu nành theo quy trình đã mô tả ở 2.2.1. Sữa đậu nành được lên men bởi 3 chủng probiotic thử nghiệm đến khi đông tụ. Sản phẩm được sơ bộ đánh giá cảm quan dựa trên màu sắc, mùi vị, cấu trúc sản phẩm và thời gian lên men để lựa chọn chủng lên men thích hợp. Sữa đậu nành được bổ sung hàm lượng đường với các nồng độ 0%, 5%, 7%, 10% và theo dõi sự biến

đổi của pH trong quá trình lên men ở 37°C bằng chủng probiotic đã chọn. Để tăng cường chất lượng về cấu trúc khối sữa đông tụ, 2 loại phụ gia là gelatin và pectin được bổ sung vào khi lên men với tỷ lệ 0,3% so với lượng dịch. Khả năng giảm pH và chất lượng sản phẩm khi bổ sung phụ gia được theo dõi.

Sữa chua sau khi lên men được đổ khuôn tạo hình kích thước 1 x 1 x 1 cm và được sấy đông khô sử dụng máy sấy lạnh chân không LG1.5. Sản phẩm sau khi sấy được xác định độ ẩm, đánh giá mật độ probiotic có mặt trong sản phẩm sau khi sấy 2 ngày và sau khi sấy 10 ngày và so sánh với mật độ probiotic trước và sau khi lên men. Sản phẩm được đánh giá chất lượng vi sinh (các chỉ tiêu coliforms, *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*), hoá lý (độ axit, cấu trúc), cảm quan và mật độ probiotic trong sản phẩm cũng như sau quá trình tiếp xúc với dịch tiêu hoá giả lập.

2.2.4. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

- Hàm lượng chất khô được xác định theo TCVN 8082: 2013 [9].

- Độ axit chuẩn độ AOAC Official Method 947.05 Acidity of Milk. Titrimetric Method (Độ axit của sữa. Phương pháp chuẩn độ) [10].

- pH của sữa được xác định bằng máy đo pH Model: Lab 845 SI Analytics - Đức.

- Định lượng vi sinh vật bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên đĩa thạch (TCVN 8177: 2009) [11].

Mật độ vi sinh vật được xác định bằng phương pháp nuôi cấy đếm khuẩn lạc trên đĩa thạch. Vi khuẩn lactic được xác định trên môi trường MRS aga. Vi khuẩn *E. coli* trên môi trường Endo, *Coliform* trên môi trường Endo, *Staphylococcus aureus* trên môi trường Baird Parker.

- Phương pháp đo cấu trúc: Máy phân tích cấu trúc TA.HDplus Texture Analyser (Hệ thống ổn định Microsystems, Surrey, Vương quốc Anh), với cảm biến lực 50 kg, được sử dụng để đo đặc tính kết cấu của các mẫu sản phẩm. Đo cấu trúc được thực hiện theo phương pháp của Shuhong Dai và cs (2019) [12] với đầu đo P/25 và một số thay đổi cho phù hợp với điều kiện thí nghiệm. Vận tốc trước khi chạm vào sản phẩm: 1,0 mm/s, vận tốc đầu đo khi bắt đầu chạm vào sản phẩm: 0,5 mm/s, vận tốc đầu đo sau khi phá vỡ cấu trúc sản phẩm: 10 mm/s, khoảng cách đầu đo di chuyển thêm sau khi chạm vào sản phẩm: 2 mm, độ nhạy của đầu đo: 5 g lực.

- Xác định khả năng sống sót của vi khuẩn probiotic trong điều kiện môi trường đường ruột giả lập: 1 g mẫu sữa chua sấy khô đã nghiền hoặc 1 ml sản phẩm dạng lỏng được đưa vào dịch dạ dày giả lập pH 2,5 hoặc pH 3,0 (0,3 g peptin, NaCl 0,5%, hòa tan trong 100 ml nước vô trùng, điều chỉnh pH bằng HCl) và ủ ở 37°C, lấy mẫu tại thời điểm 0, 90 phút; 180 phút và chang trên môi trường MRS aga để xác định mật độ vi khuẩn sống sót. Sau 180 phút với môi trường dịch dạ dày, tế bào được thu nhận bằng cách ly tâm ở vận tốc 6.000 vòng/phút; sau đó bổ sung vào môi trường ruột non giả lập (0,1 g pancreatine, 0,3 g muối mật, NaCl 0,5%, hòa tan trong 100 ml nước vô trùng, điều chỉnh pH 8 bằng NaOH) ủ ở 37°C. Lấy mẫu tại các thời điểm 0, 90, 180 phút và định lượng mật độ vi sinh vật bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường MRS aga.

- Phương pháp cảm quan: Sử dụng phép thử thị hiếu để tìm hiểu mức độ hài lòng, ưa thích của họ đối với sản phẩm nghiên cứu. Người thử sẽ được mời nếm sản phẩm nhưng thay vào việc đánh giá cường độ mức độ ưa thích, hài lòng của mình đối với sản phẩm bằng thang điểm: 1- Cực kì không thích; 2- Rất không thích; 3- Không thích; 4- Hơi không thích; 5- Không thích, không ghét; 6- Hơi thích; 7- Thích vừa phải; 8- Rất thích; 9- Cực kì thích. Phương pháp được thực hiện với 40 người thử độ tuổi 18 - 60 tuổi.

Xử lý số liệu: Kết quả các thí nghiệm được phân tích phương sai ANOVA kết hợp phép thử kiểm định LSD (5%) để xác định mức độ khác biệt

ý nghĩa 5% của các nghiệm thức bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVIII.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Lựa chọn chủng probiotic phù hợp cho quá trình lên men sữa đậu nành

Trong nghiên cứu này, sữa đậu nành được lên men bằng 3 chủng probiotic (*L. paracasei* B21060, *L. casei* DG, *L. acidophilus*) để xác định chủng thích hợp. Quá trình lên men diễn ra ở 37°C cho đến khi đông tụ nhằm đánh giá sơ bộ sản phẩm về màu sắc, mùi vị và thời gian đông tụ.

Bảng 1. Ảnh hưởng của chủng probiotic đến thời gian lên men sữa đậu nành*

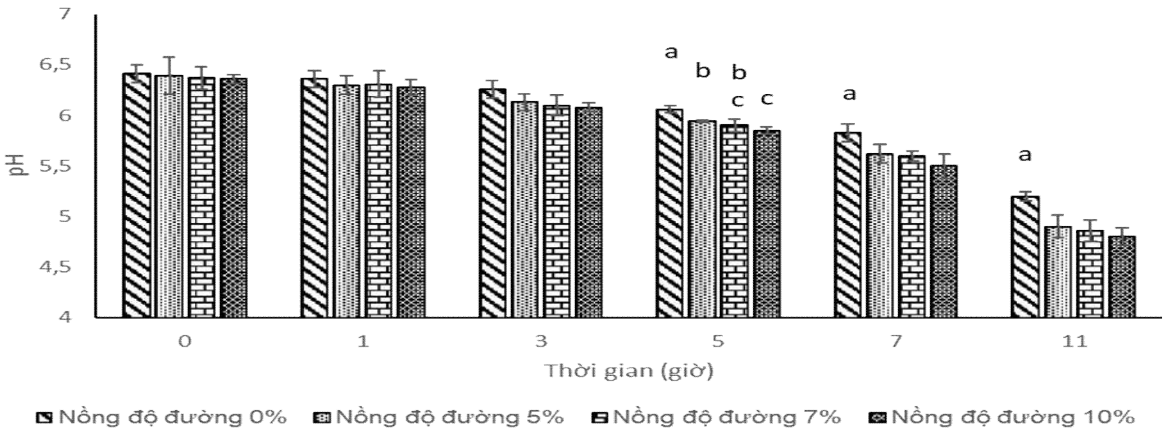
Probiotics	Màu sắc	Mùi vị	Cấu trúc sữa lên men	Thời gian đông tụ
L. paracasei B21060	Trắng hơi vàng	Mùi vị đậu dễ chịu, chua ngọt tương đối hài hoà	Chắc mịn	8 giờ
L. casei DG	Vàng	Chua hơi khó chịu	Chắc	Trên 12 giờ
L. acidophilus	Trắng	Mùi ngái của đậu	Lỏng lẻo	Trên 12 giờ

*Ghi chú: * Dịch sữa đậu nành hàm lượng protein 2,8%, pH 6,2 - 6,5 được lên men bằng vi khuẩn probiotic mật độ ban đầu 10^7 CFU/ml dịch sữa đậu nành.*

Bảng 1 cho thấy, chủng *L. paracasei* B21060 tạo ra sản phẩm có đặc tính cảm quan sơ bộ tốt nhất so với 2 chủng còn lại. Chủng *L. paracasei* B21060 là một chủng probiotic được phân lập từ chế phẩm men vi sinh thương mại Flortec (Ý), là vi khuẩn lên men lactic đồng hình (90% sản phẩm tạo thành là lactic axit) nên sản phẩm sữa lên men có mùi chua nhẹ và một chút mùi thơm. Do đây là sản phẩm sữa lên men từ một chủng probiotic duy nhất nên thời gian lên men có thể dài hơn so với sản phẩm truyền thống thông thường nhưng lại dễ dàng kiểm soát mật độ vi khuẩn probiotic trong sản phẩm và hạn chế được sự nhiễm tạp.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ saccaroza bổ sung đến sự biến đổi pH và vị của sữa đậu nành lên men bởi chủng *Lactobacillus paracasei* B21060

Bổ sung đường trong lên men sữa đậu nành đóng vai trò quan trọng trong việc bổ sung cơ chất cũng như tạo vị của sản phẩm. Mẫu sữa đậu nành được bổ sung hàm lượng đường với các nồng độ 0%, 5%, 7%, 10% và theo dõi sự biến đổi của pH trong quá trình lên men ở 37°C.



Hình 1. Ảnh hưởng hàm lượng đường bổ sung tới khả năng lên men sữa đậu nành của chủng *Lactobacillus paracasei* B21060

Những chữ cái khác nhau biểu diễn sự khác nhau có nghĩa tại cùng một thời gian, P>0,05

Hình 1 cho thấy, pH của dịch sữa giảm dần sau 4 giờ lên men với pH lần lượt là 6,12, 6,02, 5,99, 5,97 và quá trình lên men kết thúc khi sữa chuyển trạng thái đông tụ tại pH lần lượt là 5,2, 4,9, 4,86, 4,8 sau 11 giờ lên men. So sánh với quá trình lên men trong sản xuất sữa chua, thời gian lên men của chủng *Lactobacillus paracasei* B21060 trên cơ chất protein đậu nành dài hơn so với quá trình sản xuất sữa chua thông thường là 6 - 8 giờ [13]. Sau 11 giờ lên men, mẫu bổ sung 10% đường có pH 4,8, vị ngọt và chua hài hòa với nhau vì vậy bổ sung 10% đường sẽ được cố định cho các lần tiếp theo và cố định pH cuối quá trình lên men là 4,8.

Nhận thấy pH giảm nhanh trong 5 giờ cuối của quá trình lên men. Sau lên men sản phẩm có màu vàng nhạt, mùi chua nhẹ, có ít mùi sữa thơm và có ít mùi lạ như mùi hăng ngái. Sau khi ủ chín ở 4°C trong 24 giờ, sữa chua đã có cấu trúc ổn định và hết vị ngái. Sau lên men 11 tiếng, sản phẩm có pH= 4,8, độ axit = 40°T tương đương với 0,36% lactic axit, lúc này sản phẩm có cấu trúc tốt, không bị tách nước, hài hòa giữa vị ngọt và vị chua. Mật độ probiotic đạt 5,4 x 10^9 CFU/ml, nồng độ chất khô bằng 15,5%. Sản phẩm nghiên cứu có độ pH của cao hơn và độ axit thấp hơn sản phẩm sữa chua đậu nành đã được công bố trước đó là pH khoảng 4,2 và độ axit khoảng 78°T [14]. Tuy nhiên, trong công bố trên, nguyên liệu là sữa đậu nành nảy mầm đã được trộn với sữa bò và lên men bởi 2 chủng khởi động thương mại dùng cho sữa bò. Trong một công bố khác lên men sữa đậu nành và siro đường bằng hỗ hợp giống kefir [15], pH sản phẩm lên men thu được là 4,65 sau 14 giờ và 4,5 sau 28 giờ. Như vậy khi lên men sữa đậu nành bằng chủng probiotic nghiên cứu, sản phẩm có thể đạt được chất lượng tốt.

Bảng 2. Một số chỉ tiêu của sữa chua đậu nành sau quá trình lên men

STT	Chỉ tiêu	Giá trị
1	pH	4,8
2	Độ axit	40 °T
3	Nồng độ chất khô tổng số	15,5%
4	Mật độ probiotic	5,4 x 10^9 CFU/ml
5	Thời gian lên men	11 tiếng
6	Đặc tính cảm quan	Sản phẩm có cấu trúc tốt, không bị tách nước, hài hòa giữa vị ngọt và vị chua

Khi bổ sung 2 loại phụ gia gelatin và pectin trong quá trình lên men sữa đậu nành, pH giảm tương tự như quá trình lên men không có phụ gia, đánh giá cảm quan sơ bộ cấu trúc sữa chua tốt, không bị tách nước.

3.3. Một số tính chất của sản phẩm đã sấy khô

Sữa chua sau khi lên men được đổ khuôn tạo hình như mô tả ở mục 2.2 3 và được sấy đông khô sử dụng máy sấy lạnh chân không LG1.5. Sản phẩm sau khi sấy được có độ ẩm là 3 ± 0,5%. Mật độ vi sinh vật từ trước khi lên men tới thu được sản phẩm và bảo quản sản phẩm 10 ngày được theo dõi (Bảng 3).

Bảng 3. Mật độ *L. paracasei B21060* trong quá trình sản xuất và bảo quản sản phẩm sữa đậu nành lên men dạng khô

Thời điểm	Mật độ *L. paracasei* B21060
Trước lên men (log CFU/ml)	$7,28^a \pm 0,18$
Sau lên men (log CFU/ml)	$9,73^b \pm 0,06$
Sau sấy 2 ngày (log CFU/g)	$8,51^c \pm 0,19$
Sau sấy 10 ngày (log CFU/g)	$8,32^c \pm 0,10$

Ghi chú: Những chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có nghĩa (P >0,05).

Trong quá trình sản xuất lượng vi sinh vật tăng trong quá trình lên men, sau đó sản phẩm được mang đi lạnh đông và sấy thăng hoa, thành tế bào mất nước nhanh khi hoà tan lại vào dung dịch để kiểm định một số tế bào có thể yếu và chết. Mật độ tế bào giảm từ 9,73 log CFU/ml dịch lên men xuống còn 8,32 log CFU/g trong sản phẩm sau sấy. Mật độ tế bào probiotic trong sản phẩm phù hợp với khuyến cáo [16]. Sản phẩm sau khi sấy thăng hoa được bảo quản ở điều kiện 4 - 6°C và xác định một chỉ tiêu vi sinh vật gây bệnh. Kết quả không phát hiện *Colifoms*, *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* trong chế phẩm.

Đánh giá cấu trúc và cảm quan

Hình ảnh các sản phẩm sữa chua đậu nành sấy được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Hình ảnh sản phẩm sữa đậu nành lên men sau sấy thăng hoa

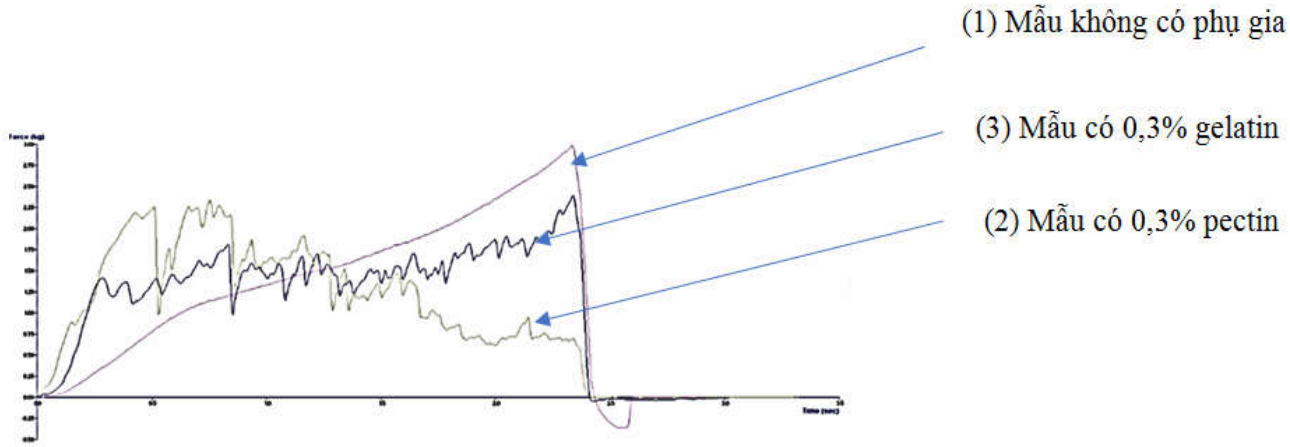
mẫu (1) không bổ sung phụ gia; mẫu (2) bổ sung 0,3% pectin và mẫu (3) bổ sung 0,3% gelatin

Bảng 4. Độ cứng của mẫu sữa đậu nành lên men dạng khô

Mẫu	Độ cứng (g lực)
(1) Không bổ sung phụ gia	$4.357^{a} \pm 124$
(2) Bổ sung 0,3% pectin	$2.235^{b} \pm 104$
(3) Bổ sung 0,3% gelatin	$1.621^{c} \pm 91$

Ghi chú: Những chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có nghĩa (P >0,05).

Sữa đậu nành lên men sau sấy được xác định độ cứng bằng thiết bị đo cấu trúc. Kết quả cho thấy, mẫu không bổ sung phụ gia có độ cứng lớn nhất, tiếp theo là độ cứng sản phẩm bổ sung 0,3% pectin và thấp nhất là mẫu bổ sung gelatin (Bảng 4).



Hình 3. Đồ thị mô tả giá trị của lực tác dụng lên các mẫu theo thời gian của mẫu sữa lên men từ sữa đậu nành sấy khô

Hình 3 cho thấy, mẫu có phụ gia (mẫu (2) và mẫu (3) có đồ thị dao động nhiều hơn ở nửa sau của đồ thị, chứng tỏ cấu trúc của sản phẩm có nhiều lỗ xốp hơn và không bị vỡ ngay như mẫu không có phụ gia (mẫu (1)). Sản phẩm đo được được đem thử nếm và đánh giá tổng thể, màu sắc sản phẩm và mùi vị, cấu trúc. Kết quả được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Kết quả phân tích thị hiếu sản phẩm sữa chua đậu nành sấy

Chỉ tiêu	Mẫu (1)	Mẫu (2)	Mẫu (3)
Tổng thể	$5,43^{a} \pm 1,39$	$4,70^{a} \pm 1,36$	$4,80^{a} \pm 1,52$
Màu sắc sản phẩm	$5,40^{a} \pm 1,08$	$5,65^{a} \pm 1,25$	$4,85^{a} \pm 1,67$
Mùi vị	$5,20^{a} \pm 1,86$	$4,70^{a} \pm 1,57$	$4,30^{a} \pm 1,64$
Mùi hương	$5,23^{a} \pm 1,75$	$4,25^{a} \pm 2,04$	$5,00^{a} \pm 1,47$
Cấu trúc	$6,10^{a} \pm 1,66$	$5,40^{b} \pm 2,04$	$5,30^{b} \pm 1,36$

Ghi chú: Những chữ cái khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác nhau có nghĩa (P>0,05).

Tiến hành phân tích One-Way ANOVA để đánh giá sự khác biệt của các yếu tố đánh giá giữa các mẫu sữa chua đậu nành sấy. Kết quả cho thấy, các chỉ tiêu đánh giá về tổng thể, màu sắc và mùi không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu (P >0,05). Tuy nhiên, có sự khác nhau rõ rệt có ý nghĩa thống kê về độ ưa thích hương và cấu trúc. Hai mẫu có bổ sung phụ gia không nhận thấy sự khác biệt, tuy nhiên cảm nhận về cấu trúc của sản phẩm không bổ sung phụ gia khác với hai mẫu còn lại. Điều này phù hợp với đánh giá bằng thiết bị đo cấu trúc khi mẫu có phụ gia biểu hiện xốp hơn hẳn mẫu không có phụ gia (Hình 3 và bảng 4).

Với định hướng sản xuất sản phẩm thuần chay, phụ gia pectin được lựa chọn để sản xuất sữa chua đậu nành và thực hiện tiếp các nghiên cứu tiếp theo. Khả năng sống sót của vi khuẩn nghiên cứu trong sản phẩm sấy và khi thử nghiệm trong điều kiện đường ruột giả lập được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Mật độ *L. paracasei* B21060 trong điều kiện đường ruột giả lập

	Thời gian (phút)	Mật độ *L. paracasei* B21060 (log CFU/g) pH dạ dày = 3	Mật độ *L. paracasei* B21060 (log CFU/g) pH dạ dày = 2,5
Dạ dày	0	8,53± 0,09	8,53 ± 0,05
	90	8,31 ± 0,37	8,29 ± 0,16
	180	8,97 ± 0,07	7,90 ± 0,03
Ruột non	0	7,97 ± 0,03	7,90 ± 0,05
	90	7,90 ± 0,02	7,80 ± 0,06
	180	7,79 ± 0,02	7,69 ± 0,05

Bảng 6 cho thấy, *L. paracasei* B21060 sau khi đưa vào sản xuất tạo sản phẩm sấy vẫn có thể chịu được điều kiện khắc nghiệt của đường ruột, có khả năng sống sót khi ở pH axit trong dạ dày (pH 2,5). Sau thời gian 90 phút ở dạ dày, trải qua các quá trình tiêu hóa khắc nghiệt tỷ lệ sống sót của probiotic lên tới 60%. Sau 180 phút trước khi được giải phóng từ dạ dày vào ruột mật độ probiotic giảm từ 8,53 log CFU/g xuống còn 7,97 log CFU/g đối với môi trường pH=3 và giảm từ 8,53 log CFU/g xuống còn 7,90 log CFU/g đối với môi trường pH=2,5.

Trong môi trường ruột non, kết quả cũng cho thấy, khả năng chịu được muối mật, và pancreatin ở pH 8 của *L. paracasei* B21060, đây là một lợi thế giúp *L. paracasei* B21060 thể di chuyển rộng trong hệ tiêu hóa mà vẫn có thể sống được. Sau 90 phút trong ruột non, mật độ sống sót của probiotic là 7,90 log CFU/g và sau 180 phút tỉ lệ sống vẫn còn hơn 60%. Như vậy, trải qua 3 tiếng trong điều kiện khắc nghiệt của đường ruột, mật độ probiotic còn

lại khá cao, phù hợp với khuyến cáo về thực phẩm chứa probiotic [16].

4. KẾT LUẬN

Chủng vi khuẩn probiotic *L. paracasei* B21060 có thể ứng dụng làm chủng khởi động cho lên men sữa chua thực vật. Sữa đậu nành bổ sung 10% saccaroza và 0,2% pectin được lựa chọn để phát triển sản phẩm sữa chua sấy. Sản phẩm thu được có đặc tính cảm quan chấp nhận được, mật độ probiotic khoảng $3,2x10^8$ CFU/g. Tỷ lệ sống sót của probiotic trong đường ruột phù hợp với khuyến cáo. Chủng *L. paracasei* B21060 hoàn toàn có thể sử dụng trong đa dạng hoá sản phẩm lên men nguồn gốc thực vật có lợi cho sức khoẻ phù hợp với nhu cầu của người tiêu dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Food and Agriculture Organization and World Health Organization Expert Consultation (2001). Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. Córdoba, Argentina: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization.

2. https://yakult.vn (truy cập tháng 3/2023).

3. https://vinamilk.com.vn (truy cập tháng 3/2023).

4. Santilovabyta N., Jayus J., Nugraha A. S. (2021). Bioconversion of isoflavones glycoside to aglycone during edamame (*Glycine max*) soygurt production using *Streptococcus thermophilus* FNCC40, *Lactobacillus delbrueckii* FNCC41, and *L. plantarum* FNCC26. *Biodiversity*, 21 (4), 1358-1364.

5. Shilpa Vij, Subrota Hati, Deepika Yadav (2011). Biofunctionality of Probiotic Soy Yoghurt. *Food and Nutrition Sciences*, 2 (5), Article ID: 5819, 8 pages DOI:10.4236/fns.2011.25073.

6. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4849: 1989 (ISO 7555 - 1987) về đỗ tương - yêu cầu kỹ thuật.

7. Snyder H. E., Wilson L. A. (2003). Soy (soya) beans in "Processing for the Food Industry" in Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition" (Second Edition). Academic Press. Oxford. 5383-5389.

8. Nazlin Imram (2003). Soya handbook. Tetrak center of expertise soya. Words worth Media Management Pte Ltd, Singapore.

9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8082: 2013 sữa, cream và sữa cô đặc. Xác định hàm lượng chất khô tổng số.

10. AOAC Official Method 947.05 Acidity of Milk: Titrimetric Method.

11. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8177: 2009 (ISO 7889: 2003) về sữa chua - định lượng các vi sinh vật đặc trưng - kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 37^0C.

12. Dai S., Jiang F., Shah N. P., Corke H. (2019). Functional and pizza bake properties of Mozzarella cheese made with konjac glucomannan as a fat replacer. *Food Hydrocolloids,* 92, 125-134.

13. Gösta Bylund, Tetra Pak (2015). Fermentation milk. Dairy processing handbook, 2nd edition, Tetra Pak Processing Systems AB, S-221 86 Lund, Sweden.

14. Nguyễn Đức Doan, Đỗ Thị Hà (2020). Ảnh hưởng của các phương pháp xử lý nhiệt kết hợp với lên men đến hàm lượng axit gamma-aminobutyric, axit phytic và tính chất lý - hóa của sữa chua đậu nành nẩy mầm. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam,* 18 (5), 367-377

15. Trần Thị Hà Ny, Nguyễn Quang Đạt, Nguyễn Thị Lan Anh, Trương Văn Thiên, Phạm Thị Hương (2015). Nghiên cứu quá trình sản xuất sữa chua đậu nành bằng hệ vi sinh vật trong kefir. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Đà Nẵng,* 11 (96) Quyển 1, 105-109.

16. Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., *et al.* (2014). Expert

consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11, 506–514.

POTENTIAL USE OF PROBIOTIC BACTERIA *Lactobacillus paracasei* B21060 IN PLANT - BASED YOGHURT PRODUCTION

Ho Phu Ha, Nguyen Thi Huong, Nguyen Thi Hong, Vu Thu Trang

Summary

Lactobacillus paracasei B21060 has been described as a probiotic bacteria with proved health beneficial effect and has been commercialized as probiotic supplement. However, there has no report on using this probiotics in food production. This study aims to assess possibility to use *L. paracasei* B21060 in fermentation and food formulation with acceptable food quality in chemical and sensory characteristics. The strain prior activated was added with soymilk and incubate at 37°C for fermentation with 10% of saccharose and 0.2% pectin. The obtained soy yoghurt was moulded, maturated, and then freeze-dried. Final product was tested for moisture, texture, sensory characteristics, probiotic viability in product and in gastrointestinal conditions. Result showed that *Lactobacillus paracasei* can be applied as starter culture for plant-based yoghurt. Product had acceptable sensory characteristics and probiotic count was $3.2x10^8$ CFU/g product. Viability of probiotics in gastrointestinal conditions was at high level. This result demonstrated ability to use probiotic bacteria in diversification of health beneficial plant-based food products to meet requirement of consumers.

Keywords: *Lactobacillus, probiotic, plant yoghurt.*

Người phản biện: PGS.TS. Đỗ Thị Bích Thủy

Ngày nhận bài: 27/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 29/3/2023

Ngày duyệt đăng: 5/4/2023

XÁC ĐỊNH ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY CHẤT XƠ TỪ VỎ XOÀI CÁT CHU (*Mangifera indica* L.) VỚI SỰ HỖ TRỢ PECTINEX® ULTRA SP-L

Trần Chí Nhân[1], Kiều Minh Vương[1], Trần Thị Tú Nguyên[1], Nguyễn Bảo Lộc[1], Lưu Thái Danh[2], Nguyễn Nhật Minh Phương[1,*]

TÓM TẮT

Nhằm tận dụng nguồn phụ phẩm vỏ xoài được thải ra từ quy trình chế biến các sản phẩm giá trị gia tăng từ xoài Cát Chu (*Mangifera indica* L.), nghiên cứu tập trung xác định điều kiện trích ly chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu dưới sự hỗ trợ của chế phẩm Pectinex® Ultra SP-L (*pectinaza*, *hemixenlulaza* và *beta-glucanaza*) đến hiệu suất thu hồi và các đặc tính lý hóa của chất xơ (khả năng giữ nước – WRC, khả năng giữ dầu – ORC, khả năng hòa tan – WS, khả năng tạo nhũ – EC và độ bền nhũ – ES). Điều kiện khảo sát bao gồm (i) hoạt độ của nhóm enzim Pectinex® Ultra SP-L (0 - 168 U/100 mL), (ii) nhiệt độ trích ly (25°C - 55°C), (iii) pH dung dịch đệm (3,5 - 5,5), (iv) thời gian trích ly (30 - 120 phút) và (v) tỷ lệ enzim/cơ chất (10 - 25 mL/g). Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi hoạt độ Pectinex® Ultra SP-L được sử dụng với nồng độ 42 U/100 mL, nhiệt độ 45°C, pH 5,5, thời gian trích ly 30 phút và tỷ lệ enzim/cơ chất 20 mL/g cho hiệu suất thu hồi chất xơ cao (19,26 ± 2,32%). Các đặc tính lý hóa thu được từ chất xơ lần lượt là WRC 2,99±0,22 g/g, ORC 1,42±0,06 g/g, WS 92,89±2,47%, EC 49,74±1,47%, ES 8,20±1,34%, phù hợp trong phát triển sản phẩm giàu xơ.

Từ khóa: *Chất xơ hòa tan, Pectinex ® Ultra SP-L, trích ly, xoài Cát Chu.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xoài (*Mangifera indica* L.) là trái cây nhiệt đới phổ biến nhất trên thế giới với sản lượng khoảng 41 triệu tấn [1]. Việt Nam đang là nhà cung cấp lớn thứ 13 với sản lượng khoảng 893.000 tấn của hơn 50 giống xoài [2]. Trong đó, xoài Cát Chu được trồng với số lượng lớn và tiêu thụ rộng rãi do có mùi vị thơm ngon, đặc trưng, mọng nước và giàu dinh dưỡng [2], [3]. Tuy nhiên, quá trình chế biến xoài đã thải ra một số lượng lớn vỏ và hạt (25 - 40% khối lượng quả), gây ô nhiễm môi trường do phát thải khí nhà kính khi phân hủy và tạo điều kiện cho vi sinh vật, côn trùng và động vật gây hại phát triển [4]. Thành phần chính của vỏ xoài là chất xơ (36 - 78% chất khô), giàu vitamin, polyphenol và carotenoit [5], [6]. Vì vậy, việc thu hồi các hợp chất có lợi cho sức khỏe từ vỏ xoài đã trở thành trọng tâm nghiên cứu trong hai thập kỷ gần đây nhằm giảm thiểu tác động xấu đến môi trường và tăng hiệu quả kinh tế cho ngành công nghiệp chế biến xoài [4].

Chất xơ bao gồm loại hòa tan (pectin, gum, β-glucan) và không hòa tan (xenluloza, hemixenluloza, lignin), chúng khác nhau về khả năng hòa tan trong nước (WS) và chức năng sinh lý trong cơ thể [8]. Chất xơ hòa tan giúp kiểm soát hàm lượng đường huyết, giảm colesterôn trong máu và tăng độ nhớt của dịch dạ dày; trong khi chất xơ không hòa tan giúp tăng cường nhu động ruột, chống tạo bón và ngăn ngừa ung thư ruột kết [8]. Phương pháp trích ly bằng hóa chất đã được sử dụng phổ biến để trích ly chất xơ từ nhiều nguồn khác nhau [9]. Tuy nhiên, phương pháp này thường yêu cầu thời gian trích ly kéo dài và/hoặc nhiệt độ cao, nên dễ gây biến đổi cấu trúc và đặc

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ
* Email: nnmphuong@ctu.edu.vn

tính của chất xơ [9]. Các nghiên cứu gần đây tập trung vào việc tận dụng các giải pháp xanh để cải thiện hiệu quả quá trình trích ly đồng thời giữ hoặc cải thiện đặc tính của chất xơ [9], [10]. Trong đó, phương pháp trích ly với sự hỗ trợ của các chế phẩm enzim có vai trò phân hủy thành tế bào thực vật đang là xu hướng mới trong việc thu nhận chất xơ [8]. Tuy nhiên, thông tin về việc sử dụng Pectinex® Ultra SP-L để hỗ trợ quá trình trích ly chất xơ từ vỏ xoài còn rất hạn chế. Vì vậy, mục tiêu nghiên cứu là xác định điều kiện trích ly tối ưu với sự hỗ trợ enzim ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi và một số đặc tính lý hóa của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Vỏ xoài Cát Chu được thu nhận từ quy trình chế biến các sản phẩm từ xoài của Công ty TNHH Rau Quả Hùng Hậu, Lai Vung, Đồng Tháp. Vỏ xoài được thu nhận sau mỗi ca sản xuất (4 - 6 giờ), đóng gói trong bao nhựa PA (10 kg), vận chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 2 giờ trong điều kiện nhiệt độ môi trường. Vỏ xoài được tiến hành ngay công đoạn tiền xử lý, sấy, nghiền thành bột và trích ly chất xơ.

Pectinex® Ultra SP-L bao gồm pectinaza, hemixenllulaza và beta-glucanaza được cung cấp từ Novozymes (lỏng, 3.300 PGNU/g) và được phân phối bởi Công ty TNHH Cemaco Việt Nam, chi nhánh Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị mẫu thí nghiệm

Vỏ xoài sau khi vận chuyển về phòng thí nghiệm được rửa 3 lần bằng nước máy, chảy tràn. Tiến hành để ráo vỏ xoài và ngâm chìm 18 giờ trong ethanol 96% ở 4Ơ1°C để loại bỏ các tạp chất, các thành phần hòa tan (sắc tố, đường,…) và vô hoạt enzim. Sau khi ngâm, vỏ xoài được rửa lại bằng ethanol 70% (2 lần) và sấy đối lưu ở 65°C đến độ ẩm ≤ 10% (cbk), tiến hành nghiền mịn và rây qua sàng 80 mesh. Bột vỏ xoài được bảo quản trong túi PA (90% độ chân không) ở -18±2°C cho các thí nghiệm. Quy trình trích ly chất xơ được thực hiện theo phương pháp của Sánchez-Madrigal và cs (2018) [11] có hiệu chỉnh.

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

2.2.2.1. Ảnh hưởng của hoạt độ Pectinex® Ultra SP-L đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Bột vỏ xoài khô (10 g) được trích ly chất xơ với sự hỗ trợ của Pectinex® Ultra SP-L trong dung dịch đệm axetat 50 mM có hoạt độ enzim thay đổi (0, 42, 84, 126 và 168 U/100 mL). Quá trình trích ly được thực hiện ở 45°C, pH 4,5 với tỷ lệ enzim/cơ chất là 15 mL/g trong 60 phút. Sau khi trích ly, dịch trích được gia nhiệt ở 90°C trong 5 phút để vô hoạt enzim, sau đó được làm nguội đến nhiệt độ phòng và ly tâm ở 3.000 vòng/phút trong 20 phút để thu nhận phần nổi. Phần nổi được kết tủa với 4 lần thể tích ethanol 96% và hỗn hợp được để yên qua đêm ở 4°C. Phần kết tủa được thu nhận bằng cách lọc chân không và sấy ở 65°C đến khối lượng không đổi. Chất xơ thu nhận được nghiền mịn và rây qua sàng 80 mesh. Bột chất xơ được bảo quản trong túi PA (90% độ chân không) ở -18±2°C cho các phân tích tiếp theo.

2.2.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Các bước tiến hành, thông số phù hợp được chọn tương tự mục 2.2.2.1, trong đó nhiệt độ là nhân tố khảo sát và thay đổi ở các mức nhiệt độ khác nhau (25°C, 35°C, 45°C và 55°C).

2.2.2.3. Ảnh hưởng của pH đệm đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Các bước tiến hành, thông số phù hợp được chọn tương tự mục 2.2.2.1, nhiệt độ tối ưu được chọn từ thí nghiệm 2.2.2.2, trong đó pH là nhân tố khảo sát và thay đổi ở các mức pH khác nhau (3,5, 4,5 và 5,5).

2.2.2.4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Các bước tiến hành, thông số phù hợp được chọn tương tự mục 2.2.2.1, nhiệt độ và pH tối ưu được chọn từ thí nghiệm 2.2.2.2 và 2.2.2.3, trong đó thời gian trích ly là nhân tố khảo sát và thay đổi ở các mức thời gian (30, 60, 90 và 120 phút).

2.2.2.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzim/cơ chất đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Các bước tiến hành, thông số phù hợp được chọn tương tự mục 2.2.2.1, nhiệt độ, pH và thời gian trích ly được chọn từ kết quả thí nghiệm 2.2.2.2; 2.2.2.3; 2.2.2.4, trong đó tỷ lệ enzim/cơ chất là nhân tố khảo sát và thay đổi ở các mức khác nhau (10, 15, 20 và 25 mL/g, nồng độ enzim (U) cố định từ kết quả thí nghiệm 1 và như nhau tại các tỷ lệ enzim khác nhau).

2.3. Phương pháp phân tích

Khả năng hòa tan (WS, %), khả năng giữ nước (WRC, g/g), khả năng giữ dầu (ORC, g/g), khả năng tạo nhũ (EC, %) và độ bền nhũ (ES, %) [12]. Hiệu suất thu hồi được tính theo công thức (1):

$$Y\ (\%) = (M_1/M_0) \times 100 \quad (1)$$

Trong đó: Y (%) là hiệu suất thu hồi; M_0, M_1 là khối lượng trước, sau khi trích ly.

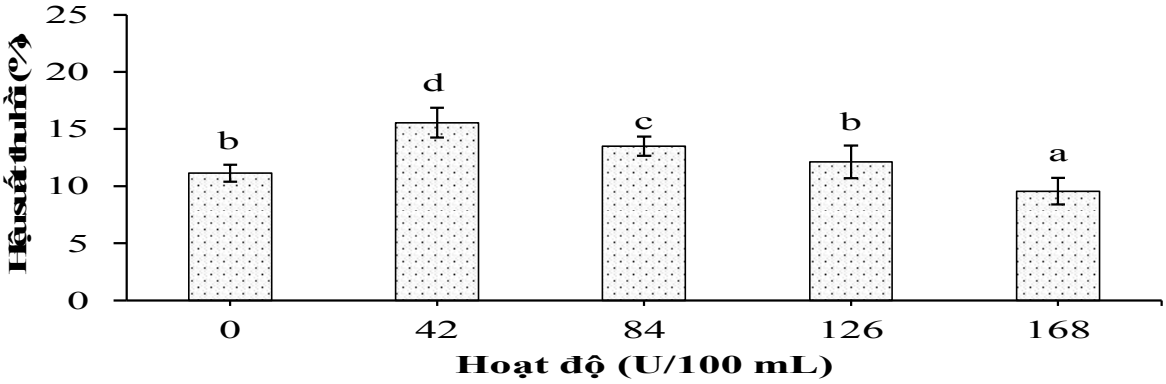
2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Kết quả được thống kê, phân tích phương sai, kiểm định LSD ở mức ý nghĩa 5% bằng chương trình Statgraphics Centurion 16.1. Số liệu biểu thị là giá trị trung bình của các nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hoạt độ Pectinex® Ultra SP-L đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

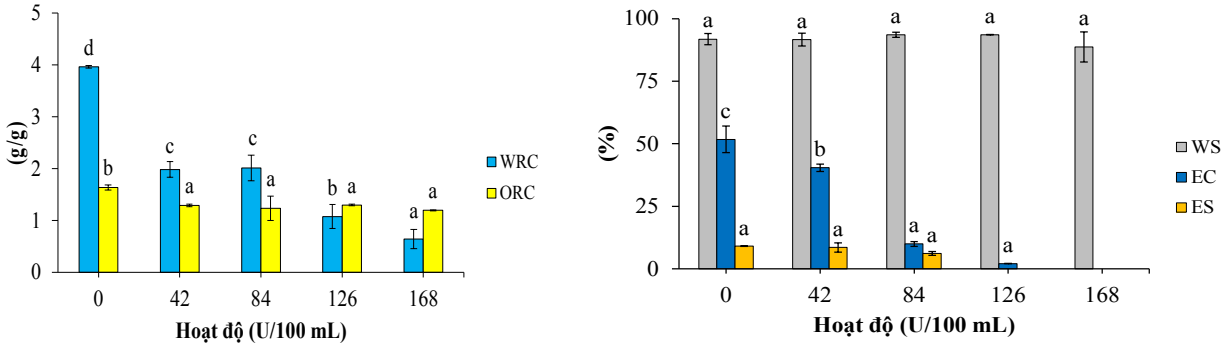
Ảnh hưởng của hoạt độ enzim đến hiệu suất thu hồi chất xơ được xác định trong khoảng 0 - 168 U/100 mL (Hình 1). Hiệu suất thu hồi chất xơ chỉ đạt khoảng 11,14±0,75% khi không có sự hỗ trợ của Pectinex® Ultra SP-L; tuy nhiên, hiệu suất thu hồi tăng đáng kể và đạt tối đa ở 15,56±1,30% khi sử dụng enzim ở hoạt độ 42 U/100 mL cho thấy, enzim có khả năng cải thiện hiệu suất thu hồi chất xơ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, chế phẩm Pectinex® Ultra SP-L có thể thúc đẩy quá trình trích ly chất xơ từ vỏ xoài, đặc biệt là pectin, thông qua việc phân giải xenluloza và hemixenluloza cùng với việc thủy phân một phần pectin trong thành tế bào [13], [8]. Ngoài ra, chế phẩm Pectinex® Ultra SP-L còn làm giảm đáng kể độ nhớt của dung dịch, góp phần thúc đẩy quá trình truyền khối khi trích ly [13]. Nghiên cứu của Dong và cs (2020) [12] và Sánchez-Madrigal và cs (2018) [11] cho thấy, tác dụng có lợi của các chế phẩm enzim phân hủy thành tế bào thực vật trong việc thu nhận các polysaccarit hòa tan. Việc sử dụng chế phẩm Pectinex® Ultra SP-L đã được chứng minh là mang đến hiệu quả cao trong việc trích ly fructan từ ngọn cây sotol hoang dã [11]. Tuy nhiên, sự tăng thêm hoạt độ enzim lại có thể giảm thu hồi chất xơ do sự phá hủy cấu trúc chất xơ; cụ thể, ở hoạt độ enzim cao (> 42 U/100 mL) hiệu suất có khuynh hướng giảm (Hình 1). Xu hướng tương tự cũng được thấy trong nghiên cứu của Meyer và cs (2009) [14], Sánchez-Madrigal và cs (2018) [11].



Hình 1. Ảnh hưởng của hoạt độ Pectinex® Ultra SP-L đến hiệu suất thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các chữ cái giống nhau trong đồ thị thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, p > 0,05.

Mặc dù việc sử dụng enzim có thể giúp cải thiện hiệu suất thu hồi chất xơ nhưng có thể dẫn đến giảm một số đặc tính lý hóa của chất xơ (không tính đến WS) (Hình 2). Cụ thể, WRC, ORC, EC và ES của chất xơ lần lượt là 3,96±0,02 g/g, 1,64±0,05 g/g, 51,72±5,35% và 9,04±0,15% khi không sử dụng enzim và sau đó giảm xuống còn 1,98±0,15 g/g, 1,29±0,03 g/g, 40,39±1,49% và 8,47±1,81%, tương ứng, ở hoạt độ 42 U/100 mL. Tuy nhiên, WS của chất xơ được thu nhận từ các hoạt độ enzim khác nhau vẫn giữ không đổi ($p > 0,05$), dao động trong khoảng 88,64 - 93,54% (Hình 2B).



A B

Hình 2. Ảnh hưởng của hoạt độ Pectinex® Ultra SP-L đến một số đặc tính lý hóa của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

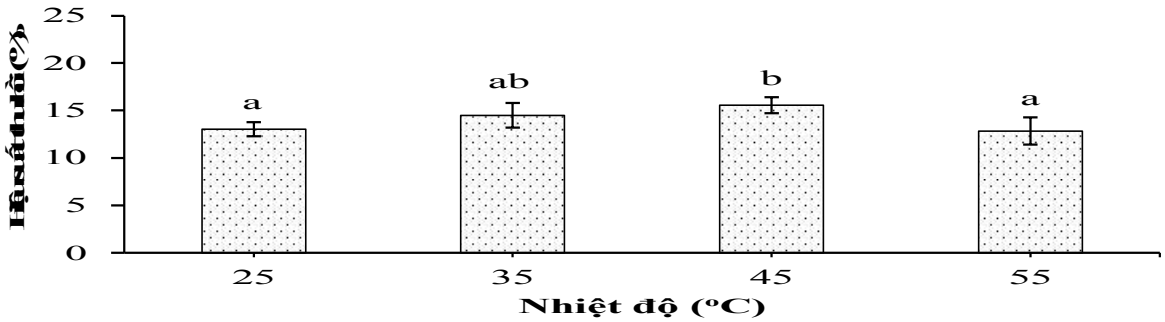
A: Ảnh hưởng của hoạt độ Pectinex® Ultra SP-L đến khả năng giữ nước (WRC) và giữ dầu (ORC) của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu; B: Ảnh hưởng của hoạt độ Pectinex® Ultra SP-L đến khả năng hòa tan (WS), khả năng tạo nhũ (EC) và độ bền nhũ (ES) của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu.

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các chữ cái giống nhau trong đồ thị thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, p > 0,05

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hoạt độ enzim ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi, một số đặc tính lý hóa. Trong đó, hoạt độ 42 U/100 mL được chọn vì có hiệu suất thu hồi chất xơ cao nhất và các đặc tính lý hóa cũng tương đối tốt.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

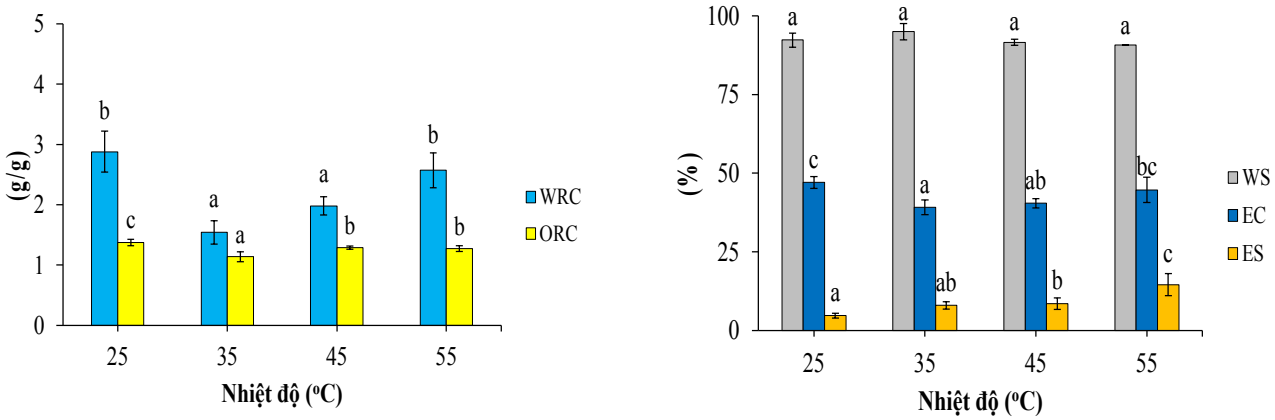
Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu suất thu hồi chất xơ được xác định trong khoảng 25 - 55°C (Hình 3). Hiệu suất thu hồi chất xơ tăng dần và đạt tối đa ở 14,50 - 15,56% trong khoảng nhiệt độ 35 - 45°C, sau đó giảm khi nhiệt độ tiếp tục tăng lên 55°C. Nghiên cứu của Zhang và cs (2017) [15] cho thấy, nhiệt độ cao hơn 50°C làm giảm khả năng thu nhận SDF từ vỏ đu đủ. Nhiệt độ là yếu tố thúc đẩy phản ứng phân giải của enzim đối với các polysaccarit trong thành tế bào thực vật [13]. Do đó, khi gia tăng nhiệt độ ở một mức độ nhất định sẽ thúc đẩy hoạt động của enzim và tăng tốc độ truyền khối, đồng thời làm giảm độ nhớt của dung dịch nên dẫn đến hiệu quả của quá trình trích ly được cải thiện đáng kể [16]. Tuy nhiên, sự gia tăng quá cao của nhiệt độ có thể không thích hợp cho hoạt động của enzim, thậm chí vô hoạt enzim và thúc đẩy quá trình phân hủy của các hợp chất nhạy cảm với nhiệt độ. Trong nghiên cứu này, hiệu suất thu hồi chất xơ giảm đáng kể khi nhiệt độ > 45°C (Hình 3). Nghiên cứu của Zhang và cs (2017) [15] cho thấy, nhiệt độ cao hơn 50°C có ảnh hưởng xấu đến việc thu nhận SDF từ vỏ đu đủ.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu suất thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các chữ cái giống nhau trong đồ thị thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, p > 0,05

Mặc dù hiệu suất thu hồi đạt giá trị cao nhất ở 35 - 45°C (Hình 3), nhưng khoảng nhiệt độ này một số đặc tính lý hóa của chất xơ có khuynh hướng giảm (ngoại trừ ES và WS) và sau đó tăng trở lại khi nhiệt độ đạt 55°C (Hình 4). Tuy nhiên, ES của chất xơ được cải thiện đáng kể khi quá trình trích ly được thực hiện ở nhiệt độ cao (Hình 4B). Cụ thể, WRC, ORC, EC và ES của chất xơ lần lượt là 2,88±0,34 g/g, 1,37±0,05 g/g, 47,04±1,88% và 4,71±0,73% ở nhiệt độ 25°C và đạt 1,98±0,15 g/g, 1,29±0,03 g/g, 40,37±1,49% và 8,47±1,81%, tương ứng, ở nhiệt độ 45°C. Nghiên cứu của Moczkowska và cs (2019) [17] cho thấy, sự thay đổi nhiệt độ trích ly có ảnh hưởng đến WRC và ORC của SDF.



A B

Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến một số đặc tính lý hóa của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

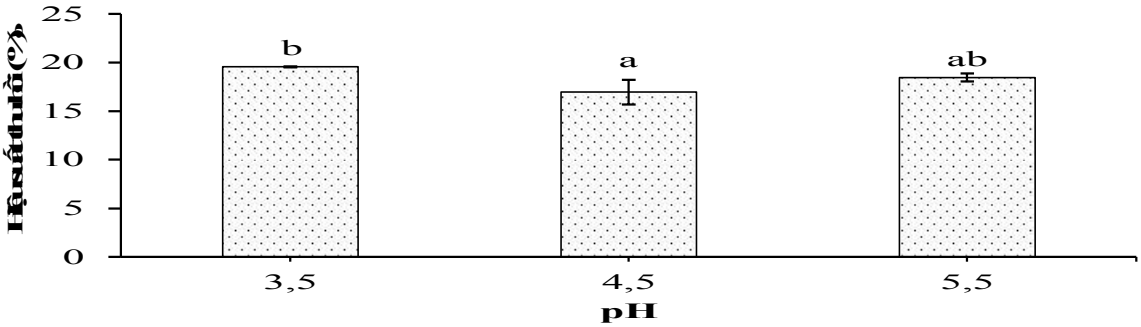
A: Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến khả năng giữ nước (WRC) và giữ dầu (ORC) của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu; B: Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến khả năng hòa tan (WS), khả năng tạo nhũ (EC) và độ bền nhũ (ES) của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu.

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các chữ cái giống nhau trong đồ thị thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, p > 0,05

Kết quả cho thấy nhiệt độ trích ly ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi, một số đặc tính lý hóa của chất xơ thu được. Trong đó, nhiệt độ 45°C được chọn vì có hiệu suất thu hồi chất xơ cao nhất với các đặc tính lý hóa tương đối tốt.

3.3. Ảnh hưởng của pH dung dịch đệm đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

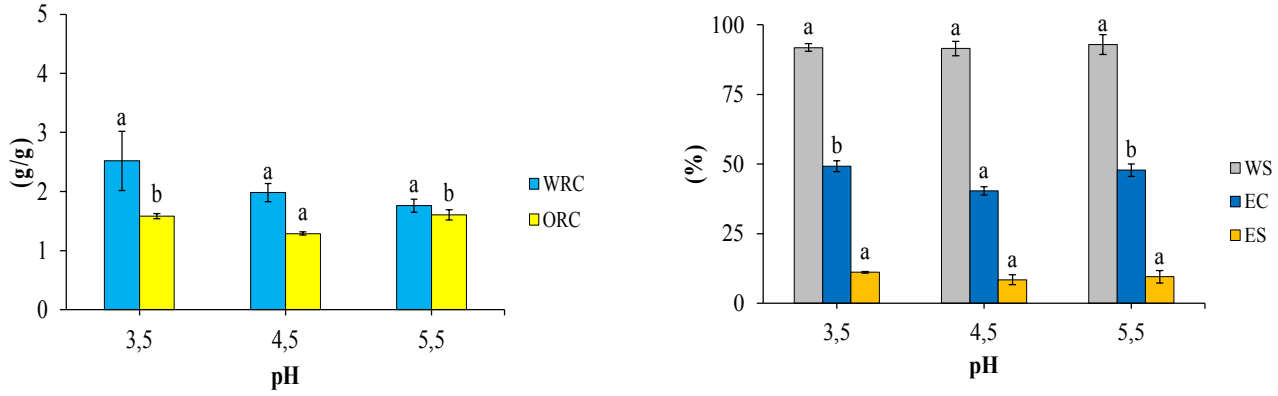
Ảnh hưởng của pH đệm đến hiệu suất thu hồi chất xơ được thể hiện ở hình 5. Mỗi enzim có khoảng pH hoạt động tối ưu khác nhau và pectinaza có thể hoạt động tốt ở pH 3,5 - 6,0, tùy thuộc vào loại và nguồn gốc của enzim [13]. Sự thay đổi pH có thể dẫn đến sự thay đổi hoạt động của hỗn hợp enzim, nên dẫn đến sự khác biệt về hiệu suất thu hồi chất xơ ở các pH khác nhau. Trong đó, pH 4,5 có hiệu suất thu hồi chất xơ thấp nhất (16,97±1,27%), tại pH 3,5 và 5,5 có hiệu suất thu hồi cao hơn (19,56±0,06 và 18,46±0,41%, tương ứng).



Hình 5. Ảnh hưởng của pH dung dịch đệm đến hiệu suất thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các chữ cái giống nhau trong đồ thị thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, p > 0,05

Ảnh hưởng của pH đệm đến một số đặc tính lý hóa của chất xơ cũng được thể hiện ở hình 6. ORC và EC cho thấy xu hướng tương tự nhau với sự thay đổi của pH dung dịch đệm. ORC và EC giảm dần từ 1,58±0,04 g/g và 49,24±2,00% ở pH 3,5 đến 1,29±0,03 g/g và 40,39±1,49% ở pH 4,5 và sau đó đạt 1,61±0,09 g/g và 47,81±2,25% ở pH 5,5 (Hình 6A và B). Mặt khác, WRC, ES và WS của chất xơ được thu nhận từ pH đệm khác nhau vẫn giữ không đổi ($p > 0,05$).



A B

Hình 6. Ảnh hưởng của pH dung dịch đệm đến một số đặc tính lý hóa của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

A: Ảnh hưởng của pH đệm đến khả năng giữ nước (WRC) và giữ dầu (ORC) của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu; B: Ảnh hưởng của pH đệm đến khả năng hòa tan (WS), khả năng tạo nhũ (EC) và độ bền nhũ (ES) của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu.

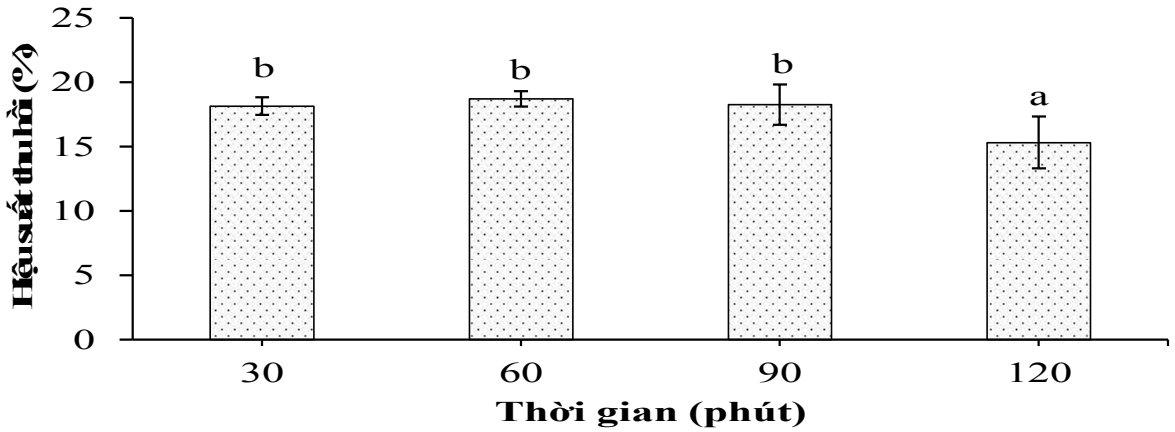
Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình±độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các chữ cái giống nhau trong đồ thị thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, p > 0,05

Kết quả nghiên cứu cho thấy, pH đệm ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi, ORC và EC. Trong điều kiện trích ly pH 3,5 và 5,5 hiệu suất thu hồi chất xơ cao và có các đặc tính lý hóa tốt. Tuy nhiên, chất xơ thu được trong điều kiện trích ly tại pH 5,5 thì phù hợp hơn cho các ứng dụng trong thực phẩm; do đó, thông số này được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Quá trình trích ly chất xơ thường diễn ra trong khoảng 30 - 120 phút, tùy thuộc vào phương pháp trích ly, các điều kiện trích ly khác và loại nguyên liệu sử dụng [17], [16], [12], [18]. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu suất thu hồi chất xơ được xác định trong khoảng 0 - 120 phút (Hình 7).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu suất thu hồi chất xơ trong khoảng 30 - 90 phút không thay đổi đáng kể; tuy nhiên, hiệu suất thu hồi chất xơ có xu hướng giảm khi tăng thời gian trích ly lên đến 120 phút. Sự gia tăng thời gian trích ly tạo điều kiện cho enzim tiếp cận cơ chất và gia tăng thời gian phản ứng phân giải của các enzim, do đó thời gian trích ly kéo dài (> 90 phút) có thể làm phá vỡ cấu trúc của chất xơ [9]. Ngoài ra, sự phân hủy nhiệt có thể xảy ra nếu thời gian trích ly quá lâu [17], dẫn đến hiệu suất thu hồi chất xơ thấp hơn.

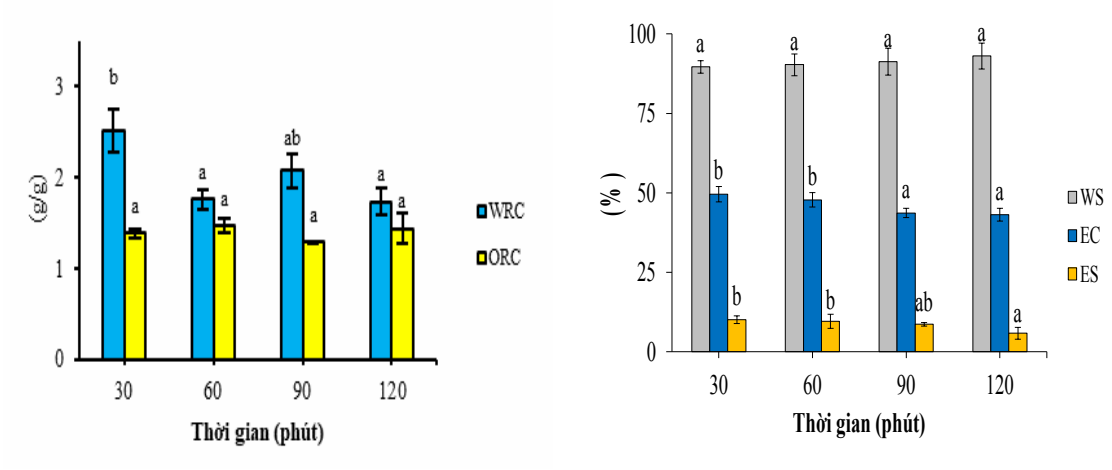


Hình 7. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu suất thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các chữ cái giống nhau trong đồ thị thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, p > 0,05

Thời gian trích ly kéo dài có khuynh hướng giảm EC, ES và WRC của chất xơ (Hình 8). Giá trị EC và ES của chất xơ thu nhận sau khi trích ly trong 30 phút lần lượt là 49,63±2,42%, 10,04±1,19% và 2,51±0,23%, sau đó giảm xuống 43,12±2,00%, 5,83±1,84% và 1,73±0,15%, tương ứng, ở thời gian trích ly 120 phút. Việc kéo dài thời gian trích ly sẽ làm phá vỡ cấu trúc của chất xơ, ảnh hưởng đến khả năng hydrat hóa và liên kết dầu, gây ảnh hưởng đến hoạt động nhũ hóa của chất xơ [19]. Tuy nhiên, WRC, ORC và WS của chất xơ được thu nhận từ các thời gian trích ly khác nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), có thể do thời gian trích ly chưa đủ dài để tạo nên sự khác biệt đáng kể.

Thời gian trích ly ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi, EC và ES. Trong đó, thời gian trích ly 30 phút được chọn vì có hiệu suất thu hồi chất xơ cao nhất, các đặc tính lý hóa tương đối tốt cũng như tiết kiệm thời gian và chi phí trích ly.



A B

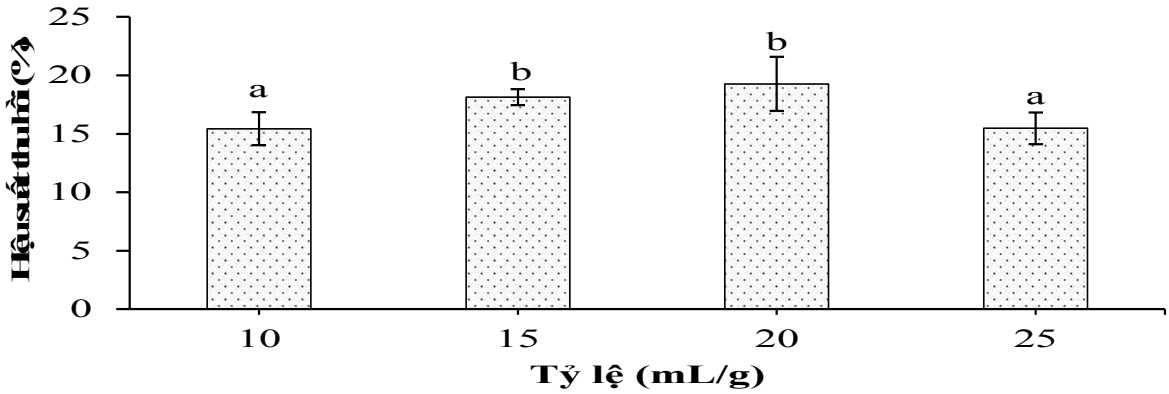
Hình 8. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến một số đặc tính lý hóa của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

A: Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến khả năng giữ nước (WRC) và giữ dầu (ORC) của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu; B: Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến khả năng hòa tan (WS), khả năng tạo nhũ (EC) và độ bền nhũ (ES) của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu.

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các chữ cái giống nhau trong đồ thị thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, p > 0,05

3.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzim/cơ chất đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

Ảnh hưởng của tỷ lệ enzim/cơ chất đến hiệu suất thu hồi chất xơ được xác định trong khoảng 10 - 25 mL/g (với hoạt độ là 42 U/100 mL) (Hình 9). Hiệu suất thu hồi chất xơ có xu hướng tăng dần và đạt cao nhất là 19,26±2,32% với tỷ lệ enzim/cơ chất là 20 mL/g, sau đó giảm dần khi tỷ lệ enzim/cơ chất tăng thêm.



Hình 9. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzim/cơ chất đến hiệu suất thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

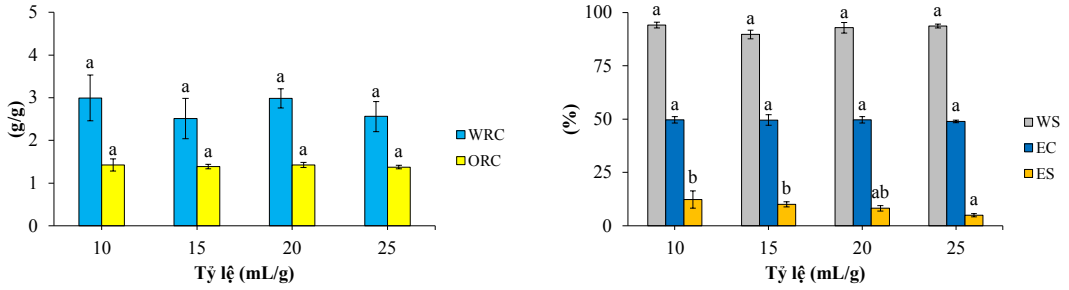
Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các chữ cái giống nhau trong đồ thị thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, p > 0,05.

Sự gia tăng tỷ lệ enzim/cơ chất sẽ dẫn đến sự gia tăng tỷ lệ enzim/cơ chất, đồng thời gia tăng không gian hoạt động của enzim và sự khuếch tán của cơ chất vào dung môi [9], kết quả là hiệu suất thu hồi chất xơ được cải thiện. Tuy nhiên, phản ứng phân giải của enzim xảy ra mạnh mẽ ở tỷ lệ enzim/cơ chất quá cao (> 20 mL/g), dẫn đến cấu

trúc chất xơ bị phá hủy và giảm khả năng thu hồi chất xơ.

Tỷ lệ enzim/cơ chất không ảnh hưởng đáng kể đến đa số đặc tính lý hóa của chất xơ (Hình 10). WRC và ORC của chất xơ thu nhận dao động trong khoảng 2,51 - 2,99 g/g, 1,37 - 1,42 g/g, tương ứng; trong khi, WS và EC của chất xơ dao động trong khoảng 89,68% - 94,14% và 48,95% - 49,74%, tương ứng. Tuy nhiên, ES của chất xơ có khuynh hướng giảm khi chất xơ được thu nhận ở tỷ lệ enzim/cơ chất lớn hơn 20 mL/g (Hình 10B).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ enzim/cơ chất ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi. Trong đó, tỷ lệ enzim/cơ chất là 20 mL/g được chọn vì có hiệu suất thu hồi chất xơ cao nhất và giữ được một cách tương đối các đặc tính lý hóa của chất xơ.



A B

Hình 10. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzim/cơ chất đến một số đặc tính lý hóa của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu

A: Ảnh hưởng của tỷ lệ enzim/cơ chất đến khả năng giữ nước (WRC) và giữ dầu (ORC) của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu; B: Ảnh hưởng của tỷ lệ enzim/cơ chất đến khả năng hòa tan (WS), khả năng tạo nhũ (EC) và độ bền nhũ (ES) của chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu.

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các chữ cái giống nhau trong đồ thị thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, p > 0,05

4. KẾT LUẬN

Các điều kiện trích ly khác nhau có tác động khác nhau đến khả năng thu hồi chất xơ từ vỏ xoài Cát Chu. Trong đó, quá trình trích ly được thực hiện ở hoạt độ enzim 42 U/100 mL, nhiệt độ 45°C, pH 5,5, thời gian 30 phút và tỷ lệ enzim/cơ chất 20 mL/g cho hiệu suất thu hồi chất xơ cao (19,26±2,32%), duy trì tương đối được các đặc tính lý hóa (WRC=2,99±0,22 g/g, ORC=1,42±0,06 g/g, WS=92,89±2,47%, EC=49,74±1,47% và ES=8,20±1,34%) và có khả năng phát triển sản phẩm thực phẩm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện từ nguồn kinh phí Khoa học và Công nghệ cấp Bộ (MS: B2022-TCT-12).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. FAO. (2021). Major tropical fruits - statistical compendium 2020. Rome.

2. MARD (2021). Vietnam is the 13th biggest mango producer in the world. https://www.mard.gov.vn/en/Pages/vietnam-is-the-13th-biggest-mango-producer-in-the-world.aspx. Truy cập ngày 11/07/2021.

3. Brecht J. K., & Sidhu J. S. (2017). Handbook of mango fruit: Production, postharvest science, processing technology and nutrition. John Wiley & Sons.

4. Cheok C. Y., Mohd Adzahan N., Abdul Rahman R., Zainal Abedin N. H., Hussain N., Sulaiman R. & Chong G. H. (2018). Current trends

of tropical fruit waste utilization. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58, 335 - 361.

5. Ajila C. M., Bhat S. G. & Rao U. J. S. P. (2007). Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. *Food Chemistry*, 102 (4), 1006 – 1011.

6. Abdul Aziz N. A., Wong L. M., Bhat R., & Cheng L. H. (2012). Evaluation of processed green and ripe mango peel and pulp flours (*Mangifera indica* var. Chokanan) in terms of chemical composition, antioxidant compounds and functional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92 (3), 557 – 563.

7. Umbreen H., Arshad M. U., Saeed F., Bhatty N., & Hussain, A. I. (2015). Probing the functional potential of agro - industrial wastes in dietary interventions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39 (6), 1665 – 1671.

8. Galanakis C. M. (2019a). Dietary Fiber: Properties, Recovery, and Applications. Journal of Nutrition Education and Behavior. Academic Press, London, England.

9. Tejada-Ortigoza V., Garcia - Amezquita L. E., Serna - Saldívar S. R. & Welti - Chanes J. (2015). Advances in the Functional Characterization and Extraction Processes of Dietary Fiber. *Food Engineering Reviews*, 8, 251 - 271.

10. Galanakis C. M. (2019b). Valorization of Fruit Processing By - products. Academic Press, London, England.

11. Sánchez - Madrigal M. Á., Viesca - Nevárez S. L., Quintero - Ramos A., Amaya - Guerra C. A., Meléndez - Pizarro C. O., Contreras - Esquivel J. C., & Talamás - Abbud R. (2018). Optimization of the enzyme - assisted extraction of fructans from the wild sotol plant (Dasylirion wheeleri). *Food Bioscience*, 22, 59 - 68.

12. Dong W., Wang D., Hu R., Long Y. & Lv L. (2020). Chemical composition, structural and functional properties of soluble dietary fiber obtained from coffee peel using different extraction methods. Food *Research International*, 136, 109497.

13. Kashyap D. R., Vohra P. K., Chopra S. & Tewari R. (2001). Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology*, 773, 215 - 27.

14. Meyer A. S., Dam B. P., & Ĺrke H. N. (2009). Enzymatic solubilization of a pectinaceous dietary fiber fraction from potato pulp: Optimization of the fiber extraction process. *Biochemical Engineering Journal*, 43, 106 - 112.

15. Zhang W., Zeng G., Pan Y., Chen W., Huang W., Chen H., Li Y. (2017). Properties of soluble dietary fiber-polysaccharide from papaya peel obtained through alkaline or ultrasound-assisted alkaline extraction. *Carbohydrate Polymers*, 172, 102-112.1.

16. Hon D. N. S. (1996). Cellulose and its derivatives: structures, reactions, and medical uses. In Polysaccharides in medicinal applications Marcel Dekker. New York, USA

17. Moczkowska M., Karp S., Niu Y. & Kurek M. A. (2019). Enzymatic, enzymatic-ultrasonic and alkaline extraction of soluble dietary fibre from flaxseed – A physicochemical approach. *Food Hydrocolloids*. 90, 105 – 112.

18. Wang, K., Li, M., Wang, Y., Liu, Z., & Ni, Y. (2021). Effects of extraction methods on the structural characteristics and functional properties of dietary fiber extracted from kiwifruit (Actinidia deliciosa). *Food Hydrocolloids*. 110, 106162.

19. Elleuch M. A., Bedigian D., Roiseux O., Besbes S., Blecker C. S., & Attia H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124, 411 - 421.

DETERMINATION OF FIBER EXTRACTION CONDITIONS COMBINED WITH ENZYME PECTINEX®-ASSISTED EXTRACTION FROM THE PEEL OF CAT CHU MANGO (*Mangifera indica* L.)

Tran Chi Nhan[1], Kieu Minh Vuong[1], Tran Thi Tu Nguyen[1], Nguyen Bao Loc[1], Lưu Thai Danh[2], Nguyen Nhat Minh Phương[1,*]

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

[2] College of Agriculture, Can Tho University

** Email: nnmphuong@ctu.edu.vn*

Summary

To utilize the abundant by - products discharged in the processing of Cat Chu mangoes (*Mangifera indica* L.), the study focused on determining fiber extraction conditions to the yield and physicochemical properties (Water Retention Capacity - WRC, Oil Retention Capacity - ORC, Water Solubility - WS, Emulsion Capacity - EC, Emulsion Stability - ES) of fiber combined with enzyme Pectinex®-assisted extraction form the peel of Cat Chu mangoes. The treated mango peel powder was used to determine the efficiency of fiber extraction in assisting the enzyme Pectinex® Ultra SP-L. The designed experimental details are as follows: Pectinex® Ultra SP-L activity (0 - 60 U/mL), extraction temperature (25 - 55°C), buffer solution pH (3.5 - 5.5), extraction time (30 - 120 minutes) and liquid/solid ratio (10 - 25 mL/g). The results showed that Pectinex® Ultra SP-L activity, temperature, pH, time, and liquid/solid ratio for high fiber recovery (19.26 ± 2.32%) were 42 U/mL, 45°C, 5.5, 30 minutes, and 20 mL/g, respectively. The obtained fiber has suitable physicochemical properties in the development of fiber-rich products (WRC = 2.99±0.22 g/g, ORC = 1.42±0.06 g/g, WS = 92.89±2.47%, EC = 49.74±1.47%, ES = 8.20±1.34%.

Keywords: *Cat Chu mango, dietary fiber, extraction, Pectinex® Ultra SP-L.*

Người phản biện: PGS.TS. Hồ Thanh Bình

Ngày nhận bài: 24/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 21/4/2023

Ngày duyệt đăng: 28/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH CHIÊN ĐẾN HÀM LƯỢNG ANTOXIAN VÀ CHẤT LƯỢNG BÁNH QUE GẠO GIÒN BỔ SUNG KHOAI LANG TÍM

Nguyễn Bình Phương Khanh[1], Nhan Minh Trí[1,*]

TÓM TẮT

Củ khoai lang tím chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao (chất xơ, antoxian). Gạo IR50404 là loại gạo được trồng phổ biến tại đồng bằng sông Cửu Long nhưng giá rẻ. Do đó, việc tận dụng khoai lang tím và gạo IR50404 để chế biến bánh que giòn có giá trị dinh dưỡng và cảm quan là cần thiết. Mục tiêu của nghiên cứu là khảo sát (i) nhiệt độ chiên (150°C, 160°C và 170°C) và (ii) thời gian chiên (60, 90, 120 và 150 giây) đến biến đổi chất lượng bánh que giòn (độ ẩm, đường kính, độ cứng, hàm lượng anthocyanin và cảm quan). Kết quả cho thấy, thời gian chiên ảnh hưởng mạnh đến sự giảm độ ẩm, độ cứng và hàm lượng antoxian của bánh que giòn hơn so với nhiệt độ chiên. Nhiệt độ ảnh hưởng đến sự thay đổi đường kính bánh que. Hàm lượng antoxian và giá trị cảm quan của bánh que giòn tốt nếu bánh được chiên ở nhiệt độ 160°C trong 120 giây. Nghiên cứu này góp phần phát triển sản phẩm mới và cải thiện chuỗi thực phẩm từ khoai lang kết hợp với gạo IR50404 ở đồng bằng sông Cửu Long.

Từ khóa: *Antoxian, bánh que giòn, độ ẩm, độ cứng, đường kính, gạo, khoai lang tím.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở nước ta, khoai lang là cây lương thực đứng thứ ba sau lúa, ngô (bắp) và đứng thứ hai về giá trị kinh tế đối với cây có củ sau khoai tây. Bên cạnh cây lúa được trồng phổ biến và rộng rãi thì các loại khoai lang (bí, sữa, tím và trắng) cũng được trồng với sản lượng lớn ở đồng bằng sông Cửu Long. Tuy nhiên, giá cả của các loại khoai lang thường giảm và không ổn định. Bên cạnh đó, lượng khoai bị gãy vỡ do thu hoạch, vận chuyển hoặc không đạt kích cỡ còn nhiều. Hiện nay, để nâng cao vai trò của khoai lang, tận dụng nguồn khoai lang tươi sẵn có, khoai gãy vỡ và khoai củ không đạt kích cỡ, đã có nhiều nghiên cứu cho ra các sản phẩm bổ sung khoai lang như bánh tráng sữa khoai lang [1], bánh mochi khoai lang [2] và bánh phồng tôm khoai lang [3].

Bánh que giòn có thành phần chính là bột gạo và khoai lang tím. Trong đó, bột gạo được làm từ gạo IR50404 – loại gạo được trồng nhiều ở đồng bằng sông Cửu Long nhưng giá thành thấp. Vì thế, bánh que giòn giúp tận dụng và nâng cao giá trị phụ phẩm tấm và khoai lang dạt bằng cách chế biến bánh que giòn. Bánh que giòn được chế biến từ củ khoai lang tím nên có màu tím đẹp và dinh dưỡng cao [4]. Ngoài thành phần tinh bột, khoai lang là nguồn dự trữ dồi dào vitamin A, vitamin C, mangan, đồng, xơ tiêu hóa, vitamin B_6, kali, sắt [4]. Antoxian được xem là một chất màu tự nhiên hấp dẫn và không độc hại [5]. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, antoxian là chất chống oxy hóa tốt [6], giúp cơ thể loại bỏ các gốc tự do và phòng ngừa bệnh ung thư, bệnh tim mạch và bệnh đái tháo đường type 2 [7]. Tuy nhiên, hàm lượng antoxian giảm trong quá trình chế biến nhiệt. Quá trình nướng, luộc và hấp làm giảm nhiều antoxian hơn so với chiên và nấu áp suất [8]. Nhiệt độ và thời gian chiên ảnh hưởng thuận chiều với độ cứng của snack khoai lang [9]. Nghiên cứu này đánh giá sự thay đổi hàm lượng antoxian, độ cứng và đường kính của bánh que giòn được chế biến từ bột gạo IR50404 và khoai lang tím theo nhiệt độ và thời gian chiên.

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ
[*]Email: nhanmtri@ctu.edu.vn

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Khoai lang tím được thu mua tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long. Nguyên liệu sau khi đem về đến phòng thí nghiệm được rửa, làm ráo và bảo quản trong kho mát 15°C, không quá 7 ngày. Tấm của gạo IR50404 được thu mua tại xã Tân An, thị xã Tân Châu, tỉnh An Giang. Gạo tấm này được xay nhuyễn và được rây qua lỗ có đường kính 0,101 mm. Các gia vị (đường, muối, tiêu) được mua ở Siêu thị Coopmart Cần Thơ

2.2. Chuẩn bị mẫu

Củ khoai lang tím sạch được cắt khoanh với bề dày 1 cm. Các khoanh khoai lang (500 g) được hấp ở nhiệt độ 100°C trong 20 phút. Khoai lang hấp được nghiền mịn qua rây 0,101 mm. Khoai lang hấp có độ ẩm 68,4% và hàm lượng antoxian 0,08%. Hỗn hợp bột bao gồm bột gạo và bột khoai lang tím được trộn với tỷ lệ 1: 1. Các phụ gia (2% xanthan gum, 1% $NaHCO_3$, 1% axit xitric) được bổ sung theo tỷ lệ hỗn hợp bột. Nước được sử dụng với tỉ lệ so với bột gạo 1: 1. Hỗn hợp bột nhào được ép qua khuôn có đường kính 2,65 mm để tạo sợi. Sau khi được cắt với chiều dài 10 cm, mỗi mẫu que (40 sợi, khoảng 30 g) được chiên trong bể điều nhiệt với nhiệt độ 150°C, 160°C và 170°C và thời gian 60, 90, 120 và 150 giây. Bể điều nhiệt chứa 2 lít dầu với chiều cao 10 cm.

2.3. Hàm lượng ẩm

Hàm lượng ẩm (độ ẩm) được xác định bằng cách sấy ở nhiệt độ 105°C theo phương pháp của Luigi (2004) [10].

2.4. Hàm lượng antoxian

Hàm lượng antoxian được xác định theo phương pháp vi sai [11]. Độ hấp thu màu antoxian trong dung dịch đệm khác nhau (pH 1 và 4,5) được đo tại các bước sóng, lần lượt tương ứng 510 và 700 nm với máy hấp thu quang phổ U-2800 (Simadzu, Nhật Bản). Hàm lượng antoxian tổng được tính theo xyanidin-3-glucozit:

$$a = \frac{A.M.K.V}{\varepsilon.l} \qquad [1]$$

Trong đó: A = $(A_{\lambda max \cdot pH=1} - A_{700nm \cdot pH=1}) - (A_{\lambda max \cdot pH=4,5} - A_{700nm \cdot pH=4,5})$; $A_{\lambda max}$, $A_{700nm:}$ là độ hấp thụ tại bước sóng cực đại và 700 nm, ở pH = 1 và 4,5; M là khối lượng phân tử của antoxian, M = 449,2 g/mol; l: Chiều dày cuvet (cm); K là độ pha loãng; V là thể tích dịch chiết (lit). Từ đó tính được hàm lượng antoxian theo phần trăm căn bản khô. Trong đó: m: khối lượng nguyên liệu ban đầu (g); w: độ ẩm nguyên liệu (%).

$$C\% = \frac{a}{m.(100-w).10^{-2}}100 \qquad [2]$$

2.5. Độ cứng

Phương pháp đo độ cứng được thực hiện theo Abd Rahman và cs (2017) [9]. Độ cứng của bánh que được đo bằng Rheotex (Mỹ) với với lực nén 50 N. Đầu đo hình trụ có đường kính 4 mm di chuyển xuống với tốc độ 0,3 cm/giây đến khi mẫu bị gãy. Mỗi mẫu được đo 5 lần.

2.6. Đường kính

Đường kính của mỗi que được đo bằng thước kẹp điện tử (Vernier, Nhật Bản) tại 3 vị trí (đầu, giữa và cuối) của que. Mỗi mẫu (10 que) được đo đường kính trước và sau khi chiên.

2.7. Đánh giá cảm quan

Đánh giá cảm quan bánh theo phương pháp QDA (Quantitative DescriptiveAnalysis) được mô tả bởi Poste và cs (1991) [12]. 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.

2.8. Phân tích số liệu

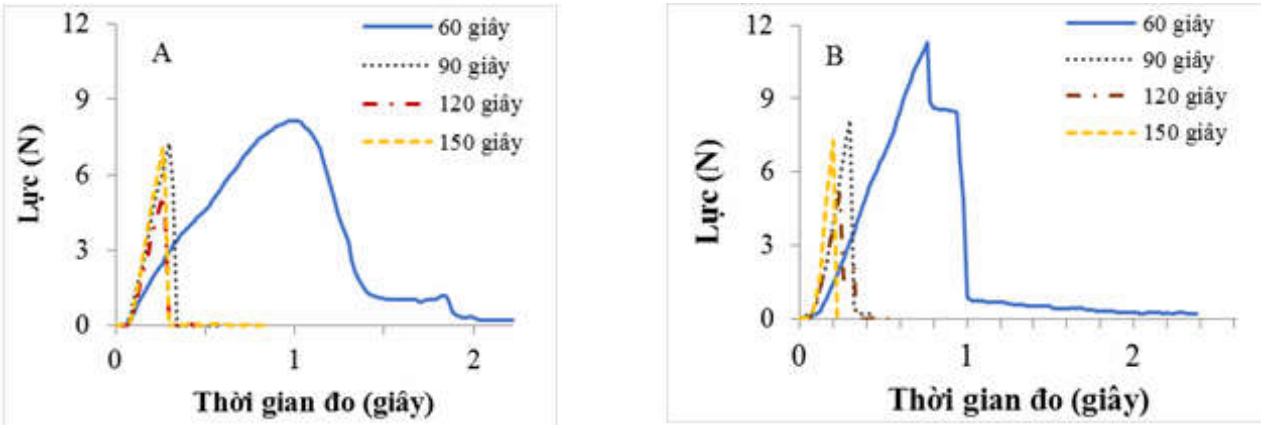
Tất cả thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được thống kế bằng chương trình Stagraphic Centurion 15 để tính ANOVA, kiểm định bằng Fisher t test, sự khác biệt có ý nghĩa (LSD), hệ số tương quan Pearson ở mức alpha = 0,05. Phần trăm

ảnh hưởng (variance component) được tính tỷ lệ % giữa tổng bình phương độ lệch (sum of square) so với tổng các độ lệch bình phương toàn bộ (total sum of square).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiên đến độ cứng, đường kính và hàm lượng antoxian của bánh que giòn

Bánh que được chiên trong bể điều nhiệt ở các nhiệt độ 150°C, 160°C và 170°C trong các khoảng thời gian 60, 90, 120 và 150 giây. Sau khi chiên, bánh que được làm nguội 15 phút để đánh giá các chỉ tiêu (độ ẩm, độ cứng, đường kính và hàm lượng antoxian). Kết quả được thể hiện trên hình 1 và bảng 1.



Hình 1. Lực đo cấu trúc của bánh que khi chiên ở 160°C và 170°C

Hình 1 cho thấy các mẫu được chiên trong 60 giây còn dai nên thời gian phá vỡ lâu hơn các mẫu khác. Do thời gian chiên ngắn nên độ ẩm còn nhiều (Bảng 3) và cấu trúc dai. Khi thời gian chiên tăng, độ ẩm giảm và bánh que giòn nên lực phá vỡ có đỉnh nhọn. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Huda và Amira (2021) [13], theo đó, độ ẩm cao làm cho bánh dai và cứng hơn khi chiên snack đại mạch với đậu nành. Sự hiện diện của nước giúp các phân tử tinh bột liên kết ngang tạo gel và đàn hồi. Khi nhiệt độ và thời gian chiên đủ lớn, nước còn lại ít, tinh bột tái kết tinh, bị lão hóa, khô cứng và giòn.

Bảng 1 cho thấy, nhiệt độ chiên có tác động mạnh ($p<0,001$) đến sự thay đổi độ ẩm và hàm lượng antoxian [14]. Tuy nhiên, nhiệt độ tác động trung bình ($p<0,01$) đến sự thay đổi cấu trúc. Thời gian chiên có tác động mạnh ($p<0,001$) đến độ ẩm, độ cứng và hàm lượng antoxian của bánh que.

Bảng 1. Tác động của nhiệt độ chiên và thời gian chiên đến sự thay đổi độ cứng, đường kính và hàm lượng antoxian (%) của bánh que giòn

Nhân tố	Trung bình bình phương			
	Độ ẩm (%)	Độ cứng (N)	Đường kính (mm)	Antoxian (%/CBK)
Nhiệt độ chiên (^{0}C)	88,41***	8,87**	0,007	0,00008***
Thời gian chiên (giây)	197,88***	19,23***	0,003	0,00015***
Nhiệt độ chiên x thời gian chiên	14,83***	8,14**	0,004	0,00008***
Sai số	0,23	1,62	0,003	0,00000

*Ghi chú: ***: p<0,001; **: 0,001<p<0,01; *: p<0,05; CBK: căn bản khô.*

Sự tương tác của nhiệt độ chiên và thời gian chiên có tác động mạnh (p<0,001) đến sự thay đổi độ ẩm và hàm lượng antoxian, nhưng có tác động trung bình (p<0,01) đến độ cứng của bánh que giòn. Ngoài ra, đường kính của bánh que gần như không chịu tác động đáng kể nào của nhiệt độ và thời gian.

Bảng 2. Phần trăm ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiên đến độ cứng, đường kính và hàm lượng antoxian của bánh que giòn

Nhân tố	Phần trăm ảnh hưởng (%)			
	Độ ẩm (%)	Độ cứng (N)	Đường kính (mm)	Antoxian (%/CBK)
Nhiệt độ (^{0}C)	20,26	13,79	15,36	15,02
Thời gian (giây)	68,04	58,17	8,03	40,23
Nhiệt độ x thời gian	10,20	12,33	23,11	43,92
Sai số	0,66	5,71	53,50	1,42

Bảng 2 cho thấy, nhiệt độ chiên ảnh hưởng sự thay đổi độ ẩm, độ cứng, đường kính và hàm lượng antoxian, lần lượt là 20,26%, 13,79%, 15,36% và 15,02%. Trong khi đó, thời gian chiên ảnh hưởng 68% đến sự thay đổi độ ẩm, 58% đến độ cứng và 40,23% đến antoxian. Bên cạnh đó, sự tương tác giữa hai nhân tố nhiệt độ chiên và thời gian chiên cũng đóng góp 43,92% vào sự ảnh hưởng đến hàm lượng antoxian.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiên đến độ ẩm, độ cứng, đường kính và hàm lượng antoxian của bánh que giòn

Nhân tố		Độ ẩm (%)	Độ cứng (N)	Đường kính (mm)	Antoxian (%/CBK)
Nhiệt độ chiên (^{0}C)	150	$10,16^a \pm 5,32$	$7,02^a \pm 1,52$	$3,20^a \pm 0,05$	$0,022^a \pm 0,002$
	160	$8,79^b \pm 5,33$	$6,55^b \pm 1,29$	$3,15^b \pm 0,05$	$0,019^b \pm 0,003$
	170	$3,82^c \pm 2,14$	$6,53^b \pm 2,28$	$3,19^{ab} \pm 0,06$	$0,016^c \pm 0.010$
Thời gian chiên (giây)	60	$14,56^a \pm 5,13$	$8,59^a \pm 2,77$	$3,20^a \pm 0,07$	$0,024^a \pm 0,003$
	90	$8,77^b \pm 1,63$	$7,28^b \pm 1,77$	$3,18^a \pm 0,04$	$0,020^b \pm 0,000$
	120	$5,61^c \pm 1,47$	$5,06^c \pm 0,71$	$3,20^a \pm 0,04$	$0,019^c \pm 0,005$
	150	$3,52^d \pm 1,33$	$6,20^b \pm 0,59$	$3,18^a \pm 0,06$	$0,012^d \pm 0,010$

Ghi chú: Số liệu là trung bình của ba lần lặp lại, các số trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thì có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê (p<0,05) theo phép thử LSD. CBK: căn bản khô.

Độ ẩm: Bảng 3 cho thấy, khi nhiệt độ và thời gian chiên tăng thì độ ẩm của bánh giảm đến khoảng 3,5%, giúp bánh giòn. Do đó, độ cứng giảm (bánh dễ gãy) sau khi chiên ở nhiệt độ và thời gian tăng [9]. Abd Rahman và cs (2017) [9] cũng báo cáo rằng, snack khoai lang chiên giòn có độ cứng giảm khi nhiệt độ tăng hoặc thời gian chiên tăng.

Độ ẩm bánh que giảm do sự mất nước ở bề mặt và nước không liên kết bên trong bánh trong quá trình chiên ngập trong dầu nóng. Độ ẩm giảm khi tăng nhiệt độ chiên. Nhiệt độ cao dẫn tới mất nước do sự bay hơi nước, ban đầu là lớp nước ở bề mặt và sau đó ở giao diện giữa lớp khô và lõi ẩm bên trong thực phẩm.

Độ cứng: Cấu trúc của bánh que chiên là đặc tính quan trọng và chủ yếu do sự hình thành tính chất giòn mà người tiêu dùng ưu thích. Cấu trúc bánh hình thành là do nhiều biến đổi như sự hồ hóa tinh bột, biến tính protein và bay hơi nước trong quá trình chiên [15]. Khi chiên ở nhiệt độ thấp (150°C) và thời gian ngắn (60 giây), bánh que có độ cứng lớn. Bánh có độ cứng giảm khi nhiệt độ cao và thời gian chiên dài, khi đó độ ẩm bánh giảm và giòn. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Cruz và cs (2018), theo đó độ ẩm 2% của chip khoai tây chiên giòn. Chip đại mạch và đậu hành đạt được độ giòn khi độ ẩm khoảng 3,61% [16].

Đường kính: Đường kính của bánh que (3,18 - 3,20 mm) tăng hơn so với ban đầu (2,65 mm) do khí dãn nở. Bên cạnh khí CO_2 sinh ra từ $NaHCO_3$ thì hơi nước bốc hơi khi chiên ở nhiệt độ cao (150°C - 170°C) cũng làm tăng kích thước của bánh. Tuy nhiên, đường kính của bánh que không khác biệt có ý nghĩa vì hơi nước bay hơi vừa giúp dãn nở vừa làm bánh co lại, vì vậy nhiệt độ chiên đều làm phồng bánh ở cùng 1 kích thước. Sự dãn nở kích thước này tương đồng với kết quả của Huda và Amira (2021) [13] khi chiên snack.

Hàm lượng antoxian: Hàm lượng antoxian (theo CBK) trong bánh que giảm dần khi nhiệt độ chiên tăng và thời gian chiên kéo dài. Khi được chiên ở nhiệt độ 170°C, bánh que chứa hàm lượng antoxian (0,016%) thấp nhất. Hàm lượng antoxian (0,012%) trong bánh que là thấp nhất khi được chiên ở 150 giây. Antoxian rất nhạy cảm trong quá trình chiên [17] và bị phân hủy trong quá trình chiên, chiên không dầu và chiên có đảo trộn [18]. Sự giảm hàm lượng antoxian trong khoai lang giảm theo nhiệt độ chiên [17] cũng tương đồng quy luật với kết quả nghiên cứu này.

3.2. Mối tương quan giữa nhiệt độ chiên và thời gian chiên với các chỉ tiêu của bánh que giòn

Khi chiên, các chỉ tiêu chất lượng của bánh thay đổi theo thời gian và nhiệt độ chiên. Hệ số tương quan Pearson được tính để kiểm tra mối quan hệ giữa các nhân tố (nhiệt độ và thời gian chiên) và các tính chất của bánh que chiên (độ ẩm, độ cứng, đường kính, hàm lượng antoxian).

Bảng 4. Hệ số tương quan (r) giữa nhiệt độ chiên và thời gian chiên với các chỉ tiêu của bánh que giòn

	Nhiệt độ (^{0}C)	Thời gian (giây)	Độ cứng (N)	Đường kính (mm)	Antoxian (%/CBK)
Độ cứng (N)	0,52**	-0,80***			
Đường kính (mm)	-0,18	0,14	0,23		
Hàm lượng Antoxian (%)	-0,40*	-0,60**	0,03	-0,16	
Độ ẩm	-0,43**	-0,78***	-0,53**	-0,39*	0,92***

*Ghi chú: ***: p<0,001; **: 0,001<p<0,01; *: p<0,05.*

Bảng 4 cho thấy, nhiệt độ chiên có quan hệ thuận chiều trung bình (p<0,01) với độ cứng do nhiệt độ đủ cao sự hồ hóa tinh bột và bóc nước góp phần tạo lớp vỏ cứng bên ngoài. Tương tự, snack khoai lang cứng giòn hơn khi chiên ở nhiệt độ cao (160°C) so với nhiệt độ thấp (140°C) [9]. Thời gian chiên có quan hệ nghịch chiều mạnh (p<0,01) độ ẩm và độ cứng. Lượng ẩm bốc hơi càng nhiều khỏi bánh que khi chiên càng lâu, ẩm còn lại ít và cấu trúc giòn và dễ gãy vỡ [19]. Hàm lượng antoxian có quan hệ nghịch chiều yếu (p<0,05) với nhiệt độ chiên và nghịch chiều trung bình (p<0,01) với thời gian chiên. Khi nhiệt độ càng cao, antoxian bị

phân hủy càng nhanh [19]. Hàm lượng antoxian có quan hệ thuận chiều mạnh (p<0,001) với độ ẩm.

3.3. Ảnh hưởng nhiệt độ và thời gian chiên đến giá trị cảm quan của bánh que chiên

Sau khi chiên và để nguội 30 phút, các mẫu bánh que được đánh giá cảm quan theo phương pháp của Poste và cs (1991) [12] bởi 10 thành viên. Điểm cảm quan được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng nhiệt độ và thời gian chiên đến giá trị cảm quan của bánh que chiên giòn

Nhân tố		Giá trị cảm quan			
		Màu	Mùi	Vị	Cấu trúc
Nhiệt độ chiên (°C)	150	$3,98^{a}$±0,36	$3,45^{a}$±0,41	$3,57^{a}$±0,40	$2,03^{b}$±0,27
	160	$3,65^{a}$±0,57	$3,75^{a}$±0,72	$3,67^{a}$±0,73	$3,45^{a}$±0,92
	170	$2,93^{c}$±0,29	$2,42^{b}$±0,26	$2,48^{b}$±0,28	$3,18^{a}$±0,36
Thời gian chiên (giây)	60	$3,52^{a}$±0,50	$3,35^{a}$±0,53	$3,65^{a}$±0,54	$2,27^{c}$±0,58
	90	$3,38^{ab}$±0,47	$3,27^{a}$±0,57	$3,30^{b}$±0,60	$3,17^{b}$±0,58
	120	$3,21^{b}$±0,47	$3,33^{a}$±0,62	$3,48^{ab}$±0,65	$3,47^{a}$±0,60
	150	$3,18^{b}$±0,49	$3,00^{b}$±0,70	$3,03^{c}$±0,73	$3,20^{ab}$±0,66

Ghi chú: Số liệu là trung bình của ba lần lặp lại, các số trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau thì có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê (p<0,05) theo phép thử LSD.

Màu sắc của bánh que giòn thay đổi khi bánh được chiên ở nhiệt độ và thời gian khác nhau. Nhiệt độ chiên càng lớn, thời gian chiên càng lâu sẽ làm cho bánh càng sậm màu. Nhiệt độ chiên tăng và thời gian chiên dài làm bánh sậm màu do phản ứng Maillard giữa axit amin và đường khử. Hơn nữa, màu tím giảm do antoxian phân hủy [14]. Chính vì vậy, giá trị cảm quan về màu sắc của bánh que giảm dần theo thời gian.

Cấu trúc của bánh có sự khác biệt nhiều khi bánh được chiên ở nhiệt độ và thời gian khác nhau. Độ cứng của bánh giảm dần, từ 7,02 - 6,53 N/cm^2 khi được chiên ở nhiệt độ từ 150 - 170°C. Do đó, khi được chiên ở nhiệt độ 150°C trong thời gian ngắn (60-120 giây), bánh có cấu trúc dai, nên lực cần phá vỡ lớn (7,02 N/cm^2). Nếu thời gian chiên đủ lâu (150 giây) thì bánh nở, khô, giòn và dễ vỡ nên lực nhỏ (5,53 N/cm^2). Chính vì vậy, giá trị cảm quan về cấu trúc được đánh giá cao khi chiên ở nhiệt độ cao và thời gian dài. Bánh được chiên ở 170°C trong 150 giây sẽ cứng, giòn. Nếu bánh được chiên đủ thời gian thì bánh có cấu trúc giòn tan.

Đánh giá cảm quan ở bảng 4 cho thấy, khi được chiên ở 160^{0}C trong thời gian 120 giây thì bánh que có độ nở tốt, cấu trúc giòn xốp, có màu tím đẹp, mùi thơi hài hòa giữa mùi chiên và mùi thơm khoai lang.

4. KẾT LUẬN

Thời gian chiên ảnh hưởng mạnh đến sự giảm độ ẩm, độ cứng và hàm lượng antoxian của bánh que từ bột gạo IR50404 và khoai lang tím Nhật. Nhiệt độ chiên ảnh hưởng nhiều đến sự thay đổi đường kính bánh que. Bánh que khoai lang tím với bột gạo đạt độ giòn khi độ ẩm khoảng 3 - 4%. Bánh que đạt giá trị cảm quan cao về độ giòn xốp, mùi thơm khoai lang và chiên, màu tím tươi khi được chiên ở 160° trong 120 giây. Độ ẩm có quan hệ nghịch chiều mạnh với độ cứng nhưng quan hệ thuận chiều mạnh với antoxian. Nghiên cứu này góp phần phát triển các sản phẩm chiên từ các

nguyên liệu gạo và khoai lang tím Nhật ở đồng bằng sông Cửu Long.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nhan Minh Trí (2015). Các biến đổi trong quá trình chế biến ảnh hưởng đến chất lượng bánh tráng sữa khoai lang tím. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. (39): 29-35.

2. Tarek S. Tayeb E, Hemmat M. Abdelhady and Emad A. S. (2015). Chemical phýical and sensory properties of sweetpotato cake. *Egypt. J. Agriculture Research*. 93 (1): 101-115.

3. Nhan Minh Trí, Trần Thị Thùy Trang và Phạm Văn Tâm (2016). Ảnh hưởng của việc bổ sung khoai lang đến sự thay đổi quá trình làm lạnh và chất lượng bánh phồng tôm. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 190- 197. Chuyên đề Nông nghiệp Xanh.

4. Nguyễn Thị Lang (2014). Chọn lọc giống khoai lang mới và xây dựng vùng sản xuất giống khoai lang tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long. Đề tài nghiên cứu khoa học cấp tỉnh Vĩnh Long.

5. Montilla E. C., Hillebrand S., Butschbach D., Baldermann S., Watanabe N. & Winterhalter P. (2010). Preparative isolation of anthocyanins from Japanese purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) varieties by high-speed countercurrent chromatography. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 58 (18): 9899-9904.

6. He J. and Giusti M. M. (2010). Anthocyanins: Natural colorants with health-promoting properties. Annu. Rev. *Food Science Technoolgy*. 1, 163-187.

7. Felgines C., Talavera S., Texier O., Besson C., Fogliano V., Lamaison J. L., La Fauci L., Galvano G., Remesy C. and Galvano F. (2006). Absorption and metabolism of red orange juice anthocyanins in rats. *Brazil J. Nutrition*. 95: 898-904.

8. Kim H. J., Park W. S., Ji-Yeong Bae J. Y., Kang S. Y., Yang H. M., Lee S., Lee H. S., Kwak S. S. and Ahn M. J. (2015). Variations in the carotenoid and anthocyanin contents of Korean 4 cultural varieties and home-processed sweet potatoes. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2536 1–6.

9. 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.

10. AOAC (2004). Official methods of Analysis, AOAC 967.21 IFU Method No 17. The Association of official chemists 18th ed. Arlington, USA.

11. Lee J., Durst R. W. and Wrolstad R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *J. AOAC Int*. 88, 1269-1278.

12. 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.

13. Huda A. A. J. and Amira M. G. D. (2021). Frying Time and Temperature Conditions' Influences on Physicochemical, Texture, and Sensorial Quality Parameters of Barley-Soybean Chips. *Journal of Food Quality*. https://doi.org/10.1155/2021/5748495.

14. Balunkeswar Nayak, Jose De J. Berrios, Joseph R. Powers and Juming Tang (2011). Thermal Degradation of Anthocyanins from Purple Potato (Cv. Purple Majesty) and Impact on Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59 (20).

15. Bouchon P., Hollins P., Pearson M., Pyle D. L. and Tobin M. J. (2001). Oil distribution in fried potatotes monitored by infrared mincrospectroscopy. *Journal of Food Science*, 66, 918–923.

16. Mohammadi M. T., Bahram P. M. and Razavi S. M. (2015). Effect of frying temperature and time on image characterizations of pellet snacks. *J. Food Sci. Technol.* 52(5): 2958-65.

17. Brown C. R., Durst R., Wrolstad R., Jong W. (2008). Variability of phytonutrient content of potato in relation to growing location and cooking method. Potato Research 51, 259–270.

18. Liao M., Zou B., Chen J., Yao Z., Huang L., Luo Z. and Wang Z. (2019). Effect of domestic cooking methods on the anthocyanins and antioxidant activity of deeply purple-fleshed sweetpotato GZ9. Heliyon. 16;5(4): e01515.

19. Cruz G., Cruz-Tirado and Delgado K. (2018). Impact of predrying and frying time on physical properties and sensorial acceptability of fried potato chips. *Journal of Food Science & Technology*, vol. 55, no. 1, pp. 138–144.

EFFECTS OF FRYING ON ANTHOCYANIN CONTENT AND QUALITY OF RICE CRISPY STICKS ADDED PURPLE SWEET POTATO

Nguyen Binh Phuong Khanh[1], Nhan Minh Tri[1,*]

[1]Institute of Food and BioTechnology, Can Tho University

[*]Email nhanmtri@ctu.edu.vn

Summary

Purple sweet potato roots contain high content of bioactive compounds (fiber, anthocyanin). IR50404 rice is a popular rice grown in the Mekong delta but cheap. Therefore, it is necessary to ultilize potatoes and rice to process crispy sticks with good nutritional values. The objective of the study was to investigate (i) frying temperature (150°C, 160°C and 170°C) and (ii) frying time (60, 90, 120 and 150 seconds) to change the quality of crispy sticks (moisture, diameter, hardness, anthocyanin content and sensory values). The results showed that frying time more strongly affected on reduction of moisture content, hardness and anthocyanin content of crispy sticks than frying temperature. Frying at 160°C for 120 seconds, the products had good sensory values and high content of anthocyanin. This research contributes to develop the new product from IR50404 rice and purple sweet potato roots in the Mekong delta river.

Keywords: *Anthocyanin, crispy sticks, moisture, hardness, diameter, purple sweet potato, rice.*

Người phản biện: PGS.TS. Lương Hồng Nga

Ngày nhận bài: 13/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 12/4/2023

Ngày duyệt đăng: 19/4/2023

XÂY DỰNG QUY TRÌNH CHẾ BIẾN SA LÁT GUACAMOLE TỪ QUẢ BƠ

Nguyễn Văn Lợi[1,*], Lê Anh Tuấn[1], Trần Văn Quy[1],
Vũ Kiều Sâm[2], Phạm Thị Bình[2]

TÓM TẮT

Sa lát guacamole là sản phẩm giàu các thành phần vitamin, khoáng chất, đường, lipit, protein và các chất có hoạt tính sinh học cao rất cần thiết cho sự phát triển cũng như duy trì sức khỏe của con người. Nguồn nguyên liệu để chế biến sa lát hiện nay rất đa dạng và phong phú, đặc biệt là quả bơ. Quả bơ là loại quả giàu giá trị dinh dưỡng, như lipit, đường, protein, vitamin, chất khoáng và các chất có hoạt tính sinh học cao. Mục đích của nghiên cứu này là xây dựng quy trình chế biến sa lát guacamole từ quả bơ. Trong 5 công thức thí nghiệm đã xác định được công thức CT-D là phù hợp để xây dựng quy trình chế biến sa lát guacamole với hàm lượng các thành phần nguyên liệu là: Thịt quả bơ 63,95%, đường trắng 0,02%, cà chua 8,9%, hành tây 3,8%, hành tím 3,7%, tỏi 0,4%, rau mùi 5,2%, ớt chuông 3,9%, β-cyclodextrin và maltodextrin 0,3%, axit ascobic 0,05%, bơ 2,4%, xốt mayonnaise 6,7%, tinh dầu vani 0,02%, hồ tiêu 0,01% và muối ăn 0,5%. Đã xây dựng được quy trình chế biến sa lát guacamole với các thông số công nghệ như: Sản phẩm đóng trong lọ thủy tinh chuyên dụng và có nắp đậy kín, sản phẩm được phủ một lớp nước cốt chanh trên bề mặt với hàm lượng 0,15%, đóng chặt nắp và bảo quản lạnh ở nhiệt độ 5°C.

Từ khóa: *Chỉ tiêu cảm quan, quả bơ, quy trình chế biến, sa lát guacamone, thời hạn bảo quản.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sa lát guacamole là sản phẩm giàu các thành phần vitamin, khoáng chất, đường, lipit, protein và các chất có hoạt tính sinh học cao rất cần thiết cho sự phát triển cũng như duy trì sức khỏe của con người. Sa lát ngày càng được sử dụng phổ biến và rộng rãi trong các bữa ăn hằng ngày. Tuy nhiên, các sản phẩm sa lát hiện nay chủ yếu được sử dụng ăn tươi trong ngày mà chưa được quan tâm nghiên cứu sản xuất, chế biến với quy mô công nghiệp, có thời hạn bảo quản dài ngày và vận chuyển được đi xa. Trong khi đó, nguồn nguyên liệu để sản xuất, chế biến sa lát hiện nay rất đa dạng và phong phú, đặc biệt là quả bơ.

Cây bơ có tên khoa học là *Avocado,* là cây ăn quả có giá trị kinh tế cao. Quả bơ là loại quả giàu giá trị dinh dưỡng, như lipit, đường, protein, vitamin, chất khoáng và các chất có hoạt tính sinh học cao [1, 2, 3]. Trong 100 g phần ăn được của quả bơ có chứa 8,53 g hidrat cacbon, 0,66 g đường, 6,7g chất xơ, 14,66 g chất béo, 9,8 g axit béo không no có một liên kết đôi, 1,82 g axit béo không no có hai liên kết đôi, 2,13g axit béo no, 2,3 g protein, 0,067 mg vitamin B1, 0,130 mg vitamin B_2, 10 mg vitamin C, 12 mg canxi, 0,55 mg sắt, 29 mg magie, 52 mg phốt pho, 0,64 mg kẽm và 485 mg kali... Quả bơ có chứa nhiều axit béo không no, đây là những axit béo không no có tác dụng tốt cho cơ thể con người và làm giảm hàm lượng colesterôn [1, 2, 3].

Ở Việt Nam, cây bơ được trồng khắp các địa phương trong cả nước, đặc biệt là ở các tỉnh Tây Nguyên và các tỉnh miền núi phía Bắc. Đắk Nông là tỉnh có địa hình, điều kiện tự nhiên, khí hậu, thổ nhưỡng thuận lợi để phát triển cây bơ, diện tích và sản lượng bơ của tỉnh liên tục gia tăng trong những năm gần đây, với nhiều giống bơ cho năng

[1] Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
[2] Trường Đại học Nông lâm Bắc Giang
[*]Email: nguyenvanloi@hus.edu.vn

suất cao như: Bơ Booth, bơ Cuba, bơ 034, bơ Hass và bơ Sáp. Hiện nay ở nước ta quả bơ vẫn chủ yếu là bán tươi, chế biến các sản phẩm thực phẩm ăn tươi. Việc chế biến quả bơ thành các sản phẩm thực phẩm có thời hạn bảo quản dài ngày, như sa lát guacamole vẫn chưa được quan tâm nghiên cứu một cách đồng bộ và rất ít các công trình khoa học được công bố. Vì vậy, nghiên cứu xây dựng quy trình chế biến sa lát guacamole từ quả bơ là rất cần thiết, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu, dụng cụ, máy móc và thiết bị

2.1.1. Nguyên liệu chính

Nguyên liệu được sử dụng là quả bơ Booth 7 được thu mua tại 3 trang trại trồng bơ trên địa bàn tỉnh Đắk Nông. Quả bơ đạt độ chín kỹ thuật, ở thời điểm 280 ± 5 ngày (kể từ khi đậu quả), quả phải nguyên vẹn, không bị sâu, bệnh và không bị tổn thương. Vỏ quả bơ có màu xanh đậm, bóng, có thể có một số vết màu đen; thịt quả bơ có mùi thơm nhẹ, màu vàng tươi, phần xung quanh vỏ có màu xanh nhạt và mỏng đặc trưng; trạng thái cấu trúc quả bơ khá cứng, cuống còn nguyên, dính chặt vào quả, thịt quả cứng, lớp vỏ hạt tách ra khỏi quả. Bơ được bảo quản trong hộp xốp có đục lỗ và vận chuyển đến phòng thí nghiệm, bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4°C đến 6°C để tiến hành thí nghiệm.

2.1.2. Nguyên liệu phụ và vật liệu

Các nguyên liệu phụ và vật liệu bao gồm: β-cyclodextrin, maltodextrin, axit ascobic, bơ, xốt mayonnaise, tinh dầu vani, nước cốt chanh, hồ tiêu, muối ăn, cà chua, hành tây, tỏi, rau mùi và nước lọc… Các nguyên liệu phụ và vật liệu này đều có nguồn gốc xuất xứ tại Việt Nam, đảm bảo các tiêu chuẩn chất lượng.

2.1.3. Dụng cụ, máy móc và thiết bị

Dụng cụ, máy móc và thiết bị sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: Chiết quang kế ATAGO N-1α của Nhật Bản, cân phân tích 5 số lẻ (ABT 220-5DNM) của hãng Kern - Đức, tủ lạnh, dao inox, thớt gỗ, bình nón, bình định mức, cốc thuỷ tinh và lọ thủy tinh. Các dụng cụ, máy móc và thiết bị đảm bảo các tiêu chuẩn chất lượng và được vệ sinh sạch sẽ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu

Quả bơ được lấy mẫu theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9017: 2011. Quả tươi- Phương pháp lấy mẫu trên vườn sản xuất [4].

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Dựa vào kết quả nghiên cứu thăm dò, đưa ra mô hình thí nghiệm như sau:

Thí nghiệm 1- Xác định tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, nguyên liệu phụ và các phụ gia thực phẩm:

Để xác định tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, nguyên liệu phụ và các phụ gia thực phẩm thích hợp cho chế biến sa lát guacamole, thí nghiệm được bố trí theo 5 công thức và được lặp lại 3 lần như sau:

TT	Tỷ lệ nguyên liệu (%)	Các công thức thí nghiệm				
		CT-A	CT-B	CT-C	CT-D	CT-E
1	Thịt bơ	63,95	63,95	63,95	63,95	63,95
2	β-cyclodextrin, maltodextrin	0	0,1	0,2	0,3	0,4
3	Axit ascorbic	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
4	Bơ	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4
5	Xốt mayonnaise	7,15	7	6,85	6,7	6,55
6	Tinh dầu vani	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
7	Hồ tiêu	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
8	Muối ăn	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

9	Đường trắng	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
10	Cà chua	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9
11	Hành tây	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8
12	Hành tím	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7
13	Tỏi	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
14	Rau mùi	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2
15	Ớt chuông	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9
16	Nước cốt chanh	0	0,05	0,1	0,15	0,2

Đối với 5 công thức thí nghiệm, tiến hành phân tích xác định các chỉ tiêu dinh dưỡng, vi sinh và cảm quan. Sau đó lựa chọn công thức phù hợp nhất để xây dựng quy trình chế biến.

- Thí nghiệm 2- Xác định ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời hạn bảo quản và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm:

Thí nghiệm được tiến hành ở các dải nhiệt độ 1°C, 3°C, 5°C, 7°C và 9°C; tỷ lệ các nguyên liệu thực hiện theo công thức phù hợp được lựa chọn ở thí nghiệm 1 và bao gói trong bao bì bằng thủy tinh chuyên dụng, có nắp đậy kín.

- Thí nghiệm 3- Xác định ảnh hưởng của bao bì đến thời hạn bảo quản và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm:

Đối với sản phẩm sa lát guacamole được thử nghiệm bảo quản ở nhiệt độ 5°C, thực hiện trên hai bao bì là bao bì bằng lọ thủy tinh và bao bì bằng túi nilon; tỷ lệ các nguyên liệu thực hiện theo công thức phù hợp được lựa chọn ở thí nghiệm 1.

2.2.3. Phương pháp phân tích

- Phương pháp phân tích các chỉ tiêu hóa lý và hóa sinh:

Phương pháp xác định hàm lượng chất khô hòa tan: Hàm lượng chất khô hòa tan của sa lát guacamole được xác định bằng chiết quang kế ATAGO N-1α của Nhật Bản, đơn vị đo là °Bx ở 20°C. Khi ánh sáng đi qua dung dịch có chất khô hòa tan khác nhau thì ánh sáng bị khúc xạ với những góc khúc xạ khác nhau, từ đây có thể suy ra được nồng độ chất khô của dịch phân tích [5].

Phương pháp xác định độ pH: Độ pH của sa lát guacamole được thực hiện theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 12348: 2018. Phương pháp này được thực hiện trên nguyên tắc giá trị pH là số đo hoạt độ ion H^+, đo chênh lệch điện thế giữa điện cực thủy tinh và điện cực so sánh được nhúng ngập trong mẫu thử. Điều chỉnh nhiệt độ của mẫu thử đến 25°C và cài đặt bộ kiểm soát bù nhiệt đến nhiệt độ quan sát được. Với một số máy đo pH có thang đo mở rộng, nhiệt độ mẫu thử phải bằng nhiệt độ dung dịch đệm được sử dụng để hiệu chuẩn. Rửa điện cực và thấm bằng khăn mềm; nhúng điện cực vào mẫu và đọc pH, để máy đo ổn định 1 phút. Rửa và thấm điện cực bằng khăn mềm, sau đó lặp lại với mẫu thử mới. Xác định 2 giá trị pH trên mỗi mẫu thử, các số đọc gần bằng nhau cho thấy phần mẫu thử đã đồng nhất [6].

Phương pháp xác định hàm lượng các axit béo bằng phương pháp GC/FID: Xác định hàm lượng các axit béo no và không no (omega 3, 6, 9) bằng phương pháp GC với đầu dò FID. Các axit béo tự do sau khi thủy phân được chiết bằng n-hexan, sau đó cô quay và được methyl este hóa bằng hỗn hợp BF_3 trong methanol. Các FAMEs được phân tích bằng hệ sắc ký khí đầu dò FID, cột mao quản SP-2560. Kết quả được tính từ phần trăm diện tích của từng FAME trên tổng diện tích các peak FAMEs [3].

Phương pháp xác định hàm lượng lipit: Hàm lượng lipit tổng số được xác định theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4592: 1988. Nguyên tắc của phương pháp là dùng dung môi hữu cơ chiết lipid,

làm bay hơi dung môi hữu cơ và xác định lượng lipit còn lại theo phương pháp khối lượng [7].

Phương pháp xác định hàm lượng folat: Hàm lượng folat được xác định theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8978: 2011. Nguyên tắc là mẫu thử sau khi tạo huyền phù trong đệm photphat được làm nóng để chiết folat [8].

Phương pháp xác định hàm lượng K: Hàm lượng K được xác định theo phương pháp hấp thụ nguyên tử trên máy AAS-3300 (Perkin Elmer). Nguyên tắc của phương pháp là xác định nồng độ hay hàm lượng của một hay nhiều nguyên tố trong mẫu phân tích bằng cách đo độ hấp thụ bức xạ bởi nguyên tử tự do của nguyên tố đó được hóa hơi từ mẫu phân tích [9].

Phương pháp xác định hàm lượng vitamin C: Hàm lượng vitamin C được xác định theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6427-2: 1998 [10]. Phương pháp này được thực hiện theo nguyên tắc chiết axit ascobic từ sản phẩm bằng dung dịch axit oxalic hoặc dung dịch axit metaphotphoric/axit axetic. Chuẩn độ bằng 2,6 diclorophenolindophenol cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt.

Phương pháp xác định hàm lượng vitamin E: Hàm lượng vitamin E được xác định theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8276: 2018. Phương pháp này được thực hiện trên nguyên tắc, α-, β-, γ- và δ-tocopherol trong dung dịch mẫu được xác định bằng HPLC dertecto UV hoặc huỳnh quang. Việc nhận biết dựa vào thời gian lưu và được định lượng bằng phương pháp ngoại chuẩn sử dụng diện tích pic hoặc chiều cao pic [11].

- Phương pháp xác định vi sinh vật tổng số:

Vi sinh vật tổng số được xác định theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4884-1: 2005. Chuẩn bị các đĩa khác dưới cùng một điều kiện, sử dụng dung dịch pha loãng thập phân của mẫu thử hoặc huyền phù ban đầu. Các đĩa được ủ trong điều kiện hiếu khí ở 30°C trong 72 giờ. Tính số lượng vi sinh vật trong 1 g hoặc 1 ml mẫu thử theo số lượng khuẩn lạc thu được trong các đĩa có chứa ít hơn 300 khuẩn lạc [12].

- Phương pháp đánh giá cảm quan:

Để đánh giá chất lượng cảm quan của các sản phẩm thực phẩm sa lát guacamole, sử dụng phương pháp cho điểm thị hiếu, được thực hiện với hội đồng gồm 30 người cho mỗi lần thử. Những người này có độ tuổi khác nhau từ 18 - 40 tuổi, cả nam và nữ để nhằm tìm ra sự hài lòng và ưa thích đối với các sản phẩm thực phẩm sa lát guacamole. Trạng thái, màu sắc, mùi, vị, cấu trúc của sa lát guacamole, được xác định theo thang điểm 5 gồm 6 bậc. Tổng điểm của các chỉ tiêu cảm quan cao nhất là 20 điểm và thấp nhất là 0 điểm. Tính điểm trung bình của các thành viên hội đồng đối với từng chỉ tiêu cảm quan, tiếp theo nhân với hệ số quan trọng tương ứng của chỉ tiêu đó gọi là điểm có trọng lượng của từng chỉ tiêu, sau đó tính tổng số điểm có trọng lượng của tất cả các chỉ tiêu cảm quan được số điểm chung (có trọng lượng). Với loại tốt (18,6-20 điểm), loại khá (15,2-18,5), loại trung bình (11,2-15,1), loại kém (7,2-11,1), loại rất kém (4,0-7,2) và loại hỏng (0-3,9). Hệ số quan trọng được hội đồng thống nhất là: Hình thức bên ngoài (1,1), trạng thái bên trong (0,7), mùi (0,9) và vị (1,3) [13].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ phối trộn giữa nguyên liệu chính, các nguyên liệu phụ và phụ gia thực phẩm

Khi phối hợp giữa các nguyên liệu chính, nguyên liệu phụ và phụ gia thực phẩm một cách cân đối, khoa học và hợp lý sẽ góp phần tạo ra sản phẩm có giá trị dinh dưỡng và giá trị cảm quan cao. Để có cơ sở khoa học cho việc xây dựng quy trình chế biến sa lát guacamole, cần phân tích, xác định các chỉ tiêu hóa lý, hóa sinh, chỉ tiêu vi sinh vật và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm.

3.1.1. Chỉ tiêu hóa lý, hóa sinh của sa lát guacamole

Tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, các nguyên liệu phụ và phụ gia thực phẩm có ảnh hưởng rất lớn tới

các thành phần dinh dưỡng của sa lát guacamole. Kết quả xác định các chỉ tiêu hóa lý và hóa sinh của sa lát guacamole được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Chỉ tiêu hóa lý và hóa sinh của sa lát guacamole

TT	Các chỉ tiêu dinh dưỡng	Đơn vị	Kết quả phân tích				
			CT-A	CT-B	CT-C	CT-D	CT-E
1	Chất khô hòa tan	^{o}Bx	8,3^{a}	8,7^{be}	8,9^{cd}	8,9^{cd}	8,7^{be}
2	Độ pH		6,9^{a}	6,7^{b}	6,3^{c}	6,2^{d}	5,9^{e}
3	Hàm lượng axit béo no	%	0,52^{ae}	0,56^{b}	0,49^{c}	0,45^{d}	0,51^{ae}
4	Hàm lượng axit béo không no	%	0,91^{ab}	0,91^{ab}	0,84^{c}	0,97^{d}	0,79^{e}
5	Hàm lượng lipit tổng số	%	4,43^{a}	4,27^{b}	4,32^{c}	4,23^{de}	4,21^{de}
6	Hàm lượng folat	mg/kg	4,72^{ae}	3,96^{b}	3,89^{c}	4,81^{d}	4,73^{ae}
7	Hàm lượng kali	mg/kg	3043^{a}	2192^{b}	2877^{c}	3056^{d}	2823^{e}
8	Hàm lượng vitamin C	mg/kg	89,51^{a}	98,63^{b}	105,55^{c}	153,17^{d}	131,02^{e}
9	Hàm lượng vitamin E	mg/kg	4,82^{a}	6,16^{bd}	5,05^{c}	6,18^{bd}	5,72^{e}

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột, biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ($p<0,05$).

Bảng 1 cho thấy, sa lát guacamole ở công thức CT-A có hàm lượng chất khô hòa tan là 8,3^{o}Bx, thấp nhất so với các công thức thí nghiệm. Trong đó, sa lát guacamole ở các công thức CT-B, công thức CT-C, công thức CT-D, công thức CT-E có hàm lượng chất khô hòa tan dao động từ 8,7 - 8,9^{o}Bx. Độ pH của sa lát guacamole ở công thức CT-A cao nhất là 6,9, sau đó đến công thức CT-B là 6,7 và thấp nhất ở công thức CT-E với độ pH là 5,9. Sở dĩ có hiện tượng này là do sa lát guacamole ở công thức CT-A không được bổ sung nước cốt chanh, công thức CT-B có bổ sung nước cốt chanh nhưng với hàm lượng thấp, còn công thức CT-E được bổ sung nước cốt chanh với hàm lượng cao là 0,2% đã làm cho độ pH giảm xuống đáng kể.

Trong 5 công thức thí nghiệm sa lát guacamole thì có 3 công thức có hàm lượng axit béo no lớn hơn 0,5% là công thức CT-A, CT-B và công thức CT-E. Trong các công thức thí nghiệm này thì sa lát guacamole ở công thức CT-D có hàm lượng axit béo no thấp nhất, nhưng hàm lượng axit béo không no lại cao nhất, chiếm 0,97% và hàm lượng folat chiếm 4,81%, cao nhất trong 5 công thức thí nghiệm. So sánh các công thức thí nghiệm này, sa lát guacamole ở công thức CT-A không bổ sung β-cyclodextrin, maltodextrin và nước cốt chanh có hàm lượng vitamin C, vitamin E thấp hơn các công thức khác có bổ sung β-cyclodextrin, maltodextrin và nước cốt chanh. Qua đó cho thấy, β-cyclodextrin, maltodextrin và nước cốt chanh có tác dụng hiệu quả trong việc hạn chế sự hao hụt vitamin C, vitamin E của sản phẩm. Trong 4 công thức thí nghiệm có bổ sung β-cyclodextrin, maltodextrin và nước cốt chanh thì sa lát guacamole ở công thức CT-D có hàm lượng vitamin C, vitamin E và các thành phần dinh dưỡng khác (hàm lượng axit béo không no, hàm lượng folat, hàm lượng kali) cao nhất. Điều đó cho thấy việc sử dụng β-cyclodextrin và maltodextrin với hàm lượng 0,3% theo tỷ lệ β-cyclodextrin/maltodextrin là 1/3 và nước cốt chanh 0,15% là phù hợp. Vì vậy, dựa vào các chỉ tiêu hóa lý và chỉ tiêu hóa sinh chọn công thức CT-D để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

3.1.2. Chỉ tiêu vi sinh của sa lát guacamole

Các sản phẩm thực phẩm nói chung và sa lát guacamole nói riêng là môi trường rất thuận lợi cho vi sinh vật xâm nhập và phát triển nếu trong quá trình tiếp nhận nguyên liệu, sơ chế, chế biến, vận chuyển và tiêu thụ không thực hiện đúng quy trình kỹ thuật. Để xây dựng được công thức chế biến sa lát guacamole một cách phù hợp, ngoài việc dựa vào các chỉ tiêu dinh dưỡng, chỉ tiêu cảm quan thì việc dựa vào chỉ tiêu vi sinh vật cũng rất cần thiết. Kết quả xác định chỉ tiêu vi sinh vật của sa lát guacamole được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Chỉ tiêu vi sinh vật của sa lát guacamole

TT	Các công thức thí nghiệm	Tổng số vi sinh vật hiếu khí (CFU/g)
1	CT-A	$3,6 \times 10^2$
2	CT-B	$2,1 \times 10^1$
3	CT-C	$1,2 \times 10^1$
4	CT-D	KPH
5	CT-E	KPH

Bảng 2 cho thấy, các mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-A, CT-B và công thức CT-C đều có mặt của tổng số vi sinh vật hiếu khí. Trong đó, mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-A có tổng số vi sinh vật hiếu khí lớn nhất. Các mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-B và công thức CT-C có bổ sung β-cyclodextrin và maltodextrin, đây là thành phần có tác dụng bảo vệ chất thơm, bảo vệ chất màu, bảo vệ các chất có hoạt tính sinh học trong sản phẩm, nước cốt chanh có khả năng kháng khuẩn cao, do đó những sản phẩm có bổ sung β-cyclodextrin, maltodextrin và nước cốt chanh có khả năng kháng khuẩn tốt hơn. Trong các mẫu sa lát guacamole có bổ sung β-cyclodextrin, maltodextrin và nước cốt chanh thì mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-D có bổ sung β-cyclodextrin và maltodextrin với hàm lượng 0,3%, nước cốt chanh 0,15% và mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-E có bổ sung β-cyclodextrin và maltodextrin với hàm lượng 0,4%, nước cốt chanh 0,2% đều không phát hiện sự có mặt của tổng số vi sinh vật hiếu khí. Vì vậy, để tiết kiệm chi phí, dựa vào chỉ tiêu vi sinh vật chọn công thức CT-D để triển khai các thí nghiệm khác cho nghiên cứu này.

3.1.3. Chỉ tiêu cảm quan của sa lát guacamole

Cảm quan là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng của sản phẩm sa lát guacamole, đó là tiêu chí đầu tiên để người tiêu dùng có quyết định lựa chọn sản phẩm đó hay không. Do đó việc xác định chỉ tiêu cảm quan của sa lát guacamole là cơ sở khoa học để lựa chọn công thức phù hợp cho việc xây dựng quy trình chế biến sản phẩm này. Kết quả xác định chỉ tiêu cảm quan của sa lát guacamole được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Chỉ tiêu cảm quan của sa lát guacamole

Chỉ tiêu cảm quan	Điểm cảm quan				
	CT-A	CT-B	CT-C	CT-D	CT-E
Màu sắc	3,51 ± 0,03	3,64 ± 0,02	3,56 ± 0,04	3,87 ± 0,04	3,49 ± 0,02
	Màu vàng xen lẫn phớt xanh, phớt đỏ	Màu vàng xen lẫn phớt xanh, phớt đỏ	Màu vàng xen lẫn phớt xanh, phớt đỏ	Màu vàng xen lẫn phớt xanh, phớt đỏ	Màu vàng xen lẫn phớt xanh, phớt đỏ
Mùi	2,93 ± 0,05	3,59 ± 0,04	4,05 ± 0,03	4,72 ± 0,03	4,26 ± 0,04
	Mùi bình thường	Mùi thơm bình thường	Mùi thơm nhẹ hương chanh	Mùi thơm hài hòa hương chanh	Mùi thơm đậm hương chanh
Vị	3,54 ± 0,02	3,71 ± 0,05	3,96 ± 0,05	4,13 ± 0,06	3,41 ± 0,04

	Vị ngọt xen lẫn vị hơi đắng	Vị ngọt nhẹ xen lẫn vị hơi đắng	Vị ngọt nhẹ	Vị ngọt nhẹ hài hòa	Vị hơi chua
Trạng thái, cấu trúc	3,17 ± 0,06	3,59 ± 0,03	3,75 ± 0,07	4,02 ± 0,05	3,63 ± 0,02
	Mềm hơi khô bề mặt	Mềm, dẻo	Mềm, dẻo	Mềm, dẻo và bóng bề mặt	Mềm, dẻo và ướt bề mặt
Tổng điểm	13,15 ± 0,04	14,53 ± 0,03	15,32 ± 0,05	16,74 ± 0,04	14,79 ± 0,03
Xếp loại	Trung bình	Trung bình	Khá	Khá	Trung bình

Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy, các mẫu sa lát guacamole ở các công thức thí nghiệm đều có màu vàng xen lẫn phớt xanh và phớt đỏ. Mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-A có mùi bình thường, vị ngọt xen lẫn vị hơi đắng, mềm hơi khô bề mặt. Sở dĩ có hiện tượng này là vì mẫu salat guacamole ở công thức CT-A không được bổ sung β-cyclodextrin, maltodextrin và nước cốt chanh, do đó không hạn chế được sự biến đổi vị đắng, sự mất nước của sản phẩm và không tạo mùi thơm hài hòa cho sản phẩm. Trong các mẫu sa lát guacamole có bổ sung β-cyclodextrin, maltodextrin và nước cốt chanh thì mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-D với β-cyclodextrin và maltodextrin với hàm lượng 0,3%, nước cốt chanh 0,15% có mùi thơm hài hòa hương chanh, vị ngọt nhẹ hài hòa, cấu trúc mềm, dẻo và bóng bề mặt.

Đối với mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-E có bổ sung β-cyclodextrin và maltodextrin với hàm lượng 0,4%, nước cốt chanh 0,2%, sản phẩm này có mùi thơm đậm hương chanh, vị hơi chua và cấu trúc mềm, dẻo và ướt bề mặt. Trong hai mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-C và công thức CT-D được xếp loại khá, tuy nhiên mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-D có tổng số điểm lớn hơn, các thành viên hội đồng cảm quan đều cho rằng mẫu sa lát guacamole ở công thức CT-D có màu sắc, mùi, vị và cấu trúc hấp dẫn hơn. Vì vậy, để tiết kiệm chi phí và dựa vào chỉ tiêu cảm quan, chọn công thức CT-D để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

Dựa vào các chỉ tiêu hóa lý, chỉ tiêu hóa sinh, chỉ tiêu vi sinh và chỉ tiêu cảm quan lựa chọn được tỷ lệ phối trộn giữa nguyên liệu chính, nguyên liệu phụ và phụ gia thực phẩm ở công thức CT-D là phù hợp để xây dựng quy trình chế biến sa lát guacamole với hàm lượng các thành phần nguyên liệu là: Thịt quả bơ 63,95%, đường trắng 0,02%, cà chua 8,9%, hành tây 3,8%, hành tím 3,7%, tỏi 0,4%, rau mùi 5,2%, ớt chuông 3,9%, β-cyclodextrin và maltodextrin 0,3%, axit ascobic 0,05%, bơ sữa 2,4%, xốt mayonnaise 6,7%, tinh dầu vani 0,02%, hồ tiêu 0,01% và muối ăn 0,5%

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời hạn bảo quản và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm

Nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng rất lớn đến thời hạn bảo quản và chỉ tiêu cảm quan của sa lát guacamole. Thí nghiệm được tiến hành ở các dải nhiệt độ 1°C, 3°C, 5°C, 7°C và 9°C; tỷ lệ các nguyên liệu thực hiện theo công thức CT-D và bao gói trong bao bì bằng thủy tinh chuyên dụng, có nắp đậy kín. Kết quả xác định ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời hạn bảo quản và chỉ tiêu cảm quan của sa lát guacamole được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời hạn bảo quản và chỉ tiêu cảm quan của sa lát guacamole

TT	Nhiệt độ bảo quản (°C)	Thời điểm bảo quản (ngày)	Điểm trung bình/ xếp loại cảm quan	Đặc điểm cảm quan của sản phẩm
1	1	30	15,89 ± 0,02 Khá	Sản phẩm có màu tự nhiên, xuất hiện một số tinh thể nước đá nhỏ trên bề mặt, khi đưa ra khỏi môi trường bảo quản lạnh có hiện tượng chảy nước và phân lớp, do tổn thương lạnh và cấu trúc bên trong bị phá vỡ. Cấu trúc bên ngoài cứng rắn và khô bề mặt.
2	3	30	15,94 ± 0,03 Khá	Sản phẩm có màu tự nhiên, khi đưa ra khỏi môi trường bảo quản lạnh có hiện tượng chảy nước và phân lớp, bề mặt bên ngoài bình thường, nhưng hơi khô.
3	5	30	16,09 ± 0,02 Khá	Sản phẩm có màu sắc, mùi, vị và cấu trúc tự nhiên, khi đưa ra khỏi môi trường bảo quản lạnh không có hiện tượng chảy nước và phân lớp, bề mặt bên ngoài bình thường.
4	7	20	11,08 ± 0,02 Kém	Sản phẩm có màu tối sẫm, có vị chua, mùi hôi và cấu trúc bị nhũn nát.
5	9	15	10,35 ± 0,03 Kém	Sản phẩm có màu tối sẫm, trên bề mặt xuất hiện nấm mốc xanh, có vị chua, mùi hôi và cấu trúc bị nhũn nát.

Bảng 4 cho thấy, khi bảo quản ở nhiệt độ 1°C, đến ngày bảo quản thứ 30, sản phẩm có màu tự nhiên, xuất hiện một số tinh thể nước đá nhỏ trên bề mặt; khi đưa sản phẩm ra khỏi môi trường bảo quản lạnh có hiện tượng chảy nước và phân lớp, do tổn thương lạnh và cấu trúc bị phá vỡ; cấu trúc bên ngoài của sản phẩm cứng rắn và khô bề mặt. Khi nâng nhiệt độ bảo quản lên 3°C, cũng ở thời điểm bảo quản ngày thứ 30, sản phẩm có màu tự nhiên; khi đưa sản phẩm ra khỏi môi trường bảo quản lạnh có hiện tượng chảy nước và phân lớp; bề mặt bên ngoài của sản phẩm bình thường, nhưng hơi khô. Bảo quản ở nhiệt độ 5°C, tại thời điểm ngày thứ 30 của quá trình bảo quản, sản phẩm có màu tự nhiên; khi đưa sản phẩm ra khỏi môi trường bảo quản lạnh không có hiện tượng chảy nước và phân lớp. Bề mặt bên ngoài của sản phẩm bình thường; sản phẩm có màu sắc, mùi, vị và cấu trúc tự nhiên. Nhưng khi tăng nhiệt độ bảo quản lên 7°C thì đến ngày bảo quản thứ 20 sản phẩm có hiện tượng bị thối hỏng, cụ thể là sản phẩm có màu tối sẫm, có vị chua, mùi hôi và cấu trúc bị nhũn nát. Khi tăng nhiệt độ bảo quản lên 9°C thì đến ngày bảo quản thứ 15 sản phẩm có hiện tượng bị thối hỏng, cụ thể là sản phẩm có màu tối sẫm, trên bề mặt sản phẩm xuất hiện nấm mốc xanh, có vị chua, mùi hôi và cấu trúc bị nhũn nát. Do đó để tiết kiệm chi phí điện năng, chọn nhiệt độ bảo quản sa lát

guacamole là 5°C để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của bao bì đến thời hạn bảo quản và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm

Bao bì có ảnh hưởng rất lớn đến thời hạn bảo quản và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm. Nếu sử dụng bao bì phù hợp sẽ hạn chế được các biến đổi không mong muốn của sản phẩm, kéo dài được thời hạn bảo quản và giữ được các đặc tính cảm quan đặc trưng của sản phẩm. Đối với sản phẩm sa lát guacamole được thử nghiệm bảo quản ở nhiệt độ 5°C, thực hiện trên hai bao bì là bao bì bằng lọ thủy tinh và bao bì bằng túi nilon; tỷ lệ các nguyên liệu thực hiện theo công thức CT-D. Kết quả xác định ảnh hưởng của bao bì đến thời hạn bảo quản và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của bao bì đến thời hạn bảo quản và chỉ tiêu cảm quan của sa lát guacamole

TT	Loại bao bì	Thời điểm bảo quản (ngày)	Điểm trung bình/ xếp loại cảm quan	Đặc điểm cảm quan của sản phẩm
1	Lọ thủy tinh	30	16,21 ± 0,03 Khá	Sản phẩm có màu sắc, mùi, vị và cấu trúc tự nhiên, không bị biến màu, khi đưa ra khỏi môi trường bảo quản lạnh không có hiện tượng chảy nước và phân lớp, bề mặt bên ngoài của bình thường.
2	Túi nilon	20	15,03 ± 0,01 Trung bình	Sản phẩm có màu tối sẫm, có vị hơi đắng, mùi hôi và cấu trúc bị nhũn nát.

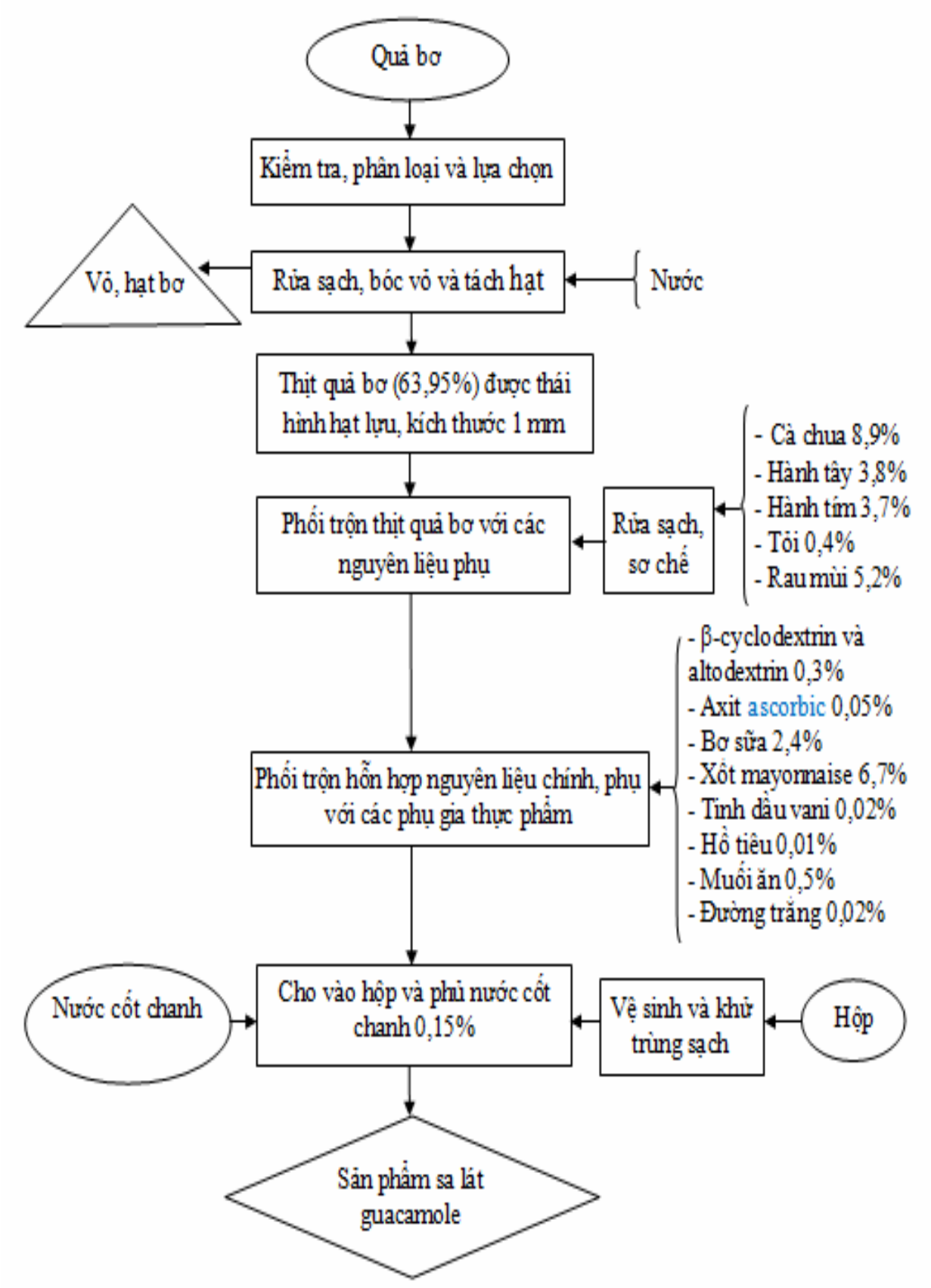
Bảng 5 cho thấy, đối với sản phẩm sa lát guacamole khi chứa đựng trong lọ thủy tinh chuyên dụng và bảo quản ở 5°C, đến ngày bảo quản thứ 30 sản phẩm vẫn giữ được các đặc tính tự nhiên. Cụ thể là sản phẩm có màu tự nhiên, không bị biến màu. Khi đưa sản phẩm ra khỏi môi trường bảo quản lạnh không có hiện tượng chảy nước và phân lớp. Bề mặt bên ngoài của sản phẩm bình thường, sản phẩm có màu sắc, mùi, vị và cấu trúc tự nhiên. Sở dĩ có hiện tượng này là bao bì bằng lọ thủy tinh không thấm khí, không thấm nước, trơ về mặt hóa học, không tương tác với các thành phần của sản phẩm. Vì thế rất thích hợp với việc chứa đựng các sản phẩm chế biến từ rau quả có chứa axit hữu cơ, muối và đường. Bên cạnh đó, bao bì bằng lọ thủy tinh có tác dụng hiệu quả trong việc sản phẩm sa lát guacamole được phủ đều một lớp nước cốt chanh 0,15% trên bề mặt, từ đó góp phần hạn chế các biến đổi chất lượng và các chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm, ức chế sự xâm nhập và hoạt động của các vi sinh vật, ức chế sự hoạt động của các enzyme. Do đó, kéo dài được thời hạn bảo quản sản phẩm.

Đối với bao bì bằng túi nilon, kết quả cho thấy, việc sử dụng bao bì này gặp khó khăn trong việc phủ lớp nước cốt chanh trên bề mặt của sản phẩm, khi vận chuyển sản phẩm có hiện tượng co dúm làm giảm tính thẩm mỹ của sản phẩm, đồng thời bao bì này dễ xảy ra tương tác với các thành phần axit hữu cơ, muối, đường… trong sản phẩm và gây mùi, vị lạ cho sản phẩm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi chứa đựng sản phẩm sa lát guacamole trong bao bì nilon, bảo quản ở 5°C đến ngày bảo quản thứ 20 sản phẩm có màu tối sẫm, có vị chua, mùi hôi và cấu trúc bị nhũn nát. Vì vậy, để đảm bảo tính thẩm mỹ, thời hạn bảo quản và các chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm, chọn bao bì bằng lọ thủy tinh để chứa đựng sa lát guacamole.

3.4. Quy trình chế biến sa lát guacamole

3.4.1. Sơ đồ quy trình chế biến sa lát guacamole

Sơ đồ quy trình chế biến sa lát guacamole được thực hiện bao gồm các bước như hình 1.



Hình 1. Sơ đồ quy trình chế biến sa lát guacamole

3.4.2. Thuyết minh quy trình chế biến sa lát guacamole

Bước 1. Chuẩn bị nguyên liệu: Nguyên liệu được sử dụng là quả bơ booth 7 được thu mua tại 3 trang trại trồng bơ trên địa bàn tỉnh Đắk Nông. Thịt quả bơ được sử dụng trong chế biến sa lát guacamole là 63,95%. Ngoài nguyên liệu chính là quả bơ, còn sử dụng các nguyên liệu phụ và phụ gia thực phẩm theo công thức CT-D. Các nguyên liệu và phụ gia thực phẩm này phải đảm bảo các tiêu chuẩn chất lượng, an toàn vệ sinh thực phẩm và có nguồn gốc xuất xứ rõ ràng.

Bước 2. Sơ chế nguyên liệu: Quả bơ sau khi được kiểm tra, phân loại và lựa chọn, rửa sạch, bóc vỏ, tách hạt, phần thịt quả được cắt thái hình hạt lựu, kích thước 1 mm. Các nguyên liệu phụ như: Cà chua, hành tây, hành tím, tỏi, rau mùi, ớt chuông… được rửa sạch và sơ chế, cắt thái theo yêu cầu.

Bước 3. Phối trộn thịt quả bơ với các nguyên liệu phụ: Thịt quả bơ sau khi cắt thái được phối trộn đều với các nguyên liệu phụ sau khi đã sơ chế gồm: Cà chua, hành tây, hành tím, tỏi, rau mùi, ớt chuông, các bán thành phẩm này được trộn đều thành một hỗn hợp đồng nhất.

Bước 4. Phối trộn hỗn hợp nguyên liệu chính, phụ với các phụ gia: Hỗn hợp nguyên liệu chính, nguyên liệu phụ sau khi được phối trộn đều, tiếp tục được phối trộn với các phụ gia thực phẩm bao gồm: β-cyclodextrin, maltodextrin, axit ascobic, bơ sữa, xốt mayonnaise, tinh dầu vani, hồ tiêu, muối ăn và đường trắng. Các nguyên liệu và phụ gia này được trộn đều, trong quá trình trộn tránh để hiện tượng các nguyên liệu bị nát và biến màu.

Bước 5. Cho sản phẩm vào hộp và phủ nước cốt chanh: Sử dụng lọ thủy tinh có nắp đậy bằng kim loại, bao bì này trước khi đưa vào sử dụng được vệ sinh sạch sẽ và khử trùng bằng nước đun sôi, sau đó được sấy khô. Sản phẩm được xếp vào lọ đảm bảo đồng đều nhau, mỗi lọ có khối lượng tịnh 300 g. Sau khi xếp sản phẩm vào lọ, sản phẩm được phủ một lớp nước cốt chanh trên bề mặt, với hàm lượng 0,15% và đóng chặt nắp đưa đi bảo quản lạnh ở nhiệt độ 5°C.

4. KẾT LUẬN

Trong 5 công thức thí nghiệm đã xác định được công thức CT-D là phù hợp để xây dựng quy trình chế biến sa lát guacamole, với hàm lượng các thành phần nguyên liệu là: Thịt quả bơ 63,95%, đường trắng 0,02%, cà chua 8,9%, hành tây 3,8%, hành tím 3,7%, tỏi 0,4%, rau mùi 5,2%, ớt chuông 3,9%, β-cyclodextrin và maltodextrin 0,3%, axit ascobic 0,05%, bơ 2,4%, xốt mayonnaise 6,7%, tinh dầu vani 0,02%, hồ tiêu 0,01% và muối ăn 0,5%.

Đã xây dựng được quy trình chế biến sa lát guacamole với các thông số công nghệ như: Sản phẩm đóng trong lọ thủy tinh chuyên dụng và có nắp đậy kín, sản phẩm được phủ một lớp nước cốt chanh trên bề mặt, với hàm lượng 0,15%, đóng chặt nắp và bảo quản lạnh ở nhiệt độ 5°C, sử dụng sản phẩm trước ngày bảo quản thứ 30 là phù hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Tuyến (2012). *Kỹ thuật trồng chôm chôm và bơ*. Nhà xuất bản Thanh niên.

2. Javier German, Rodriguez Carpena, David Morcuende, Maria Jesus Andrade, Petri Kylli, Mario Estévez (2011). *Avocado (Persea americana Mill.) Phenolics, In vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. Agricutural and Food Chemistry*, 59 (10), 5625- 5635.

3. Lucia Plaza, Concepcian, Senchez-Moreno, Soniade, Pascual Teresa, Begona De Ancos, Pilarcano (2009). *Fatty Acids, Sterols and Antioxidant Activity inMinimally Processed Avocados during RefrigeratedStorage. Agricutural and Food Chemistry*, 57, 3204- 3209.

4. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9017: 2011. *Quả tươi- Phương pháp lấy mẫu trên vườn sản xuất*, 1-6.

5. Nguyễn Văn Lợi, Đỗ Thị Hạnh (2021). Nghiên cứu quy trình bảo quản quả bưởi Phúc Trạch bằng màng sinh học chitosan kết hợp với tanin và dấm ăn. *Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, 26(3A), 64-71.

6. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 12348: 2018. *Thực phẩm đã axit hóa- Xác định pH,* 1-5.

7. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4592: 1988. *Phương pháp xác định hàm lượng lipid tự do và lipid tổng số,* 1-5.

8. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8978: 2011. *Thực phẩm- Xác định folate bằng phép thử vi sinh,* 1-4.

9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10916: 2015. *Thực phẩm- Xác định các chất khoáng trong thức ăn và thực phẩm dinh dưỡng đặc biệt - Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử,* 1-5.

10. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6427-2: 1998. *Rau, quả và các sản phẩm rau, quả- Xác định hàm lượng axit ascorbic,* 1-10.

11. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8276: 2018. *Thực phẩm - Xác định vitamin E bằng ký sắc lỏng hiệu năng cao - Định lượng α-, β-, γ- và δ-tocopherol,* 1-5.

12. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4884-1: 2015. *Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật - Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30°C bằng kỹ thuật đổ đĩa,* 1-13.

13. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215: 1979. *Sản phẩm thực phẩm- Phân tích cảm quan phương pháp cho điểm,* 1-10.

STUDY ON THE ESTABLISH THE PROCESSING PROCESS OF GUACOMOLE SALAD FROM AVOCADO

Nguyen Van Loi[1,*], Le Anh Tuan[1], Tran Van Quy[1], Vu Kieu Sam[2], Pham Thi Binh[2]

[1]University of Science, Vietnam National University, Hanoi

[2]Bac Giang Agriculture and Forestry University

**Email: nguyenvanloi@hus.edu.vn*

Summary

Guacamole salad is a product rich in vitamins, minerals, sugars, lipids, proteins and other biologically active substances that are essential for the growth and maintenance of human health. The source of raw materials for salad processing is now very diverse and rich, especially avocado. Avocado is a fruit rich in nutritional values, such as lipids, sugars, proteins, vitamins, minerals and substances with high biological activity. The purpose of this study is to develop a process for making guacamole salad from avocado. In 5 experimental recipes, CT-D formula was determined to be suitable for building guacamole salad processing process with the content of the following ingredients: Avocado flesh 63.95%, white sugar 0.02%, tomato 8.9%, onion 3.8%, red onion 3.7%, garlic 0.4%, coriander 5.2%, bell pepper 3.9%, β-cyclodextrin and maltodextrin 0.3%, ascorbic acid 0.05%, butter 2.4%, mayonnaise 6.7%, vanilla essential oil 0.02%, pepper 0.01% and table salt 0.5%. The process of processing guacamole salad has been built with technological parameters such as: The product is packed in a specialized glass jar with a tight lid, the product is covered with a layer of lemon juice on the surface, with high content. 0.15%, tightly closed and refrigerated at 5°C.

Keywords: *Sensory, avocado, processing process, guacamole salad, storage period.*

Người phản biện: PGS.TS. Lý Ngọc Trâm

Ngày nhận bài: 01/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 24/3/2023

Ngày duyệt đăng: 31/3/2023

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ĐƯỜNG SACAROZA ĐẾN MỘT SỐ TÍNH CHẤT CỦA CARRAGEENAN

Lương Hồng Nga[1,*], Nguyễn Thị Loan[1]

TÓM TẮT

Carrageenan là một trong số những phụ gia tạo gel hay chất làm dày thực phẩm có nguồn gốc từ rong biển được dùng phổ biến hiện nay. Carrageenan với những ưu điểm nổi bật như tạo gel tốt ở hàm lượng nhỏ, có khả năng tạo gel ở điều kiện thông thường, gel ổn định cấu trúc tốt sau quá trình bảo quản và sẽ là một chất thay thế tiềm năng cho các chất tạo gel truyền thống. Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá sự ảnh hưởng của đường lên tính chất của carrageenan: Độ nhớt, nồng độ tạo gel, độ ổn định gel sau bảo quản và đặc tính cấu trúc gel. Kết quả cho thấy, khi tăng hàm lượng đường: Độ nhớt, độ ổn định gel, độ cứng, độ dính tăng, nồng độ tạo gel tối thiểu giảm. Đường sacaroza ít ảnh hưởng đến độ đàn hồi và độ cố kết của gel carrageenan.

Từ khóa: *Carrageenan, đường, ảnh hưởng, gel, cấu trúc.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Carrageenan là một polysacarit thu được từ một số loài rong biển. Carrageenan có khối lượng phân tử lớn, hàm lượng sunfat lớn được tạo thành từ các đơn vị galactoza và 3,6 – anhydrogalactoza (3,6-AG) liên kết với nhau bằng các liên kết β – 1,4 và α - 1,3 glycosit [1]. Carrageenan từ lâu đã được ứng dụng rộng rãi trong các ngành công nghiệp khác nhau. Ngành công nghiệp thực phẩm sử dụng 70 – 80% sản lượng carrageenan trên thế giới [2], [3]. Trước đây, gelatin là phụ gia được sử dụng phổ biến trong thực phẩm do chúng tạo được cảm giác tan chảy trong miệng và dễ dàng giải phóng mùi vị. Các loại thạch có bổ sung pectin cần có một hàm lượng đường lớn để có thể tạo cấu trúc như mong muốn. Tuy nhiên, đối với các sản phẩm thạch yêu cầu năng lượng sinh ra thấp hoặc không có thì nguyên liệu pectin không đáp ứng được. Điều này được khắc phục khi thay thế bằng hỗn hợp kappa và iota carrageenan [4], [5]. Liều lượng carrageenan bổ sung vào thực phẩm khoảng 0,05 - 2% theo khối lượng [6].

Sự hình thành gel là tính chất quan trọng nhất của carrageenan, chỉ có kappa và iota carrageenan tạo thành gel, còn lại các phân tử khác thì không có khả năng này do không có cầu nối 3,6 anhydro. Gel được tạo thành khi đun nóng carrageenan ở nồng độ nhất định với nước, sau đó hạ nhiệt độ khiến cho kappa và iota carrageenan tạo mạch dạng xoắn đôi, kết nối các phân tử lại với nhau tạo thành gel có cấu trúc mạng không gian 3 chiều. Sự có mặt của các chất hòa tan ảnh hưởng khá nhiều đến khả năng hòa tan của carrageenan. Tất cả các carrageenan đều khó hòa tan trong các dung dịch đường ở nhiệt độ phòng, tuy nhiên lamda và kappa carrageenan cho thấy, khả năng hòa tan với dung dịch đường sacaroza 65% ở 70°C. Theo Yang và cs (2018) [7], đường làm tăng khả năng tạo gel của carrageenan, kích thích sự hình thành mạng lưới gel dày đặc và giúp gel trở nên chắc khỏe hơn Nghiên cứu của Katsuyoshi và cs (2016) [8], Yang và cs (2018) [7] đã chứng minh rằng đường làm đặc lại gel thực phẩm khiến cho độ ổn định của chúng tăng lên. Cấu trúc gel carrageenan khi có đường cũng bị thay đổi đáng kể đặc biệt là độ

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội
[*]Email: nga.luonghong@hust.edu.vn

cứng. Độ cứng của carrageenan tăng lên cùng với độ tăng của đường [4], [7], [9]. Chính vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của đường đến tính chất của carrageenan và tính chất gel carrageenan khi có mặt nha nhằm ứng dụng trong các sản phẩm như kẹo.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Carrageennan, sản xuất tại Công ty TNHH Vĩnh Nam Anh. Đường sacaroza sản xuất tại Công ty TNHH Thương mại Dịch vụ tổng hợp Thanh Hoa. Mạch nha DE = 8, sản xuất tại Công ty Cổ phần Thực phẩm Minh Dương.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

- Ảnh hưởng của đường đến độ nhớt của dung dịch carrageenan được khảo sát với nồng độ đường thay đổi trong khoảng từ 0 – 60%, nha 50%, nồng độ carrageenan là 0,5%, nhiệt độ 80^0C.

- Ảnh hưởng của đường đến đặc tính cấu trúc gel và độ ổn định của gel carrageenan được khảo sát với nồng độ đường thay đổi trong khoảng từ 0 – 60%, nha 50%, nồng độ carrageenan là 0,5%. Sau khi hòa dịch, gia nhiệt ở nhiệt độ 80^0C, để lạnh 10^0C trong 16 giờ để thu được gel và đưa đi xác định cấu trúc và độ ổn định gel.

2.2.2. Phương pháp phân tích

- Phương pháp xác định độ nhớt

Độ nhớt được xác định theo phương pháp sau: Chuẩn bị dung dịch 0,5% carrageenan (so với 200 ml nước) cho vào cốc có mỏ dung tích 250 ml, khuấy đều trong vòng 30 phút và để ổn định 15 phút ở nhiệt độ 80^0C. Dịch sau đun được mang xác định độ nhớt tại 75^0C bằng nhớt kế mao quản Ostwald với Ø = 1,5 mm. Thực hiện 3 lần lặp/mẫu.

- Phương pháp xác định đặc tính cấu trúc gel

Đặc tính cấu trúc gel được xác định dựa theo phương pháp của Yuan và cs (2016) [10]. Gel được chuẩn bị trên các cốc có mỏ dung tích 250 ml có chứa 200 ml nước cất. Đặt cốc vào bình ổn nhiệt ở 90^oC trong 30 phút kết hợp khuấy liên tục. Sau đó để yên trong 15 phút để loại bỏ bọt khí. Dịch sau đun được rót vào trong các khuôn nhựa có đường kính 42 mm và cao 26 mm. Sau khi mẫu nguội, bao kín mẫu và để ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ trước khi phân tích. Sử dụng máy phân tích cấu trúc TA – XT plus với đầu đo P/25 với các thông số: test speed: 1 mm/s, post test speed 5 mm/s, strain 40%, time 5 s, ghi lại thông số độ cứng, độ đàn hồi, độ cố kết, độ dính, độ dẻo. Mỗi mẫu đo thực hiện 5 lần lặp.

- Phương pháp xác định độ ổn định gel sau quá trình bảo quản lạnh

Xác định độ ổn định gel sau bảo quản lạnh được xác định dựa vào hàm lượng nước tách ra khỏi gel sau lưu trữ được tiến hành theo phương pháp của Gabriel và cs (2014) [11]. Dung dịch carrageenan trong nước cất được ổn nhiệt ở 80^0C trong 30 phút, sau đó được giữ ở 10^0C trong 16 giờ và giữ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Nước tách ra được thấm bằng khăn giấy. Dựa vào chênh lệch khối lượng trước và sau khi thấm nước để đánh giá sự ổn định của gel. Thực hiện 3 lần lặp/mẫu.

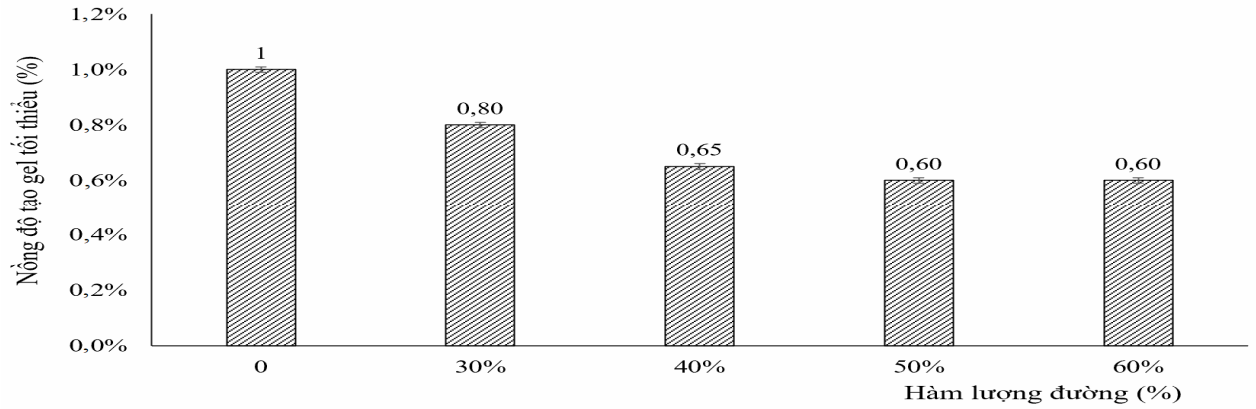
2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả số liệu thu nhận từ thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 18. Sử dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) để đưa ra kết luận về sự sai biệt giữa các giá trị trung bình các nghiệm thức với mức ý nghĩa 0,5%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến khả năng tạo gel của carrageenan

Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến khả năng tạo gel và độ nhớt dung dịch carrageenan được khảo sát ở các nồng độ từ 0 – 60% đường. Sự thay đổi nồng độ tạo gel tối thiểu tương ứng với từng nồng độ đường được thể hiện thông qua hình 1.

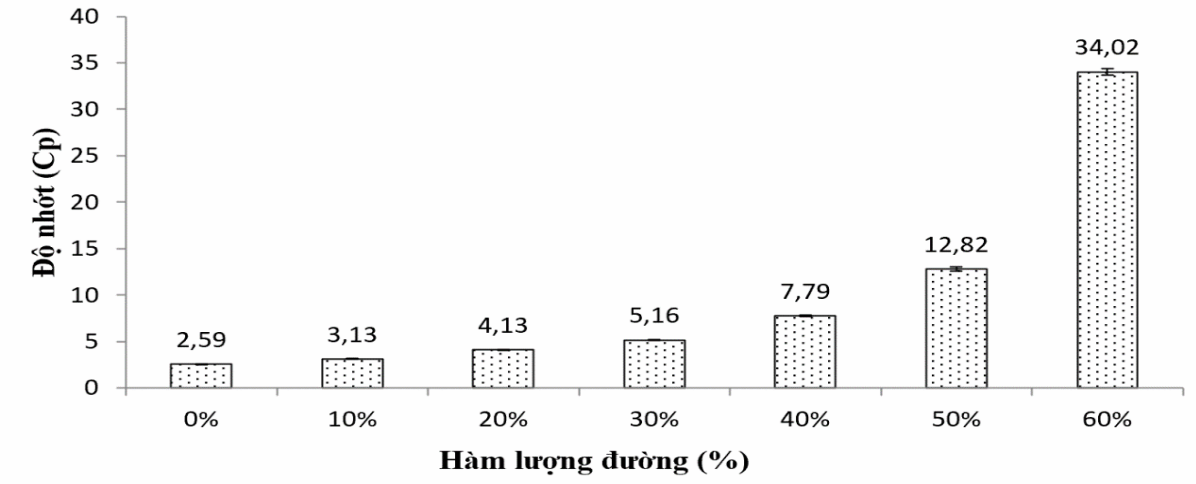


Hình 1. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến khả năng tạo gel của carrageenan

Hình 1 cho thấy, khi tăng hàm lượng đường từ 0 - 60% thì khả năng tạo gel của carrageenan tăng (nồng độ tạo gel tối thiểu giảm dần từ 1% xuống 0,6%). Khi hàm lượng đường được tăng lên từ 50 – 60% thì nồng độ tạo gel tối thiểu không thay đổi. Theo Yang và cs (2018) [7], đường sacaroza làm tăng cường mạng lưới gel carrageenan và giúp cải thiện tính chất gel. Điều này được giải thích là do trong môi trường chứa nước, đường sacaroza có khả năng hydrat hóa mạnh, khả năng liên kết với nước mạnh mẽ, làm giảm nước tự do quanh chuỗi carrageenan. Phân tử carrageenan lại có chứa các nhóm anhydro galactoza có tính kỵ nước, vì vậy khi bổ sung thêm đường, quá trình dehydrat hóa của carrageenan xảy ra mạnh hơn, tạo điều kiện thuận lợi cho sự tập hợp của các mảnh và làm nồng độ carrageenan cần thiết cho sự hình thành gel giảm xuống [12], [13] Bên cạnh đó, sacaroza gắn với carrageenan thông qua liên kết hydro của nhóm –OH giữa hai phân tử này, chúng tạo nên các nút giao và kích thích sự tạo gel [14]. Khi nồng độ đường tăng lên quá cao, sự liên kết giữa các phần tử nước và đường trở nên bão hòa, vì vậy khi tăng nồng độ đường từ 50 – 60% nồng độ tạo gel tối thiểu vẫn giữ ở 0,6% [5].

3.2. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến độ nhớt của carragenan

Dung dịch carrageenan nồng độ 0,5% được ổn định ở 80°C và xác định độ nhớt với sự ảnh hưởng của hàm lượng đường thay đổi từ 0 – 60%. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến độ nhớt của mẫu carrageenan được thể hiện ở hình 2.

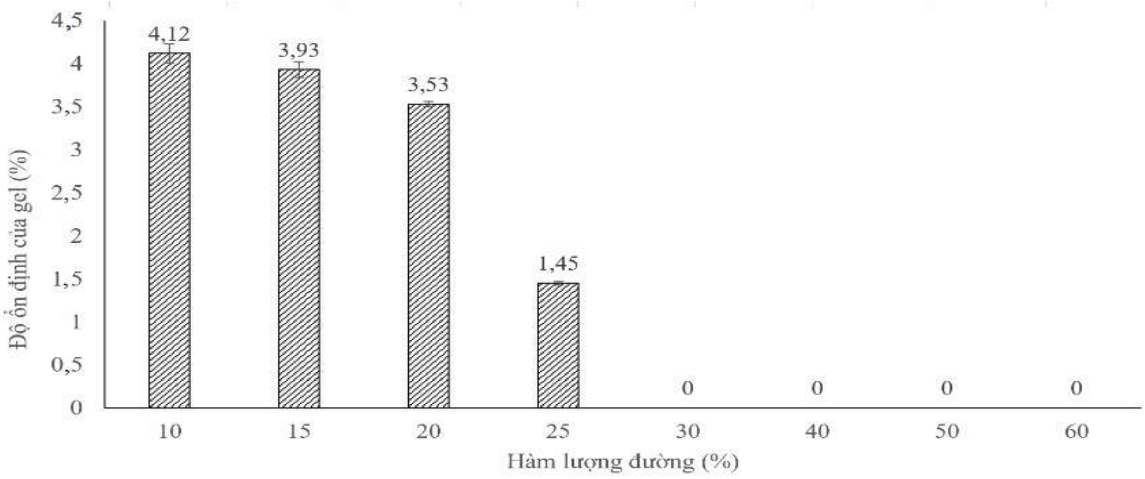


Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến độ nhớt carrageenan

Hình 2 cho thấy, khi tăng hàm lượng đường thì độ nhớt tăng dần từ 2,59 Cp tới 34,02 Cp. Theo William (2000) [1], độ nhớt tỷ lệ thuận với hàm lượng chất hòa tan. Hàm lượng đường càng lớn, chúng liên kết với nước càng nhiều và tạo điều kiện cho các chuỗi mạch carrageenan tiếp hợp với nhau nhiều hơn tạo nên các nút nối nhiều hơn, chúng làm cho mạch phân tử trở nên cồng kềnh, khó gỡ khiến cho độ nhớt tăng. Ngoài ra, khi tăng nồng độ đường, bản thân chúng cũng tự làm độ nhớt tăng lên [15], vì vậy trong trường hợp này, độ nhớt của dung dịch tăng vừa do sự tương tác giữa đường-carrageenan-nước vừa do bản thân nồng độ đường tăng.

3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến độ ổn định sau bảo quản lạnh của gel carragenan

Ảnh hưởng của đường tới độ ổn định và đặc tính cấu trúc của gel carrageenan được tiến hành với hàm lượng đường thay đổi từ 10 – 60%. Kết quả ảnh hưởng của đường đến độ ổn định gel được thể hiện ở hình 3.



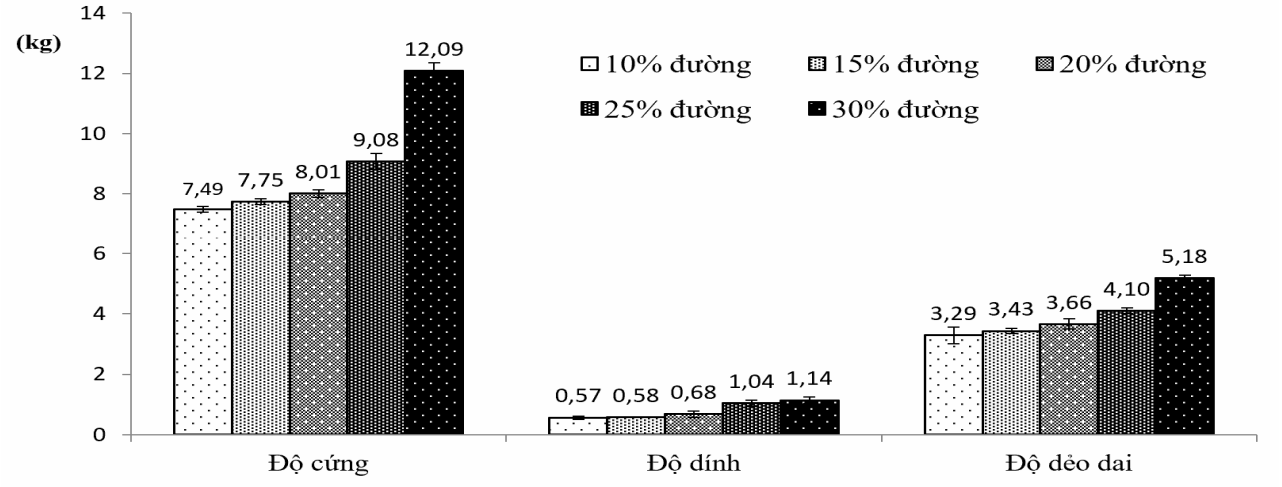
Hình 3. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến độ ổn định gel carraageenan

Hình 3 cho thấy, khi bổ sung thêm đường với các nồng độ từ 10 – 30% theo khối lượng có thể thấy sự tác động rõ rệt vào độ ổn định của gel sau bảo quản lạnh. Hàm lượng nước tách ra tương ứng giảm từ 4,12 ± 0,11% xuống còn 0,00 ± 0,00%. Khi nồng độ đường >30%, lượng nước tách ra bằng 0, điều này có nghĩa gel carrageenan hoàn toàn ổn định. Gel carrageenan được hình thành nhờ sự liên kết giữa các chuỗi mạch, với các nút thắt tạo nên mạng không gian 3 chiều. Mạng không gian này tạo nên các mắt lưới trong đó chứa các phân tử nước và sự tách nước xảy ra khi nhiệt độ thấp làm cách mạch bị co lại và ép nước ra bên ngoài. Sự có mặt của đường làm giảm đi sự tách nước khỏi gel là do đường làm giảm kích thước mắt lưới của mạng gel, sự liên kết giữa nước và đường cũng làm khối gel có cấu trúc đặc hơn, làm tăng tính ổn định của gel khi bảo quản [8]. Giải thích này càng được khẳng định chắc chắn với nghiên cứu của Yang và cs (2018) [7] khi các mẫu gel carrageenan ở các nồng độ đường khác nhau được kính hiển vi điện vi điện tử quét trường phát xạ cho thấy: Gel carrageenan có cấu trúc xốp với khoảng trống tương đối lớn ở giữa được tạo thành từ hàng trăm các sợi xoắn xếp chồng lên nhau. Khi bổ sung sucroza, hình ảnh mạng gel cũng cho thấy, các ô trống có cấu trúc đặc hơn, mật độ dày và cấu trúc đồng nhất [13]. Vậy, hàm lượng đường ≥30% giúp ổn định cấu trúc gel trong thời gian bảo quản. Vì vậy, phần nghiên cứu tiếp theo, đã lựa chọn nghiên cứu ảnh hưởng của đường trong khoảng 0 - 30% đến cấu trúc của gel carrageenan.

3.4. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến đặc tính cấu trúc gel của carraagenan

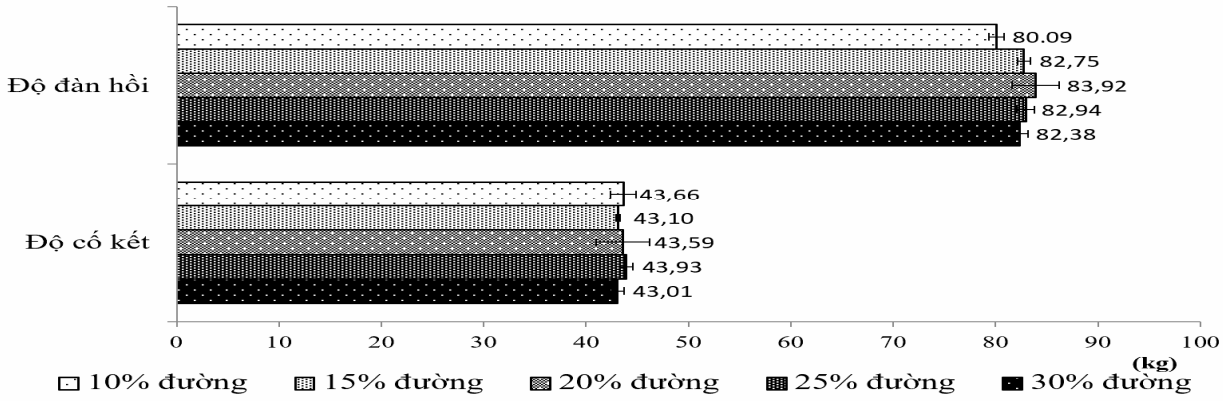
Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến đặc tính cấu trúc gel (độ cứng, độ dính, độ dẻo dai, độ đàn

hồi, độ cố kết) được thể hiện qua hình 4 và 5. Hình 4 cho thấy, nồng độ đường ảnh hưởng đáng kể tới cấu trúc của gel carrageenan. Khi hàm lượng đường tăng từ 10 – 30%, độ cứng của gel tăng. Có thể thấy rằng khi hàm lượng đường tăng từ 10 – 20%, độ cứng gel thay đổi không đáng kể, lực nén tăng từ 7,49 ± 0,09 kg lên 8,01 ± 0,12 kg. Khi tăng nồng độ đường lên 30%, độ cứng của mẫu tăng vọt lên 12,09 ± 0,40%. Sự tương tác giữa carrageenan và nồng độ đường tác động làm độ cứng gel tăng lên đáng kể [5]. Tương tự, Fiszman và Dunin (1989) [16] đã chứng tỏ hàm lượng đường từ 20 – 60% đường, độ cứng của gel giữa carragennan/locust bean tăng (thể hiện qua sự tăng của lực phá vỡ gel). Kết quả này được giải thích là do đường tạo liên kết hydro thông qua nhóm –OH với nước, khi hàm lượng đường tăng lên, đồng nghĩa với việc số lượng các phân tử nước bị ràng buộc cũng tăng lên khiến cho các chuỗi polysacarit của carrageenan dễ dàng tương tác với nhau. Ngoài ra, đi kèm với sự gia tăng nồng độ sacaroza là sự gia tăng về số lượng và độ lớn của các nút giao [13]. Điều này làm thúc đẩy sự hình thành nhiều hơn số lượng liên kết chéo giữa các mạch, dẫn đến gel có cấu trúc chắc chắn hơn và độ cứng của gel tăng [16], [2].



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến độ cứng, độ dính, độ dẻo dai của gel carrageenan

Kết quả phân tích cấu trúc ở hình 4 cũng cho thấy, sự tỷ lệ thuận giữa độ dính với hàm lượng đường thêm vào. Độ dính thay tăng dần từ 0,57 ± 0,05 kg ở 10% đường lên 1,14 ± 0,07 kg ở nồng độ đường 30%. Độ dẻo dai phụ thuộc chủ yếu vào độ cứng khi thay đổi hàm lượng đường, độ cứng tăng kéo theo độ dẻo dai cũng tăng.



Hình 5. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến độ đàn hồi và cố kết của gel carrageenan

Hình 5 cho thấy, độ đàn hồi của gel carrageenan thay đổi không đáng kể khi tăng hàm lượng đường. Ở nồng độ 10% đường, gel carrageenan đàn hồi 80,09 ± 0,7%, khi tăng nồng độ lên 20%, độ đàn hồi của gel carrageenan tăng nhẹ lên 83,92 ± 2,32%, khi tăng lên đến 30% đường thì độ đàn hồi của gel là 82,38%, giá trị này không có sự khác biệt có nghĩa so với hàm lượng đường 20%. Sara và cs (2005) [17] đã chứng minh ở các nồng độ đường khác nhau (từ 0 – 25%) thì độ đàn hồi của gel carrageenan ít bị ảnh hưởng. Bên cạnh đó, theo Fiszman và Dunin (1989) [16], độ đàn hồi của carrageenan cũng tăng nhẹ khi đường thay đổi từ 0 – 60%. Độ đàn hồi thể hiện khả năng phục hồi về trạng thái ban đầu sau biến dạng [9], vì vậy, sau quá trình nén, đối với cấu trúc có cấu tạo lỏng lẻo sẽ dễ dàng bị biến dạng hơn là gel đã được điền đầy bằng các phần tử đường trong mạng lưới [16]. Tuy nhiên, kết quả ở hình 5 cho thấy, sự thay đổi hàm lượng đường không ảnh hưởng nhiều đến độ đàn hồi của mẫu.

Độ cố kết của gel được định nghĩa là độ bền của các liên kết nằm bên trong tạo nên hình dáng của sản phẩm. Độ cố kết của gel carrageenan tương ứng với nồng độ đường thay đổi từ 10 – 30% là 43,66 ± 1,24%; 43,59 ± 2,62%; 43,01 ± 0,7%. Phân tích thống kê cho thấy, các giá trị này không khác nhau. Như vậy, khác với độ cứng, kết quả ở hình 5 cho thấy, đường ít ảnh hưởng đến độ cố kết của gel. Điều này được giải thích bởi độ cố kết phụ thuộc chính vào cấu trúc khung mạng của gel, mà độ bền của khung mạng này lại phụ thuộc vào sự tập hợp và sự liên kết chéo giữa các phân tử carrageennan, so sánh với phân tử carrageenan, đường sacaroza có kích thước nhỏ hơn rất nhiều, chúng hòa tan và tạo liên kết với nước giữa mạng lưới gel, vì vậy chúng ảnh hưởng rất nhỏ tới độ cố kết của gel [10], [8].

4. KẾT LUẬN

Khi tăng hàm lượng đường: Độ nhớt, độ ổn định gel, độ cứng, độ dính tăng, nồng độ tạo gel tối thiểu giảm. Nồng độ đường ≥ 30% giúp cho gel carragennan bền trong thời gian bảo quản. Đường sacaroza ít ảnh hưởng đến độ đàn hồi và độ cố kết của gel carragennan. Có thể sử dụng carragennan trong các sản phẩm có lượng đường cao ≥ 30% và có đặc tính gel như kẹo dẻo, thạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. William A. B. (2000). Carrageenan. pp. 1 - 34: FMC Corporation

2. Vanessa W. S., Paulo M. C.,, Leila J. O. H., Perdo L. M. B. (2012). Optimization of the extraction of carrageenan from Kappaphycus alvarezii using response surface methodology. *Food Science and Technology,* 32, 812 – 818

3. Fred van de Velde, D. G. A. R. (2002). Carrageenan. In *biopolymers*, Vol. Polysaccharides, pp. 1 - 35.

4. Liu S. C., W. L., Li L. (2015). Rheological Properties and Scaling Laws of K-carrageenan in Aqueous Solution. *Macromolecules,* 48 (20), 7649 - 7657. doi:10.1021/acs.macromol.5b01922.

5. Nishinari K. W. M. (1991). Effects of sugars and polyols on the gel-sol transition of kappa-carrageenan gels. *Elsevier Science Publishers B.V,* 206, 149 – 162

6. Megala P. S., Kemal T. A., Ralf G. B. (2017). Influence of iota carrageenan addition on the properties of soya protein meat analogues. *Food Science and Technology,* 87, 546 - 552.

7. Yang Z., Yang H., Yang H. (2018). Effects of sucrose addition on the rheology and microstructure of K-carrageenan gel. *Food Hydrocolloids* 75, 164 - 173

8. Katsuyoshi N. Y. F. (2016). Sucrose release from polysaccharide gels- A review. *Food and function,* 7 (5), 2130 - 2146.

9. Dunin L. S. M. F. (1989). Mechanical properties of kappa carrageenan-locust bean gum mixed gels with added sucros. *Food Hydrocolloids*, 3 (3), 209 – 216

10. Yuan C., Du L., Zhang G., Jin Z., Liu H. (2016). Influence of cyclodextrins on texture behavior and freeze-thaw stability of kappa-carrageenan gel. *Food Chemistry* 210, 600 – 605

11. Gabriel, S. F. L. H. A. R. M. (2014). Effect of drying temperature on carrageenan yield and quality of Kappaphycus alvarezii (Rhodophyta, Solieriaceae) cultivated in Brazil. *J. Appl. Phycol.,* 26, 917 – 922

12. Kunihiko G. H., Shozo M. K. (1986). *Effects of sugars and polyols on the sol gel transition of K-carrageenan: calorimetric study*. Retrieved from Butterworth & Co

13. Yadav R. B., Kumar N. and Yadav B. S. (2016). Characterization of banana, potato, and rice starch blends for their physicochemical and pasting properties. *Cogent Food Agric*, 2 (1) 1127873 doi: 10.1080/23311932.2015.1127873.

14. Necas J. B. L. (2013). Carrageenan: areview. *Veterinarni Medicina,* 58, 187 - 205.

15. Galmarini M. V., Baeza R., Sanchez V., Zamora M. C., Chirife J. (2011). Comparison of the viscosity of trehalose and sucrose solutions at various temperatures: Effect of guar gum addition. *LWT - Food Science and Technology* 44, 186 - 190.

16. Fiszman S. M. and Dunin L. (1989). Mechanical properties of kappa carrageenan-locust bean gum mixed gels with added sucrose. *Food Hydrocolloids*, 3 (3), 209 - 216.

17. Sara B. L., Luis D., Elvira C. (2005). Effect of addition of sucrose and aspartame on the compression resistance of hydrocolloids gels. *International Journal of Food Science and Technology,* 41, 980 - 986.

EFFECT OF SUGAR ON THE PROPERTIES OF CARRAGEENAN

Luong Hong Nga[1,*], Nguyen Thi Loan[1]

[1]School of Food Technology and Biotechnology, Hanoi Universoty of Science and Technology

** Email: nga.luonghong@hust.edu.vn*

Summary

Carrageenan is one of the most commonly used gelling additives or food thickeners derived from seaweed. Carrageenan with outstanding advantages such as good gel formation at small concentrations, ability to form gels under normal conditions, and good structural stability after storage, promises to be a potential substitute for traditional gelling agents. This work was conducted to study the influence of sugar on the properties of carrageenan: Viscosity, least gelation concentration, gel stability and gel texture. The results showed that, when increasing the sugar concentration: Viscosity, gel stability, hardness, stickiness increased, the least gelation concentration decreased. The sucrose has little effect on the elasticity and cohesion of the carrageenan gel.

Keywords: *Carrageenan, sucrose, effects, gel, texture.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Thanh Thủy

Ngày nhận bài: 8/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 6/4/2023

Ngày duyệt đăng: 13/4/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA ÁP DỤNG TIỀN XỬ LÝ ĐẾN ĐỘNG HỌC PHÂN HỦY CỦA CHLOROPHYLL Ở CÂY RAU NGÒ ÔM VIỆT NAM (*Limnophila aroma* (Lam.) Merr.) TRONG QUÁ TRÌNH SẤY KHÔ BẰNG KHÔNG KHÍ NÓNG

Lê Ngọc Diễm Nhi[1, 2, *], Lê Ngọc Liễu[1, 2]

TÓM TẮT

Thời gian sấy kéo dài là một trong những nhược điểm phổ biến của quá trình sấy thực vật bằng không khí nóng, điều đó trực tiếp gây tác động tiêu cực đến chlorophyll, dẫn đến việc biến đổi màu sắc sản phẩm. Mục đích của nghiên cứu này nhằm tìm hiểu sự ảnh hưởng của quá trình chần kết hợp với làm lạnh như một phương pháp tiền xử lý để giảm hao hụt hàm lượng chlorophyll ở cây rau ngò ôm Việt Nam (*Limnophila aroma* (Lam.) Merr.) trong quá trình sấy khô bằng không khí nóng và xây dựng mô hình động học phân hủy chlorophyll. Sau khi chần 15 giây, thân cây được nhúng vào hệ khuếch tán thẩm thấu gồm 3% NaCl, 0,05% vitamin C, 0,5% citric axit và 0,37% $MgCO_3$. Sự phân hủy của chlorophyll được đánh giá bằng các thử nghiệm tăng tốc có kiểm soát ở những nhiệt độ sấy 55, 65, 75 và 85°C. Sự phân hủy của chlorophyll a, b và chlorophyll tổng diễn ra theo mô hình bậc nhất và tốc độ phân hủy tăng khi nhiệt độ tăng. Tiền xử lý cho thấy, tác động tích cực đến thời gian sấy, tốc độ phân hủy và giảm mức độ bị phân huỷ của chlorophyll khi sấy ở nhiệt độ cao. Thân cây áp dụng tiền xử lý giữ lại được nhiều chlorophyll hơn khi tăng nhiệt độ, trong khi các mẫu không được xử lý cho xu hướng ngược lại. Tốc độ phân hủy của chlorophyll a, chlorophyll b và chlorophyll tổng lần lượt nằm trong khoảng 0,0422 – 0,2621 h^{-1}, 0,0667–0,4292 h^{-1}, 0,0482–0,3006 h^{-1} trong trường hợp không áp dụng tiền xử lý và 0,0452 – 0,1065 h^{-1}, 0,0525 – 0,1342 h^{-1}, 0,0468–0,1144 h^{-1} trong trường hợp áp dụng tiền xử lý. Cả hai mẫu đều cho các đặc tính nhiệt động học giống nhau, xảy ra như một phản ứng không tự phát và thu nhiệt ở bất kỳ nhiệt độ nào. Ngoài ra, bằng cách áp dụng tiền xử lý, chlorophyll có xu hướng ổn định hơn với nhiệt độ cao, thể hiện qua các giá trị thời gian bán hủy dài hơn.

Từ khoá: *Chlorophyll, động học phân huỷ, Limnophila aromatica (Lam.) Merr., nhiệt động học, sấy bằng không khí nóng, tiền xử lý.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở khía cạnh sức khoẻ, chlorophyll mang lại lợi ích cho cơ thể con người với những đặc tính chống oxy hóa và chống viêm, giúp ngăn ngừa các bệnh mãn tính như ung thư. Tuy nhiên, sự thay đổi cấu trúc của chlorophyll thành các dẫn xuất khác nhau làm cho chlorophyll mất đi những giá trị có ích. Sự phân hủy chlorophyll trong thực vật xảy ra gián tiếp bởi các yếu tố đáng kể như enzyme, nhiệt độ, ánh sáng, oxy, hóa chất và axit. Ở thực vật, chlorophyll được biết đến như một sắc tố tự nhiên, màu xanh lá cây. Màu xanh của chlorophyll từ lâu đã được sử dụng làm chất tạo màu tự nhiên. Do đó, sự thay đổi về màu sắc là yếu tố cơ bản nhất ảnh hưởng đến sự ưa thích, khả năng chấp nhận, lựa chọn và đánh giá về chất lượng của rau xanh.

Ngò ôm (*Limnophila aromatica* (Lam.) Merr. hoặc *Limnophila aromatic* Merr.), là một loài thực vật có hoa ưa nước, trồng nhiều ở vùng nhiệt đới, được phân loại vào chi *Limnophila* trong họ

[1] Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Quốc tế
[2] Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
[*] Email: nhi.nguyenle1507@gmail.com

Plantaginaceae [2]. Được biết đến như một loại rau thơm có nhiều chất chống oxy hóa, tổng cộng có khoảng 54 chất chủ yếu thuộc về terpenoid, phenolics và flavonoid được xác định trong *L. aromatica* [3]. Từ năm 2009, ngò ôm đã được xếp vào một trong những loại rau mang lại thu nhập cao cho người nông dân Việt Nam bởi mùi thơm dễ chịu và tính dược lý đã được chứng minh qua nhiều nghiên cứu. Tuy nhiên, rau tươi rất dễ bị dập hỏng trong quá trình vận chuyển. Vì vậy, để tăng giá trị kinh tế và giảm nguy cơ hư hỏng, rau sấy khô với mục đích tiêu dùng tiện lợi có thể trở thành một nguyên liệu tiềm năng được sử dụng trong các món ăn nhẹ, món tráng miệng, nguyên liệu nấu ăn, hoặc dùng trong trang trí món ăn. So với sấy bằng không khí nóng, phương pháp sấy thăng hoa giúp duy trì chất lượng sản phẩm ở mức cao nhưng chi phí sản xuất sẽ kéo theo giá thành sản phẩm cao. Theo Sabarez (1998) một trong những nhược điểm phổ biến của quá trình sấy bằng không khí nóng là thời gian sấy kéo dài, trực tiếp gây ra những tác động tiêu cực đến sự thay đổi màu sắc của sản phẩm, chủ yếu là màu xanh của chlorophyll trong thực vật, do nhiệt độ và độ ẩm cao trong quá trình sấy sẽ thúc đẩy sự suy giảm chất lượng [4]. Vì thế, việc xử lý sơ bộ trước khi sấy bằng không khí nóng là cần thiết để giảm các tác động tiêu cực của quá trình sấy.

Theo Berk (2018), mất nước thẩm thấu là loại bỏ nước bằng cách ngâm thực phẩm trong dung dịch có áp suất thẩm thấu cao. Nước và một số chất hòa tan tự nhiên của thực phẩm chuyển sang dung dịch thẩm thấu nhờ sự chênh lệch áp suất thẩm thấu, đồng thời, một lượng "chất hòa tan thẩm thấu" nhất định sẽ thấm vào thực phẩm. Việc lựa chọn thành phần dung dịch thẩm thấu và các điều kiện của quy trình là cần thiết nhằm mục đích tối đa hóa việc loại bỏ nước và giảm thiểu các quá trình chuyển hoá khác [5].

Theo Ando (2016), tốc độ sấy có thể tăng lên thông qua quá trình chần, cũng như nhiệt độ cao có thể vô hiệu hóa các enzyme và theo Tressler (1938) đã cho rằng, việc làm mát ngay tức thời là hoàn toàn cần thiết để giữ lại vitamin và chất dinh dưỡng [6]. Trên thực tế, Negi và cs (2000) đã chỉ ra rằng, hàm lượng chlorophyll có thể bị mất nhiều hơn khi chần và làm lạnh; tuy nhiên, mức giảm có thể được hạn chế tối đa, tùy thuộc vào dung dịch làm lạnh [7]. Theo kết quả nghiên cứu trên, khử nước thẩm thấu đã được biết đến như một hệ khuếch tán đa thành phần, được chuẩn bị cho quá trình làm mát ngay sau khi chần. Có nhiều công trình khoa học đã công bố nghiên cứu về tác động của việc chần trước khi sấy khô, nhưng nghiên cứu về tác động của việc làm mát sau khi chần và chủ yếu là động học phân hủy của chlorophyll vẫn còn hạn chế [8]. Thêm vào đó, chưa có nghiên cứu nào về sự kết hợp giữa chần ở nhiệt độ cao trong thời gian ngắn và hệ thống khử nước thẩm thấu (ODS) ở nhiệt độ thích hợp trong giai đoạn làm lạnh, hằng số tốc độ động học phân hủy của chlorophyll trong rau ngò ôm.

Do đó, nghiên cứu này nhằm mục đích nghiên cứu tác động của sự kết hợp chần và làm mát ngay sau đó bằng nước thẩm thấu (ODS) như một phương pháp tiền xử lý lên động học phân hủy chlorophyll của ngò ôm Việt Nam (*Limnophila aroma* Merr.). Ngoài ra, bằng cách sử dụng mô hình toán học và mô hình phân hủy, chất lượng sản phẩm có thể được kiểm soát trực tiếp thông qua các điều kiện sấy tối ưu.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Thân rau ngò ôm (*Limnophila aromaa* Merr.) được thu mua từ nhà vườn trồng rau ở tỉnh Tiền Giang, kích thước trung bình có đường kính khoảng 3,5 – 5 mm và dài từ ngọn đến phần cắt là 40 - 50 cm. Các hoá chất bao gồm: natri clorua (chất khử nước thẩm thấu), axit ascorbic – vitamin C (chất chống oxy hóa), axit citric, magie carbonate (chất duy trì chlorophyll) và acetone (dung môi). Tất cả hóa chất (Sigma-Aldrich,

Merck và hóa chất có xuất xứ Trung Quốc có độ tinh sạch trên 99%).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị mẫu

Rau ngò ôm thu mua được loại bỏ lá, cành nhỏ và rễ cây, giữ lại thân cây và rửa sạch bằng nước máy 2 lần, cuối cùng rửa lại bằng nước cất. Nước trên bề mặt được làm khô bằng giấy thấm. Cuối cùng, cây được cắt thành đoạn dài 12 ± 2 cm để sử dụng cho thí nghiệm.

2.2.2. Phương pháp chần

Nước sạch được cho vào nồi inox và đun sôi đến khi đạt 98 ± 2°. Thân cây tươi sau khi đã làm sạch được chần trong 15 giây theo tỉ lệ 1: 10 (w: v) [9].

2.2.3. Phương pháp làm mát ngay sau chần

Ngay sau khi chần, rau được ngâm ngay vào nước lạnh có pha hóa chất trong vòng 30 phút theo tỉ lệ 1: 10 (w: v) [10; 11]. Các hóa chất bao gồm 3% natri clorua, 0,05% axit ascorbic, 0,5% axit xitric và 0,37% magie carbonate (w: v) [12].

2.2.4. Phương pháp sấy khô bằng không khí nóng

Các mẫu được đặt vào tủ sấy (Memmert - UNE 700) với nhiệt độ được kiểm soát ở biên độ ± 1°C. Bằng cách sàng lọc các điều kiện được đề cập từ nghiên cứu của Prathapan và cs (2009) [13], các nhiệt độ khảo sát bao gồm 55, 65, 75 và 85°C. Mẫu được sấy đến khối lượng không đổi (đạt ẩm cân bằng). Quá trình được lặp lại 3 lần. Trong quá trình sấy, mẫu được lấy theo thời gian để phân tích hàm lượng chlorophyll và xây dựng mô hình động học.

2.3. Phương pháp phân tích và xây dựng mô hình động học

2.3.1. Xác định hàm lượng chlorophyll

Để đo hàm lượng chlorophyll (Chl) của dịch chiết, quá trình được cải tiến và xác định dựa theo phương pháp của Kumar và cs (2015) [14]. Cụ thể, các mẫu được xay nhuyễn và lấy một lượng mẫu nhất định (tương đương với 0,1 g chất khô) trích ly với 50 mL dung môi axêton 80%. Các hỗn hợp được giữ trong bể nước siêu âm ở 40 kHz trong 1 giờ tại nhiệt độ phòng và sau đó được ngâm chiết xuất trong tủ đông ở -20°C qua đêm. Dung dịch chiết được thu lại bằng cách lọc, chuẩn thể tích đến 50 mL trong bình định mức và bảo quản ở -20°C trước khi xác định hàm lượng chlorophyll. Tất cả dụng cụ đều được bọc kín bằng giấy bạc. Độ hấp thụ được phân tích ở bước sóng 645 và 663 nm bằng máy quang phổ UV. Kết quả thu được được tính toán dựa trên chất khô theo đơn vị µg Chl/g chất khô. Quá trình được lặp lại 3 lần.

2.3.2. Xây dựng mô hình động học phân hủy chlorophyll

Động học phân huỷ của chlorophyll được mô tả bằng các phương trình tổng quát bậc không, bậc một và bậc hai như sau:

Phương trình bậc không: $\frac{\partial C_t}{\partial t} = -k_0$ (1)

Phương trình bậc một: $\frac{\partial C_t}{\partial t} = -k_1 C_t$ (2)

Phương trình bậc hai: $\frac{\partial C_t}{\partial t} = -k_2 C_t^{\,2}$ (3)

Trong đó: C_t và C_0 lần lượt là hàm lượng chlorophyll tại thời điểm ban đầu và thời điểm t (giờ); k_0, k_1 và k_2 là hằng số tốc độ của phương trình động học phân huỷ bậc không, một, hai (h^{-1}), t là thời gian (giờ).

Chu kì bán huỷ $t_{1/2}$ được tính theo công thức bậc 1:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (4)$$

Trong đó: k là hằng số tốc độ của phương trình động học phân huỷ (h^{-1}).

Theo các hằng số tốc độ động học bậc một ở các nhiệt độ khác nhau, năng lượng hoạt hóa cho quá trình phân hủy chlorophyll được tính theo phương trình Arrhenius như sau:

$$k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (5)$$

Trong đó: k là hằng số tốc độ của phương

trình động học phân huỷ (h^{-1}), A là một yếu tố hoặc tần số tiến theo cấp số nhân (h^{-1}), E_a là năng lượng hoạt hóa ($kJ.mol^{-1}$), R là hằng số định luật chất khí (8.314 J. $mol^{-1}.K^{-1}$), T là nhiệt độ sấy (K).

Năng lượng có sẵn gây ra sự phân huỷ, hàm lượng nhiệt và mức độ ngẫu nhiên hoặc rối loạn của hệ thống được đo lường bằng các phương trình sau này [15], tương ứng:

$$\Delta G = -R(T+273)ln\left(\frac{kh_p}{K_B(T+273)}\right) \quad (6)$$

$$\Delta H = E_a - R(T+273) \quad (7)$$

$$\Delta S = \left(\frac{\Delta H - \Delta G}{T}\right) \quad (8)$$

Trong đó: ΔG là sự thay đổi năng lượng tự do Gibbs ($kJ.mol^{-1}$), ΔH là sự thay đổi enthalpy (kJ. mol^{-1}), ΔS là sự thay đổi entropy ($J.mol^{-1}.K^{-1}$), E_a là năng lượng hoạt hoá cho sự phân huỷ (kJ. mol^{-1}), h_p là hằng số Planck (6.6262×10^{-34}J.s), K_B là hằng số Boltzmann (1.3806×10^{-23}J. K^{-1}), T là nhiệt độ sấy (K), k là hằng số tốc độ của phương trình động học phân huỷ (h^{-1}).

2.3.3. Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả các thí nghiệm được phân tích phương sai ANOVA kết hợp phép thử kiểm định LSD được phân tích bằng phần mềm SPSS Statistic v.20.0 với mức độ tin cậy là 95%. Việc ước tính các mô hình động học phân huỷ được thực hiện bằng phân tích hồi quy tuyến tính thông qua phần mềm CurveExpert Professional v2.6.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1 trình bày kết quả hàm lượng chlorophyll sau khi sấy khô đến trạng thái cân bằng độ ẩm. Sắc tố xanh chủ yếu là chlorophyll a (Chl a) nhưng kém bền hơn chlorophyll b màu vàng xanh (Chl b) nên trong các sản phẩm sấy bằng không khí nóng, tỷ lệ Chl a/Chl b giảm gây ra biến đổi màu sắc chuyển từ xanh lam sang vàng xanh. Sự gia tăng nhiệt độ làm tăng tổng hàm lượng chlorophyll phân huỷ của các mẫu không có tiền xử lý, nhưng xu hướng của những mẫu được áp dụng tiền xử lý thì ngược lại. Theo kết quả được thể hiện trong bảng 1, nhiệt độ trong quá trình sấy là yếu tố có ảnh hưởng rất lớn đến sự thay đổi chlorophyll thông qua sự hình thành pheophytin và pheophorbide, dẫn đến sự thay đổi màu sắc từ xanh sáng sang nâu ô liu hoặc vàng xanh. Sự phân hủy của chlorophyll a và b trong quá trình xử lý nhiệt tạo ra pheophytin a và b, do 2 ion H^+ của axit trong dịch bào thế vào ion Mg^{2+} trong vòng porphyrin dưới sự xúc tác của enzyme Mg-dechelatase. Tuy nhiên, việc áp dụng phương pháp tiền xử lý mang lại hiệu quả trong việc giảm hàm lượng chlorophyll bị phân huỷ. Ở thân cây không áp dụng phương pháp tiền xử lý, hàm lượng chlorophyll có xu hướng giảm khi tăng nhiệt độ sấy. Trong đó, hàm lượng chlorophyll tổng, a và b được duy trì ở mức cao nhất khi sấy rau ở nhiệt độ 55^0C (1927,38 µg/g chất khô) và thấp nhất khi sấy ở 85^0C (758,35 µg/g chất khô). Tuy nhiên, xu hướng này có phần ngược lại ở thân cây áp dụng phương pháp tiền xử lý. Khi áp dụng phương pháp chần ở nhiệt độ cao trước khi sấy đã hạn chế các biến đổi tiêu cực liên quan đến màu sắc, hầu hết các enzyme peroxidase, lipoxygenase và chlorophyll oxidase bị vô hiệu hoá cũng như không khí trong các mô thực vật trong thân cây bị đẩy ra ngoài, làm giảm nồng độ oxy sau đó và góp phần giữ lại chlorophyll tốt hơn. Thêm vào đó, một phần nước tự do trong thân cây sẽ được đưa ra ngoài nhờ vào sự chênh lệch nồng độ muối natri clorua, giúp cho tốc độ sấy nhanh hơn, rút ngắn thời gian tiếp xúc với nhiệt độ cao. Hơn nữa, các chất chống oxi hoá như vitamin C được thêm vào để bảo vệ các hợp chất axit thực vật giải phóng khi khoảng trống giữa các tế bào bị phá vỡ và chlorophyll giải phóng từ phức hợp protein trong quá trình thân cây tiếp xúc với nhiệt nóng. Do đó, lượng chlorophyll bị mất trong quá trình sấy giảm, dẫn đến lượng chlorophyll được bảo toàn nhiều hơn [16].

Bảng 1. Hàm lượng chlorophyll sau khi sấy khô đến trạng thái cân bằng độ ẩm

Mẫu	Nhiệt độ (˚C)	Thời gian sấy (giờ)	Chlorophyll còn lại (µg/g chất khô)		
			Chl a	Ch b	Total
Không áp dụng tiền xử lý	55	20	1550,38 ± 219,31 ^{a}	377,00 ± 40,81 ^{bc}	1927,38 ± 225,82 ^{a}
	65	16	893,14 ± 101,10 ^{bd}	348,72 ± 40,50 ^{bc}	1262,69 ± 144,08 ^{b}
	75	8	538,01 ± 11,08 ^{c}	194,02 ± 36,22 ^{a}	830,53 ± 179,38 ^{c}
	85	5	680,99 ± 55,94 ^{cd}	133,92 ± 34,99 ^{a}	758,35 ± 152,95 ^{c}
Áp dụng tiền xử lý	55	16	950,32 ± 109,93 ^{bd}	304,37 ± 1,84 ^{b}	1254,69 ± 111,74 ^{b}
	65	9	783,22 ± 32,11 ^{bcd}	354,83 ± 8,04 ^{bc}	1138,05 ± 35,96 ^{bc}
	75	6	1057,41 ± 43,54 ^{bd}	404,61 ± 35,94 ^{c}	1426,02 ± 78,39 ^{bd}
	85	5	1310,47 ± 53,56 ^{ad}	494,39 ± 18,76 ^{d}	1804,86 ± 70,02 ^{ad}

Ghi chú: Các giá trị được thể hiện ở dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3); các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa (p < 0,05).

Để đánh giá động học của sự phân hủy chlorophyll trong quá trình sấy khô ở các nhiệt độ khác nhau, phân tích hồi quy đã được sử dụng, dữ liệu được khớp với ba mô hình động học khác nhau (1)-(3) được đề cập ở trên và được trình bày trong bảng 2. Sự phân hủy động học của chlorophyll trong thân ngò ôm được minh họa phù hợp thông qua mô hình bậc nhất với hệ số xác định cao hơn so với các mô hình khác (r^2 > 0,93). Do đó, mô hình bậc nhất được sử dụng để phân tích sâu hơn về các tính chất nhiệt động của quá trình.

Thông qua thông số nhiệt động được trình bày trong bảng 3, xu hướng phân huỷ của chlorophyll đối với cả mẫu chưa xử lý và mẫu đã tiền xử lý là tương tự nhau, trong đó sự gia tăng nhiệt độ sấy khô làm tăng tốc độ phân hủy của chúng. Kết quả cho thấy, các giá trị hằng số tốc độ giảm khi áp dụng tiền xử lý. Tuy chlorophyll b bền với nhiệt hơn nhưng tốc độ phân huỷ của chúng lại nhanh hơn chlorophyll a. Nhiệt độ phản ứng là một thông số có liên quan đến các quá trình phân hủy. Do đó, ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến sự phân hủy chlorophyll được thể hiện qua giá trị năng lượng hoạt hoá E_a.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, cả thời gian bán hủy của chlorophyll a và b đều giảm khi nhiệt độ tăng. Hầu hết các mẫu đều có thời gian sấy dài hơn, đều có thời gian bán huỷ ngắn hơn dẫn đến hàm lượng chlorophyll bị ảnh hưởng rõ rệt. Thời gian bán huỷ $t_{1/2}$ là khoảng thời gian cần thiết để hợp chất giảm đi một nửa so với nồng độ ban đầu. Cụ thể, thời gian bán hủy cao nhất của chlorophyll trong các mẫu chưa xử lý là 14 giờ và thời gian bán hủy tương ứng của chlorophyll trong các mẫu tiền xử lý là 15 giờ, cả hai giá trị này đều là các mẫu được sấy khô ở 55˚C. Mặc dù nhiệt độ thấp hơn sẽ có xu hướng làm chậm tốc độ phân hủy, nhưng trong nghiên cứu này, ở những mẫu không áp dụng tiền xử lý, thời gian sấy dài hơn dẫn tới thời gian bán huỷ ngắn hơn, dẫn đến sự phân hủy chlorophyll nhiều hơn khi tăng nhiệt. Đối với ảnh hưởng của phương pháp tiền xử lý, kết quả cho thấy, ở cùng nhiệt độ sấy, thời gian sấy giảm xuống và thời gian bán hủy của chlorophyll tăng lên, nhìn chung thời gian sấy ngắn hơn hoặc bằng thời gian bán huỷ, dẫn đến sự phân hủy chlorophyll thấp hơn khi tăng nhiệt độ. Tuy nhiên, giá trị năng lượng hoạt hoá của các mẫu áp dụng phương pháp tiền xử lí giảm, điều đó đồng nghĩa

với việc chlorophyll trong thân cây áp dụng phương pháp tiền xử lý dễ bị phân huỷ ở nhiệt độ thấp so với chlorophyll trong thân cây không áp dụng phương pháp tiền xử lý.

Bằng cách tính toán các thông số nhiệt động trong bảng 3 cung cấp các thông tin quan trọng để hiểu rõ hơn về sự phân huỷ chlorophyll. Năng lượng tự do ΔG của các mẫu không áp dụng tiền xử lý thấp hơn các mẫu tiền xử lý, lần lượt nằm trong khoảng 66,53 – 67,43 kJ.mol^{-1} và 66,61 – 70,30 kJ.mol^{-1}; tất cả ΔG của các mẫu đều có giá trị dương, điều đó có nghĩa là sự phân hủy chlorophyll là một phản ứng không tự phát. Giá trị enthalpy ΔH được gọi là nhiệt phản ứng thể hiện nhiệt phải được thêm vào hoặc loại bỏ trong một phản ứng hóa học. Tất cả các giá trị ΔH của cả hai mẫu đều mang giá trị dương, nghĩa là sự phân hủy chlorophyll là một phản ứng thu nhiệt. Kết quả là năng lượng tự do của các mẫu tiền xử lý nhìn chung cao hơn năng lượng tự do của các mẫu chưa xử lý, biến thiên ΔH có giá trị càng dương, phản ứng thu vào càng nhiều nhiệt, điều đó phù hợp với năng lượng bổ sung cho các mẫu không có tiền xử lý phải lớn hơn để đạt được trạng thái chuyển tiếp. Giá trị entropy ΔS đo mức độ mất trật tự của các phân tử trong hệ thống sấy. Entropy của tất cả các mẫu đều có giá trị âm cho thấy, trạng thái chuyển tiếp có cấu trúc tổ chức hơn so với các chất phản ứng và vì lý do này, sự hình thành phức hợp kích hoạt có liên quan đến việc giảm entropy. Giá trị ΔS thấp có nghĩa là chất đó gần với trạng thái cân bằng nhiệt động của nó và cần khoảng thời gian nhiều hơn để tạo thành phức hợp kích hoạt vì nó có hoạt tính thấp. Ngược lại, giá trị ΔS cao hơn thu được chỉ ra rằng chất này ở xa trạng thái cân bằng nhiệt động của nó và có khả năng phản ứng cao, cần khoảng thời gian ngắn để tạo thành phức hợp hoạt hóa [15].

Bảng 2. Các thông số động học phân huỷ chlorophyll

Mẫu	Nhiệt độ (°C)	Thời gian sấy (giờ)	Bậc không		Bậc một		Bậc hai	
			k_0 (µg.g ck^{-1},h^{-1})	r^2	k_1 (h^{-1})	r^2	k_2 (g ck.µg^{-1}.h^{-1})	r^2
Chl a								
Không áp dụng tiền xử lý	55	20	98,251	0,9324	0,0422	0,9744	0,0002	0,9902
	65	16	144,37	0,8412	0,0815	0,9664	0,0005	0,9969
	75	8	220,85	0,8737	0,1796	0,9628	0,0017	0,9557
	85	5	409,5	0,8614	0,2621	0,941	0,002	0,875
Áp dụng tiền xử lý	55	16	68,802	0,8572	0,0452	0,89	0,0003	0,8722
	65	9	92,283	0,9291	0,0732	0,9052	0,0006	0,8336
	75	6	179,76	0,9406	0,111	0,8891	0,0007	0,8179
	85	5	190,67	0,9522	0,1065	0,9546	0,0006	0,9364
Giá trị r^2 trung bình				0,8985		0,9354		0,9097
Chl b								

Không áp dụng tiền xử lý	55	20	51,450	0,9578	0,0667	0,98	0,001	0,9572
	65	16	81,925	0,8118	0,0992	0,9712	0,0014	0,9847
	75	8	118,48	0,8956	0,2351	0,9587	0,0057	0,9413
	85	5	213,95	0,9158	0,4292	0,9801	0,0121	0,8294
Áp dụng tiền xử lý	55	16	24,663	0,8528	0,0525	0,937	0,0012	0,9651
	65	9	49,516	0,874	0,088	0,9355	0,0016	0,9547
	75	6	90,009	0,9394	0,136	0,903	0,0022	0,8391
	85	5	95,898	0,9377	0,1342	0,9633	0,0019	0,9655
Giá trị r^2 trung bình				0,9078		0,9523		0,9376

Bảng 3. Thông số nhiệt động của sự phân huỷ chlorophyll tính theo phương trình bậc một

Mẫu	Nhiệt độ (°C)	Thời gian sấy (giờ)	k (h^{-1})	$t_{1/2}$ (h)	E_a (kJ.mol^{-1})	r^2	ΔG (kJ.mol^{-1})	ΔH (kJ.mol^{-1})	ΔS (J.mol^{-1}.K^{-1})
Chl a									
Không áp dụng tiền xử lý	55	20	0,0422	16	61,33	0,9872	66,89	58,6	-25,28
	65	16	0,0815	9			67,17	58,52	-25,59
	75	8	0,1796	4			66,95	58,43	-24,47
	85	5	0,2621	3			67,83	58,35	-26,49
Áp dụng tiền xử lý	55	16	0,0452	15	29,45	0,871	66,7	26,72	-121,91
	65	9	0,0732	9			67,47	26,64	-120,8
	75	6	0,111	6			68,34	26,55	-120,09
	85	5	0,1065	7			70,52	26,47	-123,03
Chl b									
Không áp dụng tiền xử lý	55	20	0,0667	10	62,8	0,9781	65,64	60,07	-16,99
	65	16	0,0992	7			66,61	59,99	-19,61
	75	8	0,2351	3			66,17	59,9	-18,01
	85	5	0,4292	2			66,37	59,82	-18,28
Áp dụng tiền xử lý	55	16	0,0525	13	32,02	0,8889	66,30	29,29	-112,81
	65	9	0,088	8			66,95	29,21	-111,66
	75	6	0,136	5			67,76	29,13	-111
	85	5	0,1342	5			69,83	29,04	-113,92
Chl tổng									
Không áp dụng tiền xử	55	20	0,0482	14	61,57	0,9901	66,53	58,84	-23,45
	65	16	0,087	8			66,98	58,76	-24,34

lý	75	8	0,1954	4			66,71	58,67	-23,09
	85	5	0,3006	2			67,43	58,59	-24,69
Áp dụng tiền xử lý	55	16	0,0468	15	30,56	0,875	66,61	27,84	-118,21
	65	9	0,0777	9			67,30	27,75	-117
	75	6	0,1182	6			68,16	27,67	-116,35
	85	5	0,1144	6			70,30	27,59	-119,32

4. KẾT LUẬN

Sự phân hủy chlorophyll của thân ngò ôm có hoặc không có áp dụng tiền xử lý đều được thể hiện tốt nhất với phương trình động học bậc nhất. Kết quả phân tích các thông số động học cho thấy, sự gia tăng nhiệt độ hơn 55°C gây ra ảnh hưởng đến hằng số tốc độ phân hủy và thời gian bán hủy của các mẫu. Hàm lượng chlorophyll được bảo tồn đáng kể đối với mẫu không áp dụng tiền xử lý khi sấy tại nhiệt độ 55°C và 85°C đối với mẫu áp dụng tiền xử lý. Việc áp dụng tiền xử lý bao gồm chần và nhúng trong hệ thống khuếch tán thẩm thấu có tác động tích cực đến việc giảm thiểu sự phân hủy chlorophyll, cụ thể là giảm thời gian sấy có tác động tích cực đến việc ngăn chặn sự phân hủy và làm chậm tốc độ phân huỷ tại cùng một nhiệt độ sấy. Hơn nữa, trong suốt quá trình tính toán các tham số nhiệt động, năng lượng tự do ΔG, enthalpy ΔH và entropy ΔS của cả hai mẫu, chlorophyll bị phân hủy do phản ứng thu nhiệt và đều là phản ứng không tự phát. Nghiên cứu này cho thấy, tiền xử lý có tác dụng tích cực trong giảm thiểu ảnh hưởng của nhiệt trong quá trình sấy lên các hợp chất sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ferruzzi, M. G., & Blakeslee, J. (2007). Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition research*, 27(1), 1-12.

2. Philcox, D. (1970). A taxonomic revision of the genus Limnophila R. Br. (Scrophulariaceae). Kew Bulletin, 24(1), 101-iii.

3. Gorai, D., Jash, S. K., Singh, R. K., & Gangopadhyay, A. (2014). Chemical and pharmacological aspects of *Limnophila aromatica* (Scrophulariaceae): an overview. *AJPCT*, 2(3), 348-356.

4. Sabarez, H. T. (1998). Chemical and physical changes during dehydration of prunes (prunus domestica).

5. Berk, Z. (2018). Dehydration. Food process engineering and technology, 513.

6. Tressler, D. K. (1938). Bacteria, enzymes and vitamins—indices of quality in frozen vegetables. Refrig. Engng, 36, 319.

7. Negi, P. S., & Roy, S. K. (2000). Effect of blanching and drying methods on β-carotene, ascorbic acid and chlorophyll retention of leafy vegetables. *LWT-Food Science and Technology*, 33(4), 295-298.

8. Nguyen, Q. D. (2022). Degradation Kinetics of Chlorophyll Pigments in Dried Leaves of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms during Storage. *Journal of Technical Education Science*, (70B), 57-66.

9. White, A., Ford, A., Andress, E. L., & Harrison, J. A. (2014). So Easy To Preserve.

10. Board, N. P. C. S. (2012). Handbook on Fruits, Vegetables & Food Processing with Canning & Preservation. ASIA PACIFIC BUSINESS PRESS Inc.

11. Telis, V. R. N., Murari, R. C. B. D. L., & Yamashita, F. (2004). Diffusion coefficients during osmotic dehydration of tomatoes in ternary solutions. *Journal of food Engineering*, 61(2), 253-259.

12. Lioutas, T. S. (1989). Dried green vegetable and method of preparation. U.S. Patent No 4,832,969, 1989.

13. Prathapan, A., Lukhman, M., Arumughan, C., Sundaresan, A., & Raghu, K. G. (2009). Effect

of heat treatment on curcuminoid, colour value and total polyphenols of fresh turmeric rhizome. *International journal of food science & technology*, 44(7), 1438-1444.

14. Kumar, S. S., Manoj, P., Shetty, N. P., & Giridhar, P. (2015). Effect of different drying methods on chlorophyll, ascorbic acid and antioxidant compounds retention of leaves of *Hibiscus sabdariffa* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(9), 1812-1820.

15. Lago, C. C., & Noreña, C. P. Z. (2017). Thermodynamic and kinetics study of phenolics degradation and color of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) microparticles under accelerated storage conditions. *Journal of food science and technology*, 54, 4197-4204.

16. Heaton, J. W., & Marangoni, A. G. (1996). Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. Trends in Food Science & Technology, 7(1), 8-15.

THE EFFECTS OF PRE-TREATMENTS ON THE CHLOROPHYLL DEGRADATION KINETICS OF VIETNAMESE RICE PADDY HERB (*Limnophila aromatic* Lam. Merr.) DURING HOT AIR DRYING

Le Ngoc Diem Nhi[1, 2, *], Le Ngoc Lieu[1, 2]

[1] *Department of Food Technology, School of Biotechnology, International University, Ho Chi Minh city, Vietnam*

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

[*] *Email: nhi.nguyenle1507@gmail.com*

Summary

One of the common drawbacks in the hot-air drying process of plants is the long duration which directly gives negative effects on chlorophyll, leading to color alteration. This study aimed to investigate the effects of the blanching combined with cooling as a pretreatment to reduce the chlorophyll degradation of Vietnamese rice paddy herb (*Limnophila aromatic* Lam. Merr.) during hot air drying and to construct degradation models. After 15 s blanching, blanched stems were dipped in the osmotic diffusion system including 3% sodium chloride, 0.05% ascorbic acid, 0.5% citric acid, and 0.37% magnesium carbonate. The degradation of chlorophyll compounds was evaluated by accelerated tests under controlled drying temperatures at 55°C, 65°C, 75°C, and 85°C. The degradation of chlorophyll a, b, and total chlorophyll followed the first-order model and the degradation rate increased with increasing temperature in general. Pretreatment showed a positive effect on drying time, degradation rate, and chlorophyll retention at high drying temperatures. The stems applied pretreatment preserved more chlorophyll retention at increased temperatures, while unpretreated samples displayed the opposite behavior. The degradation rate of chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll were in the range of 0.0422–0.2621 h^{-1}, 0.0667–0.4292 h^{-1}, 0.0482–0.3006 h^{-1} in case of un-pretreatment application and 0.0452–0.1065 h^{-1}, 0.0525–0.1342 h^{-1}, 0.0468–0.1144 h^{-1} in case of pretreatment application respectively. Two samples showed the same thermodynamic characteristics, occurring as a non-spontaneous and an endothermic reaction at any drying temperature. Also, by applied pretreatment, chlorophyll tends to be more preserved, represented by longer half-life values.

Keywords: *Chlorophyll, degradation kinetics, drying, Limnophila aromatica (Lam.) Merr., pretreatment, thermodynamic.*

Người phản biện: TS. Bùi Thị Bích Ngọc

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/3/2023

Ngày duyệt đăng: 29/3/2023

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH TÌNH TRẠNG DINH DƯỠNG VÀ CÁC YẾU TỐ LIÊN QUAN ĐẾN BỆNH NHÂN TIỀN PHẪU THUẬT TẠI BỆNH VIỆN THỐNG NHẤT THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH NĂM 2022

Lâm Khắc Kỷ[1, *], Hồ Thị Như Ý[1],
Nguyễn Hoàng Tuyết Ngân[1], Dương Thị Kim Loan[2, *]

TÓM TẮT

Khảo sát tình trạng dinh dưỡng (TTDD) của bệnh nhân phẫu thuật tiêu hoá bằng các phương pháp đánh giá dinh dưỡng tổng thể chủ quan SGA (Subjective Global Assessment), BMI (Body Mass Index) và xét nghiệm albumin huyết thanh. Đánh giá mối tương quan của các phương pháp đó và tìm hiểu các yếu tố liên quan gồm nhân trắc học và các chỉ số cận lâm sàng. Thông qua đó một số khuyến nghị dinh dưỡng được đề xuất. Trong 111 bệnh nhân có 79 nam và 39 nữ. Tỷ lệ SDD theo SGA (bao gồm SGA-B và C), BMI và albumin huyết thanh lần lượt là 80,2%, 15,3% và 34%. Tỷ lệ người bệnh có tình trạng giảm cân trước mổ là 35,1%. Có mối liên quan giữa đánh giá TTDD theo phương pháp SGA và nồng độ albumin huyết thanh ($p<0,05$). Mối liên quan giữa chỉ số hemoglobin, thay đổi cân nặng trong 6 tháng trước khi nhập viện và thay đổi cân nặng 2 tuần trước mổ với tình trạng SDD theo SGA có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Tỷ lệ SDD theo SGA lớn hơn do kết quả đánh giá dựa trên nhiều chỉ số. Trong đó, mối liên quan giữa SGA với chỉ số hemoglobin; thay đổi cân nặng và SGA có ý nghĩa thống kê. Việc bắt đầu với thức ăn lỏng phù hợp với bệnh lý như cháo, súp, nước hoa quả… giàu đạm và béo MCT (Medium Chain Triglycerides) có ý nghĩa trong việc cải thiện tình trạng SDD ở bệnh nhân tiền phẫu.

Từ khoá: *Albumin huyết thanh, BMI (Body Mass Index), tiền phẫu thuật, suy dinh dưỡng (SDD), SGA (Subjective Global Assessment), tình trạng dinh dưỡng (TTDD).*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hỗ trợ dinh dưỡng trước phẫu thuật, đặc biệt ở những người SDD hoặc có nguy cơ cao với SDD là bước quan trọng của phác đồ ERAS – Enhanced Recovery After Surgrey programe để đạt được kết quả phẫu thuật tốt hơn, làm giảm các biến chứng, thời gian nằm viện và tử vong [1]. Đối với bệnh nhân SDD, việc đánh giá TTDD từ lúc mới nhập viện và hỗ trợ dinh dưỡng tích cực trong giai đoạn chu phẫu có thể làm giảm tỷ lệ biến chứng và tử vong sau phẫu thuật, góp phần quyết định đáng kể đến kết cục lâu dài cho bệnh nhân [2]. Một số nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ SDD ở những người bệnh phẫu thuật đặc biệt là phẫu thuật tiêu hóa rất cao: 46 – 71% [3]. Tại Việt Nam, nghiên cứu của Phạm Văn Năng và cs (2006) [4] về bệnh lý ngoại khoa và tình trạng dinh dưỡng; Nguyễn Thùy An (2010) [5] về tình trạng nhiễm trùng vết mổ và SDD tại Bệnh viện Chợ Rẫy cho thấy, tỷ lệ SDD ở bệnh nhân tiền phẫu khá cao (55,7% và 56,7%) và hầu như không có xu hướng giảm qua nhiều năm.

Trên lâm sàng có nhiều cách để đánh giá TTDD như: Dùng các chỉ số nhân trắc (BMI, bề dày lớp mỡ dưới da, vòng cánh tay), thang điểm đánh giá (MNA, SGA, NRS) hay các xét nghiệm cận lâm sàng (Albumin, Prealbumin, Transferrin).

[1] Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh
*Email: lamkhacky@iuh.edu.vn
[2] Bệnh viện Thống Nhất thành phố Hồ Chí Minh
*Email: dkimloantn@gmail.com

Mỗi phương pháp đều có ưu và nhược điểm riêng. Một trong những công cụ dễ áp dụng là đánh giá dinh dưỡng tổng thể chủ quan SGA, đây là một phương pháp đơn giản, rẻ tiền, dễ sử dụng, dễ huấn luyện và có thể áp dụng đại trà trên lâm sàng với kết quả đáng tin cậy. Đánh giá tình trạng dinh dưỡng theo chỉ số BMI là phương pháp rất đơn giản, dễ thực hiện. BMI dưới 16 được xem là suy dinh dưỡng nặng, có nguy cơ tử vong cao [6]. Nồng độ albumin huyết thanh trước phẫu thuật không chỉ dùng đánh giá TTDD, độ nặng của bệnh mà còn là yếu tố có ý nghĩa trong tiên lượng biến chứng và tử vong sau phẫu thuật. Nồng độ albumin huyết thanh càng giảm thì nguy cơ biến chứng, tử vong càng cao sau phẫu thuật [7].

Bệnh viện Thống Nhất là một trong những bệnh viện chăm sóc sức khỏe toàn diện tại khu vực phía Nam, Khoa Ngoại tiêu hóa thường xuyên tiếp nhận và phẫu thuật nhiều ca bệnh, do đó *"Nghiên cứu xác định tình trạng dinh dưỡng và các yếu tố liên quan đến bệnh nhân tiền phẫu thuật tại Bệnh viện thống nhất thành phố Hồ Chí Minh năm 2022"* được thực hiện nhằm đánh giá TTDD của người bệnh trước phẫu thuật tiêu hóa và cung cấp dữ liệu xác định yếu tố ảnh hưởng đến TTDD giúp nâng cao chất lượng chăm sóc điều trị người được chỉ định phẫu thuật tiêu hóa.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Người bệnh phẫu thuật tại Khoa Ngoại tiêu hóa, Bệnh viện Thống Nhất trong khoảng thời gian từ tháng 9/2022 đến tháng 11/2022.

Tiêu chí lựa chọn:

- Bệnh nhân có chỉ định phẫu thuật tại Khoa Ngoại tiêu hoá.

- Đồng ý tham gia nghiên cứu.

- Có khả năng giao tiếp và sức khỏe đủ để trả lời bảng câu hỏi phỏng vấn.

Tiêu chí loại trừ:

- Bệnh nhân đang mang thai.

- Bệnh nhân bị rối loạn tâm thần hoặc được đánh giá quá yếu để tham gia.

- Bệnh nhân từ chối tham gia nghiên cứu hoặc từ chối cung cấp một trong các thông tin trong bảng thu thập số liệu.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được thực hiện tại Khoa Ngoại tiêu hoá, Bệnh viện Thống Nhất thành phố Hồ Chí Minh.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 09/2022 đến tháng 11/2022.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang.

- Tính toán cỡ mẫu: Cỡ mẫu được ước lượng theo công thức Cochran (1977):

$$n = \frac{Z^2_{1-\alpha/2} \times p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó: n là cỡ mẫu nghiên cứu; Z là trị số tính từ phân phối chuẩn với độ tin cậy 95%, $Z_{(1-\alpha/2)}$ = 1,96. Mức ý nghĩa thống kê, chọn α=0.05; d: sai số cho phép, chọn d = 0,1; p: trị số mong muốn của tỷ lệ bệnh nhân SDD (p = 0,047) [3].

- Cỡ mẫu công thức tính được n=95 người, thực tế khảo sát 111 người.

Thu thập số liệu: Phỏng vấn đối tượng nghiên cứu bằng bộ câu hỏi soạn sẵn bao gồm thông tin chung và bảng đánh giá SGA, chỉ số BMI được tính toán dựa trên cân nặng và chiều cao mà bệnh nhân cung cấp. Thông tin về albumin và bệnh lý được tham khảo trong hồ sơ bệnh án. SGA được đánh giá bởi bác sĩ của Khoa Dinh dưỡng.

2.4. Các ngưỡng đánh giá TTDD

Đánh giá TTDD bằng BMI dựa vào phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới WHO (2000): BMI = cân nặng (kg)/[chiều cao(m)]2. Thiếu năng lượng trường diễn khi BMI <18,5; bình thường khi BMI: 18,5– 24,99; thừa cân khi BMI: 25 – 29,99; béo phì khi BMI ≥ 30.

Đánh giá TTDD bằng SGA: Dựa bảng phỏng vấn và khám lâm sàng bằng công cụ đánh giá TTDD theo SGA. SGA phân chia người bệnh thành 3 nhóm: Nhóm A là có TTDD bình thường, nhóm B là SDD vừa, nhóm C là SDD nặng.

Đánh giá TTDD theo albumin: Bình thường albumin > 35 g/l; SDD nhẹ - vừa 21 - <35 g/l; SDD nặng < 21 g/l.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

- Sử dụng phần mềm IBM SPSS Statistics Verson 20. Khoảng tin cậy là 95% được sử dụng trong khi phân tích và giá trị p < 0,05 được xem như có ý nghĩa thống kê.

2.6. Đạo đức trong nghiên cứu

Đề cương nghiên cứu thông qua Hội đồng Khoa học và Đạo đức trong nghiên cứu y sinh của Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1. Thông tin về đối tượng tham gia nghiên cứu

Đặc điểm (n=111)		Số lượng (n=111)	Tỷ lệ (%)
Giới tính	Nam	79	71,2
	Nữ	32	28,8
Tuổi	Dưới 18 tuổi	3	2,7
	Từ 18 - 40 tuổi	31	27,9
	Từ 41 - 60 tuổi	29	26,1
	Trên 60 tuổi	48	43,2
Nơi cư trú	Thành phố Hồ Chí Minh	76	68,5
	Khác	35	31,5
Nghề nghiệp	Cán bộ	3	2,7
	Công nhân	18	16,2
	Kinh doanh	8	7,2
	Nội trợ	5	4,5
	Nông dân	6	5,4
	Hưu trí	39	35,1
	Khác	32	28,8
Học vấn	Dưới cấp I	0	0
	Cấp I	10	9
	Cấp II	19	17,1
	Cấp III	39	35,1
	Trên cấp III	43	38,7
Đặc điểm bệnh lý	Ruột thừa	32	28,8
	Đại tràng	24	21,6
	Trĩ	10	9
	Bẹn	10	9

	Hậu môn	11	9,9
	Tá tràng	5	4,5
	Dạ dày	8	7,2
	Khác	11	9,9
Thay đổi cân nặng trong 6 tháng trước khi nhập viện	Không giảm cân	65	58,6
	Giảm cân 5 - 10%	24	25,2
	Giảm cân >10%	18	16,2
Thay đổi cân nặng trong 2 tuần trước phẫu thuật	Tăng cân	10	9
	Không thay đổi	62	55,9
	Giảm cân	39	35,1

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, có 71,2% bệnh nhân nam và 28,8% bệnh nhân nữ. Đối tượng nghiên cứu chủ yếu từ 18 tuổi trở lên, trong đó cao nhất là nhóm trên 60 tuổi (43,2%), thấp nhất là nhóm dưới 18 tuổi (2,7%). Các đối tượng hầu hết sinh sống tại thành phố Hồ Chí Minh (68,5%). Nghề nghiệp chủ yếu là hưu trí (35,1%) và nghề nghiệp khác (nhân viên văn phòng, kỹ sư,…) chiếm 28,8%. Học vấn của các đối tượng nghiên cứu chủ yếu là trên cấp III (38,7%).

Cơ quan phẫu thuật ruột thừa có tỷ lệ là cao nhất là 28,8%; tỷ lệ phẫu thuật đại tràng là 21,6%, phẫu thuật dạ dày là 7,2%, có sự khác biệt với nghiên cứu của Bùi Thị Duyên và cs (2021) [3] với tỷ lệ phẫu thuật đại tràng là 57,1%, dạ dày là 22,4%, có sự khác biệt này có thể là do không loại trừ đối tượng phẫu thuật ruột thừa.

Tình trạng giảm cân 2 tuần trước phẫu thuật là 35,1%, kết quả khác biệt với nghiên cứu của Bùi Thị Duyên và cs (2021) với tỷ lệ là 82,7%, có sự khác biệt là do chênh lệch tỷ lệ cơ quan phẫu thuật [3]. Ở nghiên cứu này, tỷ lệ phẫu thuật ruột thừa là cao nhất, trong nghiên cứu của Bùi Thị Duyên và cs (2021) [3], cơ quan đại tràng và dạ dày là chủ yếu, trong khi dạ dày là nơi chứa đựng thức ăn, thức ăn khi vào dạ dày gây phản ứng kích thích gây đau, do vậy người bệnh không dám ăn hoặc không ăn được làm cho tỷ lệ sụt cân tăng lên; ngoài ra sự khác biệt về cỡ mẫu, địa điểm nghiên cứu, đặc điểm bệnh lý có thể dẫn đến sự khác biệt này.

Bảng 2. Phân loại TTDD theo chỉ số BMI, SGA và Albumin

Phương pháp đánh giá TTDD	TTDD	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
SGA (n=111)	SGA – A	22	19,8
	SGA – B	68	61,3
	SGA - C	21	18,9
	Tổng	111	100
BMI (n=111)	Thiếu năng lượng trường diễn (BMI < 18,5)	17	15,3
	Bình thường (BMI từ 18,5 - 24,9)	64	57,7
	Thừa cân (BMI ≥ 25)	30	27
	Tổng	111	100

Albumin (n=53)	Bình thường (>35)	35	66
	SDD nhẹ (30 - <35)	11	20,8
	SDD trung bình (25 - <30)	5	9,4
	SDD nặng (<25)	2	3,8
	Tổng	53	100

Kết quả ở bảng 2 cho thấy:

Đánh giá TTDD theo phương pháp BMI, có 15,3% người bệnh SDD. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Đoàn Duy Tân và cs (2021) là 13,1% < 18,5 [8].

Đánh giá TTDD theo phương pháp SGA, có 80,2% người bệnh SDD (SGA – B và C), trong đó SGA- B chiếm 61,3% và SGA- C có tỉ lệ 18,9%, phù hợp kết quả của Bauer và cs (2002), nhóm SGA-B là 59% với tỷ lệ SGA-C là 17% [9]. Tuy nhiên, so sánh với nghiên cứu của Đặng Trần Kiên và cs (2014) có tỷ lệ là 46,9% bệnh nhân có SGA-A, 41,6% có SGA-B và 11,5% có SGA-C và kết quả của Nguyễn Thùy An (2010) cho 3 nhóm lần lượt là: 43,3%, 25%, 31,7%, nhận thấy nhóm SGA-A chiếm tỷ lệ đa số, tỷ lệ giảm dần ở nhóm SGA-B và C [5, 6]. Có sự khác biệt này có thể phần nào do đánh giá chủ quan, cũng như TTDD khác nhau của bệnh nhân ở mỗi thời điểm [6].

Đánh giá TTDD theo phương pháp Albumin, có 34% người bệnh SDD, phù hợp với kết quả nghiên cứu của Al Hudiathy và cs (1996) có tỷ lệ SDD theo albumin <35 là 36% [10]. Kết quả này khác biệt với nghiên cứu của Bùi Thị Duyên và Nguyễn Quang Dũng (2021) tỷ lệ 42,8% [3]. Sự khác biệt này có thể do tỷ lệ cơ quan phẫu thuật khác nhau, hệ tiêu hoá bị tổn thương dẫn đến sự hấp thu dinh dưỡng kém, thiếu chất tổng hợp protein nên xảy ra tình trạng giảm albumin. Tuy nhiên nếu chỉ căn cứ vào chỉ số albumin này mà cho rằng tỷ lệ bệnh nhân SDD thấp là không chính xác. Vì thời gian bán hủy của albumin khoảng 21 ngày, tổng trạng bệnh nhân trước đó tốt cho nên ảnh hưởng của bệnh lên tình trạng sinh tổng hợp albumin chưa thay đổi nhiều [11].

Việc nuôi ăn tiêu hoá (NATH) hay nuôi dưỡng tĩnh mạch (NDTM) trong vòng hai tuần tiền phẫu, tối thiểu từ 7-10 ngày, có thể làm cải thiện kết quả ở bệnh nhân phẫu thuật có SDD nặng, giảm được 30-40% các biến chứng hậu phẫu [12, 13]. Có thể bắt đầu với thức ăn lỏng (như cháo, súp, phù hợp với bệnh lý, nước hoa quả/nước đường hoặc sản phẩm dinh dưỡng năng lượng chuẩn, đạm toàn phần hoặc giàu whey/peptide (tối thiểu 4 g protid/100 kcal)), 4-6 bữa ăn trong ngày [14]. Nghiên cứu của Phạm Văn Nhân và cs (2019) cho thấy sau can thiệp dinh dưỡng tiền phẫu, tất cả các chỉ số dinh dưỡng trung bình trong nghiên cứu đều thay đổi theo hướng tích cực. Trong đó, các chỉ số albumin, số điểm SGA, cân nặng thay đổi có ý nghĩa thống kê [15]. Theo Phạm Văn Nhân (2021), bệnh nhân đã cải thiện tình trạng SDD tiền phẫu, sau thời gian nuôi dưỡng trung bình 8,3 ngày với mức năng lượng mục tiêu 30 kcal/kg [2].

Bảng 3. Mối liên quan giữa SGA và các yếu tố khác

Đặc điểm			SGA			*p- value*
			SGA-A	SGA-B	SGA-C	
Hemoglobin	Thấp (dưới 11,5)	Số lượng (n)	4	13	11	0,01
		Tỷ lệ (%)	3,6	11,7	9,9	
	Bình thường (11,5-15)	Số lượng (n)	13	46	9	
		Tỷ lệ (%)	11,7	41,4	8	
	Cao (trên 15)	Số lượng (n)	5	9	1	

		Tỷ lệ (%)	4,5	8,1	0,9	
Thay đổi cân nặng trong 6 tháng trước khi nhập viện	Không giảm cân	Số lượng (n)	16	42	7	0,046
		Tỷ lệ (%)	14,4	37,8	6,3	
	Giảm 5-10%	Số lượng (n)	2	18	8	
		Tỷ lệ (%)	1,8	16,2	7,2	
	Giảm trên 10%	Số lượng (n)	4	8	6	
		Tỷ lệ (%)	3,6	7,2	5,4	
Thay đổi cân nặng trong 2 tuần trước phẫu thuật	Tăng cân	Số lượng (n)	5	4	1	0,006
		Tỷ lệ (%)	4,5	3,6	0,9	
	Không thay đổi	Số lượng (n)	13	42	7	
		Tỷ lệ (%)	11,7	37,8	6,3	
	Giảm cân	Số lượng (n)	4	22	13	
		Tỷ lệ (%)	3,6	19,8	11,7	

Kết quả ở bảng 3 cho thấy:

Có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng SDD theo SGA và chỉ số cận lâm sàng Hemoglobin, có 25,2% bệnh nhân thiếu máu (chỉ số hemoglobin <11,5 G/dL). Điều này được lý giải do có thể bệnh nhân chưa cung cấp đủ dinh dưỡng trong khẩu phần ăn, ăn kiêng khem hoặc do tình trạng kém hấp thu và do hệ tiêu hoá bị tổn thương. Vì thế tình trạng nồng độ Hemoglobin càng thấp thì nguy cơ SDD ở bệnh nhân càng cao.

Giảm cân trong thời gian 6 tháng trước phẫu thuật được cho là chỉ số sàng lọc dinh dưỡng có giá trị. Và sự thay đổi cân nặng trong 2 tuần trước phẫu thuật phản ánh mức độ nuôi dưỡng và khả năng hồi phục trước mổ. Mối liên quan giữa SDD theo SGA với sự thay đổi cân nặng trong 6 tháng, 2 tuần trước khi nhập viện với p-value lần lượt là 0,046; 0,006. Lý giải cho mối liên quan này do tình trạng giảm cân là một trong các chỉ số để đánh giá điểm SGA đưa ra kết quả bệnh nhân có SDD hay không. Tỷ lệ sụt cân càng nhiều (5-10% và dưới 10%) thì nguy cơ SDD ở bệnh nhân càng cao. Nguyên nhân có sự giảm cân này là hầu hết các người bệnh phẫu thuật ống tiêu hóa có triệu chứng chán ăn, ăn không tiêu, mệt mỏi, đau bụng, xuất huyết ống tiêu hóa… làm cho khả năng tiêu hóa hấp thụ thức ăn của người bệnh kém dẫn đến khẩu phần không đủ năng lượng. Ngoài ra yếu tố tâm lý về bệnh, thói quen ăn uống kiêng khem cũng làm tình trạng giảm cân tăng lên.

Bảng 4. Mối liên quan giữa SGA và BMI

			SGA	
			SGA - A	SGA – B+C
BMI	Thừa cân (>=25)	Số lượng (n)	7	23
		Tỷ lệ (%)	6,3	20,7
	Bình thường (18,5 - 24,9)	Số lượng (n)	15	49
		Tỷ lệ (%)	13,5	44,1
	Thiếu năng lượng trường diễn (<18,5)	Số lượng (n)	0	17
		Tỷ lệ (%)	0	15,3
p>0,05 (p=0,175)				

Số liệu ở bảng 4 cho thấy, kết quả phân tích chỉ ra p>0,05 (p=0,175) vì thế mối liên quan không có ý nghĩa thống kê giữa BMI và SGA.

Trong 89 bệnh nhân bị nguy cơ SDD ở mức trung bình đến nặng theo SGA (SGA – B hoặc C) có 17 bệnh nhân chiếm 15,3% bị thiếu năng lượng trường diễn (BMI<18,5); 49 bệnh nhân chiếm 44,1% có BMI ở mức bình thường và có 23 người chiếm 20,7% bị thừa cân, nhưng đánh giá SGA cho kết quả bị SDD. Tỷ lệ SDD theo SGA là 80,2% cao gấp 5 lần so với đánh giá bằng BMI (80,2% so với 15,3%). Có sự khác biệt này do một mặt hạn chế của phương pháp BMI là không phản ánh đầy đủ TTDD của người bệnh, vì không đánh giá được các thành phần cơ thể như khối cơ, khối mỡ, khối tế bào… Nếu chỉ dựa vào BMI cũng khó phát hiện SDD tiềm ẩn ở bệnh nhân béo phì (dù có sụt cân nhưng BMI vẫn bình thường). Cho nên, ngoài BMI cần dùng công cụ SGA để đánh giá TTDD toàn diện hơn [1].

Bảng 5. Mối liên quan giữa SGA và Albumin

			SGA	
			SGA - A	SGA – B+C
Albumin	Nguy cơ SDD (<35)	Số lượng (n)	1	17
		Tỷ lệ (%)	1,9	32,1
	Không có nguy cơ SDD (>=35)	Số lượng (n)	8	27
		Tỷ lệ (%)	15,1	50,9
p<0,05 (p=0,032)				

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, có 53 bệnh nhân có xét nghiệm chỉ số Albumin. Mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa Albumin và SGA (p<0,05).

Có 27 bệnh nhân có nguy cơ SDD theo SGA (SGA-B hoặc C) nhưng chỉ số albumin ở mức bình thường chiếm 50,9%. Trong từng nhóm SGA, số bệnh nhân có albumin máu >= 35 g/L vẫn cao hơn hẳn nhóm < 35 g/L. Vì vậy có thể nói khi tình trạng dinh dưỡng tốt thì albumin máu cao nhưng khi albumin máu cao chưa hẳn là tình trạng dinh dưỡng hiện tại đang tốt. Có thể nói đây là mối liên hệ một chiều.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Đánh giá TTDD của bệnh nhân tiền phẫu tại Bệnh viện Thống Nhất từ tháng 9 đến tháng 11 năm 2022 cho thấy, tỷ lệ SDD theo các phương pháp SGA, BMI, albumin huyết thanh đều ở mức cao, lần lượt là 80,2%, 15,3%, 34%. Tỷ lệ người bệnh có tình trạng giảm cân trong 6 tháng và 2 tuần trước phẫu thuật lần lượt là 41,4% và 35,1%. Có mối liên quan giữa đánh giá TTDD theo SGA và Albumin có ý nghĩa thống kê (p<0,05). Tỷ lệ SDD theo SGA lớn hơn do kết quả đánh giá dựa trên nhiều chỉ số như tình trạng sụt cân nhanh của người bệnh, tình trạng mất lớp mỡ dưới da, mức độ teo cơ cùng với những triệu chứng đường tiêu hóa. Công cụ này có giá trị và đáng tin cậy, có độ nhạy, độ đặc hiệu cao trong đánh giá TTDD ở người bệnh.

4.2. Kiến nghị

Trì hoãn phẫu thuật từ 7-14 ngày để can thiệp dinh dưỡng; ưu tiên dinh dưỡng qua đường tiêu hóa (miệng, qua ống thông); chỉ định chế độ ăn từ thức ăn thông thường phù hợp (bệnh lý, khả năng nhai, nuốt, tiêu hóa) hoặc sản phẩm dinh dưỡng có năng lượng chuẩn/cao, đạm nguyên với hàm lượng cao (tối thiểu 4,5 g protid/100 kcal), đủ vi chất dinh dưỡng.

Đối với bệnh nhân ung thư đường tiêu hoá nên bổ sung thêm dưỡng chất giúp điều hòa miễn dịch

(như axit béo omega 3, arginine, nucleotide, glutamine). Tổng năng lượng ở tất cả các đường nuôi ăn hàng ngày thường bắt đầu với 10 kcal/kg, tăng đến 15 kcal/kg vào ngày thứ 3, 20 kcal/kg vào ngày thứ 4-6, duy trì ở mức 20-30 kcal/kg vào ngày thứ 7-10. Ví dụ: thực đơn cho bệnh nhân tiền phẫu ở phần phụ lục được xây dựng trên phần mềm Eiyokun (bổ sung theo khuyến nghị của Viện Dinh dưỡng Quốc gia năm 2019 - FoodData Central).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Bình Giang, Lưu Ngân Tâm (2022). *Hướng dẫn dinh dưỡng trong điều trị bệnh nhân ngoại khoa*. Nhà xuất bản Y học.

2. Phạm Văn Nhân (2021). Luận án tiến sĩ y học - nghiên cứu hiệu quả hỗ trợ dinh dưỡng chu phẫu trên bệnh nhân phẫu thuật tiêu hóa có suy dinh dưỡng nặng. Đại học Y - Dược TP. Hồ Chí Minh - Bộ Y tế.

3. Bùi Thị Duyên và Nguyễn Quang Dũng (2021). Tình trạng dinh dưỡng trước và sau phẫu thuật của người bệnh phẫu thuật đường tiêu hóa tại Bệnh viện Quân y 175 năm 2020. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*, 17(2), 35-45.

4. Pham Van Nang, Cox-Reijven P L M, Greve J W, Soeters P B (2006). Application of subjective global assessment as a screening tool for malnutrition in surgical patients in Vietnam. *Clinical Nutrition* (2006), 25: 102-108. Doi: 10.1016/j.clnu.2005.09.002.

5. Nguyễn Thuỳ An (2010). Tình trạng dinh dưỡng và biến chứng nhiễm trùng sau phẫu thuật trong bệnh lý gan mật tụy. Luận văn tốt nghiệp thạc sỹ điều dưỡng, Đại học Y - Dược thành phố Hồ Chí Minh.

6. Đặng Trần Khiêm, Lưu Ngân Tâm, Nguyễn Tấn Cường (2014). Mối tương quan giữa tình trạng dinh dưỡng chu phẫu và kết quả sớm sau mổ các bệnh gan mật tụy. Hội nghị Khoa học Kỹ thuật Bệnh viện Chợ Rẫy.

7. Lưu Ngân Tâm, Nguyễn Thuỳ An (2011). Tình trạng dinh dưỡng trước mổ và biến chứng nhiễm trùng sau phẫu thuật gan mật tụy tại Bệnh viện Chợ Rẫy. *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, 2011: p. Tập 15 (Phụ bản của số 4), 387-396.

8. Đoàn Duy Tân, Võ Duy Long, Lê Thị Hương (2021). Tình trạng dinh dưỡng trước phẫu thuật ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng tại Bệnh viện Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh. *Tạp chí Y học Việt Nam, 500*(1). Doi:10.51298/vmj.v500i1.339

9. Bauer, J., Capra, S., & Ferguson, M. (2002). Use of the scored Patient-Generated Subjective Global Assessment (PG-SGA) as a nutrition assessment tool in patients with cancer. *European journal of clinical nutrition*, 56(8), 779-785.

10. Al-Hudiathy, A. M., & Lewis, N. M. (1996). Serum albumin and age are predictors of length of hospital stay in surgical patients. *Nutrition Research*, 16(11-12), 1891-1900. Doi: 10.1016/S0271-5317(96)00212-6

11. Beck, F. K., & Rosenthal, T. C. (2002). Prealbumin: a marker for nutritional evaluation. American family physician, 65(8), 1575.

12. Đặng Trần Khiêm, Lê Văn Quang (2016). *Đánh giá, chuẩn bị trước phẫu thuật. Ngoại khoa ống tiêu hóa*. Nhà xuất bản Thanh niên, tr 20-30.

13. Neumayer, L., & Vargo, D. (2012). Principles of preoperative and operative surgery. Townsend CM Jr., Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. Sabiston textbook of surgery: the biological basis of modern surgical practice. 19th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 225-226.

14. Lâm Vĩnh Niên, Lưu Ngân Tâm (2022). *Can thiệp dinh dưỡng. Hướng dẫn dinh dưỡng trong điều trị bệnh nhân ngoại khoa*. Nhà xuất bản Y học, tr 12-16.

15. Phạm Văn Nhân, Nguyễn Tấn Cường, Lưu Ngân Tâm (2019). Sự cải thiện một số chỉ số dinh dưỡng sau can thiệp dinh dưỡng tiền phẫu ở bệnh nhân phẫu thuật tiêu hóa có suy dinh dưỡng nặng. *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*. Tập 23, số 23, tr. 438-444.

PHỤ LỤC

THỰC ĐƠN CHO BỆNH NHÂN TIỀN PHẪU CÓ CÂN NẶNG 55-60 KG

Ngày	Mức đáp ứng	Buổi	Thực phẩm
1-2	Năng lượng: 550-600 kcal Đạm: 31 g Đường: 110 g Béo: 12 g	Sáng 198 kcal	Cháo đậu đen Gạo 20 g, đậu đen 30 g Hành lá, tiêu, gia vị
		Trưa 158 kcal	Cháo tôm nấm rơm Gạo 20 g, nấm rơm 20 g, tôm đồng 30 g Hành lá, tiêu, gia vị
		Phụ chiều 48 kcal	Nước ép dưa hấu Dưa hấu 300 g
		Tối 250 kcal	Sữa Ensure chai 237 ml
3	Năng lượng: 850-900 kcal Đạm: 38 g Đường: 152 Béo: 19 g	Sáng 220 kcal	Cháo thịt bằm đậu xanh Gạo 30 g, thịt heo 30 g, đậu xanh 10 g Hành lá, tiêu, gia vị
		Trưa 320 kcal	Nui thịt heo Nui 70 g, thịt heo 30 g Hành lá, tiêu, gia vị
		Phụ chiều 125 kcal	Nước ép táo Táo 250 g
		Tối 250 kcal	Sữa Ensure chai 237 ml
4-6	Năng lượng: 1.100-1.300 kcal Đạm: 66 g Đường: 197 Béo: 28	Sáng 310 kcal	Phở bò viên Bánh phở 120 g, thịt bò 30 g, giá đậu xanh, rau thơm các loại Nước súp Chuối già 1 quả
		Trưa 325 kcal	Cơm 1 chén cơm vừa Canh bí đỏ (60 g bí đỏ, 10 g thịt nạc)

			Khổ qua xào trứng (100 g khổ qua, 25 g trứng vịt) Cá lóc kho (cá lóc 60 g)
		Phụ chiều 250 kcal	Sữa Ensure chai 237 ml
		Tối 430 kcal	Cơm 1 chén cơm vừa Thịt gà rô ti (80 g thịt gà) Canh cải xanh (50 g cải xanh, 10 g thịt heo) Mướp xào tôm (60 g mướp, 20 g tôm) Đu đủ 1 miếng nhỏ
7-10	Năng lượng: 1.650- 1.800 kcal Đạm: 97 Đường: 250 Béo: 45	Sáng 307 kcal	Bánh canh thịt heo Bánh canh 150 g, thịt heo 50 g, rau mùi Nước dùng Mận 1 quả 70 g
		Phụ sáng 250 kcal	Sữa Ensure chai 237 ml
		Trưa 547 kcal	Cơm (1 chén cơm vừa) Canh bắp cải (cải bắp 50 g, thịt heo nạc 5 g) Thịt bò xào đậu que (thịt bò 40 g, đậu que 100 g) Cá ngừ kho (cá ngừ 60 g) Chuối già 1 quả 70 g
		Phụ chiều 250 kcal	Sữa Ensure chai 237 ml
		Tối 435 kcal	Cơm (1 chén cơm vừa) Thịt bò xào khóm + dứa (thịt bò 40 g, thơm 30 g, dưa chuột 30 g) Canh mướp (mướp 50 g, thịt heo nạc 10 g) Bông cải xào mực (bông cải 80 g, mực tươi 50 g) Quýt trái vừa 1 quả

NUTRITIONAL STATUS AND FACTORS RELATED TO PRIOR SURGICAL PATIENTS AT THONG NHAT HOSPITAL IN HO CHI MINH CITY IN 2022

Lam Khac Ky, Ho Thi Nhu Y,

Nguyen Hoang Tuyet Ngan, Duong Thi Kim Loan

Summary

This study aims to investigate the nutritional status of gastrointestinal surgery patients using Subjective Global Assessment (SGA), BMI (Body Mass Index) and albumin test. Evaluate the correlation of methods in determining the nutritional status of patients and learn related factors including anthropometrics and paraclinical indicators. At the same time, through the study, we made some nutritional recommendations to improve malnutrition in patients. In 111 patients, there were 79 men and 32 women at the Department of Gastrointestinal Surgery - Thong Nhat Hospital, Ho Chi Minh city. The prevalence of malnutrition according to SGA (including SGA-B and C), BMI and serum albumin was 80.2%, 15.3% and 34%, respectively. The rate of patients with weight loss before surgery was 35.1%. There is a relationship between nutritional status assessment by the SGA method and serum Albumin concentration ($p<0.05$). The relationship between hemoglobin index, weight change in 6 months before hospital admission and weight change 2 weeks before surgery with malnutrition according to SGA is statistically significant ($p<0.05$). The prevalence of malnutrition in preoperative patients according to SGA was higher than BMI. Shows that the SGA method is a cheap, easy to train method, can be performed by doctors and nurses and is reliable to assess the nutritional status of patients before surgery so that the patient can be evaluated. timely nutritional intervention before surgery.

Keywords: *BMI (Body Mass Index), nutritional status, malnutrition, pre-surgery, SGA (Subjective Global Assessment).*

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Thị Hiền

Ngày nhận bài: 27/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 24/3/2023

Ngày duyệt đăng: 31/3/2023

XÂY DỰNG KHÁI NIỆM VÀ TÌM HIỂU VỀ MỨC ĐỘ QUAN TRỌNG CỦA CÁC THUỘC TÍNH SẢN PHẨM BÁNH ĂN KIÊNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHECK-ALL-THAT-APPLY (CATA) ĐỐI VỚI NGƯỜI TIÊU DÙNG TỪ 18 - 25 TUỔI

Đoàn Nguyễn Thuý Quỳnh[1,*], Nguyễn Thị Minh Ngọc[1]

TÓM TẮT

Ngày nay, giới trẻ từ 18 - 25 tuổi có nhu cầu chăm sóc bản thân rất cao. Một trong những xu hướng nổi bật là sử dụng bánh ăn kiêng để kiểm soát cân nặng. Vì vậy việc hiểu khái niệm về bánh ăn kiêng là rất quan trọng. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật phỏng vấn nhóm (Focus group) đã được sử dụng trong 3 lần, mỗi lần 10 người tiêu dùng với mục đích xây dựng danh sách thuật ngữ. Bảng câu hỏi CATA được sử dụng với sự tham gia của 106 người tiêu dùng để tìm hiểu về đặc điểm và mức độ quan trọng các thuộc tính của các loại bánh ăn kiêng. Kết quả thu được 5 nhóm khái niệm về bánh ăn kiêng theo từng loại bánh: Cracker, bánh quy sữa, bánh quy giòn, cookie và thanh năng lượng. Mẫu bánh ăn kiêng lý tưởng của người tiêu dùng trong độ tuổi nghiên cứu là bánh có hình tròn, giòn, vị/dư vị ngọt dịu, tan nhanh trong miệng và bánh không bị cứng, dính.

Từ khóa: *Bánh quy, bánh ăn kiêng, CATA, cookie, phân tích tương ứng (CA).*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, giới trẻ có nhu cầu chăm sóc bản thân rất cao, trong đó, khoảng 70 - 80% thanh thiếu niên luôn có mong muốn giảm cân [1]. Việc sử dụng một chế độ ăn uống lành mạnh giúp cân bằng giữa lượng calo nạp vào với lượng calo tiêu hao, hạn chế ăn chất béo hoặc chuyển từ ăn chất béo bão hòa sang chất béo không bão hòa [2]. Trong những năm gần đây, các loại thực phẩm tiện lợi như bánh có thành phần nguyên liệu ít calo, ít đường, có thể hỗ trợ giảm cân rất được người tiêu dùng ưa chuộng. Những sản phẩm này thường được gọi chung là bánh ăn kiêng. Nghiên cứu về dòng sản phẩm bánh quy có thể hỗ trợ cho quá trình giảm cân, Trịnh Thanh Duy và cs (2020) [3] đã tận dụng nguồn phụ liệu bã cơm để tạo ra sản phẩm bánh quy mới có hương vị đặc trưng hơn so với các sản phẩm có mặt trên thị trường. Kết quả cho thấy, điểm cảm quan về cấu trúc có xu hướng tăng dần khi giảm hàm lượng bã cơm rượu nếp (BCRN). Chỉ tiêu màu sắc và mùi vị cũng tăng khi giảm tỷ lệ BCRN; giảm hàm lượng chất xơ của BCRN giúp bánh có cấu trúc tốt hơn nhưng sẽ làm mất đi độ sáng, sự hài hòa và mức độ đặc trưng về mùi vị. Tarancón và cs (2015) [4] cũng đã sử dụng phương pháp CATA (Check-All-That-Apply) và hội đồng cảm quan gồm 97 người tiêu dùng để đánh giá 6 mẫu bánh quy. Kết quả cho thấy, việc thay thế chất béo bão hòa (chất béo từ sữa) bằng dầu thực vật ảnh hưởng đến khả năng chấp nhận của người tiêu dùng và ảnh hưởng này phụ thuộc vào hàm lượng chất béo có trong bánh quy. Phương pháp CATA với ưu điểm nhanh chóng, không đòi hỏi người thử phải là chuyên gia là một kỹ thuật nghiên cứu hiệu quả được sử dụng để mô tả các tính chất cảm quan của sản phẩm. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Rocha và cs (2021) [5] cho rằng, phương pháp phỏng vấn nhóm cũng được sử dụng kết hợp với phương pháp CATA để xây dựng bảng danh sách thuật ngữ một cách dễ dàng và nhanh

[1] Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn
[*] Email: quynh.doannguyenthuy@stu.edu.vn

chóng. Nhìn chung, các công bố trước đây đa phần chỉ tập trung đánh giá thị hiếu và khả năng chấp nhận của người tiêu dùng đối với sản phẩm bánh quy. Một vấn đề rất quan trọng nhưng lại chưa được quan tâm nghiên cứu là xây dựng khái niệm và tìm hiểu về các đặc điểm tính chất của bánh ăn kiêng, nhằm định hướng phát triển dòng sản phẩm này. Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là sử dụng phương pháp CATA kết hợp với phỏng vấn nhóm để xác định được khái niệm các loại sản phẩm bánh ăn kiêng và tìm hiểu về mức độ quan trọng của các thuộc tính bánh ăn kiêng trong suy nghĩ của người tiêu dùng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Theo báo cáo của Bộ Y tế về đánh giá tác động của việc ghi nhãn dinh dưỡng năm 2021 [6], tỷ lệ béo phì ở người trưởng thành tại Việt Nam là 15,6%, trong đó tỷ lệ béo phì ở lứa tuổi học đường gia tăng nhanh chóng trong vòng 10 năm qua (ở thành phố Hồ Chí Minh là 41,4%). Đây cũng là lứa tuổi hay đánh giá về hình ảnh của cơ thể của bản thân và tâm sinh lý của họ cũng dần ổn định hơn, có khả năng chịu trách nhiệm về hành động của mình [7].

Chính vì vậy đối tượng tham gia nghiên cứu có độ tuổi từ 18 - 25, hiện đang học tập và làm việc tại khu vực quận 8 - thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu này thực hiện khảo sát trên 261 người tiêu dùng với tỷ lệ giới tính đồng đều gồm: 125 người trả lời câu hỏi trực tuyến (Nghiên cứu 1), 30 người tham gia phỏng vấn nhóm (Nghiên cứu 2), 106 người thử sản phẩm và đánh giá cảm quan (Nghiên cứu 3).

2.2.1. Nghiên cứu 1

Xác định các loại bánh ăn kiêng mà người tiêu dùng trong độ tuổi nghiên cứu thường sử dụng bằng bảng câu hỏi khảo sát triển khai trên nền tảng trực tuyến với 125 người tham gia trả lời.

2.2.2. Nghiên cứu 2

Xây dựng danh sách thuật ngữ bằng phương pháp phỏng vấn nhóm [8] trong 3 lần. Mỗi lần có 10 người tham gia và thực hiện trong thời gian từ 30 – 60 phút.

2.2.3. Nghiên cứu 3

Tìm hiểu khái niệm bánh ăn kiêng của người tiêu dùng bằng bảng hỏi CATA (Check-All-That-Apply) [9]. Nghiên cứu được thực hiện với 106 người thử, mỗi lần thử được thực hiện trong thời gian từ 15 – 30 phút. Người thử được hướng dẫn cách thử nếm sản phẩm cẩn thận và tiến hành thử nếm để mô tả bộ mẫu đã được mã hóa bằng 3 chữ số theo thứ tự từ trái sang phải bằng danh sách thuật ngữ đã được cho trước. Các kết quả số liệu thô sẽ được thu thập và xử lý bằng phần mềm Excel Office 2019, sau đó tiến hành phân tích tương ứng (Correspondence Analysis - CA) bằng phần mềm R phiên bản 4.2.3.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu 1

Khi được hỏi có biết hay từng sử dụng các sản phẩm bánh ăn kiêng nào chưa, 114 người đã trả lời *"có"* (chiếm 91,2%) và 11 người còn lại trả lời *"chưa từng"* (chiếm 8,6%). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với xu hướng thị trường, đó là người tiêu dùng ngày càng có ý thức tìm hiểu và sử dụng các loại bánh tốt cho sức khỏe. Các thương hiệu bánh ăn kiêng đã biết hoặc đã từng sử dụng cũng được chỉ ra. 78,9% người tham gia phỏng vấn chọn thương hiệu bánh Cosy của Công ty Kinh Đô, tiếp theo là Nestle (43,9%), McVities (39,5%), Meiji (28,9%), Quasure (22,8%), Tatawa (20,2%), Gullon (15,8%). Cosy là thương hiệu quen thuộc và chiếm thị phần khá lớn trên thị trường bánh kẹo trong nước, bên cạnh đó bánh còn chứa thành phần nguyên liệu hỗ trợ sức khỏe nên được khá nhiều người biết đến và sử dụng. Tuy nhiên, bánh quy Quasure của Công ty Bibica mặc dù là sản phẩm đã được thử nghiệm lâm sàng tại Viện Dinh dưỡng Việt Nam, được khuyến cáo là sản phẩm có thành phần dinh

dưỡng phù hợp cho người bệnh đái tháo đường hay người ăn kiêng lại không nhận được nhiều sự lựa chọn. Nguyên nhân có thể là do khả năng nhận diện đối với thương hiệu bánh quy Quasure chưa tốt và người tiêu dùng thường sẽ lựa chọn các thương hiệu mình quen thuộc hơn [10]. Thương hiệu Gullon của Tây Ban Nha cũng được khá ít lựa chọn trong khảo sát này. Có thể do đây là sản phẩm nhập khẩu nên có giá thành cao so với mặt bằng chung, sản phẩm cũng có thể có các đặc tính cảm quan chưa thật phù hợp với thị hiếu của người tiêu dùng Việt Nam. Như vậy, kết quả thu được trong nghiên cứu này là danh sách các sản phẩm bánh ăn kiêng được chỉ ra bởi người tham gia khảo sát.

3.2. Nghiên cứu 2

Sau 3 lần phỏng vấn nhóm, 30 người tham gia đã cung cấp cho nghiên cứu một bộ dữ liệu gồm các thông tin liên quan đến các dòng sản phẩm bánh và các loại bánh ăn kiêng. Nghiên cứu đã tiến hành thống kê, sàng lọc các thông tin thu được, sử dụng tài liệu tham khảo từ các nghiên cứu tương tự và đưa ra được bảng danh sách các thuộc tính của các sản phẩm bánh ăn kiêng gồm 40 thuộc tính mô tả (Bảng 1) [4], [9], [10], [11].

Bảng 1. Danh sách thuật ngữ bánh ăn kiêng

Thuộc tính mô tả	Thuật ngữ
Hình dáng bên ngoài	Hình tròn, hình elip, hình vuông, hình chữ nhật, răng cưa, họa tiết, lỗ nhỏ, sần sùi, hạt ngũ cốc, hạt socola
Cấu trúc	Giòn, cứng, dễ gãy, dày, xốp, lỗ khí, có vụn bánh, kết dính
Màu sắc	Vàng nhạt, vàng đậm, nâu nhạt, nâu đậm
Hương	Bơ, ngũ cốc, vani, sữa, trứng, rang
Vị/Hậu vị	Vị ngọt, vị mặn, vị đắng, vị béo, hậu vị mặn, hậu vị ngọt
Cảm giác trong miệng	Tan trong miệng, khô, bột, cứng, dính răng, béo

Danh sách thuộc tính mô tả này sẽ được sử dụng trong nghiên cứu 3. Để đảm bảo người tham gia nghiên cứu 3 đều hiểu rõ ý nghĩa của từng thuộc tính mô tả, 40 thuộc tính đã được giải thích cụ thể trong bảng 2.

Bảng 2. Giải thích thuật ngữ bánh ăn kiêng

Thuật ngữ	Giải thích thuật ngữ
Trạng thái bên ngoài	
Họa tiết	Có khắc chữ, hoa văn của bánh trên bề mặt.
Lỗ nhỏ	Các lỗ tròn nhỏ do khuôn bánh tạo ra.
Sần sùi	Bề mặt có lỗ khí hoặc không láng mịn.
Cấu trúc bên trong	
Giòn	Dễ nứt, dễ bẻ, khi bẻ nghe tiếng.
Cứng	Giống như giòn nhưng khó gãy vỡ hơn.
Lỗ khí	Bánh có nhiều lỗ rỗng bên trong.
Xốp	Nhẹ, mềm và có nhiều lỗ khí bên trong.

Dễ gãy	Bánh mỏng, cấu trúc xốp (có nhiều lỗ khí).
Có vụn bánh	Khi bẻ hoặc ăn có vụn bánh.
Kết dính	Bánh có đường mạch nha, khi bẻ sẽ xuất hiện các dây đường mạch nha.
Hương	
Rang	Hương cháy, hương của lò nướng.
Ngũ cốc	Hương lúa mì, các loại hạt, đậu.
Màu sắc	
Vàng nhạt	Màu vàng tươi, vàng sáng.
Vàng đậm	Màu vàng sẫm, tối.
Nâu nhạt	Màu nâu nhạt tương tự vàng đậm, nhưng nghiêng về phía màu nâu nhiều hơn, nâu sáng.
Nâu đậm	Màu nâu đậm gần màu đen, nâu tối.
Vị	
Béo	Vị ngọt đậm (rất ngọt), ngoài đường trong bánh thường sẽ do bổ sung sữa, bơ, trứng.
Cảm giác trong miệng	
Tan trong miệng	Nhanh tan, không cần nhai nhiều.
Khô	Cảm giác bánh hút ẩm trong khoang miệng làm khô miệng.
Bột	Dễ nhai nhưng quyện thành cục bột như bột sữa, tan từ từ.
Cứng	Khó nhai, cần sử dụng nhiều lực khi nhai.
Béo	Cảm giác ngậy, ngán.

3.3. Nghiên cứu 3

Nghiên cứu được thực hiện với mục đích tìm hiểu về các thuộc tính mô tả xuất hiện trong những sản phẩm bánh ăn kiêng và bánh ăn kiêng lý tưởng trong suy nghĩ của người tiêu dùng. Nghiên cứu 3 được tiến hành với 106 người thử tại Phòng thí nghiệm Đánh giá Cảm quan, Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn. Từng người thử sẽ nhận được lần lượt 7 mẫu bánh ăn kiêng khác nhau tương ứng với phiếu trả lời khác nhau và thêm 1 phiếu trả lời về thông tin các thuộc tính mô tả về bánh ăn kiêng lý tưởng. Các kết quả người thử đưa ra hoàn toàn từ cảm nhận cá nhân và không có sự can thiệp của nhóm nghiên cứu. Các dữ liệu thô thu thập đã được xử lý thống kê mô tả dưới dạng số liệu, sử dụng phương pháp phân tích tương ứng (CA) để đánh giá được mối liên hệ giữa các biến [12].

3.3.1. Phần trăm phương sai của biến thuộc tính

Theo kết quả kiểm định Chi bình phương (X-squared = 7747,8, df = 273, p-value < 2,2e-16) giá trị p-value nhỏ hơn 0,05, điều đó cho thấy, các thuộc tính cảm quan mô tả của các sản phẩm khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê [13].

Giá trị riêng thể hiện ở bảng 3 tương ứng với lượng thông tin được giữ lại bởi mỗi trục. Các Dim được sắp xếp theo thứ tự giảm dần và được liệt kê theo lượng phương sai được giải thích trong

nghiên cứu. Phần trăm phương sai biểu thị độ chênh lệch so với giá trị trung bình, độ chênh lệch càng cao thì các thành phần trong Dim sẽ càng chứa nhiều thông tin khác biệt. Ở bộ số liệu này, 2 thành phần chính đầu tiên đã giải thích khoảng 58,67% thông tin dữ liệu. Dim 1 giải thích phương sai nhiều nhất, tiếp theo là Dim 2 và các Dim còn lại. Đây là một tỷ lệ đóng góp đủ lớn để sử dụng giải thích bộ số liệu này.

Bảng 3. Phần trăm phương sai của từng Dim

	Dim 1	Dim 2	Dim 3	Dim 4	Dim 5	Dim 6	Dim 7
Giá trị riêng	0,272	0,117	0,111	0,101	0,030	0,019	0,013
Phần trăm phương sai (%)	40,967	17,705	16,765	15,198	4,515	2,864	1,986
Tổng tích lũy (%)	40,967	58,672	75,437	90,635	95,149	98,014	1.000,000

3.3.2. Kết quả phân nhóm sản phẩm

Biểu đồ phân nhóm sản phẩm (Hình 1) là kết quả của phân tích CA. Dim 1 - 2 đã giải thích khoảng 58,67% thông tin của số liệu. Trục Dim 1 là hướng chính đầu tiên cho thấy sự ảnh hưởng lớn nhất. Trục Dim 2 là hướng quan trọng thứ 2 và trực giao với Dim 1. Tổng cộng có 5 nhóm được hình thành bởi các thuộc tính đặc trưng cho nhóm sản phẩm như sau:

Nhóm 1 (màu đen): Đặc trưng bởi các thuộc tính của thanh ngũ cốc Nestle. Thương hiệu Nestle nằm tách biệt với các mẫu bánh còn lại cho thấy, sản phẩm này có những thuộc tính đặc trưng hoàn toàn khác biệt so với các nhóm còn lại, bao gồm: *"hình chữ nhật", "cảm giác cứng", "trạng thái cứng", "kết dính", "hạt ngũ cốc", "hạt socola", "hương ngũ cốc", "sần sùi", "cảm giác cứng", "dính răng",...* (Hình 1). Mặc dù thanh năng lượng không phải là bánh nhưng người thử khi được mời tham gia phỏng vấn đã nhận định và xem sản phẩm này cũng như một loại bánh. Điều này có thể hiểu rằng, đối với người tiêu dùng, khái niệm về bánh ăn kiêng là vô cùng phong phú. Với họ, bánh ăn kiêng chỉ cần đáp ứng các yếu tố về mặt thành phần nguyên liệu như ít đường, ít calo, nhiều chất xơ, có hương vị và cấu trúc tương đồng với dòng sản phẩm bánh, phù hợp thị hiếu.

Nhóm 2 (màu đỏ): Đặc trưng bởi các thuộc tính của các sản phẩm Cosy, NutriU và đặc biệt là bánh lý tưởng. Những thuộc tính đóng góp lớn có thể kể đến như *"hình chữ nhật"*, *"hình tròn", "nâu nhạt", "sần sùi", "tan trong miệng", "hậu vị ngọt"*, *"vị ngọt", "có vụn bánh"*, *"vị đắng"*, ... Ba thuộc tính *"nâu nhạt", "có vụn bánh", "vị đắng"* có mối liên kết với nhau vì các sản phẩm bánh trong nhóm này được bổ sung hạt socola vào thành phần khiến bánh có màu nâu và có vị đắng. Vị đắng xuất hiện có thể do hạt socola trong bánh. Thuộc tính *"vị ngọt"* và *"vị đắng"* có sự tương quan thuận trong nhóm này chứng tỏ *"vị đắng"* không gây ảnh hưởng tiêu cực đến sản phẩm mà ngược lại còn được chấp nhận. Đây được xem là một thuộc tính tích cực mang tính nhận diện socola trong sản phẩm. Thuộc tính *"có vụn bánh"* cũng được chỉ ra nhưng không mang tính tiêu cực. Nhóm này còn có sự hiện diện của bánh lý tưởng. Như vậy có thể nhận định thương hiệu bánh Cosy và NutriU có các thuộc tính tương đồng nhất đối với loại bánh lý tưởng mà người tiêu dùng chỉ ra.

Nhóm 3 (màu xanh lá): Nhóm này đặc trưng bởi các thuộc tính từ một thương hiệu duy nhất là Gullón, bao gồm các thuộc tính *"hình elip", "vàng đậm", "cảm giác bột", "có vụn bánh", "hương rang",...* Thuộc tính *"hương rang"* được lí giải là hương cháy, hương của lò nướng. Hương rang xuất hiện trong bánh là do trong thành phần sử dụng các loại bánh không chứa gluten hoặc sử dụng dầu thay thế [11]. Sản phẩm này sử dụng nguyên liệu dầu hướng dương trong công thức.

Nhóm 4 (màu xanh dương đậm): Nhóm này mang các thuộc tính đặc trưng của sản phẩm bánh Quasure và McVitie's như *"hương bơ", "hương trứng", "hương sữa", "có lỗ nhỏ", "có hoạ tiết", "vị béo", ...* Tâm lý mặc định về các sản phẩm bánh ăn kiêng ít bơ, có vị nhạt, hay khô cứng thường tồn tại. Tuy nhiên, mẫu bánh này lại có vị rất ngọt và hương sữa nồng. Đây là các yếu tố tích cực của sản phẩm vì có các thuộc tính tương đồng với bánh quy thông thường, giúp người sử dụng có cảm giác quen thuộc, ngon miệng.

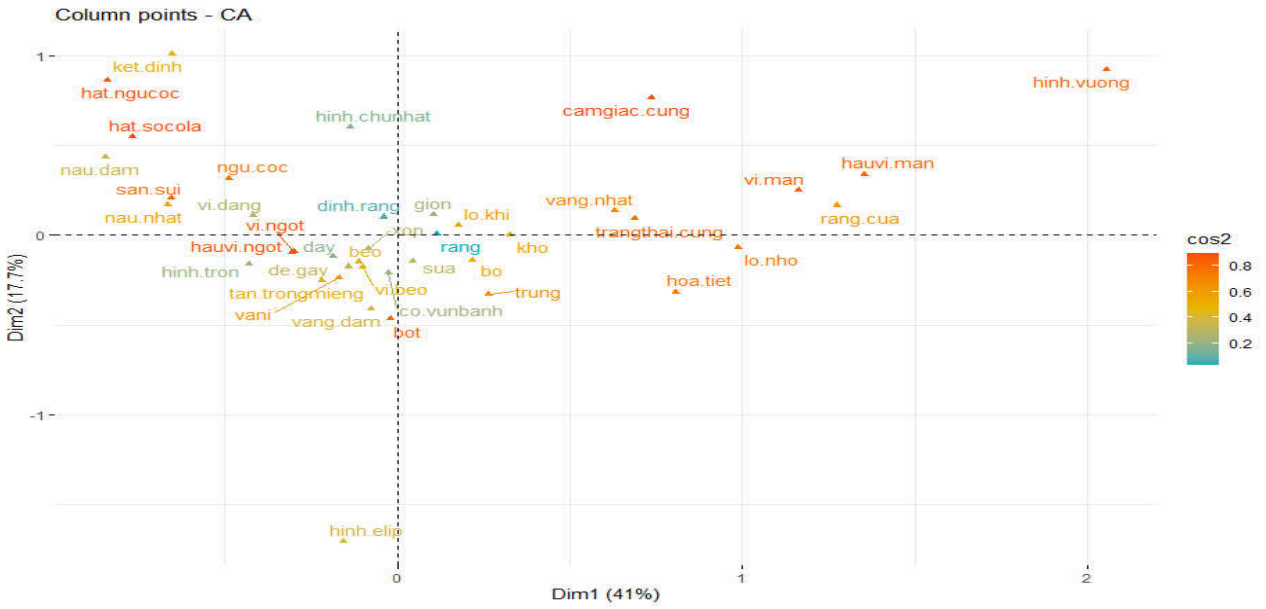


Hình 1. Biểu đồ phân nhóm sản phẩm bằng phân tích tương ứng (CA)

Nhóm 5 (Màu xanh dương nhạt): Đặc trưng bởi các thuộc tính của bánh cracker Meiji như *"hình vuông", "răng cưa", "có lỗ nhỏ", "lỗ khí", "trạng thái cứng", "cảm giác cứng", "khô", "vị mặn", "hậu vị mặn"*... Trong đó, thuộc tính *"vị mặn", "hậu vị mặn"* mang tính nhận diện của loại bánh này. Vị mặn trong mẫu là do bánh cracker sử dụng bột mì làm nguyên liệu chính. Khi lên men bột, muối được thêm vào để làm giảm tốc độ sinh khí giúp thời gian lên men kéo dài, do đó tạo cho bánh có vị mặn nhẹ. Thuộc tính *"cảm giác cứng", "lỗ khí"* và *"khô"* thường xuất hiện ở các loại bánh cracker. Đây được xem là thuộc tính vốn có do bột nhào được cán thành 1 lớp mỏng và xếp chồng lên nhau giúp bánh khô không bị quá cứng [14].

3.3.3. Mức độ đóng góp của các thuộc tính

Kết quả phân nhóm CA được hình thành dựa vào sự đóng góp của các thuộc tính mô tả và thể hiện sự ảnh hưởng tích cực hoặc tiêu cực đến nhóm. Mức độ quan trọng của các thuộc tính được biểu diễn qua sự đóng góp của biến thuộc tính trong Dim 1 – 2, được diễn giải theo biểu đồ thể hiện chất lượng các biến đóng góp theo cột (Hình 2).



Hình 2. Biểu đồ thể hiện chất lượng các biến đóng góp theo cột

Các biến có tương quan phủ định được đặt ở phía đối lập nhau so với trục tọa độ. Các vector màu đại diện cho từng biến thuộc tính thể hiện mức độ đóng góp khác nhau. Cường độ tương quan được thể hiện theo màu tương ứng. Các biến có tương quan thấp sẽ được tô màu trắng, tương quan trung bình có màu xanh và các biến có giá trị tương quan cao nhất sẽ có màu đỏ [13]. Kết quả phân nhóm sản phẩm trong nghiên cứu này còn cho chúng ta hiểu được thuộc tính nào là thật sự quan trọng đối với từng nhóm sản phẩm.

Nhóm 1: Các thuộc tính *"kết dính", "hạt ngũ cốc", "hạt socola", "hương ngũ cốc", "sần sùi"* là những thuộc tính có màu vàng hoặc cam (Hình 2), tức là sự tương quan của các thuộc tính này đều rất cao. Thuộc tính *"hạt ngũ cốc"* và *"hương ngũ cốc"* được xem là mối liên kết các sản phẩm lại với nhau. Đây là những thuộc tính mang tính tích cực trong nhóm này. Thuộc tính *"dính răng", "kết dính"* thể hiện đóng góp bởi vì trong thành phần của thanh năng lượng Nestlé có sử dụng thêm đường mạch nha để tạo cấu trúc kết dính. Đây được xem là thuộc tính đặc trưng của các dạng thanh năng lượng. Tuy nhiên, thuộc tính này được xem là không nên có đối với sản phẩm bánh quy trên thị trường.

Nhóm 2: Các thuộc tính thể hiện mối tương quan rất cao (có màu cam) có thể kể đến là *"nâu nhạt", "sần sùi", "vị ngọt", "hậu vị ngọt"*. Những thuộc tính này chủ yếu đặc trưng cho mẫu bánh Lý tưởng. Những thuộc tính này đều là đặc trưng của các sản phẩm bánh thương mại vì thế việc chúng là những thuộc tính cần có đối với sản phẩm bánh Lý tưởng là hoàn toàn hợp lý. Yếu tố *"tan trong miệng"* được xem là thuộc tính tích cực nhất đối với sản phẩm bánh quy lý tưởng theo người thử mô tả. Đặc biệt thuộc tính *"tan trong miệng"* và *"dính răng"* thể hiện mối tương quan nghịch. "*Dính răng"* được xem là thuộc tính mang tính tiêu cực vì gây cảm giác khó chịu khi ăn. Đây chính là thuộc tính mà người thử không mong muốn xuất hiện ở mẫu bánh Lý tưởng. Kết quả này cũng tương tự với công bố của Maria Di Cairanol và cs (2021) [12] nghiên cứu về *"Bánh quy không chứa gluten sử dụng loại bột chưa được khai thác để giảm chỉ số đường huyết: Đặc điểm hóa lý và cảm quan"*. Một số mối tương quan thuận đã được tìm thấy giữa các thuộc tính như *"kết dính"* và *"bột"*, trong khi thuật ngữ *"giòn"* và *"kết dính"* thì lại cho thấy mối tương quan nghịch. Thuộc tính "*hình chữ nhật"* hay *"hình tròn"...* là yếu tố mô tả hình dáng bên ngoài có sự đóng góp trong nhóm này. Tuy nhiên, thuộc tính này được đánh giá là không ảnh hưởng đến thị hiếu của người thử. Việc lựa chọn sản phẩm vì những hình dạng (*hình tròn, hình vuông* hay *hình chữ nhật*) đều là dạng cơ bản mà người tiêu dùng hầu hết có thể chấp nhận được [15].

Nhóm 3: Gullón là một sản phẩm nhập khẩu có hương vị và hình dáng đặc trưng khác biệt lớn so với nhiều dòng sản phẩm khác trên thị trường. Thuộc tính *"hình elip"* và *"vàng đậm"* (màu vàng) chính là 2 thuộc tính nhận dạng của thương hiệu. Bên cạnh đó *"cảm giác bột"* cũng có tương quan rất lớn chứng tỏ đây là yếu tố tạo nên sự khác biệt đối với sản phẩm này trên thị trường.

Nhóm 4: Thuộc tính *"hương bơ", "hương sữa", "hương trứng"* là các thuộc tính đóng góp và ảnh hưởng nhiều nhất đến nhóm này. Bơ được sử dụng khoảng 15% trong thành phần nguyên liệu. Các thuộc tính *"họa tiết", "lỗ nhỏ", "vị béo"* có mức độ đóng góp tiếp theo sau. Đối chiếu với kết quả của nghiên cứu *"Thử nghiệm sản phẩm bánh quy không chứa gluten và bột chưa được khai thác so với các sản phẩm thương mại: Mẫu ưa thích và đặc điểm cảm quan bằng phương pháp CATA"* của Maria Di Cairanol và cs (2021) [12] cho thấy, người thử đã lựa chọn những thuộc tính *"vị ngọt", "dễ nhai", "dễ nuốt", "hương vị bánh quy"* là thuộc tính tích cực, tức là đối với họ, bánh ăn kiêng nên có hương vị và những cảm giác khi ăn tương tự như một sản phẩm bánh thương mại. Bên cạnh đó, việc sử dụng các thành phần (bơ, sữa, trứng) sẽ khiến bánh có cảm giác béo hơn [15] càng tạo cho người thử có cảm giác ngon miệng.

Nhóm 5: Đây là nhóm tách biệt hẳn so với các nhóm còn lại do đặc trưng bởi dòng sản phẩm cracker. Thuộc tính *"vị mặn", "hậu vị mặn"* chỉ xuất hiện ở sản phẩm này và thể hiện sự tương quan rất lớn. Đây là thuộc tính gây ấn tượng và tăng nhận diện sản phẩm nên có màu cam trên biểu đồ (Hình 2). Hình dạng và trạng thái của bánh cũng là các thuộc tính đặc trưng đóng góp cho nhóm này là *"hình vuông", "răng cưa", "lỗ nhỏ", "lỗ khí"*. Thuộc tính *"cảm giác cứng", "khô"* là đặc trưng cho các mẫu bánh có hàm lượng chất béo thấp. Kết quả mô tả này tương tự như kết quả trong nghiên cứu của Tarancón và cs (2015) [4] về sản phẩm bánh quy thay thế chất béo, người thử cũng đã chỉ ra những thuật ngữ mô tả trùng khớp. Thông qua mức độ đóng góp của các thuộc tính, người thử thể hiện mối quan tâm rõ rệt đến mùi vị của sản phẩm. Cũng có thể hiểu, cho dù người thử nằm trong độ tuổi có phần ưu tiên về hình thức nhưng đối với vấn đề sức khoẻ thì yêu cầu chất lượng vẫn được chú trọng hơn, hình thức chỉ là yếu tố thêm vào.

4. KẾT LUẬN

Sản phẩm bánh ăn kiêng lý tưởng có các thuộc tính tương đồng với sản phẩm bánh Cosy và NutriU. Bên cạnh đó, cảm giác nhai cũng rất quan trọng đối với sản phẩm bánh ăn kiêng. Các kết quả nghiên cứu đã giúp nhìn rõ nét hơn về khái niệm bánh ăn kiêng lý tưởng đối với người tiêu dùng ở độ tuổi 18 – 25. Với các đặc điểm đặc trưng như bánh có hình tròn, giòn, có vị/hậu vị ngọt và tan nhanh trong miệng, tạo cảm giác dễ nhai, không dính răng… sẽ phù hợp thị hiếu và được chấp nhận đối với người tiêu dùng trong độ tuổi này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Moore, Dan. C., (1993). Body image and eating behavior in adolescents. *Journal of the American College of Nutrition*, Vol. 12, No. 5, p. 505 - 510.

2. World Health Organization, *Healthy diet*. (2019). Regional Office for the Eastern Mediterranean, p.8.

3. Trịnh Thanh Duy, Nguyễn Thị Bé Phúc, Hồ Thanh Bình (2020). Nghiên cứu chế biến bánh cookies bổ sung bã cơm rượu nếp. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*, 16 (1), p. 47 – 55.

4. P. Tarancón, A. S. (2015). Use of healthier fats in biscuits (olive and sunflower oil): changing sensory features and their relation with consumers' liking. *Food Research International* 69, p. 91 – 96.

5. Rocha, C., Ribeiro, J. C., Lima, R. C., Prista, C., Raymundo, A., Patto, M. C. V., & Cunha, L. M. (2021). Application of the CATA methodology with children: Qualitative approach on ballot development and product characterization of innovative products. *Food Quality and Preference*, 88, 104 - 113.

6. Bộ Y tế, (2021). Báo cáo thuyết minh và đánh giá tác động chính sách ghi nhãn dinh dưỡng. Dự thảo Nghị định sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 43/2007/NĐ-CP về ghi nhãn hàng hoá.

7. Piaget, J., (1964). Part I: Cognitive development in children: Piaget development and learning. *Journal of research in science teaching*. 2 (3), p. 176 - 186.

8. Chironi S. *et al.* (2017). Quality factors influencing consumer demand for small fruit by focus group and sensory test. *Journal of Food Products Marketing* 23 (8), p. 857 - 872.

9. Dovi K. A. *et al.* (2018). Rapid sensory profiling and hedonic rating of whole grain sorghum - cowpea composite biscuits by low income consumers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98 (3), p. 905 - 913.

10. Jéssica Aparecida Ribeiro, C. A. G., Jéssica Ferreira Rodrigue (2021). Jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg) peel flour as an anthocyanin - rich ingredient for the elaboration of sequilho biscuits: Effects on sensory and technological properties. *Acta Scientiarum. Technology*, v. 43, e55922.

11. Caruso M. D. (2021). Use of Underexploited Flours for the Reduction of Glycaemic Index of Gluten - Free Biscuits: Physicochemical and Sensory Characterization. *Food and Bioprocess Technology* volume 14, p. 1490 - 1502.

12. Maria Di Cairano, N. C., Fernanda Galgano (2021). Experimental gluten-free biscuits with underexploited flours versus commercial products: Preference pattern and sensory characterisation by Check All That Apply Questionnaire. *International Journal of Food Science and Technology* 57 (4), p. 1936 – 1944.

13. Alboukadel K. (2017). Practical Guide to Principal Component Methods in R, p. 152. Statistical tools for high-throughput data analysis – STHDA.com

14. Manley D. (2000). Technology of biscuits, crackers, and cookies. Woodhead Publishing Ltd.

15. Muhammad Idham Sofyan E. M. (2018). Assessing Preference for Cookies Development Among Indonesian Consumer. *Research Gate*. Conference paper p. 528 – 543.

APPLICATION OF CHECK-ALL-THAT-APPLY (CATA) QUESTIONS TO LEARN ABOUT DIET CAKE PROFILING OF CONSUMERS AGED 18 – 25 IN HO CHI MINH CITY

Doan Nguyen Thuy Quynh, Nguyen Thi Minh Ngoc

Summary

Nowadays, the youth aged 18 - 25 have a very high need for self - care. One of the prominent trends is the use of diet cakes to control weight. Therefore, understanding the concept of diet cake is very important. The focus group technique was used in 3 sessions with the participation of 30 consumers to construct the term list. The CATA questionnaire was used with the participation of 106 consumers to learn about the profiling of diet cake. The results showed 5 groups of diet cake concepts according to each type of cake: Cracker, milk biscuit, crunchy biscuit, cookie, and energy bar. The ideal diet cake of the consumers in the research age should have following characteristics: Round shape, crispy, sweet taste/aftertaste, melting quickly in the mouth and should not be hard and sticky.

Keywords: *Biscuit, CATA, correspondence analysis (CA), cookie, diet cake.*

Người phản biện: TS. Vũ Hồng Sơn

Ngày nhận bài: 13/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 10/4/2023

Ngày duyệt đăng: 17/4/2023

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.