

# NGHIÊN CỨU BAO GÓI TINH DẦU BẠC HÀ (*Mentha arvensis*) BẰNG $\beta$ -CYCLODEXTRIN

Trần Thị Phương Anh<sup>1</sup>, \*, Lê Mỹ Kim Vương<sup>1</sup>,  
Trần Tuấn Hùng<sup>1</sup>, Phạm Ngọc Huỳnh Kha<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Tinh dầu bạc hà (*Mentha arvensis* L.) được sử dụng phổ biến trong nhiều ngành công nghiệp nhờ các hoạt tính sinh học nổi trội cũng như mùi thơm đặc trưng ở nồng độ thấp. Trong nghiên cứu này, tinh dầu bạc hà được bao gói bằng phương pháp nhào, sử dụng vật liệu tường  $\beta$ -cyclodextrin. Các yếu tố hóa học ảnh hưởng đến quá trình bao gói như nồng độ ethanol, hàm lượng tinh dầu,  $\beta$ -cyclodextrin, nước cũng như mối tương quan giữa chúng (tỷ lệ tinh dầu: ethanol, tinh dầu:  $\beta$ -cyclodextrin và  $\beta$ -cyclodextrin: H<sub>2</sub>O) đã được khảo sát thông qua đánh giá hiệu quả bao gói. Kết quả cho thấy, ở nồng độ ethanol 96% (v/v), tỷ lệ tinh dầu:  $\beta$ -cyclodextrin 5:95 (w/w), tinh dầu: ethanol 28: 72 (w/w) và  $\beta$ -cyclodextrin: H<sub>2</sub>O 9: 1 (w/w), hiệu quả quá trình bao gói đạt cao nhất 65%. Sản phẩm phức bọc chứa tinh dầu bạc hà sẽ định hướng ứng dụng làm nguồn thực phẩm chức năng có hoạt tính kháng khuẩn trên các đối tượng trong nuôi thủy sản.

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

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

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

PEO chứa chủ yếu menthol, menthone, neomenthol và iso-menthone, là một hỗn hợp các hợp chất chuyển hóa dễ bay hơi có chức năng tạo mùi hương và bảo vệ cây chống lại với các thay đổi khắc nghiệt của môi trường sống [3]. Thành phần hóa học của PEO phụ thuộc vào điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu cũng như bộ phận thu hái, thời gian thu hoạch. So với các vùng trồng khác trên thế giới, bạc hà Á ở Việt Nam có chất lượng

tinh dầu tương đối cao, hàm lượng menthol ~ 53 - 62% so với 67 - 78% ở Ấn Độ, Mỹ [4] và 35 - 52% ở Macedonia [5]. Các ngành công nghệ dược phẩm hiện nay sử dụng rất nhiều PEO cũng như menthol tự do để sản xuất các sản phẩm về chăm sóc da, chữa trị các loại bệnh rối loạn tiêu hóa, viêm dạ dày, tá tràng, thuốc giảm đau ngoài da kháng nấm và kháng vi khuẩn [3].

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

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

<sup>1</sup> Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang  
\*Email: anhttp@ntu.edu.vn



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

Trong nghiên cứu này, tinh dầu bạc hà Á (PEO) được bảo vệ dưới dạng phức bọc, sử dụng phương pháp nhào (paste) và  $\beta$ -CD làm vật liệu tường. Với phương pháp này, pha nước chứa  $\beta$ -CD được trộn với pha kỵ nước chứa PEO hòa tan trong ethanol, sau đó làm lạnh, sấy và nghiền tạo thành bột [12, 13]. Các nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến phức bọc như: hàm lượng nước trong  $\beta$ -CD, thành phần và nồng độ hoạt chất, thứ tự  $\beta$ -CD và hoạt chất được cho vào hỗn hợp, phương pháp sấy mẫu và

loại dung môi để chiết hoạt chất ra khỏi  $\beta$ -CD... mà ít đề cập đến mối tương quan giữa các yếu tố hóa học ảnh hưởng đến phức bọc [13, 15, 16]. Do đó, với mục tiêu lựa chọn tỷ lệ giữa các yếu tố hóa học ảnh hưởng đến quá trình tạo phức, nồng độ ethanol, các tỷ lệ PEO/EtOH,  $\beta$ -CD/H<sub>2</sub>O, PEO/ $\beta$ -CD (w/w) sẽ được khảo sát thông qua đánh giá hiệu quả bao gói (encapsulating efficiency, EE) - tỷ lệ phần trăm của PEO được giữ trong  $\beta$ -CD. Sản phẩm phức bọc chứa PEO điều chế sẽ định hướng làm nguồn thực phẩm chức năng, mang lại hiệu quả kháng một số loại bệnh do vi khuẩn trên các vật nuôi ngành thủy sản, thay thế dần các nhóm thuốc kháng sinh độc hại.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

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

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

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



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

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

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

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

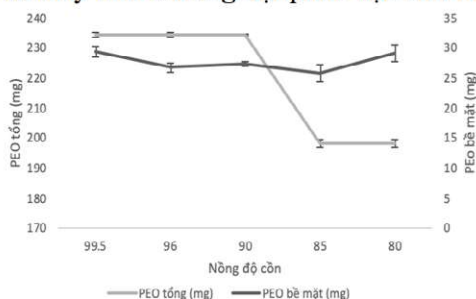
Hiệu suất bao gói (EY) tính theo công thức:

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

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

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

Quy trình xác định tinh dầu bề mặt được thực hiện theo nghiên cứu của Bae và Lee (2008) [19] với một số thay đổi. Cân 2 g bột phức bọc cho vào



bình tam giác, thêm 9,5 ml ethyl acetate, đậy nắp và lắc đều trong vòng 4 phút ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp sau đó được ly tâm 3.000 vòng/phút trong 5 phút. Thu dịch chiết, định mức tới 10,00 ml. Hàm lượng PEO bề mặt được xác định bằng phương pháp hấp thụ phân tử UV-VIS ở bước sóng 290 nm (máy quang phổ UV-VIS Libra S50, Mỹ). Đường chuẩn được xây dựng từ các nồng độ PEO tăng dần: 2.000, 3.000, 4.000, 5.000 và 6.000  $\mu g/ml$  trong ethylacetat.

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

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

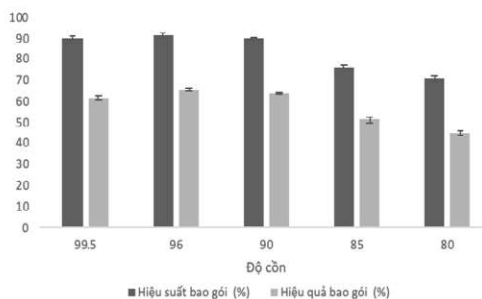
Trong đó: A là khối lượng PEO thu được từ phức bọc ( $\mu g$ );  $A_0$  là tổng lượng PEO ban đầu được sử dụng để bao gói ( $\mu g$ ); a là khối lượng PEO bề mặt ( $\mu g$ ).

### 2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

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

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

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



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

Trong phương pháp nhào, hoạt chất cần được hòa tan trong dung môi thích hợp để tăng tiếp xúc với  $\beta$ -CD. Ethanol được lựa chọn do hòa tan tốt

PEO và dễ bay hơi trong quá trình sấy sản phẩm nhằm ứng dụng trong thực phẩm. Hàm lượng nước trong ethanol sẽ ảnh hưởng đến quá trình tạo



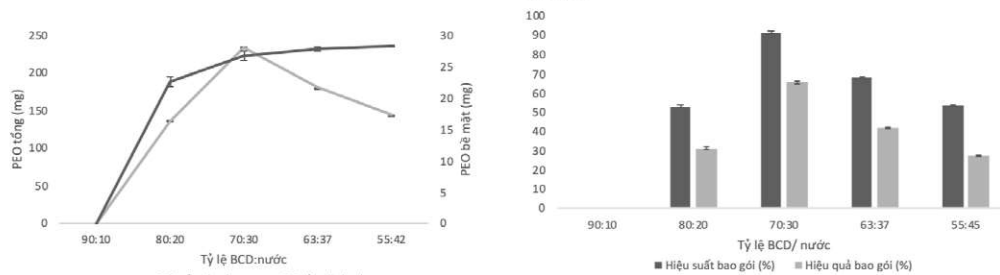
phức bọc cũng như độ hòa tan của sản phẩm phức bọc trong hệ ứng dụng [13, 20]. Do đó, các thí nghiệm được thực hiện ở các nồng độ ethanol khác nhau: 99,5, 96, 90, 85 và 80%. Các tỷ lệ cố định:  $\beta$ -CD/ H<sub>2</sub>O 70: 30; PEO/EtOH 28: 72; PEO/  $\beta$ -CD 5: 95 (w/w). Kết quả được thể hiện ở hình 1.

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

phức và độ tan của thuốc bao gói trong  $\beta$ -CD [20]. Nghiên cứu của Bùi Quang Thuật (2010) [21] cũng khảo sát các nồng độ ethanol đối với hệ chất mang maltodextrin và gum arabic khi bao gói hương liệu. Do đó, ethanol 96% được sử dụng cho những bước khảo sát tiếp theo.

### 3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ $\beta$ -CD/H<sub>2</sub>O (w/w) đến quá trình bao gói

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



Hình 2. Ảnh hưởng các tỷ lệ  $\beta$ -CD/H<sub>2</sub>O (w/w) đến quá trình bao gói: (trái) hàm lượng PEO tổng và PEO bề mặt; (phải) hiệu suất và hiệu quả bao gói

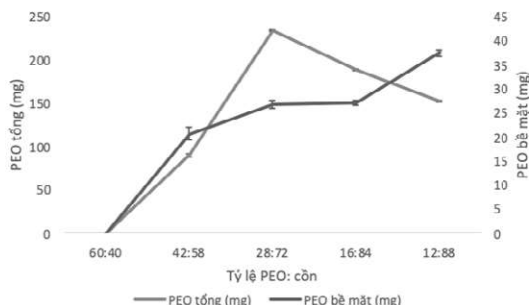
Ở tỷ lệ  $\beta$ -CD/H<sub>2</sub>O 90: 10 (w/w) không xác định được hàm lượng PEO tổng và bề mặt vì lượng nước thêm vào quá ít, không đủ làm các lỗ trống của  $\beta$ -CD dần nở để bao bọc tinh dầu. Hàm lượng PEO tổng và bề mặt tăng dần khi tăng lượng nước lên tỷ lệ 20%, 30%. Cụ thể ở tỷ lệ  $\beta$ -CD/H<sub>2</sub>O 70: 30 cho hàm lượng PEO tổng cao nhất. Khi tiếp tục tăng lượng nước sẽ làm tăng tương tác giữa nước với các nhóm -OH tự do trên phân tử  $\beta$ -CD, cản trở tinh dầu chui vào trong các lỗ trống của  $\beta$ -CD. Tinh dầu tự do bám vào bề mặt  $\beta$ -CD ngày càng

tăng, bị bay hơi hoặc oxy hóa theo cồn trong quá trình thao tác, sấy, dẫn đến hàm lượng PEO tổng giảm. Hàm lượng PEO tổng tăng cực đại ở tỷ lệ 70: 30 rồi giảm xuống khi lượng nước tiếp tục tăng cho thấy, nước cản trở sự di chuyển của PEO và trong  $\beta$ -CD [13]. Yan và cs (2022) [14] thực hiện bao gói tinh dầu quế bằng  $\beta$ -CD với cùng phương pháp nhào, kết quả lại chỉ ra khi tăng lượng  $\beta$ -CD so với lượng H<sub>2</sub>O ở pha nước, hiệu quả bao gói tăng và đạt cao nhất ở tỷ lệ 10: 1, tuy nhiên sau đó lại giảm khi tiếp tục tăng  $\beta$ -CD. Điều này chứng tỏ,



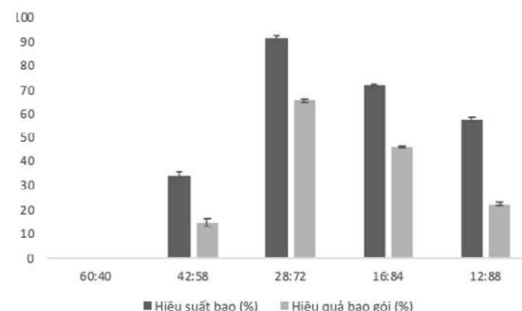
lượng H<sub>2</sub>O cho vào tạo hỗn hợp bột nhão với  $\beta$ -CD chỉ nên ở một tỷ lệ thích hợp đối với từng đối tượng nghiên cứu.

Ở tỷ lệ  $\beta$ -CD/H<sub>2</sub>O 70:30 cho các hiệu suất cao nhất 91,34% và hiệu quả cũng cao nhất 65,27%; khi ở tỷ lệ nước cao nhất (45%), quá trình bao gói đạt hiệu suất và hiệu quả thấp nhất (lần lượt 53,15% và 27,11%). Do đó, tỷ lệ  $\beta$ -CD/H<sub>2</sub>O 70:30 (w/w) được chọn cho các bước khảo sát tiếp theo.



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

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



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

Theo đồ thị hình 3, ở tỷ lệ PEO/EtOH 60: 40 không đánh giá được quá trình bao gói vì lượng dung môi thêm vào quá ít, không đủ hòa tan tinh dầu. Lượng tinh dầu tự do trong hỗn hợp bị bay hơi trong quá trình thao tác. Khi tăng lượng ethanol, phức bọc thu được chứa hàm lượng PEO cao nhất ở tỷ lệ PEO: EtOH 28: 72 (w/w) và PEO bề mặt tăng dần. Tuy nhiên, lượng ethanol thêm vào càng nhiều, PEO tổng lại giảm dần và PEO bề mặt vẫn tiếp tục tăng. Có thể giải thích là do phức bọc PEO-  $\beta$ -CD được hình thành do sự cạnh tranh giữa các phân tử hoạt chất kém phân cực với phân tử H<sub>2</sub>O đang nằm trong khoang trống của  $\beta$ -CD [13]. Trong trường hợp này, hoạt chất được hòa tan bởi dung môi EtOH 96% (tức có chứa 4% nước), tăng dần lượng nước trong pha dầu sẽ ngăn cản quá trình PEO đi vào các khoang  $\beta$ -CD, chỉ có thể bám tại bề mặt phức. Điều này được thể hiện ở hình 3, tiếp tục tăng lượng dung môi, hàm lượng PEO tổng giảm nhưng PEO bề mặt lại tăng.

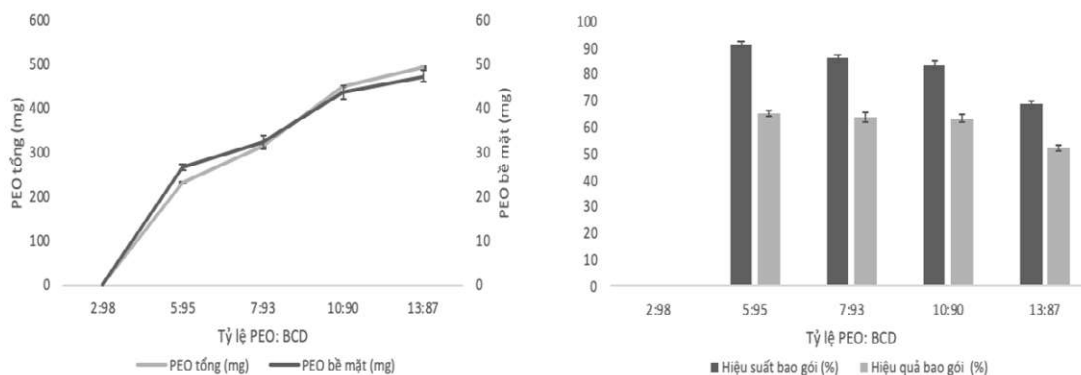
Hồ Thị Hoàng Yến (2019) [22] đã nghiên cứu quá trình bao gói lutein bằng  $\beta$ -CD bằng cách lựa chọn dung môi hòa tan và khảo sát nồng độ hoạt chất. Kết quả cho thấy, ethanol là dung môi hòa tan tốt nhất trong ba dung môi ethanol, acetone,

ethylacetat và lutein 0,01 g/ml cho hiệu quả bao gói cao nhất. Như vậy, khi so sánh với kết quả nghiên cứu phức bọc PEO-  $\beta$ -CD, ở tỷ lệ PEO: EtOH 28: 72 (w/w) (hay nồng độ PEO ~0,3 g/ml) cho hiệu quả bao gói cao nhất. Sự khác biệt giữa các tỷ lệ hoạt chất/dung môi có thể là do khác nhau về bản chất hoạt chất và phương pháp tạo phức khác nhau. PEO là một hỗn hợp các hợp chất kém phân cực, do đó cần sử dụng nhiều PEO để tham gia tạo phức bọc với  $\beta$ -CD. Từ đó, tỷ lệ PEO: cồn 28: 72 được chọn để khảo sát các yếu tố khác.

### 3.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ PEO/ $\beta$ -CD (w/w) đến quá trình bao gói

Tỷ lệ lượng PEO cho vào để tạo phức với  $\beta$ -CD (w/w) cũng cần được khảo sát. Nếu lượng PEO cho vào không thể đi hết vào các khoang  $\beta$ -CD như mong muốn, gây tổn thất về PEO. Nếu lượng PEO quá ít cũng sẽ không tận dụng được hết khả năng chứa của  $\beta$ -CD. Mặt khác, tinh dầu dễ bay hơi trong quá trình trộn, nhào và sấy mẫu. Do đó, các thí nghiệm thay đổi tỷ lệ PEO/ $\beta$ -CD (w/w) được thực hiện. Các yếu tố khác được cố định: EtOH 96%, PEO: EtOH 28: 72,  $\beta$ -CD: H<sub>2</sub>O 70: 30 (w/w). Kết quả khảo sát được thể hiện ở hình 4.





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

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

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

#### 4. KẾT LUẬN

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

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Trần Bảo Trâm, Nguyễn Thị Hiền, Trương Thị Chiên, Phan Xuân Bình Minh, Nguyễn Thị Thanh Mai, Hoàng Quốc Chính và Vũ Xuân Tạo (2021). Đánh giá thành phần hóa học và một số hoạt tính sinh học của tinh dầu cây Bạc hà (*Mentha arvensis* L.) trồng tại Việt Nam. *Bản B của Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 63(7).
- A Farco, J., & Grundmann, O. (2013). Menthol-pharmacology of an important naturally medicinal "cool". *Mini reviews in medicinal chemistry*, 13(1), 124-131.



3. Zhao, H., Ren, S., Yang, H., Tang, S., Guo, C., Liu, M., ... & Xu, H. (2022). Peppermint essential oil: Its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 154, 113559.
4. Pandey, A. K., Rai, M. K., & Acharya, D. (2003). Chemical composition and antimycotic activity of the essential oils of corn mint (*Mentha arvensis*) and lemon grass (*Cymbopogon flexuosus*) against human pathogenic fungi. *Pharmaceutical Biology*, 41(6), 421-425.
5. Mihajlov L., S. Kostadinovic-Velickovska, G. Naumova, P.V. Podea, H. Mirhosseini (2019). Isolation, chemical composition, antioxidant and antimicrobial potential of essential oil from *Mentha arvensis* L. organically planted from Macedonia. *Rivista Italiana Sostanze Grasse*. 96(3), pp.151-160.
6. Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12(1), 40-53.
7. Marques, H. M. C. (2010). A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour and fragrance journal*, 25(5), 313-326.
8. Baranauskienė, R., Bylaitė, E., Žukauskaitė, J., & Venskutonis, R. P. (2007). Flavor retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(8), 3027-3036.
9. Neveu-Prin, S., Cabuil, V., Massart, R., Escaffre, P., & Dussaud, J. (1993). Encapsulation of [10] magnetic fluids. *Journal of magnetism and magnetic materials*, 122(1-3), 42-45.
10. Bakan, J. A. (1975). Microcapsule drug delivery systems. *Polymers in Medicine and Surgery*, 213-235.
11. F. Gibbs, Selim Kermasha, Intez Ali, Catherine N. Mulligan, B. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International journal of food sciences and nutrition*, 50(3), 213-224.
12. Cid-Samamed, A., Rakmai, J., Mejuto, J. C., Simal-Gandara, J., & Astray, G. (2022). Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food Chemistry*, 132467.
13. da Rocha Neto, A. C., da Rocha, A. B. D. O., Maraschin, M., Di Piero, R. M., & Almenar, E. (2018). Factors affecting the entrapment efficiency of  $\beta$ -cyclodextrins and their effects on the formation of inclusion complexes containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, 77, 509-523.
14. Yan, Y., Zhao, X., Wang, C., Fang, Q., Zhong, L., & Wei, Q. (2022). Preparation, optimization, and characterization of inclusion complexes of *Cinnamomum longepaniculatum* essential oil in  $\beta$ -cyclodextrin. *Sustainability*, 14(15), 9513.
15. Astray, G., Gonzalez-Barreiro, C., Mejuto, J. C., Rial-Otero, R., & Simal-Gandara, J. (2009). A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1631-1640.
16. Abarca, R. L., Rodriguez, F. J., Guarda, A., Galotto, M. J., & Bruna, J. E. (2016). Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing an essential oil component. *Food chemistry*, 196, 968-975.
17. Elizei, P. S., & Krasaekoopt, W. (2014). Microencapsulation of Litsea cubeba Essential Oil in  $\beta$ -Cyclodextrin Using Paste and Co-Precipitation Methods. *Agriculture and Natural Resources*, 48(6), 893-907.
18. Padukka, I., Bhandari, B., & D'Arcy, B. (2000). Evaluation of various extraction methods of encapsulated oil from  $\beta$ -cyclodextrin-lemon oil complex powder. *Journal of food composition and analysis*, 13(1), 59-70.
19. Bae, E. K., & Lee, S. J. (2008). Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. *Journal of microencapsulation*, 25(8), 549-560.
20. Boonyarattanakalin, K., Viernstein, H., Wolschann, P., & Lawtrakul, L. (2015). Influence of ethanol as a co-solvent in cyclodextrin inclusion complexation: a molecular dynamics study. *Scientia pharmaceutica*, 83(2), 387-399.



21. Bùi Quang Thuật (2010). Nghiên cứu công nghệ tạo hương liệu dạng bột từ Cyclodextrin. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 48(2).
22. Hồ Thị Hoàng Yến (2019). Khảo sát một số đặc tính hóa lý của phức bọc lutein -  $\beta$ -cyclodextrin điều chế bằng phương pháp đồng kết tủa, Luận văn Thạc sĩ Hóa học phân tích, Học viện Khoa học và Công nghệ.
23. Bhandari, B. R., D'Arc, B. R., & Thi Bich, L. L. (1998). Lemon oil to  $\beta$ -cyclodextrin ratio effect on the inclusion efficiency of  $\beta$ -cyclodextrin and the retention of oil volatiles in the complex. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(4), 1494-1499.
24. Dima, C., Cotarlet, M., Tiberius, B., Bahrim, G., Alexe, P., & Dima, S. (2014). Encapsulation of coriander essential oil in beta-cyclodextrin: Antioxidant and antimicrobial properties evaluation. *Romanian Biotechnological Letters*, 19(2), 9128-9140.

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

Tran Thi Phuong Anh<sup>1,\*</sup>, Le My Kim Vuong<sup>1</sup>,

Tran Tuan Hung<sup>1</sup>, Pham Ngoc Huynh Kha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Food Technology Nha Trang University*

<sup>\*</sup>*Email: anhttp@ntu.edu.vn*

**Summary**

*Mentha arvensis* L. essential oil (*M. arvensis* EO) is widely used in various industries due to its high biological activities as well as the characteristic aroma at low concentrations. In this study, *M. arvensis* EO was prepared as microcapsules, using the paste method and  $\beta$ -cyclodextrin as wall material, with the aim to improve the physicochemical properties of *M. arvensis* EO, thus allowing a wide range of its applications. Chemical factors that may affect the encapsulation efficiency, including alcohol, essential oil,  $\beta$ -cyclodextrin, and water and their ratios (concentrations of the alcohol, EO/EtOH, EO/ $\beta$ -cyclodextrin,  $\beta$ -cyclodextrin/H<sub>2</sub>O) were determined. At ethanol 96%, the ratio of EO:  $\beta$ -cyclodextrin 5: 95 (w/w), EO: ethanol 25: 72 (w/w) and  $\beta$ -cyclodextrin: water 9: 1 (w/w) gave an effective encapsulation formula for the *M. arvensis* EO, with about 65% of encapsulation efficiency. The final product will be considered as supplement bearing antimicrobial activity in aquaculture.

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

**Người phản biện:** TS. Huỳnh Tiến Đạt

**Ngày nhận bài:** 24/02/2023

**Ngày thông qua phản biện:** 22/3/2023

**Ngày duyệt đăng:** 29/3/2023