

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH



NGUYỄN THÀNH CÔNG

**NGHIÊN CỨU TRÍCH LY VÀ VI BAO MỘT SỐ HỢP CHẤT CÓ
HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ TRÁI NHÀU (*Morinda L.*)**

Thành phố Hồ Chí Minh, Tháng 11/2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH

NGUYỄN THÀNH CÔNG

**NGHIÊN CỨU TRÍCH LY VÀ VI BAO MỘT SỐ HỢP CHẤT CÓ
HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ TRÁI NHÀU (*Morinda L.*)**

Cán bộ hướng dẫn: PGS. TS. KHA CHẤN TUYỀN

Học viên thực hiện: NGUYỄN THÀNH CÔNG

Khóa: 2019

Chuyên ngành: CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

Thành phố Hồ Chí Minh, Tháng 11/2024

**NGHIÊN CỨU TRÍCH LY VÀ VI BAO MỘT SỐ HỢP CHẤT
CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ TRÁI NHÀU (*Morinda L.*)**

TÓM TẮT

Đề tài: Nghiên cứu trích ly và vi bao một số hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu (*Morinda L.*)

Tác giả: Nguyễn Thành Công

Chuyên ngành: Công nghệ thực phẩm Mã số: 9.54.01.01

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu nhằm (1) xác định sự ảnh hưởng của thời gian bảo quản, độ chín sau thu hoạch đến hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học polyphenols (TPC), flavonoids (TFC), saponin (TSC) và acid ascorbic; (2) điều kiện trích ly tối ưu để thu nhận dịch chiết có hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học cao nhất từ trái nhàu; (3) tối ưu hoá điều kiện sấy phun dịch trích trái nhàu cho phương pháp vi bao; và (4) xác định điều kiện giải phóng và hiệu quả bảo quản bột vi bao dịch trích trái nhàu.

Kết quả nghiên cứu cho thấy độ tuổi khi thu hoạch và thời gian bảo quản có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học của trái nhàu (loài phổ biến *Morinda citrifolia L.*). Đề tài định danh được 16 hợp chất bằng phương pháp LC-MS/MS và định lượng được rutin, gallic acid, và quercetin bằng HPLC. Điều kiện trích ly tối ưu của trái nhàu là nồng độ enzyme 1%, nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme 60°C và thời gian thủy phân 51 phút. Với các điều kiện trích ly enzyme tối ưu với sự hỗ trợ của tiền xử lý siêu âm, dịch trích thu được có hàm lượng các hợp chất sinh học, bao gồm TPC ($13,29 \pm 0,31$ mg GAE/g vck), TFC ($8,40 \pm 0,08$ mg QE/g vck), TSC ($63,19 \pm 1,66$ mg AE/g vck) và acid ascorbic ($1,16 \pm 0,15$ mg AA/g vck), đã được thẩm tra.

Dịch chiết, bột sấy phun của trái nhàu có nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như tanin, saponin, steroid, terpenoid, coumarin. Kết quả cho thấy sấy phun dịch chiết trái nhàu có tỷ lệ vỏ bao (Maltodextrin và Gum Arabic với tỷ lệ 1: 2, kl/ kl) có nồng độ 20%, và tỷ lệ khối lượng phối trộn giữa dung dịch vỏ bao và dịch nhàu là 7:3. Hỗn

hợp được sấy phun ở nhiệt độ đầu vào 175°C và nhiệt độ đầu ra 82°C. Hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học nhàu tính theo hàm lượng TFC và TSC lần lượt là 90,3 và 89,9%. Thành phẩm có chứa TPC, TFC, và TSC lần lượt là 2,0 mg GAE/100g bột; 8,7 mg QE/100g bột; 25,7 mg AE/100g bột. Bột vi bao có độ ẩm và hoạt độ nước lần lượt là 4,74% và 0,21. Thành phẩm bột vi bao tính ổn định cao và có thể bảo quản trong thời gian tối thiểu là 1 năm ở nhiệt độ 25°C.

Khả năng giải phóng của TPC, TSC và TFC trong bột vi bao trong môi trường đệm PBS 7,4 cho kết quả lần lượt tương ứng là 25%, 40% và 80% sau 120 phút. Xét về khả năng bảo vệ TPC, TFC và TSC trong môi trường *in vitro* mô phỏng tiêu hóa, mô phỏng dịch vị dạ dày (pH 1,2) cho kết quả cả ba hoạt chất đều giải phóng chậm với hiệu suất thấp trong 2 giờ (<20%), cho thấy ở giai đoạn này vỏ vi bao đã phát huy hiệu quả bảo vệ hoạt chất trong môi trường acid. Trong giai đoạn mô phỏng ruột non (pH 6,8), cả ba hoạt chất có sự thay đổi mạnh mẽ về hiệu suất giải phóng và cho kết quả gần tương đương với hiệu suất ở môi trường pH 7,4.

Về khả năng bảo vệ hoạt chất ở môi trường nhiệt độ cao tiến hành đánh giá sự phân hủy vì nhiệt của các mẫu, trên cơ sở đó đánh giá khả năng bảo vệ của bột nhàu vi bao. Đối với mẫu cao tự do, sau khi giữ trong môi trường 60°C và 100°C trong 1 giờ, lượng hoạt chất TPC, TFC, TSC mất đi đáng kể. Cao chiết đã đông khô chịu ảnh hưởng nặng nề về hình dáng, bị chảy và có hiện tượng phân hủy. Trong khi đó, cao đã được vi bao được giữ trong cùng điều kiện như trên có hiệu suất bảo vệ khá cao với TPC 84,94%, TFC 71,17% và TSC 38,15% ở 60°C, và hiệu suất TPC, TFC và TSC lần lượt là 77,99%, 61,26%, 21,22% ở 100°C. Điều này chứng minh lớp vỏ vi bao có thể bảo vệ hoạt chất tốt hơn khi các hoạt tính sinh học vẫn còn được đảm bảo.

Việc vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu bằng phương pháp sấy phun có nhiều ý nghĩa thực tiễn hơn. Kết quả bột nhàu sấy phun có nhiều tiềm năng ứng dụng trong thực tế cũng như sản xuất, đồng thời giúp giảm chi phí trong một số công đoạn trong phân phối và vận hành.

Từ khoá: Flavonoids, polyphenols, saponin, sấy phun, trái nhàu, vi bao

ABSTRACT

Project title: Study on the extraction and micropaging of some bioactive compounds from noni fruit (*Morinda L.*)

Ph.D. candidate: Nguyen Thanh Cong

Major: Food Technology

Major code: 9.54.01.01

The research aimed to (1) determine the influence of storage time and ripeness post-harvest on bioactive compound levels including polyphenols (TPC), flavonoids (TFC), saponin (TSC), and ascorbic acid; (2) optimize extraction conditions to obtain extracts with the highest levels of bioactive compounds from noni fruits; (3) optimize spray drying conditions for noni fruit extracts with maximum bioactive compound levels; and (4) identify the release conditions and storage conditions for noni extract encapsulated powder.

Research findings indicate that the age at harvest and storage duration significantly affect the bioactive compound content of noni fruit (*Morinda citrifolia L.*). Sixteen compounds were identified using LC-MS/MS, and rutin, gallic acid, and quercetin were quantified via HPLC. Optimal extraction conditions for noni fruits included a 1% enzyme concentration, 60°C incubation temperature, and 51 min of incubation time. Under these conditions, assisted by ultrasound pre-treatment, the extract contained high levels of bioactive compounds, including TPC (13.29 ± 0.31 mg GAE/g dry weight), TFC (8.40 ± 0.08 mg QE/g dry weight), TSC (63.19 ± 1.66 mg AE/g dry weight), and ascorbic acid (1.16 ± 0.15 mg AA/g dry weight).

Noni fruit extract and spray-dried powder contained various bioactive compounds such as tannins, saponins, steroids, terpenoids, and coumarins. The optimal spray drying conditions included a coating ratio of Maltodextrin and Gum Arabic at 1:2 (w/w), a 20% coating ratio, and a mass ratio of coating solution to noni extract of 7:3. The mixture was spray-dried at 175°C inlet temperature and 82°C outlet temperature. Encapsulation yields for bioactive compounds in noni, measured

by TFC and TSC contents, were 90.3% and 89.9%, respectively. The final product contained TPC, TFC, and TSC at levels of 2.0 mg GAE/100g powder, 8.7 mg QE/100g powder, and 25.7 mg AE/100g powder, respectively, with moisture and water activity levels of 4.74% and 0.21, respectively. The encapsulated powder exhibited high stability, preserving for at least one year at 25°C.

In a PBS 7.4 environment, microencapsulated powder released 25% TPC, 40% TSC, and 80% TFC after 120 min. In simulated gastric juice (pH 1.2), all three active ingredients released slowly with less than 20% efficiency in 2 h, indicating effective protection in an acidic environment. In simulated small intestine conditions (pH 6.8), release efficiency increased significantly, nearly equivalent to performance in pH 7.4.

Thermal decomposition evaluations showed that microencapsulated noni powder exhibited high protection performance at both 60°C and 100°C, with TPC, TFC, and TSC retention percentages ranging from 38.15% to 84.94% at 60°C and from 21.22% to 77.99% at 100°C. This confirms the effectiveness of microencapsulation in preserving biological activities under high temperature conditions. The spray drying method for microencapsulation of bioactive compounds in noni fruit holds significant practical importance, offering potential applications in practical and industrial settings while reducing costs in logistics and operations.

Key words: Flavonoids, noni fruit, polyphenols, saponin, spray drying, encapsulation

DANH SÁCH CÁC CÔNG BỐ KHOA HỌC

Cong Thanh Nguyen, Khanh Di Nguyen and Tuyen Chan Kha (2024), Chapter 4 *Morinda Citrifolia L.: Bioactive Compounds and its Diverse Applications. Benefits and Uses of Plant Extracts*. New York: Nova Science Publishers, Inc. In Press.

Cong Thanh Nguyen, Khanh Di Nguyen, Hoang Cong Phan, and Tuyen Chan Kha, Analysis of Noni Fruit Samples Obtained from Different Locations in Vietnam: Harvest, Bioactive Availability and Storage. Proceeding of the 4th International Conference on Applied Sciences 2024.

Cong Thanh Nguyen, Khanh Nguyen Di, Hoang Cong Phan, Tuyen Chan Kha, Hung Canh Nguyen, Microencapsulation of noni fruit extract using gum arabic and maltodextrin – Optimization, stability and efficiency. *International Journal of Biological Macromolecules*, 269, 2, 2024, 132217.

Tran Thi Huyen Ho, Diem Ho Ngoc Nguyen, Cong Thanh Nguyen, Tuyen Chan Kha, Aqueous enzymatic extraction conditions of bioactive compounds from ultrasound pretreated Noni (*Morinda citrifolia L.*) extract. *Journal of Technical Education Science*, (70B), 2022, 102-115.

Tuyen Chan Kha, Cong Thanh Nguyen, Luyen Thi Tran, Trung Tan Truong, Effects of pretreatment and air drying temperature on Noni fruit powder. *Food Science and Biotechnology*, 30, 2021, 1519-1526.

MỤC LỤC

| | |
|---|-----|
| TÓM TẮT | ii |
| DANH SÁCH CÁC CÔNG BỐ KHOA HỌC | vi |
| DANH MỤC VIẾT TẮT | xi |
| DANH MỤC HÌNH | xii |
| DANH MỤC BẢNG..... | xiv |
| MỞ ĐẦU..... | 1 |
| CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN..... | 5 |
| 1.1 Tổng quan về trái nhàu | 5 |
| 1.1.1 Đặc điểm và phạm vi phân bố | 5 |
| 1.1.2 Tổng quan nghiên cứu về công dụng của trái nhàu | 8 |
| 1.1.3 Thành phần hóa học và một số hoạt tính sinh học có trong trái nhàu .. | 12 |
| 1.2 Tổng quan về phương pháp trích ly | 18 |
| 1.2.1 Các phương pháp trích ly..... | 20 |
| 1.2.2 Các nghiên cứu về phương pháp trích ly trên đối tượng cây nhàu | 25 |
| 1.3 Tổng quan vi bao bằng phương pháp sấy phun..... | 29 |
| 1.3.1 Giới thiệu về vi bao..... | 29 |
| 1.3.2 Các phương pháp vi bao | 31 |
| 1.3.3 Các nghiên cứu trong và ngoài nước về quá trình sấy phun để vi bao các hoạt chất sinh học | 33 |
| CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU | 36 |
| 2.1 Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị sử dụng | 36 |
| 2.2 Phương pháp bố trí thí nghiệm..... | 37 |
| 2.2.1 Khảo sát nguyên liệu, ảnh hưởng của độ chín thu hoạch và thời gian bảo quản đến hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học và các chỉ tiêu hoá lý | 38 |
| 2.2.2 Quy trình công nghệ trích ly các chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu..... | 39 |
| 2.2.2.1 Khảo sát và tối ưu hóa điều kiện trích ly | 39 |
| 2.2.2.2 Xác định các chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ trong dịch trích nhàu .. | 40 |

| | | |
|---------|---|----|
| 2.2.3 | Khảo sát và tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến vi bao các hợp chất sinh học trong trái nhàu..... | 41 |
| 2.2.3.1 | Khảo sát công thức và tỷ lệ phối trộn vỏ bao sấy phun bột nhàu | 41 |
| 2.2.3.2 | Xác định nồng độ vỏ bao thích hợp..... | 41 |
| 2.2.3.3 | Xác định nhiệt độ sấy phun đầu vào thích hợp..... | 41 |
| 2.2.3.4 | Xác định nhiệt độ sấy phun đầu ra thích hợp..... | 42 |
| 2.2.3.5 | Tối ưu hoá nhiệt độ sấy phun..... | 42 |
| 2.2.3.6 | Theo dõi thời gian bảo quản của bột vi bao..... | 42 |
| 2.2.3.7 | Đường cong hấp phụ của bột vi bao | 43 |
| 2.2.4 | Khả năng giải phóng và bảo vệ các hoạt chất trong điều kiện mô phỏng..... | 44 |
| 2.2.4.1 | Đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất trong môi trường pH 7,4 | 44 |
| 2.2.4.2 | Đánh giá khả năng bảo vệ hoạt chất trong pH đường tiêu hóa..... | 44 |
| 2.2.4.3 | Đánh giá khả năng bảo vệ hoạt chất trong môi trường nhiệt độ..... | 45 |
| 2.3 | Phương pháp phân tích các chỉ tiêu..... | 45 |
| 2.3.1 | Định tính các hợp chất sinh học | 45 |
| 2.3.2 | Định lượng thành phần dinh dưỡng | 45 |
| 2.3.3 | Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa..... | 46 |
| 2.3.4 | Định lượng hàm lượng khoáng chất..... | 46 |
| 2.3.5 | Phương pháp định danh các hợp chất có hoạt tính sinh học | 46 |
| 2.3.6 | Phương pháp định lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học..... | 47 |
| 2.3.7 | Phân tích hàm lượng polyphenol tổng (TPC) | 48 |
| 2.3.8 | Phân tích hàm lượng flavonoid tổng (TFC) | 48 |
| 2.3.9 | Phân tích hàm lượng saponin triterpenoid tổng (TSC) | 48 |
| 2.3.10 | Phân tích hàm lượng vitamin C..... | 49 |
| 2.3.11 | Ẩm độ..... | 49 |
| 2.3.12 | Hoạt tính nước..... | 49 |
| 2.3.13 | Cấu trúc hạt vi bao dạng rắn..... | 49 |
| 2.3.14 | Phân tích tán xạ ánh sáng động kết hợp phân tích pha (DLS) | 49 |
| 2.3.15 | Nhiều xạ tia X | 50 |
| 2.3.16 | Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR)..... | 50 |
| 2.3.17 | Quét nhiệt vi sai (DSC)..... | 50 |

| | | |
|--|---|-----------|
| 2.3.18 | Phương pháp phổ tử ngoại khả kiến (UV-Vis) | 50 |
| 2.3.19 | Tỷ trọng khối và tỷ trọng gỗ..... | 51 |
| 2.4 | Phương pháp thu thập số liệu và xử lý thống kê | 51 |
| CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN..... | | 53 |
| 3.1 | Khảo sát một số mẫu nguyên liệu trái nhàu | 53 |
| 3.1.1 | Các hợp chất sinh học | 53 |
| 3.1.2 | Thành phần chất dinh dưỡng và khoáng chất..... | 54 |
| 3.2 | Ảnh hưởng của độ chín thu hoạch và thời gian bảo quản đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học và các chỉ tiêu hoá lý | 56 |
| 3.2.1 | Độ chín thu hoạch | 56 |
| 3.2.2 | Thời gian bảo quản..... | 57 |
| 3.2.3 | Tiền xử lý và nhiệt độ sấy | 59 |
| 3.3 | Trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu | 60 |
| 3.3.1 | Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu | 60 |
| 3.3.2 | Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu..... | 62 |
| 3.3.3 | Ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu | 64 |
| 3.3.4 | Ảnh hưởng của thời gian trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu | 66 |
| 3.3.5 | Tối ưu hoá điều kiện trích ly | 68 |
| 3.3.6 | Quy trình công nghệ trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học | 77 |
| 3.3.6.1 | Quy trình công nghệ | 77 |
| 3.3.6.2 | Thuyết minh quy trình | 79 |
| 3.4 | Kết quả phân tích các hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ trong dịch trích trái nhàu | 80 |
| 3.4.1 | Định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ | 80 |
| 3.4.2 | Định lượng một số hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ..... | 82 |
| 3.5 | Ảnh hưởng của các điều kiện khảo sát và tối ưu lên khả năng vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích nhàu | 85 |

| | | |
|--------------------------------------|---|-----|
| 3.5.1 | Công thức và tỷ lệ vỏ bao trong vi bao bằng sấy phun | 85 |
| 3.5.2 | Tỷ lệ nồng độ vỏ bao..... | 86 |
| 3.5.3 | Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu vào | 88 |
| 3.5.4 | Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu ra..... | 90 |
| 3.5.5 | Tối ưu hóa sấy phun trong quy trình vi bao dịch trích nhàu | 92 |
| 3.5.6 | Quy trình công nghệ vi bao bằng phương pháp sấy phun..... | 96 |
| 3.5.7 | Cấu trúc hạt vi bao và kích thước của bột vi bao | 99 |
| 3.5.8 | Động học thất thoát các hợp chất có hoạt tính sinh học của bột vi bao | 103 |
| 3.5.9 | Đường cong hấp phụ ẩm của bột vi bao..... | 105 |
| 3.5.10 | Độ kết tinh và độ bền nhiệt của vi bao..... | 109 |
| 3.5.11 | Khả năng tương tác của các thành phần trong bột vi bao | 110 |
| 3.5.12 | Tỷ trọng gỗ và tỷ trọng khối của bột vi bao | 112 |
| 3.6 | Khả năng giải phóng và bảo vệ các hoạt chất trong bột nhàu vi bao | 113 |
| 3.6.1 | Khả năng giải phóng của vi bao trong môi trường <i>in vitro</i> pH 7,4..... | 113 |
| 3.6.2 | Khả năng bảo vệ hoạt tính TPC, TFC và TSC trong môi trường <i>in vitro</i> mô phỏng pH tiêu hóa | 116 |
| 3.6.3 | Khả năng bảo vệ hoạt chất TPC, TFC và TSC trong môi trường nhiệt độ cao | 119 |
| CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ..... | | 121 |
| | Kết luận | 121 |
| | Kiến nghị | 122 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO..... | | 123 |
| PHỤ LỤC..... | | 134 |

DANH MỤC VIẾT TẮT

| | |
|--------|--|
| AA | Ascorbic acid |
| AE | Aescin equivalent |
| GA | Gum Arabic |
| GAE | Gallic acid equivalent |
| HS-TFC | Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng flavonoids |
| HS-TPC | Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng polyphenols |
| HS-TSC | Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng triterpenoid saponin |
| MD | Maltodextrin |
| RSM | Response surface methodology - Phương pháp bề mặt đáp ứng |
| SEM | Scanning Electron Microscopy - Kính hiển vi điện tử quét |
| TFC | Total flavonoid content - Hàm lượng flavonoid tổng |
| TPC | Total polyphenol content - Hàm lượng polyphenol tổng |
| TSC | Total triterpenoid saponin content - Hàm lượng triterpenoid saponin tổng |
| Vck | Vật chất khô |
| WPC | Whey protein concentrate |

DANH MỤC HÌNH

| | |
|---|----|
| Hình 1.1 Cây nhàu và trái nhàu..... | 7 |
| Hình 1.2 Năm giai đoạn phát triển khác nhau của trái nhàu..... | 8 |
| Hình 1.3 Một số hợp chất phenolic có trong trái nhàu (1) nordamnacanthal, (2) damnacanthal, (3) 1,3,5-dihydroxy-2-methoxy-6-methyl anthraquinone, (4) morindone, (5) sorendidiol, (6) rubiadin, (7) damnacanthol, (8) lucidin- ω -methylether..... | 14 |
| Hình 1.4 Cấu trúc hóa học của các flavonoid chính được xác định trong trái nhàu (Almeida & ctv, 2019) | 15 |
| Hình 2.1 Nguyên liệu dùng để nghiên cứu | 36 |
| Hình 2.2 Sơ đồ nghiên cứu tổng quát..... | 37 |
| Hình 3.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme đến hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học | 61 |
| Hình 3.2 Ảnh hưởng của tỷ lệ nước/ bột nhàu đến khả năng trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu..... | 63 |
| Hình 3.3 Ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến khả năng trích ly các hợp | 65 |
| Hình 3.4 Ảnh hưởng của thời gian trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến khả năng trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu | 67 |
| Hình 3.5 Đồ thị 3D và đường đồng mức thể hiện sự tương tác của các yếu tố đến hàm lượng polyphenol tổng | 72 |
| Hình 3.6 Đồ thị 3D và đường đồng mức thể hiện sự tương tác của các yếu tố đến hàm lượng flavonoid tổng | 73 |
| Hình 3.7 Đồ thị 3D và đường đồng mức thể hiện sự tương tác của các yếu tố đến hàm lượng saponin tổng | 74 |
| Hình 3.8 Đồ thị 3D và đường đồng mức thể hiện sự tương tác của các yếu tố đến hàm lượng vitamin C..... | 75 |
| Hình 3.9 Mô hình tối ưu điều kiện trích ly dịch trái nhàu | 76 |

| | |
|---|-----|
| Hình 3.10 Quy trình công nghệ trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu | 78 |
| Hình 3.11 Sắc ký đồ ion tổng (TIC) của dịch trích trái nhàu..... | 80 |
| Hình 3.12 Biểu đồ sắc ký các hợp chất có hoạt tính sinh học dịch trích nhàu bằng HPLC..... | 83 |
| Hình 3.13 Biểu đồ sắc ký các chất chuẩn phân tích bằng HPLC..... | 84 |
| Hình 3.14 Mô hình tối ưu nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra | 94 |
| Hình 3.15 Biểu đồ 3D và đường đồng mức biểu thị ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra đến hiệu suất vi bao tính theo TFC (A) và TSC (B)..... | 94 |
| Hình 3.16 Quy trình công nghệ vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học nhàu dạng bột..... | 97 |
| Hình 3.17 Bột nhàu vi bao bằng sấy phun được bảo quản trong túi zip..... | 99 |
| Hình 3.18 Cấu trúc hạt vi bao tối ưu được phân tích bằng SEM | 100 |
| Hình 3.19 Biểu đồ phân bố kích thước bột vi bao | 102 |
| Hình 3.20 Biểu đồ điện thế zeta của bột vi bao | 103 |
| Hình 3.21 Động học thất thoát polyphenol (A), flavonoid (B) và saponin (C) theo thời gian bảo quản | 104 |
| Hình 3.22 Mô hình BET (A) và GAB (B) của bột vi bao nhàu | 106 |
| Hình 3.23 Ảnh hưởng của độ ẩm tương đối đến polyphenol, flavonoid, saponin và độ ẩm cân bằng của bột vi bao | 108 |
| Hình 3.24 Giảm đồ XRD của (A) bột vi bao, (B) Cao chiết trái nhàu, (C) MA, (D) Gum..... | 109 |
| Hình 3.25 Phổ DSC của bột vi bao, cao chiết, Gum và MA | 111 |
| Hình 3.26 Phổ FTIR của (A) bột vi bao, (B) Cao chiết trái nhàu, (C) MA, (D) Gum | 112 |
| Hình 3.27 Hiệu suất giải phóng TFC, TPC, TSC theo thời gian của bột vi bao..... | 114 |
| Hình 3.28 Biểu đồ phóng thích hoạt chất TPC, TSC và TFC trong môi trường mô phỏng đường tiêu hóa của bột vi bao | 128 |

DANH MỤC BẢNG

| | |
|---|----|
| Bảng 1.1 Bảng phân loại nguồn gốc Nhàu..... | 6 |
| Bảng 1.2 Một số hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu | 17 |
| Bảng 2.1 Thiết bị sử dụng nghiên cứu | 37 |
| Bảng 2.2 Bố trí thí nghiệm khảo sát độ chín và thời gian bảo quản | 39 |
| Bảng 2.3 Năm điều kiện ẩm độ của 5 loại muối khác nhau..... | 43 |
| Bảng 2.4 Chương trình gradient cho hệ thống LC-MS/MS..... | 46 |
| Bảng 2.5 Các thông số của QTOF | 47 |
| Bảng 2.6 Độ ổn định của dung dịch hạt phụ thuộc vào thế zeta..... | 50 |
| Bảng 3.1 Các hợp chất sinh học của mẫu loài <i>Morinda L.</i> | 53 |
| Bảng 3.2 Thành phần các chất dinh dưỡng có trong các mẫu trái nhàu | 54 |
| Bảng 3.3 Thành phần khoáng chất trong các mẫu trái nhàu | 55 |
| Bảng 3.4 Ảnh hưởng của độ chín khi thu hoạch đến các hợp chất có hoạt tính sinh học | 56 |
| Bảng 3.5 Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến các hợp chất có hoạt tính sinh học | 58 |
| Bảng 3.6 Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến màu sắc và các chỉ tiêu hoá lý | 59 |
| Bảng 3.7 Bố trí thí nghiệm tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly các hợp chất sinh học từ trái nhàu | 69 |
| Bảng 3.8 Dự đoán hệ số của phương trình bậc 2 với các hàm mục tiêu Polyphenol tổng, Flavonoid, Saponin và vitamin C..... | 71 |
| Bảng 3.9 Kết quả thẩm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế | 77 |
| Bảng 3.10 Các hợp chất có hoạt tính sinh học định danh có trong dịch trích trái nhàu sử dụng UHPLC-QTOF-MS/MS ở chế độ ion âm | 81 |
| Bảng 3.11 Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích nhàu | 84 |
| Bảng 3.12 Ảnh hưởng của tỷ lệ vỏ bao đến hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học | 85 |

| | |
|--|-----|
| Bảng 3.13 Ảnh hưởng của nồng độ vỏ bao đến hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học | 87 |
| Bảng 3.14 Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu vào đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học và độ ẩm | 89 |
| Bảng 3.15 Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu ra đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học và độ ẩm | 92 |
| Bảng 3.16 Bảng thiết kế thí nghiệm và kết quả thực nghiệm thu được từ các chế độ sấy khác nhau | 93 |
| Bảng 3.17 Hệ số hồi quy của mô hình biểu diễn ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hiệu suất vi bao | 95 |
| Bảng 3.18 Kết quả thẩm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế | 96 |
| Bảng 3.19 Hệ số của các mô hình đường cong hấp phụ của bột vi bao nhàu..... | 105 |
| Bảng 3.20 Giá trị tỷ trọng và chỉ số Carr, tỷ lệ Hausner của bột vi bao | 113 |
| Bảng 3.21 Hàm lượng TPC, TFC và TSC giải phóng theo thời gian từ bột vi bao trong môi trường PBS pH 7,4..... | 115 |
| Bảng 3.22 Hàm lượng hoạt chất TPC, TFC và TSC giải phóng trong môi trường mô phỏng dịch vị dạ dày và dịch ruột | 116 |
| Bảng 3.23 Hiệu suất giải phóng TPC, TSC, TFC trong bột vi bao theo thời gian . | 118 |
| Bảng 3.24 Hiệu suất bảo vệ hoạt chất của vi bao và cao chiết trong môi trường nhiệt độ cao | 119 |

MỞ ĐẦU

Việc ứng dụng dịch chiết từ thực vật có nhiều thành phần có hoạt tính sinh học trong chế biến thực phẩm hiện đang là một xu hướng trong nghiên cứu ứng dụng tại Việt Nam và Thế giới. Và nhiều nghiên cứu cho thấy, dịch chiết chứa polyphenol có tác dụng chống oxy hóa, ôi hóa trong bảo quản các sản phẩm thịt cá nhằm kéo dài thời gian bảo quản (Maqsood & ctv, 2015). Trong công nghệ bảo quản rau quả, polyphenol kết hợp với màng bao ăn được như alginate, carrageenan, gum arabic... làm giảm mất nước, thay đổi cấu trúc, giảm hóa nâu trái cây khi cắt lát và tăng thời gian tồn trữ rau quả (Azarakhsh & ctv, 2012). Đặc biệt hơn nữa, một số polyphenol có tác dụng kháng khuẩn, kháng mốc cao như flavonoids, tannin, phenolic acid, saponin, coumarin, stilbenes (Daglia, 2012). Tuy nhiên, hiệu quả bảo quản các hợp chất polyphenol phụ thuộc vào sự ổn định và tính khả dụng của các thành phần hóa học này. Trong thực tế, nồng độ polyphenol sau trích ly khá cao và có hương vị cảm quan thấp. Do đó, polyphenol thường đề xuất sử dụng ở dạng bột sấy phun nâng cao tính tiện dụng sản phẩm và hạn chế được nhược điểm trên (Ersus & Yurdagel, 2007).

Trái nhàu (*Morinda citrifolia* L.) từ lâu đã được biết đến như một vị thuốc dân gian hiệu quả tại nhiều quốc gia trên thế giới. Và mọi người đã sử dụng nhàu để làm thuốc chữa bệnh ung thư, nhiễm trùng, viêm khớp, tiểu đường, hen suyễn, tăng huyết áp và đau nhức (Bourdy & ctv, 1992). Ngày nay, đã có nhiều nghiên cứu cho thấy trái nhàu có chứa nhiều hợp chất sinh học có lợi cho sức khỏe con người. Các nhóm hợp chất hoạt tính sinh học trong nhàu đã được báo cáo, bao gồm acid, rượu, phenol, saccharide, anthraquinone, carotenoid, este, triterpenes, flavonoid, glycoside, lacton, iridoids, xeton, lignans, nucleoside, sterol (Abou Assi & ctv, 2017)... Ngoài ra, trái nhàu còn chứa hàm lượng cao polyphenol, flavonoid, acid ascorbic được biết đến như các chất có hoạt tính chống oxy hóa cao, giúp ngăn chặn các gốc tự do trong cơ thể con người. Các polyphenol chính trong trái nhàu bao gồm damnacanthal, scopoletin, morindone và alizarin, aucubin, nor damnacanthal,... đã góp phần vào các hoạt động được lý khác nhau (Chan Blanco & ctv, 2006; Kim & ctv, 2017).

Mặt khác, việc chiết xuất bằng dung môi hoá học vẫn còn một số hạn chế như cần loại dung môi và thời gian xử lý. Bước này kéo dài cũng có thể dẫn đến phân hủy các hợp chất không ổn định, đặc biệt là khi cần gia nhiệt. Mất mát cũng có thể xảy ra ở giai đoạn phân giải lại. Một vấn đề khác là nguy cơ hấp phụ chất phân tích vào dụng cụ thủy tinh có thể xảy ra ở giai đoạn chiết hoặc bay hơi dung môi. Từ đó đặt ra tính cấp thiết của việc nghiên cứu chuyên sâu về trích ly các hợp chất sinh học trong trái nhàu bằng cách sử dụng phương pháp thân thiện môi trường như enzyme hay siêu âm nhằm nâng cao năng suất và đảm bảo được chất lượng của các hợp chất sinh học trong dịch trích. Đây là cơ sở để thực hiện đề tài nghiên cứu: “Nghiên cứu trích ly một số hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu (*Morinda. L*) và ứng dụng vi bao trong thực phẩm”.

Đối tượng nghiên cứu

Sau khi khảo sát nguyên liệu tại vùng Đông Nam Bộ của Việt Nam, trái nhàu, được thu hoạch và cung ứng từ công ty MEKONG HERBALS, tỉnh Tiền Giang, Việt Nam, được chọn là đối tượng nghiên cứu để thực hiện đề tài.

Mục tiêu luận án

Mục tiêu tổng quát: Khảo sát nguyên liệu nhàu (*Morinda citrifolia*) để xác định thành phần dinh dưỡng và hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao, từ đó tối ưu hóa phương pháp trích ly và quy trình vi bao nhằm bảo toàn các hợp chất này trong các điều kiện khác nhau.

Mục tiêu cụ thể

1. Xác định thành phần dinh dưỡng và hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao, bao gồm TFC, TPC, TSC và vitamin C trong trái nhàu.
2. Định danh và định lượng các hợp chất đơn lẻ có hoạt tính sinh học trong trái nhàu.
3. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian bảo quản và độ chín sau thu hoạch đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học.

4. Tối ưu hóa phương pháp trích ly để thu nhận dịch chiết có hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học cao từ trái nhàu.
5. Xây dựng quy trình tối ưu hóa phương pháp vi bao bằng sấy phun nhằm bảo toàn lượng hợp chất có hoạt tính sinh học.
6. Đánh giá khả năng giải phóng và bảo vệ các hợp chất có hoạt tính sinh học trong các điều kiện môi trường khác nhau, bao gồm mô phỏng tiêu hóa *in vitro* và môi trường nhiệt độ cao.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

- **Tính cấp thiết:** Đề tài nghiên cứu khai thác các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu trong các điều kiện vi bao kín khe mở ra triển vọng ứng dụng các hợp chất này một cách hiệu quả trong chế biến và bảo quản thực phẩm.

- **Ý nghĩa khoa học:** Đề tài sử dụng các kỹ thuật hỗ trợ tách chiết như enzyme kết hợp sóng siêu âm tiên tiến và thân thiện với môi trường để thu dịch chiết từ trái nhàu. Bên cạnh đó, đảm bảo giữ được các hợp chất sinh học cao nhất trong và sau quá trình sấy phun thu sản phẩm dạng bột. Bột nhàu vi bao có tính ổn định và hiệu quả làm tiền đề cho các nghiên cứu giải phóng và là cơ sở cho các nghiên cứu tiềm năng ứng dụng xa hơn.

- **Ý nghĩa thực tiễn:** Xác định được thời điểm thu hoạch và bảo quản trái nhàu. Kết quả của đề tài là cơ sở để gia tăng giá trị sử dụng của trái nhàu có hàm lượng hợp chất sinh học cao. Là tiền đề sản xuất chất chống oxy hóa tự nhiên có nguồn gốc thực vật, cũng như sử dụng để phát triển các sản phẩm thực phẩm chức năng. Đề tài lựa chọn các phương pháp có khả năng ứng dụng trên quy mô lớn công nghiệp. Bản thân sản phẩm là bột nên có thể lưu giữ lâu, thuận lợi hơn trong vận chuyển và sử dụng mà ít bị thay đổi tính chất hóa lý. Cùng với việc kéo dài thời gian giảm hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học, bột nhàu vi bao sẽ giúp tương thích các sản xuất ứng dụng.

- **Những điểm mới của luận án:** Đây là công trình nghiên cứu có tính hệ thống trên một đối tượng nguyên liệu mới là trái nhàu (*Morinda citrifolia* L). Tối ưu hóa điều kiện trích ly thân thiện với môi trường làm giàu các hợp chất có hoạt tính sinh học cao trong trái nhàu. Tối ưu hóa được nguyên liệu vỏ kết hợp gum arabic và

maltodextrin, và nhiệt độ sấy phun cho vi bao phù hợp để giữ được cao nhất TPC, TFC và TSC. Xác định được các mô hình đánh giá bột nhào vi bao cũng như khả năng giải phóng và bảo vệ các hoạt chất có hoạt tính sinh học trong các điều kiện khác nhau.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

Trước đây Việt Nam cũng như nhiều quốc gia khác trên thế giới như Campuchia, Philippin, Ấn độ,... đã biết sử dụng nhàu để làm thuốc chữa bệnh ung thư, nhiễm trùng, viêm khớp, tiểu đường, hen suyễn, tăng huyết áp và đau nhức (Whistler, 1992). Các nhóm hợp chất hoạt tính sinh học trong nhàu đã được báo cáo, bao gồm acid, rượu, phenol, saccharide, anthraquinone, carotenoid, este, triterpenes, flavonoid, glycoside, lacton, iridoids, xeton, lignans, nucleoside, sterol,...(Abou Assi & ctv, 2017; Singh, D., 2012). Ngoài ra trái nhàu còn chứa các chất có hoạt tính chống oxy hoá cao, giúp ngăn chặn các gốc tự do trong cơ thể con người như polyphenol, flavonoid, acid ascorbic. Các polyphenol chính bao gồm damnacanthal, scopoletin, morindone và alizarin, aucubin, nordamnacanthal,... góp phần vào các hoạt động dược lý khác nhau (Chan Blanco & ctv, 2006; Kim & ctv, 2017). Vitamin C có trong trái nhàu xay nhuyễn là khoảng 1,13 mg/g trái nhàu, tương ứng với 250% nhu cầu vitamin C hàng ngày được khuyến nghị cho người lớn (West & ctv, 2011).

Theo truyền thống, nước ép trái nhàu được sản xuất bằng cách lên men trái nhàu trong lọ hoặc thùng kín trong khoảng 10 ngày đến 02 tháng. Nước ép lên men sau đó được thanh trùng và đóng chai (Camel, 2001). Bột trái nhàu được sản xuất bằng cách làm khô toàn bộ trái cây hoặc củi trong tủ sấy khô hoặc dưới ánh sáng mặt trời. Tuy nhiên, các hợp chất sinh học có lợi cho sức khỏe cũng sẽ mất đi rất nhiều trong quá trình chế biến. Vì thế, nghiên cứu về trích ly kết hợp vi bao để thu được hàm lượng hợp chất sinh học cao nhất và bảo quản nhàu một cách hợp lý nhất.

1.1 Tổng quan về trái nhàu

1.1.1 Đặc điểm và phạm vi phân bố

Nhàu có tên khoa học là *Morinda citrifolia* L., thường được gọi là Noni, là cây bản địa của các vùng nhiệt đới, có nguồn gốc ở Đông Nam Á (Nelson, 2001). Theo nơi trồng trọt, nhàu còn được gọi là dâu tằm Ấn Độ hoặc “nuna” ở Ấn Độ (Chan-Blanco & ctv, 2006), Mengkudu ở Malaysia (Yahia, 2011) hoặc quả pho mát ở Úc (Ross, 2005). Tên phổ biến nhất của nó là noni và được giới thiệu bởi những người

nhập cư Polynesia khi đến đảo Hawaii vào khoảng 2000 năm trước (Wang, M.-Y. & ctv, 2002).

Vị trí trong hệ thống phân loại thực vật được thể hiện qua Bảng 1.1 (Jarnevich & ctv, 2023). Cây nhàu (*Morinda citrifolia* L.) (Hình 1.1) thuộc họ cà phê (Nelson, 2001; Yahia, 2011) được dân gian dùng trong chữa cao huyết áp, nhức mỏi, đau lưng, quả giúp nhuận tràng, lợi tiểu, chữa đái đường, ho, sốt, kinh nguyệt không đều; lá dùng chữa mụn nhọt, sốt rét, kiết lỵ, đầy hơi, đau bụng. Các nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy gần 200 hợp chất đã

được xác định và tách chiết từ những phần khác nhau của *Morinda citrifolia* (Inada & ctv, 2017; Malik & ctv, 2009; Souza, 2014) và thể hiện nhiều tác dụng như kháng khuẩn, kháng viêm, kháng nấm, kháng oxy hóa, kháng ung thư, giảm đau, điều hòa miễn dịch, làm lành vết thương, các tác dụng trên xương (Nualsanit & ctv, 2012b; Torres & ctv, 2017b; Whistler, 1992)... Nhìn chung, kết

Bảng 1.1 Bảng phân loại nguồn gốc nhàu

| BẬC PHÂN LOẠI | |
|----------------------|------------------------------|
| Giới | Thực vật (Plante) |
| Ngành | Ngọc Lan (Magnoliophyta) |
| Lớp | Ngọc Lan (Magnoliopsida) |
| Bộ | Bộ Cà phê (Rubiales) |
| Họ | Bộ Cà phê (Rubiales) |
| Chi | <i>Morinda</i> |
| Loài | <i>Morinda citrifolia</i> L. |

quả cho thấy lợi ích sức khỏe của cây nhàu do có chứa nhiều hợp chất sinh học có lợi cho sức khỏe con người, có thể kể đến như xanthon, flavonoids, saponin, lactones và polyphenol. Các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào thành phần của các hợp chất sinh học có trong rễ, lá cây nhàu cũng như các hoạt tính dược liệu và thử nghiệm lâm sàng về chống ung thư và kháng viêm của chúng.

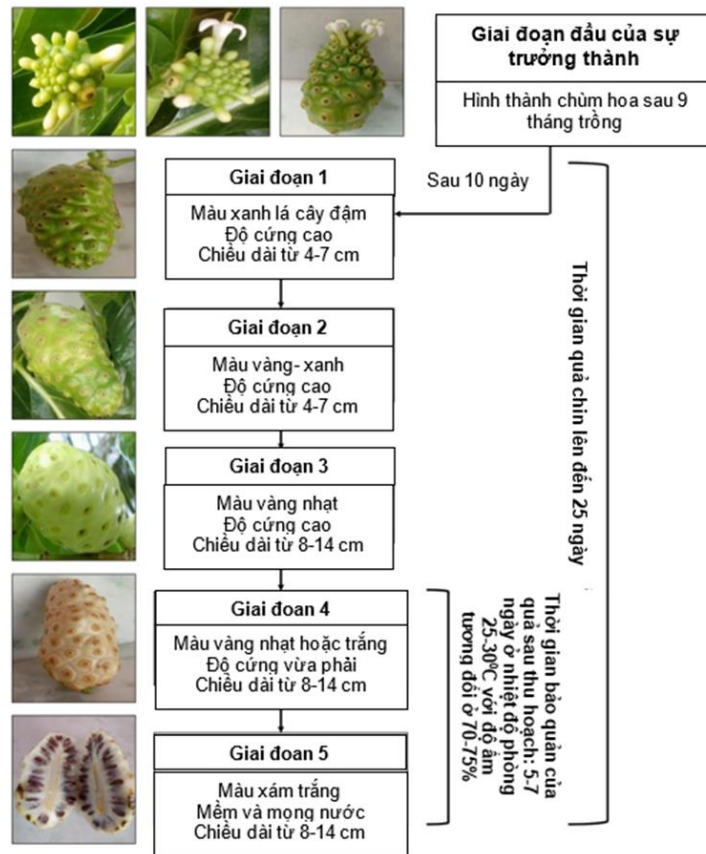
Ở Việt Nam, cây nhàu mọc nhiều ở những vùng ẩm thấp dọc theo bờ sông, bờ suối, ao hồ hoặc nương rạch ở khắp các tỉnh miền Nam hoặc một số tỉnh miền Trung (Wang & ctv, 2002). Một trong những tác dụng chính của trái nhàu là loại bỏ độc tố, tăng khả năng hấp thụ, tiêu hoá do có chứa các chất có dược tính và khoáng chất. Ngoài ra trái nhàu còn chứa các chất có hoạt tính sinh học như chống oxy hoá cao, giúp ngăn chặn các gốc tự do trong cơ thể con người. Hơn nữa, nhiều công bố cho

thấy trái nhàu chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học (hơn 200 hợp chất) có lợi cho sức khỏe con người như anthraglycosid, xanthon, flavonoid, tinh dầu, acid hữu cơ, coumarin, triterpenoid, saponin, polyphenol, và alkaloid (Ezhilarasan & ctv, 2009).



Hình 1.1 Cây nhàu và trái nhàu

Đường cong tăng trưởng của trái cây (Hình 1.2) được thiết lập bằng cách quan sát những thay đổi về kích thước, trọng lượng, khối lượng quả và các đặc điểm khác của ngoại hình (Chan-Blanco & ctv, 2006). Các đường cong tăng trưởng của trái chỉ ra những thay đổi không chỉ ở những đặc điểm không nhìn thấy được mà còn ở những đặc điểm rõ ràng như sự thay đổi thành phần của các thành phần các hợp chất sinh học. Ví dụ, hàm lượng các hợp chất phenolic (TPC) trong quả lựu cao nhất vào ngày thứ 20 sau khi ra hoa, nhưng sau đó hàm lượng này sẽ giảm sau khi ra hoa (Kulkarni & Aradhya, 2005; Mirdehghan & Rahemi, 2007). Trong khi hàm lượng TPC và anthocyanidin của dâu tây tăng lên, thì mức độ chống oxy hóa giảm theo sự phát triển của trái cây (Ferreyra & ctv, 2007).



Hình 1.2 Năm giai đoạn phát triển khác nhau của trái nhàu

Cây nhàu có thể ra quả quanh năm ở vùng nhiệt đới. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa có thông tin đầy đủ để xác định một chỉ số việc thu hoạch (Lin & ctv, 2014). Vì thế cần có nhiều nghiên cứu đánh giá sự thay đổi của các hợp chất sinh học như (polyphenol, flavonoid và saponin) trong quá trình phát triển và bảo quản của trái nhàu. Kết quả đánh giá này đóng vai trò quan trọng nhằm cải thiện chỉ số thu hoạch thương mại và độ chín thích hợp trong sản xuất các sản phẩm từ trái nhàu.

1.1.2 Tổng quan nghiên cứu về công dụng của trái nhàu

Trước đây nhân dân ta cũng như nhiều dân tộc khác trên thế giới như Campuchia, Philippin, Ấn độ,... đã biết sử dụng một số bộ phận cây nhàu để làm thuốc như rễ, quả, lá và vỏ cây. Nó đã được báo cáo có nhiều lợi ích sức khỏe đối với bệnh ung thư, nhiễm trùng, viêm khớp, tiểu đường, hen suyễn, tăng huyết áp và đau nhức (Whistler, 1992).

Trong y học phổ biến, việc sử dụng trái nhàu rộng rãi như một chất bổ sung thực phẩm trong điều trị một số loại ung thư (Torres & ctv, 2017a). Trong bối cảnh đó, các nghiên cứu khoa học về đặc tính chống ung thư của trái nhàu ngày càng tăng, đặc biệt là trong 30 năm trở lại đây. Trong số các thành phần tự nhiên của nhàu, damnacanthal có thể thúc đẩy việc kích hoạt các gen quy định quá trình chết trong các dòng tế bào của người bị ung thư ruột kết (Nualsanit & ctv, 2012a).

Nghiên cứu trên người đầu tiên được thực hiện bởi (Wong & ctv, 2004) ở Hawaii. Tác giả đã nghiên cứu lợi ích của việc sử dụng nước ép nhàu ở bệnh nhân ung thư. Bệnh nhân đã chọn dùng nước ép tự chế hàng ngày trong hai tháng. Sau một tháng, bệnh nhân cải thiện đáng kể tình trạng lâm sàng, ngừng điều trị sau sáu tháng.

Nghiên cứu điển hình thứ hai được phát triển bởi (Issell & ctv, 2009) tại Trung tâm Nghiên cứu Ung thư Hawaii. Trong nghiên cứu này, một thử nghiệm lâm sàng giai đoạn I đã được thực hiện để xác định liều lượng tối đa cho phép của viên nang trái nhàu đông khô (500 mg/ viên) ở bệnh nhân ung thư. Kết quả của các thử nghiệm lâm sàng đã chứng minh rằng điều trị chống lại ung thư thông qua việc uống viên nang nhàu chưa mang lại hiệu quả rõ ràng nào, chỉ giảm mệt mỏi và đau cơ. Tác giả đề xuất một số lượng lớn bệnh nhân điều trị lâm sàng và sử dụng nhàu như một loại thuốc chống ung thư.

Hoạt động diệt khuẩn và diệt nấm

Một nghiên cứu cho thấy rằng việc chiết xuất các hợp chất phenolic từ trái nhàu bằng các dung môi khác nhau (methanol, etyl axetat và hexan) có hoạt tính kháng khuẩn chống lại một số lượng lớn các loài như: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Vibrio harveyi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Salmonella paratyphi A*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholerae*, *Chromobacterium violaceum* và *Enterobacter faecalis*. Kết quả cho thấy khả năng sử dụng chiết xuất từ trái nhàu trong điều trị các bệnh truyền nhiễm và khối u (Jayaraman & ctv, 2008a).

Tương tự, (Babaji & ctv, 2016) cũng phát hiện ra rằng chiết xuất của trái nhàu với natri hypoclorit có hoạt tính kháng khuẩn chống lại *Enterococcus faecalis*. Kết quả chỉ ra rằng chiết xuất từ trái nhàu có tiềm năng sử dụng như một chất kháng khuẩn có nguồn gốc thảo dược.

Về nấm, các nghiên cứu đã chỉ ra rằng nhàu có chứa các thành phần sinh hóa hòa tan trong nước ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất phụ trách về sự chuyển đổi hình thái của nấm *Candida albicans*, do đó trái nhàu có giá trị điều trị tiềm năng chống lại nấm *Candida albicans* (Sunder & ctv, 2012). Tương tự, (Jainkittivong & ctv, 2009) đã chỉ ra rằng chiết xuất đông khô của nước ép trái nhàu có tác dụng ức chế sự phát triển của *C.albicans*.

Hoạt tính chống oxy hóa

Trái nhàu có thể được sử dụng như một nguồn chất chống oxy hóa tự nhiên có giá trị cao (Thoo & ctv, 2013a). Ví dụ, nước ép của trái nhàu Úc cho thấy hoạt tính oxy hóa cao gấp 2,8 lần so với vitamin C và 1,4 lần so với pycnogenol, chất có một số tác dụng chống oxy hóa (Atkinson & ctv, 1956).

Theo (Zin & ctv, 2006a) đã chứng minh rằng chiết xuất thô từ rễ, lá và trái nhàu được phân đoạn trong cột sắc ký với ethanol làm dịch rửa giải cho thấy hoạt tính chống oxy hóa cao trong ferric thiocyanate và các xét nghiệm acid thiobarbituric, được coi là cao khi so sánh với hydroxytoluene butylate. Nghiên cứu này cũng tiết lộ rằng các hợp chất oxy hóa phenolic có trong trái nhàu ức chế quá trình oxy hóa lipoprotein mật độ thấp (LDL), có thể làm giảm nguy cơ ung thư và xơ vữa động mạch.

Trong một nghiên cứu khác, (Gilani & ctv, 2010) đã báo cáo rằng các đặc tính chống oxy hóa có trong dịch chiết ethanolic trong nước của lá, quả và rễ của nhàu có liên quan đến tác dụng chống rối loạn lipid máu ở chuột cống và chuột nhắt trên cả hai giới. Kết quả cho thấy chiết xuất của ba bộ phận trong nhàu làm giảm mức độ chất béo trung tính, cholesterol toàn phần và cũng làm giảm mức LDL và tăng mức độ lipoprotein mật độ cao.

Hoạt tính tái tạo xương và điều trị đau khớp

Tác dụng của chiết xuất methanolic từ trái nhàu đối với chứng loãng xương do cắt buồng trứng ở chuột bạch tạng cái đã được đánh giá cao bởi (Shirwaikar & ctv, 2011). Các kết quả dựa trên các dấu hiệu sinh cơ, sinh hóa và mô bệnh học cho thấy chiết xuất từ trái nhàu thúc đẩy giảm mất xương, bằng chứng là giảm nồng độ phosphatase kháng tartrat và hydroxyproline trong nước tiểu đồng thời tăng quá trình hình thành xương và do đó phục hồi quá trình khoáng hóa xương.

Liên quan đến việc sử dụng nước ép nhàu để điều trị các rối loạn liên quan đến đau khớp, có hai nghiên cứu lâm sàng đáng được đề cập. Theo (Akinbo & ctv, 2006) đã so sánh hiệu quả của nước ép nhàu với các phương thức vật lý trị liệu được lựa chọn trong điều trị đau và cứng cổ ở bệnh nhân thoái hóa đốt sống cổ. Thử nghiệm lâm sàng kéo dài 4 tuần. Kết quả cho thấy ba nhóm điều trị cho thấy cường độ đau giảm đáng kể và cải thiện độ linh hoạt của cổ.

Hoạt tính hạ huyết áp

Một nghiên cứu khác gần đây đã chỉ ra rằng các thành phần hoạt tính sinh học có trong lá và trái nhàu cũng có đặc tính hạ huyết áp. Theo (Wigati & ctv, 2017), sự kết hợp của các hợp chất hoạt tính sinh học rutin và scopoletin được phát hiện trong lá và trái nhàu, bằng cách đánh giá tổng hàm lượng phenolic trong chiết xuất ethanolic của cả hai cấu trúc thực vật, dẫn đến giảm đáng kể lượng áp lực máu ở chuột bị tăng do thuốc dexamethasone gây ra. Mức giảm trung bình của huyết áp tâm thu và tâm trương đạt hơn 25% số lượng chuột lang được sử dụng trong nghiên cứu này.

Một thành phần tích cực khác có trong trái nhàu gần đây được chứng nhận có đặc tính hạ huyết áp là acid iridoide asperulosídico, theo (Murata & ctv, 2014), sự hiện diện của hoạt tính sinh học này trong chiết xuất nước ethanolic của trái nhàu đã góp phần vào việc ức chế sự kết tụ của hồng cầu do polybrene (Hexadimethrine Bromide) và hoạt động thrombin được đánh giá trong mẫu máu của thỏ và chuột đực. Những hoạt tính sinh học được phát hiện này cho thấy trái nhàu là một loại thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao, có khả năng cải thiện lưu lượng máu, cũng góp phần làm giảm huyết áp, rối loạn lipid máu và tiểu đường.

1.1.3 Thành phần hóa học và một số hoạt tính sinh học có trong trái nhàu

Thành phần hóa học của nhàu phân bố đa dạng, rộng khắp các bộ phận khác nhau của cây (lá, quả, rễ, vỏ rễ, hoa, hạt, thân hoặc trong cây nuôi cấy mô) (Chan-Blanco & ctv, 2006). Điều quan trọng là thành phần sinh hóa của các hợp chất này khác nhau hoàn toàn không chỉ theo cấu trúc của thực vật mà còn liên quan đến nơi xuất xứ và thời kỳ thu hoạch (Chan-Blanco & ctv, 2006; Deng & ctv, 2010).

Trái nhàu thuộc nhóm các loại trái cây chứa đầy phân bố các loại chất hóa học rộng nhất với ít nhất 200 chất hóa học thực vật bao gồm các hợp chất phenolic, carbohydrate, acid hữu cơ, rượu, alkaloid, vitamin, tiền chất, lignan, protein, anthraquinone, khoáng chất, este, caroten, sterol thực vật, acid béo và glycoside (Inada & ctv, 2017). Khoảng 100 hợp chất dễ bay hơi đã được xác định trong trái nhàu, bao gồm este của acid béo, monoterpen và acid béo chuỗi ngắn (Pino & ctv, 2010; Potterat & Hamburger, 2007). Các hợp chất dễ bay hơi phổ biến nhất là acid hexanoic và octanoic, cũng như các methyl và etyl este tương ứng của chúng, đây cũng là nguyên nhân tạo ra mùi “xà phòng” và “phô mai ôi thiu” của trái chín (Farine & ctv, 1996). Trong trái nhàu chín, terpen hiện diện với số lượng nhỏ, nhưng chúng góp phần lớn tạo nên hương vị. Những hợp chất này, bao gồm linalool và limonene, có mùi hoa và cam quýt mạnh (Arctander, 1969). Đáng chú ý là các hợp chất dễ bay hơi chứa nitơ không hiện diện trong trái nhàu, ba hợp chất chứa lưu huỳnh (Dimethyl Trisulfide, Dimethyl Disulfide và 3-(Methylthio)-1-Propanol) đã được xác định gần đây (Pino & ctv, 2010).

Polyphenol

Polyphenol được phân thành 3 nhóm chính như sau: flavonoids (Flavones, Flavanones, Flavonols, Flavanonols, Flavan-3-Ols, Isoflavones, Neoflavonoids, Chalcones, Anthocyanidins); Stilbenoids; Phenolic Acids (Benzoic Acids, Hydroxycinnamic Acids) (Papuc & ctv, 2017).

Flavonoid

Flavonoid là một nhóm hợp chất tự nhiên lớn thường gặp trong thực vật, còn gọi là những hợp chất màu phenol thực vật, tạo màu cho nhiều rau, quả, hoa. Phần

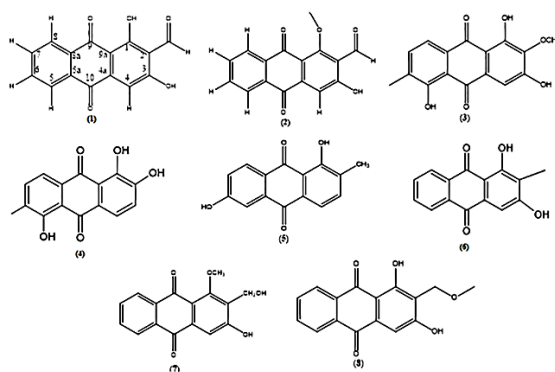
lớn có màu vàng (flavus nghĩa là màu vàng), một số có màu xanh, tím, đỏ, không màu cũng được xếp vào nhóm này vì về mặt hóa học, chúng có cùng bộ khung (Ajila & ctv, 2011). Về mặt hóa học, flavonoid là một chuỗi polyphenolic gồm 15 nguyên tử carbon và 2 vòng benzen, có cấu trúc cơ bản là 1,3-diphenylpropan, nghĩa là 2 vòng benzen A và B nối nhau qua một dây có 3 carbon, nên thường được gọi là C6-C3-C6. Vòng thơm bên trái gọi là vòng A, vòng thơm bên phải gọi là vòng B, vòng trung gian chứa nguyên tử oxy gọi là vòng pyran (Fantini & ctv, 2015).

Flavonoid là chất chống oxy hóa bảo vệ tế bào, ngăn ngừa nguy cơ xơ vữa động mạch, tai biến mạch máu, lão hóa, ung thư, chống dị ứng, chống huyết khối và chống giãn mạch máu (Huntley, 2009). Hoạt tính chống oxy hóa của flavonoid mạnh hơn nhiều so với vitamin C, E, selenium và kẽm. Flavonoid có tác dụng chống co thắt những cơ 2 quan cơ trơn như: túi mật, ống dẫn mật, phế quản và một số cơ quan khác. Nhiều flavonoid thuộc nhóm flavon, flavanon, flavonol có tác dụng thông tiểu rõ rệt.

Acid phenolic

Acid phenolic thuộc loại non-flavonoid, được chia thành hai nhóm chính: acid benzoic và các dẫn xuất acid cinnamic, dựa trên cấu trúc bộ khung carbon tương ứng hydroxybenzoic acid (C1-C6) và hydroxycinnamic (C3-C6). Hydroxybenzoic acid gồm có: acid gallic, p-hydroxybenzoic, protocatechuic, vanillic, acid xyringic. Acid hydroxycinnamic gồm có: acid caffeic, ferulic, p-coumaric, sinapic, ... (Gallardo & ctv, 2006). Acid phenolic trong thực vật có chức năng rất đa dạng như hấp thụ dinh dưỡng, tổng hợp protein, quang hợp ... Acid caffeic ngăn chặn có chọn lọc quá trình sinh tổng hợp leukotrienes, liên quan đến các bệnh điều hòa miễn dịch, hen suyễn và dị ứng (Yasuko & ctv, 1984). Acid caffeic và một số ester của chúng có hoạt tính chống khối u, chống lại chất sinh ung thư ruột kết (Yasuko & ctv, 1984) và hoạt động như chất ức chế virus suy giảm miễn dịch ở người (King & ctv, 1999). Acid chlorogenic có thể ức chế quá trình peroxyd hóa lipid trong gan chuột do carbon tetrachloride - chất gây ung thư gan. Acid caffeic và acid ferulic có thể giải độc các chất chuyển hóa hydrocarbon thơm đa vòng gây ung thư (Huang & ctv, 1996). Stilbene là phytoalexins (C6-C2-C6) có trong thực vật có thể chống lại mầm bệnh,

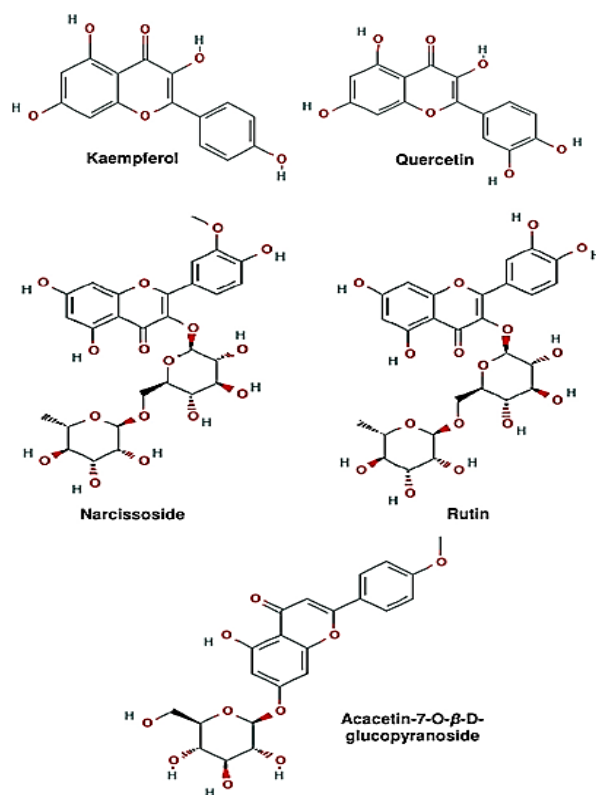
các tổn thương gây ra ở người. Thành phần chính stilbene là resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) có khả năng chống oxy hóa, chống viêm, chống ung thư và chống lão hóa (Crozier & ctv, 2009). Ligand thực vật là một trong nhiều loại phytoestrogen, có hiệu quả như chất chống oxy hóa, giảm nguy cơ ung thư và các bệnh tim mạch (Vanharanta & ctv, 1999). Các polyphenol khác: đại diện chính là curcumin (1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) có trong củ nghệ, có hoạt tính kháng u, 3 chống viêm, chống oxy hóa, điều hòa miễn dịch và kháng khuẩn ở loài gặm nhấm và con người (Masuelli & ctv, 2013).



Hình 1.3 Một số hợp chất phenolic có trong trái nhàu (1) nordamnacanthol, (2) damnacanthol, (3) 1,3,5-dihydroxy-2-methoxy-6-methyl anthraquinone, (4) morindone, (5) sorendidiol, (6) rubiadin, (7) damnacanthol, (8) lucidin- ω -methylether

Các chất chuyển hóa thứ cấp chính trong trái nhàu là phenolic, anthraquinone và flavonoid, tất cả đều đóng vai trò chính trong các đặc tính trị liệu của nhàu. Các hợp chất chống viêm chính trong trái nhàu là scopoletin, quercetin và acid ursolic (Yu & ctv, 2008). Scopoletin đã được chứng minh là có đặc tính giảm đau và chống viêm (Levand & Larson, 1979; Yu & ctv, 2008). Neolignan, americanin A, 3,3'-bisdemethyl pinoresinol, morindolin và isoprincepin đã được chứng minh là các hợp chất chống oxy hóa mạnh trong một thử nghiệm dựa trên quá trình oxy hóa do đồng gây ra đối với lipoprotein tỷ trọng thấp (Kamiya & ctv, 2004; Su & ctv, 2005). Các iridoid trong trái nhàu đã được chứng minh là có khả năng chống nhiễm độc gen mà

không gây độc tính trong thử nghiệm *in vivo*. Hoạt tính chống độc tố gen có thể là do acid deacetylasperulosidic, một trong những hợp chất hoạt tính sinh học chính trong trái cây (West & ctv, 2011). Đã có báo cáo cho rằng acid deacetylasperulosidic được tinh chế từ nước ép trái nhàu làm giảm hàm lượng malondialdehyd và tăng hoạt tính của enzyme superoxide dismutase trong cơ thể mà không ảnh hưởng đến hoạt tính của enzyme glutathione peroxidase trong huyết thanh (Ma & ctv, 2007).



Hình 1.4 Cấu trúc hóa học của các flavonoid chính được xác định trong trái nhàu (Almeida & ctv, 2019)

Các hợp chất có hoạt tính sinh học quan trọng khác có trong trái nhàu như rutin, β -sitosterol, asperuloside và acid ursolic (Pawlus & Kinghorn, 2007; Potterat & Hamburger, 2007; Wang, M.-Y. & ctv, 2002). Hai flavonoid (kaempferol và quercetin) và một loại lignin được phân lập từ trái nhàu ức chế mạnh enzyme monoamine oxidase A và B (MAO-A và B) và cho thấy hoạt tính chống trầm cảm (Deng & ctv, 2011). Hai flavonoid khác trong trái cây, catechin và epicatechin, đã được chứng minh là có hoạt tính chống oxy hóa (Zin & ctv, 2006b). Mười ba hợp

chất được phân lập từ trái Noni, bao gồm các glycoside của iridoid, hemiterpene, và acid béo, cho thấy các hoạt động ức chế sự hình thành hắc tố trong một thử nghiệm *in vivo*, dẫn đến giảm 34% – 49% hắc tố da (Akihisa & ctv, 2010).

Hoạt tính kháng viêm của Polyphenol

Polyphenol là những chất chuyển hóa thứ cấp do thực vật tự sản xuất để bảo vệ trước sự tấn công của các sinh vật khác dựa trên đặc tính kháng khuẩn và kháng dinh dưỡng. Sử dụng nhiều thực phẩm giàu polyphenol như trái cây, rau, quả và ngũ cốc nguyên cám sẽ giảm các nguy cơ về bệnh mạn tính như tim mạch, ung thư, tiểu đường,... (Mierziak & ctv, 2014).

Hoạt tính kháng oxy hóa của polyphenol

Hoạt tính sinh học của các hợp chất phenolic gồm loại bỏ các gốc tự do, ức chế quá trình oxy hóa lipid, giảm sự hình thành hydroperoxide (Sato & ctv, 1996).

Hoạt tính chống ung thư

Nhiều polyphenol như proanthocyanidins, flavonoid, resveratrol, tannin, epigallocatechin-3-gallate, acid gallic và anthocyanin có tác dụng chống ung thư ở dạ dày, tá tràng, ruột kết, gan, phổi, tuyến vú hoặc da (Scalbert & ctv, 2005). Proanthocyanidins có khả năng chống ung thư vú và ức chế di căn ung thư (Mantena & ctv, 2006). Anthocyanin giảm sự suy giãn tĩnh mạch và hình thành khối u máu (Bagchi & ctv, 2004). Resveratrol, epigallocatechin-3-gallate chống ung thư tuyến tiền liệt, gây chết các tế bào khối u (Landis-Piwowar & ctv, 2007). Acid gallic, flavone có khả năng ngăn chặn hình thành ung thư ruột bằng cách ức chế DNA (Giftson & ctv, 2010).

Hoạt tính chống viêm

Resveratrol có trong nho có đặc tính chống viêm, giảm viêm, ngăn chặn các cytokine tiền viêm và ngăn chặn gen có khả năng gây viêm mãn tính (Chuang & McIntosh, 2011).

Hoạt tính kháng khuẩn của polyphenol

Polyphenol có khả năng kháng khuẩn, kháng nấm và kháng virus. Các nhóm hợp chất như flavan-3-ols, flavanol, tanins có tính kháng khuẩn cao do ức chế sự hình

thành màng tế bào sinh học, trung hòa độc tố vi khuẩn. Hoạt tính kháng khuẩn của 4 polyphenol được ứng dụng nhiều trong bảo quản thực phẩm, chữa bệnh nhằm hạn chế sử dụng chất bảo quản hóa học và kháng sinh tổng hợp (Daglia, 2012).

Bảng 1.2 Một số hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu

| STT | Hợp chất | Phân nhóm | Hoạt tính | Nguồn |
|-----|---|--------------------|--|---|
| 1 | Octanoic (caprylic) acid | Acid béo | Kháng nấm | (Dittmar, 1993; Jayaraman & ctv, 2008b; Liu, G. & ctv, 2001; Mohd Zin & ctv, 2007; Wang, M.-Y. & ctv, 2002; Wang, M. & ctv, 1999; Zhang, H.-C. & ctv, 2014) |
| 2 | Hexanoic acid | | Kháng nấm, kháng oxy hóa | |
| 3 | Caproic acid | | Kháng nấm | |
| 4 | Vitamin C | Vitamin | Kháng oxy hóa | (West & ctv, 2011; Zin & ctv, 2006a) |
| 5 | Vitamin E | | Dinh dưỡng | |
| 6 | Niacin | | Dinh dưỡng | |
| 7 | Manganese, Selenium | Nguyên tố vi lượng | Dinh dưỡng | (West & ctv, 2011; Zin & ctv, 2006a) |
| 8 | Asperulosidic acid | Iridoid | Kháng khuẩn | (West & ctv, 2016) |
| 9 | Quercetin | Flavonoid | Chống viêm, ức chế enzyme lipoxygenase | (Deng & ctv, 2007; Liu & ctv, 2001; Morton, 1992; Sang & ctv, 2002; Yu, 2004) |
| 10 | 2,6-di-O-(beta-D-glucopyranosyl)-1-O-octanoyl-beta -D-glucopyranose | Este acid béo | Ức chế melanogen, chống oxy hóa | (Jayaraman & ctv, 2008; Kamiya & ctv, 2010; Lin & ctv, 2013) |
| 11 | (6-O-(beta-D-glucopyranosyl)-1- O-octanoyl-beta-D-glucopyranose | | | (Akihisa & ctv, 2012; Liu & ctv, 2001; Wang & ctv, 1999; Zhang, H.-C.& ctv, 2014) |
| 12 | Damnacanthal | Anthraquinone | Kháng ung thư | (Chan Blanco & ctv, 2006; Kamiya & ctv, 2004) |
| 13 | Americanin A | Lignan | Kháng oxy hóa | (Su & ctv, 2005) |

Tuy nhiên, trái nhàu chứa hàm lượng cao các hợp chất nhạy cảm với các yếu tố môi trường (nhiệt độ, ánh sáng, nước, pH,...) như các hợp chất phenolic, protein cũng như hàm lượng chất xơ cao dẫn đến thực trạng sản lượng nước ép trái cây thấp và lượng chất dinh dưỡng bị hao hụt trong quá trình giải phóng. Bên cạnh đó, quá trình chế biến và bảo quản cũng ảnh hưởng rất lớn đến các hợp chất sinh học có trong trái nhàu. Do đó, các phương pháp tiền xử lý khác nhau trong chiết xuất nước ép trái nhàu

cần được nghiên cứu sử dụng để cải thiện sản lượng nước trái cây và hàm lượng các thành phần hoạt tính sinh học.

1.2 Tổng quan về phương pháp trích ly

Phương pháp trích ly đóng một vai trò quan trọng để đảm bảo chất lượng của dịch chiết thu được. Gần đây, nhiều báo cáo cho thấy các kỹ thuật trích ly kết hợp các phương pháp trích ly tiên tiến được phát triển nhằm trích ly các hợp chất hoạt tính sinh học từ thực vật do hiệu quả trích ly tăng lên, độ tinh khiết cao, thời gian trích ly ngắn hơn, chi phí sản xuất thấp hơn, sử dụng ít dung môi và tiêu thụ ít năng lượng hơn. Điều quan trọng là, các kỹ thuật trích ly kết hợp tạo ra các hợp chất nhạy cảm với nhiệt ít bị phân hủy hơn và các hoạt tính sinh học của dịch trích ly được bảo tồn (Agnihotri & ctv, 2020). Mỗi kỹ thuật trích ly, khi được áp dụng riêng lẻ, đều có những ưu điểm cũng như hạn chế nhất định, bao gồm năng suất thấp hoặc giảm hoạt tính sinh học. Tuy nhiên, hiệu quả trích ly cao hơn sẽ đạt được khi chúng được kết hợp với nhau như cải thiện hiệu suất trích ly, đồng thời hoạt tính sinh học và chất lượng của dịch trích được cải thiện đáng kể. Cụ thể, sự kết hợp giữa enzyme và sóng siêu âm có thể khắc phục được những nhược điểm của cả hai phương pháp riêng lẻ và làm cho quá trình trích ly kinh tế và thân thiện với môi trường (Choudhury & ctv, 2021a).

Điều này là do dịch trích ly với sự hỗ trợ của enzyme giúp phá vỡ màng tế bào và dung môi thâm nhập, trong khi sóng siêu âm hỗ trợ trong việc cải thiện hiệu suất và rút ngắn thời gian trích ly. Trước khi chiết xuất bằng enzyme, tiền xử lý bằng sóng siêu âm có thể được áp dụng để làm phá vỡ thành tế bào của nguyên liệu thực vật. Sau đó, trong quá trình trích ly bằng enzyme, như pectinase và cellulase cũng có thể hỗ trợ quá trình phá vỡ thành tế bào (Li, X. & ctv, 2021). Do đó, cải thiện hiệu suất và thời gian trích ly đáng kể. Ví dụ, Wang & ctv (2021) báo cáo rằng ứng dụng kết hợp enzyme và sóng siêu âm đã được sử dụng thành công để chiết xuất polyphenol từ chanh dây (Wang, W. & ctv, 2021). Kết quả cho thấy phương pháp kết hợp là hiệu quả hơn so với phương pháp trích ly đơn lẻ và trích ly bằng Soxhlet, cụ thể hàm lượng polyphenol thu được cao hơn 1,5-2 lần. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu chỉ tập

trung vào rế nhàu (Li, J. & ctv, 2020) chỉ sử dụng các kỹ thuật trích ly tiên tiến riêng lẻ như trích ly có hỗ trợ bằng sóng siêu âm, trích ly bằng nước nóng và trích ly có hỗ trợ xung điện trường. Các nghiên cứu về sự kết hợp giữa siêu âm và enzyme còn rất hạn chế, vì thế thực hiện các điều kiện trích ly với sự hỗ trợ của enzyme nhằm trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu được xử lý trước bằng siêu âm là cần thiết.

Trong kỹ thuật trích ly bằng enzyme, enzyme được sử dụng để thủy phân thành tế bào thực vật. Một số chất có hoạt tính sinh học từ thực vật được phân tán trong tế bào chất của tế bào, và một số hợp chất được liên kết trong mạng polysaccharide-lignin bằng liên kết hydro hoặc tương tác kỵ nước, không thể tiếp cận với dung môi trong quy trình chiết xuất thông thường. Xử lý bằng enzyme đã được coi là một phương pháp tiên tiến và hiệu quả để giải phóng các hợp chất có hoạt tính sinh học từ các phức hợp trên, vì thế làm tăng hiệu suất trích ly. Enzyme phổ biến được sử dụng như cellulase và pectinase trong quá trình trích ly giúp tăng hiệu suất trích ly bằng cách phá vỡ thành tế bào và thủy phân các liên kết với các polysaccharide và lipid (Rosenthal & ctv, 1996).

Có nhiều yếu tố khác nhau như loại enzyme và nồng độ, kích thước của nguyên liệu thực vật, tỷ lệ nước so với chất rắn, nhiệt độ và thời gian thủy phân là những yếu tố quan trọng để tăng hiệu quả trích ly (Azmir & ctv, 2013). Tùy thuộc vào cấu trúc của nguyên liệu, một số yếu tố quan trọng cần được nghiên cứu. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là xác định các điều kiện chiết xuất enzyme, bao gồm nồng độ enzyme, tỷ lệ nước và bột, nhiệt độ và thời gian, tối ưu nhằm trích ly tối đa các hợp chất có hoạt tính sinh học (polyphenol, flavonoid, saponin và vitamin C) từ trái nhàu đã được xử lý trước bằng sóng siêu âm. Việc kết hợp lợi điểm của các phương pháp công nghệ trong nội dung nghiên cứu trích ly này nhằm hướng đến mục đích ứng dụng vì bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong nội dung nghiên cứu kế tiếp của luận án này.

1.2.1 Các phương pháp trích ly

Các hợp chất có hoạt tính sinh học từ thực vật có thể trích ly bằng các phương pháp cổ điển, phần lớn là dựa trên khả năng chiết xuất của dung môi kết hợp với các yếu tố như: nhiệt độ, thời gian... điển hình phương pháp này là trích ly soxhlet, trích ly lỏng - lỏng có áp lực (Azmir & ctv, 2013) có sử dụng các dung môi hóa học. Tuy nhiên, cần các nghiên cứu để phát triển hơn nữa hiệu quả trích ly, và khắc phục một số vấn đề còn tồn đọng như: rút ngắn thời gian trích ly hơn nữa, độ chọn lọc trích ly, dung môi phải có độ tinh khiết cao và thân thiện môi trường. Do đó, các phương pháp trích ly cải tiến như trích ly có hỗ trợ siêu âm, vi sóng, enzyme đa số sử dụng nước là dung môi đã khắc phục được các hạn chế của trích ly cổ điển, và an toàn với môi trường do tuân thủ các tiêu chuẩn hiện hành của các cơ quan môi trường toàn cầu và cơ quan quản lý (Wong-Paz & ctv, 2017).

1.2.1.1 Trích ly rắn-lỏng với sự hỗ trợ của enzyme thủy phân

Chiết xuất thông thường có thể làm hỏng hoạt tính của các chất chống oxy hóa phenolic, có thể nhạy cảm với các dung môi cụ thể hoặc nhiệt độ cao. Sử dụng enzyme trong quá trình trích ly các hợp chất sinh học từ các loại nguyên liệu thực vật đã được nghiên cứu và cho thấy hiệu quả trích ly cải thiện đáng kể. Việc áp dụng các enzyme thương mại chi phí thấp được sử dụng trong công nghiệp thực phẩm để phân hủy các thành phần chính của thành tế bào thực vật có thể cải thiện hiệu suất chiết xuất của các hợp chất phenolic mà không cần sử dụng các điều kiện biến tính và do đó bảo toàn hoạt tính chống oxy hóa của chúng. Các hợp chất sinh học trong mạng lưới tế bào thực vật được phân tán trong tế bào chất và một số hợp chất nằm ở mạng lưới polysaccharide và lignin bởi liên kết hydrogen hoặc liên kết kỵ nước. Điều này làm cho các dung môi rất khó khuếch tán vào trong mạng lưới, làm cho hiệu suất trích ly thấp. Nhiều công trình công bố cho thấy trích ly với sự hỗ trợ của enzyme có hiệu quả trong việc cắt các liên kết này, giải phóng các hợp chất sinh học ra khỏi mạng lưới, dẫn đến tăng hiệu suất trích ly. Sử dụng các enzyme đặc hiệu như cellulase, α -amylase và pectinase trong quá trình trích ly đã nâng cao hiệu quả trích ly bằng cách phá vỡ vách tế bào, thủy phân cấu trúc polysaccharide. Để đạt được hiệu quả trong quá trình

trích ly, các yếu tố quan trọng ảnh hưởng cần được nghiên cứu bao gồm: nồng độ enzyme sử dụng, kích thước nguyên liệu, tỷ lệ cơ chất so với nước và thời gian thủy phân. Tuy nhiên, tiền xử lý bằng enzyme thường tốn nhiều vật lực và thời gian.

Trích ly các hợp chất sinh học với sự hỗ trợ của enzyme được biết là phương pháp thân thiện với môi trường bởi vì dung môi sử dụng chủ yếu là nước thay vì các dung môi độc hại (Puri & ctv, 2012). Ví dụ, sử dụng enzyme trong trích ly hàm lượng polyphenol từ bã nho trong quá trình sản xuất rượu đã được báo cáo là rất hiệu quả bởi tác giả Meyer & ctv (1998). Đồng thời, nhóm tác giả cũng đã chứng minh mối tương quan giữa hiệu suất trích ly và mức độ phá vỡ tế bào của enzyme (Meyer & ctv 1998). Tương tự, tác giả và cộng sự cũng cho thấy hiệu quả sử dụng các loại enzyme (cellulase, pectinase) trong trích ly polyphenol từ nguyên liệu thực vật (Gómez-García & ctv, 2012). Trong nghiên cứu của (Kim & ctv, 2017) cho thấy hàm lượng polyphenol trong dịch trích trái nhàu đã tăng lên đáng kể khi xử lý bằng enzyme (pectinase và cellulase).

Từ các nghiên cứu trên, có thể thấy trích ly với sự hỗ trợ của enzyme là một trong những phương pháp hiệu quả trong trích ly các hợp chất sinh học. Để đánh giá tính hiệu quả trong quá trình trích ly các hợp chất sinh học có trong trái nhàu, loại enzyme, nồng độ, nhiệt độ và thời gian thủy phân,... cần được nghiên cứu.

Với nồng độ enzyme 2% (cellulase, pectinase và hỗn hợp cellulase/pectinase) hỗ trợ trích ly polyphenol từ vỏ táo trong 12 giờ dịch chiết thu được có hàm lượng polyphenol tổng (mg/mL) lần lượt là $0,30 \pm 0,02$; $0,16 \pm 0,01$; $0,33 \pm 0,02$ ở 30°C ; $0,34 \pm 0,01$; $0,19 \pm 0,01$; $0,35 \pm 0,02$ ở 40°C và $0,34 \pm 0,01$; $0,22 \pm 0,01$ và $0,38 \pm 0,02$ ở 50°C . Kết quả cho thấy enzyme cellulase có kết quả cao hơn pectinase và hỗn hợp enzyme pectinase và cellulase dịch chiết có hàm lượng polyphenol cao nhất (Park & Kim, 2009). Sử dụng enzyme thương mại (celluclast 1,5L, pectinex ultra và novoferm) thủy phân bã nho để thu được dịch chiết giàu phenolic. Hoạt tính chống oxy hóa lần lượt là $86,8 \pm 0,81$; $82,9 \pm 0,31$ và $90 \pm 0,37\%$ sau 12 giờ đối với celluclast 1,5 L, pectinex ultra và novoferm ở nồng độ enzyme pha loãng 1/10 (v/v) so với nguyên liệu (Gómez-García & ctv, 2012).

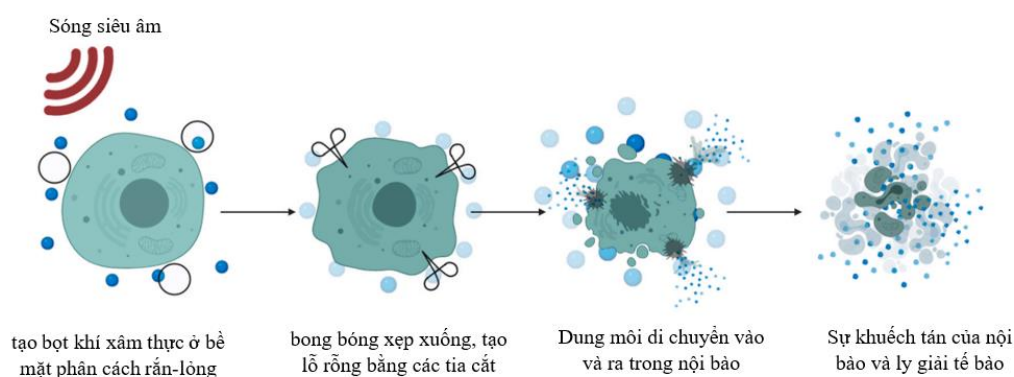
1.2.1.2 Trích ly với sự hỗ trợ của sóng siêu âm

Các phương pháp tiền xử lý có vai trò quan trọng để hỗ trợ phá vỡ cấu trúc tế bào và tăng tính thấm của thành hoặc màng tế bào. Chiết xuất hỗ trợ bằng sóng siêu âm đã được áp dụng rộng rãi trong ba thập kỷ qua như một phương pháp chiết xuất hiệu quả trong ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm (Esclapez & ctv, 2011). Đánh giá cho thấy rằng công nghệ trích ly có hỗ trợ bằng sóng siêu âm có thể tăng cường khả năng chiết xuất các thành phần như polyphenol, anthocyanin, hợp chất thơm, polysaccharid, dầu và các hợp chất chức năng khi được sử dụng như một bước tiền xử lý trong một quy trình sản xuất (Vilkhu & ctv, 2008).

Sự lan truyền của siêu âm trong các hệ thống chất lỏng là thông qua một loạt các sóng nén và kéo tạo ra các bong bóng tạo bọt trong chất lỏng (Chemat & Khan, 2011; Soria & Villamiel, 2010). Kích thước của những bong bóng này phát triển trong khoảng thời gian vài chu kỳ cho đến khi đạt đến điểm tới hạn, sau đó những bong bóng này xẹp xuống và giải phóng một lượng lớn năng lượng, tạo ra nhiệt độ cực cao (5000K) và áp suất (1000 atm) ở nhiệt độ phòng. Trong quá trình siêu âm hỗ trợ chiết xuất các thành phần hoạt tính sinh học từ nguyên liệu thực vật, nhiệt độ và áp suất cao sẽ phá hủy thành tế bào, tạo điều kiện giải phóng các hợp chất hoạt tính sinh học từ thành tế bào thực vật và tăng cường quá trình truyền khối. Sự truyền nhiệt của sóng siêu âm là từ bên ngoài tế bào thực vật vào bên trong, theo hướng ngược lại của quá trình chiết xuất có hỗ trợ vi sóng (Xu & ctv, 2017). Có hai loại siêu âm: (i) với tần số thấp (20 đến 100 kHz) và cường độ cao (10 đến 1000W/cm²), thường được sử dụng để nhũ hóa và chiết xuất các hợp chất hữu cơ và hoạt tính sinh học; và (ii) với tần số cao (200 kHz đến 10 MHz) và cường độ thấp (dưới 1W/cm²), có thể được sử dụng để khử ion kim loại và oxy hóa các chất ô nhiễm hữu cơ (Hirazumi & Furusawa, 1999). Độ ẩm của mẫu, mức độ nghiền, kích thước hạt và dung môi là những yếu tố rất quan trọng để thu được hiệu quả và hiệu quả chiết xuất. Hơn nữa, nhiệt độ, tần số áp suất và thời gian của sóng siêu âm là những yếu tố chi phối hoạt động của sóng siêu âm.

Chiết xuất bằng sóng siêu âm là một phương pháp sạch, tránh sử dụng một lượng lớn dung môi và cắt giảm thời gian trích ly. Người ta đã chú ý nhiều đến việc áp dụng

sóng siêu âm để chiết xuất các sản phẩm tự nhiên thường cần nhiều giờ hoặc nhiều ngày để hoàn thành bằng các phương pháp thông thường. Sử dụng sóng siêu âm, việc chiết xuất đầy đủ giờ đây có thể được hoàn thành trong vài phút với khả năng tái tạo cao, giảm tiêu thụ dung môi, đơn giản hóa thao tác và mang lại độ tinh khiết cao hơn của sản phẩm cuối cùng, loại bỏ nước thải sau xử lý và chỉ tiêu thụ một phần nhỏ năng lượng hóa thạch thường cần thiết so với một phương pháp chiết xuất thông thường. Ngoài ra, sóng siêu âm không bị hạn chế bởi dung môi và loại chất nền được sử dụng, hoặc bởi độ ẩm. Kết quả là, sử dụng sóng siêu âm trong chiết xuất thực vật có lợi trong việc tăng chuyển khối, thâm nhập dung môi tốt hơn, ít phụ thuộc vào dung môi sử dụng hơn, chiết xuất ở nhiệt độ thấp hơn, tốc độ chiết xuất nhanh hơn và hiệu suất cao hơn (Vinatoru, 2001).



Hình 1.5 Sơ đồ quá trình ly giải tế bào do bọt xâm thực của sóng siêu âm (Perera & Alzahrani, 2021)

Tuy nhiên, một số học giả đã nhận thấy rằng siêu âm trong thời gian dài hoặc công suất siêu âm quá cao có thể gây ra tác dụng ngược đối với việc duy trì các hợp chất hoạt tính sinh học và khả năng chống oxy hóa (Delgado-Povedano & De Castro, 2015). Năm 2004, nghiên cứu của hai tác giả Herrera và Castro đã cho thấy các hợp chất phenolic như rutin, naringin, naringenin, quercetin, ellagic acid và kaempferol đã được trích ly hiệu quả khi sử dụng sóng siêu âm (Herrera & Luque de Castro, 2004). Trong nghiên cứu của Li và cộng sự, ba phương pháp chiết xuất đã được áp dụng để chiết xuất các polysaccharides từ trái nhàu bao gồm chiết xuất bằng nước

nóng, chiết xuất bằng điện trường xung và chiết xuất bằng sóng siêu âm. Trong đó, sóng siêu âm có năng suất chiết xuất cao nhất, trọng lượng phân tử nhỏ nhất và các hoạt động chống oxy hóa tốt nhất.

Có thể nhận thấy, để nâng cao hiệu quả trích ly các hợp chất sinh học từ nguyên liệu thực vật (bao gồm trái nhàu), các điều kiện trích ly như kích thước nguyên liệu, nhiệt độ, áp suất, tần số, và thời gian siêu âm,... cần được nghiên cứu (Azmir & ctv, 2013).

1.2.1.3 Trích ly kết hợp giữa enzyme và sóng siêu âm

Một số hợp chất có thể khó chiết xuất và sự kết hợp của hai kỹ thuật chiết xuất có thể là cần thiết, cụ thể là chiết xuất với sự hỗ trợ của siêu âm, sau đó là dùng enzyme để thủy phân. Chiết xuất bằng enzyme hỗ trợ bằng sóng siêu âm (UAE) được xác nhận là một công nghệ chiết xuất mới với những ưu điểm chính là nâng cao năng suất chiết xuất và các hoạt động sinh lý của các chất chiết xuất từ các loại thực vật khác nhau. Các nghiên cứu về phương pháp này đã được áp dụng để thu được sản lượng cao nhất về hàm lượng phenolic, hoạt động chống oxy hóa và kháng u mạnh.

Năm 2018, tác giả Yumna & ctv (2018) đã trích ly các hoạt chất Phytosterols trong lá của cây Keji beling bằng cách sử dụng phương pháp enzyme kết hợp với sóng siêu âm cho thấy năng suất chiết xuất tối đa thu được từ lá Keji Beling là 48,63% (lượng enzyme cellulase bổ sung là 70 mg/g và nồng độ ethanol là 50%, kích thước mắt lưới $\leq 0,585$ mm, thủy phân trong 2 giờ ở pH 4-6, tỷ lệ lỏng - rắn là 20:1, thời gian siêu âm là 60 phút và nhiệt độ chiết là 30°C).

Trong phương pháp chiết xuất bằng enzyme có hỗ trợ siêu âm, hiệu quả của quá trình chiết xuất bị ảnh hưởng bởi nhiều thông số như loại và nồng độ của enzyme, thành phần dung môi, tỷ lệ dung môi và chất rắn, nhiệt độ chiết và thời gian chiết. Vì vậy, việc tối ưu hóa các thông số này là rất quan trọng để cải thiện năng suất.

1.2.1.4 Một số phương pháp trích ly khác

Các đặc tính vật lý của các mô sinh học (màng tế bào và các bào quan) bị biến đổi do áp suất sinh ra bên trong vật liệu. Màng tế bào bị vỡ, các hợp chất có hoạt tính

sinh học từ tế bào bị vỡ được giải phóng vào môi trường. Sự xâm nhập của dung môi chiết qua chất nền sinh học xốp được tạo điều kiện thuận lợi. Do đó, năng suất chiết xuất của các hợp chất mong muốn có thể được tăng lên. Ngoài ra, việc sử dụng chiết xuất này cũng mang lại một số lợi ích như sử dụng ít dung môi hữu cơ hơn, giảm thời gian xử lý và gia nhiệt đồng đều (Azmir & ctv, 2013; Uquiche & ctv, 2008). Năm 2020, Jamaludin và cộng sự đã thực hiện chiết xuất các hợp chất sinh học trong trái nhàu bằng áp suất thủy tĩnh cao sử dụng ethanol làm dung môi trích ly. Kết quả thu được cho thấy năng suất chiết tăng lên, rút ngắn thời gian chiết và giảm tiêu thụ dung môi ở nhiệt độ phòng (Jamaludin & ctv, 2020).

Phương pháp chiết xuất siêu tới hạn: Chất lỏng được sử dụng trong quá trình chiết xuất này ở trạng thái siêu tới hạn, có áp suất và nhiệt độ cao hơn giá trị tới hạn của chúng. Ở trạng thái này, các đặc tính riêng biệt của chất lỏng siêu tới hạn như tỷ trọng, độ nhớt và độ khuếch tán là trung gian giữa chất khí và chất lỏng (Camel, 2001). Điều quan trọng là, mật độ, mức độ hòa tan của chất lỏng, có thể được điều chỉnh bằng cách thay đổi cả nhiệt độ và áp suất của chất lỏng. Do đó, những đặc tính này mang lại một số lợi thế bao gồm thời gian chiết xuất ngắn hơn, năng suất chiết xuất cao hơn và lưu giữ tốt hơn các hợp chất dinh dưỡng và hoạt tính sinh học có giá trị (Herrero & ctv, 2006). Tuy nhiên chi phí đầu tư thiết bị cho các phương pháp trên khá cao cũng là vấn đề cân nhắc khi đưa vào ứng dụng trong công nghiệp.

1.2.2 Các nghiên cứu về phương pháp trích ly trên đối tượng cây nhàu

Kể từ năm 1996 đến nay, theo kết quả tìm kiếm và tổng hợp tài liệu từ Scopus, có khoảng 368 báo cáo đã được xuất bản về các thành phần có liên quan đến cây nhàu (rễ, thân, lá và quả).

Trước đó, các phương pháp trích ly truyền thống bằng dung môi được sử dụng khá phổ biến trong nghiên cứu các hợp chất sinh học trong trái nhàu, như trong nghiên cứu của Muenmuang và cộng sự, ba loại dung môi (methanol, ethanol và hexan) được chọn cho các thí nghiệm chiết xuất các hợp chất sinh học trong trái nhàu. Kết quả cho thấy dung môi methanol và ethanol có năng suất chiết xuất cao vì những dung môi này có thể chiết cả hợp chất phân cực và không phân cực (Muenmuang & ctv, 2017).

Tuy nhiên, sản phẩm sau khi chiết xuất phải trải qua thêm công đoạn khử dung môi gây ảnh hưởng không tốt đến chất lượng dịch sau trích.

Một nghiên cứu của Thoo & ctv (2010) về sử dụng dung môi là ethanol và khảo sát ảnh hưởng của nồng độ ethanol (0-100%, v/v), thời gian chiết (20-120 phút) và nhiệt độ chiết (25- 65⁰C) đối với việc chiết xuất các chất chống oxy hóa phenolic từ trái nhàu. Kết quả nghiên cứu cho ra điều kiện tối ưu hóa là 40% ethanol trong 80 phút ở 65⁰C.

Các phương pháp tiền xử lý quan trọng để hỗ trợ phá vỡ cấu trúc tế bào và tăng tính thấm của thành hoặc màng tế bào. Về phương pháp sử dụng sóng siêu âm trong trích ly cũng đã có nhiều nghiên cứu áp dụng. Trong nghiên cứu của Li, J. & ctv (2020) về đặc tính hóa lý, hoạt động chống oxy hóa và khả năng chống tăng sinh của polysaccharid từ trái nhàu qua ba phương pháp trích ly bao gồm chiết xuất bằng nước nóng, chiết xuất bằng điện trường xung và chiết xuất có sự hỗ trợ của siêu âm. Kết quả cho thấy chiết xuất có sự hỗ trợ của sóng siêu âm có năng suất chiết xuất cao nhất, trọng lượng phân tử nhỏ nhất và các hoạt động chống oxy hóa tốt nhất cũng như khả năng chống tăng sinh tuyệt vời.

Trong nghiên cứu mới nhất của Buanasari & ctv (2021) đã tiến hành trích ly các hợp chất sinh học trong lá nhàu sử dụng phương pháp chiết xuất hỗ trợ siêu âm với 50% V ethanol trong 60 phút. Kết quả cho thấy năng suất cao nhất thu được khi chiết với tỷ lệ chất rắn - dung môi là 1:40 g/mL, ở nhiệt độ chiết 55⁰C là 32,29 ± 0,066%. Hàm lượng flavonoid cao nhất, hàm lượng phenol và hoạt động thu gom DPPH (97,65 ± 0,912%) thu được trong quá trình chiết với dung môi chất rắn tỷ lệ 1:30 g/mL ở nhiệt độ chiết 25⁰C. Tác giả nhận định rằng việc sử dụng phương pháp chiết xuất hỗ trợ bằng sóng siêu âm bằng cách chọn các điều kiện vận hành tối ưu làm tăng đáng kể lượng hấp thụ hợp chất hoạt tính cần thiết.

Ngoài ra, trong nghiên cứu của Jamaludin & ctv (2020) đã thực hiện chiết xuất các hợp chất sinh học trong trái nhàu bằng áp suất thủy tĩnh cao sử dụng ethanol làm dung môi trích ly. Kết quả thu được cho thấy năng suất chiết tăng lên, rút ngắn thời

gian chiết và giảm tiêu thụ dung môi ở nhiệt độ phòng. Tuy nhiên chi phí đầu tư thiết bị khá cao cũng là vấn đề cân nhắc khi đưa vào ứng dụng trong công nghiệp.

Siêu âm được đánh giá là một phương pháp chế biến thực phẩm tiềm năng để cải thiện các đặc tính của nước ép trái cây. Năm 2022, Choo & ctv (2022) đã đánh giá ảnh hưởng của các khoảng thời gian siêu âm khác nhau (20, 40 và 60 phút) và quá trình thanh trùng nhiệt đối với các đặc tính dinh dưỡng, chất chống oxy hóa và vi sinh vật của nước ép trái nhàu. So với mẫu nước ép trái nhàu tươi, nồng độ của các acid hữu cơ chính (acid malic và acid ascorbic), hoạt tính chống oxy hóa của mẫu nước ép đã qua xử lý bằng siêu âm trong 60 phút được cải thiện đáng kể ($p < 0,05$). Nghiên cứu này cho thấy tính khả thi của việc xử lý bằng siêu âm để nâng cao chất lượng nước ép trái nhàu ở quy mô công nghiệp.

Nghiên cứu gần đây của Wang, S. & ctv (2023) đã tiến hành đánh giá hiệu suất trích ly nước ép trái nhàu của phương pháp chiết xuất kết hợp xử lý bằng enzyme và siêu âm. Kết quả chỉ ra rằng việc xử lý kết hợp giữa siêu âm và enzyme đã đạt được hiệu quả tương đồng trong việc nâng cao chất lượng của nước ép trái nhàu. Hiệu suất chiết xuất nước ép tối đa là 67,95% khi siêu âm trong 10 phút ở 600 W sau khi xử lý bằng enzyme. Ngoài ra, nước ép trái nhàu được xử lý bằng phương pháp trích ly kết hợp này thể hiện hàm lượng phenolic và flavonoid toàn phần cao hơn so với chỉ xử lý bằng enzyme hay siêu âm. Hơn nữa, phương pháp xử lý kết hợp enzyme và siêu âm làm giảm đáng kể kích thước hạt của nước ép trái nhàu, cải thiện độ ổn định huyền phù và đặc tính lưu biến của sản phẩm.

Theo báo cáo của tác giả Nguyễn Trọng Thông & ctv (2005), tác giả chỉ báo cáo quá trình trích ly các chất trong quả nhàu bằng các dung môi hoá học, chưa đề cập đến quá trình tinh sạch loại bỏ dung môi nên rất khó có thể ứng dụng được trong thực phẩm. Kết quả này rất hữu ích cho những nghiên cứu tiếp theo trích ly bằng các phương pháp tiên tiến, thân thiện với môi trường, đồng thời nghiên cứu phương pháp chế biến và bảo quản các hoạt chất sinh học có trong trái nhàu nhằm ứng dụng vào trong thực phẩm và/hoặc thực phẩm chức năng (Nguyễn & ctv, 2005).

Nghiên cứu gần đây nhất là trích ly các hợp chất sinh học từ trái nhàu bằng enzyme có tiền xử lý siêu âm cho thấy bốn yếu tố khác nhau liên quan đến quá trình chiết xuất bằng enzyme trong nước của các hợp chất hoạt tính sinh học, bao gồm tổng số polyphenol, tổng số flavonoid, tổng triterpenoid saponin và vitamin C, từ bột trái nhàu (*Morinda citrifolia* L.) đã được xử lý trước bằng siêu âm đã được báo cáo. Nghiên cứu cho thấy rằng các điều kiện chiết xuất bằng enzyme thích hợp nhất đối với hàm lượng của các hợp chất hoạt tính sinh học thu được ở nồng độ enzyme (hỗn hợp pectinase và cellulase, 1: 1, w / w) ở 0,5% trọng lượng khô (vck), tỷ lệ nước trên bột là 16/1 (mL / g) và nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme ở 60°C trong 45 phút khi tiền xử lý bằng siêu âm được cố định ở $50 \pm 5^\circ\text{C}$ trong 10 phút (Ho & ctv, 2022). Trong những điều kiện đó, hàm lượng cao nhất của tổng số polyphenol, flavonoid, triterpenoid saponin và vitamin C được tìm thấy là $12,53 \pm 0,09$ mg GAE / g dw, $6,45 \pm 0,61$ mg QE / g dw, $56,02 \pm 2,45$ mg AE / g dw, và $1,04 \pm 0,09$ mg AA / g dw, tương ứng (Ho & ctv, 2022).

Nghiên cứu kháng viêm: Những thập kỷ gần đây, sự gia tăng các bệnh viêm mãn tính như tiểu đường, bệnh tim mạch, hen suyễn, viêm khớp dạng thấp, bệnh thoái hóa thần kinh. Điều quan trọng là các bệnh viêm mãn tính cũng làm tăng nguy cơ phát triển ung thư nên cần phải tìm các loại thuốc chống viêm mới. Đó là các hợp chất polyphenolic tự nhiên, chế phẩm trích chiết từ thực phẩm giàu polyphenol, có đặc tính chống oxy hóa mạnh. Các chất chiết xuất tự nhiên giàu polyphenol có khả năng chống viêm và khả năng điều chỉnh các chất trung gian gây viêm quan trọng như cyclooxygenase-2, prostaglandin E2, chất tổng hợp oxit nitric cảm ứng và oxit nitric, trong các tế bào đại thực bào (Chojnacka & Lewandowska, 2021). Dịch chiết từ *Pleurotus eryngii* có hàm lượng phenolic là $0,11 \pm 0,02$ μmol GAE/mg CK, gồm nhiều hợp chất như acid galic monohydrat, 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)- Propionic Acid, Methyl Galat, Acid Ellagic, Acid Syringic và Catechin... có tác dụng chống viêm trong các đại thực bào RAW264.7 do ức chế sản xuất quá mức các chất trung gian gây viêm bao gồm oxit nitric và các loại oxy phản ứng (Hu & ctv, 2018). Chiết xuất hoa houblon đã sử dụng trong quá trình lên men bia (*Humulus lupulus* L.) làm giảm

đáng kể tác nhân gây tiền viêm cyclooxygenase -2 ở mRNA (47%) và mức protein (32%) sau 24 giờ điều trị đại thực bào của chuột do dịch chiết có nhiều thành phần có hoạt tính kháng viêm như flavonol, proanthocyanidin, acid hydroxycinnamic và flavanol monome cao (Caban & ctv, 2020).

1.3 Tổng quan vi bao bằng phương pháp sấy phun

1.3.1 Giới thiệu về vi bao

Vi bao có thể được định nghĩa là công nghệ bao gói chất rắn, chất lỏng hoặc chất khí với lớp phủ polyme mỏng, tạo thành các hạt nhỏ được gọi là hạt vi bao (Gharsallaoui & ctv, 2007). Polyme hoạt động như một lớp màng bảo vệ, cách ly lõi và tránh ảnh hưởng của các tác động bất lợi từ môi trường. Màng này tự phân giải thông qua một kích thích cụ thể, giải phóng lõi ở điều kiện và thời gian mong muốn.

Vi bao hợp chất có hoạt tính sinh học là một kỹ thuật mà hợp chất sinh học được bao bọc hoặc nằm trong mạng lưới bởi ít nhất một lớp vỏ bao bên ngoài. Hợp chất sinh học được vi bao được gọi là vật liệu lõi, trong khi các vật liệu như polymer sinh học được gọi là chất bao, chất mang hoặc vỏ bao (Gibbs & ctv, 1999). Các sản phẩm vi bao có thể được sản xuất ở các dạng khác nhau, chẳng hạn như đơn giản (một lớp vật liệu vỏ với một vật liệu lõi), nhiều lớp (nhiều hơn một lớp vật liệu vỏ với một vật liệu lõi) và nhiều lõi (một lớp vật liệu tường với nhiều hơn một vật liệu cốt lõi) (Kuang & ctv, 2010).

Vi bao có nhiều ứng dụng trong các lĩnh vực như dược phẩm, nông nghiệp, y tế và công nghiệp thực phẩm, được sử dụng rộng rãi trong việc đóng gói tinh dầu, chất tạo màu, hương liệu, chất làm ngọt, vi sinh vật, trong số những ngành khác (Azeredo, 2008). Gần đây, ngành công nghiệp thực phẩm đã chứng minh các công thức ngày càng phức tạp: như vi sinh vật trong thịt lên men; bổ sung các acid béo không bão hòa đa dễ bị oxy hóa tự động trong sữa, sữa chua hoặc kem; và việc sử dụng các hợp chất hương vị dễ bay hơi trong thực phẩm ăn liền, thường chỉ có thể được kiểm tra bằng phương pháp vi bao (Gharsallaoui & ctv, 2012; Khan & ctv, 2011).

Vi bao có thể đóng vai trò như một phương tiện hữu hiệu để tạo ra thực phẩm không chỉ là nguồn cung cấp chất dinh dưỡng hấp dẫn về mặt cảm quan mà còn là

nguồn tốt cho sức khỏe con người, chẳng hạn như bằng cách tăng mức độ canxi để ngăn ngừa loãng xương, sử dụng vi sinh vật sản xuất, acid lactic để giảm cholesterol và bổ sung các hợp chất phenolic để ngăn ngừa các vấn đề về tim (Oliveira & ctv, 2007; Sanguansri & Augustin, 2006).

Nguyên tắc của kỹ thuật vi bao là tạo thành một lớp vỏ mỏng bao quanh vật liệu lõi mà không làm cho vật liệu lõi bị rò rỉ và các vật liệu lõi mong muốn được bao kín. Có nhiều phương pháp vi bao khác nhau đã được phát triển và được áp dụng vào ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm. Nhìn chung, các phương pháp vi bao có thể được phân loại theo các quá trình vật lý, hóa học và hóa lý. Tùy thuộc vào các ứng dụng mong muốn, các phương pháp thích hợp để vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học có thể được lựa chọn.

Sự phát triển của thực phẩm chức năng mới đòi hỏi các công nghệ để kết hợp các thành phần tăng cường sức khỏe vào thực phẩm mà không làm giảm sinh khả dụng hoặc chức năng của chúng. Các hợp chất sinh học sau khi được trích ly thông thường ở dạng tự do và rất dễ bị thất thoát trong quá trình bảo quản. Bên cạnh đó, khả năng ứng dụng trực tiếp dịch trích giàu các hợp chất sinh học bị hạn chế. Vì thế, nghiên cứu phương pháp chế biến phù hợp là vấn đề đáng quan tâm. Công nghệ vi bao là một trong những phương pháp rất hiệu quả nhằm bảo vệ và ổn định các hợp chất có hoạt tính sinh học, đồng thời giúp tăng tính hoà tan của chúng trong môi trường nước (Shahidi & Han, 1993). Quan trọng hơn, hoạt tính của các hợp chất sinh học vi bao được nâng cao đáng kể so với các hợp chất không vi bao (Lu & ctv, 2016).

Vi bao là một kỹ thuật trong đó các thành phần hoạt tính ở thể rắn, lỏng hoặc khí được đóng gói trong một vật liệu thứ hai với mục đích che chắn thành phần hoạt tính khỏi môi trường xung quanh. Do đó, thành phần hoạt tính được chỉ định là vật liệu lõi trong khi vật liệu xung quanh tạo thành vỏ bao.

Hạt vi bao có thể được phân loại theo kích thước của chúng: vi bao vĩ mô (> 5.000 μm), viên bao siêu nhỏ (0,2 đến 5.000 μm) và vi bao nano (<0,2 μm). Về hình dạng và cấu tạo, vi bao có thể được chia thành hai nhóm: vi nang và vi cầu. Vi nang là các hạt bao gồm một lõi bên trong, về cơ bản là trung tâm, chứa hoạt chất, được

bao phủ bởi một lớp polymer tạo nên màng bao. Các vi bao đơn nhân và đa nhân có thể được phân biệt bằng cách xem lõi có được phân chia hay không (Fávaro-Trindade & ctv, 2008). Ngược lại, vi cầu là hệ thống ma trận trong đó lõi được phân tán đồng nhất và/ hoặc hòa tan trong một mạng polymer. Các vi cầu có thể đồng nhất hoặc không đồng nhất tùy thuộc vào lõi ở trạng thái phân tử (hòa tan) hay ở dạng hạt (lơ lửng) tương ứng (Sanguansri & Augustin, 2006; Silva & ctv, 2014).

1.3.2 Các phương pháp vi bao

Hiện nay, có nhiều phương pháp vi bao đã được báo cáo và cho thấy tính hiệu quả của nó, mỗi phương pháp có những ưu và nhược điểm khác nhau. Việc lựa chọn phương pháp phù hợp nhất phụ thuộc vào loại lõi, ứng dụng tiếp theo của sản phẩm vi bao, kích thước của các hạt yêu cầu, tính chất vật lý và hóa học của lõi và chất bao, cơ chế giải phóng yêu cầu, quy mô sản xuất và chi phí (Suave & ctv, 2006). Theo (Caballero & ctv, 2003), các phương pháp vi bao chính là: sấy phun, phun mát, ép đùn, đông đặc, đông khô và nhũ tương hóa. Do đó, tùy thuộc vào ứng dụng và đặc tính của các hợp chất sinh học mà lựa chọn phương pháp phù hợp, trong đó phương pháp nhũ hoá và sấy phun đang được áp dụng rộng rãi vì khả năng công nghiệp hoá và hiệu quả vi bao cao (McClements & Li, 2010). Để đạt hiệu quả vi bao, việc đánh giá, lựa chọn vật liệu bao (các hợp chất polymer sinh học) và hàm lượng vật liệu bao là điều kiện tiên quyết (Desai & Jin Park, 2005; Shahidi & Han, 1993).

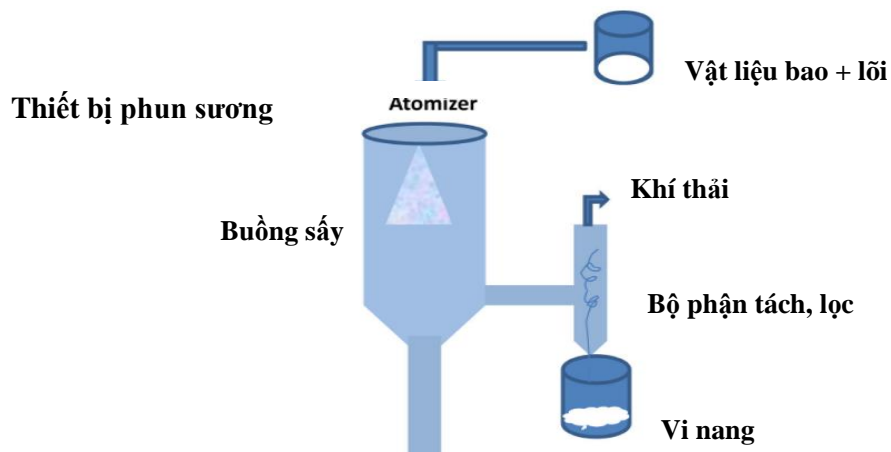
Vi bao bằng phương pháp sấy phun và các ưu điểm của sấy phun

Quá trình này liên quan đến việc hình thành nhũ tương, dung dịch hoặc huyền phù có chứa lõi và vật liệu chất bao, tiếp theo là quá trình phun sương trong buồng sấy với không khí nóng tuần hoàn. Nước bốc hơi ngay lập tức khi tiếp xúc với không khí nóng và vật liệu bao bọc lõi (Laohasongkram & ctv, 2011). Phương pháp sấy phun có một số ưu điểm so với các phương pháp khác: tính sẵn có của thiết bị lớn, khả năng sử dụng nhiều loại chất đóng gói, có khả năng sản xuất quy mô lớn, thiết bị đơn giản, hiệu quả tốt, giảm chi phí lưu trữ, vận chuyển và chi phí quy trình thấp (Madene & ctv, 2006). Nhược điểm chính của sấy phun là tạo ra các vật liệu có kích thước không đồng nhất.

Kỹ thuật sấy phun là phương pháp vi bao phổ biến nhất, đã được sử dụng trong nhiều thập kỷ để bao bọc chủ yếu là hương vị, chất béo và chất màu, nhưng việc sử dụng nó trong các sản phẩm nhạy cảm với nhiệt, chẳng hạn như vi sinh vật và tinh dầu, có thể bị hạn chế vì nhiệt độ cao cần thiết gây bay hơi và/ hoặc phá hủy sản phẩm (Gharsallaoui & ctv, 2007).

Đối với phương pháp vi bao dạng bột, để tạo ra bột vi bao các hợp chất sinh học, sử dụng phương pháp sấy phun có hiệu quả kinh tế cao và đảm bảo được chất lượng bột vi bao cao. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng bột vi bao bằng phương pháp sấy phun như tốc độ bơm nguyên liệu, nhiệt độ đầu vào và ra, tốc độ phun, áp suất,... Trong các yếu tố này, nhiệt độ đầu vào và đầu ra là quan trọng hơn cả (Gharsallaoui & ctv, 2007; Liu, Z.-Q. & ctv, 2004).

Nhiều quy trình sấy hiện đang được sử dụng trong công nghiệp sản xuất thực phẩm. Một số yếu tố cần phải được tính đến, bao gồm các đặc điểm của thực phẩm được sấy khô, chất lượng của thành phẩm dự kiến và chi phí bao gói, bao gồm năng lượng và không gian lưu trữ. Các khả năng lưu trữ các loại thực phẩm làm từ trái cây tươi và rau quả dưới dạng bột trong thời gian dài ở nhiệt độ môi trường, cũng như giảm đáng kể chi phí vận chuyển và lưu kho, là những ưu điểm của việc tạo sản phẩm dạng bột. Sấy phun là một trong những phương pháp phổ biến để tạo thành bột vì nó dễ công nghiệp hóa và cho phép sản xuất liên tục (Pegg & Shahidi, 2007). Ngoài ra, sấy phun cũng có tiềm năng ứng dụng trong quy mô lớn, có thể đa dạng các vật liệu vỏ bao, và sản phẩm vi bao tạo ra tiếp cận được với nhiều mục đích ứng dụng.



Hình 1.6. Kỹ thuật vi bao bằng phương pháp sấy phun (Choudhury & ctv, 2021b)

Vi bao bằng sấy phun giúp bảo vệ sản phẩm khỏi tác động của một số yếu tố môi trường xung quanh (nhiệt độ, độ ẩm, bức xạ UV, tương tác với các vật liệu khác), giảm tốc độ bay hơi hoặc tốc độ truyền của vật liệu cốt lõi ra bên ngoài môi trường. Xử lý các chất vi bao thành dạng khô - chuyển đổi chất lỏng và chất rắn dính thành bột rời nhau (tốt hơn sự pha trộn, ngăn ngừa vón cục), che dấu các phần tử không mong muốn của thành phần hoạt động, ví dụ: vị hoặc mùi, hoặc che các chất hóa học như pH hoặc hoạt tính xúc tác. Có thể kiểm soát tốc độ giải phóng của vật liệu cốt lõi trong các điều kiện mong muốn. Đặc biệt, bất kỳ hoạt chất nào cần được bảo vệ, cách ly hoặc kiểm soát việc giải phóng đều có thể được vi bao bằng phương pháp sấy phun. Các lợi ích của việc giải phóng có kiểm soát của các hạt vi bao đã giúp ứng dụng trong dược phẩm và thực phẩm được mở rộng (Porte & Couarraze, 1994).

1.3.3 Các nghiên cứu trong và ngoài nước về quá trình sấy phun để vi bao các hoạt chất sinh học

Nhiều nhà nghiên cứu đã sử dụng kỹ thuật sấy phun để sản xuất bột vi bao các chiết xuất từ trái cây (Tan, Sing Pei & ctv, 2015; Tonon & ctv, 2008). Cụ thể, hương vị của cây thù du đã được vi bao thành công bằng cách sấy phun để ứng dụng trong bánh quy mặn, salad và bánh quy giòn. Tương tự, trong nghiên cứu của Krishnan & ctv (2005) nhựa cây bạch đậu khấu được vi bao bằng phương pháp sấy phun, sử dụng gum arabic, maltodextrin và tinh bột biến tính làm vỏ bao, kết quả cho thấy sự gia

tăng khả năng bảo vệ nhựa (Krishnan & ctv, 2005). Anekella & Orsat (2013) đã tối ưu hóa khả năng vi bao của probiotics trong nước quả mâm xôi bằng cách sấy phun. Quá trình vi bao chất béo sử dụng tinh bột khoai tây, bột sắn và ngô bằng cách sấy phun đã thành công, giúp kéo dài thời gian bảo quản chất béo.

Trong nghiên cứu trước đây, các điều kiện sấy phun dịch trái nhàu sử dụng κ -carrageenan và maltodextrin hoặc κ -carrageenan đã được nghiên cứu. Gần đây, một nghiên cứu khảo sát hiệu suất của các chất mang hỗn hợp kết hợp cả maltodextrin (10-13 DE) và gum arabic đối với vi bao nước ép trái nhàu. Kết quả cho thấy đặc tính hóa lý và hoạt tính sinh học của bột bị ảnh hưởng bởi tỷ lệ pha trộn, cụ thể tỷ lệ gum arabic so với maltodextrin tăng lên có thể dẫn đến tính ổn định và độ chảy của bột tốt hơn, trong khi càng nhiều maltodextrin được sử dụng trong hỗn hợp có thể dẫn đến tỷ lệ hoàn nguyên bột trong nước tốt hơn. Ngược lại, tỷ lệ pha trộn gum arabic so với maltodextrin cao hơn có thể bảo vệ tốt hơn các hợp chất hoạt tính sinh học trong bột nước ép trái nhàu trong quá trình phân hủy trong ống nghiệm mô phỏng, dẫn đến khả năng xử lý sinh học cao hơn (Zhang, Khoo, Swedlund, & ctv, 2020). Trong nghiên cứu này tác giả ưu tiên độ hòa tan (hoàn nguyên) của bột nhàu sấy phun và có xu hướng tăng tỷ lệ maltodextrin so với gum arabic. Nghiên cứu này chưa đề cập đến các yếu tố trong quá trình bảo quản chịu ảnh hưởng của tỷ lệ chất bao.

Sự ổn định của carotenoid từ nước trái cây (cà rốt và cà chua thân gỗ) được thực hiện bằng cách sấy phun trong các nghiên cứu so sánh ảnh hưởng của các vật liệu bao khác nhau (gum arabic và maltodextrin) đến các đặc tính hóa học và hóa lý của bột vi bao (Janiszewska-Turak & ctv, 2017; Ramakrishnan & ctv, 2018). Các tác giả đã quan sát thấy rằng các hạt vi bao sử dụng gum arabic thể hiện khả năng lưu giữ carotenoid và hiệu quả vi bao cao hơn trong thời gian dài (84 tuần) trong điều kiện tiếp xúc ánh sáng khi so sánh với các hạt vi bao sử dụng maltodextrin. Hơn nữa, Ramakrishnan & ctv (2018) cũng phân tích độ ổn định lưu trữ của các hạt vi bao liên quan đến hoạt tính chống oxy hóa của chúng và lượng carotenoid được giữ lại trong các điều kiện bảo quản khác nhau (Ramakrishnan & ctv, 2018). Quan sát thấy rằng bột được vi bao bằng gum arabic được bảo quản ở 25°C trong 24 ngày có tốc độ phân hủy carotenoid

cao hơn so với bột được sản xuất bằng maltodextrin. Thực tế này được cho là do hoạt độ nước cao của gum arabic vào đầu thời kỳ lưu trữ, dễ gây ra phân hủy các hợp chất hơn và mất hoạt tính chống oxy hóa.

Yinbin & ctv (2018) đã đánh giá ảnh hưởng của các sự kết hợp khác nhau của các vật liệu vỏ bao (maltodextrin/ gum arabic, maltodextrin/ gelatin, maltodextrin/ chitosan và maltodextrin/ β -cyclodextrin/ gum arabic) lên vi bao các hợp chất phenolic từ trái mận bằng cách sấy phun (Yinbin & ctv, 2018). Hiệu quả vi bao và độ ổn định lưu trữ của các hạt vi bao đã được đánh giá. Kết quả cho thấy sự ổn định của các hợp chất phenolic mận đã đạt được thành công đối với tất cả các tổ hợp vật liệu màng bao được sử dụng. Tuy nhiên, các bột vi bao được sử dụng maltodextrin/ chitosan cho thấy khả năng lưu giữ hợp chất phenolic cao hơn, trên 94%, trong thời gian bảo quản trong 60 ngày ở 25°C, so với các bột vi bao khác (từ 80% đến 90%) và hợp chất phenolic không được vi bao chiếm khoảng 31%). Ngoài ra, quan sát thấy rằng các hạt vi bao có bề mặt bên ngoài nhẵn chứng tỏ khả năng bảo vệ các hợp chất phenolic tốt hơn. Việc kết hợp các vật liệu vỏ bao khác nhau sẽ ảnh hưởng đến hiệu quả vi bao và sự ổn định các hợp chất được vi bao. Có thể kết hợp không chỉ 2 loại vật liệu vỏ bao với nhau, có nhiều vật liệu vỏ bao khi sử dụng đơn lẻ sẽ có hiệu quả thấp hơn so với việc kết hợp nhiều loại vật liệu bao khác nhau.

Một nghiên cứu của tác giả Kha & ctv (2021b) cho thấy việc xử lý sơ bộ trước khi sấy trái nhàu tươi cùng với quá trình kiểm soát nhiệt độ sấy cho kết quả giữ lại tối đa tổng hàm lượng polyphenol (TPC), hàm lượng flavonoid (TFC) và hàm lượng triterpenoid saponin (TSC) của bột trái nhàu. Tác giả đã xử lý trước khi sấy nhàu tươi bằng phương pháp ngâm trong acid ascorbic, ngâm trong dung dịch metabisulfite và chần, bên cạnh đó tác giả cũng kiểm soát nhiệt độ không khí nóng trong buồng sấy. Kết quả cho thấy mẫu nhàu ngâm trong acid ascorbic và dung dịch metabisulfite, được sấy ở nhiệt độ 60°C sẽ hạn chế sự tổn thất hàm lượng polyphenol (TPC), hàm lượng flavonoid (TFC) và hàm lượng triterpenoid saponin (TSC) của bột trái nhàu thấp nhất.

CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị sử dụng

Nguyên liệu nhàu tươi: được thu hoạch và cung ứng bởi công ty Mekong Herbals, Tiền Giang, Việt Nam. Sau khi thu hoạch trong ngày, trái nhàu được đóng trong thùng carton và vận chuyển về Khoa Công nghệ Hóa học và Thực Phẩm, Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM. Thời gian thu hoạch và vận chuyển trái nhàu trong điều kiện mát không quá 6 tiếng.



Hình 2.1 Nguyên liệu dùng để nghiên cứu

Sau đó đem nguyên liệu đã được thu mua đi phân loại và làm sạch dưới vòi nước để loại bỏ tạp chất và tiến hành cắt lát mỏng bề dày 4mm, sấy khô ở 60°C trong 7-8 giờ đến khi nguyên liệu có độ ẩm dưới 12%. Nhàu sau khi sấy khô được xay, nghiền và rây với kích thước lưới sàng 0,5 mm thành bột. Bột *Morinda L.* được cho vào túi nhôm hút chân không và được bảo quản ở (-18°C) ± 3°C để nghiên cứu thêm.

Hóa chất và thiết bị sử dụng

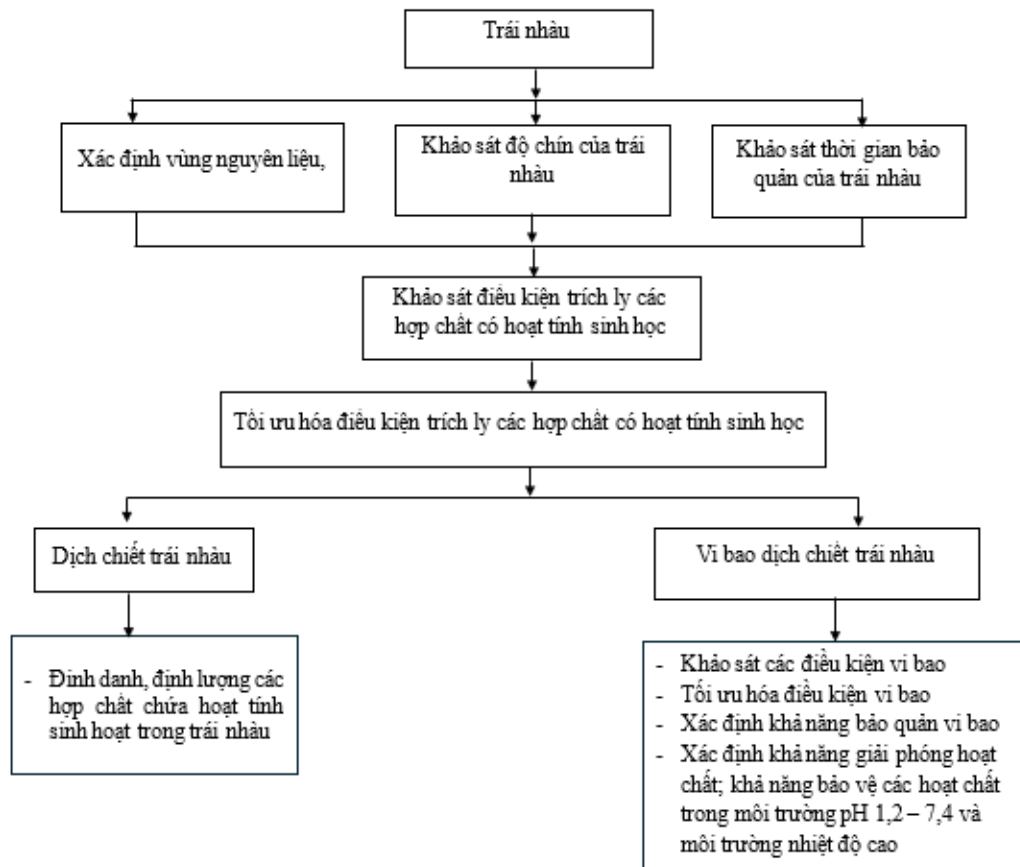
Enzyme với tên thương mại Mashzyme (Advanced Enzyme Technologies Ltd) bao gồm: pectinase (85000 – 115000 PBU/g), cellulase (4675 – 6325 CMC U/g); đặc điểm: bột có màu trắng nhạt đến kem, tan trong nước, pH hoạt động 3,5 – 4,5. Hóa chất sử dụng chính bao gồm: Folin Ciocalteu, ethanol, H₂SO₄, ascorbic acid, NaOH, Na₂CO₃, AlCl₃.6H₂O, NaNO₂, vanillin, acid oxalic, 2,6-dichlorophenol-indophenol (DCPIP), gallic acid. Chất chuẩn sử dụng bao gồm: Gallic acid (G7384), quercetin (Q4951), aescin (E1378), and ascorbic acid (A92902) của hãng Sigma-Aldrich, Singapore. Thiết bị sử dụng nghiên cứu được thể hiện qua Bảng 2.1.

Bảng 2.1 Thiết bị sử dụng nghiên cứu

| Tên thiết bị | Xuất xứ | Tên thiết bị | Xuất xứ |
|--|----------|--------------------------------------|----------|
| Máy xay sinh tố Philip | Hà Lan | Máy li tâm 6000 rpm | Đức |
| Máy cắt lát hoa quả | Việt Nam | Máy đồng hóa | Ý |
| Cân phân tích 4 số | Mỹ | Thiết bị lọc chân không | Đức |
| Tủ sấy | Đức | Tủ lạnh | Hàn Quốc |
| Máy đo quang phổ UV-Vis | Mỹ | Kính hiển vi SEM | Anh |
| Máy đo pH | Đức | Máy đo HPLC | Nhật Bản |
| Cân sấy hồng ngoại SHS | Nhật Bản | Hệ thống sắc kí lỏng | Mỹ |
| Thermo Scientific Nicolet iS50 FTIR | Mỹ | X-ray Diffractometer rigaku SmartLab | Nhật |
| Malvern Zetasizer Nano ZS 0.3 nm - 10 μm | Anh | Discovery DSC 250 | Mỹ |

2.2 Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu ngẫu nhiên một yếu tố, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Sơ đồ nghiên cứu tổng quát của đề tài được trình bày qua Hình 2.2.



Hình 2.2 Sơ đồ nghiên cứu tổng quát

2.2.1 Khảo sát nguyên liệu, ảnh hưởng của độ chín thu hoạch và thời gian bảo quản đến hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học và các chỉ tiêu hoá lý




Độ chín khi thu hoạch

Trái nhàu được lựa chọn là các trái không bị hư hỏng, còn nguyên vẹn, đồng đều về kích thước. Theo thông tin từ các nhà vườn, thời gian từ khi ra hoa đến khi trái nhàu có màu xanh cứng là 70 đến 80 ngày. Trong nghiên cứu này, trái nhàu khi thu hái ở các độ chín khác nhau, được tính từ lúc ra hoa (90-95 ngày tính từ ngày ra hoa, 100-107 ngày tính từ ngày ra hoa và 110-115 ngày tính từ ngày ra hoa). Hình ảnh độ chín của trái nhàu ở các thời điểm thu hoạch khác nhau được trình bày qua Bảng 2.2.

Sự thay đổi theo thời gian bảo quản

Trái nhàu có độ chín thích hợp được bảo quản trong bao bì PE không đục lỗ (6 trái/ bịch), ở điều kiện môi trường, thông thoáng. Để đánh giá sự thay đổi hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học ở các thời gian bảo quản khác nhau, thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, một yếu tố (thời gian bảo quản sau thu hoạch). Sau mỗi thời gian bảo quản ($t = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6,$ và 7 ngày), trái nhàu được lấy ra (1 bịch) phân tích các chỉ tiêu: hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học (polyphenol, flavonoid, triterpenoid saponin và acid ascorbic) và các chỉ tiêu hoá lý (màu sắc Lab, độ ẩm, khối lượng, pH và Brix).

Bảng 2.2 Bố trí thí nghiệm khảo sát độ chín và thời gian bảo quản

| Nội dung | Khảo sát độ chín và thời gian bảo quản của trái nhàu | | |
|--|---|--|---|
| <p>Độ chín trái nhàu: số ngày kể từ lúc ra hoa cho từng độ chín</p> | <p>90-95 ngày</p>  | <p>100-107 ngày</p>  | <p>110-115 ngày</p>  |
| <p>Thời gian bảo quản</p> | <p>0, 3-5 và 5-7 ngày cho đến khi trái hỏng</p> | | |
| <p>Chỉ tiêu chất lượng</p> | <p>Hàm lượng các hợp chất sinh học (flavonoid, polyphenol, triterpenoid và acid ascorbic), và các chỉ tiêu hoá lý (màu sắc, độ ẩm, khối lượng quả) và dinh dưỡng (protein, béo, carbohydrate và xơ)</p> | | |

2.2.2 Quy trình công nghệ trích ly các chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu

2.2.2.1 Khảo sát và tối ưu hóa điều kiện trích ly

Để khảo sát các thông số: tỷ lệ enzyme bổ sung, tỷ lệ nước/ bột nhàu, nhiệt độ và thời gian xử lý enzyme trong quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ mẫu bột nhàu, điều kiện siêu âm được cố định như sau: khối lượng bột nhàu: 5 g, kích thước bột $\leq 500 \mu\text{m}$, tần số siêu âm: 37 kHz, nhiệt độ siêu âm: 50°C , và thời gian siêu âm: 10 phút (Ho & ctv, 2020).

Cách tiến hành: Cân 5 g bột nhàu cho vào bình tam giác, sau đó thêm vào 40 mL nước, khuấy đều và bịt kín miệng bình bằng parafilm (tỷ lệ nước/ bột nhàu là 8/1 mL/g). Tiếp đến, đặt mẫu ngậm trong bể siêu âm đã gia nhiệt lên 50°C sao cho khoảng cách từ bề mặt chất lỏng trong bình đến mực nước chứa trong bể vào khoảng 2 cm và tiến hành siêu âm trong 10 phút. Sau khi kết thúc siêu âm, cân enzyme theo các tỷ lệ cần khảo sát và hòa tan trong 1mL nước trước khi chuyển hỗn hợp mẫu đã siêu âm vào bình, lắc đều sau đó đem ủ ở điều kiện nhiệt độ và thời gian khác nhau. Kết thúc quá trình trích ly, mẫu được lọc thô bằng vải lọc sau đó lọc lại bằng giấy lọc Whatman

(kích thước lỗ 15-20 μm) để loại bỏ cặn mịn, chuẩn bị cho phân tích các chỉ tiêu: Hàm lượng polyphenol tổng, flavonoid tổng, saponin triterpenoid tổng và vitamin C.

Tỷ lệ enzyme bổ sung: Thí nghiệm được bố trí 1 yếu tố với 3 lần lặp, tổng đơn vị thí nghiệm là 12. Yếu tố thí nghiệm: Tỷ lệ enzyme: 0%; 0,1%; 0,5% và 1%.

Tỷ lệ nước/bột nhàu: Thí nghiệm được bố trí 1 yếu tố với 3 lần lặp, tổng đơn vị thí nghiệm là 12. Yếu tố thí nghiệm: Tỷ lệ nước/bột nhàu: 8/1, 12/1, 16/1, 20/1 (mL/g).

Nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme: Thí nghiệm được bố trí 1 yếu tố với 3 lần lặp, tổng đơn vị thí nghiệm là 9. Yếu tố thí nghiệm: Nhiệt độ: 40, 50 và 60 ($^{\circ}\text{C}$).

Thời gian thủy phân: Thí nghiệm được bố trí 1 yếu tố với 3 lần lặp, tổng đơn vị thí nghiệm là 9. Yếu tố thí nghiệm: thời gian: 30, 45 và 60 (phút).

Tối ưu hoá điều kiện trích ly: Dựa vào kết quả của các thí nghiệm một yếu tố như trên bao gồm tỷ lệ enzyme, nhiệt độ và thời gian thủy phân, tiến hành tối ưu điều kiện trích ly bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (Response surface methodology, RSM).

2.2.2.2 Xác định các chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ trong dịch trích nhàu

Sau khi xác định được độ chín thích hợp dựa trên hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học, tiến hành phân tích định danh và định lượng một số hợp chất có hoạt tính sinh học. Bột nhàu được sấy khô bằng máy sấy bơm nhiệt ở nhiệt độ 30-35 $^{\circ}\text{C}$ đến độ ẩm khoảng 10%. Điều kiện trích ly dựa vào nghiên cứu trước đó của nhóm tác giả Thoo và cộng sự (2013) (Thoo & ctv, 2013b). Cụ thể như sau: Cân 5 g bột nhàu trộn với 50 mL ethanol 75% (tỷ lệ 1:10), khuấy từ 40 phút ở nhiệt độ 57 $^{\circ}\text{C}$, sau đó mẫu được lọc thô bằng vải lọc, sau đó lọc lại bằng giấy lọc Whatman (kích thước lỗ 15-20 μm) để loại bỏ cặn mịn, chuẩn bị cho phân tích định danh (UHPLC-QTOF-MS/MS) và định lượng (HPLC).

2.2.3 Khảo sát và tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến vi bao các hợp chất sinh học trong trái nhàu

2.2.3.1 Khảo sát công thức và tỷ lệ phối trộn vỏ bao sấy phun bột nhàu

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 01 yếu tố với 3 lần lặp lại. Yếu tố thí nghiệm: công thức vỏ bao là Gum Arabic và Maltodextrin với các tỷ lệ khác nhau, bao gồm 1:1; 1:2; 1:3; và 3:1 (w/w). Yếu tố cố định: nồng độ dung dịch vỏ bao: 20% (w/w), nhiệt độ sấy phun đầu vào 150°C, tốc độ nạp liệu: 1,6 lít/ giờ, tốc độ đĩa quay: 15.000 vòng/phút. Chỉ tiêu theo dõi: hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng TPC, TFC, và TSC của bột vi bao sau sấy phun so với hàm lượng đó trong dung dịch trước sấy.

2.2.3.2 Xác định nồng độ vỏ bao thích hợp

Với tỷ lệ vỏ bao thích hợp (từ kết quả Mục 2.2.3.1), thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 01 yếu tố với 03 lần lặp lại. Yếu tố thí nghiệm là nồng độ vỏ bao, bao gồm: 20, 25, và 30% và khối lượng phối trộn vỏ bao và dung dịch nhàu được cố định với tỷ lệ 7:3 (w/w). Yếu tố cố định: tỷ lệ vỏ bao, nhiệt độ sấy phun đầu vào 150°C, tốc độ nạp liệu: 1,6 lít/ giờ, tốc độ đĩa quay: 15.000 vòng/phút. Chỉ tiêu theo dõi: hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng TPC, TFC, và TSC của bột vi bao sau sấy phun so với hàm lượng đó trong dung dịch trước sấy.

2.2.3.3 Xác định nhiệt độ sấy phun đầu vào thích hợp

Với tỷ lệ vỏ bao thích hợp (từ kết quả Mục 2.2.3.1) và nồng độ vỏ bao (từ kết quả Mục 3.2.3.2) thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 01 yếu tố với 03 lần lặp lại. Yếu tố thí nghiệm là Nhiệt độ sấy phun đầu vào, với các mức độ: 140, 150, 160, 170 và 180°C. Yếu tố cố định: tỷ lệ vỏ bao, nồng độ vỏ bao, tốc độ nạp liệu: 1,6 lít/ giờ, tốc độ đĩa quay: 15.000 vòng/phút. Chỉ tiêu theo dõi: hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng TPC, TFC, và TSC của bột vi bao sau sấy phun so với hàm lượng đó trong dung dịch trước sấy.

2.2.3.4 Xác định nhiệt độ sấy phun đầu ra thích hợp

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 01 yếu tố với 03 lần lặp lại. Yếu tố thí nghiệm là Nhiệt độ sấy phun đầu ra, với các mức độ: 82-83, 87-88, 91-93, và 97-98°C. Với nhiệt độ sấy phun đầu ra dao động từ 82 đến 98°C. Nhiệt độ đầu ra được điều chỉnh bằng cách thay đổi tốc độ nạp liệu sao cho nhiệt độ đầu ra ổn định trong các khoảng nhiệt độ nghiên cứu ở tốc độ đĩa quay cố định 15.000 vòng/phút. Chỉ tiêu theo dõi: hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng TPC, TFC, và TSC của bột vi bao sau sấy phun so với hàm lượng đó trong dung dịch trước sấy.

2.2.3.5 Tối ưu hoá nhiệt độ sấy phun

Mục đích xác định chế độ sấy phun tối ưu (nhiệt độ đầu vào và đầu ra) nhằm tạo ra bột vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học có tính ổn định cao. Khoảng nhiệt độ đầu vào và nhiệt độ đầu ra của quá trình sấy phun được xác định dựa vào kết quả ở Mục 2.2.3.3 và 2.2.3.4, sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng để tối ưu hoá chế độ sấy phun dựa vào các chỉ tiêu hiệu suất vi bao tính theo TPC, TFC, và TSC (giá trị tối đa), hoạt độ nước (<0,6) và độ ẩm. Thành phẩm bột nhào vi bao sau khi sấy phun được thu nhận đóng vào túi zip tráng bạc.

Mẫu bột vi bao được xem sự phân bố hình ảnh và cấu trúc hạt vi bao bằng SEM (Scanning Electron Microscopy) và đánh giá chính xác kích thước hạt qua phương pháp DLS.

2.2.3.6 Theo dõi thời gian bảo quản của bột vi bao

Mục đích của thí nghiệm nhằm xác định điều kiện và thời gian bảo quản thích hợp cho bột vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học.

Lập lịch lấy mẫu: Xác định tần suất lấy mẫu (hàng tuần – sau khi thực nghiệm ban đầu là đánh giá theo ngày). Thời gian lấy mẫu cũng cần phù hợp với giá trị Q10 và các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm.

Chọn thời điểm lấy mẫu: Thời gian lấy mẫu phân tích từ 08h30-09h00 thứ 2 hàng tuần để đảm bảo sự đồng bộ và không ảnh hưởng mẫu.

Bột vi bao được tiến hành bảo quản ở các điều kiện khác nhau như nhiệt độ (8 (đôi chứng), 40 và 50°C). Sau mỗi thời gian, mẫu được tiến hành phân tích các chỉ tiêu TPC, TFC và TSC để đánh giá thất thoát các hợp chất có hoạt tính sinh học, từ đó ước tính thời gian bảo quản bột vi bao.

2.2.3.7 Đường cong hấp phụ của bột vi bao

Các dung dịch muối bão hoà sử dụng là NaOH, LiCl, CH₃COOK, K₂CO₃, Mg(NO₃)₂, NaCl, KCl để tạo ra các môi trường có hoạt độ nước (độ ẩm tương đối) khác nhau. Mẫu bột vi bao (2 g) được cho vào các bình (có độ kín cao) có độ ẩm tương đối khác nhau (RH từ 6 đến 87%) và bảo quản ở nhiệt độ môi trường. Sau khi cân bằng ẩm, tiến hành xác định độ ẩm của bột vi bao. Dựa vào các mô hình BET và GAB, tính toán độ ẩm cân bằng của bột.

Bảng 2.3 Năm điều kiện ẩm độ của 5 loại muối khác nhau

| Salts | Solubility (g/100 mL water) | RH at 10°C | RH at 30°C | RH at 40°C |
|---|--|------------|------------|------------|
| Sodium hydroxid NaOH | 111 (20°C) | 0,1 | 0,08 | 0,06 |
| Potassium acetate CH ₃ COOK | 200 | 0,23 | 0,22 | 0,21 |
| Magnesium nitrate Mg(NO ₃) ₂ | 125 | 0,57 | 0,51 | 0,48 |
| Sodium chloride NaCl | 35,9 (25°C) | 0,76 | 0,75 | 0,75 |
| Potassium chloride KCl | 28,1 (0°) 34,0 (20°C) 56,7 (100°C) | 0,87 | 0,84 | 0,83 |

Độ ẩm cân bằng của bột vi bao tối ưu được tính bằng phương trình Brunauer Emmett Teller (BET) và Gugenheim Anderson de Boer (GAB) (Lee & Lee, 2008) như sau:

$$\text{BET: } M_o = \frac{M_C C a_w}{(1-a_w)[1+(C-1)a_w]} \text{ và GAB: } M_o = \frac{M_C C_o K_G a_w}{(1-K_G a_w)(1-K_G a_w + C_G K_G a_w)}$$

Trong đó M_c là độ ẩm của bột vi bao tính bằng g trên 100 g vck; M_o là g nước tương đương với lớp đơn phân tử bị hấp phụ trên 100 g chất rắn khô; a_w là hoạt độ nước ở độ ẩm M_C; C là hằng số BET; C_o, K_G và C_G là các tham số phương trình

GAB (Điểm cố định độ ẩm của dung dịch nước bão hòa nhị phân, theo Tạp chí nghiên cứu của Cục Tiêu chuẩn Quốc gia-A. Vật lý và hóa học. Quyển 81A số 1 (Greenspan, 1977), và đường đẳng hấp phụ và độ trễ hấp phụ của chuỗi có độ ẩm trung bình, theo Tạp chí kỹ thuật thực phẩm (Yan & ctv, 2008)).

2.2.4 Khả năng giải phóng và bảo vệ các hoạt chất trong điều kiện mô phỏng

2.2.4.1 Đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất trong môi trường pH 7,4

Cân 0,2 g bột vi bao nhàu phân tán vào 50 mL dung dịch đệm phosphate (PBS) pH 7,4, khuấy từ với tốc độ 200 vòng/phút trong 2 giờ. Tại các thời điểm cách nhau 15 phút trong quá trình giải phóng, 1 mL mẫu được hút và bù lại 1 mL đệm để tiến hành xác định hàm lượng hoạt chất TPC, TFC, và TSC giải phóng ra môi trường dung dịch. Mẫu được ly tâm ở 6000 rpm trong 5 phút để thu dịch nổi, quy trình định lượng TPC, TFC và TSC được trình bày trong mục 3.3. Phần trăm phóng thích theo thời gian được xác định bằng công thức:

$$\% \text{ Phóng thích} = \frac{C_t V_0 + V \sum_1^{t-1} C_i}{M_0 - \sum_1^{t-1} M_i} \times 100\%$$

Trong đó: C_t , C_i nồng độ hoạt chất giải phóng tại thời điểm t và i ; V_0 : thể tích đệm (mL); M_0 : khối lượng ban đầu của hoạt chất; M_i : khối lượng hoạt chất giải phóng tại thời điểm i ; V : thể tích lấy mẫu (mL).

2.2.4.2 Đánh giá khả năng bảo vệ hoạt chất trong pH đường tiêu hóa

Khả năng bảo vệ hoạt chất của bột vi bao trong đường tiêu hóa được đánh giá *in vitro* bằng môi trường mô phỏng đường tiêu hóa ở hai giai đoạn dạ dày và ruột non. Đầu tiên, phân tán 1 g bột vi bao vào 10 mL dung dịch HCl pH 1,2, mô phỏng dịch vị dạ dày. Hệ thống được lắc bằng máy lắc với vận tốc 100 vòng/phút trong 2 giờ ở 37°C. Tiếp theo, hệ được chuyển sang mô phỏng giai đoạn trong ruột non có pH 6,8 (40 mL đệm PBS). Tiếp tục lắc dung dịch bằng máy lắc với vận tốc 100 vòng/phút trong 6 giờ ở 37°C. Tại các thời điểm cách nhau 30 phút trong suốt quá trình, hút 1

mL mẫu và thay thế vào 1 mL môi trường. Mẫu được ly tâm ở 6000 rpm trong 5 phút lấy dịch nổi, quy trình định lượng TPC, TFC và TSC được trình bày trong mục 3.3.

$$\% \text{ Phóng thích} = \frac{C_t V_0 + V \sum_{i=1}^{t-1} C_i}{M_0 - \sum_{i=1}^{t-1} M_i} \times 100\%$$

Trong đó: C_t , C_i nồng độ hoạt chất giải phóng tại thời điểm t và i ; V_0 : thể tích đệm (mL); M_0 : khối ban đầu của hoạt chất; M_i : Khối lượng hoạt chất giải phóng tại thời điểm i ; V thể tích lấy mẫu (mL).

2.2.4.3 Đánh giá khả năng bảo vệ hoạt chất trong môi trường nhiệt độ

Chuẩn bị 1 g bột vi bao và cao tự do được ủ trong các môi trường nhiệt độ cao 60°C, 100°C trong 1 giờ. Sau đó, tiến hành định lượng lại hàm lượng TPC, TFC, và TSC (quy trình được trình bày trong mục 3.3). Hiệu suất bảo vệ được xác định dựa trên tỷ lệ hàm lượng TFC, TPC và TSC mất đi trên lượng vật chất khô ban đầu.

2.3 Phương pháp phân tích các chỉ tiêu

2.3.1 Định tính các hợp chất sinh học

Định tính của flavonoid, alkaloids, triterpenoids và tannin theo phương pháp của Senguttuvan & ctv (2014).

2.3.2 Định lượng thành phần dinh dưỡng

Định lượng hàm lượng protein theo phương pháp AOAC (2005) (920.103) với hệ số 6.25. Xác định chất béo thô theo phương pháp AOAC (2003.05) (AOAC, 2005; Chau & Huang, 2004). Định lượng hàm lượng carbohydrate theo tiêu chuẩn glucose và sử dụng bước sóng 490nm để đo độ hấp thụ. Định lượng hàm lượng chất xơ dựa trên phương pháp AOAC 995,29 (AOAC, 2005; Chau & Huang, 2004).

Mặc dù chất xơ là một loại carbohydrate, nhưng nó không được phân giải và hấp thu bởi cơ thể. Do đó, trong nhiều trường hợp, hàm lượng carbohydrate tổng được tính riêng và không bao gồm hàm lượng chất xơ. Tuy nhiên, khi cần tổng hợp dữ liệu dinh dưỡng toàn diện, hàm lượng chất xơ vẫn được đo và báo cáo riêng lẻ.

2.3.3 Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

Xác định toàn bộ chất chống oxy hóa đã sử dụng bằng thuốc thử phản ứng (H_2SO_4 0,6M, 1 mL natri phosphat 28 mM và 1 mL ammonium molybdate 4 mM). Phép đo độ hấp thụ của dịch chiết là 695 nm sử dụng tiêu chuẩn acid ascorbic.

Giảm hoạt động năng lượng được xác định dựa trên cơ sở chuyển Fe^{3+} sang Fe^{2+} , đo độ hấp thụ ở 655 nm và sử dụng tiêu chuẩn $FeSO_4$. Chất oxy hóa loại bỏ các gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Chất oxy hóa loại bỏ các gốc tự do DPPH được xác định dựa trên mô tả của nghiên cứu trước đây (Dang & Lovell, 2016).

2.3.4 Định lượng hàm lượng khoáng chất

Định lượng hàm lượng khoáng chất dựa trên phương pháp AOAC (2005) ví dụ, magie (920,09), canxi (910,01), sắt (937,03), natri (956,01), đồng (975,03) và zirconium (975,03) (Debnath & ctv, 2005).

2.3.5 Phương pháp định danh các hợp chất có hoạt tính sinh học

Chương trình sắc ký cho các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trái nhàu được thực hiện trên thiết bị ExionLC™ – X500R QTOF (AB Sciex, USA), sử dụng cột Hypersil GOLD 150 x 2,1 mm; 3 μ m (Thermo Scientific, USA). Thể tích tiêm mẫu là 2 μ l. Pha động bao gồm kênh A là 0,1% formic acid/ H_2O và kênh B là 0,1% formic acid/ Acetonitrile. Chương trình gradient cho hệ thống LC theo Bảng 2.4.

Bảng 2.4 Chương trình gradient cho hệ thống LC-MS/MS

| Thời gian (phút) | % dung môi A | % dung môi B |
|------------------|--------------|--------------|
| 0,0 | 98,0 | 2,0 |
| 1,0 | 98,0 | 2,0 |
| 20,0 | 2,0 | 98,0 |
| 25,0 | 2,0 | 98,0 |

Điều kiện khối phổ: Hệ thống LC kết hợp với khối phổ có độ phân giải cao (HRMS) được trang bị nguồn ion hóa tia điện tử (Electrospray ionization – ESI), chế độ ion âm. Các thông số của QTOF được thể hiện trong Bảng 2.5.

Chế độ full-scan được áp dụng để phân tích, xác định các hợp chất bằng cách sử dụng khối lượng (exact mass) và các mảnh ion phân tử. Để truy xuất thông tin cấu trúc hóa học và các cơ sở dữ liệu về khối phổ, bên cạnh các báo cáo khoa học, các cơ sở dữ liệu trực tuyến đã được tham khảo bao gồm: PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), MassBank (<https://massbank.eu/MassBank/>), Massbank of North America (<https://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/search>), Dictionary of Natural Products (<https://dnp.chemnetbase.com/>).

Bảng 2.5 Các thông số của QTOF

| STT | Scan type | TOFMS | TOFMSMS |
|-----|-----------------------------------|----------|----------|
| 1 | Polarity | Negative | Negative |
| 2 | Ionspray voltage (V) | -4500 | -4500 |
| 3 | CAD gas | 7 | 7 |
| 4 | TOF start mass (Da) | 70 | 50 |
| 5 | TOF stop mass (Da) | 2000 | 1500 |
| 6 | Accumulation time (s) | 0,25 | 0,1 |
| 7 | Declustering potential (V) | -80 | -80 |
| 8 | Declustering potential spread (V) | 0 | 0 |
| 9 | Collision energy (V) | -20 | -35 |
| 10 | Collision energy spread (V) | 10 | 10 |
| 11 | Time bins to sum | 4 | 4 |
| 12 | Q1 resolution | | Unit |

2.3.6 Phương pháp định lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học

Các hợp chất phenolics trong dịch trích nhàu được phân tích bằng máy Shimadzu SPD-20A HPLC system (Shimadzu, U.S.A.). Việc phân tách được thực hiện với cột Inertsil ODS – 3 (4,6 x 250 mm, cỡ hạt 4 µm). Điều kiện được thực hiện theo phương pháp của (Zhu & ctv, 2020). Pha động bao gồm kênh A (0,1% formic acid/nước) và kênh B (0,1% formic acid/ Acetonitrile). Chương trình gradient bao gồm: 0-5 phút, 15% dung môi B; 5-20 phút, 15-25% B; 20-40 phút, 25-50% B; 40-50 phút, 80% B; và 50-60 phút, 15% B. Thể tích tiêm mẫu là 15 µl. Tốc độ dòng là 0,8 mL/phút. Bước sóng quét là 280 nm và 340 nm.

2.3.7 Phân tích hàm lượng polyphenol tổng (TPC)

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định bằng phương pháp quang phổ (Singleton & ctv, 1999). Dịch trích mẫu hoặc dung dịch chuẩn (0,5 mL) được trộn với 2,5 mL dung dịch Folin-Ciocalteau 10% và ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút, tiếp theo bổ sung 2,4 mL dung dịch Na_2CO_3 7,5%. Dung dịch được lắc đều, ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ và đo độ hấp thụ ở bước sóng 765 nm. Acid gallic được sử dụng là chất chuẩn và hàm lượng polyphenol tổng được biểu diễn bằng mg gallic tương đương trong đơn vị khối lượng (mg GAE/g vck).

2.3.8 Phân tích hàm lượng flavonoid tổng (TFC)

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định bằng phương pháp Aluminum Chloride colorimetric (AlCl_3) (Ribarova & ctv, 2005). Cho vào bình định mức 10mL (đã chứa 4 mL nước) 1 mL thể tích mẫu cần định lượng hoặc chất chuẩn quercetin. Thêm tiếp vào bình định mức trên 0,3 mL NaNO_2 5%. Sau 5 phút, cho thêm vào 0,3 mL AlCl_3 10%. Ở phút thứ 6, cho tiếp vào 2 mL NaOH 1M, lắc đều, định mức lên thể tích 10 mL. Sau đó tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 510 nm (Wu & Ng, 2008). Quercetin được sử dụng làm chất chuẩn và hàm lượng flavonoid tổng được biểu diễn bằng mg quercetin tương đương trong đơn vị khối lượng (mg QE/ g vck).

2.3.9 Phân tích hàm lượng saponin triterpenoid tổng (TSC)

Hàm lượng saponin triterpenoid tổng được xác định bằng phương pháp tổng quang phổ (Tan, Sing P & ctv, 2014). Dịch trích (0,3 mL) được trộn với 8% (w/v) dung dịch vanillin (0,3 mL) và 72% (v/v) acid sulphuric (3 mL). Hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ 60°C trong 15 phút và làm nguội trong nước đá trong 10 phút. Tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 560 nm. Aescin được sử dụng là chất chuẩn. Hàm lượng saponin triterpenoid tổng được biểu diễn bằng mg Aescin tương đương trong đơn vị khối lượng (mg AE/g vck).

2.3.10 Phân tích hàm lượng vitamin C

Hàm lượng vitamin C được xác định bằng phương pháp chuẩn độ 2,6-dichlorophenol-indophenol (DCPIP) (CoSeteng & ctv, 1989) với chút sửa đổi. Dùng pipet hút 1 mL chất chuẩn (0,1 mg/mL) acid ascorbic và 2 mL acid oxalic 4% cho vào bình tam giác. Chuẩn độ bằng dung dịch thuốc nhuộm cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt, bền trong vài phút (V1). Khoảng 1 mL mẫu thử được chuẩn độ tương tự với dung dịch thuốc nhuộm (V2). Hàm lượng vitamin C có trong mẫu được biểu diễn bằng mg AA/g vck.

2.3.11 Ẩm độ

Độ ẩm của các mẫu được xác định bằng phương pháp sấy ở nhiệt độ 105°C hoặc cân sấy ẩm 130°C đến khối lượng không đổi.

2.3.12 Hoạt tính nước

Máy đo hoạt độ nước (Aqualab của Mỹ) được sử dụng để đo hoạt độ nước của bột nhào và bột vi bao.

2.3.13 Cấu trúc hạt vi bao dạng rắn

Thiết bị Scanning Electron Microscopy (SEM) được dùng để xem cấu trúc bột vi bao nhào và thiết bị SZ-100 (Dynamic Light Scattering) được dùng để đo chính xác kích thước của hạt Mẫu được gửi phân tích tại Viện Hàn Lâm Công nghệ Hoá học (Số 1, Mạc Đình Chi, Quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh).

2.3.14 Phân tích tán xạ ánh sáng động kết hợp phân tích pha (DLS)

Phương pháp tán xạ ánh sáng động xác định kích thước vật liệu dựa trên sự tán xạ ánh sáng khi vật liệu chuyển động Brown trong môi trường phân tán. Các tiểu phân có kích thước nhỏ chuyển động nhanh hơn so với những tiểu phân có kích thước lớn. Do đó, kích thước vi hạt trực tiếp ảnh hưởng đến tốc độ chuyển động của chúng. Phương pháp được miêu tả trong công bố của Nguyen & ctv (2024). Độ ổn định của hạt phụ thuộc vào điện thế zeta như Bảng 2.6.

Bảng 2.6 Độ ổn định của dung dịch hạt phụ thuộc vào thế zeta

| Thế zeta (mV) | Độ ổn định |
|-----------------------|---------------------------------|
| 0 đến ± 5 | Đông tụ hoặc kết tụ nhanh chóng |
| ± 10 đến ± 30 | Ổn định yếu |
| ± 30 đến ± 40 | Ổn định trung bình |
| ± 40 đến ± 60 | Ổn định tốt |
| $> \pm 61$ | Rất ổn định |

Mẫu bột vi bao trước khi đo được phân tán vào nước. Cân 0,1 g mẫu phân tán vào 10 mL nước bằng sóng siêu âm. Sau đó tiến hành cho từ từ dung dịch phân tán vào buồng bơm mẫu phép đo được thực hiện ở nhiệt độ 25°C.

2.3.15 Nhiễu xạ tia X

Phương pháp nhiễu xạ tia X (X-ray diffraction-XRD) dùng để xác định thành phần cấu trúc mạng tinh thể của mẫu cần nghiên cứu được thực hiện theo miêu tả trong công bố của Nguyen & ctv (2024).

2.3.16 Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR)

Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (Fourier transformed infrared spectroscopy-FTIR) là một trong những kỹ thuật được sử dụng nhiều nhất để khẳng định hạt đã được vi bao hay chưa do tính đơn giản và sẵn có của phép đo, được thực hiện theo miêu tả trong công bố của Nguyen & ctv (2024).

2.3.17 Quét nhiệt vi sai (DSC)

DSC là phương pháp phân tích nhiệt mà ở đó chênh lệch về nhiệt độ giữa hai mẫu chuẩn và mẫu nghiên cứu luôn được duy trì bằng không. Enthalpy của các quá trình này được xác định bằng cách xác định lưu lượng nhiệt vi sai cần để duy trì mẫu vật liệu và mẫu trơ ở cùng nhiệt độ, được thực hiện theo miêu tả trong công bố của Nguyen & ctv (2024).

2.3.18 Phương pháp phổ tử ngoại khả kiến (UV-Vis)

Phổ tử ngoại khả kiến Ultraviolet-Visible (UV-Vis) spectroscopy, là phương pháp phân tích phổ biến được sử dụng từ lâu trong lĩnh vực nano và các loại vật liệu

khác. Phương pháp UV-Vis dùng để định tính, định lượng các chất có màu và dung dịch keo dựa vào cường độ hấp thụ cực đại của vật liệu ở bước sóng cực đại (λ_{\max}), mật độ quang (A) và bề rộng hấp thụ.

Phổ UV-Vis là phổ hấp thụ năng lượng ánh sáng của dung dịch phân tử hoặc dung dịch ion, ứng với mỗi phân tử hoặc ion chuyển mức năng lượng thu được vân phổ. Phương pháp trắc quang, đo UV-Vis là một phương pháp định lượng giúp xác định nồng độ của các chất thông qua độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch.

2.3.19 Tỷ trọng khối và tỷ trọng gõ

Tỷ trọng khối (khối lượng riêng thô) của bột là tỷ số giữa khối lượng của bột chưa bị dòn nén so với thể tích của nó, bao gồm cả khoảng trống giữa các hạt bột. Khối lượng riêng gõ (tỷ trọng gõ) là khối lượng riêng thô của bột tăng lên khi dòn nén bột bằng tác động cơ học. Tỷ trọng khối và tỷ trọng gõ được thực hiện theo miêu tả trong công bố của Nguyen & ctv (2024). Thí nghiệm được tiến hành 3 lần để xác định giá trị trung bình. Giá trị C càng lớn khả năng chảy của hạt càng kém. Giá trị $C \leq 15$: tron chảy tốt, $16 \leq C \leq 20$: tron chảy tương đối tốt, $21 \leq C \leq 25$: có thể chảy được, $C \geq 26$: tron chảy kém.

2.4 Phương pháp thu thập số liệu và xử lý thống kê

Tất cả các số liệu thu thập dựa trên kết quả lặp lại ít nhất 3 lần cho mỗi đơn vị thí nghiệm. Việc xác định thông số tối ưu cho một kết quả nghiên cứu được dựa trên các khoảng khảo sát của từng thí nghiệm đơn lẻ; sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng RSM với điểm trung tâm (CCD). Phương trình tương quan được chọn lựa dựa trên tác động của các yếu tố khảo sát (2 hay nhiều yếu tố) đến kết quả thu nhận bằng các thử nghiệm phương trình hồi quy đa thức theo phương pháp bình phương nhỏ nhất. Việc xác định phương trình tối ưu hóa sử dụng mô hình nhiều yếu tố và tối ưu hóa nhiều đáp ứng. Các dạng phương trình hồi quy thường áp dụng đối với lĩnh vực kỹ thuật, công nghệ bao gồm:

$$\text{Mô hình bậc hai tuyến tính: } y = \zeta(x_1, x_2, \dots, x_k) = b_0 + \sum b_j x_j + \sum b_{ju} x_j x_u + \dots$$

Mô hình bậc hai phi tuyến: $y = b_0 + \sum b_j x_j + \sum b_{ju} x_j x_u + \dots + \sum b_{jj} x_j^2$

Với: b_0 là hệ số hồi quy; b_j là hệ số tuyến tính; b_{ij} là hệ số tương tác cặp; k là số yếu tố khảo sát ($x_1 \dots x_k$).

Các phần mềm thống kê và phân tích sử dụng bao gồm JMP 16.0, SPSS 15.0, ANOVA (Analysis of Variance) và LSD (Least Significant Difference) ở mức ý nghĩa 5% ($P < 0,05$).

Các số liệu được biểu diễn bằng đồ thị được vẽ bằng Excel 16.0.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Khảo sát một số mẫu nguyên liệu trái nhàu

3.1.1 Các hợp chất sinh học

Tất cả các mẫu nguyên liệu *Morinda L.* như *Morinda tomentosa* và *Morinda citrifolia* xuất xứ từ Khánh Hòa, Bình Phước và tỉnh Cà Mau đều chứa flavonoid, triterpenoid, alkaloid và tannin. Các hợp chất sinh học ở các mẫu *Morinda L.* khác nhau và phụ thuộc vào môi trường sống. Mục khảo sát được trình bày qua Bảng 3.1.

Bảng 3.1 Khảo sát hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong các mẫu trái nhàu thu thập từ các vùng khác nhau

| Các hợp chất sinh học | Mẫu <i>Morinda L.</i> | | |
|-----------------------|--------------------------|---------------------------|--------|
| | <i>Morinda tomentosa</i> | <i>Morinda citrifolia</i> | |
| | Khánh Hòa | Bình Phước | Cà Mau |
| Flavonoid | +++ | ++ | + |
| Triterpenoid | + | + | ++ |
| Alkaloid | ++ | ++ | + |
| Tannin | + | + | + |

Lưu ý: có “+”; có nhiều “++”; có rất nhiều “+++”

Hàm lượng flavonoid trong mẫu *Morinda tomentosa* xuất xứ từ Khánh Hòa là cao nhất, tiếp đó là *Morinda citrifolia* xuất xứ từ tỉnh Bình Phước và tỉnh Cà Mau. Hàm lượng triterpenoid có trong mẫu *Morinda citrifolia* xuất xứ từ tỉnh Cà Mau là cao nhất so với mẫu *Morinda L.* xuất xứ từ tỉnh Khánh Hòa và tỉnh Bình Phước. Triterpenoid và alkaloid trong *Morinda L.* xuất xứ từ tỉnh Khánh Hòa tương đương với tỉnh Bình Phước. Hàm lượng tannin có trong mẫu *Morinda tomentosa* và *Morinda citrifolia* là tương đương nhau.

Mẫu *Morinda tomentosa* xuất xứ từ tỉnh Khánh Hòa có thành phần hóa học giảm dần theo thứ tự sau: flavonoid, alkaloid, và triterpenoid tannin. Mẫu *Morinda*

citrifolia xuất xứ từ tỉnh Cà Mau có hàm lượng triterpenoid cao nhất, sau đó là flavonoid, alkaloid và tannin. Hàm lượng flavonoid và alkaloid tương đương nhau, hàm lượng triterpenoid và tannin cũng gần như nhau trong mẫu *Morinda citrifolia* xuất xứ từ tỉnh Bình Phước.

3.1.2 Thành phần chất dinh dưỡng và khoáng chất

Kết quả cho thấy thành phần dinh dưỡng trong nhàu bao gồm: protein, chất béo, carbohydrate, và chất xơ có hàm lượng lần lượt là: 2.72 ± 0.11 đến 3.46 ± 0.15 (%), 7.53 ± 0.34 đến 9.72 ± 0.26 (%), 23.81 ± 0.69 đến 25.17 ± 0.58 (%), 48.55 ± 1.89 đến 49.26 ± 1.86 (%) (Bảng 3.2). Hàm lượng của protein và chất béo giảm theo thứ tự như sau: Bình Phước, Cà Mau, Khánh Hoà.

Bảng 3.2 Thành phần các chất dinh dưỡng có trong các mẫu trái nhàu

| Các chất | Mẫu nhàu | | |
|------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|
| | <i>Morinda tomentosa</i> | <i>Morinda citrifolia</i> | |
| | Khánh Hòa | Bình Phước | Cà Mau |
| Protein (% , vck) | $2,72 \pm 0,11^a$ | $3,46 \pm 0,15^b$ | $2,98 \pm 0,12^c$ |
| Béo (% , vck) | $7,53 \pm 0,34^a$ | $9,72 \pm 0,26^b$ | $8,64 \pm 0,18^c$ |
| Carbohydrate (% , vck) | $25,17 \pm 0,58^a$ | $23,81 \pm 0,69^b$ | $24,03 \pm 0,84^{ab}$ |
| Xơ (% , vck) | $49,26 \pm 1,82^a$ | $48,55 \pm 1,89^a$ | $49,11 \pm 2,06^a$ |

Hàm lượng protein và chất béo có sự khác nhau giữa 2 loại nhàu *Morinda citrifolia* và *Morinda tomentosa*, điều này tùy thuộc vào môi trường sống ($p < 0,05$). Hàm lượng protein trong nhàu *Morinda tomentosa* Khánh Hòa và *Morinda citrifolia* xuất xứ từ tỉnh Cà Mau cao hơn 0,79 và 0,86 lần so với nhàu xuất xứ từ Bình Phước.

Lượng chất béo có giá trị cao nhất trong *Morinda citrifolia* xuất xứ từ Bình Phước cao hơn 1,29 lần so với nhàu xuất xứ từ Khánh Hòa và cao hơn 1,23 lần so với nhàu Cà Mau.

Hàm lượng carbohydrate trong trái nhàu trồng ở Bình Phước thấp hơn so với Khánh Hoà và Cà Mau ($p < 0,05$). Nhàu xuất xứ từ Khánh Hoà - Cà Mau không có sự chênh lệch đáng kể về lượng carbohydrate.

Hàm lượng chất xơ trong nhàu xuất xứ từ Khánh Hoà, Bình Phước, và tỉnh Cà Mau không có sự khác biệt đáng kể ($p > 0,05$). Từ đó cho thấy hàm lượng chất xơ trong nhàu không phụ thuộc vào loài trong các mẫu khảo sát.

Thành phần chất dinh dưỡng ở trái nhàu trong nghiên cứu hiện tại khác đáng kể so với những nghiên cứu trước đây về quả nhàu. Tuy nhiên, có thể nhận thấy tính giao động tương đối và bù đắp lẫn nhau giữa các thành phần trong các mẫu nhàu.

Dựa vào Bảng 3.3 ta có thể thấy rõ thành phần khoáng chất của nhàu Bình Phước là cao nhất (hàm lượng Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Na^+ , Cu^{2+} lần lượt là 5,532.19; 5,147.63; 275.31; 190.12; 5,103.11; 5.59 ppm), tiếp theo là Cà Mau, và cuối cùng là Khánh Hòa. Các sự khác nhau này có thể do ảnh hưởng của yếu tố thổ nhưỡng ở từng vị trí địa lý khác nhau.

Bảng 3.3 Thành phần khoáng chất trong các mẫu trái nhàu

| Khoáng chất các loại | Mẫu <i>Morinda L.</i> | | |
|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | <i>Morinda tomentosa</i> | <i>Morinda citrifolia</i> | |
| | Khánh Hòa | Bình Phước | Cà Mau |
| Ca^{2+} (ppm) | 5218,62 ± 141,29 ^a | 5532,19 ± 135,74 ^b | 5368,17 ± 128,36 ^{ab} |
| Mg^{2+} (ppm) | 5013,77 ± 142,67 ^a | 5147,63 ± 148,22 ^a | 4924,89 ± 156,73 ^a |
| Fe^{3+} (ppm) | 213,59 ± 6,93 ^a | 275,31 ± 7,17 ^b | 249,88 ± 6,93 ^c |
| Zn^{2+} (ppm) | 176,48 ± 5,19 ^a | 190,12 ± 8,53 ^b | 184,11 ± 6,22 ^{ab} |
| Na^+ (ppm) | 4952,75 ± 170,28 ^a | 5103,11 ± 193,74 ^a | 4901,05 ± 172,91 ^a |
| Cu^{2+} (ppm) | 3,21 ± 0,07 ^a | 5,59 ± 0,14 ^b | 4,48 ± 0,16 ^c |

Các giá trị trong cùng một hàng không chia sẻ chữ cái (a, b, c) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Sau khi đánh giá kết quả các hợp chất sinh học, thành phần dinh dưỡng và khoáng chất trong các mẫu nhàu nguyên liệu cho thấy có sự khác biệt giữa các giống và vùng trồng khác nhau. Tuy nhiên, đối tượng nghiên cứu chính của đề tài là các chất có hoạt tính sinh học trong *Morinda citrifolia L.* Công ty Mekong Herbals có 2 vùng trồng *M. citrifolia L.* tại Bình Phước và Tiền Giang (TPC: 7,84 mg GAE/g vck; TFC: 3,39 mg QE/g vck; TSC: 29,6 mg AE/g vck) đều cho kết quả hàm lượng tương

đồng các chất polyphenol, flavonoid và saponin cao (Phụ lục 2). Để đảm bảo thời gian thu hoạch phù hợp, điều kiện vận chuyển tối ưu và nhanh nhất cho nghiên cứu ảnh hưởng độ chín và bảo quản sau thu hoạch, và tính ổn định của số liệu, Tiền Giang được chọn là vùng trồng để thu hái trái nhàu cho các thí nghiệm tiến hành tiếp theo.

3.2 Ảnh hưởng của độ chín thu hoạch và thời gian bảo quản đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học và các chỉ tiêu hoá lý

3.2.1 Độ chín thu hoạch

Trong công nghiệp chế biến thực phẩm, xác định độ chín khi thu hoạch đóng vai trò quan trọng trong việc đảm bảo chất lượng tốt nhất như hàm lượng các chất dinh dưỡng cao nhất, các chỉ tiêu vật lý, và vi sinh. Trong nghiên cứu này, đánh giá độ chín khi thu hoạch trái nhàu dựa vào hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học như polyphenols (TPC), flavonoids (TFC), saponin (TSC) và vitamin C (Vit C). Kết quả đánh giá được trình bày ở Bảng 3.4.

Bảng 3.4 Hàm lượng polyphenol, favonoid, saponin và vitamin C trong trái nhàu theo thời gian theo độ chín khác nhau

| Độ chín khi thu hoạch | TPC mg GAE/g vck | TFC mg QE/g vck | TSC mg AE/g vck | Vit C mg AA/g vck |
|---|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| Đạt độ chín từ 90-95 ngày kể từ ngày ra hoa | 5,34±0,28 ^a | 1,49±0,09 ^a | 20,23±2,13 ^a | 1,41±0,07 ^a |
| Đạt độ chín từ 100-107 ngày kể từ ngày ra hoa | 6,69±0,14 ^b | 2,55±0,37 ^b | 25,35±0,82 ^b | 1,98±0,04 ^b |
| Đạt độ chín từ 110-117 ngày kể từ ngày ra hoa | 7,77±0,22 ^c | 4,67±0,20 ^c | 37,2±2,10 ^c | 2,33±0,18 ^c |

Các giá trị trong cùng một cột không chia sẻ chữ cái (a, b, c) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả phân tích thống kê cho thấy độ chín thu hoạch có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học ($p < 0,001$). Nhìn chung, hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học như polyphenol, flavonoid, saponin và vitamin C

đạt được cao nhất khi trái nhàu đạt độ chín hoàn toàn (110-117 ngày). Theo kết quả thí nghiệm, khi quá giai đoạn chín hoàn toàn, trái nhàu sẽ trở nên nhũn, biến đổi về màu sắc, trạng thái cũng như hàm lượng các hoạt chất sinh học sẽ bị giảm đáng kể trong thời gian rất ngắn (dưới 1 ngày) (chi tiết trong phần ảnh hưởng của thời gian bảo quản bên dưới). Vì thế, để đánh giá sự thay đổi về hàm lượng các chất dinh dưỡng trái nhàu được thu hoạch ở độ chín 100-107 ngày tính từ ngày ra hoa. Trên thực tế, người nông dân thường thu hoạch sớm hơn (khoảng 80 ngày) để đảm bảo độ cứng và đủ thời gian cho chuỗi cung ứng thu gom và phân phối đến nhà máy chế biến và/hoặc người tiêu dùng. Do đó, nghiên cứu này đã cân nhắc yếu tố thời gian lưu ước tính để chọn các khung thời gian khảo sát cho phù hợp.

3.2.2 Thời gian bảo quản

Theo kết quả thí nghiệm, khi qua giai đoạn chín hoàn toàn, trái nhàu sẽ trở nên nhũn, biến đổi về màu sắc, trạng thái cũng như hàm lượng các hoạt chất sinh học sẽ bị giảm đáng kể trong thời gian rất ngắn (1-2 ngày). Vì thế, để đánh giá sự thay đổi về hàm lượng các chất dinh dưỡng trái nhàu được thu hoạch ở độ chín từ 100 – 107 ngày kể từ ngày ra hoa. Trong nghiên cứu này, sự thay đổi hàm lượng các hợp chất sinh học (Bảng 3.5) và các chỉ tiêu màu sắc và hoá lý (Bảng 3.6) theo các thời gian bảo quản khác nhau khi trái nhàu được thu hoạch ở độ chín 100-107 ngày tính từ ngày ra hoa đã được tiến hành đánh giá.

Kết quả phân tích thống kê cho thấy hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học bị ảnh hưởng đáng kể bởi thời gian bảo quản ($p < 0,001$). Kết quả bắt đầu phân tích (Bảng 3.5) không khác biệt đáng kể so với kết quả khảo sát trước đó cho giai đoạn 100-107 ngày kể từ ngày ra hoa (Bảng 3.4). Khi thời gian bảo quản tăng từ ngày đầu tiên đến ngày thứ 3, và đạt cực đại ở ngày thứ 3. Sau đó hàm lượng các hợp chất dinh dưỡng giảm dần theo thời gian bảo quản. Từ các kết quả này, trái nhàu nên thu hoạch ở thời điểm trái đạt độ chín từ 100-107 ngày kể từ lúc ra hoa và bảo quản trong thời gian khoảng 3 ngày hoặc thu hoạch khi trái chín hoàn toàn (màu trắng ngà) để có hàm lượng các hợp chất hoạt tính sinh học cao nhất.

Về màu sắc, kết quả phân tích thống kê cho thấy có sự thay đổi màu sắc rõ rệt (thể hiện ở độ sáng tối (giá trị L) ($p < 0,001$) và giá trị a âm thì ngả sang màu lục ($p < 0,01$); giá trị b không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Trong hệ thang màu Hunterlab, khi đánh giá màu sắc trái nhàu cần phải xét cả ba giá trị L, a và b. Kết quả phân tích hệ màu và quan sát bằng mắt thường cho thấy khi trái chín theo thời gian bảo quản thì màu sắc của trái sẽ bị thay đổi theo chiều hướng độ sáng giảm và trái chuyển sang màu lục vàng (đại diện cho a giảm và b giảm). Hình trái nhàu bảo quản thực tế được trình bày ở Phụ lục 1.

Bảng 3.5 Hàm lượng polyphenol, favonoid, saponin và vitamin C trong trái nhàu theo thời gian bảo quản

| Thời gian bảo quản (ngày) | TPC mg GAE/g vck | TFC mg QE/g vck | TSC mg AE/g vck | Vit C mg AA/g vck |
|----------------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|
| 0 | 6,15±0,14 ^a | 2,22±0,16 ^{af} | 25,98±2,34 ^a | 1,68±0,18 ^a |
| 1 | 6,69±0,17 ^{bg} | 2,41±0,05 ^{abe} | 24,19±1,51 ^a | 1,52±0,13 ^a |
| 2 | 7,15±0,51 ^c | 2,65±0,08 ^c | 25,71±2,89 ^a | 2,69±0,22 ^b |
| 3 | 7,84±0,06 ^c | 3,39±0,16 ^d | 29,63±0,50 ^b | 2,66±0,15 ^b |
| 4 | 6,45±0,36 ^{ag} | 2,46±0,18 ^{ce} | 24,95±0,51 ^a | 2,01±0,25 ^c |
| 5 | 4,81±0,09 ^d | 2,11±0,10 ^f | 13,50±1,3 ^c | 1,19±0,07 ^d |
| 6 | 3,53±0,3 ^e | 1,80±0,07 ^g | 10,20±1,13 ^d | 1,01±0,10 ^d |
| 7 | 2,16±0,12 ^f | 1,21±0,12 ^h | 8,98±0,52 ^d | 0,92±0,13 ^d |

Các giá trị trong cùng một cột không chia sẻ chữ cái (a-g) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Về độ ẩm, theo thời gian bảo quản thì độ ẩm không thay đổi đáng kể trong 5 ngày bảo quản đầu tiên. Chỉ khi bắt đầu quá trình hư hỏng đặc biệt qua ngày 6, 7 ($p < 0,01$) cấu trúc trái thay đổi, quá trình hô hấp làm tăng hàm lượng nước, trái mềm hơn. Giá trị khối lượng chỉ mang tính chất tham khảo, khối lượng trái nhàu trong nghiên cứu này dao động từ 61 đến 82 g. Khi kéo dài thời gian bảo quản trái độ Brix tăng từ ngày bảo quản thứ 0 (Brix thấp nhất) đến các ngày bảo quản tiếp theo ($p < 0,05$), tuy nhiên độ Brix giữa các ngày bảo quản là không đáng kể. Kết quả phân tích thống

kê cho thấy giá trị pH của trái nhàu thay đổi không đáng kể ($p > 0,05$), dao động trong khoảng 3,83 đến 4,70.

Bảng 3.6 Thông số vật lý và hóa lý của trái nhàu theo thời gian bảo quản

| Thời gian (ngày) | L | a | b | Độ ẩm (%) | Khối lượng (g) | Brix | pH |
|------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------|------------------------|----------------------|
| 0 | 49,8±1,5 ^{ad} | -14,0±1,0 ^a | 30,7±1,4 ^a | 81,2±1,1 ^a | 66,6±4,2 | 3,1±0,1 ^a | 4,6±0,1 ^a |
| 1 | 55,0±1,6 ^b | -13,8±1,4 ^a | 30,5±2,8 ^a | 81,1±0,9 ^a | 65,1±5,0 | 4,9±0,1 ^{bef} | 4,3±0,2 ^a |
| 2 | 53,5±3,5 ^{ab} | -15,0±0,8 ^a | 36,1±2,6 ^a | 81,8±0,4 ^a | 65,3±5,0 | 4,7±0,1 ^{bc} | 4,2±0,2 ^a |
| 3 | 62,3±1,0 ^c | -14,1±1,0 ^a | 36,2±1,7 ^a | 81,6±1,8 ^a | 74,1±4,7 | 4,7±0,1 ^c | 4,2±0,3 ^a |
| 4 | 60,8±2,8 ^c | -14,8±2,2 ^a | 35,5±1,3 ^a | 81,7±1,6 ^a | 78,5±2,1 | 4,7±0,1 ^{cd} | 4,2±0,4 ^a |
| 5 | 61,8±3,0 ^c | -8,0±3,3 ^{bc} | 30,7±7,5 ^a | 80,6±1,5 ^a | 73,0±6,4 | 4,7±0,1 ^c | 4,1±0,4 ^a |
| 6 | 47,9±3,3 ^d | -10,1±6,9 ^{abc} | 26,7±7,2 ^a | 84,2±1,0 ^b | 77,2±4,7 | 4,8±0,1 ^{ce} | 4,0±0,1 ^a |
| 7 | 47,7±2,1 ^d | -5,3±2,6 ^b | 27,7±5,6 ^a | 84,6±1,0 ^b | 70,1±5,2 | 5,0±0,1 ^{df} | 4,0±0,1 ^a |

Các giá trị trong cùng một cột không chia sẻ chữ cái (a-f) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.2.3 Tiền xử lý và nhiệt độ sấy

Độ ẩm ban đầu của các mẫu dao động từ 88,5 đến 92,2%. Độ ẩm đạt tối đa trước khi giảm dần cho đến sau vài giờ sấy khô trong các điều kiện tiền xử lý khác nhau, tất cả đều mất nước với tốc độ tương đối giống nhau. Có thể kết luận rằng TPC, TFC và TSC của sản phẩm bột từ trái nhàu bị giảm đáng kể và bị ảnh hưởng bởi các phương pháp tiền xử lý. Tuy nhiên, ngâm dung dịch acid ascorbic hoặc metabisulfite trước khi sấy khô cũng có lợi trong việc bảo quản TPC, TFC và TSC. Vì người tiêu dùng có thể có xu hướng hạn chế sulfur dioxide phát sinh trong quá trình bảo quản, nên tiền xử lý bằng acid ascorbic trước khi sấy là lựa chọn phù hợp (Phục lục 4 và 5).

Khi nhiệt độ sấy tăng lên, vật liệu được làm nóng nhanh chóng, áp suất bên trong và bên ngoài sự khác biệt của nguyên liệu tăng lên, độ ẩm trong nguyên liệu vật liệu giảm nhanh hơn khi tốc độ truyền hơi ẩm từ bên trong vật liệu đến và từ bề mặt tăng. Do đó, phải mất 7 giờ để mẫu được sấy khô trong ở 50°C để đạt độ ẩm 6%, đồng thời

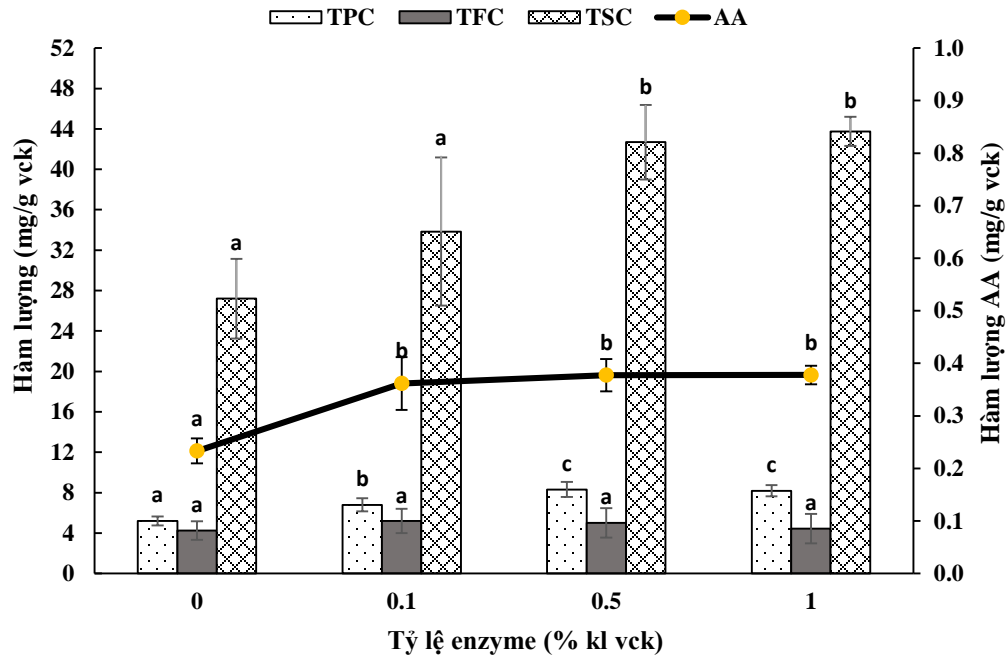
sấy ở 80°C cho mẫu khô là khoảng 3 giờ. Kết quả chi tiết của khảo sát tiền xử lý và nhiệt độ sấy được trình bày trong Phụ lục 4.7 và nghiên cứu công bố trước đây bởi . Các hợp chất có hoạt tính sinh học của quả nhàu định lượng ở các thời điểm sấy khác nhau, nhiệt độ khác nhau là đáng kể, tối ưu nhất tìm thấy trong các mẫu sấy khô ở 60°C cho TPC, TFC và TSC tương ứng là 13,945 mg GAE/g, 2,51 mg QE/g, và 31,16 mg AE/g. Các hoạt chất này giảm khi ở 70 và 80°C. Do đó, bước tiền xử lý với acid ascorbic (1% trong 1 giờ) và sấy trong tủ sấy khí nóng ở 60°C (trong khoảng 6 giờ) là quy trình tối ưu cho trái nhàu khảo sát trong nghiên cứu này.

3.3 Trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu

3.3.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu

Enzyme sử dụng trong quá trình trích ly nhằm hỗ trợ việc phá vỡ cấu trúc vật liệu giúp giải phóng các hợp chất có hoạt tính sinh học vào trong dung môi nước, nâng cao hiệu quả trích ly. Một trong những yếu tố quan trọng cần khảo sát là lượng enzyme cần dùng vừa đủ tác dụng với lượng cơ chất có trong mẫu sao cho tiết kiệm enzyme nhất và đạt hiệu quả trích ly cao. Do đó, enzyme đã được sử dụng với các tỷ lệ khác nhau để đánh giá hiệu quả trích ly dựa vào polyphenol tổng (TPC), flavonoid tổng (TFC), saponin triterpenoid tổng (TSC), và vitamin C. Kết quả được trình bày qua Hình 3.1.

Hình 3.1 cho thấy tỷ lệ enzyme ảnh hưởng đáng kể đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu. Tuy nhiên, hàm lượng flavonoid tổng được ghi nhận là khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$). Cụ thể, hàm lượng polyphenol tổng, saponin triterpenoid tổng, vitamin C có khuynh hướng tăng khi tăng tỷ lệ enzyme từ 0% cho đến khi đạt 0,5% ($p < 0,05$). Nếu tiếp tục tăng tỷ lệ này lên 1% thì hàm lượng các chất không thay đổi đáng kể và không tìm thấy sự khác biệt ý nghĩa thống kê so với khi sử dụng tỷ lệ enzyme là 0,5%. Hàm lượng thu nhận được tối đa là $8,30 \pm 0,75$ mg GAE/g vck (TPC); $5,19 \pm 1,20$ mg QE/g vck (TFC); $43,75 \pm 1,45$ mg AE/g vck (TSC) và $0,38 \pm 0,02$ mgAA/g vck.



Hình 3.1 khảo sát hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học theo tỉ lệ enzyme khác nhau

Các giá trị trong cùng một cột không chia sẻ chữ cái (a, b, c) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Tiền xử lí bằng siêu âm giúp phá vỡ cấu trúc tế bào một cách ngẫu nhiên giải phóng các hợp chất có hoạt tính sinh học, có thể kể đến sự phóng thích các hợp chất phenolic thông qua việc cắt đứt liên kết của nó với polysaccharid hoặc protein (Vilkhu & ctv, 2008). Đồng thời, việc làm phá vỡ vách tế bào thực vật tạo điều kiện thuận lợi cho enzyme hoạt động. Enzyme (hỗn hợp cellulase, hemicellulase và pectinase) làm tăng hiệu quả trích ly thông qua việc thủy phân chất nền thu được sau quá trình siêu âm một cách có chọn lọc giúp cải thiện sự phân bố dung môi, giảm kích thước hạt và độ nhớt, tăng tốc độ truyền khối, do đó tăng khả năng thu hồi các phenol liên kết cũng như các hợp chất khác (Ajila & ctv, 2011). Flavonoid tổng cũng có khuynh hướng tương tự như hợp chất polyphenol do có cùng nhóm chất. Tương tự, các hợp chất saponin triterpenoid và vitamin C cũng có khuynh hướng tăng dần khi tăng tỷ lệ enzyme. Enzyme thủy phân pectin và cellulose trong cấu trúc mô thực vật và dịch trong tế bào thoát ra bên ngoài dễ dàng hơn. Kết quả thí nghiệm tương tự như Trương

Hoàng Duy và cộng sự (Trương Hoàng Duy & ctv, 2014) đưa ra: khi tăng tỷ lệ enzyme thì hàm lượng saponin triterpenoid tổng thu nhận được cũng tăng.

Xu hướng chung cho thấy các hợp chất tăng lên khi tăng tỷ lệ enzyme từ 0% đến 0,5% và có khuynh hướng không tăng nữa khi tiếp tục tăng tỷ lệ này lên 1%. Điều này có thể là do khi thừa cơ chất, vận tốc phản ứng tăng khi tỷ lệ enzyme tăng nhưng khi enzyme bão hòa với cơ chất (0,5%), vận tốc phản ứng không thay đổi hoặc không tăng mặc dù tiếp tục bổ sung enzyme. Vì vậy, tỷ lệ enzyme 0,5% được chọn làm thông số cố định để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.3.2 Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu

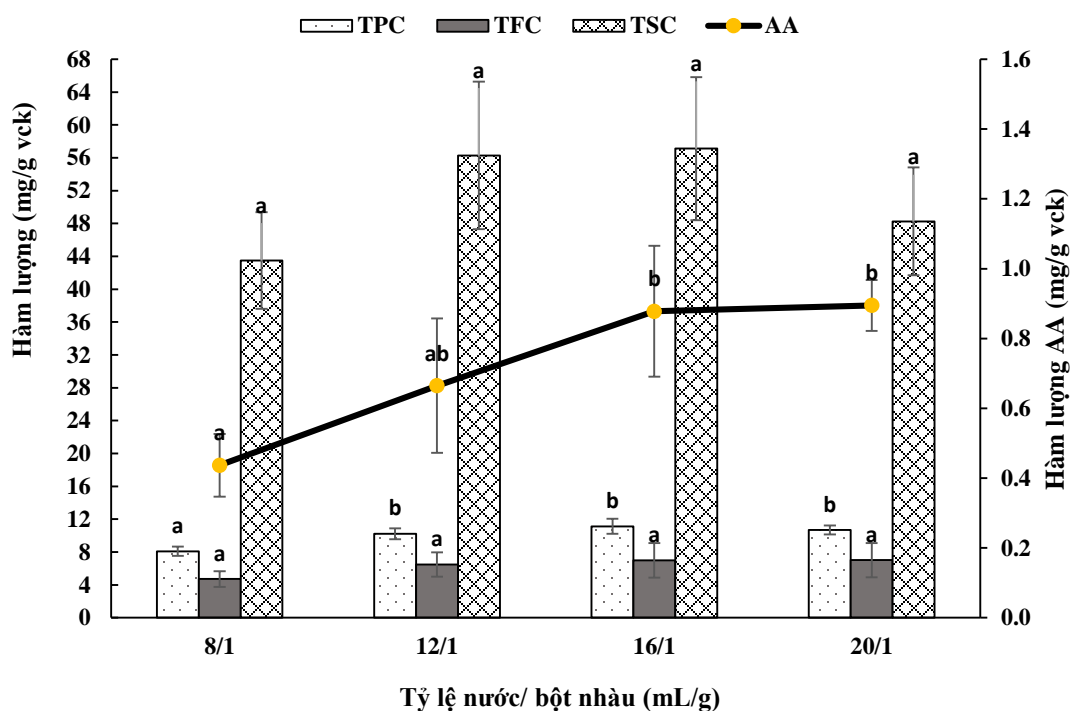
Dung môi là một trong các yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng hòa tan và độ bền của các hợp chất có hoạt tính kháng oxy hóa, đại diện là hai nhóm polyphenol và flavonoid. Khi lượng dung môi tăng, tạo cơ hội các hoạt chất sinh học tiếp xúc với dung môi dẫn đến khả năng thẩm thấu cao hơn. Tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu lớn cho thấy sự khác biệt về nồng độ giữa dung môi và các chất hòa tan trở nên lớn. Vì vậy, nhiều hoạt chất sinh học có thể hòa tan nếu lượng nước được sử dụng nhiều hơn (Cacace & Mazza, 2003). Tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu là yếu tố không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế cũng như việc tinh sạch về sau. Vì thế, cần nghiên cứu để chọn được tỷ lệ dung môi sao cho các hợp chất thu được cao nhất mà lượng dung môi sử dụng là ít nhất. Bốn tỷ lệ nước/ bột nhàu: 8/1 (mL/g), 12/1 (mL/g), 16/1 (mL/g) và 20/1 (mL/g) đã được khảo sát và kết quả thu được như Hình 3.2.

Kết quả thực nghiệm cho thấy, tổng hàm lượng các hợp chất polyphenol, flavonoid, saponin triterpenoid và vitamin C thu được lần lượt là $8,09 \pm 0,57$ mg GAE/g vck, $4,71 \pm 0,96$ mg QE/g vck, $43,48 \pm 5,88$ mgAE/g vck, và $0,44 \pm 0,09$ mgAA/g vck khi tỷ lệ dung môi/ bột nhàu ở mức 8/1 (mL/g) và hàm lượng đạt cao nhất khi tỷ lệ này tăng lên 16/1 (mL/g) tương ứng là $11,11 \pm 0,92$ mgGAE/g vck; $6,99 \pm 2,10$ mgQE/g vck; $57,12 \pm 8,71$ mgAE/g vck và $0,88 \pm 0,19$ mgAA/g vck. Tuy

nhiên, không có sự khác biệt có nghĩa ($p < 0,05$) về hàm lượng các hợp chất này trong dịch trích ly khi tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu thay đổi từ 12/1 đến 20/1.

Mặc dù tăng tỷ lệ nước không tạo ra sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê, tuy nhiên sự gia tăng này có ý nghĩa khi triển khai thực tế, cụ thể:

- Hàm lượng TPC tăng 7,9% khi tăng tỷ lệ từ 12/1 lên 16/1.
- Hàm lượng TFC tăng 7,4% khi tăng tỷ lệ từ 12/1 lên 16/1.
- Hàm lượng TSC tăng 1,5% khi tăng tỷ lệ từ 12/1 lên 16/1.
- Hàm lượng Vit C tăng 24,3% khi tăng tỷ lệ từ 12/1 lên 16/1.



Hình 3.2 Ảnh hưởng của tỷ lệ nước/ bột nhào đến khả năng trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu

Các giá trị trong cùng một cột không chia sẻ chữ cái (a, b) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Nhìn chung, hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học có xu hướng tăng, trong đó, hàm lượng vitamin C tăng lên rất đáng kể (hơn 24%). Vì thế, tỷ lệ 16/1 được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

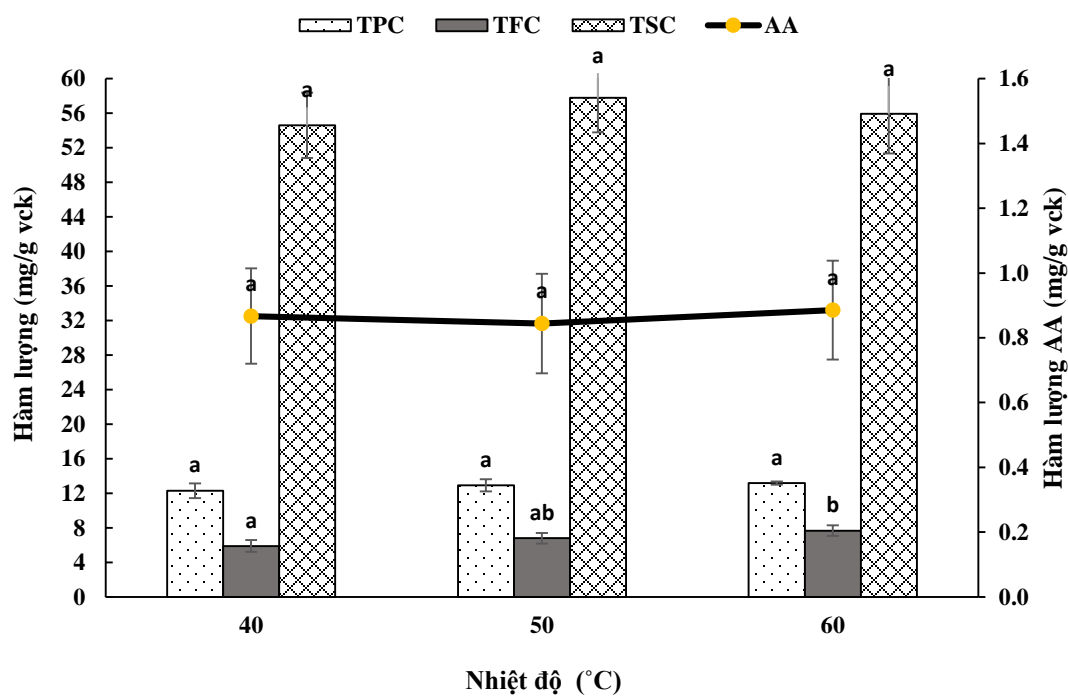
Hơn nữa, xu hướng hàm lượng các hợp chất tăng khi tăng tỷ lệ nước đến một giá trị nhất định có thể được giải thích là do nước dùng trong quá trình trích ly cần một lượng vừa đủ để ngấm vào nguyên liệu, kéo theo các thành phần hòa tan vào trong dịch trích ly. Khi lượng nước sử dụng ít, hàm lượng hợp chất thu được trong dịch trích tương ứng sẽ không cao; khi tăng nước vừa đủ, nước sẽ ngấm vào trong thành tế bào thực vật của nguyên liệu, cùng với sự hình thành gradien nồng độ từ trong tế bào ra ngoài môi trường, dung môi kéo theo các thành phần hòa tan của nguyên liệu đi vào dịch trích. Nếu tiếp tục tăng nước để tăng hiệu quả trích ly là không có ý nghĩa vì do hàm lượng các chất tan trong tế bào nguyên liệu có giới hạn; bên cạnh đó, nồng độ cơ chất lúc này sẽ giảm do tăng tỷ lệ dung môi đến một mức nào đó (cụ thể trong thí nghiệm này là 20/1) sẽ làm hạn chế khả năng hoạt động của enzyme dẫn đến giảm hiệu quả trích ly. Do vậy, tỷ lệ nước/ bột nhào ở mức 16/1 là thích hợp. Ngoài ra, việc sử dụng lượng lớn nước mà không đem lại hiệu quả khai thác chất hòa tan sẽ gây nên lãng phí nước, khó khăn cho các bước công nghệ tiếp theo như tiêu tốn năng lượng, hao phí thời gian và công lao động. Từ kết quả này, tỷ lệ nước/bột nhào được chọn là 16/1 (mL/g) cho những thí nghiệm tiếp theo.

3.3.3 Ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu

Nhiệt độ là một trong những yếu tố có ảnh hưởng đến quá trình trích ly cũng như tác động trực tiếp đến các hợp chất có hoạt tính sinh học trong nguyên liệu thực vật. Mỗi enzyme có một nhiệt độ tối thích khác nhau, phần lớn phụ thuộc vào nguồn cung cấp enzyme, thông thường là ở trong khoảng từ 40 – 60°C; ngoài ra cũng có enzyme có nhiệt độ tối thích rất cao như những enzyme của những chủng ưa nhiệt. Do đó, để xác định nhiệt độ thích hợp cho quy trình trích ly hiện tại, ba mức nhiệt độ được thử nghiệm là 40°C, 50°C, và 60°C, kết quả thể hiện trong Hình 3.3.

Từ kết quả Hình 3.3 cho thấy hàm lượng flavonoid tổng thu được có sự khác biệt đáng kể ở ba mức nhiệt độ 40°C, 50°C và 60°C ($p < 0,05$). Cụ thể, khi nhiệt độ tăng từ 40°C đến 60°C thì hàm lượng flavonoid tổng thu được tương ứng là $5,90 \pm 0,68$ và $7,67 \pm 0,61$ (mg QE/g vck).

Theo lý thuyết, tăng vận tốc của một phản ứng hóa học bằng cách tăng nhiệt độ môi trường, hiện tượng này tuân theo quy luật Van't-Hoff; Điều này có nghĩa là khi tăng nhiệt độ lên 10°C thì tốc độ phản ứng tăng lên 2 lần. Tuy nhiên, đối với phản ứng do enzyme xúc tác cũng có thể áp dụng được quy luật này nhưng chỉ trong một phạm vi nhất định vì bản chất enzyme là protein. Vì thế, khi nhiệt độ cao làm cho protein bị biến tính thì tốc độ phản ứng sẽ giảm hoặc không tăng nữa; đồng thời, nhiệt độ phá hủy các hợp chất nhạy cảm với nhiệt được giải phóng ra khỏi tế bào gây ảnh hưởng đến hiệu quả trích ly. Thêm nữa, loại enzyme khác nhau sẽ có nhiệt độ hoạt động tối ưu khác nhau.



Hình 3.3 Ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến khả năng trích ly các hợp

Các giá trị trong cùng một cột không chia sẻ chữ cái (a, b) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

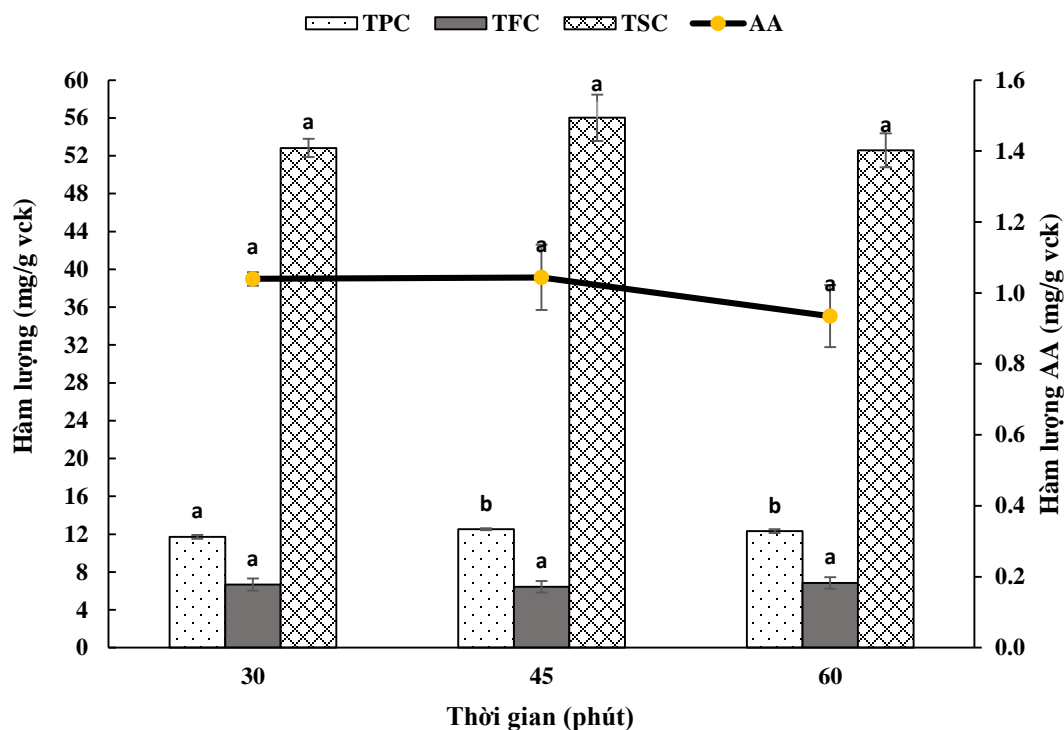
Trên thực tế, nhiệt độ có ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme và các đặc tính lưu biến của các hợp chất hoạt tính sinh học hòa tan. Hoạt tính của enzyme tăng tỷ lệ thuận với các giá trị nhiệt làm tăng hiệu quả trích ly. Ngoài ra, độ nhớt của môi trường chiết giảm theo sự tăng nhiệt độ và các hợp chất hoạt tính sinh học do đó dễ dàng hòa

tan hơn. Tuy nhiên, khi nhiệt độ tăng quá mức có thể dẫn đến sự thay đổi cấu hình enzyme ba chiều, ngăn chặn quá trình thủy phân cơ chất và giải phóng các hợp chất hoạt tính sinh học (Muniglia & ctv, 2014). Đồng thời, nhiệt độ cao sẽ phá hủy các hợp chất có hoạt tính sinh học nhạy cảm với nhiệt, có thể kể đến polyphenol, saponin và vitamin C.

Do đó hàm lượng các hợp chất này giảm hoặc không tăng nữa ở 60°C có thể là do lượng chất bị suy thoái bởi nhiệt cao hơn lượng giải phóng ra từ quá trình trích ly dẫn đến hàm lượng ghi nhận cuối cùng không khác biệt so với mức 50°C. Vậy nhiệt độ từ 50°C đến 60 °C được chọn để tiến hành thí nghiệm xác định thời gian trích ly.

3.3.4 Ảnh hưởng của thời gian trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu

Bên cạnh các yếu tố đã khảo sát, hiệu quả thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích cũng bị tác động bởi thời gian trong quá trình thủy phân bằng enzyme. Mặc dù việc tìm được tỷ lệ dung môi, tỷ lệ enzyme, nhiệt độ thích hợp giúp đẩy nhanh quá trình trích ly nhưng nếu không xác định được thời gian cần thiết cũng sẽ làm ảnh hưởng tới kết quả cuối cùng. Do đó, ba mức thời gian: 30 phút, 45 phút và 60 phút đã được tiến hành khảo sát và kết quả được minh họa trong Hình 3.4.



Hình 3.4 Ảnh hưởng của thời gian trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến khả năng trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái nhàu

Các giá trị trong cùng một cột không chia sẻ chữ cái (a, b, c) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Khi trong quá trình thủy phân bằng enzyme ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 30 và 45 phút, hàm lượng các hợp chất có xu hướng tăng, tiếp tục tăng thời gian thủy phân lên 60 phút thì hàm lượng chất giảm. Trong đó, hàm lượng polyphenol tổng tăng từ $11,72 \pm 0,20$ lên $12,53 \pm 0,09$ (mg GA/g vck) và không tăng nữa ở 60 phút với hàm lượng thu được là $12,32 \pm 0,20$ (mgGA/g vck) ($p < 0,05$). Sự thâm dung môi và hòa tan chất khô tăng lên khi tăng thời gian thủy phân/trích ly giúp cải thiện hiệu quả cũng như tốc độ của quá trình chiết xuất, đồng thời khi thời gian trích ly đủ dài sẽ tạo điều kiện cho enzyme tiếp xúc và thủy phân cơ chất; vì vậy hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch chiết thu được cao hơn.

Kết quả ghi nhận được tại nhiệt độ 50°C, thời gian 45 phút cho hàm lượng hợp chất cao nhất. Điều này cho thấy hoạt động phân cắt thành tế bào của enzyme đang diễn ra mạnh mẽ, giúp cho các hợp chất có hoạt tính sinh học hoà tan vào dịch trích tốt hơn. Song, khi tiếp tục kéo dài thời gian thì hàm lượng thu được có xu hướng

giảm. Điều này là do sau 45 phút trích ly lượng cơ chất bắt đầu giảm đi, trong khi lượng enzyme vẫn được bảo toàn, dẫn đến sự cạnh tranh cơ chất khiến tốc độ phá vỡ tế bào của enzyme chậm lại, cũng như việc trích ly ở nhiệt độ cao kéo dài cũng là nguyên nhân khiến enzyme bị biến tính; đồng thời, các hợp chất hoạt tính sinh học trong dịch trích tương đối nhạy cảm nên việc giữ mẫu ở nhiệt độ cao trong thời gian dài dẫn tới sự suy thoái của các hợp chất (có thể kể đến sự phân huỷ hoặc trải qua các phản ứng không mong muốn như quá trình oxy hoá). Vì vậy, chọn thời gian trong quá trình thủy phân bằng enzyme là 45 phút đo làm lượng ghi nhận được là cao nhất.

3.3.5 Tối ưu hoá điều kiện trích ly

Theo kết quả thí nghiệm một yếu tố ở các Mục 3.3.1 đến 3.3.4, đã xác định được khoảng thích hợp cho nồng độ enzyme, nhiệt độ và thời gian thủy phân. Trong thí nghiệm này, sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng để tối ưu hoá điều kiện thủy phân, bao gồm: tỷ lệ enzyme bổ sung (0,5 – 1%), nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme (50 – 60°C) và thời gian thủy phân bằng enzyme (45 – 60 phút).

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu kết hợp có tâm (Central Composite Design – CCD) với số đơn vị thí nghiệm là $2^k + 2k + n$. Thí nghiệm tiến hành khảo sát ảnh hưởng của 3 yếu tố lên đáp ứng và thí nghiệm tâm được lặp lại 3 lần. Tổng số đơn vị thí nghiệm là 17 với thứ tự các thí nghiệm được sắp xếp như trong Bảng 3.7. Khối lượng nhàu sử dụng cho mỗi đơn vị thí nghiệm trích ly là 5g bột nhàu sấy khô. Chỉ tiêu theo dõi là hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly (flavonoid, polyphenol, triterpenoid, và vitamin C).

Bảng 3.7 trình bày ảnh hưởng của các yếu tố (Nồng độ enzyme: X_1 ; nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme: X_2 ; thời gian thủy phân: X_3) ở bậc 1, bậc 2, và tương tác đến hàm lượng polyphenol tổng, flavonoid, saponin và vitamin C trong dịch trích thu được. Kết quả xử lý thống kê và Bảng 3.8 cho thấy phương trình bậc 2 với các hàm mục tiêu TPC, TFC, TSC, và vitamin C có ý nghĩa thống kê. Đồng thời, giá trị lack of fit không có ý nghĩa thống kê. Do vậy, có thể kết luận mô hình có thể giải thích ảnh hưởng của điều kiện trích ly (tỷ lệ enzyme bổ sung, nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme và thời gian thủy phân) đến các hàm mục tiêu.

Bảng 3.7 Bố trí thí nghiệm tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly các hoạt chất sinh học từ trái nhàu

| STT | Mã hóa | | | Giá trị thực của yếu tố | | |
|-----|----------------|----------------|----------------|-------------------------|---|----------------------------|
| | X ₁ | X ₂ | X ₃ | Nồng độ enzyme (%) | Nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme (°C) | Thời gian thủy phân (phút) |
| 1 | a | 0 | 0 | 0,35 | 55 | 52,5 |
| 2 | -1 | -1 | -1 | 0,5 | 50 | 45 |
| 3 | -1 | -1 | 1 | 0,5 | 50 | 60 |
| 4 | -1 | 1 | -1 | 0,5 | 60 | 45 |
| 5 | -1 | 1 | 1 | 0,5 | 60 | 60 |
| 6 | 0 | a | 0 | 0,75 | 47 | 52,5 |
| 7 | 0 | 0 | a | 0,75 | 55 | 40,5 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0,75 | 55 | 52,5 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0,75 | 55 | 52,5 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0,75 | 55 | 52,5 |
| 11 | 0 | 0 | A | 0,75 | 55 | 64,5 |
| 12 | 0 | A | 0 | 0,75 | 63 | 52,5 |
| 13 | 1 | -1 | -1 | 1 | 50 | 45 |
| 14 | 1 | -1 | 1 | 1 | 50 | 60 |
| 15 | 1 | 1 | -1 | 1 | 60 | 45 |
| 16 | 1 | 1 | 1 | 1 | 60 | 60 |
| 17 | A | 0 | 0 | 1,15 | 55 | 52,5 |

X₁: tỷ lệ enzyme bổ sung; X₂: nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme; X₃: thời gian thủy phân

Dựa vào phương trình và hệ số hồi quy, giá trị p ở Bảng 3.8, thiết lập phương trình hồi quy bậc hai thể hiện mức độ ảnh hưởng của từng yếu tố khảo sát và sự tương

tác giữa chúng đến từng chỉ tiêu. Phương trình hồi quy bậc hai (biến thực) đối với hàm lượng Polyphenol tổng thu được (Y_1); hàm lượng Flavonoid tổng (Y_2), hàm lượng Saponin Triterpenoid (Y_3) và hàm lượng vitamin C (Y_4) như sau:

$$Y_1 = -71,44 + -43,10X_1 + 3,99X_2 - 0,19X_3 - 9,41X_1^2 - 0,04X_2^2 - 3,79X_3^2 + 0,75X_1X_2 + 0,34X_1X_3 + 4,47X_2X_3$$

$$Y_2 = 70,89 - 28,91X_1 - 2,09X_2 + 0,04X_3 - 0,94X_1^2 + 0,01X_2^2 - 0,0023X_3^2 + 0,57X_1X_2 - 0,008X_1X_3 + 0,004X_2X_3$$

$$Y_3 = -31,21 + 206,70X_1 - 6,76X_2 + 6,95X_3 - 35,06X_1^2 + 0,07X_2^2 - 0,03X_3^2 - 0,50X_1X_2 - 2,02X_1X_3 - 0,02X_2X_3$$

$$Y_4 = 6,95 - 2,44X_1 + 0,23X_2 + 0,10X_3 - 0,28X_1^2 - 0,002X_2^2 - 0,004X_3^2 + 0,07X_1X_2 - 0,01X_1X_3 - 0,001X_2X_3$$

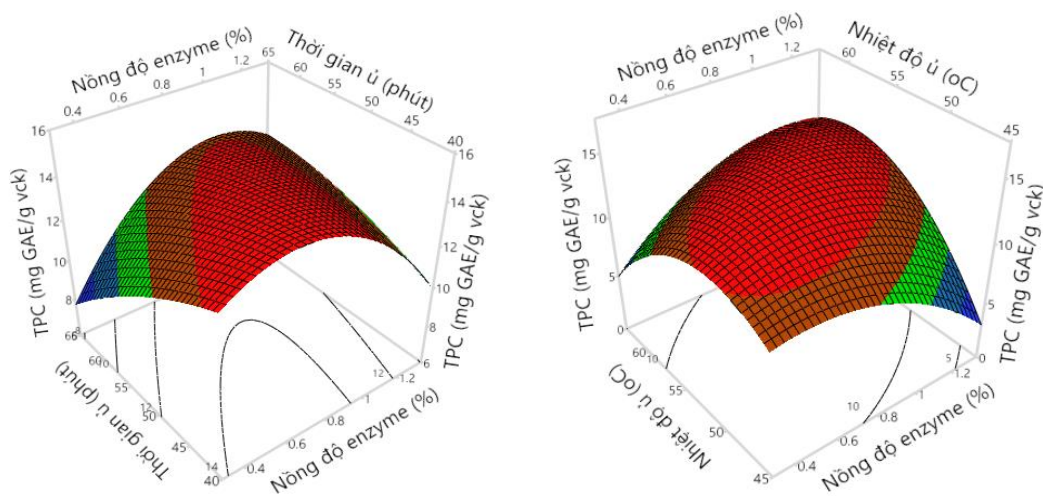
Trong đó : Y_1 , Y_2 , Y_3 , Y_4 lần lượt là hàm lượng polyphenol tổng, hàm lượng flavonoid tổng, hàm lượng saponin triterpenoid và hàm lượng vitamin C thu được trong quá trình trích ly. X_1 : Nồng độ enzyme ; X_2 nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme ; X_3 thời gian thủy phân.

Bảng 3.8 Dự đoán hệ số của phương trình bậc 2 với các hàm mục tiêu Polyphenol tổng, Flavonoid, Saponin và vitamin C

| Thông số ¹ | Chỉ tiêu theo dõi | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|--------------------------------|-----------|
| | Hàm lượng TPC (mg/g vck) | | Hàm lượng TFC (mg/g vck) | | Hàm lượng TSC (mg/g vck) | | Hàm lượng Vit C (mg/ g vck) | |
| | Hệ số hồi quy | Giá trị p | Hệ số hồi quy | Giá trị p | Hệ số hồi quy | Giá trị p | Hệ số hồi quy | Giá trị p |
| Hằng số | 14,16 | | 7,28 | | 59,11 | | 1,04 | |
| Bậc nhất | | | | | | | | |
| X ₁ | 0,471 | 0,0202* | 0,104 | 0,3713 | 5,327 | 0,0030* | 0,085 | 0,0041* |
| X ₂ | -0,216 | 0,2124 | 0,492 | 0,0027* | -1,173 | 0,3600 | 0,011 | 0,6196 |
| X ₃ | -0,714 | 0,0027* | 0,233 | 0,0687 | 4,366 | 0,0082* | -0,065 | 0,0148* |
| Bậc hai | | | | | | | | |
| X ₁₁ | -0,614 | 0,0115* | -0,085 | 0,5174 | -2,298 | 0,1384 | -0,016 | 0,5023 |
| X ₂₂ | -1,178 | 0,0003* | 0,366 | 0,0217* | 2,145 | 0,1625 | -0,052 | 0,0619 |
| X ₃₃ | -0,2 | 0,3055 | -0,163 | 0,2319 | -2,046 | 0,1801 | -0,018 | 0,4548 |
| Tương tác | | | | | | | | |
| X ₁₂ | 0,943 | 0,0023* | 0,708 | 0,0014* | -0,625 | 0,6958 | 0,08 | 0,0166* |
| X ₁₃ | 0,628 | 0,0171* | -0,015 | 0,9171 | -3,783 | 0,0430* | -0,014 | 0,6125 |
| X ₂₃ | 0,167 | 0,4338 | 0,16 | 0,2874 | -0,818 | 0,6105 | -0,044 | 0,1356 |
| Hệ số | | | | | | | | |
| R ² | 0,94 | | 0,91 | | 0,88 | | 0,87 | |
| Lack of fit | | 0,49 | | 0,57 | | 0,40 | | |

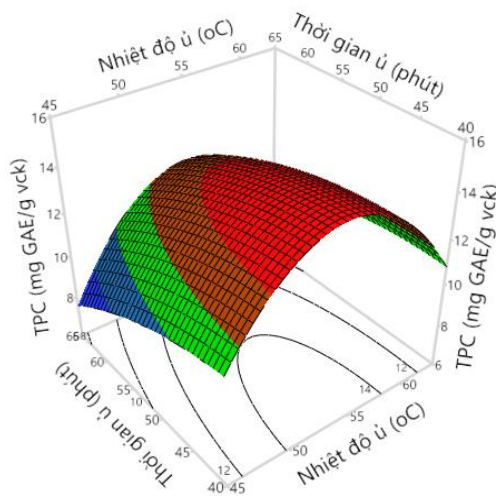
X₁: tỷ lệ enzyme bổ sung; X₂: nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme; X₃: thời gian thủy phân; ¹a₀ là hằng số; a_i, a_j, a_{ij} lần lượt là hệ số bậc 1, bậc 2 và tương tác của phương trình bậc 2.

Hình 3.5, 3.6, 3.7 và 3.8 lần lượt thể hiện tương quan giữa các yếu tố khảo sát đến hàm lượng Polyphenol tổng, Flavonoid tổng, Saponin tổng và vitamin C.



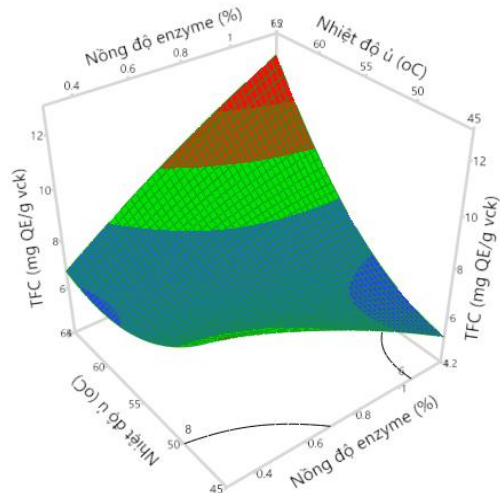
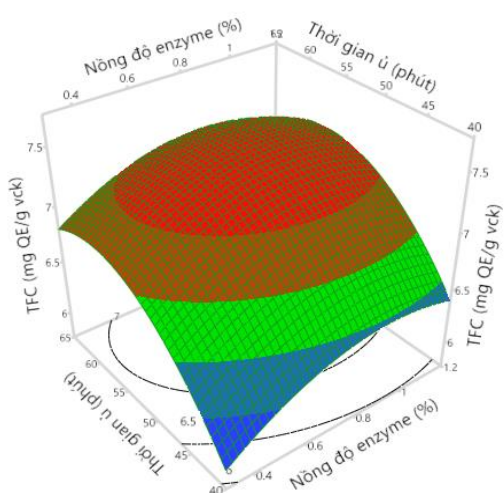
Nồng độ enzyme và thời gian thủy phân

Nồng độ enzyme và nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme



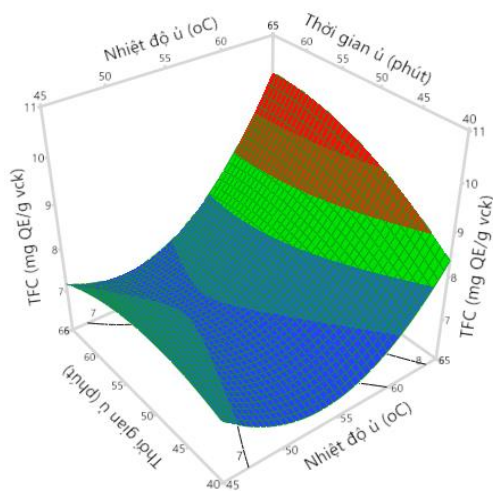
Thời gian và nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme

Hình 3.5 Đồ thị 3D và đường đồng mức thể hiện sự tương tác của các yếu tố đến hàm lượng polyphenol tổng



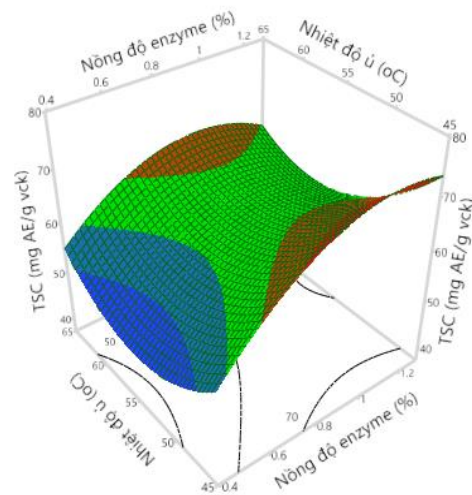
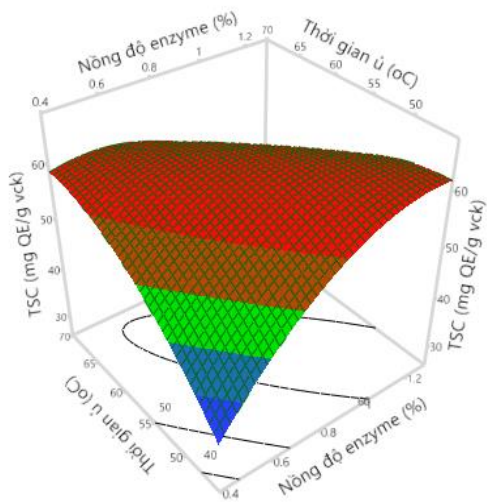
Nồng độ enzyme và thời gian thủy phân

Nồng độ enzyme và nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme



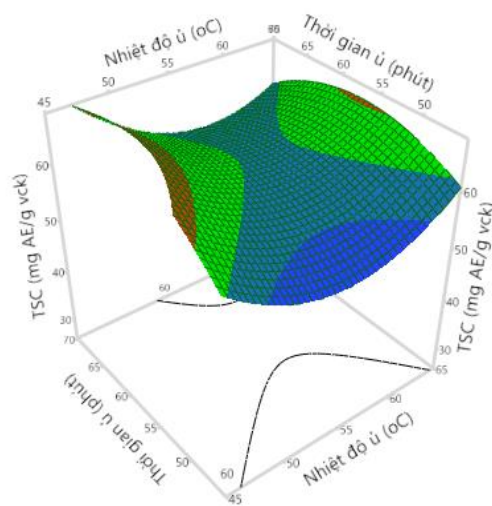
Thời gian và nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme

Hình 3.6 Đồ thị 3D và đường đồng mức thể hiện sự tương tác của các yếu tố đến hàm lượng flavonoid tổng



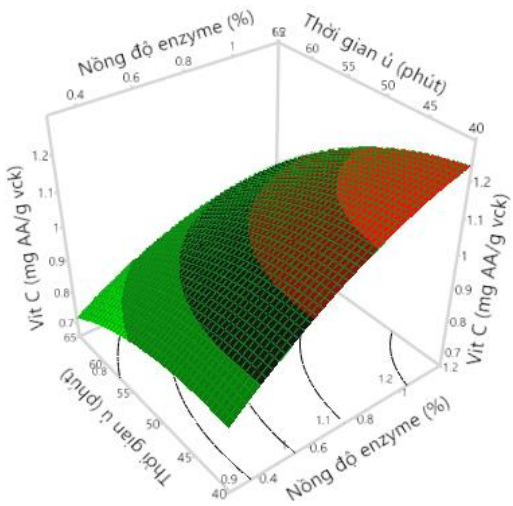
Nồng độ enzyme và thời gian thủy phân

Nồng độ enzyme và nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme

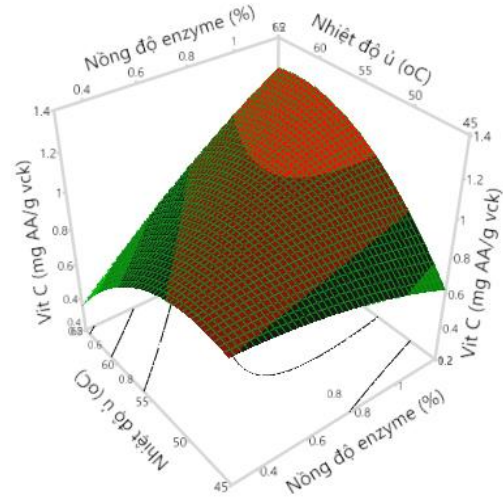


Thời gian và nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme

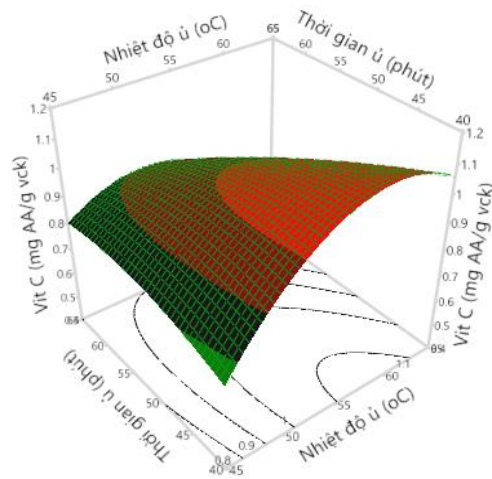
Hình 3.7 Đồ thị 3D và đường đồng mức thể hiện sự tương tác của các yếu tố đến hàm lượng saponin tổng



Nồng độ enzyme và thời gian thủy phân



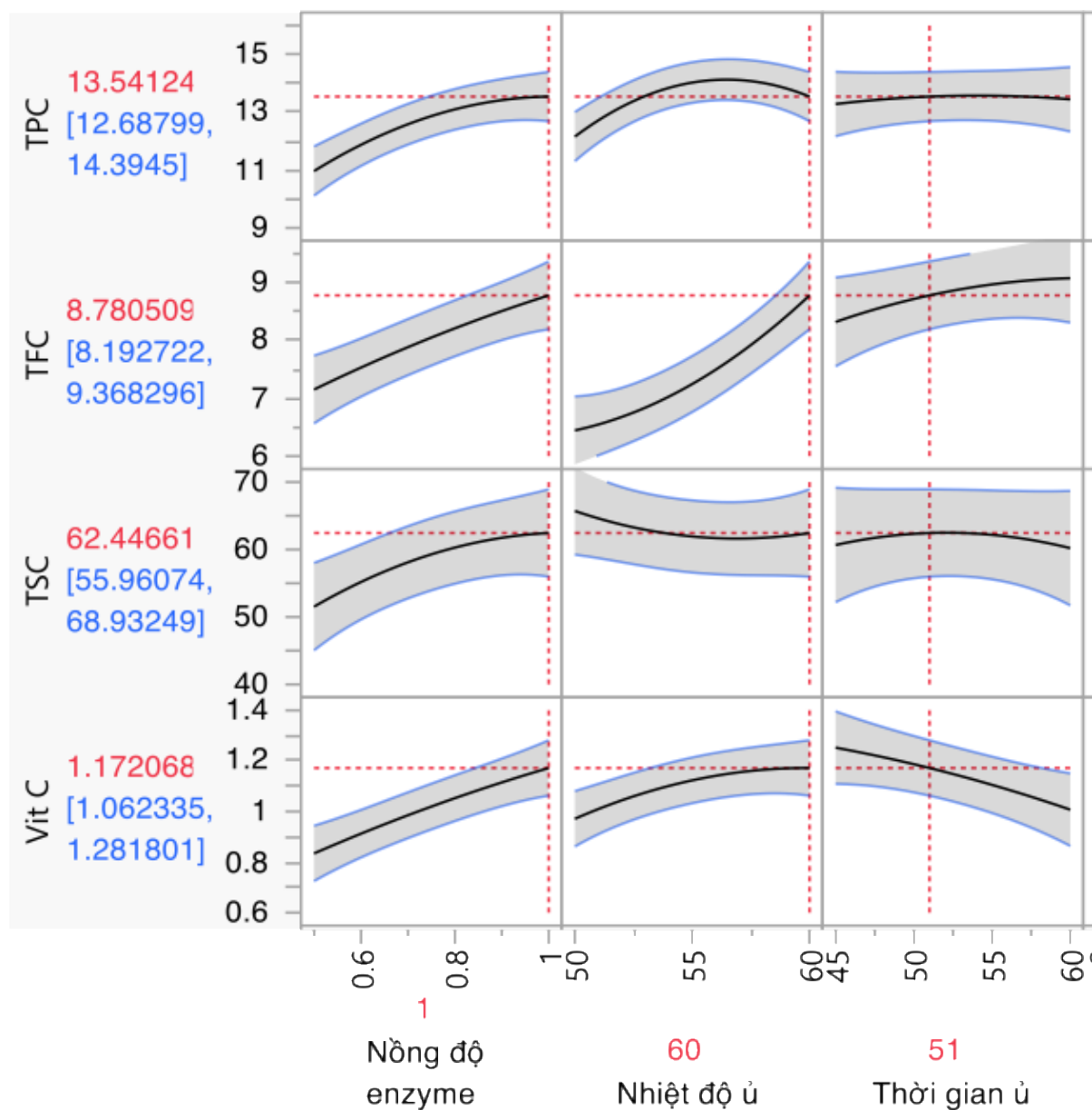
Nồng độ enzyme và nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme



Thời gian và nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme

Hình 3.8 Đồ thị 3D và đường đồng mức thể hiện sự tương tác của các yếu tố đến hàm lượng vitamin C

Kết quả phân tích bằng phần mềm JMP 16.0 đã xác định được mô hình tối ưu hóa điều kiện trích ly, được trình bày qua Hình 3.9. Dựa vào mô hình, điều kiện trích ly tối ưu là nồng độ enzyme 1%, nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme 60°C và thời gian thủy phân 51 phút. Với điều kiện tối ưu này, hàm lượng TPC, TFC, TSC và vitamin C cao nhất trong dịch trích (tính theo vck) lần lượt là 13,54 mg GAE/g, 8,78 mg QE/g, 62,45 mg AE/g, và 1,17 mg AA/g.



Hình 3.9 Mô hình tối ưu điều kiện trích ly dịch trái nhàu

Để xác định mô hình tối ưu có thể mô tả sự thay đổi hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học khi trích ly ở các điều kiện khác nhau, thí nghiệm với 3 lần lặp lại ở điều kiện tối ưu được thực hiện. Kết quả trình bày ở Bảng 3.9. Kết quả so sánh cho thấy (Hình 3.9 và Bảng 3.9) không có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng TPC, TFC, TSC, và vitamin C giữa điều kiện trích ly tối ưu từ phương trình và thực nghiệm. Điều này cho thấy, phương trình tối ưu dự đoán hàm lượng các hợp chất khi thay đổi điều kiện trích ly.

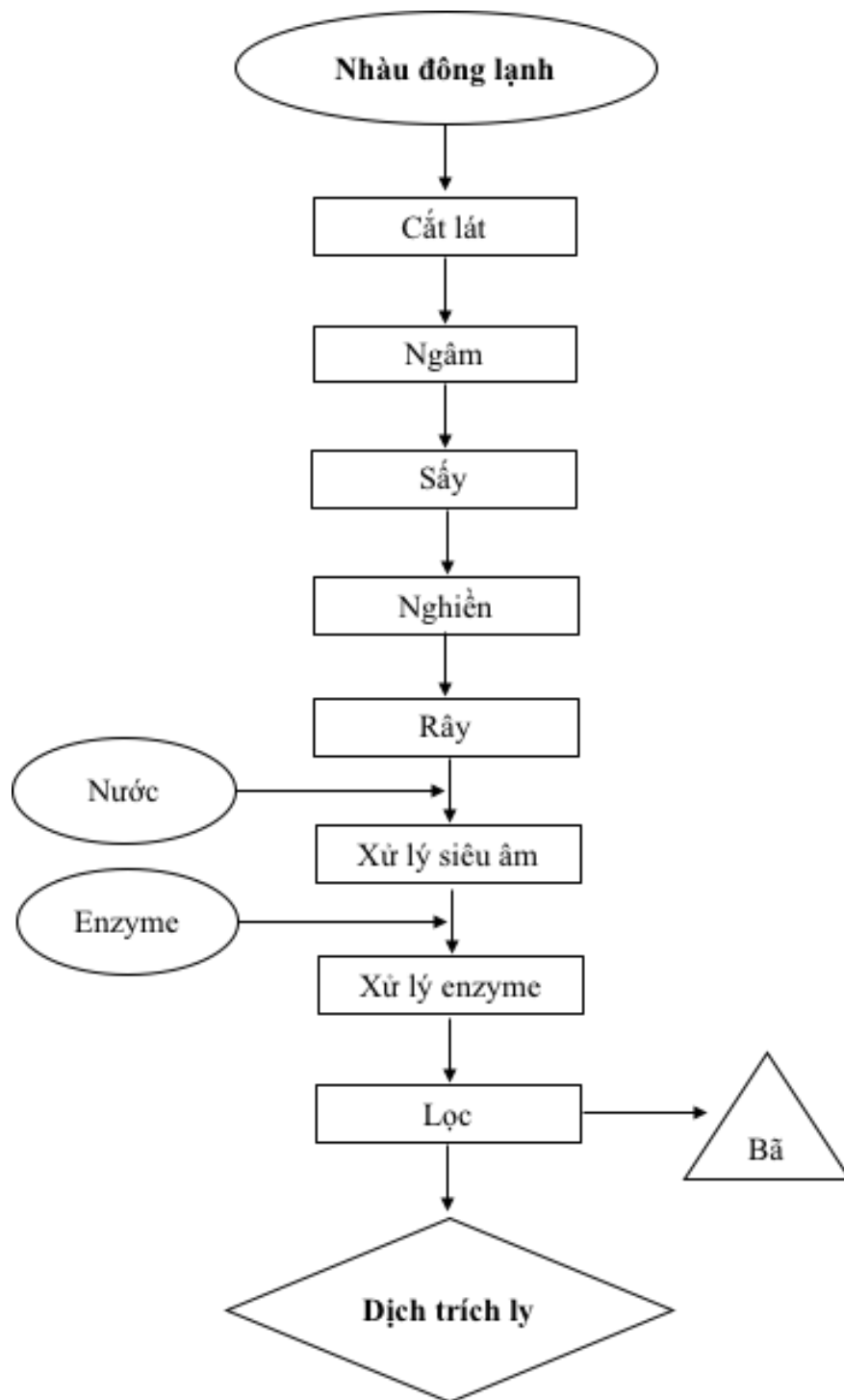
Bảng 3.9 Kết quả thẩm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế

| | Hàm lượng (tính theo vck) | | | |
|---|----------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| | TPC (mg GAE/ g) | TFC (mg QE/ g) | TSC (mg AE/ g) | Vitamin C (mg AA/ g) |
| Điều kiện tối ưu từ phương trình | 13,54 | 8,78 | 62,45 | 1,17 |
| Điều kiện tối ưu từ thực nghiệm | 13,29 ± 0,31 | 8,40 ± 0,08 | 63,19 ± 1,66 | 1,16 ± 0,15 |

3.3.6 Quy trình công nghệ trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học

3.3.6.1 Quy trình công nghệ

Quy trình công nghệ trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu bằng phương pháp tiệt xử lý siêu âm trước khi trích ly bằng enzyme được trình bày qua Hình 3.10.



Hình 3.10 Quy trình công nghệ trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu

3.3.6.2 Thuyết minh quy trình

Trái nhàu tươi sau khi thu mua ở độ chín đồng đều lựa chọn những trái đẹp và có ngày tuổi từ 100 – 107 ngày kể từ lúc ra hoa, sau đó được bảo quản trong thời gian 2-3 ngày ở nhiệt độ môi trường và tiến hành đông lạnh ở nhiệt độ -10°C . Mẫu nhàu đông lạnh và sau khi rã đông sẽ giúp cho việc phá vỡ màng tế bào và thuận lợi cho quá trình trích ly tiếp theo. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy quá trình đông lạnh có hỗ trợ tích cực đến quá trình trích ly và đồng thời với thời gian đông lạnh ngắn không làm giảm hàm lượng polyphenol và vitamin C trong một số loại trái cây như quả việt quóc (Lohachompol & ctv, 2004) và quả mâm xôi (de Ancos & ctv, 2000).

Xử lý nguyên liệu bao gồm: rửa, cắt lát, ngâm. Nguyên liệu nhàu được rửa sạch tạp chất bên ngoài. Nguyên liệu sau khi để ráo được cắt lát với bề dày lát cắt là 4,5-5,0 mm, được ngâm trong 1% dung dịch metabisulfit (khối lượng/ thể tích) trong 1 giờ. Tỷ lệ nhàu và nước là 1: 4.

Sấy: Mẫu sau khi ngâm được sấy khay bằng không khí nóng ở 60°C trong 7-8 giờ đến độ ẩm nguyên liệu đạt khoảng 8%. Khối lượng mẫu nhàu đem sấy là 2 kg/m^2 . Lát nhàu sau khi sấy khô được nghiền bột và rây với kích thước lưới sàng 0,5 mm.

Xử lý siêu âm: Bột nhàu được hoà trộn vào nước với tỷ lệ 1: 16 (khối lượng/ thể tích). Sau đó được xử lý siêu âm (Elma S180H, Đức) với tần số 37 kHz, ở 50°C trong vòng 10 phút. Mẫu được đặt ngập trong bể sao cho khoảng cách từ bề mặt chất lỏng trong bình đến mực nước chứa trong bể vào khoảng 2 cm. Sau khi tiến xử lý bằng siêu âm, mẫu được chuyển sang quá trình chiết xuất bằng enzyme.

Thủy phân bằng enzyme: Cân enzyme (1%, khối lượng enzyme tính theo khối lượng chất khô của bột nhàu) cho vào hỗn hợp mẫu sau khi siêu âm, dùng parafilm bịt kín miệng bình, lắc đều và đem ủ ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 51 phút. Điều kiện xử lý enzyme đã được tối ưu hoá sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng sao cho hàm lượng polyphenols, flavonoids, saponin và vitamin C cao nhất.

Lọc: Mẫu sau khi ủ được lọc thô bằng vải lọc, sau đó lọc lại bằng giấy lọc Whatman với kích thước lỗ 15-20 μm thu được dịch trích giàu hợp chất có hoạt tính sinh học.

Dịch trích ly: Với các điều kiện trích ly enzyme tối ưu, dịch trích thu được có hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học đã được thẩm tra như sau:

Polyphenols: $13,29 \pm 0,31$ mg GAE/g vck

Flavonoids: $8,40 \pm 0,08$ mg QE/g vck

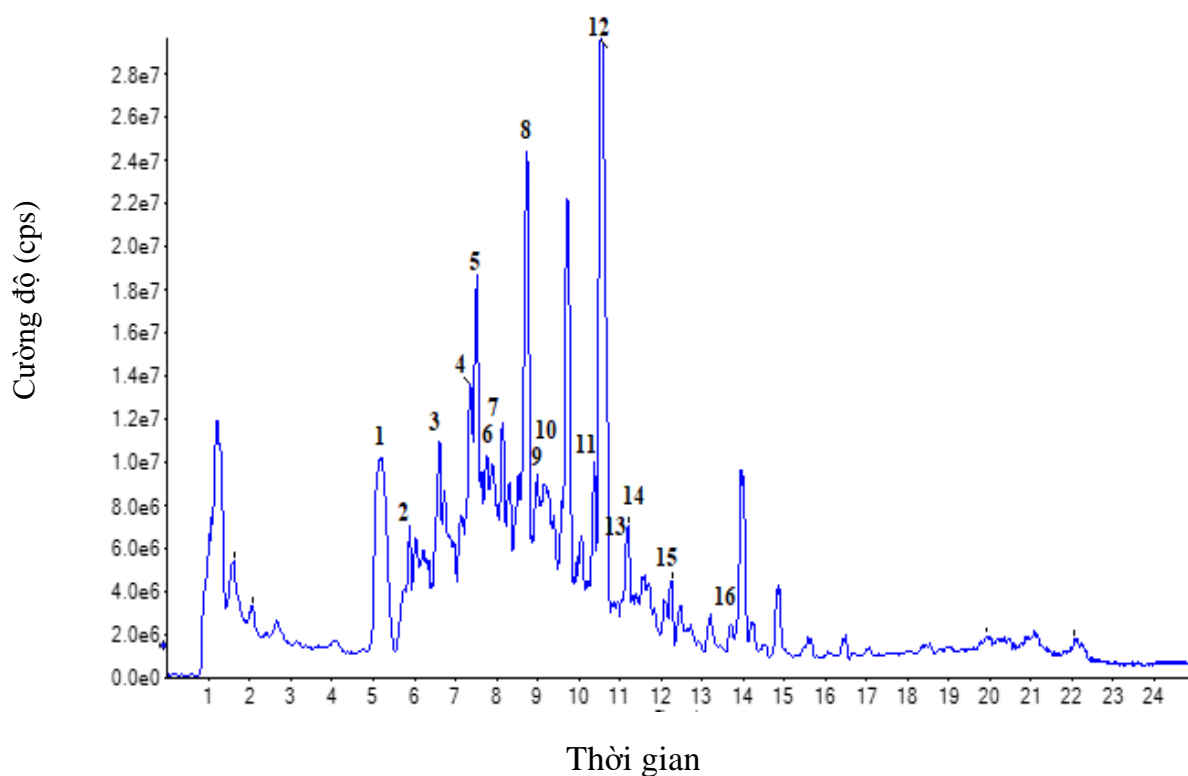
Saponin: $63,19 \pm 1,66$ mg AE/g vck

Ascorbic acid: $1,16 \pm 0,15$ mg AA/g vck.

3.4 Kết quả phân tích các hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ trong dịch trích trái nhàu

3.4.1 Định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ

Kết quả định danh các hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ trong trái nhàu được trình bày qua sắc ký đồ ion tổng (TIC) Hình 3.11 và các hợp chất có hoạt tính sinh học được định danh có trong dịch trích trái nhàu được thể hiện trong Bảng 3.10. Kết quả đã định danh được 16 chất sinh học đơn lẻ có trong dịch trích trái nhàu.



Hình 3.11 Sắc ký đồ ion tổng (TIC) của dịch trích trái nhàu

Bảng 3.10 Các hợp chất có hoạt tính sinh học định danh có trong dịch trích trái
nhàu sử dụng UHPLC-QTOF-MS/MS ở chế độ ion âm

| STT | Thời gian lưu (phút) | m/z | Chất định danh |
|-----|----------------------|----------|--|
| 1 | 5,18 | 389,1100 | Deacetylasperulosidic acid |
| 2 | 5,90 | 421,1366 | Nyctanthoside; 6-Epimer |
| 3 | 6,61 | 411,1522 | 2-Methylpropanoic acid; [β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester |
| 4 | 7,38 | 409,1723 | 3-Methyl-3-buten-1-ol; <i>O</i> -[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside] (Nonioside K) |
| 5 | 7,51 | 431,1196 | asperulosidic acid |
| 6 | 7,81 | 379,1622 | 3-Methyl-3-buten-1-ol; <i>O</i> -[β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] (Nonioside L) |
| 7 | 8,15 | 601,2365 | β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-D-glucose; β -Pyranose-form, 1- <i>O</i> -Hexanoyl (Nonioside E) |
| 8 | 8,74 | 439,1837 | Hexanoic acid; [β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester (Nonioside D) |
| 9 | 8,98 | 609,1478 | Rutin |
| 10 | 9,19 | 791,3199 | Octanoic acid; [β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl] ester |
| 11 | 10,37 | 629,2666 | 2',6'-Di- <i>O</i> -(β -D-glucopyranosyl)-1'- <i>O</i> -octanoyl- β -D-glucopyranose (Nonioside B) |
| 12 | 10,56 | 467,2142 | 6'- <i>O</i> -(β -D-Glucopyranosyl)-1'- <i>O</i> -octanoyl- β -D-glucopyranose (Nonioside C) |
| 13 | 10,63 | 489,1996 | 2,4,7-Decatrienoic acid; (2 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,7 <i>Z</i>)-form, [β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl] ester |
| 14 | 11,19 | 657,2989 | 1- <i>O</i> -decanoyl-2,6-di- <i>O</i> -(β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranose (Nonioside F) |
| 15 | 12,25 | 495,2458 | Decanoic acid; [β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester |
| 16 | 13,69 | 755,3732 | β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-D-glucose; β -Pyranose-form, 1,6'-Di- <i>O</i> -octanoyl |

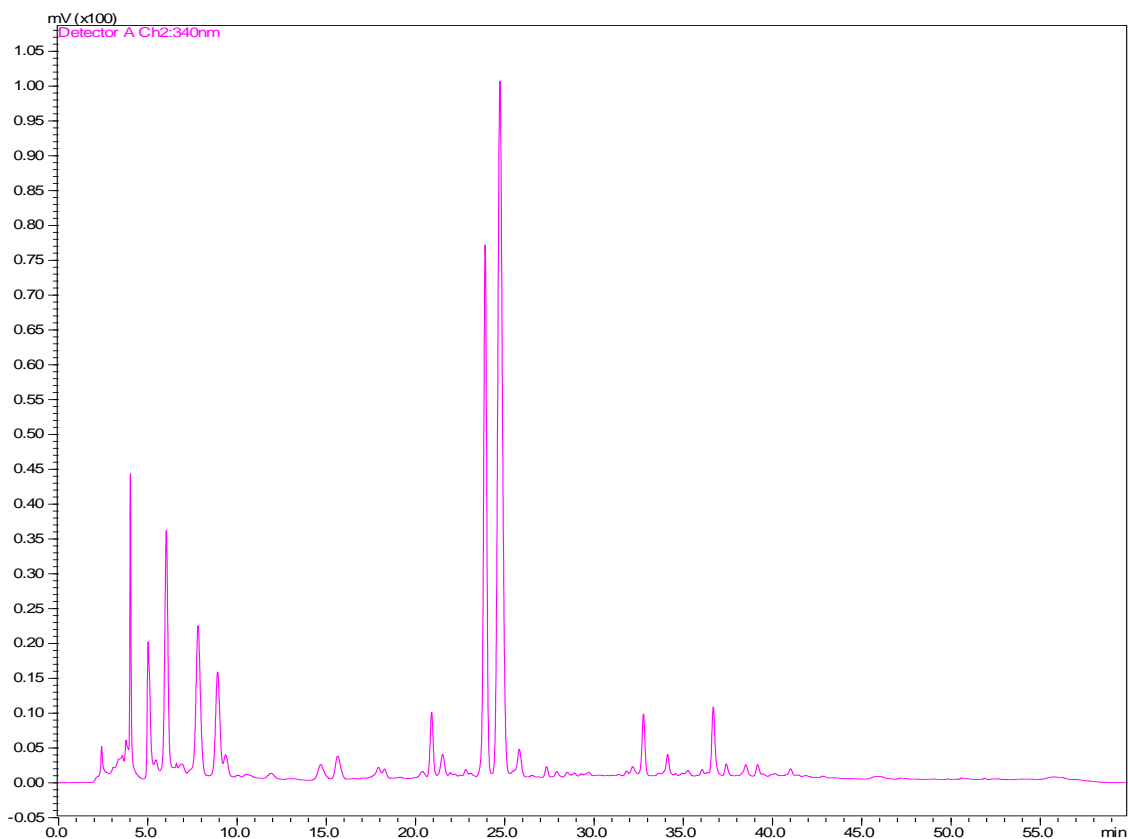
Kết quả định danh cho thấy trong dịch trích trái nhàu có các hợp chất có hoạt tính sinh học chính thuộc nhóm flavonoids như rutin, nhóm iridoids như Deacetylasperulosidic acid, Nyctanthoside; 6-Epimer, asperulosidic acid. Ngoài ra, các chất thuộc nhóm saccharide fatty acid ester như 2',6'-Di-O-(β -D-glucopyranosyl)-1'-O-octanoyl- β -D-glucopyranose (Nonioside B), 6'-O-(β -D-Glucopyranosyl)-1'-O-octanoyl- β -D-glucopyranose (Nonioside C), β -D- glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-D-glucose; β -Pyranose-form, 1-O-Hexanoyl (Nonioside E), 1-O-decanoyl-2,6-di-O-(β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranose (Nonioside F) và các hemiterpene glycoside cũng được tìm thấy trong dịch trích trái nhàu gồm có 3-Methyl-3-buten-1-ol; O-[β -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside] Noniosid K), 3-Methyl-3-buten-1-ol; O-[β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] (Nonioside L).

Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu đã được báo cáo về các hợp chất có hoạt tính sinh học có trong nhàu. Bên cạnh các hợp chất polyphenol, flavonoids thì các hợp chất như Iridoid-, Hemiterpene- và Fatty Acid – Glycoside cũng là những hợp chất phổ biến trong dịch trích từ trái nhàu (Akihisa & ctv, 2012; Dalsgaard & ctv, 2006; Inada & ctv, 2020; Singh, B. & Sharma, 2020). Các hợp chất fatty acid ester có khả năng kháng oxy hóa, ức chế quá trình hình thành sắc tố (Vuanghao & Laghari, 2017). Ngoài ra, trái nhàu được xem như là một nguồn thực phẩm dồi dào của iridoids, trong đó đặc biệt là Deacetylasperulosidic acid chiếm khoảng 78% tổng số hàm lượng iridoids có trong trái nhàu với các hoạt tính như chống oxy hóa, chống viêm, chống tăng huyết áp giảm hình thành sản phẩm glycat hóa bền vững (AGEs) (Almeida & ctv, 2019; Deng & ctv, 2011; Dussossoy & ctv, 2011; Wei & ctv, 2011; West & ctv, 2016).

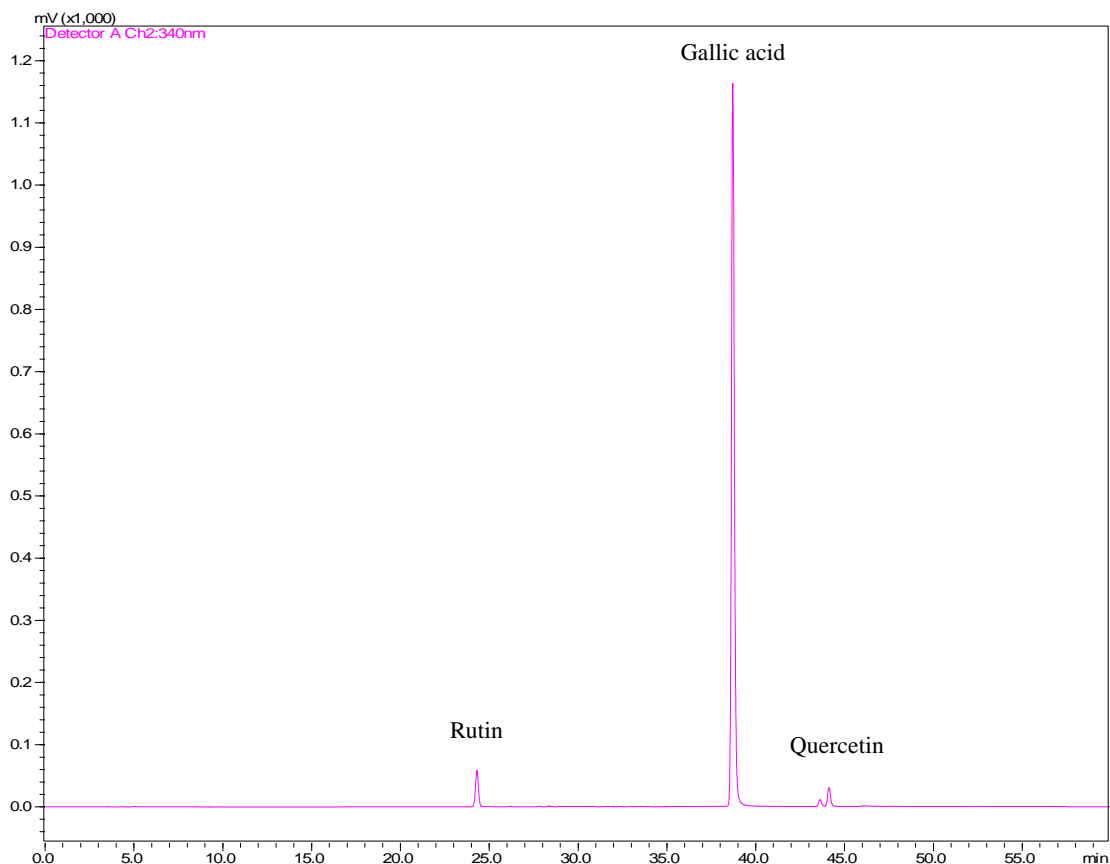
3.4.2 Định lượng một số hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ

Kết quả phân tích định lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học có trong dịch trích trái nhàu bằng phương pháp HPLC được trình bày qua sơ đồ sắc ký (Hình 3.12) và biểu đồ sắc ký một vài chất chuẩn (bao gồm rutin, gallic acid và quercetin) được trình bày qua Hình 3.13.

Kết quả cho thấy có nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học đã được tách ra trên biểu đồ sắc ký. Kết quả này cũng sẽ là cơ sở cho xác định định lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong tương lai khi có các chất chuẩn tương ứng. Một vài hợp chất (bao gồm gallic acid, quercetin và rutin) đã được định lượng trình bày trong Bảng 3.11. Đề xuất thiết lập và tiếp cận được nhiều loại chất chuẩn tương ứng để có thể cung cấp được nhiều thông tin về định lượng hơn.



Hình 3.12 Biểu đồ sắc ký các hợp chất có hoạt tính sinh học dịch trích nhàu bằng HPLC



Hình 3.13 Biểu đồ sắc ký các chất chuẩn phân tích bằng HPLC

Bảng 3.11 Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích nhàu

| Vật chất khô (%) | Rutin ($\mu\text{g/mL}$) | Gallic acid ($\mu\text{g/mL}$) | Quercetin ($\mu\text{g/mL}$) |
|------------------|----------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| $7,04 \pm 0,22$ | $35,34 \pm 0,11$ | $3,58 \pm 0,39$ | $0,82 \pm 0,16$ |

Một số nghiên cứu cho thấy hàm lượng rutin, gallic acid, và quercetin trong dịch trích trái nhàu có thể cao hơn (Bittová & ctv, 2015; Thoo & ctv, 2013b). Tuy nhiên, việc so sánh hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học giữa các phương pháp có thể khác nhau vì có sự khác biệt trong nguồn nguyên liệu về giống, độ chín, điều kiện trồng,... Các công dụng quan trọng của các hợp chất có hoạt tính sinh học này đã được công bố rộng rãi như gallic acid giúp chống ung thư, chống dị ứng, chống viêm bên cạnh tác dụng điều trị trầm cảm, nhiễm trùng (Choubey & ctv, 2015); quercetin với tác dụng chống viêm, ức chế lipoxygenase (Deng & ctv, 2007). Do đó, trái nhàu

cũng như dịch trích từ chúng là một nguồn tiềm năng cho các hợp chất có hoạt tính sinh học đang được quan tâm.

3.5 Ảnh hưởng của các điều kiện khảo sát và tối ưu lên khả năng vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích nhàu

3.5.1 Công thức và tỷ lệ vỏ bao trong vi bao bằng sấy phun

Bảng 3.12 trình bày ảnh hưởng của tỷ lệ vỏ bao đến hiệu suất các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột vi bao nhàu. Kết quả xử lý số liệu cho thấy tỷ lệ vỏ bao có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học thu được trong bột vi bao nhàu ($p < 0,001$) (Apintanapong & ctv, 2003; Rocha-Selmi & ctv, 2013; Zhang & ctv, 2020). Theo kết quả Bảng 3.12, tỷ lệ vỏ bao gum arabic và maltodextrin thích hợp là 2:1 (w/w).

Giá trị là trung bình \pm SD sau khi phân tích thống kê; Các giá trị trong cùng một cột theo sau bởi các ký tự khác nhau (a-c) là khác nhau có ý nghĩa ($P < 0,05$). HS-TPC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng polyphenol, HS-TFC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng flavonoid, HS-TSC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng flavonoid (Bhandari & ctv, 1997).

Bảng 3.12 Ảnh hưởng của tỷ lệ vỏ bao đến hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học

| Tỷ lệ vỏ bao GA: MD (w/w) | HS-TPC (%) | HS-TFC (%) | HS-TSC (%) |
|---------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1:1 | 68,5 \pm 2,2 ^a | 74,6 \pm 2,0 ^a | 72,9 \pm 5,8 ^a |
| 1:2 | 54,2 \pm 1,4 ^b | 64,9 \pm 1,4 ^b | 68,4 \pm 5,8 ^a |
| 1:3 | 58,9 \pm 2,6 ^b | 65,3 \pm 2,7 ^b | 49,5 \pm 2,4 ^b |
| 2:1 | 81,2 \pm 10,9 ^c | 80,4 \pm 0,9 ^c | 88,2 \pm 4,5 ^c |
| 3:1 | 77,5 \pm 0,4 ^{ac} | 81,6 \pm 5,9 ^c | 95,2 \pm 3,5 ^c |

Trong thí nghiệm này ban đầu đã sử dụng thêm một số loại vỏ bao khác như Whey Protein, β -Cyclodextrin, khi kết hợp với các loại chất bao khác không phù hợp

cho quá trình đông hóa và sấy phun, độ nhớt của các hỗn hợp dịch có chứa các chất này cao, khó tan. Vỏ vi bao không sử dụng GA tỷ lệ 100% vì độ nhớt dịch vi bao cao không thích hợp thực hiện quá trình sấy phun.

Khi kết hợp gum arabic (GA) và maltodextrin, các dung dịch chứa các loại chất bao này dễ tan hoàn toàn và có thể sấy phun được. Tỷ lệ khác nhau giữa 2 loại chất bao cũng ảnh hưởng đến kết quả vi bao bằng phương pháp sấy phun. Khả năng vi bao TPC, khi tăng GA thì hiệu suất tăng dần, khi tỷ lệ GA và MD là 2:1 thì hiệu suất vi bao không tăng nữa. Đối với TFC và TSC, khả năng vi bao tăng dần khi tăng tỷ lệ GA lên, đối với tỷ lệ GA và MD thì khi đạt tỷ lệ 2:1 và 3:1 có tăng hiệu suất vi bao nhưng không nhiều. Công thức chất tạo màng được chọn thực hiện cho các thí nghiệm tiếp theo lấy tỷ lệ GA và MD là 2:1 vì khi tăng tỷ lệ GA trong hỗn hợp có thể tăng hoặc giảm hiệu suất vi bao một chút nhưng hiệu quả không cao, không khác biệt đáng kể.

Quá trình sấy phun được sử dụng phổ biến để vi bao các thành phần mẫn cảm với sự phân hủy bởi các tác nhân bên ngoài. Trong số các polymer được sử dụng làm chất mang, maltodextrin là một trong những chất mang quan trọng và được sử dụng phổ biến nhất vì nó tạo thành dung dịch có độ nhớt thấp ở nồng độ sử dụng cao – một đặc tính rất quan trọng trong quá trình sấy phun. Ngoài ra, maltodextrin còn có ưu điểm giá thành rẻ và có vị dễ chịu (Rocha-Selmi & ctv, 2013).

3.5.2 Tỷ lệ nồng độ vỏ bao

Kết quả phân tích thống kê cho thấy, nồng độ vỏ bao có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất vi bao tính theo TFC ($p < 0,001$) và TS ($p < 0,01$), nhưng hiệu suất vi bao tính theo TPC không bị ảnh hưởng về mặt thống kê khi nồng độ vỏ bao thay đổi ($p > 0,05$). Kết quả ở Bảng 3.13 cho thấy nồng độ vỏ bao thích hợp nằm trong khoảng 20-25%. Trong nghiên cứu này, với mục tiêu chọn nồng độ vỏ bao thấp nhất có thể sao cho vẫn đạt được thất thoát các hợp chất có hoạt tính sinh học thấp nhất, nên nồng độ vỏ bao 20% và tỷ lệ cố định vỏ bao: dung dịch là 7: 3 được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

Giá trị là trung bình \pm SD sau khi phân tích thống kê; Các giá trị trong cùng một cột theo sau bởi các kí tự khác nhau (a-c) là khác nhau có ý nghĩa ($P < 0,05$). HS-TPC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng polyphenol, HS-TFC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng Flavonoid, HS-TSC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng Flavonoid.

Nồng độ vỏ bao ở 20% cho thấy hiệu suất vi bao nhìn chung đạt hiệu suất cao nhất trong các nồng độ khảo sát. Với các sản phẩm bột nhào có cùng khối lượng thì bột sấy phun từ dung dịch nồng độ vỏ bao 20% sẽ chứa hàm lượng các hợp chất sinh học nhiều hơn nồng độ vỏ bao 25% và 30%. Kết quả đo được cho thấy rằng khi tăng nồng độ vỏ bao lên không tỷ lệ thuận với tỷ lệ hoạt chất được vi bao điều này có thể giải thích là ở điều kiện sấy đã chọn trong khoảng thí nghiệm thì ở nồng độ 20% tỷ lệ các hoạt chất được giữ lại đạt hiệu quả tốt nhất tính trên một đơn vị khối lượng bột nhào sấy phun. Đối với TPC nhận thấy rằng ở cả 3 nồng độ chất bao thì hiệu suất vi bao trên một đơn vị khối lượng không có sự thay đổi đáng kể, với cùng mức hiệu suất nếu chọn tỷ lệ chất bao thấp nhất để vi bao thì tiết kiệm được chất bao, khả năng hòa tan để tạo nguyên liệu sấy phun cũng dễ hơn ngược lại nếu tỷ lệ chất bao cao có nghĩa hàm lượng chất khô cũng cao, điều này thuận lợi cho khả năng làm khô, thời gian sấy cũng nhanh hơn.

Theo các giá trị thống kê ở Bảng 3.13, thấy rằng đối với hiệu suất vi bao TFC, ở mức nồng độ chất bao là 20%, hiệu suất vi bao cao hơn đáng kể so với nồng độ chất bao ở 25% và 30%, hiệu suất vi bao TFC có xu hướng giảm dần khi tăng nồng độ chất bao vì thế mức nồng độ vỏ bao ở 20% được chọn để tiếp tục nghiên cứu.

Bảng 3.13 Ảnh hưởng của nồng độ vỏ bao đến hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học

| Nồng độ vỏ bao (% w/w) | HS-TPC (%) | HS-TFC (%) | HS-TSC (%) |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 20 | 73,2 \pm 0,6 ^a | 83,4 \pm 0,8 ^a | 82,1 \pm 1,0 ^a |
| 25 | 71,5 \pm 3,4 ^a | 67,6 \pm 0,9 ^b | 66,5 \pm 1,2 ^b |
| 30 | 75,9 \pm 0,8 ^a | 62,6 \pm 0,9 ^c | 61,6 \pm 1,1 ^b |

3.5.3 Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu vào

Khoảng nhiệt độ sấy phun đầu vào khảo sát từ 140°C đến 180°C. Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đầu vào đến hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học và độ ẩm của bột nhào vi bao (Nijdam, J. & Langrish, 2006) được trình bày qua Bảng 3.14. Kết quả xử lý thống kê cho thấy, nhiệt độ sấy đầu vào có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học và độ ẩm của bột vi bao thu được ($p < 0,001$).

Giá trị là trung bình \pm SD sau khi phân tích thống kê; Các giá trị trong cùng một cột theo sau bởi các ký tự khác nhau (a-c) là khác nhau có ý nghĩa ($P < 0,05$). HS-TPC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng polyphenol, HS-TFC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng Flavonoid, HS-TSC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng Flavonoid.

Theo kết quả Bảng 3.14, nhiệt độ sấy phun đầu vào thích hợp nhằm bảo vệ các hợp chất có hoạt tính sinh học nằm trong khoảng 170-180°C (Santiago-Adame & ctv, 2015; Zhang, Khoo, Swedlund, & ctv, 2020). Ở hai nhiệt độ sấy phun đầu vào này, độ ẩm của bột vi bao tương đối thấp, khoảng 3,04-3,44%. Bởi vì đối với TPC, ở nhiệt độ 140 đến 150°C, hiệu suất vi bao TPC giảm, từ 150 đến 170°C hiệu suất vi bao tăng khá nhanh điều này có thể được giải thích khi nhiệt độ sấy cao, một số lượng lớn các hạt bột có độ ẩm bay hơi rất nhanh từ bề mặt và lớp vỏ nhanh chóng trở nên khô ráo và cứng lại và giữ bề mặt nhanh chóng trở thành một lớp bao bảo vệ các chất được bao bên trong hạn chế sự thất thoát (Nijdam, T. & ctv, 2006). Điều này cũng cho thấy rằng nếu nhiệt độ quá cao cũng sẽ dẫn đến nước trên bề mặt bốc hơi quá nhanh cản trở quá trình thoát hơi nước trong lòng các hạt cầu khiến các chất bao có thể phản ứng với ẩm gây thất thoát. Tốc độ thoát hơi nước làm ảnh hưởng đến khả năng giải phóng ẩm khỏi bề mặt các giọt cũng giải thích lý do độ ẩm bột sấy phun có sự khác nhau theo nhiệt độ đầu vào.

Bảng 3.14 Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu vào đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học và độ ẩm

| Nhiệt độ đầu vào (°C) | HS-TPC (%) | HS-TFC (%) | HS-TSC (%) | Độ ẩm (%) |
|------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
| 140 | 68,5 ± 2,2 ^a | 69,9 ± 1,8 ^a | 66,3 ± 5,2 ^a | 4,66 ± 0,11 ^a |
| 150 | 54,2 ± 1,4 ^b | 60,9 ± 1,3 ^b | 62,2 ± 5,3 ^a | 3,71 ± 0,19 ^b |
| 160 | 58,9 ± 2,6 ^b | 61,2 ± 2,6 ^b | 45,0 ± 2,2 ^b | 3,24 ± 0,09 ^d |
| 170 | 81,2 ± 10,9 ^c | 75,4 ± 0,8 ^c | 80,2 ± 4,1 ^c | 3,04 ± 0,07 ^{cd} |
| 180 | 77,5 ± 0,4 ^{ac} | 76,5 ± 5,5 ^c | 88,1 ± 5,2 ^c | 3,44 ± 0,09 ^e |

Tương tự, khả năng vi bao TFC cũng giảm dần khi nhiệt độ sấy tăng từ 140 đến 150°C, ở nhiệt độ đầu vào ở nhiệt độ 150 đến 180°C, khả năng vi bao TFC cũng tăng lên khá cao (từ 60.9% lên 76.5%), sự tăng hàm lượng flavonoid khi tăng nhiệt độ sấy phun trong khoảng 150-180°C có thể là do sự trùng hợp và tổng hợp các hợp chất polyphenol mới góp phần làm tăng hàm lượng các hợp chất này trong kết quả phân tích (Santiago-Adame & ctv, 2015).

Khả năng vi bao TSC giảm dần khi tăng nhiệt độ từ 140 đến 160 °C, và đạt hiệu suất cao khi nhiệt độ sấy đạt từ 170 đến 180 °C. Ở nhiệt độ đầu vào 140°C đến 160 °C hiệu suất thu hồi khi vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học khá thấp, độ ẩm bột sau khi sấy ở các nhiệt độ trung bình từ 3 đến 5%. Khi nhiệt độ đầu vào đạt 170 đến 180 °C thì hiệu suất vi bao cao hơn hẳn so với 160 °C trở xuống. Trong khoảng nhiệt độ 140 đến 160 °C, hiệu suất vi bao TSC giảm nhanh chóng có thể giải thích rằng TSC thất thoát chịu ảnh hưởng khá mạnh bởi nhiệt độ, nhiệt độ tăng tốc độ hao hụt cũng tăng. Khi đạt nhiệt độ đầu vào cao hơn mức 160 °C, hiệu suất vi bao TSC tăng rõ rệt điều này là do tốc độ bay hơi rất nhanh khiến cho vật liệu tường bao nhanh chóng trở thành lớp vỏ vững chắc bao quanh vật liệu lõi tránh được tác động của nhiệt độ, ẩm thoát ra ngoài nhanh chóng nên cũng ít phản ứng với vật liệu lõi.

Hiệu suất vi bao tăng từ khi tăng nhiệt độ vào từ 170 °C do thời gian tiếp xúc với nhiệt của dịch vi bao ngắn hơn, độ ẩm giảm nhanh giúp cho quá trình vi bao các hoạt chất tốt hơn, hạn chế việc thất thoát. Từ 140 đến 160 °C, thời gian các hợp chất có hoạt tính sinh học tiếp xúc với nhiệt độ cao lâu hơn và được vi bao chậm hơn nên hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học giảm nhanh. Kết quả tương tự cũng được báo cáo bởi Santiago-Adame & ctv (2015) đối với các vi bao của bột quế với maltodextrin trong đó tác động của ba nhiệt độ sấy khác nhau (140, 160 và 180°C) đã được đánh giá (Santiago-Adame & ctv, 2015). Họ nhận thấy các vi hạt có hình thái rõ ràng hơn và mịn hơn, không có vết nứt rõ ràng hoặc kết tụ hạt trong quá trình sấy phun cả ở 160 và 180°C. Tương tự, trong nghiên cứu chế tạo các viên nang siêu nhỏ sấy khô chứa nước ép trái nhàu (Zhang, Khoo, Swedlund, & ctv, 2020) bằng cách sử dụng hỗn hợp của maltodextrin và Gum Arabic để khảo sát tính chất hóa lý của bột và khả năng tiếp cận sinh học của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong quá trình tiêu hóa trong ống nghiệm cũng lựa chọn nhiệt độ không khí đầu vào 170 ± 2 °C (Zhang, Khoo, Swedlund, & ctv, 2020).

Dựa trên các kết quả đo được về hiệu suất vi bao TPC, TFC và TSC, sau khi xử lý thống kê, nhận thấy rằng nhiệt độ đầu vào trong khoảng 170 đến 180 °C cho kết quả vi bao đạt hiệu quả tốt nhất đối với các khoảng nhiệt độ đầu vào đã chọn. Theo nghiên cứu của Kha & ctv (2021), khi sấy nhàu tươi ở nhiệt độ 50 đến 80 °C, thì khả năng giữ được hàm lượng TPC, TFC và TSC và giảm rõ rệt khi tăng nhiệt độ sấy lên 70 °C và 80 °C (Kha & ctv, 2021). Nếu so sánh nhiệt độ sấy nhàu tươi không được vi bao với sấy phun thì yếu tố vật liệu tường và nhiệt độ đầu vào ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất vi bao và sự thất thoát các hợp chất có hoạt tính sinh học.

3.5.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu ra

Khoảng nhiệt độ sấy phun đầu vào khảo sát từ 82 đến 98°C. Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu ra đến hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học và độ ẩm của bột nhàu vi bao được trình bày qua Bảng 3.15. Kết quả xử lý thống kê cho thấy, nhiệt độ sấy đầu ra có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng TPC và độ ẩm ($p < 0,001$), tuy nhiên không ảnh hưởng về mặt thống kê đối với TFC và TSC ($p > 0,05$)

(Zhang, Khoo, Chen, & ctv, 2020). Kết quả cho thấy hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học, đặc biệt là TPC giảm khi nhiệt độ sấy phun đầu ra cao (97-98°C). Ngoài ra, nhiệt độ sấy phun đầu ra càng cao thì độ ẩm càng thấp.

Nhìn chung thấy nhiệt độ đầu ra quá cao lượng hao hụt hợp chất có hoạt tính sinh học sẽ có xu hướng giảm đi, tuy nhiên đối với TFC và TSC thì thay đổi này không nhiều. Nhiệt độ đầu ra cao cũng ảnh hưởng đến sự hao hụt của TPC trong quá trình sấy. Nhiệt độ đầu ra càng cao thì ẩm của bột sấy phun càng thấp, điều này cũng ảnh hưởng tốc độ nhập liệu và tốc độ tạo hạt. Tuy nhiên nhiệt độ ra ít ảnh hưởng đến khả năng vi bao hơn đối với nhiệt độ đầu vào, và việc kiểm soát nhiệt độ đầu ra cũng khó hơn.

Tương tự, trong nghiên cứu của Zhang, Khoo, Swedlund, & ctv (2020) chế tạo các viên nang siêu nhỏ sấy khô chứa nước ép trái nhàu bằng cách sử dụng hỗn hợp của maltodextrin và Gum arabic để khảo sát tính chất hóa lý của bột và khả năng tiếp cận sinh học của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong quá trình tiêu hóa trong ống nghiệm cũng lựa chọn nhiệt độ không khí đầu ra là $90 \pm 20^\circ\text{C}$ (Zhang, Khoo, Swedlund, & ctv, 2020).

Bảng 3.15 Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu ra đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học và độ ẩm

| Nhiệt độ đầu ra (°C) | HS-TPC (%) | HS-TFC (%) | HS-TSC (%) | Độ ẩm (%) |
|----------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 82-83 | 83,6 ± 1,2 ^a | 80,1 ± 3,4 ^a | 83,9 ± 4,7 ^a | 5,37 ± 0,17 ^a |
| 87-88 | 78,0 ± 0,8 ^b | 74,3 ± 1,5 ^a | 85,4 ± 0,3 ^a | 4,65 ± 0,07 ^b |
| 91-93 | 84,4 ± 0,9 ^a | 79,1 ± 3,3 ^a | 80,2 ± 2,9 ^a | 3,56 ± 0,12 ^c |
| 97-98 | 77,2 ± 0,4 ^{bc} | 76,7 ± 2,3 ^a | 80,6 ± 0,5 ^a | 2,16 ± 0,09 ^d |

Giá trị là trung bình ± SD sau khi phân tích thống kê; Các giá trị trong cùng một cột theo sau bởi các ký tự khác nhau (a-c) là khác nhau có ý nghĩa ($P < 0,05$).

HS-TPC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng polyphenol, HS-TFC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng Flavonoid, HS-TSC: Hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng saponin.

3.5.5 Tối ưu hóa sấy phun trong quy trình vi bao dịch trích nhàu

Từ các thí nghiệm một yếu tố đơn (nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra), khoảng nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra lần lượt được chọn là 170-180 và 82-92 °C. Với nhiệt độ sấy phun đầu ra dao động từ 82 đến 92 °C, tốc độ nạp liệu dao động tương ứng từ 1.6 lít/giờ. Kết quả ảnh hưởng của các nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra đến hàm lượng TPC, TFC, TSC, độ ẩm và hoạt độ nước được trình bày qua Bảng 3.16.

Kết quả xử lý thống kê cho thấy mô hình phương trình bậc 2 có thể mô tả sự thay đổi của hàm lượng TFC ($p < 0,001$), TSC ($p < 0,05$), và độ ẩm ($p < 0,01$) nhưng chưa thể mô tả cho sự thay đổi của TPC ($p > 0,05$) và aw ($p > 0,05$) khi nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra thay đổi. Mặc dù mô hình bậc 2 có thể mô tả sự thay đổi của độ ẩm nhưng giá trị P lack of fit có ý nghĩa ($p < 0,01$) nên chỉ tiêu độ ẩm không được lựa chọn khi đánh giá mô hình tiếp theo. Do vậy, để tối ưu hoá nhiệt độ sấy phun, hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng TFC và TSC được thực hiện. Biểu đồ 3D và đường đồng mức của TFC và TSC bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ sấy đầu vào và đầu ra được trình bày ở Hình 3.14. Mô hình hoá nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra được

trình bày qua Hình 3.14. Theo Bảng 3.17, kết quả từ mô hình dự đoán được phương trình tối ưu (biến thực) mô tả ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hàm lượng TFC và TSC như sau:

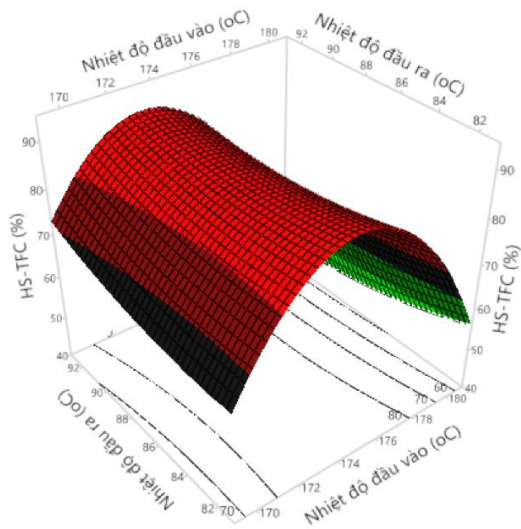
$$\text{HS-TFC (\%)} = -2449,20 + 27,87X_1 + 0,76X_2 - 0,08X_1^2 + 6,82X_2^2 - 0,01X_1X_2$$

$$\text{HS-TSC (\%)} = -5690,24 + 62,01X_1 + 5,56X_2 - 0,18X_1^2 - 0,03X_2^2 - 0,0025X_1X_2$$

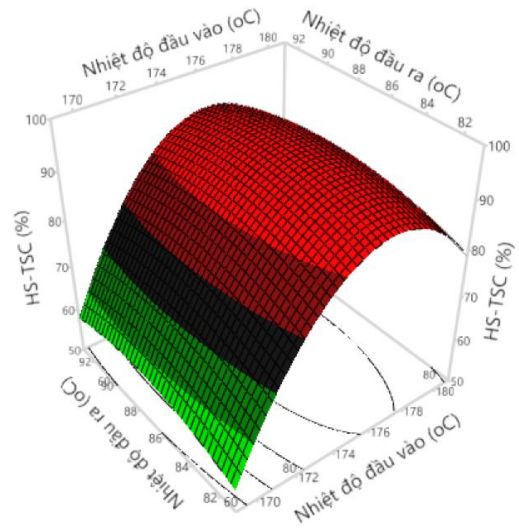
Bảng 3.16 Bảng thiết kế thí nghiệm và kết quả thực nghiệm thu được từ các chế độ sấy khác nhau

| X₁ (°C) | X₂ (°C) | Y₁ | Y₂ | Y₃ | Y₄ | Y₅ |
|---------------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 170 | 82 | 88,9 | 72,2 | 67,9 | 6,43 | 0,24 |
| 170 | 87 | 85,6 | 76,6 | 64,8 | 5,43 | 0,23 |
| 170 | 92 | 89,1 | 77,0 | 68,8 | 5,31 | 0,19 |
| 175 | 82 | 94,3 | 88,4 | 92,0 | 4,46 | 0,19 |
| 175 | 87 | 86,7 | 85,7 | 89,5 | 4,66 | 0,19 |
| 175 | 87 | 87,9 | 86,9 | 96,2 | 4,52 | 0,21 |
| 175 | 87 | 86,9 | 85,6 | 89,6 | 4,54 | 0,21 |
| 175 | 92 | 90,1 | 87,0 | 96,2 | 4,22 | 0,19 |
| 180 | 82 | 88,8 | 64,9 | 80,4 | 4,34 | 0,22 |
| 180 | 87 | 88,0 | 56,0 | 97,8 | 4,40 | 0,17 |
| 180 | 92 | 86,2 | 58,3 | 80,4 | 3,88 | 0,13 |

Y₁, Y₂, Y₃, Y₄, Y₅, các biến phụ thuộc HS-TPC (%), HS-TFS (%), HS-TSC (%) lần lượt là hiệu suất vi bao tính theo TFC, TFC, và TSC, độ ẩm (%) và hoạt độ nước aw. X₁ và X₂: lần lượt là nhiệt độ sấy đầu vào và đầu ra.

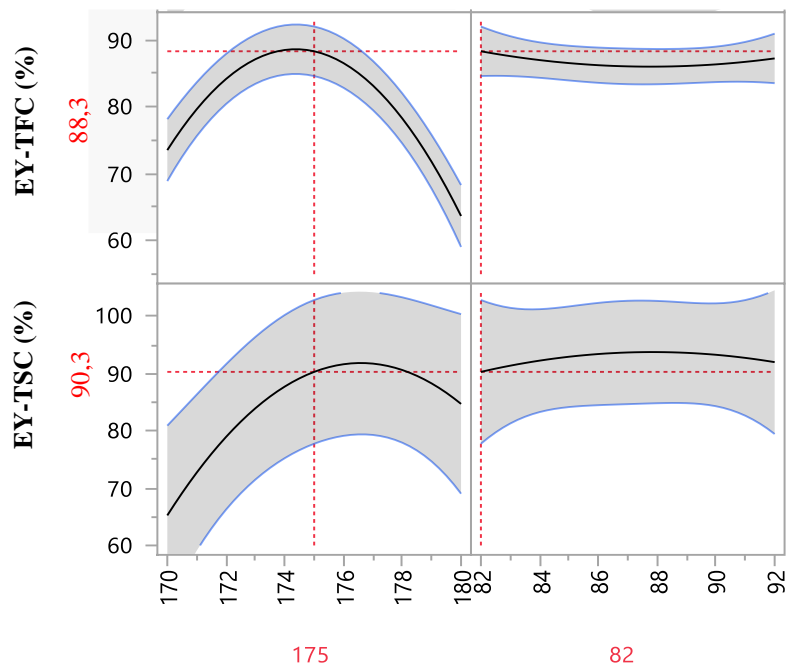


(A) Nhiệt độ dầu vào (°C)



(B) Nhiệt độ dầu ra (°C)

Hình 3.14 Mô hình tối ưu nhiệt độ sấy phun dầu vào và dầu ra



Hình 3.15 Biểu đồ 3D và đường đồng mức biểu thị ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun dầu vào và dầu ra đến hiệu suất vi bao tính theo TFC (A) và TSC (B)

Bảng 3.17 Hệ số hồi quy của mô hình biểu diễn ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hiệu suất vi bao

| Hệ số hồi quy ¹ | HS-TFC (%) | | HS-TSC (%) | |
|----------------------------|---------------|----------|---------------|----------|
| | Hệ số hồi quy | t ratio | Hệ số hồi quy | t ratio |
| Hằng số | | | | |
| a ₀ | 86,03 | 83,03*** | 93,72 | 26,57*** |
| Bậc 1 | | | | |
| a ₁ | -7,77 | -9,42*** | 9,52 | 3,40* |
| a ₂ | -0,53 | -0,65 | 0,85 | 0,30 |
| Bậc 2 | | | | |
| a ₁₁ | -19,68 | -15,51** | -15,34 | -3,56* |
| a ₂₂ | 1,72 | 1,36 | -2,54 | -0,59 |
| Tương tác | | | | |
| a ₁₂ | -2,85 | -2,82* | -0,23 | -0,07 |
| R ² | 0,97 | | 0,84 | |
| P | <0,001 | | 0,04 | |
| P value of lack of fit | 0,076 | | 0,18 | |

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

¹a₀ là hằng số; a_i, a_j, a_{ij} lần lượt là hệ số bậc 1, bậc 2 và tương tác của phương trình bậc 2.

Để xác định mô hình tối ưu có thể mô tả sự thay đổi hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học khi sấy phun ở điều kiện nhiệt độ đầu vào và đầu ra khác nhau (Nijdam, J. & Langrish, 2006), thí nghiệm với 3 lần lặp lại ở điều kiện sấy phun tối ưu được thực hiện với nhiệt độ đầu vào và nhiệt độ đầu ra tối ưu lần lượt là 175 °C và 82 °C. Kết quả trình bày ở Bảng 3.18 cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về hiệu suất vi bao tính theo TFC (2,2%) và TSC (0,4%) giữa điều kiện sấy phun tối ưu

từ phương trình và thực nghiệm. Điều này cho thấy, phương trình tối ưu dự đoán được hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học khi thay đổi điều kiện sấy phun.

Bảng 3.18 Kết quả thẩm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế

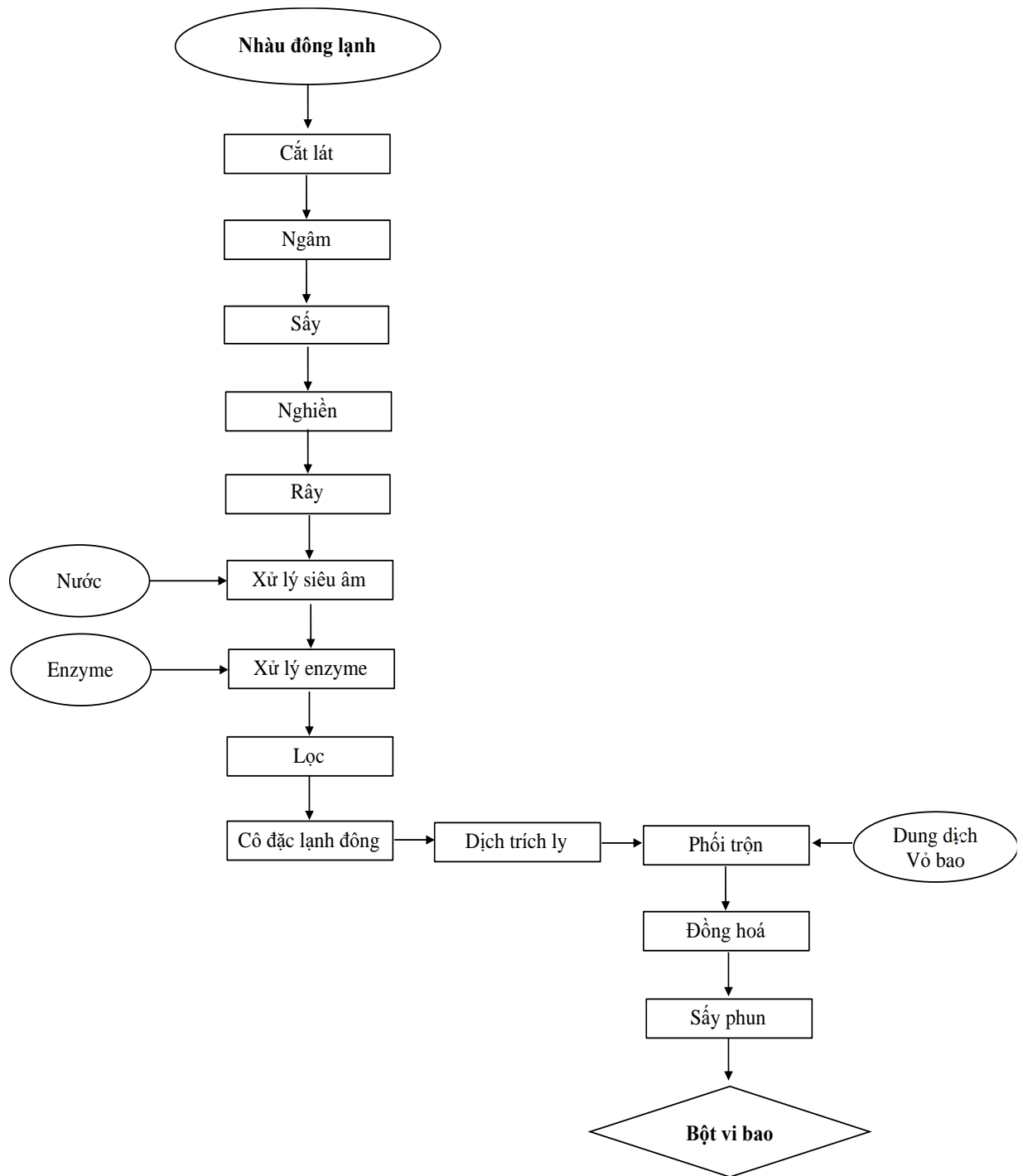
| | HS-TFC (%) | HS-TSC (%) |
|---|-------------------|-------------------|
| Điều kiện tối ưu từ phương trình | 88,3 | 90,3 |
| Điều kiện tối ưu từ thực nghiệm | 90,3 ± 2,4 | 89,9 ± 3,1 |

Kết quả thống kê từ các số liệu thực nghiệm cho thấy tối ưu từ mô hình và thực nghiệm có sự tương quan với nhau, với các thí nghiệm sơ bộ ta có thể xây dựng mô hình tối ưu gần sát với thực tế thí nghiệm, từ đó có thể dự đoán được hiệu quả của quá trình tối ưu (Osorio & ctv, 2010).

Từ mô hình tối ưu nhiệt độ đầu vào và ra có thể thấy sự ảnh hưởng của nhiệt độ đầu vào rõ rệt hơn ảnh hưởng của nhiệt độ đầu ra đến khả năng vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học. Khi nhiệt độ sấy cao, một số lượng lớn các hạt bột có xu hướng mịn bề mặt vì độ ẩm bay hơi nhanh chóng từ bề mặt và lớp vỏ nhanh chóng trở nên khô ráo và cứng lại và giữ bề mặt nhẵn mịn (Nijdam, J. & Langrish, 2006). Sự tối ưu về nhiệt độ đầu vào và ra khi sấy phun cần thiết để cải thiện các đặc tính bề mặt của các hạt bột được tạo ra trong nghiên cứu hiện tại. Nó là mong muốn để có được các hạt hình cầu mịn để tối đa hóa sự ổn định của bột, đặc biệt là nếu nó sẽ được sử dụng như một tác nhân phát tán có kiểm soát (Osorio & ctv, 2010).

3.5.6 Quy trình công nghệ vi bao bằng phương pháp sấy phun

Quy trình công nghệ vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ dịch trích trái nhàu bằng phương pháp sấy phun được trình bày qua Hình 3.16.



Hình 3.16 Quy trình công nghệ vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học nhàu dạng bột

Thuyết minh quy trình

Nhàu sau khi được vệ sinh và cấp đông. Quy trình trích ly được miêu tả tại Mục 3.3.6.1 để tạo ra dịch trích ly từ trái nhàu.

Dung dịch vỏ bao bao gồm (maltodextrin và gum arabic với tỷ lệ 1: 2, khối lượng/khối lượng) có nồng độ 20% được khuấy đều trong nước ấm (khoảng 50°C) cho đến khi tan hoàn toàn. Sau đó dung dịch vỏ bao được khuấy trộn với dung dịch nhàu sau cô đặc. Dung dịch nhàu được cho từ từ vào dung dịch vỏ bao trong suốt quá trình khuấy trộn. Tỷ lệ khối lượng phối trộn giữa dung dịch vỏ bao và dịch nhàu cô đặc được cố định là 7:3.

Đồng hóa: sử dụng máy đồng hóa tốc độ cao để đồng hóa hỗn hợp dịch (gồm vỏ bao và dịch trích ly nhàu tạo thành hỗn hợp đồng nhất. Hỗn hợp dịch nhàu được đồng hóa với tốc độ 10.000 (vòng/phút) trong 10 phút và áp suất 10MPa. Trong quá trình đồng hóa, nhiệt độ tâm của hỗn hợp là khoảng 40°C ± 3°C.

Sấy phun: sử dụng thiết bị sấy phun, khởi động máy và chỉnh các thông số sau:

- Tốc độ Automizer 15.000 vòng/phút;
- Nhiệt độ đầu vào 175°C;
- Tốc độ nhập liệu 1,6 lít/giờ;
- Khi nhiệt độ vào đạt 175°C và nhiệt độ đầu ra là 100°C thì bắt đầu hút dịch vào sấy, nhằm tạo một lớp bột tráng máy và điều chỉnh nhiệt độ đầu ra cho phù hợp;
- Nhiệt độ đầu ra xuống 82°C thì lấy lượng bột tráng máy ra và bắt đầu quá trình sấy phun.

Thành phẩm bột nhàu vi bao sau khi sấy phun được thu nhận đóng vào túi zip tráng bạc (Hình 3.17). Với quy trình công nghệ trên, hiệu suất vi bao của bột vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học nhàu tính theo TFC và TSC lần lượt là 90,3% và 89,9%. Thành phẩm bột vi bao có hàm lượng TPC, TFC, TSC lần lượt là 2,03 mg GAE/100g bột; 8,67 mg QE/100g bột; 25,72 mg AE/100g bột. Bột vi bao có độ ẩm và hoạt độ nước lần lượt là 4,74% và 0,21. Thành phẩm có thể bảo quản trong thời gian tối thiểu là 12 tháng ở nhiệt độ môi trường.

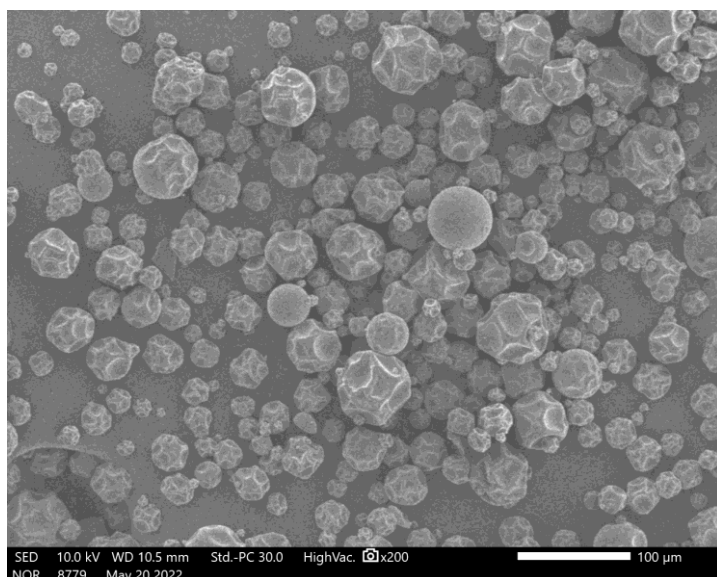
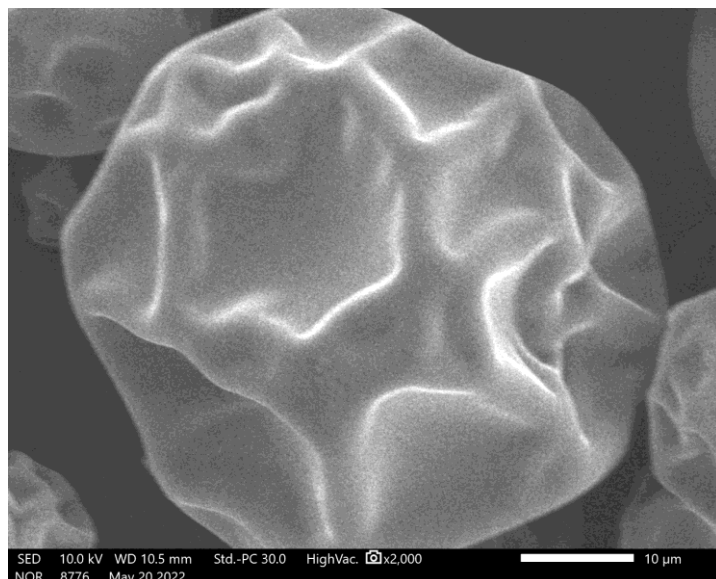


Hình 3.17 Bột nhàu vi bao bằng sấy phun được bảo quản trong túi zip

3.5.7 Cấu trúc hạt vi bao và kích thước của bột vi bao

Kết quả phân tích cấu trúc hạt vi bao bằng thiết bị SEM ở các độ phóng đại khác nhau được trình bày qua Hình 3.18. Kết quả cho thấy hạt có kích thước tương đối đồng đều và quan trọng là hạt không bị vỡ khi phóng đại lên 2000 lần. Điều này chứng

tổ hạt có cấu trúc bền vững, có khả năng bảo vệ tốt các hợp chất có hoạt tính sinh học bên trong hạt vi bao.



Hình 3.18 Cấu trúc hạt vi bao tối ưu được phân tích bằng SEM

Các hạt bột vi bao có dạng cầu và không bị vỡ, cho thấy khả năng vi bao của chất bao và quy trình là thích hợp, các hạt bột có khả năng giữ được các hợp chất có hoạt tính sinh học một cách bền vững, như vậy hạn chế tối đa việc thất thoát hợp chất có hoạt tính sinh học cũng như giúp cho thời gian bảo quản mà còn lưu giữ phần lớn hợp chất có hoạt tính sinh học được tốt hơn. Như đã thấy trong Hình 3.18, bột được bao bọc không có vết nứt và lỗ rỗng, điều này rất quan trọng để ngăn ngừa hợp chất

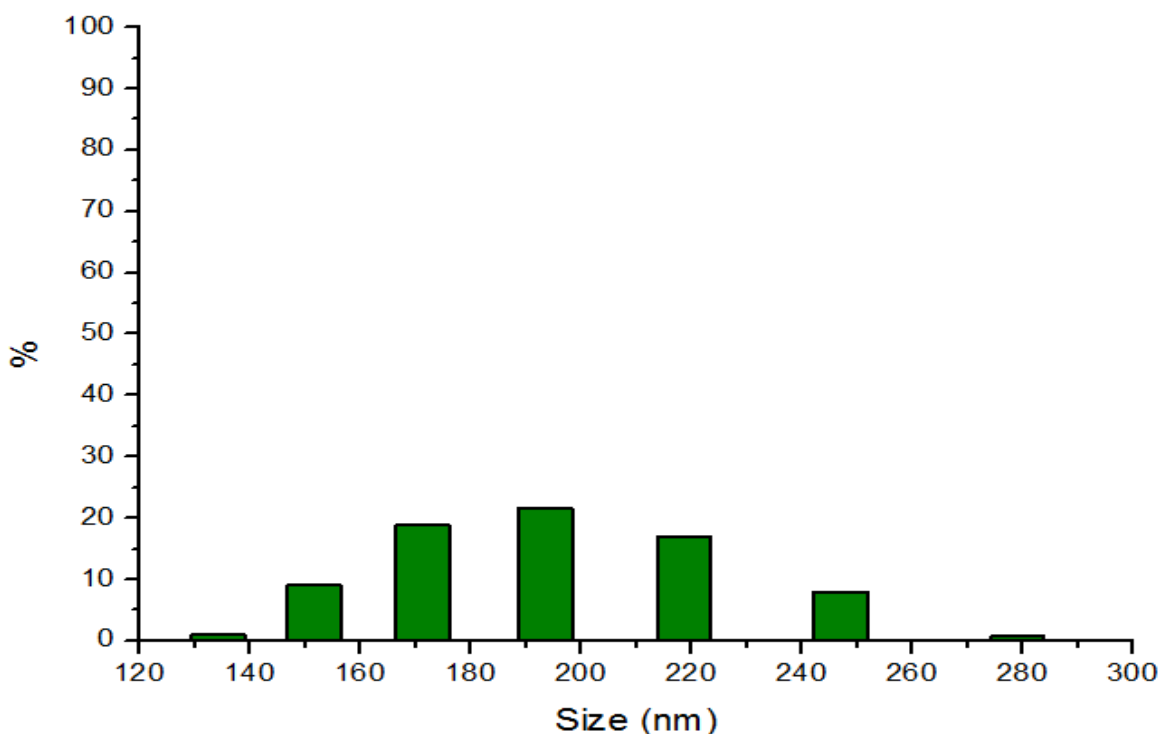
có hoạt tính sinh học trích ly từ trái nhàu tiếp xúc với không khí và bị phân hủy do quá trình oxy hoá.

Hình ảnh SEM đã chỉ ra rằng các hạt duy trì một hình dạng giống hình cầu với bề mặt nhẵn hoặc nhăn tùy thuộc vào điều kiện sấy (Hình 3.18). Hầu hết các hạt không xuất hiện một tỷ lệ đáng kể các vết nứt hoặc vết nứt ở bề mặt bên ngoài, cho thấy chống lại cấu trúc vật lý bên ngoài. Các hạt vi bao được tạo ra không có ảnh hưởng rõ ràng có độ thấm khí thấp hơn, từ đó cho thấy một biện pháp bảo vệ hiệu quả hơn các hợp chất hoạt tính sinh học khỏi các phản ứng oxy hóa và tránh sự giải phóng không mong muốn của chúng (Shamaei & ctv, 2017).

Ở độ phóng đại 200 lần thấy hầu hết các hạt có hình dạng giống nhau, nhưng các hạt bột này không ở dạng cầu hoàn toàn mà hơi nhăn điều này có thể do nhiệt độ sấy (Nijdam, J. & Langrish, 2006). Nhiệt độ có ảnh hưởng đến quá trình hình thành bề mặt của hạt bột vì có sự xuất hiện của các bọt khí nhỏ. Các bọt khí hình thành và phồng lên do nhiệt độ và áp suất bên trong phân tử hạt bên trong lớn hơn bên ngoài, đối với một số hạt khi phân tử hạt vi bao nở ra, sẽ thoát hơi nước nhanh tạo ra dạng hạt cầu cho các hạt bột, khi nhiệt độ bột sấy giảm đi một số hạt có bề mặt xẹp xuống nhưng không bị vỡ ra làm cho hạt bột có bề mặt hơi nhăn không còn dạng hình cầu. Việc nhiệt độ đầu vào cao và giảm đột ngột ở đầu ra có thể ảnh hưởng đến hình dạng hạt bột, việc tối ưu nhiệt độ đầu vào và ra có ảnh hưởng đến hình dạng hạt bột sấy phun. Khi nhiệt độ sấy cao, một số lượng lớn các hạt bột có xu hướng mịn bề mặt vì độ ẩm bay hơi nhanh chóng từ bề mặt và lớp vỏ nhanh chóng trở nên khô ráo và cứng lại và giữ bề mặt nhẵn mịn (Nijdam, J. & Langrish, 2006). Tuy nhiên, khi nhiệt độ sấy tương đối thấp, Các hạt được tạo ra có xu hướng co lại và hình thành các bề mặt nhăn nheo (Tonon & ctv, 2008). Điều này xảy ra vì độ ẩm vẫn còn trong lớp vỏ ngoài, vẫn mềm và dễ bị thay đổi hình dạng và các hạt dễ bị giảm thoát hơi nước khi nguội (Nijdam, J. & Langrish, 2006). Nhiệt độ đầu vào sấy cao hơn có xu hướng tạo ra các hạt có bề mặt mịn hơn và độ nhăn thấp và các hốc lồi lõm. Thực tế là do nước bốc hơi nhanh và áp suất cao hơn bên trong các hạt trong quá trình vi nang ở nhiệt độ cao hơn ngăn cản sự co lại (Medina-Torres & ctv, 2016). Mặt khác, sự phân tách nước

chậm hơn ở nhiệt độ thấp hơn, cho phép nhiều thời gian hơn để các hạt biến dạng, nhả nheo và mất cấu trúc (Beirão-da-Costa & ctv, 2013).

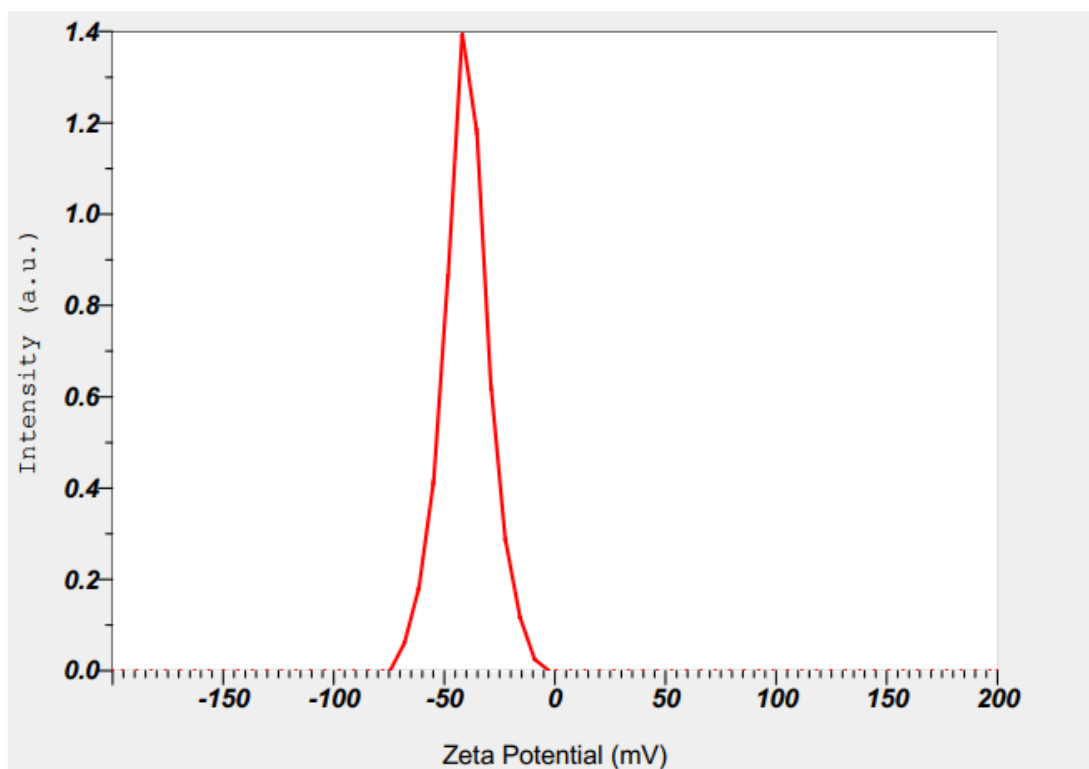
Kích thước của bột vi nang sẽ ảnh hưởng tới đặc tính bảo quản, khả năng lưu giữ hoạt tính sinh học, xử lý và vận chuyển bột. Vi bao có kích thước càng nhỏ sẽ có khả năng lưu trữ hoạt chất thấp hơn vi bao có kích thước lớn, vì kích thước càng nhỏ thì bề mặt tiếp xúc với môi trường càng lớn, dễ bị ảnh hưởng bởi điều kiện môi trường (Zhang, Khoo, Swedlund, & ctv, 2020). Ngoài ra, các yếu tố như tỷ trọng khối, độ hòa tan, độ hút ẩm, khả năng chảy cũng bị ảnh hưởng bởi kích thước hạt (Janiszewska-Turak & ctv, 2017). Bột vi nang sấy phun thường có phổ phân bố kích thước rộng và đa dạng về kích thước do sự phân tán giọt khi phun. Điều này lí giải cho kết quả phân tích DLS của bột vi bao có chỉ số phân tán (polydispersity index-PI) khá cao. Kết quả phân tích DLS cho thấy bột vi bao có kích thước từ 174-279 nm, phân bố khá đồng đều (Hình 3.19).



Hình 3.19 Biểu đồ phân bố kích thước bột vi bao

Bột vi bao có điện thế zeta -40,1 mV (Hình 3.20) cho thấy bột có độ ổn định cao và có khả năng phân tán tốt trong môi trường lỏng. Kết quả này tương đồng với nghiên

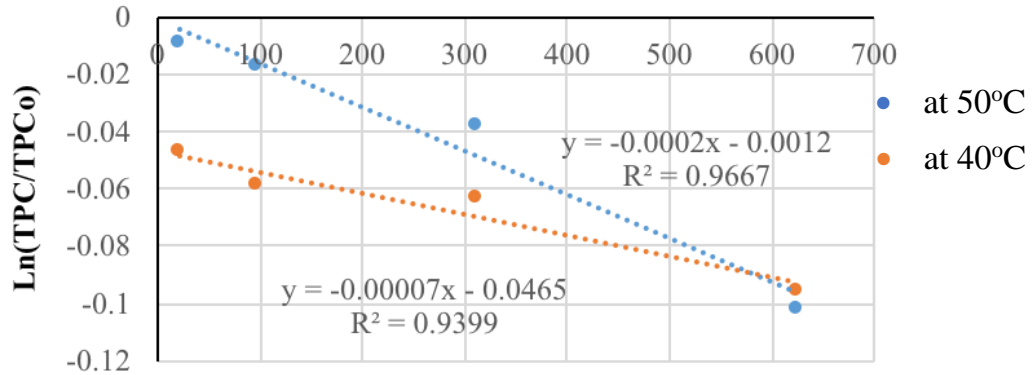
cứu trước về việc sử dụng Gum và maltodextrin (MA) làm vỏ vi bao bột nhào, tuy nhiên mẫu bột vi bao trong nghiên cứu này có độ ổn định cũng như kích thước đạt nhỏ hơn (Janiszewska-Turak & ctv, 2017). Sự khác biệt này có thể đến từ tỷ lệ của các thành phần trong vỏ vi bao.



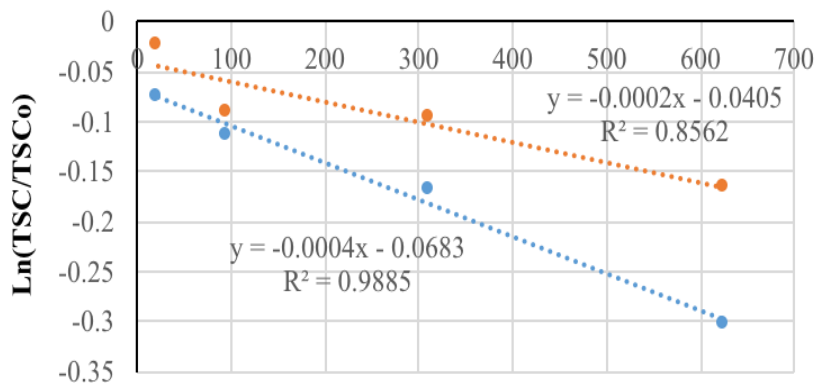
Hình 3.20 Biểu đồ điện thế zeta của bột vi bao

3.5.8 Động học thất thoát các hợp chất có hoạt tính sinh học của bột vi bao

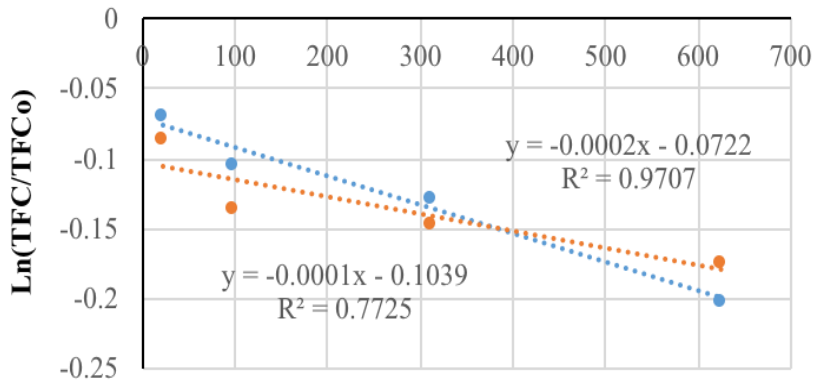
Sự thay đổi hàm lượng TPC, TFC, và TSC của bột vi bao ở nhiệt độ bảo quản 40 và 50°C được trình bày qua Hình 3.20. Nhìn chung, tốc độ thất thoát các hợp chất có hoạt tính sinh học cao hơn ở nhiệt độ cao (50°C so với 40°C). Dựa vào hệ số góc của phương trình, tính được giá trị Q_{10} của TPC, TFC và TSC lần lượt là 2,86; 2,0 và 2,0. Với giá trị Q_{10} tính được, nếu tỷ lệ thất thoát hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột vi bao là -50%, thì thời gian bảo quản của bột vi bao ở nhiệt độ 25°C tính theo TPC, TFC, và TSC được xác định lần lượt là: 2,5; 1,9; và 1,1 năm.



(A)



(B)



(C)

Hình 3.21 Động học thất thoát polyphenol (A), flavonoid (B) và saponin (C) theo thời gian bảo quản

Dựa vào hệ số góc của phương trình, tính được giá trị Q10 của TPC, TFC và TSC lần lượt là 2,86; 2,0 và 2,0. Với giá trị Q10 tính được, nếu tỷ lệ thất thoát hàm lượng các hợp chất sinh học trong bột vi bao là -50%, thì thời gian bảo quản của bột

vi bao ở nhiệt độ 25°C tính theo TPC, TFC, và TSC được xác định lần lượt là: 2,5; 1,9; và 1,1 năm.

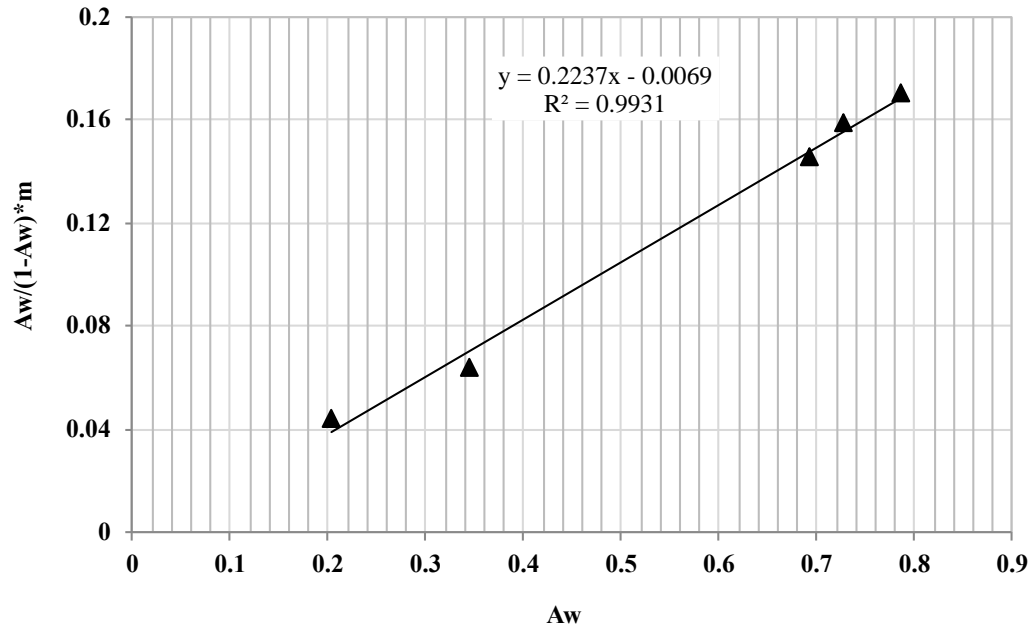
Sự thất thoát các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột sấy phun chậm đồng nghĩa với khả năng lưu giữ các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột sấy phun tốt, điều này phù hợp với yêu cầu của sản phẩm là bảo quản lâu dài mà ít ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Thời gian bảo quản lâu có ý nghĩa trong quá trình vận chuyển, sử dụng, bảo quản, lưu trữ. Khi phối hợp với các sản phẩm dạng bột hoặc một số sản phẩm khác ít làm ảnh hưởng đến thời gian bảo quản, hạn chế được việc sử dụng phụ gia nếu đưa vào sản xuất.

3.5.9 Đường cong hấp phụ ẩm của bột vi bao

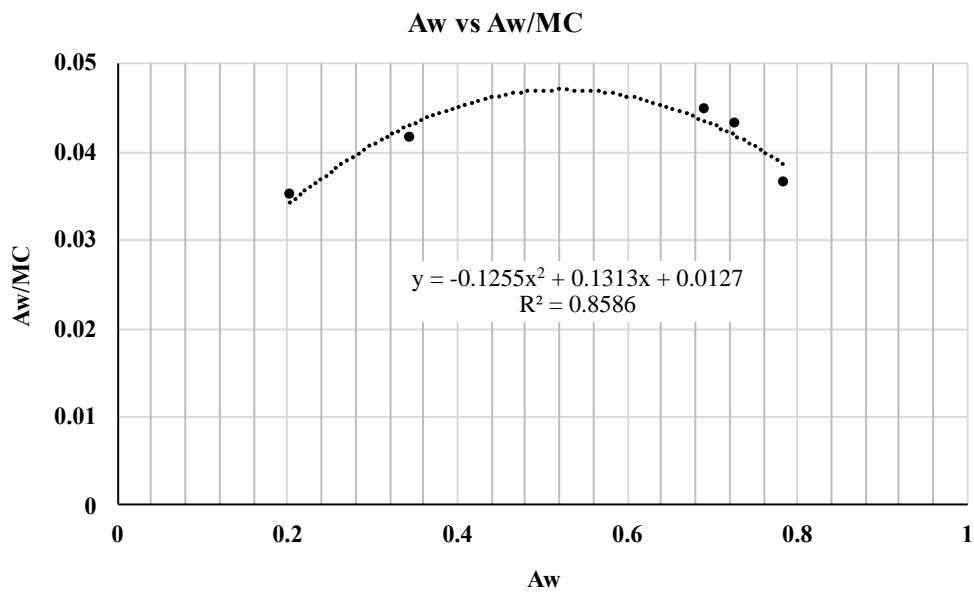
Ảnh hưởng của độ ẩm của bột vi bao nhàu tối ưu được xác định ở môi trường với 5 điều kiện độ ẩm tương đối khác nhau trong 30 ngày ở nhiệt độ môi trường. Hình 3.22 cho thấy các giá trị độ ẩm cân bằng (M_0) tăng lên khi độ ẩm tương đối cân bằng tăng lên. Nhìn chung, điều kiện an toàn nhất cho sự ổn định bảo quản lâu dài của vi bao là phụ thuộc vào M_0 (Figura & Teixeira, 2007). Mô hình BET và GAB được sử dụng để dự đoán giá trị M_0 được trình bày qua Hình 3.22. Giá trị M_0 (Bảng 3.19) của bột vi bao tối ưu tính theo mô hình BET và GAB lần lượt là 4,48% ($R^2 = 0,99$) và 6,51% ($R^2 = 0,86$) (Hình 3.22 A,B).

Bảng 3.19 Hệ số của các mô hình đường cong hấp phụ của bột vi bao nhàu

| Mô hình | Hệ số | | | |
|---------|-------|---------|-------|-------|
| | M_0 | C | K | R^2 |
| BET | 4,48 | -323,20 | - | 0,99 |
| GAB | 6,51 | 13,74 | -0,09 | 0,86 |



(A)



(B)

Hình 3.22 Mô hình BET (A) và GAB (B) của bột vi bao nhàu

Mô hình BET có độ chính xác hơn so với mô hình GAB, do có giá trị R^2 lớn hơn. Vì thế độ ẩm của sản phẩm bột vi bao nên bằng hoặc nhỏ hơn 4,48%. M_0 để hạn chế đến mức tối đa các hư hỏng do phản ứng hoá học, và vi sinh. Các chỉ số chi tiết khác được trình bày trong Phụ lục 14.7. Tuy nhiên, thực phẩm thường không được làm khô đến dưới giá trị M_0 do nhiệt lượng cần thiết tăng thêm để làm bốc hơi nước.

Do đó, độ ẩm bảo quản của sản phẩm được tối ưu sao cho bằng hoặc cao hơn một chút so với giá trị M_0 để đạt được thời hạn sử dụng tối đa với sự hư hỏng tối thiểu (Fellows, 2022). Mẫu bột nhào được vi bao được sử dụng trong nghiên cứu này có độ ẩm 4,74% gần với M_0 , cho thấy rằng mẫu có thể được bảo quản trong một thời gian dài.

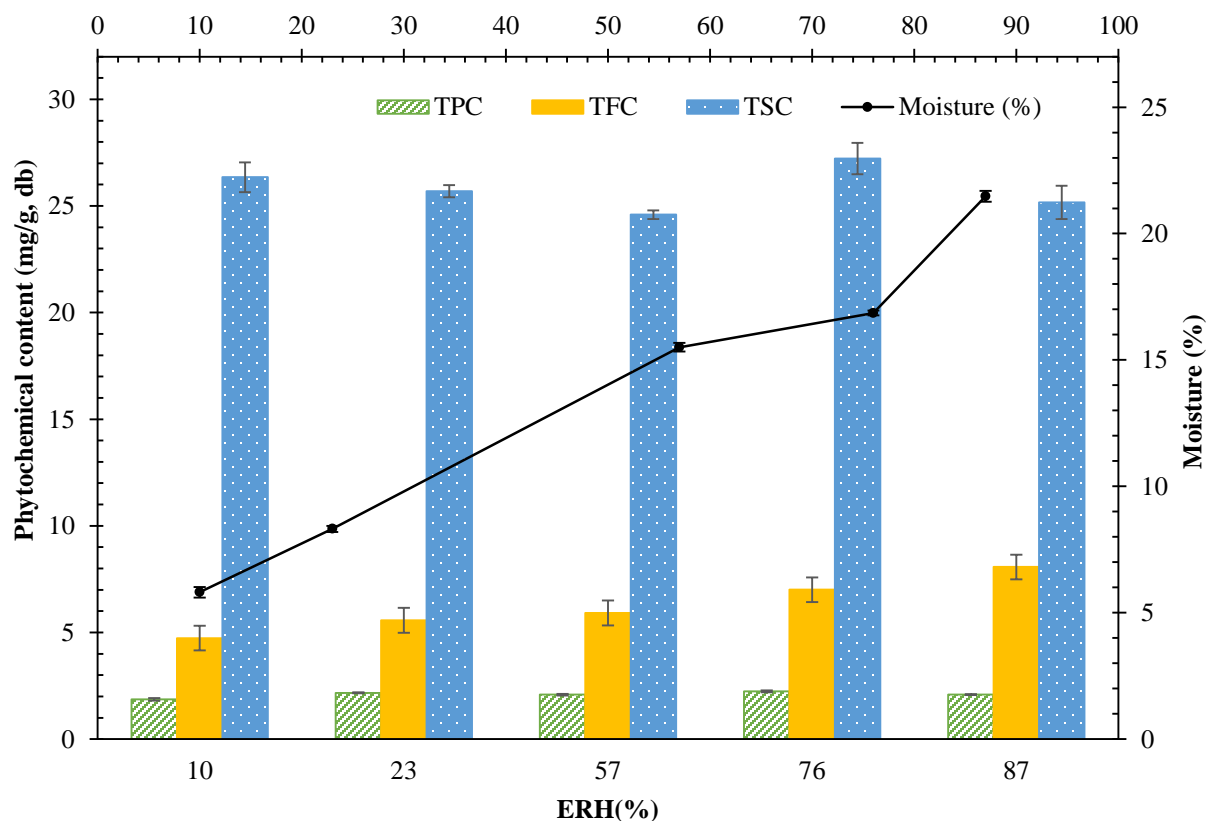
Nhìn chung, các tính chất hóa học và vật lý của bột bị ảnh hưởng đáng kể bởi quá trình hấp phụ hoặc giải hấp phụ nước. Độ ẩm tương đối (ERH) có ảnh hưởng đáng kể đến độ ẩm của bột vi bao cũng như là các hợp chất có hoạt tính sinh học. Sự phân huỷ của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột vi bao ảnh hưởng bởi độ ẩm tương đối. Vì thế, yếu tố bao bì hạn chế hút ẩm cần được quan tâm để tạo ra sản phẩm có chất lượng ổn định cao.

Ảnh hưởng của điều kiện độ ẩm đối với bột nhào sấy phun là được xác định ở nhiệt độ môi trường (30°C) trong năm loại muối khác nhau điều kiện độ ẩm tương đối và thời gian mà trọng lượng cân bằng của các mẫu đã được thu được. Hình 3.23 mô tả mối quan hệ đồ thị giữa trạng thái cân bằng độ ẩm EMC, (% d.b.) và độ ẩm tương đối cân bằng (ERH, %) đối với TPC, TFC, TSC của các mẫu bột nhào sấy phun được giữ ở nhiệt độ môi trường xung quanh, cho thấy một hình dạng sigma. Nhìn chung, khi ERH tăng lên, giá trị EMC ở nhiệt độ không đổi tăng lên. Điều này phù hợp với nhiều tác giả đã báo cáo rằng các đẳng nhiệt ẩm đối với hóa chất khô thường thể hiện một đường cong biểu thị trong ERH nằm trong khoảng 6–43 (Janjai & ctv, 2006; Tan, Sing Pei & ctv, 2015; Yan & ctv, 2008).

Tùy thuộc vào nhiệt độ bảo quản, các mẫu bột cho thấy sự gia tăng rất nhỏ EMC. Trong phạm vi này, độ ẩm và hoạt độ nước của các mẫu khá thấp, cho thấy rằng có một lượng nhỏ nước tự do đáng kể bên trong bột nhào sấy phun. Do đó, các mẫu có thể nhiều hơn ổn định về mặt vật lý, hóa học. Tuy nhiên, sử dụng quy trình sấy để có thực phẩm bên trong khoảng ERH này là cực kỳ khó khăn và tốn kém (Tan, Sing Pei & ctv, 2015). Ngược lại, do độ ẩm hấp phụ cao nên thuận lợi cho các phản ứng hóa

học, sinh học và vi sinh. Điều chỉnh theo phương pháp BET, độ ẩm Mo (% , d.b.) của mẫu được giữ ở nhiệt độ ở 30 °C xấp xỉ 4,5 ($R^2 = 0,99$).

Mặt khác, phương trình GAB mang lại giá trị cao hơn của Mo trong khoảng 6.5 ($R^2 = 0,86$). Những kết quả này chỉ ra rằng phương trình GAB chính xác hơn trong việc dự đoán Mo, được chỉ ra bởi giá trị R^2 cao hơn. Nói chung đã thấy rằng Mo của một sản phẩm thực phẩm khô được chọn cho thời hạn sử dụng kéo dài. Điều này là do các phản ứng bị chậm lại về mặt hóa học, vật lý và sinh học ở mức độ ẩm dưới Mo sự phân hủy thực phẩm xảy ra ở mức cao hơn độ ẩm do sự gia tăng của vi sinh vật. Độ ẩm bảo quản bột nhàu thí nghiệm xung quanh mức Mo, ở đây là từ 4,5% đến khoảng 6,5%.

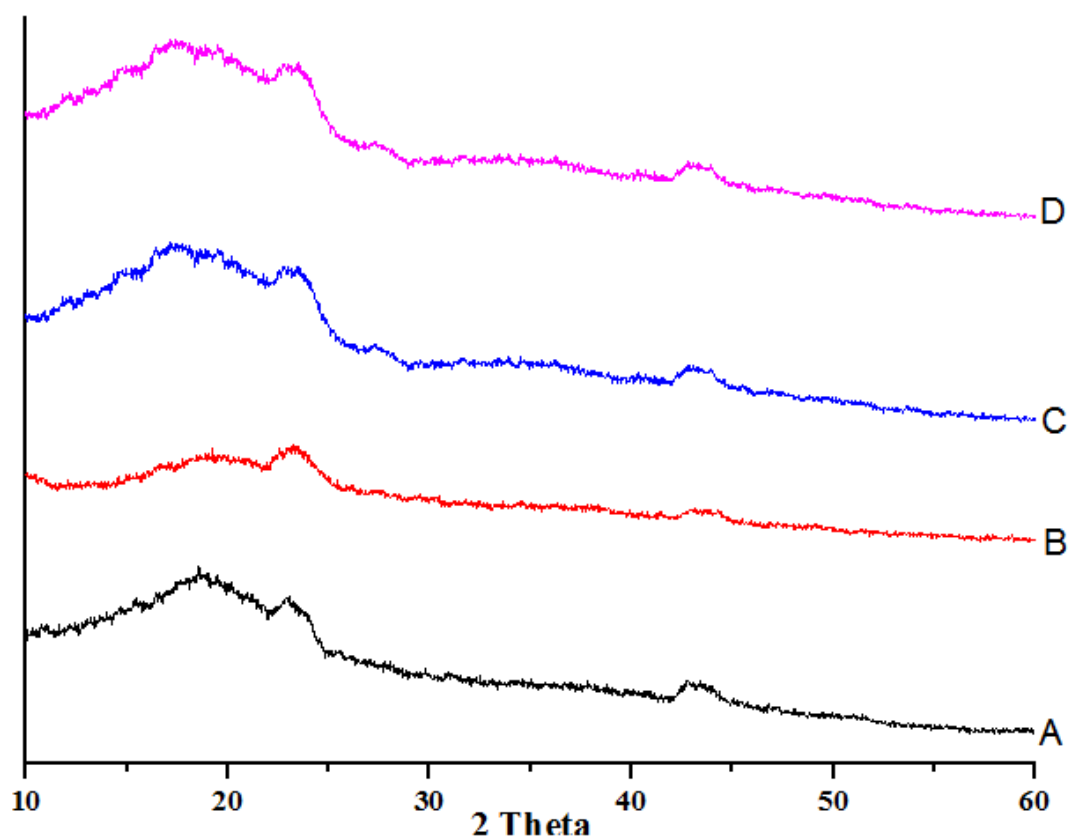


Hình 3.23 Ảnh hưởng của độ ẩm tương đối đến polyphenol, flavonoid, saponin và độ ẩm cân bằng của bột vi bao

Tuy nhiên, thực phẩm hiếm khi được làm khô đến dưới mức M_0 do nhiệt tăng cần thiết cho sự bay hơi. Một sản phẩm độ ẩm phải bằng hoặc cao hơn giá trị M_0 của nó một chút để cung cấp thời hạn sử dụng tối ưu với sự hư hỏng chậm nhất.

3.5.10 Độ kết tinh và độ bền nhiệt của vi bao

Độ kết tinh của bột vi bao có ảnh hưởng đến tính ổn định của bột. Vì thế, bột vi bao được xác định cấu trúc là kết tinh hay vô định hình thông qua phương pháp nhiễu xạ tia X. Hình 3.24 thể hiện giản đồ nhiễu xạ tia X của bột vi bao là vô định hình với các đỉnh khuếch tán và rộng điều này tương đồng với các nguyên liệu ban đầu là Gum, MA và cao chiết trái nhàu.



Hình 3.24 Giản đồ XRD của (A) bột vi bao, (B) Cao chiết trái nhàu, (C) MA, (D) Gum

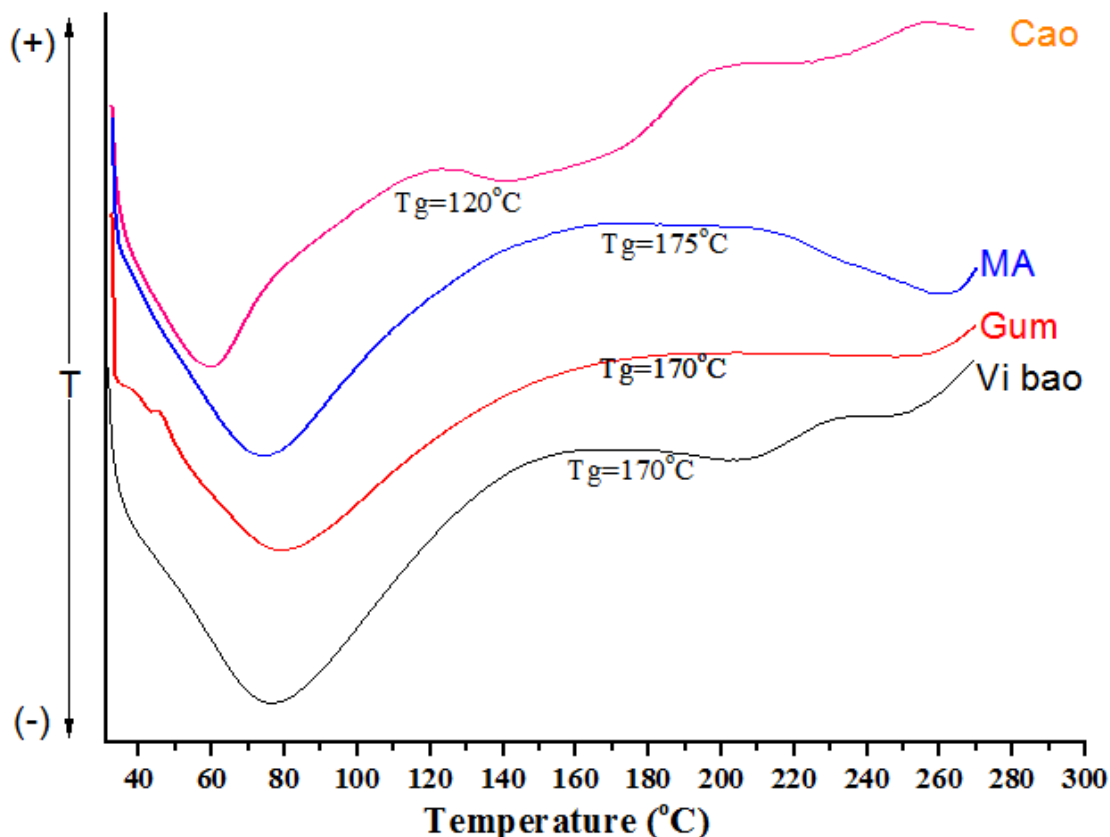
Bên cạnh đó, giản đồ XRD của bột vi bao (Hình 3.24 A) gần như tương đồng với giản đồ của Gum (Hình 3.24 D) và MA (Hình 3.24 C), điều này chứng tỏ toàn bộ

bao chiết đã được bao bột bởi Gum và MA. Đồng thời, sự tương đồng này cho thấy rằng nhiệt độ sấy phun không làm thay đổi tính chất cũng như độ kết tinh của các nguyên liệu ban đầu, đảm bảo tính chất hóa lí của nguyên liệu trước và sau sấy.

Nhiệt độ hóa kính (nhiệt chuyển pha, T_g) là một thông số quan trọng của thực phẩm sấy phun vì thông số này cho phép dự đoán độ ổn định và chất lượng sản phẩm trong quá trình sản xuất và bảo quản. Đồng thời, thông số này cũng ảnh hưởng đến quá trình kết tinh, độ dính và độ nén của sản phẩm là các hạt vi bao. Cụ thể, nếu nhiệt độ bảo quản cao hơn T_g thì chất lượng của sản phẩm bị ảnh hưởng. Hình 3.25 thể hiện phổ DSC của nguyên liệu sản xuất vi bao gồm Gum, MA, cao và sản phẩm cuối cùng là bột vi bao. Kết quả cho thấy T_g lần lượt là 170°C (Gum), 175°C (MA), 120°C (cao) và 170°C (Vi bao) (Iturri & ctv, 2021). Giá trị T_g vi bao xấp xỉ với nguyên liệu Gum và MA và cao hơn cao chiết ban đầu điều này cho thấy Gum và MA đã bao bọc cao chiết thành công và có khả năng bảo vệ cao trước môi trường nhiệt độ cao. Bên cạnh đó, phổ DSC cao tự do có đỉnh thu nhiệt ở 58°C thấp hơn so với Gum ở 71°C , MA ở 69°C và vi bao là 76°C , điều đó chứng tỏ cao tự do kém ổn định hơn so với cao đã được vi bao bởi Gum và MA. Đồng thời, nhiệt phân hủy của cao tự do khoảng $140\text{-}160^\circ\text{C}$ thấp hơn nhiều so với vi bao là 210°C . Tóm lại, vi bao cao chiết nhằm ổn định hệ cao và bảo vệ cao trước tác dụng của môi trường nhiệt độ cao nhằm bảo quản sản phẩm tốt hơn, điều này sẽ được chứng tỏ một lần nữa ở kết quả bảo vệ hoạt chất của vi bao trong môi trường nhiệt độ cao.

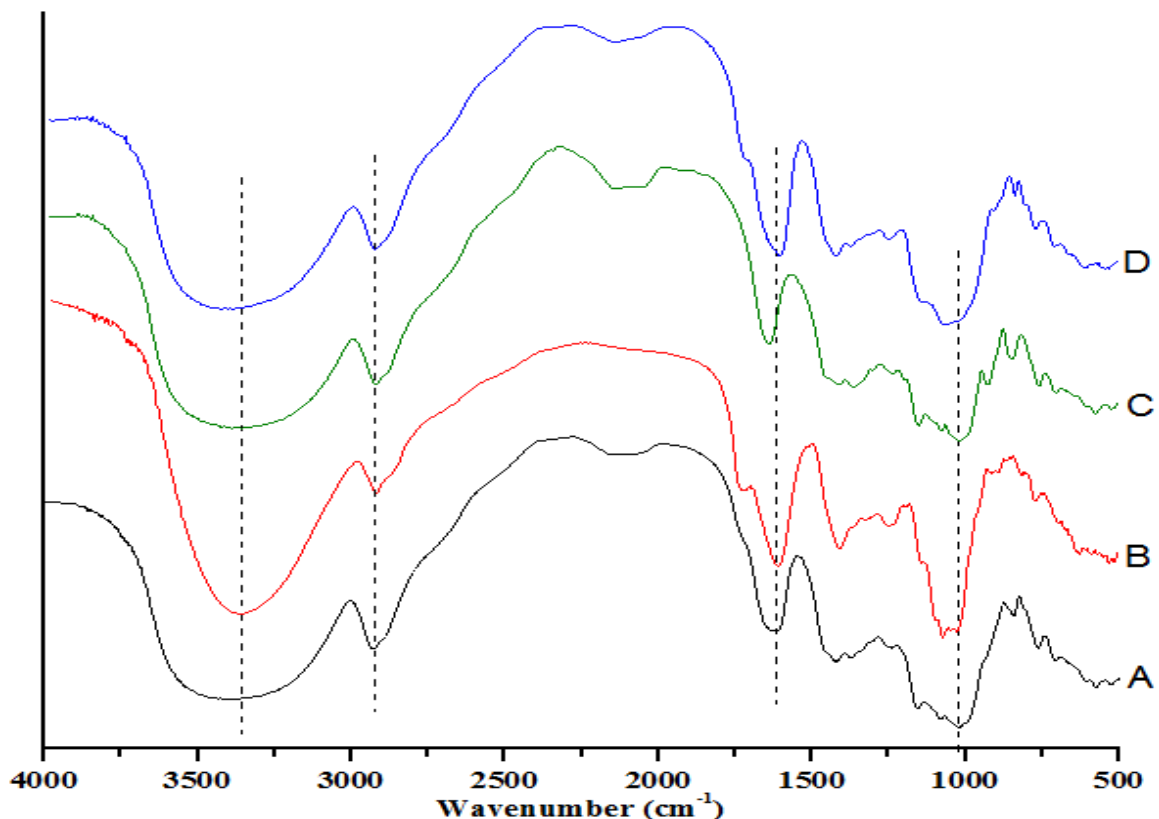
3.5.11 Khả năng tương tác của các thành phần trong bột vi bao

Phương pháp phổ hồng ngoại biến đổi FTIR được dùng để phân tích liên kết cũng tương tác của các thành phần có trong bột vi bao thể hiện qua các nhóm chất hữu cơ khác nhau đến từ phân lõi là cao chiết trái nhàu và phần vỏ bao gồm Gum và MA (Hình 3.26).



Hình 3.25 Phổ DSC của bột vi bao, cao chiết, Gum và MA

Đầu tiên, dãy dao động từ $3000-3500\text{ cm}^{-1}$ có trong tất cả các mẫu là liên kết hydro và liên kết $-OH$ trong cấu trúc alcoholic của phenolic có trong cao chiết vị trí này trùng với liên kết giãn dài của nhóm $-OH$ trong nước dư sau khi sấy (Smith, 2018). Liên kết ở vị trí $2800-2900\text{ cm}^{-1}$ thuộc về liên kết $C-H$ của nhóm CH_2 hoặc $C-H$. Vị trí 1690 cm^{-1} thuộc về amide I trong cấu trúc của Gum, vì trong thành phần cấu trúc Gum có một lượng nhỏ peptide dẫn đến dao động giãn dài của amide I là dao động kéo dài của nhóm $C-N$ kết hợp với dao động uốn cong $N-H$ (Panyoyai & ctv, 2016). Tương tự, MA là một Oligosaccharide bao gồm các D-glucose được nối thành chuỗi dài nên phổ FT-IR có các liên kết tương đồng với cao với Gum vì trong công thức cấu tạo có chứa nhóm $-CH_2$, $-CH$, $-OH$ và vòng benzene. Các đỉnh ở vị trí $1019-1148\text{ cm}^{-1}$ là các liên kết kéo giãn của $C-O$, uốn $C-H$ (Zhang, Khoo, Swedlund, & ctv, 2020). Bên cạnh đó, các liên kết ở vị trí 846 và 740 cm^{-1} thuộc về vòng benzene (Ballesteros & ctv, 2017).



Hình 3.26 Phổ FTIR của (A) bột vi bao, (B) Cao chiết trái nhàu, (C) MA, (D) Gum

Do đó, mẫu bột vi bao thể hiện đầy đủ tín hiệu của các thành phần trước khi sấy phun như cao chiết, Gum, MA. Tuy nhiên cường độ của các mũi tín hiệu là khác nhau đối với mẫu bột vi bao và các thành phần trong bột do hàm lượng phối trộn lớn hoặc nhỏ sẽ ảnh hưởng đến cường độ tín hiệu. Đồng thời, không tìm thấy tín hiệu mới nào trên phổ FT-IR của bột vi bao cho thấy không có liên kết hóa học mới nào xuất hiện sau quá trình sấy phun. Từ đó có thể xác định là đã vi bao thành công dịch chiết trái nhàu mà không làm ảnh hưởng đến tính chất hóa học của cao chiết.

3.5.12 Tỷ trọng gỗ và tỷ trọng khối của bột vi bao

Tương tác của các hạt bột ảnh hưởng đến tính chất chảy của bột nên việc so sánh tỷ trọng gỗ và tỷ trọng khối có thể đánh giá tương đối tính chất chảy của bột (Bảng 3.20). Tính chất này thể hiện khả năng sắp xếp hạt và đặc tính nén của bột. Điều này đánh giá được khả năng ứng dụng bột vi bao dịch chiết nhàu để bào chế viên nén mang hoạt tính sinh học như một loại thực phẩm chức năng. Chỉ số Carr trung bình

của bột vi bao là $16,71 \pm 0,16$, giá trị này cho thấy bột vi bao có tính chất trơn chảy tương đối tốt. Bên cạnh chỉ số Carr, tỷ lệ Hausner cũng thể hiện tính chất chảy của bột vật liệu, tỷ lệ này có giá trị từ 1-1,1 thì bột có tính chất chảy tự do, 1,1-1,25 là chảy trung bình và 1,25-1,4 là khó chảy (Deepika & ctv, 2013). Đối với bột vi bao nhàu tỷ lệ Hausner có giá trị trung bình là 1,19 thể hiện bột có tính chất chảy trung bình và phù hợp với chỉ số nén. Do đó, giá trị Carr và Hausner cho thấy bột vi bao có khả năng nén thành viên nén để ứng dụng trong lĩnh vực thực phẩm chức năng mang hoạt tính sinh học.

Bảng 3.20 Giá trị tỷ trọng và chỉ số Carr, tỷ lệ Hausner của bột vi bao

| | Tỷ trọng khối | Tỷ trọng gỗ | Chỉ số Carr | Tỷ lệ Hausner |
|--------------|----------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| Lần 1 | 0,556 | 0,668 | 16,667 | 1,200 |
| Lần 2 | 0,572 | 0,691 | 17,142 | 1,207 |
| Lần 3 | 0,578 | 0,683 | 16,327 | 1,182 |

3.6 Khả năng giải phóng và bảo vệ các hoạt chất trong bột nhàu vi bao

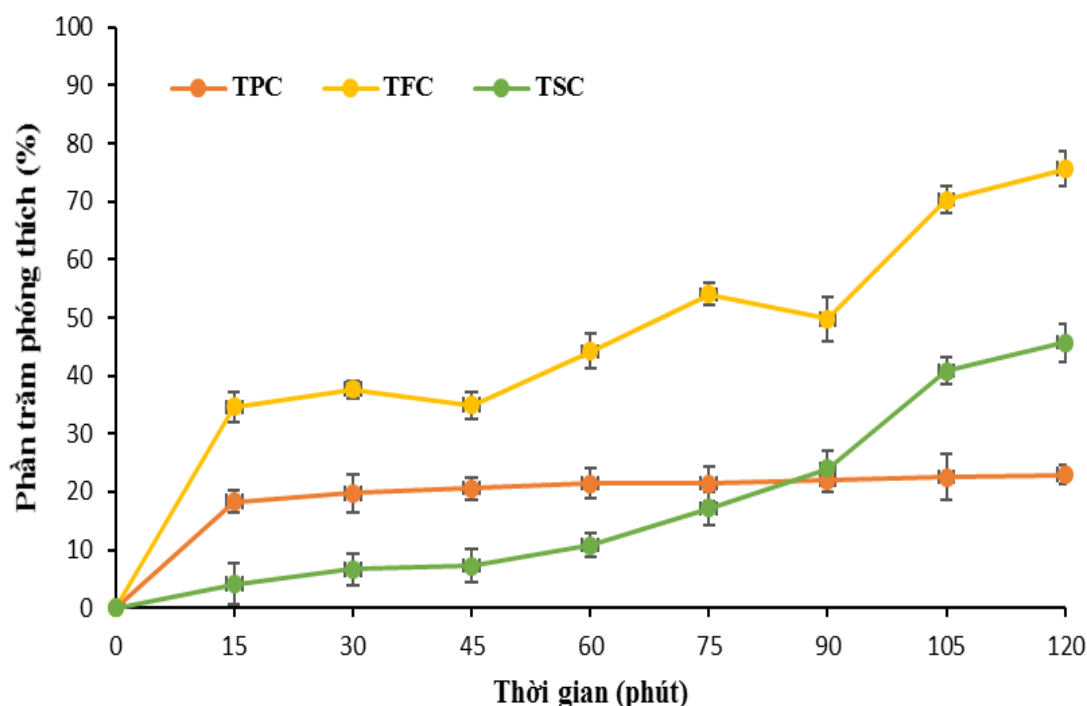
3.6.1 Khả năng giải phóng của vi bao trong môi trường *in vitro* pH 7,4

Bột nhàu vi bao được kiểm tra với các thành phần TPC, TFC và TSC lần lượt là 11110,4, 7585,2 và 56807,8 $\mu\text{g/g}$. Hình 3.27 thể hiện phần trăm phóng thích của TPC, TFC và TSC trong bột vi bao khi tiến hành giải phóng trong môi trường đệm PBS 7,4. Kết quả cho thấy hợp chất TPC có phần trăm phóng thích khá thấp. Cụ thể, TPC hầu như chỉ giải phóng trong 15 phút đầu và phần trăm phóng thích không tăng trong 105 phút tiếp theo. TPC giải phóng chậm và phóng thích kém là do polyphenol thuộc phân nhóm không flavonoid có phân kỵ nước làm hạn chế khả năng giải phóng của hợp chất (Debelo & ctv, 2020).

Bên cạnh đó khi polyphenol giải phóng chậm cũng có lợi về mặt bảo vệ polyphenol không bị tác động bởi môi trường và kiểm soát phóng thích tốt. Điều này phù hợp với tính chất khó giải phóng của polyphenol từ cao chiết được bảo vệ bởi hạt

nano fibroin phóng thích trong môi trường pH 7,4 đã được công bố bởi nhóm nghiên cứu của Phạm Duy Toàn & ctv (2023), với hiệu suất giải phóng đạt khoảng 25% trong 3 giờ (Pham, Huynh, & ctv, 2023; Pham, Nguyen, & ctv, 2023).

Đối với TSC, phần trăm phóng thích tăng tuyến tính theo thời gian, tuy nhiên quá trình giải phóng chậm và kéo dài, trong 75 phút đầu hiệu suất giải phóng chưa đạt 30%, sau đó tăng nhanh và đạt 40% ở thời điểm 120 phút. Nguyên nhân do saponin có khả năng hòa tan trong nước nên khi vỏ vi bao hòa tan giải phóng cao chiết ra bên ngoài thì phần trăm giải phóng saponin bắt đầu tăng nhanh (Güçlü-Üstündağ & Mazza, 2007). Đối với TFC, bột vi bao có phần trăm phóng thích tăng tuyến tính theo thời gian và đạt cực đại khoảng 80% tại thời điểm 120 phút.



Hình 3.27 Hiệu suất giải phóng TFC, TPC, TSC theo thời gian của bột vi bao

Điều này có thể giải thích là do flavonoid là một nhóm lớn bao gồm nhiều hợp chất như flavon, flavonol là các hợp chất tan trong nước nên dễ dàng phóng thích khi bột vi bao được phân tán vào đệm. Bên cạnh đó, hợp chất Chalcon thuộc nhóm flavonoid tan trong môi trường kiềm nhẹ và trong môi trường chứa H^+ , OH^- có thể

chuyển thành flavonol, tan trong nước (Dias & ctv, 2021). Vì thế, TFC trong bột vi bao có phần trăm phóng thích cao nhất trong ba hợp chất TFC, TPC và TSC.

Bảng 3.21 cho thấy TSC có hàm lượng giải phóng được cao nhất trong ba hoạt chất dù TFC có hiệu suất cao nhất, điều này được lí giải là do lượng TSC ban đầu trong dịch chiết có nồng độ độ cao nhất kéo theo hàm lượng trong bột vi bao của TSC là cao nhất, nên khi giải phóng có hàm lượng phóng thích được rất cao khoảng 4507,19 µg. Đối với TPC và TFC có hàm lượng giải phóng được lần lượt là 442,14 µg và 1000,00 µg trong 120 phút. Do đó, bột vi bao hoàn toàn có khả năng giải phóng hoạt chất từ dịch chiết nhằm đáp ứng các yêu cầu về hoạt tính sinh học của chế phẩm.

Bảng 3.21 Hàm lượng TPC, TFC và TSC giải phóng theo thời gian từ bột vi bao trong môi trường PBS pH 7,4

| Thời gian (Phút) | Hàm lượng TPC (µg) | Hàm lượng TFC (µg) | Hàm lượng TSC (µg) |
|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 0 | 0,00±0 | 0,00±0 | 0,00±0 |
| 15 | 406,88±2,0 | 525,00±2,6 | 468,75±3,5 |
| 30 | 428,94±3,4 | 560,50±1,5 | 737,50±2,8 |
| 45 | 439,09±1,9 | 509,00±2,3 | 792,69±2,9 |
| 60 | 448,42±2,7 | 631,25±3,0 | 1148,69±2,1 |
| 75 | 439,48±3,1 | 755,75±1,9 | 1799,00±2,8 |
| 90 | 441,51±2,3 | 682,50±3,8 | 2458,75±3,1 |
| 105 | 442,98±3,9 | 945,00±2,4 | 4109,13±2,4 |
| 120 | 442,14±1,7 | 1000,00±3,3 | 4507,19±3,3 |

3.6.2 Khả năng bảo vệ hoạt tính TPC, TFC và TSC trong môi trường *in vitro* mô phỏng pH tiêu hóa

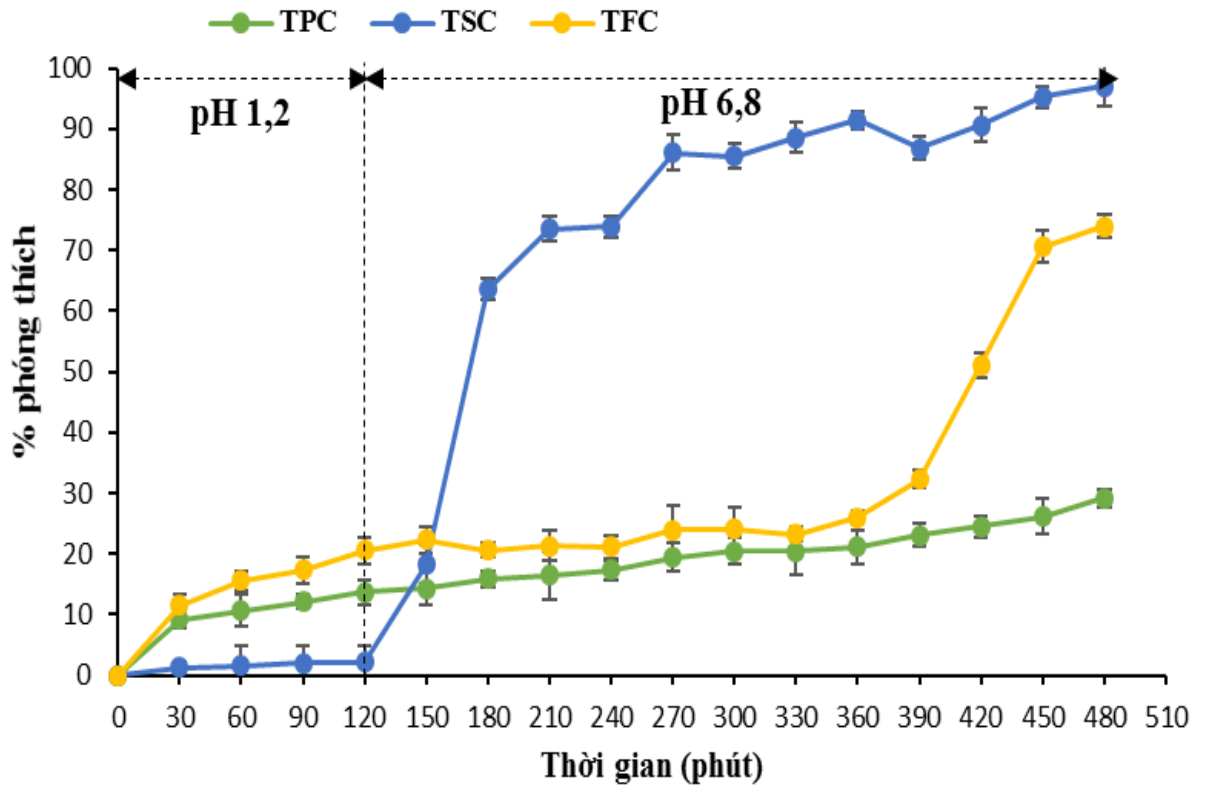
Bảng 3.22 cho thấy hàm lượng giải phóng hoạt chất trong môi trường tiêu hóa ở giai đoạn dạ dày hàm lượng đạt cao nhất đối với TPC với 1102,54 μg và giai đoạn ruột non đạt cao nhất đối với TSC (27380,77 μg). Hàm lượng TPC ở cả hai giai đoạn không có sự chênh lệch quá lớn do TPC khó tan trong môi trường nước nên hàm lượng giải phóng không tăng nhiều.

Hình 3.28 cho thấy hiệu suất giải phóng TPC, TSC và TFC của bột vi bao theo thời gian trong môi trường mô phỏng đường tiêu hóa. Hiệu quả giải phóng các hoạt chất được trình bày trong Bảng 3.23. Trong giai đoạn mô phỏng dịch vị dạ dày (pH 1,2) cả ba hoạt chất đều giải phóng chậm và hiệu suất thấp trong 2 giờ (<20%) cho thấy ở giai đoạn này vỏ vi bao đã phát huy hiệu quả bảo vệ hoạt chất trong môi trường acid.

Trong giai đoạn mô phỏng ruột non (pH 6,8), cả ba hoạt chất có sự thay đổi mạnh mẽ về hiệu suất giải phóng. TPC tiếp tục giải phóng tuyến tính trong môi trường pH 6,8 nhưng không có sự chênh lệch quá cao về hiệu suất trong suốt quá trình, hiệu suất giải phóng cao nhất khoảng 30% gần tương đương với hiệu suất ở môi trường pH 7,4. Điều này có thể lý giải là do polyphenol là hợp chất có cấu trúc vòng kền và rất ít tan trong nước nên khó tan ra trong hệ đệm.

Bảng 3.22 Hàm lượng hoạt chất TPC, TFC và TSC giải phóng trong môi trường mô phỏng dịch vị dạ dày và dịch ruột

| Môi trường | Hàm lượng TPC (μg) | Hàm lượng TFC (μg) | Hàm lượng TSC (μg) |
|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Mô phỏng dạ dày (pH 1,2) | 1102,54 | 1138,29 | 961,52 |
| Mô phỏng dịch ruột (pH 6,8) | 1505,18 | 2507,39 | 27380,77 |



Hình 3.28 Biểu đồ phóng thích hoạt chất TPC, TSC và TFC trong môi trường mô phỏng đường tiêu hóa của bột vi bao

Đối với TSC, là một hợp chất tan được trong nước nên khi trải qua môi trường acid dạ dày vỏ vi bao hòa tan thì đến môi trường pH 6,8 bắt đầu giải phóng TSC và hiệu suất tăng nhanh, tuyến tính theo thời gian, đạt hiệu suất cực đại khoảng 97%, gần như toàn bộ hoạt chất TSC được giải phóng.

Đối với hoạt chất TFC quá trình giải phóng ban đầu khá chậm sau đó tăng nhanh ở giai đoạn cuối là do khi chuyển sang môi trường PBS có sự hòa tan flavonoids diễn ra tương tự như môi trường pH 7,4. Nhìn chung, bột vi bao trong môi trường mô phỏng đường uống đã bảo vệ thành công hoạt chất trước sự tấn công của acid dịch vị dạ dày, đồng thời giải phóng tốt hoạt chất ở ruột non giúp cơ thể có thể hấp thụ được tốt hơn, nhất là TSC và TFC.

Bảng 3.23 Hiệu suất giải phóng TPC, TSC, TFC trong bột vi bao theo thời gian

| Thời gian (phút) | Hiệu suất giải phóng (%) | | |
|------------------|--------------------------|------------|------------|
| | TPC | TSC | TFC |
| 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 30 | 9,13±1,30 | 1,29±0,90 | 11,47±1,80 |
| 60 | 10,62±2,60 | 1,58±3,40 | 15,53±1,65 |
| 90 | 12,13±1,12 | 1,92±2,90 | 17,37±2,19 |
| 120 | 13,61±2,00 | 2,09±2,89 | 20,59±2,16 |
| 150 | 14,22±2,80 | 18,17±3,2 | 22,31±2,66 |
| 180 | 15,87±1,35 | 63,57±1,75 | 20,62±1,12 |
| 210 | 16,48±4,00 | 73,51±2,01 | 21,24±2,50 |
| 240 | 17,39±1,60 | 73,88±1,87 | 21,07±2,00 |
| 270 | 19,42±2,30 | 86,10±3,00 | 23,87±4,00 |
| 300 | 20,47±2,09 | 85,53±2,10 | 24,02±3,50 |
| 330 | 20,35±3,70 | 88,52±2,50 | 23,21±1,20 |
| 360 | 21,11±2,70 | 91,52±1,50 | 26,01±0,98 |
| 390 | 23,10±2,00 | 86,85±1,80 | 32,29±1,57 |
| 420 | 24,50±1,80 | 90,64±2,75 | 51,06±1,96 |
| 450 | 26,11±2,90 | 95,31±1,80 | 70,63±2,67 |
| 480 | 29,12±1,50 | 97,12±3,50 | 74,01±1,99 |

3.6.3 Khả năng bảo vệ hoạt chất TPC, TFC và TSC trong môi trường nhiệt độ cao

Để đánh giá khả năng bảo vệ hoạt chất TPC, TFC và TSC trong môi trường nhiệt độ cao, tiến hành đánh giá sự phân hủy vì nhiệt của các mẫu, trên cơ sở đó đánh giá khả năng bảo vệ của vi hạt (Bảng 3.24).

Bảng 3.24 Hiệu suất bảo vệ hoạt chất của vi bao và cao chiết trong môi trường nhiệt độ cao

| Nhiệt độ | Hiệu suất bảo vệ (%) | | | |
|----------|----------------------|-----------|-----------|-----------|
| | Mẫu | TPC | TFC | TSC |
| 60°C | Cao tự do | 80,03±3,2 | 58,78±4,5 | 26,72±1,8 |
| | Vi bao | 84,94±2,8 | 71,17±4,2 | 38,15±1,9 |
| 100°C | Cao tự do | 43,63±4,5 | 30,06±3,6 | 12,87±4,7 |
| | Vi bao | 77,99±3,8 | 61,26±2,3 | 21,22±3,7 |

Các hợp chất TPC, TFC và TSC là các hợp chất hữu cơ dễ bị ảnh hưởng/phân hủy bởi môi trường nhiệt độ cao. Đối với mẫu cao tự do, sau khi ủ trong môi trường 60°C trong 1 giờ, lượng hoạt chất TPC, TFC, TSC còn lại lần lượt là 80,03%, 58,78%, 26,72%, có thể thấy trong môi trường nhiệt cao TSC bị ảnh hưởng nặng nề, một lượng lớn hoạt chất bị phân hủy bởi nhiệt độ, tiếp theo là TFC và ít bị ảnh hưởng nhất là TPC. Khi cao đã được vi bao ủ trong cùng môi trường với cao tự do có hiệu suất bảo vệ khá cao với TPC 84,94%, TFC 71,17% và TSC 38,15%. Điều này chứng minh lớp vỏ vi bao có thể bảo vệ hoạt chất tốt hơn so với cao tự do. Tương tự, khi tăng nhiệt độ lên 100°C, cao chiết tự do chịu ảnh hưởng nặng nề về hình dáng, từ cao đã đông khô bị chảy và có hiện tượng phân hủy. Do đó, lượng hoạt chất trong cao mất đi đáng kể, cụ thể TPC, TFC và TSC chỉ còn lại 43,63%, 30,06%, 12,87%, điều này ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng sản phẩm. Đối với hạt vi bao ở môi trường 100°C, hàm lượng hoạt chất được bảo vệ khá cao với hiệu suất TPC, TFC và TSC lần lượt là

77,99%, 61,26%, 21,22%, với hiệu suất bảo vệ này hoạt tính sinh học của hợp chất vẫn còn được đảm bảo. Bên cạnh đó, hiệu suất bảo vệ hoạt chất này hoàn toàn phù hợp với độ bền nhiệt của vi bao đã được kiểm tra bằng phương pháp DSC với nhiệt phân hủy lên đến 210°C đối với vi bao và chỉ khoảng 120-140°C đối với cao tự do.

CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Luận án nghiên cứu: “Nghiên cứu trích ly và vi bao một số hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu (*Morinda. L*)” đã khảo sát các mẫu nhàu đại diện và xác định được độ tuổi khi thu hoạch và thời gian bảo quản có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học, bao gồm TPC, TFC, TSC, vitamin C. Nghiên cứu này đã định danh được 16 hợp chất đơn lẻ có trong trái nhàu bằng phương pháp LC-MS/MS và định lượng được 03 hợp chất đơn lẻ (rutin, gallic acid, và quercetin) bằng phương pháp HPLC.

Đề tài đã xây dựng được phương trình hồi quy bậc 2 nhằm tối ưu hoá điều kiện trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu dựa trên các thí nghiệm một yếu tố. Các yếu tố đánh giá tối ưu bao gồm tỷ lệ enzyme, tỷ lệ dung môi, nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme và thời gian thủy phân. Kết quả quy trình thu được ở nồng độ enzyme 1%, nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme 60°C và thời gian thủy phân 51 phút.

Từ đó có thể xây dựng được phương trình công nghệ vi bao các hợp chất sinh học có trong nhàu thông qua phương pháp sấy phun. Phương trình hồi quy bậc 2 của quy trình vi bao thể hiện qua dịch chiết trái nhàu sấy phun có tỷ lệ vỏ bao (maltodextrin và gum arabic với tỷ lệ 1: 2, kl/ kl) ở nồng độ 20%, và tỷ lệ khối lượng phối trộn giữa dung dịch vỏ bao và dịch nhàu là 7:3. Nhiệt độ tối ưu hóa đầu vào và đầu ra lần lượt là 175°C, 82°C. Kết quả cho được bột nhàu vi bao với cấu trúc đồng nhất và ổn định với thời gian bảo quản tối thiểu 1 năm trong điều kiện 25°C.

Việc vi bao dịch chiết trái nhàu bằng phương pháp sấy phun cho hiệu quả giải phóng các hoạt chất sinh học cao trong điều kiện và thời gian phù hợp. Tuy nhiên, bột nhàu vi bao cũng được bảo vệ tốt trong điều kiện acid tiêu hóa trước khi được giải phóng hiệu quả trong mô phỏng ruột non.

Kết quả bột nhàu sấy phun có nhiều tiềm năng ứng dụng trong thực tế cũng như sản xuất. Phần bảo quản cho thấy ý nghĩa thực tiễn khi bản thân sản phẩm là bột nên

có thể lưu giữ lâu mà ít bị thay đổi tính chất hóa lý, cùng với việc kéo dài thời gian giảm hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học nhờ tăng khả năng bảo quản, giảm chi phí cũng như thuận tiện cho các quá trình vận chuyển và sử dụng.

Kiến nghị

Để tiếp tục hoàn thiện đề tài nghiên cứu: “Nghiên cứu trích ly và vi bao một số hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu (*Morinda. L*)” trong thời gian tới. Do đó, một số kiến nghị được đề xuất như sau:

- Nghiên cứu trích ly các bộ phận khác của nhàu bằng công nghệ trích ly của đề tài như lá, rễ và thân;
- Đánh giá chất lượng dịch trích thông qua xác định hoạt tính kháng khuẩn, kháng oxy hóa,... và chất lượng bảo quản và đóng gói làm cơ sở cho việc ứng dụng rộng rãi trong tương lai;
- Với quy trình công nghệ xây dựng, bao gồm trích ly và vi bao, được đề xuất tiến hành thử nghiệm ở quy mô pilot với số lượng nguyên vật liệu và công suất máy móc gia tăng, bổ sung các quy trình thao tác chuẩn hóa, cũng như đánh giá tiềm năng chuỗi cung ứng;
- Nghiên cứu cơ chế giải phóng hạt vi bao và ứng dụng sản phẩm vi bao trong các thực phẩm dạng nước như nước trái cây, sữa;
- Nghiên cứu ứng dụng sản phẩm vi bao dạng bột trong các sản phẩm thực phẩm như bánh, các sản phẩm thịt (xúc xích, chả)...;
- Nghiên cứu thêm các phương pháp hỗ trợ trong quy trình công nghệ, cũng như đánh giá tính chuyển giao công nghệ trên các đối tượng nguyên vật liệu khác trong thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abou Assi, R., Darwis, Y., Abdulbaqi, I. M., Vuanghao, L., & Laghari, M. (2017). *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(5), 691-707.
- Agnihotri, A., Jhamb, S., Shrama, U., & Rohtagi, S. (2020). *Azadirachta indica* A. juss, *Morinda citrifolia* L. and *Triphala* as herbal endodontic irrigants: A scoping review. *Ayu*, 41(3), 148.
- Ajila, C., Brar, S., Verma, M., Tyagi, R., Godbout, S., & Valéro, J. (2011). Extraction and analysis of polyphenols: recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology*, 31(3), 227-249.
- Akihisa, T., Seino, K.-i., Kaneko, E., Watanabe, K., Tochizawa, S., Fukatsu, M., ...Kimura, Y. (2010). Melanogenesis inhibitory activities of iridoid-, hemiterpene-, and fatty acid-glycosides from the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). *Journal of Oleo Science*, 59(1), 49-57.
- Akihisa, T., Tochizawa, S., Takahashi, N., Yamamoto, A., Zhang, J., Kikuchi, T., ...Suzuki, N. (2012). Melanogenesis-inhibitory saccharide fatty acid esters and other constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). *Chemistry Biodiversity*, 9(6), 1172-1187.
- Akinbo, S., Noronha, C., Okanlawon, A., & Denesi, M. (2006). Comparative study of the effect of *Morinda citrifolia* (Noni) with selected physiotherapy modalities in the management of patients with cervical spondylosis. *Nigerian Journal of Health and Biomedical Sciences*, 5(2), 6-11.
- Almeida, É. S., de Oliveira, D., Hotza, D., & Safety, F. (2019). Properties and applications of *Morinda citrifolia* (noni): A review. *Comprehensive Reviews in Food Science*, 18(4), 883-909.
- Anekella, K., & Orsat, V. (2013). Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 17-24.
- AOAC, C. (2005). Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International. *Official Methods: Gaithersburg, MD, USA*.
- Apintanapong, M., Noomhorm, A., & technology. (2003). The use of spray drying to microencapsulate 2-acetyl-1-pyrroline, a major flavour component of aromatic rice. *International Journal of Food Science and Technology*, 38(2), 95-102.
- Arctander, S. (1969). *Perfume and Flavor Chemicals (vol. 1)*. Montclair, NJ.
- Atkinson, N. (1956). Antibacterial substances from flowering plants. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, 34(1).
- Azaraksh, N., Osman, A., Ghazali, H., Tan, C., & Mohd Adzahan, N. (2012). Optimization of alginate and gellan-based edible coating formulations for fresh-cut pineapples. *International Food Research Journal*, 19(1).
- Azeredo, H. d. (2008). Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 16(1), 89-97.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F., ...Omar, A. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
- Babaji, P., Jagtap, K., Lau, H., Bansal, N., Thajuraj, S., & Sondhi, P. (2016). Comparative evaluation of antimicrobial effect of herbal root canal irrigants (*Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica*, *Aloe vera*) with sodium hypochlorite: An *in vitro* study. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 6(3), 196.
- Bagchi, D., Sen, C., Bagchi, M., & Atalay, M. (2004). Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochemistry*, 69, 75-80.
- Ballesteros, L. F., Ramirez, M. J., Orrego, C. E., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2017). Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food chemistry*, 237, 623-631.

- Beirão-da-Costa, S., Duarte, C., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Januário, M. I. N., Vicente, A. A., ...Delgado, I. (2013). Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 199-206.
- Bhandari, B. R., Datta, N., & Howes, T. (1997). Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Drying technology*, 15(2), 671-684.
- Bittová, M., Hladůvková, D., Roblová, V., Kráčmar, S., Kubáň, P., & Kubáň, V. (2015). Analysis of organic acids, deacetyl asperulosidic acid and polyphenolic compounds as a potential tool for characterization of noni (*Morinda citrifolia*) products. *Natural Product Communications*, 10(11), 1934578X1501001107.
- Bourdy, G., Cabalion, P., Amade, P., & Laurent, D. (1992). Traditional remedies used in the Western Pacific for the treatment of ciguatera poisoning. *Journal of Ethnopharmacology*, 36(2), 163-174.
- Buanasari, B., Dhamayanti, S. M. S., & Suryaningsih, S. (2021). Effect of variation conditions of the extraction process of *Morinda citrifolia* L leaves using ultrasound-assisted extraction method (UAE) *Journal of Science and Technology Research for Pharmacy*, 1(1), 25-33.
- Caballero, B., Trugo, L. C., & Finglas, P. M. (2003). *Encyclopedia of food sciences and nutrition*: Academic.
- Caban, M., Chojnacka, K., Owczarek, K., Laskowska, J., Fichna, J., Podśedek, A., ...Lewandowska, U. (2020). Spent hops (*Humulus lupulus* L.) extract as modulator of the inflammatory response in lipopolysaccharide stimulated raw 264.7 macrophages. *Journal of Physiology Pharmacology*, 70(1).
- Cacace, J., & Mazza, G. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*, 59(4), 379-389.
- Camel, V. (2001). Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. *Analyst*, 126(7), 1182-1193.
- Chan-Blanco, Y., Vaillant, F., Perez, A. M., Reynes, M., Brillouet, J.-M., Brat, P., & analysis. (2006). The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 645-654.
- Chan Blanco, Y., Vaillant, F., Perez, A. M., Reynes, M., Brillouet, J.-M., & Brat, P. (2006). The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 645-654.
- Chau, C., & Huang, Y. (2004). Characterization of passion fruit seed fibres—a potential fibre source. *Food chemistry*, 85(2), 189-194.
- Chemat, F., & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813-835.
- Chojnacka, K., & Lewandowska, U. (2021). The influence of polyphenol-rich extracts on the production of pro-inflammatory mediators in macrophages. *Journal of Physiology Pharmacology*, 72(2).
- Choo, Y. X., Teh, L. K., & Tan, C. X. (2022). Effects of sonication and thermal pasteurization on the nutritional, antioxidant, and microbial properties of noni juice. *Molecules*, 28(1), 313.
- Choubey, S., Varughese, L. R., Kumar, V., & Beniwal, V. (2015). Medicinal importance of gallic acid and its ester derivatives: a patent review. *Pharmaceutical Patent Analyst*, 4(4), 305-315.
- Choudhury, N., Meghwal, M., & Das, K. (2021a). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*, 2(4), 426-442.
- Choudhury, N., Meghwal, M., & Das, K. J. F. F. (2021b). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. 2(4), 426-442.
- Chuang, C.-C., & McIntosh, M. K. (2011). Potential mechanisms by which polyphenol-rich grapes prevent obesity-mediated inflammation and metabolic diseases. *Annual Review of Nutrition*, 31, 155-176.
- CoSeteng, M., McLellan, M., Downing, D. J. C. I. o. F. S., & Journal, T. (1989). Influence of titratable

- acidity and pH on intensity of sourness of citric, malic, tartaric, lactic and acetic acids solutions and on the overall acceptability of imitation apple juice. *22*(1), 46-51.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, *26*(8), 1001-1043.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, *23*(2), 174-181.
- Dalsgaard, P. W., Potterat, O., Dieterle, F., Paululat, T., Kühn, T., & Hamburger, M. (2006). Noniosides E-H, new trisaccharide fatty acid esters from the fruit of *Morinda citrifolia* (Noni). *Planta Medica*, *72*(14), 1322-1327.
- Dang, H., & Lovell, C. R. (2016). Microbial surface colonization and biofilm development in marine environments. *Microbiology Molecular Biology Reviews*, *80*(1), 91-138.
- de Ancos, B., González, E. M., & Cano, M. P. (2000). Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, *48*(10), 4565-4570.
- Debelo, H., Li, M., & Ferruzzi, M. G. (2020). Processing influences on food polyphenol profiles and biological activity. *Current Opinion in Food Science*, *32*, 90-102.
- Debnath, D., Sahu, N. P., Pal, A. K., Jain, K. K., Yengkokpam, S., & Mukherjee, S. C. (2005). Mineral status of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings in relation to supplemental phytase: absorption, whole-body and bone mineral content. *Aquaculture Research*, *36*(4), 326-335.
- Deepika, V., Kumar, K. J., & Anima, P. (2013). Isolation and physicochemical characterization of sustained releasing starches from *Dioscorea* of Jharkhand. *International Journal of Biological Macromolecules*, *55*, 193-200.
- Delgado-Povedano, M., & De Castro, M. L. (2015). A review on enzyme and ultrasound: A controversial but fruitful relationship. *Analytica chimica acta*, *889*, 1-21.
- Deng, S., Palu, A. K., West, B. J., Su, C. X., Zhou, B.-N., & Jensen, J. C. (2007). Lipoxygenase inhibitory constituents of the fruits of noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. *Journal of Natural Products*, *70*(5), 859-862.
- Deng, S., West, B. J., & Jensen, C. J. (2010). A quantitative comparison of phytochemical components in global noni fruits and their commercial products. *Food chemistry*, *122*(1), 267-270.
- Deng, S., West, B. J., Palu, A. K., & Jensen, C. J. (2011). Determination and comparative analysis of major iridoids in different parts and cultivation sources of *Morinda citrifolia*. *Phytochemical Analysis*, *22*(1), 26-30.
- Desai, K. G. H., & Jin Park, H. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying technology*, *23*(7), 1361-1394.
- Dias, M. C., Pinto, D. C., & Silva, A. M. (2021). Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, *26*(17), 5377.
- Dittmar, A. (1993). *Morinda citrifolia* L.- Use in indigenous samoan medicine. *Journal of Herbs, Spices, Medicinal Plants*, *1*(3), 77-92.
- Dussossoy, E., Brat, P., Bony, E., Boudard, F., Poucheret, P., Mertz, C., ...Michel, A. (2011). Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, *133*(1), 108-115.
- Duy, D. T., Quốc, L.P.T., Gám, T.T.H., Ngọc, P.T.K.N., Đào, Đ. T.A., (2014). Tối ưu hóa trích ly thu nhận dịch saponin thô từ đấng sâm codonopsis javanica (Blume) Hook.F bằng enzy alpha-amylase. Thông tin Khoa học Công nghệ Bà Rịa Vũng Tàu, số 4 tr.1-3.
- Ersus, S., & Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, *80*(3), 805-812.
- Esclapez, M., García-Pérez, J. V., Mulet, A., & Cárcel, J. (2011). Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering Reviews*, *3*, 108-120.
- Ezhilarasan, S., Ahmed, A. F., & Raj, S. P. (2009). Studies on maturity indices and quality evaluation

- of noni (*Morinda citrifolia*) fruits. *SRM University*.
- Fantini, M., Benvenuto, M., Masuelli, L., Frajese, G. V., Tresoldi, I., Modesti, A., & Bei, R. (2015). In vitro and in vivo antitumoral effects of combinations of polyphenols, or polyphenols and anticancer drugs: Perspectives on cancer treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(5), 9236-9282.
- Farine, J.-P., Legal, L., Moreteau, B., & Le Quere, J.-L. (1996). Volatile components of ripe fruits of *Morinda citrifolia* and their effects on *Drosophila*. *Phytochemistry*, 41(2), 433-438.
- Fávaro-Trindade, C. S., Pinho, S. C. d., & Rocha, G. A. (2008). Review: microencapsulation of food ingredients. *Brazilian Journal of Food Technology*, 11(2), 103-112.
- Fellows, P. J. (2022). *Food processing technology: principles and practice*: Woodhead publishing.
- Ferreira, R. M., Viña, S. Z., Mugridge, A., & Chaves, A. R. (2007). Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva. *Scientia Horticulturae*, 112(1), 27-32.
- Figura, L., & Teixeira, A. A. (2007). *Food physics: physical properties-measurement and applications*: Springer Science & Business Media.
- Gallardo, C., Jimenez, L., & García-Conesa, M.-T. (2006). Hydroxycinnamic acid composition and *in vitro* antioxidant activity of selected grain fractions. *Food chemistry*, 99(3), 455-463.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Beney, L., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2012). Properties of spray-dried food flavours microencapsulated with two-layered membranes: Roles of interfacial interactions and water. *Food chemistry*, 132(4), 1713-1720.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food research international*, 40(9), 1107-1121.
- Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I., & Mulligan, C. N. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International journal of food sciences and nutrition*, 50(3), 213-224.
- Giftson, J. S., Jayanthi, S., & Nalini, N. (2010). Chemopreventive efficacy of gallic acid, an antioxidant and anticarcinogenic polyphenol, against 1, 2-dimethyl hydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Investigational New Drugs*, 28, 251-259.
- Gilani, A. H., Iqbal, J., Yasinzaï, M., Aziz, N., & Khan, A. (2010). Antispasmodic and vasodilator activities of *Morinda citrifolia* root extract are mediated through blockade of voltage dependent calcium channels. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(1), 1-9.
- Gómez-García, R., Martínez-Ávila, G. C., & Aguilar, C. N. (2012). Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenolics from grape (*Vitis vinifera* L.) residues. *3 Biotech*, 2, 297-300.
- Greenspan, L. (1977). Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of Research of the National Bureau of Standards. Section A, Physics and Chemistry*, 81(1), 89.
- Güçlü-Üstündağ, Ö., & Mazza, G. (2007). Saponins: properties, applications and processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(3), 231-258.
- Herrera, M., & Luque de Castro, M. (2004). Ultrasound-assisted extraction for the analysis of phenolic compounds in strawberries. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 379, 1106-1112.
- Herrero, M., Cifuentes, A., & Ibañez, E. (2006). Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review. *Food chemistry*, 98(1), 136-148.
- Ho, T. T. H., Nguyen, D. H. N., Nguyen, C. T., & Kha, T. (2022). Aqueous enzymatic extraction conditions of bioactive compounds from ultrasound pretreated noni (*Morinda citrifolia* L.) extract. *Journal of Technical Education Science(70B)*, 102-115.
- Hu, Q., Yuan, B., Xiao, H., Zhao, L., Wu, X., Rakariyatham, K., ...Yang, W. (2018). Polyphenols-rich extract from *Pleurotus eryngii* with growth inhibitory of HCT116 colon cancer cells and anti-inflammatory function in RAW264. 7 cells. *Food Function*, 9(3), 1601-1611.
- Huang, M.-T., Ma, W., Yen, P., Xie, J.-G., Han, J., Frenkel, K., ...Conney, A. H. (1996). Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion in mouse skin and the synthesis of DNA, RNA and protein in HeLa

- cells. *Carcinogenesis*, 17(4), 761–765. doi:10.1093/carcin/17.4.761
- Huntley, A. (2009). The health benefits of berry flavonoids for menopausal women: cardiovascular disease, cancer and cognition. *Maturitas*, 63(4), 297-301.
- Inada, A. C., Figueiredo, P. S., Santos-Eichler, R. A. d., Freitas, K. d. C., Hiane, P. A., Castro, A. P. d., & Guimarães, R. d. C. A. J. N. (2017). *Morinda citrifolia* Linn.(Noni) and its potential in obesity-related metabolic dysfunction. 9(6), 540.
- Inada, A. C., Silva, G. T., Silva, L. P. R. d., Alves, F. M., Filiu, W. F. d. O., Asato, M. A., ...Garcez, F. R. (2020). Therapeutic effects of *Morinda citrifolia* Linn. (noni) aqueous fruit extract on the glucose and lipid metabolism in high-fat/high-fructose-fed Swiss mice. *Nutrients*, 12(11), 3439.
- Issell, B. F., Gotay, C. C., Pagano, I., & Franke, A. A. (2009). Using quality of life measures in a phase I clinical trial of noni in patients with advanced cancer to select a phase II dose. *Journal of dietary supplements*, 6(4), 347-359.
- Iturri, M. S., Calado, C. M. B., & Prentice, C. (2021). Microparticles of *Eugenia stipitata* pulp obtained by spray-drying guided by DSC: An analysis of bioactivity and in vitro gastrointestinal digestion. *Food chemistry*, 334, 127557.
- Jainkittivong, A., Butsarakamruha, T., & Langlais, R. P. (2009). Antifungal activity of *Morinda citrifolia* fruit extract against *Candida albicans*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 108(3), 394-398.
- Jamaludin, R., Kim, D.-S., Md Salleh, L., & Lim, S.-B. (2020). Optimization of high hydrostatic pressure extraction of bioactive compounds from noni fruits. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 2810-2818.
- Janiszewska-Turak, E., Dellarosa, N., Tylewicz, U., Laghi, L., Romani, S., Dalla Rosa, M., & Witrowa-Rajchert, D. (2017). The influence of carrier material on some physical and structural properties of carrot juice microcapsules. *Food chemistry*, 236, 134-141.
- Janjai, S., Bala, B., Tohsing, K., Mahayothee, B., Haewsungcharern, M., Mühlbauer, W., & Müller, J. (2006). Equilibrium moisture content and heat of sorption of longan (*Dimocarpus longan* Lour.). *Drying technology*, 24(12), 1691-1696.
- Jarnevich, C., Engelstad, P., LaRoe, J., Hays, B., Hogan, T., Jirak, J., ...Simpson, A. (2023). Invaders at the doorstep: Using species distribution modeling to enhance invasive plant watch lists. *Ecological Informatics*, 101997.
- Jayaraman, S. K., Manoharan, M. S., & Illanchezian, S. (2008a). Antibacterial, antifungal and tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extracts. *International Journal of Integrative Biology*, 3(1), 44-49.
- Jayaraman, S. K., Manoharan, M. S., & Illanchezian, S. J. I. J. o. I. B. (2008b). Antibacterial, antifungal and tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extracts. 3(1), 44-49.
- Kamiya, K., Tanaka, Y., Endang, H., Umar, M., & Satake, T. (2004). Chemical constituents of *Morinda citrifolia* fruits inhibit copper-induced low-density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52(19), 5843-5848.
- Kha, T. C., Nguyen, C. T., Tran, L. T., & Truong, T. T. (2021b). Effects of pretreatment and air drying temperature on Noni fruit powder. *Food Science and Biotechnology*, 30, 1519-1526.
- Khan, M. I., Arshad, M. S., Anjum, F. M., Sameen, A., & Gill, W. T. (2011). Meat as a functional food with special reference to probiotic sausages. *Food research international*, 44(10), 3125-3133.
- Kim, J.-M., Jo, Y. J., & Hahn, D. (2017). Physicochemical properties, bioactive composition and antioxidant activities of noni fruit juices from different regions of cultivation. *Korean Journal of Food Preservation*, 24(7), 1000-1006.
- King, P. J., Ma, G., Miao, W., Jia, Q., McDougall, B. R., Reinecke, M. G., ...Robinson, W. E. (1999). Structure– activity relationships: Analogues of the dicaffeoylquinic and dicaffeoyltartaric acids as potent inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase and replication. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(3), 497-509.

- Krishnan, S., Bhosale, R., & Singhal, R. S. (2005). Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers*, *61*(1), 95-102.
- Kuang, S. S., Oliveira, J. C., & Crean, A. M. (2010). Microencapsulation as a tool for incorporating bioactive ingredients into food. *Critical reviews in food science nutrition*, *50*(10), 951-968.
- Kulkarni, A. P., & Aradhya, S. M. (2005). Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food chemistry*, *93*(2), 319-324.
- Landis-Piwowar, K. R., Huo, C., Chen, D., Milacic, V., Shi, G., Chan, T. H., & Dou, Q. P. (2007). A novel prodrug of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate as a potential anticancer agent. *Cancer Research*, *67*(9), 4303-4310.
- Laohasongkram, K., Mahamaktudsanee, T., & Chaiwanichsiri, S. (2011). Microencapsulation of Macadamia oil by spray drying. *Procedia Food Science*, *1*, 1660-1665.
- Lee, J. H., & Lee, M. J. (2008). Effect of drying method on the moisture sorption isotherms for *Inonotus obliquus* mushroom. *LWT-Food Science and Technology*, *41*(8), 1478-1484.
- Levand, O., & Larson, H. O. (1979). Some chemical constituents of *Morinda citrifolia*. *Planta Medica*, *36*(06), 186-187.
- Li, J., Niu, D., Zhang, Y., & Zeng, X.-A. (2020). Physicochemical properties, antioxidant and antiproliferative activities of polysaccharides from *Morinda citrifolia* L. (Noni) based on different extraction methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, *150*, 114-121.
- Li, X., Liu, Y., Shan, Y., Wang, Y., Li, Z., Bi, Y., ...Li, S. (2021). MicroRNAs involved in the therapeutic functions of noni (*Morinda citrifolia* L.) fruit juice in the treatment of acute gouty arthritis in mice induced with monosodium urate. *Foods*, *10*(7), 1638.
- Lin, S.-Y., Liao, Y.-Y., Roan, S.-F., Chen, I.-Z., & Chen, P.-A. (2014). Growth of noni fruits (*Morinda citrifolia* L.) and accumulation of phenolic compounds during fruit development. *Scientia Horticulturae*, *178*, 168-174.
- Liu, G., Bode, A., Ma, W.-Y., Sang, S., Ho, C.-T., & Dong, Z. (2001). Two novel glycosides from the fruits of *Morinda citrifolia* (noni) inhibit AP-1 transactivation and cell transformation in the mouse epidermal JB6 cell line. *Cancer Research*, *61*(15), 5749-5756.
- Liu, Z.-Q., Zhou, J.-H., Zeng, Y.-L., & Ouyang, X.-L. (2004). The enhancement and encapsulation of *Agaricus bisporus* flavor. *Journal of Food Engineering*, *65*(3), 391-396.
- Lohachoompol, V., Srzednicki, G., & Craske, J. (2004). The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, *2004*(5), 248.
- Lu, W., Kelly, A. L., & Miao, S. (2016). Emulsion-based encapsulation and delivery systems for polyphenols. *Trends in Food Science and Technology*, *47*, 1-9.
- Ma, D. I., West, B. J., Su, C. X., Gao, J. h., Liu, T. z., & Liu, Y. W. (2007). Evaluation of the ergogenic potential of noni juice. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *21*(11), 1100-1101.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International Journal of Food Science and Technology*, *41*(1), 1-21.
- Malik, A., Wani, S., & Dar, B. (2009). Noni (*Morinda citrifolia* L.): a hope in a bottle. In C. Malik (Ed.), *New biology: current developments/frontiers in life sciences* (pp. 33-78). New Delhi, India: MD Publications.
- Mantena, S. K., Baliga, M. S., & Katiyar, S. K. (2006). Grape seed proanthocyanidins induce apoptosis and inhibit metastasis of highly metastatic breast carcinoma cells. *Carcinogenesis*, *27*(8), 1682-1691.
- Maqsood, S., Abushelaibi, A., Manheem, K., Al Rashedi, A., & Kadim, I. T. (2015). Lipid oxidation, protein degradation, microbial and sensorial quality of camel meat as influenced by phenolic compounds. *LWT-Food Science and Technology*, *63*(2), 953-959.

- Masuelli, L., Benvenuto, M., Fantini, M., Marzocchella, L., Sacchetti, P., DI STEFANO, E., ...Agents, H. (2013). Curcumin induces apoptosis in breast cancer cell lines and delays the growth of mammary tumors in neu transgenic mice. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 27(1), 105-119.
- McClements, D. J., & Li, Y. (2010). Structured emulsion-based delivery systems: controlling the digestion and release of lipophilic food components. *Advances in colloid and interface science*, 159(2), 213-228.
- Medina-Torres, L., Santiago-Adame, R., Calderas, F., Gallegos-Infante, J., González-Laredo, R., Rocha-Guzmán, N., ...Products. (2016). Microencapsulation by spray drying of laurel infusions (*Litsea glaucescens*) with maltodextrin. 90, 1-8.
- Mierziak, J., Kostyn, K., & Kulma, A. (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*, 19(10), 16240-16265.
- Mirdehghan, S. H., & Rahemi, M. (2007). Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 111(2), 120-127.
- Mohd Zin, Z., Abdul Hamid, A., Osman, A., Saari, N., & Misran, A. (2007). Isolation and identification of antioxidative compound from fruit of mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *International Journal of Food Properties*, 10(2), 363-373.
- Muenmuang, C., Narasingha, M., Phusantisampan, T., & Sriariyanun, M. (2017). *Chemical profiling of Morinda citrifolia extract from solvent and soxhlet extraction method*. Paper presented at the Proceedings of the 6th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Science.
- Muniglia, L., Claisse, N., Baudelet, P.-H., & Ricochon, G. (2014). Enzymatic aqueous extraction (EAE). *Alternative Solvents for Natural Products Extraction*, 167-204.
- Murata, K., Abe, Y., Futamura-Masuda, M., Uwaya, A., Isami, F., Deng, S., & Matsuda, H. (2014). Effect of *Morinda citrifolia* fruit extract and its iridoid glycosides on blood fluidity. *Journal of natural medicines*, 68(3), 498-504.
- Nelson, S. C. (2001). *Noni cultivation in Hawaii*. Retrieved from Honolulu (HI): University of Hawaii:
- Nguyen, C. T., Di, K. N., Phan, H. C., Kha, T. C., & Nguyen, H. C. (2024). Microencapsulation of noni fruit extract using gum arabic and maltodextrin—Optimization, stability and efficiency. *International Journal of Biological Macromolecules*, 269(2), 132217.
- Nguyễn, T. T., Phạm, T. V. A., Vũ, T. N. T., & Nguyễn, T. S. (2005). *Nghiên cứu thành phần hóa học, tác dụng dược lý và độc tính của quả nhàu Việt Nam*. Retrieved from Tạp chí dược liệu:
- Nijdam, J., & Langrish, T. (2006). The effect of surface composition on the functional properties of milk powders. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 919-925.
- Nijdam, T., Van der Pers, N., & Sloof, W. (2006). Oxide phase development upon high temperature oxidation of γ -NiCrAl alloys. *Materials and Corrosion*, 57(3), 269-275.
- Nualsanit, T., Rojanapanthu, P., Gritsanapan, W., Lee, S.-H., Lawson, D., & Baek, S. J. (2012a). Damnacanthol, a noni component, exhibits antitumorigenic activity in human colorectal cancer cells. *The Journal of nutritional biochemistry*, 23(8), 915-923.
- Nualsanit, T., Rojanapanthu, P., Gritsanapan, W., Lee, S.-H., Lawson, D., & Baek, S. J. J. T. J. o. n. b. (2012b). Damnacanthol, a noni component, exhibits antitumorigenic activity in human colorectal cancer cells. 23(8), 915-923.
- Oliveira, A. C., Moretti, T. S., Boschini, C., Baliero, J., Freitas, O. d., & Fávoro-Trindade, C. S. (2007). Stability of microencapsulated *B. lactis* (BI 01) and *L. acidophilus* (LAC 4) by complex coacervation followed by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, 24(7), 685-693.
- Osorio, C., Acevedo, B., Hillebrand, S., Carriazo, J., Winterhalter, P., & Morales, A. L. (2010). Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (*Bactris guineensis*) fruit. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 58(11), 6977-6985.
- Panyoyai, N., Bannikova, A., Small, D. M., Shanks, R. A., & Kasapis, S. (2016). Diffusion of

- nicotinic acid in spray-dried capsules of whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 52, 811-819.
- Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., & Stefan, G. (2017). Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: Classification, structures, sources, and action mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1243-1268.
- Park, M.-K., & Kim, C.-H. (2009). Extraction of polyphenols from apple peel using cellulase and pectinase and estimation of antioxidant activity. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 38(5), 535-540.
- Pawlus, A. D., & Kinghorn, A. D. (2007). Review of the ethnobotany, chemistry, biological activity and safety of the botanical dietary supplement *Morinda citrifolia* (noni). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(12), 1587-1609.
- Pegg, R. B., & Shahidi, F. (2007). Encapsulation, stabilization, and controlled release of food ingredients and bioactives. In *Handbook of Food Preservation* (pp. 527-586): CRC Press.
- Perera, C. O., & Alzahrani, M. A. J. (2021). Ultrasound as a pre-treatment for extraction of bioactive compounds and food safety: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 142, 111-114.
- Pham, D. T., Huynh, Q. C., Lieu, R., Nguyen, V. B., Tran, V. D., & Thuy, B. T. P. (2023). Controlled-release *Wedelia trilobata* L. flower extract loaded fibroin microparticles as potential anti-aging preparations for cosmetic trade commercialization. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 1109-1121.
- Pham, D. T., Nguyen, D. X. T., Lieu, R., Huynh, Q. C., Nguyen, N. Y., Quyen, T. T. B., & Tran, V. D. (2023). Silk nanoparticles for the protection and delivery of guava leaf (*Psidium guajava* L.) extract for cosmetic industry, a new approach for an old herb. *Drug Delivery*, 30(1), 2168793.
- Pino, J. A., Márquez, E., Quijano, C. E., & Castro, D. (2010). Volatile compounds in noni (*Morinda citrifolia* L.) at two ripening stages. *Food Science and Technology*, 30, 183-187.
- Porte, H., & Couarraze, G. (1994). Microencapsulation processes for the manufacture of systems providing modified release of the active constituent. *Powder Technology and Pharmaceutical Processes*, 513-543.
- Potterat, O., & Hamburger, M. (2007). *Morinda citrifolia* (Noni) fruit-phytochemistry, pharmacology, safety. *Planta Medica*, 73(03), 191-199.
- Ramakrishnan, Y., Adzahan, N. M., Yusof, Y. A., & Muhammad, K. (2018). Effect of wall materials on the spray drying efficiency, powder properties and stability of bioactive compounds in tamarillo juice microencapsulation. *Powder Technology*, 328, 406-414.
- Ribarova, F., Atanassova, M., Marinova, D., Ribarova, F., & Atanassova, M. J. J. C. M. (2005). Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. 40, 255-260.
- Rocha-Selmi, G. A., Bozza, F. T., Thomazini, M., Bolini, H. M., & Fávaro-Trindade, C. S. (2013). Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. *Food chemistry*, 139(1-4), 72-78.
- Rosenthal, A., Pyle, D., & Niranjana, K. (1996). Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme and Microbial Technology*, 19(6), 402-420.
- Ross, I. A. (2005). *Medicinal plants of the world, volume 3: Chemical constituents, traditional and modern medicinal uses*: Springer.
- Sanguansri, P., & Augustin, M. A. (2006). Nanoscale materials development—a food industry perspective. *Trends in Food Science and Technology*, 17(10), 547-556.
- Santiago-Adame, R., Medina-Torres, L., Gallegos-Infante, J., Calderas, F., González-Laredo, R., Rocha-Guzmán, N., ...Bernad-Bernad, M. (2015). Spray drying-microencapsulation of cinnamon infusions (*Cinnamomum zeylanicum*) with maltodextrin. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 571-577.
- Sato, M., Ramarathnam, N., Suzuki, Y., Ohkubo, T., Takeuchi, M., & Ochi, H. (1996). Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from

- different sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(1), 37-41.
- Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 215S-217S.
- Senguttuvan, J., Paulsamy, S., & Karthika, K. (2014). Phytochemical analysis and evaluation of leaf and root parts of the medicinal herb, *Hypochoeris radicata* L. for *in vitro* antioxidant activities. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4, S359-S367.
- Shahidi, F., & Han, X. Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), 501-547.
- Shamaei, S., Seiedlou, S. S., Aghbashlo, M., Tsotsas, E., & Kharaghani, A. (2017). Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 101-112.
- Shirwaikar, A., Nanda, S., Parmar, V., & Khan, S. (2011). Methanol extract of the fruits of morinda citrifolia linn., restores bone loss in ovariectomized rats. *International Journal of Pharmacology*, 7(4), 446-454.
- Silva, P. T. d., Fries, L. L. M., Menezes, C. R. d., Holkem, A. T., Schwan, C. L., Wigmann, É. F., ...Silva, C. d. B. d. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, 44, 1304-1311.
- Singh, B., & Sharma, R. A. (2020). *Secondary metabolites of medicinal plants, 4 Volume set: ethnopharmacological properties, biological activity and production strategies*: John Wiley & Sons.
- Singh, D. (2012). *Morinda citrifolia* L. (Noni): A review of the scientific validation for its nutritional and therapeutic properties. *Journal of Diabetes and endocrinology*, 3(6), 77-91.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178): Elsevier.
- Smith, B. C. (2018). *Infrared spectral interpretation: a systematic approach*: CRC press.
- Soria, A. C., & Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Fcience and Technology*, 21(7), 323-331.
- Souza, M. C. M. R. d. (2014). *Effects of the salinity on the vegetative growth of noni, under two environmental conditions, in the absence and presence of organic compound*. Federal University of Ceará, Brazil.
- Su, B.-N., Pawlus, A. D., Jung, H.-A., Keller, W. J., McLaughlin, J. L., & Kinghorn, A. D. (2005). Chemical constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (noni) and their antioxidant activity. *Journal of Natural Products*, 68(4), 592-595.
- Suave, J., Dall'Agnol, E., Pezzin, A., Silva, D., Meier, M., & Soldi, V. (2006). Microencapsulation: Innovation in different areas. *Health and Environment Journal*, 7(2), 12-20.
- Sunder, J., Singh, D., Jeyakumar, S., Kundu, A., & Srivastava, R. (2012). Antimicrobial activity of *Morinda citrifolia* solvent extracts. *Indian Veterinary Journal*, 89(4), 9-11.
- Tan, S. P., Kha, T. C., Parks, S., Stathopoulos, C., & Roach, P. D. (2015). Optimising the encapsulation of an aqueous bitter melon extract by spray-drying. *Foods*, 4(3), 400-419.
- Tan, S. P., Vuong, Q. V., Stathopoulos, C. E., Parks, S. E., & Roach, P. D. (2014). Optimized aqueous extraction of saponins from bitter melon for production of a saponin-enriched bitter melon powder. *Journal of food science*, 79(7), E1372-E1381.
- Thoo, Y. Y., Ho, S. K., Abas, F., Lai, O. M., Ho, C. W., & Tan, C. P. (2013a). Optimal binary solvent extraction system for phenolic antioxidants from mengkudu (*Morinda citrifolia*) fruit. *Molecules*, 18(6), 7004-7022.
- Thoo, Y. Y., Ho, S. K., Abas, F., Lai, O. M., Ho, C. W., & Tan, C. P. J. M. (2013b). Optimal binary solvent extraction system for phenolic antioxidants from mengkudu (*Morinda citrifolia*) fruit. *Molecules*, 18(6), 7004-7022.
- Thoo, Y. Y., Ho, S. K., Liang, J. Y., Ho, C. W., & Tan, C. P. (2010). Effects of binary solvent

- extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food chemistry*, 120(1), 290-295.
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88(3), 411-418.
- Torres, M. A. O., de Fátima Braga Magalhães, I., Mondêgo-Oliveira, R., de Sá, J. C., Rocha, A. L., & Abreu-Silva, A. L. (2017a). One plant, many uses: a review of the pharmacological applications of *Morinda citrifolia*. *Phytotherapy Research*, 31(7), 971-979.
- Torres, M. A. O., de Fátima Braga Magalhães, I., Mondêgo-Oliveira, R., de Sá, J. C., Rocha, A. L., & Abreu-Silva, A. L. J. P. r. (2017b). One plant, many uses: A review of the pharmacological applications of *Morinda citrifolia*. 31(7), 971-979.
- Trương, Đ. N., Bạt, Đ., Dỹ, N. Đ., Hùng, N. H., Thông, P. H., Ngân, P. K., & Phương, T. H. (2005). *Các phân vị địa tầng Việt Nam*. Việt Nam: Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.
- Uquiche, E., Jeréz, M., & Ortíz, J. (2008). Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*Gevuina avellana* Mol). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(4), 495-500.
- Vanharanta, M., Voutilainen, S., Lakka, T. A., van der Lee, M., Adlercreutz, H., & Salonen, J. T. (1999). Risk of acute coronary events according to serum concentrations of enterolactone: a prospective population-based case-control study. *The Lancet*, 354(9196), 2112-2115.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(2), 161-169.
- Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(3), 303-313.
- Vuanghao, L., & Laghari, M. (2017). *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, 691-707.
- Wang, M.-Y., West, B. J., Jensen, C. J., Nowicki, D., Su, C., Palu, A. K., & Anderson, G. (2002). *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacologica Sinica*, 23(12), 1127-1141.
- Wang, M., Kikuzaki, H., Csiszar, K., Boyd, C. D., Maunakea, A., Fong, S. F., ...Ho, C.-T. (1999). Novel trisaccharide fatty acid ester identified from the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 4880-4882.
- Wang, S., Liu, Z., Zhao, S., Zhang, L., Li, C., & Liu, S. (2023). Effect of combined ultrasonic and enzymatic extraction technique on the quality of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 92, 106231.
- Wang, W., Gao, Y.-T., Wei, J.-W., Chen, Y.-F., Liu, Q.-L., & Liu, H.-M. (2021). Optimization of ultrasonic cellulase-assisted extraction and antioxidant activity of natural polyphenols from passion fruit. *Molecules*, 26(9), 2494.
- Wei, G.-J., Ho, C.-T., & Huang, A. S. (2011). Analysis of volatile compounds in noni fruit (*Morinda citrifolia* L.) juice by steam distillation-extraction and solid phase microextraction coupled with GC/AED and GC/MS. *Journal of Food and Drug Analysis*, 19(1), 7.
- West, B. J., Deng, S., & Jensen, C. J. (2011). Nutrient and phytochemical analyses of processed noni puree. *Food research international*, 44(7), 2295-2301.
- West, B. J., Deng, S., Uwaya, A., Isami, F., Abe, Y., Yamagishi, S.-i., & Jensen, C. J. (2016). Iridoids are natural glycation inhibitors. *Glycoconjugate Journal*, 33, 671-681.
- Whistler, W. A. (1992). *Tongan herbal medicine*: University of Hawaii Press.
- Wigati, D., Anwar, K., Sudarsono, & Nugroho, A. E. (2017). Hypotensive activity of ethanolic extracts of *Morinda citrifolia* L. leaves and fruit in dexamethasone-induced hypertensive rat. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 22(1), 107-113.
- Wong-Paz, J. E., Muñoz-Márquez, D. B., Aguilar-Zárata, P., Ascacio-Valdés, J. A., Cruz, K., Reyes-

- Luna, C., ...Aguilar, C. N. (2017). Extraction of bioactive phenolic compounds by alternative technologies. In *Ingredients extraction by physicochemical methods in food* (pp. 229-252): Elsevier.
- Wong, D. K. (2004). Are immune responses pivotal to cancer patient's long term survival? Two clinical case-study reports on the effects of *Morinda citrifolia* (Noni). *Hawaii medical journal*, 63(6).
- Wu, S.-J., & Ng, L.-T. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *LWT-Food Science and Technology*, 41(2), 323-330.
- Xu, D.-P., Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Li, S., & Li, H.-B. (2017). Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food chemistry*, 217, 552-559.
- Yahia, E. M. (2011). *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: Mangosteen to white sapote*: Elsevier.
- Yan, Z., Sousa-Gallagher, M. J., & Oliveira, F. A. (2008). Sorption isotherms and moisture sorption hysteresis of intermediate moisture content banana. *Journal of Food Engineering*, 86(3), 342-348.
- Yasuko, K., Tomohiro, N., Sei-Itsu, M., Ai-Na, L., Yasuo, F., & Takashi, T. (1984). Caffeic acid is a selective inhibitor for leukotriene biosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta -Lipids and Lipid Metabolism*, 792(1), 92-97.
- Yinbin, L., Wu, L., Weng, M., Tang, B., Lai, P., & Chen, J. (2018). Effect of different encapsulating agent combinations on physicochemical properties and stability of microcapsules loaded with phenolics of plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Powder Technology*, 340, 459-464.
- Yu, H., Li, S., Huang, M.-T., & Ho, C.-T. (2008). Antiinflammatory constituents in noni (*Morinda citrifolia*) fruits. In: ACS Publications.
- Yumna, M., Arbianti, R., Utami, T. S., & Hermansyah, H. (2018). *The usage of enzyme in ultrasound-assisted enzymatic extraction method and its effect on yield extract from Keji Beling (Strobilanthes crispus) leaves*. Paper presented at the E3S Web of Conferences.
- Zhang, C., Khoo, S. L. A., Chen, X. D., & Quek, S. Y. (2020). Microencapsulation of fermented noni juice via micro-fluidic-jet spray drying: Evaluation of powder properties and functionalities. *Powder Technology*, 361, 995-1005.
- Zhang, C., Khoo, S. L. A., Swedlund, P., Ogawa, Y., Shan, Y., & Quek, S. Y. (2020). Fabrication of spray-dried microcapsules containing noni juice using blends of maltodextrin and gum acacia: Physicochemical properties of powders and bioaccessibility of bioactives during in vitro digestion. *Foods*, 9(9), 1316.
- Zhang, H.-C., Wang, Y., Yu, C.-M., Yu, D.-H., Chen, P.-P., & Liu, S.-M. (2014). Two new saccharide fatty acid esters from the fruit of *Morinda citrifolia* L. and their ABTS radical scavenging activities. *Records of Natural Products*, 8(1), 25-31.
- Zhu, H., Zhang, J., Li, C., Liu, S., Wang, L., & products. (2020). *Morinda citrifolia* L. leaves extracts obtained by traditional and eco-friendly extraction solvents: Relation between phenolic compositions and biological properties by multivariate analysis. *Industrial Crops Products*, 153, 112586.
- Zin, Z. M., Hamid, A. A., Osman, A., & Saari, N. (2006a). Antioxidative activities of chromatographic fractions obtained from root, fruit and leaf of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Food chemistry*, 94(2), 169-178.
- Zin, Z. M., Hamid, A. A., Osman, A., & Saari, N. J. F. C. (2006b). Antioxidative activities of chromatographic fractions obtained from root, fruit and leaf of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). 94(2), 169-178.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Sự thay đổi màu sắc trái nhàu theo thời gian bảo quản khác nhau



Ngày thứ 0



Ngày thứ 1



Ngày thứ 2



Ngày thứ 3



Ngày thứ 4



Ngày thứ 5



Ngày thứ 6



Ngày thứ 7

Phụ lục 2: Hình ảnh mẫu trái nhàu tươi và bột nhàu sử dụng trong nghiên cứu từ vùng trồng tại Tiền Giang với kết quả phân tích TPC, TFC, TSC cho thấy không có sự khác biệt ý nghĩa so với mẫu từ vùng trồng Bình Phước.



SỐ LIỆU TỔNG HÀM LƯỢNG CÁC HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC TIỀN GIANG

| Chỉ tiêu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 | Trung bình |
|----------|-------|-------|-------|------------|
| TPC | 7,81 | 7,89 | 7,82 | 7,84 |
| TFC | 3,36 | 3,44 | 3,37 | 3,39 |
| TSC | 29,29 | 30,1 | 29,5 | 29,63 |

SỐ LIỆU TỔNG HÀM LƯỢNG CÁC HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC BÌNH PHƯỚC

| Chỉ tiêu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 | Trung bình |
|----------|-------|-------|-------|------------|
| TPC | 7,79 | 7,84 | 7,78 | 7,80 |
| TFC | 3,25 | 3,57 | 3,43 | 3,42 |
| TSC | 28,98 | 29,19 | 30,33 | 29,5 |

Phụ lục 3: Khảo sát ảnh hưởng của độ chín đến hàm lượng các hoạt chất sinh học trong trái nhàu

Phụ lục 3.1: Bảng kết quả đo ẩm và thể tích mẫu tại các độ chín

| Chỉ tiêu | Mẫu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------|---|-------|-------|-------|
| Âm (%) | Đạt độ chín từ 90 – 95 ngày kể từ ngày ra hoa | 80,81 | 80,81 | 80,81 |
| | Đạt độ chín từ 100 – 107 ngày kể từ ngày ra hoa | 82,15 | 82,15 | 82,15 |
| | Đạt độ chín từ 110 – 117 ngày kể từ ngày ra hoa | 82,83 | 82,83 | 82,83 |

| | | | | |
|---------------|---|-------|-------|-------|
| Thể tích (mL) | Đạt độ chín từ 90 – 95 ngày kể từ ngày ra hoa | 58,80 | 59,00 | 58,50 |
| | Đạt độ chín từ 100 – 107 ngày kể từ ngày ra hoa | 59,10 | 59,50 | 59,80 |
| | Đạt độ chín từ 110 – 117 ngày kể từ ngày ra hoa | 63,40 | 63,50 | 62,80 |

Phụ lục 3.2: Bảng kết quả đo UV-vis mẫu tại các độ chín

| Chỉ tiêu | Mẫu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|--------------|---|---------|---------|---------|
| TPC | Đạt độ chín từ 90 – 95 ngày kể từ ngày ra hoa | 0,43979 | 0,42633 | 0,40082 |
| | Đạt độ chín từ 100 – 107 ngày kể từ ngày ra hoa | 0,49341 | 0,47205 | 0,4843 |
| | Đạt độ chín từ 110 – 117 ngày kể từ ngày ra hoa | 0,50502 | 0,51814 | 0,49622 |
| TFC | Đạt độ chín từ 90 – 95 ngày kể từ ngày ra hoa | 0,19826 | 0,19151 | 0,21399 |
| | Đạt độ chín từ 100 – 107 ngày kể từ ngày ra hoa | 0,27281 | 0,28274 | 0,34104 |
| | Đạt độ chín từ 110 – 117 ngày kể từ ngày ra hoa | 0,44949 | 0,46784 | 0,50985 |
| TSC | Đạt độ chín từ 90 – 95 ngày kể từ ngày ra hoa | 0,26162 | 0,25305 | 0,22313 |
| | Đạt độ chín từ 100 – 107 ngày kể từ ngày ra hoa | 0,27604 | 0,28389 | 0,26827 |
| | Đạt độ chín từ 110 – 117 ngày kể từ ngày ra hoa | 0,33363 | 0,35409 | 0,37044 |
| Vit C | Đạt độ chín từ 90 – 95 ngày kể từ ngày ra hoa | 1,2 | 1,3 | 1,3 |
| | Đạt độ chín từ 100 – 107 ngày kể từ ngày ra hoa | 1,5 | 1,6 | 1,5 |
| | Đạt độ chín từ 110 – 117 ngày kể từ ngày ra hoa | 1,7 | 1,6 | 1,6 |

Phụ lục 3.3: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của độ chín đến hàm lượng TPC trong trái nhàu

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Độ chín trái | 2 | 8.8962368 | 4.44812 | 92.2629 | <.0001* |
| Error | 6 | 0.2892680 | 0.04821 | | |
| C. Total | 8 | 9.1855048 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Chín 1/3 | 3 | 5.33726 | 0.278363 | 0.16071 | 4.6458 | 6.0288 |
| Chín 2/3 | 3 | 6.68947 | 0.139567 | 0.08058 | 6.3428 | 7.0362 |
| Chín hoàn toàn | 3 | 7.76744 | 0.218333 | 0.12605 | 7.2251 | 8.3098 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| Chín hoàn toàn | A | 7.7674402 |
| Chín 2/3 | B | 6.6894723 |
| Chín 1/3 | C | 5.3372642 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 3.4: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của độ chín đến hàm lượng TFC trong trái nhàu

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|----------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Độ chín trái | 2 | 15.815565 | 7.90778 | 102.3124 | <.0001* |
| Error | 6 | 0.463743 | 0.07729 | | |
| C. Total | 8 | 16.279308 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Chín 1/3 | 3 | 1.48586 | 0.094470 | 0.05454 | 1.2512 | 1.7205 |
| Chín 2/3 | 3 | 2.54707 | 0.365082 | 0.21078 | 1.6402 | 3.4540 |
| Chín hoàn toàn | 3 | 4.67413 | 0.299436 | 0.17288 | 3.9303 | 5.4180 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| Chín hoàn toàn | A | 4.6741274 |
| Chín 2/3 | B | 2.5470739 |
| Chín 1/3 | C | 1.4858618 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 3.5: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của độ chín đến hàm lượng TSC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.960574 |
| Adj Rsquare | 0.947432 |
| Root Mean Square Error | 1.788732 |
| Mean of Response | 27.66742 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Độ chín trái | 2 | 467.72627 | 233.863 | 73.0923 | <.0001* |
| Error | 6 | 19.19737 | 3.200 | | |
| C. Total | 8 | 486.92364 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|---------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Chín 1/3 | 3 | 20.2300 | 2.12866 | 1.2290 | 14.942 | 25.518 |
| Chín 2/3 | 3 | 25.3473 | 0.81752 | 0.4720 | 23.316 | 27.378 |
| Chín hoàn toàn | 3 | 37.4250 | 2.09742 | 1.2109 | 32.215 | 42.635 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| Chín hoàn toàn | A | 37.424985 |
| Chín 2/3 | B | 25.347305 |
| Chín 1/3 | C | 20.229964 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 3.6: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của độ chín đến hàm lượng vitamin C trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.943163 |
| Adj Rsquare | 0.924217 |
| Root Mean Square Error | 0.113854 |
| Mean of Response | 1.909294 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Độ chín trái | 2 | 1.2906325 | 0.645316 | 49.7826 | 0.0002* |
| Error | 6 | 0.0777761 | 0.012963 | | |
| C. Total | 8 | 1.3684086 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|---------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err | Lower 95% | Upper 95% |
| Chín 1/3 | 3 | 1.41472 | 0.072908 | 0.04209 | 1.2336 | 1.5958 |
| Chín 2/3 | 3 | 1.97868 | 0.035997 | 0.02078 | 1.8893 | 2.0681 |
| Chín hoàn toàn | 3 | 2.33449 | 0.179657 | 0.10373 | 1.8882 | 2.7808 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| Chín hoàn toàn | A | 2.3344876 |
| Chín 2/3 | B | 1.9786775 |
| Chín 1/3 | C | 1.4147162 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 4: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến hàm lượng các hoạt chất sinh học trong trái nhàu

Phụ lục 4.1: Bảng kết quả đo ẩm và thể tích mẫu tại các thời gian bảo quản

| Chỉ tiêu | Thời gian bảo quản (ngày) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|---------------|---------------------------|-------|-------|-------|
| Âm (%) | 0 | 80,81 | 80,81 | 80,81 |
| | 1 | 81,22 | 81,22 | 81,22 |
| | 2 | 81,36 | 81,36 | 81,36 |
| | 3 | 81,99 | 81,99 | 81,99 |
| | 4 | 82,16 | 82,16 | 82,16 |
| | 5 | 82,25 | 82,25 | 82,25 |
| | 6 | 84,55 | 84,55 | 84,55 |
| | 7 | 84,55 | 84,55 | 84,55 |
| Thể tích (mL) | 0 | 58,80 | 59,00 | 58,50 |
| | 1 | 60,10 | 58,0 | 58,40 |
| | 2 | 59,50 | 59,50 | 59,10 |
| | 3 | 60,40 | 60,50 | 61,00 |
| | 4 | 60,10 | 60,70 | 60,40 |
| | 5 | 62,00 | 61,70 | 61,90 |
| | 6 | 65,50 | 65,20 | 64,90 |
| | 7 | 65,50 | 65,20 | 64,90 |

Phụ lục 4.2: Bảng kết quả đo UV-vis mẫu tại các thời gian bảo quản

| Chỉ tiêu | Thời gian bảo quản (ngày) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-----------------|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| TPC | 0 | 0,49341 | 0,47205 | 0,4843 |
| | 1 | 0,49878 | 0,50881 | 0,53031 |
| | 2 | 0,49429 | 0,55788 | 0,56193 |
| | 3 | 0,55941 | 0,56246 | 0,55033 |
| | 4 | 0,45148 | 0,48497 | 0,44255 |
| | 5 | 0,33723 | 0,33406 | 0,34466 |
| | 6 | 0,24167 | 0,2688 | 0,2615 |
| | 7 | 0,24167 | 0,2688 | 0,2615 |
| TFC | 0 | 0,27683 | 0,30552 | 0,27435 |
| | 1 | 0,29944 | 0,29827 | 0,30564 |
| | 2 | 0,3142 | 0,31908 | 0,33392 |
| | 3 | 0,391222 | 0,36526 | 0,39495 |
| | 4 | 0,27683 | 0,30552 | 0,27435 |
| | 5 | 0,23571 | 0,23961 | 0,25417 |
| | 6 | 0,12444 | 0,14295 | 0,12724 |
| | 7 | 0,12444 | 0,14295 | 0,12724 |
| TSC | 0 | 0,29861 | 0,32576 | 0,28249 |
| | 1 | 0,28975 | 0,26958 | 0,27859 |
| | 2 | 0,31032 | 0,29924 | 0,26013 |
| | 3 | 0,57912 | 0,58534 | 0,5634 |
| | 4 | 0,49658 | 0,49357 | 0,47942 |
| | 5 | 0,5626 | 0,482 | 0,49264 |

| Chỉ tiêu | Thời gian bảo quản (ngày) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-----------------|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | 6 | 0,29247 | 0,29562 | 0,32165 |
| | 7 | 0,29247 | 0,29562 | 0,32165 |
| Vit C | 0 | 1,5 | 1,45 | 1,4 |
| | 1 | 1,3 | 1,4 | 1,4 |
| | 2 | 2,2 | 2,2 | 2,3 |
| | 3 | 2,3 | 2,3 | 2,3 |
| | 4 | 1,7 | 1,6 | 1,7 |
| | 5 | 1,0 | 1,1 | 0,9 |
| | 6 | 0,5 | 0,7 | 0,5 |
| | 7 | 0,5 | 0,7 | 0,5 |

Phụ lục 4.3: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến hàm lượng TPC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.986424 |
| Adj Rsquare | 0.980606 |
| Root Mean Square Error | 0.253499 |
| Mean of Response | 5.696667 |
| Observations (or Sum Wgts) | 21 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|----------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Ngày bảo quản | 6 | 65.368800 | 10.8948 | 169.5375 | <.0001* |
| Error | 14 | 0.899667 | 0.0643 | | |
| C. Total | 20 | 66.268467 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|---------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err | Lower 95% | Upper 95% |
| | | | | Mean | | |
| Ngày 0 | 3 | 6.24000 | 0.086603 | 0.05000 | 6.0249 | 6.4551 |
| Ngày 1 | 3 | 6.68667 | 0.174738 | 0.10088 | 6.2526 | 7.1207 |
| Ngày 2 | 3 | 7.15333 | 0.513842 | 0.29667 | 5.8769 | 8.4298 |
| Ngày 3 | 3 | 7.84333 | 0.055076 | 0.03180 | 7.7065 | 7.9801 |
| Ngày 4 | 3 | 4.98000 | 0.350000 | 0.20207 | 4.1106 | 5.8494 |
| Ngày 5 | 3 | 4.81000 | 0.085440 | 0.04933 | 4.5978 | 5.0222 |
| Ngày 7 | 3 | 2.16333 | 0.122202 | 0.07055 | 1.8598 | 2.4669 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.14479 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | |
|---------------------------|-----------|
| Level | Mean |
| Ngày 3 A | 7.8433333 |
| Ngày 2 B | 7.1533333 |
| Ngày 1 C | 6.6866667 |
| Ngày 0 D | 6.2400000 |
| Ngày 4 E | 4.9800000 |
| Ngày 5 E | 4.8100000 |
| Ngày 7 F | 2.1633333 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 4.4: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến hàm lượng TFC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.970291 |
| Adj Rsquare | 0.957558 |
| Root Mean Square Error | 0.129754 |
| Mean of Response | 2.350215 |
| Observations (or Sum Wgts) | 21 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Ngày bảo quản | 6 | 7.6979192 | 1.28299 | 76.2050 | <.0001* |
| Error | 14 | 0.2357038 | 0.01684 | | |
| C. Total | 20 | 7.9336230 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|---------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err | | |
| | | | | Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Ngày 0 | 3 | 2.22422 | 0.159956 | 0.09235 | 1.8269 | 2.6216 |
| Ngày 1 | 3 | 2.41408 | 0.051784 | 0.02990 | 2.2854 | 2.5427 |
| Ngày 2 | 3 | 2.64779 | 0.083307 | 0.04810 | 2.4408 | 2.8547 |
| Ngày 3 | 3 | 3.39009 | 0.164668 | 0.09507 | 2.9810 | 3.7991 |
| Ngày 4 | 3 | 2.45909 | 0.178268 | 0.10292 | 2.0162 | 2.9019 |
| Ngày 5 | 3 | 2.10883 | 0.097040 | 0.05603 | 1.8678 | 2.3499 |
| Ngày 7 | 3 | 1.20741 | 0.119720 | 0.06912 | 0.9100 | 1.5048 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.14479 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | |
|---------------------------|-----------|
| Level | Mean |
| Ngày 3 A | 3.3900917 |
| Ngày 2 B | 2.6477872 |
| Ngày 4 B C | 2.4590864 |
| Ngày 1 C D | 2.4140819 |
| Ngày 0 D E | 2.2242209 |
| Ngày 5 E | 2.1088258 |
| Ngày 7 F | 1.2074092 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 4.5: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến hàm lượng TSC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.964368 |
| Adj Rsquare | 0.949097 |
| Root Mean Square Error | 1.629394 |
| Mean of Response | 21.04191 |
| Observations (or Sum Wgts) | 21 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Ngày bảo quản | 6 | 1005.9552 | 167.659 | 63.1503 | <.0001* |
| Error | 14 | 37.1689 | 2.655 | | |
| C. Total | 20 | 1043.1241 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|---------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Ngày 0 | 3 | 25.9838 | 2.34083 | 1.3515 | 20.169 | 31.799 |
| Ngày 1 | 3 | 24.1880 | 1.50673 | 0.8699 | 20.445 | 27.931 |
| Ngày 2 | 3 | 25.7089 | 2.89132 | 1.6693 | 18.527 | 32.891 |
| Ngày 3 | 3 | 29.6331 | 0.49809 | 0.2876 | 28.396 | 30.870 |
| Ngày 4 | 3 | 19.3011 | 0.50992 | 0.2944 | 18.034 | 20.568 |
| Ngày 5 | 3 | 13.4966 | 1.30063 | 0.7509 | 10.266 | 16.728 |
| Ngày 7 | 3 | 8.9818 | 0.52468 | 0.3029 | 7.678 | 10.285 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.14479 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| Ngày 3 | A | 29.633074 |
| Ngày 0 | B | 25.983807 |
| Ngày 2 | B | 25.708943 |
| Ngày 1 | B | 24.188008 |
| Ngày 4 | C | 19.301123 |
| Ngày 5 | D | 13.496610 |
| Ngày 7 | E | 8.981772 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 4.6: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến hàm lượng vitamin C trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.954631 |
| Adj Rsquare | 0.935187 |
| Root Mean Square Error | 0.183721 |
| Mean of Response | 2.085542 |
| Observations (or Sum Wgts) | 21 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Ngày bảo quản | 6 | 9.943142 | 1.65719 | 49.0970 | <.0001* |
| Error | 14 | 0.472548 | 0.03375 | | |
| C. Total | 20 | 10.415689 | | | |

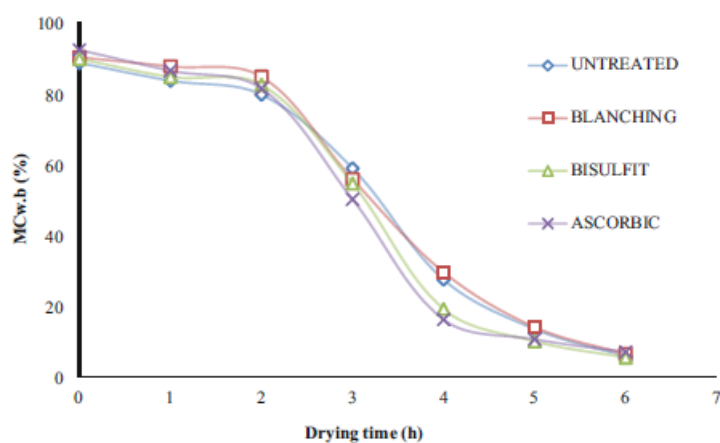
| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Ngày 0 | 3 | 2.61937 | 0.233462 | 0.13479 | 2.0394 | 3.1993 |
| Ngày 1 | 3 | 2.51457 | 0.161880 | 0.09346 | 2.1124 | 2.9167 |
| Ngày 2 | 3 | 2.68294 | 0.218365 | 0.12607 | 2.1405 | 3.2254 |
| Ngày 3 | 3 | 2.65978 | 0.149824 | 0.08650 | 2.2876 | 3.0320 |
| Ngày 4 | 3 | 2.00800 | 0.250368 | 0.14455 | 1.3860 | 2.6299 |
| Ngày 5 | 3 | 1.19339 | 0.071223 | 0.04112 | 1.0165 | 1.3703 |
| Ngày 7 | 3 | 0.92074 | 0.132954 | 0.07676 | 0.5905 | 1.2510 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.14479 | 0.05 |

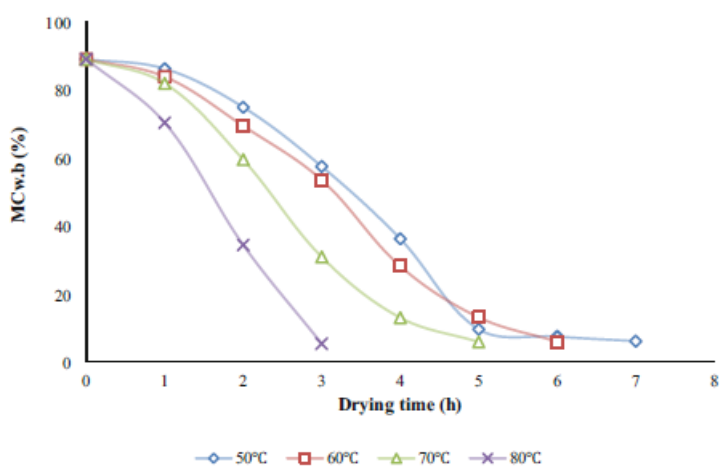
| Connecting Letters Report | |
|---------------------------|-----------|
| Level | Mean |
| Ngày 2 A | 2.6829399 |
| Ngày 3 A | 2.6597850 |
| Ngày 0 A | 2.6193735 |
| Ngày 1 A | 2.5145663 |
| Ngày 4 B | 2.0079970 |
| Ngày 5 C | 1.1933931 |
| Ngày 7 C | 0.9207414 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 4.7: Kết quả khảo sát tiền xử lý và nhiệt độ sấy bằng khí nóng nguyên liệu đầu vào, bảng giá trị TPC, TFC và TSC tương ứng tiền xử lý với acid ascorbic



Kết quả khảo sát tiền xử lý



Kết quả khảo sát nhiệt độ sấy

| Nhiệt độ sấy | TPC (mg GAE/g) | TFC (mg QE/g) | TSC (mg AE/g) |
|--------------|-----------------|----------------|------------------|
| Nhàu tươi | 31,595a ± 0,530 | 7,965a ± 0,233 | 43,175a ± 6,752 |
| 50°C | 12,845c ± 0,120 | 1,865c ± 0,120 | 21,865c ± 1,817 |
| 60°C | 13,945b ± 0,289 | 2,510b ± 0,098 | 31,160bc ± 4,454 |
| 70°C | 12,680c ± 0,098 | 2,010c ± 0,028 | 37,105ab ± 2,043 |
| 80°C | 11,815d ± 0,219 | 1,765c ± 0,106 | 30,045bc ± 1,506 |

Các giá trị trong cùng một cột không chia sẻ chữ cái (a-d) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Phụ lục 5: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của loại enzyme đến hiệu quả trích các hợp chất sinh học trong trái nhàu

Phụ lục 5.1: Bảng kết quả đo ẩm và thể tích mẫu

| Chỉ tiêu | Mẫu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|---------------|-----------|-------|-------|-------|
| Ẩm (%) | Mashzyme | 6,93% | 6,93% | 6,93% |
| | Pectinase | 6,03% | 6,03% | 6,03% |
| | Cellulase | 6,03% | 6,03% | 6,03% |
| Thể tích (mL) | Mashzyme | 36,30 | 36,80 | 37,10 |
| | Pectinase | 33,50 | 34,00 | 33,00 |
| | Cellulase | 34,00 | 34,10 | 33,80 |

Phụ lục 5.2: Bảng kết quả đo UV-vis mẫu tại các độ chín

| Chỉ tiêu | Mẫu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------|-----------|---------|----------|----------|
| TPC | Mashzyme | 0,47119 | 0,46809 | 0,47802 |
| | Pectinase | 0,43975 | 0,44039 | 0,43039 |
| | Cellulase | 0,43757 | 0,43391 | 0,44504 |
| TFC | Mashzyme | 0,55812 | 0,57428 | 0,57617 |
| | Pectinase | 0,52033 | 0,51775 | 0,49329 |
| | Cellulase | 0,49809 | 0,49251 | 0,50758 |
| TSC | Mashzyme | 0,71884 | 0,68876 | 0,68312 |
| | Pectinase | 0,68702 | 0,65121 | 0,66470 |
| | Cellulase | 0,63274 | 0,6433 | 0,63649 |
| Vit C | Mashzyme | 0,5 | 0,483333 | 0,466667 |
| | Pectinase | 0,5 | 0,5 | 0,483333 |
| | Cellulase | 0,5 | 0,483333 | 0,483333 |

Phụ lục 5.3: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của loại enzyme đến hiệu quả trích TPC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.959502 |
| Adj Rsquare | 0.946003 |
| Root Mean Square Error | 0.163285 |
| Mean of Response | 8.096857 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Loai enzyme | 2 | 3.7901975 | 1.89510 | 71.0785 | <.0001* |
| Error | 6 | 0.1599722 | 0.02666 | | |
| C. Total | 8 | 3.9501698 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|---------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err | Lower 95% | Upper 95% |
| | | | | Mean | | |
| Cellulase | 3 | 7.71034 | 0.069956 | 0.04039 | 7.5366 | 7.8841 |
| Mashzyme | 3 | 9.01099 | 0.177725 | 0.10261 | 8.5695 | 9.4525 |
| Pectinase | 3 | 7.56925 | 0.208581 | 0.12042 | 7.0511 | 8.0874 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| Mashzyme | A | 9.0109857 |
| Cellulase | B | 7.7103383 |
| Pectinase | B | 7.5692481 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 5.4: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của loại enzyme đến hiệu quả trích ly TFC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.943569 |
| Adj Rsquare | 0.924759 |
| Root Mean Square Error | 0.153383 |
| Mean of Response | 4.928618 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Loai enzyme | 2 | 2.3602832 | 1.18014 | 50.1625 | 0.0002* |
| Error | 6 | 0.1411583 | 0.02353 | | |
| C. Total | 8 | 2.5014414 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Cellulase | 3 | 4.54428 | 0.053486 | 0.03088 | 4.4114 | 4.6771 |
| Mashzyme | 3 | 5.65238 | 0.164281 | 0.09485 | 5.2443 | 6.0605 |
| Pectinase | 3 | 4.58919 | 0.201818 | 0.11652 | 4.0878 | 5.0905 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| Mashzyme | A | 5.6523825 |
| Pectinase | B | 4.5891887 |
| Cellulase | B | 4.5442826 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 5.5: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của loại enzyme đến hiệu quả trích ly TSC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.954519 |
| Adj Rsquare | 0.939359 |
| Root Mean Square Error | 0.736048 |
| Mean of Response | 35.92956 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Loai enzyme | 2 | 68.221619 | 34.1108 | 62.9623 | <.0001* |
| Error | 6 | 3.250596 | 0.5418 | | |
| C. Total | 8 | 71.472215 | | | |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| Mashzyme | A | 39.758915 |
| Pectinase | B | 34.625051 |
| Cellulase | B | 33.404716 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 5.6: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của loại enzyme đến hiệu quả trích ly vitamin C trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.471503 |
| Adj Rsquare | 0.295337 |
| Root Mean Square Error | 0.066138 |
| Mean of Response | 0.664027 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Loai enzyme | 2 | 0.02341500 | 0.011707 | 2.6765 | 0.1476 |
| Error | 6 | 0.02624536 | 0.004374 | | |
| C. Total | 8 | 0.04966036 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|----------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Cellulase | 3 | 0.628320 | 0.072998 | 0.04215 | 0.44698 | 0.80966 |
| Mashzyme | 3 | 0.736160 | 0.030208 | 0.01744 | 0.66112 | 0.81120 |
| Pectinase | 3 | 0.627601 | 0.082954 | 0.04789 | 0.42153 | 0.83367 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | |
|---------------------------|------------|
| Level | Mean |
| Mashzyme A | 0.73615954 |
| Cellulase A | 0.62831962 |
| Pectinase A | 0.62760067 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 6: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của xử lý siêu âm đến khả năng trích ly các hợp chất sinh học trong trái nhàu

Phụ lục 6.1: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của xử lý siêu âm đến hiệu quả trích ly TPC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.953595 |
| Adj Rsquare | 0.936193 |
| Root Mean Square Error | 0.29972 |
| Mean of Response | 8.416348 |
| Observations (or Sum Wgts) | 12 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Xu ly sieu am | 3 | 14.768034 | 4.92268 | 54.7986 | <.0001* |
| Error | 8 | 0.718658 | 0.08983 | | |
| C. Total | 11 | 15.486692 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Enzyme | 3 | 9.03844 | 0.038589 | 0.02228 | 8.9426 | 9.1343 |
| Enzyme- siêu âm | 3 | 8.98064 | 0.376986 | 0.21765 | 8.0442 | 9.9171 |
| Siêu âm | 3 | 6.49773 | 0.440683 | 0.25443 | 5.4030 | 7.5924 |
| Sieu am - enzyme | 3 | 9.14857 | 0.146696 | 0.08469 | 8.7842 | 9.5130 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.30600 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| Sieu am - enzyme | A | 9.1485748 |
| Enzyme | A | 9.0384441 |
| Enzyme- siêu âm | A | 8.9806432 |
| Siêu âm | B | 6.4977315 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 6.2: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của xử lý siêu âm đến hiệu quả trích ly TFC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.466264 |
| Adj Rsquare | 0.266114 |
| Root Mean Square Error | 0.229278 |
| Mean of Response | 3.997084 |
| Observations (or Sum Wgts) | 12 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Xu ly sieu am | 3 | 0.36738315 | 0.122461 | 2.3296 | 0.1508 |
| Error | 8 | 0.42054563 | 0.052568 | | |
| C. Total | 11 | 0.78792878 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Enzyme | 3 | 4.05716 | 0.143200 | 0.08268 | 3.7014 | 4.4129 |
| Enzyme- siêu âm | 3 | 3.93725 | 0.077675 | 0.04485 | 3.7443 | 4.1302 |
| Siêu âm | 3 | 3.75689 | 0.414487 | 0.23930 | 2.7272 | 4.7865 |
| Sieu am - enzyme | 3 | 4.23704 | 0.109241 | 0.06307 | 3.9657 | 4.5084 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.30600 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|-----|-----------|
| Level | | Mean |
| Sieu am - enzyme | A | 4.2370409 |
| Enzyme | A B | 4.0571589 |
| Enzyme- siêu âm | A B | 3.9372455 |
| Siêu âm | B | 3.7568922 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 6.3: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của xử lý siêu âm đến hiệu quả trích ly TSC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.899575 |
| Adj Rsquare | 0.861916 |
| Root Mean Square Error | 1.313498 |
| Mean of Response | 32.05179 |
| Observations (or Sum Wgts) | 12 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|-----------------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Xu ly sieu am | 3 | 123.63647 | 41.2122 | 23.8873 | 0.0002* |
| Error | 8 | 13.80222 | 1.7253 | | |
| C. Total | 11 | 137.43869 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|---------------------------------|--------|---------|---------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Enzyme | 3 | 30.8308 | 1.96288 | 1.1333 | 25.955 | 35.707 |
| Enzyme- siêu âm | 3 | 34.2060 | 1.55353 | 0.8969 | 30.347 | 38.065 |
| Siêu âm | 3 | 27.4232 | 0.74106 | 0.4279 | 25.582 | 29.264 |
| Sieu am - enzyme | 3 | 35.7473 | 0.29251 | 0.1689 | 35.021 | 36.474 |

| Confidence Quantile | |
|----------------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.30600 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|----------------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| Sieu am - enzyme | A | 35.747269 |
| Enzyme- siêu âm | A | 34.205963 |
| Enzyme | B | 30.830772 |
| Siêu âm | C | 27.423157 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 6.4: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của xử lý siêu âm đến hiệu quả trích ly vitamin C trong trái nhàu

| Summary of Fit | | | | | |
|----------------------------|--|--|--|--|----------|
| Rsquare | | | | | 0.638209 |
| Adj Rsquare | | | | | 0.502538 |
| Root Mean Square Error | | | | | 0.073506 |
| Mean of Response | | | | | 0.474252 |
| Observations (or Sum Wgts) | | | | | 12 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Xu ly sieu am | 3 | 0.07624958 | 0.025417 | 4.7041 | 0.0355* |
| Error | 8 | 0.04322464 | 0.005403 | | |
| C. Total | 11 | 0.11947422 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|----------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| Enzyme | 3 | 0.515416 | 0.090276 | 0.05212 | 0.29116 | 0.73967 |
| Enzyme- siêu âm | 3 | 0.508600 | 0.070018 | 0.04042 | 0.33467 | 0.68253 |
| Siêu âm | 3 | 0.337271 | 0.023135 | 0.01336 | 0.27980 | 0.39474 |
| Sieu am - enzyme | 3 | 0.535721 | 0.089582 | 0.05172 | 0.31319 | 0.75825 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.30600 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|------------|
| Level | | Mean |
| Sieu am - enzyme | A | 0.53572058 |
| Enzyme | A | 0.51541644 |
| Enzyme- siêu âm | A | 0.50859996 |
| Siêu âm | B | 0.33727081 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 7: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ nước/ bột nhào đến khả năng trích ly các hợp chất sinh học

Phụ lục 7.1: Bảng kết quả đo ẩm và thể tích mẫu sau trích ly

| Chỉ tiêu | Tỷ lệ nước/ bột nhào (mL/g) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|---------------|-----------------------------|--------|--------|--------|
| Ẩm (%) | 8:1 | 10,99% | 10,10% | 10,15% |
| | 12:1 | 10,99% | 10,10% | 10,15% |
| | 16:1 | 10,99% | 10,10% | 10,15% |
| | 20:1 | 10,99% | 10,10% | 10,15% |
| Thể tích (mL) | 8:1 | 22,3 | 21,0 | 22,4 |
| | 12:1 | 40,9 | 38,0 | 38,8 |
| | 16:1 | 52,0 | 52,6 | 49,9 |
| | 20:1 | 61,1 | 67,0 | 69,9 |

Phụ lục 7.2: Bảng kết quả đo UV-vis

| Chỉ tiêu | Tỷ lệ nước/ bột nhào (mL/g) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------|-----------------------------|---------|---------|---------|
| TPC | 8:1 | 0,81127 | 0,75871 | 0,77669 |
| | 12:1 | 0,56738 | 0,54252 | 0,56722 |
| | 16:1 | 0,46945 | 0,41842 | 0,51269 |
| | 20:1 | 0,37087 | 0,33971 | 0,3552 |
| TFC | 8:1 | 0,46270 | 0,33073 | 0,31004 |
| | 12:1 | 0,26440 | 0,34478 | 0,26494 |
| | 16:1 | 0,26704 | 0,18911 | 0,27829 |
| | 20:1 | 0,23692 | 0,13927 | 0,2195 |
| TSC | 8:1 | 0,64858 | 0,54831 | 0,54613 |
| | 12:1 | 0,48338 | 0,41256 | 0,40139 |
| | 16:1 | 0,36911 | 0,28934 | 0,38105 |
| | 20:1 | 0,26584 | 0,21308 | 0,25543 |

Phụ lục 7.3: Bảng kết quả chuẩn độ vitamin C

| Tỷ lệ nước/ bột nhàu (mL/g) | Thể tích thuốc thử chuẩn độ (giá trị trung bình 3 lần lặp)(mL) | | |
|-----------------------------------|--|-------|-------|
| | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
| 8:1 | 0,95 | 0,77 | 0,65 |
| 12:1 | 0,85 | 0,62 | 0,53 |
| 16:1 | 0,78 | 0,70 | 0,53 |
| 20:1 | 0,62 | 0,48 | 0,52 |
| Mẫu chuẩn | 0,88 | 0,78 | 0,55 |

Phụ lục 7.4: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ nước/ bột nhàu đến hiệu quả trích ly TPC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.811645 |
| Adj Rsquare | 0.741012 |
| Root Mean Square Error | 0.686283 |
| Mean of Response | 10.02773 |
| Observations (or Sum Wgts) | 12 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Tỷ lệ nước/ bột nhàu | 3 | 16.236265 | 5.41209 | 11.4910 | 0.0029* |
| Error | 8 | 3.767876 | 0.47098 | | |
| C. Total | 11 | 20.004141 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 12/1 | 3 | 10.2346 | 0.662495 | 0.38249 | 8.5889 | 11.880 |
| 16/1 | 3 | 11.1133 | 0.916152 | 0.52894 | 8.8375 | 13.389 |
| 20/1 | 3 | 10.6768 | 0.535154 | 0.30897 | 9.3474 | 12.006 |
| 8/1 | 3 | 8.0862 | 0.565079 | 0.32625 | 6.6825 | 9.490 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 16/1 | A | 11.113317 |
| 20/1 | A | 10.676803 |
| 12/1 | A | 10.234597 |
| 8/1 | B | 8.086210 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 7.5: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ nước/ bột nhào đến hiệu quả trích ly TFC trong trái nhàu

| Summary of Fit | | | | | |
|----------------------------|--|----------|--|--|--|
| Rsquare | | 0.367495 | | | |
| Adj Rsquare | | 0.130306 | | | |
| Root Mean Square Error | | 1.511111 | | | |
| Mean of Response | | 6.295744 | | | |
| Observations (or Sum Wgts) | | 12 | | | |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Tỷ lệ nước/ bột nhào | 3 | 10.613798 | 3.53793 | 1.5494 | 0.2754 |
| Error | 8 | 18.267658 | 2.28346 | | |
| C. Total | 11 | 28.881456 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|---------|---------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err | | |
| | | | | Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 12/1 | 3 | 6.47752 | 0.95879 | 0.5536 | 4.0958 | 8.859 |
| 16/1 | 3 | 6.99115 | 1.49164 | 0.8612 | 3.2857 | 10.697 |
| 20/1 | 3 | 7.00533 | 2.09611 | 1.2102 | 1.7983 | 12.212 |
| 8/1 | 3 | 4.70899 | 1.26329 | 0.7294 | 1.5708 | 7.847 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.30600 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 20/1 | A | 7.0053267 |
| 16/1 | A | 6.9911467 |
| 12/1 | A | 6.4775167 |
| 8/1 | A | 4.7089867 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 7.6: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ nước/ bột nhào đến hiệu quả trích ly TSC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.452584 |
| Adj Rsquare | 0.247303 |
| Root Mean Square Error | 7.651865 |
| Mean of Response | 51.28566 |
| Observations (or Sum Wgts) | 12 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Tỷ lệ nước/ bột nhào | 3 | 387.26281 | 129.088 | 2.2047 | 0.1652 |
| Error | 8 | 468.40832 | 58.551 | | |
| C. Total | 11 | 855.67112 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|---------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 12/1 | 3 | 56.2831 | 8.98285 | 5.1863 | 33.969 | 78.598 |
| 16/1 | 3 | 57.1199 | 8.71360 | 5.0308 | 35.474 | 78.766 |
| 20/1 | 3 | 48.2585 | 6.55852 | 3.7866 | 31.966 | 64.551 |
| 8/1 | 3 | 43.4811 | 5.87977 | 3.3947 | 28.875 | 58.087 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.30600 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 16/1 | A | 57.119880 |
| 12/1 | A | 56.283140 |
| 20/1 | A | 48.258530 |
| 8/1 | A | 43.481100 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 7.7: Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ nước/ bột nhào đến hiệu quả trích ly vitamin C trong trái nhàu

| Summary of Fit | | | | | |
|----------------------------|--|----------|--|--|--|
| Rsquare | | 0.708163 | | | |
| Adj Rsquare | | 0.598724 | | | |
| Root Mean Square Error | | 0.146422 | | | |
| Mean of Response | | 0.718474 | | | |
| Observations (or Sum Wgts) | | 12 | | | |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Tỷ lệ nước/ bột nhào | 3 | 0.41619247 | 0.138731 | 6.4709 | 0.0156* |
| Error | 8 | 0.17151478 | 0.021439 | | |
| C. Total | 11 | 0.58770724 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|----------|----------|---------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err | | |
| | | | | Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 12/1 | 3 | 0.664697 | 0.192569 | 0.11118 | 0.18633 | 1.1431 |
| 16/1 | 3 | 0.877927 | 0.187740 | 0.10839 | 0.41155 | 1.3443 |
| 20/1 | 3 | 0.894580 | 0.072988 | 0.04214 | 0.71327 | 1.0759 |
| 8/1 | 3 | 0.436693 | 0.090005 | 0.05196 | 0.21311 | 0.6603 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|-----|------------|
| Level | | Mean |
| 20/1 | A | 0.89458000 |
| 16/1 | A | 0.87792667 |
| 12/1 | A B | 0.66469667 |
| 8/1 | B | 0.43669333 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 8: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme đến khả năng trích ly các hợp chất sinh học

Phụ lục 8.1: Bảng kết quả đo ẩm và thể tích mẫu sau trích ly

| Chỉ tiêu | Tỷ lệ enzyme (%) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|---------------|------------------|-------|-------|-------|
| Ẩm (%) | 0 | 9,18% | 9,18% | 9,34% |
| | 0,1 | 9,18% | 9,18% | 9,34% |
| | 0,5 | 9,18% | 9,18% | 9,34% |
| | 1 | 9,18% | 9,18% | 9,34% |
| Thể tích (mL) | 0 | 14,7 | 16,6 | 18,1 |
| | 0,1 | 17,2 | 20,2 | 22,8 |
| | 0,5 | 24,5 | 23,8 | 24,7 |
| | 1 | 25,85 | 24,7 | 24 |

Phụ lục 8.2: Bảng kết quả đo UV-vis

| Chỉ tiêu | Tỷ lệ enzyme (%) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------|------------------|---------|---------|---------|
| TPC | 0 | 0,69144 | 0,69339 | 0,66177 |
| | 0,1 | 0,75964 | 0,74067 | 0,69188 |
| | 0,5 | 0,80119 | 0,69932 | 0,70032 |
| | 1 | 0,69016 | 0,66264 | 0,77566 |
| TFC | 0 | 0,36092 | 0,48568 | 0,46850 |
| | 0,1 | 0,41644 | 0,49940 | 0,41174 |
| | 0,5 | 0,44195 | 0,34743 | 0,28764 |
| | 1 | 0,40776 | 0,25626 | 0,27589 |
| TSC | 0 | 0,48846 | 0,56512 | 0,44313 |
| | 0,1 | 0,48393 | 0,48065 | 0,54757 |
| | 0,5 | 0,55452 | 0,48865 | 0,53204 |
| | 1 | 0,52128 | 0,51251 | 0,54882 |

Phụ lục 8.3: Bảng kết quả chuẩn độ vitamin C

| Tỷ lệ enzyme (%) | Thể tích thuốc thử chuẩn độ (giá trị trung bình 3 lần lặp) (mL) | | |
|------------------|---|-------|-------|
| | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
| 0 | 0,783 | 0,800 | 0,733 |
| 0,1 | 1,000 | 1,033 | 0,917 |
| 0,5 | 0,867 | 0,883 | 0,783 |
| 1 | 0,817 | 0,833 | 0,833 |
| Mẫu chuẩn | 1,2 | 1,133 | 0,983 |

Phụ lục 8.4: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme đến khả năng trích ly TPC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.865416 |
| Adj Rsquare | 0.814946 |
| Root Mean Square Error | 0.60632 |
| Mean of Response | 7.119317 |
| Observations (or Sum Wgts) | 12 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Tỷ lệ enzyme (%) | 3 | 18.911382 | 6.30379 | 17.1474 | 0.0008* |
| Error | 8 | 2.940989 | 0.36762 | | |
| C. Total | 11 | 21.852371 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 0 | 3 | 5.20470 | 0.437674 | 0.25269 | 4.1175 | 6.292 |
| 0,1 | 3 | 6.78853 | 0.642697 | 0.37106 | 5.1920 | 8.385 |
| 0,5 | 3 | 8.30410 | 0.746327 | 0.43089 | 6.4501 | 10.158 |
| 1 | 3 | 8.17993 | 0.555762 | 0.32087 | 6.7993 | 9.561 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.30600 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 0,5 | A | 8.3041000 |
| 1 | A | 8.1799333 |
| 0,1 | B | 6.7885333 |
| 0 | C | 5.2047000 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 8.5: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme đến khả năng trích ly TFC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.140698 |
| Adj Rsquare | -0.18154 |
| Root Mean Square Error | 1.175726 |
| Mean of Response | 4.727025 |
| Observations (or Sum Wgts) | 12 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Tỷ lệ enzyme (%) | 3 | 1.810690 | 0.60356 | 0.4366 | 0.7329 |
| Error | 8 | 11.058655 | 1.38233 | | |
| C. Total | 11 | 12.869344 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|---------|---------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err | Lower 95% | Upper 95% |
| | | | | Mean | | |
| 0 | 3 | 4.25967 | 1.05654 | 0.60999 | 1.6351 | 6.8843 |
| 0,1 | 3 | 5.19360 | 0.92127 | 0.53190 | 2.9050 | 7.4822 |
| 0,5 | 3 | 5.01677 | 1.19539 | 0.69016 | 2.0472 | 7.9863 |
| 1 | 3 | 4.43807 | 1.46128 | 0.84367 | 0.8080 | 8.0681 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 0,1 | A | 5.1936000 |
| 0,5 | A | 5.0167667 |
| 1 | A | 4.4380667 |
| 0 | A | 4.2596667 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 8.6: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme đến khả năng trích ly TSC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.763849 |
| Adj Rsquare | 0.675292 |
| Root Mean Square Error | 4.61693 |
| Mean of Response | 36.86943 |
| Observations (or Sum Wgts) | 12 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Tỷ lệ enzyme (%) | 3 | 551.58762 | 183.863 | 8.6255 | 0.0069* |
| Error | 8 | 170.52836 | 21.316 | | |
| C. Total | 11 | 722.11598 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|---------|---------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err | | |
| | | | | Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 0 | 3 | 27.2007 | 3.94805 | 2.2794 | 17.393 | 37.008 |
| 0,1 | 3 | 33.8397 | 7.33960 | 4.2375 | 15.607 | 52.072 |
| 0,5 | 3 | 42.6836 | 3.70133 | 2.1370 | 33.489 | 51.878 |
| 1 | 3 | 43.7538 | 1.45176 | 0.8382 | 40.147 | 47.360 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 1 | A | 43.753800 |
| 0,5 | A | 42.683567 |
| 0,1 | B | 33.839667 |
| 0 | B | 27.200700 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 8.7: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme đến khả năng trích ly vitamin C trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.834981 |
| Adj Rsquare | 0.773099 |
| Root Mean Square Error | 0.032976 |
| Mean of Response | 0.337592 |
| Observations (or Sum Wgts) | 12 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Tỷ lệ enzyme (%) | 3 | 0.04401798 | 0.014673 | 13.4931 | 0.0017* |
| Error | 8 | 0.00869937 | 0.001087 | | |
| C. Total | 11 | 0.05271735 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|----------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 0 | 3 | 0.233300 | 0.024031 | 0.01387 | 0.17360 | 0.29300 |
| 0,1 | 3 | 0.361700 | 0.050173 | 0.02897 | 0.23706 | 0.48634 |
| 0,5 | 3 | 0.377600 | 0.030800 | 0.01778 | 0.30109 | 0.45411 |
| 1 | 3 | 0.377767 | 0.017500 | 0.01010 | 0.33429 | 0.42124 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.30600 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|------------|
| Level | | Mean |
| 1 | A | 0.37776667 |
| 0,5 | A | 0.37760000 |
| 0,1 | A | 0.36170000 |
| 0 | B | 0.23330000 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 9: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến khả năng trích ly các hợp chất sinh học

Phụ lục 9.1: Bảng kết quả đo ẩm và thể tích mẫu sau trích ly

| Chỉ tiêu | Nhiệt độ (°C) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|---------------|---------------|--------|-------|--------|
| Ẩm (%) | 40 | 10,95% | 9,84% | 10,60% |
| | 50 | 10,95% | 9,84% | 10,60% |
| | 60 | 10,95% | 9,84% | 10,60% |
| Thể tích (mL) | 40 | 50,0 | 50,0 | 51,8 |
| | 50 | 51,6 | 51,1 | 53,2 |
| | 60 | 52,3 | 52,3 | 52,5 |

Phụ lục 9.2: Bảng kết quả đo UV-vis

| Chỉ tiêu | Nhiệt độ (°C) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------|---------------|---------|---------|---------|
| TPC | 40 | 0,49903 | 0,51635 | 0,54722 |
| | 50 | 0,50788 | 0,54409 | 0,54824 |
| | 60 | 0,53124 | 0,55253 | 0,53511 |
| TFC | 40 | 0,20201 | 0,22336 | 0,21664 |
| | 50 | 0,25626 | 0,24296 | 0,21025 |
| | 60 | 0,28061 | 0,25478 | 0,24698 |
| TSC | 40 | 0,31666 | 0,35108 | 0,34524 |
| | 50 | 0,33397 | 0,37813 | 0,32849 |
| | 60 | 0,31359 | 0,36316 | 0,32759 |

Phụ lục 9.3: Bảng kết quả chuẩn độ vitamin C

| Nhiệt độ (°C) | Thể tích thuốc thử chuẩn độ (giá trị trung bình 3 lần lặp) (mL) | | |
|------------------|--|-------|-------|
| | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
| 40 | 0,35 | 0,50 | 0,42 |
| 50 | 0,32 | 0,45 | 0,43 |
| 60 | 0,33 | 0,45 | 0,47 |
| Mẫu chuẩn | 0,55 | 0,55 | 0,55 |

Phụ lục 9.4: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến khả năng trích ly TPC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.342267 |
| Adj Rsquare | 0.123023 |
| Root Mean Square Error | 0.640617 |
| Mean of Response | 12.79318 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Nhiệt độ (oC) | 2 | 1.2813387 | 0.640669 | 1.5611 | 0.2845 |
| Error | 6 | 2.4623438 | 0.410391 | | |
| C. Total | 8 | 3.7436825 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 40 | 3 | 12.2802 | 0.847988 | 0.48959 | 10.174 | 14.387 |
| 50 | 3 | 12.9224 | 0.688371 | 0.39743 | 11.212 | 14.632 |
| 60 | 3 | 13.1769 | 0.195533 | 0.11289 | 12.691 | 13.663 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 60 | A | 13.176933 |
| 50 | A | 12.922400 |
| 40 | A | 12.280200 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 9.5: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến khả năng trích ly TFC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.707333 |
| Adj Rsquare | 0.609778 |
| Root Mean Square Error | 0.569487 |
| Mean of Response | 6.785733 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Nhiet do (oC) | 2 | 4.7029490 | 2.35147 | 7.2506 | 0.0251* |
| Error | 6 | 1.9458937 | 0.32432 | | |
| C. Total | 8 | 6.6488428 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 40 | 3 | 5.89680 | 0.367008 | 0.21189 | 4.9851 | 6.8085 |
| 50 | 3 | 6.79297 | 0.683751 | 0.39476 | 5.0944 | 8.4915 |
| 60 | 3 | 7.66743 | 0.608881 | 0.35154 | 6.1549 | 9.1800 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|-----|-----------|
| Level | | Mean |
| 60 | A | 7.6674333 |
| 50 | A B | 6.7929667 |
| 40 | B | 5.8968000 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 9.6: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến khả năng trích ly TSC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.129498 |
| Adj Rsquare | -0.16067 |
| Root Mean Square Error | 4.137033 |
| Mean of Response | 56.10772 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Nhiet do (oC) | 2 | 15.27644 | 7.6382 | 0.4463 | 0.6596 |
| Error | 6 | 102.69027 | 17.1150 | | |
| C. Total | 8 | 117.96671 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|---------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 40 | 3 | 54.6102 | 3.77935 | 2.1820 | 45.222 | 63.999 |
| 50 | 3 | 57.7861 | 4.00699 | 2.3134 | 47.832 | 67.740 |
| 60 | 3 | 55.9268 | 4.58319 | 2.6461 | 44.542 | 67.312 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 50 | A | 57.786100 |
| 60 | A | 55.926833 |
| 40 | A | 54.610233 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 9.7: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình thủy phân bằng enzyme đến khả năng trích ly vitamin C trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.01882 |
| Adj Rsquare | -0.30824 |
| Root Mean Square Error | 0.151007 |
| Mean of Response | 0.865633 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Nhiet do (oC) | 2 | 0.00262429 | 0.001312 | 0.0575 | 0.9446 |
| Error | 6 | 0.13681895 | 0.022803 | | |
| C. Total | 8 | 0.13944324 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|----------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 40 | 3 | 0.866933 | 0.147157 | 0.08496 | 0.50138 | 1.2325 |
| 50 | 3 | 0.844100 | 0.153286 | 0.08850 | 0.46332 | 1.2249 |
| 60 | 3 | 0.885867 | 0.152505 | 0.08805 | 0.50702 | 1.2647 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|------------|
| Level | | Mean |
| 60 | A | 0.88586667 |
| 40 | A | 0.86693333 |
| 50 | A | 0.84410000 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 10: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của thời gian thủy phân enzyme đến khả năng trích ly các hợp chất sinh học

Phụ lục 10.1: Bảng kết quả đo ẩm và thể tích mẫu sau trích ly

| Chỉ tiêu | Thời gian (phút) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Ẩm (%) | 30 | 8,36% | 9,15% | 9,36% |
| | 45 | 8,36% | 9,15% | 9,36% |
| | 60 | 8,36% | 9,15% | 9,36% |
| Thể tích (mL) | 30 | 54,4 | 51,4 | 53,3 |
| | 45 | 57,7 | 54,1 | 54,4 |
| | 60 | 56,2 | 54,5 | 54,3 |

Phụ lục 10.2: Bảng kết quả đo UV-vis

| Chỉ tiêu | Thời gian (phút) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-----------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|
| TPC | 30 | 0,48467 | 0,49463 | 0,47402 |
| | 45 | 0,48233 | 0,50525 | 0,49802 |
| | 60 | 0,49167 | 0,49271 | 0,48732 |
| TFC | 30 | 0,21625 | 0,27267 | 0,20863 |
| | 45 | 0,23017 | 0,20563 | 0,21373 |
| | 60 | 0,24250 | 0,21214 | 0,23451 |
| TSC | 30 | 0,31665 | 0,32205 | 0,32092 |
| | 45 | 0,30225 | 0,34134 | 0,32943 |
| | 60 | 0,30628 | 0,30110 | 0,31932 |

Phụ lục 10.3: Bảng kết quả chuẩn độ vitamin C

| Thời gian (phút) | Thể tích thuốc thử chuẩn độ (giá trị trung bình 3 lần lặp) (mL) | | |
|---------------------|--|-------|-------|
| | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
| 30 | 0,40 | 0,43 | 0,42 |
| 45 | 0,42 | 0,42 | 0,37 |
| 60 | 0,35 | 0,40 | 0,33 |
| Mẫu chuẩn | 0,47 | 0,58 | 0,48 |

Phụ lục 10.4: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của thời gian thủy phân enzyme đến khả năng trích ly TPC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.852516 |
| Adj Rsquare | 0.803354 |
| Root Mean Square Error | 0.173964 |
| Mean of Response | 12.19226 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Thời gian (phut) | 2 | 1.0496042 | 0.524802 | 17.3412 | 0.0032* |
| Error | 6 | 0.1815802 | 0.030263 | | |
| C. Total | 8 | 1.2311844 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 30 | 3 | 11.7244 | 0.204566 | 0.11811 | 11.216 | 12.233 |
| 45 | 3 | 12.5300 | 0.086868 | 0.05015 | 12.314 | 12.746 |
| 60 | 3 | 12.3224 | 0.203462 | 0.11747 | 11.817 | 12.828 |

| Confidence Quantile | |
|---------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 45 | A | 12.529997 |
| 60 | A | 12.322367 |
| 30 | B | 11.724420 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 10.5: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của thời gian thủy phân enzyme đến khả năng trích ly TFC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.065607 |
| Adj Rsquare | -0.24586 |
| Root Mean Square Error | 0.763045 |
| Mean of Response | 6.65681 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Thời gian (phut) | 2 | 0.2452850 | 0.122643 | 0.2106 | 0.8158 |
| Error | 6 | 3.4934221 | 0.582237 | | |
| C. Total | 8 | 3.7387071 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|----------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 30 | 3 | 6.67601 | 0.988163 | 0.57052 | 4.2213 | 9.1307 |
| 45 | 3 | 6.44570 | 0.632970 | 0.36545 | 4.8733 | 8.0181 |
| 60 | 3 | 6.84871 | 0.607943 | 0.35100 | 5.3385 | 8.3589 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 60 | A | 6.8487133 |
| 30 | A | 6.6760133 |
| 45 | A | 6.4457033 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 10.6: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của thời gian thủy phân enzyme đến khả năng trích ly TSC trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.521105 |
| Adj Rsquare | 0.361473 |
| Root Mean Square Error | 1.841029 |
| Mean of Response | 53.80261 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Thời gian (phut) | 2 | 22.128768 | 11.0644 | 3.2644 | 0.1098 |
| Error | 6 | 20.336327 | 3.3894 | | |
| C. Total | 8 | 42.465095 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|--------------------------|--------|---------|---------|--------------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err Mean | Lower 95% | Upper 95% |
| 30 | 3 | 52.8233 | 0.95676 | 0.5524 | 50.447 | 55.200 |
| 45 | 3 | 56.0153 | 2.45128 | 1.4152 | 49.926 | 62.105 |
| 60 | 3 | 52.5693 | 1.80111 | 1.0399 | 48.095 | 57.043 |

| Connecting Letters Report | | |
|---------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 45 | A | 56.015300 |
| 30 | A | 52.823270 |
| 60 | A | 52.569260 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 10.7: Kết quả xử lý thống kê khảo sát ảnh hưởng của thời gian thủy phân enzyme đến khả năng trích ly vitamin C trong trái nhàu

| Summary of Fit | |
|----------------------------|----------|
| Rsquare | 0.411233 |
| Adj Rsquare | 0.214977 |
| Root Mean Square Error | 0.073965 |
| Mean of Response | 1.006023 |
| Observations (or Sum Wgts) | 9 |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----|----------------|-------------|---------|----------|
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio | Prob > F |
| Thời gian (phut) | 2 | 0.02292689 | 0.011463 | 2.0954 | 0.2041 |
| Error | 6 | 0.03282468 | 0.005471 | | |
| C. Total | 8 | 0.05575158 | | | |

| Means and Std Deviations | | | | | | |
|---------------------------------|--------|---------|----------|---------|-----------|-----------|
| Level | Number | Mean | Std Dev | Std Err | Lower 95% | Upper 95% |
| | | | | Mean | | |
| 30 | 3 | 1.03958 | 0.018998 | 0.01097 | 0.99239 | 1.0868 |
| 45 | 3 | 1.04380 | 0.091906 | 0.05306 | 0.81550 | 1.2721 |
| 60 | 3 | 0.93469 | 0.087205 | 0.05035 | 0.71806 | 1.1513 |

| Confidence Quantile | |
|----------------------------|-------|
| t | Alpha |
| 2.44691 | 0.05 |

| Connecting Letters Report | | |
|----------------------------------|---|-----------|
| Level | | Mean |
| 45 | A | 1.0438033 |
| 30 | A | 1.0395800 |
| 60 | A | 0.9346867 |

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục 11: Kết quả xử lý tối ưu hóa trích ly các hợp chất sinh học

Phụ lục 11.1: Bảng kết quả đo ẩm và thể tích mẫu sau trích ly

| Chỉ tiêu | Mẫu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------------------|---------------------|--------------|--------------|--------------|
| Ẩm (%) | 1 | 6,82% | 6,82% | 6,82% |
| | 2 | 7,05% | 7,05% | 7,05% |
| | 3 | 6,93% | 6,93% | 6,93% |
| | 4 | 6,65% | 6,65% | 6,65% |
| | 5 | 7,70% | 7,70% | 7,70% |
| | 6 | 7,35% | 7,35% | 7,35% |
| | 7 | 7,25% | 7,25% | 7,25% |
| | 8 | 7,25% | 7,25% | 7,25% |
| | 9 | 7,16% | 7,16% | 7,16% |
| | 10 | 7,16% | 7,16% | 7,16% |
| | 11 | 7,35% | 7,35% | 7,35% |
| | 12 | 7,66% | 7,66% | 7,66% |
| | 13 | 7,49% | 7,49% | 7,49% |
| | 14 | 7,49% | 7,49% | 7,49% |
| | 15 | 7,18% | 7,18% | 7,18% |
| | 16 | 7,18% | 7,18% | 7,18% |
| | 17 | 6,55% | 6,55% | 6,55% |
| | Mẫu thẩm tra | 7,04% | 7,04% | 7,04% |
| Thể tích (mL) | 1 | 53,70 | 53,6 | 52,53 |
| | 2 | 47,70 | 52,70 | 53,10 |
| | 3 | 53,20 | 54,15 | 53,15 |
| | 4 | 50,50 | 52,1 | 51,40 |

| Chỉ tiêu | Mẫu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-----------------|---------------------|--------------|--------------|--------------|
| | 5 | 50,30 | 53,1 | 52,00 |
| | 6 | 54,20 | 57,2 | 54,90 |
| | 7 | 52,00 | 54,0 | 53,70 |
| | 8 | 52,90 | 53,7 | 53,00 |
| | 9 | 52,50 | 55,5 | 57,50 |
| | 10 | 54,60 | 56,2 | 52,80 |
| | 11 | 52,30 | 55,0 | 55,30 |
| | 12 | 50,15 | 53,8 | 54,20 |
| | 13 | 55,00 | 51,5 | 55,50 |
| | 14 | 54,50 | 53,1 | 53,50 |
| | 15 | 53,40 | 59,5 | 58,80 |
| | 16 | 55,80 | 56,4 | 56,20 |
| | 17 | 50,10 | 56,2 | 54,30 |
| | Mẫu thẩm tra | 56,30 | 55,5 | 56,00 |

Phụ lục 11.2: Bảng kết quả đo UV-vis

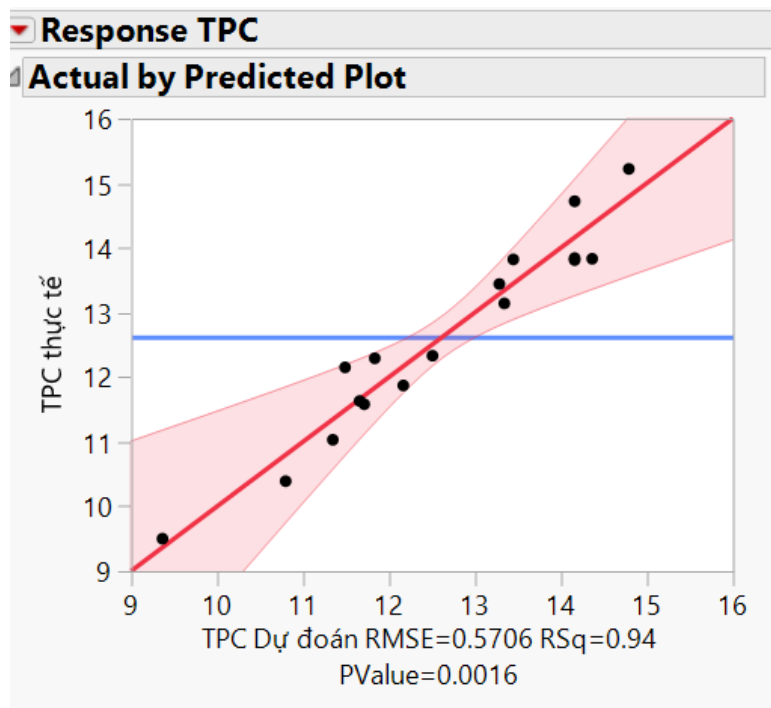
| Chỉ tiêu | Mẫu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-----------------|------------|--------------|--------------|--------------|
| TPC | 1 | 0,46471 | 0,45814 | 0,4137 |
| | 2 | 0,50815 | 0,52585 | 0,51988 |
| | 3 | 0,41290 | 0,41341 | 0,37492 |
| | 4 | 0,43200 | 0,44614 | 0,43017 |
| | 5 | 0,36026 | 0,35462 | 0,36102 |
| | 6 | 041618 | 0,42893 | 0,42767 |

| Chỉ tiêu | Mẫu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-----------------|---------------------|--------------|--------------|--------------|
| | 7 | 0,55889 | 0,54596 | 0,53649 |
| | 8 | 0,52488 | 0,53594 | 0,52941 |
| | 9 | 0,47812 | 0,48393 | 0,48231 |
| | 10 | 0,49103 | 0,49314 | 0,47912 |
| | 11 | 0,44033 | 0,43624 | 0,44215 |
| | 12 | 0,36357 | 0,39297 | 0,39349 |
| | 13 | 0,40778 | 0,42092 | 0,44712 |
| | 14 | 0,42490 | 0,4177 | 0,41646 |
| | 15 | 0,44479 | 0,44935 | 0,46485 |
| | 16 | 0,47463 | 0,47546 | 0,47175 |
| | 17 | 0,46006 | 0,46922 | 0,48807 |
| | Mẫu thẩm tra | 0,44895 | 0,45616 | 0,46947 |
| TFC | 1 | 0,5161 | 0,51208 | 0,51732 |
| | 2 | 0,58114 | 0,49416 | 0,46491 |
| | 3 | 0,51247 | 0,49278 | 0,54208 |
| | 4 | 0,47857 | 0,50038 | 0,45048 |
| | 5 | 0,53814 | 0,51183 | 0,51358 |
| | 6 | 0,52962 | 0,50655 | 0,52865 |
| | 7 | 0,47641 | 0,47942 | 0,47304 |
| | 8 | 0,53529 | 0,5384 | 0,53279 |
| | 9 | 0,48163 | 0,48267 | 0,45747 |
| | 10 | 0,48898 | 0,50141 | 0,45015 |
| | 11 | 0,49064 | 0,52898 | 0,49223 |

| Chỉ tiêu | Mẫu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-----------------|---------------------|--------------|--------------|--------------|
| | 12 | 0,7114 | 0,58977 | 0,60506 |
| | 13 | 0,42954 | 0,4496 | 0,42348 |
| | 14 | 0,44891 | 0,42656 | 0,43489 |
| | 15 | 0,53936 | 0,53563 | 0,52969 |
| | 16 | 0,55781 | 0,62373 | 0,63411 |
| | 17 | 0,51706 | 0,4995 | 0,48431 |
| | Mẫu thẩm tra | 0,55771 | 0,5614 | 0,55056 |
| TSC | 1 | 0,38979 | 0,40477 | 0,41828 |
| | 2 | 0,36112 | 0,39523 | 0,38462 |
| | 3 | 0,48703 | 0,50217 | 0,49316 |
| | 4 | 0,38061 | 0,3598 | 0,46467 |
| | 5 | 0,4784 | 0,4699 | 0,46527 |
| | 6 | 0,52761 | 0,54909 | 0,54045 |
| | 7 | 0,40192 | 0,38866 | 0,30484 |
| | 8 | 0,4364 | 0,5224 | 0,43305 |
| | 9 | 0,49183 | 0,51059 | 0,48835 |
| | 10 | 0,47981 | 0,49689 | 0,50102 |
| | 11 | 0,53704 | 0,51509 | 0,50368 |
| | 12 | 0,56614 | 0,55469 | 0,43236 |
| | 13 | 0,55577 | 0,54138 | 0,53887 |
| | 14 | 0,55215 | 0,54578 | 0,49181 |
| | 15 | 0,49956 | 0,48693 | 0,48032 |
| | 16 | 0,47215 | 0,47572 | 0,51581 |

| Chỉ tiêu | Mẫu | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-----------------|---------------------|--------------|--------------|--------------|
| | 17 | 0,48380 | 0,46195 | 0,48125 |
| | Mẫu thẩm tra | 0,71268 | 0,71796 | 0,74472 |
| Vit C | 1 | 0,483333 | 0,466667 | 0,45 |
| | 2 | 0,533333 | 0,55 | 0,483333 |
| | 3 | 0,433333 | 0,4 | 0,416667 |
| | 4 | 0,55 | 0,483333 | 0,433333 |
| | 5 | 0,366667 | 0,383333 | 0,366667 |
| | 6 | 0,433333 | 0,416667 | 0,45 |
| | 7 | 0,483333 | 0,483333 | 0,55 |
| | 8 | 0,5 | 0,5 | 0,466667 |
| | 9 | 0,483333 | 0,433333 | 0,433333 |
| | 10 | 0,45 | 0,416667 | 0,45 |
| | 11 | 0,533333 | 0,4 | 0,45 |
| | 12 | 0,416667 | 0,366667 | 0,333333 |
| | 13 | 0,5 | 0,45 | 0,416667 |
| | 14 | 0,433333 | 0,466667 | 0,4 |
| | 15 | 0,55 | 0,466667 | 0,483333 |
| | 16 | 0,4 | 0,366667 | 0,4 |
| | 17 | 0,55 | 0,516667 | 0,466667 |
| | Mẫu thẩm tra | 0,483333 | 0,466667 | 0,45 |

Phụ lục 11.3: Đồ thị thể hiện mối tương quan hàm lượng TPC trên thực tế và mô hình dự đoán



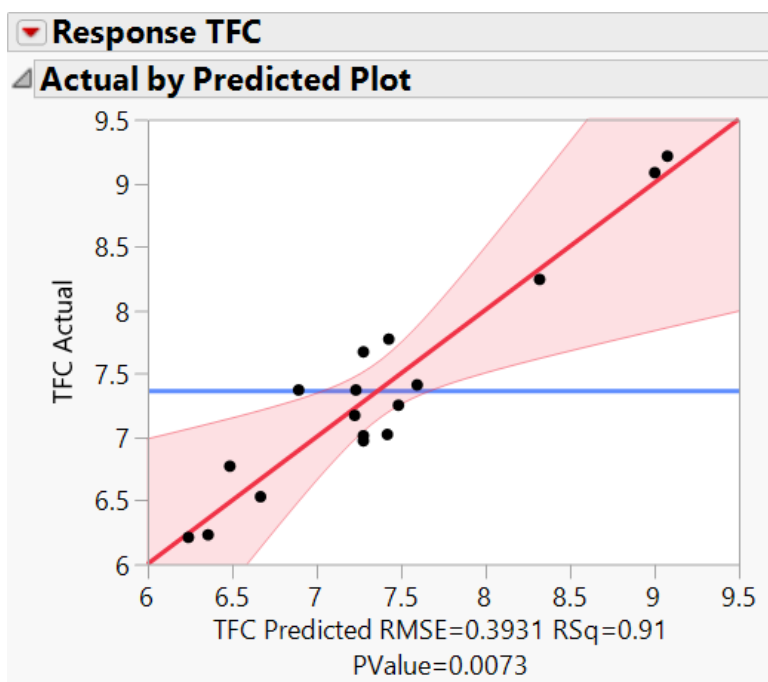
Parameter Estimates

| Term | Estimate | Std Error | t Ratio | Prob> t |
|-------------------------------|-----------|-----------|---------|----------|
| Intercept | 14.160357 | 0.324937 | 43.58 | <.0001* |
| Nồng độ enzyme(0.5,1) | 0.4710366 | 0.157526 | 2.99 | 0.0202* |
| Nhiệt độ ủ(50,60) | -0.216159 | 0.157526 | -1.37 | 0.2124 |
| Thời gian ủ(45,60) | -0.71372 | 0.157526 | -4.53 | 0.0027* |
| Nồng độ enzyme*Nhiệt độ ủ | 0.9425 | 0.201732 | 4.67 | 0.0023* |
| Nồng độ enzyme*Thời gian ủ | 0.6275 | 0.201732 | 3.11 | 0.0171* |
| Nhiệt độ ủ*Thời gian ủ | 0.1675 | 0.201732 | 0.83 | 0.4338 |
| Nồng độ enzyme*Nồng độ enzyme | -0.613896 | 0.180784 | -3.40 | 0.0115* |
| Nhiệt độ ủ*Nhiệt độ ủ | -1.178349 | 0.180784 | -6.52 | 0.0003* |
| Thời gian ủ*Thời gian ủ | -0.199833 | 0.180784 | -1.11 | 0.3055 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio |
|----------|----|----------------|-------------|--------------------|
| Model | 9 | 35.915790 | 3.99064 | 12.2576 |
| Error | 7 | 2.278963 | 0.32557 | Prob > F |
| C. Total | 16 | 38.194753 | | 0.0016* |

Phụ lục 11.4: Đồ thị thể hiện mối tương quan hàm lượng TFC trên thực tế và mô hình dự đoán



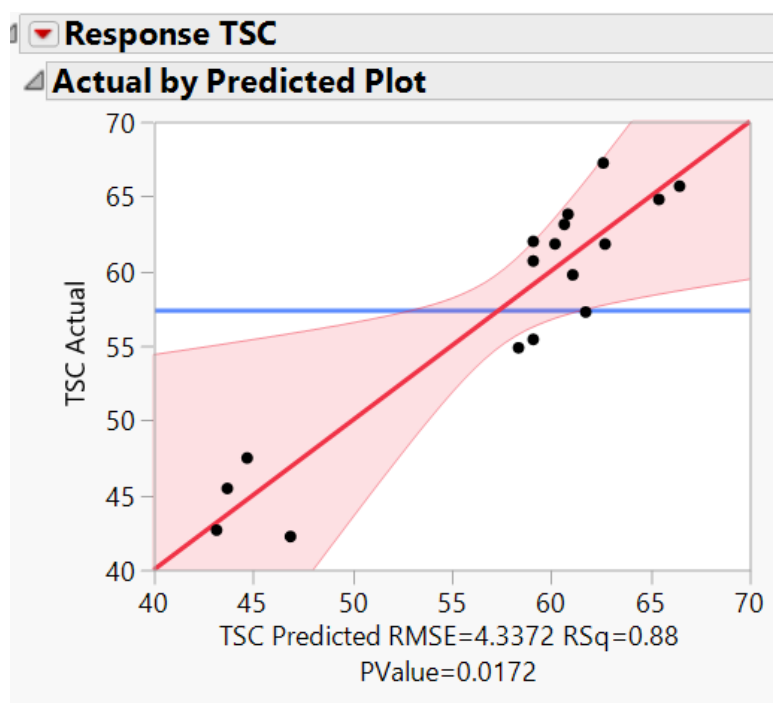
Parameter Estimates

| Term | Estimate | Std Error | t Ratio | Prob> t |
|-------------------------------|-----------|-----------|---------|---------|
| Intercept | 7.2780512 | 0.223841 | 32.51 | <.0001* |
| Nồng độ enzyme(0,5,1) | 0.1036585 | 0.108516 | 0.96 | 0.3713 |
| Nhiệt độ ủ(50,60) | 0.4920732 | 0.108516 | 4.53 | 0.0027* |
| Thời gian ủ(45,60) | 0.2332317 | 0.108516 | 2.15 | 0.0687 |
| Nồng độ enzyme*Nhiệt độ ủ | 0.7075 | 0.138968 | 5.09 | 0.0014* |
| Nồng độ enzyme*Thời gian ủ | -0.015 | 0.138968 | -0.11 | 0.9171 |
| Nhiệt độ ủ*Thời gian ủ | 0.16 | 0.138968 | 1.15 | 0.2874 |
| Nồng độ enzyme*Nồng độ enzyme | -0.084889 | 0.124538 | -0.68 | 0.5174 |
| Nhiệt độ ủ*Nhiệt độ ủ | 0.3662825 | 0.124538 | 2.94 | 0.0217* |
| Thời gian ủ*Thời gian ủ | -0.163014 | 0.124538 | -1.31 | 0.2319 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio |
|----------|----|----------------|-------------|--------------------|
| Model | 9 | 10.414012 | 1.15711 | 7.4895 |
| Error | 7 | 1.081482 | 0.15450 | Prob > F |
| C. Total | 16 | 11.495494 | | 0.0073* |

Phụ lục 11.5: Đồ thị thể hiện mối tương quan hàm lượng TSC trên thực tế và mô hình dự đoán



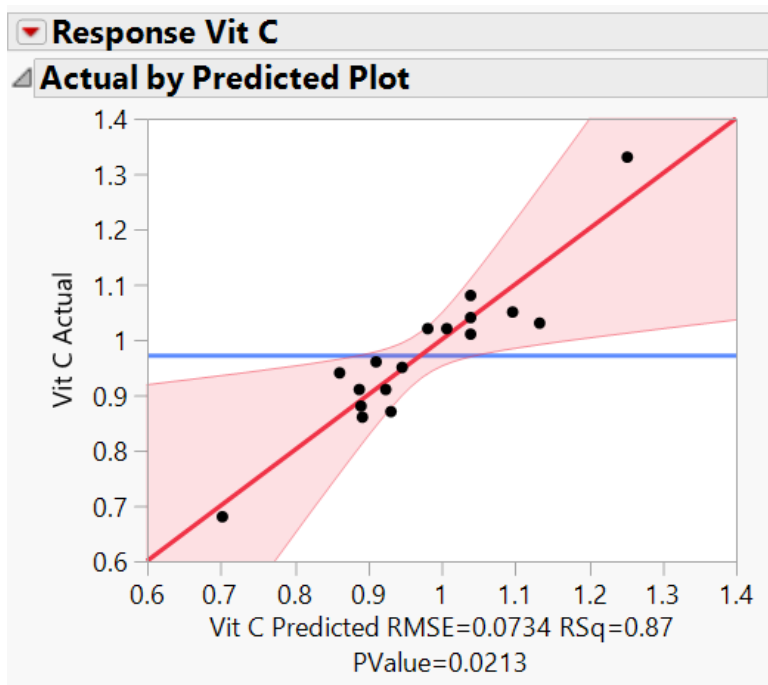
Parameter Estimates

| Term | Estimate | Std Error | t Ratio | Prob> t |
|-------------------------------|-----------|-----------|---------|---------|
| Intercept | 59.105218 | 2.469954 | 23.93 | <.0001* |
| Nồng độ enzyme(0.5,1) | 5.3271341 | 1.197408 | 4.45 | 0.0030* |
| Nhiệt độ ủ(50,60) | -1.172866 | 1.197408 | -0.98 | 0.3600 |
| Thời gian ủ(45,60) | 4.3664634 | 1.197408 | 3.65 | 0.0082* |
| Nồng độ enzyme*Nhiệt độ ủ | -0.625 | 1.533431 | -0.41 | 0.6958 |
| Nồng độ enzyme*Thời gian ủ | -3.7825 | 1.533431 | -2.47 | 0.0430* |
| Nhiệt độ ủ*Thời gian ủ | -0.8175 | 1.533431 | -0.53 | 0.6105 |
| Nồng độ enzyme*Nồng độ enzyme | -2.298049 | 1.374201 | -1.67 | 0.1384 |
| Nhiệt độ ủ*Nhiệt độ ủ | 2.1453106 | 1.374201 | 1.56 | 0.1625 |
| Thời gian ủ*Thời gian ủ | -2.046096 | 1.374201 | -1.49 | 0.1801 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio |
|----------|----|----------------|-------------|--------------------|
| Model | 9 | 937.5881 | 104.176 | 5.5380 |
| Error | 7 | 131.6789 | 18.811 | Prob > F |
| C. Total | 16 | 1069.2670 | | 0.0172* |

Phụ lục 11.6: Đồ thị thể hiện mối tương quan hàm lượng vitamin C trên thực tế và mô hình dự đoán



Parameter Estimates

| Term | Estimate | Std Error | t Ratio | Prob> t |
|-------------------------------|-----------|-----------|---------|---------|
| Intercept | 1.0396498 | 0.041789 | 24.88 | <.0001* |
| Nồng độ enzyme(0.5,1) | 0.0849085 | 0.020259 | 4.19 | 0.0041* |
| Nhiệt độ ủ(50,60) | 0.0105183 | 0.020259 | 0.52 | 0.6196 |
| Thời gian ủ(45,60) | -0.065091 | 0.020259 | -3.21 | 0.0148* |
| Nồng độ enzyme*Nhiệt độ ủ | 0.08125 | 0.025944 | 3.13 | 0.0166* |
| Nồng độ enzyme*Thời gian ủ | -0.01375 | 0.025944 | -0.53 | 0.6125 |
| Nhiệt độ ủ*Thời gian ủ | -0.04375 | 0.025944 | -1.69 | 0.1356 |
| Nồng độ enzyme*Nồng độ enzyme | -0.016442 | 0.02325 | -0.71 | 0.5023 |
| Nhiệt độ ủ*Nhiệt độ ủ | -0.051599 | 0.02325 | -2.22 | 0.0619 |
| Thời gian ủ*Thời gian ủ | -0.018396 | 0.02325 | -0.79 | 0.4548 |

Analysis of Variance

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Ratio |
|----------|----|----------------|-------------|--------------------|
| Model | 9 | 0.24826049 | 0.027584 | 5.1228 |
| Error | 7 | 0.03769245 | 0.005385 | Prob > F |
| C. Total | 16 | 0.28595294 | | 0.0213* |

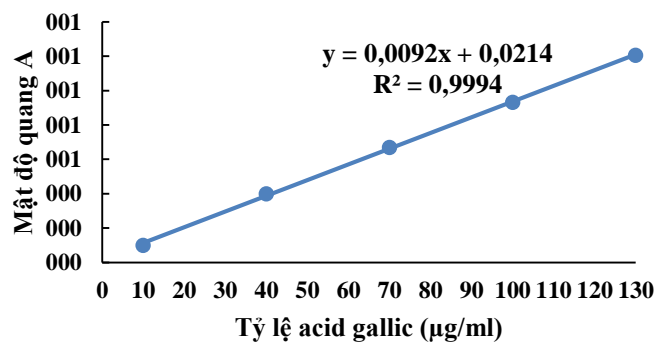
Phụ lục 12: Phương trình đường chuẩn

Phụ lục 12.1: Đường chuẩn TPC

Tỷ lệ acid gallic và mật độ quang hấp thụ:

| Tỷ lệ acid gallic ($\mu\text{g/mL}$) | Mật độ quang A |
|--|----------------|
| 10 | 1,00E-01 |
| 40 | 0,40033 |
| 70 | 0,67061 |
| 100 | 0,93314 |
| 130 | 1,2067 |

Đường chuẩn acid gallic:

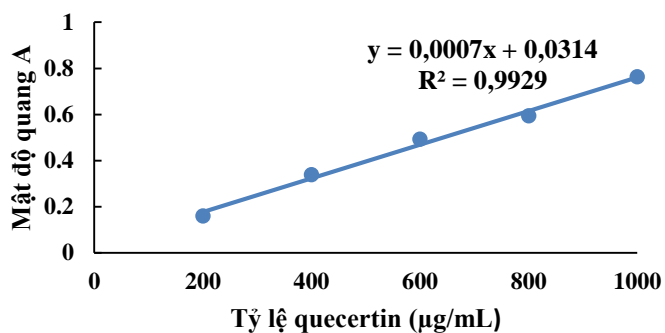


Phụ lục 12.2: Đường chuẩn TFC

Tỷ lệ quercetin và mật độ quang hấp thụ:

| Tỷ lệ quercetin ($\mu\text{g/mL}$) | Mật độ quang A |
|--------------------------------------|----------------|
| 200 | 0,16028 |
| 400 | 0,33837 |
| 600 | 0,49295 |
| 800 | 0,59425 |
| 1000 | 0,76287 |

Đường chuẩn quercetin:

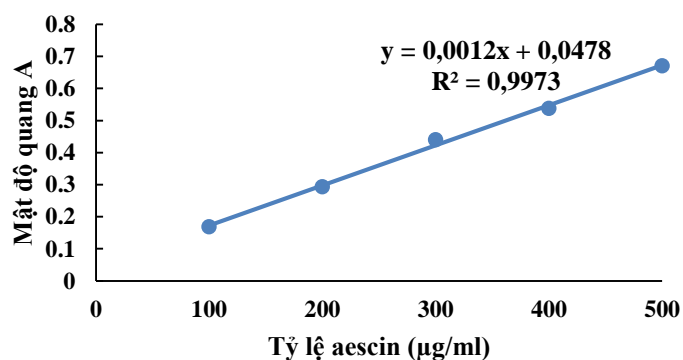


Phụ lục 12.3: Đường chuẩn TSC

Tỷ lệ aescin và mật độ quang hấp thụ:

| Tỷ lệ aescin ($\mu\text{g/mL}$) | Mật độ quang A |
|-----------------------------------|----------------|
| 100 | 0,16890 |
| 200 | 0,29428 |
| 300 | 0,44046 |
| 400 | 0,53870 |
| 500 | 0,67160 |

Đường chuẩn aescin



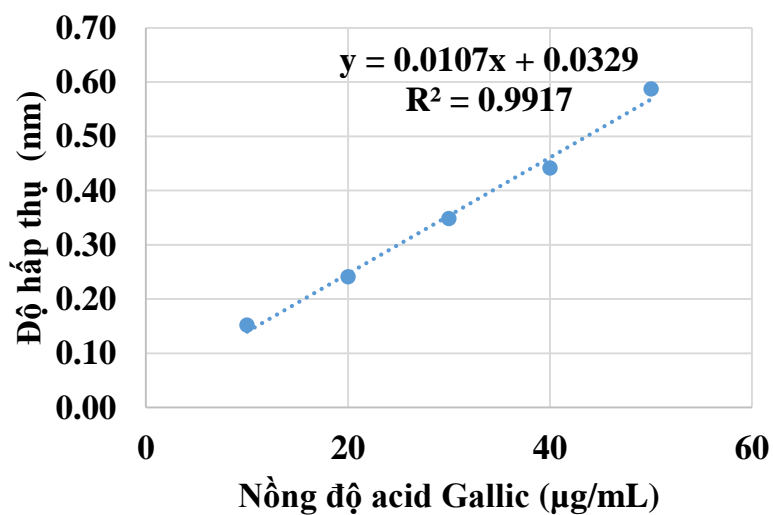
Phụ lục 13: Đường chuẩn

Phụ lục 13.1. Đường chuẩn của acid Gallic

Đường chuẩn của acid gallic được thiết lập trong khoảng nồng độ từ 0 đến 60 $\mu\text{g/mL}$. Dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách hòa tan $0,01 \pm 0,001$ (g) acid gallic trong nước cất và cho vào bình định mức 100 mL. Dùng micropipet chuyển dung dịch chuẩn vào bình định mức 100 mL và thêm nước cất đến vạch. Lấy 1 mL dung dịch chuẩn đã pha loãng, trộn với 5 mL thuốc thử Folin - Ciocalteu 10% trong ống nghiệm, lắc đều. Tiếp tục thêm 4 mL Na_2CO_3 7,5% sau 5 phút. Để các ống phản ứng trong bóng tối trong 60 phút và giá trị OD được đo ở bước sóng 765 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Tất cả các thử nghiệm được thực hiện trong ba lần.

Bảng B.1: Độ hấp thụ tiêu chuẩn (acid gallic)

| Nồng độ acid Gallic ($\mu\text{g/mL}$) | Độ hấp thụ (nm) |
|--|-----------------|
| 10 | 0,1520 |
| 20 | 0,2410 |
| 30 | 0,3480 |
| 40 | 0,4412 |
| 50 | 0,5868 |



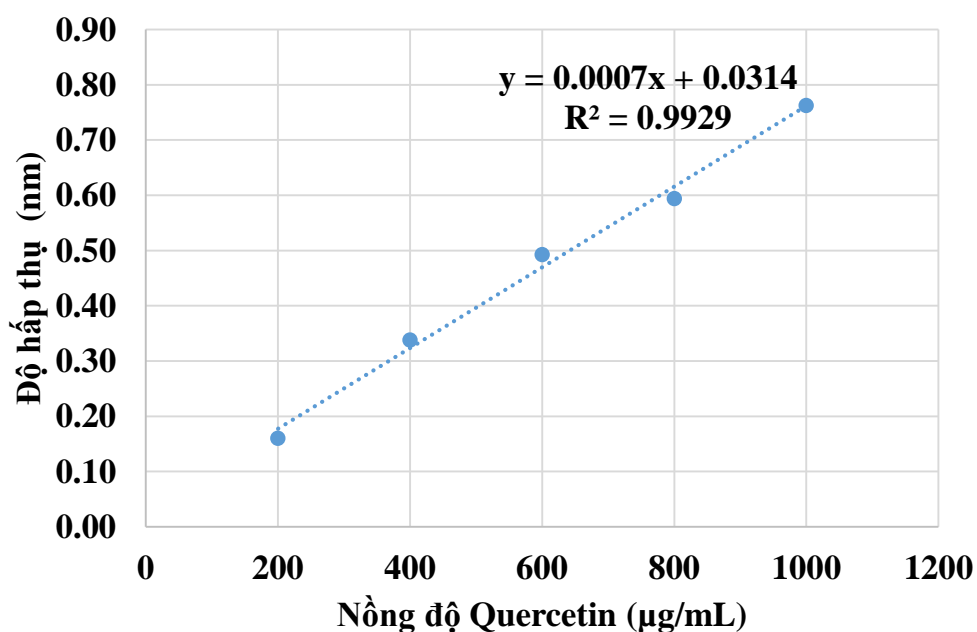
Hình B.1. Đường chuẩn của acid Gallic (TPC)

Phụ lục 13.2. Đường cong chuẩn của Quercetin

Pha loãng dung dịch quercetin 1000 ppm trong dung dịch ethanol 80%. Từ dung dịch quercetin 1000 ppm, tiếp tục pha loãng thành dung dịch cao 800, 600, 400 và 200 ppm. Áp dụng cho mỗi nồng độ dịch vụ đã pha loãng và thêm 1 mL vào ống nghiệm chứa 4 mL nước cất. Tiếp tục thêm 300 μ L dung dịch natri nitrit 5%. Sau 5 phút, thêm 300 μ L dung dịch nhôm clorua 10% vào hỗn hợp. Tiếp theo, thêm 2 mL dung dịch natri hydroxit 1M sau 6 phút, sau đó trộn đều dung dịch và tổng thể tích được thêm nước cất đến 10 mL. Đo độ hấp thụ ở 510 nm.

Bảng B.2: Độ hấp thụ của chất chuẩn (Quercetin)

| Nồng độ Quercetin (μ g/mL) | Độ hấp thụ (nm) |
|---------------------------------|-----------------|
| 200 | 0,1602 |
| 400 | 0,3384 |
| 600 | 0,4929 |
| 800 | 0,5942 |
| 1000 | 0,7626 |



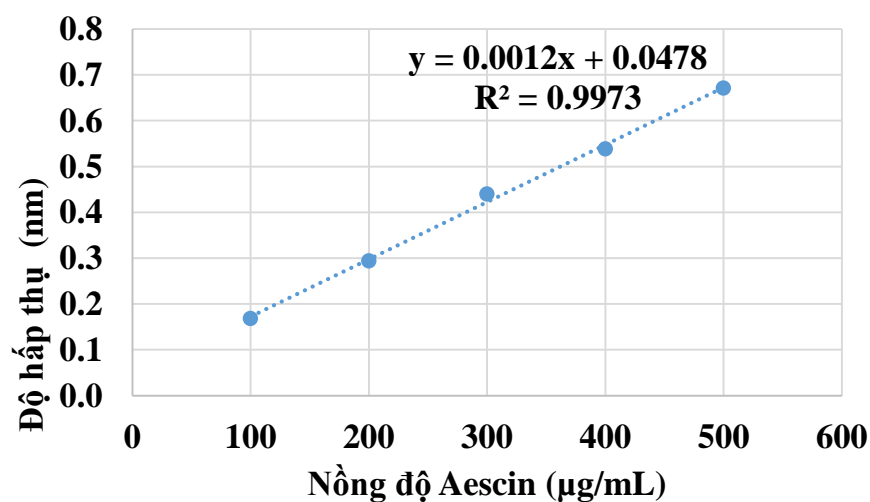
Hình B.2. Đường chuẩn của Quercetin (TFC)

Phụ lục 13.3. Đường chuẩn của Aescin

Pha loãng dung dịch Aescin 500 ppm, từ dung dịch aescin 500 ppm, tiếp tục pha loãng thành dung dịch cao 400, 300, 200, 100 ppm. Áp dụng cho từng nồng độ dịch pha loãng. Lấy 0,3mL mỗi dung dịch đã pha loãng cho vào ống nghiệm, thêm 0,3mL dung dịch vanilin 8% và 3mL acid sunfuric 72%. Hỗn hợp được ủ ở 60 °C trong 15 phút và làm nguội trong nước đá trong 10 phút. Sau đó đo giá trị OD ở bước sóng 560nm, nước cất làm mẫu đối chứng với vanilin và dung dịch acid sulfuric.

Bảng B.3: Độ hấp thụ của chất chuẩn (Aescin)

| Nồng độ Aescin ($\mu\text{g/mL}$) | Độ hấp thụ (nm) |
|-------------------------------------|-----------------|
| 100 | 0,1689 |
| 200 | 0,2943 |
| 300 | 0,4405 |
| 400 | 0,5387 |
| 500 | 0,6716 |



Hình B.3. Đường chuẩn của Aescin (TSC)

Phụ lục 14: Số liệu thô

Phụ lục 14.1. Xác định loại vỏ bao

Bảng kết quả đo ẩm và thể tích mẫu:

| | Tỷ lệ chất tạo màng | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------------------|---------------------|-------|-------|-------|
| Ẩm (%) | Gum + Malto (1:1) | 3,72 | 4,18 | 3,86 |
| | Gum + Malto (1:2) | 3,52 | 4,25 | 3,68 |
| | Gum + Malto (1:3) | 3,63 | 3,89 | 4,11 |
| | Gum + Malto (2:1) | 4,19 | 4,35 | 3,77 |
| | Gum + Malto (3:1) | 3,86 | 4,33 | 4,12 |
| Thể tích (mL) | Gum + Malto (1:1) | 47,4 | 47,5 | 47,4 |
| | Gum + Malto (1:2) | 47,5 | 47,8 | 47,4 |
| | Gum + Malto (1:3) | 48,1 | 47,9 | 47,8 |
| | Gum + Malto (2:1) | 47,3 | 47,6 | 47,5 |
| | Gum + Malto (3:1) | 47,2 | 47,3 | 47,5 |

Bảng kết quả đo mật độ quang các loại chất tạo màng khác nhau:

| | | Tỷ lệ chất tạo màng | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-------------------------|------------|---------------------|--------|--------|--------|
| MẬT ĐỘ QUANG | TPC | Gum + Malto (1:1) | 0,4362 | 0,4078 | 0,4254 |
| | | Gum + Malto (1:2) | 0,3496 | 0,3296 | 0,3376 |
| | | Gum + Malto (1:3) | 0,3752 | 0,3466 | 0,3691 |
| | | Gum + Malto (2:1) | 0,5614 | 0,4304 | 0,4995 |
| | | Gum + Malto (3:1) | 0,4783 | 0,4781 | 0,4728 |
| | TSC | Gum + Malto (1:1) | 0,4195 | 0,4804 | 0,4538 |
| | | Gum + Malto (1:2) | 0,4615 | 0,3924 | 0,4237 |
| | | Gum + Malto (1:3) | 0,3178 | 0,3065 | 0,3324 |
| | | Gum + Malto (2:1) | 0,5188 | 0,5605 | 0,5247 |

| | | | | | |
|--|------------|-------------------|--------|--------|--------|
| | TFC | Gum + Malto (3:1) | 0,5814 | 0,6177 | 0,5542 |
| | | Gum + Malto (1:1) | 0,4243 | 0,4016 | 0,4125 |
| | | Gum + Malto (1:2) | 0,3617 | 0,3679 | 0,3592 |
| | | Gum + Malto (1:3) | 0,3502 | 0,3775 | 0,3582 |
| | | Gum + Malto (2:1) | 0,4411 | 0,4446 | 0,4396 |
| | | Gum + Malto (3:1) | 0,4859 | 0,4283 | 0,4323 |

Phụ lục 14.2 Xác định nồng độ chất tạo màng trong dịch sấy phun

Bảng đo ẩm và thể tích mẫu ở các nồng độ chất tạo màng khác nhau:

| | Tỷ lệ chất tạo màng | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------------------|---------------------|-------|-------|-------|
| Ẩm (%) | 20% | 3,7 | 4,17 | 4,22 |
| | 25% | 3,52 | 3,67 | 3,68 |
| | 30% | 3,3 | 3,25 | 3,56 |
| Thể tích (mL) | 20% | 47,5 | 47,3 | 47,6 |
| | 25% | 46,7 | 46,8 | 46,7 |
| | 30% | 46,1 | 46 | 46,2 |

Bảng kết quả đo mật độ quang các nồng độ chất tạo màng khác nhau:

| | | Tỷ lệ chất tạo màng | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|---------------------|------------|---------------------|--------|--------|--------|
| MẬT ĐỘ QUANG | TPC | 20% | 0,4154 | 0,4206 | 0,4118 |
| | | 25% | 0,4339 | 0,3956 | 0,4145 |
| | | 30% | 0,4505 | 0,4427 | 0,4426 |
| | TSC | 20% | 0,4141 | 0,3782 | 0,3871 |
| | | 25% | 0,3546 | 0,333 | 0,3014 |
| | | 30% | 0,3097 | 0,3382 | 0,3256 |
| | TFC | 20% | 0,5906 | 0,6007 | 0,5897 |

| | | Tỷ lệ chất tạo màng | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|--|--|---------------------|--------|--------|--------|
| | | 25% | 0,4968 | 0,5011 | 0,4898 |
| | | 30% | 0,4621 | 0,4735 | 0,4716 |

Phụ lục 14.3 Xác định nhiệt độ đầu vào

Bảng đo ẩm và thể tích mẫu ở các nhiệt độ vào khác nhau:

| | | Nhiệt độ vào | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------------------|--|--------------|-------|-------|-------|
| Ẩm (%) | | 140 độ | 3,72 | 4,18 | 3,86 |
| | | 150 độ | 3,52 | 4,25 | 3,68 |
| | | 160 độ | 3,63 | 3,89 | 4,11 |
| | | 170 độ | 4,19 | 4,35 | 3,77 |
| | | 180 độ | 3,86 | 4,33 | 4,12 |
| Thể tích (mL) | | 140 độ | 47,4 | 47,5 | 47,4 |
| | | 150 độ | 47,5 | 47,8 | 47,4 |
| | | 160 độ | 48,1 | 47,9 | 47,8 |
| | | 170 độ | 47,3 | 47,6 | 47,5 |
| | | 180 độ | 47,2 | 47,3 | 47,5 |

Bảng kết quả đo mật độ quang ở các nhiệt độ vào khác nhau:

| | | Nhiệt độ vào | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|---------------------|------------|--------------|--------|--------|--------|
| MẬT ĐỘ QUANG | TPC | 140 độ | 0,4362 | 0,4078 | 0,4254 |
| | | 150 độ | 0,3496 | 0,3296 | 0,3376 |
| | | 160 độ | 0,3752 | 0,3466 | 0,3691 |
| | | 170 độ | 0,5614 | 0,4304 | 0,4995 |
| | | 180 độ | 0,4783 | 0,4781 | 0,4728 |
| | TSC | 140 độ | 0,4195 | 0,4804 | 0,4538 |
| | | 150 độ | 0,4615 | 0,3924 | 0,4237 |
| | | 160 độ | 0,3178 | 0,3065 | 0,3324 |
| | | 170 độ | 0,5188 | 0,5605 | 0,5247 |
| | | 180 độ | 0,5814 | 0,6177 | 0,5542 |
| | TFC | 140 độ | 0,4243 | 0,4016 | 0,4125 |

| | | | | | |
|--|--|--------|--------|--------|--------|
| | | 150 độ | 0,3617 | 0,3679 | 0,3592 |
| | | 160 độ | 0,3502 | 0,3775 | 0,3582 |
| | | 170 độ | 0,4411 | 0,4446 | 0,4396 |
| | | 180 độ | 0,4859 | 0,4283 | 0,4323 |

Phụ lục 14.4 Xác định nhiệt độ đầu ra

Bảng đo ẩm và thể tích mẫu ở các nhiệt độ ra khác nhau:

| | Nhiệt độ ra | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------------------|-------------|-------|-------|-------|
| Ẩm (%) | 82-83 độ | 5,56 | 5,23 | 5,31 |
| | 87-88 độ | 4,72 | 4,63 | 4,59 |
| | 91 -93 độ | 3,6 | 3,65 | 3,42 |
| | 97-98 độ | 2,06 | 2,17 | 2,24 |
| Thể tích (mL) | 82-83 độ | 47,6 | 47,4 | 47,3 |
| | 87-88 độ | 47,6 | 47,5 | 47,6 |
| | 91 -93 độ | 47,5 | 47,4 | 47,5 |
| | 97-98 độ | 47,6 | 47,4 | 47,5 |

Bảng kết quả đo mật độ quang ở các nhiệt độ ra khác nhau:

| | | Nhiệt độ ra | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|---------------------|------------|-------------|--------|--------|--------|
| MẬT ĐỘ QUANG | TPC | 82-83 độ | 0,497 | 0,5137 | 0,5027 |
| | | 87-88 độ | 0,4684 | 0,478 | 0,4769 |
| | | 91 -93 độ | 0,5149 | 0,5153 | 0,5246 |
| | | 97-98 độ | 0,4791 | 0,4855 | 0,4813 |
| | TSC | 82-83 độ | 0,3044 | 0,3373 | 0,3251 |
| | | 87-88 độ | 0,3292 | 0,3279 | 0,3282 |
| | | 91 -93 độ | 0,325 | 0,3069 | 0,3126 |
| | | 97-98 độ | 0,3191 | 0,3226 | 0,3185 |
| | TFC | 82-83 độ | 0,4457 | 0,4864 | 0,4703 |
| | | 87-88 độ | 0,4416 | 0,4287 | 0,4431 |
| | | 91 -93 độ | 0,4581 | 0,4601 | 0,4915 |
| | | 97-98 độ | 0,4705 | 0,4486 | 0,4681 |

Phụ lục 14.5 Tối ưu nhiệt độ sấy

Bảng đo ẩm và thể tích mẫu ở các giá trị nhiệt độ khác nhau:

| | Nhiệt độ vào (độ C) | Nhiệt độ ra (độ C) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|---------------|----------------------|--------------------|-------|-------|-------|
| ẨM (%) | 170 | 82 | 6,48 | 6,43 | 6,37 |
| | 170 | 87 | 5,45 | 5,51 | 5,32 |
| | 170 | 92 | 5,33 | 5,25 | 5,36 |
| | 175 | 82 | 4,19 | 4,57 | 4,61 |
| | 175 | 87 | 4,33 | 5,01 | 4,65 |
| | 175 | 87 | 4,56 | 4,68 | 4,31 |
| | 175 | 87 | 4,69 | 4,38 | 4,56 |
| | 175 | 92 | 4,25 | 4,31 | 4,11 |
| | 180 | 82 | 4,12 | 4,33 | 4,58 |
| | 180 | 87 | 4,34 | 4,66 | 4,21 |
| | 180 | 92 | 3,86 | 4,01 | 3,77 |
| | Thể tích (mL) | 170 | 82 | 47,4 | 47,5 |
| 170 | | 87 | 47,5 | 47,8 | 47,4 |
| 170 | | 92 | 48,1 | 47,9 | 47,8 |
| 175 | | 82 | 47,3 | 47,6 | 47,5 |
| 175 | | 87 | 46,9 | 47,2 | 47,5 |
| 175 | | 87 | 47,6 | 47,5 | 47,3 |
| 175 | | 87 | 47,2 | 47,3 | 47,5 |
| 175 | | 92 | 47,4 | 47,9 | 47,5 |
| 180 | | 82 | 47,6 | 47,4 | 47,3 |
| 180 | | 87 | 47,4 | 47,5 | 47,6 |
| 180 | | 92 | 47,5 | 47,6 | 47,4 |

Bảng kết quả đo mật độ quang ở các giá trị nhiệt độ khác nhau:

| | | Nhiệt độ vào (độ C) | Nhiệt độ ra (độ C) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-------------------------|------------|------------------------|-----------------------|--------|--------|--------|
| MẬT ĐỘ QUANG | TPC | 170 | 82 | 0,3859 | 0,3768 | 0,3689 |
| | | 170 | 87 | 0,3652 | 0,3689 | 0,3652 |
| | | 170 | 92 | 0,3758 | 0,3841 | 0,3751 |
| | | 175 | 82 | 0,4089 | 0,4047 | 0,4055 |
| | | 175 | 87 | 0,3788 | 0,3806 | 0,3707 |
| | | 175 | 87 | 0,3805 | 0,3806 | 0,3788 |
| | | 175 | 87 | 0,3783 | 0,3652 | 0,3821 |
| | | 175 | 92 | 0,3871 | 0,3876 | 0,3926 |
| | | 180 | 82 | 0,3877 | 0,3873 | 0,3789 |
| | | 180 | 87 | 0,3851 | 0,3714 | 0,385 |
| | 180 | 92 | 0,3848 | 0,3624 | 0,3789 | |
| | TSC | 170 | 82 | 0,5056 | 0,4998 | 0,5103 |
| | | 170 | 87 | 0,5035 | 0,4814 | 0,4789 |
| | | 170 | 92 | 0,5297 | 0,4889 | 0,5165 |
| | | 175 | 82 | 0,3446 | 0,4022 | 0,3455 |
| | | 175 | 87 | 0,3531 | 0,3629 | 0,3612 |
| | | 175 | 87 | 0,3437 | 0,3433 | 0,3541 |
| | | 175 | 87 | 0,3437 | 0,3631 | 0,3629 |
| | | 175 | 92 | 0,3803 | 0,3752 | 0,3798 |
| | | 180 | 82 | 0,3346 | 0,2991 | 0,3405 |
| | | 180 | 87 | 0,4252 | 0,3045 | 0,4227 |
| 180 | 92 | 0,3034 | 0,3365 | 0,3371 | | |
| TFC | 170 | 82 | 0,5091 | 0,5141 | 0,5385 | |

| | | Nhiệt độ vào (độ C) | Nhiệt độ ra (độ C) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|--|--|------------------------|-----------------------|--------|--------|--------|
| | | 170 | 87 | 0,5829 | 0,5407 | 0,5391 |
| | | 170 | 92 | 0,5469 | 0,5501 | 0,5643 |
| | | 175 | 82 | 0,6336 | 0,6332 | 0,6615 |
| | | 175 | 87 | 0,6296 | 0,6325 | 0,6147 |
| | | 175 | 87 | 0,6301 | 0,6257 | 0,6405 |
| | | 175 | 87 | 0,6144 | 0,6283 | 0,6298 |
| | | 175 | 92 | 0,6359 | 0,6302 | 0,6318 |
| | | 180 | 82 | 0,5821 | 0,4254 | 0,4352 |
| | | 180 | 87 | 0,4123 | 0,4217 | 0,422 |
| | | 180 | 92 | 0,4318 | 0,4459 | 0,4322 |

Bảng kết quả đo hoạt độ nước ở các giá trị nhiệt độ khác nhau:

| | | Nhiệt độ vào (độ C) | Nhiệt độ ra (độ C) | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|----------------------------------|-----|------------------------|-----------------------|-------|-------|-------|
| Hoạt độ nước (aw) | | 170 | 82 | 0,245 | 0,251 | 0,234 |
| | | 170 | 87 | 0,195 | 0,214 | 0,267 |
| | | 170 | 92 | 0,172 | 0,211 | 0,183 |
| | | 175 | 82 | 0,196 | 0,187 | 0,201 |
| | | 175 | 87 | 0,188 | 0,212 | 0,195 |
| | | 175 | 87 | 0,221 | 0,193 | 0,215 |
| | | 175 | 87 | 0,203 | 0,218 | 0,179 |
| | | 175 | 92 | 0,202 | 0,197 | 0,184 |
| | | 180 | 82 | 0,223 | 0,214 | 0,232 |
| | | 180 | 87 | 0,156 | 0,187 | 0,177 |
| | 180 | 92 | 0,135 | 0,114 | 0,126 | |

Hỗn hợp dịch vi bao trước khi sấy tối ưu

Bảng đo ẩm và thể tích mẫu hỗn hợp dịch trước khi sấy tối ưu:

| | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|---------------|-------|-------|-------|
| Ẩm (%) | 77,9 | 78,3 | 78,2 |
| | | | |
| | | | |
| Thể tích (mL) | 48,2 | 47,9 | 48,3 |
| | | | |
| | | | |

Bảng kết quả đo mật độ quang hỗn hợp dịch trước khi sấy tối ưu:

| | | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|-----------------|-----|---------|---------|---------|
| MẬT ĐỘ QUANG | TPC | 0,67957 | 0,67869 | 0,68012 |
| | | | | |
| | | | | |
| | TSC | 0,39543 | 0,3404 | 0,3391 |
| | | | | |
| | | | | |
| | TFC | 0,49175 | 0,4914 | 0,48772 |
| | | | | |
| | | | | |

Phụ lục 14.6. Bảo quản

Các giá trị đo được tại 40°C

| 40°C | | | | | |
|-----------------|------|--------|------|------|-------|
| Thời gian (giờ) | MC | aw | TPC | TFC | TSC |
| 0 | 5,51 | 0,2055 | 2,04 | 8,53 | 28,44 |
| 21 | 5,82 | 0,22 | 1,95 | 7,83 | 27,80 |
| 96 | 5,72 | 0,25 | 1,92 | 7,44 | 26,00 |
| 312 | 5,39 | 0,25 | 1,91 | 7,36 | 25,90 |
| 624 | 5,23 | 0,26 | 1,85 | 7,16 | 24,10 |

Các giá trị đo được tại 50°C

| 50°C | | | | | |
|-----------------|------|-------------|------|------|-------|
| Thời gian (giờ) | MC | aw | TPC | TFC | TSC |
| 0 | 5,51 | 0,214666667 | 1,96 | 8,39 | 27,45 |
| 21 | 5,91 | 0,223333333 | 1,94 | 7,83 | 25,48 |
| 96 | 5,80 | 0,234333333 | 1,92 | 7,56 | 24,50 |
| 312 | 5,31 | 0,23 | 1,88 | 7,38 | 23,20 |
| 624 | 5,58 | 0,25 | 1,77 | 6,86 | 20,29 |

Phụ lục 14.7. Đường cong hấp thu

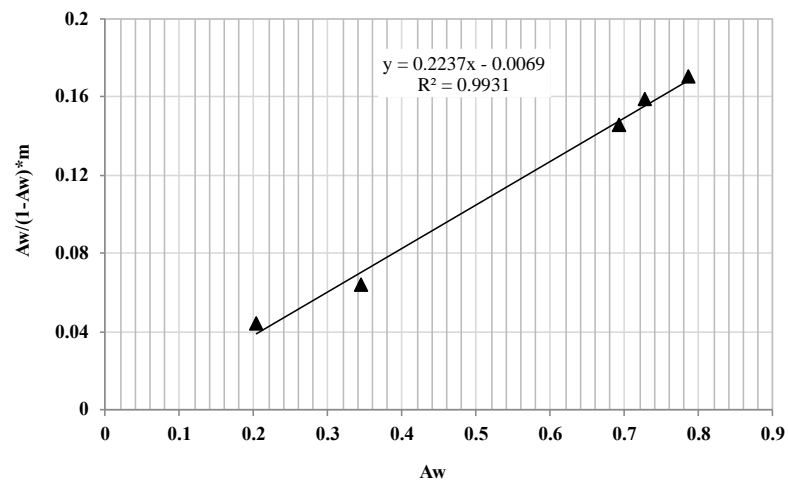
| Hệ số a | Hệ số b |
|---------|---------|
| 0,006 | 0,0144 |

| | 10 | 23 | 57 | 76 | 87 |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| TPC | 1,87 | 2,17 | 2,09 | 2,24 | 2,09 |
| SD (TPC) | 0,060794 | 0,021615 | 0,038202 | 0,04848 | 0,0055 |
| Độ ẩm | 5,81 | 8,32 | 15,50 | 16,86 | 21,47 |
| SD (Độ ẩm) | 0,21166 | 0,117189 | 0,168028 | 0,095394 | 0,215484 |

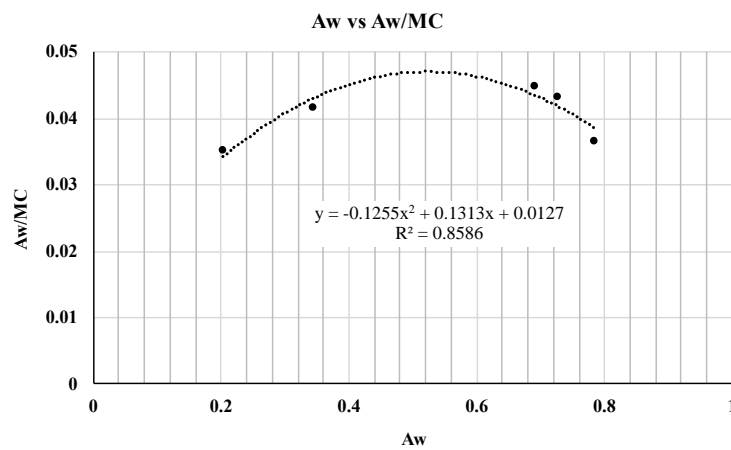
| | 10 | 23 | 57 | 76 | 87 |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| TFC | 4,735313 | 5,572539 | 5,917825 | 7,005746 | 8,069455 |
| SD (TFC) | 0,045561 | 0,147115 | 0,356041 | 0,28548 | 0,308952 |
| Moisture (%) | 5,81 | 8,316667 | 15,50333 | 16,86 | 21,47333 |
| SD (Độ ẩm) | 0,21166 | 0,117189 | 0,168028 | 0,095394 | 0,215484 |

| | 10 | 23 | 57 | 76 | 87 |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| TSC | 26,34697 | 25,69833 | 24,59075 | 27,22428 | 25,16524 |
| SD (TSC) | 0,699386 | 0,284768 | 0,198772 | 0,730019 | 0,783542 |
| Độ ẩm | 5,81 | 8,316667 | 15,50333 | 16,86 | 21,47333 |
| SD (Độ ẩm) | 0,21166 | 0,117189 | 0,168028 | 0,095394 | 0,215484 |

| Hệ số a | Hệ số b | | | | |
|-------------------------|----------|------|----------|-------|-------|
| 0,0219 | 10 | 23 | 57 | 76 | 87 |
| Saponin | 1,7 | 1,98 | 2,13 | 1,78 | 1,63 |
| Moisture content | 3,836667 | 6,41 | 9,163333 | 11,32 | 16,67 |



Mô hình BET (A) của bột vi bao nhàu



Mô hình GAB (B) của bột vi bao nhàu

Phụ lục 15: Công thức tính toán

Phụ lục 15.1: Hàm lượng TPC, TFC và TSC

$$\text{Hàm lượng} = \frac{P.V.D}{m.(100\%-W).1000} \text{ (mg/g vck)}$$

Trong đó:

P: Hàm lượng tính từ phương trình đường chuẩn ($\mu\text{g/mL}$).

V: Thể tích dịch trích thu được sau lọc (mL).

D: Hệ số pha loãng.

m: khối lượng mẫu ban đầu (g).

W: Độ ẩm bột (%).

Phụ lục 15.2 Hàm lượng vitamin C

$$\text{Hàm lượng} = \frac{0,1.V2.V}{V1.1.m.(100\%-W)} \text{ (mg/g vck)}$$

Trong đó:

0,1: Hàm lượng dung dịch vitamin C chuẩn (mg/mL).

V1: Thể tích thuốc thử chuẩn độ 1mL vitamin C 0,1mg/mL.

V2: Thể tích thuốc thử chuẩn độ 1mL mẫu (mL).

V: Thể tích dịch trích thu được sau lọc (mL).

m: Khối lượng mẫu ban đầu (g).

W: Độ ẩm bột (%)