

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

NGUYỄN THỊ THANH THẢO

THU HỒI CÁC HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC
TỪ PHỤ PHẨM NHO VÀ ỨNG DỤNG LÀM
CHẤT BẢO QUẢN TỰ NHIÊN

Chuyên ngành: Công Nghệ Thực Phẩm

Mã số : 9.54.01.01

LUẬN ÁN TIẾN SĨ CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

TP. HỒ CHÍ MINH - 2026

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

NGUYỄN THỊ THANH THẢO

THU HỒI CÁC HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC
TỪ PHỤ PHẨM NHO VÀ ỨNG DỤNG LÀM
CHẤT BẢO QUẢN TỰ NHIÊN

Chuyên ngành: Công Nghệ Thực Phẩm

Mã số : 9.54.01.01

LUẬN ÁN TIẾN SĨ CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

NGƯỜI HƯỚNG DẪN: PGS.TS. KHA CHẤN TUYỀN
TS. NGUYỄN BẢO VIỆT

TP. HỒ CHÍ MINH - 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi.

Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

TP. Hồ Chí Minh, ngày 14 tháng 05 năm 2026
Tác giả luận án

Nguyễn Thị Thanh Thảo

LỜI CẢM ƠN

Trước hết, tôi xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi được theo học chương trình tiến sĩ trong nước.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến PGS.TS. Kha Chấn Tuyên và TS. Nguyễn Bảo Việt, những người thầy đã tận tình hướng dẫn, định hướng và luôn quan tâm, động viên tôi trong suốt quá trình thực hiện và hoàn thành luận án.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn quý thầy cô Khoa Công nghệ Hóa học và Thực phẩm Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, đã luôn hỗ trợ, chia sẻ kiến thức chuyên môn, kinh nghiệm quý báu và những kỹ năng cần thiết giúp tôi hoàn thiện quá trình nghiên cứu.

Bên cạnh đó, tôi xin gửi lời tri ân sâu sắc đến gia đình. Gia đình luôn là nguồn động viên và chỗ dựa tinh thần vững chắc, đã luôn đồng hành, khích lệ tôi vượt qua mọi khó khăn trong suốt thời gian học tập và nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn các anh chị, bạn bè và đồng nghiệp đã quan tâm, chia sẻ, giúp đỡ và đóng góp nhiều ý kiến quý giá trong quá trình học tập, làm việc và hoàn thành luận án này.

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT.....	vi
DANH MỤC BẢNG	viii
DANH MỤC HÌNH	xi
TÓM TẮT	xiv
MỞ ĐẦU	1
Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU	5
1.1 Tổng quan về nho và phụ phẩm nho	5
1.2 Các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho	6
1.3 Phương pháp trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học có hỗ trợ enzyme.....	8
1.4 Phương pháp trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học có hỗ trợ siêu âm.....	11
1.5 Phương pháp trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học bằng dung môi eutectic sâu.....	13
1.6 Tổng quan về vi bao	16
1.6.1 Tổng quan về vi bao bằng phương pháp sấy phun	17
1.6.2 Tổng quan về vi bao bằng phương pháp tạo oleogel	22
1.7 Ứng dụng các hợp chất có hoạt tính sinh học như chất bảo quản tự nhiên	24
1.8 Tổng quan về tối ưu hóa trong công nghiệp thực phẩm	26
Chương 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	29
2.1 Nguyên vật liệu	29
2.1.1 Phụ phẩm nho	29
2.1.2 Hóa chất, enzyme, phụ gia, phụ liệu.....	29
2.1.3 Thiết bị và dụng cụ	30
2.2 Phương pháp nghiên cứu.....	31
2.2.1 Nội dung 1: Phân tích thành phần hóa học, các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho	33

2.2.2 Nội dung 2: Tối ưu hóa quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho	34
2.2.3 Nội dung 3: Vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho	41
2.2.4 Nội dung 4: Đánh giá khả năng ứng dụng bột sấy phun và oleogel tối ưu trong sản phẩm xúc xích thanh trùng.....	46
2.3 Phương pháp phân tích và xử lý số liệu	48
2.3.1 Phương pháp phân tích	48
2.3.2 Phương pháp thu thập số liệu và xử lý thống kê	51
Chương 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	52
3.1 Nội dung 1: Thành phần hóa học và các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho	52
3.1.1 Thành phần hóa học của phụ phẩm nho	52
3.1.2 Kết quả định tính và định lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho.....	53
3.2 Nội dung 2: Tối ưu hóa điều kiện trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho	57
3.2.1 Tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng phương pháp kết hợp siêu âm và enzyme	57
3.2.2 Tối ưu hóa điều kiện trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng DES	67
3.2.3 Quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng các phương pháp khác nhau.....	96
3.3 Nội dung 3: Tối ưu hóa quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly từ phụ phẩm nho	101
3.3.1 Quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly từ dung môi DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid bằng sấy phun	101
3.3.2 Quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly từ dung môi DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid bằng oleogel	116
3.4 Nội dung 4: Khả năng ứng dụng của bột sấy phun và oleogel từ dịch trích ly phụ phẩm nho vào sản phẩm xúc xích thanh trùng.....	123

3.4.1 Sự thay đổi của xúc xích thanh trùng bổ sung bột sắn phun trong quá trình bảo quản.....	123
3.4.2 Sự thay đổi của xúc xích thanh trùng bổ sung oleogel trong quá trình bảo quản.....	131
Chương 4 KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	138
4.1 Kết luận	138
4.2 Kiến nghị	139
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	140
PHỤ LỤC	151

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
ABTS	2,2-azinobis [acid 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic]	
AE	Aescin equivalent	Đương lượng aescin
BW	Beeswax	Sáp ong
CCD	Central composite design	Thiết kế phối hợp có tâm
CE	Catechin equivalent	Đương lượng catechin
ChCl-1,4 But	Choline chloride: 1,4-butanediol	
ChCl-CA	Choline chloride: citric acid	
ChCl-EG	Choline chloride: ethylene glycol	
ChCl-LA	Choline chloride: lactic acid	
ChCl-MA	Choline chloride: malic acid	
ChCl-Gly	Choline chloride: glycerol	
ChCl-Gly-CA	Choline chloride: glycerol: citric acid	
ChCl-Gly-LA	Choline chloride: glycerol: lactic acid	
ChCl-Gly-MA	Choline chloride: glycerol: malic acid	
DES	Deep eutectic solvent	Dung môi eutectic sâu
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl	
DSC	Differential scanning calorimetry	Nhiệt lượng quét vi sai
DW	Dry weight	Vật chất khô
EAE	Enzyme – assisted extraction	Trích ly có hỗ trợ enzyme
EMC	Equilibrium moisture content	Độ ẩm cân bằng
ERH	Equilibrium relative humidity	Độ ẩm tương đối môi trường
E-UAE	Combined enzyme – ultrasound – assisted extraction	Trích ly có hỗ trợ kết hợp enzyme – siêu âm
F90	Finamul 90	Chất nhũ hóa Finamul 90
FTIR	Fourier transform infrared Spectroscopy	Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier
GA	Arabic gum	Gôm Arabic
GAE	Gallic acid equivalent	Đương lượng gallic acid
GMS	Glycerol monostearate	
HBA	Hydrogen bond acceptor	Chất nhận liên kết hydro

Từ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
HBD	Hydrogen bond donor	Chất cho liên kết hydro
HPLC	High performance liquid chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
LC–MS/MS	Liquid chromatography-Mass spectrometry/ Mass spectrometry	Sắc ký lỏng khối phổ hai lần
MD	Maltodextrin	
MIC	Minimum inhibitory concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MS	Modified starch	Tinh bột biến tính
PAC	Proanthocyanidin content	Hàm lượng proanthocyanidin
RSM	Response surface methodology	Bề mặt đáp ứng
SEM	Scanning electron microscope	Kính hiển vi điện tử quét
SPI	Soy protein isolate	Protein đậu nành isolate
TPC	Total phenolic content	Hàm lượng phenolic tổng
TSC	Total saponin content	Hàm lượng saponin tổng
UAE	Ultrasound – assisted extraction	Trích ly có hỗ trợ siêu âm
U-EAE	Combined ultrasound – enzyme – assisted extraction	Trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm – enzyme
WPI	Whey protein isolate	
w/w	Weight/weight	Khối lượng/khối lượng
w/v	Weight/volume	Khối lượng/thể tích
v/w	Volume/weight	Thể tích/ khối lượng
XRD	X-ray diffraction analysis	Phân tích nhiễu xạ tia X

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Danh sách máy và thiết bị sử dụng trong nghiên cứu	31
Bảng 2.2. Các phép thử hóa thực vật để định tính các nhóm chất trong phụ phẩm nho	33
Bảng 2.3. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu	48
Bảng 3.1. Thành phần hóa học của bột phụ phẩm nho	52
Bảng 3.2. Kết quả định tính các nhóm hóa thực vật trong bột phụ phẩm nho.....	53
Bảng 3.3. Kết quả định danh các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột phụ phẩm nho bằng LC-MS/MS	54
Bảng 3.4. Hàm lượng tổng các hợp chất có hoạt tính sinh học của bột phụ phẩm nho.....	56
Bảng 3.5. Hàm lượng các hợp chất phenolic đơn lẻ thu hồi được bằng các phương pháp trích ly.....	60
Bảng 3.6. Mức độ mã hóa của các biến độc lập cho thiết kế CCD trong trích ly bằng siêu âm – enzyme.....	61
Bảng 3.7. Ma trận yếu tố mã hóa trong trích ly bằng siêu âm – enzyme.....	61
Bảng 3.8. Hệ số và giá trị P của các yếu tố trong trích ly bằng siêu âm – enzyme.....	62
Bảng 3.9. Kết quả thẩm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế trong phương pháp trích ly kết hợp siêu âm – enzyme.....	66
Bảng 3.10. Độ nhớt của các loại DES khác nhau	69
Bảng 3.11. Mức độ mã hóa của các biến độc lập cho thiết kế CCD trong trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid	70
Bảng 3.12. Ma trận yếu tố mã hóa trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid.....	71
Bảng 3.13. Hệ số và giá trị P của các yếu tố trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid	72
Bảng 3.14. Kết quả thẩm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid	78
Bảng 3.15. Hàm lượng một số hợp chất phenolic đơn lẻ trong dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid.....	80

Bảng 3.16. Đường kính vòng kháng khuẩn của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid	82
Bảng 3.17. Nồng độ ức chế tối thiểu của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid	83
Bảng 3.18. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid	85
Bảng 3.19. Mức độ mã hóa của các biến độc lập cho thiết kế CCD trong tối ưu hóa trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid	87
Bảng 3.20. Ma trận yếu tố mã hóa trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid	87
Bảng 3.21. Hệ số và giá trị P của các yếu tố trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid	88
Bảng 3.22. Kết quả thăm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid.....	91
Bảng 3.23. Định lượng các hợp chất phenolic đơn lẻ trong dịch trích DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid	92
Bảng 3.24. Đường kính vòng kháng khuẩn của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid	93
Bảng 3.25. Nồng độ ức chế tối thiểu của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid	95
Bảng 3.26. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid	96
Bảng 3.27. Mức độ mã hóa của các biến độc lập cho thiết kế CCD trong tối ưu hóa quy trình vi bao bằng sấy phun.....	103
Bảng 3.28. Ma trận yếu tố mã hóa trong tối ưu hóa quy trình vi bao bằng sấy phun.	103
Bảng 3.29. Hệ số và giá trị P của các yếu tố trong tối ưu hóa quy trình sấy phun	104
Bảng 3.30. Kết quả thăm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế đối với hiệu suất thu hồi các hợp chất.....	109
Bảng 3.31. Kết quả thăm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế đối với hiệu quả vi bao các hợp chất	109

Bảng 3.32. Hàm lượng ẩm, hoạt độ nước và độ hòa tan của bột sấy phun ở điều kiện vi bao tối ưu	110
Bảng 3.33. Phân bố kích thước hạt bột sấy phun ở điều kiện tối ưu	111
Bảng 3.34. Thông số của mô hình BET và GAB cho bột sấy phun tối ưu	113
Bảng 3.35. Đường kính vòng kháng khuẩn và MIC của bột sấy phun tối ưu	113
Bảng 3.36. Hoạt tính kháng oxy hóa của bột sấy phun tối ưu	114
Bảng 3.37. Mức độ mã hóa của các biến độc lập cho thiết kế CCD trong tối ưu hóa quy trình tạo oleogel	117
Bảng 3.38. Ma trận yếu tố mã hóa trong tối ưu hóa quy trình tạo oleogel	118
Bảng 3.39. Hệ số và giá trị P của các yếu tố trong tối ưu hóa quy trình tạo oleogel..	118
Bảng 3.40. Kết quả thăm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế đối với hiệu suất thu hồi TPC và khả năng liên kết dầu của oleogel tối ưu	120
Bảng 3.41. Đường kính vòng kháng khuẩn và nồng độ ức chế tối thiểu của oleogel tối ưu	121
Bảng 3.42. Hoạt tính kháng oxy hóa của oleogel tối ưu.....	121
Bảng 3.43. Thay đổi màu sắc của xúc xích bổ sung bột sấy phun, bột sơ ri và nisin theo thời gian bảo quản	127
Bảng 3.44. Thay đổi màu sắc của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản	134

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Chuẩn bị DES từ choline chloride và urea	13
Hình 1.2. Cơ chế đơn giản hóa của quá trình hòa tan hợp chất phenolic trong DES tạo thành từ choline chloride	14
Hình 1.3. Hình thái của các loại hạt vi bao.....	16
Hình 1.4. Sơ đồ quá trình vi bao bằng sấy phun.....	21
Hình 1.5. Quy trình chuẩn bị oleogel.....	22
Hình 2.1. Các nội dung nghiên cứu của luận án.....	32
Hình 2.2. Quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng các phương pháp khác nhau	34
Hình 2.3. Quy trình vi bao dịch trích ly bằng sấy phun.....	41
Hình 2.4. Quy trình vi bao dịch trích ly bằng oleogel	45
Hình 2.5. Quy trình ứng dụng bột sấy phun và oleogel trong sản phẩm xúc xích	47
Hình 3.1. Hiệu quả trích ly TPC, TSC và PAC bằng các phương pháp khác nhau	59
Hình 3.2. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC, và (C) PAC chịu ảnh hưởng của nhiệt độ và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu trong phương pháp U-EAE	63
Hình 3.3. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC, và (C) PAC chịu ảnh hưởng của thời gian và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu trong phương pháp U-EAE	64
Hình 3.4. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC, và (C) PAC chịu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly trong phương pháp U-EAE	65
Hình 3.5. Mô hình dự đoán TPC, TSC và PAC thu hồi được trong điều kiện trích ly tối ưu bằng phương pháp trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm – enzyme	66
Hình 3.6. Ảnh hưởng của loại DES đến hiệu quả trích ly.....	67
Hình 3.7. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC và (C) PAC chịu ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu và nhiệt độ trong trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid	74

Hình 3.8. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC và (C) PAC chịu ảnh hưởng của thời gian trích ly và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu trong trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid.....	75
Hình 3.9. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC và (C) PAC chịu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid.....	76
Hình 3.10. Mô hình dự đoán TPC, TSC và PAC thu hồi được và điều kiện trích ly tối ưu của phương pháp trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid ...	77
Hình 3.11. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC và (B) TSC chịu ảnh hưởng của các yếu tố trong trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid.....	90
Hình 3.12. Mô hình dự đoán TPC, TSC thu hồi được và điều kiện tối ưu của phương pháp trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid.....	91
Hình 3.13. Các quy trình trích ly tối ưu các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho	97
Hình 3.14. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của hiệu suất thu hồi (A) TPC, (B) TSC và (C) PAC chịu ảnh hưởng của các yếu tố trong quá trình sấy phun.....	106
Hình 3.15. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của hiệu quả vi bao (A) TPC, (B) TSC và (C) PAC chịu ảnh hưởng của các yếu tố trong quá trình sấy phun.....	107
Hình 3.16. Mô hình dự đoán hiệu suất thu hồi, hiệu quả vi bao và điều kiện tối ưu của phương pháp vi bao bằng sấy phun	108
Hình 3.17. Phân bố kích thước hạt bột sấy phun ở điều kiện tối ưu.....	111
Hình 3.18. Hình SEM hạt bột sấy phun ở điều kiện tối ưu	111
Hình 3.19. Ảnh hưởng của ERH môi trường đến độ ẩm cân bằng của bột sấy phun	112
Hình 3.20. Quy trình vi bao tối ưu các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng sấy phun	115
Hình 3.21. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) hiệu suất thu hồi TPC và (B) khả năng liên kết dầu của oleogel chịu ảnh hưởng của các yếu tố.....	119
Hình 3.22. Mô hình dự đoán hiệu suất thu hồi TPC, khả năng liên kết dầu và điều kiện tối ưu của phương pháp vi bao bằng oleogel.....	120

Hình 3.23. Quy trình vi bao tối ưu các hợp chất phenolic trong dịch trích ly từ phụ phẩm nho bằng oleogel.....	122
Hình 3.24. Thay đổi hàm lượng ẩm của xúc xích bổ sung bột sắn phun, bột sơ ri và nisin theo thời gian bảo quản	123
Hình 3.25. Thay đổi pH của xúc xích bổ sung bột sắn phun, bột sơ ri và nisin theo thời gian bảo quản.....	124
Hình 3.26. Thay đổi tổng số vi sinh vật hiếu khí của xúc xích bổ sung bột sắn phun, bột sơ ri và nisin theo thời gian bảo quản.....	125
Hình 3.27. Thay đổi kết cấu xúc xích bổ sung bột sắn phun, bột sơ ri và nisin theo thời gian bảo quản.....	130
Hình 3.28. Thay đổi hàm lượng ẩm của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản	131
Hình 3.29. Thay đổi pH của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản.....	132
Hình 3.30. Thay đổi tổng vi sinh vật hiếu khí của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản.....	133
Hình 3.31. Thay đổi kết cấu của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản .	136

TÓM TẮT

Phụ phẩm nho là nguồn chất chống oxy hóa và chất kháng khuẩn có giá trị cao như hợp chất phenolic, saponin, proanthocyanidin. Việc thu hồi và sử dụng các hợp chất này sẽ mang lại hiệu quả kinh tế và tính bền vững trong ngành công nghiệp rượu vang và nước ép nho. Luận án này được thực hiện với mục tiêu là (i) Phân tích được thành phần hóa học, các hợp chất hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho, (ii) Tối ưu hóa được điều kiện trích ly các hợp chất phenolic và saponin bằng các phương pháp tiên tiến khác nhau, (iii) Xác định được các thông số tối ưu cho quy trình vi bao các hợp chất mục tiêu bằng sấy phun và oleogel và (iv) Bước đầu đánh giá được khả năng ứng dụng bột sấy phun và oleogel tối ưu trong sản phẩm xúc xích thanh trùng.

Luận án đã xác định được thành phần hóa học, định tính hóa thực vật các nhóm chất, định danh được 33 hợp chất phenolic và saponin đơn lẻ trong phụ phẩm nho *Red Cardinal*.

Luận án đã tối ưu hóa được ba quy trình trích ly, trong đó phương pháp trích ly bằng hai loại dung môi eutectic sâu (DES – Deep eutectic solvent) từ choline chloride: lactic acid và choline chloride: glycerol: citric acid có hiệu quả cao hơn trong thu hồi hàm lượng phenolic, saponin và proanthocyanidin so với phương pháp trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm và enzyme (U-EAE – combined ultrasound-enzyme-assisted extraction). Điều kiện trích ly tối ưu sử dụng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid (1:2 w/w, tỷ lệ nước bổ sung 20%) là: tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 25:1 (v/w), nhiệt độ trích ly 70°C trong 118 phút. Điều kiện trích ly tối ưu sử dụng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid (1:1:1, w/w; tỷ lệ nước bổ sung 25%) bao gồm tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 23,6:1 (v/w), nhiệt độ và thời gian trích ly là 69°C trong 142 phút. Dịch trích ly bằng hai loại DES cho thấy hàm lượng phenolic và saponin cùng với khả năng kháng khuẩn và kháng oxy hóa cao.

Dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid được vi bao bằng sấy phun với điều kiện tối ưu là: tỷ lệ maltodextrin: gum arabic là 2:1 (w/w), tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:4 (w/w), chế độ đồng hóa ở tốc độ 10.800 vòng/phút trong 10 phút, nhiệt độ không khí sấy đầu vào 162°C và tốc độ dòng nhập liệu 32 mL/phút. Ở điều kiện tối ưu, hiệu suất thu hồi đạt trên 83%, hiệu quả vi bao đạt trên 94%. Bột vi bao tối ưu thể

hiện các đặc tính nhiệt – lý hóa thuận lợi. Dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid được vi bao bằng oleogel với điều kiện tối ưu là: tỷ lệ sáp ong: chất nhũ hóa Finamul 90 là 1,7:1 (w/w), hàm lượng chất tạo gel dầu là 14,3%. Khả năng liên kết dầu và hiệu suất thu hồi hợp chất của oleogel tối ưu đạt trên 90%.

Luận án đã đánh giá tiềm năng ứng dụng của bột sấy phun và oleogel trong sản phẩm xúc xích thanh trùng. Kết quả cho thấy việc bổ sung bột sấy phun (0,2 – 0,4%) và oleogel (0,4 – 0,8%) có thể giúp duy trì hàm lượng ẩm và kết cấu, hạn chế sự phát triển tổng vi sinh vật hiếu khí và đảm bảo pH phù hợp cho sản phẩm xúc xích thanh trùng sau 12 ngày bảo quản.

Các kết quả thu được cho thấy phụ phẩm nho *Red Cardinal* có tiềm năng rõ rệt như một nguồn nguyên liệu giàu hợp chất phenolic và saponin và có khả năng phát triển thành các dạng sản phẩm chức năng phục vụ mục tiêu định hướng bảo quản tự nhiên trong công nghiệp thực phẩm.

Từ khóa: Hợp chất có hoạt tính sinh học, phụ phẩm nho, *Red Cardinal*, trích ly, vi bao, xúc xích.

ABSTRACT

Grape by-products represent a valuable source of antioxidants and antimicrobial compounds, including phenolics, saponins, and proanthocyanidins. The recovery and utilization of these compounds offer economic benefits and contribute to sustainability in the wine and grape juice industries. This study aimed to (i) determine the proximate composition and bioactive compound profile of *Red Cardinal* grape by-products, (ii) optimize extraction conditions for bioactive compounds using different advanced techniques, (iii) determine the optimal parameters for microencapsulation using spray drying and oleogel systems, and (iv) preliminarily evaluate the application potential of the optimized spray-dried powder and oleogel in sausages.

This thesis determined the proximate composition and phytochemical profile, identifying 33 individual phenolic and saponin compounds present in *Red Cardinal* grape by-products.

Three extraction processes were optimized. Among these, extraction using deep eutectic solvents (DES), including choline chloride: lactic acid and choline chloride: glycerol: citric acid, exhibited higher efficiency in recovering phenolics, saponins, and proanthocyanidins compared with combined ultrasound-enzyme-assisted extraction (U-EAE). The optimum extraction conditions using DES composed of choline chloride and lactic acid (1:2 w/w, 20% added water) were a solvent-to-material ratio of 25:1 (v/w), an extraction temperature of 70°C, and an extraction time of 118 min. For the choline chloride: glycerol: citric acid-based deep eutectic solvent (1:1:1, w/w; 25% added water), the optimal conditions were a solvent-to-material ratio of 23.6:1 (v/w), an extraction temperature of 69°C, and an extraction time of 142 min. The resulting extracts exhibited strong antioxidant and antimicrobial activities.

The extract obtained from DES composed of choline chloride and lactic acid was microencapsulated by spray drying under optimal conditions: maltodextrin-to-gum arabic ratio of 2:1 (w/w), a core-to-wall material ratio of 1:4 (w/w), a homogenization at 10,800 rpm for 10 min, an inlet air temperature of 162°C, and a feed flow rate of 32 mL/min. Under these conditions, the recovery yield exceeded 83%, and encapsulation efficiency was higher than 94%. The optimized spray-dried powder exhibited favorable

thermal and physicochemical properties. Meanwhile, the extract obtained using choline chloride: glycerol: citric acid-based DES was encapsulated in an oleogel system under optimal conditions: beeswax-to-F90 (emulsifier Finamul 90) ratio of 1.7:1 (w/w) and oleogelator concentration of 14.3%. The oil-binding capacity and compound retention both exceeded 90%.

The application potential of the optimized spray-dried powder and oleogel in sausage products was evaluated. The incorporation of microencapsulated powder (0.2 – 0.4%) and oleogel (0.4 – 0.8%) helped maintain moisture content and texture, inhibited total aerobic microbial growth, and maintained acceptable pH values in sausages after 12 days of storage.

Overall, the findings demonstrate that *Red Cardinal* grape by-products are a rich source of phenolic and saponin compounds and can be valorized into functional products for natural preservation applications in the food industry.

Keywords: Bioactive compounds, extraction, grape by-products, microencapsulation, *Red Cardinal*, sausage.

MỞ ĐẦU

Tính cấp thiết của luận án

Công nghiệp sản xuất rượu vang và nước ép nho tạo ra lượng lớn các phụ phẩm từ nho với khoảng 7 triệu tấn mỗi năm (Bordiga và cộng sự, 2019). Trong sản xuất rượu vang và nước ép nho ở Việt Nam, một lượng lớn phụ phẩm nho (vỏ nho, cành và hạt, chiếm khoảng 15 – 20% tổng khối lượng nho) không được sử dụng dẫn đến các vấn đề môi trường, tổn thất kinh tế, và đặc biệt gây lãng phí nguồn hợp chất sinh học tự nhiên có giá trị cao như flavonoid, phenolic acid, anthocyanin, proanthocyanidin và tannin. Ở các nước phát triển, phụ phẩm nho được sử dụng để sản xuất ethanol, các axit hữu cơ như tartaric acid, malic acid và citric acid. Ở Việt Nam, cụ thể là ở tỉnh Ninh Thuận (nay thuộc tỉnh Khánh Hòa), phụ phẩm nho hiện nay được sử dụng làm phân bón và thức ăn chăn nuôi (cừu, dê).

Đối với việc thu hồi hợp chất sinh học cần kỹ thuật trích ly xanh bền vững và thường đòi hỏi sử dụng các dung môi GRAS (Generally Recognized As Safe – Thường được công nhận là an toàn). Thông thường, các phương pháp trích ly truyền thống các hợp chất phenolic, saponin là trích rắn – lỏng, sử dụng dung môi hữu cơ. Các dung môi này có nhiều nhược điểm như nguy cơ an toàn, chất lượng sản phẩm bị ảnh hưởng do tồn dư dung môi và rủi ro môi trường. DES (Deep eutectic solvent – Dung môi eutectic sâu) là một dung môi xanh tiềm năng xuất hiện trong những năm qua. DES được chứng minh là có thể hòa tan các chất chuyển hóa phân cực như các hợp chất phenolic nhờ vào tương tác liên kết hydro được thiết lập giữa các phân tử DES với các hợp chất này. Việc sử dụng DES còn mang lại những lợi thế về mặt chi phí, đơn giản, ổn định và tính linh hoạt. Bên cạnh mục tiêu sử dụng dung môi an toàn và hiệu quả hơn thì các nghiên cứu gần đây cũng tập trung vào các kỹ thuật trích ly hiện đại. Trong đó, trích ly có hỗ trợ enzyme (EAE – Enzyme assisted extraction) cũng là một hướng nghiên cứu bền vững. Một số enzyme được báo cáo cho thấy khả năng phân hủy vỏ nho một cách hiệu quả như cellulase, pectinase, tannase,... Ngoài ra, phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm (UAE – Ultrasound assisted extraction) cũng được đánh giá cao với hiệu quả về thời gian trích ly, tốn ít năng lượng, hiệu quả trích ly tăng đáng kể nhờ khả năng tăng quá trình khuếch tán dung môi vào bên trong nguyên liệu. Bên cạnh đó, hiện nay các nghiên

cứu so sánh các phương pháp trích ly các hợp chất sinh học từ phụ phẩm nho có hỗ trợ enzyme, có hỗ trợ siêu âm và sử dụng DES vẫn còn hạn chế. Do đó, việc phân tích thành phần, tận dụng phụ phẩm nho để trích ly các hợp chất sinh học bằng các kỹ thuật tiên tiến là một hướng phát triển bền vững của hệ thống sản xuất rượu vang và nước ép nho.

Một thách thức lớn khi ứng dụng dịch trích ly thực vật trong thực phẩm là nhiều hợp chất phenolic và saponin có tính ổn định thấp và nhạy cảm với các tác nhân môi trường như oxy, ánh sáng, nhiệt độ trong quá trình bảo quản, làm suy giảm hoạt tính và hiệu quả sử dụng. Để khắc phục, công nghệ vi bao được áp dụng do kỹ thuật đơn giản, dễ mở rộng quy mô và hiệu quả bảo vệ cao. Việc vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học được trích ly từ phụ phẩm nho là một chiến lược đầy hứa hẹn để khắc phục tính không ổn định vốn có của chúng và tăng cường khả năng ứng dụng của chúng trong các sản phẩm chức năng. Hiện nay, có nhiều phương pháp vi bao khác nhau như sấy phun, sấy thăng hoa, oleogel, giọt tụ,... Trong đó, vi bao thông qua sấy phun được sử dụng rộng rãi để tăng cường độ ổn định, khả dụng sinh học và giải phóng một cách có kiểm soát các hợp chất mục tiêu (López-Astorga và cộng sự, 2025). Ngoài ra, sấy phun còn có những ưu điểm như sấy nhanh và khả năng mở rộng quy mô. Nhiều nghiên cứu gần đây, đã có những tiến bộ đáng kể trong việc lựa chọn vật liệu vỏ bao (Carra và cộng sự, 2022), tối ưu hóa quy trình (Le và cộng sự, 2025) và hiểu biết về các cơ chế giải phóng góp phần tăng cường độ ổn định và chức năng (López-Astorga và cộng sự, 2025). Bên cạnh sấy phun, vi bao bằng oleogel cũng là một phương pháp được nghiên cứu nhiều trong thời gian gần đây do có nhiều ưu điểm. Đã có một số nghiên cứu kết hợp dịch trích ly hợp chất có hoạt tính sinh học vào oleogel và các hệ này được gọi là oleogel hoạt tính sinh học (Ferdaus và cộng sự, 2025). Các hệ thống như vậy có thể tạo điều kiện thuận lợi cho việc vi bao các hoạt chất sinh học ưa nước cũng như ưa dầu, cho phép mở rộng ứng dụng chức năng như chất bảo quản tự nhiên hoặc thay thế chất béo trong thực phẩm.

Đáng chú ý, hiện nay ứng dụng sấy phun và oleogel để vi bao dịch trích từ phụ phẩm nho với DES vẫn còn hạn chế. Các đặc tính lý hóa riêng biệt của DES, chẳng hạn như độ nhớt cao hơn, độ bay hơi thấp hơn và độ pH thay đổi so với dung môi thông thường, đòi hỏi một phương pháp tiếp cận phù hợp để sấy phun hoặc oleogel hóa. Các thông số chính ảnh hưởng đến thành công của quá trình vi bao bao gồm loại và tỷ lệ giữa các loại vỏ bao, tỷ lệ lõi: vỏ bao, chế độ đông hóa, nhiệt độ không khí sấy đầu vào

và tốc độ dòng nhập liệu (Jafari và cộng sự, 2023). Các vật liệu vỏ bao phổ biến như maltodextrin (MD), gum arabic (GA), tinh bột biến tính (MS), protein đậu nành isolate (SPI) và whey protein isolate (WPI) thường được sử dụng để tạo thành ma trận bảo vệ xung quanh các hoạt chất sinh học có nguồn gốc từ thực vật. Sự kết hợp của các vật liệu này thường giúp hiệu quả vi bao cao hơn, khiến tỷ lệ giữa các thành phần vỏ bao trở thành một yếu tố quan trọng. Ngoài ra, nhiệt độ không khí đầu vào trong khoảng từ 100 đến 180°C thường được sử dụng để phù hợp với các hợp chất nhạy nhiệt trong quá trình sấy phun (Jafari và cộng sự, 2023). Tỷ lệ lõi: vỏ bao cũng phải được xác định để đảm bảo bao phủ hoàn toàn vật liệu lõi, giảm thiểu thất thoát hợp chất và giảm tác động đến môi trường. Trong khi đó, đối với vi bao bằng oleogel, các yếu tố như tỷ lệ giữa các thành phần trong công thức oleogel, tỷ lệ chất tạo gel dầu, nhiệt độ làm mát là những yếu tố quan trọng, được khảo sát chủ yếu trong các nghiên cứu về oleogel để vi bao các hợp chất hoạt tính. Do đó, việc khảo sát các yếu tố chính ảnh hưởng có ý nghĩa đến quá trình vi bao bằng sấy phun và oleogel dịch trích ly DES từ phụ phẩm nho *Red Cardinal* là cần thiết để thu được bột vi bao và oleogel có hàm lượng phenolic và saponin cao, đặc tính hóa lý thuận lợi cho ứng dụng.

Theo Grand View Research (2024), thị trường chất bảo quản tự nhiên toàn cầu được định giá ở mức 878,2 triệu đô la Mỹ vào năm 2023. Tốc độ tăng trưởng kép hàng năm dự kiến sẽ tăng lên 6,9% từ năm 2024 đến năm 2030. Nhu cầu của người tiêu dùng đối với các chất bảo quản tự nhiên ngày càng tăng do ý thức về sức khỏe ngày càng cao, nhu cầu về thực phẩm nhãn sạch (clean label). Đối với các nền sản phẩm động vật như xúc xích, thịt viên và chả, chúng chứa lượng đáng kể nước, chất béo và protein nên dễ bị oxy hóa và hư hỏng do vi sinh vật. Bột sấy phun và oleogel các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho có tiềm năng ứng dụng như chất bảo quản tự nhiên trong công nghiệp thực phẩm. Tuy nhiên, lựa chọn tỷ lệ bổ sung bột vi bao hoặc oleogel phù hợp là điều quan trọng và cần quan tâm đến những thay đổi về pH, màu sắc, kết cấu bên cạnh các ảnh hưởng về kháng khuẩn và kháng oxy hóa.

Từ những vấn đề trên cho thấy việc tận dụng phụ phẩm nho để trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học bằng các kỹ thuật tiên tiến, vi bao các hợp chất này, cũng như đánh giá tiềm năng ứng dụng của chúng như chất bảo quản tự nhiên để kéo dài thời hạn bảo quản của sản phẩm thực phẩm là cần thiết.

Mục tiêu luận án

Mục tiêu chung: Luận án nhằm thu hồi được các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng các phương pháp trích ly tiên tiến và đánh giá tiềm năng ứng dụng các hợp chất này như chất bảo quản tự nhiên trong sản phẩm xúc xích thanh trùng.

Mục tiêu cụ thể:

- (1) Phân tích được thành phần hóa học, xác định được các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho.
- (2) Tối ưu hóa được điều kiện trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng trích ly có hỗ trợ siêu âm, trích ly có hỗ trợ enzyme, trích ly kết hợp siêu âm – enzyme và trích ly bằng hai loại DES khác nhau.
- (3) Xác định được các thông số tối ưu cho quy trình vi bao các hợp chất phenolic và saponin từ phụ phẩm nho bằng sấy phun và oleogel.
- (4) Đánh giá được tiềm năng ứng dụng bột sấy phun và oleogel tối ưu trong sản phẩm xúc xích thanh trùng thông qua một số chỉ tiêu chất lượng (hàm lượng ẩm, pH, màu sắc, kết cấu và vi sinh).

Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn

Ý nghĩa khoa học: Kết quả luận án cung cấp cơ sở khoa học về (i) tối ưu hoá quy trình thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng DES, và các kỹ thuật hỗ trợ (enzyme, siêu âm, kết hợp siêu âm và enzyme), đồng thời (ii) tối ưu quy trình vi bao bằng phương pháp sấy phun và oleogel nhằm cải thiện độ ổn định và khả năng ứng dụng các hợp chất hoạt tính. Các kết quả nghiên cứu sẽ là nền tảng khoa học tham khảo cho các nghiên cứu tiếp theo về khai thác các hợp chất phenolic, saponin từ các nguồn phụ phẩm phong phú khác của Việt Nam theo hướng công nghệ xanh.

Ý nghĩa thực tiễn: Nghiên cứu hướng đến việc thu hồi và định hướng ứng dụng các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho trong thực phẩm, góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường từ phụ phẩm nông nghiệp, đồng thời nâng cao giá trị sử dụng phụ phẩm nho tại các cơ sở, doanh nghiệp chế biến rượu vang và nước ép nho theo định hướng bền vững và tuần hoàn. Qua đó góp phần gia tăng giá trị kinh tế của quả nho và chuỗi sản xuất nho tại Việt Nam.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1 Tổng quan về nho và phụ phẩm nho

Họ thực vật Vitaceae bao gồm rất nhiều loài được phân nhóm thành 12 chi như *Vitis*, *Ampelocissus*, *Clematicissus*, *Parthenocissus* (Virginia creeper), *Ampelopsis*, và *Cissus* (kangaroo vine),... Chi *Vitis* bao gồm hai phân chi là *Vitis* và *Muscadinia* (Creasy và Creasy, 2018). *Vitis vinifera* là loài được sử dụng thông dụng trong ngành công nghiệp rượu vang toàn cầu. Có hai dạng nho được phân biệt dựa trên sự khác biệt về hình thái của chúng. Một là dạng nho trồng trọt – *V. vinifera* subsp. *vinifera* (hoặc *sativa*) và hai là dạng nho dại – *V. vinifera* subsp. *silvestris* (hoặc *sylvestris*). Một số giống nho đỏ nổi tiếng để sản xuất rượu vang như *Cabernet Sauvignon*, *Merlot*, *Barbera*, *Pinot noir*, *Shiraz*, ... Các giống nho trắng nổi tiếng có thể kể đến như *Chardonnay*, *Chenin blanc*, *Muller-Thurgau*, *Muscat blanc*, *Pinot gris*, *Pinot blanc*, *Sauvignon blanc*,... Trung Quốc, Úc, Hàn Quốc, Nhật Bản, New Zealand, Thái Lan, Việt Nam, Myanmar là những quốc gia có diện tích trồng nho lớn trong khu vực Châu Á–Thái Bình Dương. Tuy nhiên, khác với các quốc gia Địa Trung Hải, các quốc gia khu vực Châu Á – Thái Bình Dương (ngoại trừ Úc) trồng nho chủ yếu là các giống nho tươi dành cho tiêu thụ trực tiếp (table grape) như giống *Niunai* ở Trung Quốc, giống *Red Cardinal* ở Việt Nam, giống nho *Malaga* và *Cardinal* ở Thái Lan, giống *Kyoho* ở Nhật Bản.

Chi nho *Vitis vinifera* L. tại Việt Nam gồm có 6 loài là *V. labrusca*, *V. heyneana*, *V. rotundifolia*, *V. vinifera*, *V. balansana*, *V. flexuosa* (Nguyễn Thế Cường, 2012). Ninh Thuận (nay thuộc tỉnh Khánh Hòa) là tỉnh có diện tích trồng nho lớn nhất tại Việt Nam. Theo Cục Thống kê tỉnh Ninh Thuận (2023), diện tích trồng cây nho tại Ninh Thuận năm 2022 là 1.053 ha. Sản lượng nho là 25.706 tấn/ năm. Trong đó, Ninh Hải và Ninh Phước là hai huyện dẫn đầu về diện tích trồng cũng như sản lượng nho của Ninh Thuận. Hiện Ninh Thuận có 04 giống nho ăn tươi phổ biến: nho đỏ (*Red Cardinal*), nho xanh (NH01-48, NH01-152, NH04-102); và 01 giống nho rượu (*Shiraz*). Trong đó, giống nho

chủ lực của tỉnh là *Red Cardinal* chiếm 63,36%, NH01-48 chiếm 30,76% (Sở Nông Nghiệp và Phát Triển Nông Thôn Tỉnh Ninh Thuận, 2023). Ngoài ra có một số giống nho mới khác có triển vọng cũng đang được thử nghiệm.

Tổng sản lượng nho dùng để sản xuất rượu vang nho và nước ép chiếm tỷ lệ khá lớn (~52%) so với các nhóm sản phẩm còn lại. Quá trình sản xuất nước ép và rượu vang nho dẫn đến việc một lượng phụ phẩm nho bao gồm vỏ, hạt, cuống và cành bị thải loại ra môi trường. Thực tế, phụ phẩm chính của quá trình sản xuất nước ép nho và rượu vang là vỏ, cành, và hạt chiếm khoảng 20% tổng khối lượng nho (Bordiga và cộng sự, 2019). Thành phần hóa học của phụ phẩm nho khác nhau tùy thuộc vào giống nho, vị trí địa lý, điều kiện trồng, độ chín. Khi nghiên cứu về phụ phẩm nho, phân tích thành phần hóa học là bước quan trọng. Hàm lượng protein trong vỏ nho chiếm khoảng 6,5 – 13,8%. Hàm lượng chất béo tổng của vỏ nho khá thấp (1,1 – 8,5%). Tùy vào quy trình sản xuất, hàm lượng ẩm của phụ phẩm nho có thể dao động lớn (7,0 – 19,9%). Hàm lượng chất xơ trong vỏ nho cao, chiếm khoảng 54,8%. Hàm lượng phenolic trong vỏ nho đen Cimin có thể dao động từ 10,5 – 33,7 mg GAE (Aescin equivalent – đương lượng gallic acid)/100 mL dịch trích (Alwazeer và cộng sự, 2026). So với hạt nho thì vỏ nho phù hợp để sử dụng cho trích ly các hợp chất phenolic và saponin, vì hạt nho chứa nhiều dầu, dễ bị oxy hóa do đó hạn chế phần nào ứng dụng của hợp chất sau trích ly.

Kết luận: Có thể thấy rằng quá trình làm rượu vang, nước ép nho dẫn đến một lượng đáng kể phụ phẩm nho bị thải bỏ đặt ra các vấn đề về xử lý, tiêu thụ. Tại Việt Nam, giống nho *Red Cardinal*, đặc biệt là vỏ nho, là nguồn tiềm năng cho các nghiên cứu về phụ phẩm nho với các ưu điểm như diện tích và sản lượng trồng lớn, nguồn phụ phẩm lớn.

1.2 Các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho

Phụ phẩm nho còn có hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao như flavonoid, proanthocyanidin, tannin, saponin. Trải qua một số quá trình nghiên, ép nhưng hoạt tính sinh học của các hợp chất trong phụ phẩm nho không bị thay đổi đáng kể. Các hợp chất phenolic là các hợp chất quan trọng có trong phụ phẩm nho. Hợp chất phenolic bao gồm một hoặc nhiều nhóm hydroxyl gắn trực tiếp vào một hoặc nhiều vòng thơm (Thomas, 2017). Các hợp chất phenolic thường được phân loại là axit yếu do các nhóm phenol. Độ hòa tan của hợp chất phenolic trong nước phụ thuộc vào nhóm

hydroxyl và nhóm aryl. Càng nhiều nhóm hydroxyl, hợp chất càng dễ hòa tan trong nước. Các hợp chất phenolic đơn giản thường dễ hòa tan trong nước, trong khi các hợp chất phenolic bậc cao hơn thì không tan trong nước (Thomas, 2017). Theo Brenes và cộng sự (2016), các hợp chất phenolic được chia thành hai nhóm là những phenolic có thể trích ly được bằng dung môi hữu cơ/ nước (EPA – Extractable Phenolics) và những phenolic còn lại gọi là phenolic không thể trích ly (NEPA – Non-Extractable Phenolics). EPA bao gồm các phenolic có khối lượng phân tử thấp hoặc trung bình (từ dimer đến decamer) do đó dễ dàng trích ly bằng các dung môi thông thường. Trong khi đó, NEPA chủ yếu là các phenolic liên kết với protein và polysaccharide của ma trận thành tế bào. Các NEPA này khó được trích ly bằng enzyme hoặc bằng các dung môi hữu cơ thông thường. Cách phổ biến nhất để tách các hợp chất này là sử dụng các phản ứng thủy phân (thông thường là axit) ở nhiệt độ cao. Các trích ly này cho phép giải phóng các hợp chất phenolic gắn với ma trận thực vật mà còn giúp phân giải các hợp chất có khối lượng phân tử cao thành các hợp chất có cấu trúc đơn giản hơn. Giống như *Red Cardinal* có hàm lượng các hợp chất phenolic cao. Theo Mitić và cộng sự (2012), hàm lượng polyphenol tổng, anthocyanin tổng và flavonoid tổng trong vỏ *Cardinal* lần lượt là 142,32; 44,80 và 59,46 mg/100g vỏ. Nghiên cứu cho thấy trong vỏ *Cardinal* có chứa hợp chất polyphenol như catechin, syringic acid, quercetin-galactoside, p-coumaric acid, quercetin-glucoside, chlorogenic acid, quercetin-rhamnoside, caffeic acid, ferulic acid, rutin (Topalovic và Mikulic-Petkovsek, 2010). Malvidin-3-O-glucoside và peonidin-3-O-glucoside là các thành phần anthocyanin chính được tìm thấy trong giống *Cardinal*. Quercetin 3-O-glucoside là hợp chất flavonol chính trong dịch trích vỏ *Cardinal* (Benmeziane và cộng sự, 2016).

Saponin bao gồm các thành phần không đường và đường được gọi là aglycone và glycone, trong đó aglycone bao gồm một khung triterpenoid hoặc steroid. Saponin cũng được báo cáo là một trong những nhóm hợp chất quan trọng và có hàm lượng đáng kể trong phụ phẩm nho (Simchuer và cộng sự, 2022). Tuy nhiên, thành phần saponin đơn lẻ trong vỏ vẫn chưa được nghiên cứu nhiều, chủ yếu là định tính saponin bằng các phản ứng hóa thực vật hoặc xác định hàm lượng tổng. Saponin dễ tan trong nước có tính axit (pH 2,4) hoặc dung môi nước/ ethanol 50% (Fonseca và cộng sự, 2024). Ethanol và methanol là các dung môi thông dụng để trích ly saponin.

Các hợp chất phenolic, saponin là những hợp chất hóa thực vật quan trọng nhất trong nho nhờ vào các lợi ích cho sức khỏe. Trong đó, hoạt tính kháng oxy hóa của polyphenol chủ yếu là khả năng cho hydro từ các nhóm hydroxyl trên vòng thơm để hạn chế quá trình oxy hóa gốc tự do của chất béo và các phân tử sinh học khác. Bên cạnh đó, các chất trích ly từ hạt và vỏ nho đã giúp cải thiện sự phục hồi thận của chuột mắc bệnh tiểu đường (Oueslati và cộng sự, 2016). Đồng thời, khả năng sống sót của chuột được tăng cường và sự di căn của các tế bào khối u bị ức chế đáng kể nhờ bổ sung dịch trích vỏ nho trong chế độ ăn (1,0 và 0,5 mg/ mL trong nước uống). Một nghiên cứu cho thấy sự kết hợp của dịch trích vỏ nho với coenzyme Q10, luteolin và selen đã cải thiện độ đàn hồi, khả năng sản xuất nhờn của da đáng kể (De Luca và cộng sự, 2016). Dịch trích từ vỏ nho cũng đã cho thấy khả năng chống lại nhiều chủng vi sinh vật như năm chủng vi khuẩn phân lập từ người (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*) và 4 chủng vi khuẩn chuẩn (*Proteus mirabilis* ATCC 12453, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 2592 và *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) (Avdović và cộng sự, 2025).

Kết luận: Mặc dù vỏ nho đã được công nhận là một nguồn phong phú các hợp chất phenolic và saponin với tiềm năng ứng dụng cao, các tài liệu về thành phần hóa học, hàm lượng cụ thể các hợp chất hoạt tính này trong vỏ nho *Red Cardinal* vẫn còn hạn chế. Việc phân tích, trích ly các hợp chất này trong vỏ nho *Red Cardinal* góp phần đẩy mạnh khả năng ứng dụng của chúng vào các lĩnh vực như thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm.

1.3 Phương pháp trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học có hỗ trợ enzyme

Sự thu hồi các hợp chất phenolic, saponin bằng phương pháp trích ly có hỗ trợ enzyme (EAE – Enzyme assisted extraction) có nhiều lợi ích như giảm sử dụng dung môi độc hại, phân hủy sinh học, giảm thời gian trích ly. Sự lựa chọn enzyme thích hợp cũng như tối ưu hóa quá trình là cần thiết để thu được hiệu quả trích ly cao.

Loại và hàm lượng enzyme: Thành tế bào của vỏ nho được tạo thành từ 30% polysaccharides (cellulose, xyloglucanarabinan, galactan, xylan and mannan), 20% pectin có tính axit (62% methyl ester hóa), 15% proanthocyanidin không tan, và <5% protein cấu trúc (Lecas và Brillouet, 1994). Vì vậy, trong số các enzyme ứng dụng trong nghiên cứu thủy phân phụ phẩm thực vật thì enzyme cellulase và pectinase là được sử

dụng nhiều nhất. Các enzyme này được thương mại hóa ở dạng riêng lẻ hoặc kết hợp nên tiềm năng ứng dụng ở quy mô công nghiệp cao. Enzyme cellulase và pectinase từ nhà cung cấp Novozymes (Đan Mạch) được ứng dụng nhiều trong các nghiên cứu thủy phân phụ phẩm (Arnous và Meyer, 2010). Các enzyme cellulase, pectinase có khả năng xúc tác quá trình thủy phân các liên kết trong polysaccharide của thành tế bào thực vật do đó có thể được sử dụng để phá hủy cấu trúc thành tế bào.

Mỗi loại enzyme sẽ có hiệu quả thủy phân khác nhau đối với cơ chất cụ thể. Pectinase phá vỡ hoặc biến đổi pectin, phá vỡ tính toàn vẹn của thành tế bào và hỗ trợ giải phóng phenolic. Trong khi đó, cellulase xúc tác thủy phân các endo-1,4- β -D-glycoside trong cellulose. Việc kết hợp hai loại enzyme pectinase và cellulase sẽ giúp tăng hiệu quả trong việc trích ly các hợp chất mục tiêu từ phụ phẩm nho. Nghiên cứu của Arnous và Meyer (2010) đã cho thấy quá trình thủy phân vỏ nho *Merlot* và *Cabernet Sauvignon* bằng enzyme pectinase và cellulase có thể giúp giải phóng anthocyanin, flavonol (rutin và quercetin), phenolic acid (hydroxybenzoic acid và hydroxycinnamic acid). Maier và cộng sự (2008) sử dụng hỗn hợp enzyme cellulase và pectinase (tỷ lệ 1:2) thu được hàm lượng hợp chất phenolic tốt nhất sau 2 giờ xử lý, sử dụng lượng enzyme 4.500 mg/kg (tính theo chất khô) ở nhiệt độ 40°C và pH 4,0. Hiệu suất thu hồi có thể đạt 91,9; 92,4 và 63,6% đối với phenolic acid, flavonoid không anthocyanin và anthocyanin. Thông thường, việc tăng hàm lượng enzyme có tác dụng trong việc giải phóng các hợp chất phenolic. Tuy nhiên, việc tăng hàm lượng enzyme quá cao sẽ không còn tác dụng và có thể dẫn đến không hiệu quả về mặt kinh tế (Arnous và Meyer, 2010).

Nhiệt độ thủy phân: Thông thường, phản ứng thủy phân bằng enzyme bị ảnh hưởng đáng kể bởi nhiệt độ. Đôi khi sự tăng nhiệt độ của phản ứng không tỷ lệ thuận với tốc độ tăng của phản ứng thủy phân bằng enzyme. Phản ứng chỉ tăng tốc độ ở một giới hạn của nhiệt độ cụ thể. Tốc độ thủy phân bằng enzyme sẽ giảm nếu nhiệt độ vượt quá mức giới hạn đó. Nhiệt độ tương ứng với tốc độ phản ứng enzyme đạt cao nhất được gọi là nhiệt độ tối ưu. Nhiệt độ hoạt động tối ưu của một enzyme phụ thuộc nhiều vào một số yếu tố như sự có mặt của cơ chất, các chất bảo vệ, kim loại và pH. Nhiệt độ thủy phân quá cao sẽ làm giảm mạnh hoạt tính của enzyme do gây biến tính protein. Khoảng nhiệt độ thủy phân của các loại enzyme thương mại phổ biến thường không vượt quá 60°C. Nhiệt độ tối ưu cho quá trình trích ly phenolic từ hạt nho sử dụng enzyme

pectinase là 48°C (Štambuk và cộng sự, 2016). Nhiệt độ của quá trình thủy phân có ảnh hưởng có ý nghĩa đến các hợp chất mục tiêu cần trích ly. Arnous và Meyer (2010) cho rằng nhiệt độ là yếu tố chính khiến anthocyanin bị phân hủy trong quá trình xử lý vỏ nho bằng enzyme trong 6 giờ thủy phân. Do đó, nhiệt độ sử dụng trong quá trình thủy phân enzyme cần phải phù hợp với enzyme và hoạt chất sinh học cần trích ly.

pH thủy phân: pH của môi trường thủy phân thường ảnh hưởng đến mức độ ion hóa của cơ chất, enzyme và đặc biệt ảnh hưởng đến độ bền của enzyme. Chính vì thế pH có ảnh hưởng đến phản ứng của enzyme. Nhiều enzyme hoạt động rất mạnh ở pH trung tính. Tuy nhiên cũng có nhiều enzyme hoạt động ở pH axit yếu. Một số khác lại hoạt động mạnh ở pH kiềm và axit. Trên thực tế, việc điều chỉnh pH ổn định trong suốt quá trình thủy phân là khó khăn. Đa số các nghiên cứu ứng dụng enzyme để thủy phân thường điều chỉnh pH của hỗn hợp ban đầu về pH tối ưu cho enzyme để đạt được hiệu quả trích ly tốt (Maier và cộng sự, 2008). Pectinase có thể cho hiệu quả trích ly các hợp chất từ hạt nho cao nhất ở điều kiện pH 3,5 (Štambuk và cộng sự, 2016).

Thời gian thủy phân: Bắt đầu giai đoạn thủy phân, tốc độ thủy phân xảy ra nhanh, tuy nhiên nồng độ cơ chất sẽ giảm theo thời gian trong khi nồng độ sản phẩm càng tăng, hoặc sự bất hoạt enzyme sau quá trình xử lý dài thì tốc độ giải phóng các chất sẽ không tăng. Trong nghiên cứu của Štambuk và cộng sự (2016), thời gian thủy phân tối ưu hạt nho bằng pectinase là 2 giờ 43 phút. Trong nhiều trường hợp, việc xử lý enzyme ở thời gian dài không làm tăng tốc độ thủy phân, ngược lại sẽ có ảnh hưởng xấu đến hiệu suất thu hồi do các hợp chất mục tiêu bị mất. Hơn nữa, việc xử lý enzyme kéo dài cũng sẽ có những ảnh hưởng tiêu cực đến anthocyanin từ vỏ nho. Nghiên cứu của Tomaz và cộng sự (2016) cho thấy thời gian trích ly anthocyanin, flavonol glycosides và flavan-3-ols từ vỏ nho bằng enzyme pectinase thích hợp là 3 giờ. Do đó, thời gian trích ly dài hơn có thể dẫn đến sự suy giảm đáng kể hàm lượng hợp chất mục tiêu.

Các yếu tố khác: Bên cạnh các yếu tố kể trên, diện tích tiếp xúc cũng thúc đẩy hiệu quả của quá trình thủy phân. Nếu tăng diện tích tiếp xúc giữa enzyme và cơ chất sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thủy phân. Việc giảm kích thước của phụ phẩm nho cũng có tác động tích cực đến việc thu hồi phenolic. Ngoài ra, phản ứng enzyme khác nhau còn phụ thuộc vào loại phụ phẩm, giống nho. Montibeller và cộng sự (2019) đã chỉ ra rằng việc sử dụng enzyme pectinase không ảnh hưởng đáng kể đến việc thu hồi

anthocyanin từ nho Petit Verdot. Điều này có thể xảy ra bởi trong một số trường hợp, nho đã được xử lý bằng enzyme trong quá trình chế biến, thường với pectinase.

1.4 Phương pháp trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học có hỗ trợ siêu âm

Theo McClements (1995), hai loại sóng siêu âm được ứng dụng chính trong thực phẩm: (1) Sóng siêu âm tần số cao (2 MHz đến 10 MHz) và năng lượng thấp, (2) Sóng siêu âm tần số thấp (20 kHz đến 100 kHz) và năng lượng cao. Sóng siêu âm tần số cao, năng lượng thấp thường được sử dụng trong chuẩn đoán, đo độ dày, phát hiện các tạp chất trong sản phẩm, đo tốc độ dòng chảy, xác định thành phần, xác định kích thước hạt. Sóng siêu âm tần số thấp, năng lượng cao thường được áp dụng để đẩy nhanh các phản ứng oxy hóa, ức chế enzyme, tiêu diệt vi sinh vật trong thực phẩm, và hỗ trợ quá trình trích ly. Phần lớn các nghiên cứu về sóng siêu âm tần số thấp thường áp dụng tần số sóng trong khoảng 20 – 40 kHz. Ngoài ra, việc áp dụng siêu âm để hỗ trợ trích ly các hợp chất từ các nguồn nguyên liệu thực vật đã được nghiên cứu rộng rãi. Ảnh hưởng của siêu âm trong dung môi trích ly chủ yếu là do hiện tượng xâm thực (cavitation phenomena) (Rostagno và Prado, 2022). Sóng siêu âm gây ra sự dịch chuyển theo chiều dọc của các phân tử tạo thành dung môi. Trong chu trình nén của siêu âm, các phân tử này bị bật ra khỏi vị trí ban đầu và va chạm với các phân tử xung quanh. Ngược lại, các phân tử sẽ bị kéo ra xa nhau trong giai đoạn kéo giãn (rarefaction phase). Lực hút giữa các phân tử này tạo ra các bong bóng bọt được hình thành từ các khí hòa tan. Theo thời gian, kích thước của các bong bóng khí đạt đến tới hạn chúng sẽ vỡ. Nhiệt độ và áp suất của bong bóng khí tại thời điểm vỡ có thể lên đến 5000°K và 5000 atm. Chúng tạo ra các điểm nóng có khả năng tăng tốc độ phản ứng của môi trường. Ngoài ra, khi những bong bóng này sụp đổ trên bề mặt nguyên liệu rắn, áp suất và nhiệt độ cao được giải phóng sẽ tạo ra các tia siêu nhỏ và sóng xung kích hướng vào bề mặt rắn. Các tia siêu nhỏ này cùng với nhiệt độ và áp suất cao đã giúp phá hủy thành tế bào và giải phóng các hợp chất hoạt tính sinh học vào môi trường trích ly (Rostagno và Prado, 2022).

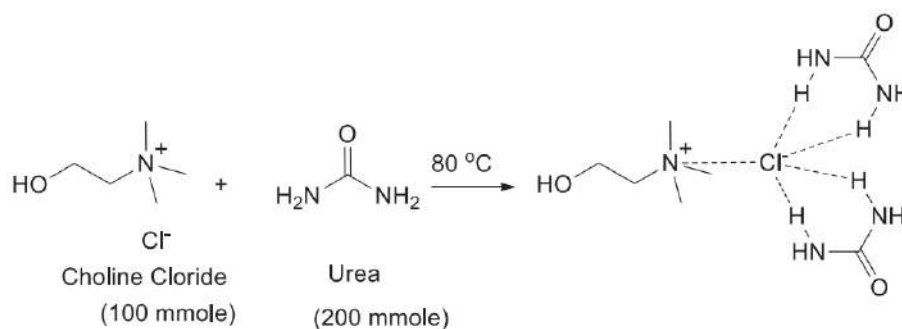
Trích ly có hỗ trợ siêu âm (UAE – Ultrasound assisted extraction) đã được phát triển và ứng dụng hiệu quả cho nhiều nguyên liệu thực phẩm với khả năng thu hồi các hợp chất cao. Các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trái cây, rau quả, thảo mộc, gia vị và phụ phẩm được trích ly thành công bằng sử dụng siêu âm. Goltz và cộng sự (2018) đã nghiên cứu ứng dụng siêu âm trong trích ly có thể làm tăng tổng lượng hợp chất

phenolic thu hồi từ cây Macela lên 6,1 lần và khả năng kháng oxy hóa lên 3,4 lần so với trích ly thông thường. Avdović và cộng sự (2025) trích ly các hợp chất phenolic trong vỏ nho Marselan và Shiraz bằng phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm trong dung môi ethanol, ethyl acetate và nước. Kết quả cho thấy dung môi ethanol 50%, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 (v/w) cho hiệu quả trích ly cao nhất. Dịch trích có TPC là 11,6 mg GAE/g dịch. Stanek-Wandzel và cộng sự (2025) đã sử dụng phương pháp trích ly có hỗ trợ kết hợp enzyme (pectinase, cellulase và hemicellulase) và siêu âm để thu hồi hợp chất phenolic. Phương pháp kết hợp đặc biệt hiệu quả trong việc trích ly phenolic acid (ferulic acid, caffeic acid, gallic acid và p-coumaric acid) và flavonoid (kaempferol, luteolin, quercetin, vanillin và trans-resveratrol) và anthocyanin.

Hiệu quả trích ly có hỗ trợ siêu âm tăng lên nhờ tác động làm thay đổi, gây ra sự phá vỡ, tổn thương tế bào của các nguyên liệu thực vật. Cấu trúc mô của nguyên liệu thô bao quanh hợp chất cần trích ly là yếu tố chính tác động đến hiệu quả của kỹ thuật UAE. Khi các thành phần mong muốn định vị trong các tuyến bề mặt (surface glands) của mô nguyên liệu thì nguyên liệu có thể được kích thích bằng ứng suất siêu âm tương đối nhẹ để giải phóng các thành phần này (Toma và cộng sự, 2001). Trong khi đó, các mô nơi các thành phần mong muốn nằm trong tế bào, việc giảm kích thước nguyên liệu để tối đa hóa diện tích bề mặt tiếp xúc trước khi siêu âm là rất quan trọng để đạt được quá trình trích ly hiệu quả. Diện tích tiếp xúc lớn giữa dung môi và các hạt nguyên liệu sẽ tạo điều kiện cho việc trích ly các hợp chất phenolic. Vinatoru (2001) đã chỉ ra rằng việc làm khô nguyên liệu có thể cải thiện hiệu quả trích ly nhờ vào khả năng trương nở và ngậm nước của nguyên liệu khô, gây ra sự mở rộng các lỗ trong thành tế bào. Các tham số năng lượng siêu âm cũng ảnh hưởng đến trích ly. Ngoài ra, quá trình trích ly xảy ra trong dung môi nên tỷ lệ nguyên liệu: dung môi, loại dung môi, nhiệt độ và thời gian siêu âm ảnh hưởng không chỉ đến năng suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến thành phần của dịch trích được. Điều kiện tối ưu cho trích ly có hỗ trợ siêu âm có thể khác biệt tùy thuộc vào loại dung môi cũng như nguyên liệu. Theo Wang và cộng sự (2016), điều kiện trích ly có hỗ trợ siêu âm thích hợp cho việt quất, anh đào là 30°C, 20 phút, dung môi ethanol 70%, trong khi điều kiện phù hợp cho vỏ lê đỏ là 30°C, 60 phút sử dụng dung môi ethanol 60%.

1.5 Phương pháp trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học bằng dung môi eutectic sâu

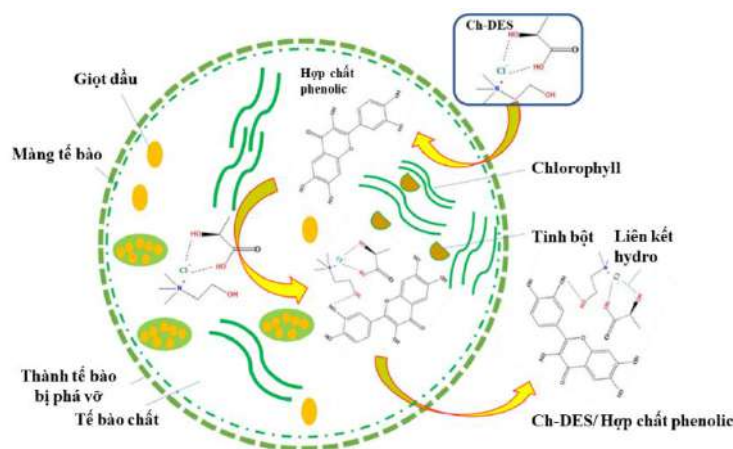
DES đang được quan tâm như dung môi tiềm năng thay thế các dung môi hữu cơ độc hại trong trích ly. DES lần đầu tiên được công bố bởi Abbott và cộng sự (2003) khi ghi nhận sự suy giảm điểm nóng chảy sâu bất thường ở thành phần eutectic của chất nhận liên kết hydro (HBA – Hydrogen bond acceptor) và chất cho liên kết hydro (HBD – Hydrogen bond donor). Khi kết hợp 1 choline chloride (điểm nóng chảy, $T_m \approx 302^\circ\text{C}$) với 2 urea ($T_m \approx 133^\circ\text{C}$) sẽ hình thành hỗn hợp eutectic là chất lỏng ở nhiệt độ phòng ($T_m \approx 12^\circ\text{C}$) (Azizi và cộng sự, 2013), được thể hiện trong **Hình 1.1**.



Hình 1.1. Chuẩn bị DES từ choline chloride và urea

Các hệ DES tạo thành bằng cách kết hợp HBA (muối vô cơ như quaternary ammonium, tetralkylammonium hoặc phosphonium; amino acid như là alanine, proline, glycine, betain) với HBD (axit hữu cơ, alcohol, amide và carbohydrate) (Dai và cộng sự, 2013; Liu và cộng sự, 2018). Hiện nay, chuẩn bị DES tập trung vào ba phương pháp chính: (1) Phương pháp làm bay hơi chân không (Dai và cộng sự, 2013): hòa tan các thành phần trong nước và làm bay hơi bằng cô quay ở 50°C , chất lỏng thu được được đặt trong bình hút ẩm đến khi đạt khối lượng không đổi; (2) Phương pháp gia nhiệt: hỗn hợp các thành phần và nước được cho vào bình có nắp, khuấy và đun nóng (thường là $80 - 90^\circ\text{C}$) trong bể cách thủy hoặc trên máy khuấy có gia nhiệt (30 – 90 phút) cho đến khi tạo thành chất lỏng trong suốt (Dai và cộng sự, 2013); (3) Phương pháp đông khô (Gutiérrez và cộng sự, 2009): các thành phần được trộn theo tỷ lệ ở nhiệt độ nhất định để thu được dung dịch sau đó được đông khô. Tùy theo bản chất của các hợp chất mà lựa chọn phương pháp chuẩn bị DES với những thay đổi phù hợp về thời gian gia nhiệt, nhiệt độ. Trong đó, phương pháp gia nhiệt được sử dụng phổ biến để chuẩn bị DES vì dễ thực hiện, nhanh và yêu cầu thiết bị đơn giản. Các nghiên cứu về ứng dụng DES trong

trích ly hợp chất phenolic từ nhiều nguồn nguyên liệu thực vật đã nhận được rất nhiều sự chú ý. Cơ chế đơn giản hóa của quá trình hòa tan hợp chất phenolic trong DES tạo thành từ choline chloride được thể hiện trong **Hình 1.2** (Lu và Liu, 2022).



Hình 1.2. Cơ chế đơn giản hóa của quá trình hòa tan hợp chất phenolic trong DES tạo thành từ choline chloride

DES cho thấy hiệu quả trích ly các hợp chất polyphenol vượt trội so với các dung môi nước, methanol, ethanol (Lakka và cộng sự, 2019). Trong khi đó, số lượng nghiên cứu ứng dụng DES trong trích ly các terpenes vẫn còn hạn chế, chỉ một số nghiên cứu đã được công bố như trích ly terpene trilactones từ lá bạch quả *Ginkgo Biloba* (Su và cộng sự, 2017), trích ly terpenes từ sáu loại gia vị (quế, thì là Ai Cập, thì là, đinh hương, húng tây và nhục đậu khấu) (Triaux và cộng sự, 2020). Ngoài việc mang lại hiệu quả trích ly cao, hoạt tính kháng khuẩn của các dịch trích có thể được cải thiện nhờ vào hoạt tính của các hợp chất tạo thành DES như được đề cập trong nghiên cứu của Akbar và cộng sự (2023). Các DES tạo thành từ methyl-trioctylammonium chloride, glycerol, fructose cho thấy hoạt tính kháng khuẩn phổ rộng và diệt khuẩn cao nhất đối với vi khuẩn gram dương (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus* và *Streptococcus pneumoniae*) và vi khuẩn gram âm (*Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* K1 và *Pseudomonas aeruginosa*). Các thông số quan trọng cần được xem xét đến khi sử dụng DES như một dung môi phù hợp trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học thực vật là loại và tỷ lệ các thành phần DES, tỷ lệ nguyên liệu dung môi, nhiệt độ trích ly, hàm lượng nước bổ sung và thời gian trích ly (Ali và cộng sự, 2019; Jiménez-Salcedo và cộng sự, 2025). Khi so sánh giữa choline chloride, betaine, proline đóng vai trò như HBA thì các DES gốc choline chloride hạn chế sự phân hủy

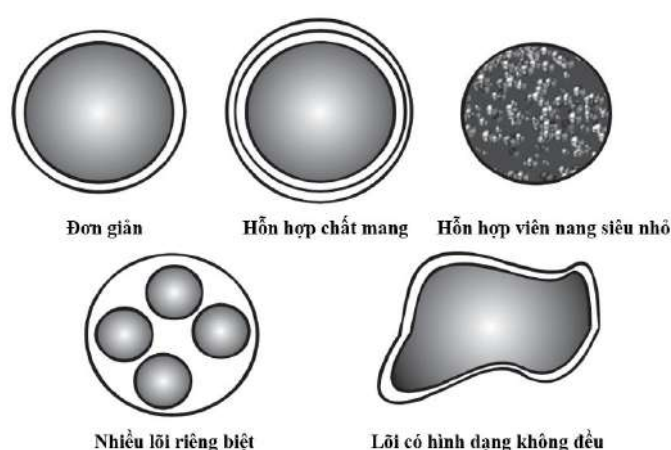
proanthocyanidin trong quá trình trích ly phụ phẩm nho (Neto và cộng sự, 2021). Hạn chế lớn nhất của dung môi DES là độ nhớt của chúng khá cao và do đó một lượng nước thích hợp (20 – 50%) thường được bổ sung vào hỗn hợp eutectic này (Jiménez-Salcedo và cộng sự, 2025). Sự hiện diện của nước ở hàm lượng nhất định không chỉ làm giảm độ nhớt mà còn tạo ra các tương tác giữa các phân tử như liên kết hydro hoặc liên kết ion và hình thành mạng lưới liên kết hydro có trật tự cao hơn (Liu và cộng sự, 2018) nhưng vẫn giữ các đặc tính của chúng. Theo Jiménez-Salcedo và cộng sự (2025) hàm lượng nước khoảng 20% là tối ưu để trích ly anthocyanin từ vỏ nho đỏ bằng choline chloride: glycerol và choline chloride: axit oxalic. Hàm lượng nước càng ít thì sự sắp xếp bậc cao hơn hình thành trong ma trận cấu trúc dẫn đến độ phân cực cao hơn của DES. Nếu hàm lượng nước quá cao các phân tử chất tan sẽ bị pha loãng và do đó giảm độ pha của hệ sẽ chuyển thành pha dung dịch thay vì pha eutectic.

Tỷ lệ thành phần chính quan trọng đối với việc tạo hệ DES và hiếm khi vượt quá tỷ lệ 1:6 (w/w) (Liu và cộng sự, 2018). Việc sử dụng loại thành phần DES để trích ly còn tùy thuộc vào loại nguyên liệu. Nghiên cứu của Athanasiadis và cộng sự (2022) cho thấy DES tạo thành từ proline: glycerol: citric acid cho hiệu quả thu hồi polyphenol tổng từ phụ phẩm nho đỏ và lá olive tốt hơn so với khi trích ly bằng nước hoặc ethanol 60%. Tuy nhiên, hiệu quả trích ly các thành phần riêng lẻ từ phụ phẩm nho bằng DES sẽ tốt hơn so với khi áp dụng trên lá olive. Trong khi đó, nghiên cứu của Balan và cộng sự (2025) cho thấy DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid (tỷ lệ 1:2, w/w) lại cho hiệu quả trích ly thấp hơn so với dung môi ethanol 70% khi sử dụng để trích hợp chất phenolic từ phụ phẩm nho đỏ giống Fetească Neagră và Merlot. Ngoài ra, quá trình trích ly trong thời gian dài hoặc trong điều kiện nhiệt độ cao không phù hợp với các hợp chất có hoạt tính sinh học mục tiêu vì có thể làm thay đổi cấu trúc hóa học của các hợp chất này. Nhiệt độ trong các nghiên cứu về trích ly phụ phẩm nho dao động khá lớn từ 25 – 100°C. Tuy nhiên, để phù hợp hơn với đặc tính nhạy cảm với nhiệt độ của hợp chất phenolic, nhiệt độ trích ly tối ưu nên giới hạn không vượt quá 70°C. Theo Baron và cộng sự (2021), mặc dù hiệu quả trích ly có xu hướng tăng khi tăng nhiệt độ trích ly, nhưng các hoạt tính khác của dịch trích như DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) đều sẽ giảm. Giá trị IC₅₀ DPPH của dịch trích phụ phẩm vỏ nho đỏ đạt cao nhất ở nhiệt độ trích ly 70°C. Do đó, nhiệt độ và thời gian trích ly tối ưu nên được khảo sát.

Kết luận: Việc trích ly các hợp chất phenolic và saponin từ nguồn nguyên liệu thực vật nói chung, cũng như phụ phẩm như *Red Cardinal* nói riêng, bằng các kỹ thuật như có hỗ trợ enzyme, siêu âm hoặc sử dụng DES dự kiến là các phương pháp trích ly xanh mới đầy hứa hẹn thay thế cho các dung môi hữu cơ truyền thống. Để hiệu quả thu hồi cao, điều kiện trích ly cần được tối ưu hóa nhằm đạt hàm lượng phenolic, proanthocyanidin và saponin trong dịch trích cao nhất. Dịch trích sau đó cần được đánh giá các hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn cũng như hàm lượng các hợp chất phenolic, saponin để dự đoán các ứng dụng phù hợp trong các nghiên cứu tiếp theo.

1.6 Tổng quan về vi bao

Các hợp chất có hoạt tính sinh học thông thường rất dễ bị oxy hóa trong điều kiện bảo quản dưới ảnh hưởng của độ ẩm và ánh sáng. Ngoài ra, các hợp chất này có độ tan tương đối hạn chế. Do đó việc sử dụng các hợp chất có hoạt tính sinh học ở dạng vi bao có thể góp phần tăng tính ổn định cho các hợp chất sinh học; tránh được sự hình thành hợp chất có hại và không mong muốn do sự thay đổi hóa học trong thời gian bảo quản; và có thể hạn chế một số thuộc tính cảm quan không mong muốn (Dias và cộng sự, 2017). Công nghệ vi bao là kỹ thuật bao gói các chất lỏng, rắn vào trong một lớp vỏ bao và chỉ giải phóng các chất ra ngoài trong một số điều kiện nhất định. Các dạng hạt có thể thu được bao gồm hình cầu đơn giản với lớp phủ đồng đều, hạt lõi có hình dạng không đều, lõi được nhúng trong hỗn hợp chất mang, một số lõi riêng biệt trong cùng một viên nang và các viên nang siêu nhỏ với nhiều lớp vỏ (**Hình 1.3**) (Baker, 2012).



Hình 1.3. Hình thái của các loại hạt vi bao

Nhìn chung, quá trình vi bao bao gồm 2 bước: phân bố các hợp chất cần bảo vệ vào hệ nhũ tương, hydrogel hoặc liposomes và sau đó loại bỏ nước khỏi sản phẩm bằng kỹ thuật sấy phun, sấy thăng hoa hoặc đông kết tinh,... (Fang và Bhandari, 2010). Trong đó, sấy phun là phương pháp vi bao phổ biến, kinh tế và có thể áp dụng ở quy mô công nghiệp. Trên thực tế, nhiều nghiên cứu đã báo cáo rằng công nghệ vi bao bằng sấy phun là hiệu quả trong việc bao gói các hợp chất có hoạt tính sinh học trích ly từ thực vật như gấc (Kha và cộng sự, 2010), nho (Tsali và Goula, 2018).

1.6.1 Tổng quan về vi bao bằng phương pháp sấy phun

1.6.1.1 Quá trình và thiết bị sấy

Sấy phun là phương pháp sấy truyền thống nhằm chuyển đổi nguyên liệu từ trạng thái lỏng hoặc huyền phù thành dạng bột mịn bằng cách phun hỗn hợp vào không khí nóng. Thông qua đó, dung dịch lỏng hoặc huyền phù được chuyển đổi thành các hạt vi mô dạng bột và do đó giúp cải thiện khả năng bảo quản và vận chuyển, và mang lại lợi ích kinh tế. Đối với ứng dụng trong kỹ thuật vi bao, nguyên liệu sử dụng có thể ở nhiều dạng như dung dịch, huyền phù, nhũ tương hoặc bột nhão. Thông thường, hỗn hợp vật liệu lõi và chất mang được chuẩn bị sẵn, sau đó đưa qua vòi phun của máy sấy phun để tạo thành các hạt sương mù. Khi gặp không khí nóng, dung môi trong hỗn hợp bay hơi, còn chất mang sẽ đóng rắn, hình thành lớp vỏ bao quanh vật liệu lõi. Các viên nang dạng bột cuối cùng sẽ tích tụ và rơi xuống đáy buồng sấy (Fang và Bhandari, 2010).

Nhìn chung, cơ chế sấy bao gồm ba giai đoạn chính: chuyển đổi nguyên liệu sang dạng sương mù, kết hợp sương mù với dòng khí nóng để thực hiện sấy và tách sản phẩm bột ra khỏi dòng khí sấy (Santos và cộng sự, 2018). Quá trình sấy phun bắt đầu bằng việc phân tán nguyên liệu thông qua việc giảm sức căng bề mặt. Đây là bước then chốt để đảm bảo sự hiệu quả cho các giai đoạn tiếp theo, tạo điều kiện cho quá trình bay hơi ẩm, dẫn đến sự hình thành các hạt bột khô một cách thuận lợi (Gharsallaoui và cộng sự, 2007). Quá trình phân tán nguyên liệu thường được thực hiện bằng cách sử dụng năng lượng áp suất, ly tâm, tĩnh điện hoặc siêu âm. Thiết bị phun sương có thể trang bị các loại đầu phun khác nhau như đĩa quay, đầu phun thủy lực hoặc khí nén (Gharsallaoui và cộng sự, 2007). Việc lựa chọn loại đầu phun thích hợp chủ yếu dựa trên đặc tính của dung dịch nguyên liệu ban đầu và các yêu cầu cụ thể về hình dạng, cấu trúc và kích thước của hạt bột vi bao mong muốn. Khi nguyên liệu được chuyển hóa thành dạng

sương mù, quá trình sấy phun chuyển sang giai đoạn kết hợp sương mù với dòng khí nóng. Trong giai đoạn này, các hạt sương mù tiếp xúc với dòng khí sấy, dẫn đến sự bốc hơi hàm lượng ẩm và khiến chúng biến đổi thành các hạt bột khô.

Sau khi các hạt bột khô được hình thành, cần thực hiện quy trình tách để thu hồi chúng khỏi dòng khí sấy. Quá trình tách này bao gồm hai giai đoạn: phân tách sơ cấp và phân tách thứ cấp. Ở giai đoạn phân tách sơ cấp, các hạt có mật độ cao sẽ lắng xuống đáy hình nón của buồng sấy và được thu hồi tại đây. Tiếp đến, trong giai đoạn phân tách thứ cấp, các hạt nhỏ hơn hoặc mịn hơn được chuyển sang các thiết bị tách riêng biệt để loại bỏ khỏi khí ẩm. Những thiết bị thường được sử dụng gồm máy tách lốc xoáy, bộ lọc túi và bộ lọc bụi tĩnh điện. Hiệu suất của mỗi thiết bị sẽ khác nhau và được lựa chọn dựa trên kích thước của hạt và đặc tính sản phẩm mong muốn.

1.6.1.2 Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình vi bao bằng sấy phun

❖ Thành phần lõi và vỏ bao

Dịch trước sấy của sấy phun thường bao gồm các thành phần khác nhau. Mỗi thành phần của hệ dịch có các tính chất vật lý, hóa học và chức năng khác nhau tạo nên sự đa dạng về tính chất hóa học, vật lý, dinh dưỡng và cảm quan của các sản phẩm thực phẩm. Sự khác nhau về thành phần sẽ dẫn đến tính chất của các lớp hấp thụ bề mặt, pha nước, pha dầu cũng khác nhau. Có thể nói thành phần của hệ dịch trước sấy hay thành phần của các pha trong hệ dịch trước sấy có vai trò quan trọng đối với sự ổn định của hệ. Dịch trích từ phụ phẩm nho bao gồm các thành phần chính là hợp chất phenolic, saponin và proanthocyanidin. Các hợp chất này đều không ổn định, dễ bị phân hủy cũng là nguyên nhân chính dẫn đến khả năng ứng dụng thấp.

Chọn loại vỏ bao thích hợp là yếu tố rất quan trọng trước khi sấy phun. Vỏ bao phải là loại không độc hại, độ hút ẩm thấp, không có hoặc có mùi nhẹ, giá thành rẻ, dễ kiểm để có thể ứng dụng trong dược phẩm, thực phẩm ở quy mô công nghiệp. Ngoài ra, vật liệu vỏ bao phải đảm bảo được các tiêu chí như cung cấp khả năng bảo vệ cho thành phần lõi, có độ hòa tan trong nước cao cùng với khả năng tạo màng tốt. Ngày nay, các loại vỏ bao trong kỹ thuật vi bao rất đa dạng, có thể từ các polymer có khối lượng phân tử cao như tinh bột, tinh bột biến tính, protein đến các polymer có khối lượng phân tử thấp như cyclodextrin, maltodextrin. Mỗi loại vật liệu vỏ bao sẽ có các ưu điểm và khuyết điểm khác nhau. Do đó, các loại vỏ bao này nên kết hợp với nhau tùy vào loại

hợp chất có hoạt tính sinh học lõi cần được vi bao, nhằm hạn chế những đặc tính không mong muốn và cải thiện hiệu quả vi bao. Với việc kết hợp các loại vỏ bao thì hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao hợp chất lõi tăng lên. Hỗn hợp vỏ bao thường bao gồm polymer như maltodextrin, tinh bột với bổ sung chất nhũ hóa như gum hoặc protein. Ngoài ra, sự liên kết giữa vỏ bao và hợp chất cần vi bao trong quá trình sấy cần được xem xét tùy vào ứng dụng mong muốn của bột thu được.

Maltodextrin là sản phẩm thủy phân tinh bột, gồm α -D-glucose liên kết với nhau chủ yếu thông qua liên kết α -(1 - 4) glucoside. Độ hòa tan cao trong môi trường nước, tạo dung dịch độ nhớt thấp, không màu ở dạng dung dịch, giá thành thấp là những ưu điểm của maltodextrin khi ứng dụng làm vật liệu vỏ bao trong quá trình vi bao. Maltodextrin là vỏ bao đơn lẻ phổ biến nhất và hiệu quả vi bao hợp chất phenolic và anthocyanidin cao so với các loại vỏ bao như gum arabic, tinh bột sắn (Murali và cộng sự, 2015). Sấy phun dịch trích thu được từ phụ phẩm nho bằng maltodextrin có khả năng lưu giữ anthocyanin lên đến 88,36 – 97,35%. Bên cạnh đó, bột vi bao có hàm lượng ẩm thấp, độ hút ẩm thấp, độ hòa tan cao và màu sắc ổn định (Souza và cộng sự, 2015). Polymer như maltodextrin dẫn đến sự hình thành nhanh chóng vỏ bao giúp tăng hiệu quả vi bao.

Phương pháp sấy phun sử dụng kết hợp gum arabic và maltodextrin cho thấy hiệu quả giữ lại anthocyanin cao hơn so với sử dụng riêng lẻ maltodextrin (Burin và cộng sự, 2011). Hiệu quả của vi bao bằng gum arabic liên quan đến cấu trúc của nó – chất phân nhánh cao, có lượng nhỏ protein liên kết cộng hóa trị với carbohydrate giúp hình thành màng tốt, cho phép vi bao hiệu quả các phân tử (Kuck và Noreña, 2016). Các hợp chất phenolic trong cấu trúc có nhóm hydroxyl có thể tạo liên kết hydro với protein, do đó hỗn hợp maltodextrin, whey protein isolate hoặc protein đậu nành cũng cho thấy hiệu quả trong việc vi bao các hợp chất phenolic. Whey protein isolate bao gồm ba thành phần chính là β -lactoglobulin, α -lactalbumin và bovine serum albumin thể hiện khả năng tạo màng tốt (Sliwinski và cộng sự, 2003). Ngoài ra, whey protein isolate cũng tạo ra hệ dịch ổn định đáng kể, là yếu tố quan trọng cho mục đích vi bao như trình bày thảo luận trên. Ngoài yếu tố thành phần vỏ bao, tỷ lệ vỏ bao và lõi cũng đóng vai trò quan trọng trong quá trình vi bao. Thông thường, hiệu suất vi bao tăng khi tăng dần tỷ lệ vỏ bao và lõi. Lượng phenolic cao dẫn đến hàm lượng phenolic ở bề mặt bột cao và hiệu

quả vi bao thấp. Hơn nữa, ở tỷ lệ vỏ bao thấp thì vật liệu vỏ bao không đủ để che phủ hoàn toàn các thành phần lõi và dẫn đến hiệu quả vi bao các hợp chất phenolic giảm.

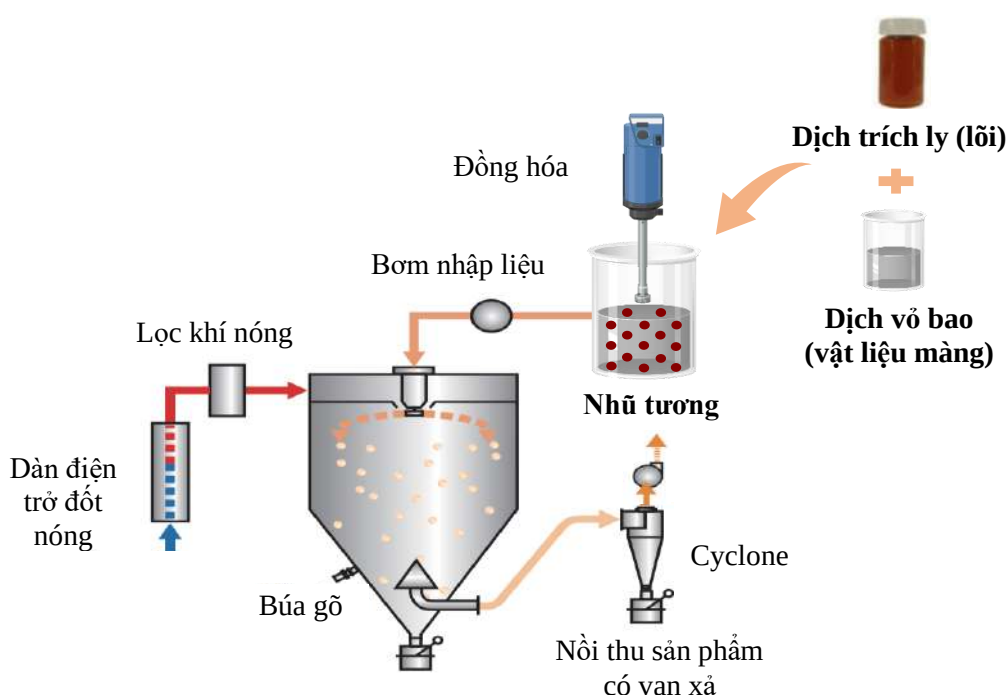
❖ Đồng hóa

Kích thước của các giọt phân tán có ảnh hưởng đến sự ổn định của dịch trước sấy phun. Kích thước của các giọt phân tán phụ thuộc vào các điều kiện đồng hóa. Các phương pháp đồng hóa năng lượng cao tạo ra các giọt lớn hơn so với phương pháp đồng hóa năng lượng thấp. Trong quá trình đồng hóa năng lượng cao, máy đồng hóa tốc độ cao hiệu quả hơn máy đồng hóa siêu âm để chuẩn bị dịch từ dầu hướng dương (Yildirim và cộng sự, 2017). Nhưng cũng có nghiên cứu chỉ ra rằng cả nhũ tương được điều chế bằng máy khuấy và máy đồng hóa siêu âm đều cho độ ổn định tốt trong thời gian bảo quản 30 ngày ở nhiệt độ phòng trong điều kiện tối ưu (Niknam và cộng sự, 2022). Thông thường, khi áp suất đồng hóa tăng, kích thước của các giọt giảm. Tuy nhiên, sau đó nếu tiếp tục tăng áp suất đồng hóa, kích thước giọt sẽ tăng lên. Việc áp dụng quá mức quá trình đồng hóa năng lượng cao sẽ tác động đến những thay đổi về cấu trúc của protein như thủy phân, biến tính, keo tụ và lắng đọng của các giọt. Đó cũng là nguyên nhân gây mất ổn định hệ dịch do áp suất và nhiệt độ cao trong quá trình đồng hóa (McClements và cộng sự, 2022). Đồng hóa là một quá trình cực kỳ phức tạp, đòi hỏi phải tối ưu hóa điều kiện đồng hóa để ngăn chặn việc xử lý quá mức làm giảm độ ổn định của hệ nhũ tương, tăng chi phí và giảm hiệu suất năng lượng (McClements và cộng sự, 2022).

❖ Sấy và các thông số sấy

Sấy thường được áp dụng để loại bỏ nước khỏi dung dịch vi bao. Sấy phun và sấy thăng hoa là hai phương pháp phổ biến nhất. Mỗi phương pháp sấy có ưu và nhược điểm riêng. Sấy thăng hoa thường vận hành tại nhiệt độ thấp nên hạn chế quá trình oxy hóa nhưng đồng thời cũng hình thành các lỗ trong hạt vi bao do sự thăng hoa của nước dẫn đến sự thất thoát. Bên cạnh đó, phương pháp này có chi phí cao trong các kỹ thuật sấy. Trong khi đó, sự bay hơi nhanh chóng của nước do nhiệt độ sấy cao của phương pháp sấy phun giúp hình thành bề mặt khô, bảo vệ các thành phần lõi bên trong (Kuck và Noreña, 2016). Sơ đồ quá trình vi bao bằng sấy phun được thể hiện trong **Hình 1.4**. Phương pháp sấy phun vẫn được sử dụng phổ biến để vi bao vì hiệu quả vi bao cao, thời hạn sử dụng kéo dài đối với bột thu được, chi phí vận hành thấp, công nghệ tiết kiệm

năng lượng và quy trình nhanh chóng (Assadpour và Jafari, 2019). Quá trình vi bao bằng sấy phun giúp chuyển nguyên liệu thành dạng bột có độ ổn định cao hơn, giảm chi phí bảo quản và vận chuyển cũng như giúp việc ứng dụng được dễ dàng hơn. Ngoài ra, sấy phun phù hợp với các nguyên liệu nhạy cảm với nhiệt như hợp chất phenolic, anthocyanin vì thời gian tiếp xúc ngắn với nhiệt độ cao. Tuy nhiên, hiệu quả của quá trình sấy phun bị ảnh hưởng đáng kể bởi thời gian sấy và nhiệt độ sấy. Do đó, tối ưu điều kiện của quá trình sấy phun là cần thiết khi áp dụng sấy phun để vi bao hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly.



Hình 1.4. Sơ đồ quá trình vi bao bằng sấy phun

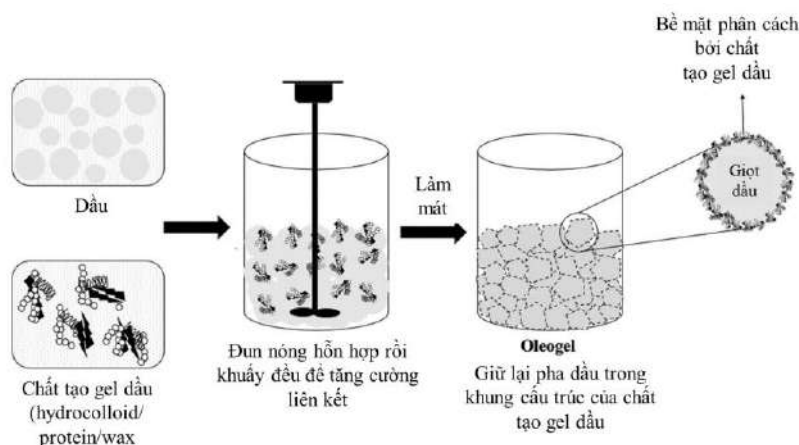
Quá trình vi bao bằng sấy phun có thể được tối ưu hóa theo hai hướng: (1) tối ưu các yếu tố ảnh hưởng đến độ ổn định dịch trước sấy phun; (2) tối ưu hóa các chế độ sấy phun. Các yếu tố quan trọng khi tối ưu hóa sấy phun là nhiệt độ sấy đầu vào và đầu ra, tốc độ dòng nhập liệu. Nhiều nghiên cứu được công bố cho thấy hiệu quả vi bao cũng như hiệu suất thu hồi bị ảnh hưởng đáng kể bởi các thông số trên. Nghiên cứu của Tsali và Goula (2018) cho thấy hiệu quả vi bao nói chung tăng khi nhiệt độ không khí đầu vào tăng. Tuy nhiên, khi nhiệt độ sấy quá cao trên 180°C thì sẽ gây nên tình trạng bị phá vỡ của các thành vỏ bao, làm tăng tổn thất các hợp chất hoạt tính (Tsali và Goula, 2018). Việc tăng nhiệt độ sấy đầu vào quá cao sẽ làm giảm các hợp chất có hoạt tính sinh học do sự phân hủy nhiệt và oxy hóa. Ngược lại, nhiệt độ không khí đầu vào thấp thì bột thu

hồi được có hàm lượng ẩm cao và dính, dẫn đến hiệu suất thu hồi thấp (Kha và cộng sự, 2010). Tốc độ dòng nhập liệu sẽ tác động đến hiệu quả của quá trình sấy phun. Tỷ lệ thu hồi bột sẽ giảm khi tốc độ dòng nhập liệu tăng ở cùng nhiệt độ không khí đầu vào do độ dính của sản phẩm. Tốc độ dòng nhập liệu cao làm việc loại bỏ ẩm không hiệu quả vì lượng nhiệt cung cấp cho mỗi mL nguyên liệu thấp. Ghandehari Yazdi và cộng sự (2021) cho rằng khi tăng tốc độ của dòng nguyên liệu từ 7 lên 13 mL/ phút sẽ làm giảm hiệu quả vi bao hợp chất phenolic khoảng 10%. Tác động tiêu cực của việc tăng tốc độ dòng nhập liệu nguyên nhân có thể do quá trình truyền nhiệt và truyền khối chậm hơn.

1.6.2 Tổng quan về vi bao bằng phương pháp tạo oleogel

1.6.2.1 Tổng quan về oleogel

Oleogel là gel bán rắn được tạo ra bằng cách bao bọc lượng lớn dầu, với mạng lưới tinh thể ba chiều tạo ra bởi một chất tạo gel dầu ở nồng độ nhất định (**Hình 1.5**).



Hình 1.5. Quy trình chuẩn bị oleogel

Nguồn: Parmar và cộng sự (2022)

Loại chất tạo gel dầu và kỹ thuật tạo gel dầu được sử dụng ảnh hưởng trực tiếp đến các đặc tính của oleogel được tạo thành (Sabet và cộng sự, 2024). Hai thành phần chính tham gia vào quá trình tạo gel dầu là hệ dầu nền cần được bao bọc và một chất tạo gel dầu. Các chất tạo gel dầu phổ biến nhất được sử dụng trong công nghiệp thực phẩm bao gồm sáp, phospholipid, alcohol hoặc este của axit béo, phytosterol và etylcellulose. Hai phương pháp tạo oleogel phổ biến là phương pháp gián tiếp và trực tiếp (Pinto và cộng sự, 2021). Phương pháp gián tiếp liên quan đến việc sử dụng dung môi hoặc các công đoạn bổ sung để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tạo gel bao gồm phương pháp dựa trên khuôn nhũ tương hai pha hoặc khuôn bột, phương pháp trao đổi ion. Mặt

khác, phương pháp trực tiếp bao gồm việc làm tan chảy chất tạo gel dầu trong dầu và tạo thành oleogel thông qua tương tác vật lý trong quá trình làm mát. Phương pháp gián tiếp thường dẫn đến các công thức phức tạp hơn. Phương pháp này thường sử dụng kỹ thuật đông khô hoặc trao đổi dung môi để loại bỏ hoặc thay thế nước để hình thành oleogel. Phương pháp gián tiếp ưu điểm hơn phương pháp trực tiếp trong việc giảm nồng độ của chất tạo gel trong hệ oleogel thành phẩm. Tuy nhiên, quy trình phức tạp của phương pháp gián tiếp đã thực sự hạn chế quy mô ứng dụng của nó trong công nghiệp thực phẩm. Trong khi đó, cấu trúc oleogel tạo thành từ phương pháp trực tiếp được xây dựng trên một mạng lưới các chất tạo gel, giúp hạn chế dòng chảy của dầu lỏng. Phương pháp trực tiếp đơn giản, hiệu quả và giữ lại các đặc tính tự nhiên của dầu.

1.6.2.2 Vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học bằng oleogel

Vi nang hóa dựa trên oleogel là một phương pháp mới, tận dụng các đặc tính riêng biệt của oleogel bán rắn để giữ hiệu quả các hợp chất có hoạt tính sinh học. Quy trình bao gồm việc gia nhiệt hỗn hợp dầu và chất tạo gel dầu trên điểm nóng chảy của chất tạo gel để đạt được sự hòa trộn hoàn toàn, sau đó làm mát có kiểm soát để tạo thành mạng lưới ba chiều ổn định. Sau khi hình thành gel, các hợp chất có hoạt tính sinh học có thể được đưa vào bằng cách trộn trực tiếp trong bước làm mát hoặc bằng cách phân tán trước trong một phần nhỏ dầu để tăng cường độ hòa tan và tính đồng nhất. Các đặc điểm về cấu trúc và kết cấu của oleogel được điều chỉnh bằng cách thay đổi một số yếu tố như loại chất tạo gel, thành phần pha dầu và điều kiện xử lý để tối ưu hóa hiệu quả vi bao (Pinto và cộng sự, 2021). Mặc dù có tính linh hoạt, oleogel có khả năng tương thích hạn chế với các hệ thống thực phẩm dạng nước. Để khắc phục hạn chế này, oleogel có thể được sử dụng trong nhũ tương được sản xuất bằng các kỹ thuật nhũ hóa thông thường, chẳng hạn như đồng hóa tốc độ cao (Mao và cộng sự, 2020). Sự tích hợp giữa oleogel hóa và nhũ tương hóa mở rộng tiềm năng và tính ứng dụng của oleogel trong công nghiệp thực phẩm, cho phép phát triển sản phẩm mới với hàm lượng chất béo thấp hơn. Hơn nữa, các hệ thống như vậy có thể tạo điều kiện thuận lợi cho việc vi bao các hoạt chất sinh học ưa nước cũng như ưa dầu, cho phép mở rộng các ứng dụng chức năng như chất thay thế chất béo trong thực phẩm. Việc kết hợp các hợp chất hoạt tính sinh học vào oleogel giúp tạo thành các oleogel hoạt tính sinh học (Ferdaus và cộng sự, 2025). Hiện nay, chưa có nghiên cứu nào về ứng dụng oleogel trong vi bao dịch trích từ phụ

phẩm nho. Tuy nhiên, không phải tất cả các dịch trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học đều tương thích với hệ oleogel, do đó cần lựa chọn dung môi hay loại dịch trích phù hợp với hệ oleogel. Ngoài ra, sự phân bố không đồng đều các hợp chất sinh học trong ma trận oleogel, nồng độ chất tạo gel dầu, tốc độ làm mát, loại dầu cũng có khả năng ảnh hưởng đến đặc tính lưu biến và hiệu quả vi bao bằng oleogel.

Kết luận: Vi bao bằng phương pháp sấy phun và oleogel là phù hợp với dịch trích phụ phẩm nho. Tối ưu điều kiện của quá trình vi bao là cần thiết khi áp dụng sấy phun và oleogel để vi bao hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly nhằm thu được hiệu suất thu hồi cao nhất. Bột sấy phun và oleogel tối ưu cần đánh giá các đặc tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn cũng như các tính chất đặc trưng của chúng để cho thấy được tiềm năng của chúng như chất bảo quản tự nhiên trong thực phẩm.

1.7 Ứng dụng các hợp chất có hoạt tính sinh học như chất bảo quản tự nhiên

An toàn thực phẩm và phương pháp sạch trong chế biến thực phẩm luôn là ưu tiên hàng đầu thu hút các nhà nghiên cứu và nhà đầu tư. Các nhà sản xuất công nghiệp đang tìm kiếm các giải pháp để thay thế chất bảo quản hóa học, nâng cao giá trị sản phẩm và thể hiện trách nhiệm của công ty đối với sức khỏe khách hàng. Hiện nay, một số chất bảo quản tự nhiên đã xuất hiện trên thị trường như Proallium DMC là hợp chất kháng khuẩn từ tỏi và hành để sử dụng trong nước sốt và dưa chua; JS-PV J FIX 20404 là chất trích ly từ hạt bưởi để sử dụng như chất bảo quản tự nhiên trong các sản phẩm thịt, bánh và mì; dịch trích từ tre moso Takeguard™ (Takexlabo, Osaka, Nhật Bản) (Chibane và cộng sự, 2019). Dự kiến trong tương lai việc sử dụng chất bảo quản tự nhiên sẽ ngày càng tăng dần vì nhu cầu của thị trường (Chibane và cộng sự, 2019). Theo Antony và Narayanaswamy (2026), thị trường chất bảo quản tự nhiên chiếm khoảng 32,3% trong thị trường chất bảo quản thực phẩm, bao gồm các acid hữu cơ, dịch trích thực vật, chất kháng oxy hóa tự nhiên và các hợp chất từ quá trình lên men. Trong đó, dịch trích thực vật chiếm khoảng 20 – 25% của thị trường chất bảo quản tự nhiên.

Trên thực tế, sự phát triển của vi sinh vật và quá trình oxy hóa có thể bị ức chế bởi một số dịch trích thực vật như tinh dầu, curcumin, protein, anthocyanin, flavonoid, polyphenol. Trong đó, các hợp chất phenolic khá phổ biến trong tự nhiên như phenolic acid, diterpene phenol, flavonoid đặc biệt hiệu quả trong việc ức chế hoặc ngăn chặn sự phát triển vi sinh vật, làm chậm các phản ứng oxy hóa trong thực phẩm (Beya và cộng

sự, 2021). Ngày càng nhiều các báo cáo cho thấy hiệu quả của việc ứng dụng dịch trích ly thô hoặc dạng vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguồn phụ phẩm thực vật trong việc duy trì độ an toàn và cải thiện chất lượng của sản phẩm thực phẩm như kem (Çam và cộng sự, 2014), xúc xích (Tran và cộng sự, 2020; Zhang và cộng sự, 2017), bánh (Kaderides và cộng sự, 2020) và nước trái cây (Thakur và Thakur, 2020). Các hoạt tính của hợp chất sinh học nói chung và phenolic nói riêng trên sản phẩm thực phẩm bị ảnh hưởng bởi loại thực phẩm, tỷ lệ bổ sung, hàm lượng chất béo, nước, protein của thực phẩm (Chibane và cộng sự, 2019), điều kiện chế biến và loại chiết xuất (dịch trích thô hoặc vi bao) được ứng dụng (Kaderides và cộng sự, 2020). Nền sản phẩm được chọn ứng dụng là yếu tố then chốt trong việc đánh giá hiệu quả của việc bổ sung các hợp chất trích ly được từ các nguồn thực vật. Các đặc tính của kem, hoạt tính ức chế α -glucosidase và kháng oxy hóa được cải thiện thông qua bổ sung phenolic từ vỏ quả lựu. Bên cạnh đó, sản phẩm bổ sung bột vi bao phenolic cũng cho thấy khả năng được thị trường chấp nhận thông qua việc đánh giá cảm quan (Çam và cộng sự, 2014). Kaderides và cộng sự (2020) bổ sung bột dịch trích vỏ quả lựu được vi bao bằng chất bao gói từ phụ phẩm cam vào trong bánh giúp hoạt tính kháng oxy hóa của bánh được cải thiện một cách đáng kể so với bánh đối chứng. Ngoài ra, bánh bổ sung bột vi bao cũng có độ ổn định cao về chỉ số oxy hóa dầu. Theo Kaderides và cộng sự (2020), mặc dù dịch trích thô giúp tăng các thông số màu của bánh, hợp chất phenolic trong bánh bổ sung dịch trích thô vỏ quả lựu bị phân hủy nhanh hơn so với bổ sung hạt vi bao trong suốt quá trình nướng và bảo quản. Tuy nhiên, mức độ chấp nhận cảm quan của cả hai loại bánh vẫn tương đối cao (>70%). Vì vậy, xem xét ứng dụng của cả bột vi bao và oleogel là cần thiết để đánh giá được khả năng của từng loại trên nền thực phẩm cụ thể.

Đối với các nền sản phẩm động vật như xúc xích, thịt viên, chả, chúng chứa lượng đáng kể nước, chất béo và protein nên dễ bị oxy hóa và hư hỏng do vi sinh vật. Do đó, nhu cầu về chất kháng oxy hóa tự nhiên như dịch trích các hợp chất hoạt tính từ các nguồn phụ phẩm thực vật ngày càng tăng, được chứng minh qua số lượng các nghiên cứu gần đây (Afoakwah và cộng sự, 2015; Aykın-Dinçer và cộng sự, 2021; Zhang và cộng sự, 2017). Bột dịch trích từ củ cải đường được sử dụng trong sản xuất xúc xích lên men và xúc xích thanh trùng nhằm thay thế chất tạo màu carmine. Bên cạnh ảnh hưởng tích cực đến màu sắc của xúc xích, bột dịch trích củ cải đường còn giúp cải thiện chỉ số

oxy hóa dầu TBARS, làm tăng hàm lượng phenolic tổng số, betalain và hoạt tính kháng oxy hóa của xúc xích (Aykın-Dinçer và cộng sự, 2021). Tương tự, bột atisô giúp làm giảm thất thoát khi nấu (cooking loss), tăng hàm lượng ẩm, tăng cường độ ổn định oxy hóa và đặc tính kháng khuẩn của xúc xích (Afoakwah và cộng sự, 2015). Sự suy giảm kết cấu và quá trình oxy hóa trong xúc xích được bổ sung dịch trích đỉnh hương bị chậm lại khi so với mẫu đối chứng ở điều kiện bảo quản 4°C trong 21 ngày (Zhang và cộng sự, 2017). Có thể thấy, xúc xích là nền thực phẩm có tiềm năng để ứng dụng bột vi bao hay oleogel từ dịch trích thực vật. Tuy nhiên, cần lưu ý là đa số các sản phẩm xúc xích được lựa chọn ứng dụng là loại thanh trùng (Aykın-Dinçer và cộng sự, 2021) hoặc không xử lý nhiệt (Boeira và cộng sự, 2020; Tran và cộng sự, 2020) để tránh ảnh hưởng của nhiệt độ đến các tính chất của dịch trích thực vật. Xét về mặt cảm quan, bổ sung 2% bột dịch trích hay 5% dịch trích củ cải đường vẫn đảm bảo về giá trị cảm quan tổng thể của xúc xích thành phẩm (Aykın-Dinçer và cộng sự, 2021). Tỷ lệ bổ sung bột vi bao atisô có thể lên đến 9% giúp hoạt tính kháng oxy hóa trong sản phẩm tăng cao (Afoakwah và cộng sự, 2015). Do đó, tỷ lệ bổ sung dịch trích không vượt quá 2% và đối với bột vi bao là 10% được chứng minh có thể phù hợp cho các sản phẩm ứng dụng (Aykın-Dinçer và cộng sự, 2021; Thakur và Thakur, 2020; Zhang và cộng sự, 2017).

Kết luận: Các sản phẩm vi bao dịch trích từ các nguồn phụ phẩm thực vật nói chung và phụ phẩm nho nói riêng có tiềm năng ứng dụng trong thực phẩm, đặc biệt là như chất bảo quản tự nhiên trong xúc xích thanh trùng, nhờ vào hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn của các hợp chất hoạt tính sinh học. Tuy nhiên, lựa chọn tỷ lệ bổ sung bột vi bao hay oleogel phù hợp là điều quan trọng và cần quan tâm đến những thay đổi về một số chỉ tiêu chất lượng như pH, hàm lượng ẩm, kết cấu bên cạnh các thay đổi về vi sinh vật.

1.8 Tổng quan về tối ưu hóa trong công nghiệp thực phẩm

Tối ưu hóa đề cập đến việc cải thiện hiệu suất của một hệ thống, một quy trình hoặc một sản phẩm để có được kết quả tốt nhất (có thể là tối đa hoặc tối thiểu). Theo truyền thống, các thí nghiệm thường được thực hiện bằng cách khảo sát sự ảnh hưởng của một yếu tố tại một thời điểm trong thực nghiệm. Nhược điểm chính của dạng thí nghiệm này là không thể hiện các tương tác giữa các biến được nghiên cứu. Một nhược điểm khác của thí nghiệm một yếu tố là tăng số lượng thí nghiệm cần thiết, dẫn đến tăng

thời gian và chi phí cũng như lãng phí nguyên liệu, hóa chất. Để khắc phục vấn đề này, việc tối ưu hóa các quy trình đã được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật thống kê đa biến. Trong số các kỹ thuật thống kê đa biến, tối ưu hóa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (Response surface methodology – RSM) là được sử dụng phổ biến nhất. Một số giai đoạn trong việc áp dụng RSM như một kỹ thuật tối ưu hóa như sau: (1) Lựa chọn các biến độc lập có ảnh hưởng ý nghĩa đến quá trình thông qua các thí nghiệm sàng lọc dựa trên mục tiêu của nghiên cứu và kinh nghiệm của người nghiên cứu; (2) Lựa chọn mô hình thiết kế thí nghiệm; (3) Mã hóa các mức của biến; (4) Thực hiện các thí nghiệm theo ma trận thí nghiệm đã bố trí; (5) Xử lý thống kê về toán học của dữ liệu thực nghiệm thu được dựa trên sự phù hợp của hàm đa thức và (6) Xác định điều kiện tối ưu (Bezerra và cộng sự, 2008). Lựa chọn mô hình thiết kế thí nghiệm là bước quan trọng. Để xác định điểm tối hạn (tối đa, tối thiểu hoặc yên), một phương trình hồi quy đa thức bậc hai dựa trên dữ liệu thực nghiệm được mô tả như sau (Bezerra và cộng sự, 2008):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i \neq j=1}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

Trong đó: Y là đáp ứng, β_0 là hệ số tự do hoặc chặn mô hình (model intercept), β_i , β_{ii} và β_{ij} lần lượt là hệ số hồi quy cho các ảnh hưởng tuyến tính, bậc hai và tương tác của mô hình, X_i và X_j là các yếu tố, k là số lượng các yếu tố, ε là sai số ngẫu nhiên.

Một số thiết kế thí nghiệm được sử dụng trong RSM là Box-Behnken, thiết kế phối hợp có tâm (CCD – Central Composite Design), ma trận Doehlert, thiết kế giai thừa đầy đủ. Các thiết kế này khác nhau về điểm thử nghiệm, số mức cho biến và số lần thí nghiệm. Phương pháp bề mặt đáp ứng với thiết kế CCD cho thấy khả năng tốt trong việc tối ưu quá trình trích ly và vi bao các hợp chất từ phụ phẩm nho. Thiết kế phối hợp có tâm có các đặc điểm: (i) số thí nghiệm theo $N = k^2 + 2k + c_p$, trong đó k là số yếu tố và c_p là số lần lặp của điểm tâm; (ii) giá trị α phụ thuộc vào số lượng biến và có thể được tính bằng công thức $\alpha = 2^{(k-p)/4}$; (iii) tất cả các yếu tố được nghiên cứu trong năm mức $(-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha)$; (iv) Thiết kế CCD được xem là có tính cầu khi tất cả nghiệm thức (trừ nghiệm thức tâm) nằm trên một mặt cầu trong không gian yếu tố đã được mã hóa.

Trong quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học, có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến đáp ứng bao gồm thời gian, nhiệt độ, nồng độ dung môi, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu. Một số các yếu tố đặc trưng khác như mức năng lượng siêu âm trong trường hợp trích ly bằng siêu âm hay tỷ lệ HBA: HBD, tỷ lệ nước bổ sung nếu trích ly bằng

dung môi eutectic sâu. Trong khi đó, quá trình vi bao sẽ chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố như tỷ lệ lõi: vỏ bao, loại vỏ bao. Tất cả các yếu tố đều có ảnh hưởng riêng lẻ, nhưng điều cần thiết là phải biết được tác động tương tác của chúng để hiểu rõ toàn bộ quy trình. Điều kiện trích ly phenolic từ vỏ nho bằng CO₂-H₂ siêu tới hạn được xác định là 80 bar, 60°C và 5 phút, thông qua sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng với thiết kế CCD (Alwazeer và cộng sự, 2026). Đối với vi bao, Hasani và cộng sự (2025) đã tối ưu hóa các điều kiện vi bao polyphenol từ phụ phẩm nho bằng vỏ bao maltodextrin kết hợp gum từ hạt húng quế ngọt bao gồm 12,129% maltodextrin, 0,5% gum từ hạt húng quế ngọt và nhiệt độ đầu vào là 177,22°C.

Kết luận: Việc áp dụng phương pháp bề mặt đáp ứng trong tối ưu hóa các quy trình trích ly và vi bao các hợp chất trích ly được từ phụ phẩm trong công nghiệp thực phẩm ngày càng phổ biến và cho thấy hiệu quả cao. Tuy nhiên, để sử dụng phương pháp này trong tối ưu hóa, một loạt các bước cần được tuân thủ cẩn thận. Điều cần thiết là phải có đưa ra được những lựa chọn yếu tố và khoảng khảo sát chính xác.

Chương 2

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên vật liệu

2.1.1 Phụ phẩm nho

Phụ phẩm nho sau công đoạn ép lấy dịch của quá trình chế biến nước ép được thu gom từ Công ty Trách nhiệm hữu hạn sản xuất thương mại dịch vụ Ba Mọi, Tỉnh Ninh Thuận, Việt Nam (**Phụ lục I.1, Hình PL I.1**). Nho được trồng theo tiêu chuẩn VietGAP. Phụ phẩm nho bao gồm vỏ ($69,6 \pm 3,0\%$), hạt ($19,9 \pm 2,9\%$) và cành ($10,5 \pm 2,2\%$). Phụ phẩm nho sau khi thu gom tại công ty sẽ được vận chuyển về Khoa Công Nghệ Hóa Học và Thực Phẩm, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh. Phụ phẩm nho được xử lý bằng cách loại bỏ cành, hạt. Vỏ nho sau đó sẽ được sấy bơm nhiệt trong 12 giờ, ở nhiệt độ 35°C đến hàm lượng ẩm nguyên liệu đạt dưới 10%. Mật độ sấy mẫu là $3,0 \text{ kg/m}^2$, tốc độ gió là $1,8 \text{ m/s}$ (**Phụ lục I.4**). Vỏ nho khô sẽ được xay mịn, rây bằng máy lắc sàng rây (Jisico, Hàn Quốc) với kích thước lỗ sàng $0,5 \text{ mm}$. Bột vỏ nho được đóng gói hút chân không, bảo quản ở nhiệt độ -18°C đến khi sử dụng.

2.1.2 Hóa chất, enzyme, phụ gia, phụ liệu

Hóa chất định tính các nhóm chất: Acetic acid (99,7%), sulfuric acid (95%), chloroform (99%), sodium hydroxide, hydrochloric acid (35%), sodium carbonate (99%), copper (II) sulfate, iodine (99%) được mua từ công ty Duksan (Hàn Quốc). Potassium sodium L-tartrate tetrahydrate, iron (III) chloride (99%), lead acetate (99,5%), gelatine, naphthol, copper (II) acetate và 2,4,6-trinitrophenol (picric acid) được mua từ công ty Xilong (Trung Quốc). Kali iodide (99%) được mua từ công ty Duchefa (Hà Lan).

Hóa chất trích ly: Choline chloride ($>99\%$, Himedia, Ấn Độ), citric acid (2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylic acid) (99,5%, Xilong, Trung Quốc), malic acid (2-hydroxybutandioic acid) (Isegen, Nam Phi), lactic acid (2-hydroxypropanoic acid) (85,5 – 90%, Xilong, Trung Quốc), glycerol (propane-1,2,3-triol) (99%, Xilong, Trung Quốc),

ethylene glycol (Ethane-1,2-diol) (99,5%, Xilong, Trung Quốc), 1-4 butanediol (butane-1,4-diol) (99%, Xilong, Trung Quốc).

Hóa chất phân tích hàm lượng phenolic, saponin và proanthocyanidin: Folin-Ciocalteu (Himedia, Ấn Độ); vanillin (>98%, Himedia, Ấn Độ); methanol (99,8%, Fisher, Hoa Kỳ), ethanol (99,8%, Fisher, Hoa Kỳ), acetonitrile (99,8%, Fisher, Hoa Kỳ), formic acid (99%, Fisher, Hoa Kỳ).

Chất chuẩn: Epicatechin (98%, Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ), catechin ($\geq 96\%$, Thermo Fisher Scientific, Anh), myricetin (96%, Cool Chemistry, Trung Quốc), rutin (88,5%) và kaempferol (98,9%) (Viện kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam), aescin ($\geq 95\%$, Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ), gallic acid (98%) và quercetin (98%) (Himedia, Ấn Độ).

Enzyme: Celluclast 1.5 L (Novozyme, Đan Mạch) có hoạt lực 700 EGU/g, pH hoạt động 3,4 – 5,5, nhiệt độ hoạt động 30 – 55°C, tỷ trọng 1,22 g/mL. Pectinex Ultra SP-L (Novozyme, Đan Mạch) có hoạt lực 3800 PGNU/mL, pH hoạt động 3,5 – 4,5, nhiệt độ hoạt động 15 – 55°C, tỷ trọng 1,16 g/mL.

Nguyên liệu, phụ gia sử dụng vi bao bằng sấy phun: Maltodextrin (DE 15 – 20, Trung Quốc), gum arabic (Pháp), tinh bột biến tính (Neo Foodtech, Việt Nam), whey protein isolate (Bluetech Ingredients Ltd, Việt Nam), protein đậu nành isolate (Sandong Yuxin, Trung Quốc).

Nguyên liệu, phụ gia tạo oleogel: Dầu hướng dương (SFO) (Simply, Công ty TNHH Dầu thực vật Calofic, Việt Nam), sáp ong (BW – Beeswax) của Công ty TNHH Công nghệ Sinh học Henan Fumei (Trung Quốc), glycerol monostearate (GMS) và chất nhũ hóa Finamul 90 (F90) (tên khác là Distilled Monoglycerides (DMG) - Mono và Diglyceride của axit béo) từ công ty Fine Organic Industries Limited (Ấn Độ).

Chất bảo quản: Bột dịch trích sơ ri (Verdad powder AC34, Corbion, Hà Lan), nisin (Amtech Biotech, Trung Quốc).

2.1.3 Thiết bị và dụng cụ

Danh sách máy và thiết bị sử dụng trong nghiên cứu được liệt kê trong **Bảng 2.1**. Dụng cụ thí nghiệm: dụng cụ thủy tinh (cốc, ống nghiệm, pipette, ống đong, bình tam giác, cuvette), micropipette, giấy lọc, đầu tuýp, găng tay cao su, lọc syringe sắc ký PTFE 0,45 μm , vial sắc ký màu nâu 1,5 mL, ống ly tâm 15 mL, sàng (lỗ sàng 0,5 mm).

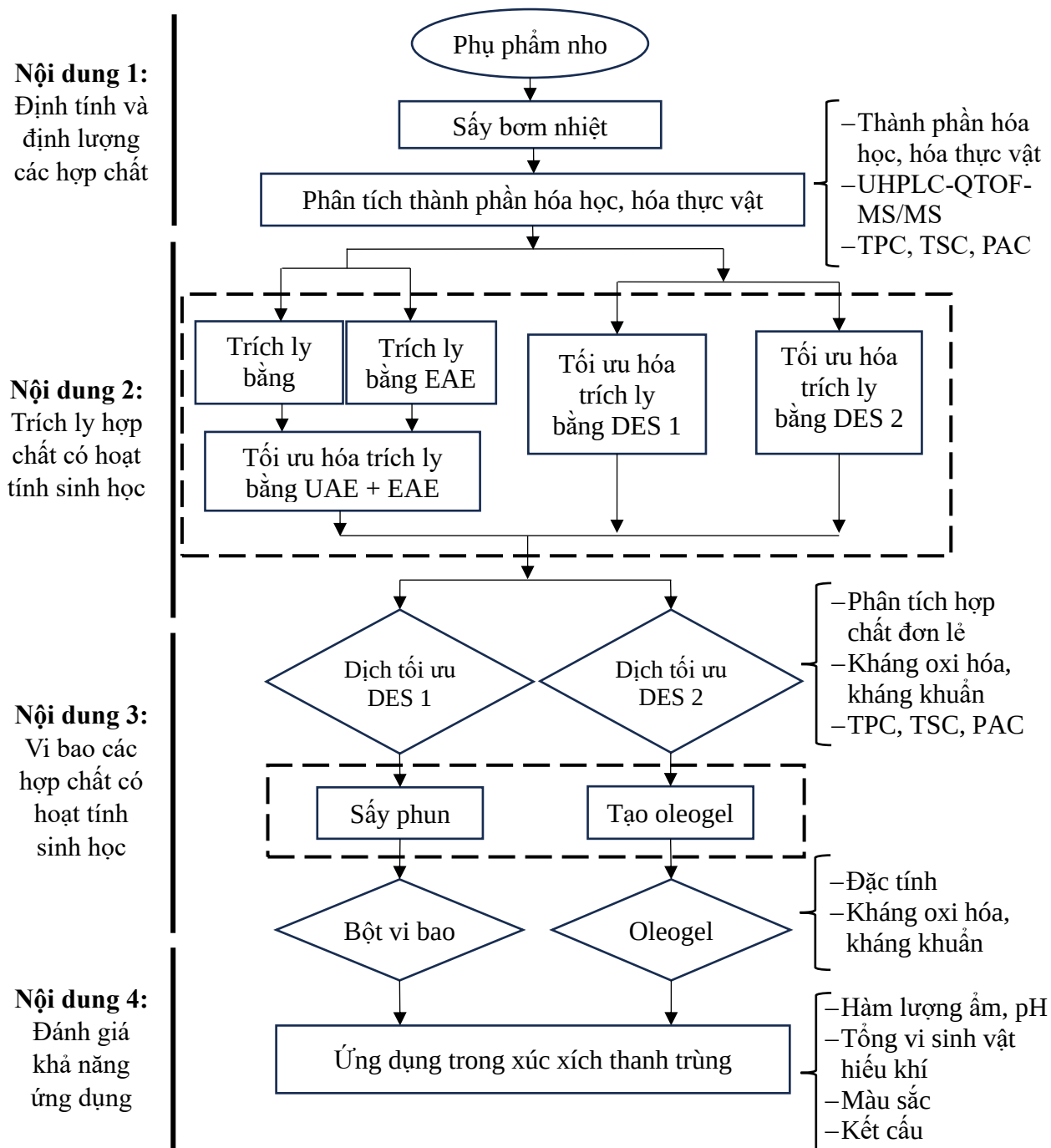
Bảng 2.1. Danh sách máy và thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên	Hãng sản xuất	Nước sản xuất
1	Máy lọc sàng rây	Jisico	Hàn Quốc
2	Cân phân tích PA3202	Ohaus	Hoa Kỳ
3	Cân phân tích CPA-324S	Sartorius	Đức
4	Máy LC-MS ExionLCTM - X500R QTOF	AB Sciex	Hoa Kỳ
5	Lò nung ELF 11/6	Carbolite	Anh
6	Cột Hypersil GOLD 150 x 2,1; 3 μ	Thermo Scientific	Hoa Kỳ
7	Máy HPLC SPD-20A	Shimadzu	Hoa Kỳ
8	Cột Inertsil ODS – 3 (4,6 x 250 mm, cỡ hạt 4 μ m)	GL Science	Nhật Bản
9	Máy UV-Vis Agilent 8453	Agilent technologies	Hoa Kỳ
10	Máy sấy ẩm hồng ngoại MX-50	A&D	Nhật Bản
11	Máy siêu âm dạng thanh UP50H	Hielscher	Đức
12	Bể ổn nhiệt WNB 14	Memmert	Đức
13	Máy khuấy từ có gia nhiệt RSM02HS	Phoenix	Đức
14	Máy ly tâm lạnh Universal 320R	Hettich	Đức
15	Máy sấy phun L-8i	Ohkawara Kakohki	Nhật Bản
16	Máy đồng hóa SHG-15A	SciLab	Hàn Quốc
17	Kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường điện tử FESEM S4800 + Máy phủ E1045 Pt	Hitachi	Nhật Bản
18	Máy đo hoạt độ nước Aqualab Series 3	Decagon Devices	Hoa Kỳ
19	Máy đo nhiễu xạ tia X để bàn D2 Phaser	Bruker	Đức
20	Máy phân tích nhiệt quét vi sai DSC300 Caliris Select	NETZSCH	Đức
21	Máy quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier FTIR Cary 630	Agilent Technologies	Hoa Kỳ
22	Máy đo kích thước hạt bằng nhiễu xạ laser LS 13 320	Beckman Coulter	Hoa Kỳ
23	Kính hiển vi phân cực DM 2500P và camera lạnh DFC450	Leica	Đức
24	Máy đo lưu biến DX2TRVKB0	Brookfield	Hoa Kỳ
25	Máy đo lưu biến DV2TLVCJ0	Brookfield	Hoa Kỳ
26	Máy phân tích kết cấu Z1.0	Zwick/Roell	Đức
27	Máy đo màu CR-400	Konica Minolta	Nhật Bản
28	Máy pH HI98194	Hanna	Việt Nam

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Nội dung nghiên cứu của luận án được thể hiện trong **Hình 2.1**. Luận án bao gồm bốn nội dung chính là (1) Phân tích thành phần hóa học, các hợp chất hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho, (2) Trích ly hợp chất có hoạt tính sinh học bằng phương pháp trích ly có hỗ trợ enzyme, trích ly có hỗ trợ siêu âm, trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm –

enzyme và trích ly bằng hai loại dung môi eutectic sâu, (3) Vi bao các hợp chất hoạt tính trong dịch trích bằng phương pháp sấy phun và oleogel, (4) Đánh giá khả năng ứng dụng bột sấy phun và oleogel tối ưu trong sản phẩm xúc xích thanh trùng.



Hình 2.1. Các nội dung nghiên cứu của luận án

UAE: Trích ly có hỗ trợ siêu âm, EAE: Trích ly có hỗ trợ enzyme, DES: Dung môi eutectic sâu. TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin.

2.2.1 Nội dung 1: Phân tích thành phần hóa học, các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho

2.2.1.1 Phân tích thành phần hóa học phụ phẩm nho

Bột phụ phẩm nho được định lượng thành phần hóa học bao gồm hàm lượng ẩm, carbohydrate, protein, chất béo, tro. Hàm lượng tổng các hợp chất (TPC – Total phenolic content – Hàm lượng phenolic tổng, TSC – Total saponin content – Hàm lượng saponin tổng, PAC – Proanthocyanidin content – Hàm lượng proanthocyanidin) được định lượng bằng phương pháp quang phổ (Máy UV-Vis Agilent 8453, Agilent technologies, Hoa Kỳ). Bột phụ phẩm nho được trích ly bằng ethanol 50%, nhiệt độ 50°C, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 15:1 (v/w) và thời gian trích ly là 2 giờ (Nguyen và cộng sự, 2023).

2.2.1.2 Định tính và định lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho

Bột phụ phẩm nho sẽ được định tính các nhóm chất bằng các phép thử hóa thực vật được thể hiện trong **Bảng 2.2**.

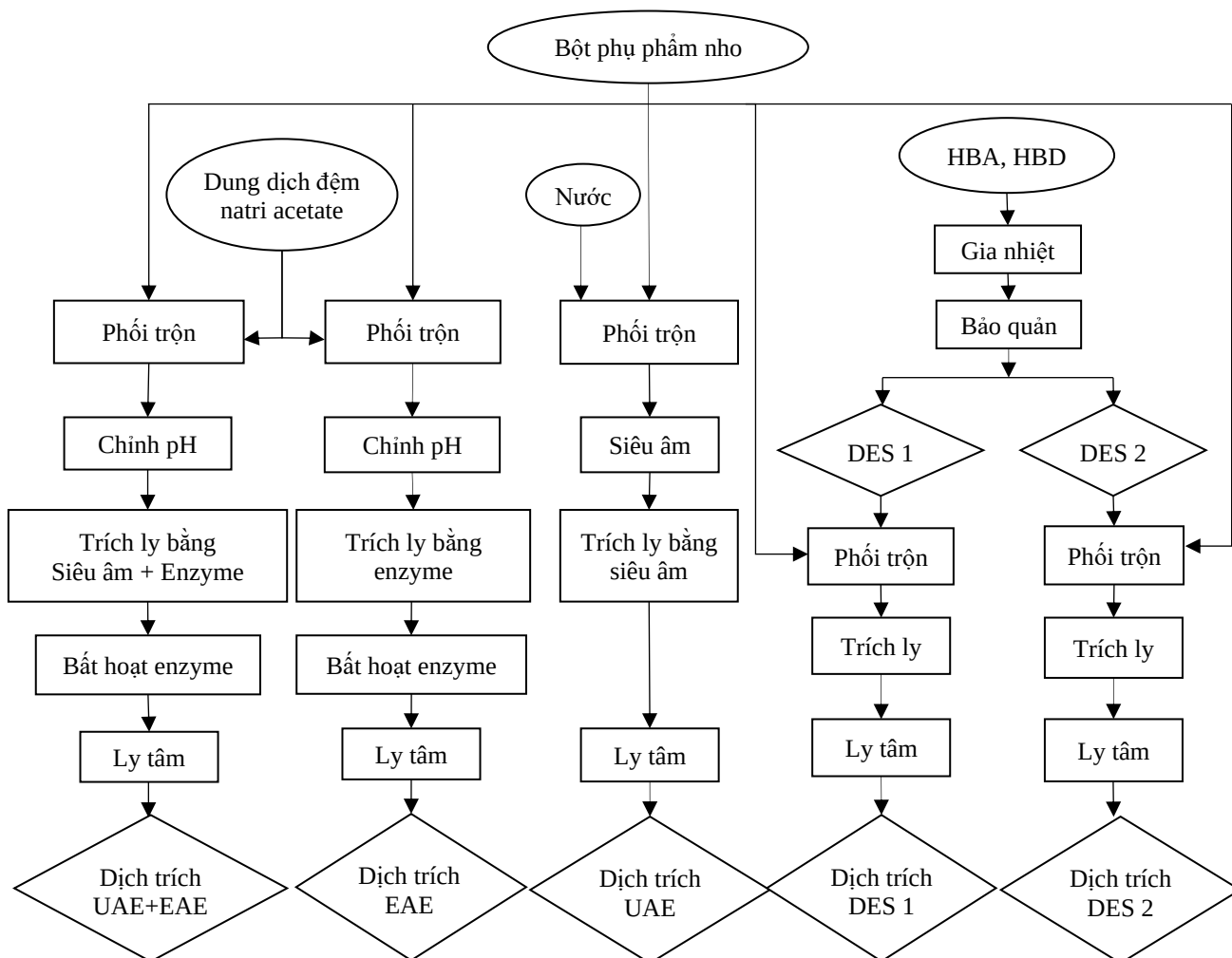
Bảng 2.2. Các phép thử hóa thực vật để định tính các nhóm chất trong phụ phẩm nho

STT	Nhóm chất	Phép thử	Tài liệu tham khảo
1	Alkaloid	Hager Wagner	Mukherjee (2019)
2	Glycoside	Keller-Kiliani	Yadav và Agarwala (2011)
3	Flavonoid	Kiểm Chì acetate	Pandey và Tripathi (2014) Tyagi và Agarwal (2017)
4	Tannin	Gelatine Braymer	Shaikh và Patil (2020) Akter và cộng sự (2018)
5	Saponin	Foam Frothing	Pandey và Tripathi (2014) Shaikh và Patil (2020)
6	Phytosterol	Libermann-Burchard	Pandey và Tripathi (2014)
7	Diterpenoid	Đồng acetate	Pandey và Tripathi (2014)
8	Carbohydrate	Fehling Molisch	Yadav và cộng sự (2014) Elzagheid (2018)

Một số hợp chất phenolic và saponin đơn lẻ có trong phụ phẩm nho sẽ được định danh bằng sắc ký lỏng khối phổ hai lần (Liquid chromatography-mass spectrometry – LC-MS/MS).

2.2.2 Nội dung 2: Tối ưu hóa quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho

Quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho được thể hiện trong **Hình 2.2**.



Hình 2.2. Quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng các phương pháp khác nhau

UAE+EAE: Trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm và enzyme, EAE: Trích ly có hỗ trợ enzyme, UAE: Trích ly có hỗ trợ siêu âm, DES: Dung môi eutectic sâu.

2.2.2.1 Tối ưu hóa quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng phương pháp kết hợp siêu âm và enzyme

❖ Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quy trình trích ly có hỗ trợ enzyme

Cân 5 g bột phụ phẩm nho vào bình thủy tinh, thêm dung dịch đệm sodium acetate pH 4,5 theo tỷ lệ dung môi: nguyên liệu khảo sát (8:1, 10:1, 12:1 và 14:1 (v/w)), khuấy đều hỗn hợp. Hỗn hợp được chỉnh pH bằng acetic acid và natri hydroxide thực phẩm.

Tiếp đến, gia nhiệt hỗn hợp đến nhiệt độ khảo sát (40, 50 và 60°C) bằng bể ổn nhiệt WNB 14 (Mettler, Đức). Sau đó, enzyme được thêm vào theo hàm lượng được khảo sát khác nhau. Hỗn hợp được khuấy đều ở tốc độ khuấy 200 vòng/ phút trong suốt thời gian thủy phân (60, 120, 180 và 240 phút). Sau khi kết thúc thủy phân, tiến hành vô hoạt enzyme bằng cách gia nhiệt ở 85°C trong 5 phút trong bể điều nhiệt. Tiếp theo, hỗn hợp được làm nguội nhanh. Hỗn hợp sau đó được ly tâm tốc độ 4.000 vòng/ phút (15 phút) bằng máy ly tâm lạnh Universal 320R (Hettich, Đức). Dịch trích ly ở bên trên được thu hồi và phân tích chỉ tiêu TPC, TSC và PAC.

+ ***Xác định ảnh hưởng của loại enzyme đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Trong đó, yếu tố thí nghiệm là loại enzyme (pectinase, cellulase, kết hợp enzyme) (Štambuk và cộng sự, 2016; Le và Le, 2012) .

Yếu tố cố định: Hàm lượng cellulase 14 U/g và pectinase 76 U/g, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (10:1 v/w), nhiệt độ trích ly (50°C), thời gian trích ly (120 phút) (Štambuk và cộng sự, 2016; Le và Le, 2012), pH thủy phân 4,5.

+ ***Xác định ảnh hưởng của hàm lượng enzyme đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 2 yếu tố với 3 lần lặp lại. Yếu tố thí nghiệm là hàm lượng enzyme cellulase (14, 28, 42 và 56 U/g) và hàm lượng enzyme pectinase (76 và 152 U/g) (Štambuk và cộng sự, 2016; Le và Le, 2012).

Yếu tố cố định: Loại enzyme được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (10:1 v/w), nhiệt độ trích ly (50°C) trong 120 phút, pH thủy phân 4,5.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm là tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (8:1, 10:1, 12:1 và 14:1 v/w).

Yếu tố cố định: Loại enzyme, hàm lượng enzyme được chọn từ các thí nghiệm khảo sát trước, nhiệt độ trích ly (50°C) trong 120 phút, pH thủy phân 4,5.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm là nhiệt độ trích ly (40, 50 và 60°C).

Yếu tố cố định: Loại enzyme, hàm lượng enzyme và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước, thời gian (120 phút), pH thủy phân 4,5.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của thời gian trích ly đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm là thời gian trích ly (60, 120, 180 và 240 phút) (Tomaz và cộng sự, 2016).

Yếu tố cố định: Loại enzyme, hàm lượng enzyme, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, nhiệt độ trích ly được chọn từ các thí nghiệm khảo sát trước, pH thủy phân 4,5.

❖ ***Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quy trình trích ly có hỗ trợ siêu âm***

Bột phụ phẩm nho (5 g) được phối trộn với nước cất theo tỷ lệ khảo sát (8:1, 10:1, 12:1, 14:1 và 16:1 v/w), dùng máy khuấy hỗn hợp trong 5 phút. Tiến hành siêu âm theo các mức năng lượng siêu âm khác nhau (0, 9, 12, 15 và 18 W/g) trong các khoảng thời gian khảo sát (5, 10 và 15 phút), sử dụng máy siêu âm dạng thanh UP50H (Hielscher, Đức). Sau khi trích ly, mẫu được ly tâm 4.000 vòng/ phút (15 phút) bằng máy ly tâm lạnh Universal 320R (Hettich, Đức), sau đó dịch trích ly bên trên được thu hồi cho phân tích các chỉ tiêu TPC, TSC và PAC.

+ ***Khảo sát sự ảnh hưởng của mức năng lượng siêu âm đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm là mức năng lượng siêu âm (0, 9, 12, 15 và 18 W/g) (Le và Le, 2012).

Yếu tố cố định: Thời gian siêu âm 10 phút, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 v/w, thời gian trích ly 60 phút, nhiệt độ trích ly 50°C.

+ ***Khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Trong đó, yếu tố thí nghiệm là thời gian siêu âm (5, 10 và 15 phút) (Le và Le, 2012).

Yếu tố cố định: Mức năng lượng siêu âm được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 v/w, nhiệt độ trích ly 50°C trong 60 phút.

+ ***Khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm là tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (8:1, 10:1, 12:1, 14:1 và 16:1 v/w) (Avdović và cộng sự, 2025).

Yếu tố cố định: Mức năng lượng và thời gian siêu âm được chọn từ các thí nghiệm khảo sát trước, nhiệt độ trích ly 50°C trong 60 phút.

+ ***Khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian trích ly đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm là thời gian trích ly (20, 30, 40, 50 phút).

Yếu tố cố định: Mức năng lượng và thời gian siêu âm, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu được chọn từ các thí nghiệm khảo sát trước, nhiệt độ trích ly 50°C.

❖ ***Tối ưu hóa quy trình trích ly bằng phương pháp kết hợp siêu âm và enzyme***

Tiến hành so sánh các phương pháp đơn lẻ (EAE hoặc UAE) với các phương pháp kết hợp là U-EAE (Combined ultrasound–enzyme–assisted extraction – Trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm – enzyme) và E-UAE (Combined enzyme–ultrasound–assisted extraction – Trích ly có hỗ trợ kết hợp enzyme – siêu âm) để xác định được phương pháp trích ly có hiệu quả cao nhất. Trong đó, U-EAE được thực hiện bằng cách thủy phân bột phụ phẩm nho trước khi siêu âm. U-EAE được tiến hành bằng cách cho mẫu bột phụ phẩm nho tiếp xúc với tác động của siêu âm trước khi áp dụng enzyme.

Sau đó, phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM – Response Surface Methodology) được áp dụng để tối ưu hoá thông số trích ly bằng phương pháp được lựa chọn từ thí nghiệm so sánh. Dựa trên kết quả phân tích các chỉ tiêu và phân tích thống kê, tiến hành lựa chọn khoảng giá trị thích hợp của các yếu tố có ảnh hưởng có ý nghĩa về mặt thống kê, tiến hành tối ưu hoá các điều kiện trích ly để đạt hàm lượng các hợp chất mục tiêu (TPC, TSC và PAC) thu hồi được cao.

Mô hình đa thức bậc hai được trình bày như sau: $Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2$

2.2.2.2 Tối ưu hóa quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng DES

❖ Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quy trình trích ly bằng DES

+ Khảo sát ảnh hưởng của loại DES đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho

Dung dịch DES được chuẩn bị với HBA (choline chloride) và các HBD khác nhau (citric acid, lactic acid, malic acid, glycerol, ethylene glycol, 1,4-butanediol). Các hỗn hợp được khuấy ở 80°C trong 1,5 giờ bằng máy khuấy từ có gia nhiệt RSM02HS (Phoenix, Đức) cho đến khi thu được chất lỏng không màu, trong suốt và đồng nhất. Dịch trích ly thu được từ quy trình trích ly bằng các DES khác nhau được phân tích để xác định được hai loại DES phù hợp cho các mục đích ứng dụng khác nhau. Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm TPC, TSC, PAC.

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 yếu tố, 3 lần lặp lại, yếu tố thí nghiệm là loại DES (choline chloride: citric acid (ChCl-CA) (2:1, w/w), choline chloride: malic acid (ChCl-MA) (1:1, w/w), choline chloride: lactic acid (ChCl-LA) (1:2, w/w), choline chloride: glycerol (ChCl-Gly) (1:2, w/w), choline chloride: 1,4-butanediol (ChCl-1,4 But) (1:2, w/w), choline chloride: ethylene glycol (ChCl-EG) (1:2, w/w), choline chloride: glycerol: citric acid (ChCl-Gly-CA) (1:1:1, w/w/w), choline chloride: glycerol: malic acid (ChCl-Gly-MA) (1:1:1, w/w/w), choline chloride: glycerol: lactic acid (ChCl-Gly-LA) (1:1:1, w/w/w)) (Ali và cộng sự, 2019; Lin và cộng sự, 2022; Lu và Liu, 2022).

Yếu tố cố định: hàm lượng nước (30%), tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (20:1 v/w), nhiệt độ trích ly 30°C trong 90 phút.

+ Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm là tỷ lệ HBA: HBD. Các mức của yếu tố (Lin và cộng sự, 2022; Lu và Liu, 2022):

- Choline chloride: lactic acid (1:1, 2:1, 1:2 và 1:3 w/w), hoặc
- Choline chloride: glycerol: citric acid (1:2:1, 1:1:2, 2:1:1 và 1:1:1 w/w/w)

Yếu tố cố định: Loại DES chọn từ thí nghiệm khảo sát trước, hàm lượng nước (30%), tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 20:1 v/w, nhiệt độ trích ly 30°C trong 90 phút.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng nước đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Trong đó, yếu tố thí nghiệm là hàm lượng nước.

Các mức của yếu tố (Lin và cộng sự, 2022):

- Đối với DES từ choline chloride: lactic acid: Hàm lượng nước là 10, 15, 20, 25, 30 và 35%.
- Đối với DES từ choline chloride: glycerol: citric acid: Hàm lượng nước là 25, 30, 35 và 40% .

Yếu tố cố định: Loại DES, tỷ lệ HBD: HBA được chọn từ các thí nghiệm trước, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (20:1 v/w), nhiệt độ trích ly 30°C trong 90 phút.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm là tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (15:1 – 30:1, v/w) (Lin và cộng sự, 2022)

Yếu tố cố định: Loại DES, tỷ lệ HBD: HBA, hàm lượng nước được chọn từ các thí nghiệm trước, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 20:1 (v/w), nhiệt độ trích ly 30°C trong 90 phút.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm là nhiệt độ trích ly (30, 40, 50, 60 và 70°C) (Lin và cộng sự, 2022).

Yếu tố cố định: : Loại DES, tỷ lệ HBD: HBA, hàm lượng nước, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đã được chọn từ các thí nghiệm trước, thời gian trích ly (90 phút).

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của thời gian trích ly đến khả năng trích ly các hợp chất trong bột phụ phẩm nho***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm là thời gian trích ly.

Các mức của yếu tố:

- Đối với DES từ choline chloride: lactic acid: Thời gian trích ly là 60; 90; 120 và 150 phút.
- Đối với DES từ choline chloride: glycerol: citric acid: Thời gian trích ly là 90; 120, 150 và 180 phút.

Yếu tố cố định: Loại DES, tỷ lệ HBD: HBA, hàm lượng nước, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, nhiệt độ trích ly được chọn từ các thí nghiệm khảo sát trước.

❖ ***Tối ưu hóa quy trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride và lactic acid***

Sử dụng RSM để tối ưu hoá điều kiện trích ly bằng DES. Dựa trên kết quả phân tích các chỉ tiêu và phân tích thống kê, tiến hành lựa chọn khoảng giá trị thích hợp của các yếu tố ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê, tiến hành tối ưu hoá các điều kiện trích ly để đạt hàm lượng các hợp chất mục tiêu thu hồi được cao. Mô hình đa thức bậc hai được trình bày như sau: $Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2$

Chỉ tiêu đánh giá: TPC, TSC, PAC, hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ, khả năng kháng khuẩn (đường kính vòng kháng khuẩn và nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum Inhibitory Concentration – MIC)), khả năng kháng oxy hóa (ABTS – 2,2-azinobis [acid 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic] và DPPH – 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) của dịch trích tối ưu.

❖ ***Tối ưu hóa quy trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride, glycerol và citric acid***

Sử dụng RSM để tối ưu hoá điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid. Dựa trên kết quả phân tích các chỉ tiêu khảo sát và phân tích thống kê, tiến hành lựa chọn khoảng giá trị thích hợp của các yếu tố ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê. Sau đó, tối ưu hoá các điều kiện trích ly để đạt hàm lượng các hợp chất mục tiêu thu hồi được cao. Mô hình đa thức bậc hai được trình bày như sau: $Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2$

Chỉ tiêu đánh giá: TPC, TSC, PAC, hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ, khả năng kháng khuẩn (đường kính vòng kháng khuẩn và nồng độ ức chế tối thiểu), khả năng kháng oxy hóa (ABTS và DPPH) của dịch trích tối ưu.

2.2.3 Nội dung 3: Vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho

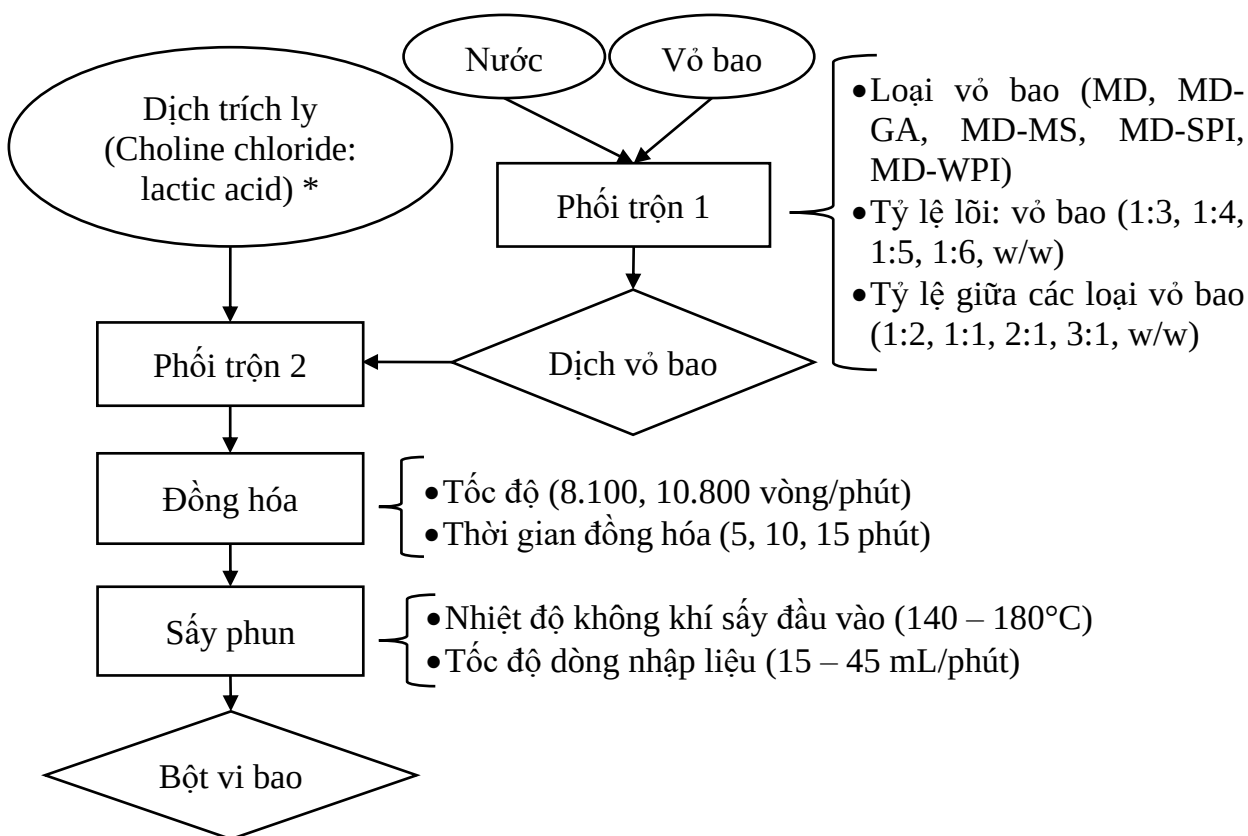
Dịch trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học được vi bao bằng hai phương pháp khác nhau là sấy phun và tạo oleogel, tương ứng với hai loại dịch trích thu nhận được từ quá trình trích ly tối ưu sử dụng hai loại DES khác nhau là choline chloride: lactic acid và choline chloride: glycerol: citric acid.

2.2.3.1 Vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho bằng sấy phun

Quy trình vi bao hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly từ DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid bằng sấy phun được thể hiện trong **Hình 2.3**.

❖ Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quy trình vi bao bằng sấy phun

Chuẩn bị DES: Dung môi eutectic sâu dùng để trích ly bột phụ phẩm nho là choline chloride và lactic acid với tỷ lệ 1:2 (w/w), 20 % nước. Các chất được cân vào cốc thủy tinh theo tỷ lệ phù hợp. Hỗn hợp được khuấy và gia nhiệt ở 80°C. Sau 90 phút, thu được hỗn hợp dung môi lỏng, trong suốt và đồng nhất (Nguyễn và cộng sự, 2023).



Hình 2.3. Quy trình vi bao dịch trích ly bằng sấy phun

*Dịch trích ly tối ưu với DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid. DES: Dung môi eutectic sâu, MD: maltodextrin, MD-GA: maltodextrin – gum arabic, MD-MS: maltodextrin – tinh bột biến tính, MD-SPI: maltodextrin – protein đậu nành isolate, MD-WPI: maltodextrin – whey protein isolate.

Chuẩn bị vỏ bao: Các loại vỏ bao được lựa chọn khảo sát (Loại vỏ bao bao gồm maltodextrin (MD); maltodextrin: soy protein isolate (MD-SPI) (7:1, w/w) (Rosenberg và cộng sự, 2016); maltodextrin: gum arabic (MD-GA) (1:2, w/w) (Nguyen và cộng sự, 2017); maltodextrin: whey protein isolate (MD-WPI) (9:1, w/w) (Shi và cộng sự, 2013); maltodextrin: tinh bột biến tính (MD-MS) (10:1, w/w) (Cano-Higueta và cộng sự, 2015)), tỷ lệ giữa các loại vỏ bao (1:2, 1:1, 2:1, và 3:1 (w/w)), nồng độ vật chất khô cố định ở mức 40%. Tiến hành cân từng loại vỏ bao vào hũ thủy tinh. Khuấy đều hỗn hợp vỏ bao và nước cất bằng đũa thủy tinh. Hỗn hợp sau đó được ủ trong bể ổn nhiệt WNB 14 (Mettler, Đức) ở 60°C trong khoảng 120 phút.

Phối trộn 2: Thực hiện phối trộn dịch trích ly và dịch vỏ bao theo tỷ lệ khảo sát (1:3, 1:4, 1:5, và 1:6, w/w).

Đồng hóa: Sau đó, hỗn hợp được đồng hóa bằng máy SHG-15A (SciLab, Hàn Quốc) ở các chế độ đồng hóa khảo sát bao gồm thời gian đồng hóa (5, 10 và 15 phút) và tốc độ đồng hóa (8.100 và 10.800 vòng/phút). Sau cùng thu được hỗn hợp đồng nhất có dạng lỏng gọi là dịch trước sấy. Dịch trước sấy được tiến hành phân tích các chỉ tiêu hàm lượng ẩm, TPC, TSC và PAC.

Sấy phun: Dịch trước sấy được tiến hành sấy phun tại Công ty TNHH Công Nghệ Mr. Chí (Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam) bằng máy sấy phun L-8i (Ohkawara Kakohki, Nhật Bản) với nhiệt độ không khí sấy đầu vào khác nhau (140, 150, 160, 170 và 180°C), tốc độ dòng nhập liệu khảo sát 15 – 45 mL/phút. Tốc độ quay của đầu phun (atomizer) cố định là 18.000 vòng/phút và áp suất là 1,55 kPa. Bột vi bao được bảo quản trong túi zip hai mặt nhôm, có túi hút ẩm, hàn kín miệng túi và được phân tích các chỉ tiêu hàm lượng ẩm, hiệu quả vi bao, hiệu suất thu hồi, hoạt độ nước, hình thái hạt bột vi bao.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của loại vỏ bao đến quá trình vi bao bằng sấy phun***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Trong đó, yếu tố thí nghiệm: Loại vỏ bao (maltodextrin; maltodextrin: soy protein isolate (MD-SPI) (7:1, w/w) (Rosenberg và cộng sự, 2016); maltodextrin: gum arabic (MD-GA) (1:2, w/w) (Nguyen và cộng sự, 2017); maltodextrin: whey protein isolate (MD-WPI) (9:1, w/w) (Shi và cộng sự, 2013); maltodextrin: tinh bột biến tính (MD-MS) (10:1, w/w) (Cano-Higueta và cộng sự, 2015)).

Yếu tố cố định: Nồng độ vật chất khô (40%), tỷ lệ lõi: vỏ bao (1:5, w/w), nhiệt độ không khí sấy đầu vào (170°C), tốc độ dòng nhập liệu (15 mL/phút), tốc độ đồng hóa 8.100 vòng/phút, thời gian đồng hóa 10 phút.

Chỉ tiêu đánh giá: Hàm lượng ẩm, hiệu quả vi bao, hiệu suất thu hồi, hoạt độ nước, nhiễu xạ tia X (X-ray Diffraction Analysis – XRD), phổ nhiệt lượng quét vi sai (Differential Scanning Calorimetry – DSC), quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (Fourier Transform Infrared Spectroscopy – FTIR), phân bố kích thước hạt, hình thái hạt bột vi bao.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ lõi: vỏ bao đến quá trình vi bao bằng sấy phun***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Tỷ lệ lõi: vỏ bao (1:3, 1:4, 1:5 và 1:6 (w/w)).

Yếu tố cố định: Loại vỏ bao chọn từ thí nghiệm trước, nồng độ vật chất khô (40%), tốc độ dòng nhập liệu (15 mL/phút), nhiệt độ không khí sấy đầu vào (170°C), tốc độ đồng hóa 8.100 vòng/phút, thời gian đồng hóa 10 phút.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ giữa các loại vỏ bao đến quá trình vi bao bằng sấy phun***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Tỷ lệ giữa các loại vỏ bao (1:2, 1:1, 2:1 và 3:1 (w/w)) (Nguyen và cộng sự, 2017).

Yếu tố cố định: Loại vỏ bao, tỷ lệ lõi: vỏ bao chọn từ các thí nghiệm trước, nồng độ vật chất khô (40%), tốc độ dòng nhập liệu (15 mL/phút), nhiệt độ không khí sấy đầu vào (170°C), tốc độ đồng hóa 8.100 vòng/phút, thời gian đồng hóa 10 phút.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của tốc độ và thời gian đồng hóa đến quá trình vi bao bằng sấy phun***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 2 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Tốc độ đồng hóa (8.100 và 10.800 vòng/phút) và thời gian đồng hóa (5, 10 và 15 phút)

Yếu tố cố định: Loại vỏ bao, tỷ lệ lõi: vỏ bao, tỷ lệ giữa các loại vỏ bao chọn từ các thí nghiệm khảo sát trước, nồng độ vật chất khô (40%), nhiệt độ không khí sấy đầu vào (170°C), tốc độ dòng nhập liệu (15 mL/phút).

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ không khí sấy đầu vào đến quá trình vi bao bằng sấy phun***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Nhiệt độ không khí sấy đầu vào (140, 150, 160, 170 và 180°C) (Decker và cộng sự, 2024).

Yếu tố cố định: Loại vỏ bao, tỷ lệ lõi: vỏ bao, tỷ lệ giữa các loại vỏ bao, tốc độ và thời gian đồng hóa chọn từ các thí nghiệm trước, nồng độ vật chất khô (40%), tốc độ dòng nhập liệu (15 mL/phút).

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của tốc độ dòng nhập liệu đến quá trình vi bao bằng sấy phun***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Tốc độ dòng nhập liệu (15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 mL/phút)

Yếu tố cố định: Loại vỏ bao, tỷ lệ lõi: vỏ bao, tỷ lệ giữa các loại vỏ bao chọn từ các thí nghiệm khảo sát trước, nồng độ vật chất khô (40%), tốc độ và thời gian đồng hóa, nhiệt độ không khí sấy đầu vào chọn từ các thí nghiệm khảo sát trước.

❖ ***Tối ưu hóa điều kiện sấy phun***

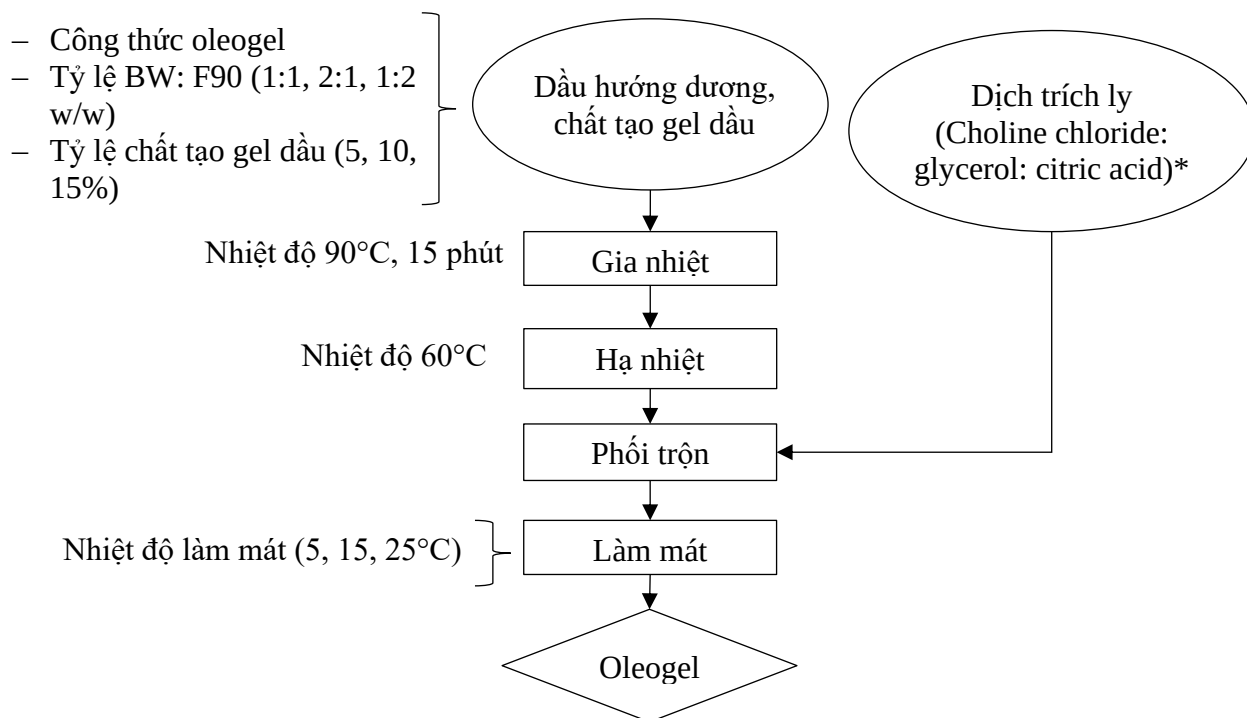
Sử dụng RSM tối ưu hoá điều kiện sấy phun dịch trích ly bằng dung môi DES. Dựa trên kết quả phân tích các chỉ tiêu khảo sát và phân tích thống kê, tiến hành lựa chọn khoảng giá trị thích hợp của các yếu tố tốc độ bơm nhập liệu và nhiệt độ không khí sấy đầu vào nhằm thu được bột sấy phun có hàm lượng hợp chất mục tiêu cao. Mô hình đa thức bậc hai được trình bày như sau: $Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{12}X_1X_2 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2$

Chỉ tiêu đánh giá: Hiệu quả vi bao và hiệu suất thu hồi; khả năng kháng khuẩn (nồng độ ức chế tối thiểu và đường kính vòng kháng khuẩn) và khả năng kháng oxy hóa (ABTS và DPPH) của bột sấy phun tối ưu.

2.2.3.2 Vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho bằng oleogel

Quá trình vi bao hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid bằng oleogel được thể hiện trong **Hình 2.4**. Quá trình tạo oleogel dựa trên nghiên cứu của Jeong và Oh (2024) có chỉnh sửa. Hỗn hợp chất tạo gel dầu bao gồm sáp ong và Finamul 90 (1:1, w/w) hoặc sáp ong và glycerol monostearate (1:3 w/w). Chúng được hòa tan trong dầu hướng dương với các tỷ lệ khác nhau ở nhiệt độ 90°C trong 15 phút. Hỗn hợp được khuấy trộn ở tốc độ 260 vòng/phút trong 5 phút và thu được dịch trong suốt. Dừng gia nhiệt và dừng khuấy trộn đến khi

nhệt độ hỗn hợp giảm xuống 60°C. Nhanh chóng thêm dịch trích ly phụ phẩm nho (30%) vào hỗn hợp và khuấy liên tục 10 phút ở tốc độ 390 vòng/phút. Hỗn hợp được làm mát ở các nhiệt độ khác nhau (5, 15 và 25°C) để tạo oleogel. Sau đó, các mẫu oleogel được sử dụng để phân tích chỉ tiêu bao gồm khả năng liên kết dầu, hiệu suất thu hồi TPC, màu sắc, độ nhớt, hình ảnh phân tích bằng kính hiển vi ánh sáng phân cực.



Hình 2.4. Quy trình vi bao dịch trích ly bằng oleogel

*Dịch trích ly tối ưu với DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid.
DES: Dung môi eutectic sâu, BW: Sáp ong, F90: Chất nhũ hóa Finamul 90.

❖ **Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình tạo oleogel từ dịch trích ly**

+ **Khảo sát ảnh hưởng của loại chất tạo gel dầu đến quá trình tạo oleogel**

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Loại chất tạo gel dầu bao gồm BW: GMS (1:3 w/w) và BW: F90 (1:1 w/w) (Jeong và Oh, 2024; López-González và cộng sự, 2024).

Yếu tố cố định: Tỷ lệ dầu 60%, tỷ lệ dịch trích ly 30%, nhiệt độ hòa tan 90°C trong 15 phút.

+ **Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ thành phần chất tạo gel dầu đến quá trình tạo oleogel**

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Tỷ lệ BW: F90 (1:1, 2:1 và 1:2 w/w).

Yếu tố cố định: Công thức oleogel chọn từ thí nghiệm khảo sát công thức, nhiệt độ hòa tan 90°C trong 15 phút, tỷ lệ dầu 60%, tỷ lệ dịch trích ly 30%.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ chất tạo gel dầu đến quá trình tạo oleogel***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Tỷ lệ chất tạo gel dầu (5, 10 và 15%, w/w)

Yếu tố cố định: Công thức oleogel chọn từ thí nghiệm khảo sát công thức, nhiệt độ hòa tan 90°C trong 15 phút, tỷ lệ dầu 60%, tỷ lệ dịch trích ly 30%, tỷ lệ BW: F90 chọn từ thí nghiệm khảo sát tỷ lệ BW: F90.

+ ***Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ làm mát đến quá trình tạo oleogel***

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Nhiệt độ làm mát (5, 15 và 25°C).

Yếu tố cố định: Công thức oleogel chọn từ thí nghiệm khảo sát công thức, nhiệt độ hòa tan 90°C trong 15 phút, tỷ lệ dầu 60%, tỷ lệ dịch trích ly 30%, tỷ lệ BW: F90 chọn từ thí nghiệm khảo sát tỷ lệ BW: F90, tỷ lệ chất tạo gel dầu chọn từ thí nghiệm khảo sát tỷ lệ chất tạo gel dầu.

❖ ***Tối ưu hóa quy trình tạo oleogel***

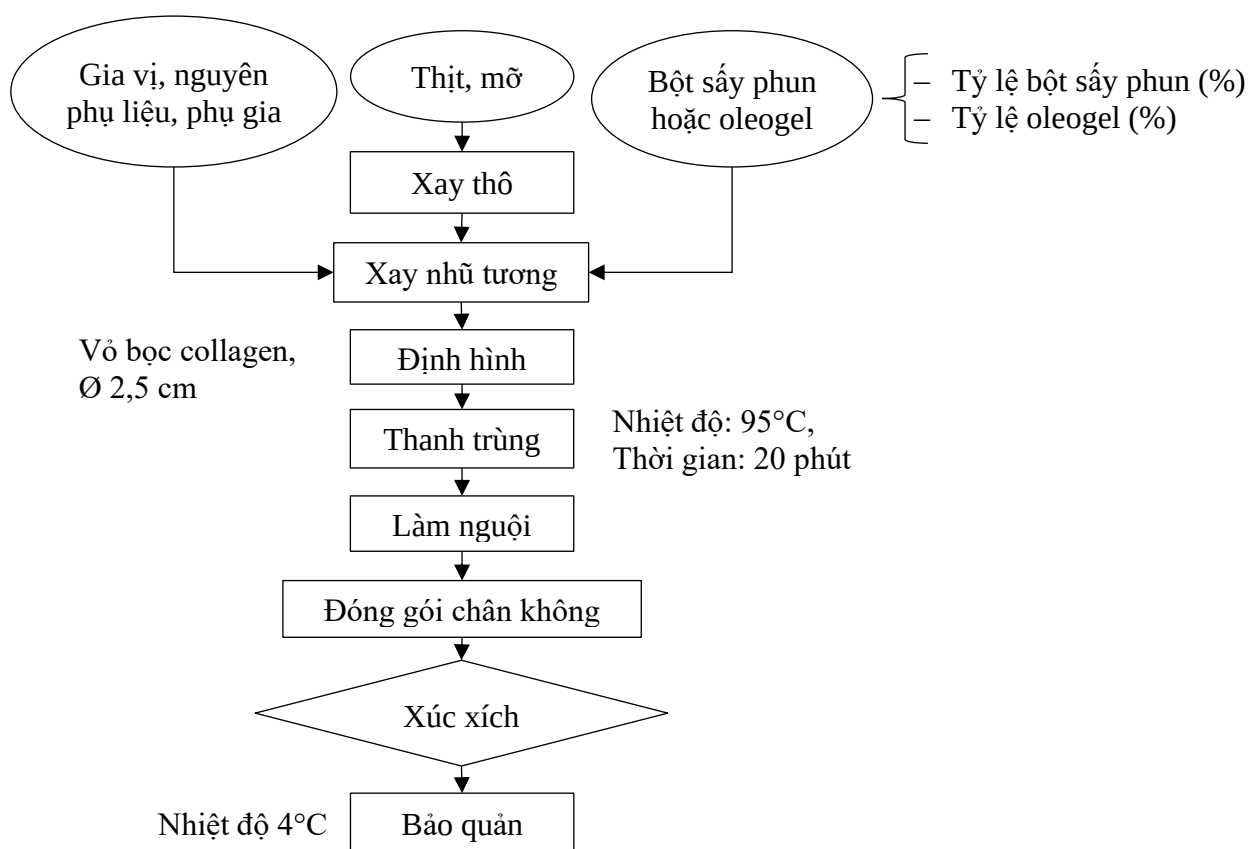
Sử dụng RSM để tối ưu hoá quy trình tạo oleogel từ dịch trích ly phụ phẩm nhò bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid. Dựa trên kết quả phân tích các chỉ tiêu và phân tích thống kê, tiến hành lựa chọn khoảng giá trị thích hợp của các yếu tố tỷ lệ BW: F90 và tỷ lệ chất tạo gel dầu nhằm thu được oleogel có hàm lượng hợp chất TPC cao và khả năng liên kết dầu tốt. Mô hình đa thức bậc hai được trình bày như sau: $Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{12}X_1X_2$

Chỉ tiêu đánh giá: Khả năng liên kết dầu (OBC), hiệu suất thu hồi hợp chất.

2.2.4 Nội dung 4: Đánh giá khả năng ứng dụng bột sấy phun và oleogel tối ưu trong sản phẩm xúc xích thanh trùng

Quy trình thí nghiệm đánh giá khả năng ứng dụng của bột sấy phun và oleogel trong xúc xích thanh trùng được thể hiện trong **Hình 2.5**. Quy trình sản xuất xúc xích dựa trên mô tả của Heinz và Hautzinger (2007). Các nguyên liệu được cân theo công thức thử nghiệm: Thịt heo 50%; mỡ heo 25%; protein đậu nành 2,2%; tinh bột biến tính 3%; muối 2,2%; bột tỏi 0,6%; đường 0,5%; tiêu 0,2%; nhục đậu khấu 0,5%; bột gừng

0,2%; bột ngô 0,5%; bột ngọt 0,1%, nước đá 15%. Thịt nạc và mỡ heo đông lạnh sẽ được xay thô. Sau đó, thịt nạc và mỡ heo tiếp tục được xay tạo nhũ tương với các loại gia vị, nguyên phụ liệu, phụ gia và nước đá để tạo hỗn hợp nhũ tương. Bột sấy phun (0,2 – 0,8%) hoặc oleogel (0,4 và 0,8%) hoặc nisin (0,002%) hoặc chất bảo quản tự nhiên từ bột sơ ri (0,4%) được bổ sung trong công đoạn xay nhũ tương. Các tỷ lệ bột sấy phun và oleogel bổ sung được tính toán dựa trên nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) được xác định trong các thí nghiệm về đánh giá tính chất của bột sấy phun và oleogel tối ưu sau khi tối ưu hóa quá trình vi bao bằng sấy phun và oleogel (Xem mục 3.3.1.2 và 3.3.2.2). Tỷ lệ bột sơ ri từ nhà cung cấp không có mức sử dụng khuyến cáo do đó chọn tỷ lệ 0,4% ở mức trung bình so với bột sấy phun và oleogel. Trong khi, tỷ lệ nisin (0,002%) dựa trên Thông tư 24/2019/TT-BYT (Quy định quản lý và sử dụng phụ gia thực phẩm) (80% so với mức quy định sử dụng tối đa 25 mg/kg).



Hình 2.5. Quy trình ứng dụng bột sấy phun và oleogel trong sản phẩm xúc xích

Nhiệt độ nhũ tương cần được duy trì dưới 12°C. Nhũ tương sau đó được định hình bằng cách nhồi vào vỏ bọc collagen (đường kính 2,5 cm). Sản phẩm được thanh trùng ở 95°C trong 20 phút đến khi đạt nhiệt độ tâm 75°C trong 15 phút. Xúc xích được làm nguội, đóng gói hút chân không, được bảo quản ở 4°C để theo dõi sự thay đổi của

các chỉ tiêu phân tích bao gồm hàm lượng ẩm, pH, tổng số vi sinh vật hiếu khí, màu sắc, kết cấu.

2.2.4.1 Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung bột sấy phun đến một số chỉ tiêu chất lượng xúc xích thanh trùng theo thời gian

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 2 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Chất bảo quản (bột sấy phun ở các tỷ lệ 0,2; 0,4; 0,6 và 0,8% w/w; nisin 0,002%; chất bảo quản tự nhiên từ sơ ri 0,4% và không bổ sung chất bảo quản), thời gian bảo quản (0, 2, 5, 7, 9 và 12 ngày).

Yếu tố cố định: Nhiệt độ bảo quản 4°C, quy trình chế biến xúc xích theo **Hình 2.5**, thanh trùng ở 95°C trong 20 phút.

2.2.4.2 Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ oleogel đến một số chỉ tiêu chất lượng xúc xích thanh trùng

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 2 yếu tố (3 lần lặp lại). Yếu tố thí nghiệm: Tỷ lệ oleogel (0,4; 0,8% và 1,2% w/w), thời gian bảo quản (0, 2, 5, 7, 9 và 12 ngày).

Yếu tố cố định: Nhiệt độ bảo quản 4°C, quy trình chế biến xúc xích theo **Hình 2.5**, thanh trùng ở 95°C trong 20 phút.

2.3 Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

2.3.1 Phương pháp phân tích

Các phương pháp phân tích các chỉ tiêu được thể hiện trong **Bảng 2.3**.

Bảng 2.3. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu

STT	Phân tích	Phương pháp	Tài liệu tham khảo
1	Định tính các nhóm chất	Phản ứng Hager, Wagner, Keller-Kiliani, kiểm, chì acetate, gelatine, Braymer, tạo bọt (Foam, Frothing), Libermann-Burchard, đồng acetate, Fehling, Molisch	Mukherjee (2019), Yadav và Agarwala (2011), Shaikh và Patil (2020), Akter và cộng sự (2018), Elzagheid (2018).
2	Định tính các hợp chất đơn lẻ	Máy LC-MS ExionLCTM - X500R QTOF (AB Sciex, Hoa Kỳ)	
3	Hàm lượng ẩm (ww%)	Máy sấy ẩm hồng ngoại MX-50 (A&D, Nhật Bản) và phương pháp	

STT	Phân tích	Phương pháp	Tài liệu tham khảo
		sấy đến khối lượng không đổi ở 105°C	
4	Hàm lượng tro (dw%)	Nung ở nhiệt độ 550°C bằng lò nung ELF 11/6 (Carbolite, Anh)	Nielsen (1998)
5	Protein tổng (dw%)	TCVN 8134:2009 (ISO 937:1978)	
6	Hàm lượng chất béo (dw%)	Trích Soxhlet	Nielsen (1998)
7	Hàm lượng carbohydrate (dw%)	Tính từ protein, tro, chất béo và ẩm	
8	Hàm lượng phenolic tổng (mg GAE/g DW)	Phương pháp quang phổ với thuốc thử Folin-Ciocalteu ở bước sóng 765 nm	Škulcova và cộng sự (2018)
9	Hàm lượng saponin tổng (mg AE/g DW)	Phương pháp quang phổ với thuốc thử vanillin- H ₂ SO ₄ ở bước sóng 560 nm	Tan và cộng sự (2014)
10	Hàm lượng proanthocyanidin (mg CE/g DW)	Phương pháp quang phổ với thuốc thử vanillin- HCl ở bước sóng 500 nm	Li và cộng sự (2006)
11	Định lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ (µg/g DW)	Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) bằng máy SPD-20A (Shimadzu, Hoa Kỳ)	Kammerer và cộng sự (2004)
12	Hoạt tính kháng khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm), nồng độ ức chế tối thiểu (µL/mL đối với dịch trích ly, mg/mL đối với bột/ oleogel) đối với <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739, <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 và <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	Sarwar và cộng sự (2018), Balouiri và cộng sự (2016)
13	Hoạt tính kháng oxy hóa	Giá trị IC ₅₀ (µL/mL đối với dịch trích ly, mg/mL đối với bột/ oleogel) biểu thị nồng độ mẫu cần thiết để ức chế được 50% gốc tự do DPPH hoặc ABTS	Kozłowska và cộng sự (2022)

STT	Phân tích	Phương pháp	Tài liệu tham khảo
14	Hiệu suất thu hồi hợp chất (%)	Hàm lượng TPC, TSC và PAC trong bột sấy phun so với hàm lượng TPC, TSC và PAC trong dịch trước sấy	Dang và cộng sự (2024)
15	Hiệu quả vi bao (%)	Tỷ lệ phần trăm hợp chất có hoạt tính sinh học được vi bao thành công trong các hạt bột	Perković và cộng sự (2024), Vu và cộng sự (2023)
16	Hoạt độ nước (a_w)	Máy đo hoạt độ nước Aqualab Series 3 (Decagon Devices, Hoa Kỳ)	
17	Nhiều xạ tia X	30 kV và 10 mA, bức xạ Cu K α ($\lambda = 0,154060$ nm), phạm vi 2θ từ 5° – 40° , tốc độ quét 4° mỗi phút và bước $0,02^\circ$.	Frank và cộng sự (2021)
18	Nhiệt quét vi sai	Không khí động (100 mL/phút), gia nhiệt từ 30°C đến 400°C (tốc độ $10^\circ\text{C}/\text{phút}$).	Negrao-Murakami và cộng sự (2016)
19	Hình thái hạt bột	Ảnh chụp vi mô ở các độ phóng đại khác nhau bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) phát xạ trường điện tử FESEM S4800 (Hitachi, Nhật Bản).	
20	Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier	Phổ từ $650 - 4.000\text{ cm}^{-1}$ (độ phân giải 4 cm^{-1}) với 32 lần quét.	Janiszewska-Turak và cộng sự (2022)
21	Phân bố kích thước hạt bột	Máy LS 13 320 (Beckman Coulter, Hoa Kỳ)	
22	Đường đẳng nhiệt hấp phụ ẩm	Phương trình Guggenheim–Anderson–de Boer (GAB) và Brunauer-Emmett-Teller (BET)	Al-Muhtaseb và cộng sự (2002)
23	Độ hòa tan của bột (%)	Độ hòa tan (%) được tính bằng % bột hòa tan	Hadree và cộng sự (2023)
24	Cấu trúc vi mô của oleogel	Kính hiển vi phân cực DM 2500P và camera lạnh DFC450 (Leica, Đức).	
25	Độ nhớt dịch trích (cP)	Máy đo lưu biến DV2TLVCJ0 (Brookfield, Hoa Kỳ), tốc độ 100 vòng/phút, đầu đo CP-40.	

STT	Phân tích	Phương pháp	Tài liệu tham khảo
26	Độ nhớt oleogel (Pa.s)	Máy đo lưu biến DX2TRVKB0 (Brookfield, Hoa Kỳ), tốc độ 1 vòng/phút, đầu đo V-74.	
27	Khả năng liên kết dầu (%)	Phương pháp ly tâm	Meng và cộng sự (2019)
28	Kết cấu của xúc xích	Phương pháp TPA (Texture Profile Analysis) và máy phân tích kết cấu Z1.0. (Zwick/Roell, Đức).	
29	Tổng vi sinh vật hiếu khí, <i>E. coli</i> , <i>Coliform</i> (log cfu/g)	Sử dụng đĩa đếm petrifilm và Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9977:2013, TCVN 9975:2013.	TCVN 9977:2013, TCVN 9975:2013
30	Màu sắc	Máy đo màu CR-400 (Konica Minolta, Nhật Bản) sử dụng hệ màu CIE L*a*b*	Mokrzycki và Tatol (2011)
31	pH	Máy pH HI98194 (Hanna, Việt Nam)	

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

Số liệu thu được từ các thí nghiệm khảo sát và tối ưu hóa được xử lý thống kê bằng phần mềm JMP 13.0 (JMP Statistical Discovery LLC, USA). Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được kiểm định bằng phân tích phương sai một yếu tố hoặc đa yếu tố tùy theo thiết kế thí nghiệm, kết hợp với phép thử Tukey HSD ở mức ý nghĩa 5% ($P < 0,05$). Kết quả số liệu được trình bày bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1 Nội dung 1: Thành phần hóa học và các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho

3.1.1 Thành phần hóa học của phụ phẩm nho

Thành phần hóa học của bột phụ phẩm nho *Red Cardinal* được thể hiện trong **Bảng 3.1**. Tương tự với các nguồn phụ phẩm thực vật khác, bột phụ phẩm nho cũng bao gồm các thành phần hóa học cơ bản như tro, protein, chất béo, ẩm và carbohydrate.

Bảng 3.1. Thành phần hóa học của bột phụ phẩm nho

Hàm lượng ẩm (ww%)	Carbohydrate (dw%)	Protein (dw%)	Tro (dw%)	Chất béo (dw%)
7,22 ± 0,38	80,87 ± 0,05	7,23 ± 0,20	6,67 ± 0,15	5,23 ± 0,07

ww%: phần trăm theo cơ sở ướt, dw%: phần trăm theo cơ sở khô.

Carbohydrate là thành phần hóa học chiếm hàm lượng lớn nhất trong bột phụ phẩm nho (khoảng 80% theo cơ sở khô). Tiếp theo lần lượt là protein, tro và chất béo. Các yếu tố như giống, phương pháp trồng, vùng trồng, cũng như quy trình làm rượu sẽ tác động đến thành phần hóa học của phụ phẩm nho. Carbohydrate trong thực phẩm rất quan trọng, không chỉ là nguồn cung cấp năng lượng mà còn là thành phần góp phần tạo nên kết cấu. Thành tế bào của vỏ nho được tạo thành từ 30% polysaccharide, 20% pectin có tính axit, 15% proanthocyanidin không tan và <5% protein cấu trúc (Lecas và Brillouet, 1994). Do đó, khi nghiên cứu về trích ly hợp chất từ phụ phẩm nho việc phân hủy thành tế bào với thành phần carbohydrate cao để trích ly các hợp chất vào dung môi là một vấn đề có ý nghĩa quan trọng. Bên cạnh đó, hàm lượng ẩm của phụ phẩm tươi tương đối cao (87,80 ± 0,31%). Để bảo quản được phụ phẩm nho lâu dài cho việc trích ly, ứng dụng thì cần áp dụng các biện pháp bảo quản như đông lạnh, sấy.

3.1.2 Kết quả định tính và định lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho

Phân tích định tính các nhóm chất có trong dịch trích phụ phẩm nho bằng phản ứng hóa học đã được thực hiện. Kết quả định tính được trình bày trong **Bảng 3.2**. Các nhóm chất có trong dịch trích ly từ phụ phẩm nho như glycoside, flavonoid, tannin, saponin, phytosterol, diterpenoid, carbohydrate.

Bảng 3.2. Kết quả định tính các nhóm hóa thực vật trong bột phụ phẩm nho

Nhóm chất	Phép thử	Mức độ phản ứng
Alkaloid	Hager	+
	Wagner	+
Glycoside	Kellar- Kiliani	++
Flavonoid	Kiểm	++
	Lead acetate	++
Tannin	Gelatine	++
	Braymer	++
Saponin	Foam	+
	Frothing	+
Phytosterol	Libermann-Buchard	+
Diterpenoid	Đồng acetate	++
Carbohydrate	Fehling	++
	Molisch	++

++ Phản ứng dương tính rõ, + Phản ứng dương tính

Phụ phẩm nho *Red Cardinal* chứa hàm lượng các hợp chất glycoside, flavonoid, tanin, diterpenoid, carbohydrate cao. Alkaloid có tác dụng tốt cho sức khỏe như tác dụng làm dịu cơn hen của ephedrin, tác dụng giảm đau của morphin và tác dụng chống ung thư của galanthamine nổi tiếng hữu ích về mặt lâm sàng trong điều trị bệnh Alzheimer (Moraes-Cerdeira và cộng sự, 1997). Terpenoid cho thấy hoạt tính cao như kháng khuẩn (Latayada và cộng sự, 2017), chống tổn thương tế bào gan (Hu và cộng sự, 2022). Có thể trích ly terpenoid từ nguyên liệu thô theo hai bước: đầu tiên, các hợp chất được tách ra bằng dung môi phân cực như acetone, methanol trong nước và ethanol trong nước. Sau đó, các hợp chất ít phân cực hơn được trích ly bằng cách sử dụng hexan, chloroform và etyl axetate (Ludwiczuk và cộng sự, 2017). Phenolic là nhóm hợp chất đang được quan tâm với các hoạt tính nổi trội. Độ hòa tan của các hợp chất phenolic phụ thuộc vào nhóm hydroxyl. Càng nhiều nhóm hydroxyl thì càng dễ hòa tan trong nước (Zeb, 2021).

Các hợp chất phenolic đơn giản thường hòa tan trong nước, trong khi các hợp chất phenolic cao hơn khó hòa tan trong nước. Một số hợp chất phenolic chỉ có thể hòa tan trong các dung môi hữu cơ. Ngược lại, một số hợp chất phenolic ở dạng polyme không hòa tan (Taiz và Zeiger, 2002). Có thể thấy rằng không có quy trình chung nào phù hợp để trích ly tất cả các hợp chất phenolic hoặc một nhóm cụ thể trong nguyên liệu thực vật. Do đó, việc xác định các yếu tố ảnh hưởng ý nghĩa và tối ưu hóa quá trình trích ly thu hồi các hợp chất hoạt tính từ phụ phẩm nho là cần thiết để thu được hiệu quả trích ly cao nhất.

Kết quả định danh sơ bộ các hợp chất sinh học đơn lẻ trong phụ phẩm nho được thể hiện qua sắc ký đồ ion tổng (TIC) (**Phụ lục I.2**) và **Bảng 3.3**.

Bảng 3.3. Kết quả định danh các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột phụ phẩm nho bằng LC-MS/MS

STT	Thời gian lưu (phút)	Hợp chất dự đoán	Công thức phân tử	Khối lượng phân tử (g/mol)	[M-H] ⁻ (m/z)
Flavonoid					
1	7,64	Procyanidin B2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578,1416	577,1307
2	7,95	(+)-Catechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290,0786	289,0702
3	8,36	Flavanomarein	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	450,1155	449,1072
4	9,47	Quercitrin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448,0999	447,0918
5	10,66	Neochlorogenic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354,0945	353,1449
6	10,77	Procyanidin B1	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578,1416	577,1308
7	10,88	Procyanidin C1	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	866,2046	865,1940
8	10,91	(-)-Catechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290,0786	289,0704
9	11,12	Hyperoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464,0948	463,0864
10	11,25	Astilbin	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	450,1155	449,1066
11	11,32	Nepetin 7-glucoside	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	478,1104	477,1030
12	11,51	Engeletin	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	434,1206	433,1127
13	11,87	3',4',5,7-Tetrahydroxy-3-methoxyflavone (quercetin 3-methyl ether hoặc isorhamnetin)	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316,0579	315,0496
14	12,34	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286,0474	285,0397
15	12,39	Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302,0423	301,0339
16	12,51	3,4'-Dimethoxy-3,5,7-trihydroxyflavone	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330,0735	329,0299
17	13,05	Naringenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272,0681	271,0603
18	13,66	3,5'-Dihydroxy-4,6,7'-trimethoxyflavone	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	344,0891	343,0445

STT	Thời gian lưu (phút)	Hợp chất dự đoán	Công thức phân tử	Khối lượng phân tử (g/mol)	[M-H] ⁻ (m/z)
19	14,75	Pinocembrin	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256,0732	255,0658
20	18,60	Vitexin 4-O-glucoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	594,1575	593,271
Phenolic acid					
21	11,03	Syringic acid	C ₉ H ₁₀ O ₅	198,0525	197,1298
22	7,69	Caftaric acid	C ₁₃ H ₁₂ O ₉	312,0477	311,0407
23	8,98	Ethyl gallate	C ₉ H ₁₀ O ₅	198,0525	197,0451
24	11,75	Ethyl syringate	C ₁₁ H ₁₄ O ₅	226,0837	225,1494
25	4,28	Gallic acid	C ₇ H ₆ O ₅	170,0213	169,0145
26	7,42	Protocatechuic acid-O-hexoside	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	316,0789	315,0715
27	7,44	Protocatechuic acid	C ₇ H ₆ O ₄	154,0264	153,0203
28	10,39	4-Hydroxybenzoic acid	C ₇ H ₆ O ₃	138,0315	137,0253
Lignan					
29	11,66	(-)-Secoisolariciresinol	C ₂₀ H ₂₆ O ₆	362,1722	361,1647
30	14,41	Honokiol	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	266,1302	265,1423
Saponin					
31	15,22	Maslinic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	472,3540	471,3449
32	18,99	Oleanolic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456,3591	455,3499
Stilbenoid					
33	12,12	Resveratrol	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228,0783	227,0714

Kết quả cho thấy sự hiện diện của 33 hợp chất đơn lẻ có hoạt tính sinh học thuộc các nhóm chất khác nhau. Những hợp chất phát hiện được trong dịch trích phụ phẩm nho *Red Cardinal* là những hợp chất phenolic phổ biến. Procyanidin, neochlorogenic acid, isorhamnetin, catechin, quercetin, ethyl gallate, gallic acid, kaempferol, resveratrol, protocatechuic acid đã được xác định trong các nghiên cứu về phụ phẩm nho, có thể tìm thấy trong nhiều giống nho cũng như các bộ phận khác nhau của nho như vỏ, hạt, cuống (Milinčić và cộng sự, 2021; Topalovic và Mikulic-Petkovsek, 2010). Trong đó, catechin là thành phần flavan-3-ols chủ yếu trong vỏ nho. Procyanidin B1 đại diện cho dimer của nho trong giai đoạn đầu của quá trình phát triển. Trong khi đó procyanidin B2 lại đặc trưng ở giai đoạn sau (Freitas và Glories, 1999). Engeletin (dihydrokaempferol 3-rhamnoside) và astilbin (dihydroquercetin 3-rhamnoside) từ lâu đã được phân lập từ vỏ quả nho cũng như dịch trích từ nhiều loại vỏ nho, có ảnh hưởng đến sự đổi màu trong quá trình chế biến sản phẩm (Trousdale và Singleton, 1983), đồng thời đóng vai trò như là tác nhân chống viêm tiềm năng (Huang và cộng sự, 2011).

Ngoài ra, tám phenolic acid cũng đã được xác định trong phụ phẩm nho *Red Cardinal*. Các nghiên cứu trước đây cũng đã công bố về việc xác định và định lượng phenolic acid, chẳng hạn như gallic acid, protocatechuic, syringic và ellagic, trong trích ly từ nho (Moreira và cộng sự, 2018). Phenolic acid có nhiều trong các phụ phẩm nông nghiệp và được công nhận vì các hoạt tính sinh học đa dạng của chúng, bao gồm các đặc tính bảo vệ gan, kháng oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn, bảo vệ tim, chống ung thư, chống tiểu đường và bảo vệ thần kinh (Saibabu và cộng sự, 2015). Secoisolariciresinol và honokiol là hai lignan hoạt tính sinh học. Một trong những nguồn lignan đó là rượu vang. Nghiên cứu khác đã xác định 6 loại lignan khác nhau được tìm thấy trong nguyên liệu nho trong đó có secoisolariciresinol (Dadáková và cộng sự, 2021). Hai saponin, maslinic acid và oleanolic acid, đã được định tính trong phụ phẩm nho. Hai saponin này có nhiều trong thành phần của vỏ các loại trái cây khác nhau như ô liu. Oleanolic acid có thể làm giảm căng thẳng oxy hóa và tổn thương oxy hóa đối với DNA trong tế bào biểu mô ở người, hoạt động như một tác nhân phòng ngừa hóa học và ức chế được sự tăng sinh của tế bào ung thư xâm lấn cao ở người (Sánchez-Quesada và cộng sự, 2015). Stilbenoid, bao gồm resveratrol, cũng đã được tìm thấy trong phụ phẩm nho và được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây (Duarte và cộng sự, 2021). Trong số các stilbenoid, resveratrol được nghiên cứu rộng rãi nhất, liên quan đến hoạt động chống lại các bệnh tim mạch, ung thư và bệnh thoái hóa thần kinh.

Kết quả **Bảng 3.4** thể hiện bột phụ phẩm nho chứa hàm lượng tổng các hợp chất có hoạt tính sinh học tương đối cao. Hàm lượng các hợp chất cao hơn so với kết quả trong nghiên cứu của Mitić và cộng sự (2012) xác định TPC của nho *Cardinal* là $142,32 \pm 1,55$ mg GAE/100g nho tươi, tương ứng khoảng 7,1 mg GAE/g DW. Có thể sự khác biệt do điều kiện trích ly khác nhau, nghiên cứu của Mitić và cộng sự (2012) sử dụng methanol, còn trong luận án này sử dụng ethanol 50%.

Bảng 3.4. Hàm lượng tổng các hợp chất có hoạt tính sinh học của bột phụ phẩm nho

Chỉ tiêu	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
Hàm lượng hợp chất	$27,51 \pm 0,41$	$70,65 \pm 1,05$	$9,60 \pm 0,21$

GAE: *Đương lượng gallic acid*, AE: *Đương lượng aescin*, CE: *Đương lượng catechin*, DW: *Vật chất khô*

Từ những kết quả trên cho thấy qua quá trình nghiên cứu, trong phụ phẩm nho vẫn chứa hàm lượng tổng các hợp chất có hoạt tính sinh học như saponin, các hợp chất phenolic đáng kể. Việc định danh và định lượng các hợp chất trong phụ phẩm nho cung cấp dữ liệu về thành phần các hợp chất có hoạt tính sinh học của phụ phẩm nho. Kết quả định tính cũng làm nổi bật lên rằng phụ phẩm nho là một nguyên liệu dồi dào các hợp chất đơn lẻ có hoạt tính sinh học có giá trị. Do đó, việc trích ly và ứng dụng các hợp chất này vào các lĩnh vực như thực phẩm, dược phẩm là cần thiết và tiềm năng cao.

3.2 Nội dung 2: Tối ưu hóa điều kiện trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho

3.2.1 Tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng phương pháp kết hợp siêu âm và enzyme

3.2.1.1 Ảnh hưởng của các yếu tố đến quy trình trích ly có hỗ trợ enzyme

Kết quả cho thấy loại enzyme, hàm lượng enzyme, nhiệt độ và thời gian trích ly, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho có hỗ trợ enzyme (**Phụ lục II.1**). Trong đó, trích ly có hỗ trợ bằng enzyme cellulase (14 U/g) và enzyme pectinase (76 U/g) kết hợp cho hiệu quả trích ly phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin cao hơn so với mẫu đối chứng không có sử dụng enzyme hoặc sử dụng enzyme riêng lẻ (**Hình PL II.1**). Khi tăng hàm lượng enzyme cellulase (14 – 56 U/g) và pectinase (76 – 152 U/g) thì sự kết hợp hai enzyme với tỷ lệ 28 U/g enzyme cellulase và 76 U/g enzyme pectinase cho hàm lượng các hợp chất mục tiêu thu hồi được cao hơn so với các mẫu còn lại (**Bảng PL II.1**). Bốn tỷ lệ dung môi: nguyên liệu khác nhau (8:1, 10:1, 12:1 và 14:1 v/w) đã được khảo sát, tổng các hợp chất mục tiêu có xu hướng tăng thêm 26,6% khi tăng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu từ 8:1 (v/w) lên 10:1 (v/w). Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu lên đến 12:1 và 14:1 (v/w) thì tổng hàm lượng các hoạt chất sẽ giảm (**Hình PL II.2**). Như vậy, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu 10:1 (v/w) là phù hợp. Các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích của bột phụ phẩm nho có xu hướng tăng khi nhiệt độ tăng từ 40°C đến 50°C và giảm khi nhiệt độ tăng lên đến 60°C (**Hình PL II.3**). Kết quả nghiên cứu này cơ bản cho thấy nhiệt độ 50°C phù hợp để thực hiện thí nghiệm tiếp theo về thời gian trích ly. Khi thay đổi thời gian trích ly, TPC, TSC và PAC có xu hướng tăng khi trích ly từ 60 phút đến 120 phút và sau đó giảm dần khi tăng thời gian trích ly lên

180 phút và 240 phút, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% ($P \leq 0,05$) (**Hình PL II.4**).

Tóm lại, trích ly có hỗ trợ bằng enzyme cellulase (28 U/g) và enzyme pectinase (76 U/g) kết hợp cho hiệu quả trích ly cao các hợp chất trong dịch trích của bột phụ phẩm nho (phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin) với tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 (v/w), trích ly nhiệt độ 50°C, thời gian 120 phút.

3.2.1.2 Ảnh hưởng của các yếu tố đến quy trình trích ly có hỗ trợ siêu âm

Kết quả khảo sát cho thấy mức năng lượng siêu âm, thời gian siêu âm, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, thời gian và nhiệt độ trích ly có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho có hỗ trợ siêu âm (**Phụ lục III.1**). Khi tăng mức năng lượng siêu âm từ 0 W/g lên 15 W/g thì TPC, TSC và PAC tăng lên thêm khoảng 19,3%, 19,8% và 10%. Khi tiếp tục tăng mức năng lượng siêu âm lên 18 W/g thì TPC, TSC thu được đều giảm (**Hình PL III.1**). Vì vậy, mức năng lượng siêu âm 15 W/g được chọn để tiến hành thí nghiệm tiếp theo. Trong khi đó, thì thời gian siêu âm tăng từ 5 lên 10 phút thì TPC, TSC và PAC tăng thêm khoảng 10,5%, 5,3% và 13,7%. Khi thời gian siêu âm tiếp tục tăng lên đến 15 phút thì TPC, TSC và PAC đều có xu hướng giảm (**Hình PL III.2**).

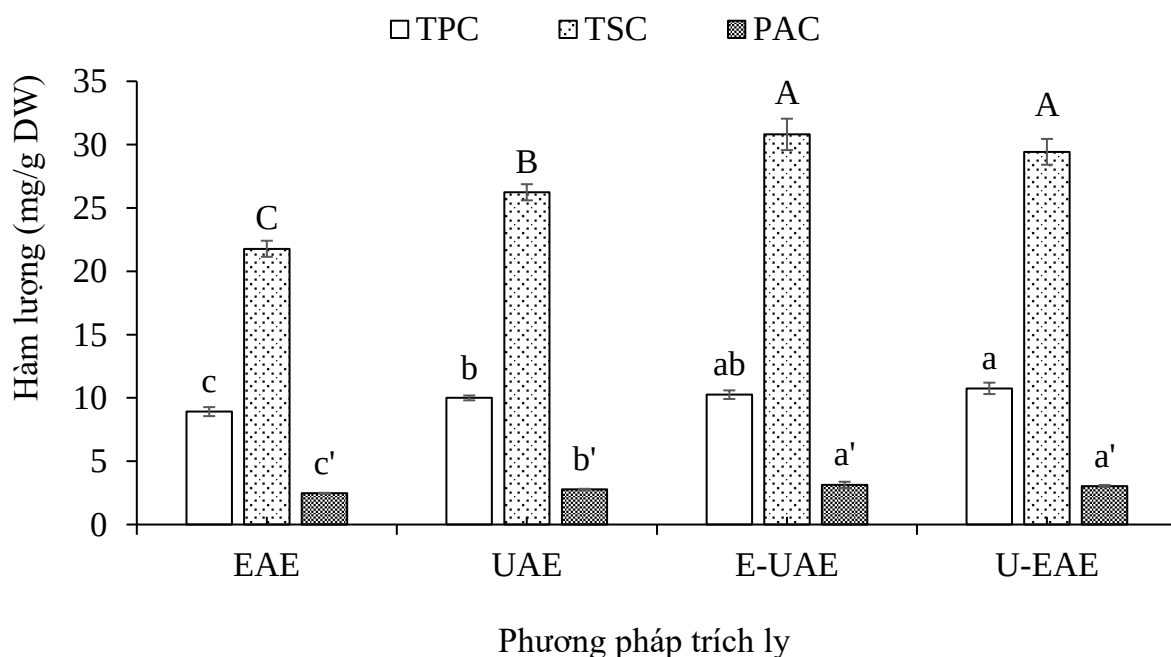
Khi tăng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu từ 8:1 lên 14:1 (v/w) thì TPC, TSC và PAC đều có xu hướng tăng sau đó giảm khi tiếp tục tăng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu lên 16:1 (v/w) (**Hình PL III.3**). Do đó, tỷ lệ nguyên liệu và dung môi 14:1 (v/w) là phù hợp với nguyên liệu phụ phẩm nho và được chọn để tiến hành thí nghiệm tiếp theo. Tuy nhiên khi thay đổi thời gian trích ly giảm từ 50 xuống 30 phút thì TPC và TSC không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, trong khi PAC khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu với thời gian trích ly khác nhau. Khi thời gian trích ly tiếp tục giảm xuống còn 20 phút thì hàm lượng các hợp chất mục tiêu khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% ($P \leq 0,05$) (**Hình PL III.4**).

Tổng hợp các kết quả trên, thông số thích hợp cho trích ly phụ phẩm nho có hỗ trợ siêu âm là mức năng lượng siêu âm 15 W/g, thời gian siêu âm là 10 phút, thời gian trích ly 30 phút và tỷ lệ dung môi và nguyên liệu là 14:1 (v/w).

3.2.1.3 Tối ưu hóa quá trình trích ly kết hợp siêu âm và enzyme

❖ So sánh hiệu quả trích ly giữa các phương pháp trích ly đơn lẻ và kết hợp

Nghiên cứu đã so sánh hàm lượng các hợp chất mục tiêu được trích ly bằng enzyme (EAE), siêu âm (UAE) và các kết hợp của chúng bao gồm enzyme – siêu âm (E-UAE) và siêu âm – enzyme (U-EAE). Kết quả cho thấy tác động đáng kể của các phương pháp trích ly không chỉ lên TPC, TSC và PAC mà còn lên hàm lượng các hợp chất phenolic riêng lẻ trong các dịch trích ly (**Hình 3.1** và **Bảng 3.5**).



Hình 3.1. Hiệu quả trích ly TPC, TSC và PAC bằng các phương pháp khác nhau

EAE, UAE, E-UAE, U-EAE lần lượt là phương pháp trích ly với sự hỗ trợ enzyme, siêu âm, enzyme – siêu âm, siêu âm – enzyme. DW: vật chất khô

Đơn vị của TPC (hàm lượng phenolic tổng) là mg đương lượng gallic acid/g vật chất khô.

Đơn vị của TSC (hàm lượng saponin tổng) là mg đương lượng aescin/g vật chất khô.

Đơn vị của PAC (hàm lượng proanthocyanidin) là mg đương lượng catechin/g vật chất khô.

Trong cùng một chỉ tiêu, chữ cái khác nhau (a, b, c,...) thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

Hình 3.1 cho thấy các phương pháp kết hợp E-UAE và U-EAE thể hiện TPC, TSC và PAC cao hơn đáng kể khi so sánh với các phương pháp đơn lẻ UAE và EAE. TSC trong dịch trích từ E-UAE cao nhất ở mức $30,81 \pm 1,24$ mg AE/g DW, trong khi U-EAE thể hiện hiệu quả trích ly cao đối với TPC ở mức $10,75 \pm 0,45$ mg GAE/g DW. Không có sự khác biệt có ý nghĩa về hiệu quả trích ly PAC giữa E-UAE và U-EAE, với PAC lần lượt là $3,13 \pm 0,24$ và $3,03 \pm 0,09$ mg CE/g DW GP. Việc áp dụng U-EAE đã làm tăng đáng kể hiệu quả trích ly rutin, gallic acid và catechin (**Bảng 3.5**). Hiệu quả

trích ly gallic acid từ U-EAE cao hơn từ 2 đến 2,6 lần so với UAE, EAE và E-UAE. Những kết quả của nghiên cứu này phù hợp với báo cáo của Hoang và cộng sự (2023), chứng minh rằng kết hợp phương pháp trích ly hiệu quả hơn đáng kể so với phương pháp đơn lẻ trong việc thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học.

Bảng 3.5. Hàm lượng các hợp chất phenolic đơn lẻ thu hồi được bằng các phương pháp trích ly

Hàm lượng ($\mu\text{g/g DW}$)	EAE	UAE	E-UAE	U-EAE
Gallic acid	17,69 ^b $\pm$ 0,81	14,36 ^c $\pm$ 0,44	16,61 ^b $\pm$ 0,24	38,40 ^a $\pm$ 0,63
Catechin	32,70 ^b $\pm$ 0,98	23,35 ^d $\pm$ 0,58	27,22 ^c $\pm$ 0,85	41,13 ^a $\pm$ 0,55
Rutin	36,33 ^b $\pm$ 1,79	29,90 ^c $\pm$ 1,39	30,08 ^c $\pm$ 0,69	40,45 ^a $\pm$ 1,97

EAE, UAE, E-UAE, U-EAE lần lượt là phương pháp trích ly với sự hỗ trợ enzyme, siêu âm, enzyme – siêu âm, siêu âm – enzyme. DW: vật chất khô.

Trong cùng một hàng, chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

Tương tự, Stanek-Wandzel và cộng sự (2025) cũng đã sử dụng phương pháp trích ly có hỗ trợ kết hợp enzyme (cellulase, pectinase và hemicellulase) và siêu âm để thu hồi hợp chất phenolic (phenolic acid, flavonoid và anthocyanin) trong vỏ nho đỏ và nho trắng. Việc thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học tăng lên khi sử dụng phương pháp kết hợp chủ yếu là do hiệu quả của enzyme pectinase và cellulase kết hợp với siêu âm. Enzyme thúc đẩy quá trình phân hủy cấu trúc tế bào, từ đó giải phóng các hợp chất có hoạt tính sinh học liên kết với chất nền thực vật và làm tăng hiệu quả trích ly (Batista và cộng sự, 2023). Siêu âm giúp tăng cường khả năng thẩm thấu của dung môi vào mô thực vật. Nghiên cứu của Goltz và cộng sự (2018) cũng áp dụng siêu âm để trích ly và làm tăng lượng phenolic thu hồi được từ cây Macela lên 6,1 lần so với trích ly thông thường.

❖ Tối ưu hóa quy trình trích ly bằng phương pháp kết hợp siêu âm - enzyme

Dựa trên kết quả của các thí nghiệm một yếu tố (**Phụ lục II.1** và **Phụ lục III.1**) và kết quả so sánh kết hợp các phương pháp, RSM với CCD đã được triển khai để tối ưu hóa các thông số quá trình trích ly các hợp chất mục tiêu từ phụ phẩm nho bằng phương pháp kết hợp enzyme và siêu âm. Các phạm vi tối ưu để trích ly được thiết lập là tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 8:1 – 12:1 v/w (X_1), nhiệt độ trích ly là 40 – 60°C (X_2) và thời gian trích ly là 60 – 180 phút (X_3). TPC, TSC và PAC được xác định là các chỉ

tiêu sử dụng để đánh giá hiệu quả trích ly (**Bảng 3.6**). **Bảng 3.7** trình bày hàm lượng các hợp chất mục tiêu trong phụ phẩm nho thu được ở các điều kiện trích ly khác nhau.

Bảng 3.6. Mức độ mã hóa của các biến độc lập cho thiết kế CCD trong trích ly bằng siêu âm – enzyme

Yếu tố	Kí hiệu	Các mức của yếu tố				
		-1,682	-1	0	+1	+1,682
Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (v/w)	X ₁	6,6	8,0	10,0	12,0	13,4
Nhiệt độ trích ly (°C)	X ₂	33,2	40,0	50,0	60,0	66,8
Thời gian trích ly (phút)	X ₃	19,1	60,0	120,0	180,0	220,9

Bảng 3.7. Ma trận yếu tố mã hóa trong trích ly bằng siêu âm – enzyme

TT	Yếu tố			Đáp ứng		
	Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (v/w)	Nhiệt độ trích ly (°C)	Thời gian trích ly (phút)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
1	6,6	50,0	120,0	11,13	37,26	4,12
2	8,0	40,0	60,0	10,67	37,85	4,21
3	8,0	40,0	180,0	10,17	34,63	4,28
4	8,0	60,0	60,0	11,51	42,52	5,03
5	8,0	60,0	180,0	11,47	38,41	5,33
6	10,0	33,2	120,0	7,77	29,73	3,11
7	10,0	50,0	19,1	11,46	34,09	3,87
8	10,0	50,0	120,0	12,98	41,09	4,80
9	10,0	50,0	120,0	12,83	40,80	4,82
10	10,0	50,0	120,0	13,08	41,81	4,59
11	10,0	50,0	220,9	11,36	35,34	4,53
12	10,0	66,8	120,0	11,84	41,05	4,82
13	12,0	40,0	60,0	9,09	24,09	3,70
14	12,0	40,0	180,0	9,25	29,47	3,65
15	12,0	60,0	60,0	11,93	36,85	5,36
16	12,0	60,0	180,0	12,75	40,63	5,07
17	13,4	50,0	120,0	11,53	35,48	4,70

TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, CE: Đường lượng catechin, DW: vật chất khô

Bảng 3.8 tóm tắt các hệ số hồi quy ước tính cho các chỉ tiêu, bao gồm ý nghĩa của các hệ số này trong các mô hình bề mặt đáp ứng, cùng với các giá trị R², giá trị P lack of fit và giá trị P của phương trình hồi quy. Các ảnh hưởng tuyến tính, tương tác và bậc 2 của các yếu tố thời gian và nhiệt độ trích ly và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu cũng được thể hiện trong **Bảng 3.8**. Qua **Bảng 3.8** và giá trị R² lần lượt là 0,989; 0,952; 0,826

ta có thể kết luận rằng phương trình hồi quy có mức độ tương thích khá cao ở độ tin cậy 95%. Phân tích thống kê đã xác nhận ý nghĩa của các mô hình, được chứng minh bằng các hệ số hồi quy có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$) và Lack of fit là không có ý nghĩa thống kê (giá trị P là 0,2151 đối với TPC; 0,0676 đối với TSC và 0,0718 đối với PAC), khẳng định tính hiệu quả của các mô hình trong việc minh họa mối quan hệ giữa các điều kiện trích ly và hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học thu được.

Bảng 3.8. Hệ số và giá trị P của các yếu tố trong trích ly bằng siêu âm – enzyme

Tham số	TPC (mg GAE/g DW)		TSC (mg AE/g DW)		PAC (mg CE/g DW)	
	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P
Hằng số	12,950	<0,0001	41,206	<0,0001	4,711	<0,0001
X ₁	-0,009	0,8861	-1,856	0,0047	-0,007	0,9496
X ₂	1,121	<0,0001	3,764	<0,0001	0,572	0,0011
X ₃	0,021	0,7418	0,287	0,5471	0,083	0,4626
X ₁ X ₂	0,525	0,0003	1,934	0,0139	0,150	0,3205
X ₁ X ₃	0,189	0,0470	2,063	0,0103	-0,090	0,5421
X ₂ X ₃	0,139	0,1200	-0,312	0,6156	-0,002	0,9866
X ₁ ²	-0,546	<0,0001	-1,627	0,0140	-0,023	0,8542
X ₂ ²	-1,085	<0,0001	-1,974	0,0056	-0,180	0,1712
X ₃ ²	-0,517	0,0001	-2,214	0,0031	-0,096	0,4428
R ²	0,989	<0,0001	0,952	0,0008	0,826	0,0495
Lack of fit		0,2151		0,0676		0,0718

TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, CE: Đường lượng catechin, DW: Vật chất khô

Các mô hình bậc hai cho TPC, TSC và PAC thu hồi được thể hiện trong phương trình (1) – (3). Các phương trình đa thức bậc hai này được sử dụng để tối ưu hóa:

$$Y_1 = 12,950 + 1,121X_2 + 0,525X_1X_2 + 0,189X_1X_3 - 0,546X_1^2 - 1,085X_2^2 - 0,517X_3^2 \quad (1)$$

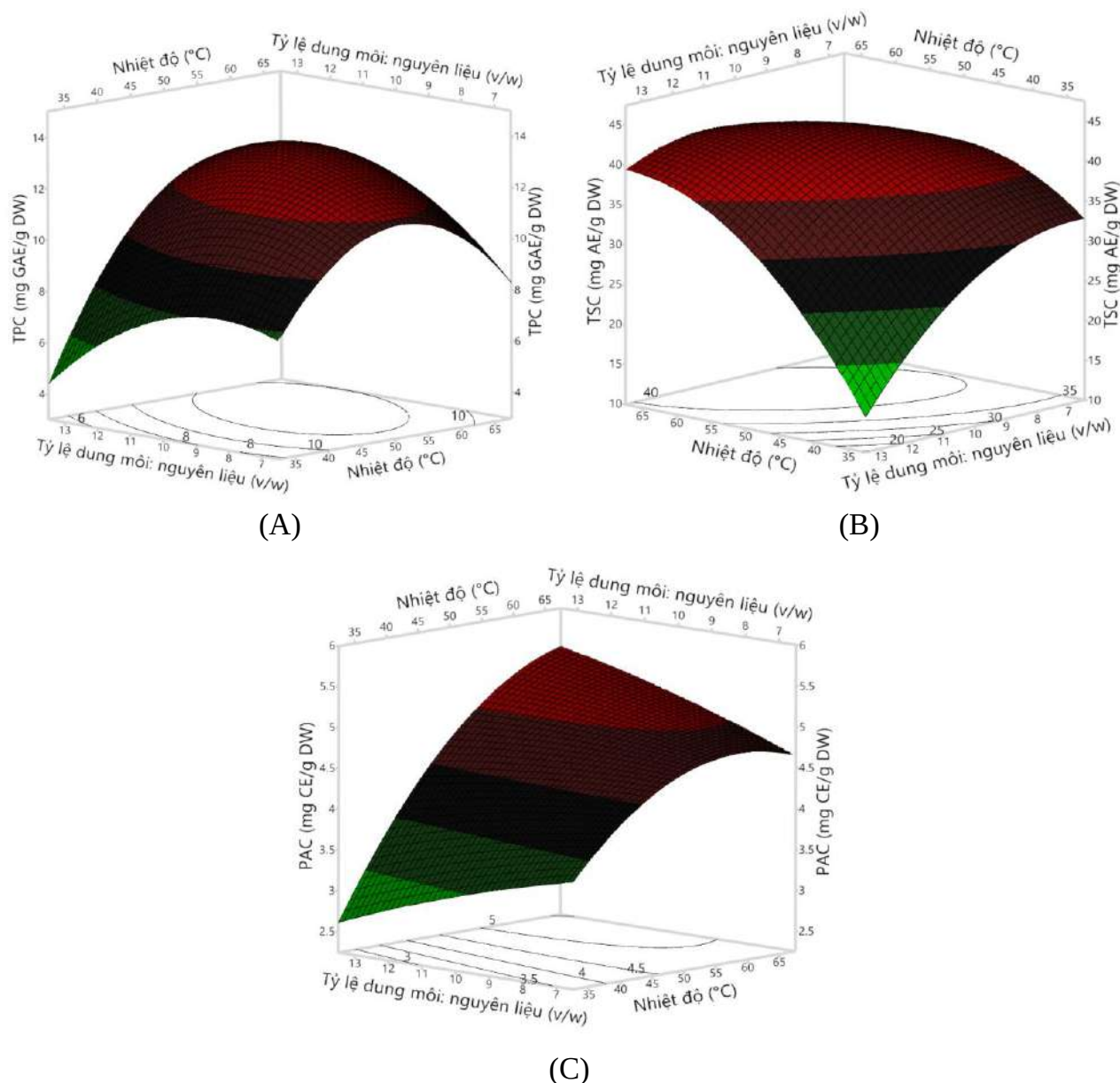
$$Y_2 = 41,206 - 1,856X_1 + 3,764X_2 + 1,934X_1X_2 + 2,063X_1X_3 - 1,627X_1^2 - 1,974X_2^2 - 2,214X_3^2 \quad (2)$$

$$Y_3 = 4,711 + 0,572X_2 \quad (3)$$

Trong đó: X₁ biểu thị tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (v/w), X₂ biểu thị nhiệt độ trích ly (°C) và X₃ biểu thị thời gian trích ly (phút). Y₁, Y₂ và Y₃ tương ứng lần lượt với TPC (mg GAE/g DW), TSC (mg AE/g DW) và PAC (mg CE/g DW).

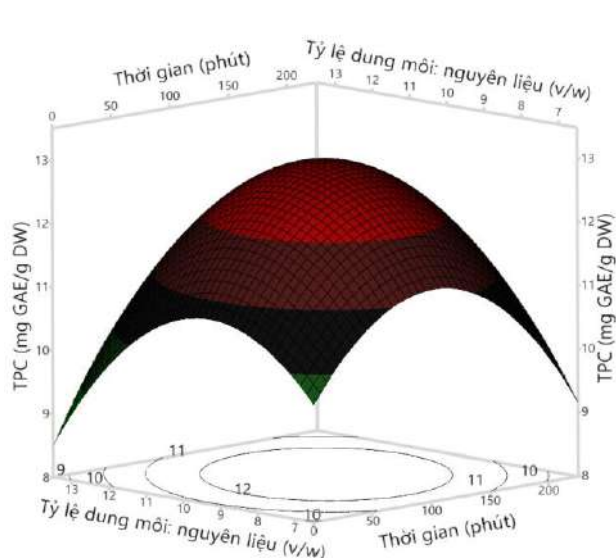
Biểu đồ đường đồng mức và bề mặt đáp ứng đã minh họa mối quan hệ giữa các biến độc lập và đáp ứng được thể hiện trong **Hình 3.2**, **Hình 3.3** và **Hình 3.4**. Nhiệt độ

và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu có ảnh hưởng đến TPC, TSC và PAC thu hồi được. Khi các yếu tố này càng tăng thì hiệu quả thu hồi càng tăng, nhưng đến một mức nhất định (nhiệt độ > 60°C, thời gian > 125 phút hoặc tỷ lệ dung môi: nguyên liệu > 10,5:1 (v/w)) nếu tiếp tục tăng các yếu tố thì hàm lượng các hợp chất có xu hướng giảm. Trong đó, nhiệt độ là thông số quan trọng nhất ảnh hưởng đến TPC, TSC và PAC.

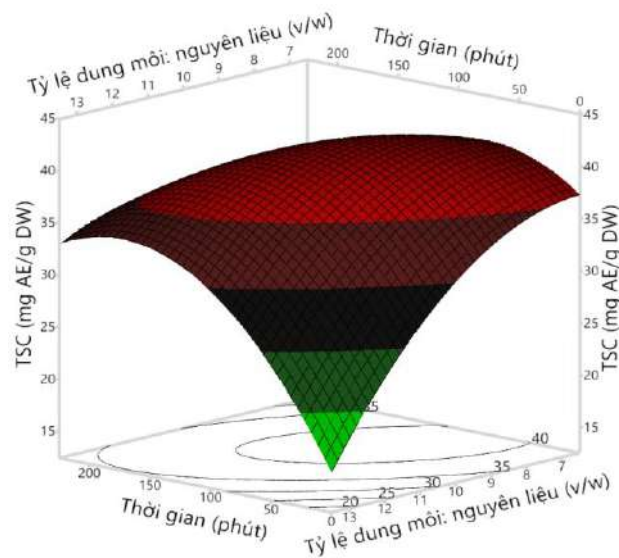


Hình 3.2. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC, và (C) PAC chịu ảnh hưởng của nhiệt độ và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu trong phương pháp U-EAE

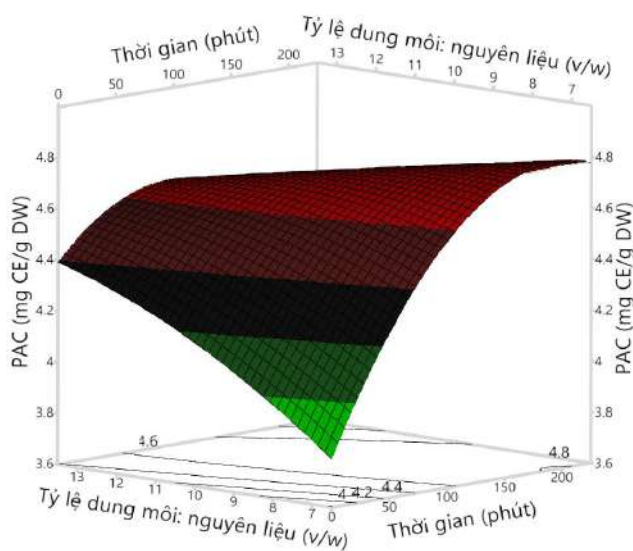
U-EAE: Trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm và enzyme. TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, CE: Đường lượng catechin. DW: vật chất khô.



(A)



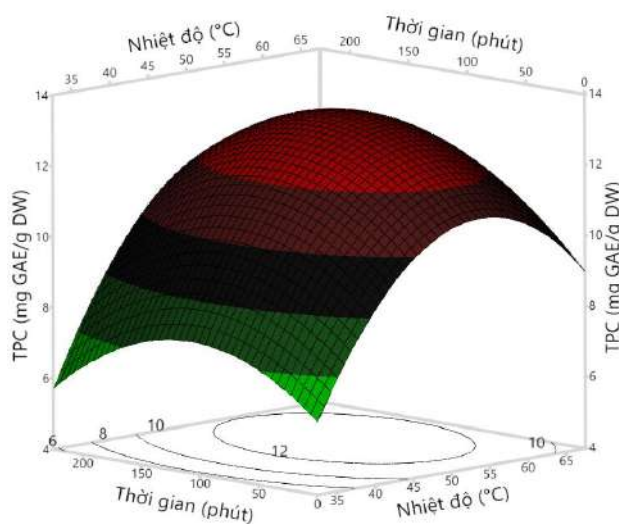
(B)



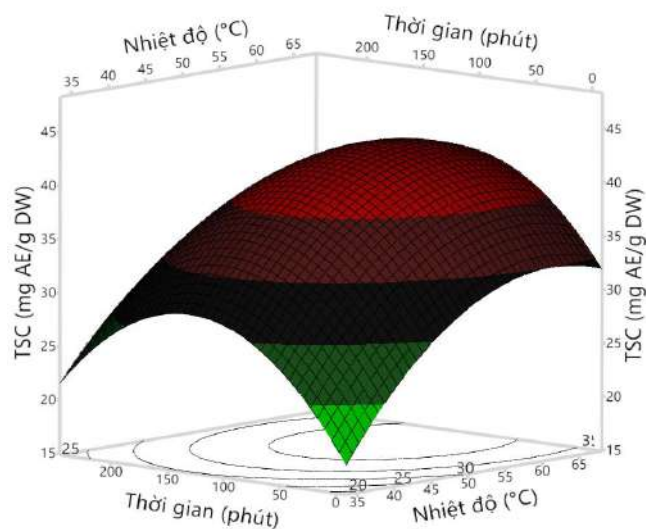
(C)

Hình 3.3. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC, và (C) PAC chịu ảnh hưởng của thời gian và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu trong phương pháp U-EAE

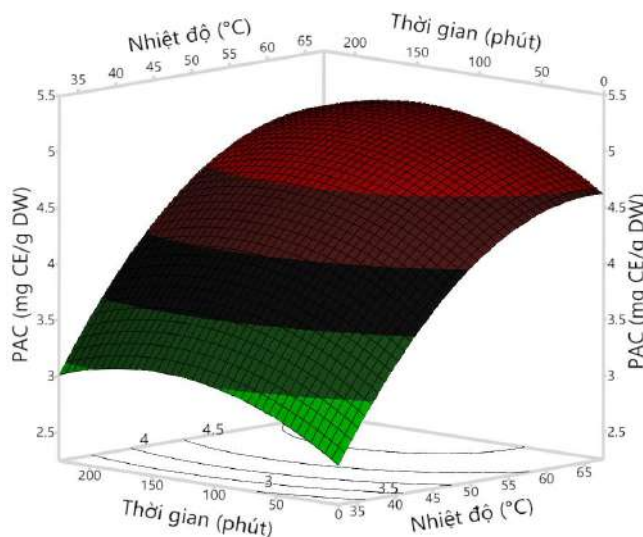
U-EAE: Trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm và enzyme. TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đương lượng gallic acid, AE: Đương lượng aescin, CE: Đương lượng catechin. DW: vật chất khô



(A)



(B)



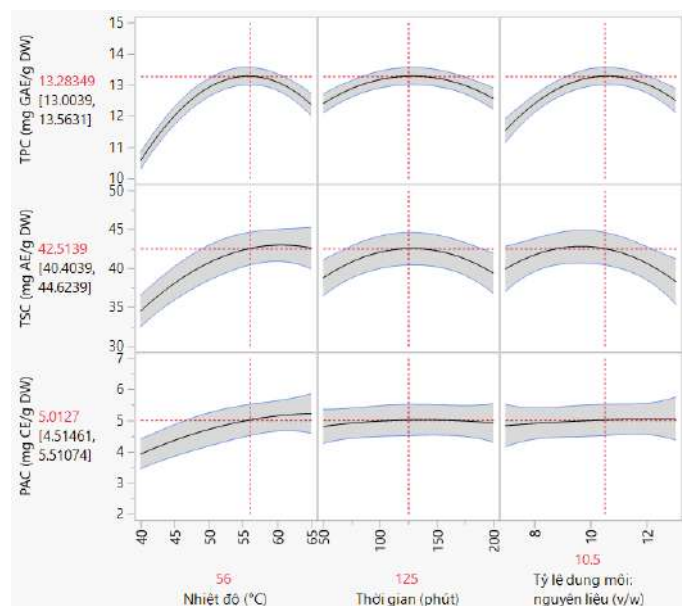
(C)

Hình 3.4. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC, và (C)

PAC chịu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly trong phương pháp U-EAE

U-EAE: Trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm và enzyme. TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đương lượng gallic acid, AE: Đương lượng aescin, CE: Đương lượng catechin. DW: vật chất khô

Hình 3.5 trình bày các điều kiện tối ưu để trích ly các hợp chất phenolic, saponin, proanthocyanidin từ phụ phẩm nho bằng phương pháp kết hợp siêu âm – enzyme, cùng với các giá trị đáp ứng dự đoán và thực nghiệm. Các điều kiện tối ưu đã xác định bao gồm tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10,5:1 (v/w), nhiệt độ trích ly 56°C, thời gian trích ly 125 phút.



Hình 3.5. Mô hình dự đoán TPC, TSC và PAC thu hồi được trong điều kiện trích ly tối ưu bằng phương pháp trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm – enzyme

TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin.

Với điều kiện trích ly này, kết quả xử lý số liệu thống kê cho thấy giá trị dự đoán và thực nghiệm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) (**Bảng 3.9**).

Bảng 3.9. Kết quả thẩm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế trong phương pháp trích ly kết hợp siêu âm – enzyme

TPC (mg GAE/g DW)		TSC (mg AE/g DW)		PAC (mg CE/g DW)	
Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm
13,28 ^a ± 0,28	13,22 ^a ± 0,03	42,51 ^a ± 2,11	40,63 ^a ± 1,26	5,01 ^a ± 0,50	4,96 ^a ± 0,07

TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, CE: Đường lượng catechin, DW: vật chất khô. Trong cùng một chỉ tiêu, chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

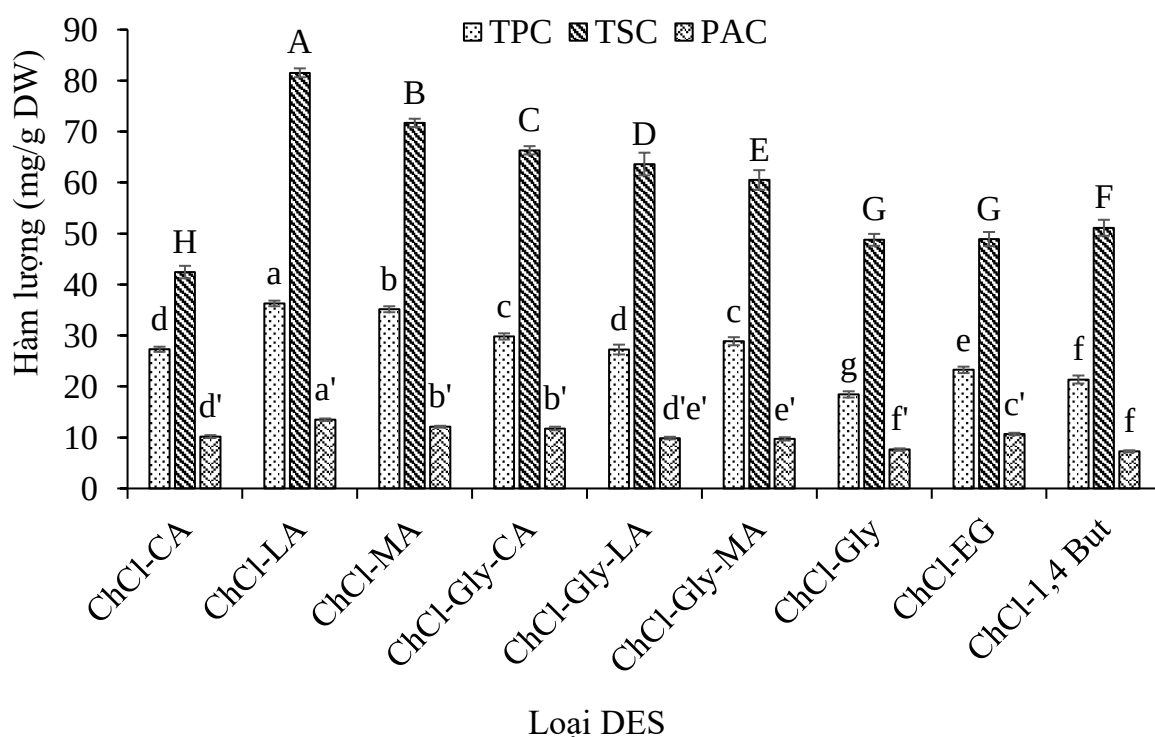
Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu tối ưu trong nghiên cứu này gần tương đương với trong báo cáo của Avdović và cộng sự (2025) cũng sử dụng siêu âm để trích ly hợp chất phenolic từ vỏ nho Marselan và Shiraz. Thời gian trích ly này ngắn hơn so với nghiên cứu được báo cáo bởi Tomaz và cộng sự (2016), thời gian trích ly anthocyanin, flavonol glycoside và flavan-3-ols từ vỏ nho bằng enzyme pectinase là 3 giờ. Nguyên nhân có thể giải thích do hiệu quả của việc kết hợp hai loại enzyme và tác động của siêu âm giúp

rút ngắn thời gian trích ly các hợp chất từ phụ phẩm nho. Nhiệt độ thủy phân 56°C là phù hợp cho các loại enzyme. Nhiệt độ tối ưu cao hơn so với nhiệt độ được sử dụng để thu hồi phenolic từ hạt nho với trích ly có hỗ trợ enzyme pectinase là 48°C (Štambuk và cộng sự, 2016).

3.2.2 Tối ưu hóa điều kiện trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng DES

❖ Ảnh hưởng của loại DES đến quá trình trích ly bằng DES

Mỗi loại DES có đặc tính lý hóa khác nhau dẫn đến hiệu quả trích ly khác nhau. Do đó, đối với quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học, việc lựa chọn loại DES phù hợp với nguyên liệu thô và hợp chất mục tiêu cụ thể là một trong những yếu tố quan trọng nhất. Trong nghiên cứu này, tác động của chín loại DES đối với quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho đã được nghiên cứu, kết quả thể hiện ở **Hình 3.6**.



Hình 3.6. Ảnh hưởng của loại DES đến hiệu quả trích ly

DES: Dung môi eutectic sâu, ChCl: Choline chloride, CA: Citric acid, LA: Lactic acid, MA: Malic acid, Gly: Glycerol, EG: Ethylene glycol; 1,4 But: 1,4-Butanediol. TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, CE: Đường lượng catechin. DW: vật chất khô.

Trong cùng một chỉ tiêu, chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

Kết quả cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hiệu quả của các dung môi để trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho ($P \leq 0,05$). Trong số các loại DES, loại tổng hợp dựa trên choline chloride và lactic acid (ChCl–LA) cho hiệu quả trích ly cao nhất. Điều này thể hiện rõ trong tổng hàm lượng trích ly, đạt $131,99 \pm 0,97$ mg/g DW, bao gồm TPC, TSC và PAC lần lượt là $36,19 \pm 0,55$ mg GAE/g DW, $82,30 \pm 1,03$ mg AE/g DW và $13,49 \pm 0,24$ mg CE/g DW. Các giá trị này cao hơn so với các giá trị thu được với hai dung môi còn lại và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$). Theo Palos-Hernández và cộng sự (2025), hệ ChCl–LA với tỷ lệ 1:2 (w/w) là dung môi thích hợp nhất cho việc trích ly anthocyanin và flavonol. Nhìn chung, hiệu quả trích ly tổng thể cao nhất là monocarboxylic acid (lactic acid), tiếp theo là dicarboxylic acid (malic acid) và cuối cùng là tricarboxylic acid (citric acid). Các nghiên cứu trước đây cũng xác nhận hiệu suất trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học sử dụng ChCl–LA cao hơn so với ChCl–MA và ChCl–CA (Palos-Hernández và cộng sự, 2025). Nghiên cứu khác cũng chỉ ra rằng đối với DES dựa trên axit, khi cấu trúc phân tử của HBD có nhiều nhóm hydroxyl (OH) và/hoặc carboxyl (COOH), khả năng thu hồi các hợp chất mục tiêu bị giảm (Almeida Pontes và cộng sự, 2021). Việc thêm một nhóm OH vào cấu trúc của axit có thể dẫn đến năng suất trích ly thấp hơn và các hợp chất phenolic được ưu tiên trích ly bằng DES dựa trên axit có ba hoặc bốn nguyên tử cacbon trong chuỗi alkyl của chúng (Vieira và cộng sự, 2018).

Bên cạnh đó, trong quá trình trích ly rắn – lỏng, độ nhớt của dung môi rất quan trọng đối với ứng dụng thực tế. **Bảng 3.10** thể hiện độ nhớt của các dung môi tạo thành từ các loại DES khác nhau. ChCl–LA cho hiệu suất trích ly cao hơn ChCl–MA và ChCl–CA có thể là do sự khác biệt về độ nhớt của chúng. DES có nhiều nhóm hydroxyl (OH), nhóm carboxyl (COOH) trong cấu trúc phân tử sẽ có độ nhớt cao hơn. Theo Crespo và cộng sự (2018), độ nhớt giảm khi số lượng nhóm chức giảm do đó citric acid có độ nhớt cao hơn, tiếp theo là malic acid, sau đó là lactic acid. Độ nhớt cao của ChCl–MA và ChCl–CA sẽ hạn chế tính di động của các hợp chất mục tiêu bên trong DES, làm giảm hiệu quả trích ly. Do đó, DES được tổng hợp bởi choline chloride và lactic acid có độ nhớt thấp nhất và phù hợp hơn để trích ly hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho so với ChCl–MA và ChCl–CA. Việc bổ sung glycerol vào hệ dung môi sẽ làm tăng độ nhớt của ChCl–Gly–LA so với ChCl–LA.

Bảng 3.10. Độ nhớt của các loại DES khác nhau

Loại DES	Độ nhớt (cP) (ở $30 \pm 2^\circ\text{C}$)
ChCl-Glycerol (1:2)	$1,52 \pm 0,01$
ChCl-EG (1:2)	$0,52 \pm 0,01$
ChCl-1,4 But (1:2)	$1,13 \pm 0,01$
ChCl-CA (2:1)	$3,08 \pm 0,78$
ChCl-LA (1:2)	$0,50 \pm 0,01$
ChCl-MA (1:1)	$2,64 \pm 0,36$
ChCl-Gly-CA (1:1:1)	$3,07 \pm 0,78$
ChCl-Gly-LA (1:1:1)	$0,84 \pm 0,01$
ChCl-Gly-MA (1:1:1)	$2,19 \pm 0,04$

DES: dung môi eutectic sâu, ChCl: choline chloride, CA: citric acid, LA: lactic acid, MA: malic acid, Gly: glycerol, EG: ethylene glycol; 1,4 But: 1,4-Butanediol.

Nhìn chung, ba loại DES cho hiệu quả trích ly cao nhất lần lượt là ChCl-LA, ChCl-MA và ChCl-Gly-CA. Trong đó, ChCl-LA cho hiệu quả trích ly cao và độ nhớt dịch trích thấp. ChCl-LA sẽ phù hợp với các công đoạn xử lý tiếp theo cần dịch trích có độ nhớt thấp, không giữ ẩm ví dụ như sấy phun, đông kết tinh, sấy thăng hoa. Ngược lại, ChCl-Gly-CA cho hiệu quả trích ly cao tương đối nhưng trong thành phần có glycerol nên có độ nhớt khá cao, giúp giữ ẩm và sẽ phù hợp cho các ứng dụng làm oleogel, nhũ tương. Do đó, ChCl-LA và ChCl-Gly-CA được lựa chọn để tối ưu hóa quy trình trích ly cho hai định hướng ứng dụng khác nhau dựa trên đặc điểm của dịch trích.

3.2.2.1 Tối ưu hóa quy trình trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

❖ Ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

Một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid đã được khảo sát, bao gồm tỷ lệ HBA: HBD, tỷ lệ nước bổ sung, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian trích ly (**Phụ lục IV.1.1**). Trong đó, hiệu quả trích ly tăng theo tỷ lệ HBA: HBD từ 2:1 đến 1:2 (w/w). (**Hình PL IV.1**). Hiệu

quả trích ly giảm khi tỷ lệ choline chloride: lactic acid thay đổi từ 1:2 đến 1:3 (w/w). Đối với ảnh hưởng của tỷ lệ nước, kết quả cho thấy rằng hàm lượng phenolic, saponin và proanthocyanidin trích ly được tăng theo tỷ lệ nước tăng thêm vào ChCl–LA từ 10% đến 20% (**Hình PL IV.2**). Tuy nhiên, hàm lượng các hợp chất mục tiêu liên tục giảm khi hàm lượng nước trong ChCl–LA tiếp tục tăng hơn 20%. Đối với ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (15:1, 20:1, 25:1 và 30:1 w/w) thì tỷ lệ 25:1 (w/w) cho hiệu quả trích ly cao nhất, được chứng minh ở hàm lượng TPC, TSC và PAC cao nhất (**Hình PL IV.3**). Khi thể tích dung môi tiếp tục tăng đến tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 30:1 w/w, tổng hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học giảm. Ngoài ra, quá trình gia nhiệt làm tăng khả năng thu hồi các hợp chất phenolic, với hầu hết quá trình trích ly diễn ra ở nhiệt độ trên 40°C. Đáng chú ý, hàm lượng hợp chất tăng đáng kể khi nhiệt độ tăng từ 50°C lên 70°C. Tuy nhiên, chỉ quan sát thấy một sự gia tăng nhẹ khi nhiệt độ tăng từ 60°C lên 70°C (**Hình PL IV.4**). Khi thay đổi thời gian trích ly, hàm lượng hợp chất mục tiêu tăng đáng kể khi thời gian kéo dài từ 60 phút lên 120 phút (**Hình PL IV.5**).

❖ Tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

Dựa trên kết quả thí nghiệm đơn, các phạm vi tối ưu để trích ly được thiết lập là tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 20:1 – 25:1 v/w (X_1), nhiệt độ trích ly là 60 – 70°C (X_2) và thời gian trích ly là 90 – 120 phút (X_3). TPC, TSC và PAC được xác định là các chỉ tiêu để đánh giá hiệu quả trích ly (**Bảng 3.11**).

Bảng 3.11. Mức độ mã hóa của các biến độc lập cho thiết kế CCD trong trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

Yếu tố	Kí hiệu	Các mức của yếu tố				
		-1,682	-1	0	+1	+1,682
Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (v/w)	X_1	18,3	20,0	22,5	25,0	26,7
Nhiệt độ trích ly (°C)	X_2	57	60	65	70	73
Thời gian trích ly (phút)	X_3	80	90	105	120	130

Bảng 3.12 trình bày hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho, với TPC, TSC và PAC thu được dao động lần lượt từ 51,36 mg GAE/g DW đến

84,36 mg GAE/g DW; 111,49 mg AE/g DW đến 166,24 mg AE/g DW và 22,57 mg CE/g DW đến 31,13 mg CE/g DW.

Bảng 3.12. Ma trận yếu tố mã hóa trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

TT	Yếu tố			Đáp ứng		
	Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (v/w)	Nhiệt độ trích ly (°C)	Thời gian trích ly (phút)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
1	18,3	65	105	51,36 ± 0,54	111,49 ± 1,50	22,57 ± 0,20
2	20,0	60	90	55,74 ± 0,99	120,40 ± 1,96	22,94 ± 0,18
3	20,0	60	120	60,96 ± 0,22	128,10 ± 1,32	24,68 ± 0,07
4	20,0	70	90	64,33 ± 0,14	119,71 ± 1,84	24,52 ± 0,19
5	20,0	70	120	66,03 ± 0,31	150,24 ± 2,18	27,78 ± 0,18
6	22,5	57	105	65,11 ± 0,66	117,52 ± 1,69	25,30 ± 0,20
7	22,5	65	80	61,99 ± 0,45	133,79 ± 1,06	27,21 ± 0,19
8	22,5	65	105	70,69 ± 0,19	166,04 ± 1,36	28,60 ± 0,20
9	22,5	65	105	68,72 ± 0,84	160,01 ± 0,70	28,90 ± 0,08
10	22,5	65	105	69,44 ± 0,47	159,55 ± 0,70	27,70 ± 0,08
11	22,5	65	130	71,40 ± 0,85	154,11 ± 0,36	29,96 ± 0,19
12	22,5	73	105	84,36 ± 0,26	166,24 ± 1,67	31,13 ± 0,14
13	25,0	60	90	63,49 ± 0,11	138,49 ± 0,46	25,91 ± 0,79
14	25,0	60	120	71,78 ± 0,33	150,99 ± 1,58	29,60 ± 0,50
15	25,0	70	90	71,98 ± 0,24	150,75 ± 1,63	30,18 ± 0,48
16	25,0	70	120	81,28 ± 0,78	166,11 ± 1,63	30,51 ± 0,08
17	26,7	65	105	72,40 ± 0,45	156,01 ± 0,46	30,33 ± 0,08

TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin.; GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, CE: Đường lượng catechin; DW: vật chất khô.

Bảng 3.13 tóm tắt các hệ số hồi quy ước tính cho các chỉ tiêu, trong đó ý nghĩa của các hệ số này trong các mô hình bề mặt đáp ứng, giá trị R^2 , giá trị P lack of fit và giá trị P của phương trình hồi quy cũng được thể hiện. Phân tích thống kê cho thấy ý nghĩa của các mô hình, được xác nhận bằng các hệ số hồi quy có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$) và giá trị Lack of fit là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) cho tất cả các mô hình. Hơn nữa, **Bảng 3.13** cũng trình bày chi tiết các ảnh hưởng tuyến tính, tương tác và bậc hai của nhiệt độ, thời gian trích ly và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đối với từng đáp ứng. Các hệ số có giá trị $P \leq 0,05$ được xem là có ý nghĩa, chứng minh ảnh hưởng có đáng kể của các biến tương ứng.

Các mức tuyến tính của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian trích ly có ảnh hưởng tích cực đến TPC, TSC và PAC. Trong khi đó, hầu hết các mức bậc hai

đều thể hiện tác động tiêu cực đến các chỉ tiêu, ngoại trừ nhiệt độ trích ly. Đối với TPC, thời gian với mức bậc hai không cho thấy tác động đáng kể đến hiệu quả trích ly ($P > 0,05$). Tất cả các mức bậc hai khi xét chỉ tiêu TSC đều có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$), tương tự đối với PAC các mức bậc hai của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu cũng có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$). Các mức tương tác giữa ba yếu tố không chứng minh được ý nghĩa thống kê đối với hiệu quả trích ly ($P > 0,05$).

Bảng 3.13. Hệ số và giá trị P của các yếu tố trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

Tham số	TPC (mg GAE/g DW)		TSC (mg AE/g DW)		PAC (mg CE/g DW)	
	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P
Hằng số	69,71	< 0,0001	161,56	<0,0001	28,47	<0,0001
X ₁	5,63	< 0,0001	11,92	0,0006	2,15	<0,0001
X ₂	4,76	< 0,0001	9,66	0,0023	1,46	0,0010
X ₃	2,97	0,0006	7,37	0,0085	1,00	0,0072
X ₁ X ₂	0,54	0,4368	0,74	0,7881	0,06	0,8629
X ₁ X ₃	1,33	0,0817	-1,30	0,6401	-0,12	0,7358
X ₂ X ₃	-0,31	0,6472	3,21	0,2655	-0,23	0,5308
X ₁ ²	-2,94	0,0011	-9,29	0,0041	-0,85	0,0231
X ₂ ²	1,76	0,0211	-7,01	0,0226	-0,26	0,4409
X ₃ ²	-1,26	0,0589	-5,76	0,0376	-0,09	0,7610
R ²	0,98	<0,0001	0,93	0,0028	0,94	0,0014
Lack of fit		0,1934		0,1581		0,2620

TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, CE: Đường lượng catechin, DW: vật chất khô.

Phân tích thống kê đã xác nhận độ chính xác của các mô hình bề mặt đáp ứng, được phản ánh thông qua các giá trị R² là 0,98 đối với TPC, 0,93 đối với TSC và 0,94 đối với PAC. Các giá trị P của Lack of fit (giá trị P là 0,1934 đối với TPC, 0,1581 đối với TSC và 0,2620 đối với PAC) đã xác nhận thêm các mô hình là phù hợp, khẳng định tính hiệu quả của chúng trong việc minh họa mối quan hệ giữa các điều kiện trích ly và các chỉ tiêu TPC, TSC và PAC thu được. Những kết quả này chỉ ra rằng các mô hình đa thức bậc hai biểu diễn một cách có hiệu quả tác động của các thông số trích ly lên các đáp ứng, cung cấp những hiểu biết quan trọng để tối ưu hóa các quy trình trích ly của TPC, TSC và PAC từ phụ phẩm nho.

Các mô hình bậc hai cho TPC, TSC và PAC được thể hiện trong phương trình (4), (5) và (6). Các phương trình đa thức bậc hai này được sử dụng để tối ưu hóa:

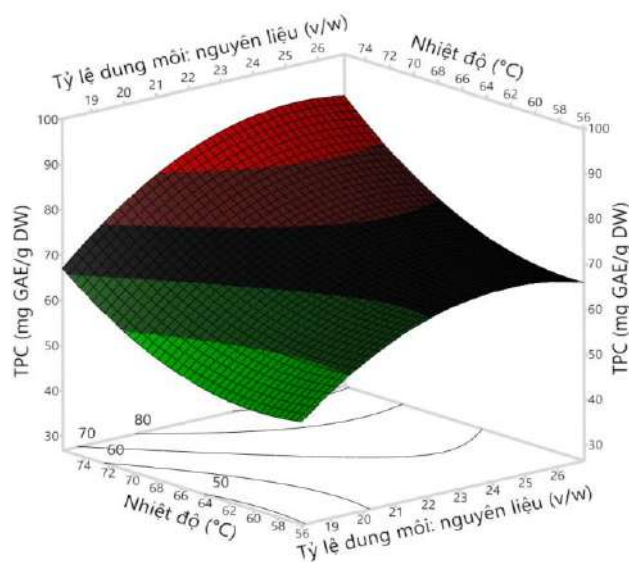
$$Y_1 = 69,71 + 5,63X_1 + 4,76X_2 + 2,97X_3 - 2,94X_1^2 + 1,76X_2^2 \quad (4)$$

$$Y_2 = 161,56 + 11,92X_1 + 9,66X_2 + 7,37X_3 - 9,29X_1^2 - 7,01X_2^2 - 5,76X_3^2 \quad (5)$$

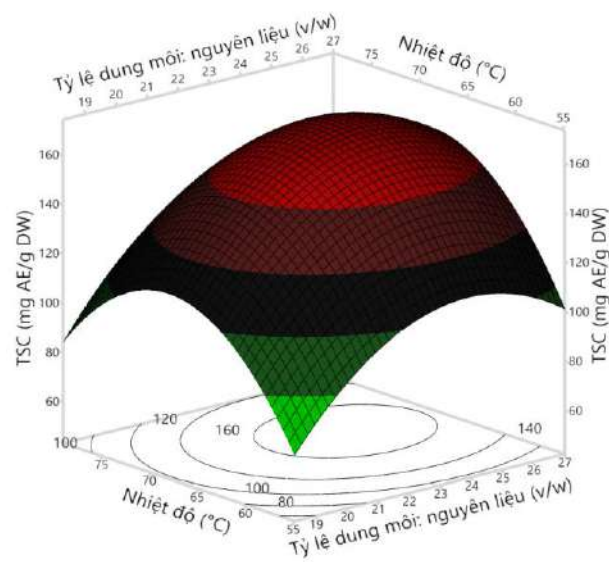
$$Y_3 = 28,47 + 2,15X_1 + 1,46X_2 + 1,00X_3 - 0,85X_1^2 \quad (6)$$

Trong đó X_1 biểu thị tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, X_2 biểu thị nhiệt độ trích ly, X_3 biểu thị thời gian trích ly và Y_1 , Y_2 và Y_3 tương ứng với TPC, TSC và PAC thu được.

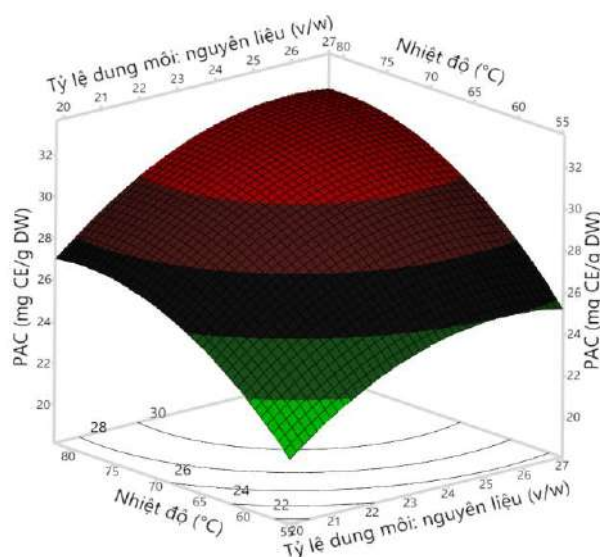
Biểu đồ đường đồng mức và bề mặt đáp ứng đã minh họa mối quan hệ giữa các biến độc lập và đáp ứng. **Hình 3.7**, **Hình 3.8** và **Hình 3.9** cho thấy cách TPC, TSC và PAC thay đổi theo sự thay đổi của ba yếu tố, nhìn chung cho thấy sự gia tăng các hợp chất này khi nhiệt độ, thời gian trích ly và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu cao hơn. **Hình 3.7** làm nổi bật tác động đáng kể của nhiệt độ trích ly và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đối với TPC, TSC và PAC. Kết quả cho thấy TPC, TSC và PAC tăng khi nhiệt độ và tỷ lệ dung môi tăng. Tuy nhiên, nhiệt độ hoặc tỷ lệ dung môi quá cao có thể dẫn đến giảm TSC nhanh hơn. **Hình 3.7** cho thấy sản lượng TPC tăng khi tỷ lệ dung môi trên nguyên liệu và nhiệt độ trích ly cao hơn nhưng bắt đầu giảm nhẹ khi vượt quá tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 25:1 (v/w). Tương tự như vậy, tác động của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu và nhiệt độ trích ly đối với PAC cũng theo cùng xu hướng như TPC. Nguyên nhân có thể là do nhiệt độ cao hơn làm tăng độ hòa tan của các hợp chất phenolic và proanthocyanidin, do đó tạo điều kiện giải phóng chúng khỏi ma trận thực vật. Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh tương tự, cho thấy nhiệt độ cùng với tỷ lệ dung môi: nguyên liệu tăng giúp cải thiện hiệu quả thu hồi TPC (Bui và cộng sự, 2024). Đối với TSC, sự gia tăng ban đầu đã được quan sát thấy khi nhiệt độ và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu tăng. Tuy nhiên, sự suy giảm TSC đã được ghi nhận khi tỷ lệ dung môi trên nguyên liệu vượt quá 25:1 (v/w) và nhiệt độ vượt quá 70°C. Điều này cho thấy rằng các điều kiện khắc nghiệt có thể gây ra sự phân hủy nhiệt hoặc mất saponin trong trích ly.



(A)



(B)

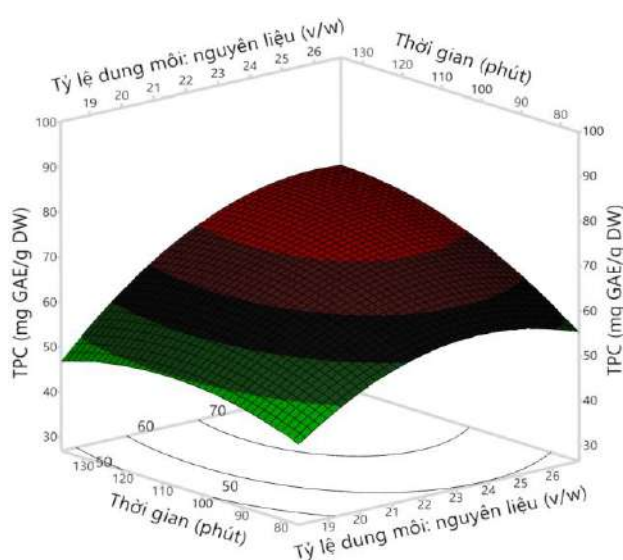


(C)

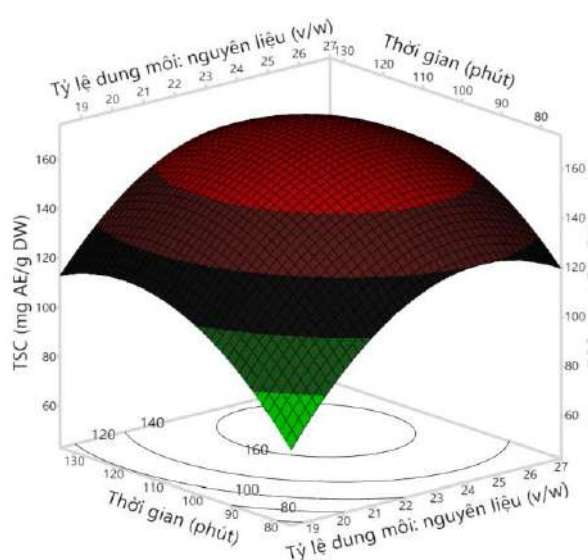
Hình 3.7. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC và (C) PAC chịu ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu và nhiệt độ trong trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đương lượng gallic acid, AE: Đương lượng aescin, CE: Đương lượng catechin, DW: vật chất khô.

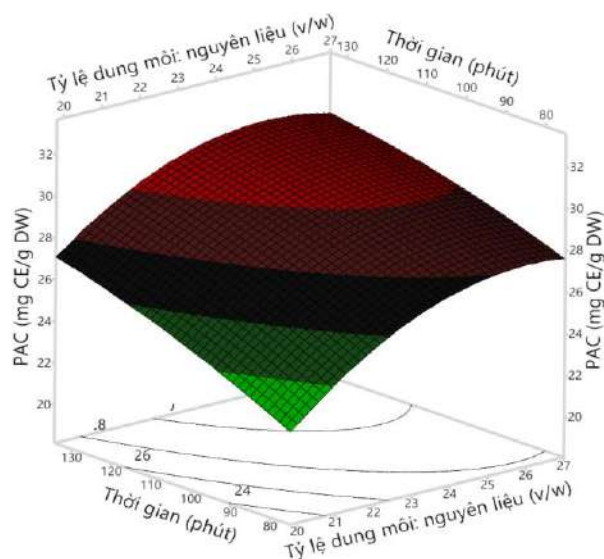
Thời gian trích ly cũng quan trọng trong việc tác động đến hiệu quả trích ly TPC, TSC và PAC từ phụ phẩm nho. Như thể hiện trong **Hình 3.8**, việc tăng thời gian trích và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu ban đầu thúc đẩy sự gia tăng TPC, TSC và PAC trước khi dẫn đến sự suy giảm.



(A)



(B)



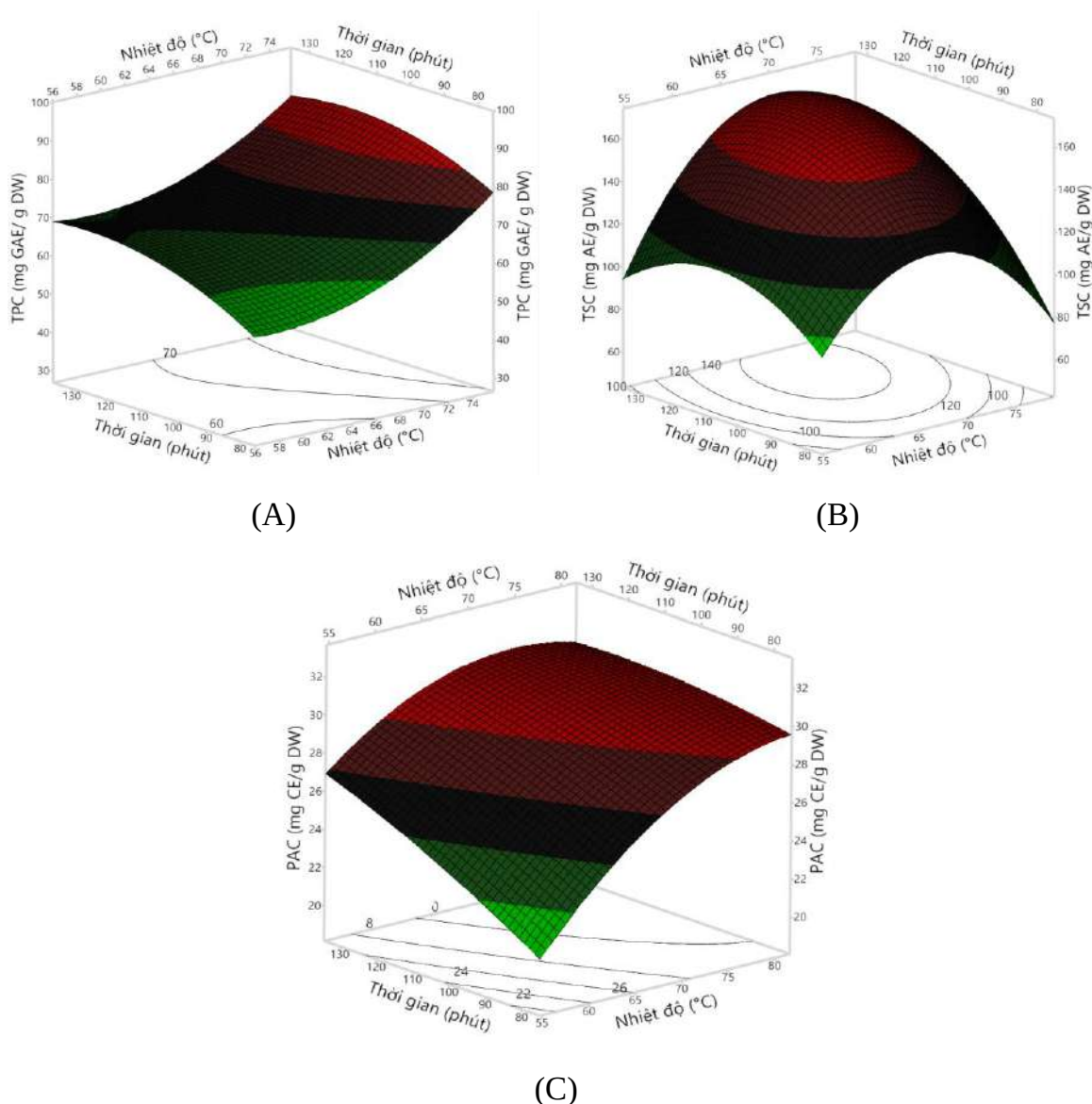
(C)

Hình 3.8. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC và (C) PAC chịu ảnh hưởng của thời gian trích ly và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu trong trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

DES: dung môi eutectic sâu. TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đương lượng gallic acid, AE: Đương lượng aescin, CE: Đương lượng catechin, DW: vật chất khô.

Tương tự như vậy, **Hình 3.9** chứng minh sự tương tác giữa thời gian và nhiệt độ trích ly. Khi nhiệt độ cao và thời gian trích ly kéo dài có thể tăng cường hiệu quả trích ly TPC và PAC, nhưng chúng lại ảnh hưởng tiêu cực đến TSC. Tác động bậc hai của

thời gian trích ly là không đáng kể đối với TPC và PAC ($P > 0,05$) nhưng lại đáng kể đối với TSC ($P \leq 0,05$).



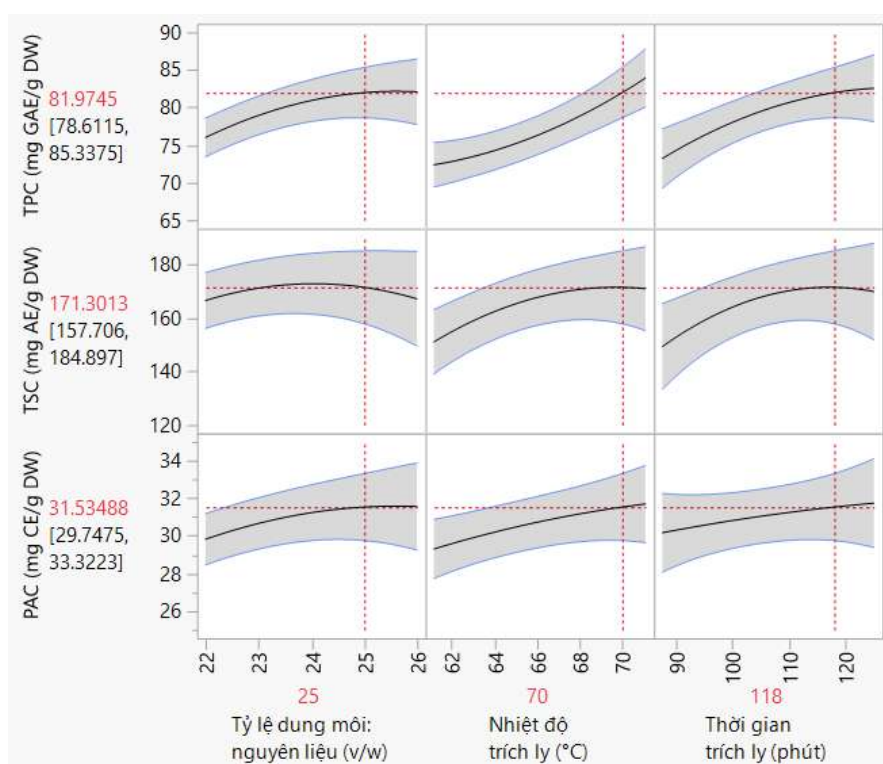
Hình 3.9. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC, (B) TSC và (C) PAC chịu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

DES: dung môi eutectic sâu. TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đương lượng gallic acid, AE: Đương lượng aescin, CE: Đương lượng catechin, DW: vật chất khô.

Hình 3.8 và **Hình 3.9** cho thấy TSC bắt đầu giảm khi thời gian trích ly vượt quá khoảng 120 phút, trong khi TPC và PAC tiếp tục tăng nhẹ. Phát hiện này cho thấy thời gian trích ly tối ưu để tối đa hóa khả năng thu hồi TSC ngắn hơn so với các hợp chất khác như phenolic có khả năng chống lại nhiệt độ, oxy và ánh sáng tốt hơn. Thời gian

trích ly kéo dài dẫn đến sự phân hủy đáng kể của saponin, trong khi các hợp chất khác tiếp tục được khuếch tán vào dung môi, dẫn đến nồng độ tăng (Hoang, 2023). Các nghiên cứu trước đây, chẳng hạn như nghiên cứu của Bui và cộng sự (2024), đã chỉ ra rằng saponin khuếch tán vào dung môi nhanh hơn các hợp chất phenolic. Do đó, việc kéo dài thời gian trích ly vượt quá phạm vi tối ưu không làm tăng đáng kể sản lượng TSC và thậm chí có thể làm giảm chúng do sự phân hủy nhiệt hoặc oxy hóa.

Hình 3.10 trình bày các điều kiện tối ưu để trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho, cùng với các giá trị đáp ứng dự đoán ở các điều kiện tối ưu này. Các điều kiện tối ưu đã xác định bao gồm tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 25:1 (v/w), nhiệt độ trích ly là 70°C trong 118 phút.



Hình 3.10. Mô hình dự đoán TPC, TSC và PAC thu hồi được và điều kiện trích ly tối ưu của phương pháp trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. DES: dung môi eutectic sâu.

TPC, TSC và PAC thực nghiệm lần lượt là $81,90 \pm 1,06$ mg GAE/g DW, $174,66 \pm 2,87$ mg AE/g DW và $31,13 \pm 0,50$ mg CE/g DW. Sự khác biệt giữa các giá trị dự đoán và thực nghiệm đối với mỗi đáp ứng được chứng minh là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) (**Bảng 3.14**).

Bảng 3.14. Kết quả thăm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

TPC (mg GAE/g DW)		TSC (mg AE/g DW)		PAC (mg CE/g DW)	
Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm
81,97 ^a ± 3,36	81,90 ^a ± 1,06	171,30 ^b ± 13,60	174,66 ^b ± 2,87	31,53 ^c ± 1,79	31,13 ^c ± 0,50

Trong cùng một chỉ tiêu, chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)
DES: dung môi eutectic sâu, DM: NL: dung môi: nguyên liệu. TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, CE: Đường lượng catechin, DW: vật chất khô

Nhìn chung, mô hình bề mặt đáp ứng đã được xác nhận là có thể dự đoán TPC, TSC và PAC trích ly từ phụ phẩm nho dựa trên thông số tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian trích ly. Điều kiện tối ưu này khác với những kết quả được báo cáo bởi Athanasiadis và cộng sự (2022), đã xác định các điều kiện tối ưu để trích ly polyphenol từ *Vitis vinifera* cv. Muscat sử dụng DES tổng hợp từ L-proline, glycerol và citric acid ở nhiệt độ 80°C và thời gian 220 phút (Athanasiadis và cộng sự, 2022). Ngược lại, nhiệt độ tối ưu xác định trong nghiên cứu này cao hơn nhiệt độ để trích ly polyphenol và anthocyanin từ phụ phẩm việt quất bằng cách sử dụng DES từ choline chloride và 1,4-butanediol (Zhang và cộng sự, 2023). Tương tự, nhiệt độ và thời gian trích ly tối ưu (70°C và 118 phút) đều cao hơn so với nhiệt độ và thời gian tối ưu (60°C và 60 phút) để trích ly hợp chất phenolic trong phụ phẩm nho đỏ giống Fetească Neagră và Merlot trong nghiên cứu của Balan và cộng sự (2025) cùng dung môi từ choline chloride và lactic acid.

TSC thu hồi được mặc dù vẫn thấp hơn so với hàm lượng saponin xác định được trong nghiên cứu của Simchuer và cộng sự (2022) thực hiện trên giống nho đại *Ampelocissus martinii* Planch. Tuy nhiên, TPC đạt được trong nghiên cứu này vượt trội hơn so với các nghiên cứu trước đây được tiến hành trên các giống nho khác (Athanasiadis và cộng sự, 2022; Milinčić và cộng sự, 2021) cũng như trên cùng một giống nho (Nguyen và cộng sự, 2023) với loại DES khác từ choline chloride, citric acid và glycerol. Đặc biệt, hàm lượng tổng các hợp chất trích ly được bằng phương pháp sử dụng DES cao hơn so với phương pháp trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm – enzyme. Từ đó có thể thấy được hiệu quả trích ly của DES. Khả năng hòa tan các hợp chất trong

DES được giải thích theo hai lý thuyết chính đó là (1) Lý thuyết lỗ trống: Cấu trúc bên trong của DES tạo thành ma trận giống như polymer và các hợp chất mục tiêu có thể hòa tan vào lỗ trống của mạng lưới polymer. Khi tỷ lệ và thành phần của DES thay đổi, kích thước và hình dạng của các lỗ trống trong ma trận thay đổi dẫn đến cấu trúc của DES cũng thay đổi; (2) Lý thuyết liên kết: Các chất hòa tan trở thành một phần của ma trận DES nhờ vào các tương tác như liên kết hydro (Liu và cộng sự, 2018). DES có thể hòa tan phenolic do độ phân cực và tương tác hóa học tương tự. Tương tác hydro giữa DES và các phenolic rất mạnh (mạnh hơn so với tan trong nước) và đôi khi vượt trội hơn các lực tĩnh điện giữa polyphenol – polyphenol khác (Zhou và cộng sự, 2023). Các cơ chế này giúp tăng cường đáng kể khả năng hòa tan các hợp chất phenolic và saponin của DES. Bên cạnh đó, hiệu quả trích ly của DES còn được giải thích bằng tác động của nó lên thành tế bào của nguyên liệu. Các nguyên liệu được trích ly bằng DES đã cho thấy nhiều lỗ rỗng và vết nứt lớn hơn so với quá trình trích ly có hỗ trợ siêu âm riêng lẻ nhờ vào tác động ăn mòn và sự thâm nhập của DES vào cấu trúc tế bào thông qua các hình SEM được báo cáo trong nghiên cứu của Wang và cộng sự (2023).

❖ **Thành phần hợp chất phenolic, hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của dịch trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid**

Thành phần hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ trong dịch trích tối ưu

Dịch trích thực vật có thể chứa hàng trăm hợp chất có hoạt tính sinh học riêng lẻ với hàm lượng khác nhau. Việc xác định các hợp chất cụ thể trong dịch trích cung cấp thông tin chi tiết về hoạt tính sinh học của dịch trích, bao gồm các đặc tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa. Trong luận án này, dịch trích đã được phân tích để tìm một số hợp chất có hoạt tính sinh học chính có trong phụ phẩm nho. Hàm lượng của các hợp chất riêng lẻ này được trình bày trong **Bảng 3.15**. Các kết quả này tương tự với các nghiên cứu trước đây đã xác định phụ phẩm nho là nguồn phong phú của nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học khác nhau, bao gồm catechin, epicatechin, gallic acid, kaempferol, myricetin, quercetin và rutin (Caldas và cộng sự, 2018; Milinčić và cộng sự, 2021).

Theo Vaou và cộng sự (2022), sự kết hợp của các hợp chất kháng khuẩn có thể tăng cường hoạt tính kháng khuẩn tổng thể của dịch trích đồng thời giảm thiểu các tác dụng kháng có hại tiềm ẩn. Ngoài ra, việc sử dụng kết hợp các hợp chất hoạt tính kháng khuẩn giúp giảm độc tính và tác dụng phụ, vì liều thấp hơn có hiệu quả khi sử dụng cùng

nhau so với khi dùng riêng lẻ (Vaou và cộng sự, 2022). Phụ phẩm nho *Red Cardinal* chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học đa dạng có tiềm năng đáng kể để nghiên cứu và ứng dụng thêm.

Bảng 3.15. Hàm lượng một số hợp chất phenolic đơn lẻ trong dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

Hợp chất phenolic đơn lẻ	Hàm lượng ($\mu\text{g/g DW}$)
Catechin	$58,48 \pm 0,80$
Epicatechin	$17,23 \pm 2,74$
Gallic acid	$16,50 \pm 0,13$
Kaempferol	$18,18 \pm 0,05$
Myricetin	$39,63 \pm 0,11$
Quercetin	$24,29 \pm 0,06$
Rutin	$55,42 \pm 0,13$

DES: dung môi eutectic sâu, DW: vật chất khô.

Như thể hiện trong **Bảng 3.15**, hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích phụ phẩm nho được phân tích dao động từ $16,50 \mu\text{g/g DW}$ đến $58,48 \mu\text{g/g DW}$. Hàm lượng quercetin, catechin, epicatechin và gallic acid trong điều kiện trích ly tối ưu được xác định cao hơn hàm lượng được Milinčić và cộng sự (2021) báo cáo trong nghiên cứu của họ về bã nho *Prokupac*, nhưng thấp hơn nồng độ được quan sát thấy trong báo cáo của Caldas và cộng sự (2018). Tuy nhiên, hàm lượng kaempferol trong phụ phẩm nho *Red Cardinal* thấp hơn hàm lượng tìm thấy trong bã nho *Prokupac* (Caldas và cộng sự, 2018). Sự khác biệt này có thể là do giống nho và phương pháp trích ly khác nhau.

Các nghiên cứu đã công bố chủ yếu sử dụng dung môi hữu cơ để trích ly các hợp chất từ bã nho, như methanol 80% (Milinčić và cộng sự, 2021) hoặc ethanol 50% (Caldas và cộng sự, 2018) trong khi nghiên cứu này sử dụng DES bao gồm choline chloride và lactic acid. Trích ly bằng DES được báo cáo là mang lại hiệu quả trích ly cao hơn so với các dung môi thông thường (Nguyen và cộng sự, 2023). Ngoài ra, DES được tạo ra từ sự kết hợp của choline chloride và lactic acid cho thấy hiệu quả cao hơn trong việc trích ly quercetin và kaempferol từ phụ phẩm của cùng một giống nho nhưng sử dụng DES được tạo thành từ choline, glycerol và citric acid (Nguyen và cộng sự, 2023). Dữ liệu HPLC cung cấp thông tin chi tiết có giá trị về các hợp chất cụ thể được

định lượng. Hơn nữa, điều quan trọng cần nhấn mạnh là dịch trích chứa nhiều hợp chất phenolic khác nhau, bằng chứng là TPC, TSC và PAC cao. Nhìn chung, những kết quả này chỉ ra rằng DES tổng hợp từ choline chloride và lactic acid có hiệu quả trong việc trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ từ phụ phẩm nho.

Hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn của dịch trích tối ưu

Các chất có nguồn gốc từ thực vật tự nhiên có đặc tính kháng khuẩn đã thu hút được sự quan tâm đáng kể từ các nhà nghiên cứu do tiềm năng của chúng như các tác nhân kháng khuẩn thay thế. Dịch trích thực vật là nguồn phong phú các hợp chất có hoạt tính sinh học và tinh dầu, góp phần tạo nên tác dụng kháng khuẩn của chúng. Các đặc tính kháng khuẩn của dịch trích phụ phẩm nho tối ưu đã được kiểm tra bằng cách đánh giá đường kính của vòng kháng khuẩn và xác định MIC. Hơn nữa, hoạt tính kháng khuẩn của dung môi đã được đánh giá để cung cấp sự so sánh với dịch trích tối ưu. Kết quả của các thử nghiệm kháng khuẩn này được trình bày trong **Bảng 3.16** và **Bảng 3.17**.

Các kết quả trong **Bảng 3.16** chứng minh sự gia tăng tỷ lệ thuận về đường kính của vòng kháng khuẩn khi thể tích dịch trích và nồng độ hợp chất có hoạt tính sinh học tăng. Cụ thể, khi thể tích dịch trích tăng từ 10 μ L lên 40 μ L, đường kính vùng ức chế đối với *S. typhimurium* ATCC 14028 tăng đáng kể từ $14,97 \pm 0,25$ mm lên $25,50 \pm 0,50$ mm, cho thấy sự ức chế vi khuẩn tăng cao. Đường kính vùng ức chế tối đa là $25,50 \pm 0,50$ mm, biểu thị hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất, được ghi nhận ở 40 μ L đối với *S. typhimurium* ATCC 14028. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$). Ngược lại, dịch trích thể hiện tác dụng kháng khuẩn thấp nhất đối với *B. subtilis* ATCC 6633, với vùng ức chế nhỏ nhất đo được là $10,00 \pm 0,20$ mm. Đối với bất kỳ thể tích hoặc nồng độ hợp chất có hoạt tính sinh học nào, dịch trích cho thấy hiệu quả ức chế lớn nhất đối với *S. typhimurium* ATCC 14028, tiếp theo là *E. coli* ATCC 8739 và *S. aureus* ATCC 6538, và cuối cùng là *B. subtilis* ATCC 6633. Ở thể tích dịch trích là 30 μ L và 40 μ L, vùng ức chế đối với *E. coli* ATCC 8739 và *S. typhimurium* ATCC 14028 lớn hơn đáng kể so với vùng ức chế đối với *S. aureus* ATCC 6538 và *B. subtilis* ATCC 6633. Đường kính vòng kháng khuẩn của dung môi cũng tăng theo tỷ lệ với thể tích sử dụng. Khi thể tích dung môi tăng từ 10 μ L lên 40 μ L, đường kính vùng ức chế mở rộng từ $11,07 \pm 0,15$ mm lên $20,00 \pm 0,20$ mm. Nhìn chung, dung môi thể hiện hoạt tính ức chế lớn hơn đối với *S. typhimurium* ATCC 14028 so với các chủng vi khuẩn khác, với sự khác biệt

này có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$) ở thể tích 40 μL . Tuy nhiên, không giống như dịch trích, dung môi không thể hiện xu hướng ức chế nhất quán trên tất cả các vi khuẩn được thử nghiệm.

Bảng 3.16. Đường kính vòng kháng khuẩn của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

Mẫu	Thể tích dịch (μL)	Hàm lượng hợp chất trong dịch trích			Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)			
		TPC*	TSC*	PAC*	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
		(μg)	(μg)	(μg)	ATCC 8739	ATCC 14028	ATCC 6633	ATCC 6538
Dịch trích tối ưu	10	85,91	183,22	32,66	12,20 ^{fC} $\pm$ 0,20	14,97 ^{fA} $\pm$ 0,25	10,00 ^{fD} $\pm$ 0,20	13,03 ^{gB} $\pm$ 0,15
	20	171,82	366,44	65,32	14,40 ^{eB} $\pm$ 0,20	18,53 ^{eA} $\pm$ 0,31	14,00 ^{cdB} $\pm$ 0,20	14,00 ^{fB} $\pm$ 0,20
	30	257,73	549,65	97,99	20,47 ^{bB} $\pm$ 0,31	23,23 ^{cA} $\pm$ 0,38	16,37 ^{bD} $\pm$ 0,32	19,43 ^{cC} $\pm$ 0,40
	40	343,64	732,87	130,65	24,17 ^{aB} $\pm$ 0,29	25,50 ^{bA} $\pm$ 0,50	20,07 ^{aD} $\pm$ 0,31	21,07 ^{bC} $\pm$ 0,31
Dung môi	10	-	-	-	9,00 ^{gB} $\pm$ 0,20	11,07 ^{hA} $\pm$ 0,15	7,27 ^{gC} $\pm$ 0,25	11,00 ^{hA} $\pm$ 0,20
	20	-	-	-	12,20 ^{fB} $\pm$ 0,20	13,00 ^{gA} $\pm$ 0,20	12,27 ^{eB} $\pm$ 0,06	12,97 ^{gA} $\pm$ 0,06
	30	-	-	-	16,53 ^{dA} $\pm$ 0,15	15,00 ^{fB} $\pm$ 0,50	13,47 ^{dC} $\pm$ 0,25	15,03 ^{eB} $\pm$ 0,15
	40	-	-	-	19,00 ^{cB} $\pm$ 0,20	20,00 ^{dA} $\pm$ 0,20	14,50 ^{cD} $\pm$ 0,50	16,03 ^{dC} $\pm$ 0,25
Kháng sinh chloramphenicol (1 mg/mL)	20	-	-	-	20,00 ^b $\pm$ 0,20	27,00 ^a $\pm$ 0,20	19,97 ^a $\pm$ 0,12	28,00 ^a $\pm$ 0,20
Nước cất	20	-	-	-	-	-	-	-

- Không xác định

* TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, hàm lượng saponin tổng và hàm lượng proanthocyanidin trong mỗi thể tích tương ứng theo hàng.

Trong cùng một cột, chữ cái khác nhau (a, b, ...) thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

Trong cùng một dòng, các chữ cái khác nhau (A, B,...) thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

DES: dung môi eutectic sâu. TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. Đối chứng âm: Nước cất. Đối chứng dương: Kháng sinh chloramphenicol.

Theo Zbakh và cộng sự (2012), hoạt tính kháng khuẩn được phân loại theo đường kính vòng kháng khuẩn như sau: không có hoạt tính (đường kính ức chế < 10 mm), hoạt tính thấp (10–15 mm), hoạt tính trung bình (15–20 mm) và hoạt tính cao (≥ 20 mm). Dựa trên phân loại này, các dịch trích cho thấy hoạt tính kháng khuẩn thấp ở thể tích thấp hơn với đường kính vòng kháng khuẩn chủ yếu từ 10 mm đến 15 mm đối với thể tích 10–20 μL (ngoại trừ *S. typhimurium* ATCC 14028). Ở thể tích cao hơn (30–40 μL), đường kính vòng kháng khuẩn dao động từ 16 mm đến 25 mm, thể hiện khả năng kháng khuẩn từ mức trung bình đến cao. Dung môi cho thấy hoạt tính kháng khuẩn từ thấp đến trung bình, với đường kính vòng kháng khuẩn thường dưới 20 mm. Ngược lại, kháng

sinh tiêu chuẩn cho thấy hoạt tính ức chế cao đối với tất cả các chủng vi khuẩn được thử nghiệm (đường kính ≥ 20 mm). Đáng chú ý, dịch trích tối ưu ở thể tích 40 μL cho thấy khả năng ức chế đáng kể đối với *E. coli* ATCC 8739 so với chloramphenicol ($P \leq 0,05$).

Bảng 3.17 cho thấy đối với *E. coli* ATCC 8739, *S. typhimurium* ATCC 14028 và *S. aureus* ATCC 6538, MIC của dung môi gấp đôi so với dịch trích, trong khi đối với *B. subtilis* ATCC 6633 cao hơn năm lần.

Bảng 3.17. Nồng độ ức chế tối thiểu của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

Vi khuẩn	Dịch trích tối ưu				Dung môi
	MIC	TPC*	TSC*	PAC*	MIC
	($\mu\text{L/mL}$)	(μg)	(μg)	(μg)	($\mu\text{L/mL}$)
<i>E. coli</i> ATCC 8739	2,5	21,48	45,80	8,17	5,0
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	2,5	21,48	45,80	8,17	5,0
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	2,5	21,48	45,80	8,17	12,5
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	2,5	21,48	45,80	8,17	5,0
Kháng sinh chloramphenicol	0,2				

MIC: nồng độ ức chế tối thiểu. DES: dung môi eutectic sâu.

* TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, hàm lượng saponin tổng và hàm lượng proanthocyanidin trong mỗi nồng độ tương ứng theo hàng.

Những kết quả này cho thấy dịch trích có tác dụng ức chế mạnh hơn dung môi. Tuy nhiên, cả dung môi và dịch trích đều thể hiện hoạt tính kháng khuẩn thấp hơn so với chloramphenicol, có thể là do đặc tính kháng khuẩn mạnh của các loại kháng sinh chuẩn như chloramphenicol. Các nghiên cứu khác trước đây cho thấy nhiều yếu tố, bao gồm hàm lượng hợp chất, nguyên liệu thô, dung môi và chủng vi khuẩn, có thể ảnh hưởng đến hoạt tính kháng khuẩn của dịch trích phenolic (Akbar và cộng sự, 2023; Tafesh và cộng sự, 2011). Hayek và cộng sự (2013) đề xuất rằng tác động của các hợp chất phenolic khác nhau tùy theo nồng độ: ở nồng độ thấp hơn, phenol làm thay đổi hoạt tính của enzyme, trong khi ở nồng độ cao hơn, chúng gây biến tính protein. TPC của dịch trích tối ưu trong luận án này vượt trội hơn so với các nghiên cứu trước đây trên cùng giống nho và các giống nho khác nhau (Milinčić và cộng sự, 2021; Nguyen và cộng sự, 2023; Škulcova và cộng sự, 2018).

Kết hợp nhiều hợp chất (dù là hợp chất thực vật hay tổng hợp) mang lại lợi thế hơn so với các hợp chất đơn lẻ do tác dụng hiệp đồng của chúng, có thể khuếch đại hoạt tính kháng khuẩn và tạo ra phản ứng mạnh hơn so với các hợp chất riêng lẻ (Tafesh và cộng sự, 2011; Vaou và cộng sự, 2022). Như thể hiện trong **Bảng 3.16**, dịch trích phụ phẩm nho cho thấy hiệu quả cao hơn đối với vi khuẩn gram âm so với vi khuẩn gram dương, phù hợp với phát hiện của Sanhueza và cộng sự (2014) đã quan sát thấy rằng dịch trích bã nho *Cabernet Sauvignon* có tác dụng ức chế tăng trưởng mạnh hơn đối với vi khuẩn gram âm (*E. coli* ATCC 8739 và *S. typhimurium*). Trong một số trường hợp, vi khuẩn gram âm biểu hiện độ nhạy cảm với polyphenol cao hơn so với vi khuẩn gram dương. Sau khi tiếp xúc với phenolic acid, các tế bào vi khuẩn gram âm có thể trải qua các thay đổi điện tích bề mặt, có khả năng góp phần làm tăng tính nhạy cảm của chúng so với vi khuẩn gram dương. Ngoài ra, thành tế bào giàu lipid của thành tế bào vi khuẩn gram âm dễ tương tác với phenolic acid hơn, làm tăng độ nhạy cảm của chúng đối với các hợp chất này (Borges và cộng sự, 2013). Nghiên cứu của Ivanović và cộng sự (2022) đã chứng minh rằng loại DES ảnh hưởng đến đặc tính kháng khuẩn của dịch trích. DES dựa trên choline chloride và lactic acid cho thấy giá trị MIC thấp nhất, tương quan với hoạt tính kháng khuẩn cao nhất, so với các công thức DES dựa trên 1,4-butanediol, 1,2-propanediol, fructose và urê.

Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích phụ phẩm nho tối ưu đã được đánh giá trong luận án này bằng cách sử dụng các thử nghiệm DPPH và ABTS. Các thử nghiệm này phổ biến vì tính đơn giản và tốc độ của chúng, khiến chúng phù hợp để sàng lọc nhanh tiềm năng kháng oxy hóa. **Bảng 3.18** trình bày các giá trị IC_{50} cho khả năng dọn gốc DPPH của dịch trích phụ phẩm nho được đo ở mức $0,48 \pm 0,02 \mu\text{L/mL}$, thấp hơn đáng kể so với dung môi là $58,13 \pm 3,54 \mu\text{L/mL}$ cho thấy dịch trích kháng oxy hóa cao hơn. So sánh với giá trị IC_{50} của vitamin C, một chất chuẩn kháng oxy hóa được sử dụng rộng rãi, là $3,92 (\mu\text{g/mL})$, cho thấy hiệu lực kháng oxy hóa cao so với dung môi. Tương tự như vậy, giá trị IC_{50} đối với khả năng dọn gốc tự do ABTS của dịch trích là $0,26 \pm 0,01 \mu\text{L/mL}$. Giá trị IC_{50} đối với trolox trong phép thử ABTS là $67,05 (\mu\text{g/mL})$, cao hơn giá trị của dịch trích phụ phẩm nho, càng nhấn mạnh thêm tiềm năng kháng oxy hóa mạnh của dịch trích.

Bảng 3.18. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

Chỉ tiêu	Dịch trích tối ưu				Dung môi	Vitamin C	Trolox
	IC ₅₀	TPC	TSC	PAC	IC ₅₀	IC ₅₀	IC ₅₀
	($\mu\text{L/mL}$)	(μg)	(μg)	(μg)	($\mu\text{L/mL}$)	($\mu\text{g/mL}$)	($\mu\text{g/mL}$)
DPPH	0,48 ^a $\pm$ 0,02	4,08	8,70	1,55	58,13 ^b $\pm$ 3,54	3,92	n.a
ABTS	0,26 $\pm$ 0,01	2,24	4,78	0,85	-	n.a	67,05

- Không xác định được. n.a: Không áp dụng

Trong cùng một dòng, các chữ cái khác nhau (a, b,...) thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

IC₅₀: là nồng độ mẫu thử mà tại đó mẫu thử sẽ có hoạt tính ức chế được 50% sự oxy hóa do gốc tự do.

DES: dung môi eutectic sâu. TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. ABTS: 2,2-azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]

Hoạt tính kháng oxy hóa, được phân loại theo giá trị IC₅₀, thường được chia thành ba mức: khả năng kháng oxy hóa cao (IC₅₀ < 50 $\mu\text{g/mL}$), khả năng kháng oxy hóa vừa phải (IC₅₀ từ 50 đến 100 $\mu\text{g/mL}$) và khả năng kháng oxy hóa thấp (IC₅₀ > 200 $\mu\text{g/mL}$) (Simirgiotis, 2013). Hoạt tính kháng oxy hóa của polyphenol chủ yếu là khả năng cho hydro từ các nhóm hydroxyl trên vòng thơm để hạn chế quá trình oxy hóa gốc tự do của chất béo và các phân tử sinh học khác. Dựa trên các phân loại này, các giá trị IC₅₀ thấp hơn đáng kể được quan sát thấy đối với dịch trích phụ phẩm nho phản ánh hoạt tính kháng oxy hóa cao đáng kể của nó, cho thấy tiềm năng ứng dụng của nó trong các ngành công nghiệp thực phẩm, dược phẩm chức năng và mỹ phẩm.

Dữ liệu trong **Bảng 3.18** chứng minh thêm rằng dịch trích tối ưu thể hiện hoạt tính DPPH và ABTS lớn hơn so với dung môi đơn lẻ. Khả năng kháng oxy hóa của dịch trích này, mặc dù thấp hơn các chất chuẩn như quercetin (5,60 $\pm$ 0,35 $\mu\text{g/mL}$) và BHT (16 $\pm$ 0,54 $\mu\text{g/mL}$) (Benedec và cộng sự, 2013), nhưng vượt trội hơn dịch trích methanol của bã nho Merlot (Untea và cộng sự, 2023). Kết quả luận án cũng báo cáo rằng tổng hàm lượng phenolic là 81,90 $\pm$ 1,06 mg GAE/g DW trong dịch trích, cao hơn đáng kể so với hàm lượng đạt được bằng methanol (21,05 $\pm$ 0,47 mg GAE/g DW) (Untea và cộng sự, 2023). Ngoài ra, các giá trị IC₅₀ cho cả khả năng loại bỏ DPPH và ABTS trong dịch trích phụ phẩm nho đều thấp hơn so với các giá trị tìm thấy trong các nguồn thực vật khác (Kozłowska và cộng sự, 2022). Palos-Hernández và cộng sự (2025) cũng báo cáo rằng các dịch trích phụ phẩm nho bằng DES từ choline chloride và lactic acid sẽ cho

hoạt tính kháng oxy hóa, tác dụng kháng khuẩn cao nhờ vào dung môi trích ly, khác biệt với dịch trích methanol. Do đó, hoạt tính kháng oxy hóa cao của dịch trích tối ưu chủ yếu là do hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học phong phú của nó, xác nhận thêm hiệu quả của phương pháp trích ly DES được sử dụng trong luận án này.

3.2.2.2 Tối ưu hóa quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng DES dựa trên choline chloride, glycerol và citric acid

❖ Ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

Một số yếu tố ảnh hưởng quá trình trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid đã được khảo sát, bao gồm tỷ lệ HBA: HBD, tỷ lệ nước bổ sung, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian trích ly (**Phụ lục IV.1.2**). Kết quả cho thấy TPC, TSC và PAC có sự thay đổi đáng kể khi thay đổi tỷ lệ HBA hoặc HBD trong DES. TPC, TSC và PAC cao nhất ở tỷ lệ 1:1:1 (w/w/w) của ChCl-Gly-CA (**Hình PL IV.6a**). Ngoài ra, kết quả cho thấy việc bổ sung 25% nước vào DES thúc đẩy hệ thống trích ly hợp chất có hoạt tính sinh học hiệu quả hơn, tương ứng với TPC, TSC và PAC đạt giá trị cao nhất (**Hình PL IV.6b**). Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu cũng ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả trích ly. Trong nghiên cứu này, hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trích ly được tăng lên cho đến tỷ lệ 25:1 (v/w), sau đó sẽ giảm. TPC không khác biệt đáng kể giữa tỷ lệ 20:1 và 25:1 (v/w). TSC đạt giá trị tối đa ở tỷ lệ 25:1 (v/w) (**Hình PL IV.7a**). Ngoài ra, TPC và TSC đạt cao nhất ở 60°C và giảm dần khi nhiệt độ trích ly cao hơn. Tuy nhiên, hiệu quả trích ly ở nhiệt độ 70°C vẫn cao hơn so với nhiệt độ 50°C (**Hình PL IV.7b**). Các hợp chất phenolic, saponin tăng lên khi kéo dài thời gian trích ly, đạt cao nhất ở 150 phút tương ứng với TPC, TSC và PAC tăng từ 25% lên 33%, sau đó giảm dần. Kéo dài thời gian lên 180 phút dẫn đến giảm khoảng 32% tổng hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học (**Hình PL IV.8**).

❖ Tối ưu hóa điều kiện trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng DES dựa trên choline chloride, glycerol và lactic acid

Theo các thí nghiệm một yếu tố, các phạm vi thích hợp nhất cho tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (X_1 : 20–25, v/w), nhiệt độ trích ly (X_2 : 60–70°C) và thời gian trích ly (X_3 : 120–150 phút) đã được xác định (**Bảng 3.19**).

Bảng 3.19. Mức độ mã hóa của các biến độc lập cho thiết kế CCD trong tối ưu hóa trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

Yếu tố	Kí hiệu	Các mức của yếu tố				
		-1,682	-1	0	+1	+1,682
Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (v/w)	X ₁	18,3	20,0	22,5	25,0	26,7
Nhiệt độ trích ly (°C)	X ₂	57	60	65	70	73
Thời gian trích ly (phút)	X ₃	110	120	135	150	160

Hàm lượng hợp chất phenolic và saponin trong phụ phẩm nho được thể hiện trong **Bảng 3.20.** TPC và TSC của dịch trích thu được thay đổi từ 49,19 đến 70,16 mg GAE/g DW và từ 120,88 đến 170,58 mg AE/g DW.

Bảng 3.20. Ma trận yếu tố mã hóa trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

STT	Yếu tố			Đáp ứng	
	X ₁	X ₂	X ₃	Y ₁	Y ₂
	Tỷ lệ DM: NL (v/w)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)
1	18,3	65	135	52,52 ± 0,12	138,77 ± 0,17
2	20	60	120	49,19 ± 0,22	120,88 ± 0,79
3	20	60	150	51,49 ± 0,13	134,18 ± 0,50
4	20	70	120	60,02 ± 0,08	163,17 ± 0,32
5	20	70	150	59,58 ± 0,09	167,82 ± 0,36
6	22,5	57	135	53,62 ± 0,24	126,25 ± 0,40
7	22,5	65	110	59,20 ± 0,98	157,14 ± 0,63
8	22,5	65	135	64,34 ± 0,27	170,58 ± 0,63
9	22,5	65	135	63,83 ± 0,13	169,62 ± 0,63
10	22,5	65	135	63,37 ± 0,05	168,19 ± 0,63
11	22,5	65	160	62,21 ± 0,12	166,76 ± 0,39
12	22,5	73	135	70,16 ± 0,08	160,14 ± 0,23
13	25	60	120	59,26 ± 0,20	142,19 ± 0,28
14	25	60	150	68,32 ± 0,38	140,93 ± 0,83
15	25	70	120	67,86 ± 0,05	150,71 ± 0,28
16	25	70	150	69,92 ± 0,05	160,24 ± 0,25
17	26,7	65	135	67,03 ± 0,16	152,12 ± 0,30

DES: dung môi eutectic sâu. TPC và TSC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng và saponin tổng. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, DW: vật chất khô, DM: NL: dung môi: nguyên liệu.

Kết quả trình bày trong **Bảng 3.21** bao gồm hệ số hồi quy cho các đáp ứng cùng với R^2 tương ứng, giá trị P hồi quy, ý nghĩa của các hệ số trong RSM và giá trị P lack of fit. Phân tích thống kê đã xác nhận ý nghĩa tổng thể của RSM, được chứng minh bằng các hệ số hồi quy có ý nghĩa và Lack of fit là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) trên tất cả các mô hình. **Bảng 3.21** cũng minh họa các ảnh hưởng tuyến tính, tương tác và bậc hai của các yếu tố lên từng đáp ứng. Ảnh hưởng tuyến tính của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian trích ly có tác động tích cực, trong khi mức bậc hai của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu lại có tác động tiêu cực đến TSC và TPC thu được. Đối với trích ly TPC, các hệ số bậc hai của nhiệt độ và thời gian trích ly không cho thấy tác động đáng kể ($P > 0,05$). Tương tự như vậy, các hệ số tương tác của tất cả các biến không biểu hiện tác động đáng kể ($P > 0,05$). Ngược lại, đối với trích ly TSC, các hệ số bậc hai của tất cả các biến đều có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$). Trong khi đó, các hệ số tương tác của thời gian trích ly và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, cũng như nhiệt độ và thời gian trích ly, đều không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Bảng 3.21. Hệ số và giá trị P của các yếu tố trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

Tham số	TPC (mg GAE/g DW)		TSC (mg AE/g DW)	
	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P
Hằng số	63,826		169,513	
X_1	5,090	< 0,0001	2,231	0,0636
X_2	4,237	< 0,0001	12,041	< 0,0001
X_3	1,328	0,0177	3,117	0,0182
X_1X_2	-1,090	0,0928	-6,013	0,0027
X_1X_3	1,158	0,0777	-1,210	0,3912
X_2X_3	-1,218	0,0664	0,268	0,8456
X_1^2	-1,398	0,0205	-8,617	0,0001
X_2^2	-0,711	0,2044	-10,389	< 0,0001
X_3^2	-1,085	0,0564	-2,815	0,0407
R^2	0,975	< 0,0001	0,976	< 0,0001
Lack of fit		0,0656		0,0720

DES: dung môi eutectic sâu. TPC và TSC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng và saponin tổng. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, DW: vật chất khô, DM: NL: dung môi: nguyên liệu.

Phân tích thống kê nhấn mạnh tính chính xác của các mô hình bề mặt đáp ứng, với giá trị R^2 cao là 0,975 đối với TPC và 0,976 đối với TSC. Các giá trị này chỉ ra rằng

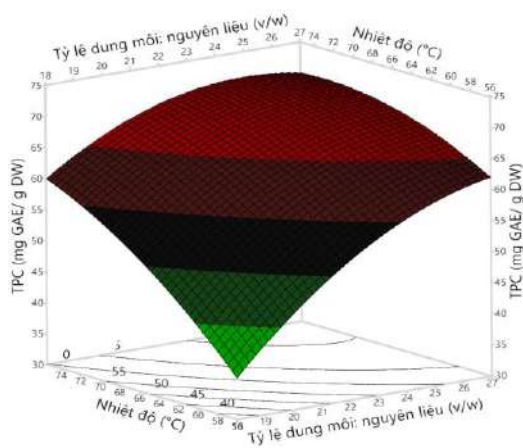
hơn 97% sự thay đổi trong các đáp ứng có thể được giải thích bởi các yếu tố được nghiên cứu là tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, thời gian và nhiệt độ trích ly. Các mô hình đã được xác nhận thêm bằng việc các giá trị Lack of fit không có ý nghĩa thống kê (giá trị P là 0,0656 đối với TPC và 0,0720 đối với TSC), khẳng định tính đầy đủ của chúng trong việc mô tả mối quan hệ giữa các điều kiện trích ly và hàm lượng TPC và TSC được trích ly. Do đó, những kết quả này cho thấy các mô hình đa thức bậc hai mô tả hiệu quả các tương tác phức tạp giữa các điều kiện trích ly và hàm lượng các hợp chất, từ đó cung cấp những hiểu biết có giá trị để tối ưu hóa các quy trình trích ly TPC và TSC. Dựa trên các kết quả được thể hiện trong **Bảng 3.21**, mô hình bậc hai cho TPC (Y_1) và TSC (Y_2) được biểu diễn lần lượt trong các Phương trình (7) và (8). Các phương trình đa thức bậc hai này thường được sử dụng cho mục đích tối ưu hóa:

$$Y_1 = 63,826 + 5,090X_1 + 4,237X_2 + 1,328X_3 - 1,398X_1^2 \quad (7)$$

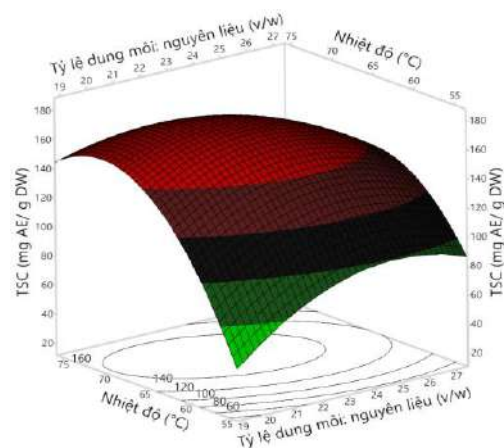
$$Y_2 = 169,513 + 12,041X_2 + 3,117X_3 - 6,013X_1X_2 - 8,617X_1^2 - 10,389X_2^2 - 2,815X_3^2 \quad (8)$$

Mối quan hệ giữa các yếu tố và đáp ứng đã được thể hiện bằng cách sử dụng bề mặt đáp ứng và biểu đồ đường đồng mức. **Hình 3.11** cho thấy sự thay đổi của TPC và TSC theo những thay đổi về tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, nhiệt độ trích ly và thời gian trích ly. Nhìn chung, TPC và TSC tăng theo tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian trích ly tăng. **Hình 3.11-A1** và **Hình 3.11-B1** chứng minh tác động đáng kể của nhiệt độ và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hàm lượng saponin và hợp chất phenolic. Hàm lượng hợp chất phenolic tăng theo nhiệt độ và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu tăng. Tuy nhiên, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu hoặc nhiệt độ quá cao có thể dẫn đến giảm TSC.

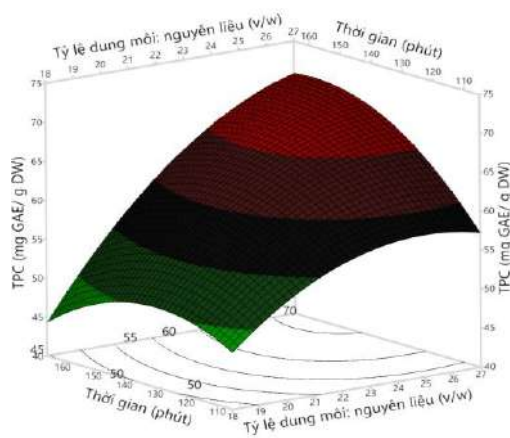
Thời gian trích ly cũng có tác động ý nghĩa thống kê đến hiệu suất trích ly của TPC và TSC. Bề mặt đáp ứng trong **Hình 3.11-A2** và **Hình 3.11-B2** cho thấy ảnh hưởng của thời gian trích ly và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến các đáp ứng. Có thể quan sát thấy khi tăng thời gian trích ly và tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, TSC và TPC ban đầu tăng rồi giảm. Hơn nữa, tỷ lệ dung môi quá cao mà không làm tăng đáng kể hiệu suất trích ly có thể dẫn đến lãng phí. Tương tự, **Hình 3.11-A3** và **Hình 3.11-B3** biểu thị bề mặt đáp ứng giữa nhiệt độ và thời gian trích ly trên TPC và TSC. Cần lưu ý rằng nhiệt độ cao và thời gian trích ly kéo dài có thể làm giảm TPC và TSC.



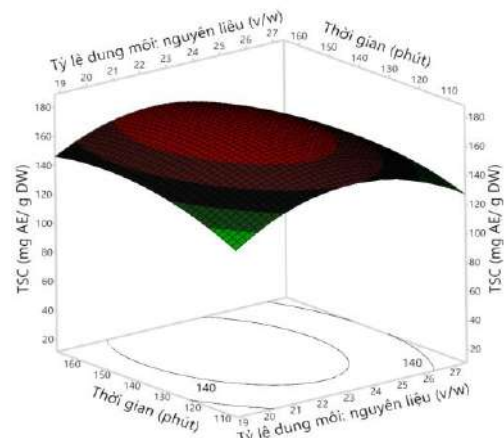
A1



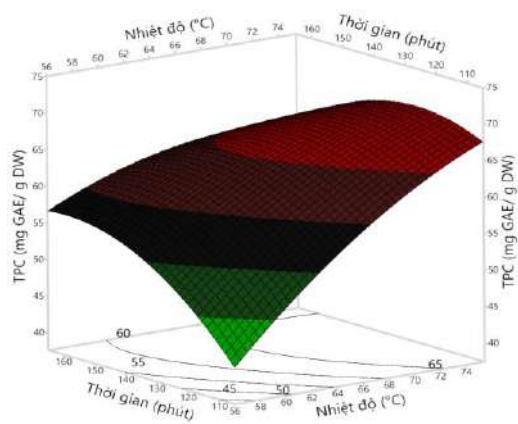
B1



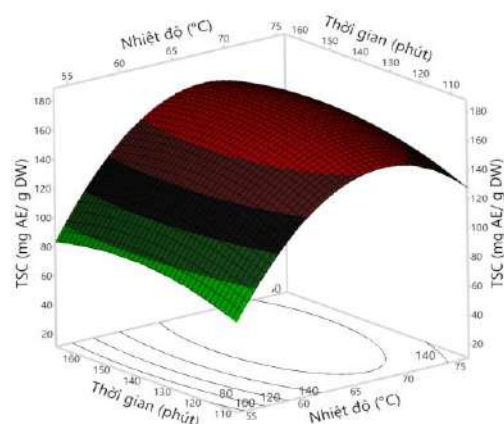
A2



B2



A3

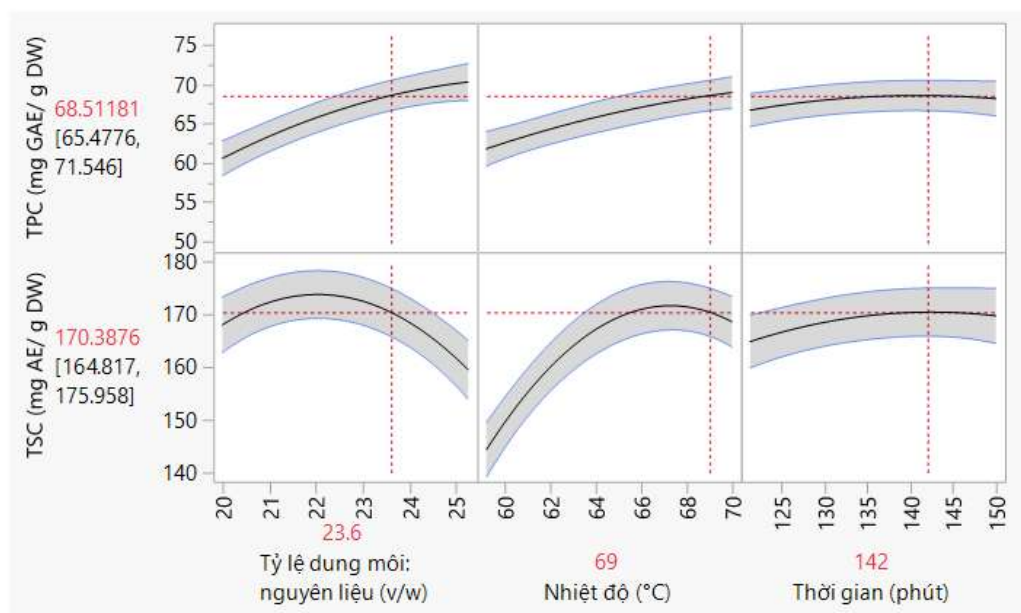


B3

Hình 3.11. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) TPC và (B) TSC chịu ảnh hưởng của các yếu tố trong trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

DES: dung môi eutectic sâu. TPC và TSC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng và saponin tổng. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, DW: vật chất khô.

Để đạt được hiệu quả trích ly TPC và TSC tối đa, việc lựa chọn các giá trị tham số phù hợp là rất quan trọng. Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 23,6:1 (v/w), nhiệt độ trích ly là 69°C trong 142 phút được xác định là các thông số trích ly tối ưu (**Hình 3.12**).



Hình 3.12. Mô hình dự đoán TPC, TSC thu hồi được và điều kiện tối ưu của phương pháp trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. DES: dung môi eutectic sâu.

Trong điều kiện tối ưu, **Bảng 3.22** cho thấy cả giá trị đáp ứng dự đoán và thực nghiệm. Các giá trị TPC, TSC và PAC trong điều kiện tối ưu lần lượt là $71,50 \pm 0,35$ mg GAE/g DW; $175,01 \pm 0,62$ mg AE/g DW và $29,25 \pm 0,08$ mg CE/g DW. Các điều kiện trích ly tối ưu này thấp hơn về thời gian và nhiệt độ so với các điều kiện đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây.

Bảng 3.22. Kết quả thẩm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế trong tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

TPC (mg GAE/g DW)		TSC (mg AE/g DW)	
Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm
$68,51^a \pm 3,03$	$71,50^a \pm 0,35$	$170,39^a \pm 5,57$	$175,01^a \pm 0,62$

DES: dung môi eutectic sâu. TPC và TSC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng và saponin tổng. GAE: Đường lượng gallic acid, AE: Đường lượng aescin, DW: vật chất khô.

Trong cùng một chỉ tiêu, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Athanasiadis và cộng sự (2022) đã đề xuất thời gian tối ưu là 220 phút và nhiệt độ là 80°C để trích ly polyphenol từ bã nho bằng L-proline, glycerol và citric acid. Ngược lại, nhiệt độ tối ưu trong nghiên cứu này gần bằng 63°C, như Zhang và cộng sự (2023) đã báo cáo để thu hồi polyphenol và anthocyanin từ bã việt quất sử dụng choline chloride: 1,4-butanediol. TPC trong điều kiện trích ly tối ưu cao hơn so với kết quả từ các nghiên cứu khác của Athanasiadis và cộng sự (2022) và Milinčić và cộng sự (2021). Đối với mỗi đáp ứng, sự khác biệt giữa giá trị dự đoán và thực nghiệm được xác định là không có ý nghĩa thống kê. Tóm lại, mô hình bề mặt đáp ứng dự đoán chính xác TPC và TSC theo hàm số của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, thời gian và nhiệt độ trích ly.

❖ **Thành phần hợp chất phenolic, hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của dịch trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid**

Thành phần hợp chất phenolic đơn lẻ trong dịch trích ly tối ưu

Bảng 3.23 cho thấy dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid có các hợp chất phổ biến như myricetin, rutin, catechin, epicatechin, resveratrol, gallic acid, quercetin và kaempferol (Caldas và cộng sự, 2018; Milinčić và cộng sự, 2021). Hàm lượng hợp chất phenolic riêng lẻ trích ly được trong điều kiện tối ưu cao hơn so với dịch trích DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid nhưng thấp hơn so với các hợp chất được trích ly bằng ethanol như Caldas và cộng sự (2018) đã báo cáo. Ngược lại, nghiên cứu của Milinčić và cộng sự (2021) cho thấy hàm lượng catechin, gallic acid, quercetin, epicatechin và resveratrol trong nho Prokupac được trích ly bằng 80% methanol và 0,1% HCl thấp hơn so với luận án hiện tại.

Bảng 3.23. Định lượng các hợp chất phenolic đơn lẻ trong dịch trích DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

Hợp chất phenolic	Hàm lượng (µg/g DW)
Catechin	143,71 ± 38,08
Epicatechin	113,16 ± 18,70
Gallic acid	21,08 ± 0,35
Kaempferol	15,94 ± 0,02
Myricetin	377,45 ± 31,88
Quercetin	20,19 ± 0,02
Resveratrol	64,41 ± 3,83
Rutin	235,98 ± 14,75

DES: dung môi eutectic sâu. DW: vật chất khô.

Hàm lượng catechin và epicatechin trích ly từ phụ phẩm nho *Red Cardinal* trong điều kiện tối ưu khác với hàm lượng trích ly được ở các giống nho khác. Sự thay đổi hàm lượng hợp chất phenolic có thể xuất phát từ các yếu tố như giống nho và các bộ phận của nho (hạt và vỏ) (Dabetic và cộng sự, 2020). Hơn nữa, việc lựa chọn dung môi và điều kiện trích ly ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả trích ly. Đáng chú ý là hàm lượng hợp chất phenolic riêng lẻ thu được trong điều kiện trích ly tối ưu cao hơn so với hàm lượng thu được từ các thí nghiệm đơn yếu tố. Những kết quả này nhấn mạnh hiệu quả của tối ưu hóa điều kiện trích ly so với các thí nghiệm đơn yếu tố.

Hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn của dịch trích tối ưu

Khả năng kháng khuẩn và kháng oxy hóa của dịch tối ưu thu được đã được đánh giá, với kết quả được trình bày trong **Bảng 3.24**, **Bảng 3.25** và **Bảng 3.26**.

Bảng 3.24. Đường kính vòng kháng khuẩn của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

Mẫu	Thể tích (μL)	Hàm lượng hợp chất trong dịch trích ly			Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)			
		TPC* (μg)	TSC* (μg)	PAC* (μg)	<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>S. aureus</i> ATCC 6538
Dịch trích tối ưu	20	144,7	343,9	51,3	14,00 ^{cb} ± 0,20	15,00 ^{cb} ± 0,20	12,97 ^{cb} ± 0,21	16,47 ^{cb} ± 0,06
	30	217,0	515,8	77,0	20,53 ^{aA} ± 0,23	23,53 ^{aB} ± 0,15	20,47 ^{aA} ± 0,15	22,97 ^{aB} ± 0,15
Dung môi	20	-	-	-	12,00 ^{dc} ± 0,20	13,00 ^{dc} ± 0,20	10,97 ^{dc} ± 0,15	16,03 ^{dc} ± 0,21
	30	-	-	-	17,03 ^{bB} ± 0,21	15,47 ^{bC} ± 0,15	16,03 ^{bC} ± 0,21	17,97 ^{bC} ± 0,15
Kháng sinh chloramphenicol (1 mg/mL)	20	-	-	-	20,00 ^{Aa} ± 0,20	27,00 ^{Aa} ± 0,20	19,97 ^{Ba} ± 0,12	28,00 ^{Aa} ± 0,20
Nước cất	20	-	-	-	-	-	-	-

- Không phát hiện. DES: dung môi eutectic sâu. Đối chứng âm: Nước cất. Đối chứng dương: Kháng sinh chloramphenicol.

* TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, hàm lượng saponin tổng và hàm lượng proanthocyanidin trong mỗi thể tích tương ứng theo hàng.

Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$) giữa dịch trích và dung môi ở các thể tích khác nhau (20 μL và 30 μL).

Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có chữ cái khác nhau (A, B, C, ...) cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$) giữa dịch trích (30 μL), dung môi (30 μL) và chloramphenicol (20 μL).

Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có các chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$) giữa dịch trích (20 μL), dung môi (20 μL) và chloramphenicol (20 μL).

Dữ liệu **Bảng 3.24** chứng minh hiệu quả của dịch trích tối ưu đối với nhiều chủng vi khuẩn, bao gồm các chủng gram âm và gram dương (*S. aureus* ATCC 6538, *S. typhimurium* ATCC 14028, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 8739). Cả dung môi và dịch trích ly đều thể hiện tác dụng kháng khuẩn đáng kể đối với vi khuẩn gram âm và gram dương đã thử nghiệm ($P \leq 0,05$). Khả năng kháng khuẩn của dung môi và dịch trích thay đổi theo nồng độ tương ứng của chúng. Khả năng kháng khuẩn của dung môi có thể là do sự hiện diện của hợp chất tạo thành DES, như Akbar và cộng sự (2023) đã ghi nhận, các đặc tính kháng khuẩn mạnh trong một số chế phẩm DES. Ngoài ra, citric acid có khả năng kháng khuẩn đối với các vi khuẩn *E. coli* ATCC 25293 và *S. aureus* ATCC 25923 (Eliuz, 2020). Đường kính của vòng kháng khuẩn tăng lên khi thể tích của cả dung môi và trích ly tăng từ 20 đến 30 μL . Theo Zbakh và cộng sự (2012), khả năng kháng khuẩn của dung môi và dịch trích ở thể tích 20 μL dao động từ thấp (đường kính 10–15 mm) đến trung bình (đường kính 15–20 mm) đối với các vi khuẩn đã thử nghiệm. Ở thể tích 30 μL , dung môi thể hiện đặc tính kháng khuẩn vừa phải, trong khi dịch trích cho thấy hiệu quả kháng khuẩn cao (đường kính ≥ 20 mm) đối với tất cả các vi khuẩn. Ngoài ra, đường kính vòng kháng khuẩn của dịch trích lớn hơn đáng kể so với dung môi ở tất cả các thể tích được thử nghiệm ($P \leq 0,05$). So với chloramphenicol (đối chứng dương), cả dịch trích và dung môi đều thể hiện đường kính vòng kháng khuẩn nhỏ hơn ở thể tích 20 μL và 30 μL . Mặc dù vậy, dịch trích thể hiện hoạt tính kháng khuẩn cao hơn với đường kính vòng kháng khuẩn lớn hơn so với dịch trích từ bã nho Syrah và Merlot bằng chất lỏng siêu tới hạn (Oliveira và cộng sự, 2013). Điều này làm nổi bật tác dụng kháng khuẩn mạnh mẽ của các hợp chất được trích ly từ phụ phẩm nho. Những phát hiện này tiếp tục củng cố các báo cáo trước đây về hiệu quả kháng khuẩn của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bã nho của Peixoto và cộng sự (2018).

Bảng 3.25 trình bày MIC của dịch trích tối ưu và dung môi đối với bốn chủng vi khuẩn. MIC của dung môi và dịch trích khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$). Cụ thể, MIC của dung môi cao gấp đôi MIC của dịch trích đối với *S. aureus* ATCC 6538 và *E. coli* ATCC 8739. Đối với *B. subtilis* ATCC 6633 và *S. typhimurium* ATCC 14028, MIC của dung môi cao hơn lần lượt 1,25 lần và 3 lần so với dịch trích. Những kết quả này minh chứng rằng dịch trích thể hiện hoạt tính ức chế lớn hơn dung môi. Tuy nhiên, cả dung môi và dịch trích đều có MIC cao hơn đáng kể so với chloramphenicol. Kết quả

này nằm trong dự đoán, vì các loại kháng sinh như chloramphenicol thường thể hiện đặc tính kháng khuẩn mạnh.

Bảng 3.25. Nồng độ ức chế tối thiểu của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

Vi khuẩn	Dịch trích tối ưu				Dung môi
	MIC ($\mu\text{L/mL}$)	TPC* (μg)	TSC* (μg)	PAC* (μg)	MIC ($\mu\text{L/mL}$)
<i>E. coli</i> ATCC 8739	2,5	18,1	43,0	6,4	5,0
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	2,5	18,1	43,0	6,4	7,5
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	10,0	72,3	171,9	25,7	12,5
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	2,5	18,1	43,0	6,4	5,0
Kháng sinh chloramphenicol (1 mg/mL)	0,2				

MIC: Nồng độ ức chế tối thiểu. DES: dung môi eutectic sâu.

* TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, hàm lượng saponin tổng và hàm lượng proanthocyanidin trong mỗi thể tích tương ứng theo hàng.

Trong số các chủng vi khuẩn được thử nghiệm, *E. coli* ATCC 8739, *S. typhimurium* ATCC 14028 và *S. aureus* ATCC 6538 (MIC = 2,5 $\mu\text{L/mL}$) nhạy cảm hơn với dịch trích so với *B. subtilis* ATCC 6633 (MIC là 10 $\mu\text{L/mL}$). Các nghiên cứu trước đây cũng chỉ ra rằng sự phát triển của vi khuẩn có thể bị ảnh hưởng bởi các dịch trích từ nhiều loại thực vật khác nhau. Kozłowska và cộng sự (2022) đã báo cáo rằng dịch trích tía tô đất có tác dụng kháng khuẩn đối với *E. coli*, trong khi dịch trích của *Cistus incanus* L. và *Rubus idaeus* L. có hiệu quả chống lại *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*. Sự khác biệt về hoạt tính kháng khuẩn có thể không chỉ phụ thuộc vào loại cây cụ thể được sử dụng mà còn phụ thuộc vào thành phần và tỷ lệ các hợp chất có hoạt tính sinh học trong đó. Ngoài ra, việc lựa chọn dung môi trích ly là một yếu tố thiết yếu ảnh hưởng đến hiệu quả kháng khuẩn của dịch trích.

Khả năng kháng oxy hóa của dịch trích trong điều kiện trích ly tối ưu và dung môi đã được nghiên cứu bằng các thử nghiệm DPPH và ABTS (**Bảng 3.26**). Nhìn chung, dịch trích tối ưu thể hiện khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH và ABTS cao. Hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn được biểu thị bằng giá trị IC₅₀ thấp hơn. Giá trị IC₅₀ cho khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH khác biệt đáng kể giữa trích ly và dung môi. Những kết quả này cho thấy dịch trích có khả năng loại bỏ gốc tự do ABTS và DPPH cao hơn đáng

kể so với dung môi. Kết quả này nhấn mạnh rằng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích phụ phẩm nho thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa mạnh. Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học này được liệt kê trong **Bảng 3.23**.

Bảng 3.26. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid

Thử nghiệm	Dịch trích tối ưu				Dung môi
	IC ₅₀ (μL/mL)	TPC* (μg)	TSC* (μg)	PAC* (μg)	IC ₅₀ (μL/mL)
DPPH	0,93 ^b ± 0,02	6,74	16,03	2,39	130,31 ^a ± 3,71
ABTS	0,37 ± 0,10	2,67	6,35	0,95	-

IC₅₀: là nồng độ mẫu thử mà tại đó mẫu thử sẽ có hoạt tính ức chế được 50% sự oxy hóa do gốc tự do. DES: dung môi eutectic sâu. DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. ABTS: 2,2-azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]

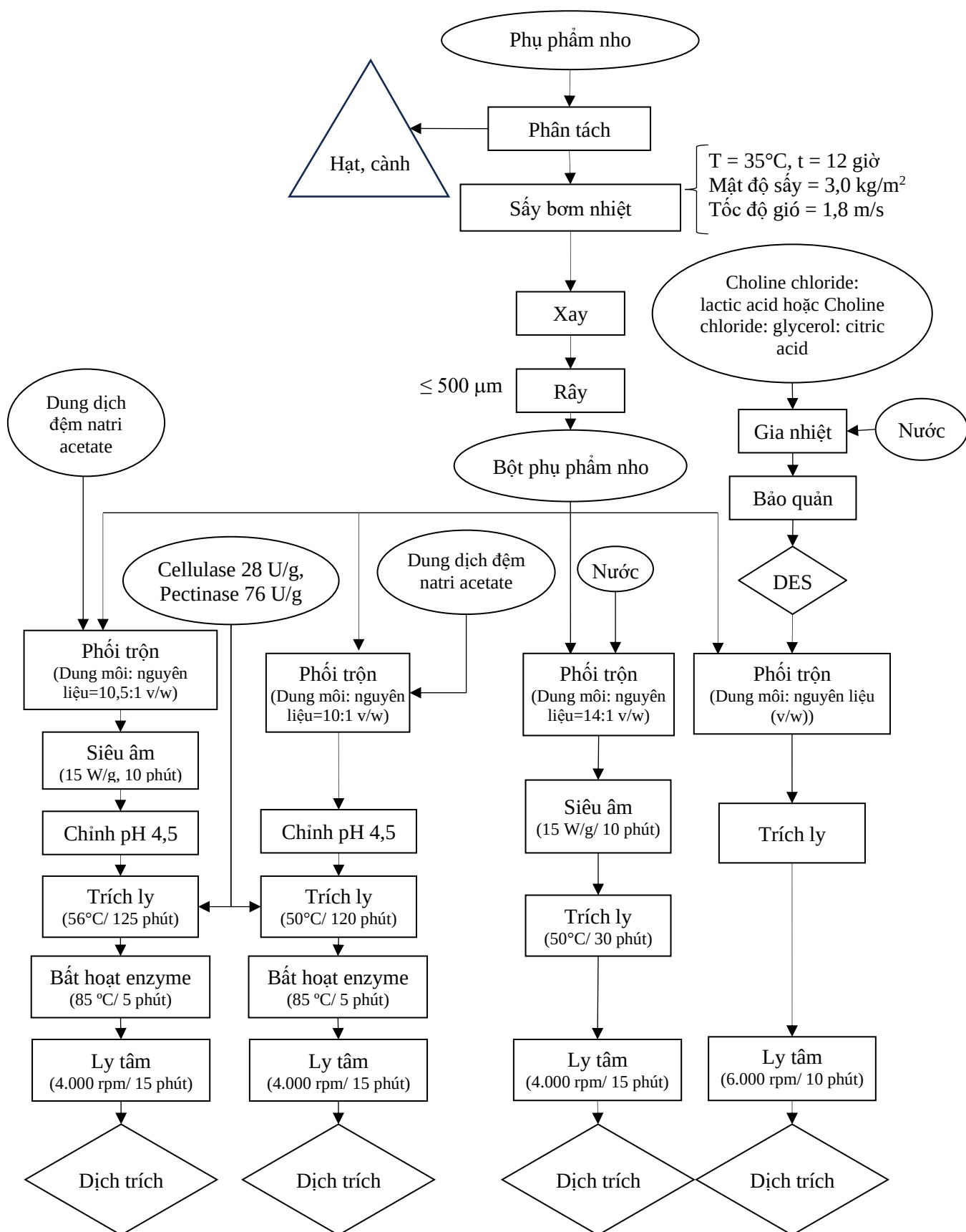
* TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, hàm lượng saponin tổng và hàm lượng proanthocyanidin trong mỗi nồng độ tương ứng theo hàng.

Trong cùng một chỉ tiêu, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Giá trị IC₅₀ cho khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH của dịch trích DES từ phụ phẩm nho thấp hơn giá trị đã báo cáo đối với trích ly ethanol từ hà thủ ô trắng *Streptocaulon juvenas* Merr. (Dai và cộng sự, 2015), làm nổi bật khả năng kháng oxy hóa mạnh mẽ của dịch trích bột phụ phẩm nho. Ngoài ra, các giá trị IC₅₀ đối với khả năng loại bỏ ABTS và DPPH của dịch trích thấp hơn so với các giá trị được báo cáo cho một số loại cây khác trong nghiên cứu của Kozłowska và cộng sự (2022), cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa vượt trội của dịch trích tối ưu trong luận án này. Trong một nghiên cứu của Benedec và cộng sự (2013), các giá trị IC₅₀ của quercetin và BHT lần lượt là $5,60 \pm 0,35$ μg/mL và $16 \pm 0,54$ μg/mL. Mặc dù dịch trích ly cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa thấp hơn các chuẩn này, nhưng nó vẫn thể hiện khả năng kháng oxy hóa cao (IC₅₀ DPPH < 50 μg/mL) theo phương pháp phân loại của Simirgiotis (2013).

3.2.3 Quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng các phương pháp khác nhau

Quy trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng các phương pháp trích ly khác nhau được thể hiện qua **Hình 3.13**.



Hình 3.13. Các quy trình trích ly tối ưu các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nhỏ

Phân tách: Phụ phẩm *Red Cardinal* sau công đoạn ép lấy dịch của quá trình chế biến nước ép nho tại công ty TNHH DV TM Ba Mọi (Ninh Thuận, Việt Nam) được phân tách bằng cách loại bỏ cành, hạt. Vỏ nho sau khi phân tách được bảo quản đông lạnh ở nhiệt độ -18°C .

Sấy bơm nhiệt: Vỏ nho sau đó được sấy bằng máy sấy bơm nhiệt ở nhiệt độ 35°C trong 12 giờ đến hàm lượng ẩm nguyên liệu đạt dưới 10%. Mật độ sấy mẫu là $3,0\text{ kg/m}^2$. Tốc độ gió là $1,8\text{ m/s}$. Vỏ nho sau khi sấy khô được xay thành bột và rây bằng máy lắc sàng rây (Jisico, Hàn Quốc) với kích thước lưới sàng $0,5\text{ mm}$. Sau đó, bột phụ phẩm nho được đóng gói hút chân không với bao bì nhôm chắn sáng và bảo quản ở nhiệt độ -18°C đến khi sử dụng.

❖ **Trích ly có hỗ trợ enzyme:** Bột phụ phẩm nho được hòa trộn vào dung dịch đệm natri acetate theo tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 (v/w). Hỗn hợp được hiệu chỉnh để đạt pH 4,5 bằng acetic acid và natri hydroxide thực phẩm. Tiếp đến, gia nhiệt hỗn hợp đến nhiệt độ 50°C . Cân enzyme (tương ứng với hàm lượng enzyme cellulase là 28 U/g và hàm lượng enzyme pectinase là 76 U/g) cho vào hỗn hợp mẫu, dùng parafilm bịt kín miệng bình, lắc đều và đem ủ ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 120 phút. Hỗn hợp được khuấy đều trong suốt thời gian thủy phân. Sau khi kết thúc thời gian thủy phân, tiến hành vô hoạt enzyme bằng cách gia nhiệt hỗn hợp ở 85°C trong 5 phút trong bể ổn nhiệt WNB 14 (Memmert, Đức). Sau đó, hỗn hợp được làm nguội nhanh.

Ly tâm: Mẫu sau khi xử lý enzyme được ly tâm ở tốc độ 4.000 vòng/phút trong 15 phút bằng máy ly tâm lạnh Universal 320R (Hettich, Đức). Dịch trích ly ở bên trên được thu hồi, bảo quản trong chai thủy tinh tối màu ở nhiệt độ -18°C đến khi sử dụng.

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

Hàm lượng phenolic tổng: $9,70 \pm 0,43\text{ mg GAE/g DW}$

Hàm lượng saponin tổng: $31,73 \pm 1,17\text{ mg AE/g DW}$

Hàm lượng proanthocyanidin: $2,83 \pm 0,08\text{ mg CE/g DW}$

❖ **Trích ly có hỗ trợ siêu âm:** Bột phụ phẩm nho được hòa trộn vào nước theo tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 14:1 (v/w). Khuấy hỗn hợp bằng máy khuấy từ có gia nhiệt RSM02HS (Phoenix, Đức) trong 5 phút. Tiến hành siêu âm ở mức năng lượng siêu âm 15 W/g trong 10 phút. Hỗn hợp sau đó được tiếp tục khuấy đều trong 30 phút. Hỗn hợp

được giữ ổn định nhiệt độ ở 50°C bằng bể ổn định nhiệt trong suốt quá trình trích ly. Sau đó, hỗn hợp được làm nguội nhanh.

Ly tâm: Mẫu sau khi trích ly được ly tâm ở tốc độ 4.000 vòng/phút trong 15 phút. Dịch trích ly ở bên trên được thu hồi, bảo quản trong chai thủy tinh tối màu ở nhiệt độ -18°C đến khi sử dụng.

Dịch trích ly: Với các điều kiện trích ly siêu âm, dịch trích thu được có hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học như sau:

Hàm lượng phenolic tổng: $9,37 \pm 0,66$ mg GAE/g DW

Hàm lượng saponin tổng: $26,02 \pm 0,85$ mg AE/g DW

Hàm lượng proanthocyanidin: $3,12 \pm 0,05$ mg CE/g DW

❖ **Trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm – enzyme:** Bột phụ phẩm nho được hòa trộn vào dung dịch đệm natri acetate theo tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10,5:1 (v/w). Tiến hành siêu âm ở mức năng lượng siêu âm 15 W/g trong 10 phút. Hỗn hợp được hiệu chỉnh để đạt pH 4,5 bằng acetic acid và natri hydroxide thực phẩm. Tiếp đến, gia nhiệt hỗn hợp đến nhiệt độ 56°C. Cân enzyme (cellulase là 28 U/g và pectinase là 76 U/g) cho vào hỗn hợp mẫu, dùng parafilm bịt kín miệng bình, lắc đều và đem ủ ở nhiệt độ 56°C trong thời gian 125 phút. Hỗn hợp được khuấy đều trong suốt thời gian thủy phân. Sau khi kết thúc thời gian thủy phân, tiến hành vô hoạt enzyme bằng cách gia nhiệt hỗn hợp ở 85 °C trong 5 phút trong bể ổn nhiệt. Sau đó, hỗn hợp được làm nguội nhanh.

Ly tâm: Mẫu sau khi trích ly được ly tâm ở tốc độ 4.000 vòng/phút trong 15 phút bằng máy ly tâm lạnh Universal 320R (Hettich, Đức). Dịch trích ly ở bên trên được thu hồi, bảo quản trong chai thủy tinh tối màu ở nhiệt độ -18°C đến khi sử dụng.

Dịch trích ly: Với các điều kiện trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm – enzyme, dịch trích thu được có hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học như sau:

Hàm lượng phenolic tổng: $13,22 \pm 0,03$ mg GAE/g DW

Hàm lượng saponin tổng: $40,63 \pm 1,26$ mg AE/g DW

Hàm lượng proanthocyanidin: $4,96 \pm 0,07$ mg CE/g DW.

❖ **Trích ly DES:**

– Choline chloride và lactic acid được trộn với tỷ lệ 1:2 (w/w). Nước được thêm vào hỗn hợp với tỷ lệ 20%. Hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C và khuấy trộn trong 1,5 giờ đến khi tạo thành hỗn hợp trong suốt, đồng nhất. DES tạo thành được làm nguội

và bảo quản trong chai thủy tinh tối màu ở nhiệt độ phòng khoảng 24 giờ đến khi sử dụng. Bột phụ phẩm nho được hòa trộn vào DES theo tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 25:1 (v/w). Hỗn hợp được khuấy đều tại 70°C trong 118 phút. Sau đó, hỗn hợp được làm nguội nhanh đến nhiệt độ môi trường.

– Choline chloride, glycerol và citric acid được trộn với tỷ lệ 1:1:1 (w/w). Nước được thêm vào hỗn hợp với tỷ lệ 25%. Hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C và khuấy trộn trong 1,5 giờ đến khi tạo thành hỗn hợp trong suốt, đồng nhất. DES tạo thành được làm nguội và bảo quản trong chai thủy tinh tối màu ở nhiệt độ phòng khoảng 24 giờ đến khi sử dụng. Bột phụ phẩm nho được hòa trộn vào DES theo tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 23,6:1 (v/w). Hỗn hợp được khuấy đều tại 69°C trong 142 phút. Sau đó, hỗn hợp được làm nguội nhanh đến nhiệt độ môi trường.

Ly tâm: Hỗn hợp sau đó được ly tâm ở tốc độ 6.000 vòng/phút trong 10 phút bằng máy ly tâm. Dịch trích ly ở bên trên được thu hồi, bảo quản trong chai thủy tinh tối màu ở nhiệt độ -18°C đến khi sử dụng.

Dịch trích ly:

– Với các điều kiện trích ly bằng DES từ choline chloride và lactic acid đã được tối ưu hóa, dịch trích tổng thu được có hàm lượng các hoạt chất như sau:

Hàm lượng phenolic tổng: $81,90 \pm 1,06$ mg GAE/g DW

Hàm lượng saponin tổng: $174,66 \pm 2,87$ mg AE/g DW

Hàm lượng proanthocyanidin: $31,13 \pm 0,50$ mg CE/g DW

– Với các điều kiện trích ly bằng DES từ choline chloride, glycerol và citric acid đã được tối ưu hóa, dịch trích tổng thu được có hàm lượng các hoạt chất như sau:

Hàm lượng phenolic tổng: $71,50 \pm 0,35$ mg GAE/g DW

Hàm lượng saponin tổng: $175,01 \pm 0,62$ mg AE/g DW

Hàm lượng proanthocyanidin: $29,25 \pm 0,08$ mg CE/g DW

❖ Kết luận chung:

Dựa trên kết quả xử lý thống kê (**Phụ lục IV.4.**), trong ba phương pháp trích ly đã được tối ưu hóa, phương pháp trích ly bằng hai loại DES cho hiệu quả cao trong việc thu hồi các hợp chất mục tiêu, tương ứng với TPC, TSC và PAC cao hơn đáng kể so với phương pháp trích ly có hỗ trợ kết hợp siêu âm và enzyme. Phương pháp trích ly bằng dung môi eutectic sâu tạo thành từ choline chloride và lactic acid cho TPC, TSC, PAC

thu hồi cao nhất. TSC của hai loại dịch trích tối ưu từ hai loại DES khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Bên cạnh đó, dịch trích tối ưu từ hai loại DES khác nhau thể hiện hoạt tính kháng khuẩn cao trên cả bốn dòng vi khuẩn thử nghiệm và khả năng kháng oxy hóa cao. Tuy nhiên, các hợp chất hoạt tính sinh học ở dạng dịch trích sẽ nhạy cảm với yếu tố môi trường như ánh sáng, nhiệt độ. Do đó, hai loại dịch trích ly tối ưu từ hai loại DES khác nhau được lựa chọn đã được vi bao để tăng cường độ ổn định (Nội dung 3). Dịch trích với dung môi từ choline chloride và lactic acid phù hợp với sấy phun do độ nhớt thấp, trong khi dịch trích với dung môi từ choline chloride, glycerol và citric acid có độ nhớt khá cao phù hợp hơn với vi bao bằng oleogel.

3.3 Nội dung 3: Tối ưu hóa quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly từ phụ phẩm nho

3.3.1 Quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly từ dung môi DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid bằng sấy phun

3.3.1.1 Tối ưu hóa quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng sấy phun

❖ Ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng sấy phun

Trong nghiên cứu này, các loại vỏ bao khác nhau đã được thử nghiệm, bao gồm maltodextrin riêng lẻ và kết hợp với gum arabic, tinh bột biến tính, protein đậu nành isolate và whey protein isolate (**Phụ lục V.1**). Khi MD được sử dụng riêng lẻ sẽ đạt hiệu suất thu hồi cao nhất cho TPC và PAC (**Hình PL V.1.**). Trong khi đó, hiệu quả vi bao cao nhất đối với TPC, TSC và PAC đạt được với sự kết hợp MD-GA (**Hình PL V.2.**). Mặc dù có sự thay đổi, tất cả các bột vi bao từ các công thức vỏ bao đều duy trì giá trị hoạt độ nước dưới 0,2 (**Bảng PL V.1.**). Các kết quả XRD cho thấy bột vi bao với các công thức sử dụng kết hợp các loại vỏ bao (MD-GA, MD-MS, MD-SPI và MD-WPI) tạo ra các đỉnh rộng hơn và khuếch tán hơn, cho thấy mức độ vô định hình cao hơn so với bột sử dụng vỏ bao MD riêng lẻ (**Hình PL V.3.**). Kết quả FTIR hỗ trợ việc xác nhận vi bao thành công dịch trích phụ phẩm nho trong các ma trận loại vỏ bao khác nhau (**Hình PL V.4.**). Bột MD-GA vẫn duy trì ổn định nhiệt hơn so với các bột từ các loại vỏ bao kết hợp khác khi phân tích DSC, khiến chúng phù hợp hơn để vi bao trong điều kiện

sấy phun ở nhiệt độ dưới 180°C (**Hình PL V.5.**). Kết quả SEM cho thấy tất cả các mẫu bột đều thể hiện hình thái hình cầu đặc trưng của bột sấy (**Hình PL V.6.**).

Khi thay đổi tỷ lệ lõi: vỏ bao, hiệu suất thu hồi TPC cao nhất ở tỷ lệ là 1:4 (w/w). Đối với TSC, không có sự khác biệt về mặt thống kê trong hiệu suất thu hồi giữa các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau đã thử nghiệm ($P > 0,05$) (**Hình PL V.7.**). Ngược lại, hiệu quả vi bao TPC cao nhất đạt được ở tỷ lệ 1:4 và 1:5 (w/w). Hiệu quả vi bao TSC vẫn luôn ở mức cao (khoảng 98%) trên các tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:4, 1:5 và 1:6 (w/w), không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) (**Hình PL V.8.**). Hoạt độ nước của bột duy trì dưới 0,2 (**Bảng PL V.2.**). Kết quả SEM cho thấy ở tỷ lệ 1:4 (w/w), bột có hình cầu với bề mặt tương đối nhẵn và kích thước đồng đều hơn (**Hình PL V.9.**). Khi khảo sát về tỷ lệ giữa MD và GA, tỷ lệ 2:1 và 3:1 (w/w) mang lại hiệu suất thu hồi cao nhất cho tất cả các hợp chất (**Hình PL V.10.**). Hiệu quả vi bao đối với TPC cao nhất ở tỷ lệ 1:1 (w/w), theo sau là tỷ lệ 2:1 (w/w) (**Hình PL V.11.**). Bột vi bao theo tỷ lệ MD-GA 1:2 (w/w) có bề mặt nhẵn với ít vết nứt hơn (**Hình PL V.12.**). Trong khi đó, những thay đổi về tốc độ và thời gian đồng hóa không ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng ẩm, hoạt độ nước (**Bảng PL V.6.**) và hình thái hạt (**Hình PL V.15.**), thì chế độ đồng hóa tác động đáng kể đến hiệu suất thu hồi (**Bảng PL V.4.**), hiệu quả vi bao (**Bảng PL V.5.**) và phân bố kích thước hạt bột (**Bảng PL V.7.**). Quá trình đồng hóa ở tốc độ 10.800 vòng/phút trong 10 phút tạo ra sự cân bằng phù hợp giữa việc giảm kích thước hạt và độ ổn định, tạo ra bột có phân bố kích thước hạt hẹp, có kích thước lý tưởng cho quá trình sấy phun.

Hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao tăng đáng kể khi nhiệt độ không khí sấy đầu vào tăng từ 140°C lên 160 – 170°C, giảm khi nhiệt độ vượt quá 180°C (**Hình PL V.16.** và **Hình PL V.17.**). Mặc dù hàm lượng ẩm thay đổi, giá trị hoạt độ nước vẫn luôn ở mức thấp trong tất cả các mẫu, không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê ($P > 0,05$) và tất cả các giá trị đều dưới 0,2 (**Bảng PL V.8.**). Các hạt vi bao được tạo thành ở nhiệt độ sấy 160°C cho thấy hình thái đồng đều, với độ tròn tương đối đều và biến dạng tối thiểu (**Hình PL V.18.**). Tăng tốc độ dòng nhập liệu từ 15 lên 35 mL/phút không dẫn đến sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hiệu suất thu hồi TPC, TSC và PAC (**Hình PL V.19.**). Tuy nhiên, hiệu quả vi bao giảm khi tốc độ dòng nhập liệu tăng lên đến 45 mL/phút (**Hình PL V.20.**). Giá trị hoạt độ nước vẫn thay đổi, không khác biệt về mặt thống kê ($P > 0,05$) và duy trì dưới 0,2 (**Bảng PL V.9.**). Hạt bột được tạo ra ở tốc độ

dòng nhập liệu từ 15 đến 35 mL/phút đồng nhất, hình cầu và phần lớn không bị biến dạng với bề mặt nhẵn. Nếp nhăn bề mặt và biến dạng cấu trúc bắt đầu xuất hiện ở tốc độ 40 mL/phút, mặc dù các hạt không biểu hiện vết nứt nhìn thấy được (**Hình PL V.21.**).

❖ **Tối ưu hóa quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng sấy phun**

Dựa trên kết quả của các thí nghiệm đơn (**Phụ lục V.1**), các phạm vi tối ưu để sấy phun được thiết lập bao gồm nhiệt độ không khí sấy đầu vào là 150 – 170°C (X_1) và tốc độ dòng nhập liệu là 30 – 40 mL/phút (X_2). Hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao được xác định là các chỉ tiêu chính để đánh giá hiệu quả sấy phun (**Bảng 3.27**).

Bảng 3.27. Mức độ mã hóa của các biến độc lập cho thiết kế CCD trong tối ưu hóa quy trình vi bao bằng sấy phun

Yếu tố	Kí hiệu	Các mức của yếu tố				
		-1,414	-1	0	+1	+1,414
Nhiệt độ không khí sấy đầu vào (°C)	X_1	146	150	160	170	174
Tốc độ dòng nhập liệu (mL/phút)	X_2	28	30	35	40	42

Bảng 3.28 trình bày ma trận yếu tố mã hóa. Kết quả cho thấy hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ dịch trích ly phụ phẩm nho thu được dao động lần lượt từ 47,24% đến 87,64% và từ 91,06% đến 98,90%.

Bảng 3.28. Ma trận yếu tố mã hóa trong tối ưu hóa quy trình vi bao bằng sấy phun

Yếu tố			Đáp ứng					
TT	Nhiệt độ không khí sấy đầu vào (°C)	Tốc độ dòng nhập liệu (mL/phút)	EY (TPC) (%)	EY (TSC) (%)	EY (PAC) (%)	EE (TPC) (%)	EE (TSC) (%)	EE (PAC) (%)
1	146	35	51,47	69,01	76,56	93,76	94,92	92,22
2	150	30	60,56	78,96	73,50	94,72	96,02	92,92
3	150	40	53,91	67,24	71,91	94,29	94,38	91,65
4	160	28	84,18	85,94	80,21	97,58	98,73	93,82
5	160	35	86,17	87,64	83,56	98,01	98,63	94,30

6	160	35	86,09	87,22	82,04	98,39	98,90	93,94
7	160	35	83,98	86,17	82,61	98,73	98,07	94,43
8	160	42	49,66	64,90	72,87	95,44	97,54	91,87
9	170	30	76,82	80,03	82,31	96,38	97,60	93,95
10	170	40	47,24	70,78	74,29	91,06	95,94	91,22
11	174	35	70,42	78,53	80,95	94,31	96,39	92,79

EY(TPC), EY(TSC) và EY(PAC) lần lượt là hiệu suất thu hồi phenolic, hiệu suất thu hồi saponin và hiệu suất thu hồi proanthocyanidin. EE(TPC), EE(TSC) và EE(PAC) lần lượt là hiệu quả vi bao phenolic, hiệu quả vi bao saponin và hiệu quả vi bao proanthocyanidin.

Bảng 3.29 tóm tắt các hệ số hồi quy ước tính cho các chỉ tiêu và các tác động tuyến tính, tương tác và bậc hai của nhiệt độ không khí sấy đầu vào và tốc độ dòng nhập liệu đối với từng đáp ứng.

Bảng 3.29. Hệ số và giá trị P của các yếu tố trong tối ưu hóa quy trình sấy phun

Yếu tố	EY(TPC)		EY(TSC)		EY(PAC)	
	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P
Hằng số	85,46	<0,0001	87,01	<0,0001	82,76	<0,0001
X ₁	4,56	0,0300	2,26	0,0274	2,19	0,0113
X ₂	-10,68	0,0009	-6,37	0,0003	-2,51	0,0065
X ₁ X ₂	-5,73	0,0437	0,62	0,5764	-1,61	0,0970
X ₁ ²	-13,49	0,0007	-6,78	0,0006	-2,57	0,0124
X ₂ ²	-10,45	0,0023	-5,94	0,0011	-3,70	0,0027
R ²	0,96	0,0013	0,97	0,0008	0,94	0,0049
Lack of fit		0,0503		0,0794		0,1389

Yếu tố	EE(TPC)		EE(TSC)		EE(PAC)	
	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P
Hằng số	98,39	<0,0001	98,55	<0,0001	94,23	<0,0001
X ₁	-0,10	0,7689	0,66	0,0420	0,18	0,1402
X ₂	-1,10	0,0194	-0,63	0,0486	-0,85	0,0004
X ₁ X ₂	-1,22	0,0445	-0,01	0,9888	-0,37	0,0498
X ₁ ²	-2,50	0,0014	-1,70	0,0021	-0,93	0,0006
X ₂ ²	-1,24	0,0248	-0,43	0,1961	-0,76	0,0015
R ²	0,92	0,0077	0,91	0,0132	0,97	0,0009
Lack of fit		0,0912		0,2231		0,4399

EY(TPC), EY(TSC) và EY(PAC) lần lượt là hiệu suất thu hồi phenolic, hiệu suất thu hồi saponin và hiệu suất thu hồi proanthocyanidin. EE(TPC), EE(TSC) và EE(PAC) lần lượt là hiệu quả vi bao phenolic, hiệu quả vi bao saponin và hiệu quả vi bao proanthocyanidin.

Nhìn chung, các mức tuyến tính của nhiệt độ không khí sấy đầu vào và tốc độ dòng nhập liệu có ảnh hưởng tích cực đến hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao TPC, TSC và PAC. Ngoại trừ, nhiệt độ không khí sấy đầu vào tác động không có ý nghĩa thống kê đối với hiệu quả vi bao TPC và PAC ($P > 0,05$), ngược lại tốc độ dòng nhập liệu có ảnh hưởng tiêu cực đến hiệu quả vi bao TPC và PAC. Trong khi đó, hầu hết các mức bậc hai đều thể hiện tác động tiêu cực đến các chỉ tiêu ($P \leq 0,05$), ngoại trừ ảnh hưởng bậc hai của tốc độ dòng nhập liệu đến hiệu quả vi bao TSC là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Các mức tương tác giữa hai yếu tố không chứng minh được ý nghĩa thống kê đối với hiệu suất và hiệu quả vi bao TSC, hiệu suất thu hồi PAC ($P > 0,05$). Ngược lại, các mức tương tác giữa hai yếu tố đều ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê lên hiệu suất thu hồi, hiệu quả vi bao TPC và hiệu quả vi bao PAC ($P \leq 0,05$).

Các mô hình bậc hai cho hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao TPC, TSC và PAC được thể hiện trong phương trình (9) – (14). Các phương trình đa thức bậc hai này được sử dụng để tối ưu hóa:

$$Y_1 = 85,46 + 4,56X_1 - 10,68X_2 - 5,73X_1 X_2 - 13,49X_1^2 - 10,45X_2^2 \quad (9)$$

$$Y_2 = 87,01 + 2,26X_1 - 6,37X_2 - 6,78X_1^2 - 5,94X_2^2 \quad (10)$$

$$Y_3 = 82,76 + 2,19X_1 - 2,51X_2 - 2,57X_1^2 - 3,70X_2^2 \quad (11)$$

$$Y_4 = 98,39 - 1,10X_2 - 1,22X_1 X_2 - 2,50X_1^2 - 1,24X_2^2 \quad (12)$$

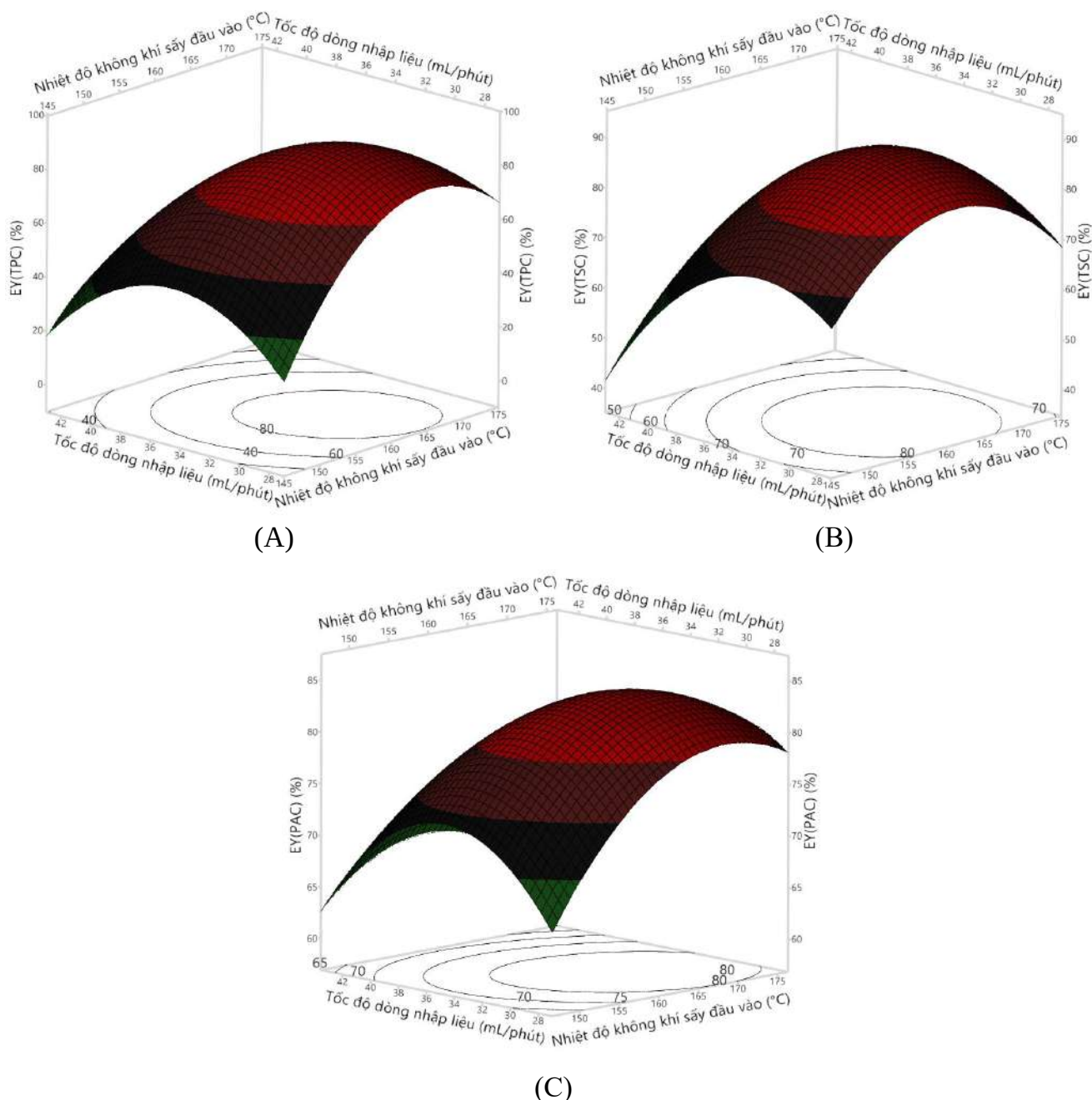
$$Y_5 = 98,55 + 0,66X_1 - 0,63X_2 - 1,70X_1^2 \quad (13)$$

$$Y_6 = 94,23 + 0,18X_1 - 0,85X_2 - 0,37X_1 X_2 - 0,93X_1^2 - 0,76X_2^2 \quad (14)$$

Trong đó: X_1 biểu thị nhiệt độ không khí sấy đầu vào, X_2 biểu thị tốc độ dòng nhập liệu. Y_1 , Y_2 và Y_3 tương ứng với hiệu suất thu hồi TPC, TSC và PAC. Y_4 , Y_5 và Y_6 tương ứng với hiệu quả vi bao TPC, TSC và PAC.

Biểu đồ đường đồng mức và bề mặt đáp ứng trong **Hình 3.14** và **Hình 3.15** thể hiện mối quan hệ giữa các yếu tố và chỉ tiêu đánh giá. Nhiệt độ sấy đầu vào và tốc độ dòng nhập liệu đều có ảnh hưởng đáng kể đến đáp ứng. Ở nhiệt độ không khí sấy thấp, sự bay hơi không hiệu quả do đó khả năng thu hồi các hợp chất sẽ tăng khi nhiệt độ tăng đến khoảng 162°C . Sấy ở nhiệt độ cao sẽ cải thiện sự truyền nhiệt và truyền khối cũng như làm giảm sự lắng đọng sản phẩm trên thành máy sấy. Bên cạnh đó, nhiệt độ sấy cao cũng giúp hình thành nhanh các lớp vỏ bao, ngăn chặn sự thất thoát các hợp chất hoạt tính (Decker và cộng sự, 2024). Khi nhiệt độ không khí sấy vượt qua mức khoảng 162°C

thì hiệu suất thu hồi và hiệu quả vì bao các hợp chất sẽ giảm. Nhiệt độ cao vượt mức có thể phân hủy của các hợp chất mục tiêu dẫn đến hiệu suất thu hồi hợp chất giảm.



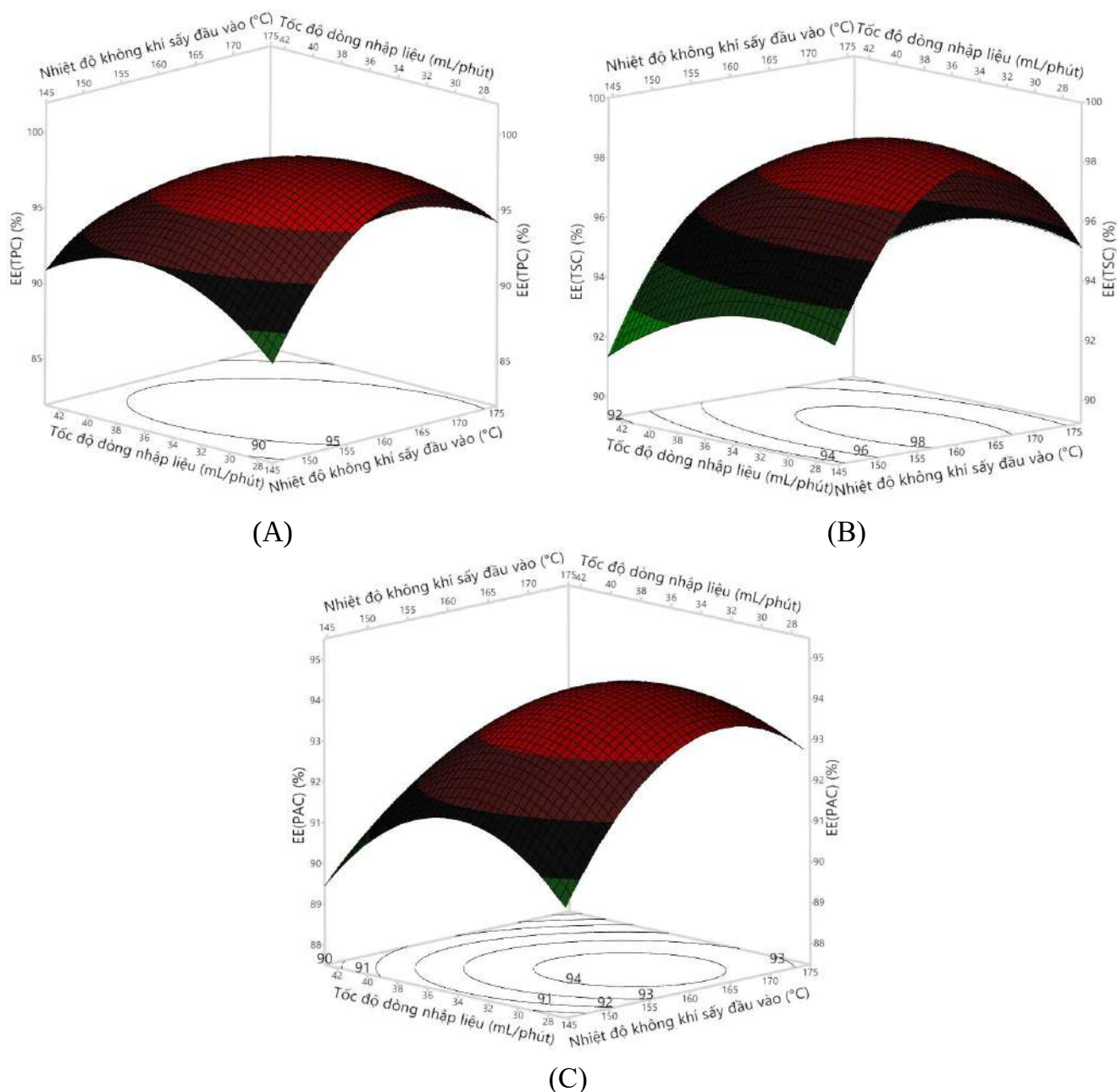
Hình 3.14. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của hiệu suất thu hồi (A)

TPC, (B) TSC và (C) PAC chịu ảnh hưởng của các yếu tố trong quá trình sấy phun

EY(TPC), *EY(TSC)* và *EY(PAC)* lần lượt là hiệu suất thu hồi phenolic, hiệu suất thu hồi saponin và hiệu suất thu hồi proanthocyanidin.

Nghiên cứu của Silva và cộng sự (2013) báo cáo xu hướng tương tự, khi nhiệt độ sấy tăng từ 160 – 180°C thì hiệu quả lưu giữ anthocyanin sẽ bị giảm. Dang và cộng sự (2024) cũng cho thấy nhiệt độ đầu vào 157°C là phù hợp để sấy nhũ tương sơ ri với vỏ

bao từ maltodextrin và gum arabic. Tuy nhiên, Decker và cộng sự (2024) lại báo cáo rằng nhiệt độ sấy có thể chọn ở mức thấp 140°C hoặc trong nghiên cứu của (Perković và cộng sự, 2024) nhiệt độ sấy có thể tối ưu lên đến 173,5°C cho sấy phun dịch trích phụ phẩm nho. Sự khác biệt về kết quả có thể đến từ loại vỏ bao được sử dụng, cũng như sự tương tác với các yếu tố khác.

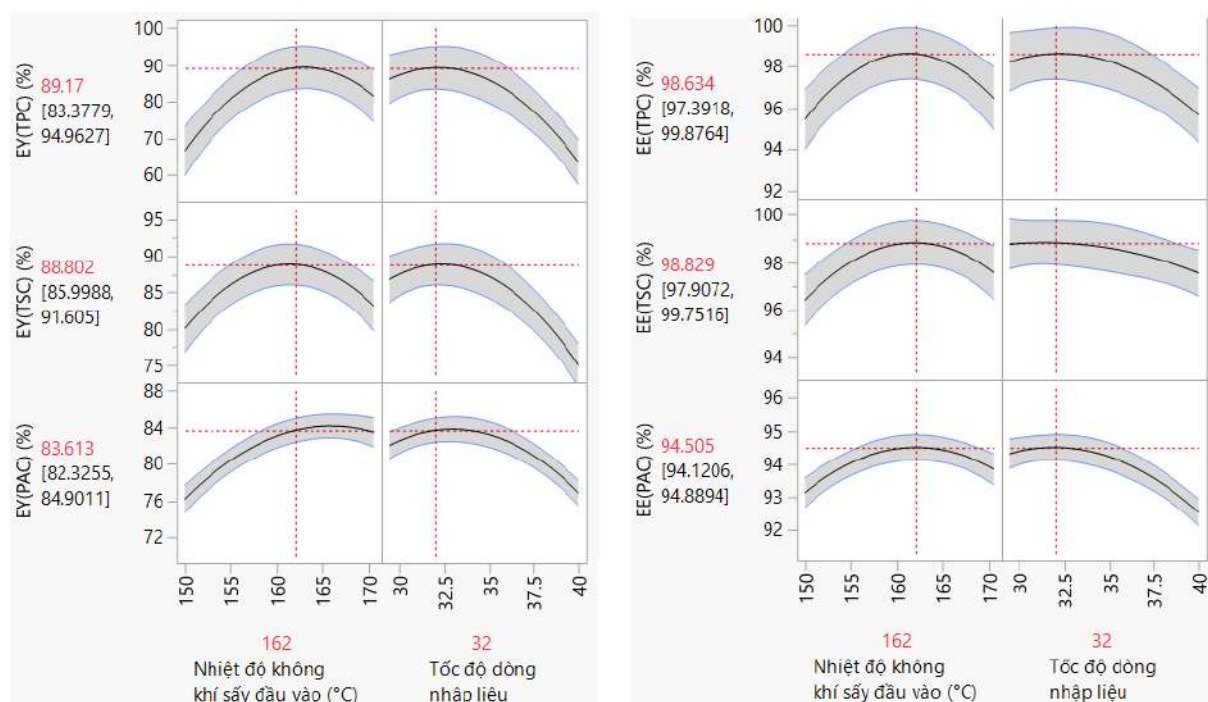


Hình 3.15. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của hiệu quả vi bao (A) TPC, (B) TSC và (C) PAC chịu ảnh hưởng của các yếu tố trong quá trình sấy phun

$EE(TPC)$, $EE(TSC)$ và $EE(PAC)$ lần lượt là hiệu quả vi bao phenolic, hiệu quả vi bao saponin và hiệu quả vi bao proanthocyanidin.

Hiệu quả của quá trình vi bao không chỉ bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ sấy mà thay đổi đáng kể theo tốc độ dòng nhập liệu. Dựa trên bề mặt đáp ứng, có thể thấy rằng hiệu quả vi bao và hiệu suất thu hồi sẽ giảm nếu tốc độ dòng nhập liệu vượt mức 32 mL/phút. Tốc độ dòng nhập liệu cao dẫn đến số lượng giọt tạo ra tăng cao, làm gia tăng sự va chạm giữa các hạt, dẫn đến giảm hiệu suất của quá trình sấy. Ngoài ra, ở tốc độ nhập liệu cao, hàm lượng ẩm bột sẽ cao hơn so với ở tốc độ thấp và bột có xu hướng trở nên dính thành, từ đó làm giảm khả năng thu hồi bột (Le và cộng sự, 2025). Tốc độ dòng nhập liệu và nhiệt độ không khí sấy đầu vào cùng quá cao hoặc quá thấp đều làm giảm hiệu quả vi bao và hiệu suất thu hồi.

Hình 3.16 trình bày các điều kiện tối ưu để sấy phun dịch trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho, bao gồm nhiệt độ không khí sấy đầu vào là 162°C và tốc độ dòng nhập liệu là 32 mL/phút.



Hình 3.16. Mô hình dự đoán hiệu suất thu hồi, hiệu quả vi bao và điều kiện tối ưu của phương pháp vi bao bằng sấy phun

EY(TPC), EY(TSC) và EY(PAC) lần lượt là hiệu suất thu hồi phenolic, hiệu suất thu hồi saponin và hiệu suất thu hồi proanthocyanidin. EE(TPC), EE(TSC) và EE(PAC) lần lượt là hiệu quả vi bao phenolic, hiệu quả vi bao saponin và hiệu quả vi bao proanthocyanidin.

Các giá trị đáp ứng dự đoán và thực nghiệm trong các điều kiện tối ưu này được trình bày trong **Bảng 3.30** và **Bảng 3.31**.

Bảng 3.30. Kết quả thăm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế đối với hiệu suất thu hồi các hợp chất

EY(TPC)		EY(TSC)		EY(PAC)	
Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm
89,17 ^a ± 5,79	88,25 ^a ± 1,00	88,80 ^b ± 2,80	88,81 ^b ± 1,50	83,61 ^c ± 1,29	83,22 ^c ± 1,08

Trong cùng một chỉ tiêu, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$). EY(TPC), EY(TSC) và EY(PAC) lần lượt là hiệu suất thu hồi phenolic, hiệu suất thu hồi saponin và hiệu suất thu hồi proanthocyanidin.

Bảng 3.31. Kết quả thăm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế đối với hiệu quả vi bao các hợp chất

EE(TPC)		EE(TSC)		EE(PAC)	
Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm
98,63 ^a ± 1,24	98,48 ^a ± 0,13	98,83 ^b ± 0,92	98,69 ^b ± 0,10	94,51 ^c ± 0,38	94,59 ^c ± 0,25

Trong cùng một chỉ tiêu, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$). EE(TPC), EE(TSC) và EE(PAC) lần lượt là hiệu quả vi bao phenolic, hiệu quả vi bao saponin và hiệu quả vi bao proanthocyanidin.

Nhiệt độ sấy tối ưu trong nghiên cứu này thấp hơn so với nhiệt độ sấy tối ưu 173,5°C trong nghiên cứu của Perković và cộng sự (2024) sử dụng để sấy phun dịch trích phụ phẩm nho với vỏ bao từ whey protein. Tuy nhiên, tốc độ bơm tối ưu cao hơn nhiều so với các nghiên cứu của Perković và cộng sự (2024) (7 mL/phút) áp dụng trên sấy phun dịch trích nho. Nhiệt độ sấy 162°C và tốc độ dòng nhập liệu 32 mL/phút đều thấp hơn giá trị tối ưu ghi nhận được trong nghiên cứu của Hadree và cộng sự (2023) và Hasani và cộng sự (2025). Nhiệt độ sấy 189,9°C và tốc độ dòng nhập liệu 0,63 mL/giây (37,8 mL/phút) là tối ưu cho sấy phun dịch trích vỏ lựu với maltodextrin (Hadree và cộng sự, 2023). Tương tự, vi bao polyphenol từ phụ phẩm nho bằng vỏ bao từ 12,129% maltodextrin và 0,5% gum từ hạt húng quế ngọt thì nhiệt độ không khí đầu vào tối ưu là 177,22°C (Hasani và cộng sự, 2025).

Hiệu suất thu hồi TPC, TSC và PAC thực nghiệm đạt trên 83% và hiệu quả vi bao TPC, TSC và PAC đạt trên 94% cho thấy quá trình vi bao hiệu quả. Sự khác biệt giữa các giá trị thực nghiệm và dự đoán đối với mỗi đáp ứng được chứng minh là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Các nghiên cứu trước đây về vi bao dịch trích phụ phẩm nho bằng sấy phun cũng cho thấy hiệu quả tương tự. Kuck và Noreña (2016) báo cáo

hiệu suất thu hồi phenolic và anthocyanin có thể đạt từ 80,8 – 99,6% đối với dịch trích vỏ nho Bordo với vỏ bao kết hợp từ gum arabic, guar gum thủy phân và polydextrose. Hiệu suất thu hồi phenolic từ phụ phẩm nho Agiorgitiko có thể đạt 92,49% nếu sử dụng vỏ bao từ maltodextrin và protein sữa (Tsali và Goula, 2018). Hiệu quả vi bao TPC ($98,50 \pm 0,10\%$) trong nghiên cứu này tương tự với các nghiên cứu vi bao dịch trích phụ phẩm nho với vỏ bao từ gum arabic và gelatin với hiệu quả vi bao đạt 98,01% (Martinović và cộng sự, 2025). Kết quả nghiên cứu này lại cao hơn so với hiệu quả vi bao phenolic dịch trích ly phụ phẩm nho *Cabernet Sauvignon* sử dụng whey protein dê trong báo cáo của Perković và cộng sự (2024). Hiệu quả vi bao khi sử dụng whey protein dê (tỷ lệ 2,5) là 95,5% ở nhiệt độ $173,5^{\circ}\text{C}$ và tốc độ dòng 7 mL/phút. Nhìn chung, mô hình bề mặt đáp ứng đã được xác nhận là có thể dự đoán hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao TPC, TSC và PAC dịch trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho dựa trên thông số nhiệt độ không khí sấy đầu vào và tốc độ dòng nhập liệu.

3.3.1.2 Tính chất và hoạt tính sinh học của bột sấy phun tối ưu

Phân bố kích thước hạt, SEM, độ hòa tan, hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột sấy phun ở điều kiện tối ưu

Hàm lượng ẩm, hoạt độ nước, độ hòa tan, phân bố kích thước hạt, SEM của bột sấy phun tối ưu được thể hiện trong **Bảng 3.32**, **Bảng 3.33**, **Hình 3.17** và **Hình 3.18**.

Bảng 3.32. Hàm lượng ẩm, hoạt độ nước và độ hòa tan của bột sấy phun ở điều kiện vi bao tối ưu

Hàm lượng ẩm (%)	Hoạt độ nước	Độ hòa tan (%)
$5,22 \pm 0,07$	$0,145 \pm 0,001$	$97,5 \pm 1,7$

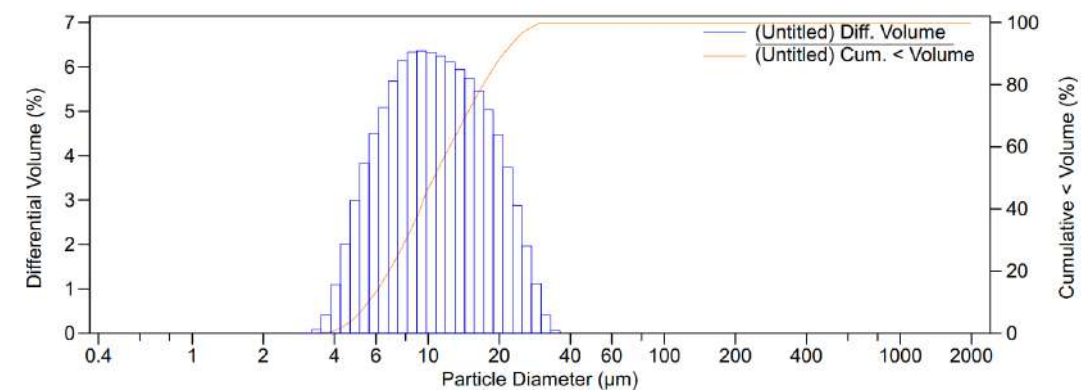
Bột vi bao tối ưu có hàm lượng ẩm $5,22 \pm 0,07\%$; hoạt độ nước $0,146 \pm 0,003$ và độ hòa tan $97,5 \pm 1,7\%$ là phù hợp cho sản phẩm bột sấy phun. Kích thước hạt trung bình nhỏ và đồng đều. Đường kính hạt trong nghiên cứu này ($2,92 - 36,24 \mu\text{m}$) gần với kết quả của đường kính hạt vi bao dịch trích phụ phẩm nho với vỏ bao từ casein/pectin được Carra và cộng sự (2022) báo cáo là dao động trong khoảng $1,28 - 41,75 \mu\text{m}$. Tuy nhiên, kích thước hạt bột vẫn lớn hơn so với một số báo cáo trước đây về sấy phun dịch trích ly phụ phẩm nho. Bột sấy phun dịch trích phụ phẩm nho bằng ethanol 50% với natri alginate, gum arabic, gelatin có đường kính từ $2,38 - 4,29 \mu\text{m}$ (Martinović và cộng

sự, 2025). Đường kính của bột sấy phun dịch trích vỏ nho Bordo với vỏ bao gum arabic, polydextrose, guar gum thủy phân khoảng 4,8 – 14,3 μm (Kuck và Noreña, 2016). Trong quá trình sấy phun, độ nhớt của dịch trước sấy càng cao thì kích thước hạt càng lớn. Dịch trích ly từ DES có độ nhớt cao hơn so với dịch trích từ các dung môi như ethanol 50% (Martinović và cộng sự, 2025), nước (Decker và cộng sự, 2024; Kuck và Noreña, 2016) do đó đường kính hạt tương đối lớn hơn.

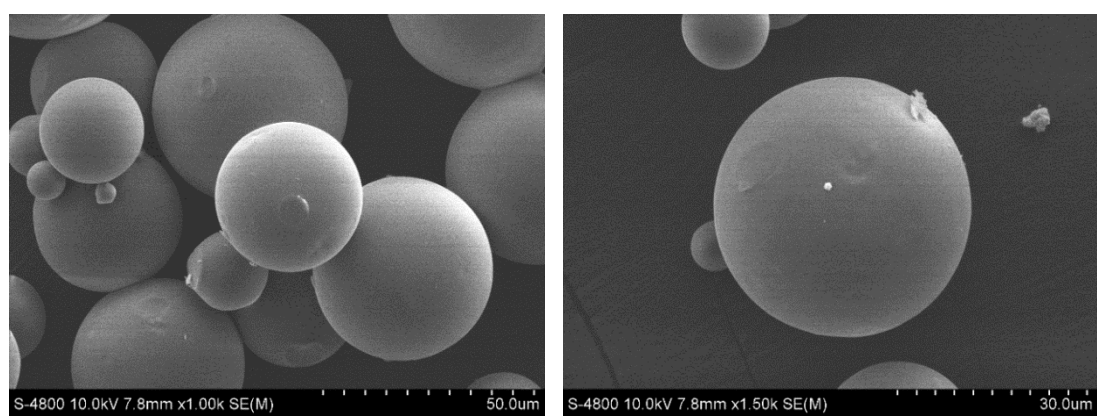
Bảng 3.33. Phân bố kích thước hạt bột sấy phun ở điều kiện tối ưu

Kích thước hạt trung bình (μm)	Kích thước hạt phổ biến (μm)	Phân bố kích thước (μm)	D ₁₀ (μm)	D ₅₀ (μm)	D ₉₀ (μm)	Span
12,05	9,37	2,92 – 36,24	5,55	10,65	20,80	1,43

D10: 10% lượng hạt có kích thước < 5,55 μm . D50: 50% lượng hạt có kích thước < 10,65 μm . D90: 90% lượng hạt có kích thước < 20,80 μm . Span: Độ rộng phân bố tương đối.



Hình 3.17. Phân bố kích thước hạt bột sấy phun ở điều kiện tối ưu

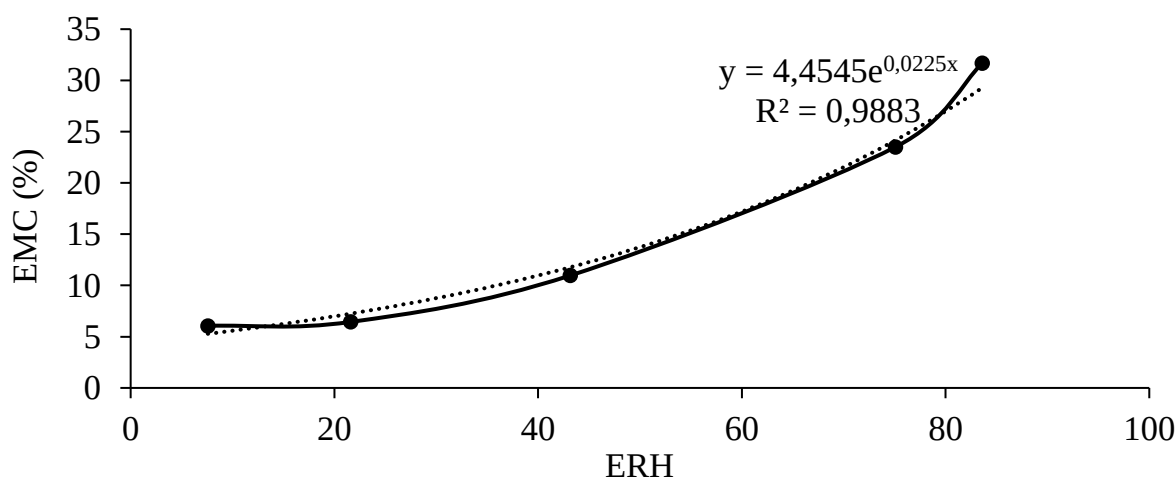


Hình 3.18. Hình SEM hạt bột sấy phun ở điều kiện tối ưu

Hình ảnh SEM cho thấy hạt bột vi bao sấy phun tròn đều, bề mặt hạt không nhẵn, không có các vết nứt nhìn thấy được.

Độ ẩm cân bằng của bột sấy phun tối ưu

Tác động của độ ẩm tương đối cân bằng (ERH) của môi trường đến độ ổn định của bột vi bao tối ưu ở nhiệt độ phòng ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) được thể hiện trong **Hình 3.19**. Nhìn chung, ở nhiệt độ không đổi, khi ERH của môi trường tăng từ khoảng 7,5% đến 84% thì độ ẩm cân bằng của bột cũng tăng. Tuy nhiên, ở ERH dưới 22% thì độ ẩm cân bằng của bột gần như không thay đổi nhiều, cho thấy độ ổn định của độ ẩm cân bằng ở khoảng ERH này. Trong khi đó, ERH trên 43% thì độ ẩm cân bằng có xu hướng tăng nhanh tương ứng với độ dốc lớn của đường cong, liên quan đến sự hấp phụ ẩm. Kết quả này cho thấy các mẫu bột vi bao tối ưu không nên lưu trữ ở điều kiện ERH cao hơn 43%.



Hình 3.19. Ảnh hưởng của ERH môi trường đến độ ẩm cân bằng của bột sấy phun

EMC: Equilibrium Moisture Content – Độ ẩm cân bằng, ERH: Equilibrium Relative Humidity – Độ ẩm tương đối cân bằng của môi trường.

Đường cong biểu diễn mối quan hệ giữa độ ẩm cân bằng và ERH môi trường là đường đẳng nhiệt hấp phụ loại III. Kết quả này phù hợp với nhận định của Al-Muhtaseb và cộng sự (2002) rằng các thực phẩm giàu thành phần tan như đường – trong trường hợp này là bột vi bao với hàm lượng maltodextrin cao, sẽ có đặc tính loại III vì bị ảnh hưởng bởi độ hòa tan của các chất trong nước.

Hai mô hình toán học BET và GAB được sử dụng nhằm mô tả đường đẳng nhiệt hấp phụ và dự đoán độ ẩm đơn lớp của bột vi bao (**Bảng 3.34**). Theo phương trình BET, độ ẩm đơn lớp của bột vi bao tối ưu gần 5,444%, trong khi phương trình GAB dự đoán độ ẩm đơn lớp là khoảng 6,345. Kết quả R^2 cho thấy phương trình BET dự đoán chính xác hơn về độ ẩm đơn lớp của bột vi bao, tương ứng với R^2 cao hơn ($R^2 = 0,978$). Do đó, để đảm bảo độ ổn định trong quá trình bảo quản thì độ ẩm của bột vi bao nên được

duy trì gần với độ ẩm đơn lớp theo phương trình BET. Thực tế cho thấy độ ẩm của mẫu bột vi bao (5,22%) là phù hợp với khuyến cáo trên.

Bảng 3.34. Thông số của mô hình BET và GAB cho bột sấy phun tối ưu

Mô hình	Mo	C	K	R ²
BET	5,444	-79,938	-	0,978
GAB	6,345	37,957	1,966	0,928

BET: Brunauer-Emmett-Teller. GAB: Guggenheim-Anderson-de Boer. Mo: Độ ẩm đơn lớp. C và K là hai thông số hấp phụ của đặc tính hấp phụ của bột.

Khả năng kháng khuẩn của bột vi bao tối ưu

Đường kính vòng kháng khuẩn và nồng độ ức chế tối thiểu của bột vi bao tối ưu được thể hiện trong **Bảng 3.35** và **Bảng 3.36**.

Bảng 3.35. Đường kính vòng kháng khuẩn và MIC của bột sấy phun tối ưu

Mẫu	Thể tích (μL)	Khối lượng bột (mg)	Hàm lượng hợp chất trong bột sấy phun			Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)			
			TPC*	TSC*	PAC*				
			(μg)	(μg)	(μg)	<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>S. aureus</i> ATCC 6538
Bột sấy phun tối ưu	10	8				0,00 ^j ± 0,00	0,00 ^j ± 0,00	0,00 ^j ± 0,00	0,00 ^j ± 0,00
	20	16	11,22	77,72	3,64	3,13 ⁱ ± 0,12	3,03 ⁱ ± 0,21	3,63 ^{hi} ± 0,21	3,93 ^h ± 0,12
	30	24	22,44	155,44	7,28	4,00 ^h ± 0,20	5,00 ^g ± 0,20	5,50 ^{fg} ± 0,30	6,93 ^e ± 0,12
	40	32	33,67	233,16	10,92	6,03 ^f ± 0,21	6,07 ^f ± 0,23	9,13 ^d ± 0,47	7,00 ^e ± 0,20
Kháng sinh chloramphenicol (1 mg/mL)	20	-	44,89	310,88	14,56	20,00 ^c ± 0,20	27,00 ^b ± 0,20	19,97 ^c ± 0,12	28,00 ^a ± 0,20
Nước cất	20	-	-	-	-	-	-	-	-
Mẫu			-	-	-	MIC (mg/mL)			
Bột sấy phun tối ưu						30	30	30	30

- Không xác định. Đối chứng âm: Nước cất. Đối chứng dương: Kháng sinh chloramphenicol.

* TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, hàm lượng saponin tổng và hàm lượng proanthocyanidin trong mỗi khối lượng bột tương ứng theo hàng.

Trong cùng một bảng, chữ cái khác nhau (a, b, c,...) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

Khả năng kháng khuẩn của bột vi bao tối ưu thấp hơn so với dịch trích ly (**Bảng 3.16**). Khả năng kháng khuẩn của dịch trích sẽ gấp khoảng 3 lần so với bột sấy phun dựa trên hàm lượng tổng các hợp chất cũng như đường kính vòng kháng khuẩn. Nếu dựa trên MIC thì khả năng kháng khuẩn của dịch trích sẽ gấp 4,6 lần so với bột vi bao.

Tỷ lệ dịch trích trong hỗn hợp bột vi bao chỉ chiếm khoảng 20% (tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:4 w/w), do đó sẽ làm giảm hoạt tính kháng khuẩn so với sử dụng dịch trích ly trực tiếp.

Giá trị MIC và IC₅₀ của bột vi bao tối ưu trong nghiên cứu này cao hơn so với bột vi bao từ dịch trích vỏ đậu phộng trong báo cáo của Valle Calomeni và cộng sự (2017). Hàm lượng chất mang trong bột vi bao phụ phẩm nho cao hơn nên làm giảm hiệu quả kháng khi so sánh cùng một lượng bột. Tuy nhiên, bột vi bao phụ phẩm nho vẫn thể hiện hoạt tính kháng trên bốn chủng khuẩn khác nhau, trong khi bột vỏ đậu phộng không thể hiện tính kháng trên khuẩn *Salmonella Enteritidis*.

Bảng 3.36. Hoạt tính kháng oxy hóa của bột sấy phun tối ưu

Chỉ tiêu	Bột sấy phun tối ưu			
	IC ₅₀ (mg/mL)	TPC (μg)	TSC (μg)	PAC (μg)
DPPH	3,47 ± 0,16	4,86	33,66	1,58
ABTS	2,28 ± 0,16	3,19	22,10	1,03

IC₅₀: là nồng độ mẫu thử mà tại đó mẫu thử sẽ có hoạt tính ức chế được 50% sự oxy hóa do gốc tự do.
 * TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng phenolic tổng, hàm lượng saponin tổng và hàm lượng proanthocyanidin trong mỗi nồng độ tương ứng theo hàng.
 DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. ABTS: 2,2-azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]

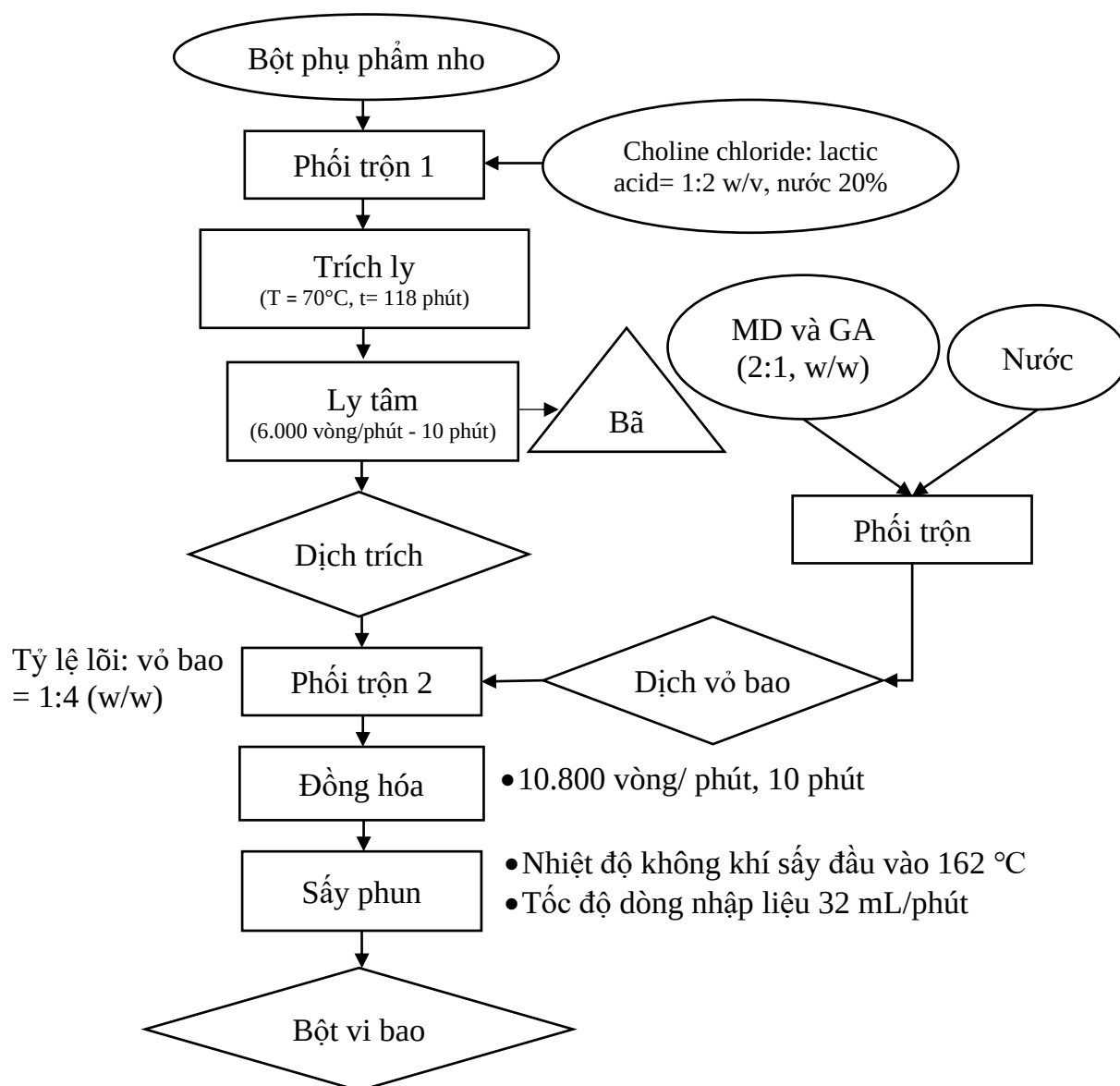
3.3.1.3 Quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng sấy phun

Quy trình vi bao dịch trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng sấy phun được thể hiện qua **Hình 3.20**.

Chuẩn bị dung môi DES: DES dùng để trích ly bột phụ phẩm nho là sự kết hợp của choline chloride và lactic acid theo tỷ lệ 1:2 (w/w), chứa 20 % nước. Tiến hành cân lần lượt các chất vào cốc thủy tinh theo tỷ lệ phù hợp bằng cân kỹ thuật OHAUS 3202 (Hoa Kỳ), hỗn hợp được khuấy ở 80°C trong 90 phút đến khi thu được hỗn hợp dung môi dạng lỏng, trong suốt và đồng nhất (Nguyen và cộng sự, 2023).

Phối trộn 1: Bột phụ phẩm nho được phối trộn với dung môi DES theo tỷ lệ 1:25 (w/w), hỗn hợp được khuấy và gia nhiệt ở 70°C. Sau 118 phút, hỗn hợp được ly tâm bằng máy ly tâm Universal 320R (Hettich, Đức) ở 6.000 vòng/phút trong 10 phút. Quá trình ly tâm kết thúc hỗn hợp trong ống tách thành hai phần, phần dịch nổi lên trên, phần

bã lắng dưới đáy ống. Thu phần dịch nổi phía trên. Kết quả thu được sau quá trình trích ly là dịch trích bột phụ phẩm nho dạng lỏng. Một phần dịch trích được phân tích các chỉ tiêu, phần còn lại được bảo quản trong điều kiện tránh sáng, ở nhiệt độ -18°C cho các thí nghiệm sấy phun tiếp theo.



Hình 3.20. Quy trình vi bao tối ưu các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng sấy phun

Chuẩn bị vỏ bao: Vỏ bao maltodextrin, gum arabic được phối trộn theo tỷ lệ 2:1 (w/w) trong nước, nồng độ vật chất khô 40%. Tiến hành cân từng loại vỏ bao vào hũ thủy tinh bằng cân kỹ thuật OHAUS 3202 (Hoa Kỳ). Hoà trộn vỏ bao với nước cất và khuấy đều bằng đũa thủy tinh, sau đó ủ trong bể ổn nhiệt WNB 14 (Memmert, Đức) ở 60°C trong khoảng 120 phút, tạo thành hỗn hợp đồng nhất.

Phôi trộn 2: Thực hiện phôi trộn dịch trích và dịch vỏ bao theo tỷ lệ 1:4 (w/w).

Đồng hóa: Sau đó, 500 mL hỗn hợp được đồng hóa bằng máy đồng hóa SciLab SHG-15A (Hàn Quốc) ở tốc độ đồng hóa 10.800 vòng/phút trong 10 phút. Sau cùng thu được hỗn hợp đồng nhất gọi là dịch trước sấy.

Sấy phun: Dịch trước sấy được tiến hành sấy phun tại Công ty TNHH Công Nghệ Mr. Chí (Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam), bằng máy sấy phun L-8i (Nhật Bản) kiểm soát nhiệt độ không khí sấy đầu vào 162°C, tốc độ dòng nhập liệu 32 mL/phút. Tốc độ quay của đầu phun (automizer) cố định là 18.000 vòng/phút và áp suất là 1,55 kPa. Thành phẩm thu được có dạng bột, được bảo quản trong túi zip hai mặt nhôm tránh sáng, bên trong có túi hút ẩm và hàn kín miệng.

3.3.2 Quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly từ dung môi DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid bằng oleogel

3.3.2.1 Tối ưu hóa quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng oleogel

❖ Ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng oleogel

Một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình vi bao bằng oleogel đã được khảo sát, bao gồm công thức oleogel, tỷ lệ BW: F90, tỷ lệ chất tạo gel dầu, nhiệt độ làm mát (**Phụ lục VI.1**). Oleogel từ BW: F90 cho thấy hiệu suất thu hồi ($80,52 \pm 2,37\%$), khả năng liên kết dầu ($84,32 \pm 0,43\%$) và độ nhớt cao hơn so với oleogel từ BW: GMS (**Bảng PL VI.1**). Hình ảnh oleogel được quan sát bằng kính hiển vi phân cực cho thấy cả hai công thức đều thể hiện các đặc điểm hình thái tương đối giống nhau (**Hình PL VI.2**). Tuy nhiên, ở mẫu oleogel BW: GMS quan sát được số lượng hạt nhũ tương lớn hơn so với mẫu BW: F90. Do đó, công thức BW: F90 thể hiện các đặc tính hóa lý, vi cấu trúc đồng nhất và ổn định hơn.

Ở tỷ lệ BW: F90 là 1:1 (w/w), oleogel có độ nhớt thấp nhất (**Bảng PL VI.2**). Khi tỷ lệ BW: F90 tăng lên 2:1 (w/w), độ cứng của gel tăng, thể hiện hiệu suất thu hồi hợp chất cao nhất. Khả năng liên kết dầu tăng theo hàm lượng sáp ong cao hơn, đạt cao nhất ở tỷ lệ 2:1 (w/w). Hình ảnh kính hiển vi phân cực cho thấy ở tỷ lệ 2:1 (w/w), hàm lượng sáp ong cao hơn tạo ra một mạng lưới các giọt dày đặc (**Hình PL VI.4**). Khi thay đổi

tỷ lệ chất tạo gel dầu từ 5 – 15%, oleogel hình thành cấu trúc đặc và ổn định, đạt hiệu suất thu hồi cao nhất ở nồng độ 15% (**Bảng PL VI.3.**). Khả năng liên kết dầu của oleogel dao động từ 66,11% đến 96,50%, tăng theo tỷ lệ chất tạo gel dầu cao hơn. Tỷ lệ chất tạo gel dầu cao hơn (15%) tạo ra mạng lưới tinh thể dày đặc hơn khi quan sát bằng kính hiển vi ánh sáng phân cực (**Hình PL VI.6.**).

Việc tăng nhiệt độ làm mát làm giảm hiệu suất thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học trong oleogel (**Bảng PL VI.4.**). Ở 5°C, oleogel cho thấy hiệu suất thu hồi và khả năng liên kết dầu cao nhất. Hình ảnh dưới kính hiển vi phân cực cho thấy rằng ở 5°C thì oleogel thể hiện mạng lưới tinh thể dày đặc, kích thước các giọt tương đối đồng đều hơn so với hai nhiệt độ còn lại (**Hình PL VI.8.**).

❖ Tối ưu hóa quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng oleogel

Tỷ lệ BW: F90 và tỷ lệ chất tạo gel dầu được tối ưu bằng phương pháp bề mặt đáp ứng với thiết kế phối hợp có tâm CCD dựa trên kết quả từ các thí nghiệm khảo sát (**Phụ lục VI.1.**) nhằm xây dựng mô hình bậc hai để dự đoán hiệu suất thu hồi TPC và khả năng liên kết dầu của oleogel. Các phạm vi tối ưu bao gồm tỷ lệ BW: F90 là 1,0 – 2,0% (X_1) và tỷ lệ chất tạo gel dầu là 10,0 – 15,0% (X_2) (**Bảng 3.37.**).

Bảng 3.37. Mức độ mã hóa của các biến độc lập cho thiết kế CCD trong tối ưu hóa quy trình tạo oleogel

Yếu tố	Kí hiệu	Các mức của yếu tố				
		-1,414	-1	0	+1	+1,414
Tỷ lệ BW: F90 (w/w)	X_1	0,8	1,0	1,5	2,0	2,2
Tỷ lệ chất tạo gel dầu (%)	X_2	9,0	10,0	12,5	15,0	16,0

Hiệu suất thu hồi TPC và khả năng liên kết dầu của oleogel dao động trong khoảng lần lượt là 76,71 – 93,94% và 79,36 – 97,42% (**Bảng 3.38.**). Sự ảnh hưởng tuyến tính, tương tác và bậc hai của các yếu tố tỷ lệ BW: F90 và tỷ lệ chất tạo gel dầu đối với hiệu suất thu hồi TPC và khả năng liên kết dầu được thể hiện trong **Bảng 3.39.** Hệ số hồi quy ước tính cho các chỉ tiêu và ý nghĩa của các hệ số này trong mô hình bề mặt đáp ứng, giá trị R^2 , giá trị P của Lack of fit và giá trị P của phương trình hồi quy được trình bày trong **Bảng 3.39.**

Bảng 3.38. Ma trận yếu tố mã hóa trong tối ưu hóa quy trình tạo oleogel

TT	Yếu tố		Đáp ứng	
	Tỷ lệ BW: F90 (w/w)	Tỷ lệ chất tạo gel dầu (%)	Hiệu suất thu hồi TPC (%)	Khả năng liên kết dầu (%)
1	0,8	12,5	76,71	79,36
2	1,0	10,0	79,81	80,57
3	1,0	15,0	81,86	85,55
4	1,5	9,0	78,37	80,70
5	1,5	12,5	92,25	88,49
6	1,5	12,5	91,53	88,60
7	1,5	12,5	93,94	90,03
8	1,5	16,0	87,36	90,07
9	2,0	10,0	82,22	84,39
10	2,0	15,0	88,04	97,42
11	2,2	12,5	79,03	90,84

Bảng 3.39. Hệ số và giá trị P của các yếu tố trong tối ưu hóa quy trình tạo oleogel

Yếu tố	Hiệu suất thu hồi TPC (%)		Khả năng liên kết dầu (%)	
	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P
Hằng số	92,54	<0,0001	89,02	<0,0001
X ₁	1,49	0,1223	4,01	0,0006
X ₂	2,58	0,0237	3,93	0,0006
X ₁ X ₂	0,94	0,4431	2,01	0,0400
X ₁ ²	-6,75	0,0009	-1,53	0,0569
X ₂ ²	-4,20	0,0073	-1,39	0,0761
R ²	0,93	0,0059	0,96	0,0013
Lack of fit		0,1736		0,2004

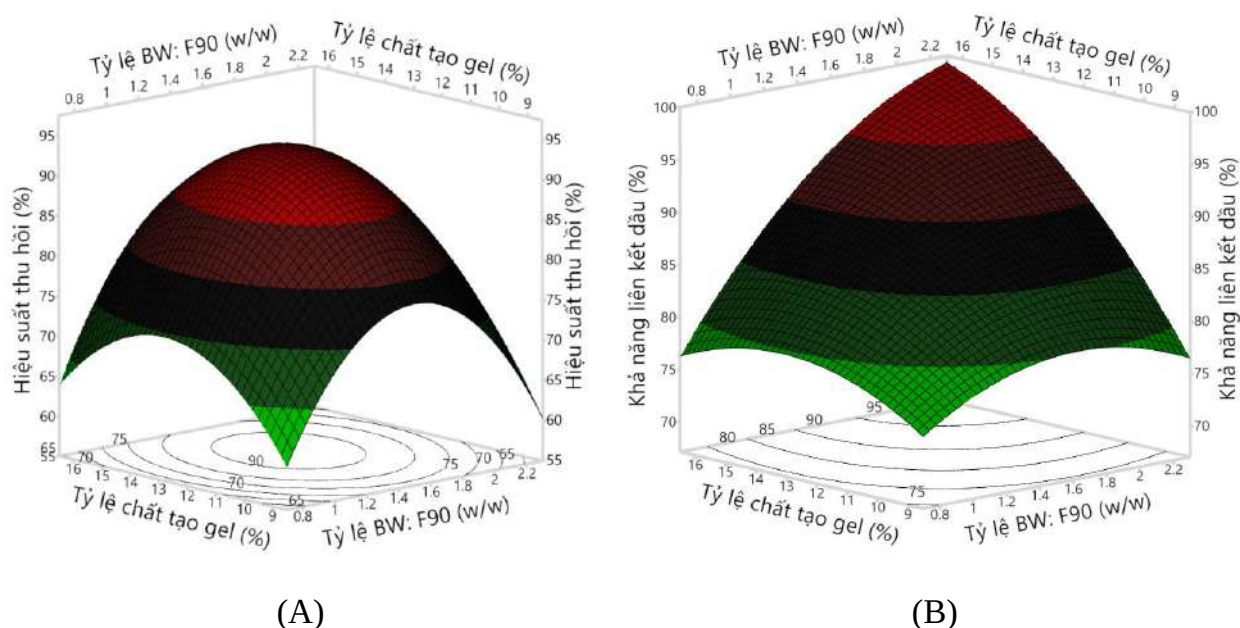
Kết quả thống kê cho thấy các hệ số hồi quy có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$) và giá trị Lack of fit không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) cho cả hai mô hình. Dựa trên kết quả **Bảng 3.39**, các phương trình đa thức bậc hai cho hiệu suất thu hồi TPC và khả năng liên kết dầu được thể hiện trong phương trình (15) và (16):

$$Y_1 = 95,54 + 2,58X_2 - 6,75X_1^2 - 4,20X_2^2 \quad (15)$$

$$Y_2 = 89,02 + 4,01X_1 + 3,93X_2 + 2,01X_1 X_2 \quad (16)$$

Trong đó: X_1 biểu thị tỷ lệ BW: F90, X_2 biểu thị tỷ lệ chất tạo gel dầu. Y_1 tương ứng với hiệu suất thu hồi TPC và Y_2 tương ứng với khả năng liên kết dầu.

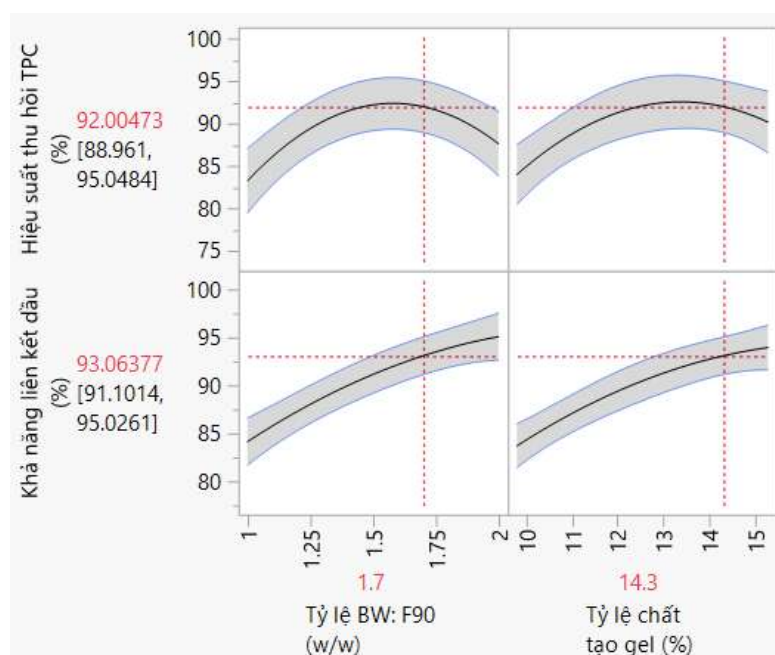
Bề mặt đáp ứng và biểu đồ đường đồng mức minh họa mối quan hệ giữa các biến độc lập và đáp ứng (**Hình 3.21** và **Hình 3.22**).



Hình 3.21. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của (A) hiệu suất thu hồi TPC và (B) khả năng liên kết dầu của oleogel chịu ảnh hưởng của các yếu tố

TPC là hàm lượng phenolic tổng, BW: Sáp ong, F90: Chất nhũ hóa Finamul 90.

Hình 3.22 và **Bảng 3.40** trình bày các điều kiện tối ưu của quy trình tạo oleogel từ dịch trích ly các hợp chất hoạt tính sinh học bằng DES tạo thành từ choline chloride, glycerol và citric acid, cùng với các giá trị đáp ứng dự đoán và thực nghiệm trong các điều kiện tối ưu này. Nhìn chung, mô hình bề mặt đáp ứng đã được xác nhận là có thể dự đoán hiệu suất thu hồi TPC và khả năng liên kết dầu của oleogel dịch trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho *Red Cardinal* dựa trên thông số tỷ lệ BW: F90 (w/w) và tỷ lệ chất tạo gel dầu (%).



Hình 3.22. Mô hình dự đoán hiệu suất thu hồi TPC, khả năng liên kết dầu và điều kiện tối ưu của phương pháp vi bao bằng oleogel

TPC là hàm lượng phenolic tổng, BW: Sáp ong, F90: Chất nhũ hóa Finamul 90.

Bảng 3.40. Kết quả thẩm tra giữa mô hình và thí nghiệm thực tế đối với hiệu suất thu hồi TPC và khả năng liên kết dầu của oleogel tối ưu

Hiệu suất thu hồi TPC (%)		Khả năng liên kết dầu (%)	
Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm
92,00 ^a ± 3,04	90,73 ^a ± 1,49	93,06 ^a ± 1,96	91,75 ^a ± 2,33

Trong cùng một chỉ tiêu, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$). TPC là hàm lượng phenolic tổng, BW: Sáp ong, F90: Chất nhũ hóa Finamul 90.

3.3.2.2 Tính chất và hoạt tính sinh học của oleogel tối ưu

Kết quả đường kính vòng kháng khuẩn và nồng độ ức chế tối thiểu của oleogel tối ưu được thể hiện trong **Bảng 3.41** và **Bảng 3.42**. Khả năng kháng khuẩn của oleogel tối ưu thấp hơn so với dịch trích ly tối ưu do tỷ lệ dịch trích ly trong oleogel chiếm khoảng 30% và thất thoát TPC trong quá trình tạo oleogel, do đó làm giảm hoạt tính so với dịch trích ly ban đầu. Theo phân loại hoạt tính dựa trên đường kính vòng kháng khuẩn của Zbakh và cộng sự (2012) thì hoạt tính kháng khuẩn của oleogel là thấp hơn ở các mức thử nghiệm, do đó MIC của oleogel tương ứng cũng cao hơn so với dịch trích và bột sấy phun.

Bảng 3.41. Đường kính vòng kháng khuẩn và nồng độ ức chế tối thiểu của oleogel tối ưu

Mẫu	Thể tích (μL)	Khối lượng oleogel (mg)	TPC trong oleogel * (μg)	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)			
				<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
				ATCC 8739	ATCC 14028	ATCC 6633	ATCC 6538
Oleogel tối ưu	10	6,67	9,74	-	-	-	-
	20	13,34	19,49	0,50 ⁱ ± 0,10	4,00 ^f ± 0,17	-	-
	30	20,01	29,23	3,03 ^g ± 0,15	5,00 ^e ± 0,20	2,47 ^h ± 0,15	-
	40	26,68	38,97	4,00 ^f ± 0,20	8,00 ^d ± 0,20	3,07 ^g ± 0,21	7,50 ^d ± 0,20
DMSO	40	-	-	-	-	-	-
Kháng sinh chloramphenicol (1 mg/mL)	20	-	-	20,00 ^c ± 0,20	27,00 ^b ± 0,20	19,97 ^c ± 0,12	28,00 ^a ± 0,20
Mẫu	MIC (mg/mL)						
Oleogel tối ưu	87,64 60 60 60 60						

- Không xác định. MIC: Nồng độ ức chế tối thiểu. Đối chứng âm: DMSO (Dimethyl sulfoxide). Đối chứng dương: Kháng sinh chloramphenicol.

* TPC là hàm lượng phenolic tổng trong mỗi khối lượng oleogel tương ứng theo hàng.

Trong cùng một bảng, chữ cái khác nhau (a, b, c,...) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

Tương tự, hoạt tính kháng oxy hóa của oleogel cũng giảm so với dịch trích ly nhưng cao hơn so với bột sấy phun, nguyên nhân có thể do một số thành phần hoạt tính kháng oxy hóa trong công thức oleogel như citric acid, sáp ong.

Bảng 3.42. Hoạt tính kháng oxy hóa của oleogel tối ưu

Chỉ tiêu	Oleogel tối ưu	
	IC ₅₀ (mg/mL)	TPC (μg)
DPPH	2,77 ± 0,10	4,04
ABTS	1,84 ± 0,01	2,68

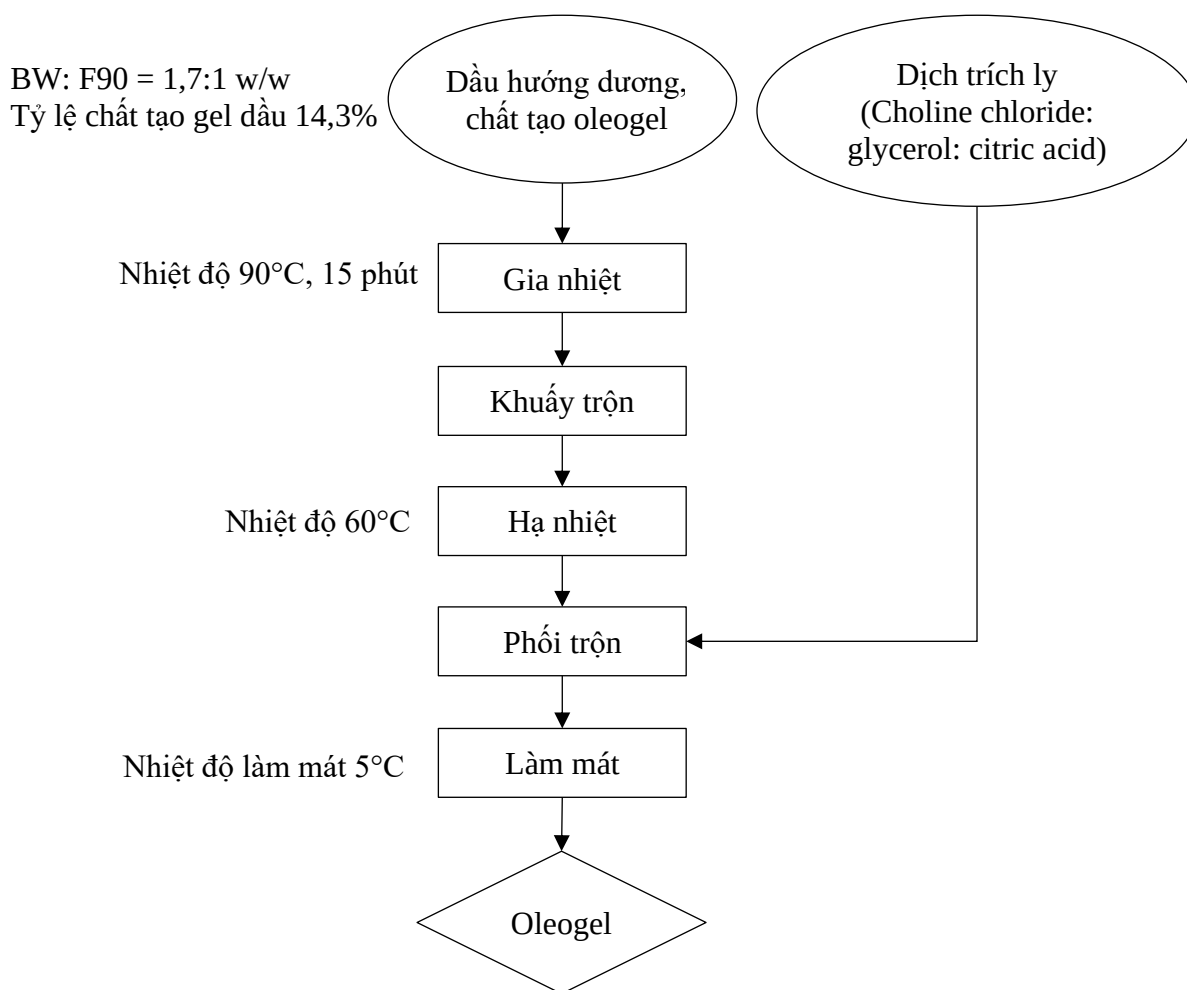
IC₅₀: là nồng độ mẫu thử mà tại đó mẫu thử sẽ có hoạt tính ức chế được 50% sự oxy hóa do gốc tự do.

* TPC là hàm lượng phenolic tổng trong mỗi nồng độ tương ứng theo hàng.

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. ABTS: 2,2-azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]

3.3.2.3 Quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng oleogel

Quy trình vi bao dịch trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng oleogel được thể hiện qua **Hình 3.23**.



Hình 3.23. Quy trình vi bao tối ưu các hợp chất phenolic trong dịch trích ly từ phụ phẩm nho bằng oleogel

BW: Sáp ong, F90: Chất nhũ hóa Finamul 90.

Hỗn hợp sáp ong và Finamul 90 (1,7 :1, w/w) được hòa tan trong dầu hương dương ở nhiệt độ 90°C trong 15 phút. Tỷ lệ chất tạo gel dầu là 14,3%. Hỗn hợp được khuấy ở tốc độ 260 vòng/phút trong 5 phút để thu được dung dịch trong suốt. Dùng gia nhiệt và dùng khuấy trộn cho đến khi nhiệt độ hỗn hợp giảm xuống 60°C. Sau đó, nhanh chóng thêm dịch trích ly phụ phẩm nho (30%) vào hỗn hợp và khuấy liên tục trong 10 phút ở tốc độ 390 vòng/phút. Hỗn hợp được làm nguội ở nhiệt độ 5°C để tạo oleogel.

❖ Kết luận chung:

Hai loại dịch trích ly tối ưu từ hai loại DES khác nhau được lựa chọn đã được vi bao bằng hai phương pháp khác nhau là sấy phun và oleogel. Bột sấy phun có hiệu suất thu hồi hợp chất trên 83% và hiệu quả vi bao trên 94%. Trong khi đó, hiệu suất thu hồi hợp chất của oleogel đạt khoảng 90% và khả năng liên kết dầu đạt khoảng 91%. Cả hai

loại bột sấy phun và oleogel đều thể hiện hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa phù hợp với định hướng ứng dụng như chất bảo quản tự nhiên trong công nghiệp thực phẩm.

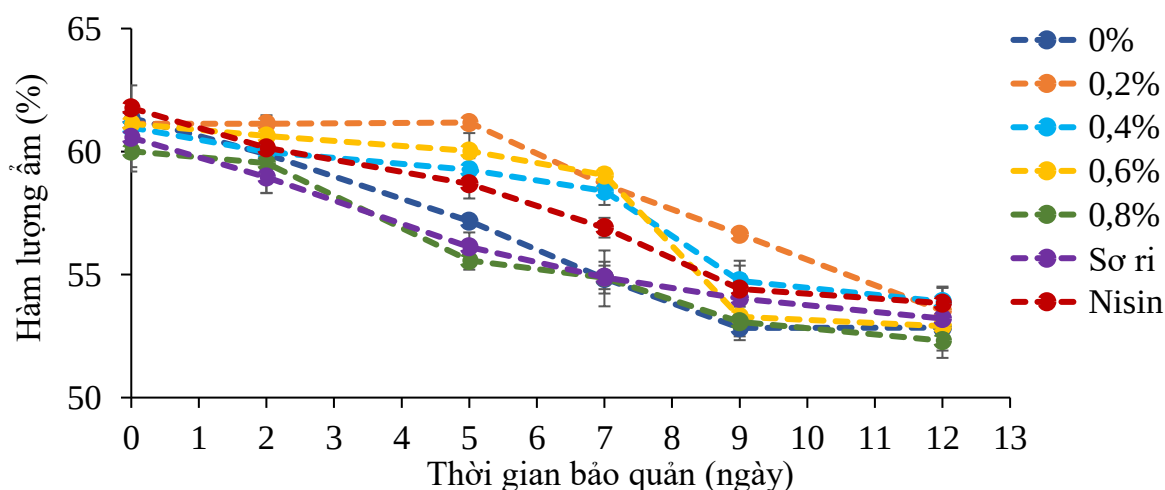
3.4 Nội dung 4: Khả năng ứng dụng của bột sấy phun và oleogel từ dịch trích ly phụ phẩm nho vào sản phẩm xúc xích thanh trùng

3.4.1 Sự thay đổi của xúc xích thanh trùng bổ sung bột sấy phun trong quá trình bảo quản

Nội dung này nhằm đánh giá tiềm năng ứng dụng của bột sấy phun như chất bảo quản tự nhiên trong xúc xích thanh trùng thông qua việc xác định sự tác động của việc bổ sung bột sấy phun đến một số chỉ tiêu chất lượng như hàm lượng ẩm, pH, vi sinh, màu sắc và kết cấu của sản phẩm xúc xích thanh trùng.

❖ Hàm lượng ẩm

Trong bài này, hàm lượng ẩm ban đầu của các mẫu xúc xích (60,01 – 61,77%) khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) cho thấy sự cố định hàm lượng ẩm ban đầu giữa các mẫu. Việc bổ sung chất bảo quản với hàm lượng thấp (dưới 1%) không tác động đáng kể đến hàm lượng ẩm ban đầu. Tuy nhiên, sự thay đổi của hàm lượng ẩm xúc xích bị ảnh hưởng đáng kể bởi thời gian bảo quản (**Hình 3.24**).



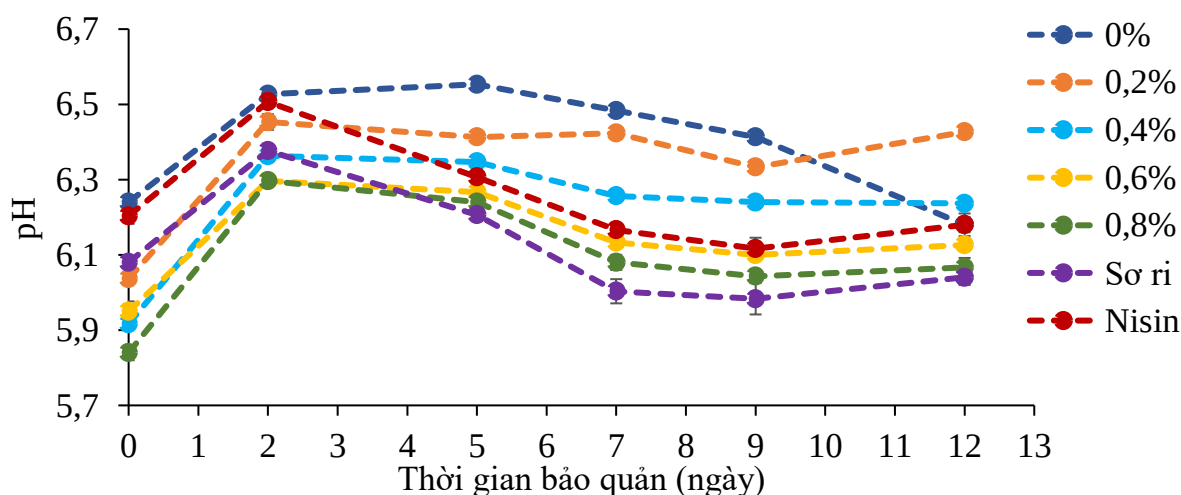
Hình 3.24. Thay đổi hàm lượng ẩm của xúc xích bổ sung bột sấy phun, bột sơ ri và nisin theo thời gian bảo quản

0 – 0,8%: Các mẫu xúc xích với tỷ lệ bổ sung bột sấy phun từ 0 – 0,8%. Sơ ri: Mẫu xúc xích bổ sung 0,4% chất bảo quản tự nhiên từ sơ ri. Nisin: Mẫu xúc xích bổ sung 0,002% nisin.

Hàm lượng ẩm xúc xích có xu hướng giảm dần theo thời gian bảo quản ở tất cả các mẫu và đạt hàm lượng ẩm thấp nhất ở ngày 12. Trong đó, mẫu bị mất ẩm nhiều nhất là mẫu không bổ sung chất bảo quản (mất khoảng 13,9%). Việc mất ẩm tăng khi quá trình oxy hóa protein tăng dẫn đến suy giảm khả năng giữ nước và tạo gel của protein trong xúc xích.

❖ Chỉ tiêu pH

Sự thay đổi pH trong thời gian bảo quản cho thấy sự ảnh hưởng của việc bổ sung chất bảo quản (**Hình 3.25**). Giá trị pH của xúc xích dao động từ 5,81 – 6,55. Trong đó, pH của xúc xích không bổ sung chất bảo quản và xúc xích bổ sung nisin khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$), cho thấy việc bổ sung nisin không làm thay đổi pH của xúc xích. Ngược lại, pH của các mẫu bổ sung bột sấy phun có xu hướng giảm dần theo sự tăng tỷ lệ bổ sung. Giá trị pH của xúc xích bổ sung bột sơ ri cũng thấp hơn đáng kể so với mẫu xúc xích không bổ sung ($P < 0,05$).



Hình 3.25. Thay đổi pH của xúc xích bổ sung bột sấy phun, bột sơ ri và nisin theo thời gian bảo quản

0 – 0,8%: Các mẫu xúc xích với tỷ lệ bổ sung bột sấy phun từ 0 – 0,8%. Sơ ri: Mẫu xúc xích bổ sung 0,4% chất bảo quản tự nhiên từ sơ ri. Nisin: Mẫu xúc xích bổ sung 0,002% nisin.

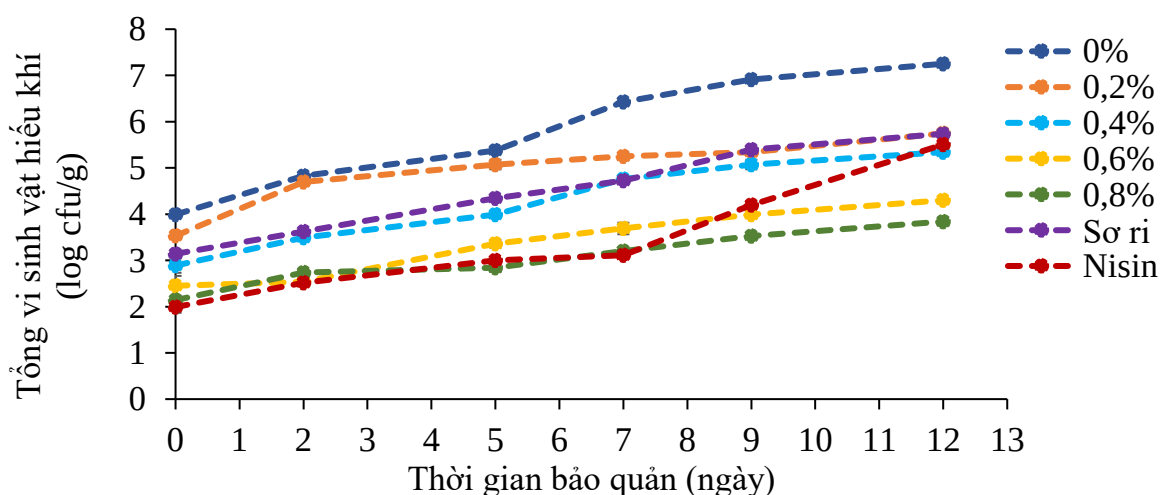
Trong quá trình bảo quản, pH của các mẫu xúc xích tăng ở ngày 2 có thể đến từ nguyên nhân hình thành các hợp chất nitơ do quá trình phân giải protein. Sau đó pH giảm dần ở những ngày tiếp theo khi tác động của các vi khuẩn sinh lactic acid tích tụ mạnh hơn tác động của các hợp chất nitơ dẫn đến sự giảm pH (Feng và cộng sự, 2013). Việc duy trì pH giúp đánh giá độ ổn định xúc xích. Kết quả cho thấy pH của các mẫu bổ sung 0,2% và 0,4% bột sấy phun ban đầu có pH thấp hơn mẫu không bổ sung tuy

nhiên pH chỉ thay đổi ít trong quá trình bảo quản, trong khi đó mẫu không bổ sung chất bảo quản có pH giảm mạnh. Mẫu bổ sung nisin, bột sấy phun ở tỷ lệ cao (0,6% và 0,8%) và bột sơ ri có pH giảm nhưng biên độ giảm thấp hơn so với mẫu không bổ sung chất bảo quản. Tuy nhiên, các mẫu bổ sung bột sấy phun ở tỷ lệ cao (0,6% và 0,8%) và bột sơ ri vẫn có pH thấp hơn so với các mẫu còn lại.

Giá trị pH của dung dịch từ bột sơ ri theo công bố của nhà cung cấp là khoảng 4.0 – 6.0 do đó làm giảm pH của sản phẩm xúc xích. Bột sấy phun có thành phần lactic acid do đó cũng có thể ảnh hưởng phần nào đến pH của xúc xích. Tuy nhiên, giá trị pH của các mẫu xúc xích vẫn nằm trong khoảng pH được báo cáo trong nghiên cứu của Aykın-Dinçer và cộng sự (2021) (5,85 – 6,51). Một số nghiên cứu cũng cho thấy việc bổ sung các dịch trích từ củ dền, hương thảo, sơ ri cũng làm giảm pH xúc xích (Aykın-Dinçer và cộng sự, 2021; Hoelscher và cộng sự, 2024). Việc tăng pH ở những ngày cuối của bảo quản có thể do sự phát triển mạnh của vi sinh vật. Vi sinh vật tăng mạnh và bắt đầu quá trình sản xuất protease, sử dụng acid amin để tăng trưởng dẫn đến sự hình thành các amoniac và amin làm tăng pH trở lại (Boeira và cộng sự, 2020).

❖ Tổng vi sinh vật hiếu khí

Tác động của việc bổ sung các chất bảo quản đến tổng vi sinh vật hiếu khí trong thời gian bảo quản được thể hiện trong **Hình 3.26**.



Hình 3.26. Thay đổi tổng số vi sinh vật hiếu khí của xúc xích bổ sung bột sấy phun, bột sơ ri và nisin theo thời gian bảo quản

0 – 0,8%: Các mẫu xúc xích với tỷ lệ bổ sung bột sấy phun từ 0 – 0,8%. Sơ ri: Mẫu xúc xích bổ sung 0,4% chất bảo quản tự nhiên từ sơ ri. Nisin: Mẫu xúc xích bổ sung 0,002% nisin.

Có thể thấy rằng có sự khác biệt đáng kể giữa các mẫu xúc xích bổ sung các loại và tỷ lệ chất bảo quản khác nhau. Kết quả vi sinh cho thấy các mẫu xúc xích ban đầu đều có số lượng vi sinh vật đạt tiêu chuẩn TCVN 7049-2020 (*E. coli* < 5×10^1 cfu/g và tổng vi sinh vật hiếu khí < 5×10^5 cfu/g). Tất cả các mẫu ban đầu và ở các mốc thời gian bảo quản đều không phát hiện *E. coli* và *Coliform*. Tổng vi sinh vật hiếu khí cao nhất ở mẫu công thức không có chất bảo quản và thấp nhất trong mẫu sử dụng nisin. Trong khi đó, tổng vi sinh vật hiếu khí giảm dần khi tăng tỷ lệ bổ sung bột vi bao từ 0,2 đến 0,8%. Mẫu bổ sung bột sơ ri giúp giảm tổng vi sinh vật hiếu khí ban đầu và hiệu quả tương đương với mẫu bổ sung 0,4% bột sấy phun nhưng vẫn thấp hơn khi so sánh với các mẫu bổ sung bột sấy phun ở các tỷ lệ từ 0,4% trở lên.

Tổng vi sinh vật hiếu khí tăng dần theo thời gian bảo quản. Các mẫu bổ sung chất bảo quản tự nhiên đều có tốc độ tăng chậm hơn so với mẫu có chất bảo quản. Trong đó, các mẫu bổ sung 0,6% và 0,8% bột sấy phun có tổng số vi sinh vật tăng thấp nhất lần lượt 1,8 và 1,7 log cfu/g. Mẫu bổ sung bột sơ ri có tốc độ tăng vi sinh vật (tăng 2,6 log cfu/g) cao hơn tất cả các mẫu bổ sung bột sấy phun (1,7 – 2,5 log cfu/g). Mẫu bổ sung nisin có tốc độ tăng số lượng vi sinh vật hiếu khí cao sau 7 ngày bảo quản, tuy nhiên vẫn dưới mức giới hạn. Xét về thời gian bảo quản và dựa trên chỉ tiêu tổng vi sinh vật hiếu khí thì mẫu không bổ sung chất bảo quản có tổng vi sinh vật hiếu khí vượt quá giới hạn chỉ sau 7 ngày bảo quản. Các mẫu bổ sung bột sấy phun tỷ lệ 0,2% và mẫu bổ sung bột sơ ri có hạn bảo quản từ 9 – dưới 12 ngày, trong khi các mẫu còn lại có thể bảo quản ở thời gian trên 12 ngày ở nhiệt độ lạnh 4°C (theo TCVN 7049-2020).

Các kết quả kể trên làm nổi bật vai trò của bột sấy phun trong hiệu quả kháng khuẩn nhờ vào sự hiện diện của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột. Nhìn chung, các dịch trích hoặc bột từ các nguyên liệu chứa các hợp chất phenolic có tác dụng ức chế sự phát triển của vi sinh vật hiếu khí. Những kết quả này phù hợp với nghiên cứu của một số tác giả đã thay thế các chất bảo quản tổng hợp trong xúc xích (nitrit, nitrat, BHT) bằng các dịch trích hoặc bột chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học từ các nguyên liệu tự nhiên như dịch trích lá olive (Totaro và cộng sự, 2024), dịch trích hương thảo và sơ ri (Hoelscher và cộng sự, 2024), bột từ củ Cúc vu (Afoakwah và cộng sự, 2015). Bên cạnh vai trò của các hợp chất phenolic, giá trị pH thấp hơn của các mẫu bổ sung bột sấy

phun dịch trích phụ phẩm nho và bột sơ ri (**Hình 3.25**) cũng giúp tăng cường hiệu quả kháng khuẩn so với các mẫu không bổ sung hoặc bổ sung nisin.

❖ Màu sắc

Màu sắc được xem là một trong những chỉ tiêu chất lượng quan trọng của sản phẩm xúc xích. Màu sắc của xúc xích bổ sung các loại chất bảo quản khác nhau được thể hiện trong **Bảng 3.43**.

Bảng 3.43. Thay đổi màu sắc của xúc xích bổ sung bột sắn phun, bột sơ ri và nisin theo thời gian bảo quản

Chỉ tiêu	Thời gian bảo quản (ngày)	Mẫu						
		0,0	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%	Bột sơ ri	Nisin
L*	0	78,62 ± 0,80	79,67 ± 1,39	79,85 ± 0,99	80,77 ± 0,71	79,67 ± 1,16	79,25 ± 0,23	79,75 ± 0,81
	2	79,27 ± 0,30	79,93 ± 1,66	81,19 ± 0,99	80,47 ± 0,51	78,53 ± 0,69	79,48 ± 0,51	79,82 ± 0,58
	5	79,59 ± 0,53	79,35 ± 0,28	80,54 ± 0,33	80,38 ± 0,09	78,69 ± 0,39	80,11 ± 0,74	78,89 ± 0,17
	7	79,15 ± 0,96	78,97 ± 0,29	81,14 ± 0,82	81,29 ± 0,74	80,93 ± 0,69	80,81 ± 0,18	80,63 ± 0,72
	9	79,68 ± 0,34	79,49 ± 0,18	81,11 ± 0,58	81,88 ± 0,57	79,75 ± 0,72	80,94 ± 0,73	79,85 ± 0,99
	12	80,95 ± 0,64	79,92 ± 1,85	81,34 ± 0,80	78,99 ± 0,75	79,30 ± 1,06	81,44 ± 0,29	78,47 ± 0,03
a*	0	2,32 ± 0,24	2,31 ± 0,06	2,14 ± 0,14	2,11 ± 0,08	2,19 ± 0,17	2,35 ± 0,23	2,37 ± 0,11
	2	1,86 ± 0,12	2,37 ± 0,03	2,16 ± 0,04	2,06 ± 0,08	1,87 ± 0,05	1,66 ± 0,54	1,88 ± 0,03
	5	2,12 ± 0,06	2,34 ± 0,12	2,17 ± 0,17	1,94 ± 0,07	2,16 ± 0,02	2,13 ± 0,08	2,12 ± 0,12
	7	2,16 ± 0,05	2,33 ± 0,09	2,00 ± 0,13	2,03 ± 0,07	2,12 ± 0,11	2,27 ± 0,27	2,39 ± 0,40
	9	1,99 ± 0,10	2,41 ± 0,05	1,81 ± 0,09	1,87 ± 0,02	1,92 ± 0,20	1,54 ± 0,14	2,21 ± 0,13
	12	1,57 ± 0,05	2,34 ± 0,06	1,73 ± 0,04	1,65 ± 0,06	1,65 ± 0,10	1,71 ± 0,08	2,25 ± 0,06
b*	0	12,17 ± 0,38	12,47 ± 0,24	12,83 ± 0,44	12,84 ± 0,22	12,82 ± 0,08	13,06 ± 0,18	12,29 ± 0,07
	2	13,04 ± 0,11	11,88 ± 0,21	12,57 ± 0,06	12,84 ± 0,28	12,28 ± 0,06	12,88 ± 0,28	12,49 ± 0,11
	5	12,53 ± 0,10	11,99 ± 0,48	12,53 ± 0,38	13,13 ± 0,24	11,78 ± 0,24	13,62 ± 0,08	11,98 ± 0,07
	7	13,07 ± 0,44	12,75 ± 0,11	12,66 ± 0,28	13,23 ± 0,10	13,57 ± 0,23	13,21 ± 0,24	12,10 ± 0,35
	9	13,23 ± 0,38	12,57 ± 0,95	13,02 ± 0,28	13,20 ± 0,55	11,81 ± 0,27	13,15 ± 0,35	12,83 ± 0,44
	12	12,72 ± 0,34	12,61 ± 0,42	13,81 ± 0,23	13,23 ± 0,53	12,27 ± 1,18	13,67 ± 0,08	13,29 ± 0,02
ΔE	0							
	2	1,32 ± 0,10	0,70 ± 0,16	1,40 ± 0,49	0,91 ± 0,53	1,34 ± 0,51	1,14 ± 0,04	0,87 ± 0,24
	5	1,15 ± 0,56	1,19 ± 0,39	1,41 ± 0,51	0,70 ± 0,39	1,54 ± 0,76	1,19 ± 0,63	1,10 ± 0,63
	7	1,82 ± 0,58	1,46 ± 0,37	1,37 ± 0,28	1,22 ± 0,28	1,51 ± 0,69	1,64 ± 0,30	1,33 ± 0,68
	9	1,88 ± 0,27	1,33 ± 0,58	1,65 ± 0,78	1,24 ± 0,31	1,74 ± 0,49	1,89 ± 0,56	1,54 ± 0,40
	12	2,56 ± 0,44	2,04 ± 0,60	1,91 ± 0,51	1,92 ± 0,48	2,05 ± 0,40	2,38 ± 0,25	1,67 ± 0,69

0 – 0,8%: Các mẫu xúc xích với tỷ lệ bổ sung bột sắn phun từ 0 – 0,8%. Bột sơ ri: Mẫu xúc xích bổ sung 0,4% chất bảo quản tự nhiên từ sơ ri. Nisin: Mẫu xúc xích bổ sung 0,002% nisin.

Sự thay đổi của giá trị L*, a*, b* và giá trị ΔE cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu xúc xích ($P < 0,05$). Sự thay đổi giá trị L*, a* và b* trong thời gian bảo quản của các mẫu chưa thể hiện rõ xu hướng cụ thể. Các mẫu bổ sung chất bảo

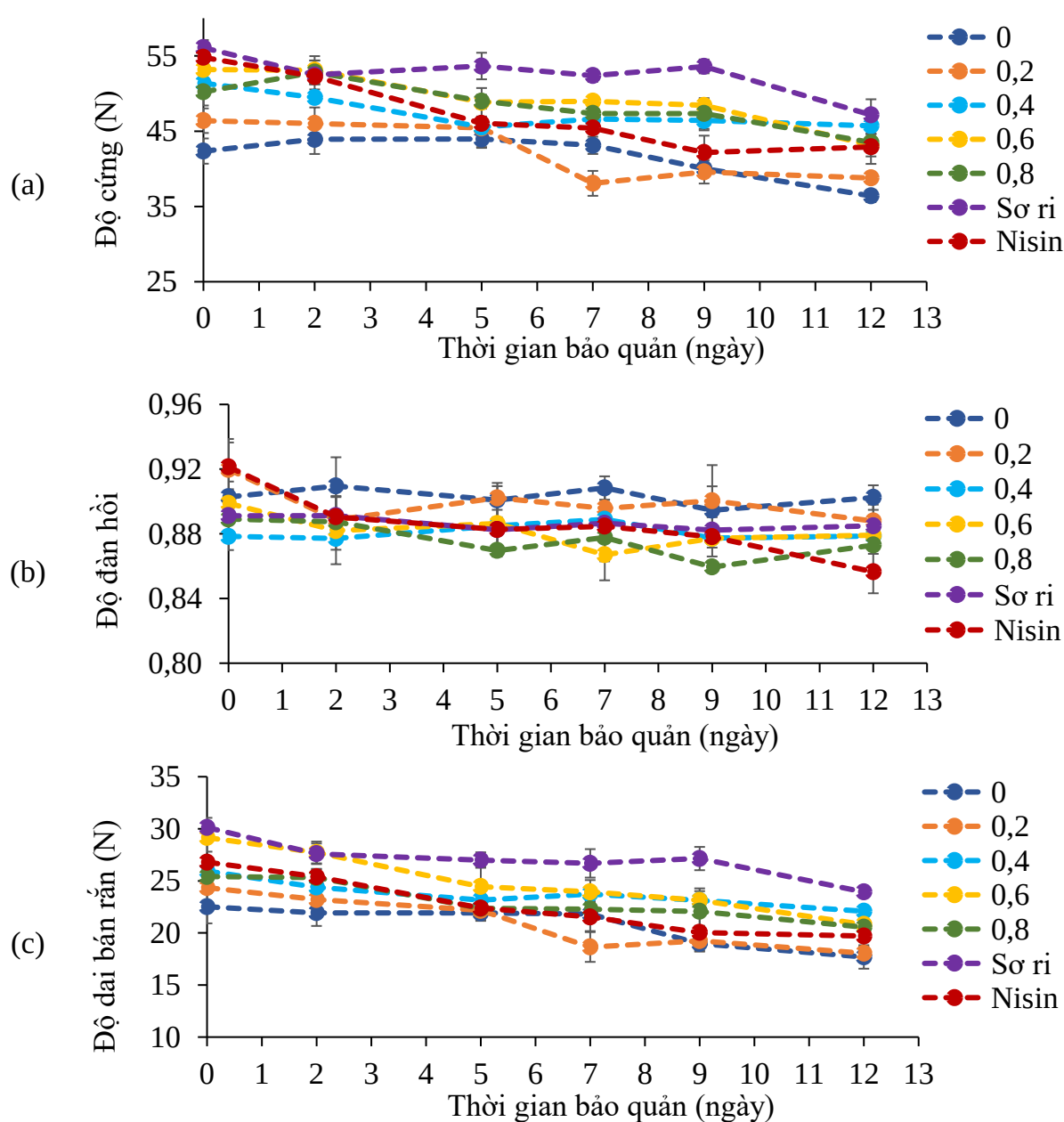
quản đều có giá trị L^* cao hơn so với mẫu xúc xích không bổ sung ở thời điểm ban đầu nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Giá trị a^* của các mẫu xúc xích tương đối ổn định trong 7 ngày và bắt đầu có xu hướng giảm nếu thời gian bảo quản kéo dài hơn. Các mẫu xúc xích bổ sung 0,2% bột sắn phun và nisin có giá trị a^* cao và tương đối ổn định trong quá trình bảo quản so với các mẫu còn lại với giá trị a^* giảm thấp ở ngày 12. Giá trị b^* tăng lên ở những ngày bảo quản cuối. Sự tăng b^* và giảm a^* có thể liên quan đến quá trình oxy hóa làm giảm độ đỏ của thịt và tăng cường màu vàng của sản phẩm (Boeira và cộng sự, 2020). Giá trị ΔE của xúc xích thể hiện xu hướng tăng dần theo thời gian bảo quản ở tất cả các mẫu. Giá trị ΔE thể hiện mức độ khác biệt về màu sắc. Theo Mokrzycki và Tatol (2011), khi $2 < \Delta E < 3,5$ thì sự khác biệt về màu sắc có thể được nhận thấy bởi những người quan sát không có kinh nghiệm. Do đó, màu sắc của các mẫu xúc xích ở ngày 12 đã bắt đầu thể hiện sự khác biệt rõ so với ngày bắt đầu bảo quản, tuy nhiên các mẫu bổ sung bột sắn phun và nisin có ΔE thấp hơn các mẫu còn lại. Có thể thấy rằng các mẫu bổ sung chất bảo quản giúp làm chậm quá trình tăng ΔE so với mẫu không bổ sung chất bảo quản. Các chất bảo quản tự nhiên như bột sắn phun từ dịch trích phụ phẩm nho hoặc bột sơ ri có hoạt tính kháng oxy hóa do đó hạn chế phần nào sự oxy hóa các chất màu, giảm ảnh hưởng đến màu sắc của xúc xích.

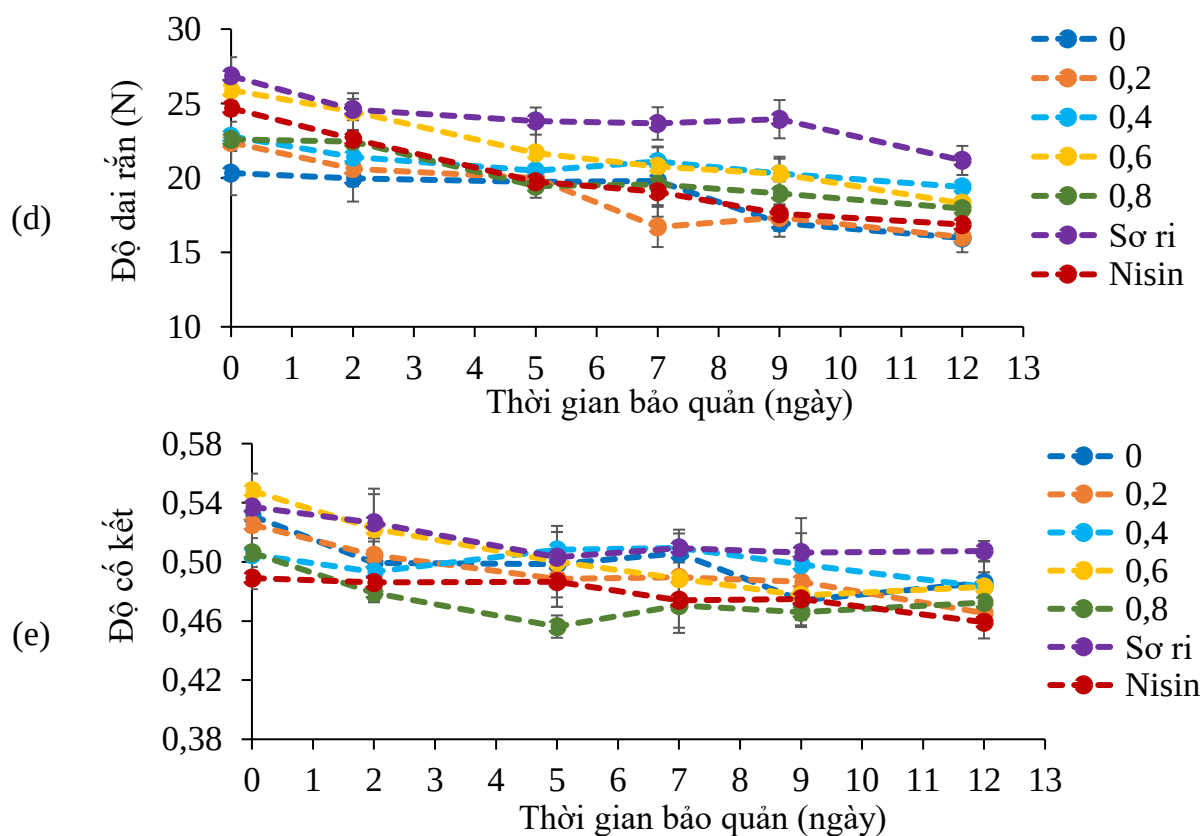
Mặc dù hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của dịch trích ly và bột vi bao đã được chứng minh rõ rệt thông qua các thí nghiệm *in vitro* ở mục 3.3.1.2 và 3.3.2.2, luận án hiện mới dừng lại ở việc đánh giá tiềm năng ứng dụng của chúng trong sản phẩm xúc xích thanh trùng thông qua một số chỉ tiêu chất lượng cơ bản. Trên thực tế, phần lớn các nghiên cứu về ứng dụng hợp chất hoạt tính sinh học như chất bảo quản tự nhiên vẫn chủ yếu được thực hiện ở quy mô phòng thí nghiệm hoặc trên các hệ mô hình đơn giản. Các hệ này khác biệt đáng kể so với nền thực phẩm thịt phức tạp, vốn chứa protein, chất béo, muối và các thành phần phụ gia khác, có khả năng ảnh hưởng đến sự tồn tại, khả năng chống chịu với điều kiện bất lợi và mức độ đề kháng của vi sinh vật trong xúc xích thanh trùng. Bên cạnh đó, bản thân nền thực phẩm cũng có thể chứa các hợp chất nội sinh có hoạt tính kháng khuẩn hoặc kháng oxy hóa, làm cho việc diễn giải hiệu quả bảo quản của các hoạt chất bổ sung trở nên phức tạp hơn. Trong phạm vi nghiên cứu này, cơ chế tương tác giữa các hợp chất hoạt tính sinh học với hệ nhũ tương thịt, cũng như mối tương quan giữa hiệu quả *in vitro* và hiệu quả *in situ*, chưa được phân tích một

cách chuyên sâu. Do đó, đây là một hướng nghiên cứu tiềm năng cần tiếp tục được làm rõ trong các nghiên cứu tiếp theo, đặc biệt liên quan đến khả năng giải phóng, phân bố, độ ổn định và cơ chế tác động của các hợp chất hoạt tính sinh học trong nền thực phẩm phức tạp.

❖ Kết cấu

Kết cấu là chỉ tiêu quan trọng, ảnh hưởng đến mức độ chấp nhận của người tiêu dùng đối với sản phẩm xúc xích. Kết quả phân tích kết cấu của xúc xích được bổ sung bột sắn phun, bột sơ ri và nisin được thể hiện trong **Hình 3.27**.





Hình 3.27. Thay đổi kết cấu xúc xích bổ sung bột sắn phun, bột soro và nisin theo thời gian bảo quản

0 – 0,8: Các mẫu xúc xích với tỷ lệ bổ sung bột sắn phun từ 0 – 0,8%. Soro: Mẫu xúc xích bổ sung 0,4% chất bảo quản tự nhiên từ soro. Nisin: Mẫu xúc xích bổ sung 0,002% nisin.

Nhìn chung, việc bổ sung bột sắn phun ở các tỷ lệ khác nhau, bột soro hoặc nisin ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến kết cấu của sản phẩm xúc xích thanh trùng ($P < 0,05$). Ở thời điểm ban đầu, độ cứng, độ dai rắn và độ dai bán rắn của xúc xích bổ sung chất bảo quản đều tăng so với mẫu đối chứng không bổ sung chất bảo quản. Maltodextrin được xem như chất thay thế chất béo, có thể giúp giảm hao hụt khi nấu và duy trì kết cấu, cảm quan của xúc xích (Crehan và cộng sự, 2000). Do đó, bổ sung bột sắn phun chứa maltodextrin phần nào giúp tăng cường độ cứng của xúc xích so với mẫu không bổ sung chất bảo quản. Việc tăng độ cứng của xúc xích cũng có thể liên quan đến pH của sản phẩm. Độ đàn hồi của các mẫu xúc xích không thể hiện rõ xu hướng thay đổi trong quá trình bảo quản, trong khi độ dai bán rắn, độ dai rắn và độ cô kết đều có xu hướng giảm nhẹ trong quá trình bảo quản. Theo thời gian bảo quản, các chỉ tiêu chất lượng về kết cấu của xúc xích có xu hướng giảm trên tất cả các mẫu. Protein bị oxy hóa trong thời gian bảo quản sẽ ảnh hưởng đến khả năng liên kết nước của chúng, từ đó tác

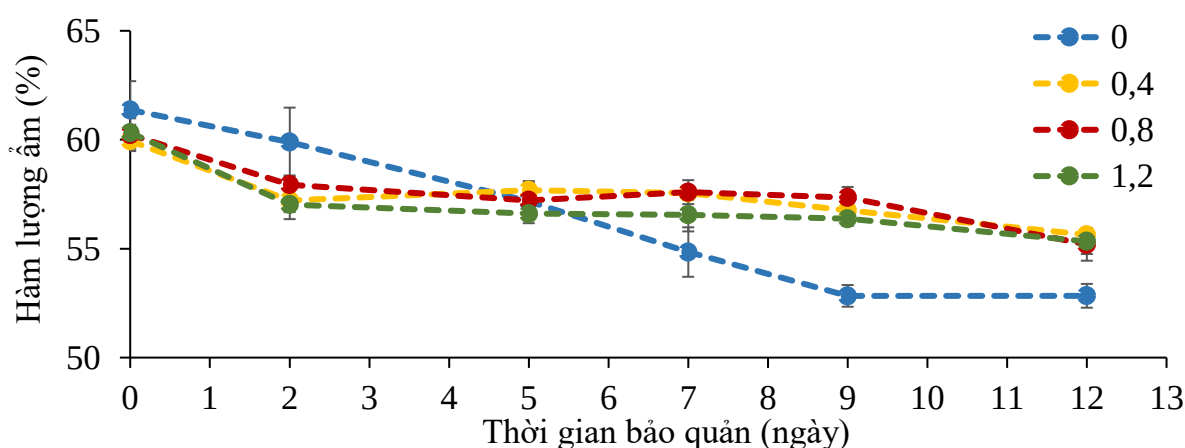
động đến kết cấu của sản phẩm. Tuy nhiên, độ đàn hồi và độ cố kết của xúc xích khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi xét trong cùng một mẫu trong suốt thời gian bảo quản ($P > 0,05$). Việc bổ sung các chất bảo quản giúp duy trì kết cấu xúc xích trong thời gian bảo quản ở nhiệt độ lạnh. Xu hướng này cũng được quan sát thấy ở sản phẩm xúc xích bổ sung chất bảo quản tự nhiên từ sơ ri, hương thảo (Hoelscher và cộng sự, 2024).

Dựa trên các phân tích trên có thể kết luận rằng các mẫu xúc xích bổ sung bột sấy phun như chất bảo quản tự nhiên giúp duy trì kết cấu, làm chậm sự biến đổi màu sắc và đặc biệt hạn chế sự phát triển của vi sinh vật hiếu khí tốt hơn nhiều so với mẫu không bổ sung chất bảo quản trong quá trình bảo quản xúc xích. Tuy nhiên, việc bổ sung bột sấy phun ở tỷ lệ cao có thể ảnh hưởng đến pH của xúc xích. Do đó, để cân bằng hiệu quả kháng khuẩn và tính chất hóa lý, bổ sung bột sấy phun trong khoảng 0,2 – 0,4% là phù hợp giúp kéo dài thời gian bảo quản xúc xích.

3.4.2 Sự thay đổi của xúc xích thành trùng bổ sung oleogel trong quá trình bảo quản

❖ Hàm lượng ẩm

Hình 3.23 thể hiện sự thay đổi của hàm lượng ẩm xúc xích theo thời gian bảo quản. Hàm lượng ẩm xúc xích bổ sung oleogel ban đầu khoảng 59,95 – 60,32% chênh lệch không nhiều so với xúc xích bổ sung bột sấy phun (**Hình 3.28** và **Phụ lục VIII.1**).



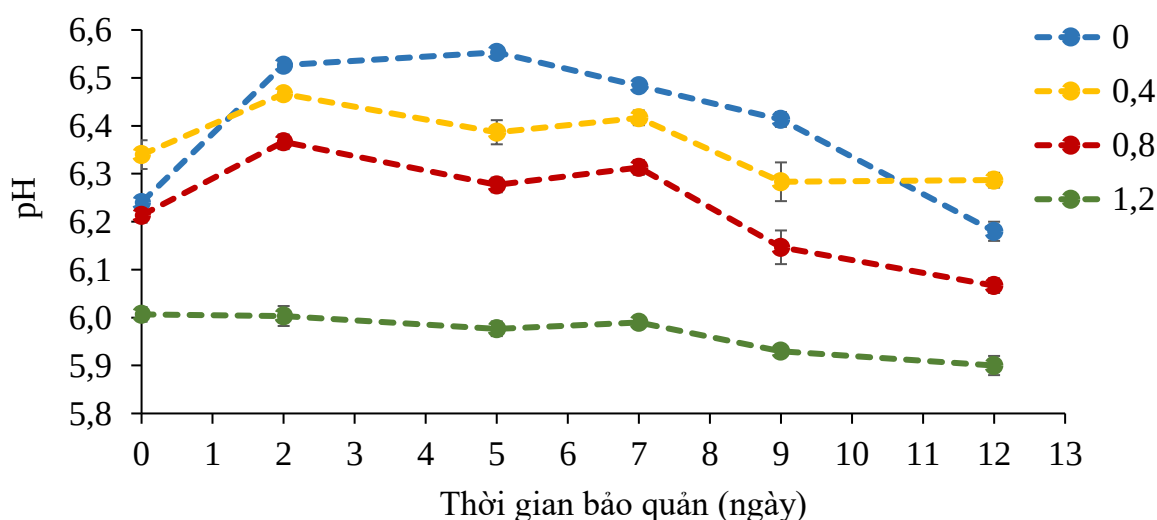
Hình 3.28. Thay đổi hàm lượng ẩm của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản

0 – 1,2: Các mẫu xúc xích với tỷ lệ bổ sung oleogel từ 0 – 1,2%.

Khi xét tỷ lệ mất ẩm thì xúc xích bổ sung oleogel cho hiệu quả tốt hơn, cụ thể xúc xích bổ sung oleogel có tỷ lệ mất ẩm ($< 8,3\%$) thấp hơn so với các mẫu xúc xích bổ sung bột sấy phun ($11,61 - 13,9\%$). Oleogel từ dịch trích DES với các thành phần glycerol giúp giữ ẩm, chất nhũ hóa Finamul 90, sáp ong giúp duy trì hàm lượng ẩm của xúc xích tốt hơn so với bột sấy phun, do đó hàm lượng ẩm xúc xích bổ sung oleogel sẽ có tỷ lệ mất ẩm thấp hơn.

❖ Giá trị pH

Việc bổ sung oleogel có thành phần citric acid cũng làm giảm dần pH xúc xích theo sự tăng tỷ lệ bổ sung oleogel (**Hình 3.29**).



Hình 3.29. Thay đổi pH của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản

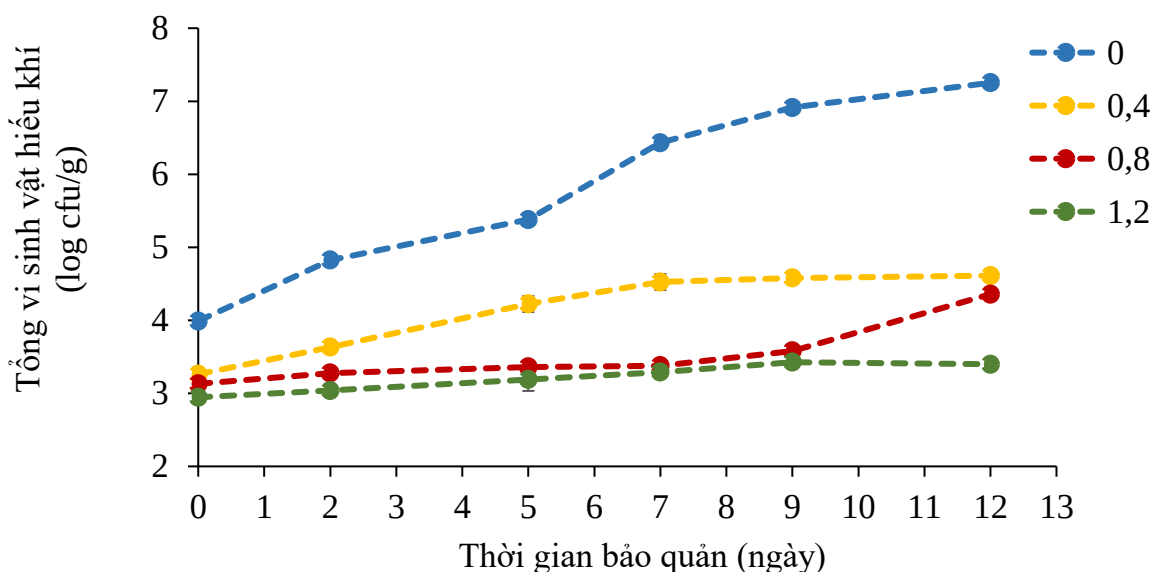
0 – 1,2: Các mẫu xúc xích với tỷ lệ bổ sung oleogel từ 0 – 1,2%.

Mẫu xúc xích bổ sung 1,2% oleogel làm giảm pH tuy nhiên trong thời gian bảo quản thì pH xúc xích ổn định ở mức khoảng 5,9 – 6,0. Trong khi, pH các mẫu xúc xích bổ sung 0,4% oleogel có xu hướng tăng nhẹ vào ngày 2 sau đó giảm dần tương tự các mẫu xúc xích bổ sung bột sấy phun theo thời gian bảo quản (**Hình 3.25**).

❖ Tổng vi sinh vật hiếu khí

Tổng vi sinh vật hiếu khí của xúc xích bổ sung oleogel ở các mốc thời gian bảo quản được thể hiện trong **Hình 3.30**. Việc bổ sung oleogel với tỷ lệ 0,4 – 1,2% giúp giảm đáng kể lượng vi sinh vật hiếu khí trong xúc xích thanh trùng ban đầu và sau 12 ngày bảo quản ở điều kiện lạnh 4°C . Khi so sánh với việc bổ sung bột sấy phun trên khía cạnh tổng số vi sinh vật hiếu khí, bột sấy phun cho hiệu quả kháng khuẩn cao hơn trong

nền sản phẩm xúc xích. Tổng số vi sinh vật hiếu khí ban đầu của xúc xích có bổ sung oleogel (2,95 – 3,26 log cfu/g) cao hơn so với xúc xích bổ sung bột sấy phun (2,14 – 2,89 log cfu/g) ở cùng tỷ lệ bổ sung 0,4% hoặc 0,8%.



Hình 3.30. Thay đổi tổng vi sinh vật hiếu khí của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản

0 – 1,2: Các mẫu xúc xích với tỷ lệ bổ sung oleogel từ 0 – 1,2%.

Nếu xét về mức độ tăng vi sinh vật thì bổ sung oleogel mang lại hiệu quả tốt. Cụ thể, ở cùng tỷ lệ 0,4% sau 12 ngày bảo quản, số lượng vi sinh vật hiếu khí trong xúc xích có bổ sung oleogel tăng thêm 1,35 log cfu/g trong khi mẫu xúc xích bổ sung bột sấy phun tăng thêm 2,45 log cfu/g. Tương tự, ở cùng tỷ lệ 0,8% sau 12 ngày bảo quản, tổng số vi sinh vật hiếu khí trong xúc xích có bổ sung oleogel tăng 1,23 log cfu/g trong khi mẫu xúc xích bổ sung bột sấy phun tăng 1,70 log cfu/g. Nếu tiếp tục tăng tỷ lệ bổ sung oleogel lên 1,2% thì số lượng vi sinh vật hiếu khí trong xúc xích chỉ tăng khoảng 0,45 log cfu/g. Tuy nhiên, bổ sung bột sấy phun hay oleogel ở 0,4 hoặc 0,8% đều giúp duy trì tổng vi sinh vật hiếu khí dưới mức quy định, đảm bảo đạt chất lượng an toàn về mặt vi sinh theo TCVN 7049-2020 sau 12 ngày bảo quản và đều hiệu quả hơn so với mẫu không có bổ sung chất bảo quản hoặc bổ sung bột sơ ri.

❖ Màu sắc

Màu sắc của xúc xích khác biệt đáng kể, thay đổi theo tỷ lệ bổ sung oleogel và theo thời gian bảo quản. Kết quả màu sắc của xúc xích bổ sung oleogel được thể hiện trong **Bảng 3.44**. Độ sáng L^* , màu đỏ a^* và màu vàng b^* của xúc xích bổ sung oleogel

có xu hướng giảm dần theo sự tăng của tỷ lệ bổ sung oleogel và sự tăng của thời gian bảo quản, khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Nguyên nhân có thể đến từ việc tăng oleogel có màu hồng đỏ của dịch trích ly phụ phẩm nhỏ làm tăng sắc tố đỏ và giảm độ sáng của mẫu xúc xích thanh trùng.

Bảng 3.44. Thay đổi màu sắc của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản

Chỉ tiêu	Mẫu	Thời gian bảo quản (ngày)					
		0	2	5	7	9	12
L*	0	78,62 ± 0,80	79,27 ± 0,30	79,59 ± 0,53	79,15 ± 0,96	79,68 ± 0,34	80,95 ± 0,64
	0,4	70,48 ± 0,18	70,41 ± 0,46	69,64 ± 0,70	69,59 ± 0,26	69,45 ± 0,51	67,20 ± 0,14
	0,8	69,19 ± 0,47	67,50 ± 0,87	67,48 ± 0,32	67,37 ± 0,64	67,52 ± 0,96	66,39 ± 1,02
	1,2	68,07 ± 0,44	66,17 ± 0,99	67,30 ± 0,64	66,10 ± 0,63	66,03 ± 0,74	65,92 ± 0,84
a*	0	2,32 ± 0,24	1,86 ± 0,12	2,12 ± 0,06	2,16 ± 0,05	1,99 ± 0,10	1,57 ± 0,05
	0,4	3,37 ± 0,03	3,03 ± 0,04	2,97 ± 0,14	2,55 ± 0,42	3,15 ± 0,07	2,91 ± 0,13
	0,8	3,51 ± 0,01	3,37 ± 0,02	3,31 ± 0,06	3,15 ± 0,12	3,35 ± 0,04	3,48 ± 0,06
	1,2	3,72 ± 0,03	3,63 ± 0,06	3,56 ± 0,11	3,55 ± 0,05	3,48 ± 0,06	3,29 ± 0,12
b*	0	12,17 ± 0,38	13,04 ± 0,11	12,53 ± 0,10	13,07 ± 0,44	13,23 ± 0,38	12,72 ± 0,34
	0,4	10,03 ± 0,17	10,33 ± 0,34	10,83 ± 0,61	10,82 ± 0,16	10,66 ± 0,11	11,09 ± 0,12
	0,8	10,21 ± 0,12	10,26 ± 0,14	10,97 ± 0,36	10,75 ± 0,43	10,89 ± 0,17	11,50 ± 0,14
	1,2	9,64 ± 0,44	9,68 ± 0,25	9,67 ± 0,38	9,86 ± 0,45	9,69 ± 0,14	10,42 ± 0,14
ΔE	0		1,32 ± 0,10	1,15 ± 0,56	1,82 ± 0,58	1,88 ± 0,27	2,56 ± 0,44
	0,4		0,70 ± 0,15	1,27 ± 0,56	1,52 ± 0,16	1,27 ± 0,12	3,48 ± 0,23
	0,8		1,70 ± 0,84	1,90 ± 0,05	1,99 ± 0,88	1,81 ± 0,94	3,08 ± 0,64
	1,2		1,94 ± 0,62	1,10 ± 0,55	2,02 ± 1,05	2,09 ± 0,83	2,36 ± 0,62

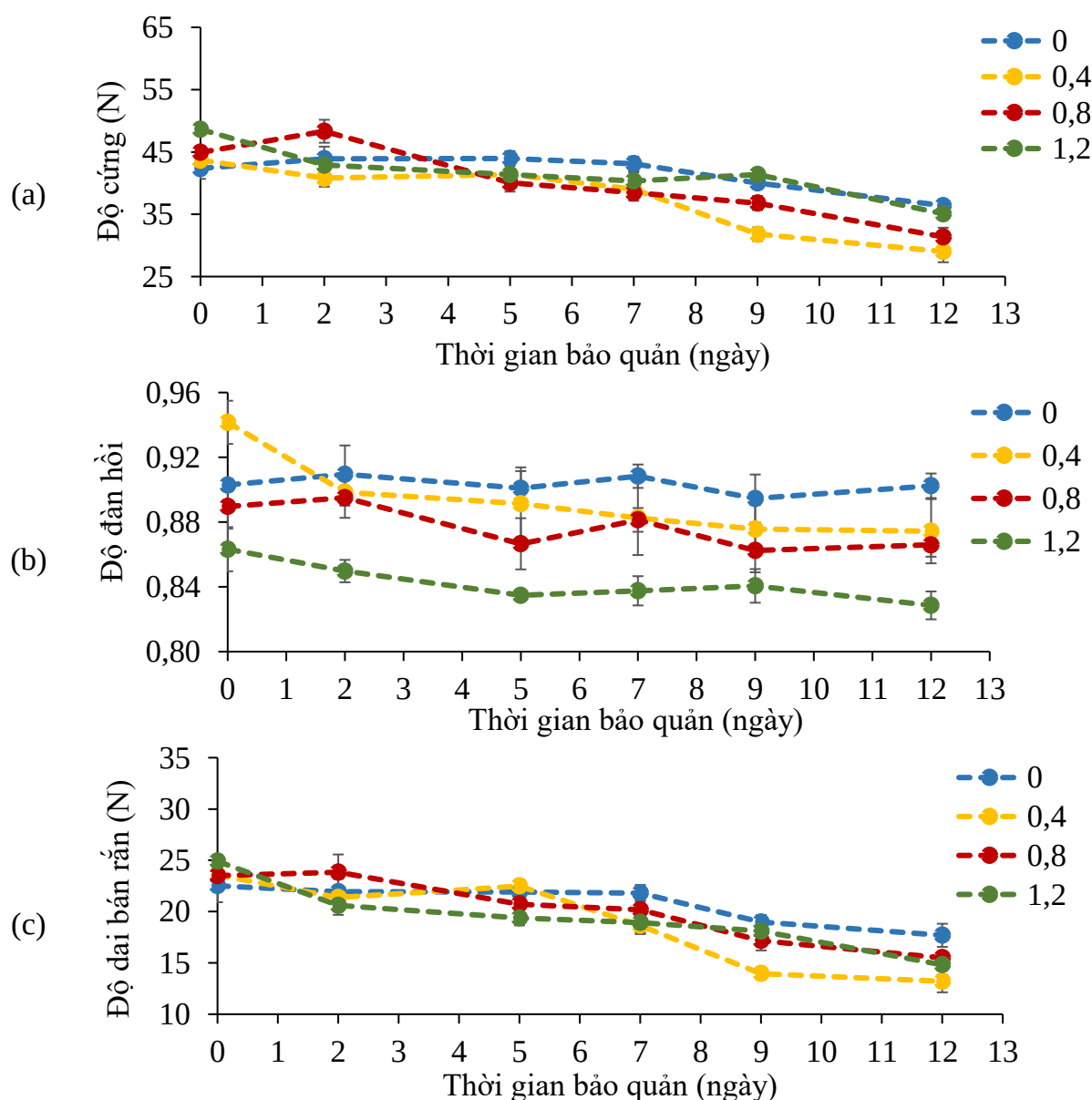
0 – 1,2: Các mẫu xúc xích với tỷ lệ bổ sung oleogel từ 0 – 1,2%.

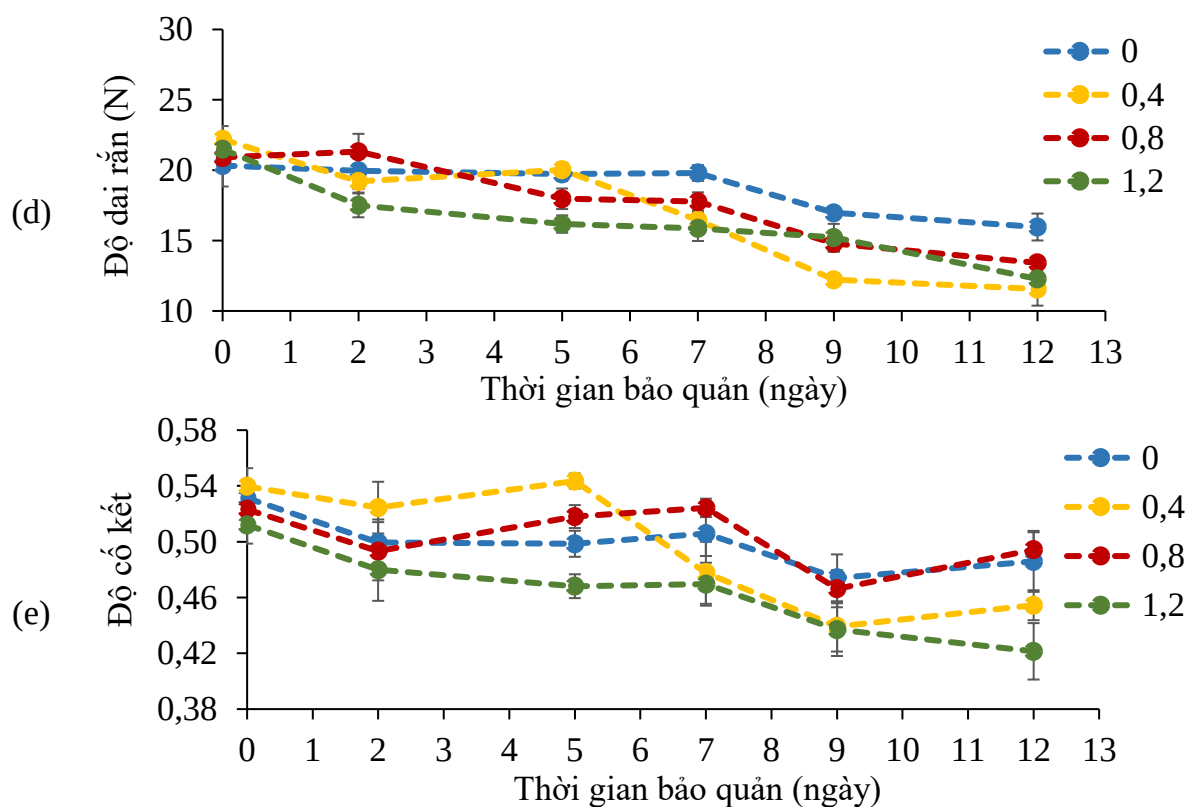
Giá trị a* của xúc xích bổ sung oleogel cao hơn và giá trị L* thấp hơn so với xúc xích bổ sung bột sắn phun (**Bảng 3.43**), vì bột sắn phun có màu hồng nhạt hơn so với oleogel do đó hiệu quả làm tăng sắc tố đỏ không cao. Đối với chỉ tiêu ΔE, các mẫu xúc xích bổ sung oleogel ở tỷ lệ 0,4% và 0,8% vẫn duy trì ΔE thấp hơn 2 sau 9 ngày bảo quản lạnh, trong khi mẫu bổ sung 1,2% có mức tăng cao hơn 2 chỉ sau 7 ngày bảo quản. Việc bổ sung oleogel ở tỷ lệ cao làm giảm pH xúc xích và dường như có thể ảnh hưởng đến sự thay đổi màu sắc của xúc xích dẫn đến việc ΔE tăng cao tương tự như trường hợp của xúc xích bổ sung bột sắn ri. Do đó, nếu xét chỉ tiêu ΔE thì chỉ nên bổ sung oleogel vào xúc xích ở tỷ lệ 0,4% hoặc 0,8%.

❖ Kết cấu

Việc bổ sung oleogel vào xúc xích ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến kết cấu của xúc xích ($P < 0,05$), kết quả được trình bày trong **Hình 3.31**. Nhìn chung, oleogel

giúp làm giảm độ cứng, giảm độ dai bán rắn, tăng độ đàn hồi, giảm độ dai rắn so với xúc xích bổ sung bột sắn phun ở cùng tỷ lệ 0,4% hoặc 0,8%. Tuy nhiên, độ cố kết và độ đàn hồi của mẫu xúc xích bổ sung oleogel ở tỷ lệ cao 1,2% có xu hướng giảm mạnh hơn so với các mẫu xúc xích còn lại. Sự thay đổi kết cấu của xúc xích so với mẫu không bổ sung hoặc có bổ sung bột sắn phun cho thấy việc thay thế oleogel tạo thành từ dầu thực vật thay thế một phần mỡ heo động vật có thể ảnh hưởng đến kết cấu của xúc xích. Xúc xích bổ sung oleogel ở tỷ lệ 1,2% có mức thay thế mỡ heo cao hơn các mẫu xúc xích ở hai tỷ lệ còn lại do đó làm giảm độ cố kết và độ đàn hồi của sản phẩm.





Hình 3.31. Thay đổi kết cấu của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản

0 – 1,2: Các mẫu xúc xích với tỷ lệ bổ sung oleogel từ 0 – 1,2%.

Nguyên nhân khác làm thay đổi kết cấu của xúc xích có thể giải thích là dựa trên thành phần của oleogel tương tự như ở chỉ tiêu hàm lượng ẩm. Thành phần glycerol, Finamul 90, sáp ong góp phần làm giảm các thông số kết cấu của xúc xích. Việc duy trì hàm lượng ẩm tốt trong thời gian bảo quản giúp kết cấu của xúc xích bổ sung oleogel mềm hơn. Tuy nhiên, quan sát thực tế cho thấy xúc xích ở ba tỷ lệ bổ sung vẫn hình thành hệ gel tốt, không có hiện tượng tách mỡ trong quá trình bảo quản. Dựa trên phân tích một số chỉ tiêu chất lượng của xúc xích bổ sung oleogel có thể thấy rằng bổ sung 0,4 – 0,8% oleogel có thể giúp duy trì hàm lượng ẩm và kết cấu, hạn chế sự phát triển tổng vi sinh vật hiếu khí và đảm bảo pH phù hợp cho sản phẩm xúc xích thành trùng sau 12 ngày bảo quản.

Theo Thông tư 24/2019/TT-BYT quy định về quản lý và sử dụng phụ gia thực phẩm, mức sử dụng tối đa của glycerol, citric acid và lactic acid theo GMP. Trong một số sản phẩm như thực phẩm bổ sung cho trẻ đến 36 tháng tuổi thì mức sử dụng tối đa dành cho lactic acid và citric acid lần lượt là 0,2 và 0,5%, hoặc trong sản phẩm nước ép

quả, nectar quả thì mức sử dụng tối đa là 0,3 – 0,5%. Trong khi đó, ngưỡng dung nạp tối đa của choline chloride theo quy định của các tổ chức quốc tế là khoảng 3.000 – 3.500 mg/ngày (Shim và Park, 2022). Thực tế, nếu sử dụng 0,8% oleogel thì lượng choline chloride, glycerol và citric acid có trong sản phẩm là khoảng 0,06%, còn nếu sử dụng 0,4% bột sấy phun thì lượng choline chloride, lactic acid có trong sản phẩm lần lượt khoảng 0,02% và 0,04%. Hàm lượng của các thành phần DES trong sản phẩm xúc xích là thấp hơn rất nhiều so với giới hạn tối đa cho phép.

Kết luận chung: Dựa trên nghiên cứu trên có thể kết luận rằng bột sấy phun và oleogel từ dịch trích ly bằng DES từ bột vỏ nho có tiềm năng ứng dụng như chất bảo quản tự nhiên giúp duy trì kết cấu, làm chậm sự biến đổi màu sắc và đặc biệt hạn chế sự phát triển của vi sinh vật hiếu khí tốt hơn nhiều so với mẫu không bổ sung chất bảo quản trong quá trình bảo quản xúc xích. Để cân bằng hiệu quả kháng khuẩn và tính chất hóa lý, tỷ lệ bổ sung bột sấy phun và oleogel thích hợp giúp kéo dài thời gian bảo quản xúc xích thanh trùng lần lượt là 0,2 – 0,4% và 0,4 – 0,8%.

Chương 4

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1 Kết luận

Luận án “Thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho và ứng dụng làm chất bảo quản tự nhiên” đã triển khai theo chuỗi nghiên cứu từ đặc trưng nguyên liệu, tối ưu hóa trích ly theo hướng công nghệ xanh, tạo dạng ổn định bằng vi bao, đến đánh giá tiềm năng cho định hướng ứng dụng trong sản phẩm thịt chế biến.

Trước tiên, luận án đã thiết lập được cơ sở dữ liệu về nguyên liệu bột phụ phẩm nho thông qua việc định tính được 8 nhóm hóa thực vật, định danh 33 hợp chất phenolic đơn lẻ, đồng thời xác định thành phần hóa học cơ bản, hàm lượng các nhóm hợp chất phenolic, saponin và proanthocyanidin.

Về trích ly, luận án đã tối ưu hóa và so sánh được các phương pháp trích ly tiên tiến nhằm nâng cao hiệu quả thu hồi hoạt chất. Khi kết hợp siêu âm và enzyme hiệu quả thu hồi tăng lên đáng kể so với hai phương pháp trích ly đơn lẻ có hỗ trợ siêu âm hoặc có hỗ trợ enzyme. Với DES từ choline chloride: lactic acid (1:2, w/w) hoặc DES từ choline chloride: glycerol: citric acid (1:1:1, w/w), dịch trích ly bằng hai loại DES đều có TPC, TSC và PAC thu hồi cao và thể hiện hoạt tính kháng khuẩn với MIC dao động 2,5 - 10 $\mu\text{L/mL}$ trên bốn chủng vi khuẩn thử nghiệm, đồng thời có hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH và ABTS. Nhìn chung, kết quả của hai hệ DES cho thấy khả năng khai thác hiệu quả nguồn hoạt chất từ phụ phẩm nho theo hướng tiếp cận dung môi xanh, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho định hướng ứng dụng bảo quản thực phẩm.

Về tạo dạng và ổn định hoạt chất, luận án đã tối ưu hóa thông số hai công nghệ vi bao nhằm tăng tính ổn định và khả năng ứng dụng của dịch trích DES. Đối với vi bao bằng sấy phun dịch trích DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid, các thông số tối ưu được xác lập gồm vỏ bao maltodextrin kết hợp gum arabic (2:1, w/w), tỷ lệ lõi: vỏ là 1:4 (w/w), đồng hóa 10.800 vòng/phút trong 10 phút; điều kiện sấy phun tối ưu với nhiệt độ không khí sấy đầu vào 162°C và tốc độ dòng nhập liệu 32 mL/phút. Trong

điều kiện tối ưu, bột sấy phun cho hiệu suất thu hồi các hợp chất đạt trên 83%, trong khi hiệu quả vi bao đạt trên 94%. Bột vi bao thu được có hàm lượng ẩm, hoạt độ nước, và kích thước trung bình phù hợp cho dạng bột sấy phun định hướng ứng dụng thực phẩm. Song song với sấy phun, luận án đã tối ưu hóa hệ oleogel như một dạng mang hoạt chất theo hướng mở rộng ứng dụng. Điều kiện tối ưu tạo oleogel từ dịch trích DES (choline chloride, glycerol và citric acid) là: tỷ lệ sáp ong: Finamul 90 là 1,7:1 (w/w), hàm lượng chất tạo gel dầu 14,3%. Trong điều kiện này, oleogel đạt khả năng liên kết dầu và hiệu suất thu hồi hợp chất trên 90%, cho thấy tính ổn định cấu trúc và khả năng duy trì hoạt chất ở mức cao, phù hợp với vai trò hệ mang chức năng.

Về ứng dụng trong xúc xích thanh trùng, luận án cho thấy rằng cả bột vi bao sấy phun và oleogel đều có tiềm năng ứng dụng như chất bảo quản tự nhiên (ổn định vi sinh và chất lượng) với tỷ lệ bổ sung bột sấy phun ở mức 0,2 - 0,4% hoặc tỷ lệ bổ sung oleogel ở mức 0,4 - 0,8%.

Tổng hợp các kết quả cho thấy hướng tiếp cận từ tối ưu trích ly xanh bằng kỹ thuật tiên tiến và DES đến ổn định hóa bằng vi bao và đánh giá tiềm năng ứng dụng trong thực phẩm có tính khả thi, góp phần tạo cơ sở khoa học cho định hướng phát triển chất bảo quản tự nhiên từ phụ phẩm nông nghiệp theo định hướng kinh tế tuần hoàn và gia tăng giá trị.

4.2 Kiến nghị

Để hoàn thiện và mở rộng tiềm năng ứng dụng, triển khai quy mô, luận án kiến nghị các nghiên cứu tiếp theo:

- a) Nghiên cứu thời hạn bảo quản và cơ chế suy giảm ổn định của oleogel.
- b) Mở rộng nền thực phẩm ứng dụng, đặc biệt các hệ nhũ tương (mayonnaise, sốt), nhằm khai thác đồng thời tiềm năng thay thế chất béo và/hoặc bảo quản tự nhiên của oleogel.
- c) Mở rộng ứng dụng chế phẩm trong sản phẩm mỹ phẩm.
- d) Nghiên cứu quy mô hóa (pilot/ scale-up) cho hai công nghệ vi bao bằng sấy phun và oleogel, đánh giá tính lặp lại theo lô và chuẩn hóa chất lượng nguyên liệu phụ phẩm theo mùa vụ/ nguồn cung.
- e) Đánh giá sơ bộ cảm quan, độ an toàn, hiệu quả kinh tế – môi trường để củng cố tính bền vững và tính cạnh tranh của giải pháp trong thực tiễn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., Rasheed, R. K., & Tambyrajah, V. (2003). Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. *Chemical Communications*, 1, 70-71.
2. Afoakwah, N. A., Dong, Y., Zhao, Y., Xiong, Z., Owusu, J., Wang, Y., & Zhang, J. (2015). Characterization of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) powder and its application in emulsion-type sausage. *LWT-Food Science and Technology*, 64, 74-81.
3. Akbar, N., Khan, N. A., Ibrahim, T., Khamis, M., Khan, A. S., Alharbi, A. M., Alfahemi, H., & Siddiqui, R. (2023). Antimicrobial activity of novel deep eutectic solvents. *Scientia Pharmaceutica*, 91, 9.
4. Akter, R., Islam, M. K., Islam, R., Alam, I., Abdul-Wahab, M., & Rahman, M. H. (2018). Evaluation of phytochemical screening and cytotoxic activity of different extracts of *Monochoria hastata* leaves. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7, 71-82.
5. Al-Muhtaseb, A., McMinn, W., & Magee, T. (2002). Moisture sorption isotherm characteristics of food products: a review. *Food Bioprod. Process.*, 80, 118-128.
6. Ali, M. C., Chen, J., Zhang, H., Li, Z., Zhao, L., & Qiu, H. (2019). Effective extraction of flavonoids from *Lycium barbarum* L. fruits by deep eutectic solvents-based ultrasound-assisted extraction. *Talanta*, 203, 16-22.
7. Almeida Pontes, P. V. d., Shiwaku, I. A., Maximo, G. J., & Batista, E. A. C. (2021). Choline chloride-based deep eutectic solvents as potential solvent for extraction of phenolic compounds from olive leaves: Extraction optimization and solvent characterization. *Food Chemistry*, 352, 129346.
8. Alwazeer, D., Karaogul, E., Al Çiçek, S., Ugurtay, A., Çiğdem, A., Engin, T., Bekbayev, K., Abdilova, G., Bolkenov, B., & Orynbekov, D. (2026). A novel hydrogen-incorporated carbon dioxide supercritical system for extracting phytochemicals from grape peels: Response surface methodology–based modeling and optimization. *Results in Engineering*, 29, 109142.
9. Antony, C., & Narayanaswamy, K. (2026). Food preservatives: natural or synthetic? *Archives of microbiology*, 208, 134.
10. Arnous, A., & Meyer, A. S. (2010). Discriminated release of phenolic substances from red wine grape skins (*Vitis vinifera* L.) by multicomponent enzymes treatment. *Biochemical Engineering Journal*, 49, 68-77.
11. Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2019). Advances in spray-drying encapsulation of food bioactive ingredients: From microcapsules to nanocapsules. *Annual review of food science and technology*, 10, 103-131.
12. Athanasiadis, V., Palaogiannis, D., Poulianiti, K., Bozinou, E., Lalas, S. I., & Makris, D. P. (2022). Extraction of polyphenolic antioxidants from red grape pomace and olive leaves: process optimization using a tailor-made tertiary deep eutectic solvent. *Sustainability*, 14, 6864.
13. Avdović, E., Antonijević, M., Simijonović, D., Grujović, M., Marković, K., Milenković, D., Ćirić, A., & Marković, Z. (2025). Ultrasound-assisted extraction of bioactive phenolics from *Marselan* and *Shiraz* grape skins: A step toward circular economy in food and pharmaceutical industry. *LWT*, 224, 117817.
14. Aykın-Dinçer, E., Güngör, K. K., Çağlar, E., & Erbaş, M. (2021). The use of beetroot extract and extract powder in sausages as natural food colorant. *International Journal of Food Engineering*, 17, 75-82.

15. Azizi, N., Dezfooli, S., & Hashemi, M. M. (2013). A sustainable approach to the Ugi reaction in deep eutectic solvent. *Comptes Rendus Chimie*, 16, 1098-1102.
16. Baker, R. (2012). *Controlled release of bioactive materials* (1st ed.). USA: Academic Press. pp.488.
17. Balan, N., Măntăilă, S., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2025). Enhanced extraction of bioactive compounds from Red Grape pomace: Optimizing ultrasound-assisted extraction with ethanol and NaDES as solvents. *Antioxidants*, 14, 526.
18. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, 71-79.
19. Baron, G., Ferrario, G., Marinello, C., Carini, M., Morazzoni, P., & Aldini, G. (2021). Effect of extraction solvent and temperature on polyphenol profiles, antioxidant and anti-inflammatory effects of red grape skin by-product. *Molecules*, 26, 5454.
20. Batista, D., Chiocchetti, G. d. M. e., & Macedo, J. A. (2023). Effect of enzymatic biotransformation on the hypotensive potential of red grape pomace extract. *Foods*, 12, 4109.
21. Benedec, D., Vlase, L., Oniga, I., Mot, A. C., Damian, G., Hanganu, D., Duma, M., & Silaghi-Dumitrescu, R. (2013). Polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities for two Romanian subspecies of *Achillea distans* Waldst. et Kit. ex Willd. *Molecules*, 18, 8725-8739.
22. Benmeziane, F., Cadot, Y., Djamai, R., & Djermoun, L. (2016). Determination of major anthocyanin pigments and flavonols in red grape skin of some table grape varieties (*Vitis vinifera* sp.) by high-performance liquid chromatography–photodiode array detection (HPLC-DAD). *Oeno One*, 50, 125-135.
23. Beya, M. M., Netzel, M. E., Sultanbawa, Y., Smyth, H., & Hoffman, L. C. (2021). Plant-based phenolic molecules as natural preservatives in comminuted meats: A review. *Antioxidants*, 10, 263.
24. Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76, 965-977.
25. Boeira, C. P., Piovesan, N., Flores, D. C. B., Soquetta, M. B., Lucas, B. N., Heck, R. T., dos Santos Alves, J., Campagnol, P. C. B., Dos Santos, D., & Flores, E. M. M. (2020). Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* extract for application as natural antioxidant in fresh sausage. *Food Chemistry*, 319, 126553.
26. Bordiga, M., Travaglia, F., & Locatelli, M. (2019). Valorisation of grape pomace: an approach that is increasingly reaching its maturity—a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 933-942.
27. Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., & Simões, M. (2013). Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial drug resistance*, 19, 256-265.
28. Brenes, A., Viveros, A., Chamorro, S., & Arija, I. (2016). Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. *Animal Feed Science and Technology*, 211, 1-17.
29. Bui, T. D., Do, L. T. K., Dang, T. N. D., Pham, V. D., & Hoang, V. C. (2024). Recovery of saponins, phenolic compounds and antioxidant capacity from *Curculigo orchoides* Gaertn Rhizomes by different extraction methods. *Applied Sciences*, 14, 7535.
30. Burin, V. M., Rossa, P. N., Ferreira-Lima, N. E., Hillmann, M. C., & Boirdignon-Luiz, M. T. (2011). Anthocyanins: optimisation of extraction from *Cabernet Sauvignon* grapes,

- microcapsulation and stability in soft drink. *International Journal of Food Science & Technology*, 46, 186-193.
31. Caldas, T. W., Mazza, K. E., Teles, A. S., Mattos, G. N., Brígida, A. I. S., Conte-Junior, C. A., Borguini, R. G., Godoy, R. L., Cabral, L. M., & Tonon, R. V. (2018). Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 111, 86-91.
 32. Çam, M., İçyer, N. C., & Erdoğan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT-Food Science and Technology*, 55, 117-123.
 33. Cano-Higuita, D. M., Vélez, H. A. V., & Telis, V. R. N. (2015). Microencapsulation of turmeric oleoresin in binary and ternary blends of gum Arabic, maltodextrin and modified starch. *Ciência e Agrotecnologia*, 39, 173-182.
 34. Carra, J. B., de Matos, R. L. N., Novelli, A. P., do Couto, R. O., Yamashita, F., dos Santos Ribeiro, M. A., Meurer, E. C., Junior, W. A. V., Casagrande, R., & Georgetti, S. R. (2022). Spray-drying of casein/pectin bioconjugate microcapsules containing grape (*Vitis labrusca*) by-product extract. *Food Chemistry*, 368, 130817.
 35. Creasy, G. L., & Creasy, L. L. (2018). *Grapes* (3rd ed. Vol. 27). USA: Cabi. pp.400.
 36. Crehan, C. M., Hughes, E., Troy, D. J., & Buckley, D. J. (2000). Effects of fat level and maltodextrin on the functional properties of frankfurters formulated with 5, 12 and 30% fat. *Meat Science*, 55, 463-469.
 37. Crespo, E. A., Silva, L. P., Martins, M. n. A., Bülow, M., Ferreira, O., Sadowski, G., Held, C., Pinho, S. o. P., & Coutinho, J. o. A. (2018). The role of polyfunctionality in the formation of [ch] cl-carboxylic acid-based deep eutectic solvents. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 57, 11195-11209.
 38. Cục Thống kê tỉnh Ninh Thuận. (2023). *Niên giám thống kê Ninh Thuận 2022*. Ninh Thuận, Việt Nam: Nhà xuất bản Tổng hợp Thành phố Hồ Chí Minh. 324-325.
 39. Chibane, L. B., Degraeve, P., Ferhout, H., Bouajila, J., & Oulahal, N. (2019). Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 1457-1474.
 40. Dabetić, N., Todorović, V., Panić, M., Radojčić Redovniković, I., & Šobajić, S. (2020). Impact of deep eutectic solvents on extraction of polyphenols from grape seeds and skin. *Appl. Sci.*, 10, 4830.
 41. Dadáková, K., Jurasová, L., Kašparovský, T., Průšová, B., Baroň, M., & Sochor, J. (2021). Origin of Wine Lignans. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76, 472-477.
 42. Dai, T. X. T., Vo, T. T. A., & Lam, H. B. N. (2015). Studies on antibacterial and antioxidant activities of methanolic extract from *Streptocaulon juvenas* Merr. *Can Tho University Journal of Science*, 40, 1-6.
 43. Dai, Y., Spronsen, J. V., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766, 61-68.
 44. Dang, Y. T., Tran, H., & Kha, T. C. (2024). Encapsulation of W/O/W Acerola emulsion by spray drying: Optimization, release kinetics, and storage stability. *Foods*, 13, 1463.
 45. De Luca, C., Mikhal'chik, E. V., Suprun, M. V., Papacharalambous, M., Truhanov, A. I., & Korkina, L. G. (2016). Skin antiageing and systemic redox effects of supplementation with marine collagen peptides and plant-derived antioxidants: A single-blind case-control clinical study. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 4389410.

46. Decker, B. L. A., Miguel, E. d. C., Fonteles, T. V., Fernandes, F. A. N., & Rodrigues, S. (2024). Impact of spray drying on the properties of grape pomace extract powder. *Processes*, 12, 1390.
47. Dias, D. R., Botrel, D. A., Fernandes, R. V. D. B., & Borges, S. V. (2017). Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. *Current Opinion in Food Science*, 13, 31-37.
48. Duarte, N., Ramalhete, C., Rijo, P., Reis, M. A., & Ferreira, M.-J. U. (2021). Stilbenoids in grapes and wine. In Jianbo Xiao, Satyajit D Sarker, & Yoshinori Asakawa (Eds.), *Handbook of dietary phytochemicals* (pp. 1005-1032). Singapore: Springer.
49. Eliuz, E. (2020). Antimicrobial activity of citric acid against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* as a sanitizer agent. *Eurasian Journal of Forest Science*, 8, 295-301.
50. Elzagheid, M. I. (2018). Laboratory activities to introduce carbohydrates qualitative analysis to college students. *World Journal of Chemical Education*, 6, 82-86.
51. Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in food science & technology*, 21, 510-523.
52. Feng, C.-H., Sun, D.-W., Martín, J. F. G., & Zhang, Z.-H. (2013). Effects of different cooling methods on shelf-life of cooked jumbo plain sausages. *LWT-Food Science and Technology*, 54, 426-433.
53. Ferdaus, M. J., Mahmud, N., Talukder, S., & Silva, R. C. d. (2025). Characteristics and functional properties of bioactive oleogels: A current review. *Gels*, 11, 69.
54. Fonseca, F. D., Symochko, L., & Pinheiro, M. N. C. (2024). Grape pomace (*Vitis vinifera* L.) waste valorization: Assessing its potential as a sustainable natural dye for textiles applications. *Sustainability*, 16, 3167.
55. Frank, D., Schenck, L., Koynov, A., Su, Y., Li, Y., & Variankaval, N. (2021). Optimizing solvent selection and processing conditions to generate high bulk-density, co-precipitated amorphous dispersions of posaconazole. *Pharmaceutics*, 13, 2017.
56. Freitas, V. A. P. D., & Glories, Y. (1999). Concentration and compositional changes of procyanidins in grape seeds and skin of white *Vitis vinifera* varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1601-1606.
57. Ghandehari Yazdi, A., Barzegar, M., Sahari, M., & Ahmadi Gavlighi, H. (2021). Encapsulation of pistachio green hull phenolic compounds by spray drying. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 23, 51-64.
58. 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, 1107-1121.
59. Goltz, C., Ávila, S., Barbieri, J. B., Igarashi-Mafra, L., & Mafra, M. R. (2018). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Macela (*Achyrocline satureioides*) extracts. *Industrial Crops and Products*, 115, 227-234.
60. Grand View Research. (2024). Natural Food Preservatives Market Trends. 20/01/2025. Retrieved from <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/natural-food-preservatives-market-report>
61. Gutiérrez, M. C., Ferrer, M. L., Mateo, C. R., & Monte, F. d. (2009). Freeze-drying of aqueous solutions of deep eutectic solvents: a suitable approach to deep eutectic suspensions of self-assembled structures. *Langmuir*, 25, 5509-5515.
62. Hadree, J., Shahidi, F., Mohebbi, M., & Abbaspour, M. (2023). Evaluation of effects of spray drying conditions on physicochemical properties of pomegranate juice powder

- enriched with pomegranate peel phenolic compounds: Modeling and optimization by RSM. *Foods*, 12, 2066.
63. Hasani, B., Shahidi, F., Mortazavi, S. A., Mohebbi, M., & Farhoosh, R. (2025). Optimization of the microcoating of polyphenolic compounds of *Vitis Vinifera* wastes with maltodextrin and basil seed gum. *Journal of Innovation in Food Science & Technology*, 17, 81.
 64. Hayek, S., Gyawali, R., & Ibrahim, S. (2013). Antimicrobial natural products. In A Méndez-Vilas (Ed.), *Microbial pathogens and strategies for combating them: Science, technology, and education* (Vol. 1, pp. 910–921). Badajoz: Formatex.
 65. Heinz, G., & Hautzinger, P. (2007). *Meat processing technology for small- to medium-scale producers*. Bangkok, Thailand: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional office for Asia and the Pacific. pp.470.
 66. Hoang, C. V. (2023). Extraction of saponins, total soluble solids and antioxidant activity from *Polyscias fruticosa* roots. *Food Research*, 7, 42-47.
 67. Hoang, V. T., Nguyen, T. L. P., Nguyen, T. K., Nguyen, X. H., & Pham, V. H. (2023). Green extraction and biological activity of phenolic extracts from cashew nut testa using a combination of enzyme and ultrasound-assisted treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103, 5626-5633.
 68. Hoelscher, H., Fell, E. L., Colet, R., Nascimento, L. H., Backes, Â. S., Backes, G. T., Cansian, R. L., Valduga, E., & Steffens, C. (2024). Antioxidant activity of rosemary extract, acerola extract and a mixture of tocopherols in sausage during storage at 8°C. *Journal of Food Science and Technology*, 61, 69-83.
 69. Hu, J., Liu, S., Long, Y., Tao, N., Yang, B., & Zhang, L. (2022). Pterocresins A-C: three new terpenes with hepatoprotective activity from *Pteris cretica* L. *Natural Product Research*, 36, 6252-6258.
 70. Huang, H., Cheng, Z., Shi, H., Xin, W., Wang, T. T., & Yu, L. (2011). Isolation and characterization of two flavonoids, engelletin and astilbin, from the leaves of *Engelhardia roxburghiana* and their potential anti-inflammatory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 4562-4569.
 71. Ivanović, M., Grujić, D., Cerar, J., Islamčević Razboršek, M., Topalić-Trivunović, L., Savić, A., Kočar, D., & Kolar, M. (2022). Extraction of bioactive metabolites from *Achillea millefolium* L. with choline chloride based natural deep eutectic solvents: a study of the antioxidant and antimicrobial activity. *Antioxidants*, 11, 724.
 72. Jafari, S., Jafari, S. M., Ebrahimi, M., Kijpatanasilp, I., & Assatarakul, K. (2023). A decade overview and prospect of spray drying encapsulation of bioactives from fruit products: Characterization, food application and in vitro gastrointestinal digestion. *Food Hydrocolloids*, 134, 108068.
 73. Janiszewska-Turak, E., Walczak, M., Rybak, K., Pobiega, K., Gniewosz, M., Woźniak, Ł., & Witrowa-Rajchert, D. (2022). Influence of fermentation beetroot juice process on the physico-chemical properties of spray dried powder. *Molecules*, 27, 1008.
 74. Jeong, S., & Oh, I. (2024). Characterization of mixed-component oleogels: Beeswax and glycerol monostearate interactions towards *Tenebrio Molitor* larvae oil. *Current Research in Food Science*, 8, 100689.
 75. Jiménez-Salcedo, M., Sosa, F. H. B., Coutinho, J. A. P., & Tena, M. T. (2025). New approaches for the extraction of anthocyanins from grape skins using deep eutectic solvents. *Sustainable Chemistry*, 6, 47.

76. Kaderides, K., Mourtzinou, I., & Goula, A. M. (2020). Stability of pomegranate peel polyphenols encapsulated in orange juice industry by-product and their incorporation in cookies. *Food Chemistry*, 310, 125849.
77. Kammerer, D., Claus, A., Carle, R., & Schieber, A. (2004). Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4360-4367.
78. Kozłowska, M., Ścibisz, I., Przybył, J. L., Laudy, A. E., Majewska, E., Tarnowska, K., Małajowicz, J., & Ziarno, M. (2022). Antioxidant and antibacterial activity of extracts from selected plant material. *Applied Sciences*, 12, 9871.
79. Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 194, 569-576.
80. Kha, C. T., Nguyen, H. M., & Roach, D. P. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, 98, 385-392.
81. Lakka, A., Grigorakis, S., Karageorgou, I., Batra, G., Kaltsa, O., Bozinou, E., Lalas, S., & Makris, D. P. (2019). Saffron processing wastes as a bioresource of high-value added compounds: Development of a green extraction process for polyphenol recovery using a natural deep eutectic solvent. *Antioxidants*, 8, 586.
82. Latayada, F. S., Uy, M. M., Akihara, Y., Ohta, E., & Ohta, S. (2017). Two new C11-terpenes with an octahydrobenzofuran skeleton isolated from the leaves of *Ficus nota*. *Phytochemistry Letters*, 19, 237-240.
83. Le, X. T., Phan, T. T. T., Pham, V. M. C., & Nguyen, K. M. T. (2025). Optimization of spray drying process conditions for Rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.). *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 44, 244-253.
84. Le, H. V., & Le, V. V. M. (2012). Comparison of enzyme-assisted and ultrasound-assisted extraction of vitamin C and phenolic compounds from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1206-1214.
85. Lecas, M., & Brillouet, J.-M. (1994). Cell wall composition of grape berry skins. *Phytochemistry*, 35, 1241-1243.
86. Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96, 254-260.
87. Lin, S., Meng, X., Tan, C., Tong, Y., Wan, M., Wang, M., Zhao, Y., Deng, H., Kong, Y., & Ma, Y. (2022). Composition and antioxidant activity of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* extracted using an ultrasonic-microwave-assisted natural deep eutectic solvent extraction method. *Ultrasonics Sonochemistry*, 89, 106102.
88. Liu, Y., Friesen, J. B., McAlpine, J. B., Lankin, D. C., Chen, S.-N., & Pauli, G. F. (2018). Natural deep eutectic solvents: properties, applications, and perspectives. *Journal of Natural Products*, 81, 679-690.
89. López-Astorga, M., Leon-Bejarano, M., Gámez-Meza, N., Del Toro-Sánchez, C. L., Simsek, S., & Ovando-Martínez, M. (2025). Microencapsulated grape pomace extract as an antioxidant ingredient added to Greek-style yogurt: Storage stability and in vitro bioaccessibility. *Food Chemistry*, 477, 143550.
90. López-González, Y., Venegas, C., Aguilar, J. M., Ruiz-Domínguez, M., & Guerrero, A. (2024). *Thermo-reversible oleogels formulated with monoglycerides or beeswax as oleogelator for food applications*. Paper presented at the X Workshop in R&D+i & 2nd International Workshop on STEM of EPS, Spain.

91. Lu, W., & Liu, S. (2022). Choline chloride-based deep eutectic solvents (Ch-DESs) as promising green solvents for phenolic compounds extraction from bioresources: State-of-the-art, prospects, and challenges. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12, 2949-2962.
92. Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., & Georgiev, M. I. (2017). Terpenoids. In Simone Badal & Rupika Delgoda (Eds.), *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategies* (pp. 233-266). Amsterdam, Boston: Academic Press.
93. Maier, T., Göppert, A., Kammerer, D. R., Schieber, A., & Carle, R. (2008). Optimization of a process for enzyme-assisted pigment extraction from grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *European Food Research and Technology*, 227, 267-275.
94. Martinović, J., Ambrus, R., Planinić, M., Perković, G., Šelo, G., Klarić, A.-M., & Bucić-Kojić, A. (2025). Spray-drying microencapsulation of grape pomace extracts with alginate-based coatings and bioaccessibility of phenolic compounds. *Gels*, 11, 130.
95. McClements, D. J. (1995). Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 293-299.
96. McClements, D. J., Lu, J., & Grossmann, L. (2022). Proposed methods for testing and comparing the emulsifying properties of proteins from animal, plant, and alternative sources. *Colloids and Interfaces*, 6, 19.
97. Meng, Z., Guo, Y., Wang, Y., & Liu, Y. (2019). Oleogels from sodium stearyl lactylate-based lamellar crystals: Structural characterization and bread application. *Food Chemistry*, 292, 134-142.
98. Milinčić, D. D., Stanisavljević, N. S., Kostić, A. Ž., Bajić, S. S., Kojić, M. O., Gašić, U. M., Barać, M. B., Stanojević, S. P., Tešić, Ž. L., & Pešić, M. B. (2021). Phenolic compounds and biopotential of grape pomace extracts from *Prokupac* red grape variety. *LWT*, 138, 110739.
99. Mitić, M. N., Souquet, J.-M., Obradović, M. V., & Mitić, S. S. (2012). Phytochemical profiles and antioxidant activities of Serbian table and wine grapes. *Food Science and Biotechnology*, 21, 1619-1626.
100. Mokrzycki, W., & Tatol, M. (2011). Colour difference ΔE survey. *Machine Graphics and Vision*, 20, 383-411.
101. Montibeller, M. J., de Lima Monteiro, P., Stoll, L., Tupuna-Yerovi, D. S., Rodrigues, E., Rodrigues, R. C., de Oliveira Rios, A., & Manfroi, V. (2019). Improvement of enzymatic assisted extraction conditions on anthocyanin recovery from different varieties of *V. vinifera* and *V. labrusca* grape pomaces. *Food Analytical Methods*, 12, 2056-2068.
102. Moraes-Cerdeira, R. M., Burandt, C. L., Bastos, J. K., Nanayakkara, N. D., Mikell, J., Thurn, J., & McChesney, J. D. (1997). Evaluation of four *Narcissus* cultivars as potential sources for galanthamine production. *Planta medica*, 63, 472-474.
103. Moreira, M. M., Barroso, M. F., Porto, J. V., Ramalhosa, M. J., Švarc-Gajić, J., Estevinho, L., Morais, S., & Delerue-Matos, C. (2018). Potential of Portuguese vine shoot wastes as natural resources of bioactive compounds. *Science of the Total Environment*, 634, 831-842.
104. Mukherjee, P. K. (2019). *Quality control and evaluation of herbal drugs: Evaluating natural products and traditional medicine* (1st ed.). Netherlands: Elsevier. pp.784.
105. Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D., & Kalia, P. (2015). Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. *Food Science and Technology International*, 21, 604-612.
106. Negrao-Murakami, A. N., Nunes, G. L., Pinto, S. S., Murakami, F. S., Amante, E. R., Petrus, J. C. C., Prudêncio, E. S., & Amboni, R. (2016). Influence of DE-value of maltodextrin on the physicochemical properties, antioxidant activity, and storage stability of spray dried concentrated mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). *LWT Food Science and Technology*, 79, 1-7.

107. Neto, R. T., Santos, S. A., Oliveira, J., & Silvestre, A. J. (2021). Impact of eutectic solvents utilization in the microwave assisted extraction of proanthocyanidins from grape pomace. *Molecules*, 27, 246.
108. Nielsen, S. S. (1998). *Food analysis* (Suzanne S Nielsen Ed. 4th edition ed.). London: Springer Cham.
109. Niknam, S. M., Kashaninejad, M., Escudero, I., Sanz, M. T., Beltrán, S., & Benito, J. M. (2022). Preparation of water-in-oil nanoemulsions loaded with phenolic-rich olive cake extract using response surface methodology approach. *Foods*, 11, 279.
110. Nguyen, D. Q., Mounir, S., & Allaf, K. (2017). Optimization of the spray drying operating conditions for producing the powder mixture of gum Arabic and maltodextrin. *International Journal of Food Engineering*, 13, 20160271.
111. Nguyen, T. T. T., Nguyen, V. B., Le, T. X., Tran, A. H. T., & Tuyen, C. K. (2023). Extraction of bioactive compounds from *Red Cardinal* grape pomace by deep eutectic solvents. *Chemical Engineering Transactions*, 106, 889-894.
112. Nguyễn Thế Cường. (2012). *Nghiên cứu phân loại họ Nho - Vitaceae Juss. ở Việt Nam*. (Tiến sĩ), Viện Sinh Thái và Tài Nguyên Vĩnh Vật, Hà Nội, Việt Nam.
113. Oliveira, D. A., Salvador, A. A., Smânia Jr, A., Smânia, E. F., Maraschin, M., & Ferreira, S. R. (2013). Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *Journal of biotechnology*, 164, 423-432.
114. Oueslati, N., Charradi, K., Bedhiafi, T., Limam, F., & Aouani, E. (2016). Protective effect of grape seed and skin extract against diabetes-induced oxidative stress and renal dysfunction in virgin and pregnant rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 584-592.
115. Palos-Hernández, A., del Nogal Sánchez, M., Gutiérrez Fernández, M. Y., Pérez-Iglesias, J. L., Santos-Buelga, C., & González-Paramás, A. M. (2025). Sustainable valorization of grape pomace peels using NADES: A focus on selective recovery of anthocyanins and flavonols and bioactivity. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 418, 1697-1712.
116. Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2, 115-119.
117. Parmar, V., Sharma, R., Sharma, S., & Singh, B. (2022). Recent advances in fabrication of food grade oleogels: structuring methods, functional properties and technical feasibility in food products. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16, 4687-4702.
118. Peixoto, C. M., Dias, M. I., Alves, M. J., Calhella, R. C., Barros, L., Pinho, S. P., & Ferreira, I. C. (2018). Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. *Food Chemistry*, 253, 132-138.
119. Perković, G., Planinić, M., Šelo, G., Martinović, J., Nedić, R., Puš, M., & Bucić-Kojić, A. (2024). Optimisation of the encapsulation of grape pomace extract by spray drying using goat whey protein as a coating material. *Coatings*, 14, 1101.
120. Pinto, T. C., Martins, A. J., Pastrana, L., Pereira, M. C., & Cerqueira, M. A. (2021). Oleogel-based systems for the delivery of bioactive compounds in foods. *Gels*, 7, 86.
121. Rosenberg, M., Rosenberg, Y., & Frenkel, L. (2016). Microencapsulation of model oil in wall matrices consisting of SPI and maltodextrins. *AIMS Agriculture and Food*, 1, 33-51.
122. Rostagno, M. A., & Prado, J. M. (2022). *Natural product extraction: principles and applications*. British: Royal Society of Chemistry. pp.730.
123. Sabet, S., García, A. A. K., Kirjoranta, S., Pinto, T. C., Siven, M., Bhattarai, M., Barba, L., & Valoppi, F. (2024). Development of the first “encapsulated oleogel-in-oleogel” system with tailorable lipid digestion. *Food Hydrocolloids*, 153, 110068.

124. Saibabu, V., Fatima, Z., Khan, L. A., & Hameed, S. (2015). Therapeutic potential of dietary phenolic acids. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2015, 823539.
125. Sánchez-Quesada, C., López-Biedma, A., & Gaforio, J. J. (2015). Oleanolic acid, a compound present in grapes and olives, protects against genotoxicity in human mammary epithelial cells. *Molecules*, 20, 13670-13688.
126. Santos, D., Maurício, A. C., Sencadas, V., Santos, J. D., Fernandes, M. H., & Gomes, P. S. (2018). Spray drying: an overview. *Biomaterials-physics and chemistry-new edition*, 2, 9-35.
127. Sanhueza, L., Tello, M., Vivanco, M., Mendoza, L., & Wilkens, M. (2014). Relation between antibacterial activity against food transmitted pathogens and total phenolic compounds in grape pomace extracts from *Cabernet Sauvignon* and *Syrah* varieties. *Advances in Microbiology*, 2014, 225-232.
128. Sarwar, R., Farooq, U., Naz, S., Riaz, N., Majid Bukhari, S., Rauf, A., Mabkhot, Y. N., & Al-Showiman, S. S. (2018). Isolation and characterization of two new antimicrobial acids from *Quercus incana* (Bluejack Oak). *BioMed research international*, 2018, 3798105.
129. Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8, 603-608.
130. Shi, Q., Fang, Z., & Bhandari, B. (2013). Effect of addition of whey protein isolate on spray-drying behavior of honey with maltodextrin as a carrier material. *Drying Technology*, 31, 1681-1692.
131. Shim, E., & Park, E. (2022). Choline intake and its dietary reference values in Korea and other countries: a review. *Nutrition research and practice*, 16, S126-S133.
132. Silva, P. I., Stringheta, P. C., Teófilo, R. F., & De Oliveira, I. R. s. N. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering*, 117, 538-544.
133. Simchuer, W., Motham, P., & Srihanam, P. (2022). Determination of wild grape phenolic compounds in the extracts of winemaking byproducts and their antioxidant competency. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 25, 131-136.
134. Simirgiotis, M. J. (2013). Antioxidant capacity and HPLC-DAD-MS profiling of *Chilean Peumo* (*Cryptocarya alba*) fruits and comparison with *German Peumo* (*Crataegus monogyna*) from Southern Chile. *Molecules*, 18, 2061-2080.
135. Škulcova, A., Haščičová, Z., Hrdlička, L., Šima, J., & Jablonský, M. (2018). Green solvents based on choline chloride for the extraction of spruce bark (*Picea abies*). *Cellulose Chemistry and Technology*, 52, 171-179.
136. Sliwinski, E., Roubos, P., Zoet, F., Van Boekel, M., & Wouters, J. (2003). Effects of heat on physicochemical properties of whey protein-stabilised emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31, 231-242.
137. Souza, V. B. d., Thomazini, M., Carvalho Balieiro, J. C. d., & Fávaro-Trindade, C. S. (2015). Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). *Food and Bioproducts Processing*, 93, 39-50.
138. Sở Nông Nghiệp và Phát Triển Nông Thôn Tỉnh Ninh Thuận. (2023). *Tình hình phát triển cây Nho tỉnh Ninh Thuận*. Retrieved from Ninh Thuận, Việt Nam:
139. Štambuk, P., Tomašković, D., Tomaz, I., Maslov, L., Stupić, D., & Karoglan Kontić, J. (2016). Application of pectinases for recovery of grape seeds phenolics. *3 Biotech*, 6, 224.

140. Stanek-Wandzel, N., Zarębska, M., Wasilewski, T., Hordyjewicz-Baran, Z., Krzyszowska, A., Gębura, K., & Tomaka, M. (2025). Enhancing phenolic compound recovery from grape pomace residue: Synergistic approach of ultrasound-and enzyme-assisted extraction. *ACS omega*, 10, 23129-23138.
141. Su, E., Yang, M., Cao, J., Lu, C., Wang, J., & Cao, F. (2017). Deep eutectic solvents as green media for efficient extraction of terpene trilactones from *Ginkgo biloba* leaves. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 40, 385-391.
142. Tafesh, A., Najami, N., Jadoun, J., Halahlih, F., Riepl, H., & Azaizeh, H. (2011). Synergistic antibacterial effects of polyphenolic compounds from olive mill wastewater. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 431021.
143. Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant physiology* (3th ed.). Sunderland, England: Sinauer Associates. pp.690.
144. 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, E1372-E1381.
145. Toma, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L., & Mason, T. J. (2001). Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8, 137-142.
146. Tomaz, I., Maslov, L., Stupić, D., Preiner, D., Ašperger, D., & Kontić, J. K. (2016). Recovery of flavonoids from grape skins by enzyme-assisted extraction. *Separation Science and Technology*, 51, 255-268.
147. Topalovic, A., & Mikulic-Petkovsek, M. (2010). Changes in sugars, organic acids and phenolics of grape berries of cultivar *Cardinal* during ripening. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8, 223-227.
148. Totaro, M. P., Difonzo, G., Pasqualone, A., & Summo, C. (2024). Physicochemical properties and sensory features of ripened, industrially prepared sausages, enriched with olive leaf extract to replace nitrite and nitrate. *LWT*, 196, 115852.
149. Tsali, A., & Goula, A. M. (2018). Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract. *Powder Technology*, 340, 194-207.
150. Tyagi, T., & Agarwal, M. (2017). Phytochemical screening and GC-MS analysis of bioactive constituents in the ethanolic extract of *Pistia stratiotes* L. and *Eichhornia crassipes* (Mart.) solms. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6, 195-206.
151. Thakur, N., & Thakur, A. (2020). Microencapsulation of wild pomegranate flavonoid phenolics by lyophilization: Effect of maltodextrin concentration, structural morphology, functional properties, elemental composition and ingredient for development of functional beverage. *LWT*, 133, 110077.
152. Thomas, S. (2017). *Grapes: Polyphenolic Composition, Antioxidant Characteristics and Health Benefits*. United States: Nova Science. pp.160.
153. Tran, T. T. T., Ton, N. M. N., Nguyen, T. T., Sajeev, D., Schilling, M. W., & Dinh, T. T. (2020). Application of natural antioxidant extract from guava leaves (*Psidium guajava* L.) in fresh pork sausage. *Meat Science*, 165, 108106.
154. Triaux, Z., Petitjean, H., Marchioni, E., Boltoeva, M., & Marcic, C. (2020). Deep eutectic solvent-based headspace single-drop microextraction for the quantification of terpenes in spices. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412, 933-948.
155. Trousdale, E., & Singleton, V. (1983). Astilbin and engeletin in grapes and wine. *Phytochemistry*, 22, 619-620.

156. Untea, A. E., Varzaru, I., Vlaicu, P. A., Turcu, R. P., & Panaite, T. D. (2023). Studies on antioxidant activities of grape pomace using in vitro, ex vivo, and in vivo models. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17, 121-128.
157. Valle Calomeni, A. d., de Souza, V. B., Tulini, F. L., Thomazini, M., Ostroschi, L. C., de Alencar, S. M., Massarioli, A. P., de Carvalho Balieiro, J. C., de Carvalho, R. A., & Favaro-Trindade, C. S. (2017). Characterization of antioxidant and antimicrobial properties of spray-dried extracts from peanut skins. *Food and Bioproducts Processing*, 105, 215-223.
158. Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsakris, Z., Rozos, G., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2022). Interactions between medical plant-derived bioactive compounds: focus on antimicrobial combination effects. *Antibiotics*, 11, 1014.
159. Vieira, V., Prieto, M. A., Barros, L., Coutinho, J. A., Ferreira, I. C., & Ferreira, O. (2018). Enhanced extraction of phenolic compounds using choline chloride based deep eutectic solvents from *Juglans regia* L. *Industrial Crops and Products*, 115, 261-271.
160. Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8, 303-313.
161. Vu, A. T., Kha, T. C., & Phan, H. T. (2023). Encapsulation of bioactive compounds from germinated mung bean by freeze-drying, release kinetics, and storage stability. *Foods*, 13, 100.
162. Wang, C., Li, Z., Xiang, J., Johnson, J. B., Zheng, B., Luo, L., & Beta, T. (2023). From foxtail millet husk (waste) to bioactive phenolic extracts using deep eutectic solvent extraction and evaluation of antioxidant, acetylcholinesterase, and α -glucosidase inhibitory activities. *Foods*, 12, 1144.
163. Wang, W., Jung, J., Tomasino, E., & Zhao, Y. (2016). Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 229-238.
164. Yadav, M., Chatterji, S., Gupta, S. K., & Watal, G. (2014). Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 539-542.
165. Yadav, R., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of phytology*, 3, 10-14.
166. Yildirim, M., Sumnu, G., & Sahin, S. (2017). The effects of emulsifier type, phase ratio, and homogenization methods on stability of the double emulsion. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 38, 807-814.
167. Zbakh, H., Chiheb, H., Bouziane, H., Sánchez, V. M., & Riadi, H. (2012). Antibacterial activity of benthic marine algae extracts from the Mediterranean coast of Morocco. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2, 219-228.
168. Zeb, A. (2021). *Phenolic Antioxidants in Foods: Chemistry, Biochemistry and Analysis* (1st Ed.). Switzerland: Springer Cham. pp.556.
169. Zhang, H., Peng, X., Li, X., Wu, J., & Guo, X. (2017). The application of clove extract protects Chinese-style sausages against oxidation and quality deterioration. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37, 114.
170. Zhang, X. J., Liu, Z. T., Chen, X. Q., Zhang, T. T., & Zhang, Y. (2023). Deep eutectic solvent combined with ultrasound technology: A promising integrated extraction strategy for anthocyanins and polyphenols from blueberry pomace. *Food Chemistry*, 422, 136224.
171. Zhou, M., Fakayode, O. A., & Li, H. (2023). Green extraction of polyphenols via deep eutectic solvents and assisted technologies from agri-food by-products. *Molecules*, 28, 6852.

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

PHỤ LỤC

THU HỒI CÁC HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ PHỤ PHẨM NHO VÀ ỨNG DỤNG LÀM CHẤT BẢO QUẢN TỰ NHIÊN

Chuyên ngành: Công Nghệ Thực Phẩm

Mã số : 9.54.01.01

TP. HỒ CHÍ MINH - 2026

MỤC LỤC

PHỤ LỤC I.....	162
Phụ lục I.1. Phụ phẩm nhỏ	162
Phụ lục I.2. Sắc ký đồ ion tổng (TIC) trong phân tích định danh các hợp chất trong dịch trích ly phụ phẩm nhỏ.....	163
Phụ lục I.3. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu.....	164
Phụ lục I.3.1. Phương pháp định tính các nhóm chất	164
Phụ lục I.3.2. Định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học	165
Phụ lục I.3.3. Hàm lượng ẩm.....	166
Phụ lục I.3.4. Hàm lượng protein tổng	166
Phụ lục I.3.5. Hàm lượng tro	166
Phụ lục I.3.6. Hàm lượng chất béo tổng	166
Phụ lục I.3.7. Hàm lượng carbohydrate.....	167
Phụ lục I.3.8. Hàm lượng phenolic tổng	167
Phụ lục I.3.9. Hàm lượng saponin tổng	168
Phụ lục I.3.10. Hàm lượng proanthocyanidin.....	168
Phụ lục I.3.11. Định lượng các hợp chất phenolic đơn lẻ.....	168
Phụ lục I.3.12. Hoạt tính kháng khuẩn	169
Phụ lục I.3.13. Hoạt tính kháng oxi hóa	170
Phụ lục I.3.14. Hiệu suất thu hồi hợp chất.....	170
Phụ lục I.3.15. Hiệu quả vi bao	170
Phụ lục I.3.16. Hoạt độ nước	171
Phụ lục I.3.17. Phân tích nhiễu xạ tia X	171
Phụ lục I.3.18. Phân tích nhiệt quét vi sai	171
Phụ lục I.3.19. Phân tích hình thái hạt bột.....	172
Phụ lục I.3.20. Phân tích quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier	172
Phụ lục I.3.21. Phân tích phân bố kích thước hạt	172
Phụ lục I.3.22. Đường đẳng nhiệt hấp phụ ẩm	172
Phụ lục I.3.23. Độ hòa tan của bột sấy phun	173
Phụ lục I.3.24. Phân tích kính hiển vi ánh sáng phân cực	173

Phụ lục I.3.25. Độ nhớt của dịch trích ly	173
Phụ lục I.3.26. Độ nhớt của oleogel	173
Phụ lục I.3.27. Khả năng liên kết dầu của oleogel (%)	173
Phụ lục I.3.28. Phân tích kết cấu của xúc xích	174
Phụ lục I.3.29. Tổng vi sinh vật hiếu khí, <i>E. coli</i> , <i>Coliform</i> (log cfu/g).....	174
Phụ lục I.3.30. Chỉ tiêu màu sắc	174
Phụ lục I.3.31. Chỉ tiêu pH	174
Phụ lục I.4. Kết quả khảo sát điều kiện sấy bơm nhiệt phụ phẩm nho	175
PHỤ LỤC II	178
Phụ lục II.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly có hỗ trợ enzyme.....	178
Phụ lục II.2. Kết quả xử lý số liệu thống kê.....	187
PHỤ LỤC III.....	192
Phụ lục III.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly có hỗ trợ siêu âm.....	192
Phụ lục III.2. Kết quả xử lý số liệu thống kê	198
PHỤ LỤC IV	202
Phụ lục IV.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES	202
Phụ lục IV.1.1. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid	202
Phụ lục IV.1.2. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid	209
Phụ lục IV.2. Kết quả xử lý số liệu thống kê.....	212
Phụ lục IV.2.1. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid	212
Phụ lục IV.2.2. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid	217
Phụ lục IV.3. Sắc ký đồ HPLC định lượng các hợp chất hoạt tính đơn lẻ trong dịch trích tối ưu	223
Phụ lục IV.4. Kết quả so sánh ba phương pháp trích ly tối ưu.....	224

PHỤ LỤC V	225
Phụ lục V.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình vi bao bằng sấy phun.....	225
Phụ lục V.2. Kết quả xử lý số liệu thống kê	266
Phụ lục V.3. Kết quả kháng khuẩn của bột vi bao tối ưu	293
PHỤ LỤC VI.....	295
Phụ lục VI.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình vi bao bằng oleogel	295
Phụ lục VI.2. Kết quả xử lý số liệu thống kê	306
Phụ lục VI.3. Kết quả kháng khuẩn của oleogel tối ưu.....	311
PHỤ LỤC VII	313
Phụ lục VII.1. Số liệu kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đối với xúc xích thanh trùng	313
Phụ lục VII.2. Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đối với xúc xích thanh trùng.....	315
PHỤ LỤC VIII.....	319
Phụ lục VIII.1. Số liệu kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đối với xúc xích thanh trùng.....	319
Phụ lục VIII.2. Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đối với xúc xích thanh trùng	321
TÀI LIỆU THAM KHẢO PHỤ LỤC.....	325

DANH MỤC BẢNG PHỤ LỤC

Bảng PL I.1. Các hợp chất dự đoán trong sắc ký đồ ion tổng.....	163
Bảng PL I.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến màu sắc và độ hóa nâu của phụ phẩm nho	175
Bảng PL I.3. Ảnh hưởng của mật độ sấy đến màu sắc và độ hóa nâu của phụ phẩm nho	176
Bảng PL I.4. Ảnh hưởng của tốc độ gió đến màu sắc và độ hóa nâu của phụ phẩm nho	177
Bảng PL II.1. Ảnh hưởng của hàm lượng enzyme đến TPC, TSC, PAC dịch trích ly	181
Bảng PL II.2. Ảnh hưởng của loại enzyme đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ enzyme	187
Bảng PL II.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ enzyme	188
Bảng PL II.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ enzyme	189
Bảng PL II.5. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ enzyme	190
Bảng PL III.1. Ảnh hưởng của mức năng lượng siêu âm đến TPC, TSC và PAC.....	198
Bảng PL III.2. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ siêu âm.....	199
Bảng PL III.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ siêu âm	200
Bảng PL III.4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ siêu âm.....	201
Bảng PL IV.1. Độ nhớt của dung môi ChCl-LA ở các tỷ lệ HBA: HBD khác nhau..	203
Bảng PL IV.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid.....	212
Bảng PL IV.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid.....	213

Bảng PL IV.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid	214
Bảng PL IV.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid.....	215
Bảng PL IV.6. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid.....	216
Bảng PL IV.7. Ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid.....	217
Bảng PL IV.8. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid.....	218
Bảng PL IV.9. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid	219
Bảng PL IV.10. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid.....	220
Bảng PL IV.11. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid.....	221
Bảng PL V.1. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột ở các loại vỏ bao khác nhau.	228
Bảng PL V.2. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột ở các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau	239
Bảng PL V.3. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột ở các tỷ lệ giữa các loại vỏ bao khác nhau.....	243
Bảng PL V.4. Hiệu suất thu hồi ở các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau.....	246
Bảng PL V.5. Hiệu quả vi bao ở các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau.....	248
Bảng PL V.6. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột vi bao ở các chế độ đồng hóa khác nhau.....	248
Bảng PL V.7. Phân bố kích thước hạt bột ở các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau	249
Bảng PL V.8. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột ở các nhiệt độ không khí sấy đầu vào khác nhau	256
Bảng PL V.9. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột ở tốc độ nhập liệu khác nhau	262

Bảng PL V.10. Ảnh hưởng của loại vỏ bao đến hiệu suất thu hồi (%)	266
Bảng PL V.11. Ảnh hưởng của loại vỏ bao đến hiệu quả vi bao (%)	266
Bảng PL V.12. Ảnh hưởng của tỷ lệ lõi: vỏ bao đến hiệu suất thu hồi (%).....	270
Bảng PL V.13. Ảnh hưởng của tỷ lệ lõi: vỏ bao đến hiệu quả vi bao (%).....	270
Bảng PL V.14. Ảnh hưởng của tỷ lệ MD-GA đến hiệu suất thu hồi (%)	275
Bảng PL V.15. Ảnh hưởng của tỷ lệ MD-GA đến hiệu quả vi bao (%)	275
Bảng PL V.16. Ảnh hưởng của nhiệt độ không khí sấy đầu vào đến hiệu suất thu hồi (%)	283
Bảng PL V.17. Ảnh hưởng của nhiệt độ không khí sấy đầu vào đến hiệu quả vi bao (%)	283
Bảng PL V.18. Ảnh hưởng của tốc độ dòng nhập liệu đến hiệu suất thu hồi (%)	288
Bảng PL V.19. Ảnh hưởng của tốc độ dòng nhập liệu đến hiệu quả vi bao (%)	288
Bảng PL VI.1. Tính chất của oleogel ở các công thức khác nhau.....	295
Bảng PL VI.2. Tính chất của oleogel ở các tỷ lệ BW: F90 khác nhau.....	298
Bảng PL VI.3. Tính chất của oleogel ở các tỷ lệ chất tạo gel dầu khác nhau	301
Bảng PL VI.4. Tính chất của oleogel ở các nhiệt độ làm mát khác nhau	303
Bảng PL VII.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến hàm lượng ẩm của xúc xích	313
Bảng PL VII.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến pH của xúc xích.....	313
Bảng PL VII.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến tổng vi sinh vật hiếu khí (log cfu/g) của xúc xích.....	313
Bảng PL VII.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến độ cứng (N) của xúc xích	314
Bảng PL VII.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến độ đàn hồi của xúc xích	314
Bảng PL VII.6. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến độ dai bán rắn (N) của xúc xích.....	314
Bảng PL VII.7. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến độ dai rắn (N) của xúc xích	314
Bảng PL VII.8. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến độ cố kết của xúc xích	315

Bảng PL VIII.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến hàm lượng ẩm (%) của xúc xích	319
Bảng PL VIII.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến pH của xúc xích.....	319
Bảng PL VIII.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến tổng vi sinh vật hiếu khí (log cfu/g) của xúc xích	319
Bảng PL VIII.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến độ cứng của xúc xích....	320
Bảng PL VIII.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến độ đàn hồi của xúc xích	320
Bảng PL VIII.6. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến độ dai bán rắn (N) của xúc xích	320
Bảng PL VIII.7. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến độ dai rắn (N) của xúc xích	320
Bảng PL VIII.8. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến độ cố kết của xúc xích..	321

DANH MỤC HÌNH PHỤ LỤC

Hình PL I.1. Phụ phẩm nho	162
Hình PL I.2. Sắc ký đồ ion tổng	163
Hình PL I.3. Biểu đồ thay đổi hàm lượng ẩm của phụ phẩm nho ở các nhiệt độ khác nhau	175
Hình PL I.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho	175
Hình PL I.5. Biểu đồ thay đổi hàm lượng ẩm của phụ phẩm nho ở các mật độ sấy khác nhau	176
Hình PL I.6. Ảnh hưởng của mật độ sấy đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho	176
Hình PL I.7. Biểu đồ thay đổi hàm lượng ẩm của phụ phẩm nho ở các tốc độ gió khác nhau	177
Hình PL I.8. Ảnh hưởng của tốc độ gió đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho	177
Hình PL II.1. Ảnh hưởng của loại enzyme đến hiệu quả trích ly	179
Hình PL II.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly	183
Hình PL II.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích ly	184
Hình PL II.4. Ảnh hưởng thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly	185
Hình PL III.1. Ảnh hưởng của mức năng lượng siêu âm đến hiệu quả trích ly	192
Hình PL III.2. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hiệu quả trích ly	194
Hình PL III.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly	195
Hình PL III.4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly	197
Hình PL IV.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD đến hiệu quả trích ly	202
Hình PL IV.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung đến hiệu quả trích ly	204
Hình PL IV.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly bằng DES choline chloride và lactic acid	205
Hình PL IV.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid	207

Hình PL IV.5. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid	208
Hình PL IV.6. Ảnh hưởng của (a) tỷ lệ HBA: HBD và (b) tỷ lệ nước bổ sung đến quá trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride, glycerol và citric acid.....	209
Hình PL IV.7. Ảnh hưởng của (a) tỷ lệ dung môi: nguyên liệu và (b) nhiệt độ đến quá trình trích ly bằng DES choline chloride, glycerol và citric acid	211
Hình PL IV.8. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES choline chloride, glycerol và citric acid	211
Hình PL V.1. Hiệu suất thu hồi ở các loại vỏ bao khác nhau	226
Hình PL V.2. Hiệu quả vi bao ở các loại vỏ bao khác nhau	227
Hình PL V.3. XRD của bột vi bao ở các loại vỏ bao khác nhau.....	230
Hình PL V.4. FTIR của bột vi bao ở các loại vỏ bao khác nhau	231
Hình PL V.5. DSC của bột vi bao ở các loại vỏ bao khác nhau	233
Hình PL V.6. SEM của bột vi bao ở các loại vỏ bao khác nhau.....	234
Hình PL V.7. Hiệu suất thu hồi của các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau	236
Hình PL V.8. Hiệu quả vi bao của các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau	238
Hình PL V.9. SEM của bột vi bao ở các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau	240
Hình PL V.10. Hiệu suất thu hồi của các tỷ lệ giữa các loại vỏ bao khác nhau	242
Hình PL V.11. Hiệu quả vi bao của các tỷ lệ giữa các loại vỏ bao khác nhau	243
Hình PL V.12. SEM của bột vi bao ở các tỷ lệ giữa các loại vỏ bao khác nhau	245
Hình PL V.13. Phân bố kích thước hạt của bột vi bao ở tốc độ 8.100 vòng/phút	250
Hình PL V.14. Phân bố kích thước hạt của bột vi bao ở tốc độ 10.800 vòng/phút	251
Hình PL V.15. SEM của bột vi bao ở các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau...	253
Hình PL V.16. Hiệu suất thu hồi ở các nhiệt độ không khí sấy dầu vào khác nhau...	254
Hình PL V.17. Hiệu quả vi bao ở các nhiệt độ không khí sấy dầu vào khác nhau.....	255
Hình PL V.18. SEM của bột vi bao ở các nhiệt độ không khí sấy dầu vào khác nhau	259
Hình PL V.19. Hiệu suất thu hồi ở các tốc độ dòng nhập liệu khác nhau	260
Hình PL V.20. Hiệu quả vi bao ở các tốc độ dòng nhập liệu khác nhau	261
Hình PL V.21. SEM của bột vi bao ở các tốc độ dòng nhập liệu khác nhau.....	265
Hình PL V.22. Đường kính vòng kháng khuẩn của bột vi bao tối ưu	293

Hình PL V.23. MIC của bột vi bao tối ưu.....	294
Hình PL VI.1. Mẫu oleogel quan sát ở điều kiện nhiệt độ phòng ở hai công thức khác nhau	297
Hình PL VI.2. Hình ảnh oleogel ở các công thức khác nhau	297
Hình PL VI.3. Mẫu oleogel quan sát ở điều kiện nhiệt độ phòng ở các tỷ lệ BW: F90 khác nhau	299
Hình PL VI.4. Hình ảnh oleogel ở các tỷ lệ BW: F90 khác nhau	300
Hình PL VI.5. Mẫu oleogel quan sát ở điều kiện nhiệt độ phòng ở các tỷ lệ chất tạo gel dầu khác nhau	301
Hình PL VI.6. Hình ảnh oleogel ở các tỷ lệ chất tạo gel dầu khác nhau	302
Hình PL VI.7. Mẫu oleogel quan sát ở điều kiện nhiệt độ phòng ở nhiệt độ làm mát khác nhau	304
Hình PL VI.8. Hình ảnh oleogel ở các nhiệt độ làm mát khác nhau.....	305
Hình PL VI.9. Đường kính vòng kháng khuẩn của oleogel tối ưu	311
Hình PL VI.10. MIC kháng khuẩn của oleogel tối ưu	312

PHỤ LỤC I

Phân tích thành phần hóa học, các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho

Phụ lục I.1. Phụ phẩm nho



Phụ phẩm nho



Cành



Hạt



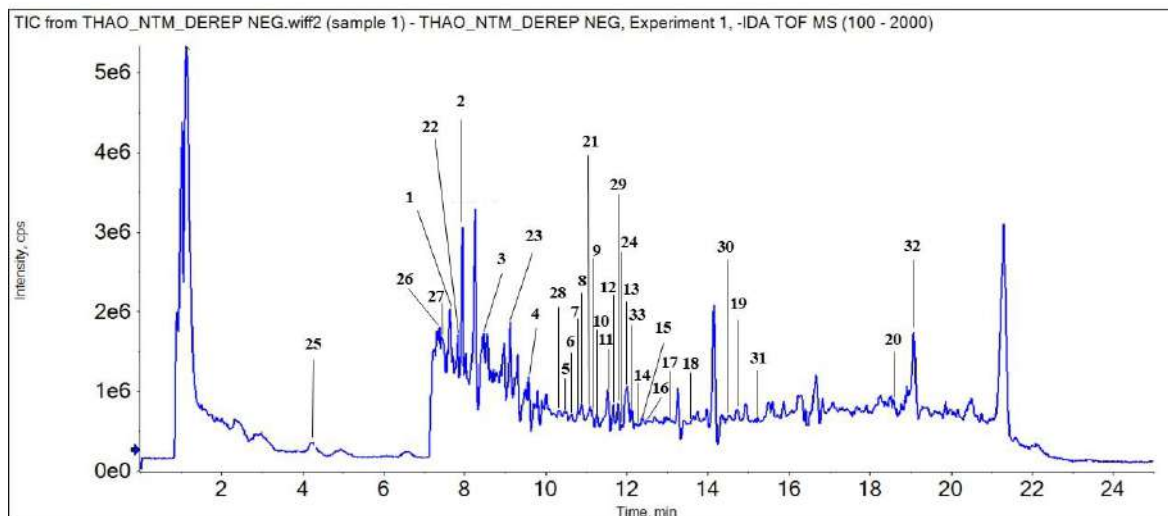
Vỏ



Bột phụ phẩm

Hình PL I.1. Phụ phẩm nho

Phụ lục I.2. Sắc ký đồ ion tổng (TIC) trong phân tích định danh các hợp chất trong dịch trích ly phụ phẩm nho



Hình PL I.2. Sắc ký đồ ion tổng

Bảng PL I.1. Các hợp chất dự đoán trong sắc ký đồ ion tổng

STT	Hợp chất dự đoán	STT	Hợp chất dự đoán
1	Procyanidin B2	18	3,5'-Dihydroxy-4,6,7'-trimethoxyflavone
2	(+)-Catechin	19	Pinocembrin
3	Flavanomarein	20	Vitexin 4-O-glucoside
4	Quercitrin	21	Syringic acid
5	Neochlorogenic acid	22	Caftaric acid
6	Procyanidin B1	23	Ethyl gallate
7	Procyanidin C1	24	Ethyl syringate
8	(-)-Catechin	25	Gallic acid
9	Hyperoside	26	Protocatechuic acid-O-hexoside
10	Astilbin	27	Protocatechuic acid
11	Nepetin 7-glucoside	28	4-Hydroxybenzoic
12	Engeletin	29	(-)-Secoisolariciresinol
13	3',4',5,7-Tetrahydroxy-3-methoxyflavone (quercetin 3-methyl ether hoặc isorhamnetin)	30	Honokiol
14	Kaempferol	31	Maslinic acid
15	Quercetin	32	Oleanolic acid
16	3,4'-Dimethoxy-3,5,7-trihydroxyflavone	33	Resveratrol
17	Naringenin		

Phụ lục I.3. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Phụ lục I.3.1. Phương pháp định tính các nhóm chất

❖ Định tính alkaloids

- **Phản ứng Hager:** 2 mL dịch trích bằng dung môi được cho vào ống nghiệm. Vài giọt thuốc thử Hager được thêm vào. Kết tủa vàng xuất hiện thể hiện sự hiện diện của alkaloid (Mukherjee, 2019).

- **Phản ứng Wagner:** Dịch trích ly dung môi được thêm vài giọt thuốc thử Wagner. Sự hình thành của kết tủa nâu/ đỏ thể hiện sự hiện diện của alkaloids (Mukherjee, 2019).

❖ Định tính glycosides:

- **Phản ứng Kellar-Kiliani:** Dịch trích được trộn với 2 mL acetic acid băng, bổ sung 1 – 2 giọt dung dịch FeCl_3 2%. Sau đó, 2 mL H_2SO_4 đặc được thêm từ từ vào hỗn hợp. Vòng màu nâu đỏ ở giữa các pha cho thấy sự có mặt của glycosides (Yadav và Agarwala, 2011).

❖ Định tính flavonoids:

- **Phản ứng với kiềm (Alkaline Reagent test):** Dung dịch NaOH 10% được cho vào 2 mL dịch trích ly với khoảng 2 – 3 giọt. Sau đó, 2 mL HCl loãng được bổ sung. Sự tồn tại của flavonoid cho thấy một dung dịch màu vàng với NaOH trở nên không màu sau khi thêm HCl loãng (Pandey và Tripathi, 2014).

- **Phản ứng với chì acetate (Lead acetate test):** Vài giọt dung dịch chì acetate 20% được cho vào 2 mL dịch trích ly. Kết tủa trắng thể hiện sự hiện diện của flavonoid (Tyagi và Agarwal, 2017).

❖ Định tính tannins

- **Phản ứng với Gelatine:** 2 – 3 giọt gelatine 1% được thêm vào ống nghiệm có chứa 2 mL dịch trích. Sự hình thành tủa bông màu trắng thể hiện sự hiện diện của tannin (Shaikh và Patil, 2020).

- **Phản ứng Braymer:** 2 mL nước cất và 2 giọt FeCl_3 5% được thêm vào ống nghiệm chứa 2 mL dịch trích. Kết tủa màu xanh lá thể hiện sự hiện diện của tannin (Akter và cộng sự, 2018).

❖ **Định tính saponins:**

- **Phản ứng tạo bọt (Foam test):** 5 mL nước cất và 0,1 g Na_2CO_3 được thêm vào ống nghiệm chứa 5 mL dịch trích và lắc mạnh. Lốp bọt ổn định trong 15 phút cho thấy hiện diện của saponin (Pandey và Tripathi, 2014).

- **Phản ứng tạo bọt (Frothing test):** 2 mL dịch trích được thêm vào ống nghiệm hoặc ống ly tâm có chia vạch, định mức đến 10 mL bằng nước cất. Huyền phù trong ống được lắc trong 15 phút. Một lớp bọt dài 2 cm cho thấy sự có mặt của saponin (Shaikh và Patil, 2020).

❖ **Định tính Phytosterols**

- **Phản ứng Liebermann Burchard:** 2 giọt chloroform được cho vào ống nghiệm chứa 2 mL dịch trích bằng ethanol, sau đó lọc dung dịch. Tiếp theo, 2 giọt acetic acid khan được bổ sung; đun sôi sau đó làm lạnh. H_2SO_4 đặc (2 mL) được thêm vào. Vòng màu nâu cho thấy sự xuất hiện của phytosterol (Pandey và Tripathi, 2014).

❖ **Định tính Diterpenes**

- **Phản ứng với đồng acetate (Copper acetate test):** 2 mL dịch trích, 3 giọt đồng (II) acetate 2% được thêm vào ống nghiệm. Dung dịch đổi màu xanh lục báo hiệu sự hiện diện của diterpenes (emerald green) (Pandey và Tripathi, 2014).

❖ **Định tính carbohydrates:**

- **Phản ứng Fehling:** 1 mL dịch trích ly, 1 mL Fehling's A và 1 mL Fehling's B được thêm vào ống nghiệm, đun cách thủy 10 phút. Kết tủa đỏ thể hiện sự hiện diện của carbohydrate (Yadav và cộng sự, 2014)

- **Phản ứng Molisch:** 2 mL dịch trích ly và 10 mL nước cất được cho vào ống nghiệm, thêm 2 giọt dung dịch thuốc thử (0,4 g naphthol trong 2 mL ethanol). Ống nghiệm được đặt nghiêng và thêm từ từ 2 mL H_2SO_4 đặc xuống thành ống nghiệm. Sự hình thành của vòng màu tím ở đường giao nhau cho biết sự hiện diện của carbohydrate (Elzagheid, 2018).

Phụ lục I.3.2. Định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học

Bột phụ phẩm nho được trích ly bằng ethanol 50%, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 15:1 (v/w) và thời gian trích ly là 2 giờ. Hỗn hợp được ly tâm ở 4.000 vòng/phút trong 15 phút. Dịch trích ly được lọc bằng đầu lọc syringe sắc ký PTFE 0,45 μm . Dịch trích ly sau đó được định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ bằng một hệ thống

sắc ký lỏng khối phổ hai lần (Liquid Chromatography-Mass spectrometry/ Mass spectrometry – LC-MS/MS) sử dụng máy LC-MS ExionLCTM - X500R QTOF (AB Sciex, Hoa Kỳ) với cột Hypersil GOLD 150 x 2,1 mm; 3µm (Thermo Scientific, Hoa Kỳ). Hệ thống sử dụng đầu dò ESI, kiểu quét ion âm, khảo sát m/z từ 50 – 1000. Thể tích tiêm mẫu là 2 µL. Sử dụng pha động gồm 0,1% formic acid trong nước (A) và 0,1% formic acid trong acetonitrile (B). Chương trình phân tích bắt đầu với 98% A (giữ trong 1 phút), từ 98 – 2% A (19 phút), 2% A (giữ trong 5 phút).

Phụ lục I.3.3. Hàm lượng ẩm

Hàm lượng ẩm được xác định bằng máy sấy ẩm hồng ngoại MX-50 (A&D, Nhật Bản) và phương pháp sấy đến khối lượng không đổi ở 105°C, theo công thức:

$$\text{Hàm lượng ẩm (ww\%)} = \frac{\text{Khối lượng mẫu trước sấy} - \text{Khối lượng mẫu sau khi sấy}}{\text{Khối lượng mẫu trước khi sấy}} \times 100$$

Phụ lục I.3.4. Hàm lượng protein tổng

Hàm lượng protein (dw%) được xác định bằng phương pháp Kjeldahl từ hàm lượng nitơ theo TCVN 8134:2009 (ISO 937:1978).

Phụ lục I.3.5. Hàm lượng tro

Hàm lượng tro (dw%) được xác định theo Nielsen (1998). Nung chén nung ở nhiệt độ 550°C (1 giờ) bằng lò nung ELF 11/6 (Carbolite, Anh), sau đó hạ nhiệt và làm nguội trong bình hút ẩm, xác định khối lượng chén m_1 . Cân khoảng 5 – 10 g mẫu (đã xác định hàm lượng ẩm) vào chén nung, nung ở 550°C trong 12 – 18 giờ. Tắt lò nung và chờ đến khi nhiệt độ hạ thấp hơn 250°C. Sử dụng kẹp để chuyển chén nung vào trong bình hút ẩm, đợi đến khi chén nung nguội hoàn toàn trước khi cân và xác định m_2 .

$$\text{Hàm lượng tro (dw\%)} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100$$

m_1 (g): khối lượng chén nung ban đầu

m_2 (g): khối lượng chén nung và mẫu sau khi nung

m_0 (g): khối lượng vật chất khô ban đầu

Phụ lục I.3.6. Hàm lượng chất béo tổng

Hàm lượng chất béo tổng (dw%) được xác định theo Nielsen (1998). Sấy khô nguyên liệu đến khối lượng không đổi, nghiền nhỏ nếu nguyên liệu có kích thước lớn.

Cân khoảng 1 – 1,5 g nguyên liệu, cho vào túi giấy đã được sấy khô và xác định khối lượng. Đặt túi giấy vào bình trụ chứa mẫu. Bình chứa mẫu được lắp vào bình cầu và lắp ống sinh hàn. Qua đầu ống sinh hàn, dùng phễu cho dung môi vào bình chứa và bình cầu sao cho một lượng dung môi đã chảy xuống bình cầu và một lượng trên bình chứa còn đủ ngập mẫu. Dùng bông làm nút đầu ống sinh hàn. Mở nước lạnh vào ống sinh hàn. Mở công tắc nhiệt và bắt đầu trích ly chất béo. Trích trong khoảng 4 giờ với tốc độ năm đến sáu giọt mỗi giây hoặc khoảng 16 giờ với tốc độ hai hoặc ba giọt mỗi giây cho đến khi trích ly hoàn toàn hết chất béo. Thử bằng cách lấy vài giọt diethyl ether ở cuối ống syphon nhỏ lên giấy lọc, dung môi bay hơi không để lại vết dầu loang thì kết thúc. Cho ether chảy xuống bình cầu. Lấy túi giấy ra, sấy ở 100°C đến khối lượng không đổi. Làm nguội trong bình hút ẩm, cân xác định khối lượng m_2 . Hàm lượng chất béo được xác định theo công thức:

$$\text{Hàm lượng chất béo tổng (dw\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_0} \times 100\%$$

Trong đó:

m_1 (g): khối lượng túi giấy và mẫu ban đầu

m_2 (g): khối lượng túi giấy và mẫu sau khi trích chất béo và sấy khô

m_0 (g): khối lượng vật chất khô ban đầu

Phụ lục I.3.7. Hàm lượng carbohydrate

Carbohydrate tổng được xác định bằng công thức:

$$\text{Hàm lượng carbohydrate (dw\%)} = 100 - (m_p - m_a - m_l)$$

m_p : hàm lượng protein tổng của mẫu (dw%)

m_a : hàm lượng tro của mẫu (dw%)

m_l : hàm lượng chất béo tổng của mẫu (dw%)

Phụ lục I.3.8. Hàm lượng phenolic tổng

Phương pháp xác định hàm lượng phenolic tổng (TPC) được thực hiện theo phương pháp của Škulcova và cộng sự (2018) có chỉnh sửa. Dịch trích ly hoặc dung dịch chuẩn (0,5 mL) được trộn với 0,5 mL dung dịch Folin-Ciocalteu 10% và ủ 5 phút ở nhiệt độ phòng, tiếp theo bổ sung 2,5 mL dung dịch Na_2CO_3 20%. Dung dịch được lắc đều, ủ 1 giờ (nhiệt độ phòng) và đo độ hấp thụ ở bước sóng 765 nm bằng máy UV-Vis

Agilent 8453 (Agilent technologies, Hoa Kỳ). Gallic acid được sử dụng là chất chuẩn và hàm lượng phenolic tổng được thể hiện bằng mg gallic acid tương đương trong đơn vị khối lượng (mg GAE/g DW). Đối với bột sấy phun: bột được hòa tan với nước cất (1:5, w/w). Hỗn hợp được ly tâm 4.000 vòng/ phút trong 10 phút. Dịch trong sau đó được phân tích tương tự dịch trích ly.

Phụ lục I.3.9. Hàm lượng saponin tổng

Phương pháp xác định hàm lượng saponin tổng (TSC) theo phương pháp quang phổ (Tan và cộng sự, 2014). Dịch trích (0,3 mL) được trộn với vanillin 8% (w/v) (0,3 mL) và sulphuric acid 72% (v/v) (3 mL). Ủ hỗn hợp ở nhiệt độ 60°C trong 15 phút và làm nguội trong nước đá trong 10 phút. Sau đó, thực hiện đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 560 nm bằng máy UV-Vis Agilent 8453 (Agilent technologies, Hoa Kỳ). Aescin được sử dụng là chất chuẩn. Hàm lượng saponin tổng được thể hiện bằng mg aescin tương đương trong đơn vị khối lượng (mg AE/g DW). Đối với bột sấy phun: bột được hòa tan với nước cất (1:5, w/w). Hỗn hợp được ly tâm 4.000 vòng/ phút trong 10 phút. Dịch trong sau đó được phân tích tương tự dịch trích ly.

Phụ lục I.3.10. Hàm lượng proanthocyanidin

Phân tích hàm lượng proanthocyanidin tổng (PAC) được tiến hành theo phương pháp dựa trên mô tả của Li và cộng sự (2006). Dịch trích (0,5 mL) được trộn với 0,3 mL dung dịch vanillin 4% (w/v) và 1,5 mL dung dịch HCl 36%. Sau đó, hỗn hợp được ủ 15 phút (nhiệt độ phòng). Tiếp theo, thực hiện đo độ hấp thụ ở bước sóng 500 nm bằng máy UV-Vis Agilent 8453 (Agilent technologies, Hoa Kỳ). Catechin được sử dụng là chất chuẩn. Trong đó, kết quả được thể hiện bằng mg catechin tương đương trong đơn vị khối lượng (mg CE/g DW). Đối với bột sấy phun: bột được hòa tan với nước cất (1:5, w/w). Hỗn hợp được ly tâm 4.000 vòng/ phút trong 10 phút. Dịch trong sau đó được phân tích tương tự dịch trích ly.

Phụ lục I.3.11. Định lượng các hợp chất phenolic đơn lẻ

Các hợp chất phenolic đơn lẻ được phân tích bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (High-Performance Liquid Chromatography–HPLC) sử dụng máy HPLC SPD-20A (Shimadzu, Nhật Bản). Dịch trích ly tối ưu được pha loãng với methanol ở tỷ lệ 1:2 (v/v), sau đó lọc bằng đầu lọc syringe sắc ký PTFE 0,45 µm. Việc phân tách được thực

hiện với cột Inertsil ODS – 3 (4,6 x 250 mm, cỡ hạt 4 µm). Điều kiện phân tích tương ứng với từng nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học theo phương pháp của Kammerer và cộng sự (2004) có chỉnh sửa. Các pha động được sử dụng bao gồm (A) formic acid 0,5% và (B) acetonitrile 100%. Chương trình rửa giải: 0 – 25 phút, 10 – 30% B; 25 – 40 phút, 30 – 40% B; 40 – 50 phút, 40 – 50% B; 50 – 55 phút, 50 – 10% B; cân bằng 5 phút. Thể tích mẫu 10 µL. Tốc độ dòng được giữ ở mức 1,0 mL/phút. Gallic acid, catechin, epicatechin, myricetin và rutin được xác định ở 280 nm, trong khi quercetin và kaempferol được xác định ở 360 nm. Phổ chuẩn được trình bày trong **Phụ lục IV.3**.

Phụ lục I.3.12. Hoạt tính kháng khuẩn

Đường kính vòng kháng khuẩn (mm) và nồng độ ức chế tối thiểu đã được phân tích. Các vi sinh vật mục tiêu được sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn bao gồm *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 và *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Các dịch trích tối ưu và dung môi ở các nồng độ khác nhau được hút vào các giếng thạch đường kính 6 mm trên đĩa petri đã trải vi khuẩn thử nghiệm. Chloramphenicol (20 µL ở nồng độ 1 mg/mL) là đối chứng dương, trong khi nước cất được sử dụng làm đối chứng âm cho phân tích dịch trích, dung môi và bột sấy phun thì DMSO làm đối chứng âm cho phân tích oleogel. Đường kính vòng kháng khuẩn được xác định sau khi ủ các đĩa petri trong 24 giờ ở 37°C (Sarwar và cộng sự, 2018). Đối với dịch trích và dung môi thì các thể tích được hút vào mỗi giếng là 10, 20, 30 và 40 µL. Đối với bột sấy phun thì thể tích dịch pha được hút vào mỗi giếng là 10, 20, 30 và 40 µL (nồng độ dịch pha từ bột sấy phun là 800 mg/mL). Đối với oleogel thì thể tích dịch pha được hút vào mỗi giếng là 10, 20, 30 và 40 µL (nồng độ dịch từ oleogel là 667 mg/mL).

Nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum inhibitory concentration – MIC) đã được phân tích dựa trên phương pháp của Balouiri và cộng sự (2016) có sửa đổi. Các nồng độ khác nhau của mẫu được chuẩn bị và hút vào các phiên vi lượng 96 giếng. Mỗi giếng gồm 150 µL môi trường có vi khuẩn và 50 µL mẫu thử. Sau khi ủ ở 37°C trong 16 – 24 giờ, 20 µL resazurin 0,01% đã được thêm vào mỗi giếng. MIC được xác định bằng cách quan sát sự không đổi màu của resazurin, cho thấy nồng độ thấp nhất ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Đối với dịch trích và dung môi thì nồng độ trong giếng thử là 0,5 –

25 µL/mL. Đối với bột sấy phun thì nồng độ trong giếng thử là 20 – 100 mg/mL. Đối với oleogel thì nồng độ trong giếng thử là 15 – 150 mg/mL.

Phụ lục I.3.13. Hoạt tính kháng oxy hóa

Khả năng kháng oxy hóa được xác định bằng các thử nghiệm 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) và 2,2-azinobis [axit 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic] (ABTS) dựa trên phương pháp của Kozłowska và cộng sự (2022) có sửa đổi. Khả năng kháng oxy hóa được thể hiện với giá trị IC₅₀, biểu thị nồng độ mẫu cần thiết để ức chế được 50% gốc tự do DPPH hoặc ABTS.

Đối với DPPH, 0,2 mL mẫu có nồng độ khác nhau được kết hợp với DPPH 0,1 mM (1 mL) trong methanol và ủ 10 phút (nhiệt độ phòng). Độ hấp thụ dung dịch được đo ở 517 nm. Để đánh giá hoạt tính dọn gốc ABTS, dung dịch gốc được chuẩn bị bằng cách phối trộn ABTS (2,6 mM) và kali persulfate (K₂S₂O₈) (7,4 mM) theo tỷ lệ 1:1 (v/v) và để trong tối 12 giờ (nhiệt độ phòng). Dung dịch gốc được pha loãng với nước để đạt độ hấp thụ 1,00 ± 0,02 ở 734 nm trước khi phân tích. Sau đó, 1,0 mL mẫu được kết hợp với dung dịch ABTS và ủ 15 phút (trong bóng tối). Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 734 nm.

Phụ lục I.3.14. Hiệu suất thu hồi hợp chất

Hiệu suất thu hồi (EY, %) được tính toán dựa trên hàm lượng của TPC, TSC và PAC trong bột sấy phun so với hàm lượng TPC, TSC và PAC trong dung dịch trước khi sấy phun. EY phản ánh lượng hợp chất có hoạt tính sinh học được giữ lại sau quá trình sấy phun và được tính bằng công thức sau (Dang và cộng sự, 2024):

$$EY (\%) = \frac{\text{Hàm lượng của hợp chất hoạt tính sinh học trong bột}}{\text{Hàm lượng của hợp chất hoạt tính sinh học trong dịch trước sấy phun}} \times 100$$

Trong đó: Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột và trong dịch trích ly được phân tích như được mô tả trong các Phụ lục I.3.8, Phụ lục I.3.9 và Phụ lục I.3.10.

Phụ lục I.3.15. Hiệu quả vi bao

Hiệu quả vi bao (EE, %) biểu thị tỷ lệ phần trăm hợp chất có hoạt tính sinh học được vi bao thành công trong các hạt bột, không bao gồm các hợp chất được hấp phụ trên bề mặt hạt bột. EE được xác định theo các phương pháp của Perković và cộng sự

(2024) và Vu và cộng sự (2023). Cụ thể, 1 g bột sấy phun được trộn với 3 mL ethanol 80% (w/v) trong ống nghiệm, lắc nhẹ và để ở nhiệt độ phòng trong 1 phút để trích các hợp chất trên bề mặt. Sau đó, hỗn hợp được lọc bằng đầu lọc mẫu PTFE 0,45 µm và dịch lọc được phân tích TPC, TSC và PAC bằng các phương pháp được mô tả trong các Phụ lục I.3.8, Phụ lục I.3.9 và Phụ lục I.3.10. Hiệu quả vi bao theo TPC (EE(TPC)), TSC (EE(TSC)) và PAC (EE(PAC)) được tính bằng các phương trình sau:

$$EE(TPC) (\%) = \frac{TPC - SPC}{TPC} \times 100$$

$$EE(TSC) (\%) = \frac{TSC - SSC}{TSC} \times 100$$

$$EE(PAC) (\%) = \frac{PAC - SPAC}{PAC} \times 100$$

– TPC, TSC và PAC lần lượt là hàm lượng tổng phenolic (mg GAE/g DW), saponin (mg AE/g DW) và proanthocyanidin (mg CE/g DW) trong bột vi bao, được phân tích theo phương pháp được mô tả ở các Phụ lục I.3.8, Phụ lục I.3.9 và Phụ lục I.3.10.

– SPC, SSC và SPAC lần lượt là hàm lượng TPC (mg GAE/g DW), TSC (mg AE/g DW) và PAC (mg CE/g DW) trên bề mặt của hạt vi bao.

Phụ lục I.3.16. Hoạt độ nước

Hoạt độ nước (a_w) của mẫu được phân tích bằng máy đo hoạt độ nước Aqualab Series 3 (Decagon Devices, Hoa Kỳ) ở nhiệt độ môi trường.

Phụ lục I.3.17. Phân tích nhiễu xạ tia X

Nhiễu xạ tia X của hạt vi bao được tiến hành bằng máy đo nhiễu xạ tia X để bàn D2 Phaser (Bruker, Đức), hoạt động ở 30 kV và 10 mA. Mẫu được đặt trong khoang của giá đỡ mẫu đĩa. Dữ liệu nhiễu xạ được thu thập bằng bức xạ Cu K α ($\lambda = 0,154060$ nm) trong phạm vi 2θ từ $5^\circ - 40^\circ$, với tốc độ quét 4° mỗi phút và bước $0,02^\circ$, theo phương pháp do Frank và cộng sự (2021) mô tả. Dữ liệu XRD được sử dụng nhằm đánh giá độ kết tinh và tổ chức cấu trúc của bột vi bao.

Phụ lục I.3.18. Phân tích nhiệt quét vi sai

Kỹ thuật quét nhiệt vi sai được thực hiện để đánh giá các tính chất nhiệt có thể có trong các hạt vi bao dựa theo phương pháp của Negrao-Murakami và cộng sự (2016). Đường cong DSC được ghi nhận bằng máy phân tích nhiệt quét vi sai DSC300 Caliris Select (NETZSCH, Đức). Khoảng 2 mg của mỗi mẫu được đặt trong các đĩa nhôm và

phân tích dưới luồng không khí tổng hợp động (100 mL/phút), với tốc độ gia nhiệt từ 30°C đến 400°C (tốc độ 10°C/ phút). Hệ thống DSC đã được hiệu chuẩn trước bằng indium. Các biểu đồ nhiệt thu được đã được phân tích để đánh giá các quá trình chuyển đổi nhiệt như quá trình chuyển đổi thủy tinh, nóng chảy và phân hủy.

Phụ lục I.3.19. Phân tích hình thái hạt bột

Hình thái bề mặt của bột sấy phun được phân tích bằng kính hiển vi điện tử quét (Scanning electron microscope – SEM) phát xạ trường điện tử FESEM S4800 (Hitachi, Nhật Bản). Các mẫu bột được gắn trên các mẫu nhôm bằng băng dính carbon dẫn điện. Máy phủ E1045 Pt (Hitachi, Nhật Bản) được sử dụng để phủ một lớp mỏng bạch kim (Pt) lên mẫu. Các ảnh chụp vi mô tiêu biểu được chụp ở các độ phóng đại khác nhau để hình dung hình thái bề mặt hạt bột.

Phụ lục I.3.20. Phân tích quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier

FTIR được đo bằng máy quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier FTIR Cary 630 (Agilent Technologies, Hoa Kỳ). Phổ được ghi lại trong số sóng từ 650 – 4000 cm⁻¹ (độ phân giải 4 cm⁻¹) với 32 lần quét trên mỗi mẫu (Janiszewska-Turak và cộng sự, 2022).

Phụ lục I.3.21. Phân tích phân bố kích thước hạt

Phân bố kích thước hạt bột vi bao được xác định bằng máy đo kích thước hạt bằng nhiễu xạ laser LS 13 320 (Beckman Coulter, Hoa Kỳ). Hạt bột vi bao (0,88 g) được phân tán trong 20 mL nước khử ion và vortex. Sau đó, tiến hành đo kích thước hạt trên thiết bị.

Phụ lục I.3.22. Đường đẳng nhiệt hấp phụ ẩm

Bột vi bao tối ưu (2 g) được đặt trong các bình hút ẩm kín có chứa các dung dịch muối bão hòa bao gồm KCl, NaCl, K₂CO₃, KOH và CH₃COOK ở nhiệt độ phòng 25 ± 2°C trong tối thiểu 20 ngày (Dang và cộng sự, 2024). Hoạt độ nước tương ứng ghi nhận từ 0,11 đến 0,90. Dữ liệu độ ẩm cân bằng được ghi nhận và sử dụng các phương trình Guggenheim–Anderson–de Boer (GAB) và Brunauer-Emmett-Teller (BET) để dự đoán (Al-Muhtaseb và cộng sự, 2002). Công thức của phương trình GAB và BET lần lượt là:

$$\text{GAB: } M = \frac{M_0 C K a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)}$$

$$\text{BET: } M = \frac{M_0 C_1 a_w}{(1 - a_w)(1 - a_w + C a_w)}$$

Trong đó: M là độ ẩm, a_w là hoạt độ nước, M_0 là độ ẩm đơn lớp, C và K là hai thông số hấp phụ của đặc tính hấp phụ của bột trong phương trình GAB, C_1 là hằng số liên quan đến nhiệt lượng hấp phụ trong phương trình BET.

Phụ lục I.3.23. Độ hòa tan của bột sấy phun

Trộn 1 g bột sấy phun và 100 mL nước cất trong cốc thủy tinh và khuấy bằng máy khuấy từ RSM02HS (Phoenix, Đức) trong 3 phút. Sau đó, hỗn hợp được ly tâm ở tốc độ 3.000 vòng/phút bằng máy ly tâm Universal 320R (Hettich, Đức) trong 5 phút. Lấy dịch nổi vào cốc thủy tinh khô và sấy khô ở 105°C đến khối lượng không đổi. Độ hòa tan (%) được tính bằng chênh lệch khối lượng (Hadree và cộng sự, 2023).

Phụ lục I.3.24. Phân tích kính hiển vi ánh sáng phân cực

Cấu trúc vi mô của oleogel được quan sát bằng kính hiển vi phân cực DM 2500P (Leica, Đức). Khoảng 20 μ L oleogel được trải trên lam kính và quan sát dưới kính hiển vi. Hình ảnh được ghi nhận với độ gamma 8.0 sử dụng camera lạnh DFC450 (Leica, Đức) kết hợp phần mềm LAS v4.6 (Leica, Đức).

Phụ lục I.3.25. Độ nhớt của dịch trích ly

Độ nhớt (cP) của dịch trích ly được phân tích ở nhiệt độ phòng sử dụng máy đo lưu biến DV2TLVCJ0 (Brookfield, Hoa Kỳ) và đầu đo CP-40 ở tốc độ 100 vòng/phút. Dữ liệu được ghi nhận bằng phần mềm chuyên dụng Rheocal (Brookfield, Hoa Kỳ).

Phụ lục I.3.26. Độ nhớt của oleogel

Độ nhớt (Pa.s) của oleogel được phân tích ở nhiệt độ phòng sử dụng máy đo lưu biến DX2TRVKB0 (Brookfield, Hoa Kỳ) kết hợp với đầu đo dạng vane V-74. Mẫu được phân tích với tốc độ quay là 1 vòng/phút. Dữ liệu được ghi nhận bằng phần mềm chuyên dụng Rheocal (Brookfield, Hoa Kỳ).

Phụ lục I.3.27. Khả năng liên kết dầu của oleogel (%)

Khả năng liên kết dầu của oleogel được phân tích theo phương pháp ly tâm (Meng và cộng sự, 2019). Oleogel (1 g) được cân vào ống ly tâm 2 mL. Mẫu được ly tâm bằng máy ly tâm Universal 320R (Hettich, Đức) ở tốc độ 6.000 vòng/phút trong 15 phút. Sau đó, ống ly tâm được úp trên giấy lọc trong 10 phút nhằm loại bỏ lượng dầu tách ra. Giá trị OBC được tính theo công thức:

$$\text{OBC (\%)} = 1 - \frac{m_2 - m_3}{m_1 \times \% \text{ dầu thêm vào}}$$

Trong đó:

m_1 : Khối lượng mẫu

m_2 : Tổng khối lượng của ống ly tâm và mẫu

m_3 : Khối lượng sau khi dầu tách ra sau quá trình ly tâm

Phụ lục I.3.28. Phân tích kết cấu của xúc xích

Phương pháp TPA (Texture Profile Analysis) được ứng dụng với máy phân tích kết cấu Z1.0 (Zwick/Roell, Đức). Xúc xích sau khi bảo quản ở 4°C sẽ được để ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ sau đó cắt thành những mẫu có đường kính 2,5 cm, chiều cao 2 cm và được nén bằng một đầu đo dạng đĩa đường kính 45 mm, tốc độ đầu đo trước khi chạm mẫu là 50 mm/phút. Tính từ lúc đầu đo chạm mẫu khi giá trị lực nhận biết là 1 N với tốc độ của đầu đo là 60 mm/phút, nén đến 30% độ dày mẫu. Phân tích TPA sẽ cho kết quả về độ cứng (N), độ đàn hồi, độ dai bán rắn (N), độ dai rắn (N) và độ cố kết.

Phụ lục I.3.29. Tổng vi sinh vật hiếu khí, *E. coli*, *Coliform* (log cfu/g)

Phương pháp cấy dựa trên Tiêu chuẩn TCVN 9977:2013 về định lượng tổng vi sinh vật hiếu khí bằng phương pháp sử dụng đĩa đếm petrifilm và Tiêu chuẩn TCVN 9975:2013 Thực phẩm về định lượng *Escherichia coli* và *Coliform* bằng phương pháp sử dụng đĩa đếm petrifilm.

Phụ lục I.3.30. Chỉ tiêu màu sắc

Màu sắc được phân tích bằng máy CR-400 (Konica Minolta, Nhật Bản) sử dụng hệ màu CIE $L^*a^*b^*$. L^* đặc trưng cho độ sáng, giá trị a^* tương ứng từ màu xanh lá cây đến màu đỏ, giá trị b^* tương ứng từ màu xanh da trời đến màu vàng. Giá trị ΔE thể hiện sự khác biệt về màu sắc được tính toán (Mokrzycki và Tatol, 2011):

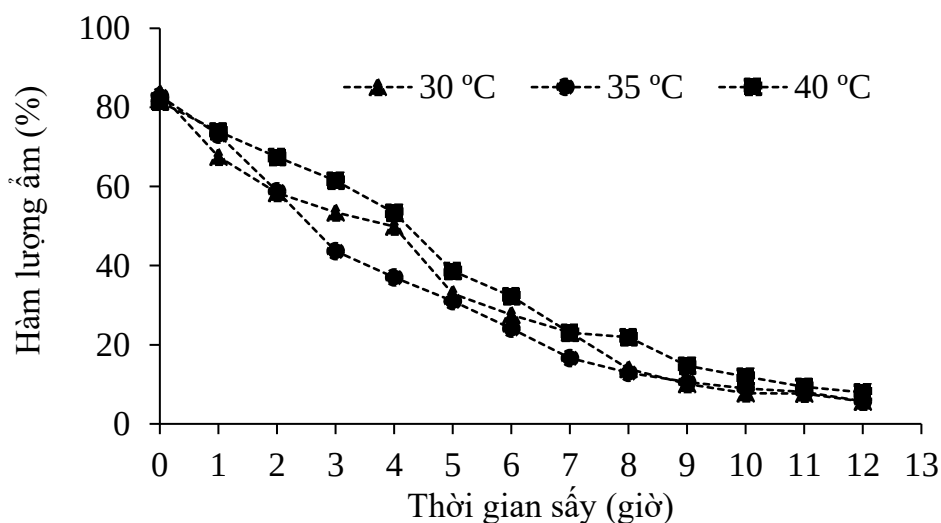
$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Phụ lục I.3.31. Chỉ tiêu pH

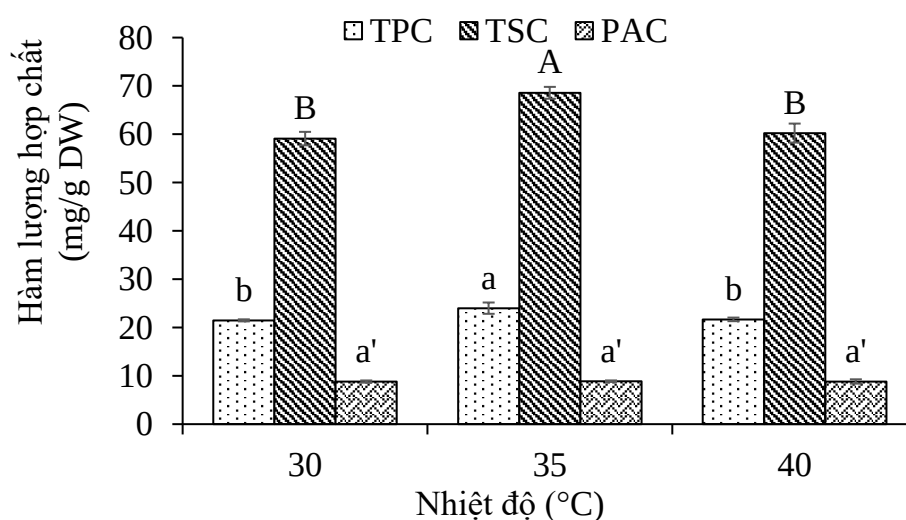
Cân 10 g xúc xích, đồng hóa với nước cất theo tỷ lệ mẫu: nước = 1:9 (w/v). Khuấy đều hỗn hợp, đo pH bằng máy pH HI98194 (Hanna, Việt Nam).

Phụ lục I.4. Kết quả khảo sát điều kiện sấy bơm nhiệt phụ phẩm nho

❖ Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến quá trình sấy bơm nhiệt phụ phẩm nho



Hình PL I.3. Biểu đồ thay đổi hàm lượng ẩm của phụ phẩm nho ở các nhiệt độ khác nhau

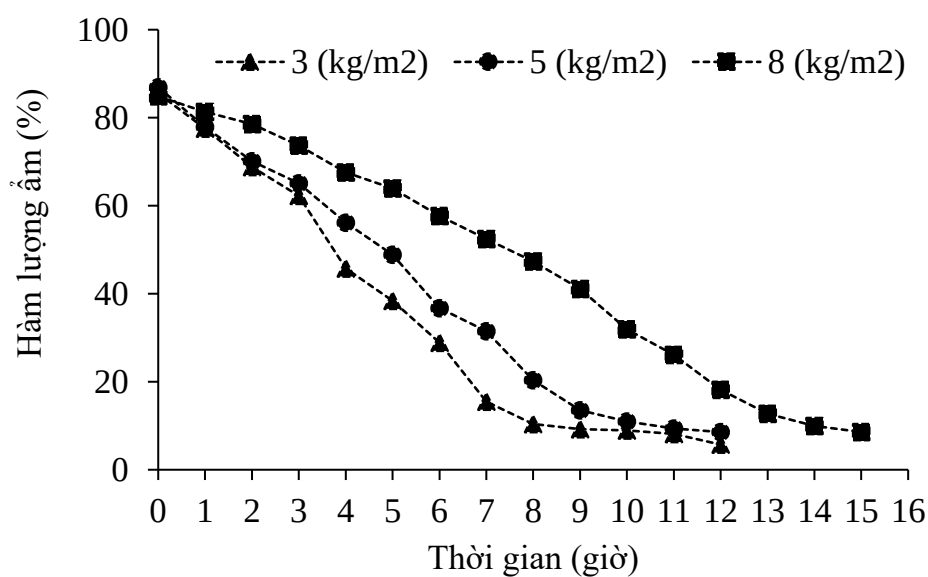


Hình PL I.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho

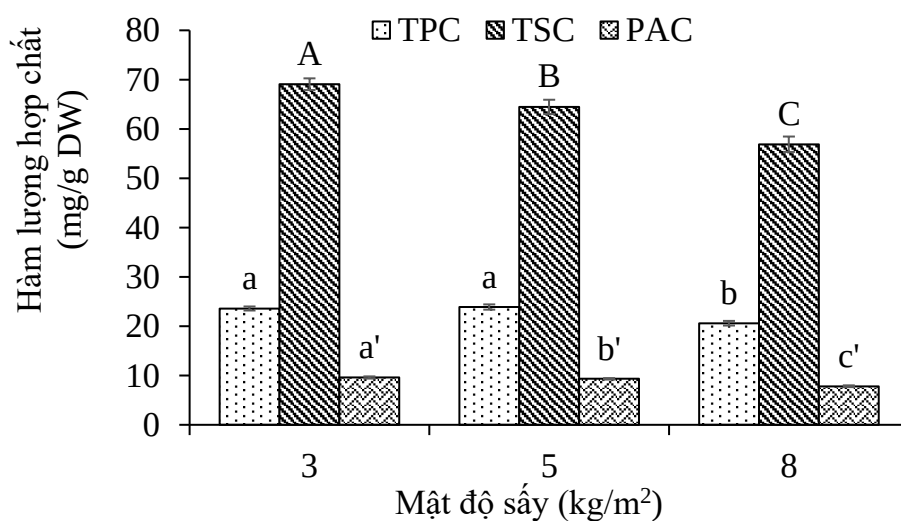
Bảng PL I.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến màu sắc và độ hóa nâu của phụ phẩm nho

Nhiệt độ (°C)	L*	a*	b*	BI
30	56,45 ^a ± 0,82	4,01 ^b ± 0,28	14,76 ^b ± 0,22	35,02 ^b ± 0,68
35	56,40^a ± 0,86	4,37^a ± 0,06	14,80^b ± 0,31	35,63^b ± 1,16
40	55,44 ^a ± 1,63	3,99 ^b ± 0,12	15,57 ^a ± 0,24	37,73 ^a ± 1,55

❖ Ảnh hưởng của mật độ sấy đến quá trình sấy bơm nhiệt phụ phẩm nho



Hình PL I.5. Biểu đồ thay đổi hàm lượng ẩm của phụ phẩm nho ở các mật độ sấy khác nhau

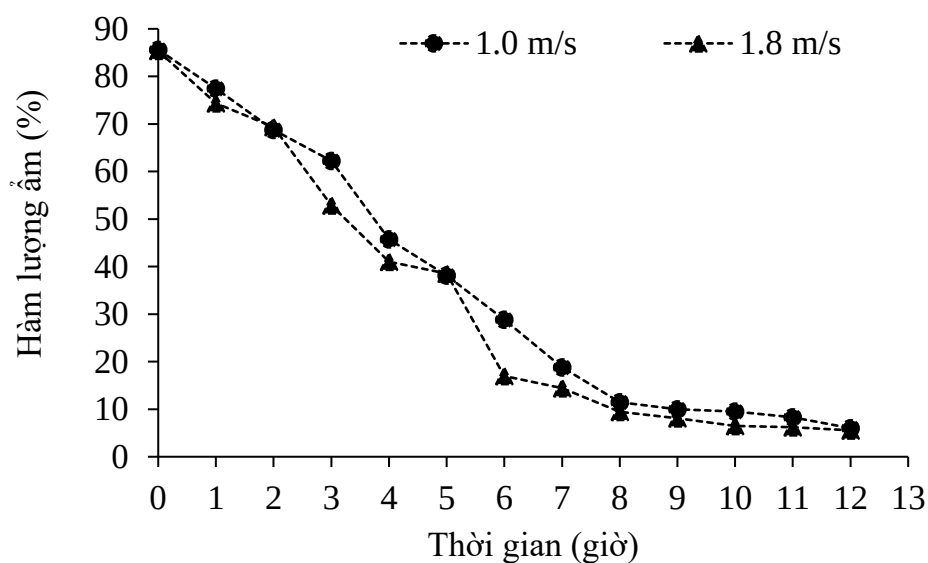


Hình PL I.6. Ảnh hưởng của mật độ sấy đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho

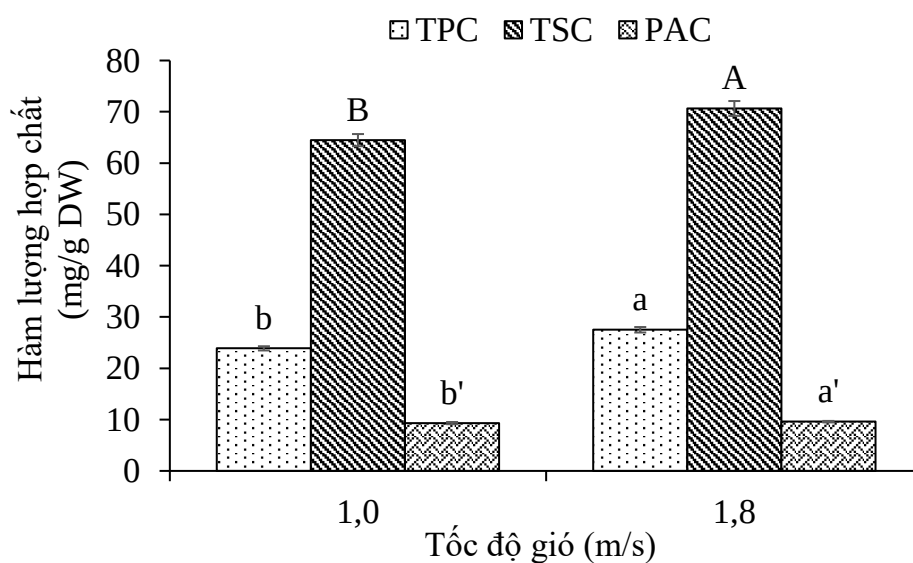
Bảng PL I.3. Ảnh hưởng của mật độ sấy đến màu sắc và độ hóa nâu của phụ phẩm nho

Mật độ sấy (kg/m²)	L*	a*	b*	BI
3	57,97 ^a ± 0,32	3,25 ^b ± 0,20	14,68 ^a ± 0,44	32,81 ^a ± 1,64
5	55,92 ^b ± 0,32	3,58 ^a ± 0,20	14,21 ^a ± 0,61	33,54 ^a ± 2,13
8	55,89 ^b ± 1,11	3,49 ^a ± 0,11	14,64 ^a ± 0,64	34,48 ^a ± 2,31

❖ Ảnh hưởng của tốc độ gió đến quá trình sấy bơm nhiệt phụ phẩm nho



Hình PL I.7. Biểu đồ thay đổi hàm lượng ẩm của phụ phẩm nho ở các tốc độ gió khác nhau



Hình PL I.8. Ảnh hưởng của tốc độ gió đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho

Bảng PL I.4. Ảnh hưởng của tốc độ gió đến màu sắc và độ hóa nâu của phụ phẩm nho

Tốc độ gió (m/s)	L*	a*	b*	BI
1,0	58,14 ^a ± 0,84	4,79 ^b ± 0,16	14,83 ^a ± 0,15	35,03 ^a ± 1,35
1,8	58,03 ^a ± 0,69	4,86 ^b ± 0,21	14,64 ^a ± 0,60	34,75 ^a ± 1,62

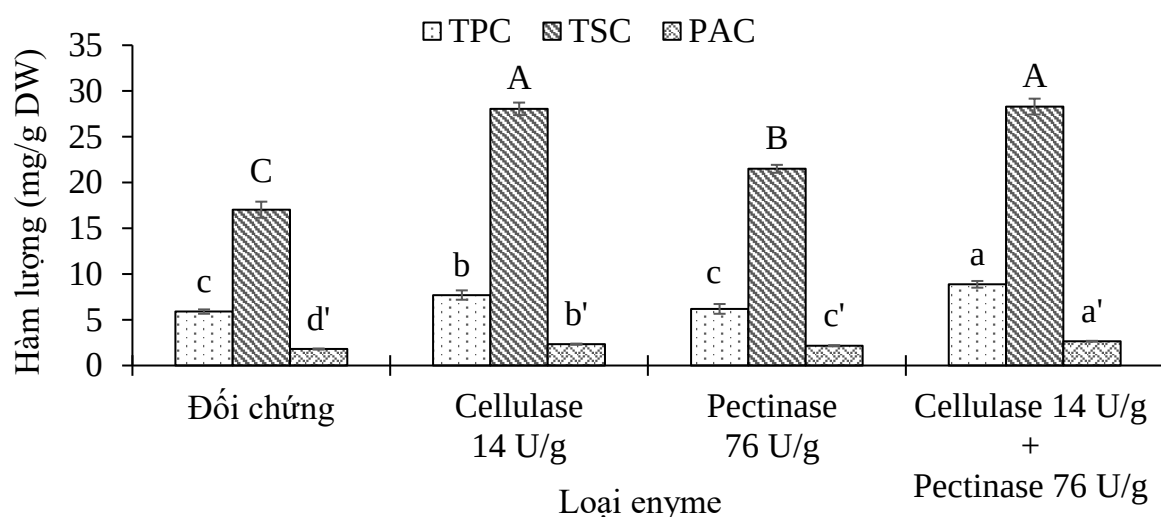
PHỤ LỤC II

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho có hỗ trợ enzyme

Phụ lục II.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly có hỗ trợ enzyme

❖ *Ảnh hưởng của loại enzyme đến hiệu quả trích ly*

Nhìn chung, lựa chọn loại enzyme phù hợp cho quá trình trích ly sẽ phụ thuộc vào thành phần cấu tạo của nguyên liệu. Kết quả phân tích thành phần hóa học và định tính các hợp chất hóa thực vật cho thấy carbohydrate là thành phần chiếm tỷ lệ cao trong bột phụ phẩm nho (**Bảng 4.1** và **Bảng 4.2**). Ngoài ra, vỏ nho được cấu tạo bởi polysaccharide, pectin và protein. Trong đó, thành tế bào của vỏ nho được tạo thành từ 30% polysaccharides (cellulose, xyloglucanarabinan, galactan, xylan and mannan), 20% pectin có tính axit (62% methyl ester hóa), 15% proanthocyanidin không tan, và dưới 5% protein cấu trúc (Lecas và Brillouet, 1994). Cellulose và pectin chiếm 30 – 40% thành phần polysaccharide của tế bào vỏ quả nho (Phan Công Kiên và cộng sự, 2021). Pectin tập trung chủ yếu ở thành và các phiến giữa của thành tế bào và trong thành tế bào thịt quả tạo thành một ma trận cùng với mạng lưới cellulose và hemicellulose (Haile và Ayele, 2022). Do đó, enzyme cellulase và enzyme pectinase là những enzyme phổ biến được sử dụng để hỗ trợ quá trình trích ly các hợp chất hoạt tính từ vỏ nho (Arnous và Meyer, 2010; Drevelegka và Goula, 2020; Phan Công Kiên và cộng sự, 2021). Trong nghiên cứu này, hai enzyme cellulase và pectinase đã được sử dụng để đánh giá sự ảnh hưởng của loại enzyme lên quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học có trong dịch trích của bột phụ phẩm nho như phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin. Điều kiện trích ly bao gồm pH 4,5, thời gian trích ly là 120 phút tại nhiệt độ ủ 50°C, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 (v/w). Kết quả ảnh hưởng của loại enzyme đến hiệu quả trích ly được trình bày qua **Hình PL II.1**.



Hình PL II.1. Ảnh hưởng của loại enzyme đến hiệu quả trích ly

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Kết quả thí nghiệm cho ta thấy hàm lượng các hoạt chất sinh học sau khi trích ly có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu không sử dụng enzyme, sử dụng enzyme đơn lẻ và kết hợp hai loại enzyme. Trong đó, hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly có hỗ trợ của 2 loại enzyme kết hợp là cao nhất. Hàm lượng tổng các hoạt chất sinh học ở điều kiện sử dụng enzyme kết hợp lần lượt là TPC đạt 8,87 mg GAE/g DW, TSC đạt 28,29 mg AE/g DW và PAC đạt 2,66 mg CE/g DW. Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học có giá trị thấp nhất khi trích ly không có sự hỗ trợ của enzyme. TPC, TSC và PAC của dịch trích này lần lượt là 5,892 mg GAE/g DW; 17,023 mg AE/g DW và 1,798 mg CE/g DW.

Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly được khi chỉ xử lý enzyme cellulase (14 U/g) cao hơn so với việc chỉ xử lý bằng enzyme pectinase (76 U/g). Chế phẩm cellulase giúp trích ly các hợp chất sinh học nhiều hơn so với pectinase là 1,24 lần TPC, 1,20 lần TSC, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% ($P \leq 0,05$). Nguyễn Thị Hồng Linh và cộng sự (2019) báo cáo rằng sử dụng enzyme cellulase 0,2% (w/w) trích ly hoạt chất sinh học resveratrol từ dây gấm ở nhiệt độ 50°C sẽ cho hiệu quả cao hơn so với việc không sử dụng enzyme. Drevelegka và Goula (2020) khi nghiên cứu quá trình trích ly phenolic từ phụ phẩm nho *Agiorgitiko* cũng đã nhận thấy cellulase đã làm tăng hàm lượng phenol thu hồi được từ phụ phẩm nho cao hơn so với pectinase. Một nghiên cứu trước đây cũng báo cáo rằng cellulase và pectinase có hiệu

quả trên các nguyên liệu thực vật như vỏ nho. Arnous và Meyer (2010) đã thủy phân vỏ nho *Merlot* và *Cabernet Sauvignon* bằng enzyme pectinase (5,5% E/S) và cellulase (5,5% E/S) giúp giải phóng anthocyanin, flavonol (rutin và quercetin), phenolic acid (hydroxybenzoic acid và hydroxycinnamic acid). Tương tự, hai enzyme pectinase (600 U/g) và cellulase (400 U/g) được sử dụng đồng thời sẽ giúp tăng hiệu suất trích ly chất khô hòa tan cũng như các hợp chất polyphenol từ phụ phẩm vỏ và thịt quả cà phê (Trần Thị Thu Trà và cộng sự, 2021).

Từ kết quả thực nghiệm đã cho thấy sự kết hợp cellulase và pectinase sẽ có hiệu quả tốt hơn trong thủy phân thành tế bào làm tăng khả năng thu hồi hàm lượng các hợp chất như phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidin tổng vào dịch trích so với không sử dụng enzyme hoặc sử dụng các enzyme đơn lẻ. Trước tiên, enzyme cellulase có tác dụng thủy phân cellulose, phá vỡ thành tế bào, và giải phóng pectin. Sau đó, enzyme pectinase đã phân hủy các pectin làm tăng mức độ hòa tan của các hợp chất polyphenol vào dịch trích (Nadar và cộng sự, 2018). Do đó, kết quả của thí nghiệm đã chỉ ra rằng kết hợp hai loại enzyme mang lại hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao nhất và phù hợp để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

❖ *Ảnh hưởng của hàm lượng enzyme đến hiệu quả trích ly*

Bên cạnh loại enzyme thì hàm lượng enzyme cũng là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của quá trình trích ly. Để đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng enzyme đối với việc trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột phụ phẩm nho, các hàm lượng khác nhau của enzyme cellulase (14, 28, 42 và 56 U/g) và enzyme pectinase (76 và 152 U/g) đã được khảo sát. Điều kiện trích ly cố định bao gồm pH 4,5, thời gian trích ly là 120 phút tại nhiệt độ 50°C , tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 (v/w). Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong **Bảng PL II.1**.

Dựa vào kết quả phân tích hàm lượng các hoạt chất sinh học có trong dịch trích khi kết hợp các hàm lượng khác nhau của hai loại enzym, có thể cho thấy rằng khi tăng hàm lượng enzyme cellulase từ 14 U/g lên 42 U/g với sự kết hợp với 76 U/g enzyme pectinase thì hàm lượng TPC tăng thêm 12,7% từ 8,30 mg GAE/g DW lên 9,36 mg GAE/g DW, TSC tăng thêm 11,9% từ 28,87 mg AE/g DW lên 32,32 mg AE/g DW, PAC tăng 5,6% từ 2,66 mg CE/g DW lên 2,81 mg CE/g DW. Theo Nadar và cộng sự (2018), hỗn hợp các enzyme thủy phân carbohydrate có thể giúp tăng khả năng phá vỡ

thành tế bào và các mạng lưới lưu giữ phức tạp, tạo điều kiện cho việc giải phóng các hợp chất phenolic. Do đó, khi tăng hàm lượng enzyme thì tốc độ và hiệu suất của quá trình trích ly các hợp chất từ nguyên liệu sẽ tăng. Khi hàm lượng enzyme cellulase tiếp tục tăng lên 56 U/g thì hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học giảm, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$) với các mẫu ở hàm lượng cellulase thấp hơn (42 U/g). Trong khi đó, tăng hàm lượng enzyme pectinase từ 76 U/g đến 152 U/g thì hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học đều giảm khi so sánh ở cùng hàm lượng cellulase, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$).

Bảng PL II.1. Ảnh hưởng của hàm lượng enzyme đến TPC, TSC, PAC dịch trích ly

Pectinase (U/g)	Cellulase (U/g)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
76	14	8,30 ^c ± 0,16	28,87 ^b ± 1,07	2,66 ^b ± 0,10
	28	9,14 ^{ab} ± 0,24	30,84 ^a ± 0,98	2,80 ^a ± 0,03
	42	9,36 ^a ± 0,36	32,32 ^a ± 1,10	2,81 ^a ± 0,06
	56	8,59 ^{bc} ± 0,44	28,98 ^b ± 0,94	2,71 ^{ab} ± 0,03
152	14	8,49 ^c ± 0,49	28,41 ^b ± 0,75	2,77 ^{ab} ± 0,05
	28	7,56 ^d ± 0,48	26,14 ^c ± 1,29	2,38 ^c ± 0,15
	42	7,51 ^d ± 0,23	23,72 ^d ± 0,86	2,39 ^c ± 0,09
	56	8,45 ^c ± 0,51	25,42 ^c ± 1,23	2,71 ^{ab} ± 0,09

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

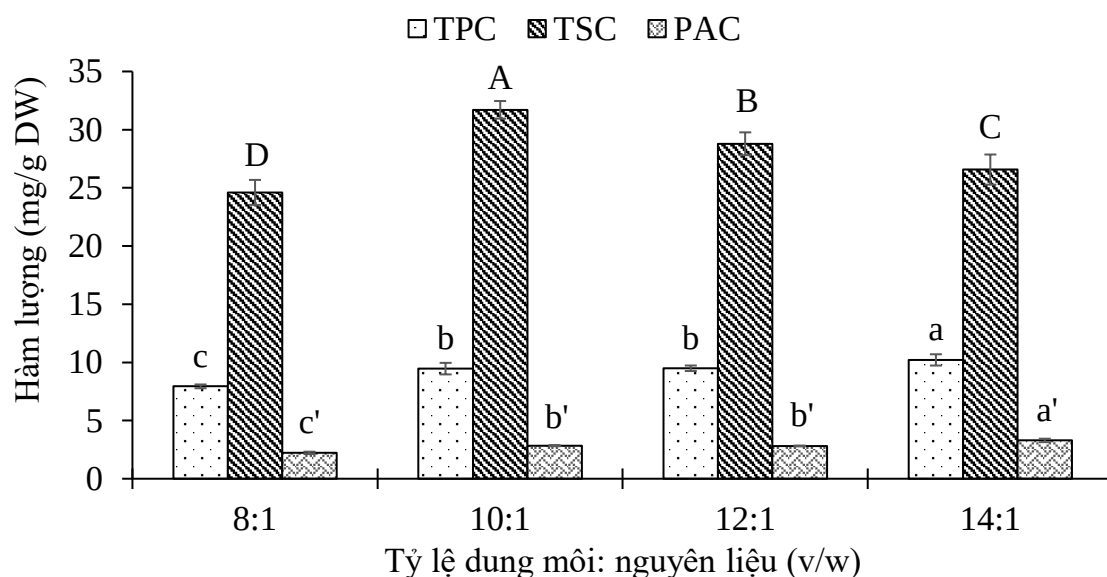
Hàm lượng enzyme cellulase sử dụng trong nghiên cứu này (28 U/g) cao hơn so với hàm lượng được sử dụng trong nghiên cứu của Sabater và cộng sự (2018) là 10,1 U/g khi thủy phân atisô. Tuy nhiên, thời gian trích ly trong nghiên cứu của Sabater và cộng sự (2018) tương đối dài (27,2 giờ) và chỉ sử dụng enzyme đơn. Ngược lại, hàm lượng enzyme cellulase trong nghiên cứu này lại thấp hơn so với trong nghiên cứu thực hiện thủy phân phụ phẩm nho *Syrah* (188 U/g) (Meini và cộng sự, 2019). Sự khác biệt có thể đến từ sự khác nhau về nguyên liệu và nguồn gốc enzyme sử dụng. Khi tăng hàm lượng enzyme và giữ nguyên hàm lượng cơ chất thì ban đầu vận tốc phản ứng sẽ tăng do cơ chất vẫn còn. Nhưng sau đó một thời gian thì hàm lượng enzyme đạt đến mức bão hòa thì lúc đó nếu tiếp tục tăng hàm lượng enzyme thì vận tốc phản ứng vẫn không đổi (Trần Thị Thu Trà và cộng sự, 2021), sẽ dẫn đến việc lãng phí enzyme trong sản xuất

thậm chí là giảm hiệu quả do sự ức chế ngược lại quá trình thủy phân. Kết quả nghiên cứu của Trần Thị Thu Trà và cộng sự (2021) cho thấy khi tăng hàm lượng enzyme thì hiệu suất trích ly các hợp chất phenolic từ vỏ và thịt quả cà phê tăng đến một mức nhất định, nếu tiếp tục tăng hàm lượng enzyme cellulase thì hiệu suất trích ly không thay đổi. Trong khi đó, việc tiếp tục tăng hàm lượng enzyme cellulase vượt 10,1 U/g sẽ làm giảm hàm lượng pectin thu hồi được từ quá trình thủy phân atisô (Sabater và cộng sự, 2018). Verma và cộng sự (2014) cũng kết luận rằng việc tăng thêm nồng độ enzyme cellulase quá mức (cao hơn 420,94 U/g) sẽ không mang lại kết quả tốt hơn khi trích ly polyphenol từ lá cây dạ hoa. Như vậy, dựa theo kết quả trên thì sự kết hợp hai enzyme với tỷ lệ 28 U/g enzyme cellulase và 76 U/g enzyme pectinase cho hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao hơn so với các mẫu còn lại và phù hợp tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

❖ *Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly*

Thông thường, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả trích ly các hợp chất mục tiêu. Động lực của quá trình trích ly là sự chênh lệch nồng độ của cấu tử ở trong nguyên liệu và dung môi. Chính vì vậy nếu lượng dung môi ít sẽ không trích ly hết toàn bộ hoạt chất trong nguyên liệu nhưng khi dùng lượng dung môi quá nhiều sẽ dẫn đến việc tăng tạp chất trong dịch trích. Do vậy, xác định tỷ lệ dung môi và nguyên liệu phù hợp là rất quan trọng và cần thiết. Bốn tỷ lệ dung môi: nguyên liệu khác nhau (8:1, 10:1, 12:1 và 14:1 v/w) đã được áp dụng để khảo sát ảnh hưởng đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ bột phụ phẩm nho. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong **Hình PL II.2**.

Tổng các hợp chất có hoạt tính sinh học có xu hướng tăng từ 34,768 lên 44,012 mg/g DW khi tăng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu từ 8:1 (v/w) lên 10:1 (v/w). Điều này được giải thích rằng khi lượng dung môi: nguyên liệu ở tỷ lệ 8:1 (v/w) không đủ để hoà tan các hợp chất có hoạt tính sinh học ra khỏi tế bào. Ngoài ra, ở tỷ lệ dung môi thấp, độ nhớt của hỗn hợp cao, gây hạn chế việc khếch tán các hợp chất mục tiêu vào dung môi. Khi tăng tỷ lệ dung môi thì tạo sự chênh lệch nồng độ bên trong tế bào và môi trường, dẫn đến việc trích ly các hợp chất diễn ra nhanh chóng hơn. Bên cạnh đó, khi tăng tỷ lệ dung môi, việc truyền khối và thúc đẩy sự di chuyển của các dòng dung môi mang theo các chất hòa tan ra bên ngoài được dễ dàng hơn (Barış và cộng sự, 2023).

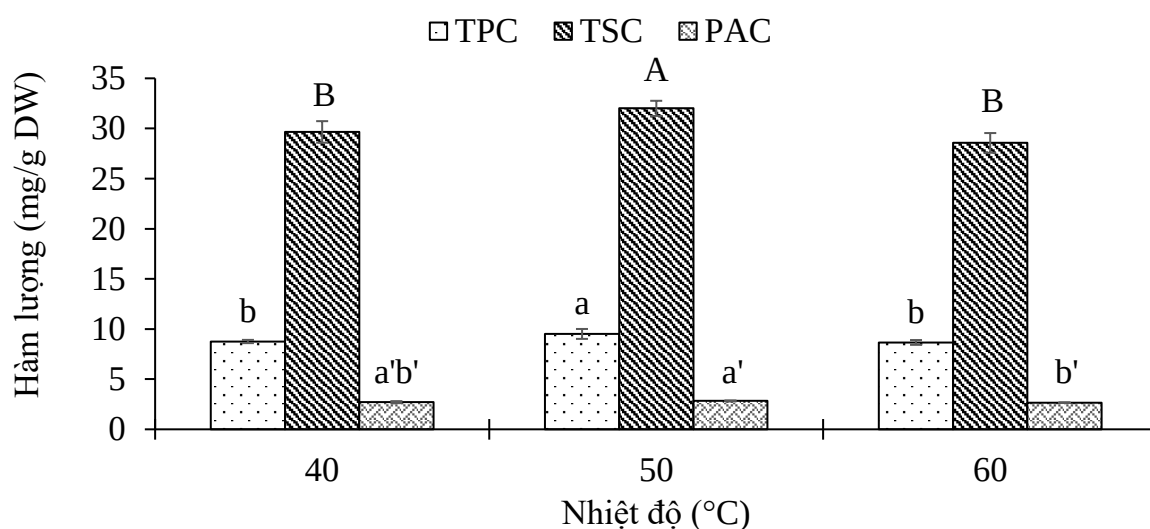


Hình PL II.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly
Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu lên đến 14:1 (v/w) thì tổng hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học giảm từ 44,01 mg/g DW xuống 40,07 mg/g DW. Điều này được lý giải rằng hợp chất có hoạt tính sinh học có hàm lượng cố định trong mẫu nên khi tăng lượng dung môi lên quá nhiều sẽ dẫn đến sự lãng phí dung môi nhưng làm cho hiệu suất trích ly không tăng. Dựa vào kết quả thí nghiệm, hàm lượng tổng hợp chất có hoạt tính sinh học từ dịch trích đạt cao nhất ở tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 10:1 (v/w) là 44,01 mg/g DW. Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu 10:1 (v/w) này cũng tương tự với nghiên cứu của Trần Thị Thu Trà và cộng sự (2021) sử dụng enzyme pectinase và cellulase để thủy phân vỏ và thịt quả cà phê. Như vậy tỷ lệ dung môi: nguyên liệu 10:1 (v/w) có hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học tốt nhất so với các mẫu còn lại và phù hợp để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

❖ Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích ly

Enzyme cellulase (28 U/g) và enzyme pectinase (76 U/g) được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu quả trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích của bột phụ phẩm nho với tỷ lệ dung môi: nguyên liệu ở 10:1 (v/w), thời gian trích ly 120 phút. Kết quả thí nghiệm khảo sát được thể hiện trong **Hình PL II.3.**



Hình PL II.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích ly

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

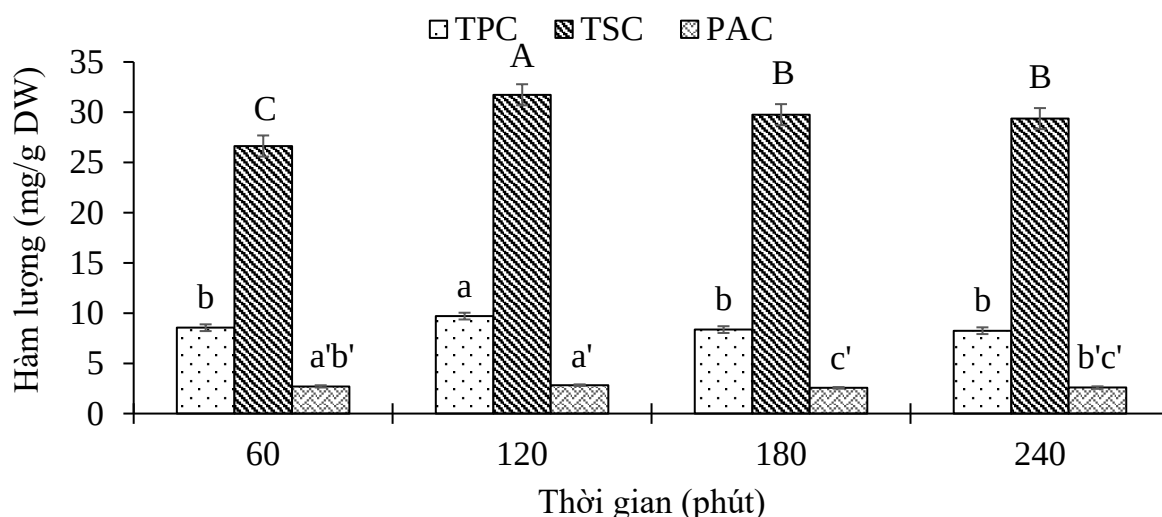
Các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích của bột phụ phẩm nho có xu hướng tăng khi nhiệt độ tăng từ 40°C đến 50°C và giảm khi nhiệt độ tăng lên đến 60°C. Ở nhiệt độ 50°C, dịch trích ly có hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao nhất với TPC, TSC và PAC lần lượt là 9,51 mg GAE/g DW; 32,01 mg AE/g DW và 2,83 mg CE/g DW, khác biệt ý nghĩa thống kê so với các mẫu còn lại ($P \leq 0,05$). Khi nhiệt độ tăng lên đến 60°C thì hàm lượng TPC giảm 8,91%, TSC giảm 10,76% và PAC giảm 5,99%.

Trạng thái cân bằng và tốc độ khuếch tán dung môi có thể bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ trích ly. Khi nhiệt độ tăng thì độ nhớt giảm, làm tăng khả năng khuếch tán và xâm nhập của dung môi vào trong tế bào, làm tăng khả năng hoà tan của các hợp chất sinh học (Trần Thị Thu Trà và cộng sự, 2021). Hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học đạt cao nhất tại 50°C phù hợp với điều kiện tối ưu được khuyến nghị bởi nhà sản xuất Novozymes theo tiêu chuẩn kỹ thuật. Nhiệt độ ảnh hưởng rất lớn đến tốc độ phản ứng giữa enzyme và cơ chất. Nhiệt độ thấp không phát huy được khả năng thủy phân của enzyme nhưng khi nhiệt độ quá cao thì tốc độ phản ứng của enzyme sẽ giảm đến mức triệt tiêu do ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự biến tính, bất hoạt của enzyme. Nhiệt độ trích ly tốt nhất trong nghiên cứu này (50°C) thấp hơn so với điều kiện khi trích ly phenolic từ phụ phẩm nho Agiorgitiko bằng hỗn hợp enzyme pectinase và cellulase của Drevelegka và Goula (2020) với nhiệt độ tối ưu cho quá trình này là 56°C. Ngược lại,

nhiệt độ trích ly phenolic từ phụ phẩm nho *Syrah* khi sử dụng kết hợp cellulase và tannase trong nghiên cứu của Meini và cộng sự (2019) là 45°C. Kết quả trong nghiên cứu này lại tương tự với một số nghiên cứu trước đây thực hiện trên các loại nguyên liệu thực vật. Cụ thể, Nguyễn Thị Hồng Linh và cộng sự (2019) trích ly hoạt chất sinh học resveratrol từ dây gấm bằng enzyme cellulase ở nhiệt độ 50°C. Trong một nghiên cứu khác, việc kết hợp enzyme cellulase và pectinase để trích ly polyphenol từ vỏ và thịt quả cà phê cũng thu được hiệu quả cao nhất khi ủ hỗn hợp ở 50°C (Trần Thị Thu Trà và cộng sự, 2021). Sự không nhất quán trong kết quả giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến chế phẩm enzyme được sử dụng cũng như giống nho được chọn để khảo sát. Kết quả nghiên cứu này cơ bản cho thấy nhiệt độ 50°C phù hợp để thực hiện thí nghiệm tiếp theo về thời gian trích ly.

❖ Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly

Enzyme cellulase (28 U/g) và enzyme pectinase (76 U/g) được sử dụng để trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ bột phụ phẩm nho với tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 (v/w), nhiệt độ trích ly 50°C ở các khoảng thời gian khác nhau (60, 120, 180 và 240 phút). Kết quả được thể hiện trong **Hình PL II.4**.



Hình PL II.4. Ảnh hưởng thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Dựa vào **Hình PL II.4** và kết quả xử lý thống kê cho thấy thời gian trích ly có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả của quá trình trích ly hoạt chất sinh học từ phụ phẩm nho. Các hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học có xu hướng tăng khi trích ly từ 60

phút đến 120 phút và sau đó giảm dần khi tăng thời gian trích ly lên 180 phút và 240 phút, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% ($P \leq 0,05$). Trong đó, hàm lượng các chất cao nhất khi trích ly trong 120 phút với TPC, TSC và PAC lần lượt là 9,70 mg GAE/g DW, 31,73 mg AE/g DW và 2,83 mg CE/g DW.

Thời gian tiếp xúc giữa enzyme và cơ chất đóng vai trò quan trọng đến mức độ thủy phân, ảnh hưởng đến việc giải phóng các hoạt chất sinh học sâu bên trong tế bào. Điều này được thể hiện rõ khi thời gian thủy phân tăng từ 60 phút lên 120 phút, thì hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học tăng 13,52% đối với TPC, 19,15% đối với TSC và 4,57% đối với PAC. Tuy nhiên, khi tăng thời gian từ 120 phút lên tới 180 phút và 240 phút thì lúc này hàm lượng các hoạt chất sinh học giảm đi do sự thủy phân và thoái hoá các hợp chất sinh học trong thời gian dài tại nhiệt độ cao. Mai và cộng sự (2013) báo cáo rằng thời gian thủy phân 127 phút là tối ưu cho quá trình trích ly dầu giàu carotenoid từ trái gấc có sự hỗ trợ enzyme. Tuy nhiên, trong một nghiên cứu khác, thời gian trích ly có thể dài hơn tùy thuộc vào đặc tính nguyên liệu. Drevelegka và Goula (2020) báo cáo rằng thời gian tối ưu trích ly phenolic từ phụ phẩm nho có hỗ trợ enzyme pectinase và cellulase là khoảng 150 phút. Nếu tiếp tục kéo dài thời gian trích ly hơn nữa thì hiệu quả trích TPC sẽ giảm do ảnh hưởng của nhiệt độ. Mặt khác, lượng enzyme nhất định chỉ thủy phân một lượng cơ chất đến một thời điểm nhất định. Khi hàm lượng cơ chất gần hết, hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích bắt đầu giảm do bị oxy hóa bởi môi trường xung quanh và có thể làm giảm hàm lượng các hoạt chất sinh học như hợp chất phenolic. Chính vì vậy thời gian trích ly 120 phút là thời gian phù hợp cho quá trình trích ly hợp chất sinh học từ phụ phẩm nho bằng enzyme.

Phụ lục II.2. Kết quả xử lý số liệu thống kê

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của loại enzyme đến TPC, TSC, PAC trích ly từ bột phụ phẩm nho có hỗ trợ enzyme

Bảng PL II.2. Ảnh hưởng của loại enzyme đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ enzyme

Loại enzyme	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
Đối chứng	5,89 ± 0,24	17,02 ± 0,88	1,80 ± 0,06
Cellulase	7,70 ± 0,51	28,04 ± 0,69	2,33 ± 0,06
Pectinase	6,19 ± 0,53	21,49 ± 0,43	2,16 ± 0,06
Cellulase + Pectinase	8,87 ± 0,37	28,29 ± 0,87	2,66 ± 0,04

TPC

Summary of Fit

Rsquare	0.898346
Adj Rsquare	0.888816
Root Mean Square Error	0.428553
Mean of Response	7.160928
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Enzyme	3	51.937010	17.3123	94.2643	<.0001*
Error	32	5.877036	0.1837		
C. Total	35	57.814047			

Connecting Letters Report

Level	Mean
Cellulast + Pectinex A	8.8698842
Cellulast B	7.6968953
Pectinex C	6.1853501
Control C	5.8915839

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit

Rsquare	0.978721
Adj Rsquare	0.976726
Root Mean Square Error	0.739424
Mean of Response	23.71328
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Enzyme	3	804.70064	268.234	490.5985	<.0001*
Error	32	17.49592	0.547		
C. Total	35	822.19656			

Connecting Letters Report

Level	Mean
Cellulast + Pectinex A	28.292348
Cellulast A	28.044105
Pectinex B	21.493767
Control C	17.022911

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit

Rsquare	0.971448
Adj Rsquare	0.968771
Root Mean Square Error	0.056426
Mean of Response	2.236153
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Enzyme	3	3.4664471	1.15548	362.9174	<.0001*
Error	32	0.1018839	0.00318		
C. Total	35	3.5683309			

Connecting Letters Report

Level	Mean
Cellulast + Pectinex A	2.6584091
Cellulast B	2.3290590
Pectinex C	2.1595890
Control D	1.7975564

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của hàm lượng enzyme đến TPC, TSC, PAC trích ly từ bột phụ phẩm nho có hỗ trợ enzyme

TPC

Summary of Fit	
RSquare	0.73721
RSquare Adj	0.708467
Root Mean Square Error	0.388199
Mean of Response	8.426667
Observations (or Sum Wgts)	72

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	7	27.056489	3.86521	25.6486
Error	64	9.644711	0.15070	Prob > F
C. Total	71	36.701200		<.0001*

Level				Least Sq Mean
42,76	A			9.3544444
28,76	A	B		9.1388889
56,76		B	C	8.5977778
14,152			C	8.4911111
56,152			C	8.4533333
14,76			C	8.3066667
28,152			D	7.5633333
42,152			D	7.5077778

TSC

Summary of Fit	
RSquare	0.880295
RSquare Adj	0.867202
Root Mean Square Error	1.043415
Mean of Response	28.08819
Observations (or Sum Wgts)	72

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	7	512.39927	73.1999	67.2351
Error	64	69.67780	1.0887	Prob > F
C. Total	71	582.07707		<.0001*

Level				Least Sq Mean
42,76	A			32.322222
28,76	A			30.836667
56,76		B		28.983333
14,76		B		28.865556
14,152		B		28.410000
28,152			C	26.140000
56,152			C	25.424444
42,152			D	23.723333

PAC

Summary of Fit	
RSquare	0.807375
RSquare Adj	0.786307
Root Mean Square Error	0.083911
Mean of Response	2.655556
Observations (or Sum Wgts)	72

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	7	1.8887556	0.269822	38.3217
Error	64	0.4506222	0.007041	Prob > F
C. Total	71	2.3393778		<.0001*

Level				Least Sq Mean
42,76	A			2.8066667
28,76	A			2.8055556
14,152	A	B		2.7722222
56,76	A	B		2.7111111
56,152	A	B		2.7111111
14,76		B		2.6644444
42,152			C	2.3922222
28,152			C	2.3811111

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến TPC, TSC, PAC trích ly từ bột phụ phẩm nho có hỗ trợ enzyme

Bảng PL II.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ enzyme

Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (v/w)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
8:1	7,94 ± 0,49	24,61 ± 0,94	2,22 ± 0,08
10:1	9,46 ± 0,44	31,71 ± 1,16	2,84 ± 0,11
12:1	9,49 ± 0,45	28,79 ± 1,05	2,82 ± 0,18
14:1	10,21 ± 0,50	26,57 ± 1,42	3,29 ± 0,05

TPC

Summary of Fit	
Rsquare	0.776405
Adj Rsquare	0.755443
Root Mean Square Error	0.471636
Mean of Response	9.275556
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Solvent-to-material ratio	3	24.716600	8.23887	37.0386	<.0001*
Error	32	7.118089	0.22244		
C. Total	35	31.834689			

Connecting Letters Report

Level		Mean
14:1	A	10.211111
12:1	B	9.492222
10:1	B	9.461111
8:1	C	7.937778

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit	
Rsquare	0.854231
Adj Rsquare	0.840565
Root Mean Square Error	1.157211
Mean of Response	27.91694
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Solvent-to-material ratio	3	251.12276	83.7076	62.5086	<.0001*
Error	32	42.85240	1.3391		
C. Total	35	293.97516			

Connecting Letters Report

Level		Mean
10:1	A	31.707778
12:1	B	28.784444
14:1	C	26.570000
8:1	D	24.605556

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit	
Rsquare	0.923277
Adj Rsquare	0.916084
Root Mean Square Error	0.116037
Mean of Response	2.793889
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Solvent-to-material ratio	3	5.1849889	1.72833	128.3612	<.0001*
Error	32	0.4308667	0.01346		
C. Total	35	5.6158556			

Connecting Letters Report

Level		Mean
14:1	A	3.2900000
10:1	B	2.8444444
12:1	B	2.8188889
8:1	C	2.2222222

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của nhiệt độ đến TPC, TSC, PAC trích ly từ bột phụ phẩm nho có hỗ trợ enzyme

Bảng PL II.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ enzyme

Nhiệt độ (°C)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
40	8,76 ± 0,40	29,66 ± 1,02	2,71 ± 0,16
50	9,51 ± 0,49	32,01 ± 1,26	2,83 ± 0,09
60	8,67 ± 0,37	28,56 ± 0,98	2,66 ± 0,05

TPC

Summary of Fit	
Rsquare	0.475566
Adj Rsquare	0.431863
Root Mean Square Error	0.42269
Mean of Response	8.978738
Observations (or Sum Wgts)	27

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Temperature	2	3.8884369	1.94422	10.8818	0.0004*
Error	24	4.2880117	0.17867		
C. Total	26	8.1764486			

Connecting Letters Report

Level		Mean
50	A	9.5127311
40	B	8.7582508
60	B	8.6652331

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit	
Rsquare	0.659418
Adj Rsquare	0.631036
Root Mean Square Error	1.095274
Mean of Response	30.07442
Observations (or Sum Wgts)	27

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Temperature	2	55.743776	27.8719	23.2338	<.0001*
Error	24	28.791015	1.1996		
C. Total	26	84.534791			

Connecting Letters Report

Level		Mean
50	A	32.005474
40	B	29.656772
60	B	28.561028

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit	
Rsquare	0.321948
Adj Rsquare	0.265443
Root Mean Square Error	0.109272
Mean of Response	2.733605
Observations (or Sum Wgts)	27

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Temperature	2	0.13606635	0.068033	5.6978	0.0094*
Error	24	0.28656855	0.011940		
C. Total	26	0.42263490			

Connecting Letters Report

Level		Mean
50	A	2.8295470
40	A B	2.7112368
60	B	2.6600301

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của thời gian đến TPC, TSC, PAC trích ly từ bột phụ phẩm nho có hỗ trợ enzyme

Bảng PL II.5. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ enzyme

Thời gian (phút)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
60	8,55 ± 0,47	26,63 ± 0,89	2,70 ± 0,11
120	9,70 ± 0,43	31,73 ± 1,17	2,83 ± 0,08
180	8,36 ± 0,49	29,75 ± 1,13	2,56 ± 0,08
240	8,25 ± 0,69	29,36 ± 0,77	2,58 ± 0,12

TPC

Summary of Fit	
Rsquare	0.574191
Adj Rsquare	0.534271
Root Mean Square Error	0.53029
Mean of Response	8.712348
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Time	3	12.134407	4.04480	14.3837	<.0001*
Error	32	8.998649	0.28121		
C. Total	35	21.133056			

Connecting Letters Report

Level		Mean
2	A	9.7007329
1	B	8.5453684
3	B	8.3569935
4	B	8.2462967

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit	
Rsquare	0.786035
Adj Rsquare	0.765975
Root Mean Square Error	1.005875
Mean of Response	29.36876
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Time	3	118.94237	39.6475	39.1856	<.0001*
Error	32	32.37713	1.0118		
C. Total	35	151.31950			

Connecting Letters Report

Level		Mean
2	A	31.732272
3	B	29.751433
4	B	29.358083
1	C	26.633238

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit	
Rsquare	0.571414
Adj Rsquare	0.531234
Root Mean Square Error	0.099092
Mean of Response	2.667531
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Time	3	0.41893096	0.139644	14.2214	<.0001*
Error	32	0.31421712	0.009819		
C. Total	35	0.73314808			

Connecting Letters Report

Level		Mean
2	A	2.8274018
1	A B	2.7039633
4	B C	2.5834184
3	C	2.5553393

Levels not connected by same letter are significantly different.

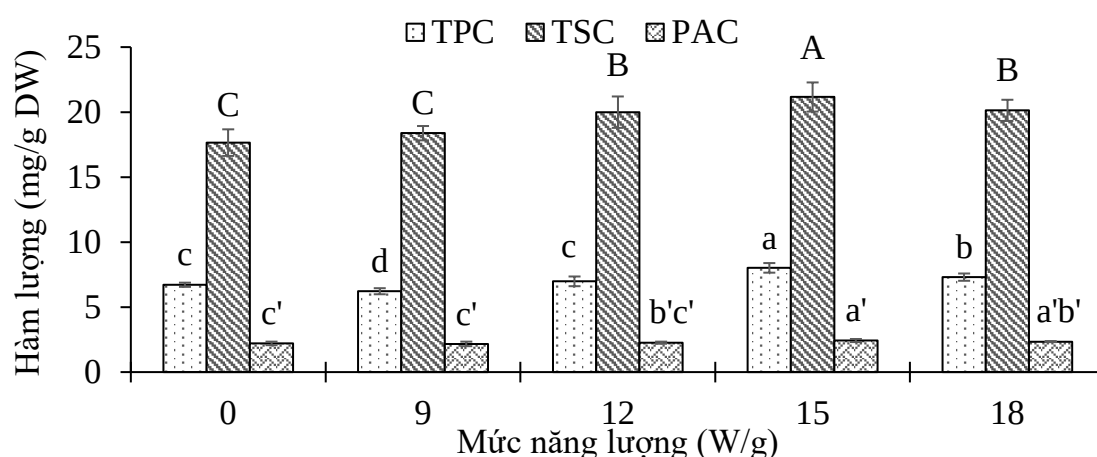
PHỤ LỤC III

Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho có hỗ trợ siêu âm

Phụ lục III.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly có hỗ trợ siêu âm

❖ Ảnh hưởng của mức năng lượng đến hiệu quả trích ly

Bột phụ phẩm nho được tiến hành trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học bằng dung môi nước với sự hỗ trợ của siêu âm tại các tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 v/w. Thời gian siêu âm 10 phút với các mức năng lượng siêu âm khác nhau (0, 9, 12, 15 và 18 W/g). Nhiệt độ trích ly 50°C trong thời gian 60 phút. Ảnh hưởng của mức năng lượng siêu âm đến quá trình trích ly các hợp chất trong phụ phẩm nho được thể hiện ở **Hình PL III.1**.



Hình PL III.1. Ảnh hưởng của mức năng lượng siêu âm đến hiệu quả trích ly
Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

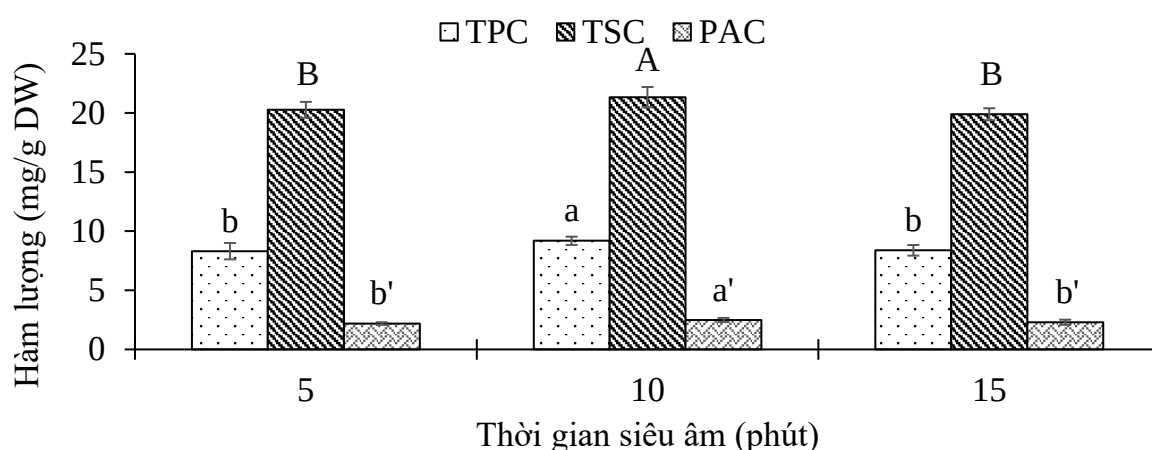
Kết quả phân tích thống kê cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa kê ($P \leq 0,05$) giữa các mẫu được xử lý ở các mức năng lượng khác nhau ở các chỉ tiêu TPC, TSC, và PAC. Điều này chứng tỏ rằng mức năng lượng siêu âm có ảnh hưởng đáng kể đến quá trình phá vỡ thành tế bào để thu hồi TPC, TSC và PAC từ bột phụ phẩm nho. Khi tăng mức năng lượng siêu âm từ 0 W/g lên 15 W/g thì TPC tăng lên từ 6,72 mg GAE/g DW lên 8,02 mg GAE/g DW, TSC tăng lên từ 17,65 mg AE/g DW lên 21,16 mg AE/g DW và

PAC tăng từ 2,21 mg CE/g DW lên 2,43 mg CE/g DW. Khi tiếp tục tăng mức năng lượng siêu âm lên 18 W/g thì TPC, TSC và PAC thu được đều giảm và giá trị lần lượt là 7,30 mg GAE/g DW; 19,46 mg AE/g DW và 2,35 mg CE/g DW.

Nguyên nhân của hiện tượng trên là khi tăng mức năng lượng siêu âm (0 – 15 W/g) thì làm gia tăng hiệu ứng các bọt khí xâm thực bị phá vỡ. Kích thước bọt khí tỷ lệ thuận với mức năng lượng của sóng siêu âm. Do đó, khi kích thước bọt khí tăng lên thì tác động của chúng đối với sự phá vỡ cũng tăng lên. Sự phá vỡ các bọt khí gây ra sự phân mảnh, hình thành lỗ rỗng và trộn lẫn làm tăng khả năng khuếch tán và nâng cao hiệu quả trích ly các hợp chất từ mô (Maran và Priya, 2014). Khi tăng mức năng lượng siêu âm thì lực thủy động cũng tăng lên dẫn đến tăng hiệu quả phá vỡ các mô (Samaram và cộng sự, 2015). Tuy nhiên, khi mức năng lượng tăng ở mức cao, sự gia tăng nhiệt độ của dịch có thể xảy ra. Ở cường độ siêu âm cao, sự giảm hiệu quả của hiệu ứng vỡ bong bóng (collapses) do tác động của việc tăng nhiệt độ chủ yếu là do việc tăng cường độ tương tác bong bóng, tăng áp suất hơi và giảm sức căng bề mặt (Dezhkunov, 2002). Ngoài ra, lớp bọt khí xâm thực được tập hợp xung quanh đầu dò, cản trở việc truyền năng lượng vào môi trường trích ly (hiệu ứng bão hòa), làm giảm hiệu suất trích. Mức năng lượng siêu âm cao cũng có thể làm suy giảm hợp chất có hoạt tính sinh học làm giảm hiệu suất. Một số nghiên cứu cũng cho thấy mật độ siêu âm ảnh hưởng tới hiệu suất trích các nguyên liệu như bã nấm men (2,29 W/g) (Phạm Thị Thuỳ Dương và cộng sự, 2020), vỏ chanh dây (1,5 W/g) (Nguyễn Đình Dũng và cộng sự, 2018) và trái sơ ri (15 W/g) (Le và Le, 2012). Theo Le và Le (2012) hàm lượng vitamin C và phenolic thu hồi sẽ không đổi khi mức năng lượng cao hơn 15 W/g. Vì vậy, mức năng lượng siêu âm 15 W/g được chọn để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

❖ *Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hiệu quả trích ly*

Bên cạnh mức năng lượng thì thời gian siêu âm cũng là một trong những yếu tố có thể ảnh hưởng đến hiệu quả của quá trình trích ly có hỗ trợ siêu âm. Bột phụ phẩm nho được phối trộn với nước cất theo tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 v/w. Hỗn hợp được xử lý với mức năng lượng siêu âm 15 W/g ở các thời gian siêu âm khác nhau (5, 10 và 15 phút). Nhiệt độ trích ly 50°C trong thời gian 60 phút. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho được thể hiện ở **Hình PL III.2**.



Hình PL III.2. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hiệu quả trích ly

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

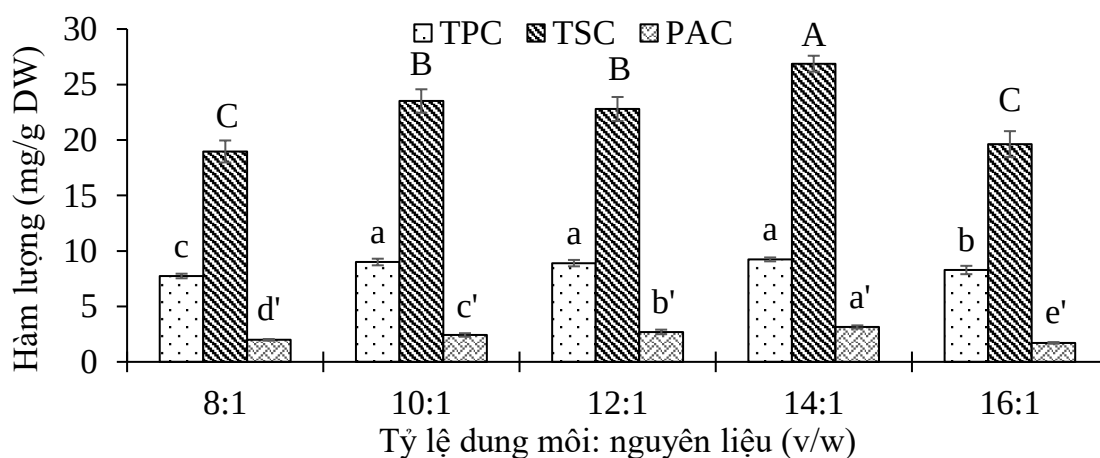
Kết quả phân tích thống kê cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P \leq 0,05$) giữa các nghiệm thức đối với chỉ tiêu TPC, TSC và PAC, cho thấy ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến quá trình phá vỡ thành tế bào để thu hồi TPC, TSC và PAC. Khi thời gian siêu âm tăng từ 5 lên 10 phút thì TPC tăng lên từ 8,31 mg GAE/g DW lên 9,19 mg GAE/g DW, TSC tăng lên từ 20,27 mg AE/g DW lên 21,34 mg AE/g DW và PAC tăng lên từ 2,19 mg CE/g DW lên 2,49 mg CE/g DW. Khi thời gian siêu âm tiếp tục tăng lên đến 15 phút thì TPC, TSC và PAC đều có xu hướng giảm, lần lượt là 8,75%, 6,79% và 7,70%.

Khi thời gian siêu âm tăng lên thì thời gian để sóng siêu âm tác động đến thành tế bào càng dài và số lượng thành tế bào bị phá hủy càng nhiều. Ngoài ra, hiện tượng xâm thực và hiệu ứng nhiệt được tạo ra trong quá trình xử lý siêu âm với thời gian tăng sẽ làm tăng sự tiếp xúc của hợp chất mục tiêu với dung môi trích ly. Tuy nhiên, khi thời gian xử lý siêu âm được tăng cao hơn 10 phút, thì hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học lại giảm xuống. Nguyên nhân là do ở thời gian siêu âm càng dài sóng siêu âm không chỉ làm vỡ các thành tế bào phụ phẩm nho mà còn tác động lên cấu trúc của các hợp chất mục tiêu gây ra sự phá hủy cấu trúc của chúng và làm giảm hiệu quả quá trình trích ly (Kumar và cộng sự, 2021). Bên cạnh đó, thời gian siêu âm dài có thể tạo ra các gốc tự do, đẩy nhanh quá trình phân hủy các hợp chất do kích hoạt các phản ứng dây chuyền gốc tự do (Nutter và cộng sự, 2021). Kết quả này tương tự với kết quả của Nguyễn Đình Dũng và cộng sự (2018) là thời gian siêu âm 10 phút thích hợp cho trích

ly polyphenol và anthocyanin từ vỏ chanh dây. Do đó, trong thí nghiệm này, thời gian siêu âm 10 phút là phù hợp nhất cho trích ly các hợp chất từ phụ phẩm nho.

❖ Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly

Bột phụ phẩm nho được phối trộn với nước cất theo các tỷ lệ dung môi: nguyên liệu khác nhau (8:1 – 16:1 v/w). Hỗn hợp được xử lý với mức năng lượng siêu âm 15 W/g ở thời gian siêu âm 10 phút. Nhiệt độ trích ly 50°C trong thời gian 60 phút. Ảnh hưởng của tỷ lệ và dung môi đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho được thể hiện ở **Hình PL III.3**.



Hình PL III.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly
Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$) giữa các nghiệm thức ở các tỷ lệ dung môi: nguyên liệu khác nhau. Khi tăng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu tăng từ 8:1 lên 14:1 (v/w) thì TPC tăng lên từ 7,74 mg GAE/g DW lên 9,24 mg GAE/g DW, TSC tăng từ 18,96 mg AE/g DW lên 26,87 mg AE/g DW và hàm lượng PAC tăng từ 1,98 mg CE/g DW lên 3,15 mg CE/g DW. Khi tiếp tục tăng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu lên 1:16 (v/w) thì TPC, TSC và PAC giảm xuống đến lần lượt là 8,28 mg GAE/g DW; 19,63 mg AE/g DW và 1,71 mg CE/g DW.

Ở tỷ lệ dung môi: nguyên liệu thấp (8:1 v/w), độ nhớt của hỗn hợp trích ly cao. Độ nhớt cao sẽ cản trở hiệu ứng xâm thực vì lực kết dính sẽ mạnh hơn trong dung dịch có độ nhớt cao hơn. Khi tỷ lệ dung môi: nguyên liệu tăng (8:1 – 14:1 v/w), độ nhớt và nồng độ của hỗn hợp trích ly giảm làm tăng hiệu ứng xâm thực. Sự chênh lệch nồng độ

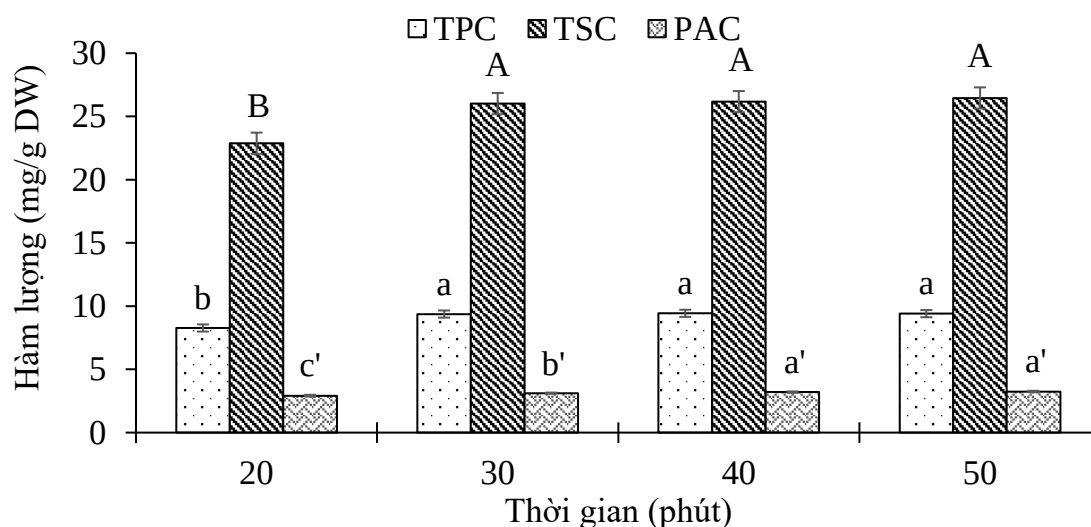
chất tan càng cao thì khả năng khuếch tán và độ hòa tan của chất tan trong dung môi càng tăng, từ đó làm tăng hiệu quả quá trình trích ly. Sự gia tăng diện tích tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi cũng làm tăng hiệu quả trích ly. Hàm lượng các hợp chất mục tiêu giảm ở tỷ lệ dung môi: nguyên liệu 16:1 (v/w) có thể là do hiệu ứng xâm thực tăng cường cao hơn có thể dẫn đến sự phân hủy của các chất hòa tan mục tiêu (Maran và Priya, 2014). Một số nghiên cứu cũng cho thấy tỷ lệ dung môi: nguyên liệu ảnh hưởng tới hiệu quả trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ các nguồn thực vật với sự hỗ trợ siêu âm như vỏ cây mẫu đơn (Meng và cộng sự, 2024), đại hoàng (Muzykiewicz-Szymańska và cộng sự, 2024), bã nho *Cabernet Sauvignon* (Córdova và cộng sự, 2025). Meng và cộng sự (2024) báo cáo rằng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu cao hơn 20:1 mL/g có thể làm giảm hiệu suất thu hồi paeonol (một hợp chất phenolic) trích ly từ vỏ cây mẫu đơn với sự hỗ trợ siêu âm. Nghiên cứu của Muzykiewicz-Szymańska và cộng sự (2024) cho thấy tỷ lệ dung môi: nguyên liệu 13,3 mL/g là tối ưu để trích ly polyphenol tổng từ cây đại hoàng. Trong khi đó, Córdova và cộng sự (2025) cho rằng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu 10:1 mL/g là tốt nhất để trích ly anthocyanin từ bã nho với dung môi propylene glycol có hỗ trợ siêu âm. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ nguyên liệu và dung môi 14:1 (v/w) là phù hợp với nguyên liệu phụ phẩm nho và được chọn để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

❖ *Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly*

Bột phụ phẩm nho được phối trộn với nước cất theo các tỷ lệ dung môi: nguyên liệu 14:1 v/w. Hỗn hợp được xử lý với mức năng lượng siêu âm 15 W/g ở các thời gian siêu âm 10 phút. Nhiệt độ trích ly 50°C trong các khoảng thời gian trích ly khác nhau (20, 30, 40 và 50 phút). Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho được thể hiện ở **Hình PL III.4.**

Kết quả phân tích thống kê cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% ($P \leq 0,05$) giữa các nghiệm thức với thời gian trích ly khác nhau, cho thấy rằng thời gian trích ly có ảnh hưởng đáng kể tới quá trình trích ly TPC, TSC và PAC từ bột phụ phẩm nho. Khi thời gian trích ly giảm từ 50 xuống 30 phút thì TPC và TSC không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, trong khi PAC khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu với thời gian trích ly khác nhau. Khi thời gian trích ly tiếp tục giảm xuống còn 20 phút thì hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học khác biệt có ý nghĩa thống kê.

TPC thu hồi được giảm từ 9,37 mg GAE/g DW xuống 8,27 mg GAE/g DW. Tương tự, TSC giảm từ 26,02 mgAE/g DW xuống 22,88 mgAE/g DW và PAC giảm từ 3,12 mg CE/g DW xuống 2,92 mg CE/g DW.



Hình PL III.4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Thời gian kéo dài có thể ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế của quá trình trích ly đồng thời cũng làm giảm các hợp chất mục tiêu. Ngược lại, nếu thời gian trích ly ngắn thì hiệu suất trích ly các hợp chất sinh học có thể chưa đạt mức tối đa. Thời gian trích ly 30 phút là ngắn hơn so với nghiên cứu của Hoang và cộng sự (2018) thực hiện trích ly carotenoid có hỗ trợ siêu âm ở 200 W trong 80 phút. Tuy vậy, kết quả trong nghiên cứu này tương tự với nghiên cứu của Meng và cộng sự (2024), tổng thời gian trích ly 31 phút là tối ưu cho trích ly paeonol có hỗ trợ siêu âm (420 W) từ cây mẫu đơn. Hầu hết các hợp chất có hoạt tính sinh học đều nhạy cảm với nhiệt độ và thời gian, trích ly trong thời gian dài sẽ dẫn đến sự phân hủy các hoạt chất sinh học tương tự như trong báo cáo của Vũ Hồng Sơn và Hà Duyên Tư (2009). Trong thí nghiệm này xử lý siêu âm trong 10 phút, nhiệt độ cố định ở 50°C và thời gian 30 phút là thời gian thích hợp. Khi đó, hệ trích ly sẽ đạt đến sự cân bằng giữa nồng độ dung môi bên ngoài và bên trong. Dung môi đến ngưỡng giới hạn và không thể trích ly thêm được nữa. Hơn nữa, sự phân hủy các hợp chất phenolic đã được trích ly hoặc các phản ứng không mong muốn (ví dụ, quá trình oxy hóa) có thể xảy ra. Do đó, thời gian trích ly 30 phút để thu được hàm lượng tối đa là phù hợp cho nghiên cứu này.

Phụ lục III.2. Kết quả xử lý số liệu thống kê

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của mức năng lượng siêu âm đến TPC, TSC, PAC trích ly từ bột phụ phẩm nho có hỗ trợ siêu âm

Bảng PL III.1. Ảnh hưởng của mức năng lượng siêu âm đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ siêu âm

Mức năng lượng siêu âm (W/g)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
9	6,22 ± 0,23	17,65 ± 1,02	2,21 ± 0,14
12	6,98 ± 0,37	18,38 ± 0,55	2,17 ± 0,17
15	8,02 ± 0,37	19,99 ± 1,21	2,26 ± 0,08
18	7,30 ± 0,28	21,16 ± 1,12	2,43 ± 0,12

TPC

Summary of Fit

Rsquare	0.823559
Adj Rsquare	0.805915
Root Mean Square Error	0.29479
Mean of Response	7.048667
Observations (or Sum Wgts)	45

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Mức năng lượng	4	16.224876	4.05622	46.6763	<.0001*
Error	40	3.476044	0.08690		
C. Total	44	19.700920			

Connecting Letters Report

Level		Mean
15	A	8.0177778
18	B	7.3044444
12	B C	6.9811111
9	C	6.7188889
0	D	6.2211111

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit

Rsquare	0.657719
Adj Rsquare	0.623491
Root Mean Square Error	0.972121
Mean of Response	19.46356
Observations (or Sum Wgts)	45

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Mức năng lượng	4	72.63723	18.1593	19.2158	<.0001*
Error	40	37.80080	0.9450		
C. Total	44	110.43803			

Connecting Letters Report

Level		Mean
15	A	21.161111
18	A	20.133333
12	A	19.993333
9	B	18.377778
0	B	17.652222

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit

Rsquare	0.412157
Adj Rsquare	0.353373
Root Mean Square Error	0.118354
Mean of Response	2.283111
Observations (or Sum Wgts)	45

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Mức năng lượng	4	0.39285333	0.098213	7.0113	0.0002*
Error	40	0.56031111	0.014008		
C. Total	44	0.95316444			

Connecting Letters Report

Level		Mean
15	A	2.4266667
18	A B	2.3477778
12	B C	2.2633333
9	B C	2.2077778
0	C	2.1700000

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến TPC, TSC, PAC trích ly từ bột phụ phẩm nho có hỗ trợ siêu âm

Bảng PL III.2. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ siêu âm

Thời gian siêu âm (phút)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
5	8,31 ± 0,69	20,27 ± 0,67	2,19 ± 0,11
10	9,19 ± 0,35	21,34 ± 0,86	2,49 ± 0,18
15	8,38 ± 0,45	19,89 ± 0,51	2,30 ± 0,22

TPC

Summary of Fit

Rsquare	0.398228
Adj Rsquare	0.34808
Root Mean Square Error	0.517299
Mean of Response	8.628148
Observations (or Sum Wgts)	27

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Thời gian siêu âm	2	4.250052	2.12503	7.9411	0.0023*
Error	24	6.422356	0.26760		
C. Total	26	10.672407			

Connecting Letters Report

Level	Mean
10 A	9.1877778
15 B	8.3833333
5 B	8.3133333

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit

Rsquare	0.469262
Adj Rsquare	0.425034
Root Mean Square Error	0.692276
Mean of Response	20.50037
Observations (or Sum Wgts)	27

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Thời gian siêu âm	2	10.169607	5.08480	10.6100	0.0005*
Error	24	11.501889	0.47925		
C. Total	26	21.671496			

Connecting Letters Report

Level	Mean
10 A	21.341111
5 B	20.266667
15 B	19.893333

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit

Rsquare	0.362191
Adj Rsquare	0.30904
Root Mean Square Error	0.176365
Mean of Response	2.323704
Observations (or Sum Wgts)	27

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Thời gian siêu âm	2	0.4239185	0.211959	6.8144	0.0045*
Error	24	0.7465111	0.031105		
C. Total	26	1.1704296			

Connecting Letters Report

Level	Mean
10 A	2.4888889
15 A B	2.2966667
5 B	2.1855556

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến TPC, TSC, PAC trích ly từ bột phụ phẩm nho có hỗ trợ siêu âm

Bảng PL III.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ siêu âm

Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (v/w)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
8:1	7,74 ± 0,21	10,54 ± 0,56	18,96 ± 0,99
10:1	9,00 ± 0,30	12,33 ± 0,36	23,51 ± 1,06
12:1	8,90 ± 0,29	12,47 ± 0,47	22,79 ± 1,08
14:1	9,24 ± 0,18	15,06 ± 0,31	26,87 ± 0,72
16:1	8,28 ± 0,38	13,10 ± 0,55	19,63 ± 1,16

TPC

Summary of Fit					
Rsquare		0.813048			
Adj Rsquare		0.794352			
Root Mean Square Error		0.278041			
Mean of Response		8.630444			
Observations (or Sum Wgts)		45			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu	4	13.448124	3.36203	43.4895	<.0001*
Error	40	3.092267	0.07731		
C. Total	44	16.540391			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
14	A	9.2355556
10	A	8.9988889
12	A	8.9000000
16	B	8.2800000
8	C	7.7377778

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit					
Rsquare		0.899367			
Adj Rsquare		0.889303			
Root Mean Square Error		1.01427			
Mean of Response		22.35356			
Observations (or Sum Wgts)		45			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu	4	367.75808	91.9395	89.3707	<.0001*
Error	40	41.14976	1.0287		
C. Total	44	408.90783			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
14	A	26.874444
10	B	23.508889
12	B	22.788889
16	C	19.632222
8	C	18.963333

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit					
Rsquare		0.936545			
Adj Rsquare		0.9302			
Root Mean Square Error		0.140517			
Mean of Response		2.392444			
Observations (or Sum Wgts)		45			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu	4	11.656831	2.91421	147.5922	<.0001*
Error	40	0.789800	0.01974		
C. Total	44	12.446631			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
14	A	3.1444444
12	B	2.7000000
10	C	2.4255556
8	D	1.9822222
16	E	1.7100000

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của thời gian trích ly đến TPC, TSC, PAC trích ly từ bột phụ phẩm nho có hỗ trợ siêu âm

Bảng PL III.4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến TPC, TSC và PAC trong trích ly có hỗ trợ siêu âm

Thời gian (phút)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
20	8,27 ± 0,45	14,60 ± 0,73	22,88 ± 0,54
30	9,37 ± 0,66	15,51 ± 0,52	26,02 ± 0,85
40	9,43 ± 0,39	15,62 ± 0,52	26,17 ± 1,07
50	9,41 ± 0,38	15,4 ± 0,56	26,46 ± 0,86

TPC

Summary of Fit

Rsquare	0.536582
Adj Rsquare	0.493137
Root Mean Square Error	0.483359
Mean of Response	9.120833
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Thời gian	3	8.656719	2.88557	12.3507	<.0001*
Error	32	7.476356	0.23364		
C. Total	35	16.133075			

Connecting Letters Report

Level	Mean
40 A	9.4322222
50 A	9.4044444
30 A	9.3744444
20 B	8.2722222

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit

Rsquare	0.766
Adj Rsquare	0.744062
Root Mean Square Error	0.851725
Mean of Response	25.3825
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Thời gian	3	75.990742	25.3302	34.9173	<.0001*
Error	32	23.213933	0.7254		
C. Total	35	99.204675			

Connecting Letters Report

Level	Mean
50 A	26.461111
40 A	26.167778
30 A	26.020000
20 B	22.881111

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit

Rsquare	0.835518
Adj Rsquare	0.820097
Root Mean Square Error	0.058636
Mean of Response	3.121667
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Thời gian	3	0.55887778	0.186293	54.1833	<.0001*
Error	32	0.11002222	0.003438		
C. Total	35	0.66890000			

Connecting Letters Report

Level	Mean
50 A	3.2477778
40 A	3.1988889
30 B	3.1188889
20 C	2.9211111

Levels not connected by same letter are significantly different.

PHỤ LỤC IV

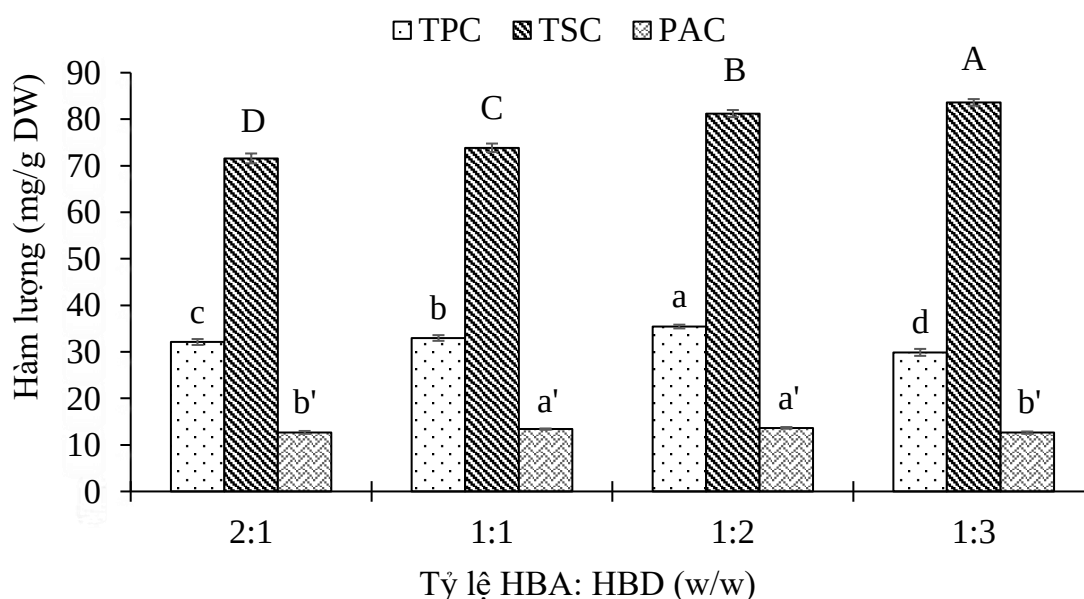
Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng DES

Phụ lục IV.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES

Phụ lục IV.1.1. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid

❖ Ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD đến hiệu quả trích ly

Xác định tỷ lệ HBA: HBD thích hợp là quan trọng để cải thiện tốc độ trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học. Để nghiên cứu tác động của tỷ lệ HBA: HBD của ChCl-LA lên quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho, các quy trình trích ly đã được thực hiện với DES có tỷ lệ choline chloride: lactic acid khác nhau từ 2:1 đến 1:3 (w/w), kết quả được thể hiện trong **Hình PL IV.1**.



Hình PL IV.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD đến hiệu quả trích ly

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Kết quả thống kê cho thấy sự khác biệt về tỷ lệ choline chloride và lactic acid ảnh hưởng đáng kể đến khả năng trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ

phẩm nho ($P \leq 0,05$). Như có thể thấy trong **Hình PL IV.1**, ChCl–LA với tỷ lệ 1:2 (w/w) cho năng suất trích ly cao nhất. TPC, TSC và PAC lần lượt là $35,44 \pm 0,40$ mg GAE/g DW; $81,22 \pm 0,76$ mg AE/g DW và $13,66 \pm 0,18$ mg CE/g DW. Hiệu quả trích ly tăng theo tỷ lệ HBA: HBD từ 2:1 đến 1:2 (w/w). Điều đó tương ứng với sự giảm choline chloride và tăng lactic acid trong hệ DES. Hiệu quả trích ly giảm khi tỷ lệ choline chloride: lactic acid thay đổi từ 1:2 đến 1:3 (w/w). Hiện tượng này tương tự như các kết quả đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây (Li và cộng sự, 2015; Wei và cộng sự, 2015).

Bảng PL IV.1. Độ nhớt của dung môi ChCl-LA ở các tỷ lệ HBA: HBD khác nhau

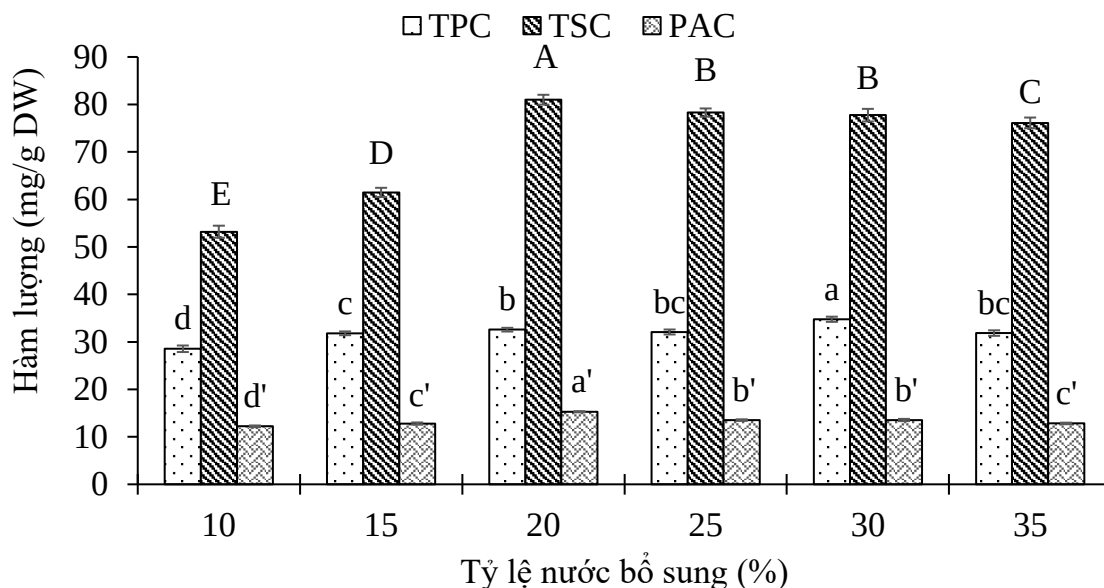
Tỷ lệ HBA: HBD (w/w)	Độ nhớt (cP) (ở $30 \pm 2^\circ\text{C}$)
2:1	$0,71 \pm 0,01$
1:1	$0,45 \pm 0,02$
1:2	$0,45 \pm 0,01$
1:3	$0,11 \pm 0,01$

Bảng PL IV.1 cho thấy độ nhớt giảm dần khi tăng tỷ lệ lactic acid trong hệ DES. Độ nhớt giảm có thể giúp tăng hiệu quả trích ly. Tuy nhiên, nếu tỷ lệ lactic acid giảm đến một mức nào đó sẽ có ảnh hưởng tiêu cực đến hệ DES. Khả năng trích ly một số hợp chất có hoạt tính sinh học bằng DES được quy cho các tương tác liên kết hydro giữa các phân tử DES và các hợp chất có hoạt tính sinh học. Việc giảm hiệu quả trích ly có thể là do lượng choline chloride (HBA trong hệ thống DES) giảm, dẫn đến giảm cường độ liên kết hydro vì anion chlorua là một thành phần có thể giúp tạo liên kết hydro (Li và cộng sự, 2015) một cách gián tiếp. Lactic acid tạo môi trường dung môi có tính axit, có lợi cho việc trích ly hợp chất phenolic. Tuy nhiên, tính axit quá cao làm thay đổi đáng kể các đặc điểm lý hóa của DES, chẳng hạn như pH và độ phân cực, có thể làm giảm hiệu quả trích ly (Zhang và cộng sự, 2022). Từ những kết quả trên, tỷ lệ HBA: HBD là 1:2 (w/w) đã được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

❖ *Ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung đến hiệu quả trích ly*

Mặc dù có tiềm năng, một trong những hạn chế của DES là độ nhớt cao. Do đó, người ta thường thêm một lượng nước thích hợp vào dung môi eutectic sâu để cải thiện

nhược điểm này. Dựa trên đó, thí nghiệm này tập trung vào ảnh hưởng của các tỷ lệ nước bổ sung khác nhau (10 – 35%) đến hiệu quả trích ly bằng DES tổng hợp từ ChCl–LA (tỷ lệ HBA: HBD là 1:2 w/w). Ảnh hưởng của việc bổ sung nước đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học được thể hiện trong **Hình PL IV.2**.



Hình PL IV.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung đến hiệu quả trích ly

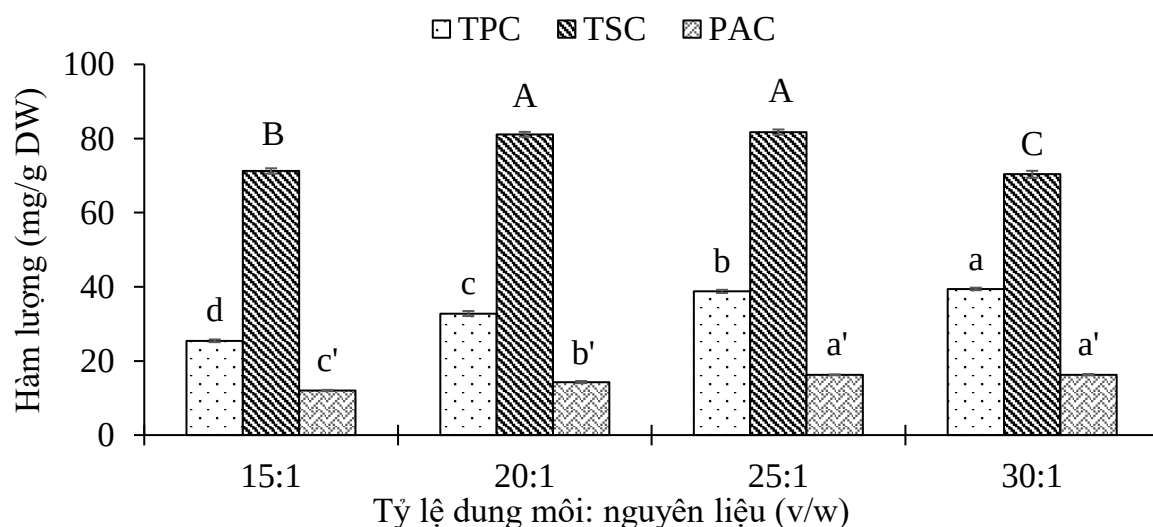
Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Kết quả thống kê cho thấy sự khác biệt trong tỷ lệ nước bổ sung trong DES ảnh hưởng đến khả năng trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho ($P \leq 0,05$). Như thể hiện trong **Hình PL IV.2**, hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trích ly được tăng theo tỷ lệ nước tăng thêm vào ChCl–LA từ 10% đến 20%. Đặc biệt, ChCl–LA có thêm 20% nước cho hiệu quả trích ly cao nhất. TPC, TSC và PAC lần lượt là $32,57 \pm 0,39$ mg GAE/g DW, $81,00 \pm 1,03$ mg AE/g DW và $15,28 \pm 0,12$ mg CE/g DW. Nhược điểm chính của DES so với các dung môi thông thường là độ nhớt cao, khiến việc chuyển các hợp chất mục tiêu từ ma trận thực vật sang dung môi trích ly trở nên khó khăn. Có thể thêm nước vào DES để giảm độ nhớt của nó, điều này có lợi cho việc tăng tốc độ hòa tan của các hợp chất, trích ly các hợp chất mục tiêu và giảm thời gian chuẩn bị (Dai và cộng sự, 2013). Tuy nhiên, hàm lượng các hợp chất mục tiêu liên tục giảm khi hàm lượng nước trong ChCl–LA tiếp tục tăng hơn 20%. Độ nhớt của hệ DES có thể giảm đáng kể bằng cách thêm nước, nhưng quá nhiều nước sẽ cản trở khả năng thiết lập liên kết hydro và phá hủy cấu trúc DES được tạo từ HBD và HBA (Dai

và cộng sự, 2015). Điều đó sẽ làm suy yếu sự tương tác giữa DES và các thành phần mục tiêu, có thể làm giảm năng suất trích ly. Có nhiều báo cáo cũng kết luận rằng việc thêm nước vào DES không phải lúc nào cũng làm tăng năng suất trích ly (Almeida Pontes và cộng sự, 2021; Wei và cộng sự, 2015). Việc thêm 20% nước vào ChCl-LA đã giúp cải thiện đáng kể hiệu quả trích ly, ngược lại nồng độ nước cao hơn (40 – 80%) dẫn đến giảm hàm lượng bốn loại flavonoid mục tiêu được trích ly từ cây hoàng cầm (Wei và cộng sự, 2015). Do đó, việc bổ sung 20% nước vào ChCl-LA là phù hợp, cho hiệu quả trích ly cao và được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

❖ Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly

Để nghiên cứu tác động của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học, các quy trình trích ly được thực hiện với các tỷ lệ dung môi: nguyên liệu khác nhau (15:1, 20:1, 25:1 và 30:1 v/w) (xem **Hình PL IV.3**). Kết quả thống kê cho thấy sự khác biệt về tỷ lệ dung môi: nguyên liệu ảnh hưởng đến khả năng trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho ($P \leq 0,05$). Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu 25:1 (v/w) cho hiệu quả trích ly cao nhất, được chứng minh ở hàm lượng các hợp chất mục tiêu trích ly được cao nhất. TPC, TSC và PAC lần lượt là $38,75 \pm 0,43$ mg GAE/g DW; $81,73 \pm 0,70$ mg AE/g DW và $16,26 \pm 0,11$ mg CE/g DW.



Hình PL IV.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly bằng DES choline chloride và lactic acid

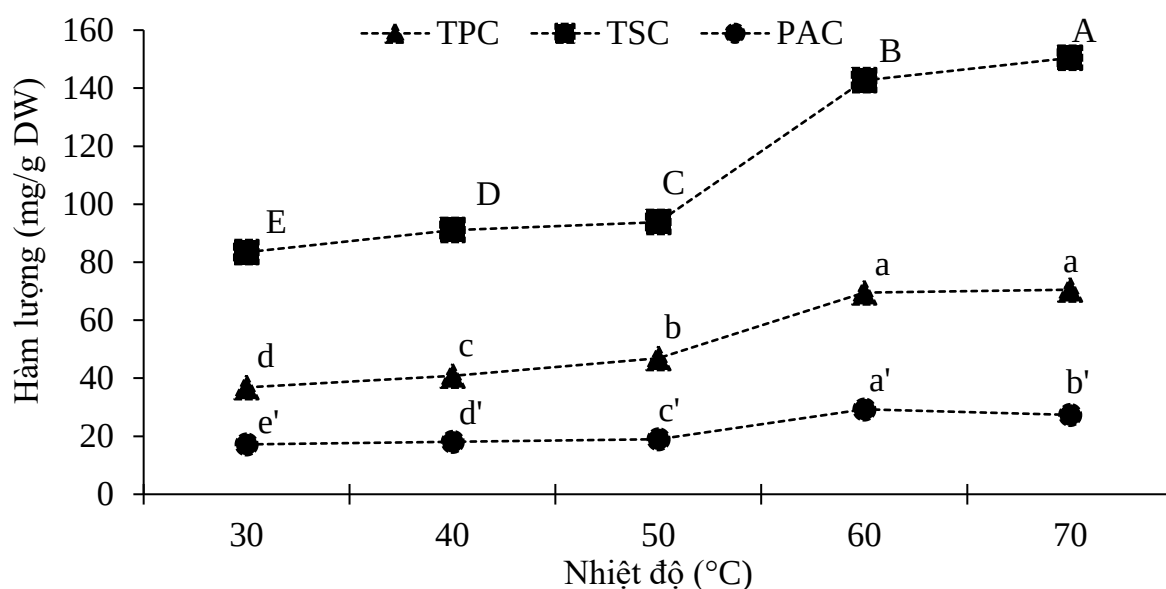
Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học tăng khi lượng dung môi tăng, đặc biệt khi tỷ lệ dung môi: nguyên liệu tăng từ 15:1 lên 25:1 v/w. Khi thể tích dung môi tiếp tục tăng đến tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 30:1 v/w, tổng hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học giảm. Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đóng vai trò quan trọng trong quá trình trích ly. Thông thường, khi tỷ lệ dung môi: nguyên liệu tăng, sản lượng hợp chất phenolic tăng và thời gian trích ly giảm. Ở một mức độ nhất định, việc tăng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu có thể khiến mẫu được ngâm hoàn toàn và tăng diện tích tiếp xúc, dẫn đến sản lượng trích ly cao hơn. Trong các nghiên cứu khác, Nguyen và cộng sự (2023) cũng quan sát thấy rằng việc tăng tỷ lệ dung môi: nguyên liệu dẫn đến tăng sản lượng hợp chất có hoạt tính sinh học. Điều này được giải thích bởi sự chênh lệch nồng độ trích ly giữa pha rắn và pha lỏng sẽ cao hơn, tương ứng với tỷ lệ dung môi: nguyên liệu cao hơn. Sự chênh lệch nồng độ tăng tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình chuyển khối của các hợp chất có hoạt tính sinh học (Lu và Liu, 2020). Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu cao thường hỗ trợ việc chuyển hợp chất mục tiêu và tăng hiệu quả trích ly. Tuy nhiên, lượng dung môi cao làm tăng chi phí. Do đó, trong nghiên cứu này, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 25:1 (v/w) là phù hợp nhất để trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho bằng DES dựa trên ChCl-LA.

❖ *Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích ly*

Thông thường, nhiệt độ và thời gian trích ly là những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly của các hợp chất từ các nguồn nguyên liệu thực vật. **Hình PL IV.4** minh họa tác động của nhiệt độ đến hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học trích ly được từ phụ phẩm nho. Nhìn chung, quá trình gia nhiệt làm tăng khả năng thu hồi các hợp chất phenolic, với hầu hết quá trình trích ly diễn ra ở nhiệt độ trên 40°C (Lu và Liu, 2020). Đáng chú ý, hàm lượng hợp chất tăng đáng kể khi nhiệt độ tăng từ 50°C lên 70°C. Tuy nhiên, chỉ quan sát thấy một sự gia tăng nhẹ khi nhiệt độ tăng từ 60°C lên 70°C. Nhiệt độ cao làm giảm độ nhớt của DES và thúc đẩy quá trình hòa tan các hợp chất mục tiêu bằng cách làm giảm tương tác giữa các hợp chất và ma trận tế bào (Dai và cộng sự, 2013; Lu và Liu, 2020). Tuy nhiên, nhiệt độ quá cao có thể đẩy nhanh quá trình phân hủy các hợp chất có hoạt tính sinh học (Shewale và Rathod, 2018) và làm giảm hoạt tính kháng oxy hóa của chúng (Gil-Martín và cộng sự, 2022). Shewale và Rathod (2018) cũng báo cáo rằng việc lựa chọn nhiệt độ rất quan trọng vì nhiệt độ quá

cao có thể phân hủy các hợp chất phenolic, làm giảm hàm lượng của chúng. Một nghiên cứu của Oancea (2021) cũng cho thấy để ngăn ngừa sự phân hủy do nhiệt độ, quá trình trích ly anthocyanin nên được duy trì dưới 60°C, với quy trình được tiến hành trong phạm vi nhiệt độ từ 20 – 50°C. Do đó, để tối ưu hóa cả năng suất trích ly và hiệu quả về mặt chi phí, nhiệt độ trích ly 60°C đã được chọn cho thử nghiệm thời gian trích ly.



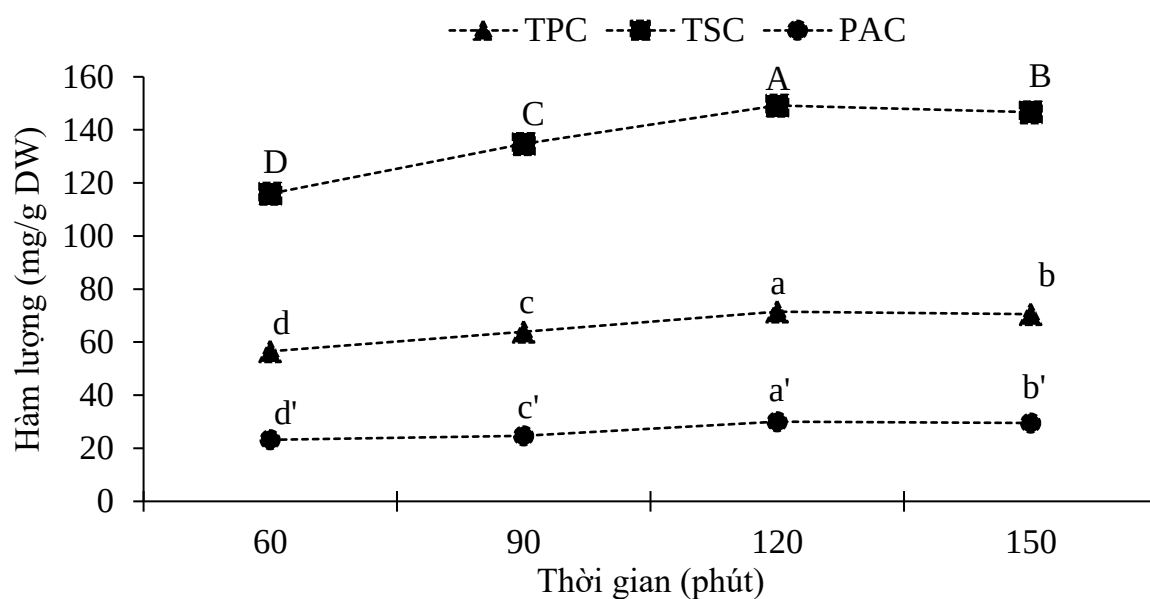
Hình PL IV.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

❖ Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu quả trích ly

Hình PL IV.5 minh họa tác động của thời gian trích ly đến hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học bao gồm TPC, TSC và PAC trích ly được từ bột phụ phẩm nho *Red Cardinal*. Hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học tăng đáng kể khi thời gian trích ly được kéo dài từ 60 phút lên 120 phút. Sau 120 phút, hiệu suất trích ly giảm, có khả năng là do sự phân hủy các hợp chất có hoạt tính sinh học do tiếp xúc lâu với không khí và ánh sáng. Ngoài ra, khi quá trình trích ly tiến gần đến trạng thái cân bằng rắn – lỏng, tốc độ khuếch tán giảm, khiến thời gian trích ly kéo dài ít có hiệu quả trong việc tăng năng suất hợp chất phenolic trong các ứng dụng công nghiệp (Lu và Liu, 2020). Thời gian trích ly tối ưu phụ thuộc phần lớn vào các tính chất lý hóa của nguyên liệu thô, đặc

điểm của DES và độ ổn định nhiệt của các hợp chất mục tiêu (Lu và Liu, 2020). Do đó, thời gian trích ly phù hợp cho phụ phẩm nhò được xác định là 120 phút.



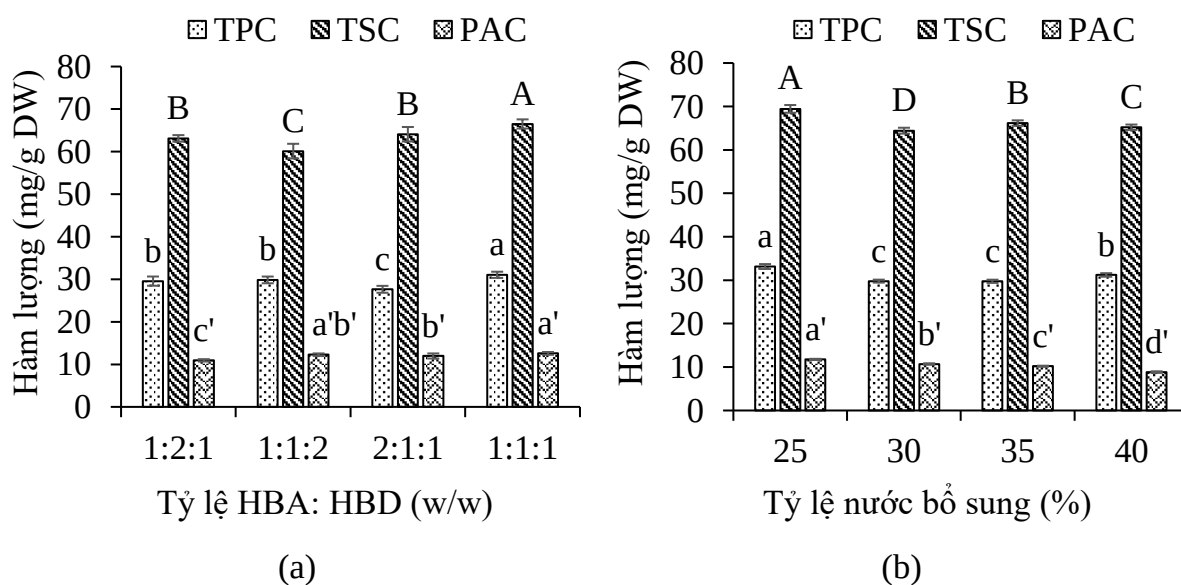
Hình PL IV.5. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Phụ lục IV.1.2. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid

❖ Ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD và tỷ lệ nước bổ sung đến hiệu quả trích ly

Trong DES dựa trên ChCl-Gly-CA, ChCl đóng vai trò là HBA, với Gly và CA là HBD. TPC, TSC và PAC cho thấy sự thay đổi đáng kể khi HBA hoặc HBD tăng trong DES. TPC, TSC và PAC cao nhất ở tỷ lệ 1:1:1 (w/w/w) của ChCl-Gly-CA, đạt lần lượt là $31,04 \pm 0,73$ mg GAE/g DW, $66,51 \pm 1,07$ mg AE/g DW, $12,57 \pm 0,33$ mg CE/g DW (**Hình PL IV.6a**). Sự gia tăng tỷ lệ HBA: HBD có tác động đáng kể đến cấu trúc DES, ảnh hưởng đến quá trình trích ly. Cấu trúc riêng biệt của DES thúc đẩy hiệu quả trích ly chất phân tích thông qua liên kết hydro liên phân tử giữa DES và chất tan. Việc lựa chọn tỷ lệ HBA: HBD lý tưởng để trích ly đòi hỏi phải xem xét nhiều yếu tố khác, bao gồm độ nhớt, liên kết hydro, độ dẫn điện (Omar và Sadeghi, 2023) và tính ổn định của cấu trúc DES (Bildik, 2021).



Hình PL IV.6. Ảnh hưởng của (a) tỷ lệ HBA: HBD và (b) tỷ lệ nước bổ sung đến quá trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride, glycerol và citric acid

Khi thêm 25% nước, TPC, TSC và PAC đạt giá trị cao nhất lần lượt là $33,15 \pm 0,56$ mg GAE/g DW, $69,44 \pm 0,89$ mg AE/g DW và $11,76 \pm 0,14$ mg CE/g DW (**Hình PL IV.6b**). Khi tăng lượng nước từ 25% lên 40%, TPC, TSC và PAC cho thấy sự khác biệt đáng kể và có xu hướng giảm. Việc thêm các tỷ lệ nước khác nhau có thể làm giảm đáng kể độ nhớt của DES và ảnh hưởng tích cực đến quá trình trích ly các thành phần

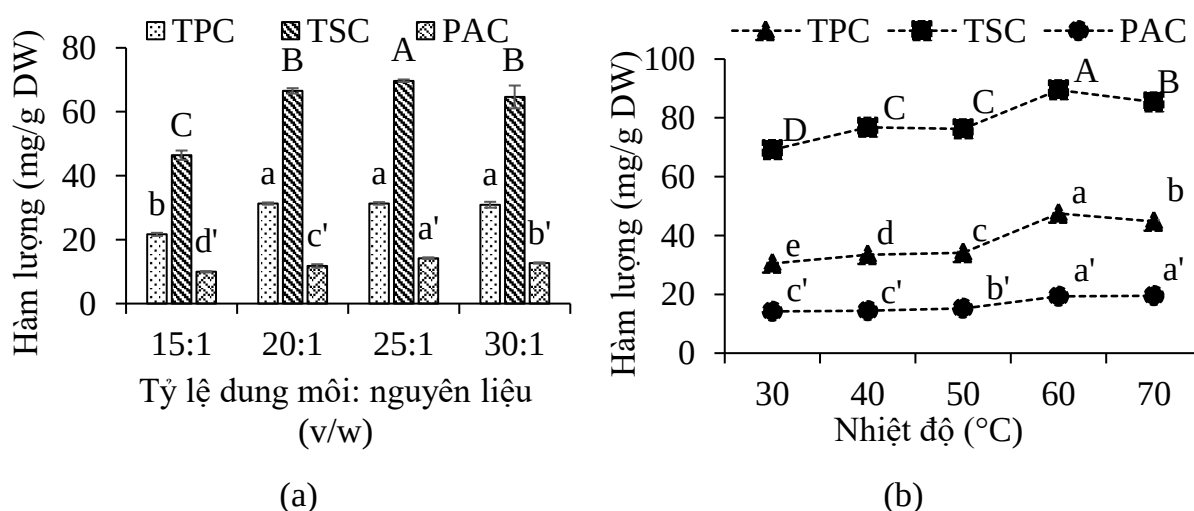
phân cực. Vượt quá ngưỡng tỷ lệ 25% nước dẫn đến giảm hiệu suất trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong DES (ChCl-Gly-CA). Sự giảm này có thể là do tác động bất lợi đến tương tác giữa các chất mục tiêu và DES. Việc bổ sung quá nhiều nước có thể dẫn đến phá vỡ liên kết hydro, làm giảm dần tương tác phân tử (Ali và cộng sự, 2019). Nước phân cực hình thành liên kết hydro với cả HBA và HDB, phá vỡ ma trận liên kết hydro giữa chúng và làm mất ổn định cấu trúc DES. Độ nhớt của dung môi trở nên quá cao khi bổ sung dưới 25% nước, gây ra sự pha trộn không đều với bột phụ phẩm nhỏ. Kết quả cho thấy việc bổ sung 25% nước vào DES thúc đẩy hệ thống trích ly hợp chất có hoạt tính sinh học hiệu quả hơn.

❖ *Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu và nhiệt độ đến hiệu quả trích ly*

Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả trích ly và tính kinh tế của quá trình. Kết quả cho thấy tỷ lệ cao hơn ban đầu có lợi cho quá trình trích ly hợp chất phenolic, nhưng vượt quá một điểm nhất định, dung môi quá mức làm giảm hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học (**Hình PL IV.7a**). Theo nguyên lý, dung môi nhiều hơn làm tăng khả năng tiếp xúc của hợp chất có hoạt tính sinh học cho đến khi cân bằng, sau đó hiệu quả quá trình trích ly sẽ không tăng. Trong nghiên cứu này, hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trích ly được tăng lên cho đến tỷ lệ 25:1 (v/w), sau đó sẽ giảm. TPC không khác biệt đáng kể giữa tỷ lệ 20:1 và 25:1 (v/w). TSC đạt giá trị tối đa ($69,70 \pm 0,40$ mg AE/g DW) ở tỷ lệ 25:1 (v/w). Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu thấp hơn dẫn đến khả năng trích ly của DES thấp hơn, làm chậm quá trình trích ly. Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu cao hơn làm tăng khả năng trích ly của dung môi, cho phép rút ngắn thời gian trích ly. Tỷ lệ quá mức dẫn đến giảm hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học và lãng phí dung môi. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Lin và cộng sự (2022), trong đó tỷ lệ tăng dần từ 25:1 lên 30:1 (v/w) làm giảm hiệu quả thu hồi hợp chất. Có thể thấy rằng việc tối ưu hóa tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là rất quan trọng để có thể trích ly hiệu quả và tiết kiệm chi phí.

Hình PL IV.7b cho thấy TPC và TSC đạt cao nhất ở 60°C và giảm dần khi nhiệt độ trích ly cao hơn. Ở 60°C, các hàm lượng cao nhất của TPC đạt $47,49 \pm 0,23$ mg GAE/g DW, TSC đạt $89,47 \pm 0,74$ mg AE/g DW, PAC đạt $19,30 \pm 0,17$ mg CE/g DW. Các hợp chất có hoạt tính sinh học không bền nhiệt, bị phân hủy ở nhiệt độ cao hơn. Cả hoạt tính sinh học của dịch trích và hiệu suất trích ly đều bị ảnh hưởng đáng kể bởi nhiệt

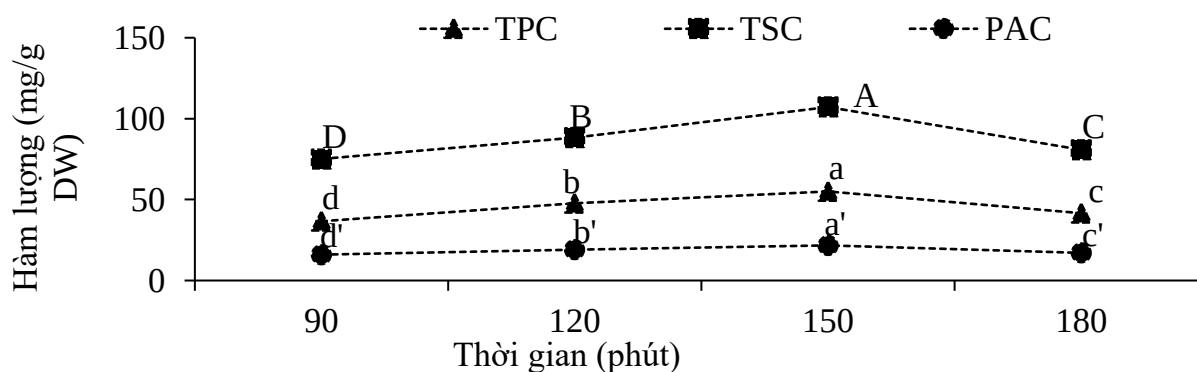
độ. Trong quá trình trích ly bằng DES, nhiệt độ còn quyết định độ nhớt của dung môi. Nhiệt độ cao hơn làm tăng cường quá trình trích ly hợp chất do khả năng khuếch tán dung môi được cải thiện trong ma trận và độ hòa tan của các hợp chất phenolic lớn hơn. Độ nhớt của dung môi giảm làm tăng khả năng khuếch tán. Dựa trên kết quả và so sánh, 60°C là nhiệt độ phù hợp để trích ly hợp chất có hoạt tính sinh học trong bột phụ phẩm nho bằng DES dựa trên choline chloride, glycerol và citric acid.



Hình PL IV.7. Ảnh hưởng của (a) tỷ lệ dung môi: nguyên liệu và (b) nhiệt độ đến quá trình trích ly bằng DES choline chloride, glycerol và citric acid

❖ Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu quả trích ly

Các hợp chất có hoạt tính sinh học tăng lên khi kéo dài thời gian trích ly, đạt cao nhất ở 150 phút, sau đó giảm dần. **Hình PL IV.8** minh họa TPC, TSC và PAC tăng từ 25% lên 33%. Kéo dài quá trình trích ly lên 180 phút dẫn đến giảm khoảng 32% tổng hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học.



Hình PL IV.8. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES choline chloride, glycerol và citric acid

Trích ly rắn-lông là một quá trình truyền khối liên quan đến sự di chuyển của chất từ chất nền rắn sang dung môi thông qua cơ chế thẩm thấu và khuếch tán. Trích ly kéo dài làm phá vỡ nhiều tế bào thực vật hơn, tăng lượng hợp chất có hoạt tính sinh học thu được. Sau 150 phút, các hợp chất trích ly được đạt trạng thái ổn định, như thể hiện trong **Hình PL IV.8**. Kéo dài quá trình trích ly làm cho các hợp chất phenolic tiếp xúc lâu hơn với ánh sáng, oxy và nhiệt độ, thúc đẩy quá trình oxy hóa và phân hủy. Sự suy giảm quan sát được của các hợp chất sau 150 phút có thể là kết quả của tác động này. Do đó, thời gian trích ly thích hợp để có hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học tối đa là khoảng 150 phút.

Phụ lục IV.2. Kết quả xử lý số liệu thống kê

Phụ lục IV.2.1. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD đến hiệu quả trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid

Bảng PL IV.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid

Tỷ lệ HBA: HBD (w/w)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
2:1	32,12 ± 0,63	71,58 ± 1,06	12,69 ± 0,31
1:1	32,98 ± 0,61	73,86 ± 0,91	13,40 ± 0,14
1:2	35,44 ± 0,40	81,22 ± 0,76	13,66 ± 0,18
1:3	29,89 ± 0,75	83,61 ± 0,72	12,64 ± 0,25

TPC

Summary of Fit

Rsquare	0.922249
Adj Rsquare	0.91496
Root Mean Square Error	0.612448
Mean of Response	32.60611
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ HBA: HBD	3	142.37408	47.4580	126.5233	<.0001*
Error	32	12.00298	0.3751		
C. Total	35	154.37706			

Connecting Letters Report

Level		Mean
1:2	A	35.442222
1:1	B	32.980000
2:1	C	32.115556
1:3	D	29.886667

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit	
Rsquare	0.973393
Adj Rsquare	0.970898
Root Mean Square Error	0.874487
Mean of Response	77.56444
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ HBA: HBD	3	895.24880	298.416	390.2255	<.0001*
Error	32	24.47129	0.765		
C. Total	35	919.72009			

Connecting Letters Report

Level		Mean
1:3	A	83.608889
1:2	B	81.215556
1:1	C	73.857778
2:1	D	71.575556

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit	
Rsquare	0.809407
Adj Rsquare	0.791539
Root Mean Square Error	0.227825
Mean of Response	13.09694
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ HBA: HBD	3	7.0536306	2.35121	45.2991	<.0001*
Error	32	1.6609333	0.05190		
C. Total	35	8.7145639			

Connecting Letters Report

Level		Mean
1:2	A	13.660000
1:1	A	13.398889
2:1	B	12.691111
1:3	B	12.637778

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung đến hiệu quả trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid

Bảng PL IV.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid

Tỷ lệ nước bổ sung (%)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
10	28,55 ± 0,69	53,20 ± 1,27	12,22 ± 0,17
15	31,80 ± 0,40	61,48 ± 0,97	12,80 ± 0,24
20	32,57 ± 0,39	81,00 ± 1,03	15,28 ± 0,12
25	32,08 ± 0,53	78,29 ± 0,86	13,52 ± 0,17
30	34,76 ± 0,54	77,74 ± 1,33	13,55 ± 0,24
35	31,86 ± 0,58	76,12 ± 1,13	12,82 ± 0,17

TPC

Summary of Fit	
Rsquare	0.929871
Adj Rsquare	0.922566
Root Mean Square Error	0.530462
Mean of Response	31.93778
Observations (or Sum Wgts)	54

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ nước bổ sung	5	179.09082	35.8182	127.2902	<.0001*
Error	48	13.50671	0.2814		
C. Total	53	192.59753			

Connecting Letters Report

Level		Mean
30	A	34.760000
20	B	32.573333
25	B C	32.083333
35	B C	31.856667
15	C	31.804444
10	D	28.548889

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit	
Rsquare	0.989718
Adj Rsquare	0.988647
Root Mean Square Error	1.10943
Mean of Response	71.30407
Observations (or Sum Wgts)	54

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ nước bổ sung	5	5686.7404	1137.35	924.0462	<.0001*
Error	48	59.0801	1.23		
C. Total	53	5745.8205			

Connecting Letters Report

Level		Mean
20	A	81.000000
25	B	78.294444
30	B	77.738889
35	C	76.116667
15	D	61.476667
10	E	53.197778

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit	
Rsquare	0.967656
Adj Rsquare	0.964287
Root Mean Square Error	0.188557
Mean of Response	13.36481
Observations (or Sum Wgts)	54

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ nước bổ sung	5	51.057170	10.2114	287.2115	<.0001*
Error	48	1.706578	0.0356		
C. Total	53	52.763748			

Connecting Letters Report

Level		Mean
20	A	15.283333
30	B	13.545556
25	B	13.524444
35	C	12.822222
15	C	12.795556
10	D	12.217778

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid

Bảng PL IV.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid

Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (v/w)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
15:1	25,43 ± 0,36	71,24 ± 0,72	12,01 ± 0,18
20:1	32,78 ± 0,68	81,13 ± 0,65	14,3 ± 0,3
25:1	38,75 ± 0,43	81,73 ± 0,7	16,26 ± 0,11
30:1	39,42 ± 0,33	70,34 ± 0,93	16,29 ± 0,18

TPC

Summary of Fit	
Rsquare	0.993845
Adj Rsquare	0.993268
Root Mean Square Error	0.470139
Mean of Response	34.09667
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu	3	1142.1104	380.703	1722.402	<.0001*
Error	32	7.0730	0.221		
C. Total	35	1149.1834			

Connecting Letters Report

Level		Mean
30:1	A	39.422222
25:1	B	38.754444
20:1	C	32.780000
15:1	D	25.430000

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit	
Rsquare	0.982256
Adj Rsquare	0.980592
Root Mean Square Error	0.760311
Mean of Response	76.1125
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu	3	1023.9941	341.331	590.4642	<.0001*
Error	32	18.4983	0.578		
C. Total	35	1042.4925			

Connecting Letters Report

Level		Mean
25:1	A	81.730000
20:1	A	81.134444
15:1	B	71.241111
30:1	B	70.344444

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit	
Rsquare	0.988214
Adj Rsquare	0.987109
Root Mean Square Error	0.203362
Mean of Response	14.71472
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu	3	110.95850	36.9862	894.3307	<.0001*
Error	32	1.32340	0.0414		
C. Total	35	112.28190			

Connecting Letters Report

Level		Mean
30:1	A	16.288889
25:1	A	16.258889
20:1	B	14.296667
15:1	C	12.014444

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid

Bảng PL IV.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid

Nhiệt độ trích ly (°C)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
30	36,86 ± 0,55	83,45 ± 1,57	17,19 ± 0,21
40	40,84 ± 0,85	91,09 ± 1,25	18,08 ± 0,21
50	46,91 ± 0,79	93,75 ± 1,55	18,99 ± 0,41
60	69,54 ± 0,75	142,67 ± 1,81	29,29 ± 0,77
70	70,52 ± 0,86	150,42 ± 1,05	27,37 ± 0,66

TPC

Summary of Fit	
Rsquare	0.997447
Adj Rsquare	0.997192
Root Mean Square Error	0.76876
Mean of Response	52.93422
Observations (or Sum Wgts)	45

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Nhiệt độ	4	9235.2714	2308.82	3906.684	<.0001*
Error	40	23.6397	0.59		
C. Total	44	9258.9111			

Connecting Letters Report

Level		Mean
70	A	70.523333
60	A	69.538889
50	B	46.914444
40	C	40.837778
30	D	36.856667

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit	
Rsquare	0.997607
Adj Rsquare	0.997368
Root Mean Square Error	1.469609
Mean of Response	112.2751
Observations (or Sum Wgts)	45

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Nhiệt độ	4	36019.158	9004.79	4169.367	<.0001*
Error	40	86.390	2.16		
C. Total	44	36105.548			

Connecting Letters Report

Level		Mean
70	A	150.42444
60	B	142.66667
50	C	93.74667
40	D	91.08889
30	E	83.44889

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit	
Rsquare	0.991205
Adj Rsquare	0.990326
Root Mean Square Error	0.50832
Mean of Response	22.18467
Observations (or Sum Wgts)	45

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Nhiệt độ	4	1164.8345	291.209	1127.014	<.0001*
Error	40	10.3356	0.258		
C. Total	44	1175.1701			

Connecting Letters Report

Level		Mean
60	A	29.292222
70	B	27.372222
50	C	18.985556
40	D	18.081111
30	E	17.192222

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid

Bảng PL IV.6. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: lactic acid

Thời gian trích ly (phút)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
60	56,56 ± 0,70	115,99 ± 1,52	23,20 ± 0,25
90	63,90 ± 0,38	134,75 ± 2,02	24,70 ± 0,33
120	71,49 ± 0,63	149,20 ± 1,28	30,03 ± 0,45
150	70,52 ± 0,63	146,71 ± 2,16	29,50 ± 0,28

TPC

Summary of Fit	
Rsquare	0.983876
Adj Rsquare	0.982365
Root Mean Square Error	1.782519
Mean of Response	136.6614
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Thời gian	3	6204.3026	2068.10	650.8835	<.0001*
Error	32	101.6760	3.18		
C. Total	35	6305.9786			

Connecting Letters Report

Level		Mean
120	A	71.492222
150	B	70.524444
90	C	63.896667
60	D	56.562222

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit	
Rsquare	0.983876
Adj Rsquare	0.982365
Root Mean Square Error	1.782519
Mean of Response	136.6614
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Thời gian	3	6204.3026	2068.10	650.8835	<.0001*
Error	32	101.6760	3.18		
C. Total	35	6305.9786			

Connecting Letters Report			
Level			Mean
120	A		149.20111
150	B		146.71000
90	C		134.74889
60	D		115.98556

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit	
Rsquare	0.988711
Adj Rsquare	0.987653
Root Mean Square Error	0.335892
Mean of Response	26.85639
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Thời gian	3	316.21248	105.404	934.2385	<.0001*
Error	32	3.61036	0.113		
C. Total	35	319.82283			

Connecting Letters Report			
Level			Mean
120	A		30.031111
150	B		29.501111
90	C		24.697778
60	D		23.195556

Levels not connected by same letter are significantly different.

Phụ lục IV.2.2. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD đến hiệu quả trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid

Bảng PL IV.7. Ảnh hưởng của tỷ lệ HBA: HBD đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid

Tỷ lệ HBA: HBD (w/w)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
1:2:1	29,56 ± 1,09	63,11 ± 0,77	10,94 ± 0,28
1:1:2	29,85 ± 0,79	60,12 ± 1,72	12,27 ± 0,30
2:1:1	27,64 ± 0,81	64,09 ± 1,70	11,96 ± 0,60
1:1:1	31,04 ± 0,73	66,51 ± 1,07	12,57 ± 0,33

TPC

Summary of Fit	
Rsquare	0.692184
Adj Rsquare	0.663326
Root Mean Square Error	0.864713
Mean of Response	29.52139
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
HBA:HBD ratio	3	53.805297	17.9351	23.9861	<.0001*
Error	32	23.927333	0.7477		
C. Total	35	77.732631			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
1:1:1	A	31.044444
2:1:1	B	29.845556
1:2:1	B	29.558889
1:1:2	C	27.636667

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.756936	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.734149	HBA:HBD ratio	3	189.07389	63.0246	33.2176
Root Mean Square Error	1.377436	Error	32	60.71453	1.8973	<.0001*
Mean of Response	63.45778	C. Total	35	249.78842		
Observations (or Sum Wgts)	36					

Connecting Letters Report		
Level		Mean
1:1:1	A	66.513333
1:1:2	B	64.091111
1:2:1	B	63.107778
2:1:1	C	60.118889

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.730633	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.70538	HBA:HBD ratio	3	13.681164	4.56039	28.9324
Root Mean Square Error	0.397017	Error	32	5.043911	0.15762	<.0001*
Mean of Response	11.93583	C. Total	35	18.725075		
Observations (or Sum Wgts)	36					

Connecting Letters Report		
Level		Mean
1:1:1	A	12.573333
2:1:1	A B	12.271111
1:1:2	B	11.963333
1:2:1	C	10.935556

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung đến hiệu quả trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid

Bảng PL IV.8. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước bổ sung đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid

Tỷ lệ nước bổ sung (%)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
25	33,15 ± 0,56	69,44 ± 0,89	11,76 ± 0,14
30	29,79 ± 0,34	64,43 ± 0,67	10,70 ± 0,16
35	29,75 ± 0,37	66,17 ± 0,64	10,20 ± 0,11
40	31,21 ± 0,41	65,22 ± 0,62	8,85 ± 0,18

TPC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.921361	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.913989	Water content	3	69.259808	23.0866	124.9749
Root Mean Square Error	0.429802	Error	32	5.911356	0.1847	<.0001*
Mean of Response	30.97194	C. Total	35	75.171164		
Observations (or Sum Wgts)	36					

Connecting Letters Report			
Level			Mean
25	A		33.147778
40	B		31.206667
30	C		29.786667
35	C		29.746667

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.889896	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.879573	Water content	3	131.26608	43.7554	86.2112
Root Mean Square Error	0.712416	Error	32	16.24118	0.5075	<.0001*
Mean of Response	66.31389	C. Total	35	147.50726		
Observations (or Sum Wgts)	36					

Connecting Letters Report			
Level			Mean
25	A		69.444444
35	B		66.166667
40	C		65.217778
30	C		64.426667

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.981953	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.980261	Water content	3	39.488919	13.1630	580.3816
Root Mean Square Error	0.150598	Error	32	0.725756	0.0227	<.0001*
Mean of Response	10.3775	C. Total	35	40.214675		
Observations (or Sum Wgts)	36					

Connecting Letters Report			
Level			Mean
25	A		11.761111
30	B		10.701111
35	C		10.198889
40	D		8.848889

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid

Bảng PL IV.9. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid

Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (v/w)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
15:1	21,65 ± 0,48	46,41 ± 1,46	9,94 ± 0,22
20:1	31,29 ± 0,34	66,54 ± 0,83	11,80 ± 0,52
25:1	31,34 ± 0,39	69,70 ± 0,40	14,20 ± 0,26
30:1	30,91 ± 0,92	64,64 ± 3,57	12,71 ± 0,19

TPC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.982699	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.981077	Solvent-to-material ratio	3	613.68680	204.562	605.8736
Root Mean Square Error	0.581061	Error	32	10.80422	0.338	<.0001*
Mean of Response	28.79778	C. Total	35	624.49102		
Observations (or Sum Wgts)	36					

Connecting Letters Report		
Level		Mean
25	A	31.341111
20	A	31.285556
30	A	30.912222
15	B	21.652222

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.959377	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.955569	Solvent-to-material ratio	3	2967.9888	989.330	251.9128
Root Mean Square Error	1.981734	Error	32	125.6726	3.927	<.0001*
Mean of Response	61.82639	C. Total	35	3093.6614		
Observations (or Sum Wgts)	36					

Connecting Letters Report		
Level		Mean
25	A	69.704444
20	B	66.543333
30	B	64.643333
15	C	46.414444

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.961904	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.958332	Solvent-to-material ratio	3	85.602589	28.5342	269.3246
Root Mean Square Error	0.325495	Error	32	3.390311	0.1059	<.0001*
Mean of Response	12.16167	C. Total	35	88.992900		
Observations (or Sum Wgts)	36					

Connecting Letters Report		
Level		Mean
25	A	14.201111
30	B	12.706667
20	C	11.795556
15	D	9.943333

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid

Bảng PL IV.10. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid

Nhiệt độ trích ly (°C)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
30	30,48 ± 0,28	69,14 ± 1,03	14,20 ± 0,14
40	33,48 ± 0,24	76,84 ± 1,08	14,43 ± 0,13
50	34,10 ± 0,41	76,27 ± 1,39	15,22 ± 0,23
60	47,49 ± 0,23	89,47 ± 0,74	19,30 ± 0,17
70	44,82 ± 0,42	85,36 ± 0,62	19,50 ± 0,42

TPC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.997917	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.997709	Temperature	4	2057.3175	514.329	4790.475
Root Mean Square Error	0.327666	Error	40	4.2946	0.107	<.0001*
Mean of Response	38.07444	C. Total	44	2061.6121		
Observations (or Sum Wgts)	45					

Connecting Letters Report				
Level				Mean
60	A			47.490000
70		B		44.815556
50			C	34.102222
40			D	33.480000
30			E	30.484444

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.982771	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.981048	Temperature	4	2325.5908	581.398	570.4047
Root Mean Square Error	1.00959	Error	40	40.7709	1.019	<.0001*
Mean of Response	79.41556	C. Total	44	2366.3617		
Observations (or Sum Wgts)	45					

Connecting Letters Report				
Level				Mean
60	A			89.468889
70		B		85.356667
40			C	76.835556
50			C	76.272222
30			D	69.144444

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.990719	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.989791	Temperature	4	252.11230	63.0281	1067.458
Root Mean Square Error	0.242992	Error	40	2.36180	0.0590	<.0001*
Mean of Response	16.52978	C. Total	44	254.47410		
Observations (or Sum Wgts)	45					

Connecting Letters Report				
Level				Mean
70	A			19.500000
60	A			19.295556
50		B		15.221111
40			C	14.433333
30			C	14.198889

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid

Bảng PL IV.11. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu quả trích ly bằng DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid

Thời gian trích ly (phút)	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
90	36,61 ± 0,26	75,11 ± 1,08	15,98 ± 0,09
120	47,68 ± 0,24	88,26 ± 0,94	18,96 ± 0,09
150	55,02 ± 0,28	107,18 ± 0,84	21,71 ± 0,12
180	41,64 ± 0,19	80,73 ± 1,26	17,14 ± 0,04

TPC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.998871	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.998765	Extraction time	3	1701.8797	567.293	9435.448
Root Mean Square Error	0.245201	Error	32	1.9240	0.060	<.0001*
Mean of Response	45.23861	C. Total	35	1703.8036		
Observations (or Sum Wgts)	36					

Connecting Letters Report

Level		Mean
180	A	55.02222
120	B	47.68444
240	C	41.63556
90	D	36.61222

Levels not connected by same letter are significantly different.

TSC

Summary of Fit

Rsquare	0.993456
Adj Rsquare	0.992843
Root Mean Square Error	1.042643
Mean of Response	87.82194
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Extraction time	3	5281.2144	1760.40	1619.352	<.0001*
Error	32	34.7873	1.09		
C. Total	35	5316.0018			

Connecting Letters Report

Level		Mean
180	A	107.18111
120	B	88.26333
240	C	80.73222
90	D	75.11111

Levels not connected by same letter are significantly different.

PAC

Summary of Fit

Rsquare	0.998507
Adj Rsquare	0.998367
Root Mean Square Error	0.088686
Mean of Response	18.44583
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

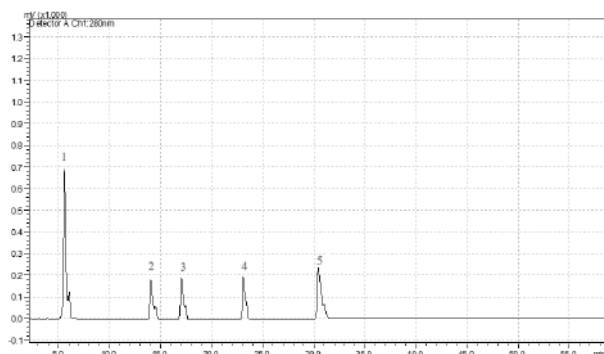
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Extraction time	3	168.28619	56.0954	7132.030	<.0001*
Error	32	0.25169	0.0079		
C. Total	35	168.53788			

Connecting Letters Report

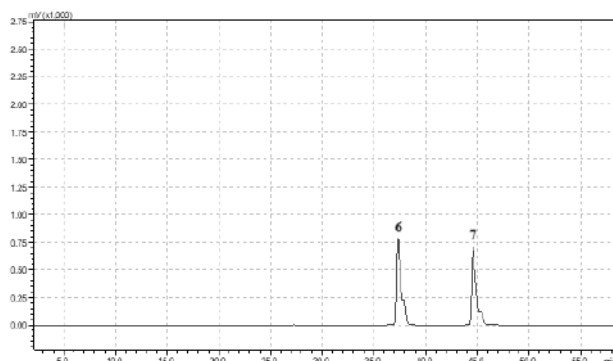
Level		Mean
180	A	21.705556
120	B	18.961111
240	C	17.142222
90	D	15.974444

Levels not connected by same letter are significantly different.

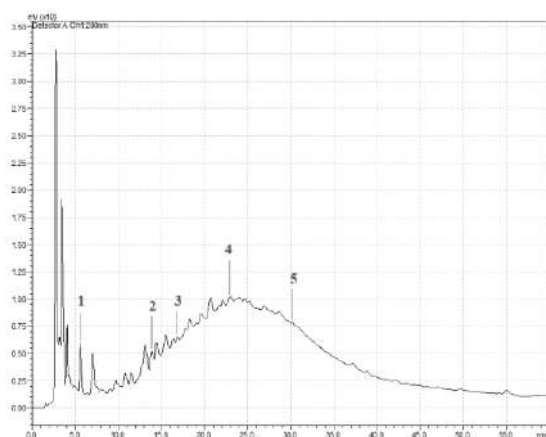
Phụ lục IV.3. Sắc ký đồ HPLC định lượng các hợp chất hoạt tính đơn lẻ trong dịch trích tối ưu



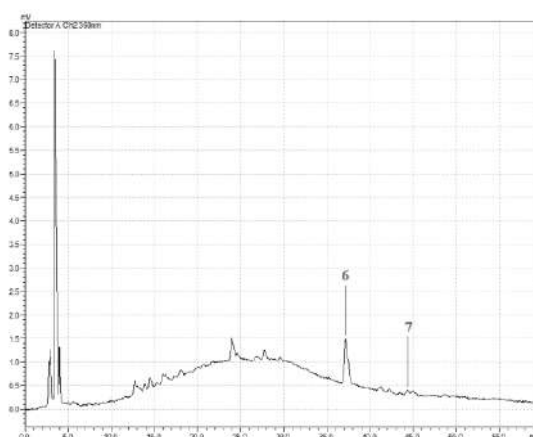
Chất chuẩn - 280 nm



Chất chuẩn 360 nm



Dịch trích - 280 nm



Dịch trích - 360 nm

- 1 – Gallic acid
- 2 – Catechin
- 3 – Epicatechin
- 4 – Rutin
- 5 – Myricetin
- 6 – Quercetin
- 7 – Kaempferol

Phụ lục IV.4. Kết quả so sánh ba phương pháp trích ly tối ưu

Phương pháp trích ly	TPC (mg GAE/g DW)	TSC (mg AE/g DW)	PAC (mg CE/g DW)
DES – Choline chloride: lactic acid	81,90 ^a ± 1,06	174,66 ^a ± 2,87	31,13 ^a ± 0,50
DES – Choline chloride: glycerol: citric acid	71,50 ^b ± 0,35	175,01 ^a ± 0,62	29,25 ^b ± 0,08
U-EAE	13,22 ^c ± 0,03	40,63 ^b ± 1,26	4,96 ^c ± 0,07

TPC

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0,999697	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0,999596	Phương pháp trích ly	2	8220,2873	4110,14	9905,817	<,0001*
Root Mean Square Error	0,644145	Error	6	2,4895	0,41		
Mean of Response	55,54	C. Total	8	8222,7768			
Observations (or Sum Wgts)	9						

Connecting Letters Report		
Level		Mean
DES - Choline chloride: lactic acid	A	81,896667
DES - Choline chloride: glycerol: citric acid	B	71,500000
U-EAE	C	13,223333

TSC

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0,999434	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0,999245	Phương pháp trích ly	2	36022,148	18011,1	5292,808	<,0001*
Root Mean Square Error	1,844704	Error	6	20,418	3,4		
Mean of Response	130,1	C. Total	8	36042,565			
Observations (or Sum Wgts)	9						

Connecting Letters Report		
Level		Mean
DES - Choline chloride: glycerol: citric acid	A	175,01000
DES - Choline chloride: lactic acid	A	174,66000
U-EAE	B	40,63000

PAC

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0,999589	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0,999452	Phương pháp trích ly	2	1278,7438	639,372	7302,471	<,0001*
Root Mean Square Error	0,295898	Error	6	0,5253	0,088		
Mean of Response	21,78222	C. Total	8	1279,2692			
Observations (or Sum Wgts)	9						

Connecting Letters Report		
Level		Mean
DES - Choline chloride: lactic acid	A	31,133333
DES - Choline chloride: glycerol: citric acid	B	29,253333
U-EAE	C	4,960000

PHỤ LỤC V

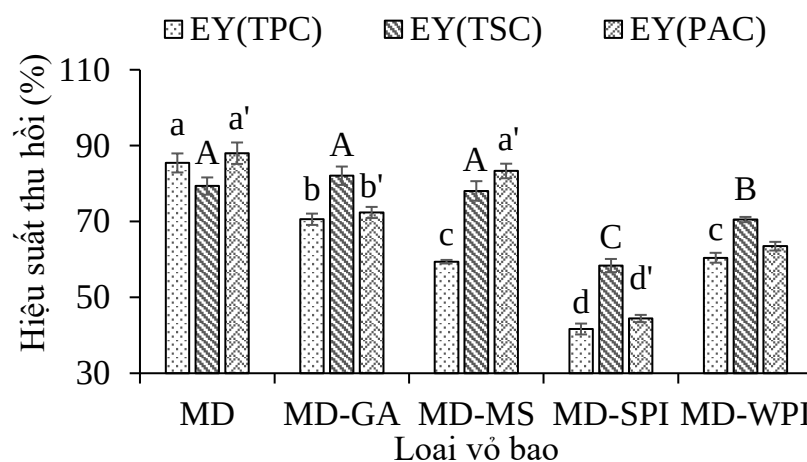
Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình vi bao bằng sấy phun

Phụ lục V.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình vi bao bằng sấy phun

❖ *Ảnh hưởng của loại vỏ bao đến quá trình vi bao*

Vỏ bao là một trong những yếu tố quan trọng góp phần bảo vệ các hợp chất có hoạt tính sinh học khỏi sự phân hủy bởi tác động môi trường trong quá trình vi bao và bảo quản. Để đạt được hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao cao nhất, việc lựa chọn loại vỏ bao phù hợp là điều cần thiết, đặc biệt là khi áp dụng cho các chất hoạt tính sinh học nhạy cảm. Trong nghiên cứu này, các loại vỏ bao khác nhau đã được thử nghiệm, bao gồm maltodextrin riêng lẻ và kết hợp với gum arabic, tinh bột biến tính, protein đậu nành isolate và whey protein isolate. Mục đích là đánh giá ảnh hưởng của loại vỏ bao đến quá trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học được trích ly từ phụ phẩm nho và xác định loại vỏ bao phù hợp nhất cho các ứng dụng sấy phun. Các thông số cố định bao gồm tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:5 (w/w), tốc độ đồng hóa 8.100 vòng/phút trong 10 phút, nhiệt độ không khí sấy đầu vào là 170°C và tốc độ dòng nhập liệu là 15 mL/phút.

Hiệu suất thu hồi được sử dụng làm tiêu chí về hiệu quả của vật liệu vỏ bao trong việc giữ lại TPC, TSC và PAC sau khi sấy phun. Kết quả, được trình bày trong **Hình PL V.1**, minh họa sự khác biệt đáng kể về hiệu suất thu hồi tùy thuộc vào vật liệu vỏ bao được sử dụng ($P \leq 0,05$). Khi MD được sử dụng riêng lẻ sẽ đạt hiệu suất thu hồi cao nhất cho TPC ($85,44 \pm 2,51\%$) và PAC ($88,00 \pm 2,83\%$). Ngược lại, sự kết hợp của MD và SPI (MD-SPI) dẫn đến hiệu suất thu hồi thấp nhất cho cả TPC ($41,66 \pm 1,43\%$) và PAC ($44,42 \pm 0,96\%$), cho thấy SPI có thể không phù hợp để vi bao các hợp chất cụ thể này trong các điều kiện được thử nghiệm. Sự kết hợp của MD với GA, MS mang lại hiệu suất thu hồi trung bình. Điều đáng chú ý là đối với TSC, sự kết hợp MD-GA cho thấy hiệu suất thu hồi cao nhất ($82,07 \pm 2,42\%$), điều này cho thấy sự tương tác giữa GA và saponin có thể tăng cường khả năng vi bao trong quá trình sấy phun.



Hình PL V.1. Hiệu suất thu hồi ở các loại vỏ bao khác nhau

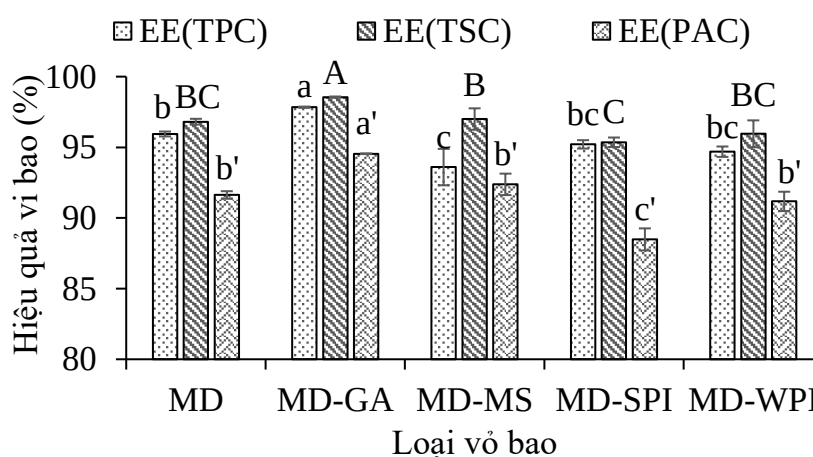
Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Kết quả khảo sát về ảnh hưởng của loại vỏ bao cho thấy MD riêng lẻ mang lại hiệu suất thu hồi cao cho cả TPC và PAC. Tuy nhiên, hiệu suất của nó trong việc vi bao TSC tương đối thấp hơn so với sự kết hợp MD-GA, nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Sự khác biệt này có thể là do bản chất hóa học và cơ chế tương tác của saponin với loại vỏ bao. Ngoài ra, dịch trích DES được biết là có độ nhớt cao, có thể cản trở quá trình phun và hiệu quả sấy trong quá trình sấy phun. Việc bổ sung maltodextrin không chỉ làm tăng tổng hàm lượng chất rắn hòa tan của dịch đầu vào do đó tăng cường tính phù hợp của nó đối với quá trình sấy phun quy mô công nghiệp, mà còn làm giảm độ nhớt của nguyên liệu đầu vào và tạo điều kiện xử lý dịch tốt hơn. MD được ưa chuộng vì các đặc tính lý hóa có lợi của nó, bao gồm độ nhớt thấp, độ hòa tan cao và khả năng giảm độ dính của bột cuối cùng, tất cả đều góp phần cải thiện hiệu suất thu hồi và xử lý sản phẩm (Xiao và cộng sự, 2022).

Ngược lại, sự kết hợp của MD với SPI dẫn đến hiệu suất thu hồi thấp hơn đáng kể trên cả ba chỉ tiêu so với MD kết hợp với WPI. Sự khác biệt này có thể là do khả năng tạo màng khác biệt và tính chất lý hóa của từng protein khi tương tác với các hợp chất có hoạt tính sinh học có trong dịch trích phụ phẩm nho. MD được công nhận rộng rãi là loại vỏ bao hiệu quả để vi bao do độ nhớt thấp, độ hòa tan cao và khả năng tăng cường thu hồi phenolic ở nồng độ cao hơn (Moreno và cộng sự, 2016). Cả WPI và SPI đều có khả năng tạo màng bảo vệ xung quanh lõi thông qua tương tác giữa các hợp chất

phenolic và phân tử protein, giúp ổn định và bảo vệ các hợp chất có hoạt tính sinh học trong quá trình sấy phun. Tuy nhiên, quá trình thu hồi phenolic có thể bị ảnh hưởng bởi sự biến tính protein, đặc biệt là ở nhiệt độ cao hoặc ở nồng độ cao, điều này có thể làm giảm tính khả dụng của các cấu trúc protein tự nhiên tương tác hiệu quả với polyphenol. Đáng chú ý, trong một số trường hợp việc tăng nồng độ WPI vượt quá mức tối ưu có thể dẫn đến giảm khả năng thu hồi phenolic (Moreno và cộng sự, 2016).

Hiệu quả vi bao đề cập đến tỷ lệ phần trăm các hợp chất có hoạt tính sinh học được vi bao thành công trong các hạt vi bao sau quá trình sấy phun. Hiệu quả vi bao cao hơn cho thấy loại vỏ bao phù hợp hơn và tạo ra sản phẩm cuối cùng có chất lượng cao hơn bằng cách tăng cường tính ổn định, khả năng bảo vệ và khả năng giữ lại các hợp chất hoạt tính. Các kết quả trình bày trong **Hình PL V.2** chứng minh rằng hiệu quả vi bao thay đổi đáng kể tùy thuộc vào loại vỏ bao được sử dụng, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy giữa các công thức được thử nghiệm ($P \leq 0,05$). Hiệu quả vi bao cao nhất đối với TPC, TSC và PAC đạt được với sự kết hợp MD-GA, lần lượt là $97,84 \pm 0,05\%$, $98,55 \pm 0,04\%$ và $94,54 \pm 0,03\%$. Hiệu quả của vi bao bằng gum arabic liên quan đến cấu trúc của nó – chất phân nhánh cao, có lượng nhỏ protein liên kết cộng hóa trị với carbohydrate giúp hình thành màng tốt, cho phép vi bao hiệu quả các phân tử (Kuck và Noreña, 2016). MD, khi sử dụng riêng lẻ, có hiệu quả làm giảm sự lắng đọng bề mặt của các hợp chất có hoạt tính sinh học, tăng cường độ ổn định của lõi và cải thiện hiệu quả vi bao tổng thể (Xiao và cộng sự, 2022).



Hình PL V.2. Hiệu quả vi bao ở các loại vỏ bao khác nhau

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Việc kết hợp GA làm tăng thêm độ nhớt của nguyên liệu đầu vào và độ ổn định của dung dịch trước khi sấy phun, góp phần nâng cao hiệu quả vi bao vượt trội so với việc chỉ sử dụng MD. Điều này cho thấy GA, được biết đến với khả năng tạo màng và độ hòa tan tốt, giúp tăng cường đáng kể quá trình vi bao. Theo Mariod (2018), GA là một polysaccharide phân nhánh tự nhiên có khả năng tương tác hiệu quả với polyphenol, do đó tạo điều kiện thuận lợi cho việc hình thành ma trận vi bao ổn định. Ngược lại, công thức sử dụng MD và SPI dẫn đến hiệu quả vi bao thấp nhất trong tất cả các thử nghiệm. Các kết hợp loại vỏ bao khác mang lại hiệu quả vi bao trung bình.

Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước là hai thông số quan trọng ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng, độ ổn định và thời hạn sử dụng của bột vi bao. **Bảng PL V.1** cho thấy cả hai thông số đều thay đổi đáng kể tùy theo loại vỏ bao được sử dụng ($P \leq 0,05$). Giá trị hàm lượng ẩm dao động từ $3,04 \pm 0,21\%$ ở bột được vi bao bằng MD riêng lẻ đến $6,03 \pm 0,52\%$ ở bột được vi bao bằng MD-GA. Tương tự như vậy, hoạt độ nước cũng theo xu hướng tương tự, với giá trị thấp nhất được quan sát thấy đối với vỏ bao MD riêng lẻ ($0,149 \pm 0,004$) và cao nhất đối với MD-GA ($0,192 \pm 0,005$). Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước cao hơn được quan sát thấy trong công thức MD-GA có thể là do bản chất hút ẩm và khả năng liên kết nước cao của GA. Ngược lại, các công thức sử dụng MD và MD-WPI có hàm lượng ẩm thấp hơn đáng kể (lần lượt là $3,04 \pm 0,21$ và $3,53 \pm 0,39$), cho thấy quá trình bốc hơi nước hiệu quả hơn trong quá trình sấy phun. Những kết quả này làm nổi bật vai trò của việc lựa chọn loại vỏ bao trong việc đạt được các đặc tính hàm lượng ẩm mong muốn và đảm bảo tính ổn định vật lý của bột vi bao.

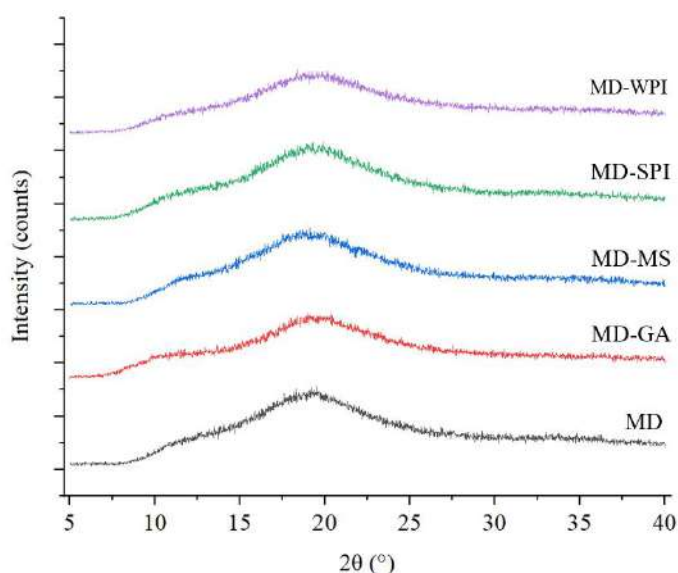
Bảng PL V.1. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột ở các loại vỏ bao khác nhau

Loại vỏ bao	Hàm lượng ẩm (%)	Hoạt độ nước
MD	$3,04^d \pm 0,21$	$0,149^b \pm 0,004$
MD-GA	$6,03^a \pm 0,49$	$0,192^a \pm 0,005$
MD-MS	$5,20^{ab} \pm 0,78$	$0,182^{ab} \pm 0,017$
MD-SPI	$4,55^{bc} \pm 0,04$	$0,174^{ab} \pm 0,011$
MD-WPI	$3,53^{cd} \pm 0,39$	$0,169^{ab} \pm 0,026$

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Thành phần và tính chất lý hóa của loại vỏ bao ảnh hưởng đến cả hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột vi bao. MD, với cấu trúc mạch thẳng, ít nhóm hydroxyl tự do hơn, cho thấy khả năng giữ nước thấp nhất, dẫn đến hàm lượng ẩm và hoạt độ nước giảm. Ngược lại, GA, được đặc trưng bởi cấu trúc phân nhánh và có nhiều nhóm hydroxyl, thể hiện khả năng liên kết hydro mạnh với các phân tử nước. Điều này góp phần làm tăng hàm lượng ẩm và hoạt độ nước trong công thức vỏ bao MD-GA (Mariod, 2018). WPI, chủ yếu bao gồm các protein nhỏ ưa nước như β -lactoglobulin và α -lactalbumin, liên kết nước ở dạng tự do, dễ dàng bị loại bỏ trong quá trình sấy phun. Do đó, công thức MD-WPI cũng cho thấy hàm lượng ẩm cuối cùng thấp (Qi và Onwulata, 2011). Mặc dù có sự thay đổi, tất cả các bột vi bao từ các công thức vỏ bao đều duy trì giá trị hoạt độ nước dưới 0,2, một ngưỡng được coi là quan trọng đối với sự ổn định của vi sinh vật và kéo dài thời hạn sử dụng của bột. Đáng chú ý là mặc dù công thức MD-GA (1:2 w/w) cho thấy hàm lượng ẩm cao nhất trong điều kiện sấy phun cố định ở 170°C và tốc độ dòng nhập liệu 15 mL/phút, bột thu được thực tế vẫn khô và có độ hút ẩm thấp, với tốc độ hấp thụ độ ẩm chậm hơn theo thời gian so với các loại vỏ bao kết hợp khác.

Các tính chất lý hóa của các hạt vi bao sấy phun, chịu ảnh hưởng của các loại vỏ bao khác nhau, đã được nghiên cứu bằng cách sử dụng các phân tích XRD, FTIR và DSC, như trình bày trong **Hình PL V.3, Hình PL V.4, Hình PL V.5**. Các kết quả XRD (**Hình PL V.3**) xác nhận rằng tất cả các mẫu bột đều thể hiện các đặc điểm chủ yếu là vô định hình. Điều này được chứng minh bằng các đỉnh nhiễu xạ rộng tập trung quanh 20° và không có các đỉnh tinh thể riêng biệt. Bột vi bao với MD riêng lẻ có một đỉnh tương đối sắc nét, cao hơn, cho thấy cấu trúc có trật tự một phần so với các công thức khác, độ tinh thể cao nhất là 28%. Ngược lại, các công thức sử dụng kết hợp các loại vỏ bao (MD-GA, MD-MS, MD-SPI và MD-WPI) tạo ra các đỉnh rộng hơn và khuếch tán hơn, cho thấy mức độ vô định hình cao hơn. Trong đó, độ tinh thể của các bột vi bao với MD-GA, MD-SPI, MD-MS, MD-WPI lần lượt là 23,3; 24,1; 27,7 và 24,4%. Các độ tinh thể này đa số đều thấp hơn so với độ tinh thể của hạt vi bao dịch trích trái phật thủ với vỏ bao kết hợp GA, MD, MS, và WP (36,27 – 46,13%) (Mahdi và cộng sự, 2020).

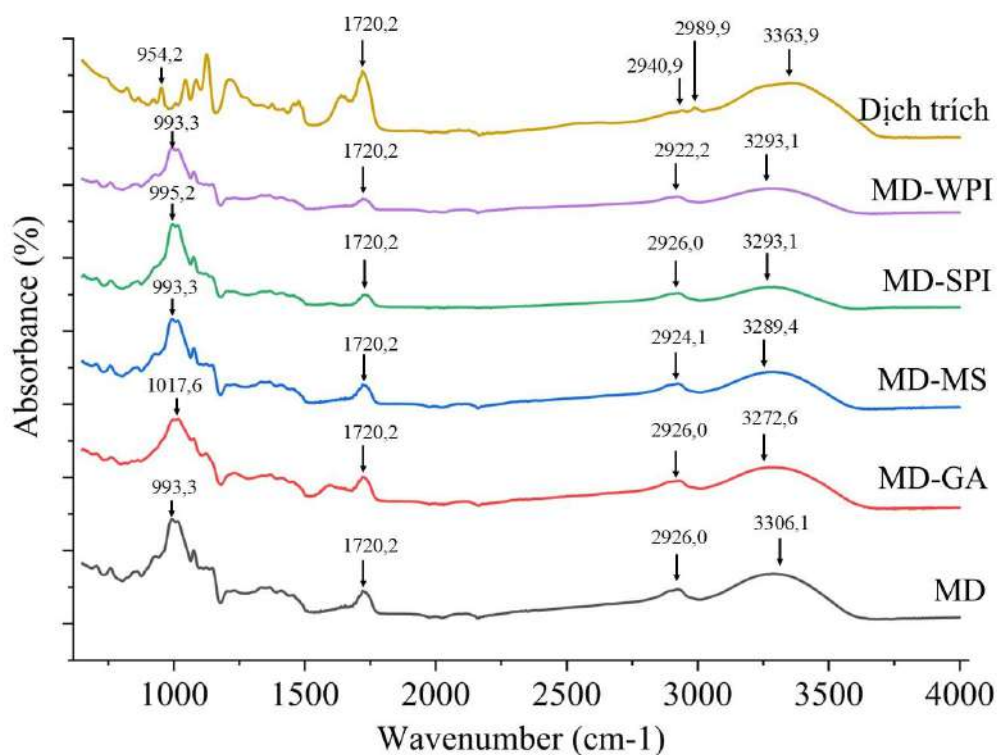


Hình PL V.3. XRD của bột vi bao ở các loại vỏ bao khác nhau

Bản chất vô định hình tăng lên trong các loại bột vi bao từ vỏ bao kết hợp trong nghiên cứu này có thể là do tương tác phân tử giữa MD và các loại vỏ bao (protein, tinh bột, polysaccharides), làm giảm các vùng tinh thể trong quá trình sấy khô. Các loại vỏ bao từ maltodextrin bảo vệ hiệu quả các hợp chất có hoạt tính sinh học bằng cách giảm thiểu sự tiếp xúc của chúng với oxy, độ ẩm và các biến đổi nhiệt độ (Xiao và cộng sự, 2022). Tuy nhiên, độ tinh thể của bột sẽ tăng dần với sự tăng của hàm lượng maltodextrin. Nghiên cứu của Kang và cộng sự (2019) cũng cho kết quả tương tự, khi vi bao chlorophyll bằng vỏ bao từ GA-MD tỷ lệ 0:10 (w/w) sẽ hình thành bột vi bao với độ tinh thể cao hơn các hạt bột từ vỏ bao GA-MD tỷ lệ 5:5 và 3:7 (w/w). Sự hình thành cấu trúc vô định hình sẽ có lợi trong quá trình vi bao. Bột vi bao dạng vô định hình của dịch trích cây tầm ma với maltodextrin đã được báo cáo là có khả dụng sinh học, độ hòa tan cao (Kalajahi và Ghandiha, 2022). Curcumin vi bao bằng sấy phun ở dạng vô định hình sẽ cải thiện đáng kể khả năng phân tán trong nước, khả năng kháng oxy hóa cao so với curcumin tự do dạng tinh thể (Chen và cộng sự, 2020). Tính chất vô định hình có thể hỗ trợ giải phóng hợp chất và tăng cường khả năng hòa tan trong nước (George và cộng sự, 2021), nhấn mạnh sự liên quan của việc lựa chọn loại vỏ bao trong các ứng dụng thực phẩm chức năng.

Phân tích FTIR được thực hiện để xác định sự hiện diện của các nhóm chức năng và đánh giá tương tác giữa lõi và các loại vỏ bao khác nhau (**Hình PL V.4**). Trong phổ

FTIR của dịch trích, đỉnh 954 cm^{-1} đặc trưng cho dao động kéo dài C–N của choline chloride trong dung môi trích ly. Tất cả các mẫu dịch trích và bột vi bao đều có đỉnh đặc trưng ở 1720 cm^{-1} tương ứng với dao động kéo dài C=O của nhóm carboxyl được tìm thấy trong phổ của lactic acid (Erami và cộng sự, 2019). Đỉnh 2940 cm^{-1} và 2989 cm^{-1} đặc trưng cho dải C–H của các hợp chất có hoạt tính sinh học (Kalajahi và Ghandiha, 2022). Ngoài ra, một dao động kéo dài O–H rộng được quan sát thấy xung quanh 3363 cm^{-1} trong dịch trích chủ yếu liên quan đến gốc hydroxyl của âm và các hợp chất sinh học bao gồm phenolic acid và flavonoid (Kalajahi và Ghandiha, 2022). Các dãy hấp thụ kể trên cho thấy sự hiện diện của polyphenol hoạt tính sinh học trong dịch trích.



Hình PL V.4. FTIR của bột vi bao ở các loại vỏ bao khác nhau

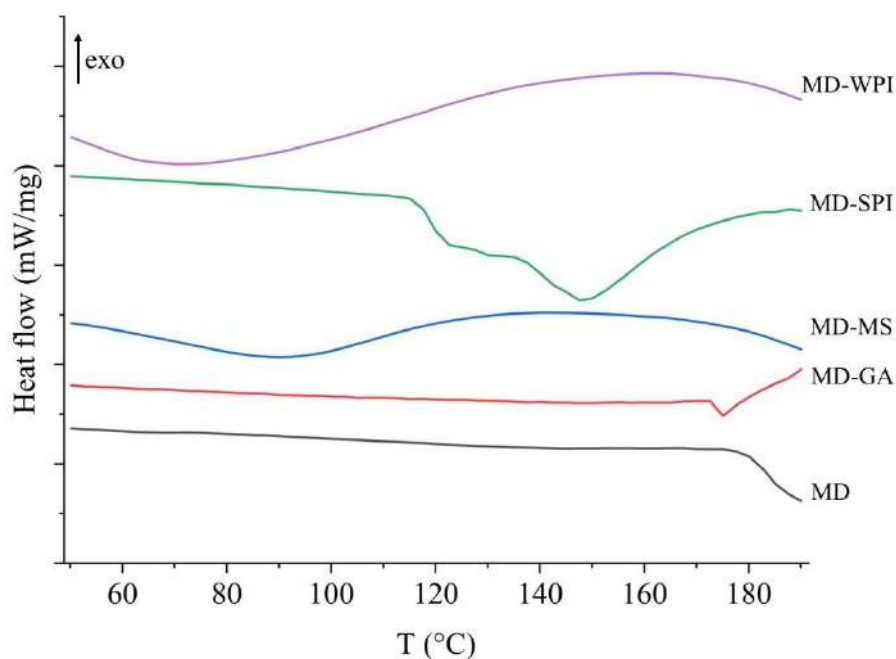
Phổ FTIR của bột sấy phun cho thấy các dải hấp thụ đặc trưng tương ứng với polysaccharides, protein và các hợp chất có hoạt tính sinh học. Phổ của các công thức đều dựa trên MD cho thấy các dao động kéo dài C–O–C và C–O mạnh trong khoảng $1000 - 1200\text{ cm}^{-1}$, đặc trưng của maltodextrin (Kalajahi và Ghandiha, 2022). Sự kết hợp của các loại vỏ bao khác (GA, MS, SPI và WPI) gây ra các thay đổi và giảm cường độ

trong vùng này, tương ứng hàm lượng maltodextrin giảm và tương tác vật lý giữa các loại vỏ bao. Một đỉnh tương ứng với nhóm amin hoặc nhóm carbonyl của GA ở 1597 cm^{-1} được ghi nhận trong quang phổ của các hạt vi bao với MD-GA (Kang và cộng sự, 2019). Các đỉnh riêng biệt cũng được quan sát thấy ở khoảng 1638 cm^{-1} và ở 1449 cm^{-1} trong công thức MD-SPI, cường độ các đỉnh này cao hơn trong công thức MD-WPI. Chúng tương ứng lần lượt với các dải amide I (kéo dài $\text{C}=\text{O}$) và amide II (uốn cong $\text{N}-\text{H}$ và kéo dài $\text{C}-\text{N}$), đặc trưng của cấu trúc protein (Yao và cộng sự, 2023), do đó xác nhận sự hiện diện của protein đậu nành và protein sữa trong ma trận. Sau khi vi bao, hầu hết sản phẩm bột vẫn ghi nhận sự xuất hiện rõ nét của các dao động kéo dài $\text{O}-\text{H}$ đặc trưng cho polyphenol hoạt tính sinh học ở $3293, 3289, 3372$ và 3306 cm^{-1} mặc dù cường độ của các đỉnh này giảm sau khi vi bao do hàm lượng ẩm giảm. Tương tự, các đỉnh ở $2922, 2924$ và 2926 cm^{-1} có thể là do sự hiện diện của các hợp chất có hoạt tính sinh học đã được giữ lại trong bột vi bao (George và cộng sự, 2021). Nhìn chung, kết quả FTIR hỗ trợ việc xác nhận vi bao thành công dịch trích phụ phẩm nho trong các ma trận loại vỏ bao khác nhau, với minh chứng về các tương tác cụ thể giữa các thành phần vỏ bao và các hợp chất có hoạt tính sinh học tùy thuộc vào bản chất hóa học của chúng.

Kỹ thuật phân tích nhiệt vi sai được tiến hành để đánh giá ảnh hưởng của quá trình sấy lên cấu trúc của vỏ bao và kết quả được tóm tắt trong **Hình PL V.5**. Trong phạm vi nhiệt độ dưới 180°C , mẫu MD duy trì đường cong dòng nhiệt tương đối phẳng và ổn định, cho thấy độ ổn định nhiệt vượt trội và chuyển pha tối thiểu. Việc kết hợp các vật liệu thành đã thay đổi hành vi nhiệt của bột.

Công thức MD-GA thể hiện độ lệch nhỏ trong dòng nhiệt quanh 175°C , có thể là do sự hiện diện của các phân đoạn có khối lượng phân tử thấp trong GA, nhạy cảm hơn với nhiệt. Mặc dù sự thay đổi nhỏ này, bột MD-GA vẫn duy trì ổn định nhiệt hơn so với các bột từ các loại vỏ bao kết hợp khác. Ngược lại, các hạt vi bao được tạo từ MD-MS, MD-SPI và MD-WPI cho thấy các biến đổi rõ rệt trong quá trình gia nhiệt. Cụ thể, các công thức MD-MS và MD-WPI ghi nhận các đỉnh nóng chảy (endothermal peak) rõ rệt trong phạm vi nhiệt độ từ $75 - 180^\circ\text{C}$, lần lượt là khoảng 87°C và 72°C . Fernandes và cộng sự (2014) cũng ghi nhận đỉnh nóng chảy của bột vi bao tinh dầu hương thảo với vỏ bao từ MD-MS ở khoảng nhiệt độ $90 - 110^\circ\text{C}$, trong khi điểm nóng chảy của bột vi bao lactose với MD-WPI thấp hơn, khoảng dưới 60°C (Mohammed và cộng sự, 2021).

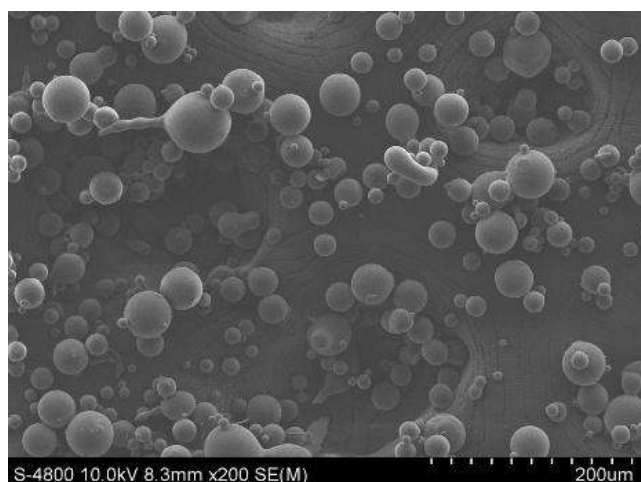
Ngược lại, bột vi bao dịch trích phụ phẩm nho với MD-SPI có đỉnh nóng chảy giữa 140 – 160°C, cho thấy sự chuyển đổi nhiệt hoặc tương tác đặc trưng của các thành phần protein đậu nành.



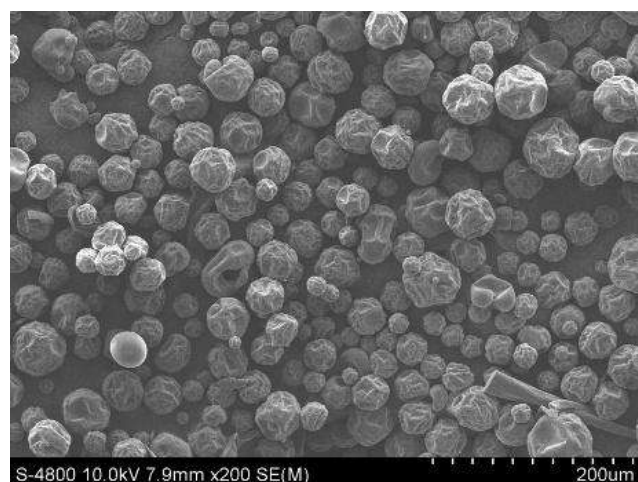
Hình PL V.5. DSC của bột vi bao ở các loại vỏ bao khác nhau

Những phát hiện này cho thấy rằng các loại vỏ bao từ MD-MS, MD-SPI, MD-WPI khá nhạy với nhiệt độ trong quá trình sấy phun và dường như không phải là vật liệu thích hợp cho quá trình vi bao theo kỹ thuật sấy phun tại các điều kiện phổ biến của sản xuất thương mại. Ngược lại, các công thức MD và MD-GA cho thấy khả năng chịu nhiệt tốt hơn, khiến chúng phù hợp hơn để vi bao trong điều kiện sấy phun ở nhiệt độ dưới 180°C. Cả 2 vật liệu này đều chỉ bị nóng chảy tại nhiệt độ xấp xỉ 200°C. Tương tự, Kang và cộng sự (2019) báo cáo rằng độ ổn định nhiệt của chlorophyll sẽ được tăng cường bằng cách vi bao sử dụng vỏ bao MD hoặc MD-GA. Trong nghiên cứu của Kang và cộng sự (2019), điểm nóng chảy của hạt bột vi bao với MD riêng lẻ cũng được quan sát thấy ở khoảng nhiệt độ khá cao là 209°C, cao hơn không đáng kể so với kết quả trong nghiên cứu này là 198°C. Ngoài ra, việc không có các sự kiện nhiệt (thermal events) của lõi trong đường cong phân tích nhiệt vi sai của hạt vi bao là minh chứng cho thấy sự hình thành phức hợp bao thể (inclusion complexes) (Paramera và cộng sự, 2011). Nghĩa là các hợp chất được bao phủ thành công trong vật liệu vỏ bao.

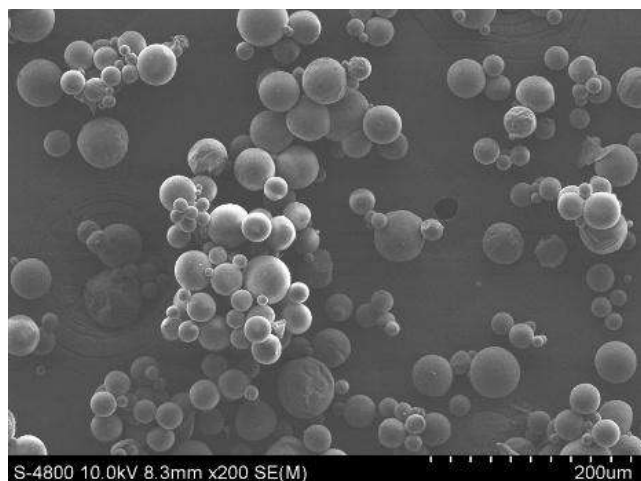
Kỹ thuật chụp SEM được sử dụng để kiểm tra hình thái bề mặt của bột sấy phun được hình thành từ các loại vỏ bao khác nhau, như minh họa trong **Hình PL V.6**.



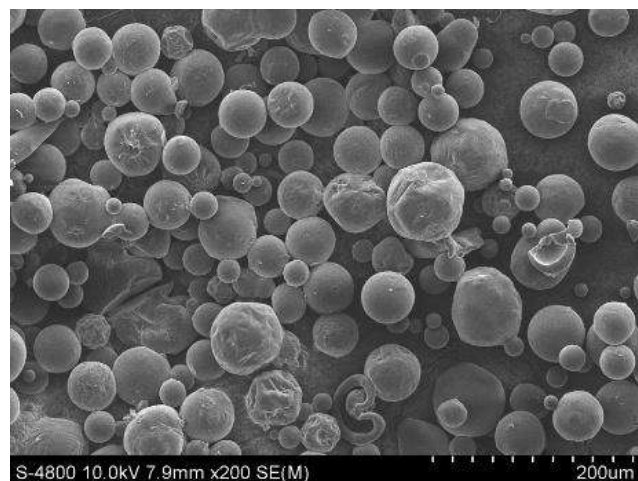
MD



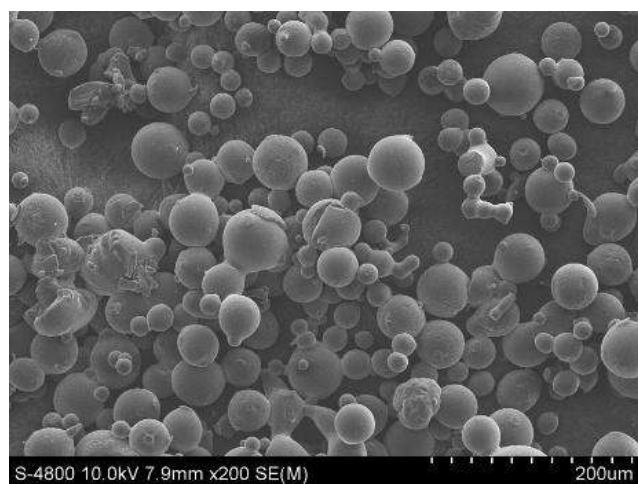
MD-GA



MD-MS



MD-SPI



MD-WPI

Hình PL V.6. SEM của bột vi bao ở các loại vỏ bao khác nhau

Phân tích này cung cấp thông tin chi tiết về các đặc điểm cấu trúc như độ mịn bề mặt, tính toàn vẹn của hạt và độ bám dính của các thành phần. Nhìn chung, tất cả các mẫu bột đều thể hiện hình thái hình cầu đặc trưng của bột sấy phun. Tuy nhiên, cấu trúc bề mặt, phân bố kích thước và mức độ kết tụ hạt khác nhau tùy thuộc vào loại vỏ bao được sử dụng. **Hình PL V.6** cho thấy rằng đối với bột được tạo thành bằng MD riêng lẻ, các hạt chủ yếu nhẵn và hình cầu, với các nếp nhăn bề mặt tối thiểu. Không quan sát thấy sự kết tụ hạt đáng kể và kích thước hạt dao động khoảng từ 5,69 đến 61,00 μm , phân tán và đồng đều tốt.

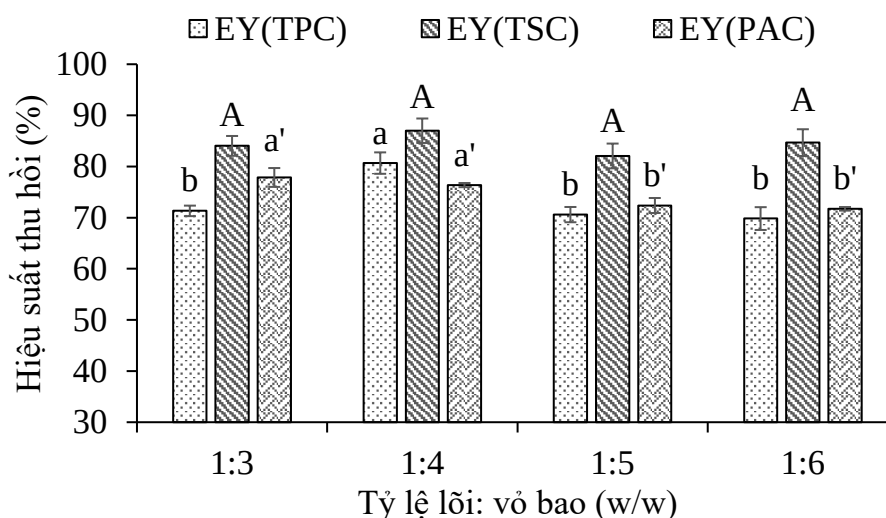
Hạt bột MD-GA cũng giữ nguyên hình cầu với kích thước hạt dao động từ 9,48 μm đến 62,49 μm . Sự hiện diện của GA, được biết đến với khả năng giữ nước, dẫn đến sự co rút bề mặt cục bộ trong quá trình sấy, tạo ra các nếp nhăn trên bề mặt. Mặc dù vậy, các hạt MD-GA không có vết nứt nào nhìn thấy được. Các hạt từ công thức MD-MS cũng có hình cầu và mịn, kích thước dao động khoảng từ 5,31 đến 61,81 μm . Ngoài ra, các hạt có xu hướng kết tụ do vật liệu này có nhiệt nóng chảy thấp hơn đáng kể. Ngược lại, bột kết hợp protein (SPI và WPI) có hình thái bề mặt không đều với nếp nhăn rõ rệt. Các hạt bột từ hai vỏ bao protein này có phân bố kích thước hạt rộng hơn và một số hạt dường như bị biến dạng hoặc hợp nhất, cho thấy khả năng ổn định kém hơn ở điều kiện sấy phun.

Những kết quả trên nhấn mạnh ảnh hưởng đáng kể của việc lựa chọn loại vỏ bao đến hình thái và chất lượng của bột vi bao bằng sấy phun. Trong số tất cả các công thức được nghiên cứu, sự kết hợp MD-GA mang lại những đặc điểm thuận lợi nhất, bao gồm hình cầu, độ đồng đều kích thước vừa phải và tính toàn vẹn về mặt cấu trúc. Khi tương quan với các kết quả phân tích khác như hiệu quả vi bao cao, hoạt độ nước thấp (dưới 0,2) và các đặc tính nhiệt và lý hóa thuận lợi (được xác nhận bằng XRD, FTIR, DSC và SEM), công thức MD-GA được chọn là loại vỏ bao hiệu quả nhất để vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ dịch trích phụ phẩm nho.

❖ *Ảnh hưởng của tỷ lệ lõi: vỏ bao đến quá trình vi bao*

Trong quá trình vi bao bằng sấy phun, tỷ lệ lõi: vỏ bao đóng vai trò quan trọng trong việc đảm bảo vi bao hiệu quả, cải thiện hiệu suất thu hồi và tăng cường độ ổn định của các hợp chất có hoạt tính sinh học. Thí nghiệm này được tiến hành để xác định tỷ lệ lõi: vỏ bao tối ưu cho quá trình vi bao dịch trích phụ phẩm nho. Các thông số cố định

bao gồm tỷ lệ MD-GA (1:2, w/w), tốc độ đồng hóa 8.100 vòng/phút trong 10 phút, nhiệt độ không khí sấy đầu vào là 170°C và tốc độ dòng nhập liệu là 15 mL/phút. Hiệu suất thu hồi ở các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau được trình bày trong **Hình PL V.7** cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các tỷ lệ được thử nghiệm ($P \leq 0,05$).



Hình PL V.7. Hiệu suất thu hồi của các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Hiệu suất thu hồi TPC cao nhất đạt được ở tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:4 (w/w), đạt $80,67 \pm 2,09\%$. Ngược lại, hiệu suất thấp nhất được quan sát thấy ở tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:6 (w/w), với giá trị là $69,82 \pm 2,23\%$. Những kết quả này cho thấy rằng khi lượng vỏ bao được sử dụng quá cao trên mức cần thiết có thể làm giảm nồng độ các hoạt chất sinh học trên mỗi hạt, do đó làm giảm hiệu suất thu hồi. Tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:4 (w/w) dường như mang lại thành phần cân bằng, cung cấp đủ vỏ bao để vi bao và bảo vệ hiệu quả các hợp chất lõi, đồng thời tối đa hóa việc vi bao các hoạt chất sinh học. Những phát hiện này phù hợp với những phát hiện được báo cáo bởi Tolun và cộng sự (2016), kết quả nghiên cứu cho thấy TPC giảm từ 15,70 xuống 8,20 mg GAE/g DW khi tỷ lệ lõi: vỏ bao tăng từ 1:1 lên 1:2 (w/w) trong quá trình vi bao polyphenol nhỏ bằng MD và GA. Tỷ lệ lõi: vỏ bao thích hợp không chỉ quan trọng đối với hiệu suất thu hồi mà còn để duy trì tính toàn vẹn về mặt chức năng của thành phần lõi.

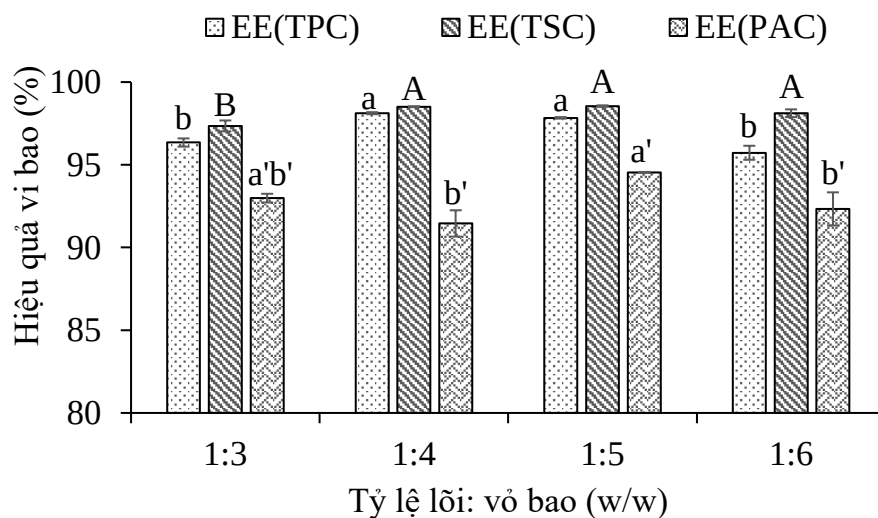
Đối với TSC, không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê trong hiệu suất thu hồi giữa các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau đã thử nghiệm ($P > 0,05$), với các giá trị dao

động từ 82,07% đến 87,00%. Sự ổn định trong hiệu suất thu hồi này có thể là do bản chất hóa học của saponin, là glycoside lưỡng tính có khả năng phân tán dễ dàng và tạo thành các tương tác thuận lợi với ma trận thành MD-GA (Vincken và cộng sự, 2007). Tính chất kỵ nước và ưa nước kép của chúng cho phép hiệu suất thu hồi nhất quán bất kể tỷ lệ lõi: vỏ bao.

Ngược lại, hiệu suất thu hồi theo PAC bị ảnh hưởng đáng kể bởi tỷ lệ lõi: vỏ bao. Khi tỷ lệ tăng từ 1:3 lên 1:6 (w/w), hiệu suất thu hồi giảm từ $77,86 \pm 1,84\%$ xuống $71,73 \pm 0,35\%$ ($P \leq 0,05$). Proanthocyanidin là hợp chất polyphenolic giàu nhóm hydroxyl, cho phép liên kết hydro với vật liệu vỏ bao như MD và GA. Điều này đã giúp ổn định cấu trúc và giảm thiểu mất hợp chất trong quá trình sấy phun, do đó cải thiện hiệu suất thu hồi. Tuy nhiên, ở tỷ lệ vỏ bao cao hơn, hàm lượng hoạt tính sinh học khả dụng trên một đơn vị khối lượng của hạt vi bao bị giảm và các tương tác liên kết trở nên kém hiệu quả hơn do nồng độ lõi giảm. Điều này dẫn đến giảm hiệu suất thu hồi (Romano và cộng sự, 2017). Hơn nữa, việc sử dụng quá nhiều vỏ bao có thể ảnh hưởng tiêu cực đến hàm lượng hoạt tính sinh học tổng thể trong bột cuối cùng, làm giảm giá trị chức năng của nó. Do đó, dựa trên kết quả kết hợp của TPC và TSC, tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:4 (w/w) được coi là thích hợp để tối đa hóa hiệu suất thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học.

Một chỉ tiêu quan trọng khác trong việc đánh giá tính phù hợp của tỷ lệ lõi: vỏ bao trong quá trình vi bao sấy phun là hiệu quả vi bao. Hiệu quả vi bao cao hơn cho thấy tỷ lệ phù hợp hơn giữa lõi: vỏ bao, phản ánh khả năng bảo vệ tốt hơn các hợp chất có hoạt tính sinh học và tương tác mạnh hơn giữa hoạt chất và ma trận vi bao. Vi bao hiệu quả đảm bảo giảm thiểu tổn thất hoạt chất trong quá trình xử lý và tăng cường tính ổn định và chức năng của sản phẩm bột cuối cùng. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau, cụ thể là 1:3, 1:4, 1:5 và 1:6 (w/w), đối với hiệu quả vi bao đã được nghiên cứu. **Hình PL V.8** cho thấy hiệu quả vi bao theo TPC, TSC và PAC ở các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau.

Đối với TPC, hiệu quả vi bao cao nhất được quan sát thấy ở tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:4 và 1:5 (w/w), với các giá trị lần lượt là $98,12 \pm 0,06\%$ và $97,84 \pm 0,05\%$. Không phát hiện thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai tỷ lệ lõi: vỏ bao này ($P > 0,05$). Tuy nhiên, việc tăng thêm tỷ lệ vỏ bao (1:6, w/w) đã dẫn đến sự giảm nhẹ nhưng đáng kể về hiệu quả vi bao TPC xuống $95,73 \pm 0,42\%$.



Hình PL V.8. Hiệu quả vi bao của các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Trong trường hợp của TSC, hiệu quả vi bao vẫn luôn ở mức cao (khoảng 98%) trên các tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:4, 1:5 và 1:6 (w/w), không quan sát thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Sự ổn định này có thể là do bản chất lưỡng tính của saponin, hoạt động như chất hoạt động bề mặt tự nhiên và dễ dàng tương tác với vật liệu vỏ bao. Những tương tác này góp phần hình thành màng bao bọc mạnh, tăng cường độ ổn định trong điều kiện sấy phun (Mahato và Garai, 1998).

Đối với PAC, hiệu quả vi bao dao động từ 91,45% đến 94,54%, với giá trị cao nhất được ghi nhận ở tỷ lệ 1:5 (w/w) ($94,54 \pm 0,03\%$). Hiệu quả tương đối cao là do khả năng của proanthocyanidin, giàu nhóm hydroxyl, tạo thành liên kết hydro với các thành phần vỏ bao như MD và GA. Theo Fang và Bhandari (2010), việc tăng hàm lượng vỏ bao sẽ cải thiện hiệu quả vi bao lên đến điểm tối ưu. Vượt quá ngưỡng này, vật liệu vỏ bao dư thừa có thể cản trở sự hình thành hạt thích hợp, dẫn đến giảm hiệu quả vi bao.

Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước là những chỉ số quan trọng để đánh giá độ ổn định và thời hạn sử dụng của bột được đóng gói trong quá trình bảo quản lâu dài. Kết quả cho thấy việc tăng tỷ lệ lõi: vỏ bao dẫn đến hàm lượng ẩm giảm trong khi hoạt độ nước tăng (**Bảng PL V.2**).

Bảng PL V.2. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột ở các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau

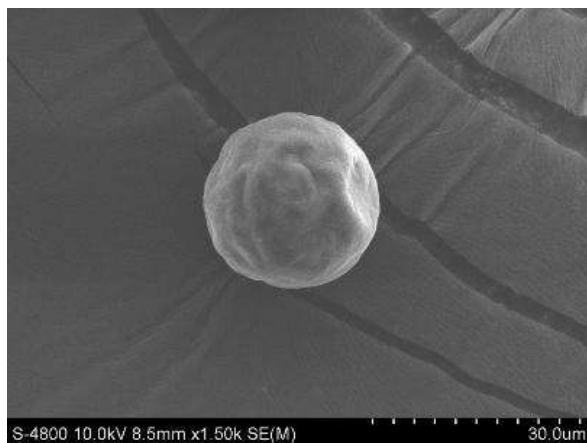
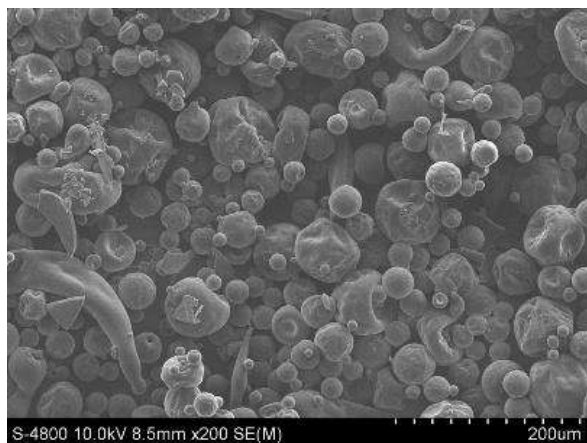
Tỷ lệ lõi: vỏ bao (w/w)	Hàm lượng ẩm (%)	Hoạt độ nước
1:3	6,69 ^a ± 0,52	0,132 ^b ± 0,008
1:4	6,56 ^a ± 0,15	0,141 ^b ± 0,003
1:5	6,03 ^{ab} ± 0,49	0,192 ^a ± 0,005
1:6	4,72 ^b ± 1,06	0,193 ^a ± 0,011

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

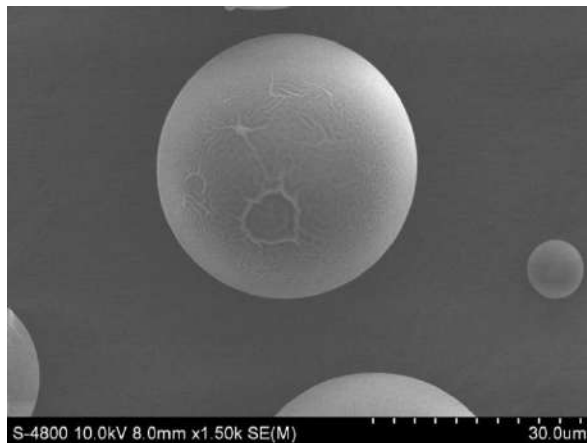
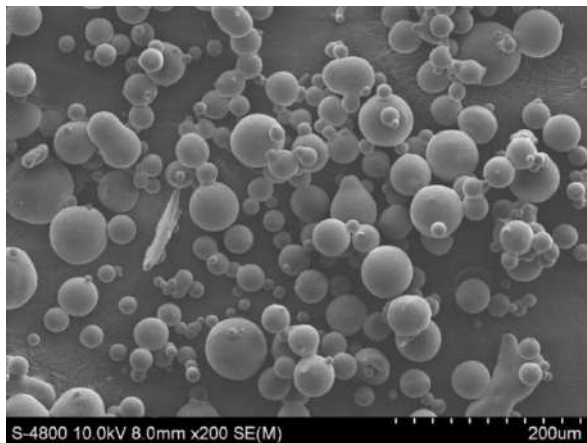
Trong khi tỷ lệ lõi: vỏ bao 1:3 và 1:4 (w/w) không cho thấy sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê trong hàm lượng ẩm hoặc hoạt độ nước ($P > 0,05$), thì hoạt độ nước tăng đáng kể được quan sát thấy ở các tỷ lệ cao hơn (1:5 và 1:6 w/w), với các giá trị lần lượt là $0,192 \pm 0,005$ và $0,193 \pm 0,011$ ($P \leq 0,05$). Hàm lượng ẩm cũng cho thấy sự thay đổi lớn, giảm xuống còn $4,72 \pm 1,06\%$ ở tỷ lệ cao nhất (1:6 w/w). Những phát hiện này phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Boonchu và Utama-Ang (2015) đã báo cáo rằng việc tăng nồng độ vật liệu vỏ bao làm giảm hàm lượng ẩm của bột trong quá trình vi bao các hoạt chất sinh học từ nhỏ đồ. Tương tự, Tuyen và cộng sự (2010) lưu ý rằng nồng độ MD cao hơn làm tăng hàm lượng rắn của nguyên liệu đầu vào khi sấy phun, do đó làm giảm hàm lượng ẩm của sản phẩm cuối cùng. Ngược lại, dịch trích DES, được biết đến với độ nhớt cao và khả năng giữ nước mạnh, góp phần làm tăng độ nhớt của sản phẩm. Khi sử dụng tỷ lệ vỏ bao thấp, tỷ lệ dịch trích trong công thức sẽ tăng, tăng khả năng liên kết với nước, do đó làm giảm hoạt độ nước trong bột cuối cùng. Vì vậy, việc tối ưu hóa tỷ lệ lõi: vỏ bao là rất quan trọng để cân bằng hàm lượng ẩm và hoạt độ nước để bột có độ ổn định lâu dài.

Tỷ lệ lõi: vỏ bao ảnh hưởng đáng kể đến hình thái hạt, từ đó ảnh hưởng đến độ ổn định, chất lượng bề mặt và phân bố kích thước hạt của bột vi bao (**Hình PL V.9**).

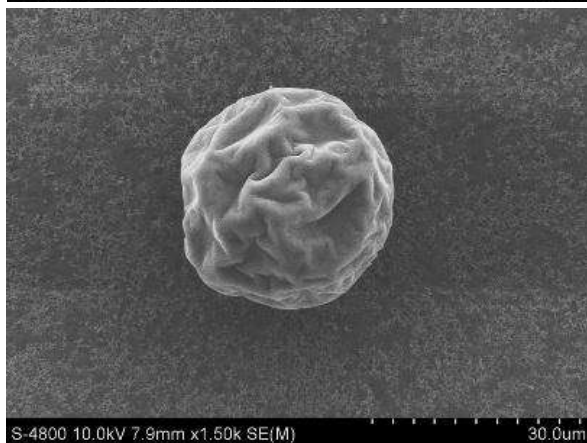
1:3



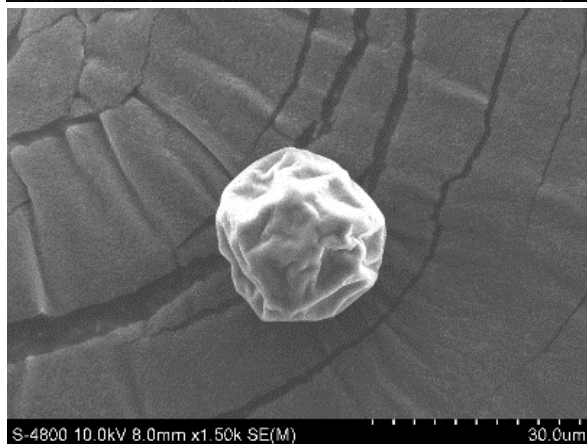
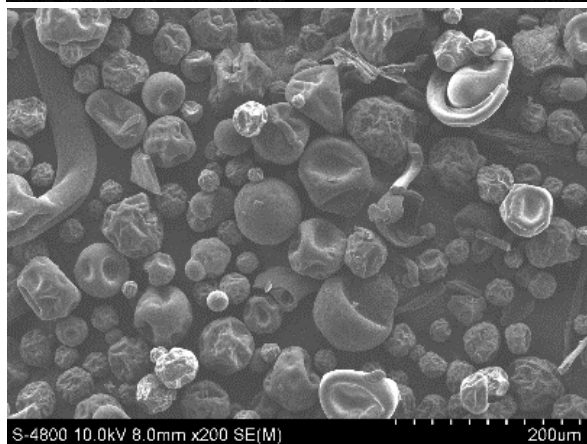
1:4



1:5



1:6



Hình PL V.9. SEM của bột vi bao ở các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau

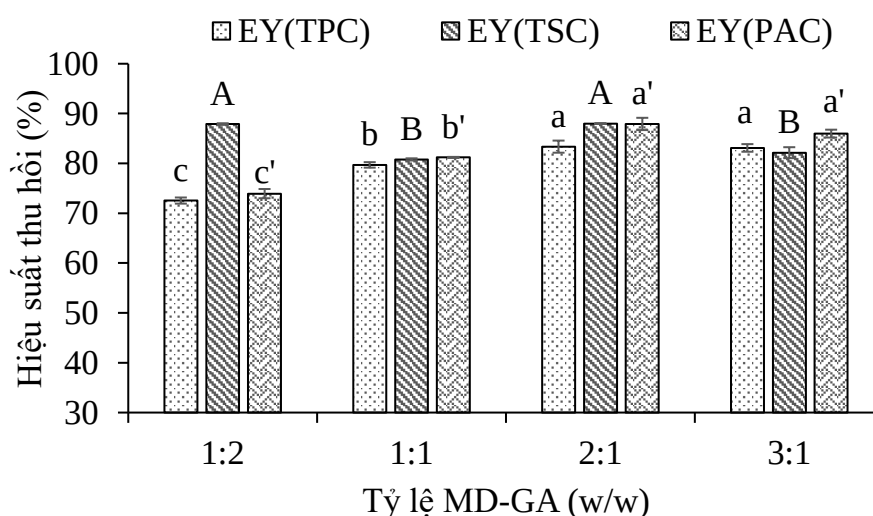
Kết quả thu được từ SEM được trình bày trong **Hình PL V.9** và cho thấy sự khác biệt rõ ràng về hình thái bột giữa các tỷ lệ lõi: vỏ bao khác nhau. Ở tỷ lệ lõi: vỏ bao 1:3 (w/w), bột có nhiều dị dạng, với nhiều vết lõm trên bề mặt và kích thước hạt dao động rất lớn từ 6,91 đến 109,08 μm . Bề mặt bột không đồng đều cho thấy vật liệu vỏ bao không đủ để tạo thành ma trận vi bao ổn định. Ở tỷ lệ 1:4 (w/w), bột có hình cầu với bề mặt tương đối nhẵn và kích thước hạt đồng đều hơn, kích thước hạt dao động từ 8,92 đến 78,45 μm . Hình thái này cho thấy khả năng vi bao hiệu quả hơn so với hạt bột tỷ lệ 1:3 (w/w). Bên cạnh đó tính toàn vẹn của cấu trúc hạt bột cho thấy tỷ lệ này cung cấp các điều kiện bao gói tối ưu hơn. Đối với tỷ lệ 1:5 (w/w), bột có bề mặt nhẵn và kích thước hạt dao động từ 9,48 đến 62,49 μm . Mặc dù các hạt tương đối hình cầu và đồng đều hơn so với các tỷ lệ còn lại, nhưng sự gia tăng của vật liệu vỏ bao và hoạt độ nước cao dẫn đến hình thành các vết lõm trên bề mặt, có thể là do quá trình sấy nhanh và hiệu ứng co rút trong quá trình thoát ẩm khi sấy phun. Ở tỷ lệ vỏ bao cao nhất, 1:6 (w/w), các hạt xuất hiện sự biến dạng cấu trúc đáng kể, với các vết lõm sâu và nếp nhăn rõ rệt hơn. Kích thước hạt dao động lớn từ 12,75 đến 88,89 μm . Những tác động này có thể là do vật liệu vỏ bao quá nhiều, góp phần làm cấu trúc hạt không ổn định do hàm lượng lõi giảm. Ngoài ra, sự bốc hơi nước đột ngột trong quá trình sấy có khả năng làm tăng cường sự biến dạng của hạt và vết lõm bề mặt.

Tóm lại, tỷ lệ lõi: vỏ bao 1:4 (w/w) mang lại đặc tính bột thích hợp nhất, bao gồm các hạt hình cầu, mịn và tính toàn vẹn cấu trúc. Những ưu điểm này, kết hợp với hiệu quả vi bao cao và hoạt độ nước phù hợp, cho thấy tỷ lệ này là lựa chọn phù hợp nhất để vi bao dịch trích phụ phẩm nho thông qua sấy phun.

❖ Ảnh hưởng của tỷ lệ giữa các loại vỏ bao đến quá trình vi bao

Các thành phần riêng lẻ của vỏ bao, MD và GA, có các tính chất lý hóa khác nhau, ảnh hưởng đến hiệu quả vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học. Do đó, tỷ lệ MD so với GA đã được xác định để đạt được hiệu suất thu hồi tốt nhất. Thí nghiệm này được tiến hành bằng cách sử dụng tỷ lệ lõi: vỏ bao cố định là 1:4 (w/w), tốc độ đồng hóa 8.100 vòng/phút trong 10 phút, nhiệt độ không khí sấy đầu vào là 170°C và tốc độ dòng nhập liệu là 15 mL/phút. Hiệu suất và hiệu quả vi bao của TPC, TSC và PAC đã được đánh giá theo các tỷ lệ MD-GA khác nhau. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đã được

quan sát thấy giữa các phương pháp xử lý ($P \leq 0,05$), như thể hiện trong **Hình PL V.10** và **Hình PL V.11**.

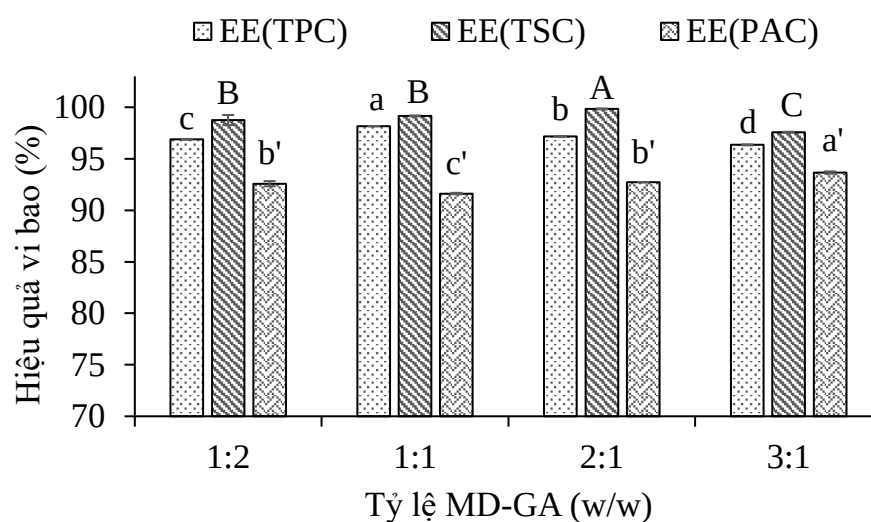


Hình PL V.10. Hiệu suất thu hồi của các tỷ lệ giữa các loại vỏ bao khác nhau

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Trong số các tỷ lệ được thử nghiệm, tỷ lệ MD-GA là 2:1 và 3:1 (w/w) mang lại hiệu suất thu hồi cao nhất cho tất cả các hợp chất. Cụ thể, hiệu suất thu hồi TPC lần lượt là $83,37 \pm 1,22\%$ và $83,11 \pm 0,77\%$ ở tỷ lệ 2:1 và 3:1 (w/w). Đối với TSC, tỷ lệ 2:1 (w/w) mang lại hiệu suất cao nhất là $88,00 \pm 0,04\%$, mặc dù sự khác biệt so với tỷ lệ 1:2 (w/w) không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Hiệu suất thu hồi PAC cũng cao nhất ở tỷ lệ 2:1 w/w ($87,92 \pm 1,23\%$) và 3:1 w/w ($85,98 \pm 0,79\%$). Những kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Tolun và cộng sự (2016), kết quả của nghiên cứu trên cho thấy hiệu suất thu hồi giảm khi tỷ lệ GA vượt quá mức tối ưu, vì vậy mức quá cao có thể ảnh hưởng tiêu cực đến hiệu suất thu hồi.

Hiệu quả vi bao đối với TPC cao nhất ở tỷ lệ 1:1 (w/w), đạt $98,17 \pm 0,02\%$, theo sau là tỷ lệ 2:1 (w/w) với $97,16 \pm 0,02\%$. Đối với TSC, hiệu quả cao nhất đạt được ở tỷ lệ 2:1 ($99,84 \pm 0,04\%$). Trong trường hợp PAC, mặc dù không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$), nhưng tỷ lệ 3:1 (w/w) mang lại hiệu quả vi bao cao nhất ($93,66 \pm 0,11\%$). Những biến động này phản ánh ảnh hưởng của thành phần vật liệu thành đến sự tương tác và ổn định của các hợp chất có hoạt tính sinh học khác nhau trong quá trình sấy phun.



Hình PL V.11. Hiệu quả vi bao của các tỷ lệ giữa các loại vỏ bao khác nhau

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Bảng PL V.3 cho thấy hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột được vi bao ở nhiều tỷ lệ MD-GA khác nhau. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đã được quan sát thấy giữa các phương pháp xử lý ($P \leq 0,05$). Tỷ lệ MD-GA 1:2 (w/w) mang lại hàm lượng ẩm ($6,93 \pm 0,03\%$) và hoạt độ nước ($0,215 \pm 0,005$) cao nhất. Ngược lại, tỷ lệ 3:1 (w/w) thể hiện các giá trị thấp nhất ở cả hai chỉ tiêu hàm lượng ẩm và hoạt độ nước.

Bảng PL V.3. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột ở các tỷ lệ giữa các loại vỏ bao khác nhau

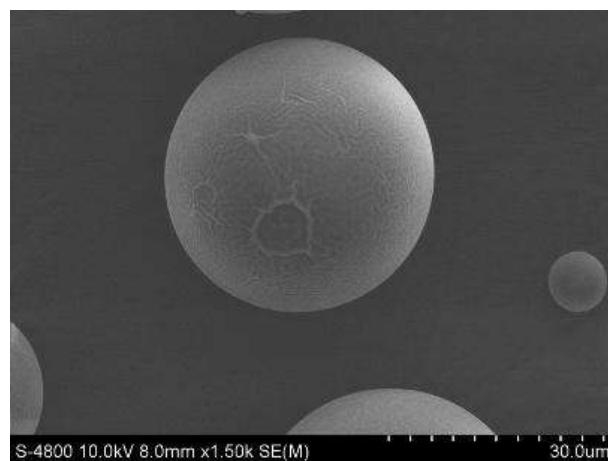
Tỷ lệ MD-GA (w/w)	Hàm lượng ẩm (%)	Hoạt độ nước
1:2	$6,93^a \pm 0,03$	$0,215^a \pm 0,005$
1:1	$5,40^b \pm 0,06$	$0,214^a \pm 0,003$
2:1	$4,31^c \pm 0,02$	$0,209^a \pm 0,003$
3:1	$3,59^d \pm 0,02$	$0,118^b \pm 0,007$

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

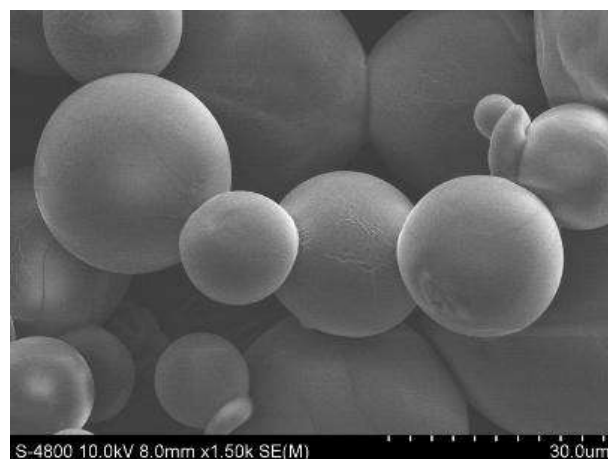
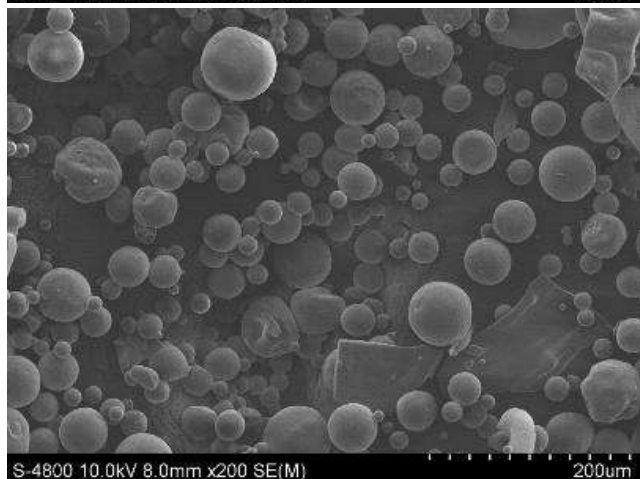
Tỷ lệ MD tăng dẫn đến sự giảm cả hàm lượng ẩm và hoạt độ nước. Ngược lại, tăng GA dẫn đến tăng hàm lượng ẩm của bột. Cấu trúc mạch thẳng và ít nhóm hydroxyl hơn của MD hạn chế khả năng liên kết nước, dẫn đến khả năng giữ ẩm thấp hơn (Jafari

và cộng sự, 2008). Ngược lại, cấu trúc phân nhánh và hàm lượng nhóm hydroxyl cao của GA làm tăng khả năng giữ nước thông qua liên kết hydro, dẫn đến hàm lượng ẩm và hoạt độ nước cao hơn (Mahdi và cộng sự, 2020). Trong khi tỷ lệ GA phù hợp có thể cải thiện khả năng giữ lại các hợp chất có hoạt tính sinh học, thì việc tăng tỷ lệ GA quá mức sẽ làm tăng hàm lượng ẩm của bột, có thể ảnh hưởng đến độ ổn định trong quá trình bảo quản. Tuy nhiên, khi hàm lượng ẩm và hoạt độ nước quá thấp, như quan sát thấy ở tỷ lệ 3:1 (w/w), điều này có thể ảnh hưởng tiêu cực đến hình thái hạt bột. Cụ thể, bột trở nên giòn hơn và dễ nứt hơn, như đã xác nhận bằng hình ảnh kính hiển vi điện tử quét (SEM) (**Hình PL V.12**). Cấu trúc của các hạt bột vi bao thay đổi đáng kể theo các tỷ lệ MD-GA khác nhau, như quan sát thấy ở kết quả SEM.

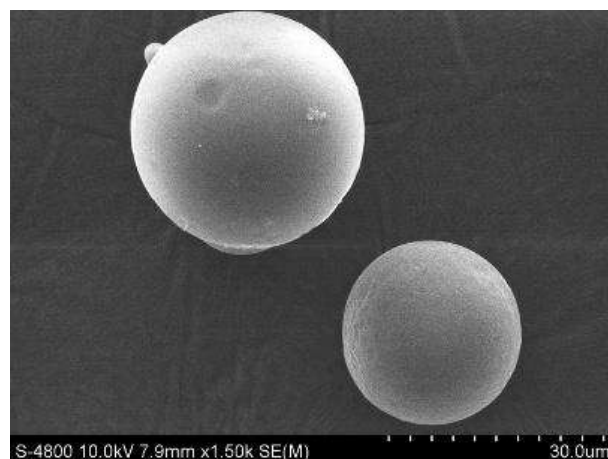
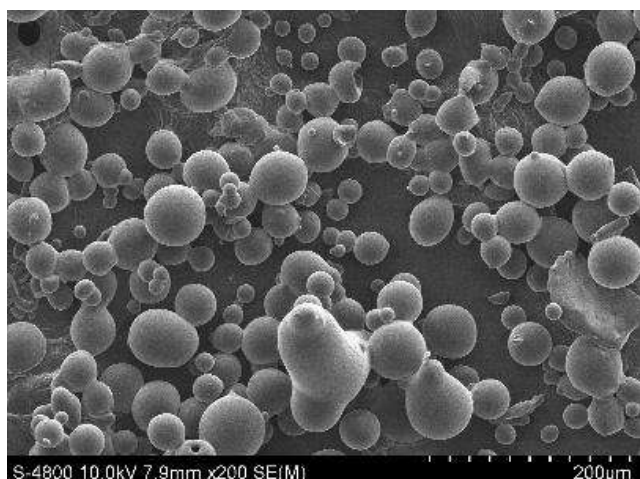
1:2



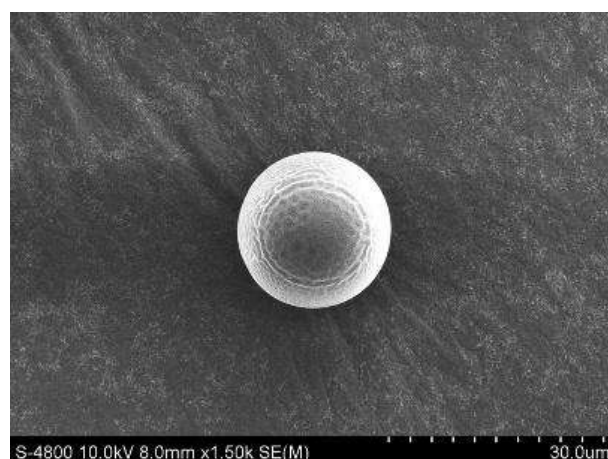
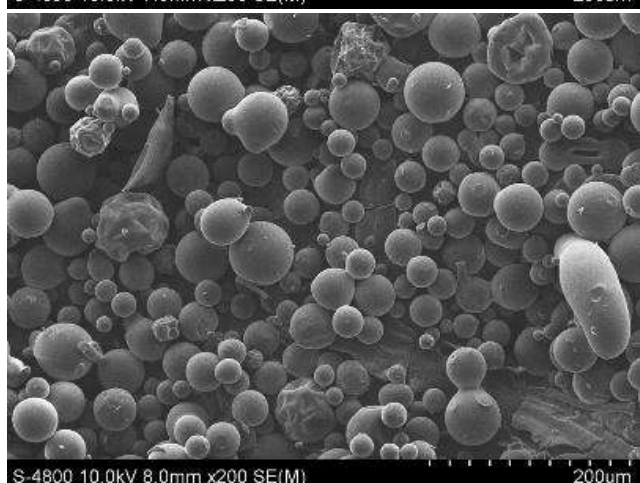
1:1



2:1



3:1



Hình PL V.12. SEM của bột vi bao ở các tỷ lệ giữa các loại vỏ bao khác nhau

Ở tỷ lệ 1:1 (w/w), các hạt vi bao có kích thước tương đối đồng đều dưới độ phóng đại thấp. Tuy nhiên, hình ảnh ở độ phóng đại cao cho thấy bề mặt co lại nhẹ, nếp nhăn nhỏ và vết nứt nhỏ. Một số hạt dính vào nhau, cho thấy hàm lượng GA ở tỷ lệ này có thể không đủ để tạo thành lớp phủ ổn định và liên tục xung quanh lõi. Ngược lại, bột vi bao theo tỷ lệ MD-GA 1:2 (w/w) có bề mặt nhẵn với ít vết nứt hơn so với bột ở tỷ lệ 1:1 (w/w). Đường kính hạt dao động từ 8,92 đến 78,45 μm . Tỷ lệ 2:1 (w/w) tạo ra các hạt được vi bao chủ yếu có hình cầu với bề mặt tương đối nhẵn. Mặc dù quan sát thấy một số hạt bị biến dạng, nhưng tính đồng nhất về hình dạng tổng thể vẫn đảm bảo. Đường kính hạt dao động từ 8,06 đến 75,31 μm . Ở tỷ lệ 3:1 (w/w), trong đó hàm lượng MD vượt quá cao so với GA, bột vi bao cho thấy hàm lượng âm thấp nhất. Kích thước hạt dao động từ 8,03 đến 67,38 μm . Hình ảnh SEM cho thấy các hạt có bề mặt nhẵn nhiều, vùng lõm và biến dạng rõ rệt hơn so với các hạt có tỷ lệ 2:1 (w/w). Những bất thường

về cấu trúc của hạt bột ở tỷ lệ MD-GA 3:1 (w/w) có thể là do GA không đủ, làm giảm khả năng tạo màng và dẫn đến các hạt giòn, nứt do khả năng giữ nước thấp hơn.

Trong số các tỷ lệ MD-GA được thử nghiệm, tỷ lệ 2:1 (w/w) cung cấp sự cân bằng nhất về các đặc điểm lý hóa học và hình thái. Hạt bột đạt được hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao cao, hàm lượng ẩm và hoạt độ nước chấp nhận được, và tạo ra các hạt hình thành tốt với bề mặt nhẵn, biến dạng hoặc nứt tối thiểu.

❖ *Ảnh hưởng của tốc độ và thời gian đồng hóa đến quá trình vi bao*

Tốc độ và thời gian đồng hóa đóng vai trò quan trọng trong việc ổn định dịch trước sấy, do đó ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu quả của quá trình sấy phun. Việc nghiên cứu hai yếu tố này có ý nghĩa thực tế để tối ưu hóa sản xuất bột sấy phun. Trong thí nghiệm này, tác động của tốc độ đồng hóa (8.100 và 10.800 vòng/phút) và thời gian đồng hóa (5, 10 và 15 phút) đã được đánh giá đối với hiệu suất thu hồi theo TPC, TSC và PAC từ dịch trích phụ phẩm nho. Các yếu tố cố định cho các thông số khác bao gồm tỷ lệ MD-GA là 2:1 (w/w), tỷ lệ lõi: vỏ bao là 1:4 (w/w), nhiệt độ không khí sấy đầu vào là 170°C và tốc độ dòng nhập liệu là 15 mL/phút. Hiệu suất thu hồi đối với TPC, TSC và PAC được trình bày trong **Bảng PL V.4**.

Bảng PL V.4. Hiệu suất thu hồi ở các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau

Tốc độ (vòng/phút)	Thời gian (phút)	Hiệu suất thu hồi (%)		
		TPC	TSC	PAC
8.100	5	61,52 ^c ± 1,40	77,01 ^c ± 2,60	80,22 ^b ± 2,05
	10	84,61 ^{ab} ± 0,43	86,25 ^a ± 0,85	86,00 ^{ab} ± 2,05
	15	83,34 ^b ± 1,44	81,82 ^b ± 0,76	87,60 ^a ± 3,90
10.800	5	86,74 ^a ± 0,43	82,31 ^b ± 0,68	85,72 ^{ab} ± 0,73
	10	87,10 ^a ± 0,45	87,16 ^a ± 1,37	88,50 ^a ± 0,82
	15	84,84 ^{ab} ± 0,97	84,74 ^{ab} ± 1,12	85,31 ^{ab} ± 2,25

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Theo **Bảng PL V.4**, có sự khác biệt về hiệu suất thu hồi của TPC, TSC và PAC giữa các mẫu ở tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau ($P \leq 0,05$). Nhìn chung, tốc độ đồng hóa 10.800 vòng/phút dẫn đến hiệu suất thu hồi cao hơn so với tốc độ 8.100 vòng/phút. Ở cả hai tốc độ, việc tăng thời gian đồng hóa ban đầu đã cải thiện hiệu suất thu hồi. Tuy nhiên, việc kéo dài thời gian quá 10 phút không làm tăng thêm hiệu suất thu hồi và trong một số trường hợp còn gây ra sự giảm nhẹ. Cụ thể, ở tốc độ 8.100 vòng/phút, việc tăng thời gian từ 5 đến 10 phút đã làm tăng hiệu suất thu hồi TPC từ 61,52 lên 84,61%, nhưng đã quan sát thấy mức giảm nhỏ 83,34% sau 15 phút. Tuy nhiên, ở tốc độ 10.800 vòng/phút, hiệu suất thu hồi TPC và PAC vẫn duy trì ở mức cao trong mọi khoảng thời gian, không có sự khác biệt đáng kể nào giữa 5 và 10 phút và chỉ giảm nhẹ ở 15 phút. Đáng chú ý, hiệu suất thu hồi PAC trong các phương pháp xử lý cho thấy ít biến động đáng kể hơn, ngoại trừ ở tốc độ 8.100 vòng/phút trong 5 phút, tốc độ này cho hiệu suất thu hồi giá trị thấp nhất (80,22%). Kết quả cho thấy tốc độ đồng hóa là 10.800 vòng/phút trong 10 phút là phù hợp nhất để tối đa hóa hiệu suất thu hồi TPC, TSC và PAC.

Các kết quả tương tự đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây. Theo Baysan và cộng sự (2019), tốc độ đồng hóa thấp có thể dẫn đến phân bố kích thước giọt không đồng đều, làm giảm khả năng bao phủ của lớp vỏ bao. Ngược lại, tốc độ quá cao có thể phá vỡ lớp vỏ bao, gây thất thoát các hợp chất có hoạt tính sinh học trong quá trình sấy phun. Tương tự như vậy, Wang và cộng sự (2021) nhấn mạnh rằng thời gian đồng hóa ngắn dẫn đến sự phân tán không đủ của vỏ bao và dịch trích, dẫn đến hệ huyền phù không ổn định và kết tụ trong quá trình sấy phun. Mặt khác, thời gian quá dài có thể làm phá hủy chất hoạt động bề mặt hoặc tạo ra nhiệt cục bộ, cuối cùng làm giảm độ ổn định của huyền phù.

Bảng PL V.5 cho thấy tác động của các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau lên hiệu quả vi bao TPC, TSC và PAC. Hiệu quả vi bao cao nhất cho tất cả các hợp chất được xác định ở tốc độ đồng hóa là 10.800 vòng/phút trong 10 phút, với các giá trị là 97,91% (TPC), 99,31% (TSC) và 95,27% (PAC). Điều kiện cho hiệu quả vi bao cao tiếp theo là 8.100 vòng/phút trong 10 phút. Những kết quả này chứng minh rằng 10 phút là khoảng thời gian đủ để đồng hóa, đủ dài để đảm bảo phân tán đồng đều mà không gây

ra hiện tượng nóng cục bộ và thúc đẩy sự kết tụ, cả hai vấn đề này đều có thể làm giảm hiệu quả vi bao (Kelly và Fox, 2016).

Bảng PL V.5. Hiệu quả vi bao ở các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau

Tốc độ (vòng/phút)	Thời gian (phút)	Hiệu quả vi bao (%)		
		TPC	TSC	PAC
8.100	5	96,51 ^d ± 0,04	99,13 ^{bc} ± 0,09	94,33 ^b ± 0,04
	10	97,20 ^b ± 0,10	99,34 ^a ± 0,07	95,32 ^a ± 0,09
	15	97,11 ^b ± 0,02	99,02 ^c ± 0,07	94,45 ^b ± 0,08
10.800	5	96,93 ^c ± 0,04	98,10 ^e ± 0,06	92,95 ^c ± 0,08
	10	97,91 ^a ± 0,06	99,31 ^{ab} ± 0,05	95,27 ^a ± 0,14
	15	96,32 ^e ± 0,02	98,56 ^d ± 0,08	92,83 ^c ± 0,13

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Kết quả hàm lượng ẩm và hoạt độ nước trong các mẫu bột ở các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau được trình bày trong **Bảng PL V.6**.

Bảng PL V.6. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột vi bao ở các chế độ đồng hóa khác nhau

Tốc độ (vòng/phút)	Thời gian (phút)	Hàm lượng ẩm (%)	Hoạt độ nước
8.100	5	4,47 ^a ± 0,47	0,134 ^a ± 0,008
	10	4,59 ^a ± 0,32	0,141 ^a ± 0,016
	15	4,22 ^a ± 0,09	0,135 ^a ± 0,023
10.800	5	3,78 ^a ± 0,28	0,133 ^a ± 0,010
	10	4,12 ^a ± 0,24	0,135 ^a ± 0,011
	15	3,73 ^a ± 0,44	0,137 ^a ± 0,016

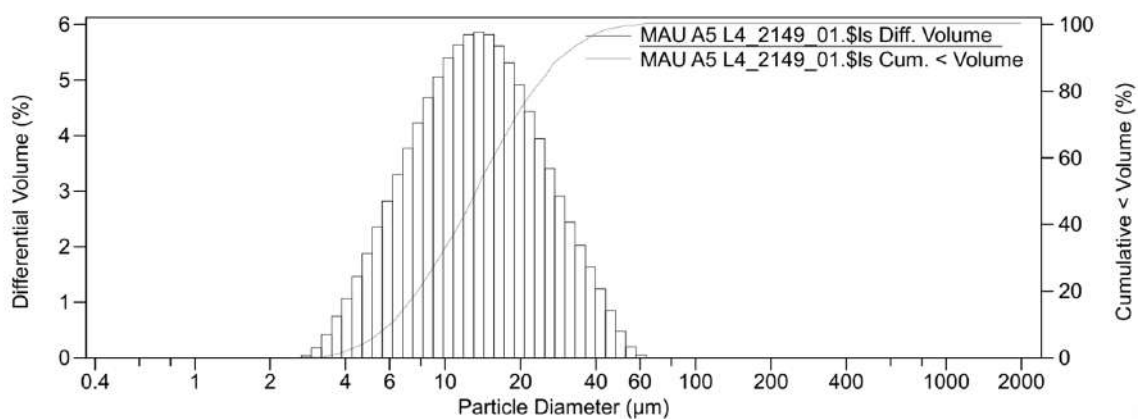
Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Kết quả cho thấy cả hàm lượng ẩm và hoạt độ nước vẫn tương đối ổn định và không khác biệt về mặt thống kê ($P > 0,05$) ở các chế độ đồng hóa khác nhau. Hàm lượng ẩm của tất cả các mẫu đều dưới 5%, trong khi giá trị a_w vẫn dưới 0,20, nằm trong phạm vi chấp nhận được đối với bột sấy phun. Koç và cộng sự (2011) báo cáo rằng không có sự khác biệt đáng kể nào về hàm lượng ẩm hoặc hoạt độ nước khi thay đổi các điều kiện đồng hóa. Tương tự như vậy, Alcântara và cộng sự (2019) nhận thấy không có ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng ẩm hoặc hoạt độ nước sau sấy phun khi thay đổi chế độ đồng hóa, mặc dù kích thước hạt và độ ổn định của quá trình vi bao có bị ảnh hưởng.

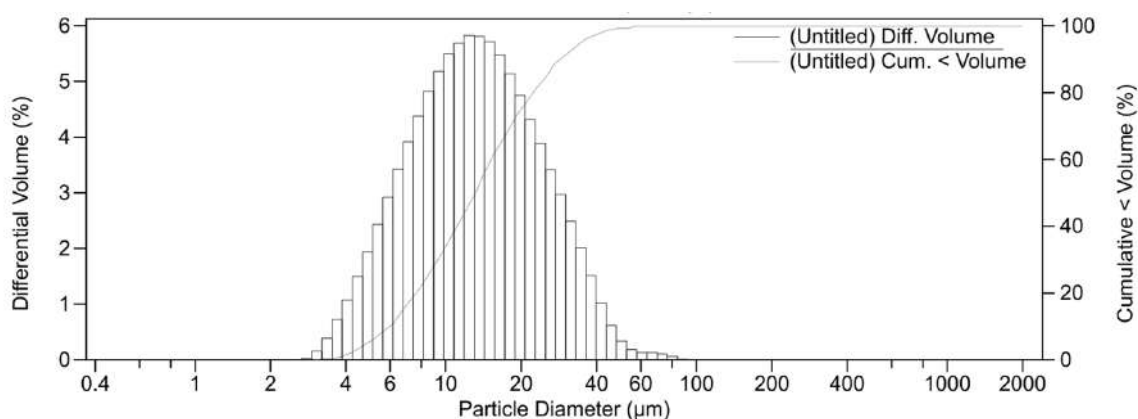
Phân tích phân bố kích thước hạt trong các thí nghiệm đồng hóa là rất quan trọng vì nó ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng của bột sấy phun. Kích thước hạt ảnh hưởng đến các tính chất vật lý và hóa học của sản phẩm, bao gồm khả năng chảy, độ hòa tan, độ ổn định và khả năng hoàn nguyên trở lại. Ngoài ra, phân bố kích thước hạt phản ánh hiệu quả đồng hóa. **Bảng PL V.7** thể hiện kết quả phân bố kích thước hạt ở các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau. Sự thay đổi đáng kể về kích thước hạt đã được ghi nhận khi thay đổi tốc độ và thời gian đồng hóa. Nhìn chung, tăng tốc độ đồng hóa từ 8.100 lên 10.800 vòng/phút dẫn đến giảm đáng kể cả kích thước hạt trung bình và phân bố kích thước hạt, cho thấy hiệu quả đồng hóa được tăng cường.

Bảng PL V.7. Phân bố kích thước hạt bột ở các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau

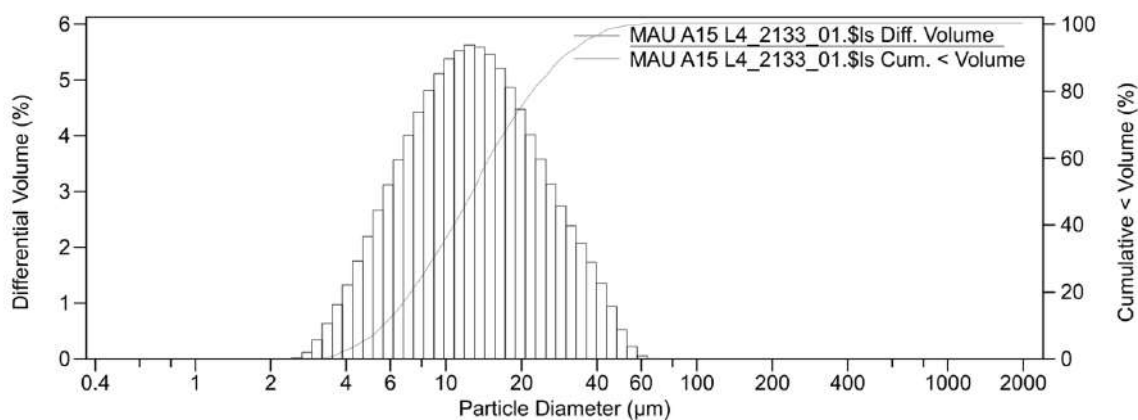
Tốc độ (vòng/phút)	Thời gian (phút)	Mean (μm)	Mode (μm)	D ₁₀ (μm)	D ₅₀ (μm)	D ₉₀ (μm)	Span
8.100	5	15,66	13,61	5,97	13,24	29,08	1,75
	10	15,57	12,40	5,94	13,01	28,83	1,76
	15	15,33	12,40	5,60	12,66	29,38	1,88
10.800	5	14,94	12,40	5,51	12,31	28,52	1,87
	10	14,37	12,40	5,20	12,08	26,84	1,79
	15	15,11	12,40	5,55	12,48	28,82	1,86



8.100 vòng/phút – 5 phút

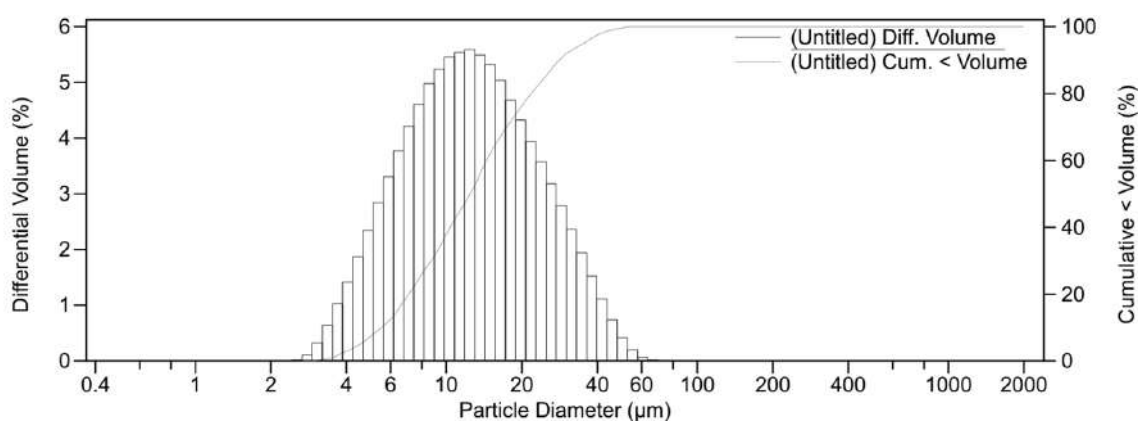


8.100 vòng/phút – 10 phút

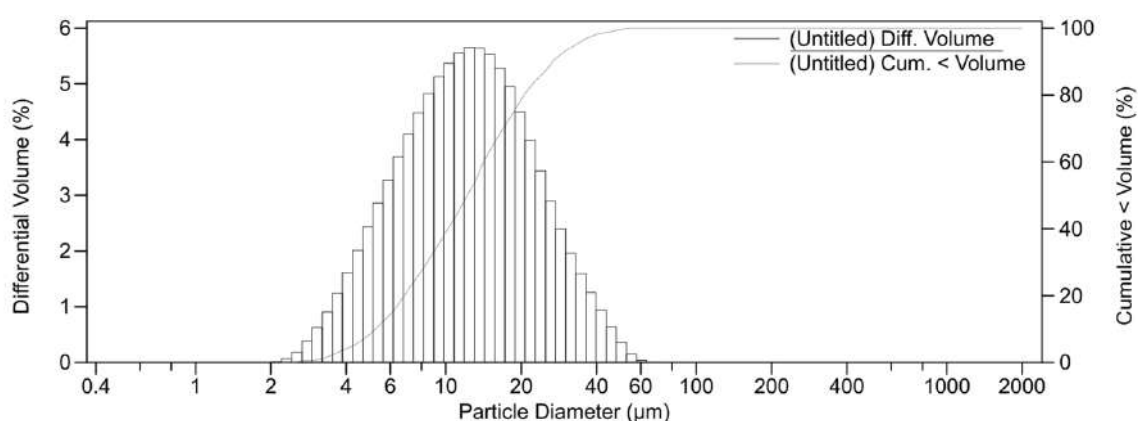


8.100 vòng/phút – 15 phút

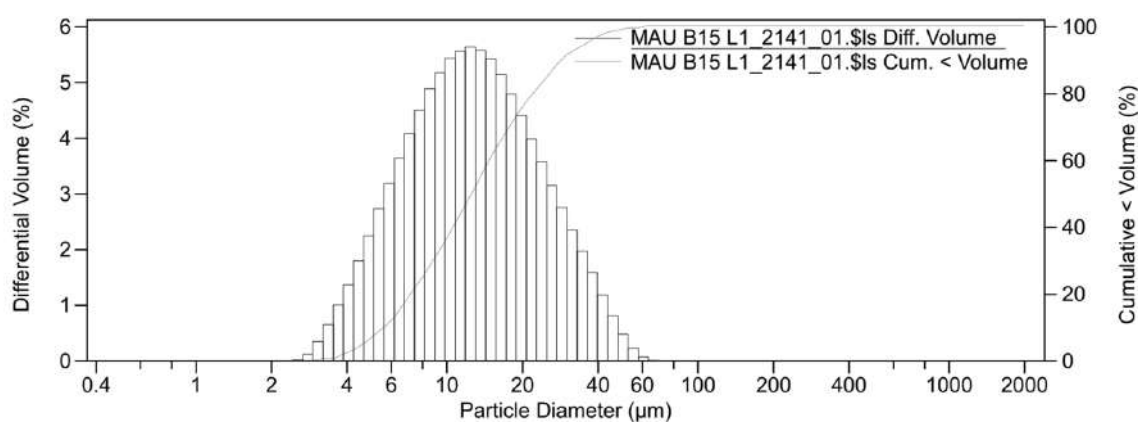
Hình PL V.13. Phân bố kích thước hạt của bột vi bao ở tốc độ 8.100 vòng/phút



10.800 vòng/phút – 5 phút



10.800 vòng/phút – 10 phút



10.800 vòng/phút – 15 phút

Hình PL V.14. Phân bố kích thước hạt của bột vi bao ở tốc độ 10.800 vòng/phút

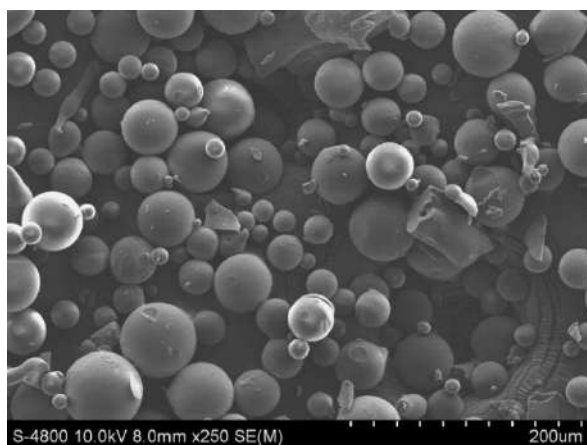
Ở tốc độ 8.100 vòng/phút, thời gian đồng hóa tăng tỷ lệ nghịch với kích thước hạt trung bình, nghĩa là thời gian càng cao thì kích thước hạt càng giảm. Ở thời gian đồng hóa 5 phút, kích thước hạt trung bình (15,66 μm) và kích thước hạt phổ biến (13,61 μm) lớn nhất. Khi thời gian tăng lên 10 phút dẫn đến kích thước hạt trung bình và giá

trị D_{50} giảm. Tuy nhiên, kích thước hạt phổ biến thì không khác biệt ($12,40\ \mu\text{m}$). Giá trị D_{90} và span của mẫu 15 phút tăng so với hai mẫu còn lại cho thấy việc kéo dài thời gian lên đến 15 phút dẫn đến kích thước hạt tăng và phân bố kích thước hạt tăng, có thể là do quá trình đồng hóa quá mức, làm tăng sự kết tụ hạt.

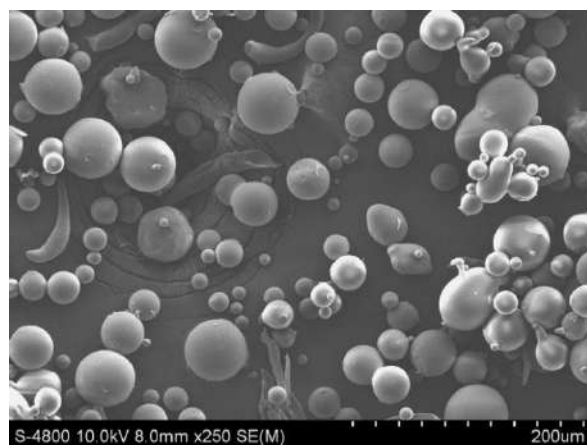
Ở tốc độ 10.800 vòng/phút, hiệu quả đồng hóa vượt trội đã được ghi nhận. Các giá trị ghi nhận được ở tốc độ 10.800 vòng/phút đều nhỏ hơn so với tốc độ 8.100 vòng/phút. Việc tăng thời gian lên 10 phút, tạo ra các hạt nhỏ hơn. Kích thước hạt trung bình, D_{50} , D_{90} và span nhỏ nhất lần lượt là $14,37\ \mu\text{m}$; $12,08\ \mu\text{m}$; $26,84\ \mu\text{m}$ và 1,79, cho thấy quá trình đồng hóa hiệu quả cao. Tăng thời gian đồng hóa lên 15 phút làm tăng kích thước hạt trung bình lên $15,11\ \mu\text{m}$. Quá trình đồng hóa quá mức ở tốc độ cao và thời gian dài có thể gây ra sự kết tụ lại do vỏ bao không đủ để ổn định giọt với diện tích bề mặt tăng lên.

Những kết quả này phù hợp với phát hiện của Machamasi và cộng sự (2024), sự hình thành hạt và độ ổn định của bột tối ưu ở tốc độ đồng hóa khoảng 10.000 vòng/phút trong 10 phút trong vi bao nanosuspension. Tương tự, Nor và cộng sự (2021), trong nghiên cứu về dầu dừa nguyên chất sấy phun, đã áp dụng tốc độ đồng hóa từ 10.000 đến 12.000 vòng/phút trong 10 phút để tạo ra bột màu sáng, có độ phân tán tốt và phân bố kích thước hạt hẹp.

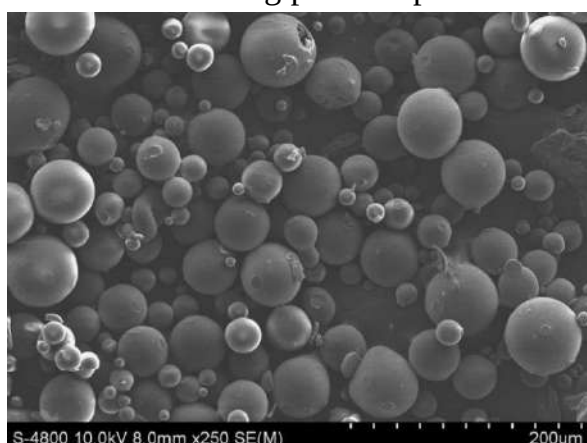
Hình PL V.15 thể hiện kết quả SEM của bột ở nhiều độ phóng đại khác nhau ở các chế độ đồng hóa đã thử nghiệm. Ở tất cả chế độ đồng hóa khảo sát, các hạt bột đều có bề mặt tròn, nhẵn. Không quan sát thấy vết nứt trên bề mặt hạt. Tuy nhiên, không thấy rõ sự ảnh hưởng của quá trình đồng hóa khác nhau lên hình thái hạt bột. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Alcântara và cộng sự (2019) cũng cho thấy quá trình đồng hóa không ảnh hưởng đến hình thái hạt bột sấy phun dầu hạt chia với vật liệu vỏ bao từ maltodextrin, whey protein isolate và gum arabic.



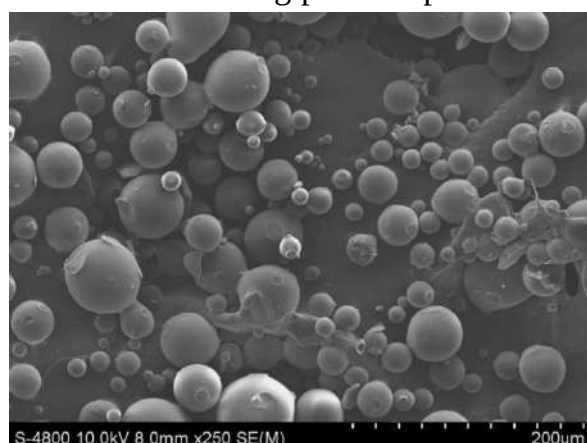
8.100 vòng/phút – 5 phút



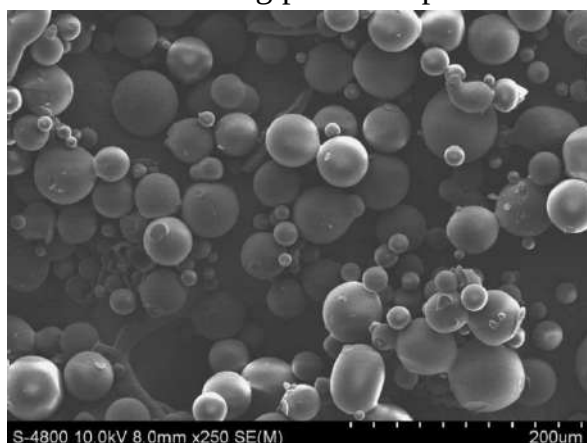
10.800 vòng/phút – 5 phút



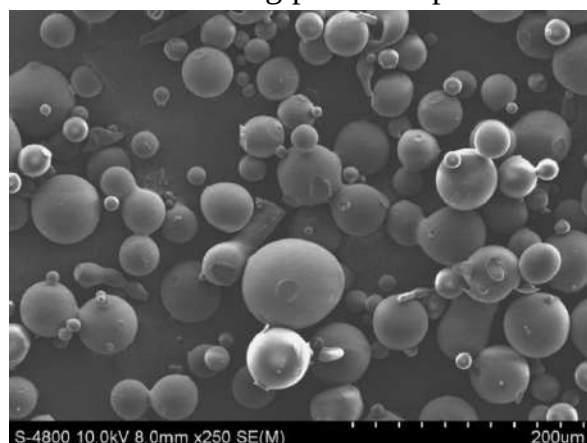
8.100 vòng/phút – 10 phút



10.800 vòng/phút – 10 phút



8.100 vòng/phút – 15 phút



10.800 vòng/phút – 15 phút

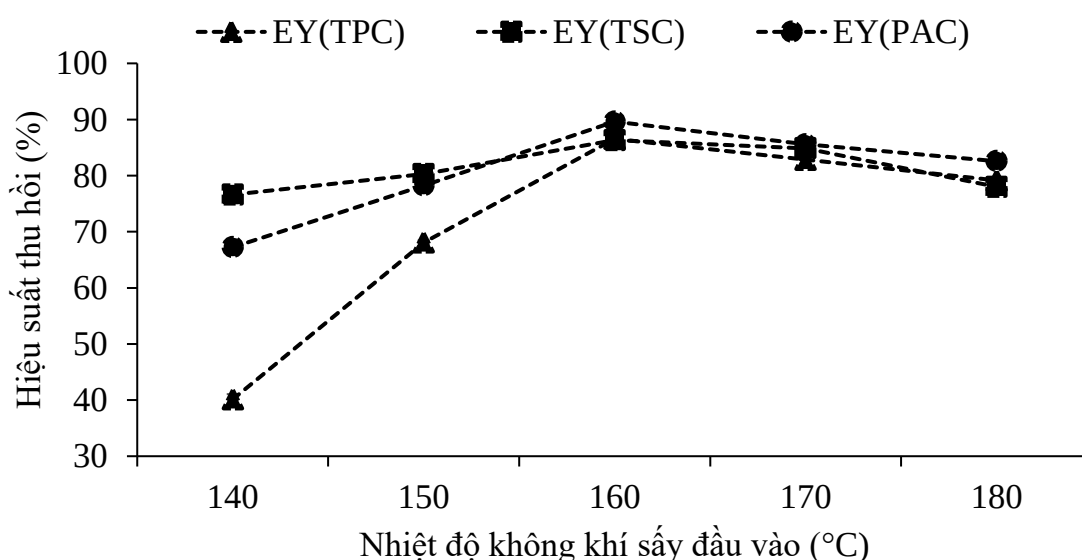
Hình PL V.15. SEM của bột vi bao ở các tốc độ và thời gian đồng hóa khác nhau

Tóm lại, trong khi những thay đổi về tốc độ và thời gian đồng hóa không ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng ẩm, hoạt độ nước và hình thái hạt, thì chế độ đồng hóa tác động đáng kể đến hiệu quả vi bao và phân bố kích thước hạt bột. Đối với lượng mẫu khoảng 500 mL, quá trình đồng hóa ở tốc độ 10.800 vòng/phút trong 10 phút sử dụng

thanh đồng hóa đường kính 18 mm tạo ra sự cân bằng phù hợp giữa việc giảm kích thước hạt và độ ổn định, tạo ra bột có phân bố kích thước hạt hẹp, có kích thước lý tưởng cho quá trình sấy phun.

❖ *Ảnh hưởng của nhiệt độ không khí sấy đầu vào đến quá trình vi bao*

Lựa chọn nhiệt độ không khí sấy đầu vào phù hợp cho quá trình sấy phun đã được chứng minh là một yếu tố chính trong việc bảo quản các hợp chất có hoạt tính sinh học. Trong thí nghiệm này, các nhiệt độ không khí sấy đầu vào khác nhau đã được nghiên cứu để xác định nhiệt độ thích hợp để sấy phun dịch trích phụ phẩm nhò. Các thông số sau đây được cố định bao gồm tỷ lệ MD-GA 2:1 (w/w), tỷ lệ lõi: vỏ bao 1:4 (w/w), tốc độ đồng hóa 10.800 vòng/phút trong 10 phút và tốc độ dòng nhập liệu là 15 mL/phút. **Hình PL V.16** cho thấy tác động của nhiệt độ không khí sấy đầu vào đến hiệu suất thu hồi của sấy phun.



Hình PL V.16. Hiệu suất thu hồi ở các nhiệt độ không khí sấy đầu vào khác nhau

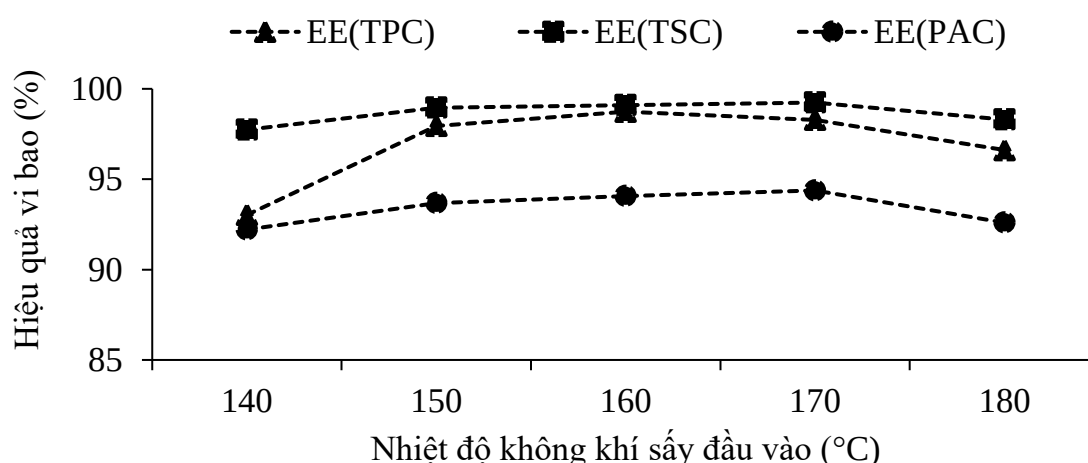
Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Như thể hiện trong **PL V.16**, hiệu suất thu hồi tăng đáng kể khi nhiệt độ không khí sấy đầu vào tăng từ 140°C lên 160 – 170°C, giảm khi nhiệt độ vượt quá 180°C. Ví dụ, ở 140°C, hiệu suất thu hồi của TPC, TSC và PAC lần lượt là 40,14 ± 0,93%, 76,61 ± 1,58% và 67,24 ± 1,42%. Các giá trị này cao nhất ở 160°C, đạt 86,54 ± 0,04% đối với TPC, 86,32 ± 1,31% đối với TSC và 89,62 ± 0,56% đối với PAC. Tuy nhiên, khi nhiệt

độ không khí sấy đầu vào tăng lên 180°C, hiệu suất thu hồi giảm xuống còn $79,12 \pm 0,19\%$ (TPC), $77,97 \pm 0,73\%$ (TSC) và $82,59 \pm 1,26\%$ (PAC).

Hiệu suất thu hồi tăng từ 140°C lên 160 – 170°C có thể là do tốc độ bay hơi tăng ở nhiệt độ cao hơn, tạo điều kiện cho quá trình hình thành màng nhanh xung quanh các hợp chất có hoạt tính sinh học. Quá trình bay hơi nhanh này giúp giảm thiểu tổn thất do quá trình oxy hóa hoặc bay hơi. Ngược lại, ở nhiệt độ thấp hơn (140 và 150°C), quá trình sấy chậm hơn do tốc độ bay hơi nước chậm, khả năng hình thành vỏ bao hạn chế, làm giảm hiệu suất thu hồi. Khi nhiệt độ đạt 180°C, sự phân hủy nhiệt của các hợp chất nhạy cảm với nhiệt như polyphenol và anthocyanin có khả năng xảy ra, cùng với khả năng phân hủy một phần vật liệu vỏ bao (Ruprecht và cộng sự, 2022). Các điều kiện tối ưu tương tự (160°C) đã được báo cáo trong nghiên cứu của Bastías-Montes và cộng sự (2019) để bảo quản các hợp chất có hoạt tính sinh học trong quá trình sấy phun.

Hình PL V.17 thể hiện hiệu quả vi bao của các hạt vi bao trong các nhiệt độ không khí sấy đầu vào khác nhau. Hiệu quả vi bao theo một xu hướng tương tự với hiệu suất thu hồi. Ở 140°C, hiệu quả vi bao đối với TPC là $93,03 \pm 0,02\%$, tăng lên mức đỉnh là $98,73 \pm 0,04\%$ ở 160°C, sau đó giảm nhẹ xuống $96,61 \pm 0,07\%$ ở 180°C. Kết quả tương tự cũng được quan sát thấy đối với TSC và PAC, với hiệu quả cao nhất ở 160°C. Tuy nhiên, hiệu quả vi bao PAC vẫn tương đối ổn định ở 170°C, không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê so với mẫu ở nhiệt độ 160°C ($P > 0,05$).



Hình PL V.17. Hiệu quả vi bao ở các nhiệt độ không khí sấy đầu vào khác nhau

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Ở nhiệt độ thấp hơn, tốc độ bay hơi không đủ để tạo thành màng nhanh và đồng đều, kéo dài thời gian tiếp xúc với không khí và làm tăng nguy cơ oxy hóa hoặc kết tụ hạt. Điều này làm tổn hại đến tính toàn vẹn về mặt cấu trúc của lớp bao bọc, dẫn đến hiệu quả vi bao thấp hơn. Ngược lại, ở nhiệt độ không khí đầu vào tối ưu (160 và 170°C), quá trình bay hơi nhanh thúc đẩy sự hình thành lớp phủ đồng đều và ổn định, bao bọc và bảo vệ hiệu quả các hợp chất có hoạt tính sinh học. Tuy nhiên, nhiệt độ không khí đầu vào quá cao (180°C) làm mất cân bằng giữa tốc độ sấy và quá trình hình thành màng, có khả năng gây ra các vết nứt, bao bọc không hoàn toàn hoặc phân hủy nhiệt của cả lõi và vỏ bao (Noshad và cộng sự, 2015). Do đó, nhiệt độ không khí sấy đầu vào 160°C được xác định là điều kiện nhiệt độ tốt nhất, mang lại hiệu suất và hiệu quả vi bao cao nhất.

Nhiệt độ không khí sấy đầu vào cũng ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng ẩm của bột sấy phun, trong khi tác động của nó đến hoạt độ nước không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Như thể hiện trong **Bảng PL V.8**, hàm lượng ẩm của bột giảm khi nhiệt độ không khí sấy đầu vào tăng, từ $4,86 \pm 0,12\%$ ở 140°C lên $3,75 \pm 0,11\%$ ở 180°C.

Bảng PL V.8. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột ở các nhiệt độ không khí sấy đầu vào khác nhau

Nhiệt độ không khí sấy đầu vào (°C)	Hàm lượng ẩm (%)	Hoạt độ nước
140	$4,86^a \pm 0,12$	$0,163^a \pm 0,015$
150	$4,56^b \pm 0,15$	$0,171^a \pm 0,009$
160	$4,10^c \pm 0,06$	$0,152^a \pm 0,026$
170	$3,97^{cd} \pm 0,05$	$0,145^a \pm 0,012$
180	$3,75^d \pm 0,11$	$0,134^a \pm 0,011$

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Nghiên cứu của Decker và cộng sự (2024) cũng cho thấy hàm lượng ẩm của bột sấy phun dịch trích phụ phẩm nho giảm dần khi tăng nhiệt độ sấy từ 120 đến 170°C với

hàm lượng ẩm khoảng 2,36 – 5,07%. Nhiệt độ sấy phun thích hợp cho dịch trích phụ phẩm nho được Decker và cộng sự (2024) lựa chọn là 140°C. Giá trị hàm lượng ẩm trong khoảng 3 – 5% được coi là lý tưởng để bảo quản bột sấy phun. Theo Gharsallaoui và cộng sự (2007), việc duy trì hàm lượng ẩm cuối cùng dưới 5% là điều cần thiết trong quá trình sấy phun, vì hàm lượng ẩm thấp giúp ngăn ngừa tình trạng dính, vón cục và các phản ứng oxy hóa không mong muốn. Điều này cải thiện độ ổn định khi bảo quản, khả năng chảy và chất lượng chung của bột. Hơn nữa, hàm lượng ẩm giảm làm giảm nguy cơ phát triển của vi sinh vật, kéo dài thời hạn sử dụng của bột vi bao.

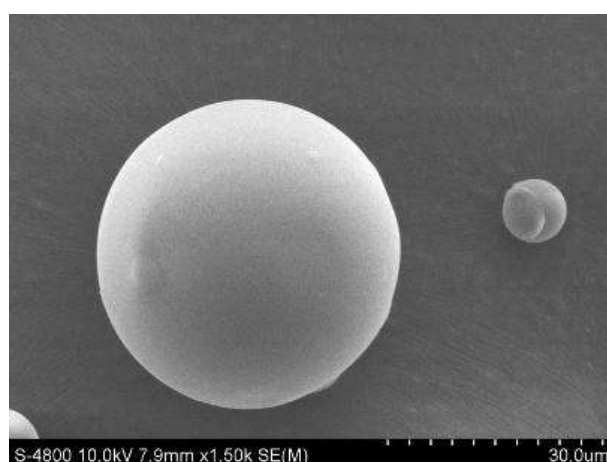
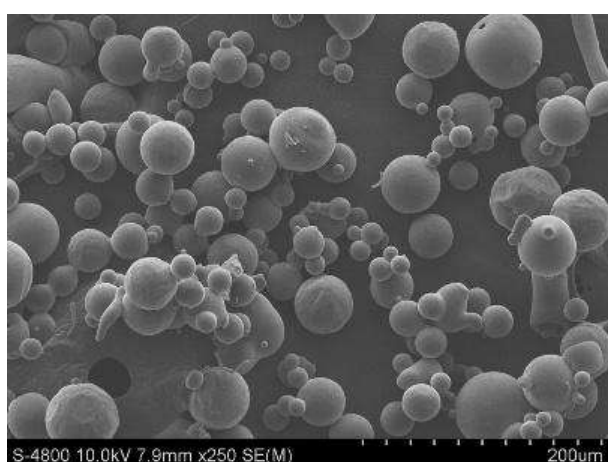
Mặc dù hàm lượng ẩm thay đổi, giá trị hoạt độ nước vẫn luôn ở mức thấp trong tất cả các mẫu, không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê ($P > 0,05$) và tất cả các giá trị đều dưới 0,2. Trong quá trình sấy phun, các giọt dung dịch chứa hợp chất có hoạt tính sinh học và vỏ bao được phun thành các hạt mịn và tiếp xúc với luồng khí nóng. Tiếp xúc ban đầu với nhiệt độ cao làm bốc hơi nhanh hàm lượng ẩm bề mặt, dẫn đến hình thành lớp vỏ ngoài khô. Lớp vỏ này bao bọc phần hơi ẩm bên trong còn lại dưới dạng liên kết, giảm thiểu ảnh hưởng của nó đến hoạt độ nước (Gharsallaoui và cộng sự, 2007). Do đó, mặc dù việc tăng nhiệt độ không khí đầu vào làm thay đổi tốc độ bốc hơi nước, nhưng hoạt độ nước cuối cùng vẫn tương đối ổn định. Điều quan trọng là duy trì hoạt độ nước dưới 0,2 là rất quan trọng đối với sự an toàn của vi sinh vật và độ ổn định lý hóa, từ đó làm tăng thời hạn sử dụng và khả năng bảo quản của bột vi bao.

Hình ảnh SEM cung cấp thông tin chi tiết về cấu trúc vi mô của các hạt bột sấy phun ở nhiều nhiệt độ không khí sấy đầu vào khác nhau. **Hình PL V.18** thể hiện kết quả SEM của bột ở nhiều độ phóng đại khác nhau ở các nhiệt độ đã thử nghiệm (140 – 180°C). Ở tất cả nhiệt độ khảo sát, các hạt bột thường có bề mặt tròn, nhẵn với độ biến dạng hoặc nếp nhăn bề mặt ít. Hình thái này được cho là do sử dụng vật liệu vỏ bao gồm hỗn hợp MD và GA, có tác dụng bao bọc hiệu quả các hợp chất có hoạt tính sinh học. Những kết quả này phù hợp với báo cáo của Mutavski và cộng sự (2025) đã nhận định rằng khi sấy phun hợp chất có hoạt tính sinh học có trong phụ phẩm trái cây cơm cháy, các hạt bột có bề mặt mịn và kích thước đồng đều. Bề mặt ngoài nhẵn tạo điều kiện cho quá trình vi bao ổn định hơn và cho phép giải phóng hợp chất được kiểm soát tốt hơn.

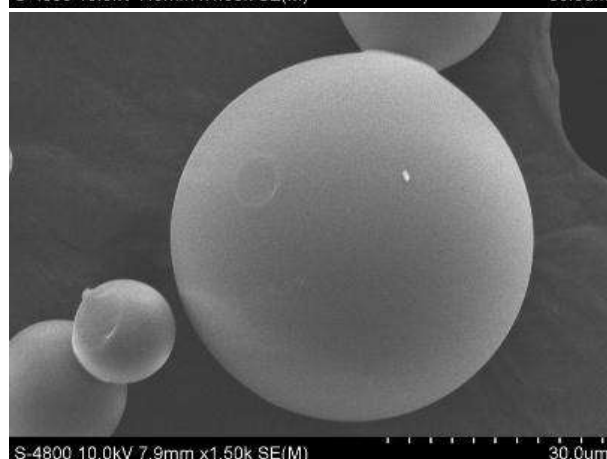
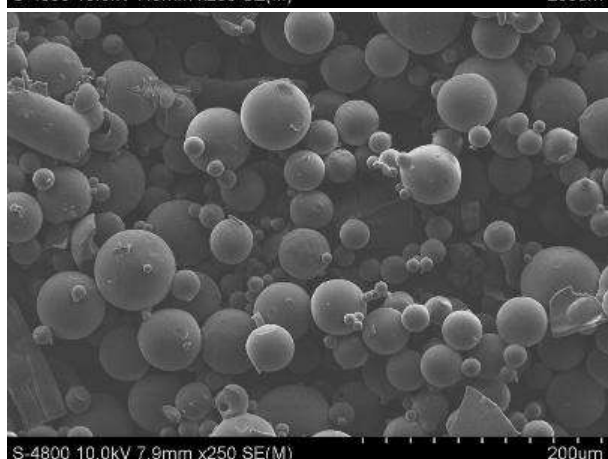
Ở nhiệt độ không khí sấy đầu vào 140°C, kích thước hạt lớn nhất và nhỏ nhất được ghi nhận lần lượt là khoảng 8,97 μm và 64,56 μm . Ở 150°C, phạm vi kích thước

hạt bột rộng hơn, từ 5,72 đến 77,23 μm . Ở 160, 170 và 180°C, các hạt lớn nhất đo được là 71,47; 67,27 và 75,31 μm , trong khi đường kính các hạt nhỏ nhất lần lượt là khoảng 7,18; 4,13 và 3,81 μm . Tuy nhiên, các hạt được tạo ra ở nhiệt độ 150°C thể hiện kích thước và hình dạng không đều hơn so với các hạt ở nhiệt độ 160°C. Pajareon và Theerakulkait (2017) cho rằng nhiệt độ sấy không đủ làm việc loại bỏ hàm lượng ẩm không đồng đều, dẫn đến sự không đồng nhất về cấu trúc giữa các hạt bột. Ở nhiệt độ thấp hơn, quá trình bốc hơi không hoàn toàn và không đồng đều có thể để lại một số hạt có lượng nước dư thừa, làm chúng to ra, trong khi những hạt khác khô nhanh hơn và co lại, góp phần làm thay đổi kích thước và hình thái hạt bột. Ngoài ra, khi nhiệt độ không khí sấy thấp, các hạt phun sương chưa khô kịp có khả năng kết dính lại với nhau.

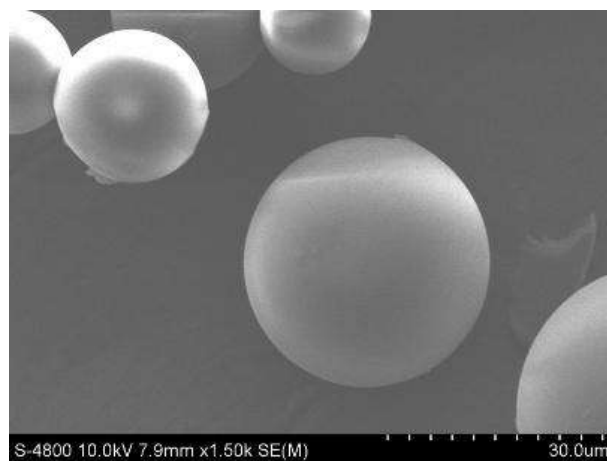
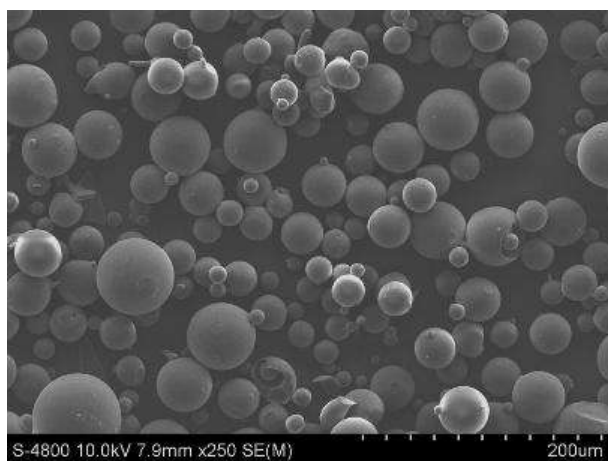
**140
(°C)**



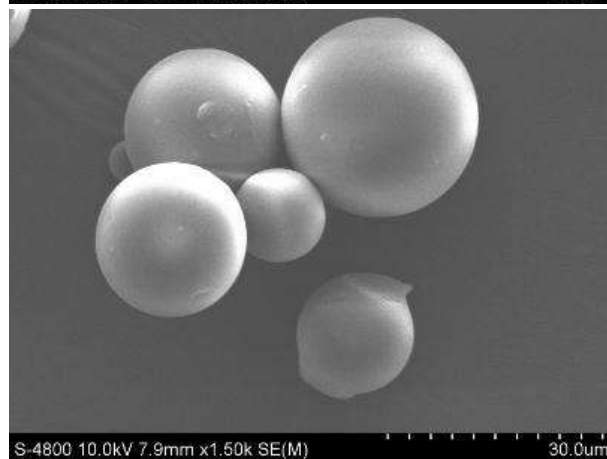
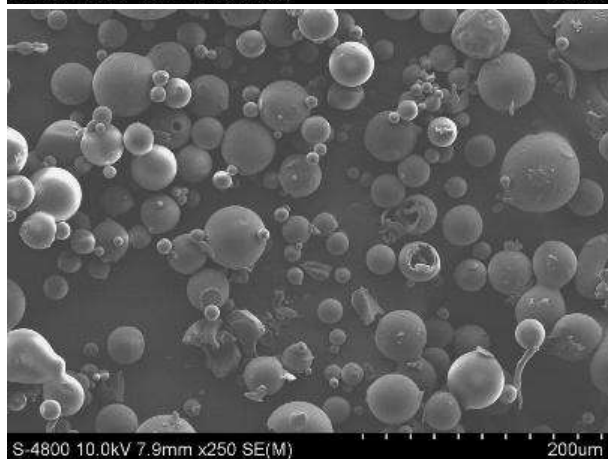
**150
(°C)**



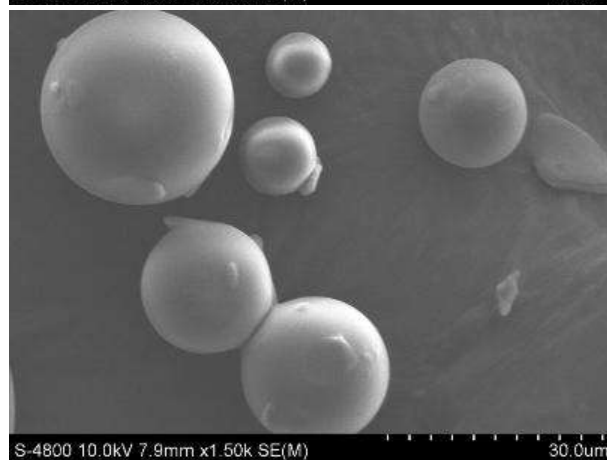
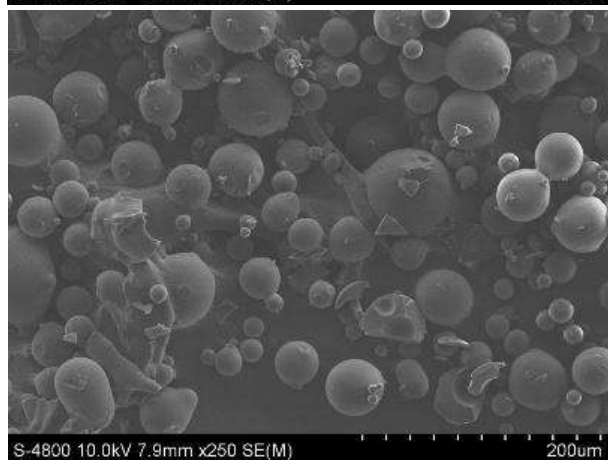
160
(°C)



170
(°C)



180
(°C)



Hình PL V.18. SEM của bột vi bao ở các nhiệt độ không khí sấy đầu vào khác nhau

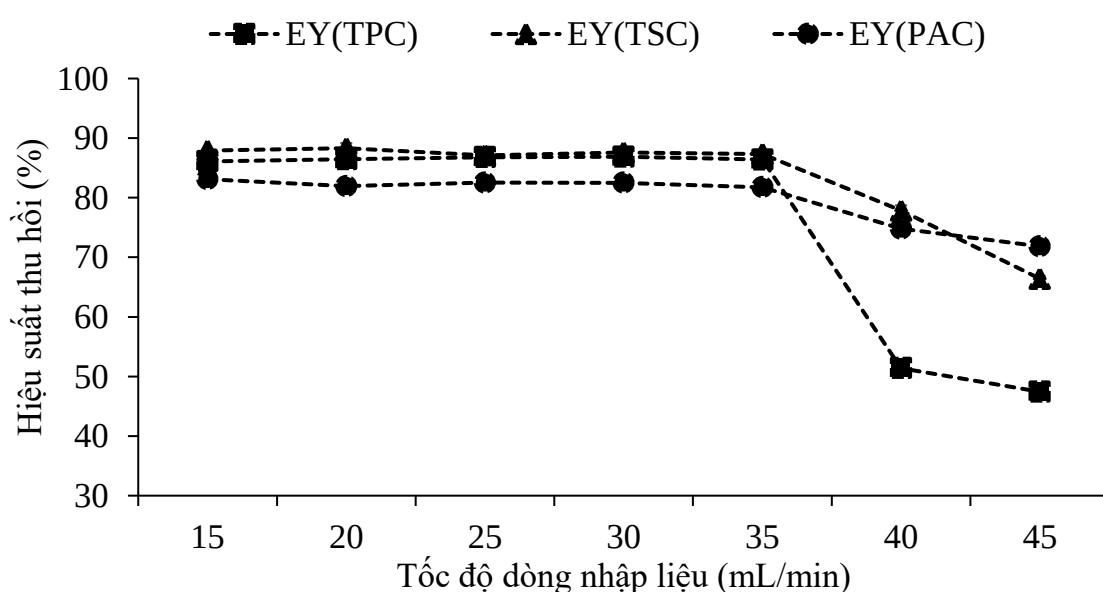
Ở nhiệt độ không khí sấy đầu vào cao là 170 và 180°C, hình ảnh SEM cho thấy sự gia tăng về biến dạng bề mặt, bao gồm các vết nứt và phân mảnh. Những khiếm khuyết như vậy có thể là do mất cân bằng giữa quá trình bốc hơi nước nhanh và quá trình hình thành màng thích hợp, làm ảnh hưởng đến tính toàn vẹn của thành vỏ bao (Noshad và cộng sự, 2015). Ngược lại, các hạt vi bao được tạo thành ở nhiệt độ sấy 160°C cho thấy hình thái đồng đều, với độ tròn tương đối đều và biến dạng tối thiểu.

Bednarska và Janiszewska-Turak (2020) cũng kết luận rằng sấy phun nước ép quả chokeberry với MG-GA ở 160°C tạo ra các hạt có đặc điểm bề mặt vượt trội so với các mẫu bột ở nhiệt độ khác.

Nhìn chung, kết quả phân tích SEM, kết hợp với hiệu suất và hiệu quả vi bao, hàm lượng ẩm và hoạt độ nước, cho thấy rằng nhiệt độ không khí sấy đầu vào 160°C là thích hợp nhất để sấy phun dịch trích phụ phẩm nho bằng hệ vỏ bao MD-GA.

❖ Ảnh hưởng của tốc độ dòng nhập liệu đến quá trình vi bao

Tốc độ dòng nhập liệu là một yếu tố quan trọng trong quá trình sấy phun vì nó ảnh hưởng trực tiếp đến sự hình thành giọt, thời gian sấy và hiệu suất thu hồi. Trong nghiên cứu này, tác động của tốc độ dòng nhập liệu lên quá trình vi bao dịch trích phụ phẩm nho đã được đánh giá trong khi cố định các thông số khác như tỷ lệ MD-GA (2:1, w/w), tỷ lệ lõi: vỏ bao 1:5 (w/w), tốc độ đồng hóa ở 10.800 vòng/phút trong 10 phút và nhiệt độ không khí sấy đầu vào là 160°C (**Hình PL V.19**).



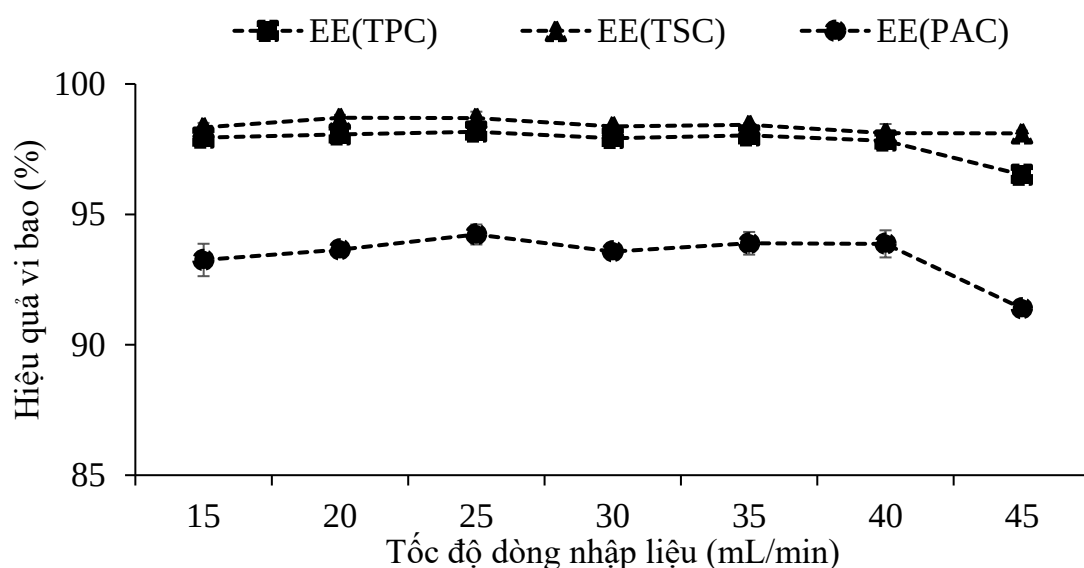
Hình PL V.19. Hiệu suất thu hồi ở các tốc độ dòng nhập liệu khác nhau

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Như thể hiện trong **Hình PL V.19**, việc tăng tốc độ dòng nhập liệu từ 15 lên 35 mL/phút không dẫn đến sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hiệu suất thu hồi TPC, TSC và PAC. Trong phạm vi này, hiệu suất thu hồi vẫn luôn ở mức cao, trên 85% đối với

TPC và trên 80% đối với PAC. Tuy nhiên, hiệu suất thu hồi giảm mạnh khi tốc độ dòng nhập liệu tăng lên 40 mL/phút, với hiệu suất thu hồi TPC, TSC và PAC giảm xuống lần lượt là $51,39 \pm 0,09\%$; $77,85 \pm 0,88\%$ và $74,78 \pm 0,70\%$. Hiệu suất thu hồi giảm tiếp tục ở tốc độ dòng nhập liệu là 45 mL/phút. Những kết quả này phù hợp với kết quả của Ton và Dao (2006) đã báo cáo rằng tốc độ dòng nhập liệu quá cao có thể làm mất ổn định hệ thống sấy, dẫn đến tổn thất nguyên liệu lớn hơn và hiệu quả sấy thấp hơn. Gharsallaoui và cộng sự (2007) cũng lưu ý rằng tốc độ nhập liệu cao hơn làm giảm thời gian tiếp xúc không khí nóng của các giọt trong buồng sấy và gây ra hiện tượng phun sương không đều, ảnh hưởng tiêu cực đến quá trình vi bao.

Kết quả hiệu quả vi bao, như trình bày trong **Hình PL V.20**, cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các tốc độ dòng nhập liệu ($P \leq 0,05$).



Hình PL V.20. Hiệu quả vi bao ở các tốc độ dòng nhập liệu khác nhau

Các chữ cái khác nhau trong cùng một chỉ tiêu thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

Trong khi hiệu quả vi bao PAC vẫn không bị ảnh hưởng và luôn ở mức khoảng 93%, hiệu quả vi bao TSC và TPC giảm nhẹ ở tốc độ dòng cao hơn. Ở tốc độ 40 mL/phút, hiệu quả vi bao TSC giảm nhẹ xuống còn $98,12 \pm 0,35\%$ và ở tốc độ 45 mL/phút, hiệu quả vi bao TPC giảm xuống còn $91,63 \pm 0,08\%$. Sự giảm hiệu quả vi bao ở tốc độ dòng nhập liệu cao hơn có thể là do thời gian tiếp xúc giữa các giọt và không khí nóng giảm. Thời gian sấy ngắn hơn hạn chế sự bay hơi nước và sự hình thành ma trận thành vỏ bao,

dẫn đến việc vi bao không hoàn toàn và một phần các hợp chất có hoạt tính sinh học vẫn còn trên bề mặt hạt. Nhìn chung, kết quả cho thấy tốc độ dòng nhập liệu từ 15 đến 35 mL/phút là phù hợp nhất để duy trì cả hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao cao. Ngoài phạm vi này, hiệu suất và hiệu quả vi bao giảm, ảnh hưởng đến chất lượng bột.

Ảnh hưởng của tốc độ dòng nhập liệu đến hàm lượng ẩm và hoạt độ nước trong bột sấy phun đã được đánh giá. Kết quả được trình bày trong **Bảng PL V.9**. Tốc độ dòng nhập liệu ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng ẩm của bột ($P \leq 0,05$), trong khi không có sự khác biệt đáng kể nào được ghi nhận hoạt độ nước ($P > 0,05$). Hàm lượng ẩm tăng dần từ $4,15 \pm 0,14\%$ ở tốc độ 15 mL/phút lên $7,36 \pm 0,12\%$ ở tốc độ 45 mL/phút. Xu hướng này có thể là do thời gian tiếp xúc của các giọt trong buồng sấy ngắn hơn ở tốc độ dòng nhập liệu cao hơn, hạn chế sự bay hơi hoàn toàn. Tốc độ dòng nhập liệu cao hơn đưa nhiều dung dịch trước sấy hơn vào buồng trong thời gian ngắn hơn, làm giảm khả năng loại bỏ hoàn toàn hàm lượng ẩm của dịch trước sấy. Tuy nhiên, giá trị hoạt độ nước vẫn thay đổi không khác biệt về mặt thống kê ($P > 0,05$), duy trì dưới 0,20. Hiện tượng này có thể được giải thích bằng sự hiện diện của GA trong vật liệu vỏ bao. GA được biết đến với khả năng giữ nước bằng cách hình thành nước liên kết thông qua cấu trúc polysaccharide phân nhánh của nó (Masuelli, 2013). Điều này có thể góp phần giữ nước trong ma trận hạt thay vì nước tự do, do đó ổn định hoạt độ nước mặc dù hàm lượng ẩm tổng thể tăng lên.

Bảng PL V.9. Hàm lượng ẩm và hoạt độ nước của bột ở tốc độ nhập liệu khác nhau

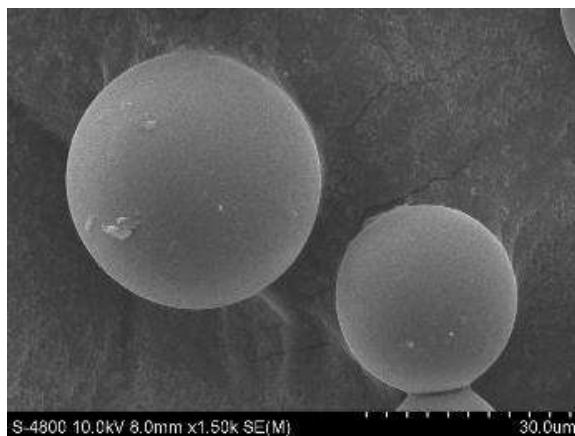
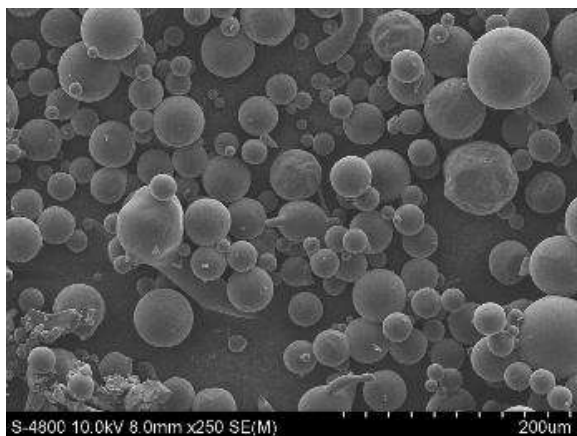
Tốc độ bơm (mL/phút)	Hàm lượng ẩm (%)	Hoạt độ nước
15	$4,15^e \pm 0,14$	$0,131^a \pm 0,018$
20	$4,67^{de} \pm 0,25$	$0,134^a \pm 0,010$
25	$5,24^{cd} \pm 0,06$	$0,136^a \pm 0,015$
30	$5,31^{cd} \pm 0,04$	$0,138^a \pm 0,002$
35	$5,78^{bc} \pm 0,11$	$0,140^a \pm 0,015$
40	$6,22^b \pm 0,53$	$0,137^a \pm 0,011$
45	$7,36^a \pm 0,12$	$0,125^a \pm 0,026$

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P \leq 0,05$)

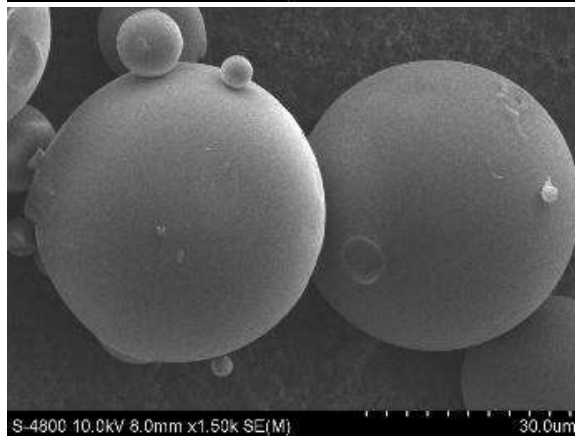
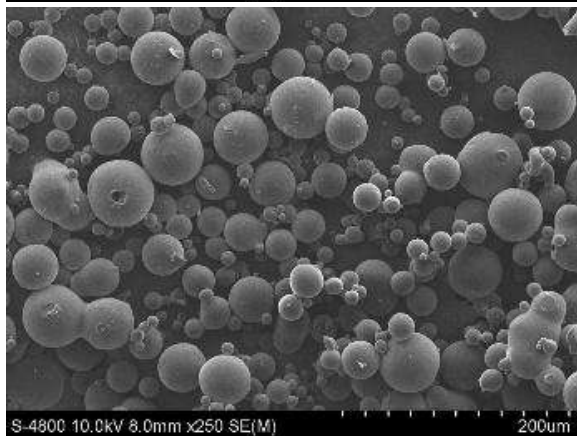
Hình thái bề mặt của các bột vi bao ở các tốc độ dòng nhập liệu khác nhau được thể hiện trong **Hình PL V.21**. Hình ảnh SEM chứng minh rằng hạt bột được tạo ra ở tốc độ dòng nhập liệu từ 15 đến 35 mL/phút đồng nhất, hình cầu và phần lớn không bị biến dạng với bề mặt nhẵn. Những đặc điểm này cho thấy điều kiện sấy phun ổn định, với quá trình sấy và hình thành vỏ bao thích hợp. Ở tốc độ dòng nhập liệu từ 40 đến 45 mL/phút, bắt đầu ghi nhận thấy những thay đổi về hình thái rõ rệt. Nếp nhăn bề mặt và biến dạng cấu trúc bắt đầu xuất hiện ở tốc độ 40 mL/phút, mặc dù các hạt không biểu hiện vết nứt có thể nhìn thấy được. Ở tốc độ 45 mL/phút, biến dạng trở nên rõ ràng hơn, với tỷ lệ nếp nhăn, kết tụ hạt và hình dạng không đều tăng lên. Thay đổi này là do hiệu suất trao đổi nhiệt giảm, thời gian sấy không đủ và nguyên liệu được đưa vào quá nhanh nên tích tụ quá mức trong buồng sấy. Hơn nữa, tốc độ dòng nhập liệu cao làm tăng kích thước giọt, khiến nhiệt khó thâm nhập và làm khô các hạt đồng đều hơn. Các hạt lớn hơn dễ bị vỡ và biến dạng bề mặt hơn (Ton và Dao, 2006).

Tóm lại, tốc độ dòng nhập liệu phù hợp cho sấy phun trong điều kiện thử nghiệm dao động từ 15 đến 35 mL/phút, tạo ra bột có hàm lượng ẩm mong muốn, hoạt độ nước ổn định và hình thái đồng đều. Trong khi tốc độ dòng nhập liệu thấp hơn đảm bảo chất lượng tốt hơn, tốc độ dòng nhập liệu 35 mL/phút được khuyến nghị là lựa chọn thiết thực nhất để cân bằng chất lượng sản phẩm và hiệu quả quy trình, đặc biệt khi xem xét khả năng mở rộng và hạn chế thời gian sấy ở cấp độ công nghiệp.

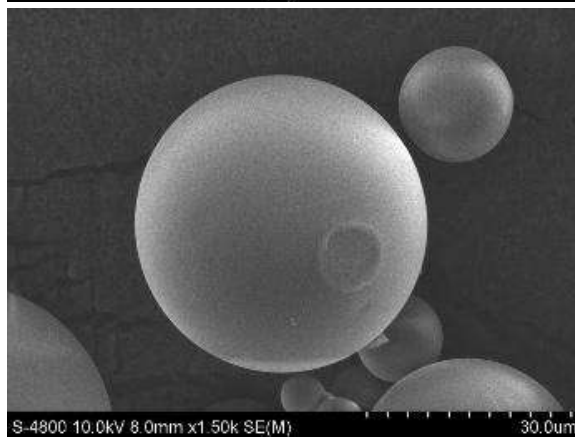
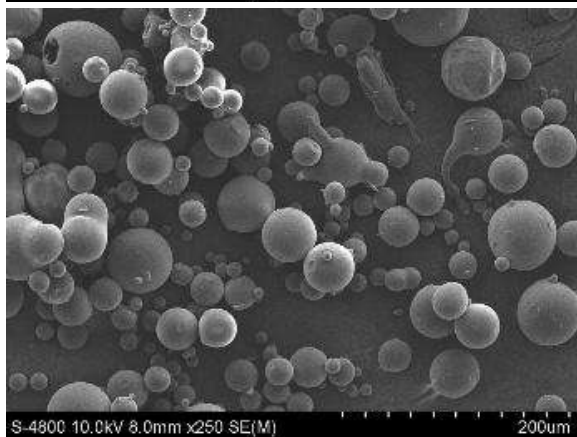
**15
(mL/
phút)**



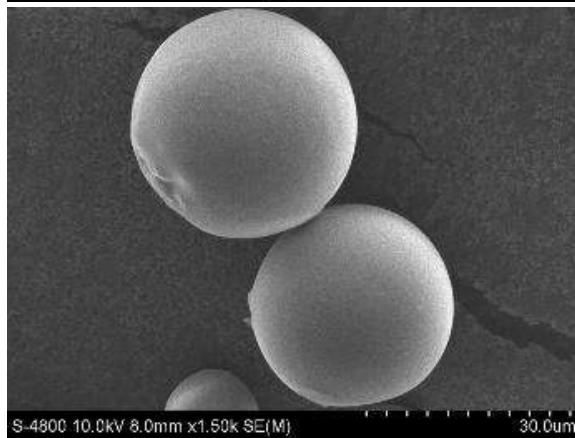
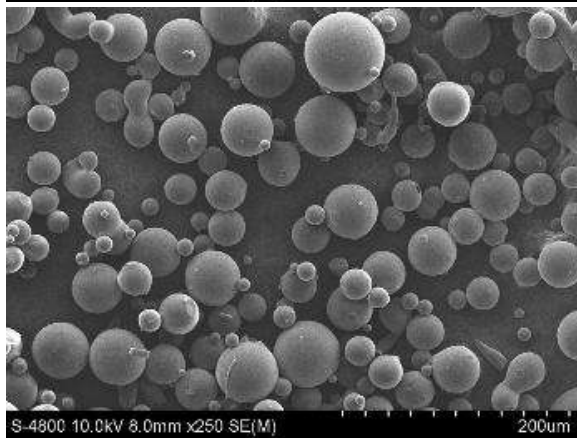
**20
(mL/
phút)**



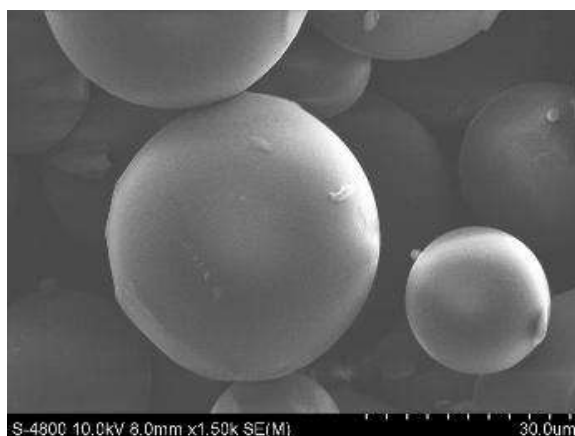
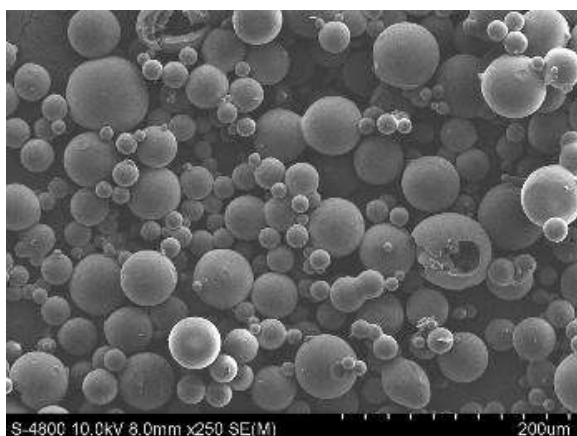
**25
(mL/
phút)**



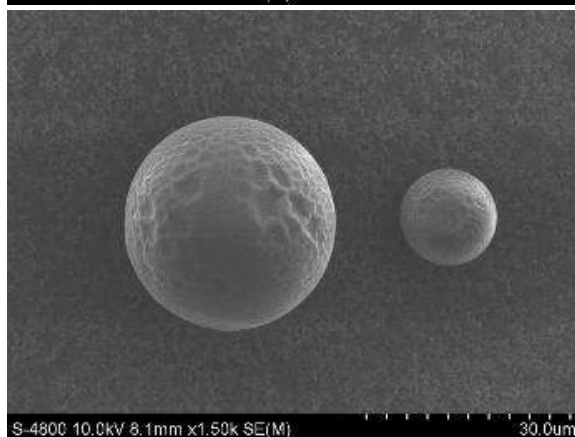
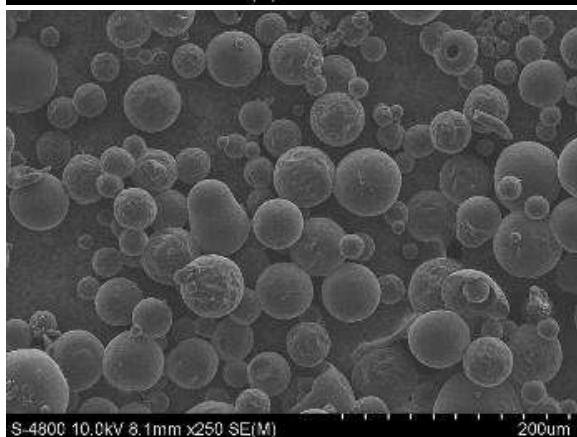
**30
(mL/
phút)**



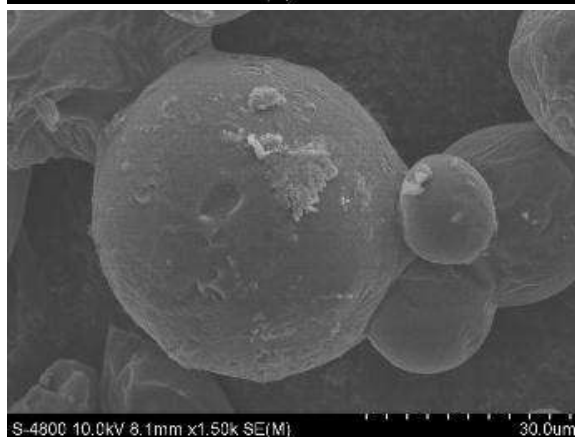
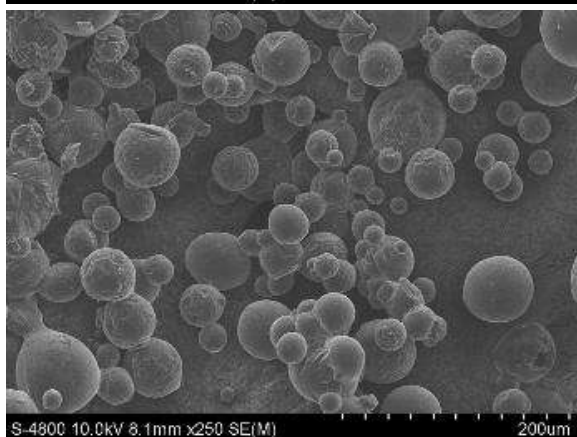
**35
(mL/
phút)**



**40
(mL/
phút)**



**45
(mL/
phút)**



Hình PL V.21. SEM của bột vi bao ở các tốc độ dòng nhập liệu khác nhau

Phụ lục V.2. Kết quả xử lý số liệu thống kê

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của loại vỏ bao đến quá trình vi bao bằng sậy phun

Bảng PL V.10. Ảnh hưởng của loại vỏ bao đến hiệu suất thu hồi (%)

Hiệu suất thu hồi (%)	Loại vỏ bao				
	MD	MD-GA	MD-MS	MD-SPI	MD-WPI
TPC	85,44 ^a ± 2,51	70,59 ^b ± 1,49	59,40 ^c ± 0,47	41,60 ^d ± 1,43	60,44 ^c ± 1,30
TSC	79,35 ^a ± 2,27	82,07 ^a ± 2,42	78,05 ^a ± 2,59	58,39 ^c ± 1,74	70,51 ^b ± 0,69
PAC	88,00 ^A ± 2,83	72,38 ^B ± 1,84	83,32 ^A ± 1,93	44,42 ^D ± 0,96	63,49 ^C ± 1,93

Bảng PL V.11. Ảnh hưởng của loại vỏ bao đến hiệu quả vi bao (%)

Hiệu quả vi bao (%)	Loại vỏ bao				
	MD	MD-GA	MD-MS	MD-SPI	MD-WPI
TPC	95,94 ^b ± 0,17	97,84 ^a ± 0,05	93,60 ^c ± 1,29	95,21 ^{bc} ± 0,3	94,69 ^{bc} ± 0,37
TSC	96,81 ^{bc} ± 0,21	98,55 ^a ± 0,04	97,00 ^b ± 0,76	95,36 ^c ± 0,34	95,96 ^{bc} ± 0,95
PAC	91,63 ^B ± 0,27	94,54 ^A ± 0,03	92,38 ^B ± 0,76	88,48 ^C ± 0,78	91,17 ^B ± 0,68

Hiệu suất thu hồi TPC

Summary of Fit

Rsquare	0.992026
Adj Rsquare	0.988837
Root Mean Square Error	1.579764
Mean of Response	63.50733
Observations (or Sum Wgts)	15

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Wall material type	4	3104.9526	776.238	311.0360	<.0001*
Error	10	24.9565	2.496		
C. Total	14	3129.9091			

Connecting Letters Report

Level		Mean
MD	A	85.443333
MD-GA	B	70.593333
MD-WPI	C	60.440000
MD-MS	C	59.400000
MD-SPI	D	41.660000

Hiệu suất thu hồi TSC

Summary of Fit

Rsquare	0.962803
Adj Rsquare	0.947925
Root Mean Square Error	2.058328
Mean of Response	73.672
Observations (or Sum Wgts)	15

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Wall material type	4	1096.6393	274.160	64.7105	<.0001*
Error	10	42.3671	4.237		
C. Total	14	1139.0064			

Connecting Letters Report

Level					Mean
MD-GA	A				82.066667
MD	A	B			79.353333
MD-MS		B			78.046667
MD-WPI			C		70.506667
MD-SPI				D	58.386667

Hiệu suất thu hồi PAC

Summary of Fit

Rsquare	0.99116
Adj Rsquare	0.987624
Root Mean Square Error	1.794215
Mean of Response	70.322
Observations (or Sum Wgts)	15

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Wall material type	4	3609.3892	902.347	280.3011	<.0001*
Error	10	32.1921	3.219		
C. Total	14	3641.5812			

Connecting Letters Report

Level						Mean
MD	A					88.003333
MD-MS		B				83.316667
MD-GA			C			72.376667
MD-WPI				D		63.490000
MD-SPI					E	44.423333

Hiệu quả vi bao TPC

Summary of Fit					
Rsquare		0.886591			
Adj Rsquare		0.841227			
Root Mean Square Error		0.619435			
Mean of Response		95.45533			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Wall material type	4	29.996173	7.49904	19.5440	0.0001*
Error	10	3.837000	0.38370		
C. Total	14	33.833173			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
MD-GA	A				97.836667
MD		B			95.943333
MD-SPI		B	C		95.206667
MD-WPI		B	C		94.690000
MD-MS			C		93.600000

Hiệu quả vi bao TSC

Summary of Fit					
Rsquare		0.843327			
Adj Rsquare		0.780658			
Root Mean Square Error		0.572253			
Mean of Response		96.73467			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Wall material type	4	17.627040	4.40676	13.4569	0.0005*
Error	10	3.274733	0.32747		
C. Total	14	20.901773			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
MD-GA	A				98.550000
MD-MS		B			97.000000
MD		B	C		96.810000
MD-WPI			C	D	95.956667
MD-SPI				D	95.356667

Hiệu quả vi bao PAC

Summary of Fit					
Rsquare		0.943314			
Adj Rsquare		0.920639			
Root Mean Square Error		0.587634			
Mean of Response		91.64067			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Wall material type	4	57.463560	14.3659	41.6025	<.0001*
Error	10	3.453133	0.3453		
C. Total	14	60.916693			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
MD-GA	A				94.543333
MD-MS	B				92.376667
MD	B	C			91.626667
MD-WPI	C				91.173333
MD-SPI	D				88.483333

Hàm lượng ẩm

Summary of Fit					
Rsquare		0.894816			
Adj Rsquare		0.852742			
Root Mean Square Error		0.456267			
Mean of Response		4.469333			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Wall material type	4	17.710093	4.42752	21.2678	<.0001*
Error	10	2.081800	0.20818		
C. Total	14	19.791893			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
MD-GA	A				6.0300000
MD-MS	B				5.1966667
MD-SPI	B				4.5533333
MD-WPI	C				3.5266667
MD	C				3.0400000

Hoạt độ nước

Summary of Fit					
Rsquare		0.584015			
Adj Rsquare		0.417621			
Root Mean Square Error		0.014958			
Mean of Response		0.1732			
Observations (or Sum Wgts)		15			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Wall material type	4	0.00314107	0.000785	3.5098	0.0488*
Error	10	0.00223733	0.000224		
C. Total	14	0.00537840			
Connecting Letters Report					
Level		Mean			
MD-GA	A	0.19233333			
MD-MS	A	0.18200000			
MD-SPI	A B	0.17366667			
MD-WPI	A B	0.16900000			
MD	B	0.14900000			

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ lõi: vỏ bao đến quá trình vi bao bằng sấy phun

Bảng PL V.12. Ảnh hưởng của tỷ lệ lõi: vỏ bao đến hiệu suất thu hồi (%)

Hiệu suất thu hồi (%)	Tỷ lệ lõi: vỏ bao (w/w)			
	1:3	1:4	1:5	1:6
TPC	71,33 ^b ± 1,03	80,67 ^a ± 2,09	70,59 ^b ± 1,49	69,82 ^b ± 2,23
TSC	84,03 ^a ± 1,94	87,00 ^a ± 2,39	82,07 ^a ± 2,42	84,67 ^a ± 2,62
PAC	77,86 ^A ± 1,84	76,37 ^A ± 0,41	72,38 ^B ± 1,47	71,73 ^B ± 0,35

Bảng PL V.13. Ảnh hưởng của tỷ lệ lõi: vỏ bao đến hiệu quả vi bao (%)

Hiệu quả vi bao (%)	Tỷ lệ lõi: vỏ bao (w/w)			
	1:3	1:4	1:5	1:6
TPC	96,35 ^b ± 0,25	98,12 ^a ± 0,06	97,84 ^a ± 0,05	95,73 ^b ± 0,42
TSC	97,35 ^b ± 0,33	98,51 ^a ± 0,03	98,55 ^a ± 0,04	98,12 ^a ± 0,23
PAC	92,98 ^{AB} ± 0,26	91,45 ^B ± 0,80	94,54 ^A ± 0,03	92,33 ^B ± 1,00

Hiệu suất thu hồi TPC

Summary of Fit					
Rsquare		0.902069			
Adj Rsquare		0.865344			
Root Mean Square Error		1.775915			
Mean of Response		73.10333			
Observations (or Sum Wgts)		12			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Core-to-wall material ratio	3	232.40847	77.4695	24.5633	0.0002*
Error	8	25.23100	3.1539		
C. Total	11	257.63947			
Connecting Letters Report					
Level		Mean			
1:4	A	80.670000			
1:3	B	71.326667			
1:5	B	70.593333			
1:6	B	69.823333			

Hiệu suất thu hồi TSC

Summary of Fit					
Rsquare		0.456049			
Adj Rsquare		0.252067			
Root Mean Square Error		2.355487			
Mean of Response		84.4425			
Observations (or Sum Wgts)		12			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Core-to-wall material ratio	3	37.213692	12.4046	2.2357	0.1614
Error	8	44.386533	5.5483		
C. Total	11	81.600225			
Connecting Letters Report					
Level		Mean			
1:4	A	87.000000			
1:6	A	84.670000			
1:3	A	84.033333			
1:5	A	82.066667			

Hiệu suất thu hồi PAC

Summary of Fit		
Rsquare		0.873761
Adj Rsquare		0.826422
Root Mean Square Error		1.208284
Mean of Response		74.5825
Observations (or Sum Wgts)		12

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Core-to-wall material ratio	3	80.840225	26.9467	18.4573	0.0006*
Error	8	11.679600	1.4600		
C. Total	11	92.519825			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
1:3	A	77.860000
1:4	A	76.366667
1:5	B	72.376667
1:6	B	71.726667

Hiệu quả vi bao TPC

Summary of Fit		
Rsquare		0.960499
Adj Rsquare		0.945686
Root Mean Square Error		0.248445
Mean of Response		97.0075
Observations (or Sum Wgts)		12

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Core-to-wall material ratio	3	12.007225	4.00241	64.8426	<.0001*
Error	8	0.493800	0.06173		
C. Total	11	12.501025			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
1:4	A	98.120000
1:5	A	97.836667
1:3	B	96.346667
1:6	B	95.726667

Hiệu quả vi bao TSC

Summary of Fit					
Rsquare		0.893288			
Adj Rsquare		0.853271			
Root Mean Square Error		0.204042			
Mean of Response		98.13167			
Observations (or Sum Wgts)		12			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Core-to-wall material ratio	3	2.7881000	0.929367	22.3227	0.0003*
Error	8	0.3330667	0.041633		
Connecting Letters Report					
Level		Mean			
1:5	A	98.550000			
1:4	A	98.510000			
1:6	A	98.116667			
1:3	B	97.350000			

Hiệu quả vi bao PAC

Summary of Fit					
Rsquare		0.817593			
Adj Rsquare		0.749191			
Root Mean Square Error		0.653267			
Mean of Response		92.82833			
Observations (or Sum Wgts)		12			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Core-to-wall material ratio	3	15.302700	5.10090	11.9527	0.0025*
Error	8	3.414067	0.42676		
C. Total	11	18.716767			
Connecting Letters Report					
Level		Mean			
1:5	A	94.543333			
1:3	A B	92.983333			
1:6	B	92.333333			
1:4	B	91.453333			

Hàm lượng ẩm

Summary of Fit

Rsquare	0.688948
Adj Rsquare	0.572303
Root Mean Square Error	0.641288
Mean of Response	6
Observations (or Sum Wgts)	12

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Core-to-wall material ratio	3	7.287000	2.42900	5.9064	0.0200*
Error	8	3.290000	0.41125		
C. Total	11	10.577000			

Connecting Letters Report

Level		Mean
1:3	A	6.6900000
1:4	A	6.5600000
1:5	A B	6.0300000
1:6	B	4.7200000

Hoạt độ nước

Summary of Fit

Rsquare	0.959601
Adj Rsquare	0.944451
Root Mean Square Error	0.007106
Mean of Response	0.16475
Observations (or Sum Wgts)	12

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Core-to-wall material ratio	3	0.00959625	0.003199	63.3416	<.0001*
Error	8	0.00040400	0.000050		
C. Total	11	0.01000025			

Connecting Letters Report

Level		Mean
1:6	A	0.19333333
1:5	A	0.19233333
1:4	B	0.14133333
1:3	B	0.13200000

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ MD-GA đến quá trình vi bao bằng sấy phun

Bảng PL V.14. Ảnh hưởng của tỷ lệ MD-GA đến hiệu suất thu hồi (%)

Hiệu suất thu hồi (%)	Tỷ lệ MD-GA (w/w)			
	1:1	1:2	2:1	3:1
TPC	79,70 ^b ± 0,55	72,55 ^c ± 0,61	83,37 ^a ± 1,22	83,11 ^a ± 0,77
TSC	80,80 ^b ± 0,22	87,90 ^a ± 0,16	88,00 ^a ± 0,04	82,15 ^b ± 1,10
PAC	81,21 ^B ± 0,11	73,94 ^C ± 0,92	87,92 ^A ± 1,23	85,98 ^A ± 0,79

Bảng PL V.15. Ảnh hưởng của tỷ lệ MD-GA đến hiệu quả vi bao (%)

Hiệu quả vi bao (%)	Tỷ lệ MD-GA (w/w)			
	1:1	1:2	2:1	3:1
TPC	98,17 ^a ± 0,02	96,89 ^c ± 0,04	97,16 ^b ± 0,02	96,35 ^d ± 0,05
TSC	99,16 ^b ± 0,05	98,76 ^a ± 0,49	99,84 ^a ± 0,04	97,58 ^c ± 0,04
PAC	91,62 ^C ± 0,07	92,58 ^B ± 0,26	92,73 ^B ± 0,01	93,66 ^A ± 0,11

Hiệu suất thu hồi TPC

Connecting Letters Report			
Level			Mean
2:1	A		83.366667
3:1	A		83.106667
1:1		B	79.700000
1:2		C	72.546667

Summary of Fit	
Rsquare	0.976576
Adj Rsquare	0.967793
Root Mean Square Error	0.827979
Mean of Response	79.68
Observations (or Sum Wgts)	12

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ratio of different wall materials	3	228.65520	76.2184	111.1785	<.0001*
Error	8	5.48440	0.6855		
C. Total	11	234.13960			

Hiệu suất thu hồi TSC

Summary of Fit					
Rsquare		0.980349			
Adj Rsquare		0.972979			
Root Mean Square Error		0.567201			
Mean of Response		84.71083			
Observations (or Sum Wgts)		12			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ratio of different wall materials	3	128.39616	42.7987	133.0323	<.0001*
Error	8	2.57373	0.3217		
C. Total	11	130.96989			
Connecting Letters Report					
Level					Mean
2:1	A				87.996667
1:2	A				87.896667
3:1		B			82.150000
1:1			C		80.800000

Hiệu suất thu hồi PAC

Connecting Letters Report					
Level					Mean
2:1	A				87.920000
3:1		B			85.980000
1:1			C		81.206667
1:2				D	73.936667
Summary of Fit					
Rsquare		0.983068			
Adj Rsquare		0.976718			
Root Mean Square Error		0.866554			
Mean of Response		82.26083			
Observations (or Sum Wgts)		12			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ratio of different wall materials	3	348.78416	116.261	154.8259	<.0001*
Error	8	6.00733	0.751		
C. Total	11	354.79149			

Hiệu quả vi bao TPC

Summary of Fit					
Rsquare		0.998515			
Adj Rsquare		0.997958			
Root Mean Square Error		0.031225			
Mean of Response		97.14			
Observations (or Sum Wgts)		12			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ratio of different wall materials	3	5.2440000	1.74800	1792.821	<.0001*
Error	8	0.0078000	0.00097		
C. Total	11	5.2518000			
Connecting Letters Report					
Level					Mean
1:1	A				98.166667
2:1	B				97.160000
1:2	C				96.886667
3:1	D				96.346667

Hiệu quả vi bao TSC

Connecting Letters Report					
Level					Mean
2:1	A				99.836667
1:1	B				99.156667
1:2	B				98.760000
3:1	C				97.580000
Summary of Fit					
Rsquare		0.942537			
Adj Rsquare		0.920988			
Root Mean Square Error		0.247874			
Mean of Response		98.83333			
Observations (or Sum Wgts)		12			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ratio of different wall materials	3	8.0623333	2.68744	43.7398	<.0001*
Error	8	0.4915333	0.06144		
C. Total	11	8.5538667			

Hiệu quả vi bao PAC

Summary of Fit					
Rsquare		0.974516			
Adj Rsquare		0.96496			
Root Mean Square Error		0.143236			
Mean of Response		92.64583			
Observations (or Sum Wgts)		12			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ratio of different wall materials	3	6.2765583	2.09219	101.9750	<.0001*
Error	8	0.1641333	0.02052		
C. Total	11	6.4406917			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
3:1	A				93.660000
2:1	B				92.726667
1:2	B				92.576667
1:1	C				91.620000

Hàm lượng ẩm

Connecting Letters Report					
Level					Mean
1:2	A				6.9300000
1:1	B				5.4000000
2:1	C				4.3100000
3:1	D				3.5866667

Summary of Fit					
Rsquare		0.999419			
Adj Rsquare		0.999201			
Root Mean Square Error		0.037193			
Mean of Response		5.056667			
Observations (or Sum Wgts)		12			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ratio of different wall materials	3	19.037000	6.34567	4587.229	<.0001*
Error	8	0.011067	0.00138		
C. Total	11	19.048067			

Hoạt độ nước

Summary of Fit					
Rsquare		0.991465			
Adj Rsquare		0.988265			
Root Mean Square Error		0.004655			
Mean of Response		0.188833			
Observations (or Sum Wgts)		12			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ratio of different wall materials	3	0.02013633	0.006712	309.7897	<.0001*
Error	8	0.00017333	0.000022		
C. Total	11	0.02030967			

Connecting Letters Report			
Level			Mean
1:2	A		0.21500000
1:1	A		0.21366667
2:1	A		0.20866667
3:1		B	0.11800000

❖ Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tốc độ và thời gian đồng hóa đến quá trình vi bao bằng sây phun

Hiệu suất thu hồi TPC

Summary of Fit					
RSquare		0.99241			
RSquare Adj		0.989248			
Root Mean Square Error		0.960148			
Mean of Response		81.35889			
Observations (or Sum Wgts)		18			

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	5	1446.4856	289.297	313.8110
Error	12	11.0626	0.922	Prob > F
C. Total	17	1457.5482		<.0001*

Level			Least Sq Mean
10800,10	A		87.103333
10800,5	A		86.743333
10800,15	A B		84.836667
8100,10	A B		84.610000
8100,15		B	83.340000
8100,5		C	61.520000

Hiệu suất thu hồi TSC

Summary of Fit				
RSquare		0.897733		
RSquare Adj		0.855122		
Root Mean Square Error		1.394848		
Mean of Response		83.21556		
Observations (or Sum Wgts)		18		
Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	5	204.94984	40.9900	21.0680
Error	12	23.34720	1.9456	Prob > F
C. Total	17	228.29704		<.0001*

Level			Least Sq Mean
10800,10	A		87.160000
8100,10	A		86.253333
10800,15	A B		84.740000
10800,5	B		82.303333
8100,15	B		81.820000
8100,5	C		77.016667

Hiệu suất thu hồi PAC

Summary of Fit				
RSquare		0.676786		
RSquare Adj		0.542113		
Root Mean Square Error		2.229608		
Mean of Response		85.56		
Observations (or Sum Wgts)		18		
Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	5	124.91040	24.9821	5.0254
Error	12	59.65380	4.9712	Prob > F
C. Total	17	184.56420		0.0103*

Level			Least Sq Mean
10800,10	A		88.503333
8100,15	A		87.603333
8100,10	A B		86.000000
10800,5	A B		85.723333
10800,15	A B		85.310000
8100,5	B		80.220000

Hiệu quả vi bao TPC

Summary of Fit				
RSquare		0.992586		
RSquare Adj		0.989497		
Root Mean Square Error		0.054416		
Mean of Response		96.99667		
Observations (or Sum Wgts)		18		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	5	4.7572667	0.951453	321.3163
Error	12	0.0355333	0.002961	Prob > F
C. Total	17	4.7928000		<.0001*

Level					Least Sq Mean
10800,10	A				97.910000
8100,10		B			97.196667
8100,15			B		97.110000
10800,5				C	96.933333
8100,5				D	96.510000
10800,15				E	96.320000

Hiệu quả vi bao TSC

Summary of Fit				
RSquare		0.982987		
RSquare Adj		0.975898		
Root Mean Square Error		0.071259		
Mean of Response		98.91222		
Observations (or Sum Wgts)		18		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	5	3.5205778	0.704116	138.6661
Error	12	0.0609333	0.005078	Prob > F
C. Total	17	3.5815111		<.0001*

Level					Least Sq Mean
8100,10	A				99.340000
10800,10	A	B			99.306667
8100,5		B	C		99.133333
8100,15			C		99.023333
10800,15				D	98.566667
10800,5				E	98.103333

Hiệu quả vi bao PAC

Summary of Fit				
RSquare		0.993139		
RSquare Adj		0.99028		
Root Mean Square Error		0.101023		
Mean of Response		94.18889		
Observations (or Sum Wgts)		18		
Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	5	17.726911	3.54538	347.3973
Error	12	0.122467	0.01021	Prob > F
C. Total	17	17.849378		<.0001*

Level			Least Sq Mean
8100,10	A		95.320000
10800,10	A		95.263333
8100,15	B		94.446667
8100,5	B		94.326667
10800,5	C		92.946667
10800,15	C		92.830000

Hàm lượng ẩm

Summary of Fit				
RSquare		0.583273		
RSquare Adj		0.409636		
Root Mean Square Error		0.331612		
Mean of Response		4.151111		
Observations (or Sum Wgts)		18		
Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	5	1.8469778	0.369396	3.3592
Error	12	1.3196000	0.109967	Prob > F
C. Total	17	3.1665778		0.0397*

Level		Least Sq Mean
8100,10	A	4.5900000
8100,5	A	4.4700000
8100,15	A	4.2200000
10800,10	A	4.1166667
10800,5	A	3.7833333
10800,15	A	3.7266667

Hoạt độ nước

Summary of Fit				
RSquare		0.046881		
RSquare Adj		-0.35025		
Root Mean Square Error		0.014752		
Mean of Response		0.135889		
Observations (or Sum Wgts)		18		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	5	0.00012844	0.000026	0.1180
Error	12	0.00261133	0.000218	Prob > F
C. Total	17	0.00273978		0.9859

Level		Least Sq Mean
8100,10	A	0.14100000
10800,15	A	0.13733333
8100,15	A	0.13533333
10800,10	A	0.13466667
8100,5	A	0.13433333
10800,5	A	0.13266667

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của nhiệt độ không khí sấy đầu vào đến quá trình vi bao bằng sấy phun

Bảng PL V.16. Ảnh hưởng của nhiệt độ không khí sấy đầu vào đến hiệu suất thu hồi (%)

Nhiệt độ không khí sấy đầu vào (°C)	Hiệu suất thu hồi (%)		
	TPC	TSC	PAC
140	40,14 ^e ± 0,93	76,61 ^C ± 1,58	67,24 ^{e'} ± 1,42
150	68,08 ^d ± 0,38	80,27 ^B ± 1,00	78,25 ^{d'} ± 0,27
160	86,54 ^a ± 0,04	86,32 ^A ± 1,31	89,62 ^{a'} ± 0,56
170	82,85 ^b ± 0,76	84,87 ^A ± 1,57	85,58 ^{b'} ± 0,98
180	79,12 ^c ± 0,19	77,97 ^{BC} ± 0,73	82,59 ^{c'} ± 1,26

Bảng PL V.17. Ảnh hưởng của nhiệt độ không khí sấy đầu vào đến hiệu quả vi bao (%)

Nhiệt độ không khí sấy đầu vào (°C)	Hiệu quả vi bao (%)		
	TPC	TSC	PAC
140	93,03 ^e ± 0,02	97,74 ^D ± 0,06	92,22 ^{e'} ± 0,09
150	97,95 ^c ± 0,05	98,96 ^B ± 0,08	93,68 ^{c'} ± 0,02
160	98,73 ^a ± 0,04	99,10 ^{AB} ± 0,07	94,07 ^{b'} ± 0,16
170	98,27 ^b ± 0,04	99,24 ^A ± 0,05	94,37 ^{a'} ± 0,08
180	96,61 ^d ± 0,07	98,30 ^C ± 0,02	92,60 ^{d'} ± 0,08

Hiệu suất thu hồi TPC

Summary of Fit					
Rsquare		0.999238			
Adj Rsquare		0.998933			
Root Mean Square Error		0.567568			
Mean of Response		71.34533			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Inlet spray drying temperature	4	4224.8250	1056.21	3278.786	<.0001*
Error	10	3.2213	0.32		
C. Total	14	4228.0464			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
160	A				86.543333
170	B				82.846667
180	C				79.116667
150	D				68.083333
140	E				40.136667

Hiệu suất thu hồi TSC

Summary of Fit					
Rsquare		0.929509			
Adj Rsquare		0.901313			
Root Mean Square Error		1.279818			
Mean of Response		81.208			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Inlet spray drying temperature	4	215.98151	53.9954	32.9656	<.0001*
Error	10	16.37933	1.6379		
C. Total	14	232.36084			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
160	A				86.320000
170	A				84.866667
150	B				80.270000
180	B C				77.970000
140	C				76.613333

Hiệu suất thu hồi PAC

Summary of Fit					
Rsquare		0.988901			
Adj Rsquare		0.984461			
Root Mean Square Error		0.995215			
Mean of Response		80.65533			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Inlet spray drying temperature	4	882.45284	220.613	222.7396	<.0001*
Error	10	9.90453	0.990		
C. Total	14	892.35737			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
160	A				89.616667
170		B			85.583333
180			C		82.586667
150				D	78.253333
140				E	67.236667

Hiệu quả vi bao TPC

Summary of Fit					
Rsquare		0.999693			
Adj Rsquare		0.999571			
Root Mean Square Error		0.044422			
Mean of Response		96.92			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Inlet spray drying temperature	4	64.358467	16.0896	8153.522	<.0001*
Error	10	0.019733	0.0020		
C. Total	14	64.378200			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
160	A				98.733333
170		B			98.280000
150			C		97.950000
180				D	96.610000
140				E	93.026667

Hiệu quả vi bao TSC

Summary of Fit					
Rsquare		0.990144			
Adj Rsquare		0.986201			
Root Mean Square Error		0.068896			
Mean of Response		98.66533			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Inlet spray drying temperature	4	4.7685067	1.19213	251.1503	<.0001*
Error	10	0.0474667	0.00475		
C. Total	14	4.8159733			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
170	A				99.236667
160	A	B			99.096667
150		B			98.956667
180			C		98.296667
140			D		97.740000

Hiệu quả vi bao PAC

Summary of Fit					
Rsquare		0.988578			
Adj Rsquare		0.98401			
Root Mean Square Error		0.110665			
Mean of Response		93.388			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Inlet spray drying temperature	4	10.599973	2.64999	216.3849	<.0001*
Error	10	0.122467	0.01225		
C. Total	14	10.722440			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
170	A				94.376667
160		B			94.070000
150			C		93.683333
180			D		92.593333
140				E	92.216667

Hàm lượng ẩm

Summary of Fit					
Rsquare		0.957293			
Adj Rsquare		0.940211			
Root Mean Square Error		0.104976			
Mean of Response		4.25			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Inlet spray drying temperature	4	2.4702000	0.617550	56.0390	<.0001*
Error	10	0.1102000	0.011020		
C. Total	14	2.5804000			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
140	A				4.8633333
150	B				4.5633333
160	C				4.1000000
170	C D				3.9733333
180	D				3.7500000

Hoạt độ nước

Summary of Fit					
Rsquare		0.505551			
Adj Rsquare		0.307772			
Root Mean Square Error		0.015792			
Mean of Response		0.153			
Observations (or Sum Wgts)		15			

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Inlet spray drying temperature	4	0.00255000	0.000638	2.5561	0.1043
Error	10	0.00249400	0.000249		
C. Total	14	0.00504400			

Connecting Letters Report					
Level					Mean
150	A				0.17100000
140	A				0.16300000
160	A				0.15200000
170	A				0.14500000
180	A				0.13400000

❖ Số liệu và kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tốc độ dòng nhập liệu đến quá trình vi bao bằng sấy phun

Bảng PL V.18. Ảnh hưởng của tốc độ dòng nhập liệu đến hiệu suất thu hồi (%)

Tốc độ dòng nhập liệu (mL/phút)	Hiệu suất thu hồi (%)		
	TPC	TSC	PAC
15	86,11 ^a ± 0,55	87,93 ^A ± 0,28	83,10 ^{a'} ± 0,38
20	86,44 ^a ± 0,33	88,31 ^A ± 0,87	81,95 ^{a'} ± 0,86
25	86,80 ^a ± 0,21	87,13 ^A ± 0,75	82,52 ^{a'} ± 0,44
30	86,87 ^a ± 0,23	87,62 ^A ± 0,30	82,51 ^{a'} ± 0,65
35	86,40 ^a ± 0,28	87,33 ^A ± 0,20	81,74 ^{a'} ± 1,10
40	51,39 ^b ± 0,09	77,85 ^B ± 0,88	74,78 ^{b'} ± 0,70
45	47,44 ^c ± 0,68	66,42 ^C ± 0,48	71,84 ^{c'} ± 0,31

Bảng PL V.19. Ảnh hưởng của tốc độ dòng nhập liệu đến hiệu quả vi bao (%)

Tốc độ dòng nhập liệu (mL/phút)	Hiệu quả vi bao (%)		
	TPC	TSC	PAC
15	97,94 ^a ± 0,32	98,34 ^{AB} ± 0,17	93,25 ^{a'} ± 0,62
20	98,07 ^a ± 0,30	98,70 ^A ± 0,11	93,65 ^{a'} ± 0,09
25	98,17 ^a ± 0,28	98,69 ^A ± 0,24	94,23 ^{a'} ± 0,38
30	97,92 ^a ± 0,19	98,37 ^{AB} ± 0,07	93,57 ^{a'} ± 0,16
35	98,03 ^a ± 0,13	98,43 ^{AB} ± 0,06	93,89 ^{a'} ± 0,43
40	97,82 ^a ± 0,25	98,12 ^B ± 0,35	93,87 ^{a'} ± 0,52
45	96,52 ^b ± 0,04	98,11 ^B ± 0,03	91,40 ^{b'} ± 0,08

Hiệu suất thu hồi TPC

Summary of Fit					
Rsquare		0.999641			
Adj Rsquare		0.999487			
Root Mean Square Error		0.389945			
Mean of Response		75.92095			
Observations (or Sum Wgts)		21			
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Feed flow rate	6	5926.0630	987.677	6495.434	<.0001*
Error	14	2.1288	0.152		
C. Total	20	5928.1918			

Level		Mean
30	A	86.873333
25	A	86.800000
20	A	86.443333
35	A	86.393333
15	A	86.106667
40	B	51.386667
45	C	47.443333

Hiệu suất thu hồi TSC

Summary of Fit

Rsquare	0.995935
Adj Rsquare	0.994193
Root Mean Square Error	0.599373
Mean of Response	83.22429
Observations (or Sum Wgts)	21

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Feed flow rate	6	1232.2032	205.367	571.6592	<.0001*
Error	14	5.0295	0.359		
C. Total	20	1237.2327			

Level		Mean
20	A	88.306667
15	A	87.926667
30	A	87.613333
35	A	87.333333
25	A	87.126667
40	B	77.846667
45	C	66.416667

Hiệu suất thu hồi PAC

Summary of Fit	
Rsquare	0.982461
Adj Rsquare	0.974945
Root Mean Square Error	0.684523
Mean of Response	79.77714
Observations (or Sum Wgts)	21

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Feed flow rate	6	367.47003	61.2450	130.7058	<.0001*
Error	14	6.56000	0.4686		
C. Total	20	374.03003			

Level		Mean
15	A	83.100000
25	A	82.520000
30	A	82.510000
20	A	81.946667
35	A	81.740000
40	B	74.776667
45	C	71.846667

Hiệu quả vi bao TPC

Summary of Fit	
Rsquare	0.868763
Adj Rsquare	0.812519
Root Mean Square Error	0.25019
Mean of Response	97.77952
Observations (or Sum Wgts)	21

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Feed flow rate	6	5.8011619	0.966860	15.4462	<.0001*
Error	14	0.8763333	0.062595		
C. Total	20	6.6774952			

Level		Mean
25	A	98.163333
20	A	98.066667
35	A	98.026667
15	A	97.940000
30	A	97.923333
40	A	97.820000
45	B	96.516667

Hiệu quả vi bao TSC

Summary of Fit	
Rsquare	0.686328
Adj Rsquare	0.551897
Root Mean Square Error	0.184378
Mean of Response	98.39381
Observations (or Sum Wgts)	21

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Feed flow rate	6	1.0413619	0.173560	5.1054	0.0057*
Error	14	0.4759333	0.033995		
C. Total	20	1.5172952			

Level		Mean
20	A	98.700000
25	A	98.693333
35	A B	98.426667
30	A B	98.373333
15	A B	98.340000
40	B	98.116667
45	B	98.106667

Hiệu quả vi bao PAC

Summary of Fit	
Rsquare	0.884146
Adj Rsquare	0.834494
Root Mean Square Error	0.38459
Mean of Response	93.40714
Observations (or Sum Wgts)	21

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Feed flow rate	6	15.802895	2.63382	17.8069	<.0001*
Error	14	2.070733	0.14791		
C. Total	20	17.873629			

Level		Mean
25	A	94.226667
35	A	93.890000
40	A	93.866667
20	A	93.646667
30	A	93.573333
15	A	93.250000
45	B	91.396667

Hàm lượng ẩm

Summary of Fit	
Rsquare	0.962021
Adj Rsquare	0.945744
Root Mean Square Error	0.237437
Mean of Response	5.532857
Observations (or Sum Wgts)	21

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Feed flow rate	6	19.992362	3.33206	59.1040	<.0001*
Error	14	0.789267	0.05638		
C. Total	20	20.781629			

Level					Mean
45	A				7.3600000
40		B			6.2200000
35		B	C		5.7833333
30			C	D	5.3100000
25			C	D	5.2366667
20				D	4.6666667
15				E	4.1533333

Hoạt độ nước

Summary of Fit

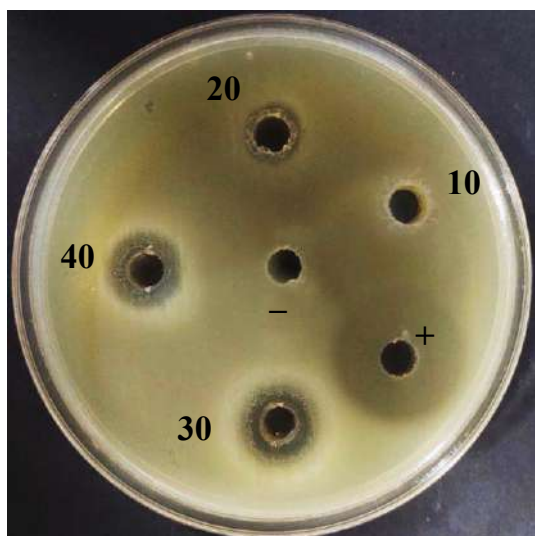
Rsquare	0.115457
Adj Rsquare	-0.26363
Root Mean Square Error	0.015546
Mean of Response	0.134381
Observations (or Sum Wgts)	21

Analysis of Variance

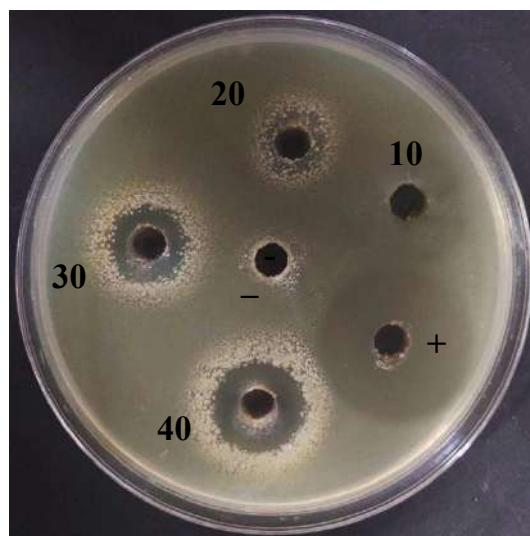
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Feed flow rate	6	0.00044162	0.000074	0.3046	0.9242
Error	14	0.00338333	0.000242		
C. Total	20	0.00382495			

Level		Mean
35	A	0.14000000
30	A	0.13766667
40	A	0.13666667
25	A	0.13633333
20	A	0.13400000
15	A	0.13066667
45	A	0.12533333

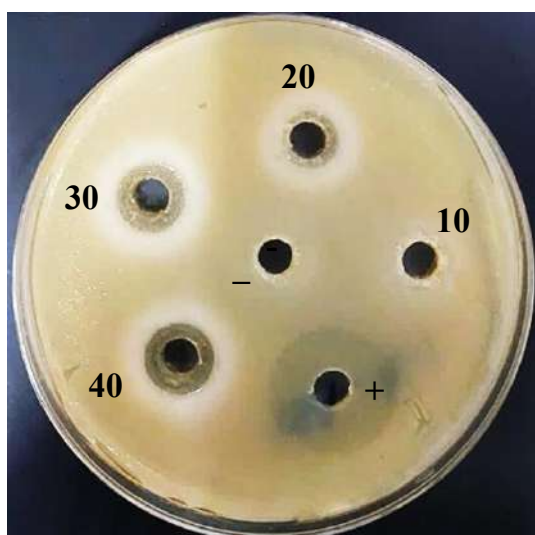
Phụ lục V.3. Kết quả kháng khuẩn của bột vi bao tối ưu



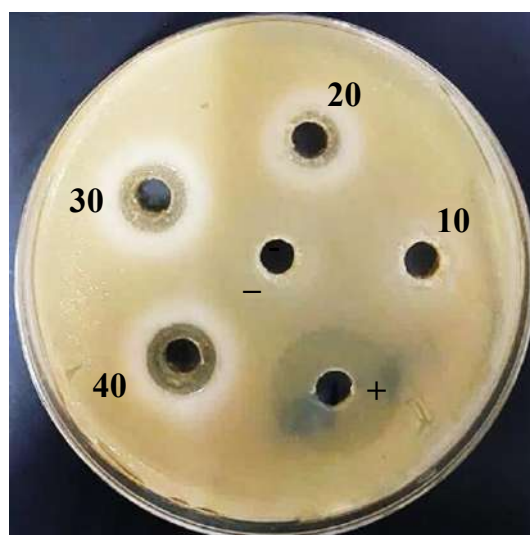
Escherichia coli ATCC 8739



Bacillus subtilis ATCC 6633

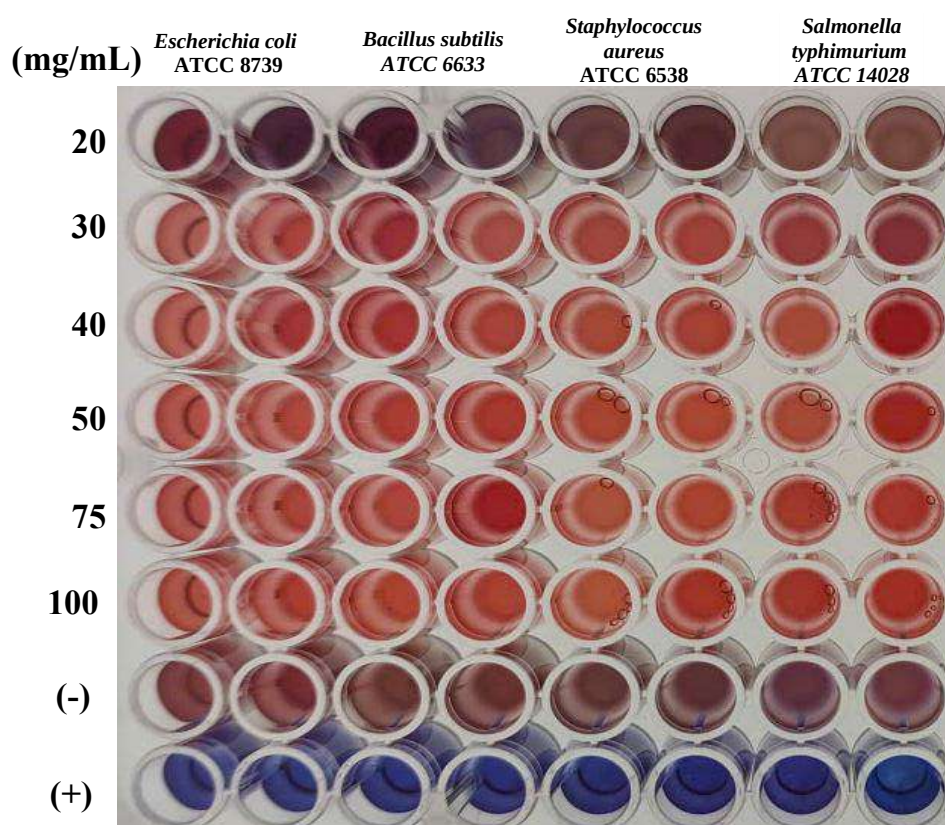
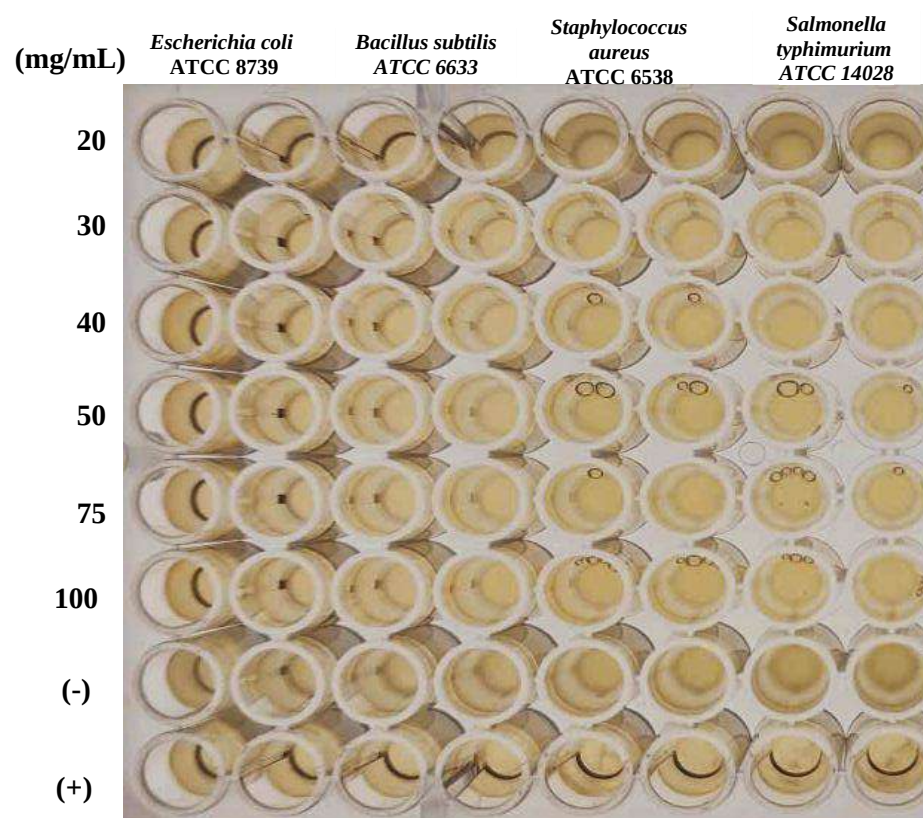


Salmonella typhimurium ATCC 14028



Staphylococcus aureus ATCC 6538

Hình PL V.22. Đường kính vòng kháng khuẩn của bột vi bao tối ưu



Hình PL V.23. MIC của bột vi bao tối ưu

PHỤ LỤC VI

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình vi bao bằng oleogel

Phụ lục VI.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình vi bao bằng oleogel

❖ Ảnh hưởng của công thức oleogel đến tính chất của oleogel

Công thức đóng vai trò quan trọng trong quy trình tạo oleogel. Trong nghiên cứu này, hai công thức sử dụng BW: GMS và BW: F90 đã được thử nghiệm nhằm xác định được công thức phù hợp cho oleogel từ dịch trích ly phụ phẩm nho bằng DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid. Tính chất của oleogel tạo từ hai công thức khác nhau được trình bày trong **Bảng PL VI.1 và Hình PL VI.1**.

Bảng PL VI.1. Tính chất của oleogel ở các công thức khác nhau

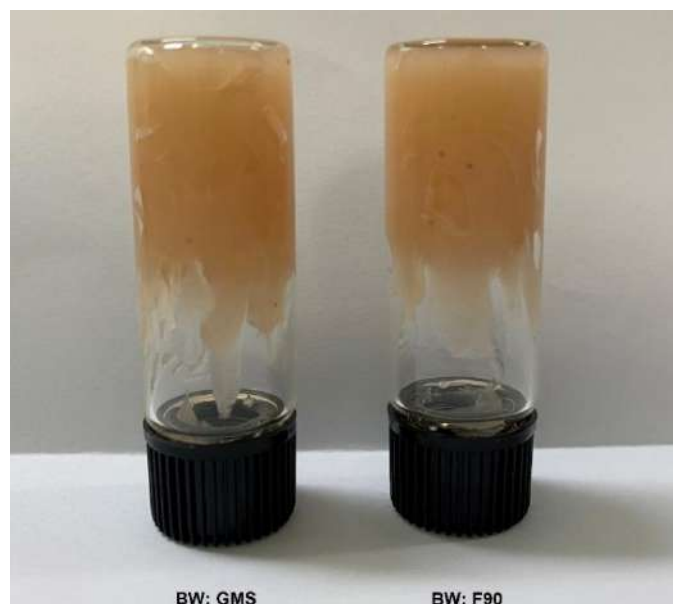
Chỉ tiêu	Công thức	
	BW: GMS	BW: F90
Hiệu suất thu hồi hợp chất (%)	75,68 ^b ± 1,81	80,52 ^a ± 2,37
OBC (%)	81,76 ^a ± 1,31	84,32 ^a ± 0,43
L*	50,84 ^b ± 0,60	53,46 ^a ± 0,21
Màu sắc a*	6,67 ^a ± 0,26	6,58 ^a ± 0,14
b*	13,59 ^a ± 1,09	14,62 ^a ± 1,26
Độ nhớt (Pa.s)	260,64 ^b ± 35,61	848,89 ^a ± 61,03

Hiệu suất thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học có sự khác biệt đáng kể ($P < 0,05$) giữa các oleogel được điều chế từ các công thức khác nhau. Hiệu suất thu hồi các hợp chất của oleogel từ hai công thức tương đối cao ($> 75\%$). Oleogel từ BW: F90 cho thấy hiệu suất thu hồi cao hơn ($80,52 \pm 2,37\%$) so với oleogel từ BW: GMS ($75,68 \pm 1,81\%$). Dịch trích ly được thêm vào oleogel ở 60°C nên hầu hết các hợp chất phenolic vẫn ổn định, cho thấy sự phân hủy nhiệt ở mức tối thiểu. Những kết quả này chứng minh rằng vi bao dựa trên oleogel là một phương pháp hiệu quả để bảo quản các hợp chất nhạy nhiệt như phenolic.

Loại chất tạo gel cũng đóng vai trò quan trọng trong việc xác định khả năng liên kết dầu và độ bền cấu trúc của oleogel. Khả năng liên kết dầu phản ánh khả năng của mạng lưới gel trong việc giữ dầu lỏng trong cấu trúc ba chiều của nó (Öğütçü và Yılmaz, 2014). Trong một số công thức, oleogel có thể chứa tới 99% dầu (w/w), do đó việc duy trì OBC cao là rất quan trọng để ngăn ngừa rò rỉ dầu (Blake, 2015). Sự kết hợp của GMS và sáp ong tạo thành một mạng lưới phân tử dày đặc, tăng cường độ ổn định và độ cứng của gel. Ngược lại, hỗn hợp F90 và sáp ong tạo ra một cấu trúc có khả năng giữ dầu được cải thiện, phản ánh sự tương tác mạnh mẽ hơn giữa các thành phần oleogel. Hai hệ thống này thể hiện kết cấu riêng biệt, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong thực phẩm khác nhau. Công thức BW: F90, chứa tỷ lệ sáp ong cao hơn, đạt OBC là $84,32 \pm 0,43\%$, trong khi mẫu BW: GMS đạt $81,76 \pm 1,31\%$. Xu hướng này phù hợp với những phát hiện trước đó cho thấy việc tăng nồng độ sáp ong làm tăng hiệu quả liên kết dầu (Thakur và cộng sự, 2022).

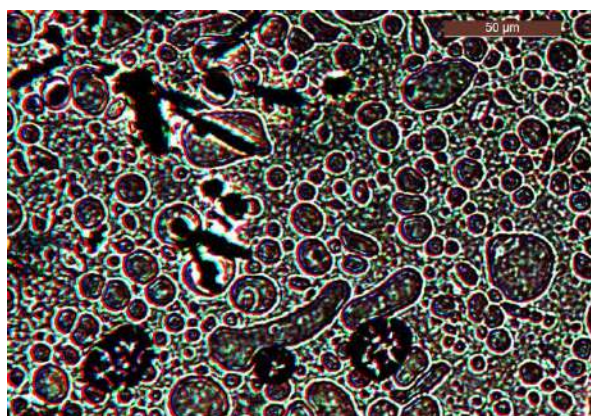
Màu sắc của oleogel thay đổi tùy theo công thức, chủ yếu là do sự khác biệt về màu sắc của dịch trích ly. Phân tích thống kê cho thấy oleogel từ BW: F90 có giá trị độ sáng cao hơn ($53,46 \pm 0,21$) so với mẫu BW: GMS ($50,84 \pm 0,60$). Sự khác biệt này có thể là do nồng độ sáp ong, nồng độ sáp ong cao hơn thường dẫn đến oleogel có màu sáng hơn (Yılmaz và Öğütçü, 2014). Do đó, công thức BW: F90 (1:1 w/w) tạo ra oleogel sáng hơn. Giá trị a^* của oleogel từ BW: F90 thấp hơn so với BW: GMS, cho thấy màu oleogel ít đỏ hơn, nhưng sự khác biệt giữa hai công thức này không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Hai công thức có sự khác biệt đáng kể về độ nhớt, cho thấy rằng sự thay đổi về thành phần có thể ảnh hưởng đến đặc tính lưu biến của oleogel. Oleogel BW: F90 có độ nhớt cao hơn so với công thức BW: GMS. Sự khác biệt này có thể là do sự khác biệt về loại chất nhũ hóa và nồng độ được sử dụng trong mỗi công thức. Sự kết hợp của sáp ong và F90 dường như thúc đẩy sự hình thành mạng lưới oleogel kết dính và cứng hơn. Độ nhớt cũng bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố lý hóa, bao gồm nhiệt độ, quá trình kết tinh, kích thước và hình thái của các hạt trong ma trận gel. Trong hệ BW: F90, F90 có khả năng tăng cường độ ổn định gel bằng cách hình thành một mạng lưới có cấu trúc chặt chẽ hơn các đặc tính lưu biến của chất béo thông thường, dẫn đến độ nhớt cao hơn so với oleogel BW: GMS (Melchior và cộng sự, 2023).

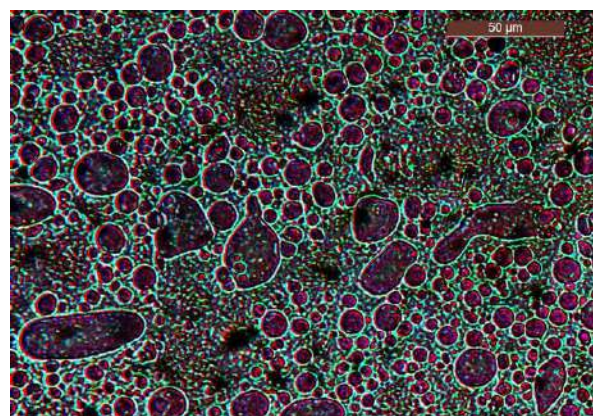


Hình PL VI.1. Mẫu oleogel quan sát ở điều kiện nhiệt độ phòng ở hai công thức khác nhau

Hình ảnh oleogel được quan sát bằng kính hiển vi phân cực đã cung cấp thêm minh chứng về những khác biệt cấu trúc của hai oleogel từ hai công thức khác nhau (Hình PL VI.2).



BW: GMS



BW: F90

Hình PL VI.2. Hình ảnh oleogel ở các công thức khác nhau

Cả hai công thức đều thể hiện các đặc điểm hình thái tương đối giống nhau, với các hạt sáp ong và nhũ tương phân bố không đồng đều trong cấu trúc gel. Tuy nhiên, ở mẫu oleogel BW: GMS quan sát được số lượng hạt nhũ tương lớn nhiều hơn so với mẫu BW: F90. Sự khác biệt này có thể liên quan đến tỷ lệ sáp ong thấp hơn và tỷ lệ GMS cao hơn trong công thức BW: GMS, điều này thúc đẩy sự hình thành các giọt nhũ tương lớn hơn. GMS và F90 đều là chất nhũ hóa thường được sử dụng trong các hệ thống

oleogel. Tuy nhiên, hỗn hợp BW: F90 tạo ra cấu trúc oleogel đồng đều và ổn định hơn. F90 chủ yếu bao gồm monoglyceride và diglyceride có khả năng hình thành cấu trúc siêu phân tử. Những cấu trúc này tạo ra một mạng lưới ba chiều có khả năng giữ lại một lượng lớn dung môi. Ngoài ra, monoglyceride và diglyceride có thể tương tác với cả pha ưa nước và kỵ nước, cho phép hình thành các hệ thống có cấu trúc như gel, bọt và nhũ tương mô phỏng các đặc tính chức năng của chất béo thông thường (Melchior và cộng sự, 2023). Nhìn chung, kết quả cho thấy công thức BW: F90 thể hiện các đặc tính hóa lý, vi cấu trúc đồng nhất và ổn định hơn, do đó được chọn làm thông số cố định cho các thí nghiệm tiếp theo.

❖ Ảnh hưởng của tỷ lệ BW: F90 đến tính chất của oleogel

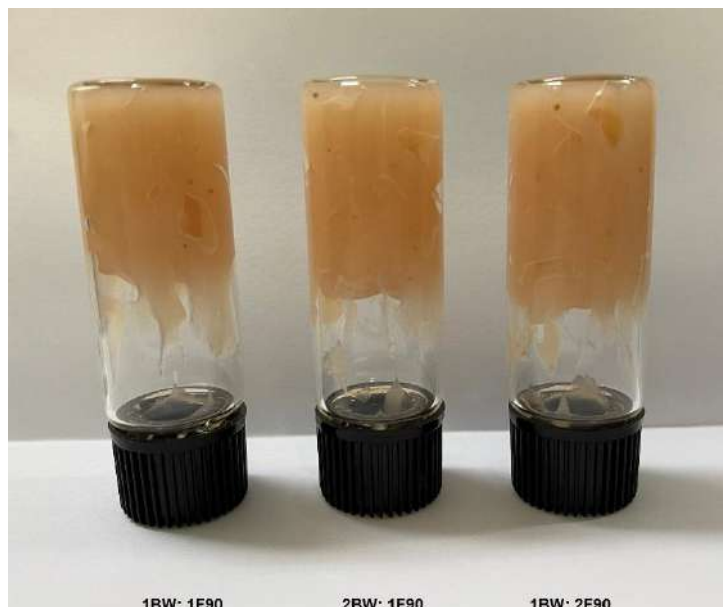
Tỷ lệ BW: F90 trong công thức oleogel đóng vai trò quan trọng và được khảo sát nhằm xác định được tỷ lệ thích hợp nhất, đảm bảo các tính chất hóa lý, vi mô phù hợp của oleogel. Kết quả được trình bày trong **Bảng PL VI.2** và **Hình PL VI.3**.

Bảng PL VI.2. Tính chất của oleogel ở các tỷ lệ BW: F90 khác nhau

Chỉ tiêu	Tỷ lệ BW: F90 (w/w)		
	1:1	2:1	1:2
Hiệu suất thu hồi hợp chất (%)	81,03 ^b ± 0,12	82,59 ^a ± 0,64	78,88 ^c ± 0,62
OBC (%)	83,39 ^b ± 0,69	88,60 ^a ± 0,83	80,70 ^c ± 1,04
L*	54,99 ^b ± 0,44	55,89 ^b ± 1,46	59,47 ^a ± 1,86
Màu sắc			
a*	7,01 ^b ± 0,13	7,63 ^a ± 0,39	7,76 ^a ± 0,13
b*	11,87 ^b ± 0,58	13,88 ^a ± 1,31	13,95 ^a ± 0,44
Độ nhớt (Pa.s)	848,89 ^b ± 61,03	1.806,38 ^a ± 418,30	1.493,25 ^{ab} ± 328,82

Ở tỷ lệ 1:1 (w/w), oleogel có độ nhớt thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các mẫu còn lại ($P < 0,05$). Khi tỷ lệ BW: F90 tăng lên 2:1 (w/w), hàm lượng sáp ong cao hơn đã tăng cường độ cứng của gel. Hàm lượng cao của chất tạo gel tự nhiên này thúc đẩy các tương tác kỵ nước mạnh hơn, cải thiện độ ổn định của quá trình vi bao. Việc tăng hàm lượng sáp ong làm tăng độ nhớt, cho thấy tỷ lệ 2:1 thúc đẩy cấu trúc gel bền và ổn định hơn so với các công thức khác (Thakur và cộng sự, 2022). Do đó, công thức này thể hiện hiệu suất thu hồi hợp chất cao nhất. Mạng lưới gel dày đặc hơn được tạo ra bởi nồng độ sáp ong cao hơn đã hạn chế hiệu quả sự khuếch tán của các hợp chất được bao bọc, dẫn đến hiệu quả lưu giữ cao hơn. Ngược lại, ở tỷ lệ BW: F90 là 1:2

(w/w), tỷ lệ F90 cao hơn đã làm thay đổi đặc tính của gel, tạo ra cấu trúc mềm hơn và độ nhớt thấp hơn oleogel ở tỷ lệ 2:1 (w/w), nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Sự mất cân bằng thành phần giữa BW và F90 ảnh hưởng tiêu cực đến độ ổn định của oleogel và làm giảm khả năng lưu giữ các hợp chất có hoạt tính sinh học, dẫn đến hiệu suất thu hồi hợp chất thấp nhất ($78,88 \pm 0,62\%$).

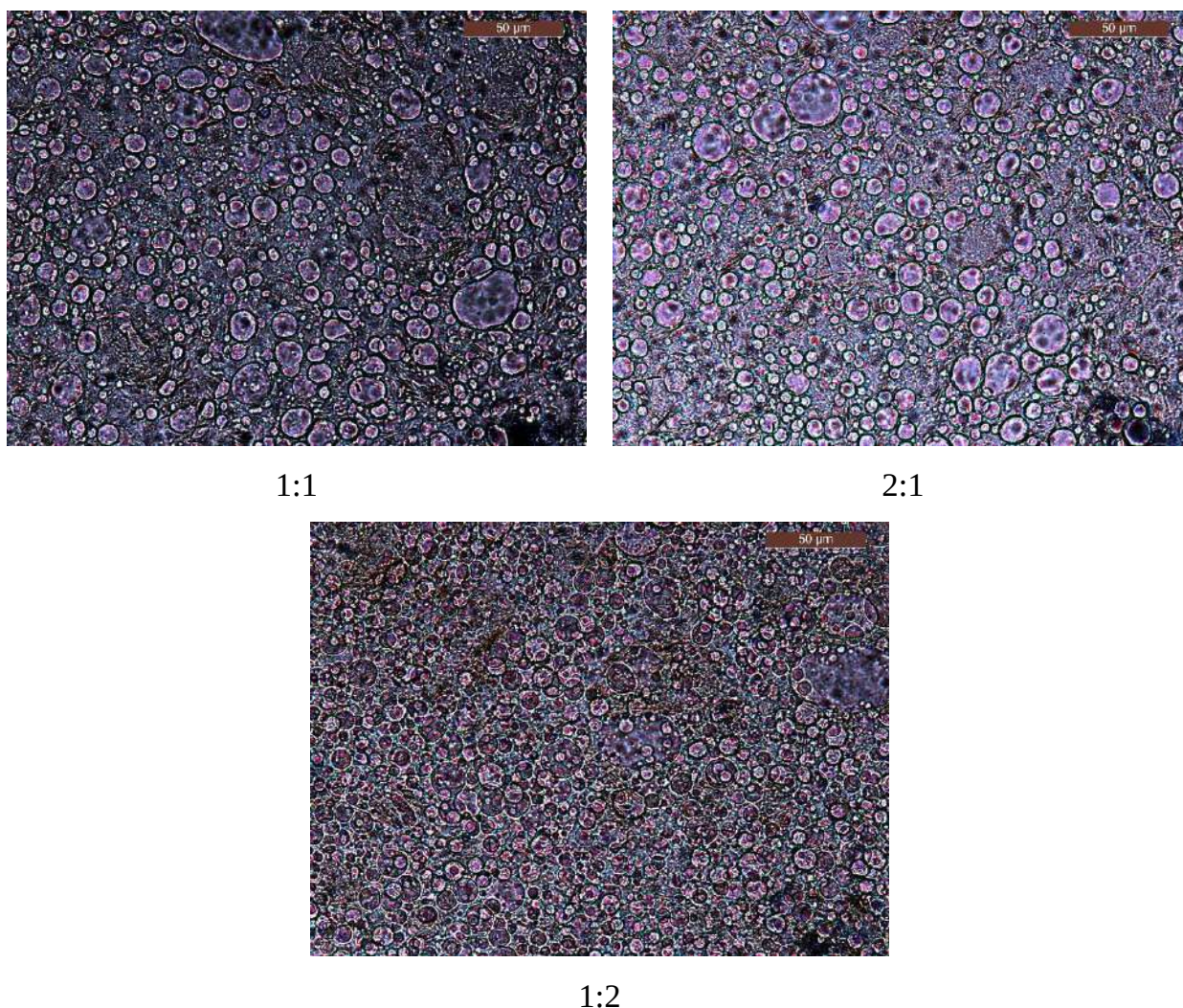


Hình PL VI.3. Mẫu oleogel quan sát ở điều kiện nhiệt độ phòng ở các tỷ lệ BW: F90 khác nhau

Oleogel có tỷ lệ BW: F90 là 2:1 (w/w) cho thấy độ sáng cao nhất ($59,47 \pm 1,86$), cho thấy mẫu sáng hơn so với các tỷ lệ khác. Ngược lại, mẫu 1:2 (w/w) cho thấy giá trị L^* thấp nhất ($54,99 \pm 0,44$). Giá trị a^* của tất cả các công thức phản ánh sắc đỏ, nhưng không có sự khác biệt đáng kể giữa tỷ lệ 1:1 và 2:1 ($P > 0,05$). Giá trị b^* dao động từ 11,87 đến 13,95, cho thấy màu vàng đậm hơn ở oleogel với tỷ lệ BW: F90 là 1:1 và 2:1 so với mẫu 1:2.

Khả năng liên kết dầu tăng theo hàm lượng sáp ong cao hơn, đạt $88,60 \pm 0,83\%$ ở tỷ lệ 2:1 và giảm xuống còn $80,70 \pm 1,04\%$ ở tỷ lệ 1:2 (w/w). Xu hướng này phù hợp với nghiên cứu của Thakur và cộng sự (2022), OBC được cải thiện với hàm lượng chất tạo gel cao hơn. Hơn nữa, oleogel với BW: F90 tỷ lệ 2:1 (w/w) có OBC cao nhất, có thể là do kết cấu cứng hơn. Điều này cũng thể hiện qua giá trị độ nhớt của oleogel ở tỷ lệ này là cao nhất. Hình ảnh kính hiển vi phân cực (**Hình PL VI.4**) cũng cho thấy hình thái riêng biệt của các oleogel, minh chứng cho kết quả khác biệt về khả năng liên kết dầu.

Ở tỷ lệ 2:1 (w/w), hàm lượng sáp ong cao hơn tạo ra một mạng lưới dày đặc. Công thức ở tỷ lệ 1:1 (w/w) cho thấy sự phân bố đồng đều của các giọt hơn so với tỷ lệ 1:2 (w/w).



Hình PL VI.4. Hình ảnh oleogel ở các tỷ lệ BW: F90 khác nhau

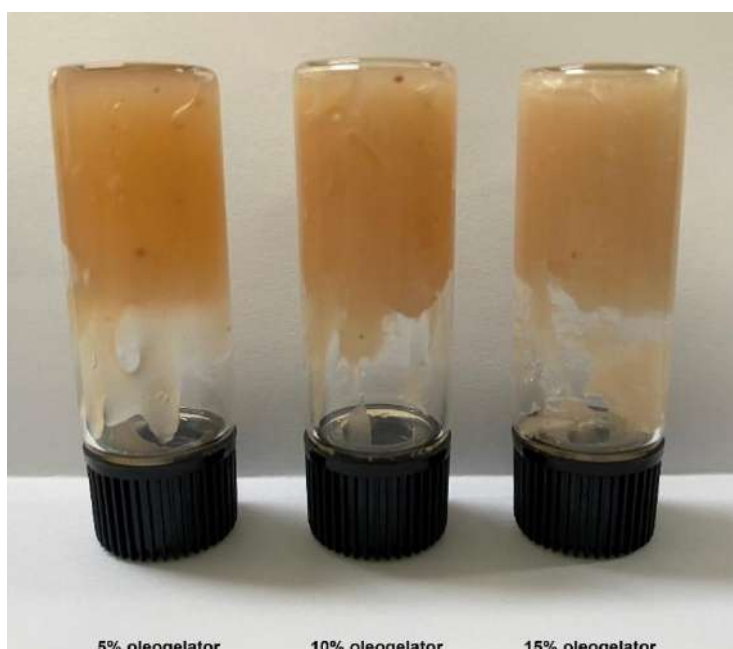
❖ ***Ảnh hưởng của tỷ lệ chất tạo gel dầu đến tính chất của oleogel***

Ảnh hưởng của tỷ lệ chất tạo gel dầu đến tính chất của oleogel được trình bày trong **Bảng PL VI.3** và **Hình PL VI.5**. Kết quả cho thấy tỷ lệ chất tạo gel dầu càng cao, các tính chất của oleogel có xu hướng tăng. Ở tỷ lệ chất tạo gel dầu 5%, cấu trúc gel yếu và kém liên kết, dẫn đến kết cấu lỏng hơn. Điều này tạo điều kiện dễ thất thoát nhiều hợp chất vi bao hơn, dẫn đến hiệu suất thu hồi thấp nhất ($77,77 \pm 0,56\%$). Tăng tỷ lệ chất tạo gel dầu lên 10% đã tăng cường mạng lưới gel và cải thiện khả năng giữ hợp chất, đạt hiệu suất $81,38 \pm 0,44\%$. Ở nồng độ 15%, oleogel hình thành cấu trúc đặc và ổn định, đạt hiệu suất thu hồi cao nhất ($82,92 \pm 0,51\%$). Ở tỷ lệ chất tạo gel dầu cao hơn,

mạng lưới oleogel trở nên cứng hơn, làm giảm thiểu việc giải phóng, đảm bảo khả năng giữ các hợp chất cao (Khan và cộng sự, 2021).

Bảng PL VI.3. Tính chất của oleogel ở các tỷ lệ chất tạo gel dầu khác nhau

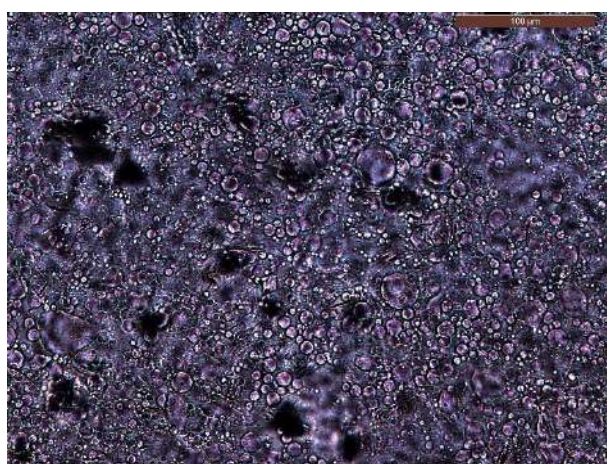
Chỉ tiêu	Tỷ lệ chất tạo gel dầu (%)		
	5	10	15
Hiệu suất thu hồi hợp chất (%)	77,17 ^b ± 0,56	81,38 ^a ± 0,44	82,92 ^a ± 0,51
OBC (%)	66,11 ^c ± 0,27	89,45 ^b ± 0,67	96,50 ^a ± 0,82
L*	46,35 ^c ± 1,31	54,28 ^b ± 0,47	59,48 ^a ± 0,35
Màu sắc			
a*	6,42 ^b ± 0,43	7,30 ^a ± 0,29	7,77 ^a ± 0,38
b*	10,74 ^c ± 0,55	11,96 ^b ± 0,67	13,39 ^a ± 0,38
Độ nhớt (Pa.s)	512,23 ± 30,88	1.589,18 ± 257,99	2.934,01 ± 500,34



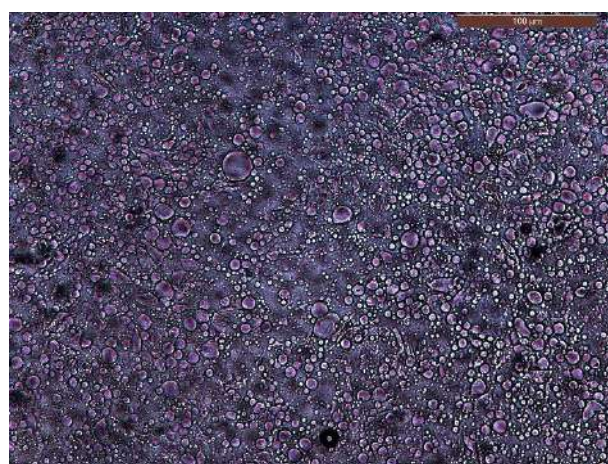
Hình PL VI.5. Mẫu oleogel quan sát ở điều kiện nhiệt độ phòng ở các tỷ lệ chất tạo gel dầu khác nhau

Sự khác biệt đáng kể ($P < 0,05$) về độ sáng đã được quan sát thấy giữa các oleogel với tỷ lệ chất tạo gel dầu. Việc tăng tỷ lệ chất tạo gel dầu dẫn đến các mẫu sáng hơn, với giá trị L^* cao nhất ($59,48 \pm 0,35$) ở nồng độ 15% và thấp nhất ($46,35 \pm 13,31$) ở nồng độ 5%. Mặc dù mẫu 15% thể hiện giá trị a^* ($7,77 \pm 0,38$) và b^* ($13,39 \pm 0,38$) cao nhất, cho thấy độ ổn định màu và khả năng lưu giữ hợp chất được cải thiện, nhưng không có sự khác biệt đáng kể ($P > 0,05$) trong các giá trị a^* giữa 10% và 15%.

Khả năng liên kết dầu của oleogel dao động từ 66,11% đến 96,50%, tăng theo tỷ lệ chất tạo gel dầu cao hơn. OBC thấp nhất được ghi nhận ở mức 5% ($66,11 \pm 0,27\%$) và cao nhất ở mức 15% ($96,50 \pm 0,82\%$), phù hợp với những nghiên cứu trước đây rằng hàm lượng chất tạo gel dầu càng cao thì khả năng giữ dầu càng tốt (Thakur và cộng sự, 2022). Tương tự, độ nhớt cũng tăng khi tỷ lệ chất tạo gel dầu tăng. Ở mức 5%, gel yếu và lỏng, trong khi ở mức 10%, chúng trở nên đặc hơn và kết dính hơn. Công thức 15% thể hiện độ nhớt cao nhất và cấu trúc chắc chắn nhất, đảm bảo độ ổn định cao hơn. Độ nhớt tăng lên này có thể nâng cao hiệu suất của oleogel trong các ứng dụng đòi hỏi độ ổn định cao và khả năng chống chảy.



5%



10%



15%

Hình PL VI.6. Hình ảnh oleogel ở các tỷ lệ chất tạo gel dầu khác nhau

Hình ảnh quan sát với kính hiển vi phân cực (**Hình PL VI.6**) đã xác nhận rằng tỷ lệ chất tạo gel dầu cao hơn (15%) tạo ra mạng lưới tinh thể dày đặc hơn, phù hợp với

các nghiên cứu trước đây về mối liên hệ giữa mật độ tinh thể với độ cứng tăng lên (Hwang và cộng sự, 2015).

❖ *Ảnh hưởng của nhiệt độ làm mát đến tính chất của oleogel*

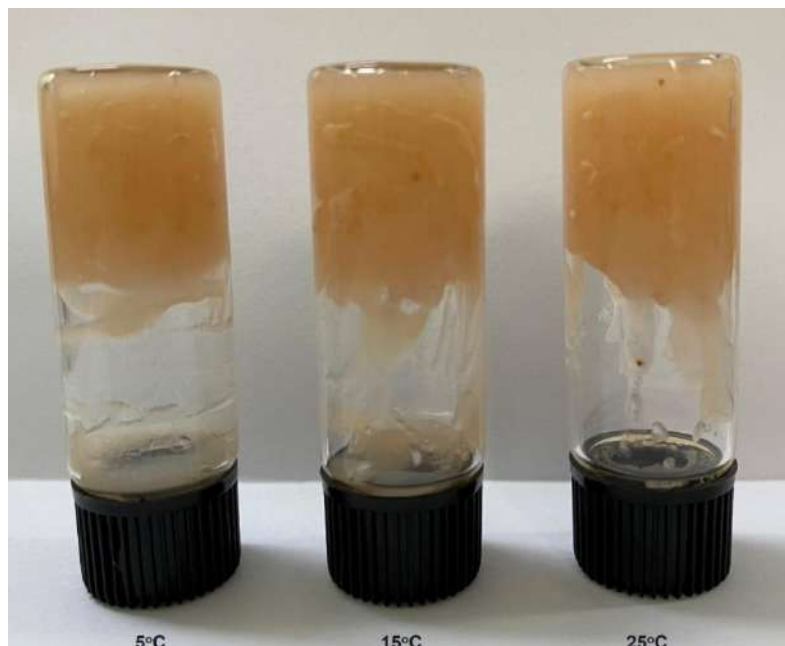
Nhiệt độ làm mát là một thông số quan trọng trong quá trình tạo oleogel. Chúng ảnh hưởng đến tính ổn định và tính toàn vẹn của oleogel giàu hoạt tính sinh học (Ferdaus và cộng sự, 2025). **Bảng PL VI.4** và **Hình PL VI.7** cho thấy việc thay đổi nhiệt độ làm mát sẽ ảnh hưởng đến các đặc tính của oleogel tạo thành. Việc tăng nhiệt độ làm mát làm giảm hiệu suất thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học trong oleogel, với sự khác biệt đáng kể được quan sát thấy giữa các mẫu ($P < 0,05$).

Bảng PL VI.4. Tính chất của oleogel ở các nhiệt độ làm mát khác nhau

Chỉ tiêu	Nhiệt độ làm lạnh (°C)		
	5	15	25
Hiệu suất thu hồi hợp chất (%)	88,64 ^a ± 0,37	85,09 ^b ± 0,05	82,14 ^c ± 0,19
OBC (%)	99,38 ^a ± 0,49	98,16 ^a ± 0,10	95,94 ^b ± 0,29
Màu sắc	L*	59,73 ^a ± 0,44	59,44 ^a ± 0,29
	a*	7,51 ^a ± 0,08	7,48 ^a ± 0,02
	b*	13,51 ^a ± 0,08	13,47 ^a ± 0,02
Độ nhớt (Pa.s)	2.934,01 ^a ± 500,34	2.179,24 ^{ab} ± 244,31	1.777,42 ^b ± 321,53

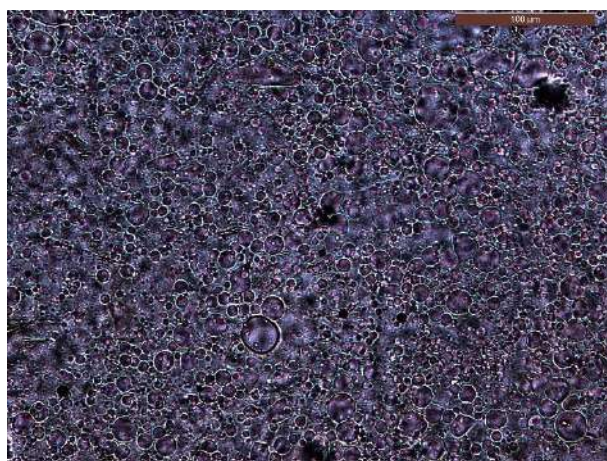
Ở 5°C, oleogel cho thấy hiệu suất thu hồi cao nhất (88,64 ± 0,37%) do độ kết tinh và độ cứng của ma trận gel được tăng cường. Độ cứng tăng sẽ làm tăng tính ổn định của quá trình vi bao và hạn chế sự khuếch tán hợp chất ra khỏi ma trận gel. Khi nhiệt độ tăng lên 15°C, gel trở nên mềm hơn một chút, cho phép các hợp chất khuếch tán vừa phải và dẫn đến hiệu suất thu hồi thấp hơn (85,09 ± 0,05%). Tuy nhiên, cấu trúc oleogel vẫn ổn định. Ở 25°C, độ nhớt và độ bền gel giảm làm yếu cấu trúc của oleogel hơn nữa, tăng tính di động của các hợp chất, từ đó làm giảm hiệu suất xuống còn 82,14 ± 0,19%. Có thể thấy, ở nhiệt độ cao hơn, tính toàn vẹn cấu trúc của oleogel giảm, thúc đẩy giải phóng hợp chất vi bao vào môi trường. Đối với chỉ tiêu màu sắc, các giá trị L*, a* và b* không cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các mẫu. Vì tất cả các oleogel đều chứa tỷ lệ chất tạo gel dầu và lượng dịch trích ly tương đương nhau, nên sự thay đổi nhiệt độ làm mát hầu như không ảnh hưởng đến màu sắc, dẫn đến các thông số màu khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Các giá trị OBC dao động từ 95,94% đến 99,38%, với giá trị cao nhất được ghi nhận ở 5°C và thấp nhất ở 25°C. Theo nghiên cứu của Thakur và cộng sự (2022), OBC có xu hướng tăng lên khi nhiệt độ làm mát trong quá trình tạo oleogel giảm. Độ nhớt cũng giảm khi nhiệt độ tăng. Oleogel làm mát ở 5°C có độ nhớt cao nhất, cho thấy ma trận gel đặc hơn và ổn định hơn, trong khi mẫu ở 25°C có độ nhớt thấp nhất có thể do mạng lưới gel kém ổn định hơn.



Hình PL VI.7. Mẫu oleogel quan sát ở điều kiện nhiệt độ phòng ở nhiệt độ làm mát khác nhau

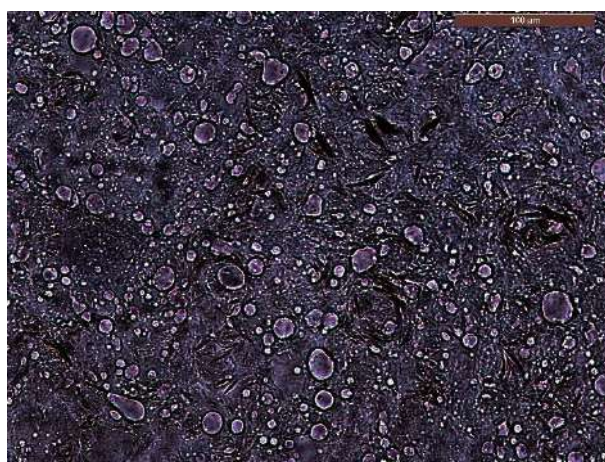
Hình ảnh dưới kính hiển vi phân cực cho thấy rằng ở 5°C thì oleogel thể hiện mạng lưới tinh thể dày đặc, kích thước các giọt tương đối đồng đều hơn so với 2 nhiệt độ còn lại (**Hình PL VI.8**). Ở 15°C, mạng lưới oleogel có các hạt với kích thước khá lớn, cho thấy hệ oleogel chưa ổn định, dễ tách pha. Trong khi đó, ở 25°C, oleogel phân bố tương đối rải rác, phân bố không đều. Điều này cho thấy rằng nhiệt độ làm mát có ảnh hưởng đáng kể đến cấu trúc của các chất tạo gel dầu cũng như tính chất của oleogel thành phẩm như tính ổn định lý hóa và khả năng giữ lại các hợp chất hoạt tính. Ở nhiệt độ thấp như 5°C, oleogel duy trì độ ổn định cấu trúc tốt hơn, ma trận oleogel cứng hơn và ngăn ngừa sự tách pha (Ferdaus và cộng sự, 2025)



5°C



15°C



25°C

Hình PL VI.8. Hình ảnh oleogel ở các nhiệt độ làm mát khác nhau

Tóm lại, điều kiện tạo oleogel thích hợp nhất cho quy trình vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học từ bột phụ phẩm nho sử dụng dung môi DES dựa trên choline chloride: glycerol: citric acid đạt được với tỷ lệ sấp ong: finamul 90 là 2:1 (w/w), hàm lượng chất tạo gel dầu là 15% và nhiệt độ làm mát là 5°C. Trong điều kiện này, khả năng liên kết dầu và hiệu suất thu hồi hợp chất lần lượt là $99,38 \pm 0,49\%$ và $88,64 \pm 0,37\%$. Độ cứng và lực cắt của oleogel lần lượt là $0,216 \pm 0,016$ N và $0,355 \pm 0,002$ N/s.

Phụ lục VI.2. Kết quả xử lý số liệu thống kê

❖ Ảnh hưởng của công thức đến quá trình tạo oleogel

Hiệu suất thu hồi TPC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.663718	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.579647	Công thức	1	35.090017	35.0900	7.8948
Root Mean Square Error	2.10825	Error	4	17.778867	4.4447	0.0483*
Mean of Response	78.09833	C. Total	5	52.868883		
Observations (or Sum Wgts)	6					

OBC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.775657	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.663485	Công thức	1	6.5939307	6.59393	6.9149
Root Mean Square Error	0.976515	Error	2	1.9071645	0.95358	0.1193
Mean of Response	83.04106	C. Total	3	8.5010952		
Observations (or Sum Wgts)	4					

Màu sắc – Giá trị L*

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.910782	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.901861	Công thức	1	20.567008	20.5670	102.0856
Root Mean Square Error	0.448852	Error	10	2.014683	0.2015	<.0001*
Mean of Response	52.14917	C. Total	11	22.581692		
Observations (or Sum Wgts)	12					

Màu sắc – Giá trị a*

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.055109	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	-0.03938	Công thức	1	0.02520833	0.025208	0.5832
Root Mean Square Error	0.207898	Error	10	0.43221667	0.043222	0.4627
Mean of Response	6.6225	C. Total	11	0.45742500		
Observations (or Sum Wgts)	12					

Màu sắc – Giá trị b*

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.18472	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.103192	Công thức	1	3.151875	3.15187	2.2657
Root Mean Square Error	1.179455	Error	10	13.911150	1.39112	0.1632
Mean of Response	14.1025	C. Total	11	17.063025		
Observations (or Sum Wgts)	12					

Độ nhớt

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.981125	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.976407	Công thức	1	519057.09	519057	207.9232
Root Mean Square Error	49.96387	Error	4	9985.55	2496	0.0001*
Mean of Response	554.765	C. Total	5	529042.65		
Observations (or Sum Wgts)	6					

❖ Ảnh hưởng của tỷ lệ BW: F90 đến quá trình tạo oleogel

Hiệu suất thu hồi TPC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.927617	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.903489	Tỷ lệ BW: F90	2	20.699356	10.3497	38.4461
Root Mean Square Error	0.518845	Error	6	1.615200	0.2692	0.0004*
Mean of Response	80.83222	C. Total	8	22.314556		
Observations (or Sum Wgts)	9					

Connecting Letters Report		
Level		Mean
2:1	A	82.586667
1:1	B	81.023333
1:2	C	78.886667

Levels not connected by same letter are significantly different.

OBC

Summary of Fit	
Rsquare	0.955726
Adj Rsquare	0.940969
Root Mean Square Error	0.865428
Mean of Response	84.22973
Observations (or Sum Wgts)	9

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ BW: F90	2	97.00674	48.5034	64.7605	<.0001*
Error	6	4.49379	0.7490		
C. Total	8	101.50053			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
2:1	A	88.604867
1:1	B	83.388067
1:2	C	80.696267

Levels not connected by same letter are significantly different.

Màu sắc – Giá trị L*

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0.685503	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0.659295	Tỷ lệ BW: F90	2	100.92979	50.4649	26.1562	<.0001*
Root Mean Square Error	1.389016	Error	24	46.30478	1.9294		
Mean of Response	56.78296	C. Total	26	147.23456			
Observations (or Sum Wgts)	27						

Connecting Letters Report		
Level		Mean
1:2	A	59.466667
2:1	B	55.894444
1:1	B	54.987778

Levels not connected by same letter are significantly different.

Màu sắc – Giá trị a*

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0.642107	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0.612283	Tỷ lệ BW: F90	2	2.9300963	1.46505	21.5296	<.0001*
Root Mean Square Error	0.26086	Error	24	1.6331556	0.06805		
Mean of Response	7.465926	C. Total	26	4.5632519			
Observations (or Sum Wgts)	27						

Connecting Letters Report		
Level		Mean
1:2	A	7.7633333
2:1	A	7.6277778
1:1	B	7.0066667

Levels not connected by same letter are significantly different.

Màu sắc – Giá trị b*

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0.579258	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0.544196	Tỷ lệ BW: F90	2	24.923696	12.4618	16.5211	<.0001*
Root Mean Square Error	0.868505	Error	24	18.103222	0.7543		
Mean of Response	13.23259	C. Total	26	43.026919			
Observations (or Sum Wgts)	27						

Connecting Letters Report		
Level		Mean
1:2	A	13.946667
2:1	A	13.876667
1:1	B	11.874444

Levels not connected by same letter are significantly different.

Độ nhớt

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.713707	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.618276	Tỷ lệ BW: F90	2	1430037.3	715019	7.4788
Root Mean Square Error	309.2029	Error	6	573638.6	95606	0.0235*
Mean of Response	1382.84	C. Total	8	2003675.9		
Observations (or Sum Wgts)	9					

Connecting Letters Report		
Level		Mean
2:1	A	1806.3800
1:2	A B	1493.2500
1:1	B	848.8900

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Ảnh hưởng của tỷ lệ chất tạo gel dầu đến quá trình tạo oleogel

Hiệu suất thu hồi TPC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.973154	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.955256	Tỷ lệ chất tạo gel dầu	2	27.937033	13.9685	54.3734
Root Mean Square Error	0.506853	Error	3	0.770700	0.2569	0.0044*
Mean of Response	80.69333	C. Total	5	28.707733		
Observations (or Sum Wgts)	6					

Connecting Letters Report		
Level		Mean
15	A	82.925000
10	A	81.380000
5	B	77.775000

Levels not connected by same letter are significantly different.

OBC

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.99882	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.998033	Tỷ lệ chất tạo gel dầu	2	1011.9648	505.982	1269.315
Root Mean Square Error	0.631369	Error	3	1.1959	0.399	<.0001*
Mean of Response	84.0183	C. Total	5	1013.1606		
Observations (or Sum Wgts)	6					

Connecting Letters Report		
Level		Mean
15	A	96.500450
10	B	89.445050
5	C	66.109400

Levels not connected by same letter are significantly different.

Màu sắc – Giá trị L*

Summary of Fit		Analysis of Variance				
Rsquare	0.980612	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Adj Rsquare	0.978027	Tỷ lệ chất tạo gel dầu	2	524.58910	262.295	379.3326
Root Mean Square Error	0.831543	Error	15	10.37195	0.691	<.0001*
Mean of Response	53.36833	C. Total	17	534.96105		
Observations (or Sum Wgts)	18					

Connecting Letters Report		
Level		Mean
15	A	59.480000
10	B	54.275000
5	C	46.350000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Màu sắc – Giá trị a*

Summary of Fit	
Rsquare	0.751578
Adj Rsquare	0.718455
Root Mean Square Error	0.353588
Mean of Response	7.162222
Observations (or Sum Wgts)	18

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ chất tạo gel dầu	2	5.6737444	2.83687	22.6905	<.0001*
Error	15	1.8753667	0.12502		
C. Total	17	7.5491111			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
15	A	7.7683333
10	A	7.3033333
5	B	6.4150000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Màu sắc – Giá trị b*

Summary of Fit	
Rsquare	0.824894
Adj Rsquare	0.801546
Root Mean Square Error	0.545206
Mean of Response	12.03056
Observations (or Sum Wgts)	18

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ chất tạo gel dầu	2	21.004344	10.5022	35.3311	<.0001*
Error	15	4.458750	0.2973		
C. Total	17	25.463094			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
15	A	13.386667
10	B	11.961667
5	C	10.743333

Levels not connected by same letter are significantly different.

Độ nhớt

Summary of Fit	
Rsquare	0.932866
Adj Rsquare	0.910489
Root Mean Square Error	325.4982
Mean of Response	1678.473
Observations (or Sum Wgts)	9

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Tỷ lệ chất tạo gel dầu	2	8833407.4	4416704	41.6870	0.0003*
Error	6	635694.4	105949		
C. Total	8	9469101.8			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
5	A	2934.0100
15	B	1589.1800
10	C	512.2300

Levels not connected by same letter are significantly different.

❖ Ảnh hưởng của nhiệt độ làm mát đến quá trình tạo oleogel

Hiệu suất thu hồi TPC

Summary of Fit	
Rsquare	0.99578
Adj Rsquare	0.992967
Root Mean Square Error	0.245017
Mean of Response	85.29
Observations (or Sum Wgts)	6

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Nhiệt độ làm lạnh	2	42.500100	21.2501	353.9708	0.0003*
Error	3	0.180100	0.0600		
C. Total	5	42.680200			

Connecting Letters Report		
Level		Mean
5	A	88.645000
15	B	85.090000
25	C	82.135000

Levels not connected by same letter are significantly different.

OBC

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0.973266	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0.955443	Nhiệt độ làm lạnh	2	12.202858	6.10143	54.6080	0.0044*
Root Mean Square Error	0.334262	Error	3	0.335194	0.11173		
Mean of Response	97.82615	C. Total	5	12.538052			
Observations (or Sum Wgts)	6						

Connecting Letters Report		
Level		Mean
5	A	99.379950
15	A	98.162800
25	B	95.935700

Levels not connected by same letter are significantly different.

Màu sắc – Giá trị L*

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0.183052	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0.074125	Nhiệt độ làm lạnh	2	0.5868444	0.293422	1.6805	0.2195
Root Mean Square Error	0.417856	Error	15	2.6190500	0.174603		
Mean of Response	59.68056	C. Total	17	3.2058944			
Observations (or Sum Wgts)	18						

Connecting Letters Report		
Level		Mean
25	A	59.871667
5	A	59.731667
15	A	59.438333

Levels not connected by same letter are significantly different.

Màu sắc – Giá trị a*

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0.280998	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0.185131	Nhiệt độ làm lạnh	2	0.01333333	0.006667	2.9311	0.0842
Root Mean Square Error	0.047691	Error	15	0.03411667	0.002274		
Mean of Response	7.478333	C. Total	17	0.04745000			
Observations (or Sum Wgts)	18						

Connecting Letters Report		
Level		Mean
5	A	7.5116667
15	A	7.4783333
25	A	7.4450000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Màu sắc – Giá trị b*

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0.25427	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0.15484	Nhiệt độ làm lạnh	2	0.01587778	0.007939	2.5573	0.1108
Root Mean Square Error	0.055718	Error	15	0.04656667	0.003104		
Mean of Response	13.50444	C. Total	17	0.06244444			
Observations (or Sum Wgts)	18						

Connecting Letters Report		
Level		Mean
25	A	13.536667
5	A	13.511667
15	A	13.465000

Levels not connected by same letter are significantly different.

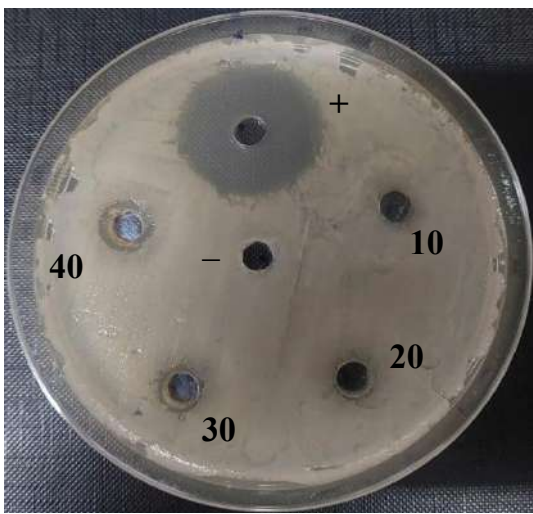
Độ nhớt

Summary of Fit		Analysis of Variance					
Rsquare	0.714463	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Adj Rsquare	0.619284	Nhiệt độ làm lạnh	2	2068837.5	1034419	7.5065	0.0233*
Root Mean Square Error	371.2177	Error	6	826815.6	137803		
Mean of Response	2296.89	C. Total	8	2895653.1			
Observations (or Sum Wgts)	9						

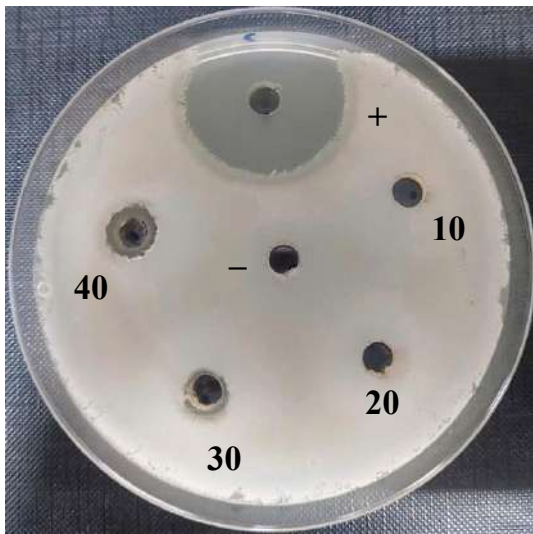
Connecting Letters Report		
Level		Mean
5	A	2934.0100
15	A B	2179.2400
25	B	1777.4200

Levels not connected by same letter are significantly different.

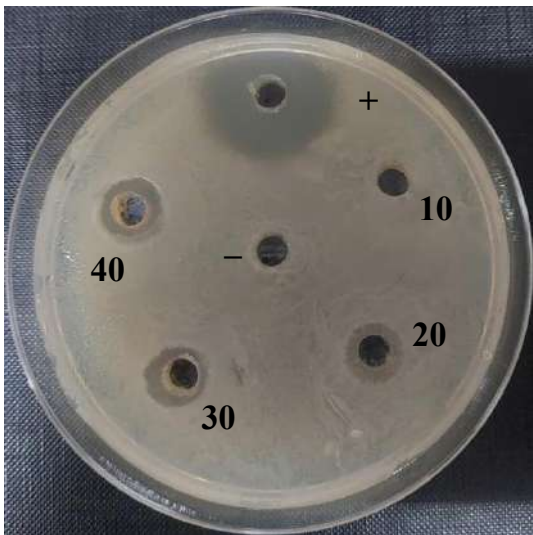
Phụ lục VI.3. Kết quả kháng khuẩn của oleogel tối ưu



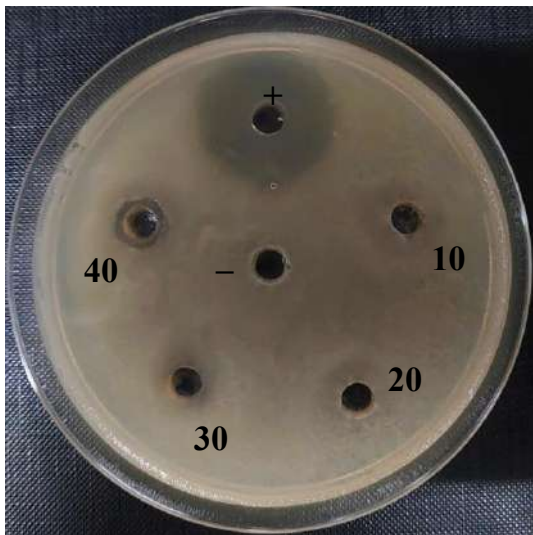
Escherichia coli ATCC 8739



Bacillus subtilis ATCC 6633

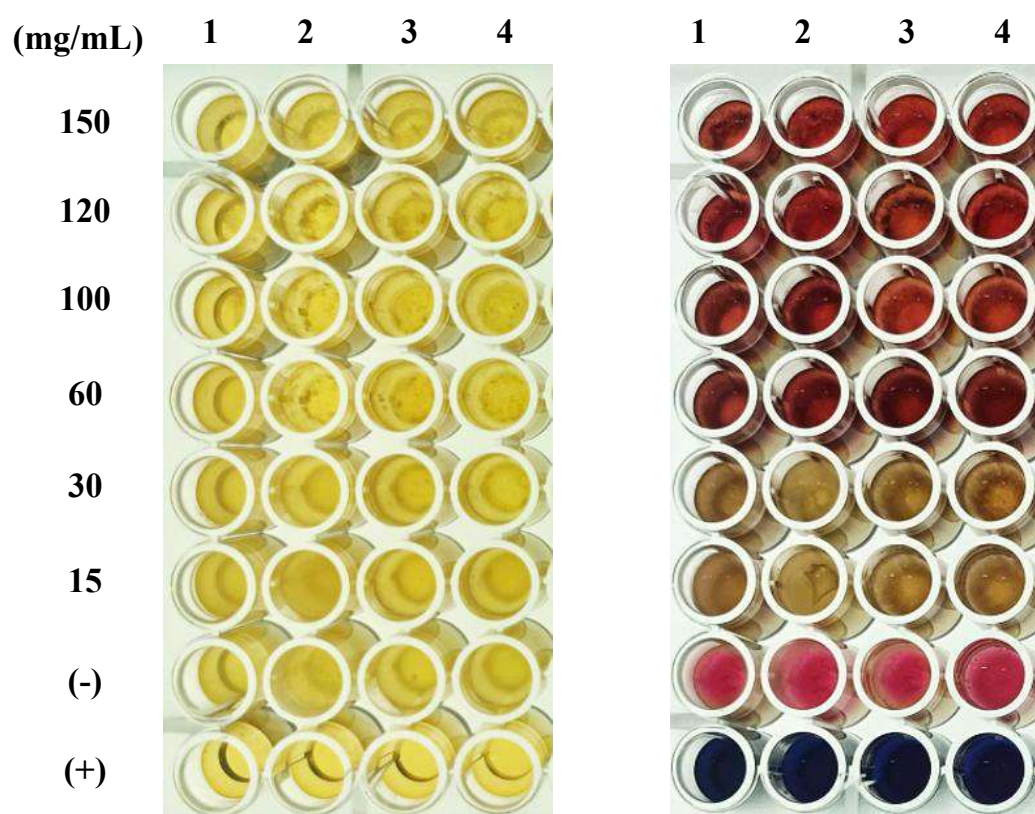


Salmonella typhimurium ATCC 14028



Staphylococcus aureus ATCC 6538

Hình PL VI.9. Đường kính vòng kháng khuẩn của oleogel tối ưu



Hình PL VI.10. MIC kháng khuẩn của oleogel tối ưu

PHỤ LỤC VII

Kết quả đánh giá khả năng ứng dụng của bột sấy phun trong sản phẩm xúc xích thanh trùng

Phụ lục VII.1. Số liệu kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đối với xúc xích thanh trùng

Bảng PL VII.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến hàm lượng ẩm của xúc xích

Mẫu	Thời gian bảo quản (ngày)					
	0	2	5	7	9	12
0	61,37 ± 1,32	59,89 ± 1,58	57,17 ± 0,07	54,84 ± 1,14	52,83 ± 0,50	52,84 ± 0,55
0,2	61,13 ± 0,83	61,14 ± 0,43	61,18 ± 0,37	58,66 ± 0,65	56,64 ± 0,10	53,53 ± 0,70
0,4	60,98 ± 0,52	59,98 ± 0,82	59,26 ± 0,47	58,39 ± 0,56	54,74 ± 0,27	53,90 ± 0,17
0,6	61,13 ± 0,87	60,64 ± 0,64	60,02 ± 0,73	59,05 ± 0,26	53,29 ± 0,41	52,90 ± 0,29
0,8	60,01 ± 1,28	59,53 ± 0,48	55,57 ± 1,46	54,88 ± 0,86	53,08 ± 0,61	52,31 ± 0,23
Sơ ri	60,57 ± 1,21	58,96 ± 0,64	56,13 ± 0,59	54,89 ± 0,48	54,03 ± 1,54	53,21 ± 1,30
Nisin	61,77 ± 0,12	60,15 ± 0,27	58,69 ± 0,60	56,91 ± 0,40	54,41 ± 0,95	53,84 ± 0,62

Bảng PL VII.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến pH của xúc xích

Mẫu	Thời gian bảo quản (ngày)					
	0	2	5	7	9	12
0	6,24 ± 0,01	6,53 ± 0,01	6,55 ± 0,01	6,48 ± 0,01	6,41 ± 0,02	6,18 ± 0,02
0,2	6,04 ± 0,01	6,45 ± 0,02	6,41 ± 0,01	6,42 ± 0,02	6,33 ± 0,01	6,43 ± 0,01
0,4	5,92 ± 0,01	6,36 ± 0,01	6,35 ± 0,01	6,26 ± 0,02	6,24 ± 0,01	6,24 ± 0,01
0,6	5,95 ± 0,03	6,30 ± 0,01	6,27 ± 0,01	6,13 ± 0,01	6,10 ± 0,01	6,13 ± 0,02
0,8	5,84 ± 0,02	6,30 ± 0,01	6,24 ± 0,01	6,08 ± 0,02	6,04 ± 0,01	6,07 ± 0,03
Sơ ri	6,08 ± 0,01	6,38 ± 0,01	6,21 ± 0,01	6,00 ± 0,03	5,98 ± 0,04	6,04 ± 0,02
Nisin	6,20 ± 0,02	6,51 ± 0,01	6,31 ± 0,02	6,17 ± 0,02	6,12 ± 0,03	6,18 ± 0,03

Bảng PL VII.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến tổng vi sinh vật hiếu khí (log cfu/g) của xúc xích

Mẫu	Thời gian bảo quản (ngày)					
	0	2	5	7	9	12
0	3,99 ± 0,03	4,83 ± 0,01	5,38 ± 0,05	6,43 ± 0,01	6,91 ± 0,03	7,25 ± 0,07
0,2	3,53 ± 0,04	4,70 ± 0,02	5,07 ± 0,10	5,25 ± 0,07	5,34 ± 0,06	5,75 ± 0,04
0,4	2,89 ± 0,16	3,49 ± 0,02	3,99 ± 0,03	4,76 ± 0,06	5,07 ± 0,10	5,34 ± 0,06
0,6	2,45 ± 0,21	2,54 ± 0,09	3,36 ± 0,08	3,69 ± 0,12	3,99 ± 0,03	4,3 ± 0,00
0,8	2,14 ± 0,09	2,74 ± 0,06	2,84 ± 0,09	3,20 ± 0,08	3,53 ± 0,07	3,84 ± 0,09
Sơ ri	3,14 ± 0,09	3,62 ± 0,03	4,35 ± 0,05	4,72 ± 0,02	5,39 ± 0,07	5,74 ± 0,06
Nisin	1,99 ± 0,12	2,52 ± 0,06	3,00 ± 0,00	3,11 ± 0,05	4,20 ± 0,08	5,51 ± 0,02

Bảng PL VII.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sậy phun đến độ cứng (N) của xúc xích

Mẫu	Thời gian bảo quản (ngày)					
	0	2	5	7	9	12
0	42,35 ± 1,68	43,91 ± 1,94	43,96 ± 1,18	43,11 ± 1,14	40,04 ± 0,50	36,39 ± 0,81
0,2	46,39 ± 1,63	46,02 ± 2,13	45,43 ± 2,55	38,07 ± 1,65	39,57 ± 1,53	38,79 ± 0,16
0,4	51,37 ± 1,16	49,46 ± 0,53	45,55 ± 1,20	46,60 ± 1,41	46,41 ± 1,30	45,71 ± 1,03
0,6	53,18 ± 2,06	53,10 ± 1,87	48,84 ± 1,89	48,97 ± 0,45	48,43 ± 0,73	43,12 ± 1,48
0,8	50,23 ± 1,82	52,83 ± 1,55	48,99 ± 0,83	47,34 ± 1,07	47,34 ± 2,04	43,50 ± 1,13
Sơ ri	56,08 ± 1,02	52,47 ± 1,92	53,65 ± 1,76	52,38 ± 0,82	53,60 ± 0,92	47,16 ± 2,07
Nisin	54,79 ± 1,02	52,24 ± 1,01	46,04 ± 2,30	45,41 ± 1,73	42,16 ± 2,24	42,91 ± 2,26

Bảng PL VII.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sậy phun đến độ đàn hồi của xúc xích

Mẫu	Thời gian bảo quản (ngày)					
	0	2	5	7	9	12
0	0,90 ± 0,00	0,91 ± 0,02	0,90 ± 0,01	0,91 ± 0,01	0,89 ± 0,01	0,90 ± 0,01
0,2	0,92 ± 0,02	0,89 ± 0,01	0,90 ± 0,01	0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,02	0,89 ± 0,01
0,4	0,88 ± 0,01	0,88 ± 0,02	0,89 ± 0,02	0,89 ± 0,02	0,88 ± 0,01	0,88 ± 0,01
0,6	0,90 ± 0,02	0,88 ± 0,01	0,89 ± 0,02	0,87 ± 0,02	0,88 ± 0,02	0,88 ± 0,01
0,8	0,89 ± 0,01	0,89 ± 0,01	0,87 ± 0,01	0,88 ± 0,01	0,86 ± 0,01	0,87 ± 0,01
Sơ ri	0,89 ± 0,02	0,89 ± 0,00	0,88 ± 0,02	0,89 ± 0,02	0,88 ± 0,00	0,88 ± 0,01
Nisin	0,92 ± 0,02	0,89 ± 0,02	0,88 ± 0,02	0,88 ± 0,02	0,88 ± 0,01	0,86 ± 0,01

Bảng PL VII.6. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sậy phun đến độ dai bán rắn (N) của xúc xích

Mẫu	Thời gian bảo quản (ngày)					
	0	2	5	7	9	12
0	22,52 ± 1,60	21,93 ± 1,26	21,91 ± 0,64	21,80 ± 0,79	18,98 ± 0,68	17,69 ± 1,13
0,2	24,35 ± 0,53	23,20 ± 1,01	22,16 ± 0,52	18,65 ± 1,43	19,25 ± 0,61	18,05 ± 0,25
0,4	25,94 ± 0,86	24,40 ± 1,09	23,15 ± 1,17	23,74 ± 0,69	23,12 ± 1,16	22,08 ± 0,33
0,6	29,15 ± 1,35	27,72 ± 1,05	24,44 ± 1,89	23,94 ± 1,14	23,12 ± 0,90	20,81 ± 0,09
0,8	25,42 ± 0,92	25,31 ± 0,99	22,36 ± 0,74	22,29 ± 1,37	22,06 ± 1,12	20,55 ± 0,42
Sơ ri	30,13 ± 1,02	27,60 ± 0,84	27,00 ± 1,20	26,68 ± 0,64	27,14 ± 1,38	23,93 ± 1,07
Nisin	26,79 ± 0,09	25,39 ± 0,70	22,38 ± 0,42	21,53 ± 1,36	20,05 ± 1,84	19,70 ± 0,98

Bảng PL VII.7. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sậy phun đến độ dai rắn (N) của xúc xích

Mẫu	Thời gian bảo quản (ngày)					
	0	2	5	7	9	12
0	20,33 ± 1,49	19,96 ± 1,55	19,74 ± 0,51	19,80 ± 0,56	16,97 ± 0,41	15,96 ± 0,96
0,2	22,39 ± 0,31	20,63 ± 1,19	19,99 ± 0,32	16,71 ± 1,35	17,34 ± 0,89	16,03 ± 0,08
0,4	22,79 ± 0,99	21,41 ± 1,32	20,48 ± 0,79	21,11 ± 0,95	20,29 ± 1,14	19,40 ± 0,10
0,6	25,90 ± 1,17	24,46 ± 1,23	21,67 ± 1,89	20,77 ± 1,35	20,28 ± 1,02	18,29 ± 0,19
0,8	22,59 ± 0,58	22,45 ± 0,61	19,45 ± 0,78	19,57 ± 1,39	18,95 ± 0,81	17,94 ± 0,44
Sơ ri	26,85 ± 1,26	24,60 ± 0,72	23,82 ± 0,91	23,66 ± 1,09	23,95 ± 1,28	21,18 ± 0,98
Nisin	24,69 ± 0,48	22,61 ± 0,39	19,75 ± 0,48	19,07 ± 1,67	17,60 ± 1,55	16,87 ± 0,74

Bảng PL VII.8. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đến độ cố kết của xúc xích

Mẫu	Thời gian bảo quản (ngày)					
	0	2	5	7	9	12
0	0,53 ± 0,02	0,50 ± 0,02	0,50 ± 0,01	0,51 ± 0,02	0,47 ± 0,02	0,49 ± 0,02
0,2	0,53 ± 0,02	0,50 ± 0,02	0,49 ± 0,02	0,49 ± 0,02	0,49 ± 0,01	0,47 ± 0,01
0,4	0,50 ± 0,01	0,49 ± 0,02	0,51 ± 0,01	0,51 ± 0,01	0,50 ± 0,02	0,48 ± 0,01
0,6	0,55 ± 0,01	0,52 ± 0,02	0,50 ± 0,02	0,49 ± 0,02	0,48 ± 0,02	0,48 ± 0,02
0,8	0,51 ± 0,02	0,48 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,47 ± 0,02	0,47 ± 0,01	0,47 ± 0,01
Sơ ri	0,54 ± 0,01	0,53 ± 0,02	0,50 ± 0,01	0,51 ± 0,00	0,51 ± 0,02	0,51 ± 0,01
Nisin	0,49 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,49 ± 0,02	0,47 ± 0,02	0,47 ± 0,02	0,46 ± 0,01

Phụ lục VII.2. Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung bột sấy phun đối với xúc xích thanh trùng

Hàm lượng ẩm

Summary of Fit				
RSquare		0.96183		
RSquare Adj		0.943199		
Root Mean Square Error		0.776973		
Mean of Response		57.21048		
Observations (or Sum Wgts)		126		
Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	1277.8060	31.1660	51.6261
Error	84	50.7097	0.6037	Prob > F
C. Total	125	1328.5158		<.0001*

pH

Summary of Fit				
RSquare		0.994215		
RSquare Adj		0.991392		
Root Mean Square Error		0.016354		
Mean of Response		6.225079		
Observations (or Sum Wgts)		126		
Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	3.8612825	0.094178	352.1181
Error	84	0.0224667	0.000267	Prob > F
C. Total	125	3.8837492		<.0001*

L*

Summary of Fit				
RSquare		0.669035		
RSquare Adj		0.507492		
Root Mean Square Error		0.768283		
Mean of Response		79.99651		
Observations (or Sum Wgts)		126		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	100.22773	2.44458	4.1415
Error	84	49.58173	0.59026	Prob > F
C. Total	125	149.80946		<.0001*

a*

Summary of Fit				
RSquare		0.796222		
RSquare Adj		0.696759		
Root Mean Square Error		0.152568		
Mean of Response		2.060952		
Observations (or Sum Wgts)		126		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	7.6398190	0.186337	8.0052
Error	84	1.9552667	0.023277	Prob > F
C. Total	125	9.5950857		<.0001*

b*

Summary of Fit				
RSquare		0.746584		
RSquare Adj		0.622893		
Root Mean Square Error		0.365073		
Mean of Response		12.76278		
Observations (or Sum Wgts)		126		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	32.982528	0.804452	6.0359
Error	84	11.195400	0.133279	Prob > F
C. Total	125	44.177928		<.0001*

ΔE

Summary of Fit				
RSquare		0.77568		
RSquare Adj		0.66619		
Root Mean Square Error		0.44558		
Mean of Response		1.241111		
Observations (or Sum Wgts)		126		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	57.669178	1.40657	7.0845
Error	84	16.677467	0.19854	Prob > F
C. Total	125	74.346644		<.0001*

Độ cứng

Summary of Fit				
RSquare		0.937004		
RSquare Adj		0.906256		
Root Mean Square Error		1.52885		
Mean of Response		46.99704		
Observations (or Sum Wgts)		126		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	2920.3534	71.2281	30.4735
Error	84	196.3401	2.3374	Prob > F
C. Total	125	3116.6935		<.0001*

Độ đàn hồi

Summary of Fit				
RSquare		0.581088		
RSquare Adj		0.376618		
Root Mean Square Error		0.014361		
Mean of Response		0.887556		
Observations (or Sum Wgts)		126		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	0.02402978	0.000586	2.8419
Error	84	0.01732333	0.000206	Prob > F
C. Total	125	0.04135311		<.0001*

Độ dai bán rắn

Summary of Fit				
RSquare		0.925727		
RSquare Adj		0.889474		
Root Mean Square Error		1.023307		
Mean of Response		23.29535		
Observations (or Sum Wgts)		126		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	1096.3271	26.7397	25.5355
Error	84	87.9612	1.0472	Prob > F
C. Total	125	1184.2883		<.0001*

Độ dai rắn

Summary of Fit				
RSquare		0.912488		
RSquare Adj		0.869774		
Root Mean Square Error		1.007065		
Mean of Response		20.67309		
Observations (or Sum Wgts)		126		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	888.29199	21.6657	21.3627
Error	84	85.19115	1.0142	Prob > F
C. Total	125	973.48315		<.0001*

Độ cố kết

Summary of Fit				
RSquare		0.722037		
RSquare Adj		0.586365		
Root Mean Square Error		0.015809		
Mean of Response		0.494825		
Observations (or Sum Wgts)		126		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	41	0.05453416	0.001330	5.3219
Error	84	0.02099400	0.000250	Prob > F
C. Total	125	0.07552816		<.0001*

PHỤ LỤC VIII

Kết quả đánh giá khả năng ứng dụng của oleogel trong sản phẩm xúc xích thanh trùng

Phụ lục VIII.1. Số liệu kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đối với xúc xích thanh trùng

Bảng PL VIII.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến hàm lượng ẩm (%) của xúc xích

Thời gian bảo quản (ngày)	Tỷ lệ bổ sung oleogel (%)		
	0,4	0,8	1,2
0	59,95 ± 0,37	60,23 ± 0,75	60,32 ± 0,36
2	57,22 ± 0,54	57,93 ± 0,43	57,03 ± 0,67
5	57,68 ± 0,35	57,22 ± 0,88	56,61 ± 0,44
7	57,55 ± 0,32	57,59 ± 0,55	56,55 ± 0,76
9	56,75 ± 0,30	57,35 ± 0,48	56,37 ± 0,33
12	55,64 ± 0,17	55,20 ± 0,75	55,33 ± 0,58

Bảng PL VIII.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến pH của xúc xích

Thời gian bảo quản (ngày)	Tỷ lệ bổ sung oleogel (%)		
	0,4	0,8	1,2
0	6,34 ± 0,03	6,21 ± 0,02	6,01 ± 0,02
2	6,47 ± 0,01	6,37 ± 0,02	6,00 ± 0,02
5	6,39 ± 0,03	6,28 ± 0,02	5,98 ± 0,02
7	6,42 ± 0,02	6,31 ± 0,02	5,99 ± 0,01
9	6,28 ± 0,04	6,15 ± 0,04	5,93 ± 0,01
12	6,29 ± 0,02	6,07 ± 0,02	5,90 ± 0,02

Bảng PL VIII.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến tổng vi sinh vật hiếu khí (log cfu/g) của xúc xích

Thời gian bảo quản (ngày)	Tỷ lệ bổ sung oleogel (%)		
	0,4	0,8	1,2
0	3,26 ± 0,01	3,13 ± 0,10	2,95 ± 0,08
2	3,63 ± 0,04	3,28 ± 0,03	3,04 ± 0,06
5	4,22 ± 0,11	3,36 ± 0,03	3,19 ± 0,16
7	4,52 ± 0,11	3,38 ± 0,05	3,29 ± 0,07
9	4,58 ± 0,03	3,58 ± 0,03	3,43 ± 0,03
12	4,61 ± 0,01	4,36 ± 0,08	3,40 ± 0,02

Bảng PL VIII.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến độ cứng của xúc xích

Thời gian bảo quản (ngày)	Tỷ lệ bổ sung oleogel (%)		
	0,4	0,8	1,2
0	43,69 ± 1,61	44,93 ± 1,05	48,63 ± 0,82
2	40,79 ± 1,36	48,32 ± 1,84	42,91 ± 1,32
5	41,36 ± 0,85	40,06 ± 1,42	41,39 ± 1,76
7	39,02 ± 0,49	38,46 ± 1,29	40,35 ± 1,39
9	31,80 ± 1,08	36,81 ± 1,12	41,39 ± 0,74
12	29,02 ± 1,72	31,37 ± 1,47	35,09 ± 0,80

Bảng PL VIII.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến độ đàn hồi của xúc xích

Thời gian bảo quản (ngày)	Tỷ lệ bổ sung oleogel (%)		
	0,4	0,8	1,2
0	0,94 ± 0,01	0,89 ± 0,01	0,86 ± 0,01
2	0,90 ± 0,01	0,90 ± 0,01	0,85 ± 0,01
5	0,89 ± 0,02	0,87 ± 0,02	0,83 ± 0,00
7	0,88 ± 0,02	0,88 ± 0,01	0,84 ± 0,01
9	0,88 ± 0,01	0,86 ± 0,01	0,84 ± 0,01
12	0,87 ± 0,02	0,87 ± 0,01	0,83 ± 0,01

Bảng PL VIII.6. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến độ dai bán rắn (N) của xúc xích

Thời gian bảo quản (ngày)	Tỷ lệ bổ sung oleogel (%)		
	0,4	0,8	1,2
0	23,57 ± 0,92	23,50 ± 0,53	24,90 ± 0,62
2	21,37 ± 0,46	23,84 ± 1,73	20,60 ± 0,91
5	22,49 ± 0,64	20,73 ± 0,47	19,38 ± 0,71
7	18,65 ± 0,83	20,17 ± 0,91	18,94 ± 0,97
9	13,96 ± 0,56	17,17 ± 0,95	18,09 ± 0,93
12	13,21 ± 1,07	15,49 ± 0,36	14,81 ± 0,96

Bảng PL VIII.7. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến độ dai rắn (N) của xúc xích

Thời gian bảo quản (ngày)	Tỷ lệ bổ sung oleogel (%)		
	0,4	0,8	1,2
0	22,19 ± 0,94	20,90 ± 0,52	21,49 ± 0,26
2	19,20 ± 0,54	21,32 ± 1,26	17,50 ± 0,85
5	20,04 ± 0,48	17,97 ± 0,73	16,17 ± 0,62
7	16,45 ± 0,55	17,77 ± 0,65	15,87 ± 0,90
9	12,22 ± 0,41	14,80 ± 0,59	15,22 ± 0,97
12	11,56 ± 1,18	13,42 ± 0,36	12,27 ± 0,79

Bảng PL VIII.8. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đến độ cô kết của xúc xích

Thời gian bảo quản (ngày)	Tỷ lệ bổ sung oleogel (%)		
	0,4	0,8	1,2
0	0,54 ± 0,00	0,52 ± 0,01	0,51 ± 0,01
2	0,52 ± 0,02	0,49 ± 0,02	0,48 ± 0,02
5	0,54 ± 0,01	0,52 ± 0,01	0,47 ± 0,01
7	0,48 ± 0,02	0,52 ± 0,01	0,47 ± 0,02
9	0,44 ± 0,02	0,47 ± 0,01	0,44 ± 0,02
12	0,45 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,42 ± 0,02

Phụ lục VIII.2. Kết quả xử lý thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung oleogel đối với xúc xích thanh trùng

Hàm lượng ẩm

Summary of Fit				
RSquare		0.918145		
RSquare Adj		0.879491		
Root Mean Square Error		0.536339		
Mean of Response		57.36307		
Observations (or Sum Wgts)		54		
Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	116.15736	6.83279	23.7530
Error	36	10.35575	0.28766	Prob > F
C. Total	53	126.51311		<.0001*

pH

Summary of Fit				
RSquare		0.99144		
RSquare Adj		0.987398		
Root Mean Square Error		0.020503		
Mean of Response		6.187222		
Observations (or Sum Wgts)		54		
Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	1.7527500	0.103103	245.2669
Error	36	0.0151333	0.000420	Prob > F
C. Total	53	1.7678833		<.0001*

L*

Summary of Fit				
RSquare		0.886781		
RSquare Adj		0.833316		
Root Mean Square Error		0.656232		
Mean of Response		67.87833		
Observations (or Sum Wgts)		54		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	121.42628	7.14272	16.5863
Error	36	15.50307	0.43064	Prob > F
C. Total	53	136.92935		<.0001*

a*

Summary of Fit				
RSquare		0.887927		
RSquare Adj		0.835003		
Root Mean Square Error		0.124506		
Mean of Response		3.298519		
Observations (or Sum Wgts)		54		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	4.4214148	0.260083	16.7776
Error	36	0.5580667	0.015502	Prob > F
C. Total	53	4.9794815		<.0001*

b*

Summary of Fit				
RSquare		0.834911		
RSquare Adj		0.756952		
Root Mean Square Error		0.299215		
Mean of Response		10.405		
Observations (or Sum Wgts)		54		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	16.300083	0.958828	10.7096
Error	36	3.223067	0.089530	Prob > F
C. Total	53	19.523150		<.0001*

ΔE

Summary of Fit				
RSquare		0.800019		
RSquare Adj		0.705584		
Root Mean Square Error		0.579241		
Mean of Response		1.567963		
Observations (or Sum Wgts)		54		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	48.320743	2.84240	8.4716
Error	36	12.078733	0.33552	Prob > F
C. Total	53	60.399476		<.0001*

Độ cứng

Summary of Fit				
RSquare		0.961506		
RSquare Adj		0.943329		
Root Mean Square Error		1.285559		
Mean of Response		39.74508		
Observations (or Sum Wgts)		54		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	1486.1083	87.4181	52.8954
Error	36	59.4958	1.6527	Prob > F
C. Total	53	1545.6041		<.0001*

Độ đàn hồi

Summary of Fit				
RSquare		0.85761		
RSquare Adj		0.79037		
Root Mean Square Error		0.013484		
Mean of Response		0.871069		
Observations (or Sum Wgts)		54		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	0.03942145	0.002319	12.7545
Error	36	0.00654519	0.000182	Prob > F
C. Total	53	0.04596664		<.0001*

Độ dai bán rần

Summary of Fit				
RSquare		0.959656		
RSquare Adj		0.940605		
Root Mean Square Error		0.863541		
Mean of Response		19.4919		
Observations (or Sum Wgts)		54		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	638.56914	37.5629	50.3725
Error	36	26.84531	0.7457	Prob > F
C. Total	53	665.41445		<.0001*

Độ dai rần

Summary of Fit				
RSquare		0.966469		
RSquare Adj		0.950635		
Root Mean Square Error		0.75046		
Mean of Response		17.02026		
Observations (or Sum Wgts)		54		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	584.38426	34.3755	61.0372
Error	36	20.27485	0.5632	Prob > F
C. Total	53	604.65910		<.0001*

Độ cổ kết

Summary of Fit				
RSquare		0.89291		
RSquare Adj		0.842339		
Root Mean Square Error		0.015192		
Mean of Response		0.488141		
Observations (or Sum Wgts)		54		

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	17	0.06927693	0.004075	17.6567
Error	36	0.00830868	0.000231	Prob > F
C. Total	53	0.07758561		<.0001*

TÀI LIỆU THAM KHẢO PHỤ LỤC

1. Alcântara, M. A., de Lima, A. E. A., Braga, A. L. M., Tonon, R. V., Galdeano, M. C., da Costa Mattos, M., Santa Brígida, A. I., Rosenhaim, R., dos Santos, N. A., & de Magalhães Cordeiro, A. M. T. (2019). Influence of the emulsion homogenization method on the stability of chia oil microencapsulated by spray drying. *Powder Technology*, 354, 877-885.
2. Ali, M. C., Chen, J., Zhang, H., Li, Z., Zhao, L., & Qiu, H. (2019). Effective extraction of flavonoids from *Lycium barbarum* L. fruits by deep eutectic solvents-based ultrasound-assisted extraction. *Talanta*, 203, 16-22.
3. Almeida Pontes, P. V. d., Shiwaku, I. A., Maximo, G. J., & Batista, E. A. C. (2021). Choline chloride-based deep eutectic solvents as potential solvent for extraction of phenolic compounds from olive leaves: Extraction optimization and solvent characterization. *Food Chemistry*, 352, 129346.
4. Arnous, A., & Meyer, A. S. (2010). Discriminated release of phenolic substances from red wine grape skins (*Vitis vinifera* L.) by multicomponent enzymes treatment. *Biochemical Engineering Journal*, 49, 68-77.
5. Barış, S., Elik, A., Göğüş, F., & Yanık, D. K. (2023). Pistachio hull as an alternative pectin source: Its extraction and use in oil in water emulsion system. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 53, 433-442.
6. Bastías-Montes, J. M., Choque-Chávez, M. C., Alarcón-Enos, J., Quevedo-León, R., Muñoz-Fariña, O., & Vidal-San-Martín, C. (2019). Effect of spray drying at 150, 160, and 170°C on the physical and chemical properties of maqui extract (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz). *Chilean journal of agricultural research*, 79, 144-152.
7. Baysan, U., Elmas, F., & Koç, M. (2019). The effect of spray drying conditions on physicochemical properties of encapsulated propolis powder. *Journal of Food Process Engineering*, 42, e13024.
8. Bednarska, M. A., & Janiszewska-Turak, E. (2020). The influence of spray drying parameters and carrier material on the physico-chemical properties and quality of chokeberry juice powder. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 564-577.
9. Bildik, F. (2021). Application of choline chloride as natural deep eutectic solvents for the green extraction of phenolic compounds from *Rheum ribes* leaves. *European Journal of Technique (EJT)*, 11, 140-143.
10. Blake, A. (2015). *The microstructure and physical properties of plant-based waxes and their relationship to the oil binding capacity of wax oleogels*. Doctoral dissertation. University of Guelph, Canada.

11. Boonchu, T., & Utama-Ang, N. (2015). Optimization of extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 783-792.
12. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, 71-79.
13. Córdova, A., Catalán, S., Carrasco, V., Farias, F. O., Trentin, J., López, J., Salazar, F., & Mussagy, C. U. (2025). Sustainable assessment of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins with bio-based solvents for upgrading grape pomace *Cabernet Sauvignon* derived from a winemaking process. *Ultrasonics Sonochemistry*, 112, 107201.
14. Chen, F.-P., Liu, L.-L., & Tang, C.-H. (2020). Spray-drying microencapsulation of curcumin nanocomplexes with soy protein isolate: Encapsulation, water dispersion, bioaccessibility and bioactivities of curcumin. *Food Hydrocolloids*, 105, 105821.
15. Dai, Y., Spronsen, J. V., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766, 61-68.
16. Dai, Y., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2015). Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. *Food Chemistry*, 187, 14-19.
17. Decker, B. L. A., Miguel, E. d. C., Fonteles, T. V., Fernandes, F. A. N., & Rodrigues, S. (2024). Impact of spray drying on the properties of grape pomace extract powder. *Processes*, 12, 1390.
18. Dezhkunov, N. V. (2002). Multibubble sonoluminescence intensity dependence on liquid temperature at different ultrasound intensities. *Ultrasonics Sonochemistry*, 9, 103-106.
19. Drevelegka, I., & Goula, A. M. (2020). Recovery of grape pomace phenolic compounds through optimized extraction and adsorption processes. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 149, 107845.
20. Erami, S. R., Amiri, Z. R., & Jafari, S. M. (2019). Nanoliposomal encapsulation of Bitter Gourd (*Momordica charantia*) fruit extract as a rich source of health-promoting bioactive compounds. *LWT*, 116, 108581.
21. Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 510-523.
22. Ferdaus, M. J., Mahmud, N., Talukder, S., & Silva, R. C. d. (2025). Characteristics and functional properties of bioactive oleogels: A current review. *Gels*, 11, 69.
23. Fernandes, R. V. d. B., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 101, 524-532.

24. George, T. T., Oyenih, A. B., Rautenbach, F., & Obilana, A. O. (2021). Characterization of *Moringa oleifera* leaf powder extract encapsulated in maltodextrin and/or gum arabic coatings. *Foods*, 10, 3044.
25. 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, 1107-1121.
26. Gil-Martín, E., Forbes-Hernández, T., Romero, A., Cinciosi, D., Giampieri, F., & Battino, M. (2022). Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. *Food Chemistry*, 378, 131918.
27. Haile, S., & Ayele, A. (2022). Pectinase from microorganisms and its industrial applications. *The Scientific World Journal*, 2022, 1881305.
28. Hoang, V. C., Nguyen, M. H., Roach, P. D., Golding, J. B., & Parks, S. E. (2018). Microwave-assisted extraction and ultrasound-assisted extraction for recovering carotenoids from Gac peel and their effects on antioxidant capacity of the extracts. *Food Science & Nutrition*, 6, 189-196.
29. Hwang, H.-S., Kim, S., Evans, K. O., Koga, C., & Lee, Y. (2015). Morphology and networks of sunflower wax crystals in soybean oil organogel. *Food Structure*, 5, 10-20.
30. Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26, 816-835.
31. Kalajahi, S. E. M., & Ghandiha, S. (2022). Optimization of spray drying parameters for encapsulation of Nettle (*Urtica dioica* L.) extract. *LWT*, 158, 113149.
32. Kang, Y.-R., Lee, Y.-K., Kim, Y. J., & Chang, Y. H. (2019). Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. *Food Chemistry*, 272, 337-346.
33. Kelly, A. L., & Fox, P. F. (2016). Manufacture and properties of dairy powders. In Paul L. H. McSweeney & James A. O'Mahony (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1B: Proteins: Applied Aspects*. Ireland: Springer Science+Business Media. 1-33.
34. Kha, C. T., Nguyen, M. H., & Roach, P. D. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, 98, 385-392.
35. Koç, M., Koç, B., Susyal, G., Sakin Yilmazer, M., Kaymak Ertekin, F., & Bağdatlıoğlu, N. (2011). Functional and physicochemical properties of whole egg

- powder: effect of spray drying conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 48, 141-149.
36. Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 194, 569-576.
 37. Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325.
 38. Le, H. V., & Le, V. V. M. (2012). Comparison of enzyme-assisted and ultrasound-assisted extraction of vitamin C and phenolic compounds from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1206-1214.
 39. Lecas, M., & Brillouet, J.-M. (1994). Cell wall composition of grape berry skins. *Phytochemistry*, 35, 1241-1243.
 40. Li, J., Han, Z., Zou, Y., & Yu, B. (2015). Efficient extraction of major catechins in *Camellia sinensis* leaves using green choline chloride-based deep eutectic solvents. *RSC Advances*, 5, 93937-93944.
 41. Lin, S., Meng, X., Tan, C., Tong, Y., Wan, M., Wang, M., Zhao, Y., Deng, H., Kong, Y., & Ma, Y. (2022). Composition and antioxidant activity of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* extracted using an ultrasonic-microwave-assisted natural deep eutectic solvent extraction method. *Ultrasonics Sonochemistry*, 89, 106102.
 42. Lu, W., & Liu, S. (2020). Choline chloride-based deep eutectic solvents (Ch-DESs) as promising green solvents for phenolic compounds extraction from bioresources: State-of-the-art, prospects, and challenges. *Biomass Conversion and Biorefinery* 1-14.
 43. Machamasi, R., Hwang, S.-J., & Dinh, L. (2024). The formulation, preparation, and evaluation of celecoxib nanosuspensions: Nanosizing via high-pressure homogenization and conversion of the nanosuspensions into dry powders by spray drying and freeze drying. *Journal of Pharmaceutical and BioTech Industry*, 1, 20-37.
 44. Mahato, S., & Garai, S. (1998). Triterpenoid saponins. In W. Herz, Kirby, G.W., Moore, R.E., Steglich, W., Tamm, C. (Ed.), *Fortschritte der chemie organischer naturstoffe / Progress in the chemistry of organic natural products* (Vol. 74, pp. 1-196). Vienna: Springer.
 45. Mahdi, A. A., Mohammed, J. K., Al-Ansi, W., Ghaleb, A. D., Al-Maqtari, Q. A., Ma, M., Ahmed, M. I., & Wang, H. (2020). Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using

- spray drying. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 1125-1134.
46. Mai, H. C., Truong, V., & Debaste, F. (2013). Optimisation of enzyme-assisted extraction of oil rich in carotenoids from gac fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng.). *Food Technology and Biotechnology*, 51, 488-499.
 47. Maran, J. P., & Priya, B. (2014). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 530-536.
 48. Mariod, A. A. (2018). Chemical properties of gum arabic. In Abdalbasit Adam Mariod (Ed.), *Gum arabic: Structure, Properties, Application and Economics*. Sudan: Elsevier. 67-73.
 49. Masuelli, M. A. (2013). Hydrodynamic properties of whole arabic gum. *American Journal of Food Science and Technology*, 1, 60-66.
 50. Meini, M.-R., Cabezudo, I., Boschetti, C. E., & Romanini, D. (2019). Recovery of phenolic antioxidants from Syrah grape pomace through the optimization of an enzymatic extraction process. *Food Chemistry*, 283, 257-264.
 51. Melchior, S., Plazzotta, S., Calligaris, S., Manzocco, & Lara. (2023). Mono-and Diglycerides. *Fat Mimetics for Food Applications* 88-111.
 52. Meng, L., Chen, Y., Zheng, Z., Wang, L., Xu, Y., Li, X., Xiao, Z., Tang, Z., & Wang, Z. (2024). Ultrasound-assisted extraction of paeonol from Moutan Cortex: Purification and component identification of extract. *Molecules*, 29, 622.
 53. Mohammed, N. K., Alhelli, A. M., & Meor Hussin, A. S. (2021). Influence of different combinations of wall materials on encapsulation of *Nigella sativa* oil by spray dryer. *Journal of Food Process Engineering*, 44, e13639.
 54. Moreno, T., De Paz, E., Navarro, I., Rodríguez-Rojo, S., Matías, A., Duarte, C., Sanz-Buenhombre, M., & Cocero, M. (2016). Spray drying formulation of polyphenols-rich grape marc extract: Evaluation of operating conditions and different natural carriers. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 2046-2058.
 55. Mutavski, Z., Vidović, S., Lazarević, Z., Ambrus, R., Motzwickler-Németh, A., Aladić, K., & Nastić, N. (2025). Stabilization and preservation of bioactive compounds in black elderberry by-product extracts using maltodextrin and gum arabic via spray drying. *Foods*, 14, 723.
 56. Muzykiewicz-Szymańska, A., Kucharska, E., Pelech, R., Nowak, A., Jakubczyk, K., & Kucharski, Ł. (2024). The optimisation of ultrasound-assisted extraction for the polyphenols content and antioxidant activity on *Sanguisorba officinalis* L. aerial parts using response surface methodology. *Applied Sciences*, 14, 9579.
 57. Nadar, S. S., Rao, P., & Rathod, V. K. (2018). Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. *Food Research International*, 108, 309-330.

58. Nor, N. F. A., Ya'akob, H., Ngadiran, S., Idris, A., Anuar, N. S., & Sarmidi, M. R. (2021). Evolutions in virgin coconut oil: Liquid to powder. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*, 83, 119-132.
59. Noshad, M., Mohebbi, M., Koocheki, A., & Shahidi, F. (2015). Microencapsulation of vanillin by spray drying using soy protein isolate–maltodextrin as wall material. *Flavour and Fragrance Journal*, 30, 387-391.
60. Nutter, J., Fernandez, M. V., Jagus, R. J., & Agüero, M. V. (2021). Development of an aqueous ultrasound-assisted extraction process of bioactive compounds from beet leaves: a proposal for reducing losses and increasing biomass utilization. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101, 1989-1997.
61. Nguyen, T. T. T., Nguyen, V. B., Le, T. X., Tran, A. H. T., & Kha, C. T. (2023). Extraction of bioactive compounds from *Red Cardinal* grape pomace by deep eutectic solvents. *Chemical Engineering Transactions*, 106, 889-894.
62. Nguyễn Đình Dũng, Vũ Thị Hương, Lê Trung Thiên, Hoàng Quang Bình, & Hồ Nam Chiến. (2018). Ảnh hưởng của xử lý siêu âm đến khả năng trích ly hợp chất polyphenol và anthocyanin từ vỏ chanh dây (*Passiflora incarnate*). *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 17, 66-75.
63. Nguyễn Thị Hồng Linh, Nguyễn Mạnh Đạt, Đỗ Thị Thủy Lê, Đỗ Thị Thanh Huyền, & Bùi Thị Hồng Phương. (2019). Nghiên cứu ứng dụng enzyme để nâng cao hiệu suất trích ly resveratrol từ dây gắm. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*, 15, 45-52.
64. Oancea, S. (2021). A review of the current knowledge of thermal stability of anthocyanins and approaches to their stabilization to heat. *Antioxidants*, 10, 1337.
65. Ögütçü, M., & Yılmaz, E. (2014). Oleogels of virgin olive oil with carnauba wax and monoglyceride as spreadable products. *Grasas y Aceites*, 65, e040-e040.
66. Omar, K. A., & Sadeghi, R. (2023). Database of deep eutectic solvents and their physical properties: A review. *Journal of Molecular Liquids*, 384, 121899.
67. Pajareon, S., & Theerakulkait, C. (2017). Effects of spray drying at different inlet air temperatures on antioxidative activity and some properties of Homnil rice bran extract powder. *Pakistan Journal of Nutrition*, 16, 782-788.
68. Paramera, E. I., Konteles, S. J., & Karathanos, V. T. (2011). Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*, β -cyclodextrin and modified starch. *Food Chemistry*, 125, 913-922.
69. Phạm Thị Thuỳ Dương, Nguyễn Đức Vạn Bửu, & Vũ Thị Hương. (2020). Ảnh hưởng của xử lý siêu âm tới quá trình thu nhận chế phẩm giàu protein trong bã nấm men bia. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 20, 131-141.
70. Phan Công Kiên, Phan Văn Tiêu, Phạm Văn Phước, Phạm Trung Hiếu, Mai Văn Hào, Đặng Hồng Ánh, & Phạm Thị Thu (2021). Nghiên cứu quá trình xử lý thu

dịch quả nhỏ phù hợp cho lên men rượu vang. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 4, 65-74.

71. Qi, P., & Onwulata, C. (2011). Physical properties, molecular structures, and protein quality of texturized whey protein isolate: Effect of extrusion moisture content. *Journal of Dairy Science*, 94, 2231-2244.
72. Romano, A., Masia, P., Puccia, E., Oliviero, V., & Ferranti, P. (2017). Encapsulated proanthocyanidins as novel ingredients. *Chemical Engineering Transactions* 57, 1885-1890.
73. Ruprecht, N., Liebig, L., Hajare, V., & Kohlus, R. (2022). *Thermal damages in spray drying-effect of particle size and residence time ratio*. Paper presented at the Proceedings of the 22nd International Drying Symposium on Drying Technology-IDS, Worcester, Massachusetts, USA.
74. Sabater, C., Corzo, N., Olano, A., & Montilla, A. (2018). Enzymatic extraction of pectin from artichoke (*Cynara scolymus* L.) by-products using Celluclast®1.5L. *Carbohydrate Polymers*, 190, 43-49.
75. Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C. P., Ghazali, H. M., Bordbar, S., & Serjouie, A. (2015). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chemistry*, 172, 7-17.
76. Shewale, S., & Rathod, V. K. (2018). Extraction of total phenolic content from *Azadirachta indica* or (neem) leaves: Kinetics study. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 48, 312-320.
77. Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. (2016). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. *Journal of biotechnology*, 239, 23-33.
78. Ton, N. M. N., & Dao, V. H. (2006). Application of spray drying in passion fruit powder production. *VNUHCM Journal of Science and Technology Development*, 9 (4), 69-75.
79. Thakur, D., Singh, A., Prabhakar, P. K., Meghwal, M., & Upadhyay, A. (2022). Optimization and characterization of soybean oil-carnauba wax oleogel. *LWT*, 157, 113108.
80. Trần Thị Thu Trà, Trần Minh Khánh, Tôn Nữ Minh Nguyệt, & Lê Văn Việt Mẫn (2021). Kết hợp enzyme cellulase và pectinase để tăng khả năng trích ly các hợp chất polyphenol từ vỏ và thịt quả cà phê. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ – Kỹ thuật và Công nghệ*, 4, 968-976.
81. Verma, M., Das, S., Dutta, D., & Chaudhuri, S. (2014). Kinetic modeling of cellulase enzyme assisted extraction of polyphenols from *Nyctanthes arbortristis*

- leaves. In Sivaramakrishnan, S., Ilangovan, A., Karthik Raja, R. (Ed.). *Advances in Biotechnology and Patenting*, India, Elsevier, 219-228.
82. Vincken, J.-P., Heng, L., de Groot, A., & Gruppen, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68, 275-297.
 83. Vũ Hồng Sơn & Hà Duyên Tư. (2009). Nghiên cứu quá trình trích ly polyphenol từ chè xanh vụn. Phần 1: Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 47, 81-86.
 84. Wang, X., Ding, Z., Zhao, Y., Prakash, S., Liu, W., Han, J., & Wang, Z. (2021). Effects of lutein particle size in embedding emulsions on encapsulation efficiency, storage stability, and dissolution rate of microencapsules through spray drying. *LWT*, 146, 111430.
 85. Wei, Z.-F., Wang, X.-Q., Peng, X., Wang, W., Zhao, C.-J., Zu, Y.-G., & Fu, Y.-J. (2015). Fast and green extraction and separation of main bioactive flavonoids from *Radix Scutellariae*. *Industrial Crops and Products*, 63, 175-181.
 86. Xiao, Z., Xia, J., Zhao, Q., Niu, Y., & Zhao, D. (2022). Maltodextrin as wall material for microcapsules: A review. *Carbohydrate Polymers*, 298, 120113.
 87. Yao, H., Liu, B., He, L., Hu, J., & Liu, H. (2023). The incorporation of peach gum polysaccharide into soy protein based microparticles improves probiotic bacterial survival during simulated gastrointestinal digestion and storage. *Food Chemistry*, 413, 135596.
 88. Yılmaz, E., & Ögütçü, M. (2014). Properties and stability of hazelnut oil organogels with beeswax and monoglyceride. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 1007-1017.
 89. Zhang, X., Su, J., Chu, X., & Wang, X. (2022). A green method of extracting and recovering flavonoids from *Acanthopanax senticosus* using deep eutectic solvents. *Molecules*, 27, 923.