

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

TRƯỜNG ĐẠI HỌC  
NÔNG LÂM THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

LÊ VĂN NHẤT HOÀI

TRÍCH LY VÀ THU NHẬN DỊCH CHIẾT GIÀU  
POLYPHENOL TỪ HÚNG LỬI (*Mentha quatica*  
Linn. var. *crispa*) VÀ THỬ NGHIỆM ỨNG DỤNG  
TRONG BẢO QUẢN THỰC PHẨM

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ  
NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

Tp. Hồ Chí Minh, năm 2024

Công trình được hoàn thành tại:

TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH

Người hướng dẫn khoa học:  
PGS.TS. Lê Trung Thiên  
PGS.TS Đàm Sao Mai

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước hội đồng đánh giá luận án cấp trường họp tại Trường ĐH Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh, vào lúc ..... giờ ..... ngày ..... tháng ..... năm .....

Có thể tìm luận án tại:

Thư viện Quốc Gia Việt Nam

Thư viện ĐH Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

## **MỞ ĐẦU**

### **Tính cấp thiết của vấn đề nghiên cứu**

Việt Nam là một nước nhiệt đới với nhiều loại cây trồng đa dạng, đặc biệt là các loại cây gia vị, thảo mộc, nhiều loại gia vị được trồng quanh năm. Tuy nhiên một số thời điểm trong năm không thu hoạch được do giá thấp, việc sử dụng hiệu quả các sản phẩm nông nghiệp không những giảm thiệt hại mà còn mang lại lợi ích kinh tế cao cũng như giảm thiểu những vấn đề về môi trường.

Các nguyên liệu thực vật được biết đến với hàm lượng cao các chất chuyển hóa thứ cấp như các hợp chất polyphenol, đây là nhóm chất có hoạt tính kháng oxy hóa và kháng vi sinh vật. Ngoài ra việc tiêu thụ polyphenol tự nhiên có liên quan đến việc giảm nguy cơ mắc một số bệnh như bệnh tim mạch, Alzheimer, tiểu đường, đột quỵ và những bệnh mà nguyên nhân có liên quan đến quá trình oxy hóa và các gốc tự do trong cơ thể như ung thư (Adefegha và ctv, 2022).

Bên cạnh đó vấn đề làm dụng hóa chất trong bảo quản và chế biến thực phẩm cũng được quan tâm từ trước tới nay. Nhu cầu tìm ra các chất bảo quản tự nhiên, an toàn ngày càng cấp thiết. Thực tế, an toàn thực phẩm và các phương pháp sản xuất sạch hơn trong chế biến thực phẩm luôn thu hút các nhà nghiên cứu và nhà đầu tư.

Húng lũi (*Mentha aquatica* Linn. var. *Crispa*) được sử dụng phổ biến ở Việt Nam cũng như các nước khác ở Châu Á. Nó thường được sử dụng như cây gia vị trong các món ăn hoặc có thể ăn sống. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học như khả năng kháng oxy hóa và kháng vi sinh vật đã được thực hiện nhiều trên những cây thuộc chi *Metha* cho thấy kết quả rất khả quan.

Cho đến hiện nay việc trích ly polyphenol từ húng lũi, xác định các thành phần trong dịch trích polyphenol từ húng lũi và ứng dụng dịch trích này chưa được thực hiện. Thêm vào đó với hoạt tính polyphenol đã biết, việc trích ly, tạo ra chế phẩm và ứng dụng trong sản xuất thực phẩm có thể mang đến một giải pháp đầy tiềm năng nhằm đảm bảo an toàn thực phẩm, hạn chế sử dụng các chất bảo quản nhân tạo quá nhiều như hiện nay.

Vì vậy đề tài "Trích ly và thu nhận dịch chiết giàu polyphenol từ húng lũi (*Mentha aquatica* Linn. var. *crispa*) và thử nghiệm ứng dụng trong bảo quản thực phẩm" được thực hiện nhằm tăng giá trị kinh tế của cây húng lũi đồng thời góp phần giải quyết vấn đề bảo quản thực phẩm bằng các chất bảo quản tự nhiên không độc hại.

### **Mục tiêu nghiên cứu**

Mục tiêu đề tài là trích ly và thu dịch chiết giàu polyphenol từ húng lũi, tạo chế phẩm và đánh giá hoạt tính của dịch trích ly cũng như chế phẩm thu được.

Với mục tiêu đó các mục tiêu cụ thể được thực hiện bao gồm:

Tìm được các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol từ húng lũi bằng phương pháp ngâm chiết truyền thống và phương pháp ngâm chiết có hỗ trợ enzyme hoặc siêu âm, từ đó xác định được các thông số tối ưu của quá trình trích ly.

Sản xuất các chế phẩm (chế phẩm cao chiết từ húng lũi, chế phẩm vi bao bằng phương pháp sấy phun, chế phẩm nano bạc) từ dịch trích ly húng lũi. Đánh giá hoạt tính sinh học của các chế phẩm và xác định thành phần cao chiết thu được, từ đó ứng dụng các chế phẩm vào bảo quản thực phẩm.

### **Nội dung nghiên cứu**

#### **Nội dung 1.** Trích ly polyphenol từ húng lũi

(1) Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol từ húng lũi (*Mentha aquatica* Linn. var. *crispa*) bằng phương pháp ngâm chiết truyền thống và phương pháp ngâm chiết có hỗ trợ enzym hoặc siêu âm.

(2) Tối ưu hóa quá trình trích ly polyphenol từ húng lũi bằng phương pháp đáp ứng bề mặt với mô hình Box – Behnken

#### **Nội dung 2.** Sản xuất chế phẩm và đánh giá hoạt tính sinh học

(1) Sản xuất cao chiết từ húng lũi và xác định hoạt tính sinh học cũng như thành phần của cao húng lũi thu được.

(2) Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng của quá trình vi bao dịch chiết giàu polyphenol từ húng lũi (*Mentha aquatica* Linn. var. *crispa*) bằng phương pháp sấy phun. Xác định hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của sản phẩm vi bao thu được.

(3) Nghiên cứu tổng hợp xanh nano bạc. Xác định hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của nano thu được.

#### **Nội dung 3.** Thử nghiệm ứng dụng chế phẩm trong bảo quản thực phẩm

(1) Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung cao chiết và sản phẩm sấy phun đến chất lượng cá basa bảo quản đông lạnh.

(2) Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung cao chiết và sản phẩm sấy phun đến chất lượng cá basa bảo quản lạnh.

### **Ý nghĩa của luận án**

**Ý nghĩa khoa học:** Kết quả của luận án cung cấp các thông số tối ưu để trích ly polyphenol từ húng lũi (*Mentha aquatica* Linn. var. *crispa*), khả năng kháng oxy hóa và kháng khuẩn của các chế phẩm từ dịch trích ly húng lũi. Nghiên cứu còn cho thấy hiệu quả của việc ứng dụng chế phẩm vào bảo quản cá basa nhằm kéo dài thời gian sử dụng, cung cấp thêm một giải pháp sử dụng các chất bảo quản tự nhiên, an toàn trong bảo quản thực phẩm.

Nghiên cứu đã xác định được một số thành phần trong dịch trích ly polyphenol từ húng lũi, trong đó có chất *p*-mentha-3,8-dien-1-ol và *cis-p*-menth-3-ene-1,2,8-triol lần đầu được công bố từ loài *Mentha aquatica*, bên cạnh đó cũng đã xác định được chất methyl- $\beta$ -D galactopyranoside, chất này lần đầu tiên được tìm thấy trong chi *Mentha*. Đồng thời chất *trans-p*-menth-3-ene-1,2,8-triol, chất này được biết đến qua quá trình tổng hợp chuyển từ cấu trúc dạng *cis* sang cấu trúc dạng *trans* với hai giai đoạn oxy hóa và khử, nhưng đây lần đầu phân lập được từ tự nhiên.

Luận án cũng đã thành công trong việc tổng hợp xanh nano bạc bằng dịch chiết từ húng lũi, nano thu được có hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa cao mở ra hướng nghiên cứu ứng dụng chế phẩm này trong thực phẩm và các lĩnh vực khác.

**Ý nghĩa thực tiễn:** Nghiên cứu đã thành công trong việc tạo ra các chế phẩm từ dịch chiết polyphenol húng lũi và đã cho thấy hiệu quả của các chế phẩm này trong bảo quản lạnh và lạnh đông cá basa, điều này giúp bắt kịp xu thế mới trong bảo quản thực phẩm an toàn.

Bên cạnh việc khai thác tinh dầu từ húng lũi như trước đây thì khai thác polyphenol từ húng lũi cũng cho kết quả khả quan, việc này sẽ giúp khai thác hiệu quả hơn giá trị của cây húng lũi từ đó giúp nâng cao hiệu quả kinh tế cho người trồng cây này. Hơn nữa ngoài việc bảo cá basa, các chế phẩm từ dịch chiết polyphenol húng lũi cũng có thể ứng dụng bảo quản cho nhiều loại thực phẩm khác trong xử lý sau thu hoạch hay chế biến, nâng cao chất lượng sản phẩm.

### **Điểm mới của luận án**

Đây là đề tài đầu tiên tại Việt Nam thực hiện các nghiên cứu tổng thể về polyphenol trong cây húng lũi. Kết quả của đề tài có các điểm mới nổi bật như sau: Xác định được các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol từ húng lũi bằng phương pháp ngâm chiết truyền thống và phương pháp ngâm chiết có hỗ trợ siêu âm hoặc enzyme.

Tối ưu được các điều kiện của quá trình trích ly polyphenol từ húng lũi bằng phương pháp ngâm chiết truyền thống

Xác định được một số thành phần trong dịch chiết polyphenol từ húng lũi, đặc biệt một số chất lần đầu được tìm thấy trong loài *Mentha aquatica* như chất *p*-mentha-3,8-dien-1-ol và *cis-p*-menth-3-ene-1,2,8-triol, ngoài ra chất methyl- $\beta$ -D galactopyranoside lần đầu tiên được tìm thấy trong chi *Mentha*. Hơn nữa đã xác định được chất *trans-p*-menth-3-ene-1,2,8-triol, chất này được biết đến qua quá trình tổng hợp chuyển từ cấu trúc dạng *cis* sang dạng *trans* với hai giai đoạn oxy hóa và khử, nhưng đây lần đầu phân lập từ tự nhiên.

Tim được điều kiện tối ưu để vi bao polyphenol từ húng lũi, sản phẩm vi bao thu được có tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn tốt.

Tổng hợp thành công nano bạc bằng dịch chiết polyphenol từ húng lũi, các hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của nano thu được rất cao.

Các chế phẩm từ dịch chiết polyphenol húng lũi cho thấy hiệu quả trong bảo quản lạnh và lạnh đông cá basa.

## **CHƯƠNG 1 TỔNG QUAN**

### **1.1 Polyphenol**

#### **1.1.1 Khái niệm – phân loại polyphenol**

Polyphenol là hợp chất có chứa một hay nhiều vòng thơm với một hoặc nhiều nhóm hydroxyl (-OH), chúng phân bố rộng rãi trong giới thực vật và có sản phẩm chuyển hóa bậc hai nhiều nhất trong thực vật với hơn 8000 dạng cấu trúc của phenolic khác nhau đang được biết, từ các phân tử đơn giản như acid phenolic đến các hợp chất tổng hợp bậc cao như tannin (Dai và Mumper, 2010).

#### **1.1.2 Hoạt tính sinh học của polyphenol**

Polyphenol được biết đến với tính chất chống oxy hóa, có hiệu ứng tích cực trong việc phòng chống các bệnh lý liên quan đến sự hình thành các gốc tự do, kháng viêm, chống ung thư và khả năng điều chỉnh một số chức năng quan trọng trong tế bào của chúng (Manach và ctv, 2004; Rasmussen và ctv, 2005).

Ngoài ra nó cũng có tác dụng chống dị ứng, chống viêm, chống ung thư, hạ huyết áp, kháng sinh, kháng vi-rút và kháng nấm.

Các đặc tính kháng khuẩn là vấn đề ngày càng được quan tâm, nhu cầu tìm ra chất kháng khuẩn mạnh hỗ trợ trị liệu cùng kháng sinh trong trị liệu, tác dụng hiệp đồng

của polyphenol kết hợp với các thuốc kháng sinh thông thường chống lại vi sinh vật đa kháng thuốc được thảo luận (Álvarez-Martínez và ctv, 2020; Daglia, 2012).

## 1.2 Húng lũi

### 1.2.1 Các đặc tính thực vật và ứng dụng của cây húng lũi

Húng lũi hay còn gọi là Húng lủi, húng dũi, húng nhũi, húng láng. Tên khoa học là *Mentha aquatica* Linn. var. *crispa* (Labiatae hay Lamiaceae). Thuộc chi: *Mentha*. Thuộc họ: Lamiaceae (Hộ, 1999). Húng lũi có nhiều ứng dụng trong đời sống (Bảng 1.1)

Bảng 1.1 Các ứng dụng của húng lũi

Ứng dụng	Nguồn tham khảo
Hỗ trợ tiêu hóa và tăng khả năng chuyển hóa chất dinh dưỡng của đường ruột	Chi (2021)
Trị đầy bụng khó tiêu.	Chi (2021)
Sát trùng vết thương.	Chi (2021)
Trị chứng nhức đầu, tiêu chảy	Chi (2021)
Trị cảm lạnh và các vấn đề về hô hấp	Pooley (2005)
Làm thuốc bổ dạ dày	Zargari (1990)
Dùng trong các sản phẩm nha khoa và răng miệng	Dhifi và ctv (2011)

### 1.2.2 Hoạt tính sinh học của cây húng lũi

Húng lũi thuộc chi *Mentha* nên cũng có những tính chất đặc điểm tương tự các cây trong chi này. Chúng có hoạt tính sinh học như khả năng chống oxy hóa, kháng vi sinh vật, diệt côn trùng, chống ung thư, kháng viêm. Tinh dầu và dịch chiết của các loài thuộc chi bạc hà có hoạt tính chống oxy hóa (Kunnumakkara và ctv, 2009). Các hợp chất chống oxy hóa có trong các chiết xuất đóng vai trò như các tác nhân nhường hydro và electron hoặc tạo phức kim loại. Hơn nữa, các chất chiết xuất phân cực của các loài *Mentha* cho thấy hoạt động tốt hơn nhiều so với các loại tinh dầu (Gulluce và ctv, 2007; Kamkar và ctv, 2010; Mata và ctv, 2007; Mkaddem và ctv, 2009).

## CHƯƠNG 2 NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

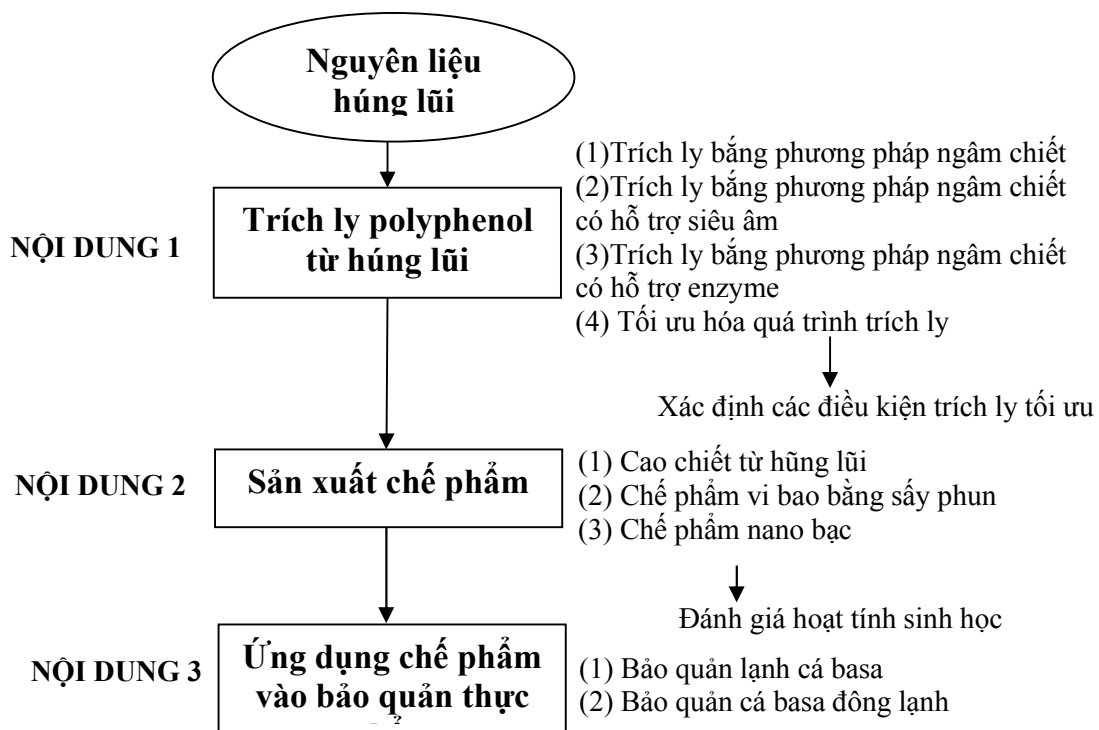
### 2.1 Nguyên liệu

Húng lũi được thu hái tại Long An và được định danh tên khoa học bởi TS. Văn Hồng Thiện tại Viện Công nghệ Sinh học – Thực phẩm, Đại học Công Nghiệp TP.

Hồ Chí Minh. Mẫu được sấy khô ở 40°C cho đến khi độ ẩm nguyên liệu đạt dưới 10%. Đem đi nghiền nhỏ sau đó bao gói chân không, bảo quản lạnh ở 0 – 4°C. Các hóa chất và vật liệu khác sử dụng trong nghiên cứu đều có nguồn gốc rõ ràng và được cung cấp bởi các nhà cung cấp uy tín.

## 2.2 Phương pháp nghiên cứu

Quá trình thực hiện nghiên cứu theo sơ đồ tổng quát như Hình 2.1



Hình 2.2 Sơ đồ tổng quát các nội dung nghiên cứu

### 2.2.1 Nội dung 1. Trích ly polyphenol từ húng lũi

#### 2.2.1.1 Bố trí thí nghiệm trích ly theo phương pháp ngâm chiết

Trích ly với các loại dung môi nước, ethanol, acetone; nồng độ dung môi acetone 25%, 50%, 75%, 100%; tỷ lệ nguyên liệu:dung môi lần lượt là 1:12; 1:20; 1:28; 1:36; nhiệt độ trích ly là nhiệt độ phòng, 40, 50 và 60°C; thời gian trích ly lần lượt là 1, 2, 3 và 4 giờ. Trích ly theo nguyên tắc thay đổi một yếu tố và cố định các yếu tố còn lại. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm mục tiêu: thu được dịch trích có TPC và AA cao nhất

#### 2.2.1.2 Bố trí thí nghiệm trích ly theo phương pháp có hỗ trợ siêu âm

Trích ly với dung môi acetone ở các nồng độ 25%, 50%, 75%, 100%; tỷ lệ nguyên liệu:dung môi lần lượt là 1:12; 1:20; 1:28; 1:36; nhiệt độ trích ly lần lượt là nhiệt



độ phòng, 40, 50 và 60°C; thời gian trích ly lần lượt là 20, 30, 40 và 50 phút. Trích ly theo nguyên tắc thay đổi một yếu tố và cố định các yếu tố còn lại. Các thí nghiệm được thực hiện trong bể siêu âm UL Trasonic Cleaner, AS.ONE, Model AS72GTU, 290W, 35kHz, mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm mục tiêu: thu được dịch trích có TPC và AA cao nhất.

### **2.2.1.3 Bố trí thí nghiệm trích ly theo phương pháp có hỗ trợ enzym**

Cho húng lũi đã xử lý như mục 2.1 vào nước với tỷ lệ 1:10, sau đó bổ sung chế phẩm enzyme Celluclast (hoạt lực 700 EGU/g), điều chỉnh pH lần lượt là: 4,5; 5,0; 5,5 và 6,0; nồng độ enzyme là 1%, 2%, 3% và 4%; nhiệt độ tiền xử lý enzyme là nhiệt độ phòng, 40, 50 và 60°C và thời gian tiền xử lý enzyme là 15, 30, 45 và 60 phút. Sau thời gian tiền xử lý thì bổ sung thêm acetone cho đạt nồng độ dung môi là 50% và trích ly thêm 30 phút ở nhiệt độ 40°C. Trích ly theo nguyên tắc thay đổi một yếu tố và cố định các yếu tố còn lại. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm mục tiêu: thu được dịch trích có TPC và AA cao nhất.

### **2.2.1.4 Bố trí thí nghiệm tối ưu hóa**

Thí nghiệm tối ưu hóa được bố trí theo phần mềm JMP, chọn mô hình Box – Behnken với mô hình đa thức bậc hai có ba biến độc lập, bao gồm X1: nhiệt độ trích ly (°C), X2: thời gian trích ly (giờ), X3: tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi. Hàm mục tiêu bao gồm Y1: hàm lượng TPC (mg GAE/g ck), Y2: khả năng kháng oxy hóa theo DPPH ( $\mu\text{mol TE/g ck}$ ), Y<sub>3</sub>: khả năng kháng oxy hóa theo ABTS ( $\mu\text{mol TE/g ck}$ ), Y4: khả năng kháng oxy hóa theo FRAP ( $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g ck}$ ), thực hiện theo phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM).

## **2.2.2. Nội dung 2. Sản xuất chế phẩm và đánh giá hoạt tính sinh học**

### **2.2.2.1 Xác định hoạt tính sinh học và thành phần của cao chiết**

#### **a. Xác định hoạt tính sinh học của cao chiết**

Húng lũi được trích ly với dung môi acetone 50% với tỷ lệ nguyên liệu / dung môi là 1/20 (w/v) ở nhiệt độ 40°C trong 2 giờ, lọc thu dịch lọc đem cô quay chân không ở 60°C để thu cao acetone. Cao acetone thu được đem xác định TPC và hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH, ABTS, FRAP, khả năng kháng khuẩn trên 4 chủng vi khuẩn *Escherichia coli* – ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* – ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* – ATCC 25923, và *Bacillus subtilis* – ATCC 25924.

#### **b. Phân lập các hợp chất trong cao chiết**

Từ cao chiết acetone ban đầu được hòa tan vào nước, sử dụng trích ly lỏng lỏng kết hợp cô quay chân không để thu cao hexan và cao etyl acetate. Dùng sắc ký cột để chia cao thành nhiều phân đoạn, chọn các phân đoạn có vết rõ trên Sắc ký bản mỏng để phân lập chất tinh khiết. Chất tinh khiết sẽ được phân lập dựa trên các kỹ thuật sắc ký cột pha thường, kết hợp với sắc ký bản mỏng.

### **c. Xác định cấu trúc hoá học và định danh các hợp chất**

Để xác định cấu trúc hoá học các hợp chất phân lập được, sử dụng kỹ thuật đo độ quay cực  $[\alpha]_D$  và phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR).

#### **2.2.2.2 Vi bao bằng kỹ thuật sấy phun**

Thí nghiệm được thực hiện với 2 yếu tố thay đổi là hàm lượng gum Arabic (hoặc malto dextrin) bổ sung với nồng độ 10%, 15% và 20% và nhiệt độ sấy là 130, 150 và 170°C bao gồm 9 mẫu, lặp lại 3 lần. Hòa tan cao acetone vào nước cất theo tỷ lệ 6g cao trong 100mL nước, bổ sung gum Arabic (hoặc malto dextrin) vào rồi đồng nhất mẫu bằng máy khuấy ở tốc độ 10000 vòng/phút trong 10 phút, sau đó sấy phun trong máy sấy phun (Lab Plant SD-06) ở các nhiệt độ xác định. Nhiệt độ đầu ra của không khí được giữ trong khoảng 65 – 70°C. Hàm mục tiêu: thu được sản phẩm có hiệu suất thu hồi (EY), TPC và hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH, ABTS, FRAP cao nhất.

Mẫu tốt nhất thu được từ quá trình sấy phun với chất mang là GA và MD sẽ được đem xác định hoạt tính kháng oxy hóa  $IC_{50}$  theo DPPH và ABTS, xác định khả năng kháng khuẩn theo phương pháp MIC trên 4 chủng vi khuẩn *Escherichia coli* – ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* – ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* – ATCC 25923, và *Bacillus subtilis* – ATCC 25924. Ngoài ra các mẫu cũng được đem đo SEM và DLS.

#### **2.2.2.3 Bố trí thí nghiệm xác định hạn sử dụng (shelflife) của cao chiết và chế phẩm vi bao bằng sấy phun**

Hạn sử dụng được xác định theo mô hình Q10, thực hiện theo Al-Haushey và Moussa (2015) với một số hiệu chỉnh nhỏ, nhiệt độ khảo sát là 50 và 60°C. Các chế phẩm sấy phun và cao chiết được cân theo các mẫu có khối lượng bằng nhau đóng gói trong bao bì PE và hút chân không, sau đó bảo quản ở 50 và 60°C.

#### **2.2.2.4 Bố trí thí nghiệm quá trình tổng hợp nano bạc**

Húng lũi được trích ly với điều kiện tối ưu. 10 mL dịch trích ly húng lũi thêm dung dịch AgNO<sub>3</sub> và nước cất vừa đủ 100 mL sao cho đạt được các nồng độ AgNO<sub>3</sub> ban đầu là 1 mM, 5 mM và 9 mM, khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng, nano hình thành đem đo phổ UV-Vis, xác định kích thước hạt bằng DLS, đo phổ FTIR và xác định khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán đĩa. Hàm mục tiêu: xác định được các thông số để thu được nano có hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa tốt nhất

Nano bạc tốt nhất thu được đem xác định khả năng kháng khuẩn theo phương pháp MIC trên 4 chủng vi khuẩn bao gồm *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. aureus*, and *B. subtilis*, đồng thời đánh giá khả năng kháng oxy hóa theo phương pháp DPPH và ABTS.

#### **2.2.3 Nội dung 3. Bước đầu ứng dụng các chế phẩm trong bảo quản thực phẩm**

##### **2.2.3.1 Ứng dụng cao chiết và sản phẩm sấy phun bảo quản cá basa đông lạnh**

Cá basa mua ở chợ về trong tình trạng còn sống, sau đó được fillet, làm sạch và cắt miếng với khối lượng khoảng 20 gam, rồi ngâm vào các dung dịch đã chuẩn bị trước bao gồm nước cất vô trùng, dung dịch cao chiết có nồng độ 6,25 mg/mL, dung dịch của sản phẩm sấy phun với chất mang MD và GA có nồng độ là 12,5 mg/mL, dung dịch propyl gallat có nồng độ 100 ppm và dung dịch natri benzoat 200 ppm trong 30 phút, để ráo 10 phút rồi đóng gói PE và lưu trữ ở nhiệt độ -18°C. Hàng tháng lấy mẫu xác định các chỉ tiêu pH, PV, TBARS và tổng vi sinh vật hiếu khí trong 6 tháng. Mục tiêu: đánh giá khả năng bảo quản cá basa đông lạnh của cao chiết và sản phẩm vi bao

##### **2.2.3.2 Ứng dụng cao chiết và sản phẩm sấy phun bảo quản lạnh cá basa**

Quy trình thực hiện thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của các chất bảo quản khác nhau đến chất lượng cá basa được thực hiện tương tự cá basa đông lạnh, thay vì bảo quản đông ở -18°C, cá sẽ được bảo quản ở nhiệt độ 4°C. Lấy mẫu xác định các chỉ tiêu pH, PV, TBARS và tổng vi sinh vật hiếu khí 2 ngày 1 lần. Mục tiêu: đánh giá khả năng bảo quản lạnh cá basa của cao chiết và sản phẩm vi bao

### **2.3 Các phương pháp phân tích**

Xác định hàm lượng phenolic dựa theo Singleton và Rossi (1965)

Xác định khả năng khử gốc tự do DPPH theo Enujiugha và ctv (2012)

Xác định khả năng kháng oxy hóa theo ABTS theo Biskup và ctv (2013)  
Xác định khả năng kháng oxy hóa theo FRAP theo Biskup và ctv (2013)  
Xác định khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán đĩa theo Hudzicki (2009)  
Xác định khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp MIC theo Oonmetta-aree và ctv (2006)  
Xác định chỉ số PV theo phương pháp chuẩn độ Iod của Alghazeer và ctv (2008)  
Xác định chỉ số TBARS theo Duy và Tuấn (2013)  
Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí trong mẫu theo TCVN 11039-1:2015 (2015)  
Xác định pH theo Yang và ctv (2019)  
Xác định kích thước hạt theo phương pháp DLS (dynamic light scattering)  
Đo phổ FTIR (Fourier-transform-infrared) trong khoảng bước sóng 400-4000cm<sup>-1</sup>  
Đo SEM (scanning electron microscope) để xác định kích thước và hình dạng của hạt.  
Đo phổ <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz) và <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz).

## **2.4 Xử lý số liệu**

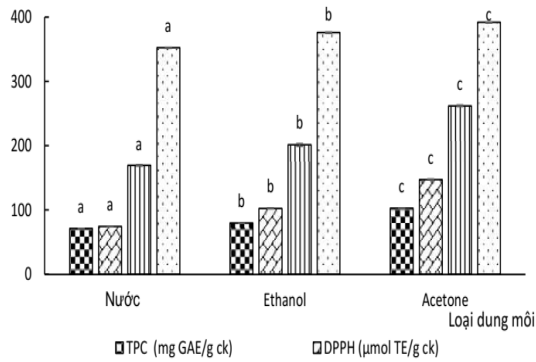
Sử dụng phần mềm IBM SPSS Statistics 20 để phân tích phương sai (Anova) và so sánh khác biệt có ý nghĩa với mức ý nghĩa 95% ( $p \leq 0,05$ ) được xác định theo quy trình LSD. Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn (TB  $\pm$  SD)

Sử dụng phần mềm Microsoft Excel để dựng đồ thị và xác định phương trình hồi quy. Sử dụng phần mềm JMP 10.0.0 để bố trí thí nghiệm tối ưu hóa và phân tích dữ liệu.

## **CHƯƠNG 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN**

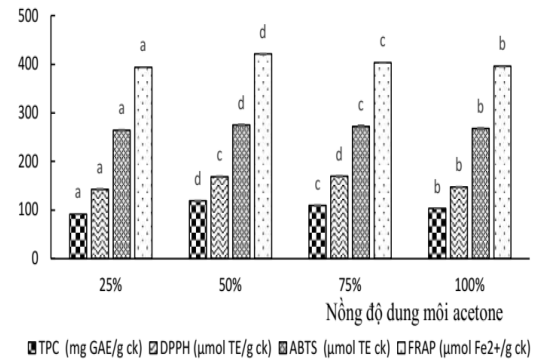
### **3.1 Nội dung 1. Trích ly polyphenol từ húng lũi**

#### **3.1.1 Trích ly bằng phương pháp ngâm chiết**



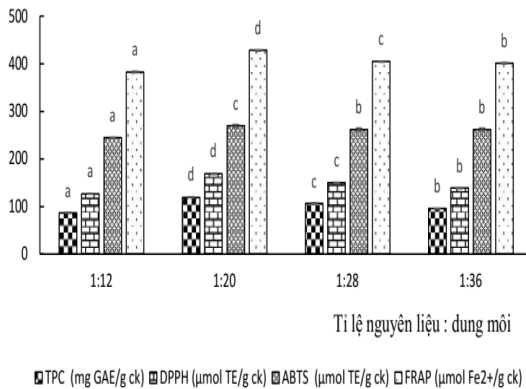
(a, b, c trong cùng chi tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.1 Ảnh hưởng của loại dung môi đến TPC và AA của dịch chiết



(a, b, c, d trong cùng chi tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

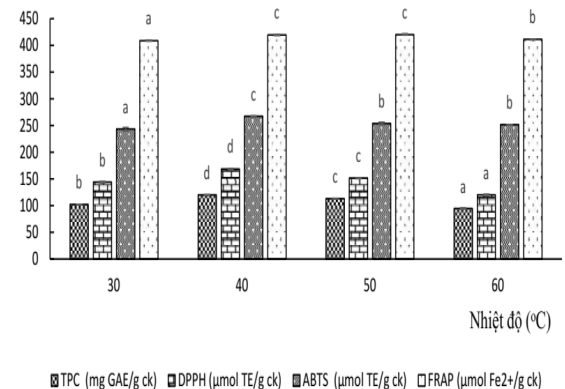
Hình 3.2 Ảnh hưởng nồng độ dung môi acetone đến TPC và AA của dịch chiết



(a, b, c, d trong cùng chi tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

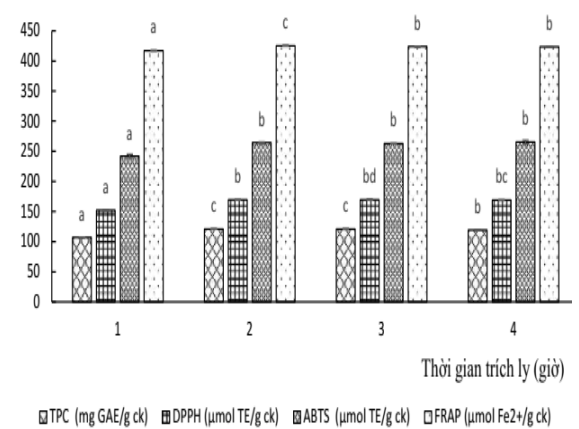
Hình 3.3 Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến TPC và AA của dịch chiết

Các thông số tối ưu thu được bao gồm nồng độ dung môi acetone 50%, tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1:20, nhiệt độ trích ly ở 40°C và thời gian trích ly 2h. Với các điều kiện trích ly đã nêu ta thu được hàm lượng TPC cao nhất là 120,92 mg GAE/g ck, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH, ABTS và FRAP lần lượt là 169,36 µmol TE/g ck, 264,03 µmol TE/g ck và 425,35 µmol Fe<sup>2+</sup>/g ck.



(a, b, c, d trong cùng chi tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến TPC và AA của dịch chiết

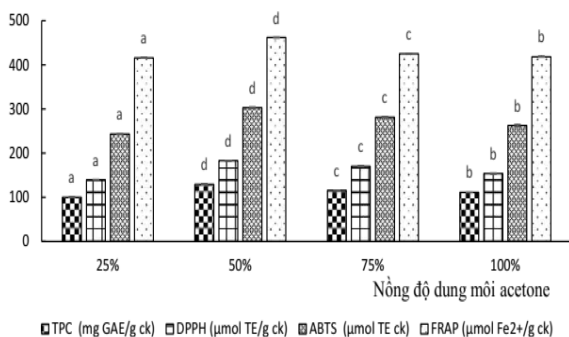


(a, b, c, d trong cùng chi tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.5 Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến TPC và AA của dịch chiết

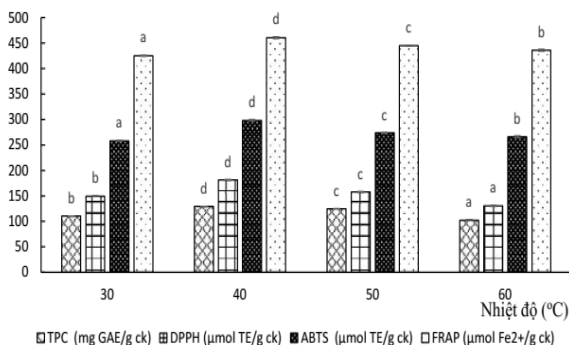
### 3.1.2. Trích ly có hỗ trợ siêu âm

Phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm thu được các thông số tối ưu là: Nồng độ dung môi acetone sử dụng là 50%, tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1:20, nhiệt độ trích ly là 40°C. Thời gian siêu âm là 30 phút. Hàm lượng TPC cao nhất là 130,61 mg GAE/g ck, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH, ABTS và FRAP lần lượt là 181,78  $\mu\text{mol TE/g ck}$ , 303,42  $\mu\text{mol TE/g ck}$  và 46,23  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g ck}$ .



(a, b, c, d trong cùng chi tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.6 Ảnh hưởng nồng độ dung môi đến TPC và AA của dịch chiết

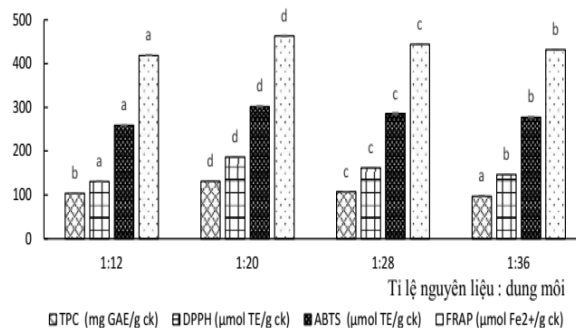


(a, b, c, d trong cùng chi tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.8 Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến TPC và AA của dịch chiết

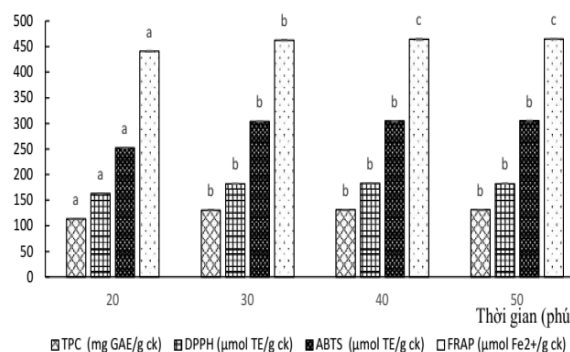
### 3.1.3. Trích ly có hỗ trợ enzym

Trong phương pháp trích ly có hỗ trợ enzym, các thông số tối ưu là: pH là 5.0, hàm lượng enzyme sử dụng là 2% so với nguyên liệu, nhiệt độ trích ly là 50°C, thời gian trích 60 phút. Hàm lượng TPC cao nhất là 125,49 mg GAE/g ck, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH, ABTS và FRAP lần lượt là 176,55  $\mu\text{mol TE/g ck}$ , 286,34  $\mu\text{mol TE/g ck}$  và 441,65  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g ck}$ .



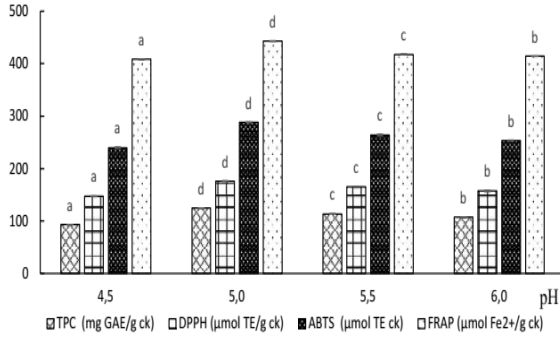
(a, b, c, d trong cùng chi tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.7 Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến TPC và AA của dịch chiết



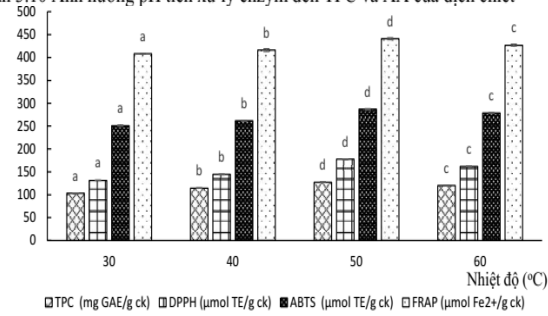
(a, b, c trong cùng chi tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.9 Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến TPC và AA của dịch chiết



(a, b, c, d trong cùng chỉ tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.10 Ảnh hưởng pH tiền xử lý enzyme đến TPC và AA của dịch chiết



(a, b, c, d trong cùng chỉ tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.12 Ảnh hưởng của nhiệt độ tiền xử lý enzyme đến TPC và AA của dịch chiết

### 3.1.4. Tối ưu hóa quá trình trích ly

Kết quả thí nghiệm và xử lý theo phần mềm JMP thu được các phương trình hồi quy như sau:

$$Y_1 = 120,07 + 3,03X_1 + 2,5X_2 - 2,13X_3 - 7,9X_1^2 - 7,31X_2^2 - 9,29X_3^2 \quad (1)$$

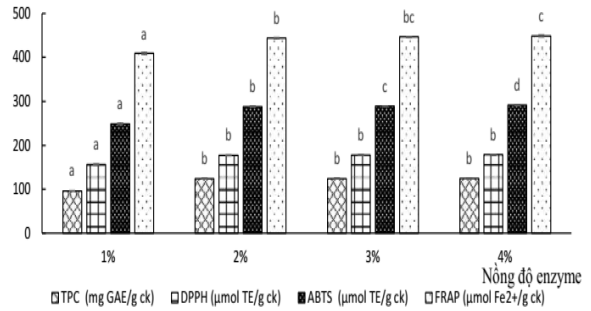
$$Y_2 = 169,14 + 4,42X_1 + 2,76X_2 - 3,61X_3 - 11,28X_1^2 - 10,45X_2^2 - 13,95X_3^2 \quad (2)$$

$$Y_3 = 262,6 + 7,16X_1 + 4,17X_2 - 5,83X_3 - 17,24X_1^2 - 16,25X_2^2 - 20,3X_3^2 \quad (3)$$

$$Y_4 = 421,17 + 11,26X_1 + 8,855.07X_2 - 2,56X_3 - 29,03X_1^2 - 25,76X_2^2 - 32,93X_3^2 \quad (4)$$

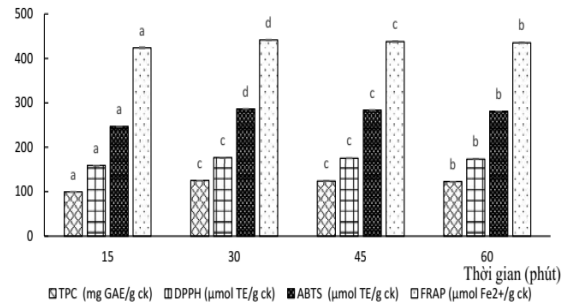
Trong các phương trình trên thì X<sub>1</sub>: nhiệt độ trích ly (°C), X<sub>2</sub>: thời gian trích ly (giờ), X<sub>3</sub>: tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi. Y<sub>1</sub>: hàm lượng TPC, Y<sub>2</sub>: khả năng kháng oxy hóa theo DPPH, Y<sub>3</sub>: khả năng kháng oxy hóa theo ABTS, Y<sub>4</sub>: khả năng kháng oxy hóa theo FRAP.

Kết quả dự đoán của mô hình là nhiệt độ trích ly là 40,3°C, thời gian trích ly là 2,03 giờ và tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/19,85 tương ứng với hàm lượng TPC cao nhất là 120,39 mg GAE/g ck; DPPH là 169,39 μmol TE/g ck; ABTS là 263,02 μmol TE/g ck và FRAP là 421,84 μmol Fe<sup>2+</sup>/g ck. Kết quả dự đoán của mô hình như hình 3.14



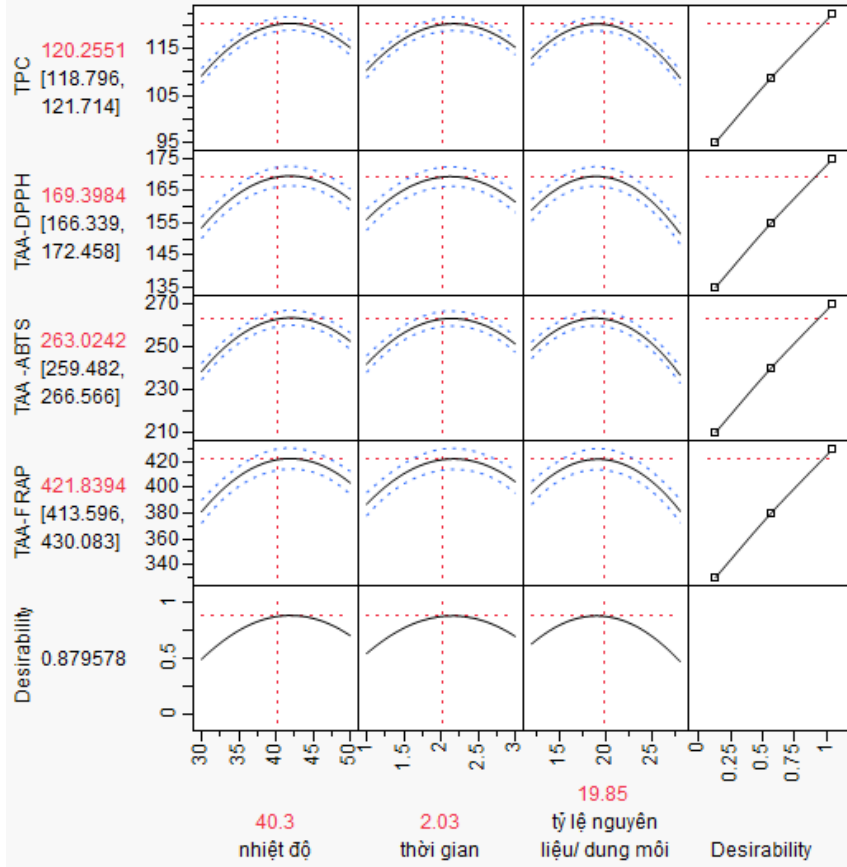
(a, b, c trong cùng chỉ tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.11 Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến TPC và AA của dịch chiết



(a, b, c, d trong cùng chỉ tiêu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%)

Hình 3.13 Ảnh hưởng của thời gian tiền xử lý enzyme đến TPC và AA của dịch chiết



Hình 3.1 Kết quả dự đoán các thông số tối ưu của mô hình

### 3.2 Nội dung 2. Sản xuất chế phẩm và đánh giá hoạt tính sinh học

#### 3.2.1 Hoạt tính sinh học và thành phần của cao chiết

Các tính chất của cao chiết được trình bày trong Bảng 3.1

Bảng 3.1 Hàm ẩm TPC, hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH, ABTS, FRAP và hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết

Chỉ tiêu	Giá trị	
Hàm ẩm (%)	6,80±0,10	
TPC (mg GAE/g ck)	247.25±0,71	
DPPH (μmol TE/g ck)	419,59±0,52	
ABTS (μmol TE/g ck)	711,17±0,82	
FRAP (μmol Fe <sup>2+</sup> /g ck)	1018,47±3,27	
MIC (mg/mL)	<i>E. coli</i>	3,13
	<i>S. enteritidis</i>	3,13
	<i>S. aureus</i>	1,56
	<i>B. subtilis</i>	1,56



Kết quả phân lập định danh các chất trong cao chiết từ húng lũi thu được 6 chất và được trình bày trong Bảng 3.2

Bảng 3.2 Kết quả phân lập định danh các chất trong cao chiết húng lũi

STT	Ký hiệu	Danh pháp	Khối lượng thu được
1	MA1	<i>cis-p</i> -menth-3-ene-1,2,8-triol	7,2 mg
2	MA2	<i>trans-p</i> -menth-3-ene-1,2,8-triol	20,7 mg
3	MA3	<i>p</i> -mentha-3,8-dien-1-ol	6,2 mg
4	MA4	<i>p</i> -coumaric acid	14 mg
5	MA5	gallic acid	35 mg
6	MA6	methyl- $\beta$ -D galactopyranoside	5,0 mg

### 3.2.2 Vi bao tạo chế phẩm polyphenol bằng kỹ thuật sấy phun

Các tính chất của nguyên liệu ban đầu đã được xác định và trình bày trong Bảng 3.3

Bảng 3.3 Hàm ẩm, TPC, và hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH, ABTS, FRAP của các nguyên liệu ban đầu

Mẫu	Hàm ẩm (%)	TPC (mg GAE/g ck)	DPPH ( $\mu$ mol TE/g ck)	ABTS ( $\mu$ mol TE/g ck)	FRAP ( $\mu$ mol Fe <sup>2+</sup> /g ck)
E	6,80 $\pm$ 0,10	247.25 $\pm$ 0,71	419,59 $\pm$ 0,52	711,17 $\pm$ 0,82	1018,47 $\pm$ 3,27
MD	7,16 $\pm$ 0,05	-	-	-	-
GA	10,07 $\pm$ 0,15	-	-	-	-

*E* – cao chiết    *MD* – malto dextrin    *GA* – gum Arabic

Quá trình vi bao bằng kỹ thuật sấy phun cho thấy khi sử dụng chất mang là gum arabic (GA) thì nhiệt độ sấy phun là 150°C, nồng độ GA là 15% cho hiệu quả vi bao tốt nhất với hiệu suất thu hồi là 52.3%, TPC là 74.53mg GAE/g ck, IC<sub>50</sub> theo 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) và 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) lần lượt là 3.41 mg/mL và 2.44 mg/mL, khả năng kháng khuẩn theo phương pháp MIC (Minimum inhibitory concentration) trên bốn loại vi khuẩn *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* và *Bacillus subtilis* cho kết quả giá trị MIC đối với *Bacillus subtilis* là 3,13 mg/mL, với *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* và *Staphylococcus aureus* là 6,25mg/mL. Các kết quả cụ thể được trình bày trong Bảng 3.4

Bảng 3.4 Hàm ẩm, EY, TPC và AA theo DPPH, ABTS và FRAP của sản phẩm sấy phun sử dụng chất mang gum Arabic (GA) ở các nồng độ khác nhau

Nhiệt độ sấy (°C)	GA 10%	GA 15%	GA 20%
<b>Hàm ẩm (%)</b>			
130	4,25±0,01 <sup>a,x</sup>	4,45±0,03 <sup>b,x</sup>	4,72±0,03 <sup>c,x</sup>
150	3,84±0,05 <sup>a,y</sup>	4,01±0,04 <sup>b,y</sup>	4,14±0,04 <sup>c,y</sup>
170	3,52±0,03 <sup>a,z</sup>	3,67±0,02 <sup>b,z</sup>	3,73±0,01 <sup>c,z</sup>
<b>EY (%)</b>			
130	34,69±1,83 <sup>a,x</sup>	41,19±1,08 <sup>b,x</sup>	37,68±0,50 <sup>c,x</sup>
150	35,52±1,53 <sup>a,x</sup>	52,30±1,75 <sup>b,y</sup>	39,63±1,12 <sup>c,y</sup>
170	44,89±1,26 <sup>a,y</sup>	50,47±1,61 <sup>b,y</sup>	48,11±0,99 <sup>b,z</sup>
<b>TPC (mg GAE/g ck)</b>			
130	66,02±0,42 <sup>a,xy</sup>	74,88±0,10 <sup>b,x</sup>	64,23±0,21 <sup>c,x</sup>
150	65,56±0,10 <sup>a,x</sup>	74,53±0,52 <sup>b,x</sup>	64,38±0,27 <sup>c,x</sup>
170	66,17±0,31 <sup>a,y</sup>	66,75±0,45 <sup>a,y</sup>	67,75±0,30 <sup>b,y</sup>
<b>DPPH (µmol TE/g ck)</b>			
130	80,17±0,30 <sup>a,x</sup>	84,47±0,44 <sup>b,x</sup>	89,90±0,36 <sup>c,x</sup>
150	84,45±0,40 <sup>a,y</sup>	111,52±0,10 <sup>b,y</sup>	96,60±0,17 <sup>c,y</sup>
170	92,24±0,20 <sup>a,z</sup>	93,13±0,10 <sup>b,z</sup>	81,24±0,36 <sup>c,z</sup>
<b>ABTS(µmol TE/g ck)</b>			
130	120,67±0,27 <sup>ax</sup>	127,74±0,57 <sup>bx</sup>	134,14±0,32 <sup>cx</sup>
150	124,57±0,16 <sup>ay</sup>	164,25±0,42 <sup>by</sup>	144,21±0,57 <sup>cy</sup>
170	137,01±0,47 <sup>az</sup>	139,04±0,42 <sup>bz</sup>	121,73±0,16 <sup>cz</sup>
<b>FRAP (µmol Fe<sup>2+</sup>/g ck)</b>			
130	156,70±0,63 <sup>ax</sup>	154,14±0,32 <sup>bx</sup>	167,98±0,32 <sup>cx</sup>
150	157,46±0,54 <sup>ax</sup>	216,39±0,63 <sup>by</sup>	180,03±0,55 <sup>cy</sup>
170	173,51±0,31 <sup>ay</sup>	184,85±0,00 <sup>bz</sup>	170,61±0,62 <sup>cz</sup>

*x, y, z trong cùng cột và a, b, c trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt ý nghĩa ( $p \leq 0.05$ )*

Đối với quá trình vi bao sử dụng chất mang là malto-dextrin (MD) cũng cho kết quả tương tự GA với nhiệt độ sấy phun là 150°C, nồng độ GA là 15% cho hiệu quả vi bao tốt nhất, EY TPC, AA, và khả năng kháng khuẩn cũng được xác định với EY là 55,24%, TPC là 57,12 mg GEA/g ck, IC<sub>50</sub> theo DPPH và ABTS lần lượt là 3,83 mg/mL và 2,84 mg/mL, giá trị MIC trên các vi sinh vật thử nghiệm như sau, với *Bacillus subtilis* là 3,13 mg/mL, với *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* và *Staphylococcus aureus* là 6,25mg/mL. Kết quả cho thấy chế phẩm vi bao polyphenol từ *Metha aquatica* bằng phương pháp sấy phun có thể được ứng dụng

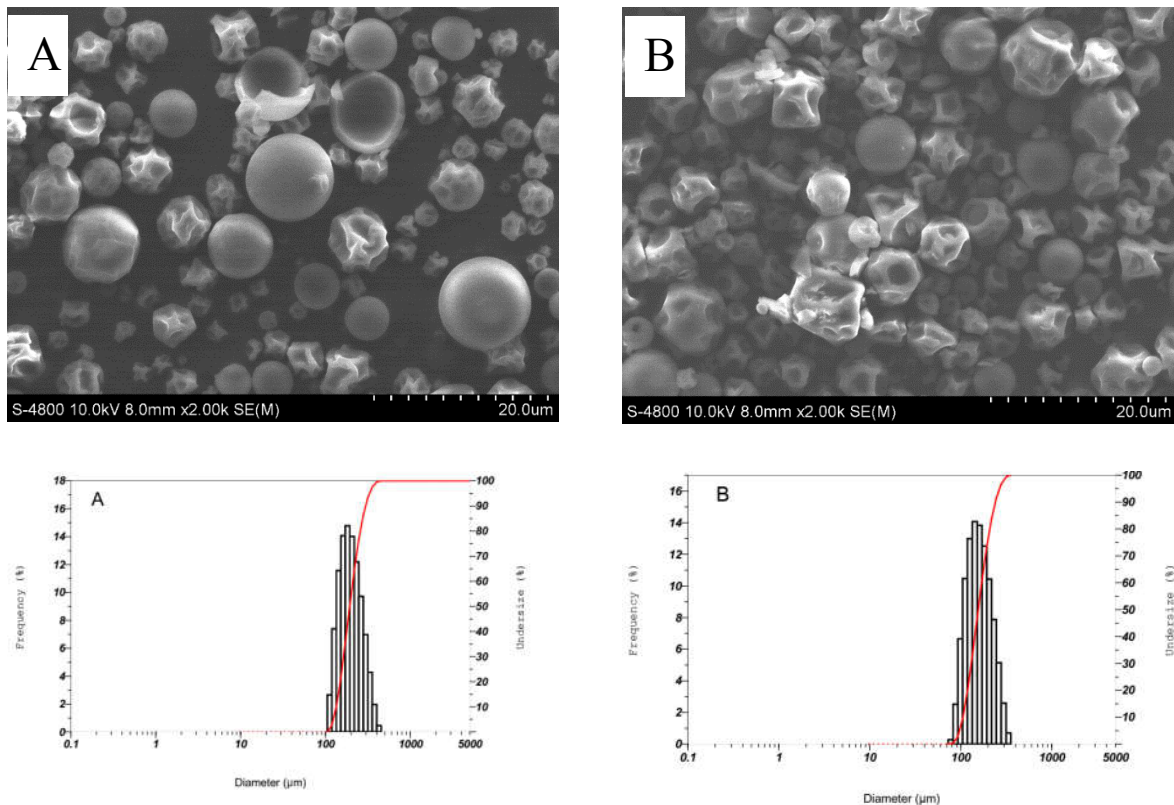
trong nghiên cứu bảo quản thực phẩm chống oxy hóa và chống vi sinh vật. Các kết quả cụ thể được trình bày trong Bảng 3.5

Bảng 3.5 Hàm ẩm, EY, TPC và AA theo DPPH, ABTS và FRAP của sản phẩm sấy phun sử dụng chất mang malto dextrin (MD) ở các nồng độ khác nhau

<b>Nhiệt độ sấy (°C)</b>	<b>MD 10%</b>	<b>MD 15%</b>	<b>MD 20%</b>
<b>Hàm ẩm (%)</b>			
130	3,01±0,04 <sup>ax</sup>	3,46±0,02 <sup>bx</sup>	3,55±0,03 <sup>cx</sup>
150	2,70±0,03 <sup>ay</sup>	2,91±0,02 <sup>by</sup>	3,45±0,01 <sup>cy</sup>
170	1,75±0,05 <sup>az</sup>	1,97±0,02 <sup>bz</sup>	2,25±0,01 <sup>cz</sup>
<b>EY (%)</b>			
130	34,57±0,79 <sup>ax</sup>	45,17±1,11 <sup>bx</sup>	40,89±1,48 <sup>cx</sup>
150	38,57±1,34 <sup>ay</sup>	55,24±1,90 <sup>by</sup>	46,28±0,97 <sup>cy</sup>
170	37,39±1,83 <sup>ay</sup>	49,95±1,61 <sup>bz</sup>	44,12±0,94 <sup>cy</sup>
<b>TPC (mg GAE/g ck)</b>			
130	54,21±0,21 <sup>ax</sup>	57,08±0,10 <sup>bx</sup>	55,47±0,18 <sup>cx</sup>
150	53,86±0,37 <sup>ax</sup>	57,12±0,21 <sup>bx</sup>	55,11±0,41 <sup>cx</sup>
170	48,02±0,44 <sup>ay</sup>	49,36±0,10 <sup>by</sup>	52,14±0,20 <sup>cy</sup>
<b>DPPH (µmol TE/g ck)</b>			
130	73,42±0,20 <sup>ax</sup>	70,77±0,10 <sup>bx</sup>	66,75±0,26 <sup>cx</sup>
150	76,21±0,36 <sup>ay</sup>	81,99±0,45 <sup>by</sup>	78,59±0,53 <sup>cy</sup>
170	63,94±0,26 <sup>az</sup>	66,92±0,29 <sup>bz</sup>	71,54±0,59 <sup>cz</sup>
<b>ABTS(µmol TE/g ck)</b>			
130	109,77±0,16 <sup>ax</sup>	106,61±0,73 <sup>bx</sup>	100,82±0,42 <sup>cx</sup>
150	113,90±0,32 <sup>ay</sup>	120,36±0,42 <sup>by</sup>	115,61±0,69 <sup>cy</sup>
170	95,63±0,41 <sup>az</sup>	100,91±0,47 <sup>bz</sup>	106,01±0,63 <sup>cz</sup>
<b>FRAP (µmol Fe<sup>2+</sup>/g ck)</b>			
130	154,52±0,63 <sup>ax</sup>	148,67±0,84 <sup>bx</sup>	143,70±0,32 <sup>cx</sup>
150	158,37±0,83 <sup>ay</sup>	167,60±0,54 <sup>by</sup>	163,06±0,55 <sup>cy</sup>
170	130,31±0,31 <sup>az</sup>	135,99±0,82 <sup>bz</sup>	149,35±0,31 <sup>cz</sup>

*x, y, z trong cùng cột và a, b, c trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt ý nghĩa ( $p \leq 0.05$ )*

Hình thái, kích thước và hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của sản phẩm sấy phun với mẫu tốt nhất được trình bày trong Hình 3.15, Bảng 3.6 và Bảng 3.7



SEM và DLS của sản phẩm vi bao dùng chất mang malto dextrin (A) và gum Arabic (B);

Hình 3.2 Kết quả SEM và DLS của sản phẩm vi bao

Bảng 3.6 Hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH và ABTS của cao chiết và sản phẩm vi bao

Mẫu	Trolox	Cao chiết	GA-E	MD-E
<b>IC<sub>50</sub>DPPH (mg/mL)</b>	0,42±0,00	1,24±0,01	3,41±0,02	3,83±0,01
<b>IC<sub>50</sub>ABTS (mg/mL)</b>	0,57±0,00	1,15±0,00	2,44±0,01	2,84±0,00

GA – E: chế phẩm vi bao sử dụng chất mang gum Arabic; MD – E: chế phẩm vi bao sử dụng chất mang maltodextrin; IC<sub>50</sub>DPPH: khả năng khử 50% gốc tự do DPPH; IC<sub>50</sub>ABTS: khả năng khử 50% gốc tự do ABTS

Bảng 3.7 Hoạt tính kháng khuẩn theo MIC của cao chiết và sản phẩm vi bao

	Hoạt tính kháng khuẩn (MIC, mg/mL)			
	<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
<b>Cao chiết</b>	3,13	3,13	1,56	1,56
<b>GA-E</b>	6,25	6,25	6,25	3,13
<b>MD-E</b>	6,25	6,25	6,25	3,13

GA – E: chế phẩm vi bao sử dụng chất mang gum Arabic; MD – E: chế phẩm vi bao sử dụng chất mang maltodextrin

### 3.2.3.2 Thời hạn sử dụng (shelf – life) của sản phẩm sấy phun với chất mang là GA (GA-E) và chất mang MD (MD-E)

Thời hạn sử dụng theo dự đoán của mô hình Q10 và kết quả kiểm chứng được trình bày trong Bảng 3.8

Bảng 3.1 Kết quả kiểm chứng mô hình Q10 ở nhiệt độ bảo quản 30°C

Ngày kiểm tra	Độ giảm TPC (%) dự đoán	Độ giảm TPC (%) thực nghiệm	Độ giảm DPPH (%) dự đoán	Độ giảm DPPH (%) thực nghiệm	P <sub>value</sub>
<b>Mẫu cao chiết</b>					
4,37	-	-	20 <sup>a</sup>	18,32 <sup>b</sup> ± 0,50	0,004
6,29	20 <sup>a</sup>	19,31 <sup>b</sup> ± 0,31	-	-	0,018
<b>Mẫu GA-E</b>					
9,09	-	-	20 <sup>a</sup>	20,31 <sup>a</sup> ± 0,94	0,594
12,69	20 <sup>a</sup>	19,87 <sup>a</sup> ± 0,27	-	-	0,451
<b>Mẫu MD - E</b>					
8,28	-	-	20 <sup>a</sup>	20,24 <sup>a</sup> ± 0,84	0,647
11,51	20 <sup>a</sup>	19,58 <sup>a</sup> ± 0,45	-	-	0,181

Các chữ cái trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p \leq 0,05$ ); “-” không kiểm tra; GA-E: chế phẩm vi bao sử dụng chất mang gum Arabic; MD-E: chế phẩm vi bao sử dụng chất mang malto dextrin

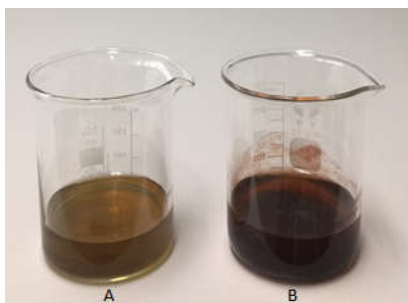
### 3.2.4 Tổng hợp nano bạc từ dịch chiết húng lũi

Kích thước của nano và sự đổi màu trong quá trình tổng hợp nano bạc, phổ UV – Vis, FTIR và SEM của nano được trình bày trong Bảng 3.9 và Hình 3.16, Hình 3.17, Hình 3.18, Hình 3.19.

Bảng 3.9 Ảnh hưởng của nồng độ AgNO<sub>3</sub> đến kích thước hạt nano thu được

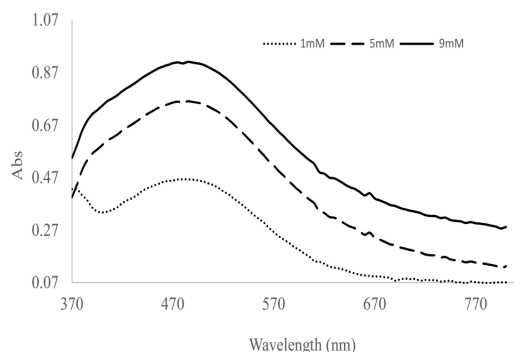
Nồng độ AgNO <sub>3</sub>	Kích thước hạt (nm)
1mM	95,10 ± 2,17 <sup>a</sup>
5mM	142,37 ± 3,03 <sup>b</sup>
9mM	354,73 ± 34,46 <sup>c</sup>

Các chữ cái a,b,c thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p \leq 0,05$ )

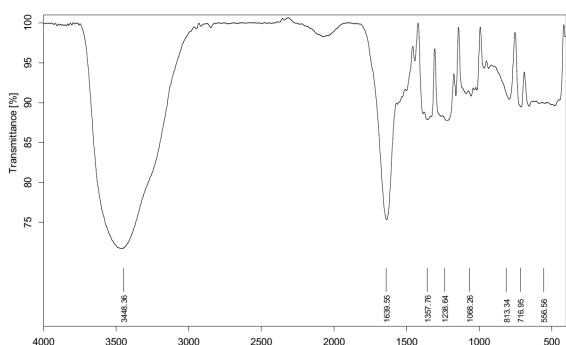


(A, B – màu trước và sau khi tổng hợp nano)

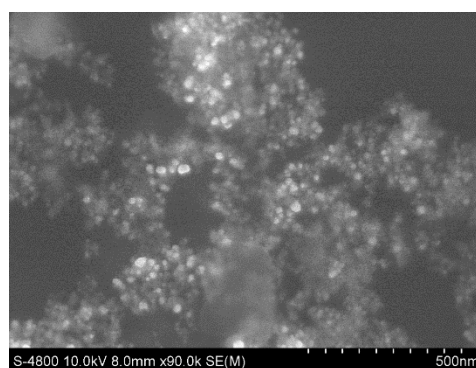
Hình 3.16 Sự thay đổi màu trong quá trình tổng hợp nano bạc



Hình 3.17 Phổ UV-vis của nano bạc được tổng hợp với các nồng độ  $\text{AgNO}_3$  khác nhau



Hình 3.183 Phổ FTIR của nano bạc tổng hợp bằng dịch chiết húng lũi



Hình 3.19 SEM của nano bạc tổng hợp từ húng lũi

Hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của nano bạc được trình bày trong Bảng 3.10

Bảng 3.10 Hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của nano bạc

Hoạt tính kháng khuẩn (MIC) mg/mL			
<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
0,125	0,5	0,0625	0,125
Hoạt tính kháng oxy hóa ( $\text{IC}_{50}$ ) (mg/mL)			
AgNPs (DPPH)	Trolox (DPPH)	AgNPs (ABTS)	Trolox (ABTS)
1,29±0,01	0,4±0,00	1,48±0,09	0,56±0,01

AgNPs (DPPH): hoạt tính kháng oxy hóa của nano Ag theo DPPH; AgNPs (ABTS): hoạt tính kháng oxy hóa của nano Ag theo ABTS

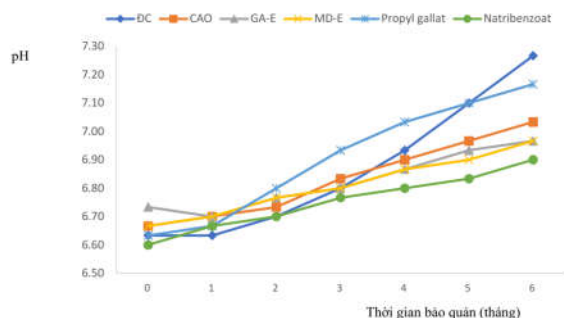
Quá trình tổng hợp nano bạc đã xác định được nồng độ  $\text{AgNO}_3$  tốt nhất là 1 mM, thời gian khuấy là 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Hạt nano thu được có kích thước trung bình là 83,6 nm, phổ FTIR cho thấy các nhóm chất như rượu, phenol, ankyll halogenua và ankyn có thể đóng vai trò khử và ổn định cho nano bạc. Khả năng

kháng khuẩn của nano bạc thu được với giá trị MIC trên các vi sinh vật thử nghiệm như sau, với *Bacillus subtilis* và *Escherichia coli* là 0,125 mg/mL, với *Salmonella enteritidis* là 0,5 mg/mL và *Staphylococcus aureus* là 0,0625mg/mL, trong khi đó hoạt tính kháng oxy hóa của nano bạc thu được với IC<sub>50</sub>-DPPH là 1.29 mg/ml và IC<sub>50</sub>-ABTS là 1.47 mg/ml.

### 3.3 Nội dung 3: Ứng dụng các chế phẩm trong bảo quản thực phẩm

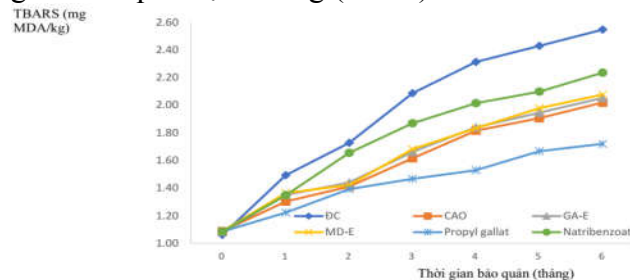
#### 3.3.1 Ứng dụng cao chiết và sản phẩm sấy phun vào bảo quản cá basa đông lạnh

Kết quả ứng dụng chế phẩm bảo quản cá basa đông lạnh được trình bày trong Hình 3.20, Hình 3.21, Hình 3.22, Hình 3.23



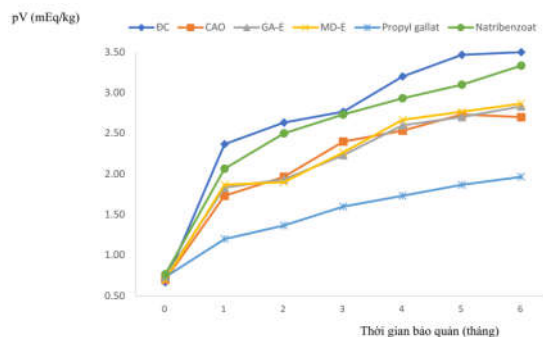
DC: mẫu đối chứng; CAO: Mẫu ngâm trong dung dịch cao chiết 6,25 mg/mL; GA-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là gum Arabic 12,5 mg/mL; MD-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là malto dextrin 12,5 mg/mL; Propyl gallat: Mẫu ngâm trong dung dịch propyl gallat 100ppm; Natribenzoat: Mẫu ngâm trong dung dịch natri benzoat 200ppm.

Hình 3.204 Ảnh hưởng của các chất bổ sung đến sự thay đổi pH của các mẫu cá basa trong thời gian bảo quản lạnh đông (-18°C)



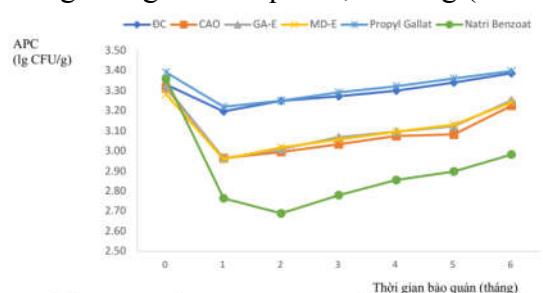
DC: mẫu đối chứng; CAO: Mẫu ngâm trong dung dịch cao chiết 6,25 mg/mL; GA-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là gum Arabic 12,5 mg/mL; MD-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là malto dextrin 12,5 mg/mL; Propyl gallat: Mẫu ngâm trong dung dịch propyl gallat 100ppm; Natribenzoat: Mẫu ngâm trong dung dịch natri benzoat 200ppm.

Hình 3.225 Ảnh hưởng của các chất bổ sung đến sự thay đổi giá trị TBARS của các mẫu cá basa trong thời gian bảo quản lạnh đông (-18°C)



DC: mẫu đối chứng; CAO: Mẫu ngâm trong dung dịch cao chiết 6,25 mg/mL; GA-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là gum Arabic 12,5 mg/mL; MD-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là malto dextrin 12,5 mg/mL; Propyl gallat: Mẫu ngâm trong dung dịch propyl gallat 100ppm; Natribenzoat: Mẫu ngâm trong dung dịch natri benzoat 200ppm.

Hình 3.21 Ảnh hưởng của các chất bổ sung đến sự thay đổi giá trị pV của các mẫu cá basa trong thời gian bảo quản lạnh đông (-18°C)

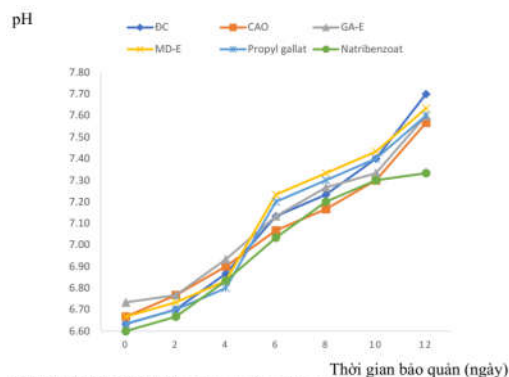


DC: mẫu đối chứng; CAO: Mẫu ngâm trong dung dịch cao chiết 6,25 mg/mL; GA-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là gum Arabic 12,5 mg/mL; MD-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là malto dextrin 12,5 mg/mL; Propyl gallat: Mẫu ngâm trong dung dịch propyl gallat 100ppm; Natribenzoat: Mẫu ngâm trong dung dịch natri benzoat 200ppm.

Hình 3.236 Ảnh hưởng của các chất bổ sung đến sự thay đổi giá trị APC của các mẫu cá basa trong thời gian bảo quản lạnh đông (-18°C)

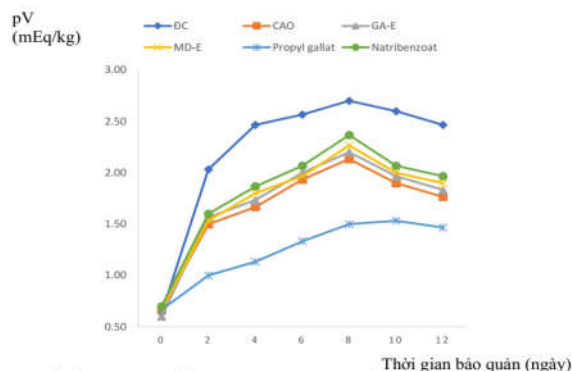
### 3.3.2 Ứng dụng cao chiết và sản phẩm sấy phun trong bảo quản lạnh cá basa

Kết quả ứng dụng chế phẩm bảo quản cá basa đông lạnh được trình bày trong Hình 3.24, Hình 3.25, Hình 3.26, Hình 3.27



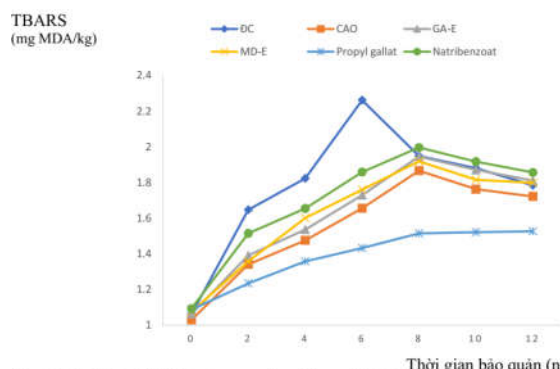
DC: mẫu đối chứng; CAO: Mẫu ngâm trong dung dịch cao chiết 6,25 mg/mL; GA-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là gum Arabic 12,5 mg/mL; MD-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là malto dextrin 12,5 mg/mL; Propyl gallat: Mẫu ngâm trong dung dịch propyl gallat 100ppm; Natribenzoat: Mẫu ngâm trong dung dịch natri benzoat 200ppm.

Hình 3.24 Ảnh hưởng của các chất bổ sung đến sự thay đổi giá trị pH của các mẫu cá basa bảo quản lạnh đông (4°C)



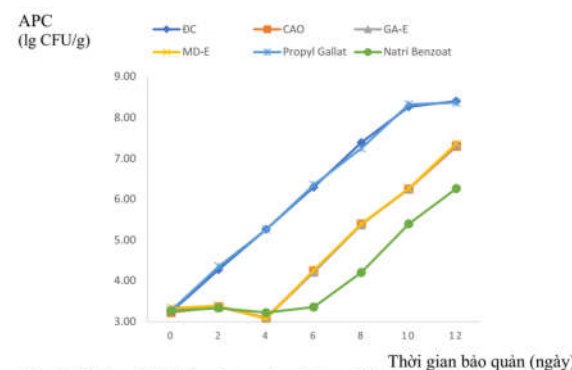
DC: mẫu đối chứng; CAO: Mẫu ngâm trong dung dịch cao chiết 6,25 mg/mL; GA-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là gum Arabic 12,5 mg/mL; MD-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là malto dextrin 12,5 mg/mL; Propyl gallat: Mẫu ngâm trong dung dịch propyl gallat 100ppm; Natribenzoat: Mẫu ngâm trong dung dịch natri benzoat 200ppm.

Hình 3.25 Ảnh hưởng của các chất bổ sung đến sự thay đổi giá trị pV của các mẫu cá basa bảo quản lạnh đông (4°C)



DC: mẫu đối chứng; CAO: Mẫu ngâm trong dung dịch cao chiết 6,25 mg/mL; GA-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là gum Arabic 12,5 mg/mL; MD-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là malto dextrin 12,5 mg/mL; Propyl gallat: Mẫu ngâm trong dung dịch propyl gallat 100ppm; Natribenzoat: Mẫu ngâm trong dung dịch natri benzoat 200ppm.

Hình 3.7 Ảnh hưởng của các chất bổ sung đến sự thay đổi giá trị TBARS của các mẫu cá basa bảo quản lạnh (4°C)



DC: mẫu đối chứng; CAO: Mẫu ngâm trong dung dịch cao chiết 6,25 mg/mL; GA-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là gum Arabic 12,5 mg/mL; MD-E: Mẫu ngâm trong dung dịch sản phẩm vi bao với chất mang là malto dextrin 12,5 mg/mL; Propyl Gallat: Mẫu ngâm trong dung dịch propyl gallat 100ppm; Natri Benzoat: Mẫu ngâm trong dung dịch natri benzoat 200ppm.

Hình 3.8 Ảnh hưởng của các chất bổ sung đến sự thay đổi giá trị APC của các mẫu cá basa bảo quản lạnh đông (4°C)

Kết quả cho thấy các mẫu sử dụng cao chiết và sản phẩm sấy phun đều có hiệu quả cao hơn so với mẫu đối chứng âm trong cả bảo quản lạnh đông và lạnh thường

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### Kết luận

Các thông số tối ưu cho quá trình trích ly bao gồm nồng độ dung môi acetone 50%, tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1:20, nhiệt độ trích ly ở 40°C và thời gian trích ly 2h. Với các điều kiện trích ly đã nêu ta thu được hàm lượng TPC cao nhất là



120,92 mg GAE/g ck, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH, ABTS và FRAP lần lượt là 169,36  $\mu\text{mol TE/g ck}$ , 264,03  $\mu\text{mol TE/g ck}$  và 425,35  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g ck}$ .

Trong ba phương pháp đã khảo sát thì phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm cho kết quả hàm lượng TPC và khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết là cao nhất, tiếp đến là phương pháp trích ly có hỗ trợ enzym, tuy nhiên cả 2 phương pháp này cũng chỉ tăng được khoảng 5 – 10% so với phương pháp ngâm chiết. Trong khi đó phương pháp ngâm chiết có ưu điểm là đơn giản, dễ thực hiện có thể thực hiện trên một lượng mẫu lớn và chi phí thấp.

Cao chiết thu được có hàm lượng TPC là  $247.25 \pm 0,71 \text{ mg GAE/g ck}$ , khả năng kháng oxy hóa theo DPPH, ABTS và FRAP lần lượt là  $419,59 \pm 0,52 \mu\text{mol TE/g ck}$ ;  $711,17 \pm 0,82 \mu\text{mol TE/g ck}$  và  $1018,47 \pm 3,27 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g ck}$ . Quá trình phân lập và xác định cấu trúc các thành phần trong cao chiết thu được kết quả là phân lập được 6 chất gồm *cis-p-menth-3-ene-1,2,8-triol*; *trans-p-menth-3-ene-1,2,8-triol*; *p-mentha-3,8-dien-1-ol*; *p-coumaric acid*; gallic acid; methyl- $\beta$ -D galactopyranoside. Quá trình vi bao bằng kỹ thuật sấy phun cho thấy khi sử dụng chất mang là gum arabic (GA) và maltodextrin (MD) đều cho kết quả nhiệt độ sấy phun là  $150^\circ\text{C}$ , nồng độ chất mang là 15% cho hiệu quả vi bao tốt nhất. Mẫu sản phẩm vi bao tốt nhất với chất mang GA có TPC và hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH, ABTS, FRAP cao hơn khi dùng chất mang là MD, trong khi sử dụng chất mang là MD thì cho hiệu suất thu hồi cao hơn. Các chế phẩm đều có độ ẩm rất thấp và có khả năng kháng khuẩn trên các mẫu vi khuẩn khảo sát. Kết quả cho thấy chế phẩm vi bao polyphenol từ húng lũi bằng phương pháp sấy phun có thể được ứng dụng trong nghiên cứu bảo quản thực phẩm chống oxy hóa và chống vi sinh vật.

Kết quả self life cao chiết và sản phẩm sấy phun cho thấy nếu bảo quản ở nhiệt độ phòng ( $30^\circ\text{C}$ ) thì thời gian TPC giảm 20% đối với cao chiết là 6,29 ngày còn với sản phẩm sấy phun dùng chất mang là MD và GA lần lượt là 11,51 và 12,69 ngày. Trong khi đó nếu bảo quản ở  $-18^\circ\text{C}$  thì thời gian TPC giảm 20% đối với cao chiết là 89,50 ngày còn với sản phẩm sấy phun dùng chất mang là MD và GA lần lượt là 180,26 và 406,95 ngày.

Quá trình tổng hợp nano bạc đã xác định được nồng độ  $\text{AgNO}_3$  tốt nhất là 1 mM, thời gian khuấy là 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Hạt nano thu được có kích thước trung bình là 83,6 nm, phổ FTIR cho thấy các nhóm chất như rượu, phenol, ankyl halogenua và ankyn có thể đóng vai trò khử và ổn định cho nano bạc. Khả năng

kháng khuẩn của nano bạc thu được trên các vi sinh vật thử nghiệm có MIC như sau, với *B. subtilis* và *E. coli* là 0,125 mg/mL, với *S. enteritidis* là 0,5 mg/mL và *S. aureus* là 0,0625mg/mL, trong khi đó hoạt tính kháng oxy hóa của nano bạc thu được với IC<sub>50-DPPH</sub> là 1.29 mg/ml và IC<sub>50-ABTS</sub> là 1.47 mg/ml.

Kết quả của quá trình bảo quản lạnh thường cho thấy giá trị pH và PV của các mẫu bổ sung cao chiết và sản phẩm vi bao đều thấp hơn so với mẫu đối chứng âm. Chỉ số TBARS của mẫu đối chứng âm vượt ngưỡng chấp nhận khi bảo quản đến ngày thứ 6 trong khi các mẫu bổ sung cao chiết và sản phẩm sấy phun vẫn ở mức chấp nhận trong 12 ngày khảo sát. Bên cạnh đó chỉ số APC cho thấy mẫu đối chứng cũng vượt mức chấp nhận ở ngày thứ 6 còn các mẫu bổ sung cao chiết và sản phẩm vi bao vượt ngưỡng chấp nhận ở ngày thứ 10. Với phương pháp bảo quản lạnh đông, các chỉ số pH, PV và APC của các mẫu bổ sung cao chiết và chế phẩm vi bao đều tăng chậm và thấp hơn so với mẫu đối chứng âm, trong khi chỉ số TBARS của mẫu đối chứng tăng vượt mức chấp nhận ở tháng thứ 2 thì các mẫu bổ sung cao chiết và chế phẩm vi bao vẫn ở mức chấp nhận ở tháng thứ 5 và chỉ vượt ngưỡng ở tháng thứ 6. Kết quả cho thấy các mẫu sử dụng cao chiết và sản phẩm sấy phun đều có hiệu quả cao hơn so với mẫu đối chứng âm và kém hơn mẫu bổ sung các phụ gia tương ứng.

### **Kiến nghị**

Nghiên cứu ứng dụng thêm cao chiết và sản phẩm sấy phun vào bảo quản các loại sản phẩm khác như bảo quản đậu hủ, nem chua hay kết hợp với các thành phần khác tạo màng bao trong bảo quản trái cây.

Nghiên cứu ứng dụng nano sản xuất từ húng lũi vào bảo quản thực phẩm chống oxy hóa và chống vi sinh vật như tạo màng bao trong bảo quản thực phẩm hoặc sản xuất các loại bao bì kháng khuẩn giúp bảo quản thực phẩm lâu hơn

Nghiên cứu xác định thêm các thành phần trong cao chiết thu được và hoạt tính của chúng

Nghiên cứu cơ chế kháng oxy hóa và kháng khuẩn của các thành phần polyphenol trong Húng lũi.

## DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ

1. Lê Văn Nhất Hoài, Lê Trung Thiên, Trần Nguyễn Minh Ân, Đàm Sao Mai (2022): Vi Bao Polyphenol từ húng lũi (*Mentha aquatica* Linn. var. *crispa*) bằng kỹ thuật sấy phun với chất mang Maltodextrin. Tạp chí Công Thương, số 26 – Tháng 12/2022.
2. Le Van Nhat Hoai, Le Pham Tan Quoc, Ho Thien Hoang, Katleen Raes, Dam Sao Mai and Le Trung Thien (2023) Extraction of Polyphenols from *Mentha aquatica* Linn. var. *crispa*. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 88(1).
3. H.V.N. Le, L.P.T. Quoc, T.-H. Ho, K. Raes, M.S. Dam, T.T. Le (2023). Green synthesis of silver nanoparticles from extract from *Mentha aquatica* Linn. var. *crispa* and evaluation of their antibacterial and antioxidant activities. *Herba Polonica*, 69(1).
- 4 Le Van Nhat Hoai, Le Pham Tan Quoc, Katleen Raes, Dam Sao Mai and Le Trung Thien (2023), MICROENCAPSULATION OF POLYPHENOLS FROM MENTHA AQUATICA LINN. VAR. CRISPA BY SPRAY-DRYING TECHNIQUE. *Malaysian Journal of Microscopy*, 19(1).
5. Lê Văn Nhất Hoài, Lê Phạm Tấn Quốc, Đàm Sao Mai, Lê Trung Thiên (2023). Nghiên cứu trích ly Polyphenol có hỗ trợ siêu âm từ húng lũi (*Mentha aquatica* Linn. var. *crispa*). Tạp chí Nông Nghiệp & Phát Triển Nông Thôn, tập 1 – tháng 6/2023.