

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HCM**

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**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

Tp. Hồ Chí Minh – Năm 2026

Công trình được hoàn thành tại:

Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh – Phường Linh Xuân, Thành phố
Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Kha Chấn Tuyền
TS. Nguyễn Bảo Việt

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án cấp Trường họp tại Trường Đại
học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

Vào giờ ngày.....tháng..... năm 2026

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. Bài báo quốc tế

- Thao Thi Thanh Nguyen, Viet Bao Nguyen, Tuyen Chan Kha (2025). Optimization of bioactive compounds extraction from *Red Cardinal* grape pomace using choline chloride and lactic acid-based deep eutectic solvent. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 55(7), 885-896.
- Thao Thi Thanh Nguyen, Viet Bao Nguyen, Tuyen Chan Kha (2025). Optimization of bioactive compound extraction from *Red Cardinal* grape pomace using deep eutectic solvents. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 1465 (1): 012016. IOP Publishing.
- Thao Thi Thanh Nguyen, Viet Bao Nguyen, An Hai Thien Tran, Truc Xuan Le, Tuyen Chan Kha (2023). Extraction of Bioactive Compounds from *Red Cardinal* Grape Pomace by Deep Eutectic Solvents. *Chemical Engineering Transactions*, 106: 889-894.

2. Bài báo trong nước

- Thao Thi Thanh Nguyen, Viet Bao Nguyen, Tuyen Chan Kha, & Chuyen Van Hoang (2024). Impact of Choline Chloride and Organic Acid-Based Deep Eutectic Solvents on the Extraction of Bioactive Compounds from Grape Pomace. *Journal of Technical Education Science*, 19(3), 15-23.

3. Hồ sơ cấp bằng độc quyền sáng chế đã được chấp nhận đơn hợp lệ

- Kha Chấn Tuyên, Nguyễn Thị Thanh Thảo (2025). Quy trình sản xuất gel gốc dầu (oleogel) từ dịch trích ly phụ phẩm nho đỏ (*Red Cardinal*). Số đơn: 1-2025-05367, ngày nộp đơn: 28/07/2025. Quyết định chấp nhận đơn số 186901/QĐ-SHTT ngày 27/08/2025.

4. Chương sách tiếng Anh

- Thao Thi Thanh Nguyen, Tuyen Chan Kha (2024). Bioactive Compounds in Plants: Terpenes, Alkaloids and Phenolic Compounds. In: Tuyen Chan Kha (Eds), *Benefits and Uses of Plant Extracts* (pp.321), New York, USA, Nova science publishers, 1-28.
- Thao Thi Thanh Nguyen, Tuyen Chan Kha (2024). Advances in Plant Extraction Technologies. In: Tuyen Chan Kha (Eds), *Benefits and Uses of Plant Extracts* (pp.321), New York, USA, Nova science publishers, 105-140.

- Thao Thi Thanh Nguyen, Tuyen Chan Kha. 2024. Food emulsions with biopolymers. In: Kunal Pal, Preetam Sarkar, Miguel Ângelo Cerqueira (Eds.), *Advances in biopolymers for food science and technology* (pp.590), Elsevier, 201-222.

5. Báo cáo hội thảo quốc tế

- Thao Thi Thanh Nguyen, Viet Bao Nguyen, Tuyen Chan Kha (2025). *Optimization of the extraction bioactive compounds from Red Cardinal grape pomace using deep eutectic solvent*. Paper presented at “The 5th International Conference on Sustainable Agriculture and Environment”, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Thao Thi Thanh Nguyen, Viet Bao Nguyen, Tuyen Chan Kha (2024). *Effect of heat pump drying conditions on the quality of Red Cardinal grape pomace powder*. Paper presented at “The 4th International Joint Symposium 2024 on Agriculture and Food Security”, School of Agro-Industry Mae Fah Luang University, Thailand.
- Thao Thi Thanh Nguyen, Viet Bao Nguyen, Tuyen Chan Kha (2024). *Extraction of bioactive compounds from grape pomace using choline chloride and alcohol-based deep eutectic solvents*. Paper presented at 5th Food Safety Postgraduate Mobility Programme, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Thao Thi Thanh Nguyen, Bang Thi Kim Ho, Trang Pham Huyen Tran, Viet Bao Nguyen, Tuyen Chan Kha (2024). *The recovery of bioactive compounds from grape pomace: A comparison between ultrasound and enzymatic methods*. Paper presented at The First Vietnam International Symposium On Medical Plants And Natural Products (MPNP2024), Binh Dinh, Vietnam.

6. Giải thưởng

- Giải thưởng “Best oral presentation award” tại Hội thảo Quốc tế “The 5th International Conference on Sustainable Agriculture and Environment”, tổ chức ngày 05-07/12/2024 tại Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.

A. PHẦN MỞ ĐẦU

Tính cấp thiết của luận án

Công nghiệp sản xuất rượu vang và nước ép nho tạo ra lượng lớn phụ phẩm nho. Việc phân tích thành phần và áp dụng kỹ thuật tiên tiến (enzyme, siêu âm, dung môi eutectic sâu (DES – Deep eutectic solvent)) để trích ly các hợp chất hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho có thể mang lại hiệu quả trích ly cao. Bên cạnh đó, việc tối ưu hóa quá trình vi bao bằng sấy phun và hệ oleogel giúp khắc phục tính không ổn định vốn có của các hợp chất sinh học và tăng cường khả năng ứng dụng. Ngoài ra, bột vi bao và oleogel tối ưu thể hiện đặc tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn được đánh giá tiềm năng ứng dụng làm chất bảo quản tự nhiên giúp kéo dài thời hạn bảo quản trong xúc xích thanh trùng.

Mục tiêu nghiên cứu của đề tài

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 và các hợp chất hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho, (2) Tối ưu hóa được điều kiện trích ly các hợp chất hoạt tính sinh học bằng các kỹ thuật tiên tiến, (3) Xác định được các thông số tối ưu cho quy trình vi bao các hợp chất bằng sấy phun và oleogel, (4) Đánh giá được tiềm năng ứng dụng bột sấy phun và oleogel tối ưu trong xúc xích thanh trùng.

Những đóng góp của luận án

Luận án đã xác định được thành phần hóa học, hóa thực vật, định danh 33 hợp chất hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho *Red Cardinal*. Luận án đã tối ưu hóa các quy trình trích ly có hỗ trợ siêu âm và enzyme kết hợp, trích ly bằng hai loại DES. Luận án đã tối ưu hóa hai quy trình vi bao các hợp chất trong dịch trích ly bằng sấy phun và oleogel. Luận án cũng đã cho thấy tiềm năng ứng dụng của bột vi bao và oleogel trong xúc xích thanh trùng giúp kéo dài thời hạn bảo quản. Kết quả của luận án là cơ sở khoa học cho các nghiên cứu về sản phẩm chứa các hợp chất sinh học có nguồn gốc thực vật cũng như góp phần nâng cao giá trị của phụ phẩm nho và giống nho *Red Cardinal*.

Bố cục luận án

Luận án có 150 trang, 47 bảng, 41 hình và 171 tài liệu tham khảo, bao gồm chương Mở đầu, Chương 1: Tổng quan tài liệu, Chương 2: Vật liệu và phương pháp nghiên cứu, Chương 3: Kết quả nghiên cứu và thảo luận, Chương 4: Kết luận và kiến nghị.

B. PHẦN NỘI DUNG

1. Tổng quan

Tổng quan tài liệu trình bày các nội dung tổng quan về nho và phụ phẩm nho; các hợp chất có hoạt tính sinh học trong phụ phẩm nho; phương pháp trích ly các hợp chất hoạt tính có hỗ trợ enzyme, có hỗ trợ siêu âm, bằng dung môi eutectic sâu; tổng quan về vi bao bằng sấy phun và tạo oleogel; ứng dụng các hợp chất hoạt tính sinh học từ thực vật như chất bảo quản tự nhiên; tổng quan về tối ưu hóa trong công nghiệp thực phẩm.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu và hóa chất sử dụng

Nguyên liệu

Phụ phẩm nho sau công đoạn ép lấy dịch của quá trình chế biến nước ép nho được thu gom từ Công ty Trách nhiệm hữu hạn sản xuất thương mại dịch vụ Ba Mọi, Tỉnh Ninh Thuận (nay thuộc tỉnh Khánh Hòa), Việt Nam. Vỏ nho 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 kg/m², tốc độ gió là 1,8 m/s.

Hóa chất, enzyme, phụ gia, phụ liệu sử dụng

Các hóa chất sử dụng cấp phân tích. 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 và enzyme Pectinex Ultra SP – L (Novozyme, Đan Mạch). Maltodextrin (Trung Quốc), gum arabic (Pháp), tinh bột biến tính (Việt Nam), whey protein isolate (Việt Nam), protein đậu nành isolate (Trung Quốc), dầu hương dương (Việt Nam), sáp ong (Trung Quốc), glycerol monostearate và Finamul 90 (Ấn Độ), bột chiết xuất sơ ri (Hà Lan), nisin (Trung Quốc).

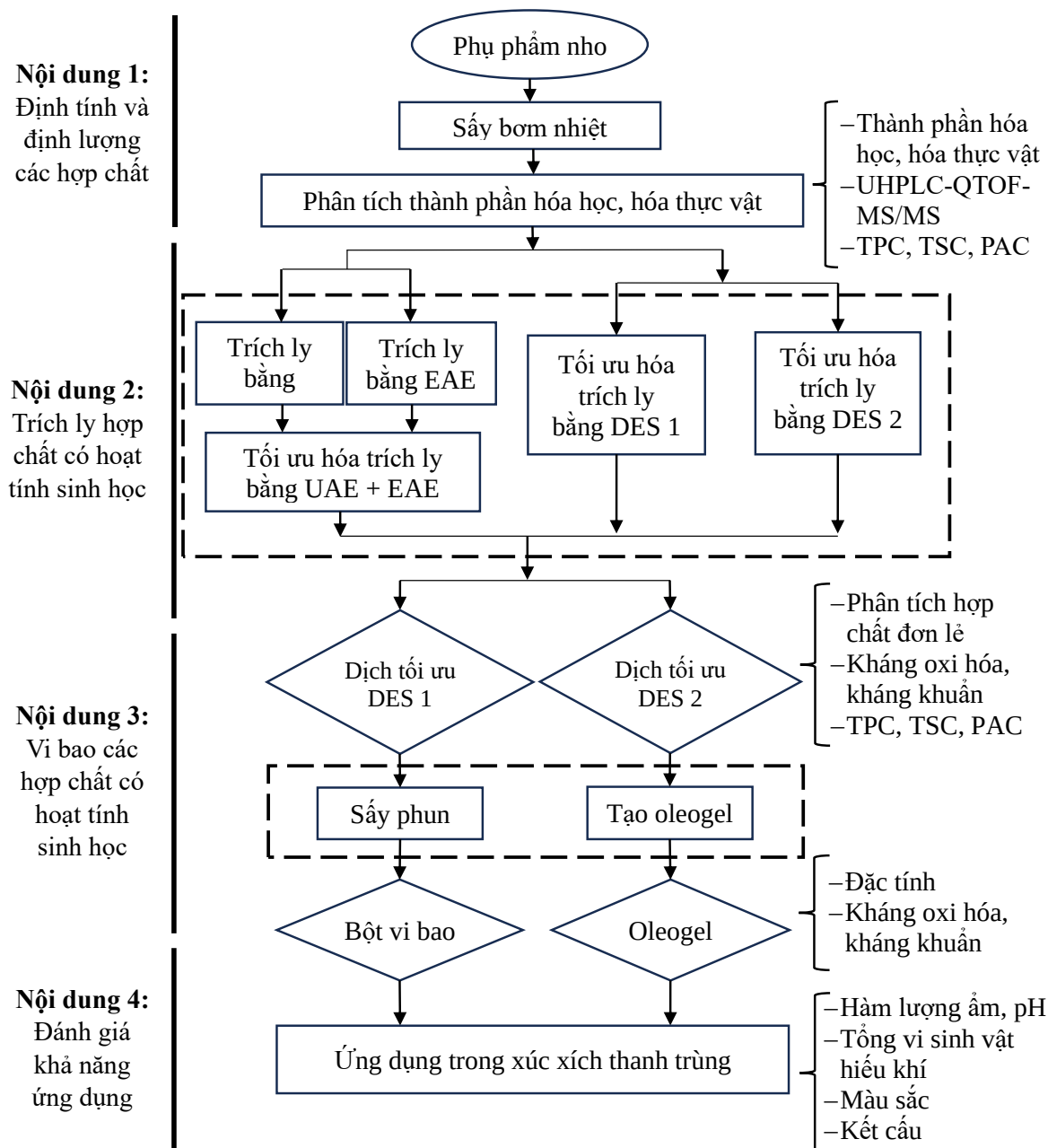
Phương pháp bố trí thí nghiệm

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

2.2.1.1 Phân tích thành phần hóa học phụ phẩm nho: Hàm lượng tổng các hợp chất hoạt tính sinh học được định lượng bằng UV-Vis sử dụng ethanol 50%, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 15:1 (v/w) và thời gian trích ly là 2 giờ. Chỉ tiêu đánh giá: Hàm lượng ẩm, carbohydrate, protein, chất béo, tro, TPC, TSC, PAC.

2.2.1.2 Định tính và định lượng các hợp chất 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: alkaloid, glycoside, flavonoid, tannin, saponin, phytosterol, diterpenoid, carbohydrate. Một số hợp chất hoạt tính sinh học đơn lẻ có trong phụ phẩm nho sẽ được định danh bằng sắc ký lỏng khối phổ hai lần.



Hình 2.1 Các nội dung nghiên cứu của luận án

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

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 (EAE):

Cân 5 g bột phụ phẩm nho, thêm dung dịch đệm sodium acetate pH 4,5 theo tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (8:1, 10:1, 12:1 và 14:1 (v/w)). Gia nhiệt đến nhiệt độ khảo sát (40, 50 và 60°C). Enzyme được thêm vào theo hàm lượng cellulase (14, 28, 42 và 56 U/g) và pectinase (76 và 152 U/g). Hỗn hợp được khuấy đều ở tốc độ khuấy 200 vòng/phút trong thời gian thủy phân 60, 120, 180 và 240 phút. Vô hoạt enzyme bằng cách gia nhiệt 85°C/ 5 phút. Hỗn hợp được làm nguội nhanh, ly tâm tốc độ 4.000 vòng/phút trong 15 phút. Dịch trích ly được phân tích TPC, TSC và PAC.

Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quy trình trích ly có hỗ trợ siêu âm (UAE):

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 ở các mức năng lượng (0, 9, 12, 15 và 18 W/g) trong các khoảng thời gian khảo sát (5, 10 và 15 phút). Hỗn hợp được ly tâm 4.000 vòng/ phút (15 phút) và phân tích TPC, TSC và PAC.

Tối ưu hóa quy trình trích ly bằng phương pháp kết hợp siêu âm và enzyme: Tiến hành so sánh hiệu quả của các phương pháp đơn lẻ (EAE hoặc UAE) với các phương pháp kết hợp là U-EAE (trích ly có hỗ trợ siêu âm – enzyme) và E-UAE (trích ly có hỗ trợ enzyme – siêu âm). Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) với thiết kế phối hợp có tâm (CCD) được sử dụng để tối ưu hóa điều kiện trích ly bằng phương pháp được lựa chọn từ thí nghiệm so sánh. Chỉ tiêu đánh giá: TPC, TSC, PAC.

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 loại DES: 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 cho đến khi thu được chất lỏng không màu, trong suốt và đồng nhất. Dịch trích ly 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. Sau đó, sử dụng DES được chọn để khảo sát các yếu tố quan trọng khác.

Khảo sát tỷ lệ HBA: HBD: 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)

Khảo sát hàm lượng nước: DES từ choline chloride: lactic acid (10, 15, 20, 25, 30 và 35%). DES từ choline chloride: glycerol: citric acid (25, 30, 35 và 40%).

Khảo sát tỷ lệ dung môi: nguyên liệu: 15:1 – 30:1, v/w.

Khảo sát nhiệt độ trích ly: 30, 40, 50, 60 và 70°C.

Khảo sát thời gian trích ly: DES từ choline chloride: lactic acid (60; 90; 120 và 150 phút). DES từ choline chloride: glycerol: citric acid (90; 120, 150 và 180 phút).

Tối ưu hóa quy trình trích ly bằng DES dựa trên choline chloride: lactic acid và choline chloride: glycerol: citric acid: Sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) với thiết kế phối hợp có tâm (CCD). Chỉ tiêu đánh giá: TPC, TSC, PAC; hợp chất hoạt tính sinh học đơn lẻ, khả năng kháng khuẩn (đường kính vòng kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu) và khả năng kháng oxy hóa (DPPH, ABTS) 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

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

Khảo sát loại vỏ bao: Loại vỏ bao (maltodextrin; maltodextrin: soy protein isolate (MD-SPI) (7:1, w/w); maltodextrin: gum arabic (MD-GA) (1:2, w/w); maltodextrin: whey protein isolate (MD-WPI) (9:1, w/w); maltodextrin: tinh bột biến tính (MD-MS) (10:1, w/w)). Chỉ tiêu đánh giá: Hiệu suất thu hồi, hiệu quả vi bao, hàm lượng ẩm, hoạt độ nước, nhiễu xạ tia X, phổ nhiệt lượng quét vi sai, phổ hồng ngoại biến đổi Fourier, phân bố kích thước hạt, hình thái hạt bột vi bao.

Khảo sát tỷ lệ lõi: vỏ bao: 1:3, 1:4, 1:5 và 1:6 (w/w).

Khảo sát tỷ lệ giữa các loại vỏ bao: 1:2, 1:1, 2:1 và 3:1 (w/w).

Khảo sát tốc độ và thời gian đồng hóa: Tốc độ đồng hóa (8.100 và 10.800 vòng/phút) và thời gian đồng hóa (5, 10 và 15 phút).

Khảo sát nhiệt độ không khí sấy đầu vào: 140, 150, 160, 170 và 180°C.

Khảo sát tốc độ dòng nhập liệu: 15, 20, 25, 30, 35, 40 và 45 mL/phút.

Tối ưu hóa điều kiện sấy phun: Sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng với DES tạo thành từ choline chloride và lactic acid. Chỉ tiêu đánh giá: Hiệu suất thu hồi và hiệu quả vi bao TPC, TSC, PAC; khả năng kháng khuẩn (đường kính vòng kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu) và khả năng kháng oxy hóa (DPPH, ABTS) 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

Chất tạo gel dầu gồm sáp ong và Finamul 90 (1:1, w/w) hoặc sáp ong và glycerol monostearate (1:3 w/w) được hòa tan trong dầu hướng dương ở 90°C trong 15 phút. Tỷ lệ hỗn hợp chất tạo gel dầu là 5, 10 và 15%. Hỗn hợp được khuấy ở tốc độ 260 vòng/phút trong 5 phút. Dừng gia nhiệt và dừng khuấy trộn cho đến khi nhiệt độ hỗn hợp giảm

xuống 60°C. Thêm dịch trích ly phụ phẩm nhỏ (30%) vào hỗn hợp và khuấy liên tục trong 10 phút ở tốc độ 390 vòng/phút. Hỗn hợp được làm mát ở nhiệt độ 5, 15 và 25°C. Các mẫu oleogel được phân tích hiệu suất thu hồi TPC, khả năng liên kết dầu (OBC), màu sắc, độ nhớt, hình ảnh phân tích bằng kính hiển vi ánh sáng phân cực.

Tối ưu hóa quy trình tạo oleogel: Sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng với dịch trích ly phụ phẩm nhỏ bằng dung môi DES tạo thành từ choline chloride: glycerol: citric acid. Chỉ tiêu đánh giá: Hiệu suất thu hồi TPC và khả năng liên kết dầu.

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 sản xuất xúc xích dựa trên mô tả của Heinz và Hautzinger (2007). Thịt nạc và mỡ heo được xay với các thành phần còn lại 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. 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 cho đến khi đạt nhiệt độ tâm 75°C trong 15 phút. Xúc xích được làm nguội và đóng gói hút chân không. Cuối cùng, sản phẩm xúc xích được bảo quản ở nhiệt độ 4°C để đánh giá các chỉ tiêu hàm lượng ẩm, pH, tổng số vi sinh vật hiếu khí, màu sắc, kết cấu.

2.2. 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 tổng, tro, chất béo tổng 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	Kozłowska và cộng sự (2022)

STT	Phân tích	Phương pháp	Tài liệu tham khảo
		thiết để ức chế được 50% gốc tự do DPPH hoặc ABTS	
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)

STT	Phân tích	Phương pháp	Tài liệu tham khảo
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.	
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. 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.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

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

Carbohydrate là thành phần hóa học có hàm lượng lớn nhất trong bột phụ phẩm nho (khoảng 80% theo cơ sở khô). Tiếp theo là hàm lượng ẩm, protein, tro và chất béo.

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.

Phụ phẩm nho *Red Cardinal* còn chứa hàm lượng các hợp chất glycoside, flavonoid, tanin, diterpenoid cao. Kết quả định danh sơ bộ cho thấy có 33 hợp chất hoạt tính sinh học đơn lẻ. Những hợp chất phát hiện được trong phụ phẩm nho *Red Cardinal* là các hợp chất phenolic phổ biến: procyanidin, neochlorogenic acid, isorhamnetin, catechin, quercetin, ethyl gallate, gallic acid, kaempferol, resveratrol. Phụ phẩm nho chứa TPC, TSC và PAC cao. Việc định danh và định lượng các hợp chất trong phụ phẩm nho cung cấp dữ liệu về thành phần các hợp chất hoạt tính sinh học của phụ phẩm nho.

Bảng 3.4 Hàm lượng tổng các hợp chất 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 ± 0,41	70,65 ± 1,05	9,60 ± 0,21

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

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 các hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm nho 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

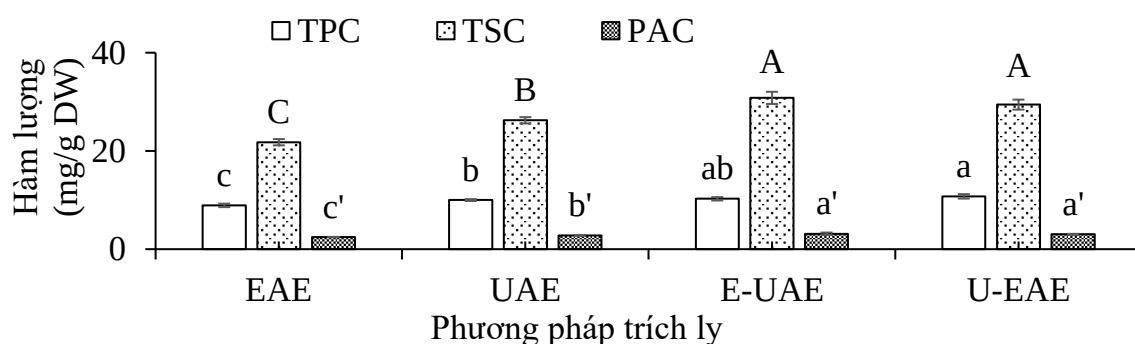
Điều kiện trích ly có hỗ trợ enzyme cellulase (28 U/g) và enzyme pectinase (76 U/g) kết hợp cho hiệu quả trích ly cao các hợp chất hoạt tính sinh học trong dịch trích của bột phụ phẩm nho (phenolic tổng, saponin tổng và proanthocyanidins) với tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 10:1 (v/w), trích ly ở nhiệt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

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

Điều kiện trích ly có hỗ trợ siêu âm là mức năng lượng siêu âm 15 W/g, thời gian siêu âm là 10 phút, tỷ lệ dung môi và nguyên liệu là 14:1 (v/w), thời gian trích ly 30 phút.

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

Phương pháp kết hợp E-UAE và U-EAE thể hiện TPC, TSC và PAC cao hơn đáng kể so với các phương pháp đơn lẻ UAE và EAE.



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

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

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

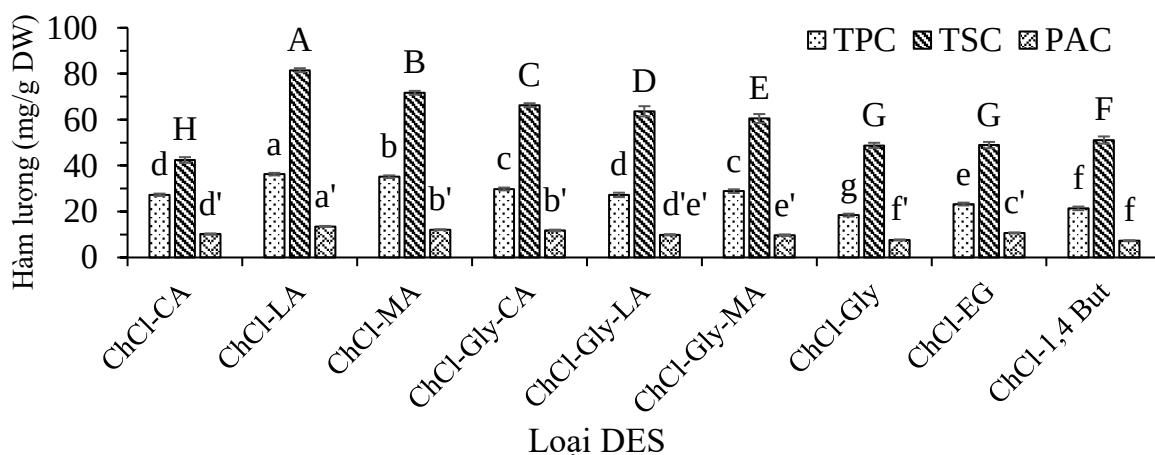
TPC (mg GAE/g DW)		TSC (mg AE/g DW)		PAC (mg CE/g DW)	
Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm	Dự đoán	Thí nghiệm
13,28 ^a ± 0,28	13,22 ^a ± 0,03	42,51 ^a ± 2,11	40,63 ^a ± 1,26	5,01 ^a ± 0,50	4,96 ^a ± 0,07

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.

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*

Trong số các loại DES, loại tổng hợp dựa trên choline chloride và lactic acid (ChCl-LA) cho hiệu quả trích ly cao nhất. ChCl-LA cho hiệu quả trích ly cao và độ nhớt dịch trích thấp phù hợp với sấy phun, đông kết tinh, sấy thăng hoa. ChCl-Gly-CA cho hiệu quả trích ly cao nhưng trong thành phần có glycerol nên có độ nhớt khá cao 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 hướng ứng dụng khác nhau dựa trên đặc điểm của dịch trích.



Hình 3.5. Ảnh hưởng của loại DES đến hiệu quả trích ly

3.2.2.1 Tối ưu hóa quy trình 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. 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

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. 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.

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

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

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.

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

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	$55,42 \pm 0,13$

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	$12,20^{\text{fC}} \pm 0,20$	$14,97^{\text{fA}} \pm 0,25$	$10,00^{\text{fD}} \pm 0,20$	$13,03^{\text{gB}} \pm 0,15$
	20	171,82	366,44	65,32	$14,40^{\text{eB}} \pm 0,20$	$18,53^{\text{eA}} \pm 0,31$	$14,00^{\text{cdB}} \pm 0,20$	$14,00^{\text{fB}} \pm 0,20$
	30	257,73	549,65	97,99	$20,47^{\text{bB}} \pm 0,31$	$23,23^{\text{cA}} \pm 0,38$	$16,37^{\text{bD}} \pm 0,32$	$19,43^{\text{cC}} \pm 0,40$
	40	343,64	732,87	130,65	$24,17^{\text{aB}} \pm 0,29$	$25,50^{\text{bA}} \pm 0,50$	$20,07^{\text{aD}} \pm 0,31$	$21,07^{\text{bC}} \pm 0,31$
Dung môi	10	-	-	-	$9,00^{\text{gB}} \pm 0,20$	$11,07^{\text{hA}} \pm 0,15$	$7,27^{\text{gC}} \pm 0,25$	$11,00^{\text{hA}} \pm 0,20$
	20	-	-	-	$12,20^{\text{fB}} \pm 0,20$	$13,00^{\text{gA}} \pm 0,20$	$12,27^{\text{eB}} \pm 0,06$	$12,97^{\text{gA}} \pm 0,06$
	30	-	-	-	$16,53^{\text{dA}} \pm 0,15$	$15,00^{\text{fB}} \pm 0,50$	$13,47^{\text{dC}} \pm 0,25$	$15,03^{\text{eB}} \pm 0,15$
	40	-	-	-	$19,00^{\text{cB}} \pm 0,20$	$20,00^{\text{dA}} \pm 0,20$	$14,50^{\text{cD}} \pm 0,50$	$16,03^{\text{dC}} \pm 0,25$
Kháng sinh chloramphenicol (1 mg/mL)	20	-	-	-	$20,00^{\text{b}} \pm 0,20$	$27,00^{\text{a}} \pm 0,20$	$19,97^{\text{a}} \pm 0,12$	$28,00^{\text{a}} \pm 0,20$
Nước cất	20	-	-	-	-	-	-	-

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

Nồng độ ức chế tối thiểu của dịch trích là 2,5 ($\mu\text{L/mL}$) đối với tất cả các chủng vi khuẩn thử nghiệm. Dịch trích tối ưu chứa các hợp chất hoạt tính sinh học đơn lẻ thể hiện hoạt tính kháng khuẩn, kháng oxy hóa cao hơn đáng kể so với dung môi đơn lẻ.

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

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 ($^{\circ}\text{C}$)	X ₂	57	60	65	70	73
Thời gian trích ly (phút)	X ₃	110	120	135	150	160

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.

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
$68,51^a \pm 3,03$	$71,50^a \pm 0,35$	$170,39^a \pm 5,57$	$175,01^a \pm 0,62$

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

Hàm lượng các hợp chất thu được ở điều kiện trích ly tối ưu cao hơn so với hàm lượng thu được từ các thí nghiệm đơn yếu tố.

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 ($\mu\text{g/g DW}$)
Catechin	$143,71 \pm 38,08$
Epicatechin	$113,16 \pm 18,70$
Gallic acid	$21,08 \pm 0,35$
Kaempferol	$15,94 \pm 0,02$
Myricetin	$377,45 \pm 31,88$
Quercetin	$20,19 \pm 0,02$
Resveratrol	$64,41 \pm 3,83$
Rutin	$235,98 \pm 14,75$

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	-	-	-	-	-	-	-

Cả dung môi và dịch trích ly đều thể hiện tác dụng đáng kể đối với vi khuẩn gram âm và gram dương đã thử nghiệm ($P \leq 0,05$). Dịch trích ly tối ưu có nồng độ ức chế tối thiểu đối với các chủng vi khuẩn thử nghiệm thấp nhất là 2,5 μL/mL, riêng đối với *B. subtilis* ATCC 6633 là 10 μL/mL.

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	-

Dịch trích ly phụ phẩm nho thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa cao (IC₅₀ DPPH < 50 μg/mL) theo phương pháp phân loại của Simirgiotis (2013).

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

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

Các điều kiện tối ưu để sấy phun bao gồm nhiệt độ không khí sấy đầu vào là 162°C và tốc độ dòng nhập liệu là 32 mL/phút.

Bảng 3.30. Kết quả thẩm 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

Bảng 3.31. Kết quả thẩm 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

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

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	10	8				0,00 ^j ± 0,00	0,00 ^j ± 0,00	0,00 ^j ± 0,00	0,00 ^j ± 0,00
tối ưu	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

Bột vi bao tối ưu có độ ẩm (5,22%), hoạt độ nước (0,145), độ hòa tan (97,5%) và kích thước hạt trung bình (12,05 μm) là phù hợp cho sản phẩm bột sấy phun. 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. Hàm lượng ẩm của bột vi bao nên được duy trì gần với độ ẩm đơn lớp (5,444) theo phương trình BET. Thực tế cho thấy hàm lượng ẩm của mẫu bột vi bao (5,22%) là phù hợp với khuyến cáo trên. Bột sấy phun cho thấy khả năng kháng khuẩn và kháng oxy hóa. Khả năng kháng khuẩn của bột vi bao tối ưu thấp hơn so với dịch trích ly tối ưu. Nguyên nhân là do 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 so với sử dụng dịch trích ly trực tiếp.

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

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

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

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

Các điều kiện tối ưu để tạo oleogel bao gồm tỷ lệ BW: F90 là 1,7:1 (w/w) và tỷ lệ chất tạo gel 14,3%.

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

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

Khả năng kháng khuẩn của oleogel tối ưu thấp hơn so với dịch trích ly do tỷ lệ dịch trích ly trong oleogel khoảng 30% và thất thoát TPC trong quá trình tạo oleogel.

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> ATCC 8739	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>S. aureus</i> 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						

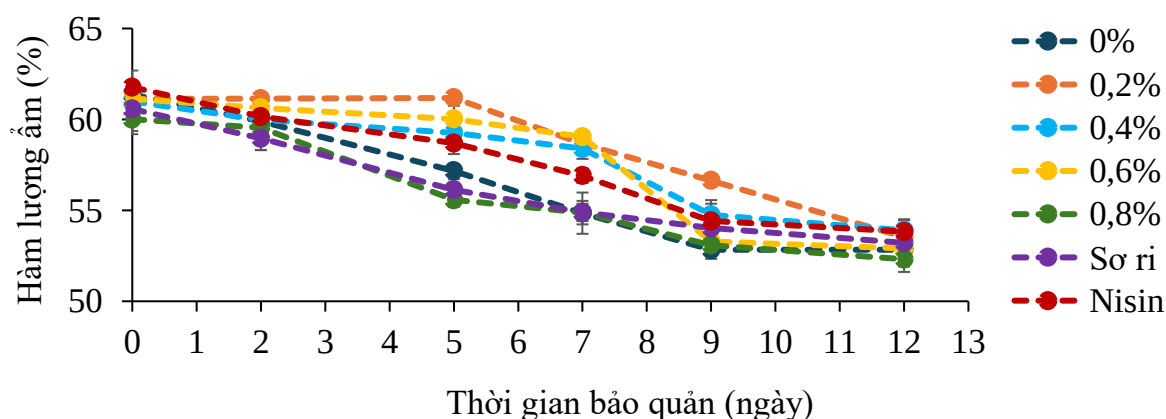
Bảng 3.42. Hoạt tính kháng oxy hóa của oleogel tối ưu

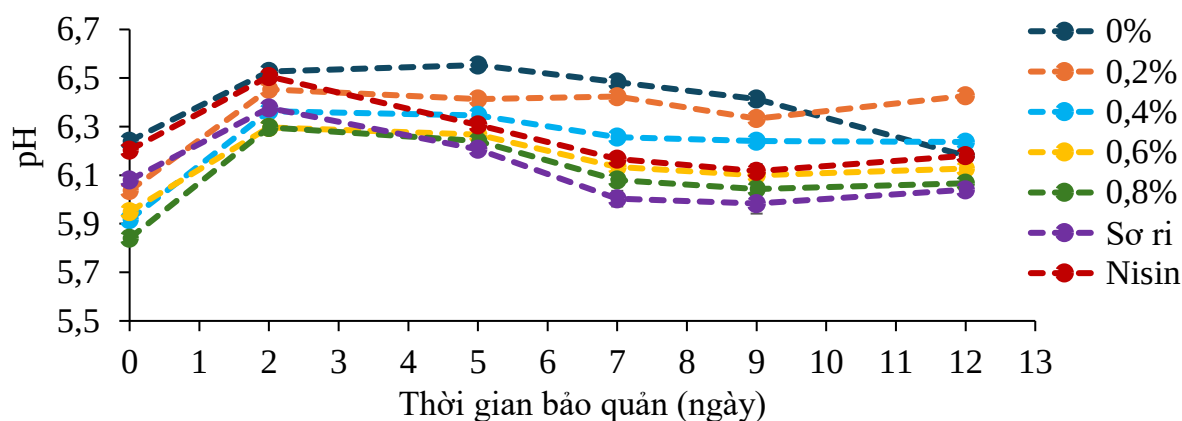
Chỉ tiêu	Oleogel tối ưu	
	IC ₅₀ (mg/mL)	TPC (μg)
DPPH	2,77 ± 0,10	4,04
ABTS	1,84 ± 0,01	2,68

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

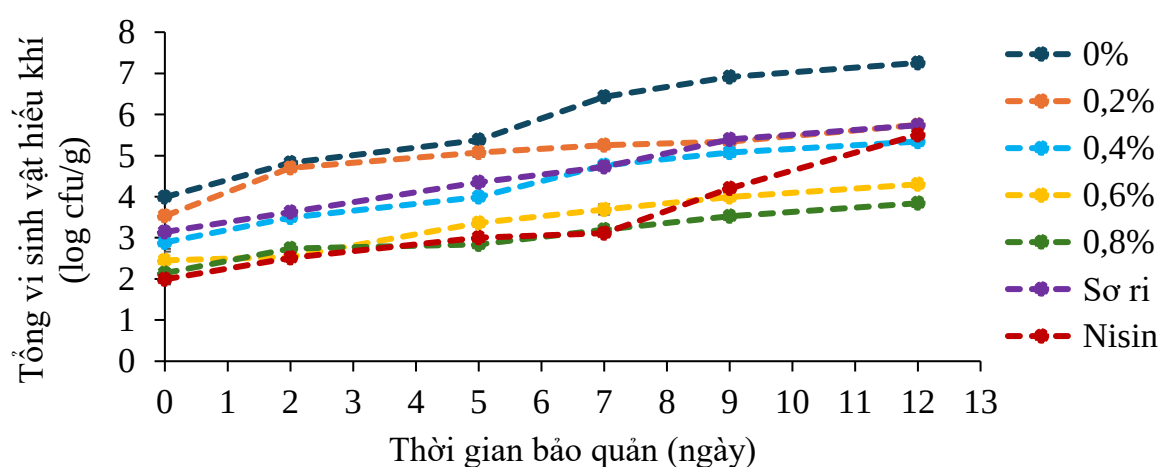
3.4.1 Sự thay đổi của xúc xích thanh trùng bổ sung bột sấy phun trong quá trình bảo quản

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.

**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

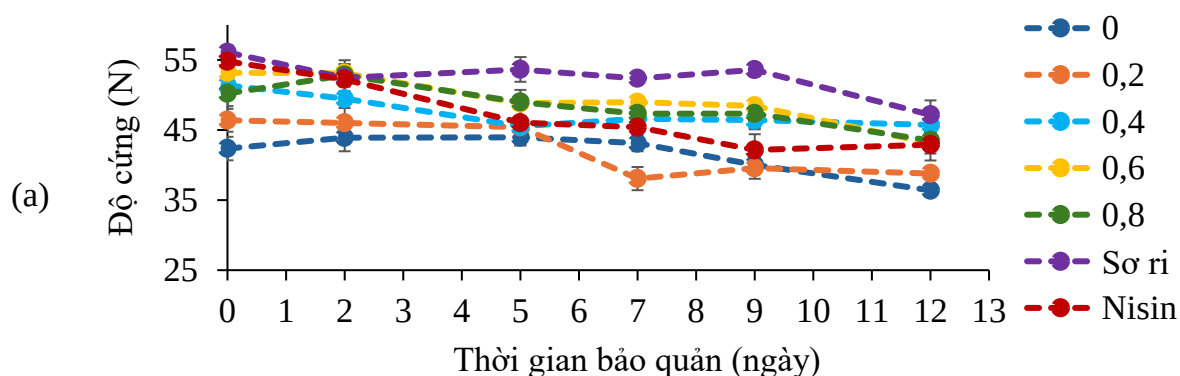


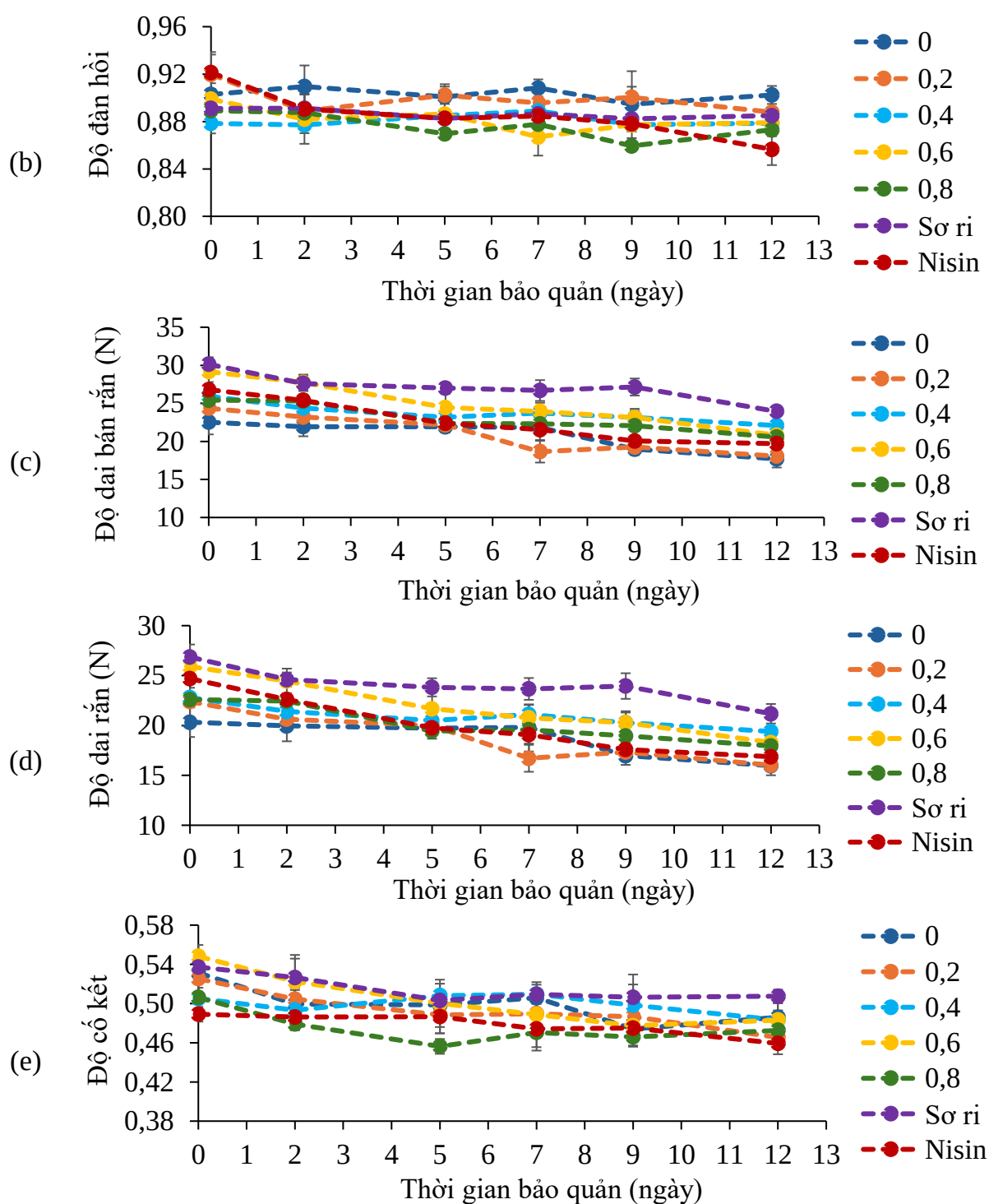
Hình 3.25. Thay đổi pH của xúc xích bổ sung bột sấy phun, bột sơ ri và nisin theo thời gian bảo quản



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

Các mẫu xúc xích bổ sung bột sấy phun 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. Tuy nhiên, bổ sung bột sấy phun ở tỷ lệ cao có thể ảnh hưởng đến pH. Do đó, bổ sung bột sấy phun trong khoảng 0,2 – 0,4% là phù hợp.

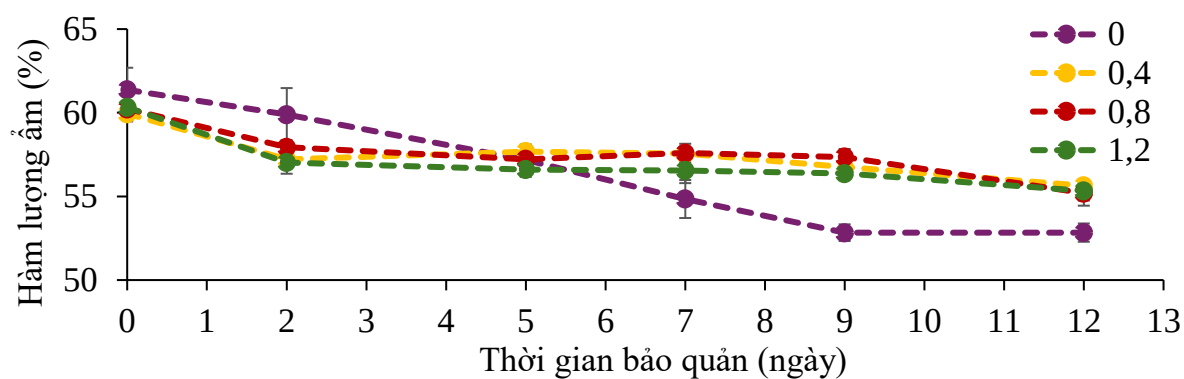




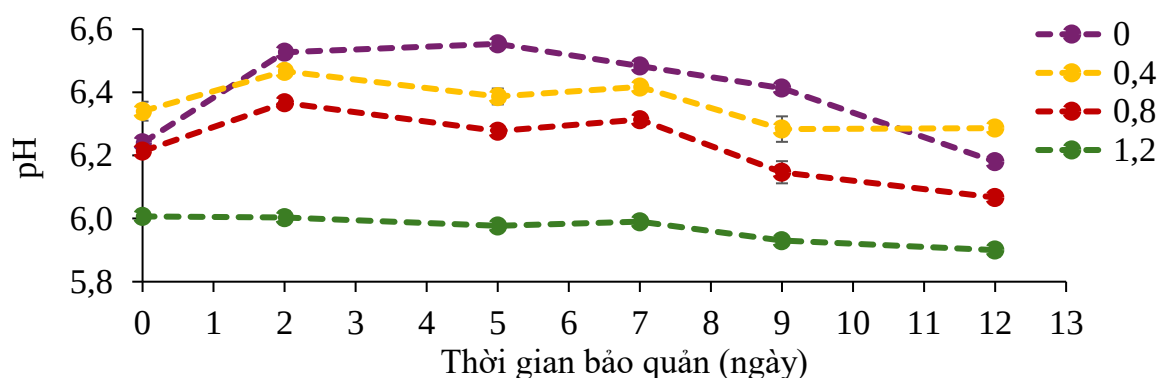
Hình 3.27. Thay đổi kết cấu xúc xích bổ sung bột sẩy phun, bột soro ri và nisin theo thời gian bảo quản

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

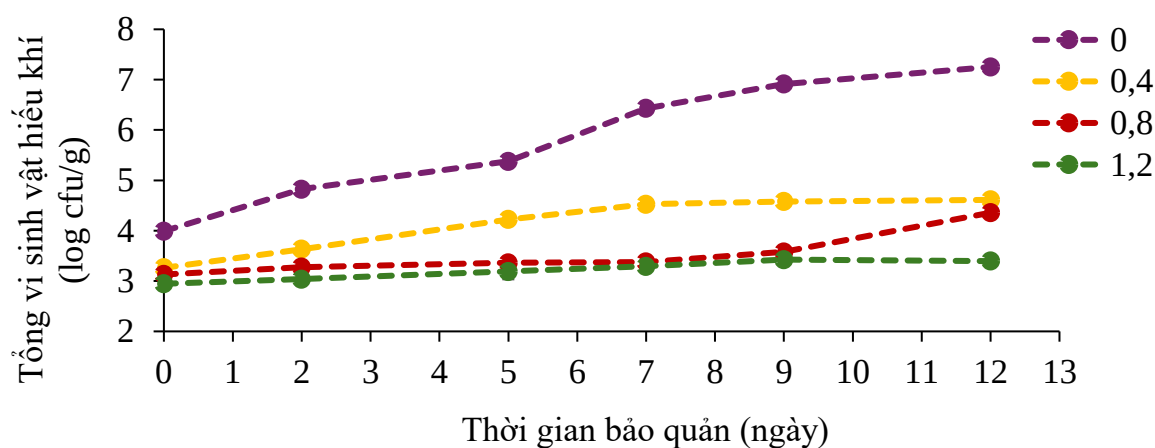
Bổ sung 0,4 – 0,8% oleogel có thể giúp duy trì hàm lượng ẩm và kết cấu, hạn chế sự phát triển tổng vi sinh vật hiếu khí và đảm bảo pH phù hợp cho sản phẩm xúc xích thanh trùng sau 12 ngày bảo quản.



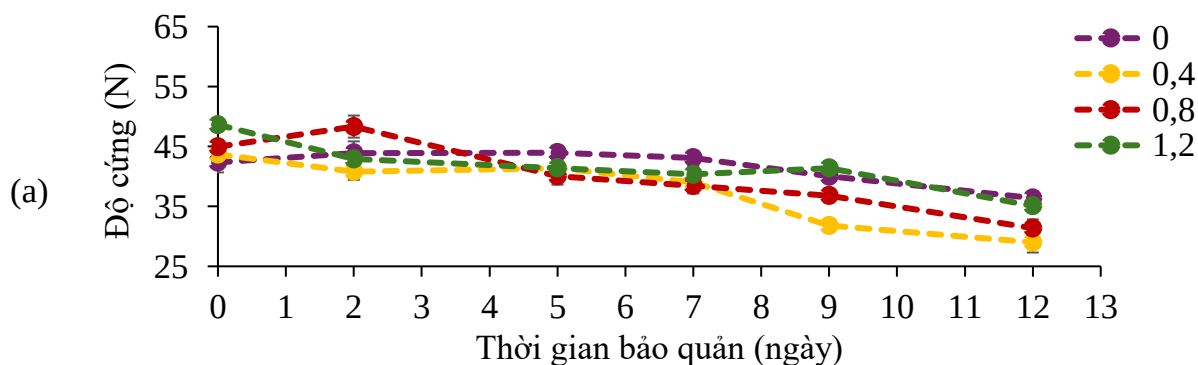
Hình 3.28. Thay đổi hàm lượng ẩm của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản

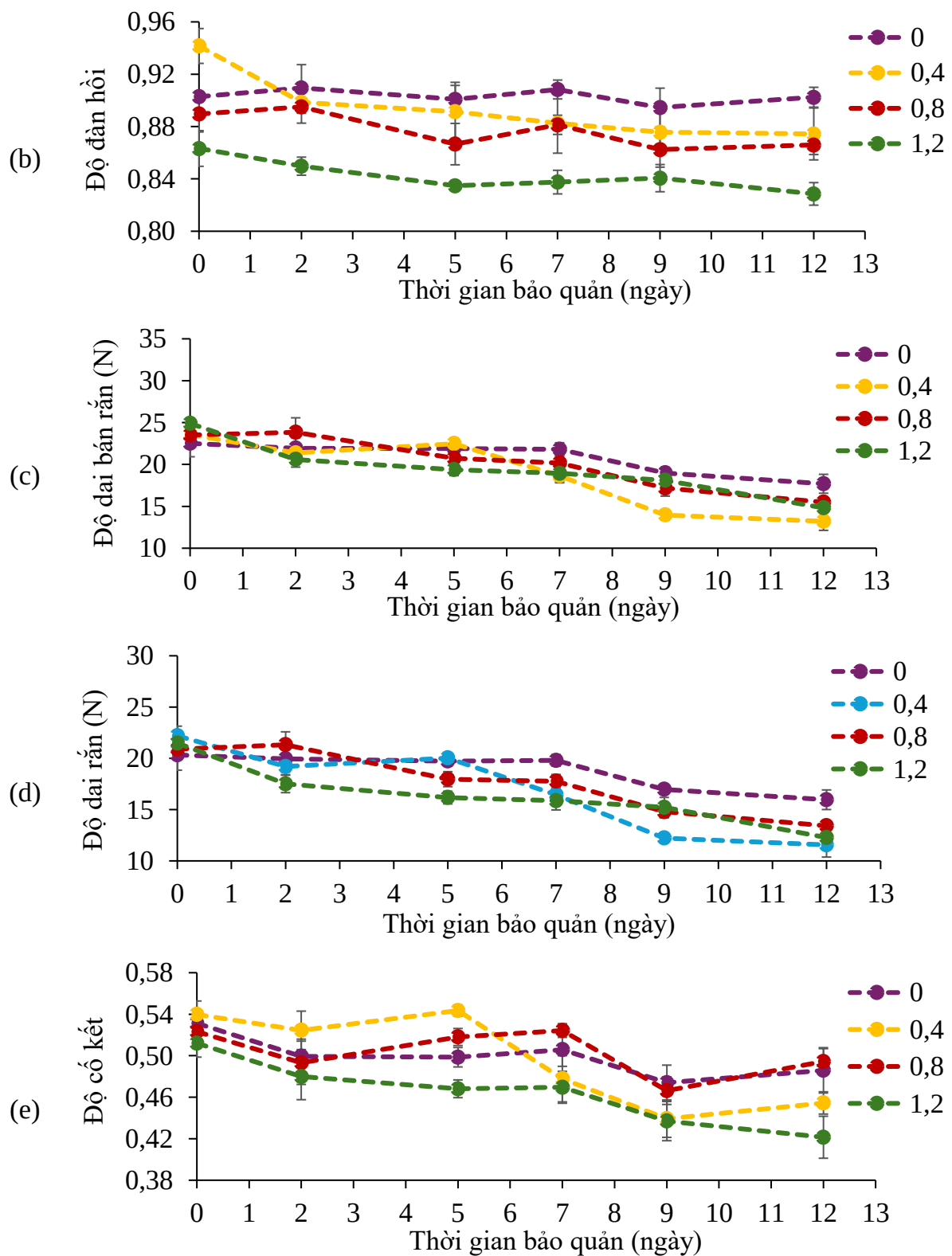


Hình 3.29. Thay đổi pH của xúc xích bổ sung oleogel theo thời gian bảo quản



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





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

4. Kết luận và kiến nghị

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 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 μ L/mL trên bốn chủng vi khuẩn thử nghiệm, đồng thời có hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH và ABTS. Kết quả của hai hệ DES cho thấy khả năng khai thác hiệu quả nguồn hoạt chất từ phụ phẩm nho theo tiếp cận dung môi xanh, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho 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 khí vào 162°C và tốc độ 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 với 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 vi bao 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.

Kiến nghị

- 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.