

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



NGUYỄN THÀNH CÔNG

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

Chuyên ngành: Công nghệ thực phẩm Mã số: 9.54.01.01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

Thành phố Hồ Chí Minh, Tháng 11/2024

Công trình được hoàn thành tại:

- Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM - Phường Linh Trung, TP. Thủ Đức,
TP.HCM

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS Kha Chấn Tuyên

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Trường họp tại Trường Đại học
Nông Lâm TP.HCM

Vào hồi giờ ngày.....tháng..... năm 2024

Có thể tìm hiểu luận án tại:

A. PHẦN MỞ ĐẦU

Tính cấp thiết của luận án

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

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

Xác định được thời điểm thu hoạch và bảo quản trái nhàu. Kết quả của đề tài là cơ sở để gia tăng giá trị sử dụng của trái nhàu có hàm lượng hợp chất sinh học cao. Là tiền đề sản xuất chất chống oxy hóa tự nhiên có nguồn gốc thực vật, cũng như sử dụng để phát triển các sản phẩm thực phẩm chức năng.

Mục tiêu

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

Những đóng góp của luận án

Đây là công trình nghiên cứu có tính hệ thống trên một đối tượng nguyên liệu mới là trái nhàu (*Morinda citrifolia* L). Tối ưu hóa điều kiện trích ly thân thiện với môi trường làm giàu các hợp chất có hoạt tính sinh học cao trong trái nhàu. Tối ưu hóa được nguyên liệu vỏ kết hợp gum arabic và maltodextrin, và nhiệt độ sấy phun cho vi bao phù hợp để giữ được cao nhất TPC, TFC và TSC. Xác định được các mô hình đánh giá bột nhàu vi bao cũng như khả năng giải phóng và bảo vệ các hoạt chất có hoạt tính sinh học trong các điều kiện khác nhau. Đề tài lựa chọn các phương pháp có khả năng ứng dụng trên quy mô lớn công nghiệp. Bản thân sản phẩm là bột nên có thể lưu giữ lâu, thuận lợi hơn trong vận chuyển và sử dụng mà ít bị thay đổi

tính chất hóa lý. Cùng với việc kéo dài thời gian giảm hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học, bột nhàu vi bao sẽ giúp tương thích các sản xuất ứng dụng.

Bố cục của luận án

Luận án có 134 trang, 34 hình, 32 bảng, và 197 tài liệu tham khảo, bao gồm chương Mở đầu; Chương 1: Tổng quan; Chương 2: Vật liệu và phương pháp nghiên cứu; Chương 3: Kết quả và thảo luận; và chương Kết luận và kiến nghị.

B. PHẦN NỘI DUNG

1. Tổng quan

Phần tổng quan của luận án đã trình bày tóm tắt về: tổng quan về trái nhàu, thành phần hóa học trong trái nhàu, tổng quan về phương pháp trích ly, và tổng quan vi bao bằng phương pháp sấy phun. Từ đó rút kết ra hướng nghiên cứu và nội dung nghiên cứu của luận án.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu và hóa chất sử dụng

Nguyên liệu nghiên cứu

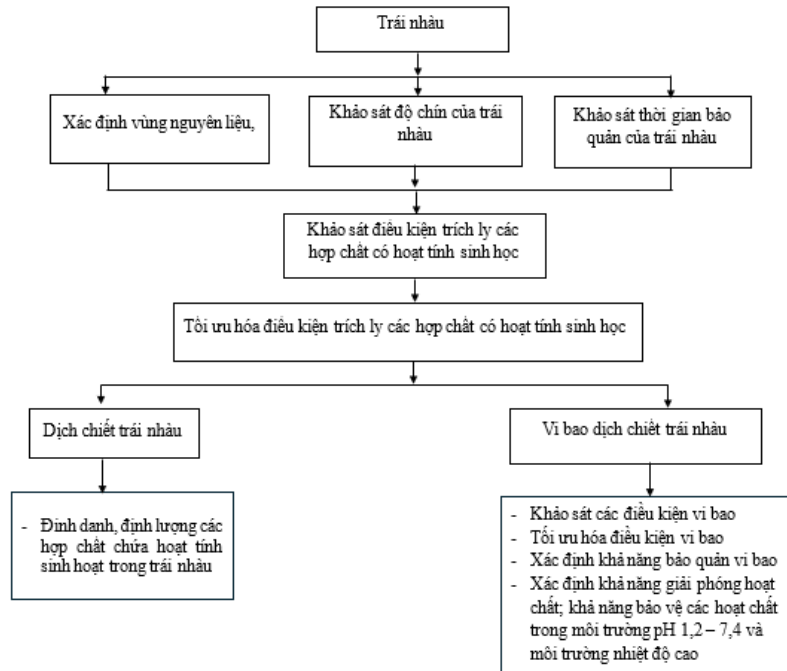
Nguyên liệu nhàu tươi: được thu hoạch và cung ứng bởi công ty Mekong Herbals, Tiền Giang, Việt Nam. Thời gian thu hoạch và vận chuyển trái nhàu trong điều kiện mát không quá 6 tiếng đến Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM.

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

Hóa chất sử dụng:

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

2.2 Phương pháp bố trí thí nghiệm



Hình 2.1 Sơ đồ nghiên cứu tổng quát

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

- ❖ **Độ chín khi thu hoạch:** 90-95 ngày, 100-107 ngày, 110-115 ngày. Hàm lượng các hợp chất sinh học (flavonoid, polyphenol, triterpenoid và axit ascorbic), và các chỉ tiêu hoá lý (màu sắc, độ ẩm, khối lượng quả) và dinh dưỡng (protein, béo, carbohydrate và xơ)
- ❖ **Sự thay đổi theo thời gian bảo quản:** 0, 3-5 và 5-7 ngày cho đến khi trái hỏng
- ❖ **Khảo sát tiền xử lý và nhiệt độ sấy bằng khí nóng cho nguyên liệu đầu vào**

Nhàu cắt lát (4-5 mm) được khảo sát tiền xử lý trong các điều kiện (i) chần trong nồi hấp trong 3 phút, (ii) ngâm trong dung dịch axit ascorbic 1% (w/v) trong 1 giờ, hoặc (iii) ngâm trong dung dịch natri metabisulfite 1% (w/v) trong 1 giờ. Độ ẩm ban đầu của các lát nhàu trên 88%. Sau đó, các mẫu này được làm khô ở nhiệt độ khác nhau 50, 60, 70 và 80 °C trong tủ sấy (khoảng 2 kg/m²). Các mẫu được thu định kỳ cho đến khi độ ẩm cuối cùng khoảng dưới 6%.

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

- ❖ **Khảo sát điều kiện trích ly:**
 - **Ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme bổ sung**

Yếu tố thí nghiệm: Tỉ lệ enzyme: 0%; 0,1%; 0,5% và 1%.

- **Ảnh hưởng của tỉ lệ nước/ bột nhào**

Yếu tố thí nghiệm: Tỉ lệ nước/ bột nhào: 8/1, 12/1, 16/1, 20/1 (ml/g).

- **Ảnh hưởng của nhiệt độ ủ**

Yếu tố thí nghiệm: Nhiệt độ: 40, 50 và 60 (°C).

- **Ảnh hưởng của thời gian ủ**

Yếu tố thí nghiệm: thời gian: 30, 45 và 60 (phút).

- **Tối ưu hoá điều kiện trích ly**

Tối ưu điều kiện trích ly bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (Response surface methodology).

- ❖ **Xác định các hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ trong dịch trích trái nhàu**

Bột nhào được sấy khô bằng máy sấy bơm nhiệt ở 30 - 35°C đến độ ẩm khoảng 10%. Cân 5 g bột nhào trộn với 50 ml ethanol 75% (tỉ lệ 1:10), khuấy từ 40 phút ở 57°C, sau đó mẫu được lọc thô bằng vải lọc, sau đó lọc lại bằng giấy lọc Whatman (kích thước lỗ 15-20 µm) để loại bỏ cặn mịn, chuẩn bị cho phân tích định danh (UHPLC-QTOF-MS/MS) và định lượng (HPLC).

Nghiên cứu vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học

- ❖ **Xác định công thức dung dịch trước khi sấy**

Yếu tố thí nghiệm: công thức vỏ bao là Gum Arabic và Maltodextrin với các tỉ lệ khác nhau, bao gồm 1:1; 1:2; 1:3; và 3:1 (w/w).

- ❖ **Xác định nồng độ vỏ bao thích hợp**

Yếu tố thí nghiệm là nồng độ vỏ bao, bao gồm: 20, 25, và 30% và khối lượng phối trộn vỏ bao và dung dịch nhàu được cố định với tỷ lệ 7:3 (w/w).

- ❖ **Xác định nhiệt độ sấy phun đầu vào thích hợp**

Yếu tố thí nghiệm là Nhiệt độ sấy phun đầu vào: 140, 150, 160, 170 và 180°C.

- ❖ **Xác định nhiệt độ sấy phun đầu ra thích hợp**

Yếu tố thí nghiệm là Nhiệt độ sấy phun đầu ra: 82-83, 87-88, 91-93 và 97-98°C.

- ❖ **Tối ưu hoá nhiệt độ sấy phun**

Mục đích xác định chế độ sấy phun tối ưu (nhiệt độ đầu vào và đầu ra) nhằm tạo ra bột vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học có tính ổn định cao sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng

để tối ưu hoá chế độ sấy phun. Thành phẩm bột nhàu vi bao sau khi sấy phun được thu nhận đóng vào túi zip trắng bạc.

❖ Theo dõi thời gian bảo quản của bột vi bao

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

❖ Đường cong hấp phụ của bột vi bao

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

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

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

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

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

Khả năng bảo vệ hoạt chất của bột vi bao trong đường tiêu hóa được đánh giá *in vitro* bằng môi trường mô phỏng đường tiêu hóa ở hai giai đoạn dạ dày và ruột non. Đầu tiên, phân tán 1 g bột vi bao vào 10 mL dung dịch HCl pH 1,2, mô phỏng dịch vị dạ dày trong 2 giờ. Tiếp theo, hệ được chuyển sang mô phỏng giai đoạn trong ruột non có pH 6,8 (40 mL đệm PBS) trong 6 giờ. Tại các thời điểm cách nhau 30 phút trong suốt quá trình, hút 1 mL mẫu và thay thế vào 1 mL môi trường. Mẫu được ly tâm ở 6000 rpm trong 5 phút lấy dịch nổi.

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

Chuẩn bị 1 g bột vi bao và cao tự do được ủ trong các môi trường nhiệt độ cao 60°C, 100°C trong 1 giờ. Sau đó, tiến hành định lượng lại hàm lượng TPC, TFC, và TSC.

2.3 Phương pháp phân tích các chỉ tiêu

❖ Định tính các hợp chất sinh học

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

❖ Định lượng thành phần dinh dưỡng

- Hàm lượng protein: phương pháp AOAC (2005) (920.103) với hệ số 6.25.
- Hàm lượng chất béo: phương pháp AOAC (2003.05).
- Hàm lượng carbohydrate: theo tiêu chuẩn glucose ở bước sóng 490nm để đo độ hấp thụ.
- Hàm lượng chất xơ: phương pháp AOAC 995,29.

❖ Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

- Chất chống oxy hóa tổng hợp
- Chất kìm hãm quá trình oxy hóa

❖ Định lượng hàm lượng khoáng chất

Định lượng hàm lượng khoáng chất dựa trên phương pháp AOAC (2005).

❖ Phương pháp định danh

Chương trình sắc ký cho các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trái nhàu được thực hiện trên ExionLC™ – X500R QTOF (AB Sciex, USA), cột Hypersil GOLD 150 x 2,1 mm; 3µm (Thermo Scientific). Thể tích tiêm mẫu là 2 µl. Pha động bao gồm kênh A là 0,1% formic acid/ H₂O và kênh B là 0,1% formic acid/ Acetonitrile. Chương trình gradient cho hệ thống LC.

Bảng 2.1 Chương trình gradient cho hệ thống LC-MS/MS

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

Điều kiện khối phổ: Hệ thống LC kết hợp với khối phổ có độ phân giải cao (HRMS) được trang bị nguồn ion hóa tia điện tử (Electrospray ionization – ESI), chế độ ion âm. Các thông số của QTOF, chế độ full-scan được áp dụng để phân tích, xác định các hợp chất bằng cách sử dụng khối lượng (exact mass) và các mảnh ion phân tử. Để truy xuất thông tin cấu trúc hóa học và các cơ sở dữ liệu về khối phổ, bên cạnh các báo cáo khoa học, các cơ sở dữ liệu trực tuyến.

❖ Phương pháp định lượng

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

❖ Hàm lượng polyphenol tổng (TPC)

Phương pháp quang phổ (Singleton & ctv, 1999)..

❖ Hàm lượng flavonoid tổng (TFC)

Phương pháp Aluminum Chloride colorimetric (AlCl₃) (Ribarova & ctv, 2005).

❖ Hàm lượng saponin triterpenoid tổng (TSC)

Phương pháp tổng quang phổ (Tan, Sing P & ctv, 2014).

❖ Hàm lượng vitamin C

Phương pháp chuẩn độ 2,6-dichlorophenol-indophenol (DCPIP) (CoSeteng & ctv, 1989) với chút sửa đổi.

❖ Ẩm độ

Sấy ở nhiệt độ 105°C hoặc cân sấy ẩm 130°C đến khối lượng không đổi.

❖ Hoạt tính nước

Máy đo hoạt độ nước (Aqualab của Mỹ).

❖ Cấu trúc hạt vi bao dạng rắn

Thiết bị Scanning Electron Microscopy (SEM) được dùng để xem cấu trúc bột vi bao nhàu và thiết bị SZ-100 (Dynamic Light Sacttering).

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

Phương pháp tán xạ ánh sáng động xác định kích thước vật liệu dựa trên sự tán xạ ánh sáng khi vật liệu chuyển động Brown trong môi trường phân tán. Điện thế zeta nhằm kiểm tra độ ổn định cũng như khả năng phân tán của hạt trong dung dịch.

❖ **Nhiều xạ tia X**

Phương pháp nhiễu xạ tia X (X-ray diffraction-XRD) dùng để xác định thành phần cấu trúc mạng tinh thể của mẫu cần nghiên cứu. Trong nghiên cứu, cấu trúc tinh thể của vật liệu được phân tích nhiễu xạ tia X trên thiết bị D8-Advance với bức xạ Cu-K α (bước sóng $\lambda = 1,5406$ Å). Tiến hành đo mẫu với góc quét 2 theta từ 10-80°.

❖ **Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR)**

Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (Fourier transformed infrared spectroscopy-FT-IR) là một trong những kỹ thuật được sử dụng nhiều nhất để khẳng định hạt đã được vi bao hay chưa do tính đơn giản và sẵn có của phép đo. Các phép đo phổ hồng ngoại trong nghiên cứu được thực hiện trên máy FT-IR Thermo Nicolet 6700, dải quét từ 4000-400 cm^{-1} . Giá đỡ KBr được sử dụng trong phương pháp phân tích này.

❖ **Quét nhiệt vi sai (DSC)**

DSC là phương pháp phân tích nhiệt mà ở đó chênh lệch về nhiệt độ giữa hai mẫu chuẩn và mẫu nghiên cứu luôn được duy trì bằng không. DSC quét nhiệt vi sai cho thông tin về sự chuyển pha của vật chất: nóng chảy, kết tinh, thủy tinh hóa hay nhiệt phản ứng của polymer.

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

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

❖ **Tỉ trọng khối và tỉ trọng gõ**

Tỉ trọng khối (khối lượng riêng thô) của bột là tỷ số giữa khối lượng của bột chưa bị dòn nén so với thể tích của nó, bao gồm cả khoảng trống giữa các hạt bột. Khối lượng riêng gõ (tỉ trọng gõ) là khối lượng riêng thô của bột tăng lên khi dòn nén bột bằng tác động cơ học. Tỉ trọng khối và tỉ trọng gõ nhằm xác định chỉ số nén của bột vi bao nhằm đánh giá khả năng nén viên của bột thông qua chỉ số nén (Carr) và tỉ số Hausner.

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

Tất cả các số liệu thu thập dựa trên kết quả lặp lại ít nhất 3 lần.

Việc xác định thông số tối ưu cho một kết quả nghiên cứu được dựa trên các khoảng khảo sát của từng thí nghiệm đơn lẻ; sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng RSM với điểm trung tâm (CCD). Phương trình tương quan được chọn lựa dựa trên tác động của các yếu tố khảo sát (2

hay nhiều yếu tố) đến kết quả thu nhận bằng các thử nghiệm phương trình hồi quy đa thức theo phương pháp bình phương nhỏ nhất. Phương trình tối ưu hóa sử dụng mô hình nhiều yếu tố và tối ưu hóa nhiều đáp ứng.

Các dạng phương trình hồi quy thường áp dụng đối với lĩnh vực kỹ thuật, công nghệ bao gồm:

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

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

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

Kết quả của các thí nghiệm so sánh, chọn nghiệm thức tối ưu và tối ưu hóa điều kiện trích ly và điều kiện sấy phun theo phương pháp bề mặt đáp ứng đều được thống kê và phân tích sử dụng phần mềm JMP 16.0.

Các thí nghiệm được thực hiện với một số lượng mẫu nhất định nhằm tìm ra sự khác biệt có ý nghĩa bằng phương pháp phân tích thống kê. Số liệu của các thí nghiệm được phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS 15.0. Kết quả được trình bày bằng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (Mean \pm SD). Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được kiểm chứng bằng ANOVA và LSD ở mức ý nghĩa 5% ($P < 0,05$). Các số liệu được biểu diễn bằng đồ thị được vẽ bằng Excel 16.0.

3. Kết quả và thảo luận

3.1 Các hợp chất có trong trái nhàu và thảo luận

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

Các chất	Mẫu nhàu		
	<i>Morinda tomentosa</i>	<i>Morinda citrifolia</i>	
	Khánh Hòa	Bình Phước	Cà Mau
Protein (% , vck)	2.72 \pm 0.11 ^a	3.46 \pm 0.15 ^b	2.98 \pm 0.12 ^c
Béo (% , vck)	7.53 \pm 0.34 ^a	9.72 \pm 0.26 ^b	8.64 \pm 0.18 ^c
Carbohydrate (% , vck)	25.17 \pm 0.58 ^a	23.81 \pm 0.69 ^b	24.03 \pm 0.84 ^{ab}
Xơ (% , vck)	49.26 \pm 1.82 ^a	48.55 \pm 1.89 ^a	49.11 \pm 2.06 ^a

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

Thành phần chất dinh dưỡng: Kết quả cho thấy thành phần dinh dưỡng trong nhàu bao gồm: protein, chất béo, carbohydrate, và chất xơ.

Thành phần khoáng chất: Thành phần khoáng chất của nhàu Bình Phước là cao nhất (hàm lượng Ca²⁺, Mg²⁺, Fe³⁺, Zn²⁺, Na⁺, Cu²⁺ lần lượt là 5,532.19; 5,147.63; 275.31; 190.12; 5,103.11; 5.59 ppm). Tiếp theo là Cà Mau, và cuối cùng là Khánh Hòa.

Sau khi đánh giá kết quả trong các mẫu nhàu nguyên liệu cho thấy có sự khác biệt giữa các giống và vùng trồng khác nhau. Tuy nhiên, đối tượng nghiên cứu chính của đề tài là các chất có hoạt tính sinh học trong *Morinda citrifolia* L. Công ty Mekong Herbals có 2 vùng trồng *M. citrifolia* L tại Bình Phước và Tiền Giang đều cho kết quả hàm lượng tương. Để đảm bảo thời gian thu hoạch, điều kiện vận chuyển và tính ổn định của số liệu. Tiền Giang được chọn là vùng trồng để thu hái trái nhàu cho các thí nghiệm tiến hành tiếp theo.

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

Độ chín thu hoạch

Bảng 3.3 Ảnh hưởng của độ chín khi thu hoạch đến hợp chất có hoạt tính sinh học

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

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

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

Thời gian bảo quản

Kết quả phân tích thống kê cho thấy hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học bị ảnh hưởng đáng kể bởi thời gian bảo quản ($p < 0,001$). Khi thời gian bảo quản tăng từ ngày đầu tiên đến ngày thứ 3, và đạt cực đại ở ngày thứ 3. Sau đó hàm lượng các hợp chất dinh dưỡng giảm dần theo thời gian bảo quản. Từ các kết quả này, trái nhàu nên thu hoạch ở thời điểm trái đạt độ chín từ 100 – 107 ngày kể từ lúc ra hoa và bảo quản trong thời gian khoảng 3 ngày hoặc thu hoạch khi trái chín hoàn toàn (màu trắng ngà) để có hàm lượng các hợp chất hoạt tính sinh học cao nhất. Ngoài ra, các chỉ tiêu hóa lý khác cũng được ghi nhận trong quá trình này.

Tiền xử lý và nhiệt độ sấy bằng khí nóng cho nguyên liệu đầu vào

Độ ẩm ban đầu của các mẫu dao động từ 88,5 đến 92,2%. Độ ẩm đạt tối đa trước khi giảm dần cho đến sau vài giờ sấy khô trong các điều kiện tiền xử lý khác nhau, tất cả đều mất nước với tốc độ tương đối giống nhau. Có thể kết luận rằng TPC, TFC và TSC của sản phẩm bột từ trái nhàu bị giảm đáng kể và bị ảnh hưởng bởi các phương pháp tiền xử lý. Các hợp chất có hoạt tính sinh học của quả nhàu định lượng ở các thời điểm sấy khác nhau, nhiệt độ khác nhau là đáng kể, tối ưu nhất tìm thấy trong các mẫu sấy khô ở 60°C cho TPC, TFC và TSC tương ứng là 13,945 mg GAE/g, 2,51 mg QE/g, và 31,16 mg AE/g. Các hoạt chất này giảm khi ở 70 và 80°C. Do đó, bước tiền xử lý với axit ascorbic (1% trong 1 giờ) và sấy trong tủ sấy khí nóng ở 60°C (trong khoảng 6 giờ) là quy trình tối ưu cho trái nhàu khảo sát trong nghiên cứu này.

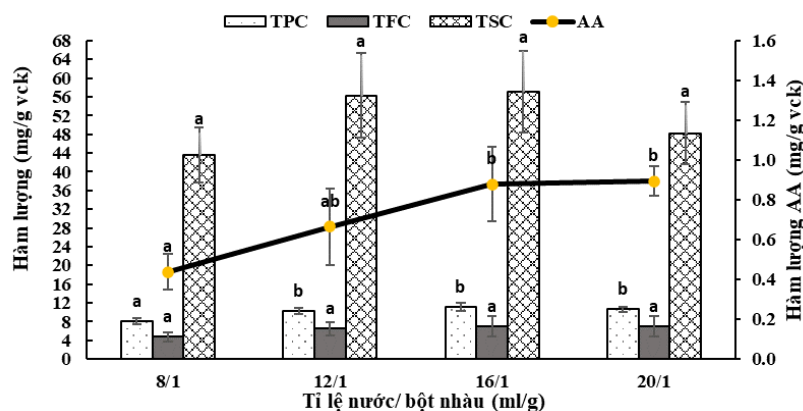
3.3 Quy trình công nghệ trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu

Ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme

Enzyme sử dụng trong quá trình trích ly nhằm hỗ trợ việc phá vỡ cấu trúc vật liệu giúp giải phóng các hợp chất có hoạt tính sinh học vào trong dung môi nước, nâng cao hiệu quả trích ly. Xu hướng chung cho thấy các hợp chất tăng lên khi tăng tỉ lệ enzyme từ 0% đến 0,5% và có khuynh hướng không tăng nữa khi tiếp tục tăng tỉ lệ này lên 1%.

Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi

Bốn tỉ lệ nước/ bột nhàu: 8/1 (ml/g), 12/1 (ml/g), 16/1 (ml/g) và 20/1 (ml/g) đã được khảo sát. Kết quả là tỉ lệ nước/bột nhàu 16/1 (ml/g) được chọn.



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

Ảnh hưởng của nhiệt độ ủ enzyme

Nhiệt độ là một trong những yếu tố có ảnh hưởng đến quá trình trích ly cũng như tác động trực tiếp đến các hợp chất có hoạt tính sinh học trong nguyên liệu thực vật. Mỗi enzyme có một nhiệt độ tối thích khác nhau, phần lớn phụ thuộc vào nguồn cung cấp enzyme, thông thường là ở trong khoảng từ 40 – 60°C.

Ảnh hưởng của thời gian ủ enzyme

Khi ủ enzyme ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 30 và 45 phút, hàm lượng các hợp chất có xu hướng tăng, tiếp tục tăng thời gian ủ lên 60 phút thì hàm lượng chất giảm. Kết quả ghi nhận được tại nhiệt độ 50°C, thời gian 45 phút cho hàm lượng hợp chất cao nhất. Điều này cho thấy hoạt động phân cắt thành tế bào của enzyme đang diễn ra mạnh mẽ, giúp cho các hợp chất có hoạt tính sinh học hoà tan vào dịch trích tốt hơn.

Tối ưu hoá điều kiện trích ly

Trong thí nghiệm này, sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng để tối ưu hoá điều kiện thuỷ phân, bao gồm: tỉ lệ enzym bổ sung (0,5 – 1%), nhiệt độ ủ (50 – 60°C) và thời gian ủ (45 – 60 phút). Phương trình hồi qui bậc hai (biến thực) đối với hàm lượng Polyphenol tổng thu được (Y_1); hàm lượng Flavonoid tổng (Y_2), hàm lượng Saponin Triterpenoid (Y_3) và hàm lượng vitamin C (Y_4) như sau:

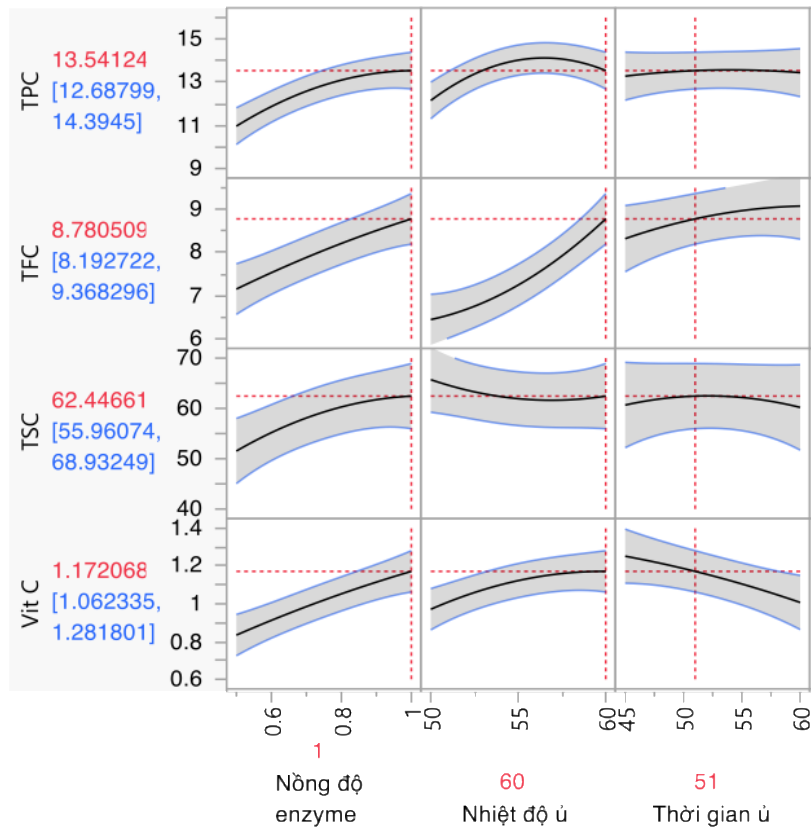
$$Y_1 = -71,44 + -43,10X_1 + 3,99X_2 - 0,19X_3 - 9,41X_1^2 - 0,04X_2^2 - 3,79X_3^2 + 0,75X_1X_2 + 0,34X_1X_3 + 4,47X_2X_3$$

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

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

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

Trong đó : Y_1, Y_2, Y_3, Y_4 lần lượt là hàm lượng Polyphenol tổng, hàm lượng Flavonoid tổng, hàm lượng Saponin Triterpenoid và hàm lượng vitamin C thu được trong quá trình trích ly. X_1 : Nồng độ enzyme ; X_2 Nhiệt độ ủ ; X_3 thời gian ủ.



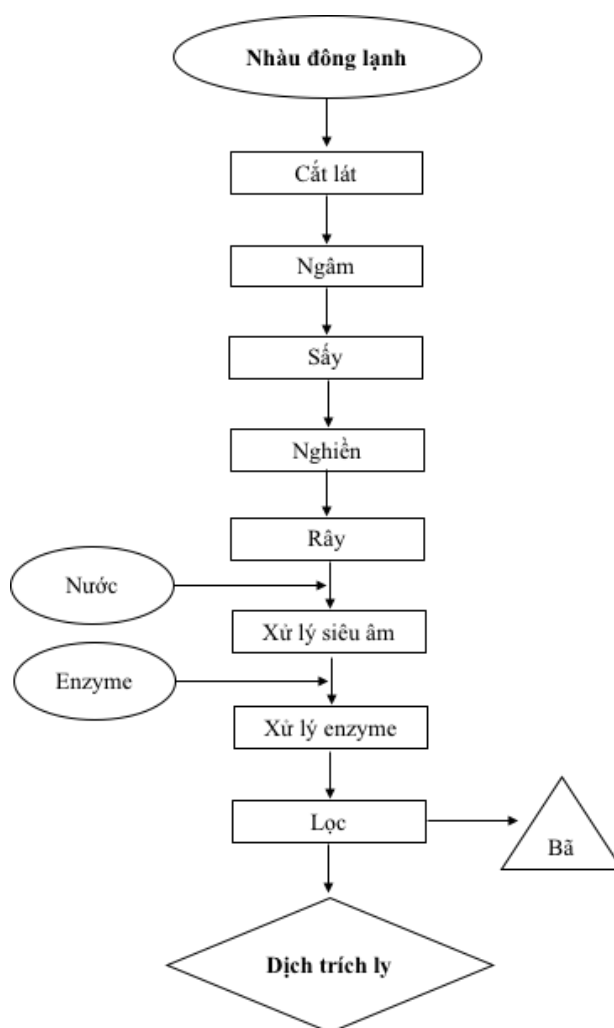
Hình 3.3 Mô hình tối ưu điều kiện trích ly dịch trái nhàu

Kết quả phân tích bằng phần mềm JMP 16.0 đã xác định được mô hình tối ưu hóa điều kiện trích ly, được trình bày qua Hình 3.9. Dựa vào mô hình, điều kiện trích ly tối ưu là nồng độ enzyme 1%, nhiệt độ ủ 60°C và thời gian ủ 51 phút.

Dịch trích ly: Với các điều kiện trích ly enzyme tối ưu, dịch trích thu được có hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học đã được thẩm tra với kết quả Polyphenols: $13,29 \pm 0,31$ mg GAE/g vck, Flavonoids: $8,40 \pm 0,08$ mg QE/g vck, Saponin: $63,19 \pm 1,66$ mg AE/g vck, và Ascorbic acid: $1,16 \pm 0,15$ mg AA/g vck.

Từ đó quy trình công nghệ được hình thành và trình bày trong luận án.

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



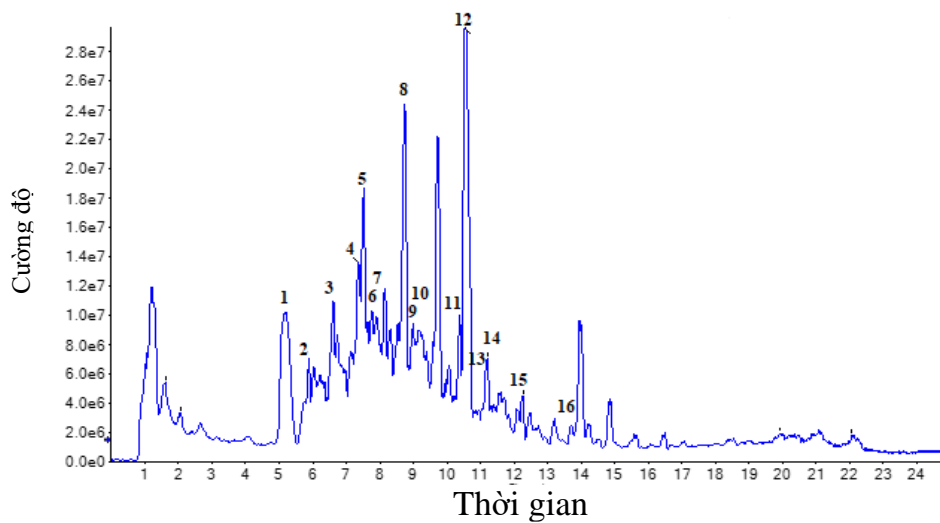
Hình 3.4 Quy trình công nghệ trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái nhàu

3.4 Xác định các hợp chất có hoạt tính sinh học đơn lẻ trong dịch trích trái nhàu

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

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

Kết quả định danh cho thấy trong dịch trích trái nhàu có các hợp chất có hoạt tính sinh học chính thuộc nhóm flavonoids, nhóm iridoids, nhóm saccharide fatty acid ester, và các hemiterpene glycoside cũng được tìm thấy trong dịch trích trái nhàu.



Hình 3.5 Sắc ký đồ ion tổng (TIC) của dịch trích trái nhàu

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

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

Bảng 3.4 Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích nhàu

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

3.5 Quy trình công nghệ vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học

Xác định tỉ lệ vỏ bao

Tỉ lệ vỏ bao Gum Arabic và Maltodextrin thích hợp là 2:1 (w/w) được chọn. HS-TPC: Hiệu suất vi bao theo hàm lượng polyphenol, HS-TFC: Hiệu suất vi bao theo hàm lượng flavonoid, HS-TSC: Hiệu suất vi bao theo hàm lượng saponin. Khi kết hợp gum arabic (GA) và maltodextrin, các dung dịch chứa các loại chất bao này dễ tan hoàn toàn và có thể sấy phun được. Tỉ lệ khác nhau giữa 2 loại chất bao cũng ảnh hưởng đến kết quả vi bao bằng phương pháp sấy phun.

Xác định tỉ lệ nồng độ vỏ bao

Nồng độ vỏ bao ở 20% cho thấy hiệu suất vi bao nhìn chung đạt hiệu suất cao nhất trong các nồng độ khảo sát.

Bảng 3.5 Ảnh hưởng của tỉ lệ vỏ bao đến hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học

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

Bảng 3.6 Ảnh hưởng của nồng độ vỏ bao đến hiệu suất vi bao các hợp chất sinh học

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

Xác định nhiệt độ sấy phun đầu vào

Khoảng nhiệt độ sấy phun đầu vào khảo sát từ 140°C đến 180°C. Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đầu vào đến hiệu suất vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học và độ ẩm của bột nhào vi bao. Hiệu suất vi bao tăng từ khi tăng nhiệt độ vào từ 170 °C do thời gian tiếp xúc với nhiệt của dịch vi bao ngắn hơn, độ ẩm giảm nhanh giúp cho quá trình vi bao các hoạt chất tốt hơn, hạn chế việc thất thoát.

Xác định nhiệt độ sấy phun đầu ra

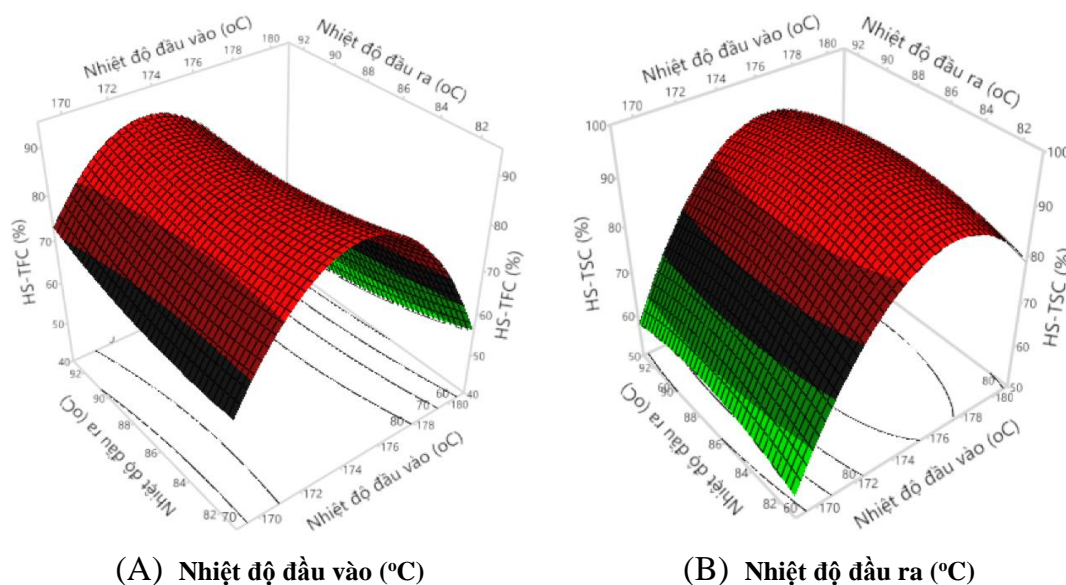
Khoảng nhiệt độ sấy phun đầu vào khảo sát từ 82 đến 98°C. Kết quả cho thấy hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học, đặc biệt là TPC giảm khi nhiệt độ sấy phun đầu ra cao (97-98°C). Ngoài ra, nhiệt độ sấy phun đầu ra càng cao thì độ ẩm càng thấp. Nhìn chung thấy nhiệt độ đầu ra quá cao lượng hao hụt hợp chất có hoạt tính sinh học sẽ có xu hướng giảm đi, tuy nhiên đối với TFC và TSC thì thay đổi này không nhiều. Tuy nhiên nhiệt độ ra ít ảnh hưởng đến khả năng vi bao hơn đối với nhiệt độ đầu vào, và việc kiểm soát nhiệt độ đầu ra khó hơn.

Tối ưu hóa sấy phun

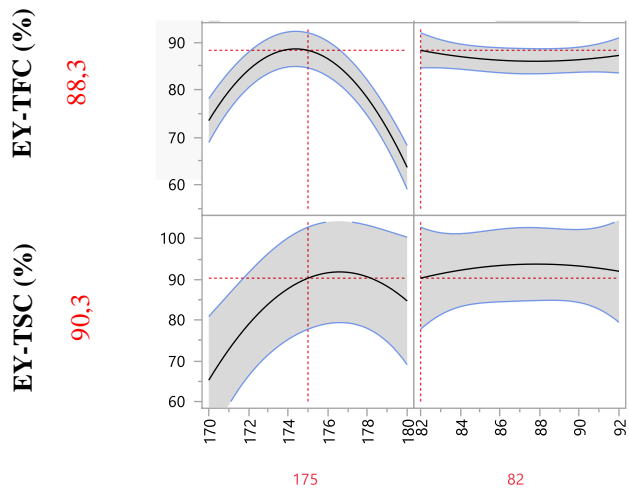
Từ các thí nghiệm một yếu tố đơn (nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra), khoảng nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra lần lượt được chọn là 170-180 và 82-92 °C. Với nhiệt độ sấy phun đầu ra dao động từ 82 đến 92 °C, tốc độ nạp liệu dao động tương ứng từ 1.6 lít/giờ. Kết quả xử lý thống kê cho thấy mô hình phương trình bậc 2 có thể mô tả sự thay đổi của hàm lượng TFC ($p < 0,001$), TSC ($p < 0,05$), và độ ẩm ($p < 0,01$) nhưng chưa thể mô tả cho sự thay đổi của TPC ($p > 0,05$) và Aw ($p > 0,05$) khi nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra thay đổi. Mặc dù mô hình bậc 2 có thể mô tả sự thay đổi của độ ẩm nhưng giá trị P lack of fit có ý nghĩa ($p < 0,01$) nên chỉ tiêu độ ẩm không được lựa chọn khi đánh giá mô hình tiếp theo. Do vậy, để tối ưu hoá nhiệt độ sấy phun, hiệu suất vi bao tính theo hàm lượng TFC và TSC được thực hiện.

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

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

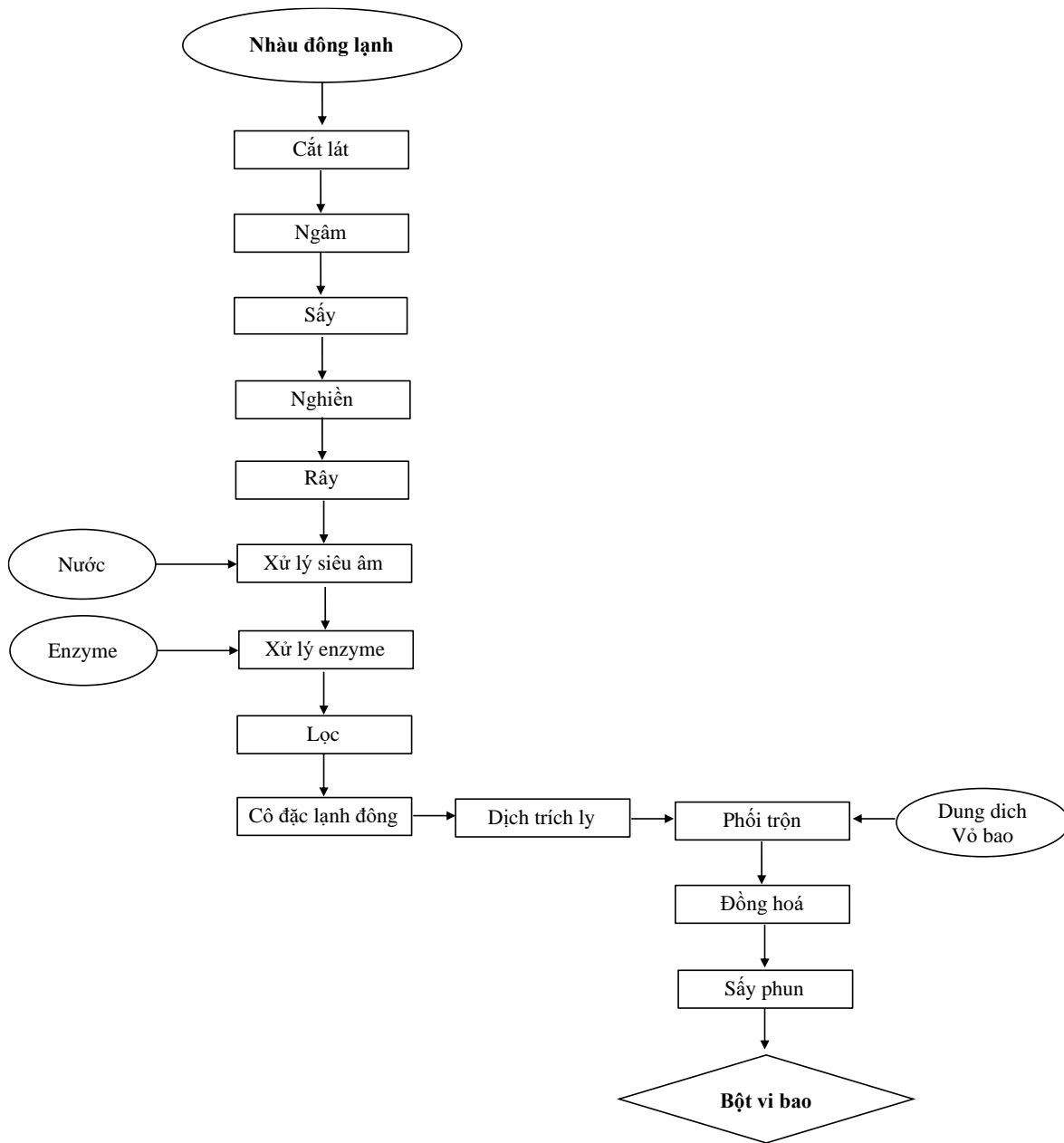


Hình 3.6 Mô hình tối ưu nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra



Hình 3.7 Biểu đồ 3D và đường đồng mức biểu thị ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun đầu vào và đầu ra đến hiệu suất vi bao tính theo TFC (A) và TSC (B)

Quy trình công nghệ vi bao bằng phương pháp sấy phun

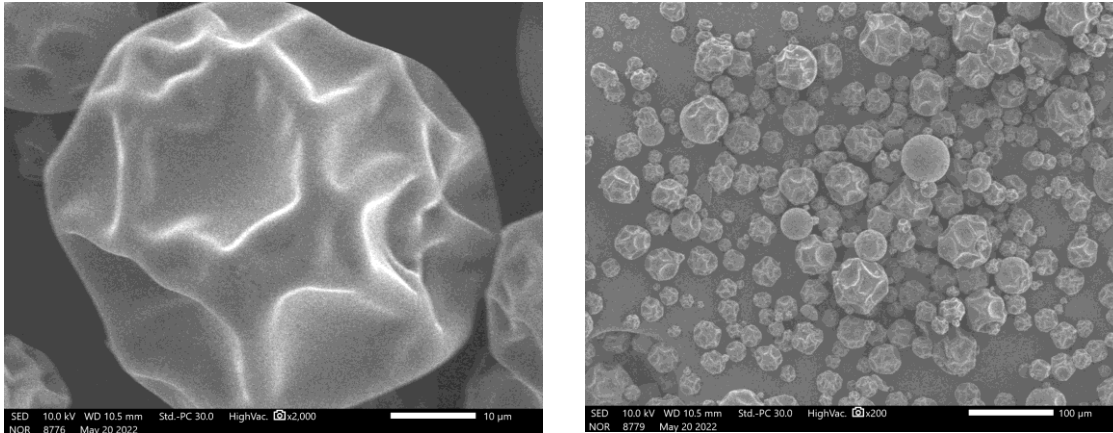


Hình 3.8 Quy trình công nghệ vi bao nhàu dạng bột

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

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

Kết quả cho thấy hạt có kích thước tương đối đồng đều và quan trọng là hạt không bị vỡ khi phóng đại lên 2000 lần. Điều này chứng tỏ hạt có cấu trúc bền vững, có khả năng bảo vệ tốt các hợp chất có hoạt tính sinh học bên trong hạt vi bao.

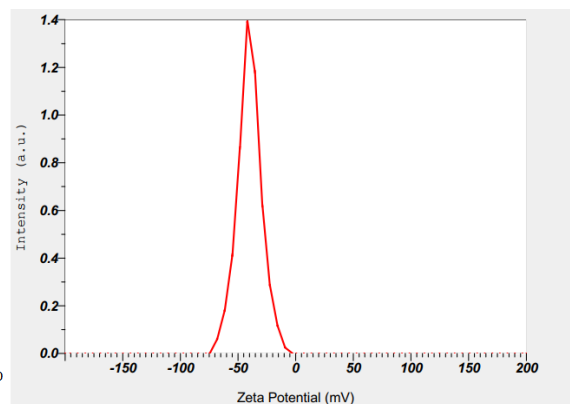
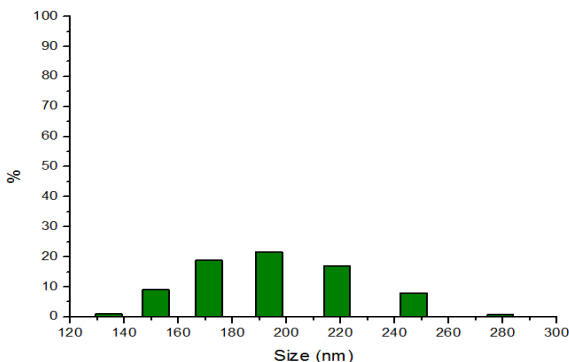


Hình 3.9 Cấu trúc hạt vi bao tối ưu được phân tích bằng SEM

Kết quả phân tích DLS cho thấy bột vi bao có kích thước từ 174-279 nm, phân bố khá đồng đều. Bột vi bao có điện thế zeta -40,1 mV cho thấy bột có độ ổn định cao và có khả năng phân tán tốt trong môi trường lỏng.

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

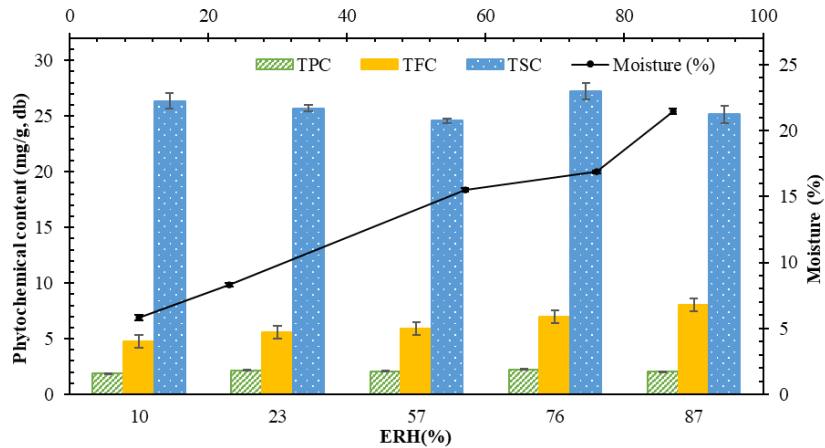
Tốc độ thất thoát các hợp chất có hoạt tính sinh học cao hơn ở nhiệt độ cao (50°C so với 40°C). Dựa vào hệ số góc của phương trình, tính được giá trị Q_{10} của TPC, TFC và TSC lần lượt là 2,86; 2,0 và 2,0. Với giá trị Q_{10} tính được, nếu tỉ lệ thất thoát hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học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



Hình 3.10 Biểu đồ phân bố kích thước Hình 3.11 Biểu đồ điện thế zeta bột vi bao

Đường cong hấp phụ ẩm của bột vi bao

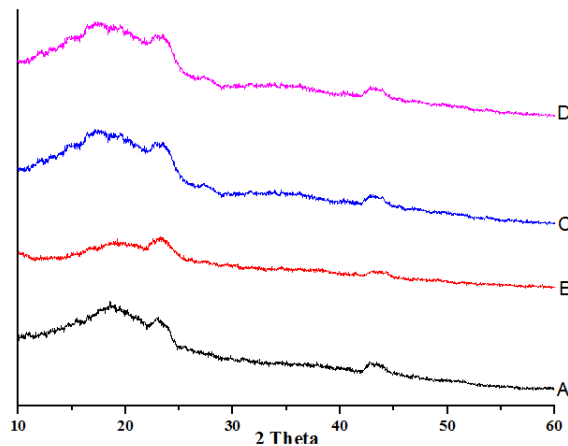
Ảnh hưởng của độ ẩm của bột vi bao nhau tối ưu được xác định ở môi trường với 5 điều kiện độ ẩm tương đối khác nhau trong 30 ngày ở nhiệt độ môi trường. Mô hình BET có độ chính xác hơn so với mô hình GAB, do có giá trị R^2 lớn hơn. Độ ẩm của sản phẩm bột vi bao nên $\leq 4.48\%$. Độ ẩm tương đối (ERH) có ảnh hưởng đáng kể đến độ ẩm của bột vi bao cũng như là các hợp chất có hoạt tính sinh học.



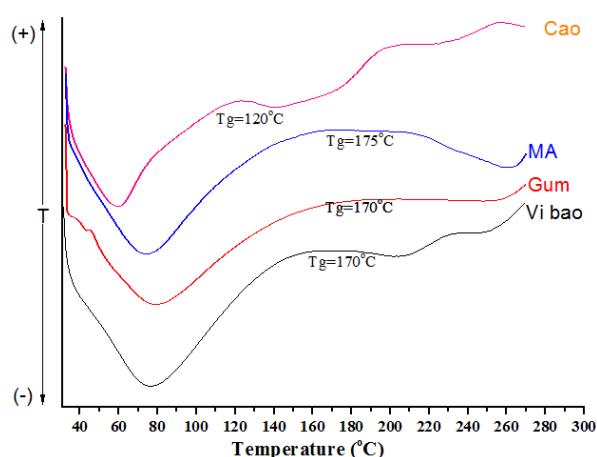
Hình 3.12 Ảnh hưởng của độ ẩm tương đối đến polyphenol, flavonoid, saponin và độ ẩm cân bằng của bột vi bao

Độ kết tinh và độ bền nhiệt của vi bao

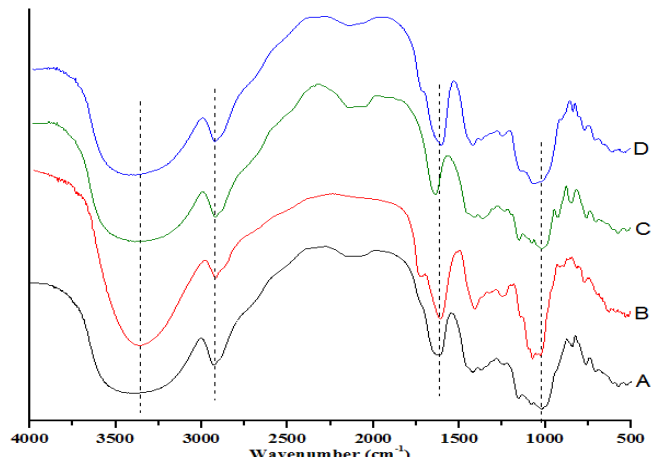
Độ kết tinh của bột vi bao có ảnh hưởng đến tính ổn định của bột. Vì thế, bột vi bao được xác định cấu trúc là kết tinh hay vô định hình thông qua phương pháp nhiễu xạ tia X. Đồng thời, sự tương đồng này cho thấy rằng nhiệt độ sấy phun không làm thay đổi tính chất cũng như độ kết tinh của các nguyên liệu ban đầu, đảm bảo tính chất hóa lí của nguyên liệu trước và sau sấy.



Hình 3.23 Phổ XRD của (A) bột vi bao, (B) Cao chiết trái nhàu, (C) MA, (D) Gum



Hình 3.13 Phổ DSC



Hình 3.14 Phổ FT-IR của (A) bột vi bao, (B) Cao chiết trái nhàu, (C) MA, (D) Gum

Kết quả cho thấy Tg lần lượt là 170°C (Gum), 175°C (MA), 120°C (cao) và 170°C (Vi bao). Bên cạnh đó, phổ DSC cao tự do có đỉnh thu nhiệt ở 58°C thấp hơn so với Gum ở 71°C, MA ở 69°C và vi bao là 76°C, điều đó chứng tỏ cao tự do kém ổn định hơn so với cao đã được vi bao bởi Gum và MA. Đồng thời, nhiệt phân hủy của cao tự do khoảng 140-160°C thấp hơn nhiều so với vi bao là 210°C.

Tương tác của các thành phần trong bột vi bao

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

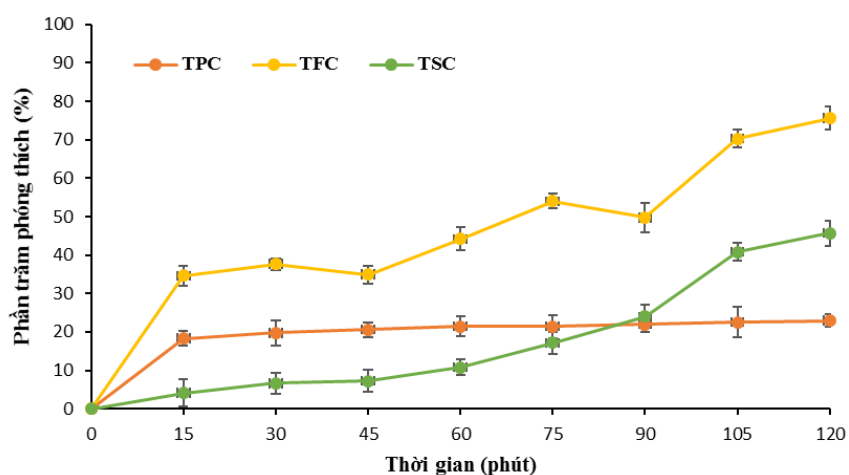
Tỉ trọng gỗ và tỉ trọng khối của bột vi bao

Tương tác của các hạt bột ảnh hưởng đến tính chất chảy của bột nên việc so sánh tỉ trọng gỗ và tỉ trọng khối có thể đánh giá tương đối tính chất chảy của bột. Chỉ số Carr trung bình của bột vi bao là $16,71 \pm 0,16$, giá trị này cho thấy bột vi bao có tính chất trơn chảy tương đối tốt. Đối với bột vi bao nhàu tỉ lệ Hausner có giá trị trung bình là 1,19 thể hiện bột có tính chất chảy trung bình và phù hợp với chỉ số nén. Do đó, giá trị Carr và Hausner cho thấy bột vi bao có khả năng nén thành viên để ứng dụng trong lĩnh vực thực phẩm chức năng có hoạt tính sinh học.

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

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

Bột nhào vi bao được kiểm tra với các thành phần TPC, TFC và TSC lần lượt là 11110.4, 7585.2 và 56807.8 $\mu\text{g/g}$. Kết quả phân trăm phóng thích của TPC, TFC và TSC trong bột vi bao khi tiến hành giải phóng trong môi trường đệm PBS 7,4.

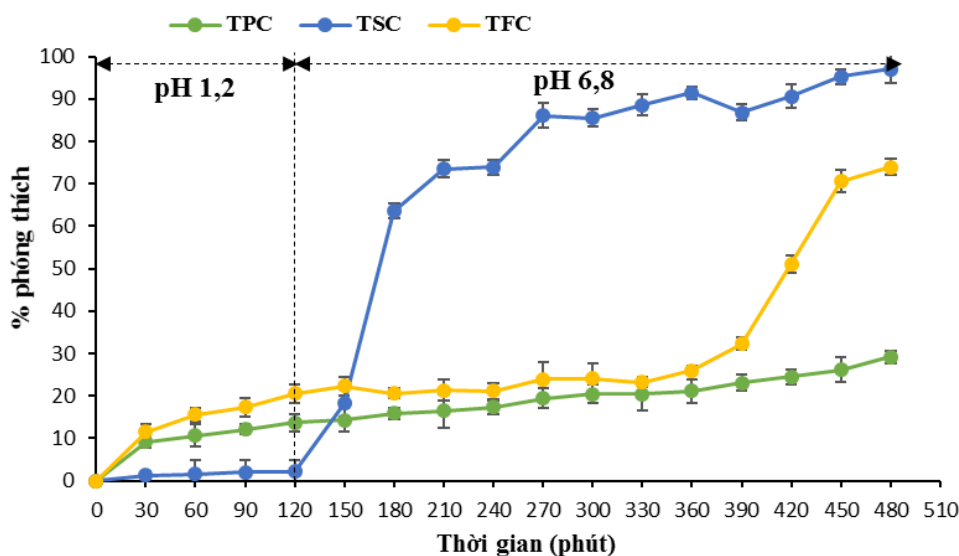


Hình 3.15 Hiệu suất giải phóng TFC, TPC, TSC theo thời gian của bột vi bao

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

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

Trong giai đoạn mô phỏng dịch vị dạ dày (pH 1,2) cả ba hoạt chất giải phóng chậm và hiệu suất thấp trong 2 giờ (<20%) cho thấy vỏ vi bao đã phát huy hiệu quả bảo vệ hoạt chất trong môi trường acid. Trong giai đoạn mô phỏng ruột non (pH 6,8), cả ba hoạt chất có sự thay đổi mạnh mẽ về hiệu suất giải phóng. Nhìn chung, bột vi bao trong môi trường mô phỏng đường uống đã bảo vệ thành công hoạt chất trước sự tấn công của acid dịch vị dạ dày, đồng thời giải phóng tốt hoạt chất ở ruột non giúp cơ thể có thể hấp thụ được tốt hơn, nhất là TSC và TFC.



Hình 3.16 Biểu đồ phóng thích hoạt chất TPC, TSC và TFC trong môi trường mô phỏng đường tiêu hóa của bột vi bao

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

Các hợp chất TPC, TFC và TSC là các hợp chất hữu cơ dễ bị ảnh hưởng/phân hủy bởi môi trường nhiệt độ cao. Lớp vỏ vi bao có thể bảo vệ hoạt chất tốt hơn ở hai điều kiện 60 và 100°C.

4. Kết luận và kiến nghị

Kết luận

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

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

Từ đó có thể xây dựng được phương trình công nghệ vi bao các hợp chất sinh học có trong nhàu thông qua phương pháp sấy phun. Phương trình hồi quy bậc 2 của quy trình vi bao thể hiện qua dịch chiết trái nhàu sấy phun có tỉ lệ vỏ bao (Maltodextrin và Gum Arabic với tỉ lệ 1:

2, kl/ kl) ở nồng độ 20%, và tỉ lệ khối lượng phối trộn giữa dung dịch vỏ bao và dịch nhàu là 7:3. Nhiệt độ tối ưu hóa đầu vào và đầu ra lần lượt là 175°C 82°C. Kết quả cho được bột nhàu vi bao với cấu trúc đồng nhất và ổn định với thời gian bảo quản tối thiểu 1 năm ở 25°C.

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

Kết quả bột nhàu sấy phun có nhiều tiềm năng ứng dụng trong thực tế cũng như sản xuất. Phần bảo quản cho thấy ý nghĩa thực tiễn khi bản thân sản phẩm là bột nên có thể lưu giữ lâu mà ít bị thay đổi tính chất hóa lý, cùng với việc kéo dài thời gian giảm hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học nhờ tăng khả năng bảo quản, giảm chi phí cũng như thuận tiện cho các quá trình vận chuyển và sử dụng.

Kiến nghị

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

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

DANH SÁCH CÁC CÔNG BỐ KHOA HỌC

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

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

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

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

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